

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



***Nannochloropsis* sp.'in BAZI BALIK PATOJENLERİNE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞUBAT 2019
ANTALYA**

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



***Nannochloropsis* sp.'in BAZI BALIK PATOJENLERİNE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞUBAT 2019
ANTALYA**

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

***Nannochloropsis* sp.'in BAZI BALIK PATOJENLERİNE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED

**SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez FYL-2018-3381 nolu proje ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.**

ŞUBAT 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Nannochloropsis* sp.'in BAZI BALIK PATOJENLERİNE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 08/02/ 2019 tarihinde jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ: Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY (Danışman)

Doç. Dr. Sırma ÇAPAR DİNÇER

Dr. Öğr. Ü. Mehmet ÖZBAŞ

Tulay Çagatay
Sırma Çapar Dinçer
M. Özbay

ÖZET

Nannochloropsis sp.'in BAZI BALIK PATOJENLERİNE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği

Danışman: Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

Şubat 2019; 39 sayfa

Mikroalg grubundan olan *Nannochloropsis* türleri akuatik çevre için önemli fotosentetik organizmalar olup aynı zamanda karbonhidrat, vitamin, protein ve enzim gibi antimikrobial ve antiviral ajan olarak da kullanılan birçok bioaktif bileşenin kaynağıdır. *Nannochloropsis* türleri gıda, kozmetik, eczacılık, su ürünleri yetiştiriciliği gibi sektörlerde direk olarak kullanıldığı gibi biogaz ve ilaç terapisi gibi biyoteknolojik yaklaşımlar içinde kullanılmaya başlanmıştır.

Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde, 240 bin ton ile Avrupa'da ikinci olan Türkiye'de, balık hastalıklarının etkili kontrolü için çevreye duyarlı ve antibiyotiklere alternatif kematörapi ajanların kullanımı bu sektördeki ekonomik kayıpların azaltılması için şarttır.

Bizim çalışmamızda, *Nannochloropsis* türlerinden elde edilen ekstraktlarının Gökkuşuğu Alabalığında hastalığa neden olan *Aeromonas* türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmıştır. Bunun için agar-disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *Aeromonas* türlerinde pozitif inhibisyon zonları gözlenmiş ve 11,4-14,6 mm civarında zon çapları ölçülmüştür. Bu sonuç bize denenen *Nannochloropsis* türlerinde balık hastalık patojeni organizmalara karşı antimikrobiyal etkisinin mevcut olduğunu doğrulamıştır. Bu bulgular ışığında gelecekte su ürünleri sektöründe *Nannochloropsis* ekstraktları kullanılarak hastalık önleme çalışmaları ve besleme denemelerinin yapılmalı ve alternatif ajan olarak kullanılmalıdır.

ANAHTAR KELİMELEER: Antimikrobiyal test, Balık hastalıkları, *Nannochloropsis*

JÜRİ: Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

Doç.Dr. Sırma ÇAPAR DİNÇER

Dr. Öğr. Ü. Mehmet ÖZBAŞ

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL EFFECT OF *Nannochloropsis* sp. AGAINST SOME FISH PATHOGENES

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED

MSc Thesis in Fisheries and Aquaculture Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

February 2019; 39 pages

Microalgae *Nannochloropsis* sp., which are important photosynthetic organisms of aquatic ecosystems, are the primary sources of many bioactive compounds such as proteins, carbohydrates, lipids, vitamins and enzymes that can be used as antimicrobial and antiviral agents. These organisms are nowadays used directly in the food, cosmetic and pharmaceutical industry, or in aquaculture sector and biotechnological approach like biofuel or drug therapy. Finding the effective, environmental friendly chemotropic agents to control fish pathogens are crucial in a country like Turkey which has production capacity of about 240 thousand tons of cultured fish which is the second biggest producer in Europe.

In our study, we tested the antimicrobial activity of *Nannochloropsis* sp. against some fish pathogens *Aeromonas* sp. that are major pathogens for rainbow trout farms. Agar disk diffusion test method was used for studying antimicrobial activity on pathogens. *Aeromonas* spp. have shown antimicrobial activity positively as the inhibition zones were 11,4-14,6 mm respectively. According to our primary results, we could use this organisms to control of fish diseases as alternative reagents to antibiotics.

KEYWORDS: Antimicrobial test, Fish diseases, *Nannochloropsis*

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

Assoc. Prof. Dr. Sırma ÇAPAR DİNÇER

Asst. Prof. Dr. Mehmet ÖZBAŞ

ÖNSÖZ

Yüksek lisans süresince kıymetli bilgileri ile ve tez çalışmam boyunca, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve destek olan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam esnasında kullanmış olduğum alg suşların temininde yardımcı oldukları için Dr. Öğr. Ü. Mehmet ÖZBAŞ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans bursu veren Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığına eğitim imkanlarını sağladığından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmaya destekte bulunan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşlarım Hasan Emre YLMAZ'a ve Kerem GÖKDAĞ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Beni son yıllarda gurbette yalnız bırakmayan ve yanımda duran Ozaz HAFİZ arkadaşıma teşekkür ederim.

Sadece çalışmalarım süresinde değil, hayatım da her zaman maddi ve manevi destekleri ile benim yanımda olan sevgili babamın (ruhuna), anneme, kardeşlerime Ngla, Nahla, Eman ve Mohamed Khair ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZGEÇMİŞ	v
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Türkiye’deki Alabalık Yetiştiriciliği	3
2.2. Gökkuşuğu Alabalığı’nın (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Biyolojisi	4
2.2.1. Gökkuşuğu alabalığı’nın (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) sistematigi	5
2.2.2. Gökkuşuğu alabalığı’nın (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) morfolojisi ve yetiştiricilik özellikleri	5
2.2.3. Alabalıklarda karşılaşılan hastalıklar.....	6
2.2.4. Gökkuşuğu alabalığında görülen bazı önemli bakteriyel hastalıklar	6
2.3. Mikroalglerin Genel Özellikleri	7
2.3.1. <i>Nannochloropsis</i> sp.’in sistematikteki yeri.....	8
2.3.2. <i>Nannochloropsis</i> sp.’in genel özellikleri	8
2.3.3. <i>Nannochloropsis</i> sp. yetiştiriciliği	11
2.3.4. <i>Nannochloropsis</i> sp.’in antimikrobiyal aktivitesi.....	12
3. MATERYAL VE METOT	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. <i>Nannochloropsis</i> sp. örneklerinin temini.....	13
3.1.2. Mikroorganizmaların temini	13
3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar	13
3.1.3.1. Walne besiyeri	13
3.2. Metot	15
3.2.1. <i>Nannochloropsis</i> sp.’in üretilmesi	15
3.2.2. Test edilecek mikroorganizmaların üretilmesi ve saklanması	16

3.2.3. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in ekstraktlarının hazırlanması ve disklere uygulanması	16
4. BULGULAR	19
4.1. Kontrol Çözücülerinin Antimikrobiyal Bulguları	22
4.2. <i>Nannochloropsis</i> Ekstraktlarının Antimikrobiyal Bulguları	24
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇLAR	31
7. KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Nannochloropsis* sp.’in bazı balık patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun yazıldığını belirtir. Bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

08/02/2019

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

kg : Kilogram

mg : Milligram

g :Gram

°C : Derece santigrat

L : Litre

µm : Mikrometre

mm : Milimetre

µL : Mikrolitre

rpm : Dakikadaki dönme hızı

ha : Hektar

Kısaltmalar

TUİK : Türkiye İstatistik Kurumu

TSA : Tripton Soy Agar

TSB : Tripton Soy Broth

Dk : Dakika

PUFA : Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

DHA : Dokosaheksaenoik Asit

EPA : Eikosapentaenoik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Gökkuşağı alabalığının morfolojik görüntüsü (Anonim)	6
Şekil 2.2. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in mikroskop görüntüsü	9
Şekil 2.3. a) <i>N. salina</i> , b) <i>N. oculata</i> ve c) <i>N. gaditana</i> 'nın mikroskop görüntüleri (Anonim).....	10
Şekil 3.1. Walne besiyeri	15
Şekil 3.2. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in sıvı ve katı walne besiyerinde üretilmesi a), b),c).....	16
Şekil 3.5. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in ekstraktlarının hazırlanması ve disklere uygulanma aşamaları a), b), c), d).....	18
Şekil 4.1. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in günlere göre üreme eğrisi	19
Şekil 4.2. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in hücre sayımı	20
Şekil 4.3. <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktların hazırlanması aşamaları a), b), c), d).....	21
Şekil 4.4. <i>A. salmonicidia</i> 'nın a) TSA katı ve b) TSB sıvı besiyerlerindeki üreme görüntüleri	22
Şekil 4.5. <i>A. hydrophila</i> 'nın a) TSA katı ve b) TSB sıvı besiyerlerindeki üreme görüntüleri	22
Şekil 4.6. <i>A. salmonicida</i> petrilere üzerinde denenilen penisilin (0,01mg/mL) inhibisyon zonlarının görüntüsü	23
Şekil 4.7. <i>A. hydrophila</i> petrilere üzerinde denenilen penisilin (0,01mg/mL) inhibisyon zonlarının görüntüsü	23
Şekil 4.8. <i>A. salmonicida</i> petrilere üzerinde a) Etanol ve b) Metanol emdirilmiş disklerinin inhibisyon zonlarının görüntüsü	24
Şekil 4.9. <i>A. hydrophila</i> petrilere üzerinde a) Etanol ve b) Metanol emdirilmiş inhibisyon zonlarının görüntüsü	24
Şekil 4.10. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in ekstraktının TSA besiyerinde üretilen <i>A. salmonicidia</i> üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin görüntüleri.....	25
Şekil 4.11. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in ekstraktının TSA besiyerinde üretilen <i>A. hydrophila</i> üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin görüntüleri.....	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye'nin su ürünleri üretim alanları (Civaner, 2004).....	3
Çizelge 2.2. Türkiye su ürünleri üretimi (TUIK 2018).....	4
Çizelge 2.3. Türkiye'deki yıllara göre alabalık üretim miktarı (ton)	4
Çizelge 2.4. Gökkuşaağı alabalığının sistematikteki yeri	5
Çizelge 2.5. <i>Nannochloropsis</i> sp. mikroalginin kimyasal kompozisyonu	8
Çizelge 2.6. <i>Nannochloropsis</i> sp.'in sistematikteki yeri aşağıdaki görüldüğü gibidir.....	9
Çizelge 3.1. Walne besiyerinin hazırlanışı	14
Çizelge 4.1. <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarının ve kontrollerin <i>A. salmonicida</i> ve <i>A. hydrophila</i> üzerinde antimikrobiyal etkisi	26

1.GİRİŞ

Hızla artış gösteren dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi amacıyla dünyada su ürünleri yetiştiriciliği önemli bir gıda üretim sektörü haline gelmektedir. Bu sektör, FAO verilerine göre dünya da en gelişmiş sektörlerden biri olup, yetiştiricilik yolu ile elde edilen su ürünleri üretimi, toplam su ürünlerinin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (Davenport vd. 2003).

Dünyada ve Türkiye'de yüksek protein kalitesine sahip olan, yetiştiriciliği en çok tercih edilen kültür balıklardan biri gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'dır. İç sularda 103.705 tona varan alabalık üretimi ile 2017'da Avrupa da ön sıralarda yer alan Türkiye'nin (TÜİK) ekonomisi açısından bu balıkların üretimi yüksek verimlilikle yapılmalı ve pazarlama kriterlerini karşılamalıdır. Bunun için hastalıkların önlenmesi, su ve yem kalitesi gibi yetiştiriciliği etkileyen parametrelerin uygun olması gerekmektedir. Türkiye'deki su ürünleri üretiminin toplamdaki değerinin %53'ünü gökkuşağı alabalığı oluşturmaktadır (TÜİK 2018).

Balık hastalıkları, su ürünleri üretimini azaltan en önemli risk faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Alabalıklarda en sık görülen bakteriyel hastalıklardan biri, *Aeromonas* türlerinin neden olduğu hastalıklardır. Alabalıkta ekonomik kayıplara neden olan ve en çok karşılaşılan bakteriyel hastalıklar, *Aeromonas salmonicida*'nın neden olduğu furunkulosis, *Aeromonas hydrophila*'nın neden olduğu hemorajik septisemi enfeksiyonlarıdır (Austin ve Austin 2012). Su ürünlerinden elde edilen ürünlerin ve su kaynaklarının sürdürülebilirliği açısından çevreye duyarlı, maliyeti düşük ve patojenler üzerinde güçlü önleyici bir etkiye sahip olan bir kemoterapi ajanına ihtiyaç vardır.

Algler, besin zincirinin temelini oluştururlar. Bundan dolayı tüm canlılar için önemli bir besin kaynağı olup ekolojik olarak her yerde bulunur ve fotosentez sonucunda %70 oranında oksijeni atmosfere verirler. Geçmişte ve halen, alg hücreleri protein, vitamin, yağ asitleri, karbohidrat, mineral ve pigment, hidrokarbon, polisakkarit, antibiyotik ve daha birçok metabolit sentezlemeleri ve biriktirmeleri nedeniyle besin katsısı olmak üzere farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Cirik ve Gökpinar 2006; Durmaz 2006).

Mikroalgler su ürünleri yetiştiriciliğinde canlı yem olarak kabukluların ve larvaların beslemesinde kullanılmaktadır. Son yıllarda endüstriyel ölçekte mikroalglerin üretilmesiyle elde edilen lipid, nişasta, protein, doğal pigment gibi metabolitlere olan ticari ilgi artmıştır (Becker 1994). Mikroalglerin ayrıca çoklu doymamış yağ asitleri, vitamin E, pigment ve steroller gibi diğer metabolitlerce de zengin bir kaynak olduğu bilinmektedir (Bandara vd. 2003). Bu önemli biyoaktif moleküller, önemli bir gıda katkısı olarak kullanılmasıyla beraber, pigment maddesi, su arıtımı, lipid kaynağı ve tarımsal organik gübre olarak tarım alanlarında da kullanılmaktadır. Diğer taraftan mikroalglerden biogaz, karragen, katılaştırıcı madde (agar) gibi bazı kimyasal maddelerin üretiminde de yararlanılmaktadır (Ballosteros vd. 1992; Solimon vd. 1994; Yılmaz 2006).

Son yıllarda, alglerden biyodizel ve biyogaz üretebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Spolaore 2006; Mata 2010). Ayrıca alglerin içerdiği bazı metabolitlerin (ekstraselüler toksinler, antibiyotik ve antioksidan) antibakteriyel, antiviral ve antifungal

etkisi ile ilgili çalışmalar günümüzde önem kazanmıştır (Scheuer 1990; Quinn vd. 1993; Chen ve Zhang 1997; El-Sheekh vd. 2006; Dussault vd. 2016). Örnek olarak; *Nostoc muscorum*, *Oscillatoria angustissima* ve *Anabaena variabilis* gibi bazı siyanobakteri türlerinin antibiyotik ürettiğini gösteren araştırmalar mevcuttur (Bloor ve England 1989; Issa 1999; Abdel-Raouf 2008). Bu nedenle mikro ve makroalglerden yararlanmak için insanoğlu 100 yıldan fazla bir zamandır araştırmalar yapmaktadır (Gökpinar 1991; Dussault vd. 2016).

Denizel ökaryotik alg grubundan tek hücreli *Nannochloropsis* türlerinin yüksek miktarda protein ve PUFA (Çoklu doymamış yağ asitleri) içeriği ve toksik madde üretmemesinden dolayı önemli denizel kaynaklar olduğu bilinmektedir (Patil vd. 2007; Ozcicek vd. 2017). Mikroalglerin PUFA (Çoklu doymamış yağ asitleri), EPA (Eikosapentaenoik asit) ve DHA (Dokosaheksaenoik asit) değerinin de yüksek oluşu ve sindiriminin kolay olmasından dolayı su ürünleri yetiştiriciliğinde (karides, eklem bacaklıları, rotifer, artemia ve balık larvalarının beslenmesinde) alternatif besin maddesi olarak kullanıldığı bilinmektedir (Jones vd. 1987; Lopez vd. 2003; Dhont ve Van Stappen 2003; Hemaiswarya vd. 2011). *N. oceanica* Atlantik Salmon balıklarında balık yemine alternatif olarak kullanıldığı (Sorensen vd. 2017), salmonid ve Kırmızı Tilapia'da *Spirulina* ve *Nannochloropsis* türlerinin pigment kaynağı olarak yeme ilave edildiği ne dair araştırmalar mevcuttur (Grinstead vd. 2000; Yeşilayer vd. 2008).

