



SU BİLİMLERİNDE BİYOTEKNOLOJİ ÇALIŞTAYI

10-11 Mayıs 2018, İstanbul

ÇALIŞTAY ÖZET KİTABI

WORKSHOP ON BIOTECHNOLOGY

IN AQUATIC SCIENCES

May 10-11 2018, İstanbul

ABSTRACT BOOK

İSTANBUL, 2018

İÇİNDEKİLER/TABLE OF CONTENTS

Önsöz/Foreword.....	2
Kurullar/Committees.....	6
Bilimsel Program/Scientific Programme	8
Bildiri Özetleri/Abstract.....	13

ÖNSÖZ

Değerli Katılımcılar,

Su Bilimleri alanında kullanılan biyoteknolojik uygulamalar, hem sektörde hem de akademik kurumlarda en sık başvurulan yöntemlerin başında gelmektedir. Biyoteknoloji temelli çalışmalar mikrobiyolojiden alg biyoteknolojisine, su ürünleri yetiştiriciliğinden su canlılarının hastalıklarına, balık ıslahından ürün geliştirmeye kadargeniş bir uygulama alanı bulunmaktadır. Öte yandan son yıllarda etkisini kayda değer şekilde hissettiren iklim değişikliğinin neden olduğu sorunların çözümünde de yine biyoteknoloji ile ilgili araştırmalara öncelik verilmektedir.

“Su” ve “su canlıları” birçok disiplinler arası bilimsel araştırmaların konusu olması nedeni ile Biyoteknoloji ve Moleküler Temelli araştırmalar farklı disiplinlerde çalışan araştırmacıların birlikte çalışmalarına olanak tanımaktadır. Bu amaçla biyoteknolojik teknikleri kullanan ve “Su Bilimleri” alanında çalışmalarda bulunan Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Fakülteleri, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği, Eczacılık Fakülteleri, Doğa Bilimleri Fakülteleri, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümleri, Biyoloji Bölümleri, Ziraat Fakülteleri, Tıp Fakülteleri, Çevre Mühendisliği Bölümleri ve Mühendislik Fakültelerinin ilgili Bölümleri ile Deniz Bilimleri Enstitülerine mensup araştırmacıların katılımı ile 10–11 Mayıs 2018 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesinin organizasyonu ile iki günlük çalıştay düzenlenmesi amaçlanmıştır. Çalıştay süresince farklı disiplinlere mensup araştırmacılar son yıllarda yaptıkları araştırma sonuçlarını sunacaklar, akademik birikimlerini paylaşacaklar ve ilgili sektör temsilcileri ile bir araya geleceklerdir. Çalıştay kapsamında ülkemizden algal biyoteknoloji, Japonya’dan su ürünleri yetiştiriciliği, İspanya’dan farmakoloji, Birleşik Krallık’dan balık hastalıkları, Almanya’dan işleme teknolojisi alanlarında uygulanan biyoteknolojik yöntemler konusunda bilgi verecek olan davetli konuşmacılar yer alacaklardır. Böylece, Su Bilimleri alanında geniş bir yelpazede yapılan araştırmalar katılımcılara sunulacak, bilgi alışverişinde bulunulacaktır.

Çalıştayı, “Su Bilimleri” alanında çalışmalarda bulunan bilim insanlarına, özellikle genç araştırmacılara ve ilgili sektörlerle faydası sağlayacağı inancındayız. Çalıştay süresince oluşacak bilgi paylaşımı ile oluşacak motivasyon sonucu yeni çalışma gruplarının oluşacağı ve su bilimleri alanında AR-GE çıktıları ve yaygın etkisi yüksek proje ortaklıklarının kurulacağı, Biyoteknoloji alanında çalışan kamu

ve özel sektör temsilcilerine kayda değer şekilde kazanımlar sağlayacağı inancındayız.

Ev sahibi kurum olarak sizleri İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi'nde görmekten büyük mutluluk duyacağımızı belirtir, katkılarınız için şimdiden teşekkür ederiz.

Saygılarımızla,
Prof. Dr. Devrim Memiş
Doç. Dr. Aygöl Ekici

FOREWORD

Dear Participants,

Biotechnological applications in aquatic sciences are among the most frequently used methods both in the sector and academia. Biotechnology based studies have a wide range of use, from microbiology to algal biotechnology, from aquaculture to diseases of aquatic organisms, from fish genetics to product development. On the other hand, priority is given in the biotechnological researches for the solution of problems related to climate change which became more evident in the last years.

Since “water” and “aquatic organisms” are subjects of many inter-disciplinary scientific research studies, biotechnology and molecular based studies provide an opportunity to the researchers from diverse disciplines to work together. With this aim, a two-days workshop on May 10-11, 2018 was scheduled under the organization of Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences with the participation of researchers from various academic units where the “biotechnological methods” are used and studies on “Aquatic Sciences” are conducted, such as the faculties of Aquatic Sciences, Fisheries, Fisheries Technology Engineering, Natural Sciences, Agriculture, Medicine, Engineering and programmes of Molecular Biology and Genetics, Biology, Environment Engineering and other related programmes of Engineering faculties and institutes of marine sciences. During the workshop, researchers from diverse disciplines are going to present the results of their recent studies, share their academic background and meet with the representatives of the related sectors. With the scope of the workshop program, invited speakers will make speeches on algal biotechnology (from Turkey), aquaculture (from Japan), pharmacology (from Spain), fish diseases (United Kingdom) and seafood processing technologies (from Germany). Thus, researches on a wide range of aquatic sciences will be presented to the participants and mass data will be shared.

We believe that this workshop will provide benefits to the scientists, especially the young researchers, and to the representatives of the related sectors. With the information exchange and motivation created during the workshop, we also believe that new study-groups will be constituted, partnerships for the projects on aquatic sciences with high R&D deliverables and widespread impacts will be consociated

Su Bilimlerinde Biyoteknoloji Çalıştayı 10-11 Mayıs 2018, İstanbul,
Workshop on Biotechnology in Aquatic Sciences May 10-11, 2018, İstanbul

and wide achievements will be provided to the public and private sector representatives working on biotechnological applications.

As the hosting-institution, we would like to state that we will very pleased to see you in İstanbul University Faculty of Aquatic Sciences and we would like to thank you for your participation.

Kind Regards,
Prof. Devrim MEMİŞ
Assoc.Prof. Aygöl EKİCİ



KURULLAR / COMMITTEES

BİLİMSEL KURUL / SCIENTIFIC COMMITTEE

- Prof. Dr. Devrim MEMİŞ**, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Deniz ÇOBAN, Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Haydar BAĞIŞ, Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Prof. Dr. İsmihan KARAYÜCEL, Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Meltem CONK DALAY, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Orhan İNCE, İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi
Prof. Dr. Reyhan AKÇAALAN ALBAY, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Sezen ARAT, Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. Aygül EKİCİ, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. Emre KESKİN, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Doç. Dr. M. Didem ERCAN, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. Tülin ARSLAN, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ, Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Berat HAZNEDAROĞLU, Boğaziçi Üniversitesi Çevre Bilimleri Enstitüsü
Dr. Öğr. Üyesi Güneş YAMANER, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Kaan YILANCIOĞLU, Üsküdar Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

DÜZENLEME KURULU / LOCAL ORGANIZING COMMITTEE

- Prof. Dr. Devrim MEMİŞ
Doç. Dr. Aygül EKİCİ
Doç. Dr. Menekşe Didem ERCAN
Dr. Öğr. Üyesi Deniz D. TOSUN
Dr. Öğr. Üyesi Güneş YAMANER

SEKRETERYA / SECRETARIAT

Araş. Gör. Dr. Çiğdem ÜRKÜ

Araş. Gör. Gökhan TUNÇELLİ

Araş. Gör. Merve TINKİR

TEKNİK DESTEK / TECHNICAL SUPPORT

Araş. Gör. Dr. Özgür ÇANAK

Yüksek Lisans Öğrencisi İlker KESKİN

Doktora Öğrencisi Ege GÜNGÖR

Yüksek Lisans Öğrencisi Talya AKAR

Yüksek Mühendis Sude ATMACA

BİLİMSEL PROGRAM / SCIENTIFIC PROGRAMME

	BİLİMSEL PROGRAM/SCIENTIFIC PROGRAMME
	10 Mayıs 2018 Perşembe
08:30-09:30	Kayıt/Registration
09:30-09:35	Açılış Töreni/Opening Ceremony
09:35-09:40	Doç.Dr. Aygül EKİCİ (Çalıştay Başkanı) Açılış Konuşması/Opening Speech
09:40-09:55	Prof.Dr. Meriç ALBAY (Su Bilimleri Fakültesi Dekanı) Açılış Konuşması/Opening Speech
09:55-10:10	Dr. Altuğ ATALAY (T.C.Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürü)
10:10-10:30	Prof.Dr. Mahmut AK (İstanbul Üniversitesi Rektörü) Açılış Konuşması/Opening Speech
1. OTURUM	Oturum Başkanı Prof. Dr. Özkan ÖZDEN
10:30-11:10	Davetli Konuşmacı/Invited Speaker Prof.Dr. rer.nat. Carsten HARMS Recent Developments in Biotechnology Applications Used in Seafood Processing Technology
11:10-11:30	Koliform, <i>Escherichia coli</i> ve Enterokok Sayımı için Mevcut Canlılık QPCR Testlerinin Yeni Bir Metod ile Karşılaştırması - Comparison of a New Method to Available Viability qPCR Assays for Quantification of Coliforms, <i>Escherichia coli</i> , and Enterococcus <u>Canan KETRE</u> , Mustafa KOLUKIRIK, Orhan İNCE
11:30-11:50	Türkiye Denizlerinde Yaşayan Scombridae Türlerinin Dna Barkodlaması - DNA Barcoding of Scombrid Fish Species From Turkish Waters Can ÖNEL, <u>Yılmaz ÇİFTÇİ</u>
11:50-12:10	Biyoteknolojik Ürün Olarak "Su Ürünleri" - "Aquatic Materials" as a biotechnological product <u>Özkan ÖZDEN</u> , İdil CAN, Nuray ERKAN
12:10-13:30	Öğle Yemeği Arası /Lunch
2. OTURUM	Oturum Başkanı Prof.Dr. Orhan İNCE
13:30-14:10	Davetli Konuşmacı/Invited Speaker Dr Simon MACKENZIE The Long Migration; Taking Biotechnology From the Lab to the Farm in Aquaculture

14:10-14:30	Balık Sağlığı Yönetiminde Biyoteknolojik Uygulamalar - Biotechnology Applications in Fish Health Management <u>Özgür ÇANAK</u> , <u>M. Didem ERCAN</u> , Süheyla KARATAŞ STEINUM
14:30-15:00	Transgenik Canlı ve Zebra Balık Üretiminde CRISPR/Cas9 Teknolojisinin Kullanımı - Transgenic Animal and Zebra Fish Production Using CRISPR-Cas9 Technology <u>Haydar BAĞIŞ</u>
15:00-15:20	Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Cinsiyet Kontrolü - Sex Control in Aquaculture <u>Tülin ARSLAN</u>
15:20-15:30	Serkan Hamza Midye Çiftliği Tanıtım Konuşması
15:30-16:00	Kahve Arası /Coffee Break
3. OTURUM	Oturum Başkanı Prof.Dr. Meltem CONK DALAY
16:00-16:40	Davetli Konuşmacı/Invited Speaker Dr.Öğ.Üye Berat HAZNEDAROĞLU Algal Biotechnology at the Food-Water-Energy Nexus
16:40-17:00	Doğal Ekosistemlerde Moleküler Yöntemlerin Uygulanması: Karadeniz'de Zooplankton Tayini İçin Hızlı Bir Yöntem - Application of Molecular Methods in Natural Ecosystems: A Quick Method to Identify Zooplankton Species in Black Sea Orhan İNCE, İbrahim MIRALIOĞLU, <u>E. Gözde ÖZBAYRAM</u> , Bahar İNCE
17:00-17:20	Işık Şiddetinin Kabarcık Kolon Fotobiyoreaktörde Büyütülen Diatom <i>Cyclotella cryptica</i> 'nın Lipit ve Kitin Nanofiberi Üretim Seçiciliğine Etkileri - Effects of Light Intensity on the Selectivity of Lipid and Chitin Nanofiber Production During Photobioreactor Cultivation of the Diatom <i>Cyclotella cryptica</i> <u>Altan ÖZKAN</u> , Gregory RORRER
17:20-17:50	Biyodizel Üretimi için Mikroalg Hücresel Yağ Miktarını Arttırmada Yeni Bir Yaklaşım; Oksidatif stres - A New Approach to Increase Microalgae Cellular Lipid Content for Biodiesel Production; Oxidative Stress <u>Kaan YILANCIOĞLU</u> , Nilay YÖNET, Betül Eren KESKİN, Seda KUŞOĞLU, Ecem KAPLAN
19:00-22:00	Gala Yemeği /Dinner (ALPEK HOTEL-Eminönü)

11 Mayıs 2018 Cuma	
4. OTURUM	Oturum Başkanı Prof.Dr. Deniz ÇOBAN
09:00-09:40	Davetli Konuşmacı/Invited Speaker Assoc.Prof. Taiju SAITO Surrogate production in fish
09:40-10:00	Sudak Balığı (<i>Sander lucioperca</i>) Erken Evre Germ Hücresi İzolasyonu - Isolation of Early Stages of Germ Cells In Pikeperch (<i>Sander lucioperca</i>) <u>Ege GÜNGÖR</u> , Martin PŠENÍČKA, Hilal GÜRALP
10:00-10:20	Balıkçılıkta Uygulanan Genetik ve Biyoteknolojik Çalışmalar - Genetic and Biotechnological Studies in Fisheries <u>Hale BAĞCIVAN</u> , Mehmet AYDIN
10:20-10:40	İzogenik Klonal Balık Hatlarının Geliştirilmesi ve Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri Kullanarak Verifikasyonu - Development and Verification of Isogenic Clonal Fish Lines Using Next Generation Sequencing Technologies <u>Münevver ORAL</u> , Michaël BEKAERT, John B TAGGART, Brendan J MCANDREW, David J PENMAN
10:40-11:00	Kahve Arası /Coffee Break
5. OTURUM	Oturum Başkanı Doç.Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ
11:00-11:20	Yumurtlama Zamanının Fotoperiyodik Olarak Değiştirilmesinin Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri - The Effects of Photoperiodic Manipulation of Spawning Time on Egg Quality <u>Deniz ÇOBAN</u>
11:20-11:40	Fotoperiyot Uygulanan Gökkuşığı Alabalıklarında (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mevsim Dışı Gamet Elde Edilmesi - Out-Season Gametes In Rainbow Trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) By Photoperiod Application <u>Momin MOMİN</u> , Devrim MEMİŞ
11:40-12:00	Ginogenetik Albino Gökkuşığı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Üretimi - Production of Gynogenetic Albino Rainbow Trout <u>Rahmi Can ÖZDEMİR</u> , Aygül EKİCİ
12:00-12:20	Balık Beslemede Uygulanan Biyoteknolojik Yaklaşımlar - Biotechnological Approaches in Fish Nutrition Ebru YILMAZ, <u>Nuran KÜÇÜKOSMAN</u>