Bu tez çalışmasında, optimal koşullarda üretilen *Nannochloropsis* sp.'in metanol ve etanol çözücülerini kullanarak hazırlanan ekstraksiyonlarının disk difüzyon yöntemi kullanılarak, gökküşağı alabalığında bakteriyel hastalık etkeni olan *A. salmonicida* ve *A. hydrophila*'daki antibakteriyel potansiyelinin belirlenmesidir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Türkiye'deki Alabalık Yetiştiriciliği

Türkiye, denizler (%95), doğal göller, akarsu kaynakları, gölet (%3,5) ve baraj gölleri (%1,3) ile yaklaşık 26 milyon hektara varan su ürünleri yetiştiricilik potansiyeli yüksek olan bir ülkedir. Bununla birlikte, yaklaşık 178.000 km uzunluğunda akarsu ağına ve Avrupa'nın en uzun kıyı çizgisine (8.300 km) sahiptir (Maktav 1998).

Çizelge 2.1. Türkiye'nin su ürünleri üretim alanları (Civaner, 2004)

Üretim alanı	Yüz ölçümü (ha)	Sayı
Denizler	24.600.000	4
Doğal göller	1.000.000	200
Baraj gölleri	340.000	206
Gölet	10.000	953
Akarsular	200.000	33
Toplam	26.150.000	1.396

Türkiye'de su ürünleri yetiştiriciliği, 1970 yılında kurulan gökkuşağı alabalığı çiftlikleri ile başlamıştır. İlk deniz alabalığı yetiştiriciliği ise 1989 yılında Karadeniz'de gerçekleşmiştir (Şenel 2000). 2014 yılına gelindiğinde yetiştiricilik tesisleri sayısı 2365'e yükselmiştir. Yetiştiriciliğin toplam su ürünleri üretimindeki payı ise hızla yükselerek toplam üretimin %40'ına ulaşmıştır. Türkiye'de 2017 yılında 630.820 ton su ürünleri üretilmiş olup bunların 276.502 tonu yetiştiricilikten elde edilmiştir. 2016 yılına göre yetiştiricilikten elde edilen üretim %8,8 oranında artarken, %43,32'lik bir payla alabalık yetiştiriciliği önemli türler arasındadır (TÜİK 2018) (Çizelge 2.2).

Günümüzde ise su ürünleri yetiştiriciliği su kaynaklarının bol olduğu Türkiye'nin her bölgesine yayılmıştır. Türkiye'de su ürünleri yetiştiriciliğinin büyük miktarı iç su balıkları üretiminden sağlamaktadır. 109.657 ton ile üretimi yapılan tür ise gökkuşağı alabalığıdır (Çizelge 2.3).

Türkiye'de gökkuşağı alabalığının yetiştiriciliği 1970'li yıllarda başlamıştır. Türkiye'deki zengin su kaynaklarından dolayı sahip olduğu avantaj sayesinde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği, Dünya genelindeki su ürünleri yetiştiriciliğine paralel olarak hızla gelişmiştir. İlk küçük işletmeler olarak başlayan tesisler, 1990'lı yıllardan itibaren entegre üretim tesislerine dönüşmüştür. Günümüzde ise üretilen gökkuşağı alabalığı işlenerek (özellikle füme halinde) Avrupa'ya ihraç edilmektedir.

Türkiye, alabalık yetiştiriciliğinde Avrupa'da ilk sırada yer almaktadır. İller itibariyle, yetiştiricilikte Muğla %41'lik pazar payı ile lider durumda olup, bunu İzmir, Bilecik, Kayseri, Çanakkale, Antalya ve Aydın takip etmektedir.

Çizelge 2.2. Türkiye su ürünleri üretimi (TÜİK 2018)

Yıllar	Avcılık (Ton)			Yetiştiricilik (Ton)			Toplam (Ton)	Kişi Başına Düşen Tüketim (Kg)
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam		
2010	445.680	40.259	485.939	88.573	78.568	167.141	653.080	6.9
2011	477.658	37.097	514.755	88.344	100.446	188.790	703.545	6.3
2012	396.322	36.120	432.442	100.853	111.557	212.410	644.852	7.1
2013	339.047	35.074	374.121	110.375	123.019	233.394	607.515	6.3
2014	266.078	36.134	302.212	126.894	108.239	235.133	537.345	5.5
2015	397.731	34.176	431.907	138.879	101.455	240.334	672.241	6.1
2016	301.464	33.856	335.320	151.794	101.601	253.395	588.715	5.4
2017	322.173	32.145	354.318	172.492	104.010	276.502	630.820	5.5

Çizelge 2.3. Türkiye'deki yıllara göre alabalık üretim miktarı (ton) (TÜİK 2018)

Yıllar	Alabalık		
	İçsu	Deniz	Toplam
2010	78.165	7.079	85.244
2011	100.239	7.697	107.936
2012	111.335	3.234	114.569
2013	122.873	5.186	128.059
2014	107.983	5.610	113.593
2015	101.166	6.872	108.038
2016	101.297	5.716	107.013
2017	103.705	5.952	109.657

2.2. Gökkuşluğu Alabalığı'nın (*Oncorhynchus mykiss*) Biyolojisi

Alabalıklar Salmonidae familyasında yer almaktadırlar. Alabalıkların sadece tatlı suda yaşayan türleri olduğu gibi, üreme amacıyla tatlı sudan denize göç eden türleri de bulunmaktadır (Boeuf 1993). Denize göç eden alabalıklar yaşamlarının ilk evrelerini tatlı suda sürdürmektedir. Belirli bir büyüklüğe ulaşıncaya smoltifikasyon geçirerek denize göç etmektedirler. Yaşamlarının tamamını tatlı suda sürdüren alabalıklarda ise durum farklılık göstermektedir. Her ne kadar denize göç etmeseler de örihalin özellikleri sayesinde tuzluluk değişimlerine toleranslıdırlar. İlk defa deniz suyuna bırakıldıklarında birkaç gün içerisinde homeostazilerini sağlayarak hızlı bir şekilde gelişirler (Boeuf 1987).

2.2.1. Gökkuşığı alabalığı'nın (*Oncorhynchus mykiss*) sistematigi

Çizelge 2.4. Gökkuşığı alabalığının sistematikteki yeri

Alem	Animalia
Şube	Chordata
Sınıf	Actinopterygii
Takım	Salmoniformes
Familya	Salmonidae
Cins	<i>Oncorhynchus</i>
Tür	<i>O. mykiss</i>

2.2.2. Gökkuşığı alabalığı'nın (*Oncorhynchus mykiss*) morfolojisi ve yetiştiricilik özellikleri

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Salmonidae familyasının bir üyesidir. Oldukça lezzetli ve buna bağlı olarak ticari değerinin yüksek olması nedeniyle dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliği en yaygın olan alabalık türüdür. Genellikle vücut formları iğ şeklindedir. Dorsal ve kuyruk yüzgeci arasında yağ (adipoz) yüzgeci bulunmaktadır. Karnivor olmakla birlikte türden türe değişen sayıda dişleri ve çok çeşitli renkleri bulunmaktadır.

Alabalık yetiştiriciliğinde optimal su sıcaklığı 12-16°C, pH (6,5-8)'da üretim gerçekleştirilirken, oksijen oranı 9,2-11,5 mg O₂/L olduğu görülmektedir.

Alabalıklarda derinin üst tabakasında (epidermis), glikoprotein yapılı mukoid madde salgılayan hücreler (goblet-mukus hücreleri) bulunur. Ortalama kalınlığı 250 µm olan bu tabaka deriyi mukoid yapılı kaygan bir tabakayla kaplamış ve bu yapının üzerinde de sikloid pullar bulunmaktadır.

Gökkuşığı alabalığı sahip olduğu aşağıdaki bazı özelliklerden dolayı yetiştiricilikte tercih edilmektedir. Çevre koşullarına adaptasyonları çok iyi olduğundan ve diğer alabalık türlerine göre daha yüksek sıcaklıklarda ve daha düşük oksijen seviyelerinde de yaşayabilmektedir. Aktif olarak yem tüketmekte ve bu nedenle yemleme kolay bir şekilde yapılabilir ve iyi bir büyüme göstermektedir. İlkbahar sıcaklığında diğer alabalıklara göre daha kısa kuluçka süresine sahip olduğu bilinmektedir. Diğer alabalıklara göre büyüme hızı yüksek, yetiştirme süresi kısadır. Yetiştiriciliği, yıllardır süregelen bilimsel çalışmalar ile şekillendirilmiştir ve Gökkuşığı alabalığının ticari talebi yıl boyunca devam etmektedir (Yanık 2009).



Şekil 2.1. Gökkuşığı alabalığının morfolojik görüntüsü (Anonim)

2.2.3. Alabalıklarda karşılaşılan hastalıklar

Su ürünleri yetiştiricilik sektöründe ekonomik kayıplara neden olan en önemli etkenlerden biri bakteriyel kökenli balık hastalıklarıdır. Enfeksiyon şiddeti türden türe ve konak yaşına göre değişmektedir. Her ne kadar çoğu bakteriyel enfeksiyonun tedavisi mümkün olsa da çevre şartlarının uygun olmayışı kontrol önemlerinin yeterince alınamamasına ve buna bağlı olarak sağlıklı bireylerin hastalıklardan korunamamasına neden olmakta ve hatta imkansız hale getirmektedir (Çağırğan ve Yüreklitürk 1991; Timur vd. 2000; Akaylı ve Timur 2004).

Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarında karşılaşılan farklı bakteriyel kaynaklı enfeksiyon etkenlerinin tipi, sayısı ve hastalığın görülme oranı gibi kriterler üzerine yapılmış çeşitli araştırmalar mevcuttur.

Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yanlış ve/veya bilinçsiz antibakteriyel ajanların kullanımı bakterilerde söz konusu ajanlara karşı direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bu durum hastalık tedavi ve kontrol sürecini zorlaştıran en önemli parametrelerden biridir (Korun ve Timur 2001).

2.2.4. Gökkuşığı alabalığında görülen bazı önemli bakteriyel hastalıklar

Su ürünleri yetiştiriciliğinde görülen ve ölüm oranı yüksek olan problemlerden biri uygun olmayan yetiştiricilik koşulları nedeniyle açığa çıkan bakteriyel hastalıklardır (Timur ve Timur 2003; Roberts 2012). Gökkuşığı alabalıklarında çeşitli gram-negatif bakterilerin enfeksiyonu sonucunda ortaya çıkan *Pseudomonas* enfeksiyonları, furunkulozis, bakteriyel soğuk su hastalığı, yersiniosis, hareketli *Aeromonas* septisemisi ve vibriosis gibi hastalıklar çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Bu hastalıklar gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde büyük çapta ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Timur ve Korun 2004; Baran vd. 1981; Timur ve Timur 1991; Çağırğan ve Yüreklitürk 1991; Timur vd. 2000; Korun ve Timur 2001; Akaylı ve Timur 2004).

2.2.4.1. Furunkulozis

Furunkulozis (bakteriyel septisemi), yüzyıldan uzun bir zamandır su ürünleri yetiştiriciliğinde bilinen ve yüksek mortalite oranına sahip bir hastalıktır. İlk teşhisi 1964 yılında konulmuştur (Ellingsen ve Gudding 2011).

Furunkulozis özellikle salmonidleri etkilemektedir. Gökkuşluğu alabalığının duyarlılığı oldukça yüksek olduğu bilinmektedir (Çolak 1982; Del Cerro vd. 2002; Ewart vd. 2005).

Furunkulozis etkeni gram negatif, fakültatif anaerobik, hareketsiz, psikrofilik ve 0,5-6,0x1-2 mikron büyüklüğünde olan *Aeromonas salmonicida*'dır. *A. salmonicida*'nın optimum üreme sıcaklığı 22-25°C arasındadır. İn-vitro koşullarda tripton soy agar (TSA) besiyerinde üretildiğinde düzgün yuvarlak kenarlı ve parlak koloniler oluşturur (Timur 2003; Brenner vd. 2005; Durmaz 2009; Cipriano ve Austin 2011).

Enfekte olmuş balıklarda vücut üzerinde yanık, hemoraji ve ülserler, çıban benzeri furunkeller, durgunluk, burun bölgesinde hemorojiler, karaciğerde solgunluk, böbreklerde yumuşama, ekzoftalmus ve organ büyümesi belirtileri görülmektedir (Durmaz 2009).

Önceleri, furunkulozis hastalığı çeşitli antibiyotiklerle tedavi edilmekteydi. Ancak tedavinin getirdiği yüksek maliyetler ve hastalık etkeninin antibiyotiklere direnç kazanması sonucunda bilim insanları yeni tedavi arayışlarına yönelmiştir.

2.2.4.2. Bakteriyal hemorajik sepsis

Bakteriyal hemorajik sepsis, *Aeromonas hydrophila*'nın neden olduğu bir hastalık olarak bilinmektedir. *A. hydrophila*, balıklarda normal florada bulunan fırsatçı bir patojendir. Stres koşulları altında kalan balıklarda ikincil hastalık bir etkeni olarak ortaya çıkmaktadır. Hasta balıkların klinik gözlenimde deri, yüzgeç ve kaslarda ve ağız çevresinde kanamalar, ülserler (Erer 1983; Mancini vd. 1997), yüzgeç kaybı, periorbital ödem, ekzoftalmus, visceral organlarda hiperemi ve yaygın kanama belirtileri görülmektedir (Erer 2002; Roberts 1989).

Bu hastalık etkeni olan *A. hydrophila*, gram negatif, fakültatif hareketli anaerob, sporsuz kısa basil, optimum üreme sıcaklığı 22-25°C olan bir bakteridir. İn-vitro koşullarda tripton soy agar (TSA) besiyerinde üretildiğinde düzgün yuvarlak kenarlı ve parlak koloniler oluşturur (Austin ve Austin 1992; Timur 2003; Brenner vd. 2005; Durmaz 2009; Cipriano ve Austin 2011).

2.3. Mikroalglerin Genel Özellikleri

Makro ve mikroalgler su, mikroelementler ve CO₂'i kullanarak güneş ışığı yardımıyla organik bileşikler sentezleyen fotosentetik mikroorganizmalardır (Pragya vd. 2013). Bu özellikleriyle her ne kadar bitkilere benziyor olsalar da boyut ve taksonomik özellikler bakımından bitkilerden ayrılırlar. Fotosentez yapan bakterilerden ise biyokimyasal özellikleri ile ayrılırlar. Genellikle klorofil içerdikleri için yeşil renkte görünseler de içerdikleri pigmentlere (ksantofil ve karotenoid vb.) göre çeşitli renklere (kahverengi, kırmızı vb.) de olabilmektedir (Grogard vd. 2010; Cuaresma vd. 2006).

Algler besin zincirinin ilk basamağı olan primer üretici organizmalardır. İçerdikleri çeşitli pigmentler sayesinde inorganik bileşiklerden ışık varlığında organik bileşikler sentezleyebilir. Alglerin üreme yetenekleri çevresel koşullara bağlıdır. Koşulların uygun olması durumunda hızlı bir şekilde biyokütlelerini artırabilirler.

Alglerin bulundukları ortamda biyokütlelerini aşırı artırması sonucunda ise istenmeyen ötrofikasyon meydana gelmektedir ve ötrofikasyon sonucunda sudaki çözünmüş oksijen azalmaktadır. Bu durum bentik bölgede yaşayan canlılar için önemli bir sorun oluşturmaktadır. (Glombitza 1970, Round 1973, Yıldız 1986, Şen ve Nacar 1988, Güner 1996).

Tek hücreli ve boyutları 1-100 µm arasında değişen algler mikroalg olarak adlandırılır. Mikroalgler gelişmek için diğer bitkilerde olduğu gibi su, CO₂, fosfor ve güneş ışığına ihtiyaç duyarlar. Ancak mikroalgler bitkilere göre güneş ışığını daha verimli kullanabilir, hızlı gelişebilir, hava koşullarından bağımsız olarak üreyebilir, az miktarda suyu dahi kullanabilir ve tarım ilaçlarına gerek duymadan sağlıklı bir şekilde biyokütle oluşturabilirler (Şahin ve Akyurt 2010, Saber vd. 2016). Mikroalglerin 50000'in üzerinde türü olduğu düşünülmekle beraber yaklaşık 30000'i teşhis edilebilmiştir (Mata vd. 2010). Mikroalgler lipid (%4-55) , karbonhidrat (%6-57) ve protein (%10-63) açısından oldukça zengin kaynaklardır. Bu özelliklerinden dolayı başta gıda ve yem katkı maddesi olmak üzere birçok alanda çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır (Lope'z 1981; Miao ve Wu 2004; Becker 2007; Yeh vd. 2010; Mata vd. 2010; Hariskos vd. 2014)

Mikroalgler içerdikleri protein, yağ, PUFA (Çoklu doymamış yağ asitleri), karotenoid ve çeşitli metabolik ürünlerden dolayı gıda, ilaç, kozmetik, yetiştiricilik, tarım, hayvancılık, tekstil sektörlerinde ve biyodizel üretiminde kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak mikroalgler bağışıklık sistemini güçlendirmekte, kötü kokuya neden olan bakterileri yok etmekte, sindirim sistemini düzenlemektedir ve antikanser etkiye sahip olduğu görülmektedir. (Hoppe 1979; Glombitza and Koch 1989; Spolaore vd. 2006; Bulut 2009; Aktar ve Cebe 2010; Singh ve Gu 2010; Gong vd. 2014; Ryckebosch vd. 2014).

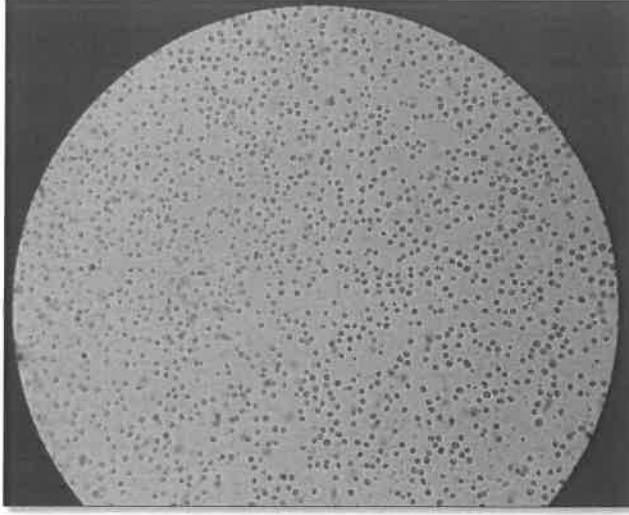
2.3.1. *Nannochloropsis* sp.'in sistematikteki yeri

Çizelge 2.6. *Nannochloropsis* sp.'in sistematikteki yeri aşağıdaki görüldüğü gibidir

Alan:	Eukaryota
Süper filum:	Heterokonta
Phylum:	Ochrophyta
Sınıfı:	Eustigmatophyceae
Aile:	Eustigmataceae
Cinsi :	<i>Nannochloropsis</i>

2.3.2. *Nannochloropsis* sp.'in genel özellikleri

Daha önce deniz *Chlorella* olarak bilinen *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) cinsi, ilk defa Hibbered (1981) tarafından *Nannochloropsis* olarak adlandırılmıştır (Karlson vd. 1990). Deniz ve tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak dağılım gösteren *Nannochloropsis* cinsine ait altı tür tanımlanmıştır: *N. gaditana* (Lubián,1982), *N. salina* (Hibbered, 1981), *N. granulata* (Karlson vd. 1996), *N. limnetica* (Krienitz vd. 2000), *N. oceanica* ve *N. oculata* (Hibbered, 1981).



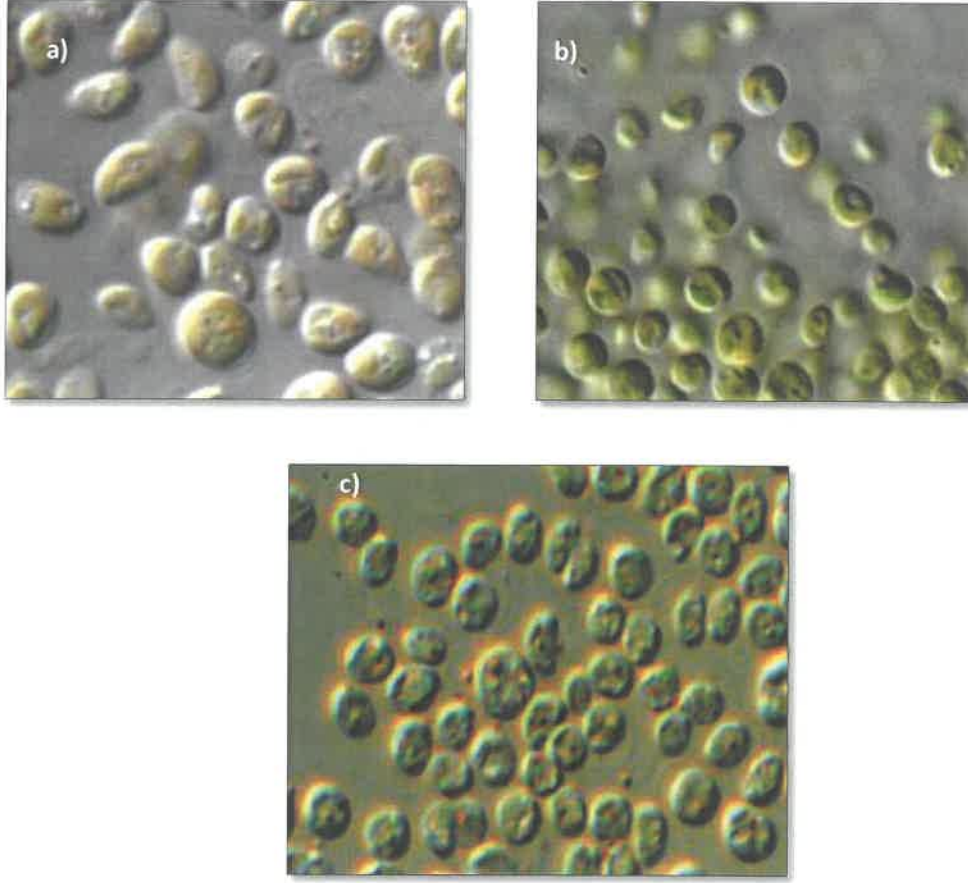
Şekil 2.2. *Nannochloropsis* sp.'in mikroskop görüntüsü

Nannochloropsis, boyutları 5 µm'den küçük olan, kokkoid tek hücrelerden oluşmaktadır. *Nannochloropsis* cinsine ait türler hızlı biyokütle oluşturmalarına bağlı olarak büyük ölçekli yetiştiricilik için uygun olması ve yüksek besin içeriği nedeniyle ilgi odağı olmuştur (Suknik vd. 1999).

Nannochloropsis türleri, klorofil, zeaksantin, kataksantin, astaksantin ve ksantofil gibi pigmentleri içermektedir. Bunun yanında çoklu doymamış yağ asitleri içermesi (özellikle eikosapentaenoik asit, EPA) (Maruyama vd. 1986; Suknik vd.1999; Lubia'n vd. 2000) ve çok miktarda ürettiği steroller (Gladu vd. 1995) ile bilinmektedir. Omega-3 yağ asitleri bakımından da zengin olan *Nannochloropsis* türlerinin, ağırlıkça yaklaşık %37,6'sı karbonhidrat, %28,8'i protein, %18,4'ü yağ ve %3'ü mikroelementten (Na, P, K, Ca, Mg, Zn, Fe, vd.) oluşmaktadır (Çizelge 2.5) (Reboloso-Fuentes vd. 2001).

Çizelge 2.5. *Nannochloropsis* sp. mikroalginin kimyasal kompozisyonu (Tuğçe 2017)

	Nem (g/100 g)	Karbonhidrat (g/100 g)	Yağ (g/100 g)	Protein (g/100 g)	Kül (g/100 g)
<i>Nannochloropsis</i> sp.	35.70±0.68	23.07±0.73	31.27.±0.55	9.97±0.19	5.73.±0.37



Şekil 2.3. a) *N. salina*, b) *N. oculata* ve c) *N. gaditana*'nın mikroskop görüntüleri (Anonim)

Mikroalgleri su ürünleri yetiştiriciliği için önemli bir besin kaynağı olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur. Zengin besin içerikleri (B_{12} vitamini ve EPA (Eikosapentaenoik asit) gibi) nedeniyle *Nannochloropsis* türleri, rotifer (*Brachionus plicatilis*) gibi zooplanktonların ve balık larvalarının beslenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Lubia'n 1982; Okauchi 1991; Hoff ve Snell 1997).

Özellikle günümüzde, birçok *Nannochloropsis* türü, hızlı bir şekilde biyokütlesini artırması ve yüksek oranda yağ içermesi nedeniyle biyodizel üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır (Rodolfi vd. 2009; Doan vd. 2011; Chen vd. 2013). Besin ve biyodizel kaynağı olarak kullanılmalarının dışında *Nannochloropsis* türleri (özellikle *N. salina*, *N. Oceanica* ve *N. limnetica*) atık su veya baca gazı arıtımı için de kullanılmaktadır (Jiang vd. 2011; Cai vd. 2013; Dong vd. 2014; Sheets vd. 2014; Zhu vd. 2014). *Nannochloropsis* sp. ve *Tetraselmis* sp. gibi mikroalgler çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA), özellikle de omega-3 yağ asitlerini yüksek miktarda içermelerinden dolayı balık yağına alternatif gıda takviyesi olarak algal yağ üretiminde kullanılmaktadır (Ryckebosch vd. 2014).

2.3.3. *Nannochloropsis* sp. yetiştiriciliği

Mikroalg kültürü genel olarak açık havuzlarda ve kapalı biyoreaktörlerde yapılabilmektedir. Üretim maliyetini en aza indirmek için gün ışığından mümkün olduğunca faydalanılmakta ve bununla birlikte hücre yoğunluğunun fazla olması ışık penetraasyonunu azaltacağından büyümeyi sınırlayıcı faktör olarak davranabilmektedir.

Mikroalglerin biyodizel ya da besin kaynağı olarak kullanılabilmesi için çok fazla miktarda üretilmesi gerekmektedir. Bu nedenle son zamanlarda üretimi etkileyen birçok parametre araştırmalara konu olmuştur (Chisti 2007; Radakovits vd. 2012). Besiyerinin tuzluluğu, Ph'sı ve ışık çeşidi ve yoğunluğu değiştirerek lipid ve karbonhidrat içeriği yükseltilmiştir (zgr 2013; Khatoon vd. 2014).

Fotootrofik yetiştiricilik, maliyetinin düşük ve evre dostu olması nedeniyle mikroalg yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Açık havuzlarda gerçekleştirilen üretim maliyetinin düşük olması, sistemin kolay kurulabilmesi ve bakımının kolay olması nedenleriyle tercih edilmektedir. Bu sistemlerde ışık eneręisi doğrudan güneşten karşılanabilmektedir (Chisti 2007). Aynı zamanda çevrede bulunan CO₂'i kullandığı için evre dostu bir sistemdir. Örneğin, *Nannochloropsis* türlerinin yetiştirilmesi için kullanılan açık havuz sistemlerinde CO₂ kaynağı olarak endüstriyel baca gazları kullanılmaktadır (Huang vd. 2010; Zhu vd. 2014). *N. salina*'nın çeşitli büyüklükteki açık havuz sistemlerinde üretilmesi ve üreme katsıysının hesaplanması i sulardaki su kaynaklarının geleceğinin tahmin edilmesi açısından referans olarak kullanılabilir. Bütün bu avantajlarının yanında açık havuz sistemlerinde bulunan suyun hızlı bir şekilde buharlaşması ve çevreyle etkileşim halinde bulunduğu için kontaminasyona açık olması dezavantajları da vardır (Zhang vd. 2001).

Miksotrofik yetiştiricilik, yeterli aydınlatma koşullarında ve organik karbon kaynakları varlığında mikroalglerin üretilmesini sağlamaktadır. *Nannochloropsis* türleri de bu yöntemle başarılı bir şekilde üretilmektedir. Bu yöntemde biyokütle artışı doğrudan ortamda bulunan ışık veya organik karbona bağlı değildir. Yapılan alışmalarda *N. oculata*'nın miksotrofik yöntemle yapılan yetiştiriciliğinde büyüme hızının ve hücre yoğunluğunun kültür ortamına 0,1 g/L oranında glukoz eklenerek artırılabilceği bildirilmiştir. Aynı zamanda ortamda 0-20 g/L konsantrasyonlarında glukoz bulunması *Nannochloropsis*'in büyüme oranını artırırsa da lipid içeriğini azaltmıştır (Cheirsilp vd. 2012; Pagnanelli vd.2014).

Heterotrofik yetiştiricilik, ışık kaynağı olmaksız sadece organik bileşikler kullanarak mikroalglerin üretilmesine dayanır. Hem hücre büyümesi hem de metabolik ürünlerin üretimi doğrudan besin ve çevresel faktörlere bağlıdır. Glukoz, gliserol ve asetat gibi genel olarak kullanılan karbon kaynakları bu yöntem için vazgeçilmezdir (Huang vd. 2010; Vazhappilly ve Chen 1998). *Nannochloropsis*'in heterotrofik yetiştiriciliğiyle ilgili yapılan çalışma sınırlı sayıdadır. Xu vd. 2004 tarafından yapılan çalışmada, *Nannochloropsis* türlerinin fotootrofik yöntemle retildeğinde elde edilen

biyokütlenin (392 mg/L), heterotrofik yöntemle elde edilen biyokütleden (326 mg/L) fazla olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, *Nannochloropsis* türlerinin lipid içeriğinin de fotootrofik yetiştiricilik yönteminde daha fazla olduğu gösterilmiştir (Cheirsilp ve Torpee 2012).

Mikroalgler morfolojilerinde ve fizyolojilerinde meydana gelen değişimlerle farklı kültür koşullarına adapte olabilmektedir. Optimum üreme koşullarında PUFA yağ asitlerini sentezlerken, stres koşulları altında nötral lipidleri (TAG) sentezlemektedir (Hu vd. 2008). *Nannochloropsis*'in besin ve metabolik ürün içeriği üretim koşullarına (ışık alma süresi, azot miktarı, tuzluluk vb.) bağlıdır. Üretim koşullarında yapılacak optimizasyonlar ile istenilen içeriğin birikimi artırılabilir.

2.3.4. *Nannochloropsis* sp.'in antimikrobiyal aktivitesi

Krishnika vd (2011) tarafından yapılan çalışmada, sekiz deniz mikroalgine ait *Chaetoceros* sp., *Chlorella* sp., *Dicrateria* sp., *Dunaliella* sp., *Isochrysis* sp., *Nannochloropsis* sp., *Synechococcus* sp. ve *Tetraselmis* sp. antibakteriyel aktivite *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella boydi* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. *Tetraselmis* sp., *Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp., *Dunaliella* sp. ve *Isochrysis* sp.'in çalışmada kullanılan tüm patojen bakterilere karşı iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Çeşitli çözenlerle hazırlanan ekstraktlar arasından etanol ekstraktlarının, en güçlü antibakteriyel etkiyi gösterdiği belirtilmiştir.

Taniguchi vd 2011, yaptıkları çalışmada, larva üretim tanklarına ekledikleri *Nannochloropsis*'in patojenik *Vibrio* türlerinin çoğalmasını engellediği ve buna bağlı olarak larvaların hayatta kalmasını sağladığı gibi büyüme oranlarını da artırdığı gösterilmiştir.

Sharifah ve Eguchi (2011) yaptıkları çalışmada, *N. oculata*'nın yapay deniz suyu içeren fitoplankton kültür ortamı (ESM) içinde, *Vibrio anguillarum*'un üremesini yaklaşık 10 kat azalttığı bildirilmiştir. *N. oculata*'nın büyümesi ile *Roseobacter* türleri ile birlikte inkübasyon yapıldığında ise *V. anguillarum*'un tamamen yok edildiği gösterilmiştir.