12:20-13:30	Öğle Yemeği Arası /Lunch
6. OTURUM	Oturum Başkanı Prof.Dr. Reyhan AKÇAALAN ALBAY
13:30-14:10	Davetli Konuşmacı /Invited Speaker Prof. Dr. Luis BOTANA Marine toxins as potential drug leads
14:10-14:30	Dünyada ve Türkiye’de Algal Biyoteknoloji -Algal Biotechnology in the World and Turkey <u>Meltem CONK DALAY</u>
14:30-14:50	Ozonlama Sonrası Ultrases Kullanımıyla Mikroalg Hücre Parçalama Veriminin Arttırması - Increasing Microalgal Cell Disruption Efficiency by Successive Application of Ozonation and Sonication <u>Ülker Diler KERİŞ ŞEN, Ünal ŞEN, Mirat D. GÜROL</u>
14:50-15:10	Sucul ekosistemlerde Alg Artışlarının İzlenmesinde Moleküler Metodların Kullanımı - Usage of Molecular Methods in Monitoring of Algal Blooms in Aquatic Ecosystems <u>Reyhan AKÇAALAN, Latife KÖKER, Meriç ALBAY</u>
15:10-15:30	Kahve Arası /Coffee Break
7. OTURUM	Oturum Başkanı Doç.Dr. Tülin ARSLAN
15:30-15:50	Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Sperminin Kriyoprezervasyonunda L-triptofanın Etkisinin Belirlenmesi - Effect of L-tryptophan on sperm cryopreservation in rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) <u>Mehmet KOCABAŞ, Filiz KUTLUYER</u>
15:50-16:10	Kaynak Alabalığı (<i>Salvelinus fontinalis</i>) Sperminin Kısa Süreli Muhafazasında L-triptofanın Etkisinin Belirlenmesi -Determination of the effect of L-tryptophan on Short-term Storage of Brook Trout (<i>Salvelinus fontinalis</i>) Spermatozoa <u>Filiz KUTLUYER, Mehmet KOCABAŞ, Nadir BAŞÇINAR</u>

16:10-16:30	Gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Sperm Motilite Parametrelerinin Bilgisayarlı Otomatik SpermAnaliz Sisteminde (CASA) İki Farklı Lam kullanılarak İncelenmesi ve Sonuçların Döllenme Yüzdesi ile Karşılaştırılması - Investigation of Rainbow (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Trout Sperm Motility Parameters Using Two Different Chambers with Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) System and Comparison of the Results with Fertilization Percentage <u>Güneş YAMANER</u> , Gökhan TUNÇELLİ, Momin MOMİN, Devrim MEMİŞ
16:30-16:50	Cambaridae (Eklembacaklılar: Kabuklular: Onbacaklılar) Familyasından 3 Farklı Kerevit Türünün (Cambarus robustus, Orconectes propinquus ve Orconectes rusticus) Sperm Hücrelerinin Mikroskobik Yapısının İncelenmesi: Karşılaştırmalı Biyometrik Çalışma - Fine Structure of the Spermatozoon in Three Species of Cambaridae (Arthropoda: Crustacea: Decapoda) Cambarus robustus, Orconectes propinquus and Orconectes rusticus: A Comparative Biometrical Study <u>Buket YAZICIOĞLU</u> , Přemek HAMR, Pavel KOZÁK, Antonín KOUBA, Hamid NİKSİRAT
16:50-17:10	Kahve Arası /Coffee Break
17:10-18:30	Çalıştay Değerlendirmesi /Evaluation of Workshop



SÖZLÜ SUNUMLARIN ÖZETLERİ

ABSTRACTS of ORAL PRESENTATIONS

DAVETLİ KONUŞMACI / INVITED SPEAKER

Algal Biotechnology at the Food-Water- Energy (FWE) Nexus

Berat Z. HAZNEDAROĞLU

Institute of Environmental Sciences, Boğaziçi University, İstanbul/Turkey
berat.haznedaroglu@boun.edu.tr

Production of renewable and sustainable bioproducts is of long-term importance for both scientific and political necessities. Ongoing reliance of fossil fuels has increased the amount of greenhouse gases in the atmosphere and their limited reserves do not align with sustainable development goals. Meanwhile, the most effective and sustainable solutions to address the challenge of global climate change, require better understanding and consideration of the relationship and inter/cross-dependencies between food, water, and energy sectors, better known as the FWE nexus. This phenomenon has been verbalized by the UK chief scientist, Sir John Beddington, who has warned us “by 2030 a ‘perfect storm’ of food shortages, scarce water, and insufficient energy resources threaten to unleash public unrest, cross-border conflicts, and mass migration as people flee from the worst-affected regions.” (Beddington, J., 2009). Coastal cities like İstanbul, will be among the worst affected areas both because of sea-level rise and marine storms, and also because they are home for the vast majority of people in the world. Recently, studies on FWE nexus have been strongly promoted as a global research agenda and emerging development paradigm for a bioeconomy driven future as an alternative to the heavy dependence on fossil resources. At the core of all nexus these studies, it is highlighted that natural resource scarcities and the recognition of food, water, energy, and other resources are interlinked within a complex web of relations where resource use and availability are co- and inter-dependent. As a result of this complex network of dependencies, policymakers and stakeholders of all FEW sectors need to face the significant challenge of accounting for synergies, tensions and potential trade-offs between food, water, energy, and environment at multiple spatial and temporal scales (Howells and Rogner, 2014). Combining global resource pressures with the climate change and other related threats such as population increase, and depletion of natural resources also open up opportunities for new ideas, approaches and collaborations.

Here, we turn our focus to sustainable feedstocks that can answer to different aspects and requirements of the FEW nexus which also holds promise for large scale production with economical feasibility. For the last few decades there is a

growing interest in using micro and macro-algae biomass to produce several value added bioproducts, catalyzed by their potentially favorable greenhouse gas and land use sustainability metrics, rapid biomass production rates, and high solar conversion efficiencies. Owing to their high carbon-capture rates and photosynthetic efficiency make algae species a promising feedstock for a bioeconomy driven future and applications for food, energy, and water sectors make. Several examples of biotechnological applications are already on their way to respective markets while generating a key bridge at FEW nexus. Biofuels such as biomethane, biohydrogen, biodiesel, biojet fuel, and bioethanol are among the several examples that can meet energy demands at various scales and usages. For the food sector, food supplements and nutraceuticals, food colorants, feed formulations for livestock including aquaculturing are the top products that can be obtained from several algal species. In addition, certain algae species capable of nitrogen fixation, mostly cyanobacteria strains, offer biofertilizer opportunities opening new avenues for sustainable agriculture practices for growing all conventional crops. For water sector, as most algae species are marine and capable of growing in saline waters decrease the dependency of fresh water resources during the cultivation of algal species. In addition, due to their nitrogen and phosphorus requirements similar to other plant species, algae can utilize these macronutrients from several waste streams including but not limited to waste water treatment plants, food processing industries, animal husbandries, etc. If successfully operated, algae species will prevent the excess nutrients reaching surface water systems and decrease eutrophication which is a major threat to aquatic life in many ecosystems. Moreover, the bioremediation potential of algae species are not only limited to removal of nitrogen and phosphorus, but also include several heavy metals. Certain algae species are capable of synthesizing peptide molecules that can be used for the removal of these contaminants from various environments (a.k.a. phycoremediation). As can be seen, algae species also offer water quality prospects, another key contribution for the FEW nexus. It should also be highlighted that, apart from the final application of the algal biomass, removal of carbon dioxide during the cultivation, brings additional benefits to manage a carbon balance and provide utilization of captured carbon and related cost reduction.

In summary, during this keynote talk, several examples of biotechnological applications of microalgae will be provided from the context of food-water-energy (FWE) nexus. Ever increasing demands driven by population increase and threats posed by global climate change create a significant threat in accessing food, energy and water in near terms. This multi-faceted challenge brings us to consider feedstocks offering solutions at FWE nexus. Therefore, microalgal biomass utilized

to generate food, feed, fertilizer and fuel will be a significant step towards meeting these challenges and maintaining a sustainable FEW nexus.

References

Beddington, John (2009). 'Food, Energy, Water and the Climate: A Perfect Storm of Global Events?' Chief Scientific Adviser to HM Government. London: Government Office for Science.

Howells, B. and Rogner, R. H. (2014). Water-energy nexus: Assessing integrated systems. *Nature Climate Change* 4, pp. 246–247.

DAVETLİ KONUŞMACI / INVITED SPEAKER

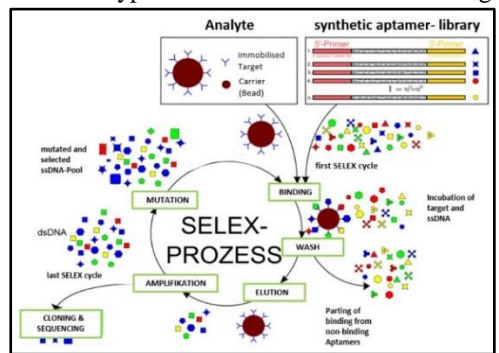
Recent Developments in Biotechnology Applications Used in Seafood Processing Technology

Carsten HARMS, Anna Lena SCHOMACKER, Talina BENEDIX

University of Applied Sciences Bremerhaven, Bremerhaven Institute for Applied Molecular Biology (Biamol), Bremerhaven/Germany

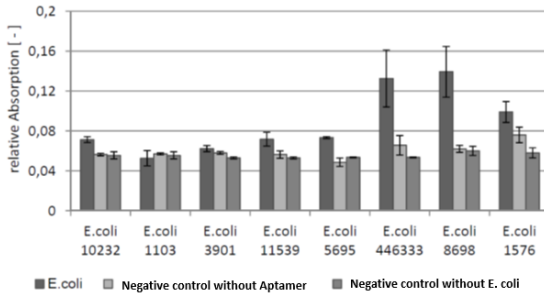
cgharms@icloud.com

Aptamers are short and flexible ssDNA or RNA oligonucleotides that consists of 40-70 bases. They can form a 3-D conformation by which they bind specifically and with a high affinity to non-Oligonucleotides from small molecules and proteins to whole cells. Aptamers are selected within an in vitro selection-process called SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential Enrichment). With this interactive process, it is possible to select unique RNA and DNA sequences out of up to 10^{15} randomly sequenced Oligo-nucleotides (aptamer-library). The SELEX-process is divided into three main parts, which are repeated in cycles under gradually increasing conditions (e.g. stringency). The functionality and target range of aptamers can be compared to antibodies. They bind with high affinity (nano- to pikomolar) and can distinguish between Serotypes. The reason for their fitting accuracy are electric interplay, hydrogen bridge bonds as well as their highly variable nucleotide sequence. Due to their high affinity and specificity aptamers can be an adequate supersede to antibodies or other bio-recreating receptors for the development of biosensors and other analytic methods. There are several benefits compared to antibodies: They can be reused due to self-folding, cost-efficient production (synthesis by PCR), selection under specific parameters (not only isotone) and they could easily be modified (e.g. dye, biotin, tags).

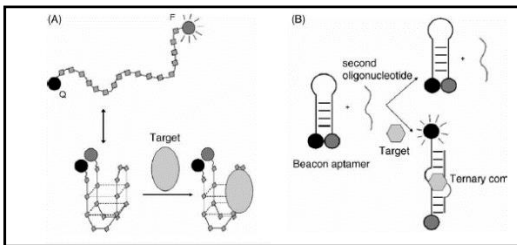


Pic.1. SELEX consist of five selection steps: 1. Binding, 2. Washing, 3. Elution, 4. Amplification and 5. Mutation (if necessary). These five steps can be repeated several time until the appropriate affinity to the target molecules is obtained.

The application of aptamers as biocomponents in microfluidic detection systems like biosensors is motivated by these advantages. Our main expertise lies in the functionalisation of biosensor surfaces to create innovative detection systems for pathogen bacteria and viruses or harmful toxins. It is possible to develop different concepts to supersede or support antibody based assays individually for different targets and matrices as well as for electrochemical or colorimetric/ fluorescence signal transduction. The rapid expansion of aptamer-based biosensors and assays in recent years shows the potential for a quick and cost-saving detection. Today there is no limitation towards aptamer-targets anymore, therefore aptamers hold an unlimited potential in the use for diagnostic applications. Without an immobilisation, signalling-aptamers, similar to molecular beacons, can be utilised for signalling the presence of non-nucleic acid analytes in any conceivable area and matrices with different modifications possible i.e. fluorescence-quencher systems or structure-switch (pic. 2). Most recent the innovative biosensor platforms, also called aptasensors, are used in the field of therapeutics and medicine for e.g. cancer clinical testing (bio-imaging), drug delivery system or detection of infectious microorganisms and viruses. This is only possible due to the functionality of aptamers under specific parameters like lymphatic fluid or seawater.



Pic. 2. Use of aptamers as signalling molecules (aptasensors). A) Changes in conformation results in quenching of fluorescence based on FRET. B) Opposite approach of FRET. Aptamer will not emit fluorescence unless the target has been bound [2].



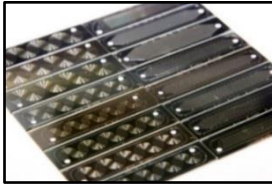
Pic. 3. Specificity of aptamers. Aptamers show different affinities to different serotypes of *E. coli*. As a result of selection (SELEX) the aptamers showed differences in specification against their targets (here different serotypes of *E. coli*).

For the immobilisation of aptamers individual ways have to be experimentally analysed for different surfaces such as polymers to result in an optimal adhesion so that the aptamers are directed functionally towards their target without conformational changes (pic.

3). Another main point during the surface functionalization with aptamers was that these still need to show a high reactivity towards their target after immobilization (pic. 4). This was the most critical task since aptamers underlie easily conformational changes e.g. due to electrical charges or pH variations. The *E. coli* cells were recognized specifically by the aptamer and as expected the aptamer showed a different affinity to different serotypes of *E. coli* (the SELEX was performed towards strain DSM 1576). The functionalised surfaces need to have the feature that they can be stored without a loss of reactivity over a period of time, so that the aptasensors can be produced economically.

Microfluidic applications for a sensitive and specific detection of bacteria, virus particles and small chemical compounds

Biosensors comprise a closed system for specific quantitative or semi quantitative analyte-recognition. They are based on a biological recognition unit, a signal transducer which transfers the biological reaction into a measurable signal and a module for the data evaluation. Biosensors can be classified as biological or physical according to their specifications, which can be the biochemical recognition



Pic. 4. Different geometry of developed microfluidic chips

or the technology for the signal transduction. Microfluidic chips often used as biosensors consist usually of structures in the micro-meter scale. For the fabrication process of microfluidic systems glass and silicon were used at first but with the disadvantage of high costs. In the meantime polymers like PDMS are used for the production of microfluidic devices. They are translucent, potentially elastic, and cost-effective and can be produced in high amounts in mass production processes. A main advantage is that cross contamination within microfluidic devices can be avoided because they consist of closed systems.