Kokou vd (2012) yaptıkları çalışmada, 6 farklı mikroalg türünün (*Chlorella minutissima*, *Tetraselmis chui*, *Nannochloropsis* sp., *Arthrospira platensis* ve *Isochrysis* sp.) ışık varlığında ve yokluğunda 6 *Vibrio* suşu (*V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. splendidus*, *V. scopthalmi*, *V. alginolyticus* ve *V. lentus*) üzerinde bakteriyel üremeyi engelleme yetenekleri test edilmiştir. Çalışma sonucunda ışığın antibakteriyel aktiviteye bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Böylece balık larvalarının kültüründe *Vibrio* türlerine karşı kullanılabileceği bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. *Nannochloropsis* sp. örneklerinin temini

Çalışmada kullanılan *Nannochloropsis* sp. suşları Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi ve Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsünden sağlanmıştır.

3.1.2. Mikroorganizmaların temini

Kullanılan balık hastalık etmenlerinden *Aeromonas hydrophila* ve *Aeromonas salmonicida* bakteri suşları Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Araştırma laboratuvarında mevcut olan stok kültürden temin edilmiştir.

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar

3.1.3.1. Walne besiyeri

Nannochloropsis sp.'in üretimi sağlamak için büyüme ortamı olarak % 0,26 NaCl çözeltisiyle hazırlanan Walne besiyeri kullanılmıştır (Lavens ve Sorgeloos 1996). Mineral tuz çözeltisi (Solüsyon 1), gerekli malzemeler tartıldıktan sonra 1 L distile su içerisinde çözölmüş ve otoklavlanmıştır. İz element çözeltisi (Solüsyon 2) içerisindeki her bir solüsyon (A, B, C ve D solüsyonları) ayrı ayrı 1 L distile suda çözölmüş ve otoklavlanarak steril edilmiştir. Daha sonra D solüsyonundan 100 mL, A, B ve C solüsyonlarının her birinden ise 10 mL alınarak son hacim steril distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Vitamin çözeltisi (Solüsyon 3) içerisindeki her bir vitamin ayrı ayrı 1 L steril distile suda çözölmüştür. Daha sonra her bir vitamin çözeltisinden 10 mL alınarak son hacim steril distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Çalışmada kullanılan Walne besiyeri steril % 0,26 NaCl çözeltisine, solüsyon 1'den 1 mL/L ve solüsyon 2'ten 1 mL/L ve solüsyon 3'ten 1 mL/L eklenerek hazırlanmıştır. Tüm stok çözelti +4°C'de saklanmıştır.

Çizelge 3.1. Walne besiyerinin hazırlanışı

Stok Çözeltiler	Kullanılan Miktar
(1) Mineral Tuz Çözeltisi	1 L
NaNO ₃	300 g
KH ₂ PO ₄	30 g
NH ₄ Cl	20 g
(2) İz Element Çözeltisi	
A Solüsyonu	1 L
ZnSO ₄ .H ₂ O	30 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	25 g
CoSO ₄ .7H ₂ O	30 g
MnSO ₄ .H ₂ O	20 g
B Solüsyonu	1 L
FeCl ₃ .6H ₂ O	50 g
C Solüsyonu	1 L
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25 g
D Solüsyonu	1 L
NaEDTA.2H ₂ O	50 g
(3) Vitamin Çözeltisi*	1 L
B12	100 mg
Biotine	100 mg
Thiamine	10 mg

(*) Vitamin çözeltilerinin her biri ayrı ayrı 1 L steril distile su içerisinde çözülerek hazırlanır.

3.1.3.2. Tripton soy agar (TSA) katı besiyeri

Aeromonas türlerinin üretimi için ticari olarak satın alınan TSA (BD, Fransa) besiyerinden 40 g/L olacak şekilde distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Hazırlanan çözelti 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Hazırlanan besiyeri aseptik koşullarda petri kaplarına dökülmüştür. Soğuması ve katılaşması beklendikten sonra +4°C'de saklanmıştır.

3.1.3.3. Tripton soy broth (TSB) sıvı besiyeri

Aeromonas sp. üretimi için ticari olarak satın alınan TSB (BD, Fransa) besiyerinden 40g/L olacak şekilde distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Hazırlanan çözelti 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Hazırlanan besiyeri aseptik koşullarda steril deney tüplerine dağıtılarak +4°C'de saklanmıştır.

3.1.3.4. Kullanılan çözücüler

Nannochloropsis sp.'in antibakteriyel etkisinin araştırılması için çözücüler olarak metanol (Merk, Almanya) ve etanol (Merk, Almanya) kullanılmıştır. Ayrıca pozitif kontrol olarak penisilin (BD, Fransa) kullanılmıştır.

3.1.3.5. Yararlanılan alet ve ekipmanlar

Laboratuvarında mevcut olan cam melzemeleri ve demirbaşlar; buzdolabı (Beko, Türkiye), derin dondurucu (Şenocak, Türkiye), pH metre (Hanna instruments, ABD), termal karıştırıcı (Biosan, Letonya), manyetik karıştırıcı (Stuart-Bibby Scientific, İngiltere), mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), mikroskop (Olympus, Japan), etüv (Nüve, Türkiye), otoklav (Hirayama, Japan), vortex (VWR International, ABD), santrifüj (Heraeus, Almanya), otomatik mikropipetler (Eppendorf, Almanya), orbital çalkalayıcı (Biosan, Letonya), UV-VIS spektrofotometre (Thermo Scientific Evolution 160 (USA)) kullanılmıştır.

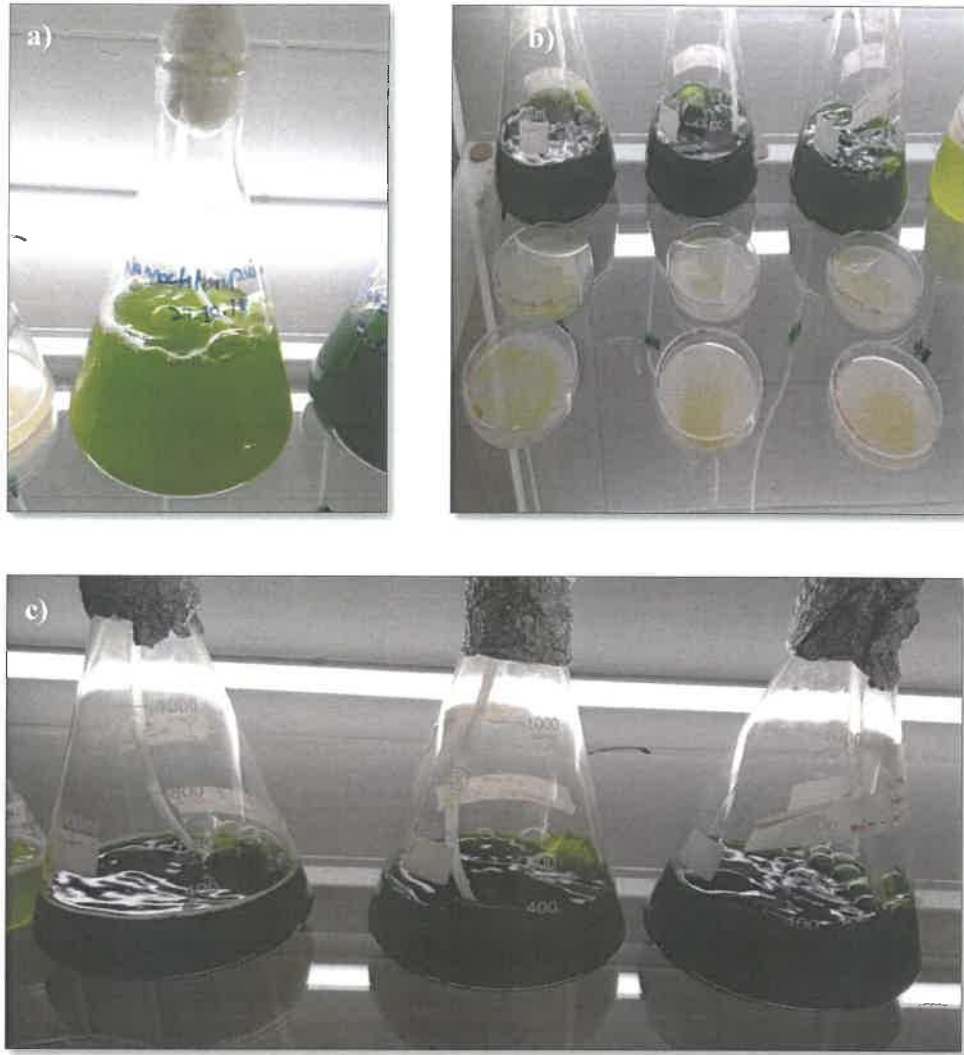
3.2. Metot

3.2.1. *Nannochloropsis* sp.'in üretilmesi

Nannochloropsis sp. üretiminde Walne besiyeri (3 mL/L) kullanılmıştır (Surendhiran 2014). Alg kültürü, 1 L'lik erlenlerde % 0,26 tuzlulukta, pH 7,5 - 8 arasında, 25±2°C su sıcaklığında, sürekli aydınlatma altında ve sirkülasyonu sağlayacak yeterli havalandırma ile gerçekleştirilmiştir. Kültürlerin büyüme hızı, 40 gün boyunca beş gün arayla örnekler alınarak 680 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre cihazında optik yoğunluk (OD) ölçülerek belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Walne besiyerinin görüntüsü



Şekil 3.2. *Nannochloropsis* sp.'in sıvı ve katı walne besiyerinde üretilmesi a), b), c)

3.2.2. Test edilecek mikroorganizmaların üretilmesi ve saklanması

Uygun aseptik koşullar altında hazırlanmış TSA katı besiyeri, petrilere uygun miktarda dökülmüştür ve katılaşmaya bırakılmıştır. Aynı şartlar altında TSB sıvı besiyeri hazırlanarak kapaklı cam şişelere ve deney tüplerine dağıtılarak otoklavlanmıştır.

A. salmonicida ve *A. hydrophila* stok kültüründen steril eküvyon çubuk yardımı ile katı ve sıvı besiyerlerine ekim yapılmıştır ve 22-25°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Üreyen kültürler +4 °C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

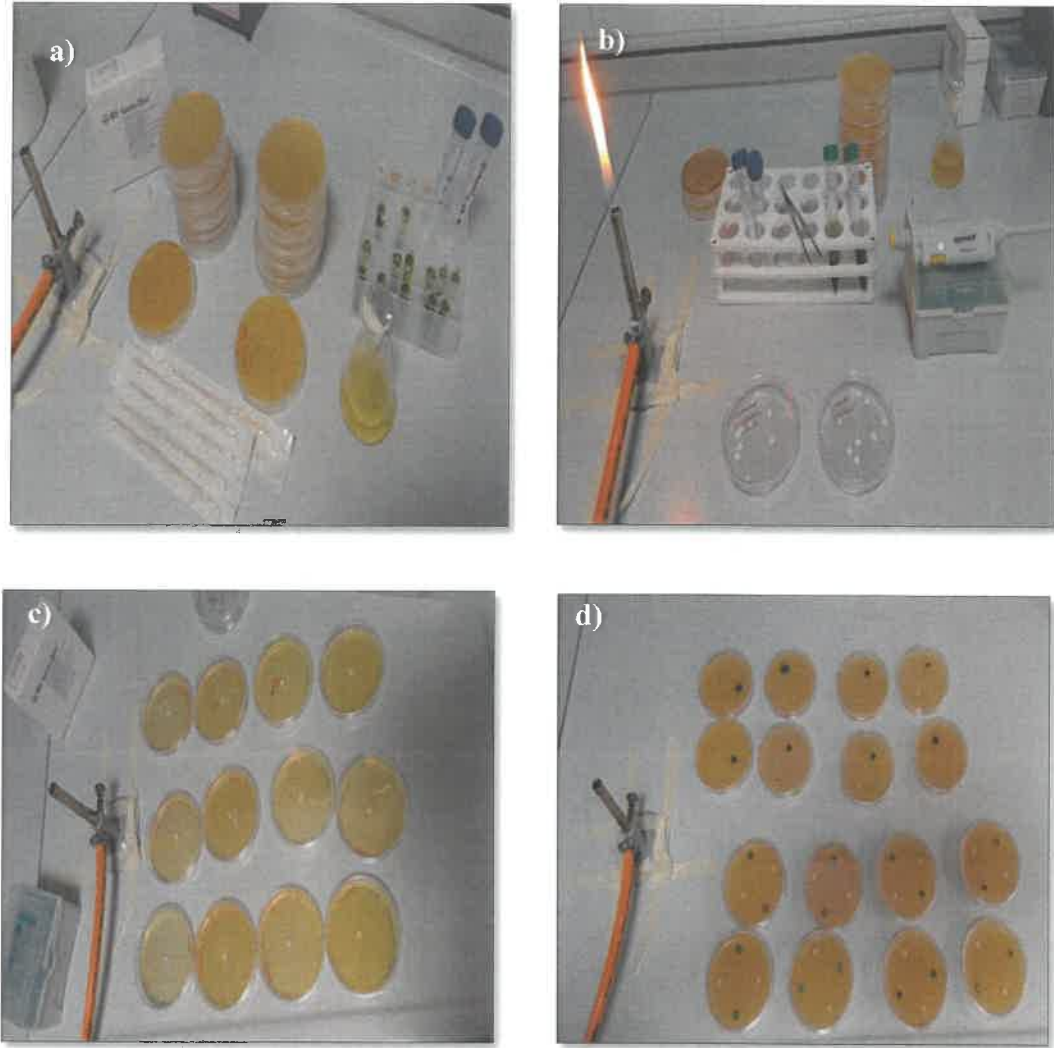
3.2.3. *Nannochloropsis* sp.'in ekstraktlarının hazırlanması ve disklerle uygulanması

Nannochloropsis sp. biyokütlesinin eldesi için yeterli hücre sayısına ($\sim 10 \times 10^6$ hücre/mL) sahip kültürlerden 15 mL'lik tüplere alınarak 5000 rpm'de 5 dk

santrifüjlenerek alg kütlesi çöktürülmüştür. Elde edilen peletler üzerine uygun çözümler (etanol ya da metanol) 1 mg örneğe 10 mL olacak şekilde eklenmiştir. Hazırlanan süspansiyonlar mikrodalgada ısıtılarak homojenize edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar 5000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Berrak süpernatantlar yeni steril tüpe aktarılarak daha sonra kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Nannochloropsis sp.'in, *A. salmonicida* ve *A. hydrophila* üzerine antibakteriyel etkisinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Collins ve Lyne 1989; Bradshaw 1992; Navarro 1996). Hazırlanan ekstraktlar 6 mm çapındaki (Oxoid) steril disklerle 40 µl olacak şekilde pipetlenerek emdirilmiştir. Bakterilerin ekimleri yapıldıktan hemen sonra diskler petrilerin üzerine yerleştirilmiştir. 22°C'de 24 saat inkübasyonun ardından oluşan zon çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Deneyler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda pozitif kontrol olarak 0,01 mg/mL konsantrasyonunda penisilin emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak saf metanol ve etanol emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Deneyler sonucunda elde edilen verilerin standart sapmaları hesaplanarak sonuçlar tartışılmıştır.

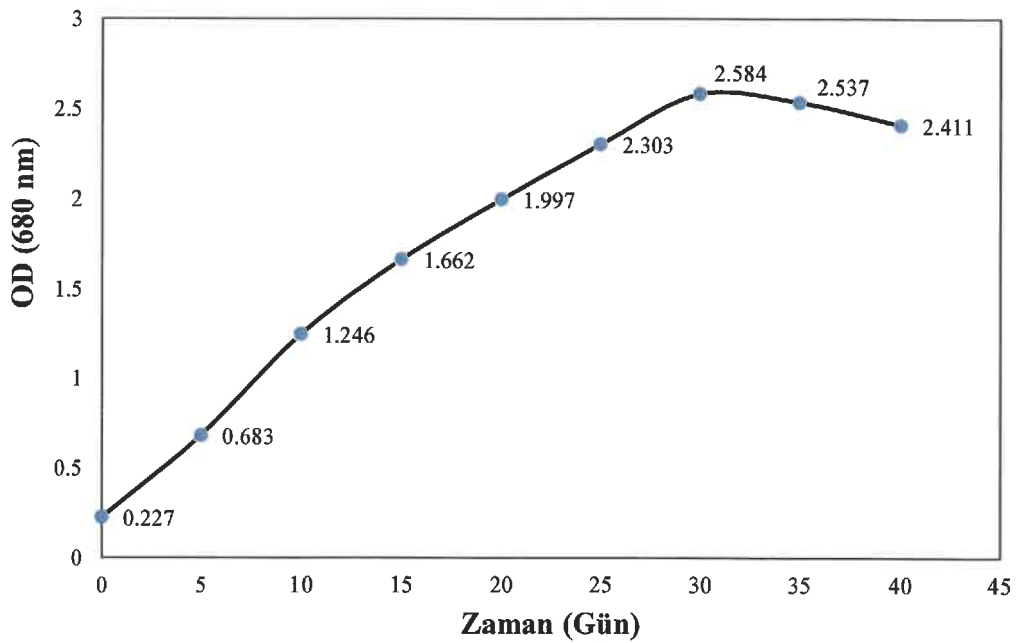


Şekil 3.5. *Nannochloropsis* sp.'in ekstraktlarının hazırlanması ve disklerle uygulanma aşamaları a), b), c), d)

4. BULGULAR

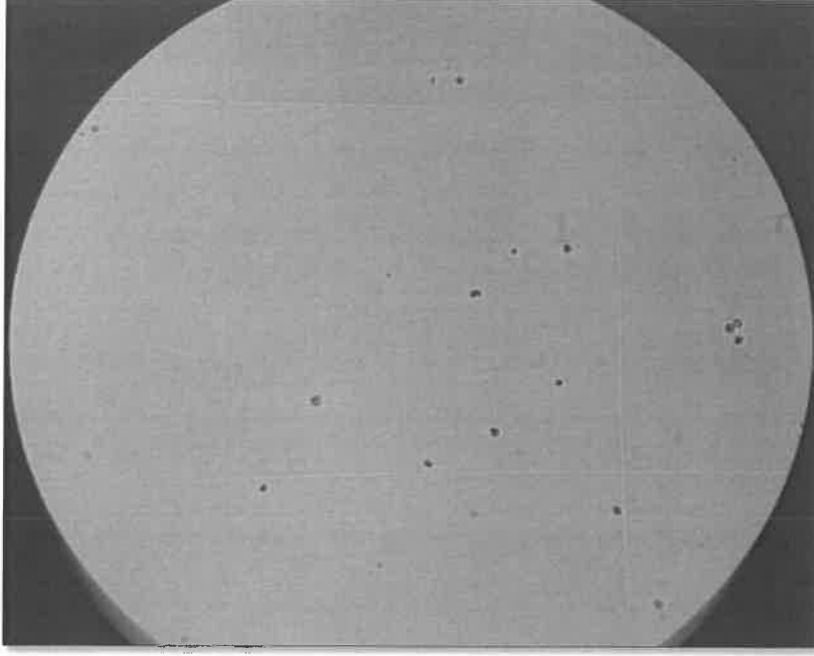
Bu çalışmada, *Nannochloropsis* sp.'in, balık hastalık etkeni olan *A. salmonicida* ve *A. hydrophila* üzerine antibakteriyel etkisinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktların bakteri suşlarına karşı oluşturdıkları inhibisyon zonları Şekil 4.10-4.13 arasında verilmiştir. İnhibisyon zonları, disk ile beraber inhibisyon zonunun tüm sınırı ölçülerek milimetrik olarak kaydedilmiştir.

Nannochloropsis'in üretilmesi için Walne Besiyeri kullanılmıştır. Laboratuvar ortamında 45 gün boyunca üretilen mikroalglerden 5 gün aralıklı olarak alınan örnekler spektrofotometrede (680 nm) ölçümler yapılmıştır. Ekim yapıldığı gün (kültürün hazırlandığı gün) absorbans değeri 0,227 olarak ölçülmüştür. Otuzuncu güne gelindiğinde maksimum absorbans değeri 2,584'e ulaşmıştır. Otuzbeşinci günden itibaren absorbans değerleri azaldığı görülmektedir.



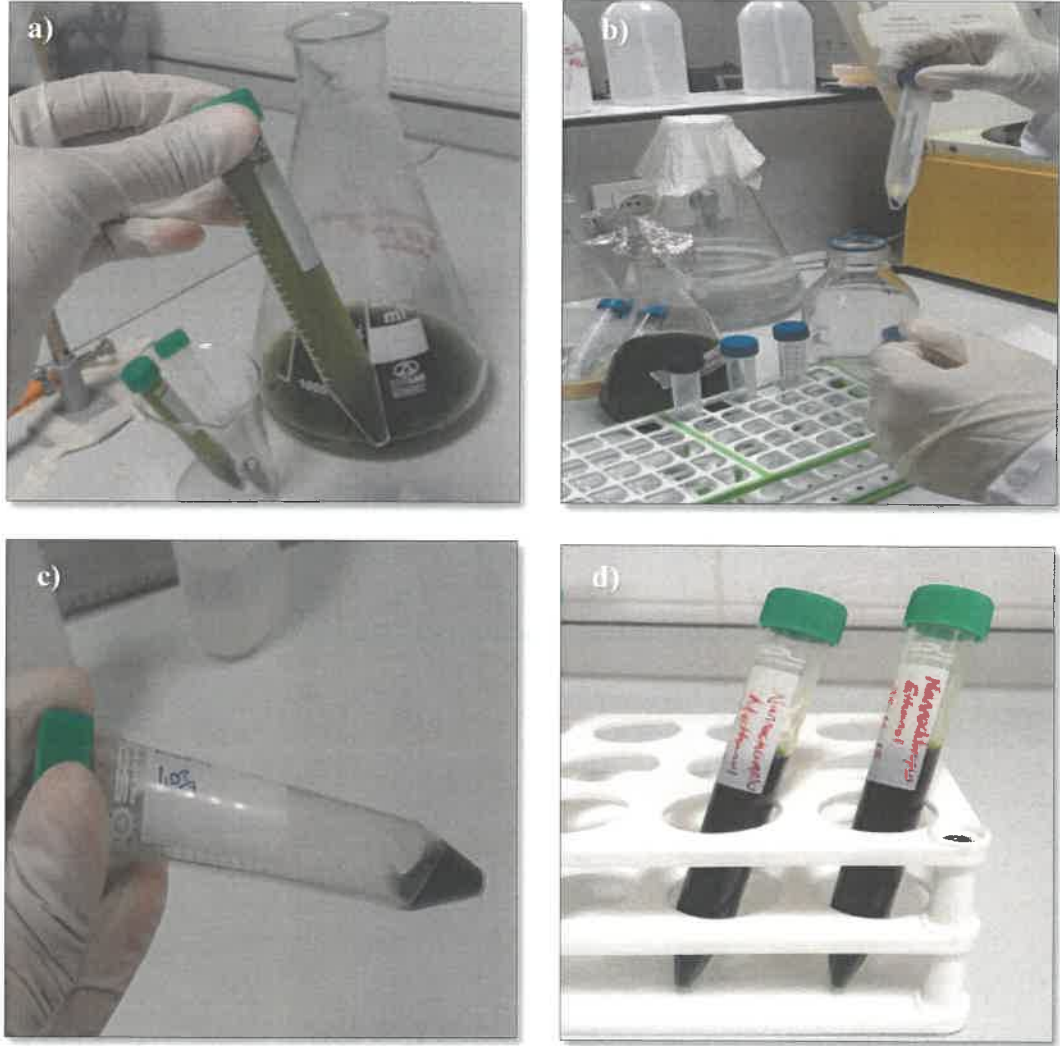
Şekil 4.1. *Nannochloropsis* sp.'in zamana bağlı üreme eğrisi

Üreyen kültür ortamından alınan örneklerde ayrıca mikroskop altında mikroorganizma sayımı yapılmıştır. 100 kat seyreltilmiş örnekte, her birim karede 3-10 hücre sayılmış ve hesaplamalar yapılarak kültürdeki ortalama hücre sayısı $8,9 \times 10^7$ olarak saptanmıştır (Şekil 4.2).



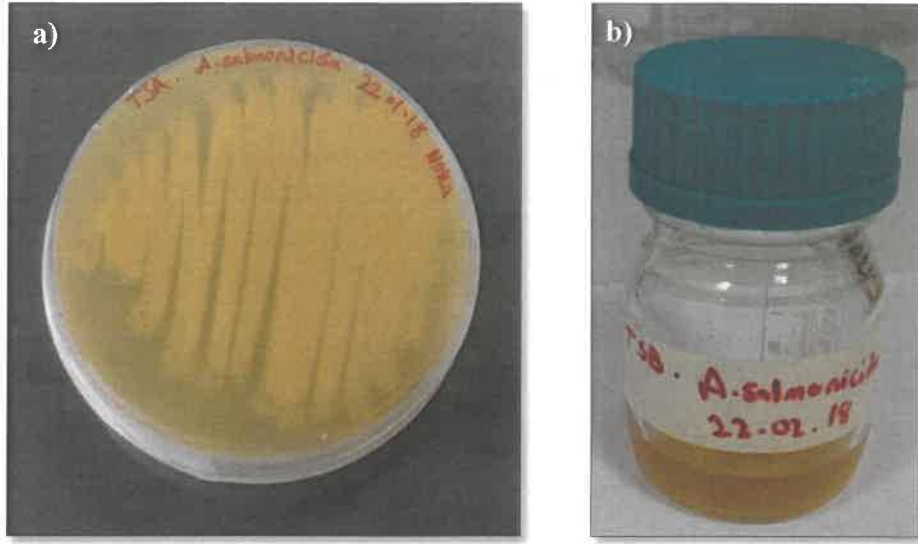
Şekil 4.2. *Nannochloropsis* sp. hücrelerinin hemasitometre lamı üzerinde sayımı

Ekstraktların hazırlanması için yeterli hücre sayısına (yaklaşık $8,9 \times 10^7$ hücre/mL) sahip 1 L kültürlerden çöktürülen her 2.5-3.0 mg biyokütleyle sahip örnek etanol ve metanol çözücülerıyla ayrı ayrı muamele edilmiştir. Bu örnekler steril tüpe aktarılarak daha sonra disklerle emdirilinceye kadar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir (Şekil 4.3).

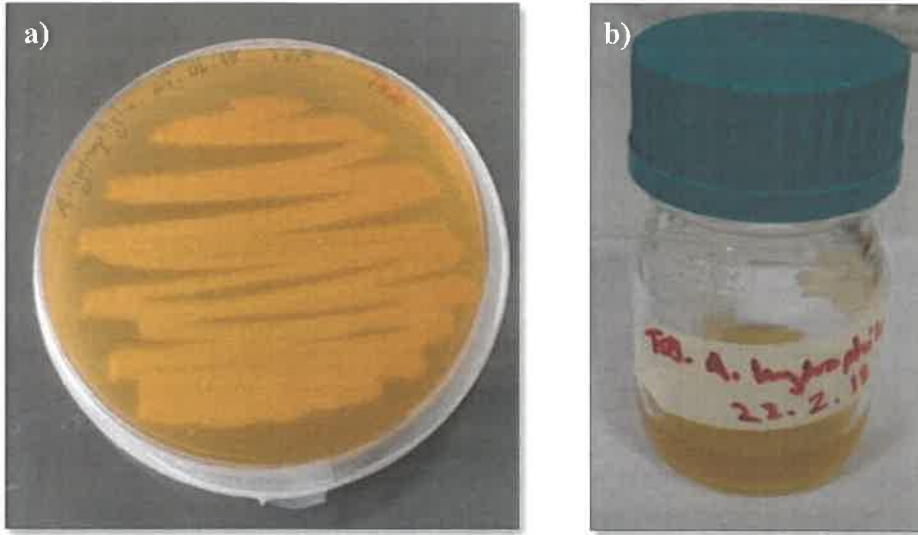


Şekil 4.3. *Nannochloropsis* sp. ekstraktların hazırlanması aşamaları a), b), c), d)

Çalışmada kullanılan Gökkuşaağı alabalığı hastalığı etkeni olarak test edilen *A. salmonicida* ve *A. hydrophila* bakterileri TSA katı ve TSB sıvı besiyerlerinde 22-25°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilmiş ve üretilmiştir (Şekil 4.4 - 4.5). Üretilen katı besiyerleri antimikrobiyal test denemeleri için kullanılmıştır.



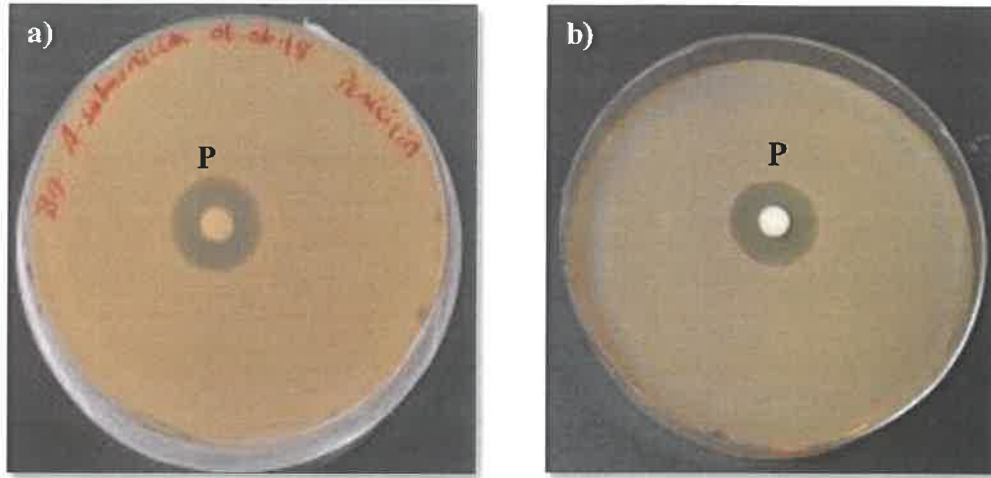
Şekil 4.4. *A. salmonicida*'nın a) TSA katı ve b) TSB sıvı besiyerlerindeki üreme görüntüleri



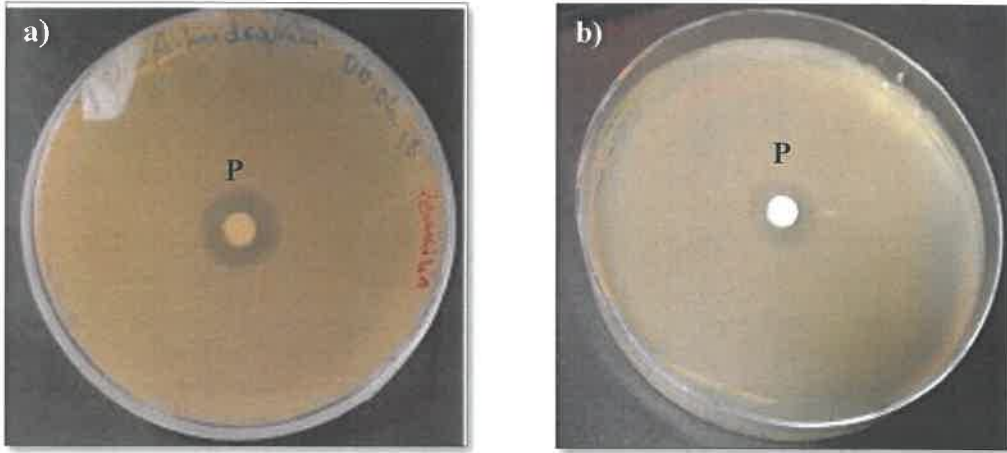
Şekil 4.5. *A. hydrophila*'nın a) TSA katı ve b) TSB sıvı besiyerlerindeki üreme görüntüleri

4.1. Kontrol Çözücülerinin Antimikrobiyal Bulguları

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda kontrol olarak penisilin, metanol ve etanol çözügenleri kullanılmıştır. Kontrol olarak Penisilin antibiyotiği seçilmiş ve farklı konsantrasyonlar denenmiş ve 0,01 mg/mL emdirilmiş disklerde uygun zonlar elde edilmiştir ve zon çapları *A. salmonicida*'da $14,1 \pm 1,66$ iken *A. hydrophila*'da $15,1 \pm 1,28$ mm) olarak bulunmuştur (Şekil 4.6-4.7). Antibiyotik denemelerin tamamı üçlü tekrarlar şeklinde yapılmıştır ve ortalamaları alınmıştır (Çizelge 4.1).