References

- Jayasena, S. D., 1999. *Clinical Chemistry*, Vol. 45, No. 9, p 1628 – 1650
- Tombelli, S., Minunni, M., Mascini, M., 2005. *Biosensors and Bioelectronics*, Vol. 20, p 2424 – 2434
- Toh, S. Y., Citartan, M., Gopinath, S. C. B., Tang, T.-H., 2015. *Biosensors and Bioelectronics*, Vol. 64, p 392 – 403
- Rajendran, M., Ellington, A.D., 2002. *Linger and Taitt Edition*, p 369-396
- Lee, K.Y., Kang, H., Ryu, S.H., Lee, D.S., Lee, J.H., Kim, S., 2010. *J. Biomed. Biochnol.*
- Song, K.-M., Lee, S., Ban, C., 2012. *Sensors*, Vol. 12, p 612-631
- Lupold, S.E., Hicke, B.J., Lin, Y., Coffey, D.S., 2002. *Cancer Res.* Vol. 62, p 4029 – 4033.
- Luo, C., Lei, Y., Yan, L., Yu, T., Li, Q., Zhang, D., Ding, S., Ju, H., 2012. *Electroanalysis*, Vol. 24, No. 5, p 1186 – 1191

Fang, Z., Wu, W., Lu, X., Zeng, L., 2014. Biosensors and Bioelectronics, Vol. 56, p 92 – 197

Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson, G.S., 2001. Toxsens. Bioelectron. 16, p 121-131.

Hong, J.W., Quake, S.R., 2003. Nature Biotechnology vol. 21, p 1179-1183.

Situma, C., Hashimoto, M., Soper, S.A., 2006. Biomolecular Engineering 23, p 213-231.

Whitesides, G.M., 2006. Nature, vol. 442, 368-373.

DAVETLİ KONUŞMACI / INVITED SPEAKER

Marine Toxins as Potential Drug Leads

Luis M BOTANA

*Pharmacology, Faculty of Veterinary, University of Santiago of Compostela,
Lugo/Spain*
luis.botana@usc.es

Marine toxins are a large group of compounds with very different privileged structures. They are produced by over 100 different species of dinoflagellates or by some diatoms, and their ecological role is not understood, although they are considered in the unspecific biochemical group of secondary metabolites. Their mode of action expands to many targets, but mechanistically they can be regarded as neurotoxic and non-neurotoxic. Those with neuronal targets belong to several groups, each with a defined reference compound, namely saxitoxin, tetrodotoxin, brevetoxin, spirolide, ciguatoxin, domoic acid. Non neurotoxic toxins are yessotoxin, azaspiracid, pectenotoxin, palytoxin, maitotoxin, and okadaic acid, each with partially understood mechanisms of action. This presentation will discuss about the target for each toxin group, and their potential application in the therapeutic field, specially cancer, Alzheimer and inflammation. The therapeutic potential use is limited by the complex chemistry of these type of compounds, and therefore it is important to obtain a simple phamacophore for each toxin group from which to build new structures.

The main targets that can be modulated with toxins groups are as follows:

- 1) Saxitoxin, Tetrodotoxin and analogs. More than 50 different compounds. There is a fundamental difference between both, as saxitoxin is produce by dinoflagellates (*Gymnodinium*), and tetrodotoxin is produced by bacteria. They have the same mechanism of action, as they target site 5 of the voltage dependent sodium channel. Their potential use is for analgesia and chronic pain.
- 2) Brevetoxin and ciguatoxin, they are polyeter-ladder like structures, produced by dinoflagellates of the genus *Karenia* and *Gambierdiscus*, and they target site 5 of the voltage dependent sodium channel. Their therapeutic use is not fully disclosed yet.

- 3) Spirolides, along with several other cyclic imines (prorocentrimine, pinnatoxin, prorocentrolide, pteriatoxins, portimine, gymnodimine, etc), they are produced by several dinoflagellate species, and their main action is the blockade of nicotinic receptors. Although their mechanism of action would theroretically promote Alzheimer-like sytoms, these families of compounds has been demonstrated to reduce markedly Alzheimer markers, and hence their use in this field is promising.
- 4) Domoic acid, produced by Pseudo-nitzschia diatoms interacts with kainate receptors, but so far no therapeutic use has been identified for this family of compounds.
- 5) Yessotoxin, produced by Lingulodinium species, is by far the most promising marine toxin. Its mechanism of action is not fully dilucidated yet, but is main effect is related to activation of phosphodiesterase type 4A, with several crosstalks with mitochondrial function, MAP kinases and others. The complex mode of action of yessoxin has been demonstrated to be very effective for cancer (effective for the majority of tumor cell lines), but also for metabolic diseases, Alzheimer and allergy. The reason to this prolific potential of this compounds relies on the target itself, that is common to many transduction pathways.
- 6) Azaspiracids, produced by Azadinium, remain a mistery with regard to their mode of action, and although several possible targets were proposed, there is so far no clear therapeutic use proposed.
- 7) Pectenotoxin, produced by the same species that produce okadaic acid and analogs (Dinophysis), has been identified as an inhibitor of F-actin, and its potential use is the inhibition of growth of tumoral cells.
- 8) Palytoxin, produced by Ostreopsis, also producer of ovatoxins and ostreocins, is a group of many millions of stereoisomeric analogs. Their mode of action is the blockade of Na-K ATPases, but their extreme toxicity in the nanomolar range (it is regarded as the most toxic compound in nature) precludes their potential use in therapeutics.
- 9) Maitotoxin, produce by the same species that produce ciguatoxin, is also a very large family of extremely toxic compounds. They tartet TRP receptors, and their potential therapeutic use in currently under study.
- 10) Okadaic acid and analogs (dinophysistoxins), produced by Dinophysis genus, is a well known blocker of protein phosphatases 2A. Their effect is yet to be linked to a potential therapeutic use.

References

- Alfonso A, Vieytes MR, Botana LM. Yessotoxin, a Promising Therapeutic Tool. *Mar Drugs*. 2016;14(2).
- Fernandez-Araujo A, Sanchez JA, Alfonso A, Vieytes MR, Botana LM. Different toxic effects of YTX in tumor K-562 and lymphoblastoid cell lines. *Front Pharmacol*. 2015;6:124.
- Fernandez-Araujo A, Alfonso A, Vieytes MR, Botana LM. Yessotoxin activates cell death pathways independent of Protein Kinase C in K-562 human leukemic cell line. *Toxicol In Vitro*. 2015;29(7):1545-54.
- Rubiolo JA, Lopez-Alonso H, Martinez P, Millan A, Cagide E, Vieytes MR, et al. Yessotoxin induces ER-stress followed by autophagic cell death in glioma cells mediated by mTOR and BNIP3. *Cell Signal*. 2014;26(2):419-32
- Botana LM, Alfonso A, Vale C, Vilariño N, Rubiolo J, Alonso E, et al. The mechanistic complexities of phycotoxins: toxicology of azaspiracids and yessotoxins. In: Fishbein JC, Heiman JM, editors. *Advances in Molecular Toxicology*. 8. First edition ed. Oxford: Elsevier; 2014. p. 1-33.
- Tobio A, Fernandez-Araujo A, Alfonso A, Botana LM. Role of yessotoxin in calcium and cAMP-crosstalks in primary and K-562 human lymphocytes: the effect is mediated by anchor kinase A mitochondrial proteins. *J Cell Biochem*. 2012;113(12):3752-61.

DAVETLİ KONUŞMACI / INVITED SPEAKER

The Long Migration; Taking Biotechnology from the Lab to the Farm in Aquaculture

Simon MACKENZIE

Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling/UK
simon.mackenzie@stir.ac.uk

Aquaculture is the fastest growing fresh food sector @ 8%pa as an example the global supply of salmonids has increased ca. 40% over the past decade following the global demand for healthy and sustainable protein. Sustainable intensification of aquaculture is a necessity sector-wide to contribute meaningfully to global food security. Growth is however limited by viral and bacteriological diseases which cause large economic losses globally to fish farming industries therefore a key component will be reducing losses to disease. Central to this effort will be to understand the meaning of ‘good’ health and the development of robust health biomarkers that facilitate management in the diverse aquaculture environments found worldwide. Thus informing the early symptoms of impaired animal welfare. In parallel early diagnosis of pathogens is crucial to prevent the spread of disease causing reduced growth.

An integrated approach to research in aquaculture requires significant interdisciplinary effort where diagnostics (pathogen), the host (immunology, nutrition, physiology) and individuals and population (genetics, epidemiology) play central roles. Biotechnology fuels development across the industry at multiple scales ranging from high level technologies such as genome sequencing for selection to directly applicable farm technology such as point of care mobile diagnostics. In this presentation we will consider how a series of different biotechnological applications have impacted upon aquaculture particularly in the area of health either directly as products or significant changes in practise/service or indirectly through the application of –omics technologies to create novel understanding that in turn drives change.

Our capacity to identify pathogens using molecular methods fuelled by increased genomic resources is rapidly changing the diagnostic landscape with significant changes in technology fostering increased opportunity and accessibility. A suite of

technologies including mobile PCR technology, isothermal amplification (RPA) and sequencing approaches significantly impact upon our capacity to identify pathogens under different environmental and culture conditions. However, increased prognostic capacities remain elusive with critical gaps in knowledge remaining. For example, a quantitative understanding of the relationship between pathogen load, health status and disease remains elusive for many important pathogens thus limiting predictive modelling. The application of affordable mobile diagnostic systems providing point of care diagnostics will facilitate new levels of data collection that if matched to population level models will inform more comprehensive health management strategies. Here we will discuss how the use of mobile QPCR platforms can provide added value to aquaculture production systems.

Significant advances are continually being made toward understanding host-pathogen interaction albeit in a limited number of fish species and at the level of the individual. The addition of the zebrafish as a model organism to our research toolkit has greatly increased our understanding of fish immunology for example. Recent studies have shown that fish when infected will increase their body temperature by several degrees by moving to significantly warmer water, this is known as behavioural fever. We have combined both behavioural prophylaxis and molecular diagnostics in a study aimed at mitigating disease in Egyptian tilapia production. Egypt is the second largest tilapia producer globally providing affordable protein for millions of low-income people based on low cost earth pond systems concentrated in the upper Nile Delta. In the last 4 years, mortalities during the summer months have become a growing issue for the sector. Maintaining fish health is problematic in a context where farmers depend on communally accessed agricultural drainage water, on-farm electrification is limited and services offering diagnostic capacity and general technical support are undeveloped. Sustainable intensification of aquaculture is a necessity for the sector to contribute meaningfully to food security. A key component of this is enhancing productivity and reducing losses to disease. Behavioural prophylaxis, the concept of fish challenged by common pathogens being capable of improving their immune response and survival if they can select an optimal temperature regime has been demonstrated in both Zebrafish and Nile tilapia on a laboratory scale. Adapting these principles to commercial aquaculture is now a major priority. We are testing applications by modifying the design of hatchery and pond systems and their

management to improve water quality and allow behavioural adaptation by fish in order to enhance health outcomes and system productivity.

In conclusion, the diversity, value and scale of aquaculture systems strongly impacts upon the focus of health research. Environments in which fish are grown range from intensive closed systems to extensive pond based aquaculture each with a different set of variables. Biotechnology has a huge potential in aquaculture however the challenge remains to translate scientific advances in economically relevant timeframes into real benefits for producers and consumers.

DAVETLİ KONUŞMACI / INVITED SPEAKER

Surrogate Production in Fish

Taiju SAITO

Ehime University, Matsuyama/Japan
taiju76@gmail.com

Surrogate production is a technique of producing gametes of target species or strains by means of surrogate parents (germline chimeras). It is realized by the transplantation of germ line stem cells of the target species/strain into recipients of a surrogate species/strain. This technique has many advantages for seedling production in fish. Transplanting germline stem cells from target fish species with large body size and long reproductive cycle, such as beluga sturgeon (up to seven meters in body length and more than 20 years before the first spawning) into surrogate species such as sterlet sturgeon (less than 120 cm in body length and first spawning within 5 years of age), can dramatically reduce the rearing space and reproduction time required for gamete production of the target fish. Furthermore, gametes can be produced in greater quantities by a judicious choice of the recipient species, as exemplified by transplanting zebrafish germline stem cells (up to 1 μ l sperm) into goldfish (more than 50 μ l sperm).

The surrogate production technique has been developed based on experiments done in the 1990s. One such experiment was in mice, in which spermatogonia from fertile donors were transplanted into recipient seminiferous tubules to repopulate sterile adult testes. Another, in fish, included the transplantation of blastomeres into embryos from one strain to another in zebrafish and medaka, respectively, with the perspective of understanding the mechanism of embryonic development. These experiments demonstrated that transplanted donor-derived germ cells are able to differentiate into functional gametes in the recipient's environment. From the 2000s, there have been attempts to apply this idea for seedling production in fish. Challenges that needed to be overcome in order to make this practical for surrogate production in an aquaculture setting included perfection of the methods of transplantation and sterilization.

Methods for producing germline chimera

Transplanted donor germ cells need to be localized in the gonads of recipient fish. To achieve this, germ cells at various stages have been transplanted into different developmental stages of recipients in many fish models, leading to some

remarkable techniques for the transplantation of germ line stem cells. 1) Transplantation of primordial germ cells (PGCs) into a recipient embryo at the blastula stage. In this technique, transplantation of a single PGC is enough to induce a functional surrogate parent. However, PGCs must be visualized with the help of a fluorescent marker such as GFP in the early embryonic stages for isolation and transplantation. In addition, the transplantation procedure requires special equipment such as fluorescence stereomicroscope, micromanipulator, and microinjector. 2) Transplantation of gonial cells (spermatogonia or oogonia, collected from adult gonads and possibly including gonadal stem cells) into the body cavity of hatched larva (of size 3 mm to 2 cm, depending on fish species). This latter technique is comparatively easier, although it also requires the same equipment of stereomicroscope, micromanipulator, and microinjector for the transplantation. As a result, transplantation of gonial cells is the major strategy used today to produce germline chimera in many fish species. 3) Transplantation of gonial cells (with the possible inclusion of stem cells) into gonads via the genital papilla of adult fish. In this slight variation, the gonial cells are again collected from adult gonads as in the second technique above. Although this method uses a common syringe for transplantation, a large suspension of gonial cells is required for the transplantation in order to fill the gonads with donor germ cells.

Recipient sterilization methods

Efficient production of donor-derived gametes is most important for the success of surrogacy. The surrogate parents (germline chimera) possess both donor- and recipient (own) germ cells in their gonads if they are not sterilized before the germ cell transplantation, and will produce their own gametes dominantly. Furthermore, the mixture of gametes tends to result in unwanted hybrid or mixed offspring. Therefore, complete sterilization of the recipient is essential before transplanting the donor cells. Several techniques have been reported for induction of sterilization in fish. 1) Triploidization. In general, triploid females do not produce mature eggs and triploid males rarely produce mature sperm. However, triploid germ cells remain in the gonads and develop normally into the mitotic stage, subjecting the transplanted donor germ cells to competition with the endogenous germ cells for niches in the gonads. This may result in low amounts of donor-derived gametes. 2) Hybridization. Here, artificial insemination is used to produce inter-species hybrids by stripping the parents of eggs and sperm. However, not all inter-species hybrids are sterile, necessitating the examination of the species being hybridized in advance. 3) Removal of PGCs by means of gene knockdown or knockout. Until now, this has been the most reliable method for achieving complete and stable

depletion of germ cells. However, this technique requires microinjection into fertilized eggs and isolation of the target gene. 4) Chemical treatment (such as busulfan) and high temperature treatment of fishes. In general, these techniques are unlikely to lead to complete depletion of germ cells, and will need long periods of treatment for any significant reduction of germ cells. In addition, side effects such as decreased body weight, have been reported.

Thus far, the surrogate production technique has been used with various approaches in multiple fish species belonging to diverse orders. Here, I present an overview of the techniques and highlight the remaining challenges and problems to be tackled in order to make the technology suitable for practical use in aquaculture, along with some examples from our results.

References

- Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:11298–11302.
- Lin S, Long W, Chen J, Hopkins N. Production of Germ-Line Chimeras in Zebrafish by Cell Transplants From Genetically Pigmented to Albino Embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:4519–4523.
- Wakamatsu Y, Ozato K, Hashimoto H, Kinoshita M, Sakaguchi M, Iwamatsu T, Hyodo-Taguchi Y, Tomiya H. Generation of germ-line chimeras in medaka (*Oryzias latipes*). *Mol Mar Biol Biotech* 1993; 2:325–332–332.

Işık Şiddetinin Diyatome *Cyclotella cryptica*'nın Lipit ve Kitin Nanofiberi Üretim Seçiciliğine Etkileri

Altan ÖZKAN¹, Gregory RORRER²

¹ İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Bölümü, İzmir/Türkiye

² Oregon State Üniversitesi Kimya, Biyoloji ve Çevre Mühendisliği Fakültesi,
Corvallis, Oregon/ U.S.A.

altanozkan@iyte.edu.tr

Diyatomeler önemli bir mikroalg grubudur ve diğer mikroalg gruplarından sahip oldukları silikon bazlı hücre duvarları (früstül) ile ayrılırlar. Diyatomelar yüksek biyokütle üretkenliğini yüksek yağ oranlarıyla birleştirebilmeleri nedeniyle biyoyakıt üretimi üzerine pek çok araştırmanın konusu olmuştur. Belli cinslerdeki diyatomelerin benzersiz bir özelliği biyomedikal uygulamalar için ticari olarak da üretilen kitin nanofiberleri sentezlemeleri ve bu fiberleri hücre dışına çıkarmalarıdır. Bu hücrelerdeki kitin veya lipit üretim seçiciliğini kontrol eden biyoproses parametrelerinin belirlenmesi için bu çalışmada şiddeti ayarlanabilir ışık kaynağına sahip bir kabarcık kolon fotobiyoreaktör sistemi kullanılmıştır. Bu sistem kullanılarak beş deney yapılmış ve *Cyclotella cryptica* suşunun biyokütle, lipit ve kitin üretkenliği ışık şiddeti dışında aynı koşullarda çalışılmıştır. Bu deneylerde diyatome kültürleri 35, 70, 220, 370 ve 520 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ ortalama ışık şiddetine (fotosentetik olarak aktif radyasyon) maruz bırakılmıştır. Bu seçilen ışık şiddetleri daha önce bu suşla yapılan fotosentez-ışık eğrisi ölçümlerine göre ışık limitli rejimden satüre rejime kadar değişen bir aralıkta büyütülmelerini sağlamıştır. Diyatome biyokütlesinde bulunan kitin miktarının tayini asit hidrolizinin devamında yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanılarak yapılmıştır. Biyokütlerdeki yağ asidi oranlarındaki değişiklikler yağların transesterifikasyonu sonrası alev iyonlaşma detektörlü bir gaz kromatografi cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, diyatome kültürlerindeki hücre yoğunluğu, çözünmüş silikon ve nitrat konsantrasyonları günlük olarak ölçülmüştür. Elde edilen final kitin konsantrasyonu ışık şiddetine göre farklılık göstermemiş ve farklı fotobiyoreaktör deneylerinde final konsantrasyonu 200 mg/L'de sabit kalmıştır ancak kitin üretim hızı ışık limitli kültürlerde artan ışık şiddetiyle önemli miktarda artmıştır. Bu sonuçlara paralel olarak kültürlerin final hücre yoğunlukları sadece silika konsantrasyonuna göre değişmiş ve hücre bölünme hızı ışık limitli deneylerde artan ışık miktarıyla artmıştır. Diğer taraftan, biyokütle ve lipit üretim parametreleri (hem hız hem final konsantrasyon olarak) ışık limitli koşullarda ışık

şiddetine yüksek derecede bağlı olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar kitin ile hücre üretimleri arasında ve biyokütle ile lipit üretimleri arasında bir bağlantı olabileceğini göstermektedir. Işık limitliden ışık satüre büyüme rejimine geçiş final lipit ve biyokütle konsantrasyonlarında sırasıyla 50'den 500 mg/L'ye ve 600'den 1200 mg/L'ye artışa neden olmuştur. Çalışılan en düşük ışık şiddetinde biyokütlerdeki kitin ve yağ oranı sırasıyla %34 ve %5'ken bu oranlar en yüksek ışık şiddetinde sırasıyla %15 ve %38 olmuştur. Yağ asidi oranlarında önemli bir değişiklik bulunmamıştır. Bu çalışma, ışık şiddetinin diyatome *Cyclotella cryptica*'da kitin ve lipit üretim karakteristiklerine farklı şekilde etki ettiğini bulmuştur. Bu durum ticari uygulamalarda tercih edilen bir metabolitin biyosentezlenmesinin sağlanmasında kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *Diyatome, Kitin, Lipit, Işık şiddeti, Fotobiyoreaktör.*

Effects of Light Intensity on the Selectivity of Lipid and Chitin Nanofiber Production of Diatom *Cyclotella cryptica*

Altan ÖZKAN¹, Gregory RORRER²

¹*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Bölümü, İzmir/Turkey*

²*Oregon State Üniversitesi Kimya, Biyoloji ve Çevre Mühendisliği Fakültesi,
Corvallis, Oregon/ U.S.A.*

altanozkan@iyte.edu.tr

Diatoms are a group of microalgae that are differentiated from other microalgal groups by their silicon-based cell walls (frustules). Diatoms have been the subject of intense research on biofuel production as these microorganisms can combine high areal biomass productivities with high biomass lipid contents. One unique feature of certain genera of diatoms is their ability to biosynthesize and extrude chitin nanofibers that have commercial use in biomedical industry. To elucidate bioprocess parameters that can be used to manipulate the selectivity of chitin vs. lipid formation in these cells, a bubble column photobioreactor was instrumented with an adjustable light source capable of delivering average incident intensities of up to 520 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{-sec}$. Five photobioreactor cultivation experiments were conducted and the biomass, lipid, and chitin productivities of *Cyclotella cryptica* were studied at identical initial process conditions other than the incident light intensities (photosynthetically active radiation) that varied between 35 to 520 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{-sec}$ (35, 70, 220, 370 and 520 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{-sec}$) covering the light limited to light saturated growth regimes according to the photosynthesis-irradiance curve developed for the diatom strain. Chitin contents of the diatom biomass were analyzed with a high-performance liquid chromatograph following acid hydrolysis to glucosamine. The fatty acid profiles of the biomass lipid were assayed after transesterification using a gas chromatograph equipped with a flame ionization detector. Furthermore, diatom cultures were assayed for cell number density, and dissolved silicon and nitrate concentrations daily. Final chitin concentrations obtained were not sensitive to light availability and concentrations of about 200 mg/L were obtained across the light intensities studied but increasing light availability in the linear regime increased the production rate of the metabolite. In parallel to these results, final cell number density of the cultures were controlled only by the silicon availability and the cell production rate increased with increasing incident light intensity until light saturation was reached. On the other hand, both productivity parameters (rate and final concentration) were highly dependent on light availability for biomass and lipid biosynthesis within the light-

limited regime. These results reveal a possible direct relation between chitin and cell biosyntheses, and lipid and biomass productions. Final lipid and biomass concentrations increased from 50 to 500 mg/L and from 600 to 1200 mg/L, respectively, with the transition from the light limited to saturated growth conditions. At the lowest light intensity studied these corresponded to a product yield of 34% for chitin and 5% for lipid. Following light saturation, biomass product yields changed in favor of lipid and resulted in a yield of 15% for chitin and 38% for lipid. The fatty acid distributions were not altered significantly. This study reveals that the influence of light intensity on chitin and lipid production characteristics of the diatom *Cyclotella cryptica* differ significantly and these variations can be utilized for the selective biosynthesis of one metabolite over the other for commercial applications.

Keywords: *Diatom, Chitin, Lipid, Light intensity, Photobioreactor.*

**Cambaridae (Eklembacaklılar: Kabuklular: Onbacaklılar)
Familyasından 3 Farklı Kerevit Türünün (*Cambarus robustus*,
Orconectes propinquus ve *Orconectes rusticus*) Sperm Hücrelerinin
Mikroskopik Yapısının İncelenmesi: Karşılaştırmalı Biyometrik
Çalışma**

**Buket YAZICIOĞLU, Přemek HAMR², Pavel KOZÁK¹,
Antonín KOUBA¹, Hamid NİKSİRAT¹**

¹ *University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and
Protection of Waters, South Bohemian Research Centre of Aquaculture and
Biodiversity of Hydrocenoses, Vodňany/ Czech Republic*

² *Upper Canada College, Toronto/ Canada*

buketyazicioglu@hotmail.com

Bu çalışmada, Cambarid familyasına ait 3 farklı kerevit, *Cambarus robustus*, *Orconectes propinquus* ve *Orconectes rusticus*, türüne ait spermatozoanın mikroskopik yapısı incelenmiş ve daha önce çalışılan farklı familyalara ait 8 kerevit türüyle morfolojik özellikler ve biyometrik veriler kullanılarak karşılaştırılmıştır. Spermatozoanın mikroskopik yapısı, sırasıyla hücrenin ön kısmında bir akrozom ve arka kısmında bir çekirdek ve çekirdeği saran radyal kollar da dâhil olmak üzere, genellikle muhafazalı bir yapıya sahiptir ve hücrenin tamamı bir hücre dışı kapsül ile çevrelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışılan 3 Cambarid kerevit türlerinin sperm hücrelerinde en göze çarpan ayırıcı morfolojik özelliklerden birinin akrozomun ön kısmındaki tepe benzeri çıkıntılar olduğu ve bu familyanın türleri için ayırt edici bir özellik olarak kullanılabilmesi gözlemlenmiştir. Biyometrik verilerin sonuçlarına göre ise; akrozom boyutunun en küçük olduğu familya Parastacidae iken, Astacidae familyasına ait türlerin en büyük akrozoma sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, kerevitlerde sperm hücrelerinin morfolojik özellikleri ve biyometrik verileri kullanılarak türler arasındaki farklılığın ayırt edilmesinde yardımcı olabileceği yapılan çalışma ile ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Akrozom, Çekirdek, Hücre dışı kapsül, Kabuklular, Mikroskopik yapı, Radyal kollar.*

**Fine Structure of the Spermatozoon in Three Species of Cambaridae
(Arthropoda: Crustacea: Decapoda) *Cambarus robustus*, *Orconectes
propinquus* and *Orconectes rusticus*: A Comparative Biometrical Study**

**Buket YAZICIOĞLU, Přemek HAMR², Pavel KOZÁK¹,
Antonín KOUBA¹, Hamid NĪKSĪRAT¹**

¹ *University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and
Protection of Waters, South Bohemian Research Centre of Aquaculture and
Biodiversity of Hydrocenoses, Vodňan/ Czech Republic*

² *Upper Canada College, Toronto/ Canada*

buketyazicioglu@hotmail.com

The ultrastructure of spermatozoa in three species of cambarid crayfish, *Cambarus robustus*, *Orconectes propinquus*, and *Orconectes rusticus*, were studied and compared with eight previously studied species from different crayfish families using morphological features and biometrical data. The ultrastructure of spermatozoa show a generally conserved pattern including an acrosome and nucleus in the anterior and posterior parts of the cell, respectively, radial arms that wrap around the nucleus, and the whole cell is enclosed by an extracellular capsule. The most outstanding morphological feature in spermatozoa of three studied cambarid crayfish is the crest-like protrusions in the anterior part of the acrosome that can be used as one of the features for distinguishing the members of this family. Results of biometrical data reveal that acrosome size in the representatives of Parastacidae are the smallest, while representatives of Astacidae show the biggest acrosome. The acrosome size in species belonging to Cambaridae occupy an intermediate position between the two other families of freshwater crayfish. In conclusion, a combination of morphological features and biometrical data of spermatozoa can help distinguishing different species of the freshwater crayfish.

Keywords: *Decapoda, Acrosome, Extracellular capsule, Radial arms, Nucleus, Ultrastructure.*

Türkiye Denizlerinde Yaşayan Scombridae Türlerinin DNA Barkodlaması

Can ÖNEL, Yılmaz ÇİFTÇİ

*Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi
Mühendisliği Bölümü, Ordu/Türkiye*
yciftci@odu.edu.tr

Bu çalışmada, Scombridae ailesine ait ve ülkemiz denizlerinden örneklenen *Auxis rochei*, *Euthynnus alletteratus*, *Sarda sarda*, *Scomber japonicus*, *Scomber scombrus*, *Scomberomorus commerson*, *Thunnus alalunga* türleri incelenmiştir. Türlerin mtDNA üzerinde bulunan COI gen bölgesi PZR ile çoğaltılmış ve dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizleriyle elde edilen veriler kullanılarak filogenetik analizler gerçekleştirilmiş ve türler arası ilişkiler belirlenmiştir. Çalışmada COI gen bölgesinde 9 haplotip belirlenmiştir. COI gen bölgesi için haplotip çeşitliliği ve nükleotit çeşitliliği sırasıyla Hd:0.912, Pi:0,07854 olarak bulunmuştur. Elde edilen matrikde baz kompozisyonları A:0.2382, C:0.2867, G:0.1874 ve T:0.2878 olarak belirlenmiştir. Filogenetik analizlerde oluşturulan ağaçlar incelendiğinde *S. sarda* haplotiplerinin bir grup, *A. rochei*, *E. alletteratus* haplotiplerinin bir grup, *S. scomber* ve *S. japonicus* haplotiplerinin ise bir grup oluşturduğu ve ayırım gösterdikleri görülmektedir. *T. alalunga* haplotipinin ise *A. rochei*, *E. alletteratus* haplotiplerine yakın durduğu, *S. sarda* haplotiplerinin ise diğer haplotiplere uzak durduğu görülmüştür. Sonuç olarak, sadece taze balıklar üzerine yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile işlenmiş etlerde kullanılan hayvan türleri belirlenebilir. Böylece, basit bir DNA testi ile Türkiye pazarlarında ürün etiketleri üzerinde gıda içeriğinin yanlış tanımlanması ile ilgili durumun araştırılabilmesi mümkün olacaktır. Ayrıca, bu yöntem son derece esnek: mitokondriyal genom üzerinde gen bölgelerine ait sekans bilgileri gen bankaları üzerinden araştırmacılara ve laboratuvar çalışanlarına açık olup hızla hedef dizilerin seçimi ve gerekli analizlerin yapılması her geçen gün artmaktadır. Bu genom bilgileri hala sınırlı olduğu için deniz ve iç su ürünleri türlerinin ayırımı için özellikle önemlidir.