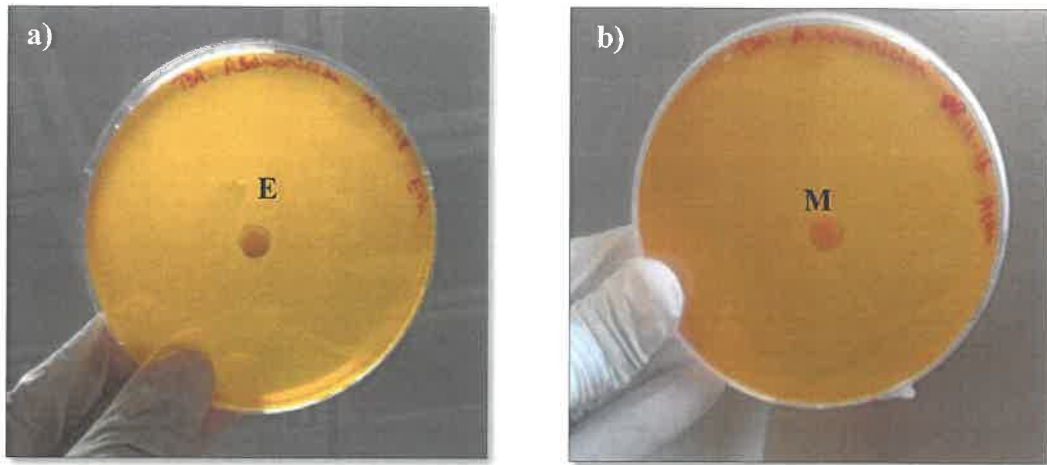


Şekil 4.6. *A. salmonicida* petrileri üzerinde denenen penisilin (0,01mg/mL) inhibisyon zonlarının görüntüsü

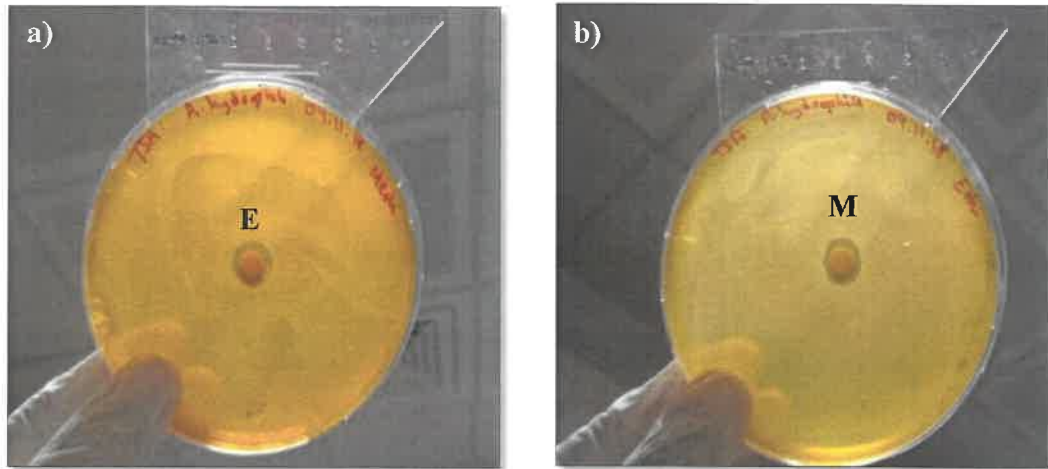


Şekil 4.7. *A. hydrophila* petrileri üzerinde denenen penisilin (0,01mg/mL) inhibisyon zonlarının görüntüsü

Kontrol olarak penisilin dışında ekstrakt hazırlamada da kullanılan saf metanol ve etanol çözücülerine emdirilmiş diskler kullanılmış. Bu çözügenler her iki hastalık etkeni üzerinde de denenmiştir. Her bir çözücü için oluşan inhibisyon zonları, milimetrik olarak ölçülmüş ve *A.salmonicida*'da metanol $12,2\pm1,62$ mm, etanol $11,8\pm2,29$ mm iken *A. hydrophila*' da ise metanol $11,9\pm2,37$ ve etanol $10,6\pm1,43$ olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.8- 4.9). Denemeler üçlü tekrarlı şekilde yapılmış ve ortalamaları alınmıştır (Çizelge 4.1).



Şekil 4.8. *A. salmonicida* petrileri üzerinde a) Etanol ve b) Metanol emdirilmiş disklerinin inhibisyon zonlarının görüntüsü

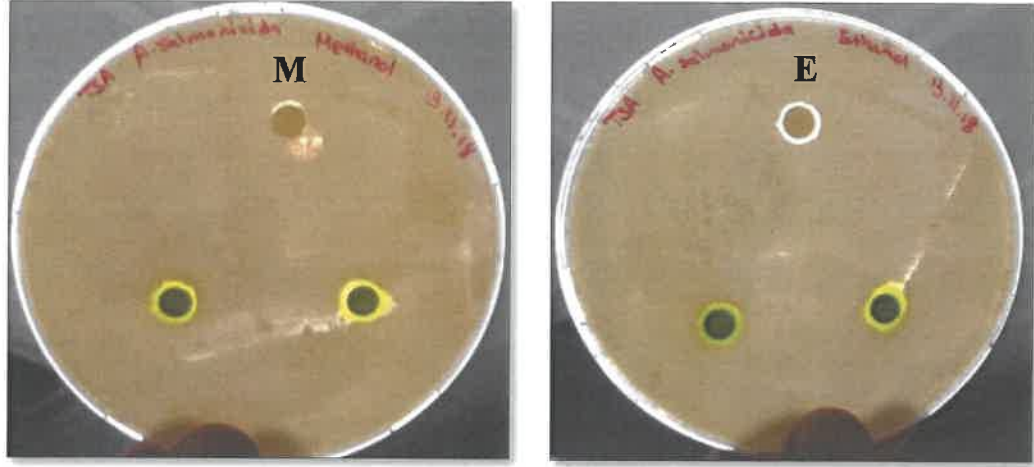


Şekil 4.9. *A. hydrophila* petrileri üzerinde a) Etanol ve b) Metanol emdirilmiş inhibisyon zonlarının görüntüsü

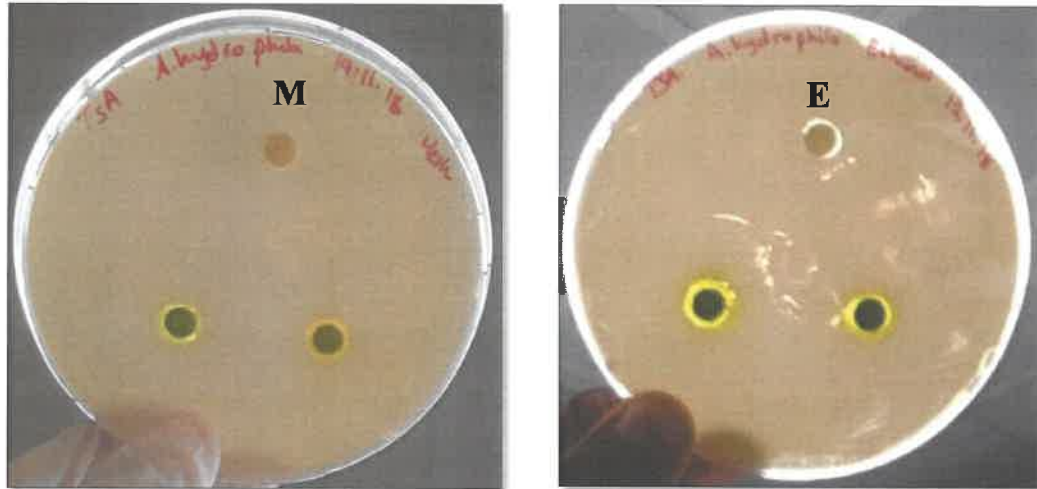
4.2. *Nannochloropsis* Ekstraktlarının Antimikrobiyal Bulguları

Hazırlanan ekstraktlar 6 mm çapındaki steril disklere 40 µl emdirildikten sonra *A. hydrophila*'nın ve *A. salmonicida*'nın ekiminin yapıldığı petrilerin üzerine yerleştirilmiştir. 22°C'de 24 saat inkübasyonun ardından oluşan zon çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Deneyler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Test edilen her iki bakterilerinin de (*A. hydrophila* ve *A. salmonicida*) hem etanol hem de metanol ekstraktına karşı yakın duyarlılıkta olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10-4.11).



Şekil 4.10. *Nannochloropsis* sp.'in ekstraktının TSA besiyerinde üretilen *A. salmonicida* üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin görüntüleri



Şekil 4.11. *Nannochloropsis* sp.'in ekstraktının TSA besiyerinde üretilen *A. hydrophila* üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin görüntüleri

Metanol kullanılarak elde edilen ekstraktının *A. salmonicida*'ya karşı oluşturduğu antimikrobiyal aktivite zon çapı ortalama $12,7 \pm 1,49$ mm, etanol ekstraktının zon çapı ise $12,0 \pm 1,24$ mm olduğu bulunmuştur. *A. hydrophila*'da ise metanol ekstraktının oluşturduğu zon çapı ortalama $14,6 \pm 2,27$ mm, etanol ekstraktının oluşturduğu zon çapı ise $11,4 \pm 0,97$ mm olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak metanol çözücüsüyle elde edilen ekstraktlarda daha yüksek antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir. Çizelge 4.1.'de ise yapılan denemelerin sonuçları görülmektedir.

Çizelge 4.1. *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarının ve kontrollerin *A. salmonicida* ve *A. hydrophila* üzerinde antimikrobiyal etkisi

Test Mikroorganizmaları	Metanol (mm)	Etanol (mm)	Penisilin (mm)	Metanol ekstrakt (mm)	Etanol ekstrakt (mm)
<i>A. salmonicida</i>	14,0	12,0	16,0	15,0	12,0
	12,0	10,0	13,0	12,0	13,0
	15,0	12,0	16,0	14,0	12,0
	12,0	13,0	13,0	12,0	12,0
	11,0	15,0	12,0	11,0	10,0
	12,0	13,0	13,0	12,0	14,0
	11,0	10,0	12,0	15,0	12,0
	14,0	14,0	15,0	11,0	10,0
	10,0	7,0	15,0	12,0	12,0
	11,0	12,0	16,0	13,0	13,0
Ortalama	12,2±1,62	11,8±2,29	14,1±1,66	12,7±1,49	12±1,24
<i>A. hydrophila</i>	12,0	11,0	13,0	16,0	11,0
	13,0	11,0	16,0	13,0	11,0
	12,0	13,0	13,0	13,0	10,0
	14,0	12,0	16,0	18,0	10,0
	10,0	9,0	15,0	14,0	13,0
	14,0	10,0	17,0	17,0	12,0
	12,0	11,0	15,0	13,0	12,0
	15,0	11,0	15,0	17,0	11,0
	10,0	10,0	15,0	14,0	12,0
	7,0	8,0	16,0	11,0	10,0
Ortalama	11,9±2,37	10,6±1,43	15,1±1,28	14,6±2,27	11,4±0,97

5. TARTIŞMA

Hızla artış gösteren dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi amacıyla dünyada su ürünleri yetiştiriciliği önemli bir gıda üretim sektörü haline gelmektedir. Yetiştiricilik sektöründe karşılaşılan en önemli sorunlardan biri balık hastalıklarıdır. Geleneksel tedavi yöntemlerinden aşı ve antibiyotik uygulamaları zaman içerisinde direnç geliştirmeleri ve yüksek maliyetli yöntemler olmaları nedeniyle yeni ve sürdürülebilir hastalık tedavi yöntemleri geliştirilmesi gerekmektedir. Son yıllarda insan patojenlerinin tedavisi için kullanılan antimikrobiyal yeni ve doğal kaynakların (mikroorganizma, bitki, alg vb.) diğer hayvan patojenleri için de kullanılmasıyla ilgili çalışmalar artmaktadır.

Mikroalgler, zengin besin içeriğine sahip olmaları nedeniyle su ürünleri yetiştiricilik sektöründe önemli bir besin kaynağı olarak tercih edilmektedir. İçerdikleri protein, yağ, PUFA (Çoklu doymamış yağ asitleri), B₁₂ vitamini, karotenoid ve çeşitli metabolik ürünlerden dolayı rotifer (*Brachionus plicatilis*) gibi zooplanktonların ve balık larvalarının beslenmesinde kullanılmaktadır (Okauchi 1991; Hoff ve Snell 1997). Su ürünleri yetiştiriciliği için önemli bir besin kaynağı olmasının yanı sıra yüksek oranda yağ içermesi nedeniyle biyodizel üretim çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Azot fiksasyonu yapan siyanobakteriler ve bitki gelişiminde önemli rollere sahip olan elementleri (fosfor ve potasyum gibi) depolayan mikroalgler gübre ve toprak iyileştiricisi olarak, erozyonu azaltmak ve kök gelişimini hızlandırmak amacıyla tarım alanında kullanılmaktadır (Demiriz 2008). Ayrıca mikroalgler, baca gazı ve atık suların biyolojik arıtım süreçlerinde azot ve fosfor gibi bileşiklerin giderilmesi için kullanılmaktadır. (Lubia'n 1982; Rodolfi vd. 2009; Jiang vd. 2011; Cai vd. 2013; Dong vd. 2014). Son yıllarda bazı mikroalglerin, atıksularda var olan birçok boya maddesi ve ağır metaller gibi endüstri atıklarını giderebilme özelliğine sahip oldukları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Jo-Shu vd. 1989; Ibrahim vd. 1996; Marco 2000; Aksu ve Dönmez 2003; Chen vd. 2003; Toh vd. 2003).

Mikroalglerin kimyasal ve farmosötik pek çok çalışmada potansiyel kaynaklar oldukları gösterilmektedir (Chen ve Zhang 1997; Scheuer 1990). Mikroalglerden elde edilen ekstraktlar fenolik bileşikler bakımından oldukça zengindir. Söz konusu bileşiklerin konsantrasyonu ilgili mikroalgin antimikrobiyal etki gücünü belirlediğine dair çalışmalar mevcuttur (Abd El-Baky vd. 2009; Bhagavathy vd. 2011). Mikroalglerden elde edilen fenolik bileşiklerin yapısal özellikleri ve ortamdaki miktarına göre, bakteri metabolizması ve çoğalması üzerinde aktive ya da inhibe edici etkisi olduğu bildirilmiştir (Vijayabaskar ve Vaseela 2012).

Bu çalışmada, *Nannochloropsis* sp. uygun koşullarda 45 gün süreyle, Walne besiyerinde üretilmiş ve biyokütleleri toplanmıştır. Metanol ve etanol çözücülerıyla hazırlanan mikroalg ekstraktlarının antimikrobial aktivitesi test edilmiştir. Çalışmanın sonunda *Nannochloropsis* sp.'in denenen iki farklı balık hastalık etkeni olan bakteriye karşı oldukça yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Test edilen bakterilerden *A. hydrophila* ve *A. salmonicida*'nın her ikisinde de hem etanol hem de metanol ekstraktına karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Methanol ekstraktının *A. hydrophila* karşı oluşturduğu antimikrobiyal aktivite zon çapı ortalama 14,6±2,27 mm iken, etanol ekstraktının zon çapı daha düşüktür ve 11,4±0,97 mm

civarında olduğu ölçülmüştür. Methanol ekstratının *A. salmonicida* karşı oluşturduğu antimikrobiyal aktivite zon çapı ortalama $12,7 \pm 1,49$ mm, etanol ekstratının zon çapı ise $12,0 \pm 1,24$ mm civarında olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak tez çalışmasında metanol çözücüsüyle elde edilen ekstraktlarda daha yüksek antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir.

Mikroalgler ile ilgili yapılan çalışmalarda algal biyokütlenin verimli bir şekilde elde edilebilmesi oldukça önemlidir. Ayrıca mikroalglerin besin ve kimyasal içeriği yetiştirildiği kültür ortamının şartlarından etkilenmektedir (Ben-Amotz ve Shaish 1992; Asulabh 2012). Söz konusu parametreler her mikroalg türü için farklı olabilmektedir (Utting 1985; Coutteau 1996). Bu nedenle mikroalg kültürünü etkileyen ışık, besin miktarı, pH, karıştırma-havalandırma, tuzluluk ve sıcaklık gibi parametrelerin optimizasyonu için yapılmış birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalara örnek olarak: Bartley vd. (2013) yaptıkları çalışmada, *Nannochloropsis salina*'nın biyomas üretiminin %22 ve %34 tuzlulukta en yüksek olduğunu tespit edilmiştir.