Anahtar Kelimeler: *Scombridae*, Tür ayırımı, DNA Barkodlama, PZR Analizi, mtDNA COI.

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: AR-1210

DNA Barcoding of Scombrid Fish Species From Turkish Waters

Can ÖNEL, Yılmaz ÇİFTÇİ

¹Ordu University, Faculty of Marine Sciences,
Department of Fisheries Technology Engineering, Ordu/ Turkey
yciftci@odu.edu.tr

In this study, the species belongs to the Scombridae family which sampled from our waters; *Auxis rochei*, *Euthynnus alletteratus*, *Sarda sarda*, *Scomber japonicus*, *Scomber scombrus*, *Scomberomorus commerson* and *Thunnus alalunga* have been examined. COI gene region which found on the mtDNA were amplified by PCR and sequence analysis has been performed. The data that obtained from sequence analysis has been used to get phylogenetic analysis and relationships among species have been identified. In this study, 7 haplotypes in COI gene regions has been identified. Haplotype diversity and nucleotide diversity has been found for the region COI, respectively; Hd:0.912, Pi:0,07854. On the resulting matrice base compositions for the COI gene region A:0.2382, C:0.2867, G:0.1874, T:0.2878 has been determined. When the trees has been examined which generated by phylogenetic analyzes, *S. sarda* haplotypes has formed as a group, *A. rochei* and *E. alletteratus* haplotypes has formed as a group, *S. scomber* and *S. japonicus* haplotypes has formed as a group that seen a distinction. *T. alalunga* haplotype close to *A. rochei* and *E. alletteratus* haplotypes and *S. sarda* haplotypes away the other haplotypes has been observed. As a result, processed meat of animal species can be identified from the results obtained from this study on fresh fish. Thus, incorrect specification of food ingredients on product labels in Turkish markets will possible be investigated with a simple DNA test. Also, this method is extremely flexible: the mitochondrial gene regions on the genome sequence of the gene banks of information is open to researchers and laboratory staff and the selection of target sequences quickly made the necessary analysis is increasing with each passing day. The genome information is still limited to the types of products for the marine and inland water is especially important for the separation.

Key Words: *Scombridae*, *Species identification*, *DNA Barcoding*, *PCR Analysis*, *mtDNA COI*.

This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Ordu University. Project Number: AR-1210

Koliform, *Escherichia coli* ve *Enterokok* Sayımı için Mevcut Canlılık QPCR Testlerinin Modifiye Bir Metot ile Karşılaştırması

Canan KETRE¹, Mustafa KOLUKIRIK², Orhan İNCE^{1,2}

¹*Çevre Mühendisliği Bölümü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul/Türkiye*

²*ENGY Biyoteknoloji Araştırma Geliştirme Şirketi, BUN Teknopark,
İstanbul/Türkiye
ketre@itu.edu.tr*

Uygun bir su kalitesi elde etmek için, bakteriyel büyüme, önlenmesi gereken bir risk faktörüdür. Su kaynaklı salgınlar gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde meydana gelir ve bireylerin yaşam kaybına kadar neden olabilecek enfeksiyonel hastalıklara, dolayısıyla da ekonomik yüklerle yol açar. Patojenik mikroorganizmaların varlığını izlemek için altın standart gösterge organizmalarının kültüre edilmesidir. Ancak kültür metodu, örneklem gününde tamamlanamaz ve canlı fakat kültüre edilemeyen (VBNC) durumdaki bakteri hücrelerini tespit edemez. Bu çalışmada kantitatif gerçek zamanlı PCR (qPCR) ile su örneklerinde canlı koliform, *Escherichia coli* ve *Enterococcus* miktarlarını belirlemek için DNaz I (FD) ön işlemine dayalı hızlı bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen yöntem daha önce literatürde canlı hücrelerin tespiti için tarif edilen 1) DNaz I ve Proteinaz K (DN/PK), 2) PMA, 3) platin (Pt) ön işlemlerine dayalı diğer yöntemlerle tespit limiti (LOD) ve alt sayım limiti (LLOQ) değerleri belirlenerek karşılaştırılmıştır. 10⁷ ölü hücre varlığında *E. coli*, *Enterococcus* ve koliform için FD-qPCR-tabanlı yöntemin LOD değerleri, 250 mL'lik örnek hacimlerinde sırasıyla 10, 20 ve 60 canlı hücre ve LLOQ değerleri ise 250 mL'lik örnek hacimlerinde sırasıyla 30, 50 ve 150 canlı hücredir. FD ve PMA ön işlemine dayalı qPCR analizlerinin LOD ve LLOQ değerleri, Pt ve DN/PK ön işlemine dayalı qPCR analizlerine eşit veya onlardan daha düşük bulunmuştur. FD-qPCR analizlerinin PMA ve diğer canlı hücre qPCR analizleri üzerindeki belirgin avantajları daha yüksek niceliksel doğruluk ve kullanım kolaylığıdır. Ayrıca bu çalışma kapsamında FD-qPCR ve geleneksel kültür bazlı analizler musluk suyu ve su kaynağı örneklerine de uygulanmıştır. FD- qPCR, tüm kültür-pozitif numuneler için pozitifdir ve kültür-negatif örneklerde de VBNC bakterilerini tespit edebilmiştir. Kantitatif sonuçlar ayrıca her bir numunedeki fizikokimyasal özellikler ile VBNC hücre yoğunluğu arasında bir korelasyon göstermiştir. Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız DNA hedefli canlı hücre qPCR deneyleri için tüm metodolojik seçenekleri karşılaştırmalı olarak değerlendiren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *QPCR, DNaz I, Ölü-Canlı hücre ayrımı, Su patojenleri.*

Comparison of a Modified Method to Available Viability qPCR Assays for Quantification of Coliforms, *Escherichia coli*, and *Enterococcus*

Canan KETRE¹, Mustafa KOLUKIRIK², Orhan İNCE^{1,2}

¹*Department of Environmental Engineering, Istanbul Technical University, Istanbul/ Turkey*

²*ENGY Biotechnology R&D Ltd. Co., BUN Technopark, Istanbul/ Turkey*
ketre@itu.edu.tr

To obtain a suitable water quality, bacterial growth is a risk factor that must be managed. Waterborne outbreaks occur in developed and developing countries and lead to infectious diseases that can cause individuals to lose their lives, thus creating economic burdens. The golden standard for monitoring the presence of pathogenic microorganisms is the cultivation of indicator organisms. The culture method cannot be completed on the day of sampling and cannot detect bacterial cells that are in viable but non-cultivable (VBNC) states. This study was aimed at developing a rapid method based on DNase I (FD) pretreatment to quantify live coliform, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* in water samples by quantitative real-time PCR (qPCR). The developed method was compared with 1) DNase I and Proteinase K (DN/PK), 2) propidium monoazide (PMA), and 3) platinum (Pt) treatment-based methods previously described in the literature for the detection of viable cells by determining limit of detection (LOD) and the lower limit of quantification (LLOQ) values. In the presence of 107 dead cells, the LOD values of FD-qPCR for *E. coli*, *Enterococcus*, and coliform were 10, 20, and 60 viable cells, and the LLOQ values were 30, 50, and 150 viable cells, respectively, in 250-mL sample volumes. The LOD and LLOQ values of the FD and PMA pretreatment-based qPCR assays were equal to or lower than those of the Pt and DN/PK qPCR assays. The apparent advantages of the FD-qPCR assays over the PMA and other viability qPCR assays included their higher quantitative accuracy and their ease of use. In addition, FD-qPCR and traditional culture-based methods were also applied to tap water and water resource samples. The FD qPCR was positive for all culture-positive samples and was able to quantify viable but non-cultivable (VBNC) bacteria in the culture-negative samples. The quantitative results also allowed a correlation between the physicochemical characteristics and the VBNC cell abundance in each sample. To our knowledge, our study is the first to comparatively evaluate all methodological options for DNA-targeted viability qPCR assays.

Keywords: QPCR, DNase I, Live-dead cell discrimination, Water pathogens.

Yumurtlama Zamanının Fotoperiyodik Olarak Değiştirilmesinin Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri

Deniz ÇOBAN

*Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü,
Aydın/ Türkiye
deniz.coban@adu.edu.tr*

Yumurta kalitesi kültürü yapılan canlılarda oldukça önemlidir. Kuluçkahaneler tarafından yumurtaların kalite kontrollerinin yapılması kaçınılmaz olup, tecrübe gerektirir. Balıklarda yumurta kalitesi anaçların yaşına, kondisyon faktörüne, yumurtlama zamanına, yumurtlama prosesine, genetik faktörlere ve yumurtanın kendine özgü özelliklerine bağlıdır. Çalışmada, sinarit (*Dentex dentex*) anaçlarından doğal yumurtlama sezonunda (NST) ve yumurtlama zamanın fotoperiyodik olarak değiştirildiği dönemden (PMST) elde edilen yumurtalarda yumurta, vitellüs ve yağ damlasının minimum ve maksimum çapları ölçüldü. Ölçülen bu parametreler temelinde yumurta, vitellüs ve yağ damlasının şekli ve bölümler arasındaki boyut ilişkisi tanımlanarak hesaplandı. Yumurtadan çıkış oranı NST’de %94 ve PMST’de %68 olarak hesaplandı. Ayrıca, ortalama yumurta çapı NST döneminde $0,951\pm 0,041$ mm ve PMST döneminde $0,916\pm 0,019$ mm olarak ölçüldü. NST döneminde yumurtanın, yumurta çapı ve vitellüsün çapı PMST dönemindeki yumurtalardan önemli ölçüde daha büyük olduğu tespit edildi ($P<0,05$). Bununla birlikte yumurtanın ve yağ damlasının morfometrik parametreleri, yumurtaların kalite kriterlerinin tanımlanması için, yumurta ve yağ damlası çapları bir belirleyici olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Dentex dentex*, Yumurta kalitesi, Morfometri, Embriyolojik gelişim.

The Effects of Photoperiodic Manipulation of Spawning Time on Egg Quality

Deniz ÇOBAN

*Adnan Menderes University, Agriculture Faculty, Department of Fisheries and
Aquaculture Engineering, Aydın/Turkey*
deniz.coban@adu.edu.tr

Egg quality is very important in cultured living organisms. The quality control of the eggs by the hatcheries is indispensable and requires experience. The quality of eggs in fish depends on the age of the broodstocks, the condition factor, the spawning time, the spawning process, genetic factors and the specific characteristics of the egg itself. In this study, the minimum and the maximum diameters of egg, vitellus and oil globules were measured in common dentex (*Dentex dentex*) eggs obtained from the natural spawning season (NST) and photoperiodic manipulation of spawning time (PMST). Hatching rate was calculated as 94% in NST and 68% PMST. Also, average egg diameter was measured as $0,951\pm 0,041$ mm in NST and $0,916\pm 0,019$ mm in PMST. In NST, egg diameter and yolk diameter of the eggs were significantly bigger than eggs in PMST ($P<0.05$). The morphometric parameters of oil globule and egg could be accepted as an indicator for description of quality criteria of eggs.

Keywords: *Dentex dentex, Egg quality, Morphometry, Embryological development.*

Balık Beslemede Uygulanan Biyoteknolojik Yaklaşımlar

Ebru YILMAZ¹, Nuran KÜÇÜKOSMAN²

¹*Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Ordu/ Türkiye*

²*Ziya Kalkavan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, İstanbul/Türkiye*
denizkabugu_1990@hotmail.com

Biyoteknoloji, canlı hücrelerinin fonksiyonlarını anlamak ve değiştirmek amacıyla uygulanan çeşitli teknikleri ve işlemleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Canlıların iyileştirilmesi ya da endüstriyel kullanımına yönelik yararlı ürünler geliştirilmesini, modern teknolojinin doğa bilimlerine uygulanmasını kapsar. Biyoteknolojinin su bilimlerinde kullanım alanlarından bir tanesi de balık beslemedir. Balık beslemede biyoteknoloji yetiştiriciye bir takım kolaylıklar sağlamayı amaçlar. Bunlar balıkların bağışıklık sisteminin güçlendirilerek hastalıklara karşı olan dirençlerinin artırılması ve yem sindirilebilirliğinin artması ile hızlı büyümenin sağlanmasıdır. Son yıllarda balık yemlerinde probiyotiklerin, prebiyotiklerin ve yem iyileştirici enzimlerin kullanımı dikkat çekmektedir. Özellikle yetiştirilen türün gelişimini hızlandırmak ve ürün kalitesini artırmak için, yemin kalitesinde önemli rol oynayan bu katkı maddelerinin kullanımı giderek artmaya başlamıştır. Bu çalışmada balık beslemede uygulanan biyoteknolojik yaklaşımlar hakkında bilgi vermek amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Biyoteknoloji, Probiyotik, Prebiyotik, Enzim, Yem.*

Biotechnological Approaches in Fish Nutrition

Ebru YILMAZ¹, Nuran KÜÇÜKOSMAN²

¹*Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Ordu/ Turkey*

²*Ziya Kalkavan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, İstanbul/Turkey*
denizkabugu_1990@hotmail.com

Biotechnology is a term to define the techniques and processes applied with the purpose to understand and change the functions of the cells of living things. Healing the living things or developing useful products for the industrial use involves the application of modern technology to the natural sciences. One of the areas of uses for the biotechnology in hydrology is fish feeding. The use of biotechnology in feeding the fish aims to provide a number of means for the farmer. These are strengthening the immune system of fishes to increase their resistance to diseases and their rapid growth through increased feed digestibility. In recent years, the use of probiotics, prebiotics and feed-enhancing enzymes in fish feeds has been attracting attention. In particular, the use of these additives, which play an important role in the quality of the feed, has begun to increase in order to accelerate the development of the cultivated species and to increase the quality of the product. In this study, it is aimed to give information about biotechnological approaches applied in fish nutrition.

Key words: *Biotechnology, Probiotic, Prebiotic, Enzyme, Feed.*

Sudak Balığı (*Sander lucioperca*) Erken Evre Germ Hücresi İzolasyonu

Ege GÜNGÖR^{1,2}, Martin PŠENIČKA², Hilal GÜRALP²

¹ *İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, İstanbul/ Türkiye*

² *University of South Bohemia in České Budějovice Faculty of Fisheries and
Protection of Waters Research Institute of Fish Culture and
Hydrobiology, Vodňany/ Çek Cumhuriyeti
egegun@gmail.com*

Sudak (*Sander lucioperca*), Avrupa'da genellikle göletlerde sazan balığı ile birlikte polikültür olarak veya kapalı devre sistemlerde üretilen, ticari veya sportif amaçlı kullanılan bir balık türüdür. Bu çalışmada sudak balığından ilkel germ hücreleri (İGH) ve erken evre germ hücreleri (eGH) izole edilmiştir. İGH'ler ve spermatogonya gametlerin öncülleridir ve transplantasyondan sonra gametogeneze devam edebilirler. Fonksiyonel gametlere farklılaşma ve genetik bilgiyi gelecek nesillere aktarma potansiyeli, İGH'leri ve spermatogonyaları kriyoprezervasyon ve taşıyıcı anaç üretim metodu ile kimera üretimi çalışmaları için uygun hale getirmektedir. Kriyoprezervasyon ve transplantasyon çalışmaları için erken evre germ hücrelerinin saflaştırma aşaması ilk basamaktır. Erken evre germ hücrelerinden olan oogonya (OG) veya spermatogonya (SG)'nin ileri uygulamalardan önce spermatidler ve spermatozoa gibi diğer üreme hücrelerinden ayrılması gerekmektedir. Son yirmi yıl içinde erken evre germ hücre izolasyonu için kullanılan çeşitli teknikler bulunmuş ve yaygınlaştırılmıştır. Bunlardan en bilinenleri akım sitometrisi ile hücre ayırımı, mıknaatısla aktive edilmiş hücre ayırımı, yoğunluk gradyanlı santrifüj ve balık türlerinde kullanılan basit ve ekonomik yöntem olan Percoll gradyanıdır. Ama bu yöntemlerden herhangi biri bu çalışmaya kadar sudak üzerinde test edilmemiştir. Bu çalışmada, sudak erken evre germ hücrelerinin izolasyonu için enzim ayrışması ve Percoll gradyanı ile ayırma tekniği kullanılmıştır. Çalışma kapsamında gonad hücrelerinin enzimatik ayrışma ile izolasyonu için testis dokusu küçük parçalara ayrılmış ve enzimatik ayrışma için kullanılan 10 ml PBS %0.3 tripsin (Sigma-Aldrich) (304 mOsm / kg, pH 8) ile 15 ml tüplere aktarılmıştır. Testiküler süspansiyonlar, bir Kompakt Bio Shaker VBR-36 (Bionexus Inc., Oakland, ABD) içinde, 25 ° C'de 1.5 saat boyunca hafif bir karıştırma ile inkübe edilmiştir. Taze testis dokusunun enzimatik ayrışmasından sonra, bir CYSTAIN DNA 1 adım kiti (PARTEC) kullanılarak akım sitometrisi (PARTEC Club 8, Münster, Almanya) tarafından ploidi seviyesi belirlenmiştir. Kısaca, her numuneden enzimatik olarak ayrılmış testis dokusunun bir yarısı, 1.5

ml fosfat tamponlu salin (PBS, 304 mOsm / kg, pH 8) içinde seyreltilmiştir. İkinci dilüsyonda, örnekler PBS içinde 30 kez seyreltilmiş ve hücre sayısı 100 µl örneklerden sayılmıştır. eGH diğer testiküler (spermatidler ve sperm) ve somatik hücrelerden ayırmak için, bir Percoll gradyanı (Sigma-Aldrich) %5 ve %33'lük iki yoğunlukta hazırlanmıştır. Testiküler hücre süspansiyonu yavaş yavaş gradyan yüzeyine aktarılmış ve Percoll gradyanını korumak için yavaş bir rotor ivmesi ile 800 g, 4°C'de 30 dakika santrifüjlenmiştir. Ardından %5 ve %33 tabakalardan ve peletten toplanan 3 ml hücre süspansiyonu 10 ml PBS (300 mOsm / kg, pH 8) ile yıkanmış ve 4°C sıcaklıkta 800 g'de 30 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Her bir Percoll gradyan ve pelet tabakasından alınan testis hücreleri, 250 × büyütmede ışık optik mikroskop Olympus BH2 (Olympus Corp., Tokyo, Japonya) tarafından doğrulanmış ve Nikon 5100 kamera (Nikon, Tokyo, Japonya) tarafından fotoğflanmıştır. eGH, küçük testiküler hücrelerden (spermatidler ve spermler) ve diğer bileşenlerinden (lipid, doku parçaları) küresel görünümleri, büyük boyutu ve büyük nükleusa sahip olması temelinde ayırt edilmiştir. Hücre sayısı, Olympus MicroImage yazılımı (Windows 95 / NT / 98 için Sürüm 4.0) kullanılarak değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Germ hücresi, İzolasyon, Percoll gradyan, Enzimatik ayırışma, Sudak.*

Isolation of Early Stages of Germ Cells in Pikeperch (*Sander lucioperca*)

Ege GÜNGÖR^{1,2}, Martin PŠENIČKA², Hilal GÜRALP²

¹*Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences,
Department of Aquaculture, İstanbul/ Turkey*

²*University of South Bohemia in České Budějovice Faculty of Fisheries and
Protection of Waters Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology,
Vodňany/Czech Republic
egegun@gmail.com*

Pikeperch (*Sander lucioperca*) is a valuable recreational and commercial fish species in Europe, which is generally produced in ponds, in polyculture with common carp or in recirculation systems (RAS) using commercial feed. In this study i isolated Primordial germ cells (PGCs) and early stages of spermatogonia (SG) from Pikeperch (*Sander lucioperca*). PGCs and early stages of spermatogonia are precursors of gametes and they able to continue gametogenesis (spermatogenesis or oogenesis) after transplantation. Their potential to differentiate into functional gametes, and transmit genetic information to the next generation makes them suitable for cryopreservation and surrogate reproduction studies by germline chimera. For cryopreservation and transplantation studies, purification phase of early stage germ cells is necessary. Primordial germ cells (PGCs) oogonia (OG) or spermatogonia (SG) must be allocated from other testicular cells like spermatids and spermatozoa before further applications. Recently there are several techniques of germ cell isolation; cell sorting via flow cytometry, magnet-activated cell sorting, density gradient centrifugation-elutriation and in fish species simple and economic method Percoll gradient is used. But none of them has been tested on pikeperch. In this study enzyme dissociation and Percoll solution sorting technique for isolation of pikeperch (*Sander lucioperca*) early stage germ cell is used. For isolation of gonad cells by enzymatic dissociation, testicular tissue was cut into small pieces, and transferred into 15 ml tubes with 10 ml of PBS + 0.3% trypsin (Sigma-Aldrich) (304 mOsm/kg, pH 8) used for enzymatic dissociation according to. Testicular suspensions were incubated in a Compact Bio Shaker VBR-36 (Bionexus Inc., Oakland, USA) with gentle mixing for 1.5 h at 25°C. After enzymatic dissociation of fresh testicular tissue, ploidy level was determined by flow cytometer (PARTEC Club 8, Münster, Germany) using a CYSTAIN DNA 1 steps kit (PARTEC). Briefly, one half of the enzymatically dissociated testicular tissue from each sample was diluted in 1.5 ml phosphate buffered saline (PBS, 304

mOsm/kg, pH 8). In second dilution, samples were diluted 30 times in PBS and numbers of cells were counted in 100 μ l. To separate early germ cell (eGC) from other testicular (spermatids and sperm) and somatic cells, a step Percoll gradient (Sigma-Aldrich) 5% and 33% was prepared. The testicular cell suspension was slowly transferred to the surface of the gradient and immediately centrifuged at 800 g, 4°C for 30 min with a slow rotor acceleration to preserve the Percoll gradient. 3 ml of cell suspension was collected from the 5% and 33% layers and the pellet (precipitate collected at the bottom of the tube), washed with 10 ml PBS (300 mOsm/kg, pH 8) and centrifuged at 800 g, 4°C for 30 min. The testicular cells from each layer of Percoll gradient and pellet were confirmed by light optical microscope Olympus BH2 (Olympus Corp., Tokyo, Japan) at 250 \times magnification and photographed by Nikon 5100 camera (Nikon, Tokyo, Japan). The eGC were discriminated from small testicular cells (spermatids and sperm) and components (lipid, debris) on the basis of their spherical appearance, large size, and large nucleus with small nucleolus. The number of cells was evaluated using Olympus MicroImage software (Version 4.0 for Windows 95/NT/98).

Keywords: *Germ cells, Isolation, Percoll gradient, Enzymatic dissociation, Pikeperch.*

Kaynak Alabalığı (*Salvelinus fontinalis*) Sperminin Kısa Süreli Muhafazasında L-triptofanın Etkisinin Belirlenmesi

Filiz KUTLUYER¹, Mehmet KOCABAŞ², Nadir BAŞÇINAR³, Önder AKSU¹

¹*Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 62000, Tunceli, Türkiye.*

²*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Yaban Hayatı Ekolojisi ve Yönetimi Bölümü, Trabzon/ Türkiye.*

³*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, Trabzon/ Türkiye.*

filizkutluy@hotmai.com

Kaynak alabalığının (*Salvelinus fontinalis*) sperminin kısa süreli muhafazasında sulandırıcılara L-tryptophan eklenmesinin etkilerini belirlemek için denemeler kurulmuştur. Glikoz (0,3 M) ve DMSO (10%) içeren sulandırıcıya 0 mM, 0,5 mM, 1 mM, 2 mM ve 4 mM L-triptofan eklenmiştir. Sperm örnekleri 4°C'de 12 gün boyunca muhafaza edilmiştir. Sulandırıcılara L-triptofan ilavesi pozitif etkiye neden olmuş ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sperm motilitesi önemli oranda artmıştır ($p<0.05$). En iyi sonuçlar 0,5 mM konsantrasyondan elde edilmiştir. Sonuç olarak, L-tryptophan içeren sulandırıcı kısa süreli muhafazada sperm kalitesinin korunmasında kullanışlıdır. Bu çalışma ileride yapılacak uzun süreli muhafaza çalışmaları için yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Kaynak alabalığı, Salvelinus fontinalis, L-triptofan, Kısa süreli muhafaza.*

Determination of the effect of L-tryptophan on Short-term Storage of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) Spermatozoa

Filiz KUTLUYER¹, Mehmet KOCABAŞ², Nadir BAŞÇINAR³, Önder AKSU¹

¹*Munzur University, Fisheries Faculty, Tunceli/ Turkey.*

²*Karadeniz Technical University Faculty of Forestry, Department of Wildlife Ecology and Management, Trabzon/ Turkey.*

³*Department of Fisheries Technology Engineering, Faculty of Sürmene Marine Sciences, Karadeniz Technical University, Trabzon/Turkey*
filizkutluyer@hotmail.com

Experiments were designed to determine the influence of L-tryptophan supplementation of the extender on the short-term storage of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) spermatozoa. The extender containing 0.3 M glucose in 10% DMSO was supplemented with 0 mM, 0.5 mM, 1 mM, 2 mM and 4 mM L-tryptophan. Sperm samples were stored during 12 days at 4°C. L-tryptophan supplementation to the extender caused positive effect and significantly prolonged sperm motility compared to control group ($p<0.05$). The ideal results were obtained from concentration of 0.5 mM. In conclusion, L-tryptophan-based extender is useful for protecting sperm quality in short-term storage. Current study would provide benefits for further studies related to long-term storage.

Key words: *Brook trout, Salvelinus fontinalis, L-tryptophan, Short-term storage.*

Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Sperm Motilite Parametrelerinin Bilgisayarlı Otomatik Sperm Analiz Sisteminde (CASA) İki Farklı Lam Kullanılarak İncelenmesi ve Sonuçların Döllenme Yüzdesi ile Karşılaştırılması

Güneş YAMANER, Gökhan TUNÇELLİ,
Momin MOMİN, Devrim MEMİŞ

İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, İstanbul/Türkiye
gyamaner@istanbul.edu.tr

Sperm analizi birçok balık türünde erkek gamet hücrelerinin kalitesinin belirlenmesinde kullanılan en etkili laboratuvar tekniklerinden biridir. Başarılı bir döleme çalışması yapabilmek için sperme ait motilite ve motiliteye bağlı kinematik parametrelerin döleme çalışmasından önce Bilgisayarlı Otomatik sperm analiz sistemi (CASA Sistem) ile belirlenmesi ve kalite bakımından değerlendirilmesi, döleme çalışmalarında zaman ve efor kaybedilmesinin önüne geçmektedir. Bununla birlikte, CASA sistem ile sperm analizinde, analiz sonuçlarını etkileyen çeşitli faktörler vardır ve bunlardan en önemlilerinden biri, analiz sırasında kullanılan Lam çeşitliliğidir. Bu çalışmada Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) spermının CASA sistem ile incelenmesinde kullanılan iki farklı lamın sperm örneklerinde motilite ve motiliteye ait kinematik parametreler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sperm örneklerinde spermatozoa motilitesi ve kinematik parametreler mikroskop (CX41- Olympus, Japan) ile bağlantılı Bilgisayarlı Otomatik Sperm Analiz Sistemi (CEROS II (Hamilton-Thorne, Beverly, MA, USA) ile oda sıcaklığında belirlenmiştir. Sperm örnekleri, üreme sezonunda bulunan 5 balıktan sağım yöntemi ile temin edilmiştir. Çalışmada CASA sistemde yaygın olarak kullanılan iki çeşit ticari lam denenmiştir. Kullanılan ilk lam Leja 2 hücreli ve 20 µl hacimli özellikte (Leja Products, Netherlands) iken; Makler Lam, dairesel özellikte ve 10 µl derinliktedir. Her bir sperm örneği her iki lam ile üç tekerrürlü olarak incelenmiştir. Sperm örneklerinde spermatozoa'ya ait total motilite ve döllenme oranı arasındaki ilişkinin ortaya konulabilmesi için, Progresiv motilite sonuçları değerlendirmeye alınmamıştır. Döleme çalışması için bir dişi balıktan alınan yumurtalar (550 g; yaklaşık 7500 adet yumurta) eşit 5 parçaya bölünmüş (1500 adet yumurta) ve her bir yumurta grubu CASA sistem ile analiz edilen her bir sperm örneği ile döllenmiştir. Döleme çalışması, döllenmiş yumurtaların inkübasyonu, döllenme oranının belirlenmesi Gökkuşluğu alabalığı üretiminde kullanılan rutin yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Döleme

çalışmasında grupların dölleme oranı %80'den daha yüksek bulunmuştur. Sperm örneklerinde elde edilen toplam motilite sonuçları ise; Leja ile analiz edilen örneklerde %90'dan daha fazla bulunmuş iken; Makler için sonuçlar %26-45 arasında değişiklik göstermiştir. Her bir lam için elde edilen sonuçlar kendi aralarında benzerlik göstermesine rağmen; dölleme oranı dikkate alındığında, Leja lam kullanılmasının daha yüksek oranda stabil sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Leja ve Makler lamı kullanılarak elde edilen Total motilite sonuçları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Anahtar Kelimeler: *CASA, Leja, Makler, Gökkuşığı alabalığı.*

Investigation of Rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) Trout Sperm Motility Parameters Using Two Different Chambers with Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) System and Comparison of the Results with Fertilization Percentage

**Güneş YAMANER, Gökhan TUNÇELLİ,
Momin MOMİN, Devrim MEMİŞ**

*İstanbul University Faculty of Aquatic Sciences,
Department of Aquaculture, İstanbul/ Turkey
gyamaner@istanbul.edu.tr*

Sperm analysis is the most common and informative laboratory technique for the investigation of male gamete quality in many fish species. The analysis of motility and kinematic parameters which are main key for fertilization by computer assisted sperm analysis (CASA) prevents the loss of effort in fertilization studies. However, there are many factors that affect the results of the CASA system, and one of the most important variables is the chamber used for the analysis. In this study, the effect of the chamber used for the automated analysis of sperm motility and sperm kinematics parameters by CASA was evaluated of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sperms. The assesment of motility parameters was carried out using CEROS II (Hamilton-Thorne, Beverly, MA, USA) connected to CX41 microscope (Olympus, Japan) at room temperature. Sperm samples were collected from five adult males by abdominal massage during the reproduction season and analysed with two different chambers as follows specialty: Leja 2 cell chambered with 20 µl deep (Leja Products, Netherlands) and Makler chamber, round shape with 10 µl deep (Sefi-Medical Instrument, Haifa, Israel). Each sperm samples analyzed at three times. In order to understand the relationship between fertilization rate and total motility parameters depending on the different chamber applications of CASA system, progressive motility results were discarded. Total sperm motility (Mot,%), and kinematic parameters were measured. For fertilization test, eggs from one female (550 g approximately 7500 eggs) were separated in equal five parts. Each part of eggs (approximately 1.500 eggs) were fertilized with each analyzed sperm (5ml). Fertilization, incubation prosedure and calculation of fertilization rates have been kept as used routinely for rainbowtrout culture prosedure. The CASA results were compared with regards to the fertilization rates. The fertilization rates were found higher 80% for all used males. The motility percentange of samples analyzed by Leja has been found higher 90% while by makler changed between 26-45%. The different chambers used in this study did

significantly affect the motility percentage. The motility percentage of samples obtained with each chamber were quite similar, however, regardless with the fertilization rate, the high stability results was detected in Leja 2-chamber. Statistical study with motility percentage showed a significant difference between Leja and Makler chambers ($p < 0,05$).