Ilgaz (2003), *Nannochloropsis oculata* ile gerçekleştirdiği çalışmada, en yüksek hücre sayısı %20, en fazla kuru madde miktarı ise %25 tuzluluğa sahip kültürlerden elde edildiğini bildirmiştir.

Durmaz ve Pirinç (2017) yaptıkları çalışmada, farklı ışık kaynakları ve farklı tuzluluk derişimlerinin hücre sayısında, beta karoten ve klorofil a düzeylerinde değişiklere neden olduğunu ve çalışmada kullanılan her alg türü için farklı sonuçlar elde edildiğini belirtilmiştir. Tuzluluk derişiminin *Nannochloropsis oculata* kültürlerinde %20-30, *Tetraselmis chuii* kültürlerinde ise %30-40, *Dunaliella salina* kültürlerinde ise %40 olarak ayarlanması önerilmiştir.

Das vd. (2011) yaptıkları çalışmada, farklı dalga boylarına sahip ışıkların (kırmızı (680 nm), beyaz, mavi (470 nm) ve yeşil led (550 nm) *Nannochloropsis oculata* kültürü üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda en etkili ışık kaynağının mavi dalga boyuna sahip ışık olduğunu belirtirken etkisi en az olan ışık kaynağının ise kırmızı ışık olduğu bildirilmiştir.

Teo vd. (2014), mavi-kırmızı led ışıklar ve beyaz floresan lamba kullanarak yaptıkları çalışmada, *Nannochloropsis* ve *Tetraselmis* sp.'in üretimi üzerine en etkili ışığın mavi dalga boyuna sahip ışık kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Blair vd. (2014), yaptıkları çalışmada, farklı dalga boylarına sahip ışıkların (mavi, parlak beyaz, yeşil ve kırmızı) *Chlorella vulgaris*'in büyümesi üzerine olan etkisi araştırılmış ve mavi ışık kaynağında daha yüksek büyüme oranı gözlemlendiği ve daha fazla biyomas üretimi gerçekleştiği bildirilmiştir.

Pirinç (2014), yaptığı çalışmada, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii*, *Dunaliella salina* ve denizel *Chlorella* sp. üretiminde farklı ışık kaynaklarının (floresan lamba, sarı, beyaz, kırmızı, mavi led ve ekonomik ampul) etkisi incelenmiş ve en yüksek hücre yoğunluğu, *Nannochloropsis oculata* için, floresan lamba ve ekonomik ampul ışık kaynaklarında, *Tetraselmis chuii* için sarı led ve floresan lamba, *Dunaliella salina* için, ekonomik ampul, denizel *Chlorella* sp. için, floresan lamba ve ekonomik ampul ışık kaynaklarının kullanıldığı sistemlerden elde edildiği bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında *Nannochloropsis* sp. üretimi, literatürde verilen üretim koşullarına paralel olarak gerçekleştirilmiştir. %26 tuzlulukta, Walne besiyerinde üretim gerçekleştirilmiştir. Işık kaynağı olarak beyaz LED lamba kullanılmış olup 24 saat süreyle aydınlatma sağlanmıştır. Aynı zamanda kültür ortamına yeterli miktarda havalandırma sağlanarak kültürün dibe çökmesi engellenmiştir. Kültürün sıcaklık değişimlerinden etkilenmemesi için ortam sıcaklığı 26°C’de sabit tutulmuştur.

Deniz ve tatlı su makro ve mikro alglerinden elde edilen ekstraktlarının insan patojenleri üzerindeki antimikrobiyal aktivite çalışmalarının hızla arttığı görülmektedir (Ozdemir vd. 2004; Abo State vd. 2015). Bunlara örnek olarak: Eid (2016) yaptığı bir çalışmada *Enteromorpha compressa*, *Ulva lactuca* ve *Chaetomorpha*’nın *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Fusarium oxysporum* ve *Candida albicans* gibi insan patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteyi değerlendirmek ve karşılaştırmak amacıyla metanol, hekzan ve kloroform ekstraktları kullanmış ve metanol ekstraktlarının, diğer çözücülerle hazırlanan ekstraktlara kıyasla test edilen bakteri ve mantar türlerine karşı güçlü aktivite gösterdiğini belirtmiştir.

Karabay vd. (2007)’nin *Jania rubens* ile yaptığı çalışmada çözücü olarak metanol, diklorometan, hekzan, kloroform kullanılmış ve *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*’a karşı antibakteriyal aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda metanol ve kloroform ekstraktlarının hekzan ve diklorometan ekstraktlarından daha fazla antibakteriyal aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Scheuer (1990), *Chlorophyta*, *Rhodophyta* ve *Phodophyta* cinsine ait alglerle yaptığı çalışmada metanol ekstraktının n-hekzan ve etilasetat ekstraktlarından daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmiştir.

Ozdemir vd. (2004) yaptıkları çalışmada *Spirulina platensis*’den metanol kullanılarak elde edilen ekstraktların *Candida albicans*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*’e karşı, etil asetat ve diklorometan ekstraktlarına göre daha fazla antibakteriyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Tez çalışmasında metanol çözücüsüyle ilgili elde edilen bulguların, yukarıda yer alan literatür çalışmalarıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Katırcıoğlu vd. (2006)’nin mikroalglerle yaptığı çalışmada çözücü olarak metanol, kloroform, aseton, etanol, eter kullanılmış ve *Bacillus megaterium*, *B. thuringiensis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *M. flavus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*’ya karşı antibakteriyal aktiviteleri belirlenmiş olup aseton ve eter ekstraktlarının gram(-) bakterilere, metanol ekstraktlarının ise gram(+) bakterilere, etanol ekstraktlarının ise hem gram(-) hemde gram(+) bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Krishnika vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada çeşitli çözücülerle hazırlanan ekstraktlar arasından etanol ekstraktlarının, en güçlü antibakteriyel etkiyi gösterdiği belirtilmiştir. Chowdhury vd. (2015) yaptıkları çalışmada, on tatlı su ve deniz

alglerinden, iki gram pozitif, dört gram negatif bakteri ve bir mantara karşı etanol ekstraktlarının metanol ve kloroform ekstraktlarına göre daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Elde ettiğimiz bulgular bu referanslardaki bulgularla uyumlu değildir.

Mikroalglerden bazılarının bazı balık patojenlerine karşı olan antimikrobiyal aktivitelerini inceleyen az sayıda çalışmaya rastlanmıştır: Bhuvaneswari vd. (2013) yaptığı bir çalışmada siyonobakteri olan *Arthospira platensis*'in balık hastalık etkenlerinden olan *A. hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Micrococcus luteus*, *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* ve *Edwardsiella tarda*'ya karşı olan antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Aseton ekstraktının yüksek antibakteriyal etki gösterdiği bildirilmiştir.

Selvendran (2013) yaptığı bir çalışmada, *Nannochloropsis oculata* ve *Chaetoceros calcitrans* alglerinden n-bütanol, n-hekzan, aseton, metanol ve kloroform:metanol (2:1) çözümlerini kullanarak elde ettiği ekstraktların insan patojeni *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın yanı sıra balık hastalık etkenlerinden *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus* ve *A. hydrophila* üzerine olan antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Çalışma sonucunda özellikle kloroform:metanol (2:1) ekstraktlarının tüm balık patojenlerine karşı etkili olduğunu vurgulamıştır.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz metanol ekstraktının daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulgusu yukarıda verilen literatür bulgularıyla desteklenmektedir.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında denenen *Nannochloropsis* sp. alg türüne ait metanol ve etanol çözümleri kullanılarak elde edilen ekstraktların test edilen bakterilere (*A. hydrophila* ve *A. salmonicida*) karşı birbirine yakın antibakteriyal etkileri olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, antimikrobiyal etkiye sebebiyet veren etken maddelerin biyokimyasal içeriği, alg üretim koşullarının daha büyük endüstriyel ölçekte optimizasyonu, karakterizasyonu ve etki mekanizmasının aydınlatılması gibi yapılacak araştırmalara öncü olması açısından önem taşımaktadır. Bu bulgular ile su ürünleri sektöründe *Nannochloropsis* sp. ve *Spirulina* sp. gibi mikroalglerin ekstraktları kullanılarak balık hastalıklarını önleme çalışmaları ve/veya besleme denemelerinin yapılması gelecekte mikrobiyal, maliyeti düşük sürdürülebilir kaynakların alternatif olarak kullanımı akuakültür için yeni ufuklar açacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K., and El-Baroty, G. S. 2009. Characterization of nutraceutical compounds in blue green alga *Spirulina maxima*. *Electr J. Envir, Agricu and Food Chem*, 8(12).
- Abo-State, M.A., Shanab, S.M., Ali, H.E. and Abdullah, M.A. 2015. Screening of antimicrobial activity of selected Egyptian cyanobacterial species. *J. Eco. Heal. Env.*, 3, 7-13.
- Akaylı T. ve Timur G. 2004. Yavru Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) *Pseudomonad* Septisemisi Üzerinde Bir Çalışma İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 30(1), 121-131.
- Aksu, Z. and Dönmez, G.A. 2003. Comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere*, 50(8), 1075-1083.
- Anonim 1: <http://www.lakesuperiorstreams.org/understanding/rainbowtrout.html>. [Son erişim tarihi: 20.05.2018].
- Anonim1: http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Eustigmatophyceae/NANNOCHLOROPSIS/Nannochloropsis_Image_page.html. [Son erişim tarihi: 05.10.2017].
- Asulabh, K. S., Supriya, G., and Ramachandra, T. V. 2012. Effect of salinity concentrations on growth rate and lipid concentration in *Microcystis* sp., *Chlorococcum* sp. and *Chaetoceros* sp. In *National Conference on Conservation and Management of Wetland Ecosystems. School of Enviro Sci, Mahatma Gandhi Univ, Kottayam, Kerala*.
- Austin, B. and Austin, D.A. 2012. *Bacterial fish pathogens* (p. 652). Heidelberg: Springer.
- Baran İ, Timur M., Aydın N., İstanbulluoğlu E, ve Aydın tuğ MK. 1981. Çifteler-Sakaryabaşı balık üretim ve araştırma istasyonundaki alabalıklarda (*Salmo gairdneri irideus*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerine incelemeler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27, 467-473.
- Bartley, M., Boeing, W. J., Corcoran, A. A., Holguin, F. O., and Schaub, T. 2013, Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms, *biomass and bioenergy* 54, 83-88pp.
- Becker E.W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnol. Adv.*, 25 (2): 207-210.
- Becker, E., Ventkateraman, L.V., 1981. Biotechnology and Exploitation of Algae The Indian Approach, *Eschborn : GTZ*. 4:1-19.
- Ben-Amotz, A., and Avron, M., 1981. Glycerol and β -carotene metabolism in the halotolerant alga *Dunaliella*: a model system for biosolar energy conversion. *Trends Biochem. Sci.* 6: 297-9 pp.
- Bhagavathy, S., Sumathi, P., and Bell, I. J. S. 2011. Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial

- activity. *Asian Pacific J. Trop Biomedic*, 1(1), S1-S7.
- Bhuvaneswari, G. R., Shukla, S. P., Makesh, M., Thirumalaiselvan, S., Sudhagar, S. A., Kothari, D. C., and Singh, A. 2013. Antibacterial Activity of *Spirulina* (*Arthospira platensis* Geitler) against Bacterial Pathogens in Aquaculture. *Israeli J Aquacul.-Bamid*, 65, 1-8.
- Blair, M. F., Kokabian, B., and Gude, V. G. 2014. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production, *J. Envir Chemical Eng*2, 665-674pp.
- Bloor, S., England, R.R. 1989. Antibiotic production by the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *J. of Appl. Phycology*, 1: 367-372.
- Boeuf, G. 1993. Salmonid smolting: a pre-adaptation to the oceanic environment. In *Fish ecophy*, (pp. 105-135). Springer, Dordrecht.
- Boeuf, G., 1987. Adaptation salmonid species to sea water during the investigation determining smoltification criterias by measuring $Na^+ K^+$ ATPase activity and plasma thyroid hormone levels. Ph.D. Thesis, Etat Universite de Bretagne Occidentale.
- Cai, T., Park, S.Y., Racharaks, R., Li, Y.B. 2013. Cultivation of *Nannochloropsis salina* using anaerobic digestion effluent as a nutrient source for biofuel production. *Appl. Energy*, 108: 486-492.
- Cheirsilp, B. and Torpee, S. 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresour. Technol*, 110: 510-516.
- Chen, C.Y., Chen, Y.C., Huang, H.C., Huang, C.C., Lee, W.L., Chang, J.S., 2013. Engineering strategies for enhancing the production of eicosapentaenoic acid (EPA) from an isolated microalga *Nannochloropsis oceanica* CY2. *Bioresour. Technol*. 147: 160-167.
- Chen, F. and Zhang, Y. 1997. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin using a fed-batch system. *Enzyme and Microbial Technology*. 20 (3): 221-224.
- Chen, K. C., Wu, J. Y., Huang, C. C., Liang, Y. M., and Hwang, S. C. J. 2003. Decolorization of azo dye using PVA-immobilized microorganisms. *J. Biotech*, 101(3), 241-252.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotech. Adv.*, 25: 294-306.
- Chowdhury, M. M. H., Kubra, K., Hossain, M. B., Mustafa, M. G., Jainab, T., Karim, M. R., and Mehedy, M. E. 2015. Screening of antibacterial and antifungal activity of freshwater and marine algae as a prominent natural antibiotic available in Bangladesh. *Inte Jour of Pharmacology*, 11(7): 828-833.
- Cipriano, R. C., & Austin, B. 2011. 12 Furunculosis and Other Aeromonad Diseases. *Fish diseases and disorders*, 3, 424.
- Cirik, S. and Gokpinar, S. 2006. Plankton Knowledge and Culture. *Ege Univ. Facul. of Fish. Public., Izmir (Turkey)*, 161.
- Civaner, E. Ç., 2004. Su Ürünleri Dış Pazar Araştırması, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüt Merkezi. İstanbul, 75 s.

- Coutteau, P. 1996. Micro-algae. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO *Fisheries Technical Paper*, 361, 7-48.
- Cuaresma M., Garbayo I. and Vega J.M. 2006. "Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto river", *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 40, pp. 158–162,
- Çağırğan H. ve Yürekli Türk O. 1991. First Isolation of *Yersinia ruckeri* from a Rainbow Trout Farm in Turkey. (Poster) EAAP Fifth International Conference on Diseases of Fish and Shellfish Özet Kitabı Sayfa: 131 25-29 Ağustos Budapeşte Macaristan.
- Çolak, A. 1982. Balık hastalıkları el kitabı. Cumhuriyet Üniversitesi.Fen- Edebiyat Fakültesi yayınları: 1. Sivas. 133.
- Das, P., Lei, W., Aziz, S. S., and Obbard, J. P. 2011, Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light, *BioresTech*102, 3883–3887pp.
- Del Cerro, A., Marquez, I., & Guijarro, J. A. 2002. Simultaneous detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, and *Yersinia ruckeri*, three major fish pathogens, by multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 5177-5180.
- Demiriz, T. 2008. Bazı Alglerin Antibakteriyal Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, ANKARA, 60 s.
- Dhont, J., and Van Stappen, G. 2003. Live feeds in marine aquaculture. *Blackwell Science Ltd*, 65–121.
- Doan, T.T.Y., Sivaloganathan, B., Obbard, J.P., 2011. Screening of marine microalgae for biodiesel feedstock. *Biomass Bioenergy*, 35: 2534–2544.
- Dong, B.-F., Ho, N., Ogden, K.L., Arnold, R.G. 2014. Cultivation of *Nannochloropsis salina* in municipal wastewater or digester centrate. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 103: 45–53.
- Durmaz, Y. 2006. Azot kaynakları ve konsantrasyonlarının *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae)'nın büyüme ve pigment kompozisyonuna etkisi. *Ege Üniv. Su Ürün. Der.*, 23, 3-4: 295-299.
- Durmaz, Y., and Piriç, P. 2017. Bazı deniz mikroalglerinin (*Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* ve *Dunaliella salina*) kültüründe tuzluluk konsantrasyonunun büyüme ve pigment yapısına etkisinin araştırılması. *Su Ürünleri Dergisi*, 34(1), 75-80.
- Durmaz, Y., and Türk, N. 2009. Alabalık işletmelerinden motil aeromonasların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 357-361.
- Dussault, D., Vu, K.D., Vansach, T., Horgen, F.D., Lacroix, M., 2016. Antimicrobial effects of marine algal extracts and cyanobacterial pure compounds against five foodborne pathogens. *Food Chem.*, 199: 114-118.
- Eid, B. A. A. S. 2016. Biological Activities of Extracts of Some Green Seaweeds from the Coast of Gaza Strip, Palestine .Doctoral dissertation, The Islamic

University– Gaza.