As a result of the study, although the Makler chamber is preferred due to the economical specialty, the using of Leja resulted in more accurately according to fertilization results.

Keywords: *CASA, Leja, Makler, Motility parameters, Rainbow trout.*

Balıkçılıkta Uygulanan Genetik ve Biyoteknolojik Çalışmalar

Hale BAĞCIVAN, Mehmet AYDIN

*Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi
Mühendisliği, Ordu/Türkiye
halenurbagcivan@hotmail.com*

Türkiye biyoteknolojik zenginlik açısından dünyada kıta özelliği gösteren pek az ülkeden biridir. Biyolojik çeşitliliğin temelini oluşturan bitki, hayvan ve mikroorganizmalar doğal dengenin korunmasında büyük etkiye sahiptir. Fakat günümüzde biyolojik çeşitliliği oluşturan bu canlı türleri nüfus artışına paralel olarak su ve enerji kaynaklarının azalması nedeniyle tehlikeye girmiştir. Günümüz dünyasında hayvan ve bitkilerin kopyalanması, gen transferi, üstün özellikte türlerin geliştirilmesi artık hayal olmaktan çıkmıştır. Gen teknolojisiyle daha dayanıklı; daha verimli, zararlılara karşı daha dirençli ürünler elde etmek olanaklıdır. Biyolojik sistemlerin teknolojiye kullanılması ve bunlardan yararlar sağlanması şeklinde tanımlanan biyoteknoloji; 20. yy insanoğlunun gündemini en fazla meşgul eden bir çalışma alanı olmuştur. 1950 yıllardan beri DNA'nın kalıtmadaki rolü ve moleküler yapısının aydınlatılmasıyla başlayan temel çalışmalar 1980'li yıllarda genlerin bir organizmadan ötekine aktarılması noktasına ulaşmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknoloji fazla ürün elde etmeye katkı sağlar; eşeyssel olgunlaşma yaşını düşürür, organizmaların büyüme hızını, yumurta verimini ve larval safhadaki yaşama oranını arttırır. Son yıllarda biyoteknolojik araştırmalar daha çok, yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan balıklar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmada balıkçılıkta uygulanan biyoteknolojik çalışmalar hakkında bilgi vermek amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Balık, Balıkçılık, Biyoteknoloji, Gen transferi, Akuakültür.*

Genetic and Biotechnological Studies in Fisheries

Hale BAĞCIVAN, Mehmet AYDIN

*Ordu University, Fatsa Faculty of Marine Sciences, Fisheries Technology
Engineering, Ordu/Turkey
halenurbagcivan@hotmail.com*

Turkey biotechnological features of the continent in the world of wealth is one of very few countries. Form the basis of biological diversity of plants, animals and microorganisms, the protection of the natural balance has a major impact. But today, by the diversity of biological species that live in parallel with the increase in population has been compromised because of reduced water and energy resources. Cloning of animals and plants in the world today, gene transfer, the development of superior properties of species no longer has to be imagined. Gene technology, more durable, more efficient, more resistant to pests is possible to obtain products. The use of biological systems in technology and biotechnology, defined as providing benefits to them, the agenda of the 20th century, mankind has been most engaged in a work area. The role of DNA and molecular structure of the illuminated heredity 1950 years starting in the 1980's, basic studies of genes an organism has reached the point of transfer to the other. Aquaculture biotechnology can contribute to get more products, lowers the age of sexual maturation, the growth rate of organisms, increases the rate of egg production and survival of larval phase. In recent years, biotechnological research has focused more on fish that are cultivated extensively. In this study, it is aimed to give information about biotechnological studies applied in fisheries.

Key Words: *Fish, Fisheries, Biotechnology, Gene transfer, Aquaculture.*

Transgenik Hayvan ve Zebra Balık Üretiminde CRISPR-Cas9 Teknolojisinin Kullanımı

Haydar BAĞIŞ

*Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Adıyaman/
Türkiye*

[*hbhbagis@gmail.com*](mailto:hbhbagis@gmail.com)

Son birkaç yılda transgenik hayvan üretiminde genom düzenleme teknolojileri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Yıllarca gen transferi için çeşitli klasik yöntemler kullanılmıştır. Ancak son yıllarda genom düzenleme teknikleri kullanıma girmiştir. Çinko parmak nükleazları (ZFN), transkripsiyon aktivatörü benzeri efektör nükleazları (TALEN) ve en son kümelenmiş düzenleyici aralıklı kısa palindromik tekrarlar (CRISPR) de dahil olmak üzere genom düzenleme teknolojilerinin yanı sıra, genom düzenleyici teknolojilerdeki ilerlemeler sayesinde transgenik hayvanlar üretmek artık daha kolay ve ekonomik olmuştur. Çeşitli uygulamalarıyla CRISPR/Cas9 genom düzenleme teknolojisi son yıllarda hızla gelişmektedir. Dokuya özgü nakavt farelerinin üretilmesi için konvansiyonel strateji, in vivo gen fonksiyonunun hızlı çalışmasını kısıtlayan, zaman ve emek tüketen bir süreçtir. CRISPR-Cas9 sistemi, basit ve etkili bir gen düzenleme tekniğidir; bu yöntem, CRISPR-Cas9'un doğrudan zigotlara enjekte edilmesiyle nakavt fare hatlarının hızlı bir şekilde elde edilmesini sağlamıştır. Yaşam bilimlerinde CRISPR/Cas9 sistemi yaygın şekilde benimsenmiştir. İnsanlar, bitkiler, bakteriler, zebra balığı, *C. elegans*, *Xenopus* tropikalisi gibi birçok organizmalarda önemli genleri düzeltme yoluna gidilerek genlerde istenilen değişiklikler yapılmıştır. Maya, *Drosophila*, maymunlar, tavşanlar, domuzlar, sıçanlar ve fareler de bu teknik kullanılmıştır. Çinli bilim adamları 2015 yılında CRISPR/Cas9 teknolojisini kullanarak 3 nükleuslu insan zigotlarında hastalıklı insan beta globin genini düzeltme yoluna gitmişlerdir. Hassas genom mühendisliği için şu anda mevcut olan tasarımcı nükleaz sistemlerinden CRISPR/Cas9 sistemi en mükemmel olarak gözükmektedir. Son dört yıl içinde CRISPR/Cas9 sistemi kullanılarak yüzlerce transgenik hayvan kolay, ucuz ve hızlı bir şekilde üretilmiştir. CRISPR-Cas9 sistemi, klinik uygulamalarda kullanılacak güvenlik seviyesine ulaşmak için halen geliştirme aşamasındadır. Bu teknik yüzyılın buluşu olup yakın zamanda Nobel ödülü alacağını da öngörmekteyim.

Anahtar Kelimeler: *Fare, Zebra Balığı, Genom Mühendisliği, CRISPR/Cas9, Nükleozlar.*

Transgenic Animal and Zebra Fish Production Using CRISPR-Cas9 Technology

Haydar BAGIŞ

*Adiyaman University Medical Faculty and Medical Genetic Department,
Adiyaman/Turkey
hbbbagis@gmail.com*

In the last few years genomic editing technologies have been widely used in transgenic animal production. Several classical methods have been used for gene transfer for many years. However, in recent years genomic editing techniques have been used. CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated9) genome editing technology has been developing rapidly in recent years. Conventional strategy for producing tissue-specific knockout mice is a time consuming and labor-intensive process that restricts the rapid functioning of the in vivo gene function. The CRISPR/Cas9 system is a simple and effective gene editing technique; this method ensures that knockout mouse lines can be obtained quickly by injecting CRISPR/Cas9 directly into the zygotes. The CRISPR/Cas9 system has been widely adopted in life sciences. Genes have undergone desirable changes in many organisms, such as animals, humans, plants, zebrafish, bacteria, in order to correct important genes. Yeast, Drosophila, apes, rabbits, pigs, rats and mice were also used in this technique. In 2015, Chinese scientists used CRISPR/Cas9 technology to correct the diseased human beta globin gene in 3 nucleus human zygotes. The CRISPR/Cas9 system of the designer nuclease systems currently available for sensitive genomic engineering appears to be the most perfect. Over the past four years, hundreds of transgenic animals have been produced easily, cheaply and quickly using the CRISPR/Cas9 system. The CRISPR/Cas9 system is currently under development to achieve the level of safety that can be used in clinical practice. I am foreseeing, this technics will be awarded soon the Nobel Prize.

Key words: *Mouse, zebra fish, Genomic engineering, CRISPR/Cas9, Nucleases.*

Biyodizel Üretimi için Mikroalg Hücresel Yağ Miktarını Arttırmada Yeni Bir Yaklaşım; Oksidatif Stres

**Kaan YILANCIOĞLU, Nilay YÖNET, Betül Eren KESKİN, Seda
KUŞOĞLU, Ecem KAPLAN**

*Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul/ Türkiye,
kaan.yilancioglu@uskudar.edu.tr*

Yeşil algler, sürdürülebilir, temiz ve çevre dostu bir enerji kaynağı sunar. Bununla birlikte, üretim verimliliğinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Ortamın azot konsantrasyonunu azaltarak hücresel lipid seviyelerini artırmak en çok çalışılan stratejilerden biridir. Buna rağmen, bu yanıtın altında yatan fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar iyi tanımlanmamıştır. Hipersalin koşullarda yaşamaya adapte olmuş alg türleri, tarım ve tüketim için kullanılmayan tuzlu sularda yetiştirilebilir. Hipersalin ortamlarda doğal olarak yetişen mikroalg türlerinin kültüre alınması, kültürün kontamine olması sorunundan kaçınmak için de daha uygundur. Bu çalışmada, 18S ribozomal RNA gen dizilemesi kullanılarak yeni bir halofilik *Dunaliella salina* suşu tanımlanmıştır. Bu suşun büyüme ve biyokütle üretkenliklerinin doğrudan azot seviyeleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. En yüksek biyokütle 0.05 mM azot konsantrasyonunda 495 mg/l ve 5 mM azot konsantrasyonunda 1409 mg/l olarak bulunmuştur. Ayrıca 0.05 mM azot konsantrasyonu altında yetiştirilen kültürde hücresel lipid içeriğinin % 35'e kadar arttığı doğrulanmıştır. Bu fenomenin mekanizmalarını anlamak ve oksidatif stres ve enzimatik savunma mekanizmalarını ölçmek için florometrik, akış sitometrik ve spektrofotometrik yöntemler uygulanmıştır. Azot kısıtlı koşullar altında lipid peroksidasyonu, önemli bir oksidatif stres belirleyicisi olan malondialdehid ile katalaz, askorbat peroksidaz ve süperoksit dismutaz antioksidan enzimlerinin artan aktivasyonunun ölçümü ile gözlemlenmiştir. Oksidatif stresin mikroalg hücrelerinde lipid içeriğinin artmasına neden olduğunu görülmüştür. Ek olarak, optimum kültür koşulları altında, ortama verilen H₂O₂ ile yaratılan oksidatif stresin kontrol gruplarına kıyasla hücresel lipid içeriğini % 44'e kadar artırmış olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, oksidatif stres ve lipid üretiminin bağlantılı olduğunu ve oksidatif stresin lipid birikimine yol açtığını göstermektedir. Bu tür ilişkileri anlamak, alglerden biyodizel üretimini daha verimli hale getirmek için rehberlik sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: *Oksidatif Stres, Biyodizel, Mikroalg, Dunaliella salina.*

A New Approach to Increase Microalgae Cellular Lipid Content for Biodiesel Production; Oxidative Stress

Kaan YILANCIOĞLU, Nilay YÖNET, Betül Eren KESKİN, Seda KUŞOĞLU, Ecem KAPLAN

Üsküdar University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Istanbul/ Turkey
kaan.yilancioglu@uskudar.edu.tr

Green algae offer sustainable, clean and eco-friendly energy resource. However, production efficiency needs to be improved. Increasing cellular lipid levels by nitrogen depletion is one of the most studied strategies. Despite this, the underlying physiological and biochemical mechanisms of this response have not been well defined. Algae species adapted to hypersaline conditions can be cultivated in salty waters which are not useful for agriculture or consumption. Due to their inherent extreme cultivation conditions, use of hypersaline algae species is better suited for avoiding culture contamination issues. In this study, we identified a new halophilic *Dunaliella salina* strain by using 18S ribosomal RNA gene sequencing. We found that growth and biomass productivities of this strain were directly related to nitrogen levels, as the highest biomass concentration under 0.05 mM or 5 mM nitrogen regimes were 495 mg/l and 1409 mg/l, respectively. We also confirmed that nitrogen limitation increased cellular lipid content up to 35% under 0.05 mM nitrogen concentration. In order to gain insight into the mechanisms of this phenomenon, we applied fluorometric, flow cytometric and spectrophotometric methods to measure oxidative stress and enzymatic defence mechanisms. Under nitrogen depleted cultivation conditions, we observed increased lipid peroxidation by measuring an important oxidative stress marker, malondialdehyde and enhanced activation of catalase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase antioxidant enzymes. These observations indicated that oxidative stress is accompanied by increased lipid content in the green algae. In addition, we also showed that at optimum cultivation conditions, inducing oxidative stress by application of exogenous H₂O₂ leads to increased cellular lipid content up to 44% when compared with non-treated control groups. Our results support that oxidative stress and lipid overproduction are linked. Importantly, these results also suggest that oxidative stress mediates lipid accumulation. Understanding such relationships may provide guidance for efficient production of algal biodiesels.