- Ellingsen, K., and Gudding, R. (2011). The potential to increase use of the 3Rs in the development and validation of fish vaccines. Report from the National Veterinary Institute, Oslo.
- El-Sheekh, M.M., Osman, M.E.H., Dyab, M.A. and Amer, M.S. 2006. Production and characterization of antimicrobial active substance from the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *EnvirToxic and Pharmac*, 21: 42-50.
- Ewart, K. V., Belanger, J. C., Williams, J., Karakach, T., Penny, S., Tsoi, S. C., and Douglas, S. E. 2005. Identification of genes differentially expressed in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to infection by *Aeromonas salmonicida* using cDNA microarray technology. *Developmental and Comparative Immunology*, 29(4), 333-347.
- Glombitza, K.W. 1970. Antimicrobial constituents in algae. Quantitative determination of acrylic acid in sea-algae. *Planta Med.*, 18: 210-221.
- Gökpınar, Ş. 1991. Akuakültürde önemli beş deniz flagellat'ının inorganik azot alınimleri üzerine sıcaklık değişimlerinin etkisi. Doktora tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 88 s.
- Grinstead, G.S., Tokach, M.D., Dritz, S.S., Goodband, R.D., and Nelssen, J.L., 2000, Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs, *J. An. Feed Sci. and Tech*, 83: 237-247.
- Grogard, F., Akhmetzhanov, A.R., Pierre, M. and Bernard, O. 2010. Optimization of a photobioreactor biomass production using natural light. *arXiv preprint arXiv:1009.2137*.
- Güner, H. 1996. Tohumuz Bitkiler Sistematiği. Ege Üniversitesi.
- Hariskos, I. and Posten, C. 2014. Biorefinery of microalgae - opportunities and constraints for different production scenarios. *Biotechnol. J.*, 9 (6): 739-752.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Kumar, R.R., Ganesan, V., & Anbazhagan, C. 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *W. J. Micro. Biotech*, 27: 1737–1746.
- Hibberd DJ. *Bot J. Linnean Soc* 1981; 82: 93 _ / 119
- Hoff, F.H. and Snell, T. W. 1997, Plankton culture manual, Florida Aqua Farms Inc. Dade City, Florida, 56 s., USA.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. and Darzins, A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *Plant J.*, 54: 621–639.
- Huang, G.H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X.W. and Chen, G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Appl. Energy*, 87: 38–46.
- Ibrahim, M.B., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R. 1996. Decolorization of textile dye containing effluents: A Review. *Bioresource Technology* 58: 217-227.
- Ilgaz, S. 2003. Farklı Tuzluluk Değişimlerinin *Nannochloropsis oculata* ve *Isochrysis galbana* türlerinin büyüme hızlarına etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri

Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

- Issa, A.A. 1999. Antibiotic production by the *Cyanobacteria Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*. *J. Env Toxic Pharm*, 8: 33–37.
- Jones, D.A., Kurmaly, K., and Arshad, A. 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *J. Aqua*, 64: 133-146.
- Jo-Shu, Chang., 1989. Kinetic Characteristics of Bacterial Azo Dye Decolorization by *Pseudomonas luteola*, Feng Chia University, Taichung, Taiwan, Republic of China,
- Karabay-Yavaşoğlu N., Sukatar A., Özdemir G. and Horzum Z. 2007. Antimicrobial Activity of Volatile Components and Various Extracts of the Red Alga *Jania rubens*. *Phytotherapy Research* 21, 153-156.
- Katırcıoğlu, H. , Beyatlı, Y. , Aslim, B. , Yüksekdağ, Z. and Atıcı, T. 2006. Screening for Antimicrobial Agent Production of Some Microalgae in Freshwater. *The Internet Journal of Microbiology* 2.
- Korun J., Timur G., 2001. Gökkuşluğu alabalıklarında (O. mykiss) fry mortalite sendromu (FMS) üzerinde bir çalışma. İst. Üniv. Su Ürün. Derg. (12): 15 – 30
- Krishnika, A., Bhanupriya, P. B., and Nair, B. B. (2011). Antibacterial activity of eight marine microalgae against a few gram negative bacterial pathogens.
- Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1996. *Manual on the production and use of live food for aquaculture* (No. 361). Food and Agriculture Organization (FAO).page No:11.
- Li, H.-Y.; Lu, Y.; Zheng, J.-W.; Yang, W.-D. and Liu, J.-S. 2014. Biochemical and genetic engineering of diatoms for polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *J. Mar. Drugs* 12: 153–166.
- Lopez, E., J.A., Voltolina, D., Chavira Ortega, C.O., Rodrı'guez, B.B., Sa'enz Gaxiola, L.M., Esquivel, B.C., and Nieves, M. 2003. Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican northwest. *J. Aqua- Eng*, 29: 155–164.
- Lubián, L.M. 1982. *Nannochloropsis gaditana* sp. nov., una nueva Eustigmatophyceae marina. *Lazaroa*, 4: 287-293.
- Ma, Y.B., Wang, Z.Y., Yu, C.J., Yin, Y.H. and Zhou, G.K. 2014. Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. *Bioresour. Technol.*, 167, 503–509.
- Maktav, D., 1998. Türkiye'nin Akdeniz kıyılarında Köyceğiz-Dalyan koruma alanında yersel veriler ve uydu verileri entegrasyonu ile bir kıyı bilgi sistemi oluşturma pilot projesi, No: 779, İTÜ Araştırma Fonu Projesi.
- Marco S, Lucas. 2000. Decolorization of the Dzo dye Reactive Black 5 by Fenton and Photo-Fenton Oxidation, Alto Douro, Apartado 1013, la Real, Portugal,
- Maruyama, I., Nakamura, T., Matsubayashi, T., Ando, Y. and Naeda, T. 1986. Identification of the alga known as „marine chlorella“ as a member of the Eustigmatophyceae. *Jap. J. Phyco*. 34: 319-325.
- Maruyama, I., Nakao1,T., Shigeno, I., Ando, I. and Hirayama,K. 1997. Application of

- unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the massculture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358: 133–138.
- Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew. and sustain. energy rev.*, 14(1): 217-232
- Miao X. and Wu Q., 2004. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *J. Biotechnol.*, 110 (1): 85-93.
- Okauchi, M. 1991, The status of phytoplankton production in Japan, In: Rotifer and microalgae culture systems. Fulks, W. and Main, K.L. (Editörler), Proceeding of a US-Asia Workshop, Honolulu, HI, January 28-31, The Oceanic Institute, USA, 247-256 pp.
- Ozcicek, E., Cane, E., Yilmaz, K. and Can, S.S. 2017. Usage of microalgae as a sustainable food source in aquaculture. *Su Urun.Der.*, 34(3): 347-354.
- Ozdemir, G., Karabay, N.U., Dalay, M.C. and Pazarbası, B. 2004. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phyther. Res.* 18: 754-757.
- Özgür, K. 2013. *Nannochloropsis oculata* (droop) hibberd (Eustigmatophyceae)'in led lambalar ile büyüme ve yağ biriktirme özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Pagnanelli, F., Altimari, P., Trabucco, F. and Toro, L. 2014. Mixotrophic growth of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis oculata*: Interaction between glucose and nitrate. *J. Chem. Technol. Biotech.*, 89: 652–661.
- Patil, V., Kallqvist, T., Olsen, E., Vogt, G. and Gislerød, H.R. 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aqua. Int.*, 15: 1–9.
- Pirinç, P. 2014. Bazı deniz mikroalglerinin (*Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii*, *Chlorella sp.* Ve *Dunaliella salina*) kültüründe ışık ve tuzluluk Konsantrasyonunun büyüme ve biyokimyasal yapısına etkisinin araştırılması. Doktora Tezi, Ege üni, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı, Bornova-İzmir, 88 sayfa.
- Quinn, J., Li, H.H., Singer, J., Morimoto, B., Mets, L., Kindle, K. and Merchant, S. 1993. The plastocyanin-deficient phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* Ac-208 results from a frame-shift mutation in the nuclear gene encoding preapoplastocyanin. *J. Biol. Chem.*, 268: 7832-7841.
- Radakovits, R., Jinkerson, R.E., Fuerstenberg, S.I., Tae, H., Settlege, R.E., Boore, J.L. and Posewitz, M.C. 2012. Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga *Nannochloropsis gaditana*. *Nat. Commun.*, 3:686.
- Rebollosa-Fuentes, M. M., Navarro-perez, A., Garcia-Camacho, F., Ramos-Miras, J. J., Guil-guerrero, J. L. 2001. Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*. *J. of Agri and Food Chem.* 49(6), 2966-2972.
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., Tredici, M.R., 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and

- outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 102 (1):100–112.
- Round, F.E. 1973. *The Biology of Algae*, 2 nd. Ed., Edward Arnold, London.
- Scheuer, P.J. 1990. Some marine ecological phenomena: chemical basis and biomedical potential. *Science* 248: 173-177.
- Selvendran, M. 2013. Studies on antimicrobial compounds from selected marine phytoplanktons. *Int J Pharma Bio Sci.* 4(2): P876-88.
- Sharifah, E.N., and Eguchi, M. 2011. The phytoplankton *Nannochloropsis oculata* enhances the ability of *Roseobacter* clade bacteria to inhibit the growth of fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *PLoS One*, 6(10): e26756.
- Sheets, J.P.; Ge, X.M.; Park, S.Y.; Li, Y.B. 2014. Effect of outdoor conditions on *Nannochloropsis salina* cultivation in artificial seawater using nutrients from anaerobic digestion effluent. *Bioresour. Technol.* 152: 154–161.
- Sorensen, M., Gong, Y., Bjarnason, F., Vasanth, G.K., Dahle, D. and Huntley, M. 2017. *Nannochloropsis oceanica*-derived defatted meal as an alternative to fishmeal in Atlantic salmon feeds. *PLoS ONE*, 12(7): e0179907.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. 2006. Commercial Applications of Microalgae. *J.Biosci. Bioengi*, 101: 87-96.
- Sukenik, A., Cohen, Z., editörler. *Mikroalgardan Kimyasallar*. kapak 3, Taylor ve Francis; 1999.
- Surendhiran, D., Vijay, M., Sirajunnisa, A.R., Subramaniyan, T., Shanthalin, A. and Shellomith, K.T. 2014. A green synthesis of antimicrobial compounds from marine microalgae *Nannochloropsis oculata*. *J. Coas. Life Med.*, 2(11): 859-863.
- Şen, B. ve Nacar, V. 1988. Su Kirliliği ve Algler. *Fırat Havzası Birinci Çevre Sempozyumu*, 405-419.
- Taniguchi, A., Sharifah, N.E., and Eguchi, M. 2011. Possible role of microalga *Nannochloropsis* in controlling *Vibrio* species in fish larva rearing water. *Aquacul. Sci.*, 59(3): 451-458.
- Teo, C. L., Atta, M., Bukhari, A., Taisir, M., Yusuf, A. M., and Idris, A. 2014, Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths, *Biore Tech*, 162, 38–44pp.
- Timur G. ve Korun J. 2004. First Outbreak of Vibriosis in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Istanbul University Journal of Aquatic Sciences.* 18, 1-9.
- Timur G. ve Timur M. 1991. An outbreak of enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (*O. mykiss*) in Turkey. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 11(5), 182-183.
- Timur G., Karataş S., Çolak S. ve Akaylı, T. 2000. Gökkuşluğu Alabalık (*O. mykiss* Wal. 1792) Yavrularında Görülen Furunkülosis Hastalığı Üzerine Bir çalışma, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, Özel Sayı.
- Timur, G. ve Timur, M. (2003). *Balık Hastalıkları*. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri

- Fakültesi, Yayın No. 5, İstanbul. 975-404-699-9.
- Toh, Y.C., Yen, J.J.L., Obbard, J.P. and Ting, Y.P. 2003. Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore. *Enzyme and Microbial Technology* 33: 569–575.
- Tuğçe, A.(2017). Farklı polaritedeki çözenlerin alg (*Nannochloropsis* sp.) yağı ekstraksiyonuna etkileri, Yüksek lisans tezi, Akdeniz üniversitesi, antalya, 40 s.
- TÜİK, Su ürünleri İstatistikleri. 2018.<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr>. [Son erişim tarihi: 13.11.2018].
- Utting, S. D. 1985. Influence of nitrogen availability on the biochemical composition of three unicellular marine algae of commercial importance. *Aquacu Eng*, 4(3), 175-190.
- Vazhappilly, R. and Chen, F. 1998. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid production potential of microalgae and their heterotrophic growth. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75: 393–397.
- Vijayabaskar, P. and Vaseela, N. 2012. In vitro antioxidant properties of sulfated polysaccharide from brown marine algae *Sargassum tenerrimum*. *Asian Pacific J. Tropic Disease* 2, S890-S896.
- Xu, F., Cong, W., Cai, Z.L. and Ouyang, F. 2004. Effects of organic carbon sources on cell growth and eicosapentaenoic acid content of *Nannochloropsis* sp. *J. Appl. Phycol.*, 16:499–503.
- Yanık, T. (2009). Gökkuşluğu alabalığı ve alabalıkların morfolojik özellikleri arazi çalışmaları. Doğal Alabalık Çalıştayı (22–23 Ekim 2009), Bildiri kitabı, 144-148.
- Yeh K.L., Chang J.S. and Chen W.M. 2010. Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Eng. Life Sci.*, 10 (3): 201-208.
- Yeşilayer, N., Doğan, G. ve Erdem, M. 2008. Balık yemlerinde doğal karotenoid kaynaklarının kullanımı. *J. Fis. Sci.*, 2 (3): 241- 251.
- Yıldız, K. 1986. Amtınapa Baraj Gölü alg toplulukları üzerinde araştırmalar Kısım III: Tas ve bitkiler üzerinde yaşayan alg topluluğu. *G. Ü. Fen-Ed. Fak. Fen. Bil. Derg.* 4: 147-155.
- Yılmaz, H.K. 2006. Mikroalg üretimi için fotobiyoreaktör tasarımları. *Ege J. Fish. Aqu. Sci.*, 23(1/2): 327-332.
- Zhang, K., Miyachi, S. and Kurano, N. 2001. Evaluation of a vertical flat-plate photobioreact for outdoor biomass production and carbon dioxide bio-fixation: Effects of reactor dimensions, irradiation and cell concentration on the biomass productivity and irradiation utilization efficiency. *Appl. Microbiol. Biotech.*, 55: 428–433.
- Zhu, B.H., Sun, F.Q., Yang, M.; Lu, L., Yang, G.P., Pan, K.H. 2014. Large-scale biodiesel production using flue gas from coal-fired power plants with *Nannochloropsis* microalgal biomass in open raceway ponds. *Bioresour. Technol.* 174: 53–59.

ÖZGEÇMİŞ

Noha AHMED SATI ALI MOHAMED

nohasatti@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2016 - 2019	Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, ANTALYA
Lisans 2007 - 2012	Al-neelain Üniversitesi Tarım Teknolojisi Ve Balık Bilimleri Fakültesi, Balık Bilimleri Bölümü Khartoum, SUDAN

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi 2015- Devam Ediyor	AL-Neelain Üniversitesi Tarım Teknolojisi Ve Balık Bilimleri Fakültesi, Balık Bilimleri Bölümü Khartoum, SUDAN
Araştırmacı Asistanı 2014 - 2015	Balık ve Su Ürünleri Araştırma Merkezi Khartoum, SUDAN