Key words: *Oxidative Stress, Biodiesel, Microalgae, Dunaliella salina.*

Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Sperminin Kriyoprezervasyonunda L-triptofanın Etkisi

Mehmet KOCABAŞ¹, Filiz KUTLUYER², Önder AKSU²

¹*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Yaban Hayatı Ekolojisi ve
Yönetimi Bölümü, Trabzon/Türkiye.*

²*Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Tunceli/Türkiye.
mkocabas@ktu.edu.tr*

Bu çalışmada, gökkuşığı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) çözüm sonrası sperm motilitesi ve süresi üzerinde L-triptofanın etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sperm farklı konsantrasyonlarda L-triptofan (0 mM, 0,5 mM, 1 mM, 2 mM and 4 mM) içeren sulandırıcılar kullanılarak dondurulmuştur. Sulandırıcılarla 1:3 oranında sulandırılan sperm örneklerine kriyoprezervasyon işlemi uygulanmıştır. Sulandırma işleminden sonra sperm 0,5 ml'lik payetlere çekilmiş ve payetler sıvı azot tankına yerleştirilerek dondurma işlemi gerçekleştirilmiştir. L-triptofan çözülme sonrası motiliteyi olumlu yönde etkilemiştir ve sulandırıcılara L-tryptophan eklenebilir. L-triptofanın tüm konsantrasyonları karşılaştırıldığında, L-triptofan için en iyi konsantrasyon 1 mM olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *L-triptofan, Oncorhynchus mykiss, Sperm kriyoprezervasyonu, Gökkuşığı alabalığı.*

Effect of L-tryptophan on sperm cryopreservation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mehmet KOCABAŞ¹, Filiz KUTLUYER², Önder AKSU²

¹*Karadeniz Technical University Faculty of Forestry, Department of Wildlife Ecology and Management, Trabzon/Turkey.*

²*Munzur University, Fisheries Faculty, Tunceli/Turkey.*
mkocabas@ktu.edu.tr

Aim of this study was to determine the effects of L-tryptophan on post-thaw sperm motility and duration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Sperm was cryopreserved in extenders containing different concentrations of L-tryptophan (0 mM, 0.5 mM, 1 mM, 2 mM and 4 mM). Sperm samples diluted at a ratio of 1:3 with the extenders were subjected to cryopreservation. After dilution the sperm was aspirated into 0.5 ml straws, placed on a tray to freeze in nitrogen vapor and then, plunged into liquid nitrogen. L-tryptophan positively affected post-thaw sperm motility, and L-tryptophan could be added to extenders. Comparing all concentrations of L-tryptophan, the best concentration of L-tryptophan was 1 mM.

Keywords: *L-tryptophan, Oncorhynchus mykiss, Sperm cryopreservation, Rainbow trout.*

Dünyada ve Türkiye’de Algal Biyoteknoloji

Meltem CONK DALAY

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, İzmir/Türkiye
meltemconkdalay@gmail.com

Mikro alglerin ticari olarak üretilip marketlerde satılma aşamasına gelmesi, son 30 yılda hız kazanmış olmakla birlikte, tarihçesi çok eskilere dayanan Spirulina’nın 16. Yüzyılda Aztek’ler ve Afrika’da Çad Gölü çevresinde yaşayan yerliler tarafından kurutulup tüketildiği bilinmektedir. Ülkemizde algal biyoteknoloji konusunda ilk ticari ürüne yönelik çalışma, Ege Üniversitesi’nin bilimsel ve teknik katkılarıyla üniversite-sanayi işbirliğini destekleyen EBİLTEM adı verilen merkezi ve EGERT AŞ. Tarafından fonlanan bir proje ile gerçekleşti. 1999 yılında tamamlanan proje kapsamında Türkiye koşullarında Spirulina üretiminin geliştirilmesi hedeflendi ve üretim, hasat, kurutma ve tabletleme konularında çok sayıda denemenin gerçekleştirildiği projenin sonunda bir ürün ortaya çıktı. Gerekli izinlerin alınmasının ardından ilk yerli Spirulina piyasaya sunuldu. Türkiye’de Algal biyoteknoloji alanında yapılan bu atılımın ardından 2001 yılında Ege Üniversitesi’nde düzenlenen 1. Alg Teknolojisi Sempozyumu, Türkiye’de algal biyoteknoloji konusunda yapılan ilk toplantı oldu. Daha sonraki yıllarda çok sayıda çalıştaylar ve kurslar düzenleyerek konunun yayılması ve araştırmacı sayısının artması için girişimlerde bulunuldu. EGEMACC (Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonu), 2004 yılında tamamlanan “İçsulara Bulunan Bazı Mikroalglerin Kültür Koleksiyonu” isimli bir TÜBİTAK projesi kapsamında izole edilen 30 kadar tür ile kuruldu. Aynı yıl WFCC (World Federation of Culture Collections) ’a üye olundu. Daha sonraki yıllarda yapılan yeni projeler ve araştırmalar kapsamında izole edilen yeni türlerin eklenmesiyle koleksiyon giderek büyüdü. Geçen yıllar içinde algal biyoteknoloji, sadece su ürünleri, biyoloji gibi alglerle yakından ilişkili olan bölümlerin değil biyomühendislik, gıda mühendisliği, kimya mühendisliği, makine mühendisliği gibi proses anlamında konuya katkı sağlayabilecek bölümlerin hatta biyomedikal mühendislikler gibi biyomateryale yönelik multidisipliner çalışmalar yapabilecek dalların da ilgi alanına girdi. Bu gün Türkiye’de çok farklı disiplinlerden araştırmacılar tarafından biyoyakıttan biyomalzemeye çok çeşitli konularda alglerin kullanıldığı çalışmalar yapılmaktadır. 15 yıl sonra 2016 yılında 2. sını düzenlediğimiz 2. Ulusal Alg Teknolojisi Sempozyumu’nda amacımız, tüm bu araştırmacıları alg çatısı altında toplayarak

yeni çalışmaların yapılabilmesi için işbirlikleri ve bilgi paylaşımlarına olanak sağlamak olmuştur. Teması “Dünyada ve Türkiye’de Algal Biyoteknoloji” olan bu toplantı kapsamında sunulan ve literatürde yayınlanan bazı ulusal çalışmalardan söz ederek geçmişten günümüze yapılmış bazı projeleri sizlerle paylaşacağım bildirimde aynı zamanda Dünyada algal biyoteknolojinin geldiği noktadan ve yeni trendlerden de söz edeceğim.

Anahtar kelimeler: Algal biyoteknoloji, Mikroalg, Siyanobakteri, Kullanım alanları, Üretim.

Algal Biotechnology in the World and Turkey

Meltem CONK DALAY

Ege University Engineering Faculty Department of Bioengineering, Izmir/ Turkey
meltemconkdalay@gmail.com

Commercially production and selling of microalgae in the market gained speed in last 30 years however it is known that Spirulina was harvested from Texcoco Lake and eaten by Aztecs in 16th century and local people living around Chad Lake in Africa. The first commercial research in Turkey was done in 1999 with scientific and technic knowladge of Ege University, by a project funded by EBİLTEM, centre of university which support cooperation of university and private sector, and EGERT AŞ. In this project, it was aimed to propogate the Spirulina product and at the end of many reserch done to develop production, harvesting, drying and tableting prosess and taken sale permits, the first national Spirulina product launched to the market. The first commercial research in Turkey was done in 1999 with scientific and technic knowladge of Ege University, by a project funded by EBİLTEM, centre of university which support cooperation of university and private sector, and EGERT AŞ. In this project, it was aimed to propogate the Spirulina product and at the end of many reserch done to develop production, harvesting, drying and tableting processes and taken sale permits, the first national Spirulina product launched to the market. After this attempt on algal biotechnology performed in Turkey, the first Algal Technology Symposium was organized in 2011. In the following years, many workshops and courses organized to expand the area and take intrest of scientists. In 2004, the first microalgae culture collection of Turkey EGEMACC (Ege University Microalgae Culture Collection) establisbed with 30 microalgal species isolated in content of a TUBITAK project titled "Culture collection of some microalgae isolated from inland waters". The collection than become a member of WFCC (World Federation of Culture Collections). Today in Turkey, there are a lot of reserchers using microalgae in their researches in wide range of subjects from biofuel to biomaterial. In the coming years, the collection was grown by addition of new species isolated for new research projects. As time goes by, algal biotechnology gaind great intrest by not only aquatic product and biology departments but olso, bioengineering, food engineering, chemical engineering, machine engineering departments even biomedical engineering for production of biomaterials with multisipliner

cooperations. After 15 years, we organized 2nd National Algal Technology Symposium to collect all those scientist under the roof of algae and enable the cooperations and sharing opinions for establishment of new projects. “Algal Biotechnology in the World and Turkey” was the theme of this meeting. In my presentation I would like to summarize the national researches done from past to present and I will try to describe the the new trends and last informations about the situation of algal biotechnology in the world.

Key words: *Algal biotechnology, Microalgae, Cyanobacteria, Usage, Production.*

Fotoperiyot Uygulaması Yoluyla Gökkuşaağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Mevsim Dışı Gamet Eldesi

Momin MOMİN, Devrim MEMİŞ

*İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü,
İstanbul/Türkiye
mominm89@ogr.iu.edu.tr*

Gökkuşaağı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) normal üreme mevsiminde (Kasım-Ocak) ve fotoperiyot uygulanarak mevsim dışında (Temmuz-Ağustos) gamet elde edilmiştir. Normal üreme döneminde sağılan anaçlar (erkek: n = 15; dişi: n = 8) doğal koşullar altında açık beton havuzlarda tutulmuştur. Mevsim dışında yumurtlaması sağlanan anaçlar (erkek: n = 15, dişi: n = 10) ise kapalı beton havuzda sadece yapay LED ışık (50 lümen/m²) ile muamele edilmiştir. Bu iki deney grubunda, spermier Temmuz-Ağustos 2016 arasında sezon dışı yumurtlama grubunda (PG) (su sıcaklığı 14,21 ± 0,8 °C) ve Aralık 2016'dan Ocak 2017'ye kadar normal mevsim yumurtlama grubunda (NG) (su sıcaklığı 8,81 ± 2,54 °C) elde edilmiştir. Erkek balıkların sperm hacmi, seminal plazmanın ozmolalitesi, spermin yoğunluğu, spermatozoanın motilite yüzdesi (MOT), eğrisel hız (VCL) ve hareket süresi tespit edilmiştir. Döllenme başarısı PG ve NG'de sırasıyla % 45,10±40,47 ve % 92,56±5,79 olarak belirlenmiştir. Sperm kalite parametrelerin çoğunda anlamlı bir farklılık bulmuştur (p <0,05) ve normal mevsimde yumurtlayan grubun döllenme başarısı, sezon dışı yumurtlayan gruba (PG) göre anlamlı olarak (p <0,05) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonunda, mevsim dışında yapılan sağımda döllenme başarısı düşük elde edilmesine rağmen, sperm miktarı bakımından normal sezonda üretilen balıklarla benzer olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Gökkuşaağı alabalığı, Fotoperiyot, Mevsim dışı gamet eldesi, Sperm kalitesi.*

“Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 24374 no’lu projesi ile desteklenmiştir.”

Out of Season Gamete Production in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Photoperiod Manipulation

Momin MOMİN¹, Devrim MEMİŞ²

*Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Aquaculture,
Istanbul/ Turkey*

mominm89@ogr.iu.edu.tr

Gametes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were collected during normal spawning season (November-January) and out of normal season (July-August) by artificial photoperiod manipulation. Normal spawning broodstocks (males: n=15; female: n=8) were kept in open concrete pond under natural condition. Out-season spawning broodstocks (males: n=15, female: n=10) were treated with artificial LED light (50 lumens/m²) in closed concrete pond. In these two experimental groups, sperms were collected from July to August, 2016 in the out-season spawning group (PG) (water temperature 14.21±0.78 °C) and from December, 2016 to January, 2017, in the normal season spawning group (NG) (water temperature 8.81±2.54 °C). Volume of sperm, osmolality of seminal plasma, density of sperm, percentage of motile spermatozoa (MOT), curvilinear velocity (VCL) and duration of motility were measured for each male. Fertilization success was determined as 45.10±40.47% and 92.56±5.79% in PG and NG, respectively. Sperm quality parameters showed significant differences in most of the cases (p <0.05) and fertilization success is significantly higher in normal season spawning group than the photoperiod manipulated group (p <0.05) as well. However, it was able to get enough gametes in summer by using only artificial light having no changes in other parameters which will promote year-round production of rainbow trout. Though the rate of fertilization was low in PG, sperm volumes were similar in both groups.

Keywords: *Rainbow trout, Photoperiod, Out of season gamete production, Sperm quality.*

“This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University. Project Number 24374”

İzogenik Klonal Balık Hatlarının Geliştirilmesi ve Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri Kullanarak Verifikasyonu

**Münevver ORAL^{1,2}, Michaël BEKAERT¹, John B TAGGART¹,
Brendan J MCANDREW¹, David J PENMAN¹**

¹ *Su Ürünleri Enstitüsü, Doğa Bilimleri Fakültesi, Stirling Üniversitesi,
Stirling/ Birleşik Krallık*

² *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Rize/Türkiye
munevver.oral@erdogan.edu.tr*

Soy içi üreme ile elde edilen (inbred) deney hayvanlarının biyomedikal araştırmalara sağladığı katkılar düşünüldüğünde, izogenik balık hatları da su ürünleri araştırmalarında oldukça önemli bir yer tutar; ancak buna rağmen günümüzde sadece birkaç balık türünde geliştirilebilmişlerdir. Üretimleri uyarılmış partenogenez (ya mitotik ginogenez ya da androgeniz) yoluyla iki jenerasyonda sağlanabilirken; birinci jenerasyon klon yapıcılarının (G1 ya da A1) yaşam oranlarının oldukça düşük olması ve spontane, kısmen heterozigot mayotik ginogenetik bireylerin oluşumu (mitotik ginogenez üretim aşamasında ikinci polar cisimciğin çıkışının istemsiz engellenmesinden dolayı) gibi zorluklar bu hatların üretimlerini zorlaştırır. Yakın zamana kadar az sayıda genetik belirteç bu hatların verifikasyonu için kullanılıyordu. Genom kapsamında tarama yapabilecek güvenilir belirteç teknolojileri izogenik balık hatlarının gelişiminde gereklidir ve yeni nesil dizileme teknolojileri bu potansiyeli sağlar. Bu araştırma çift-enzimli RADseq (ddRAD-seq) yöntemini kullanarak çalışılan genomu kapsayıcı özellikte yüksek sayıda genetik belirteçler tanımlayarak, izogenik klonal balık hatlarının gelişiminde karşılaşılan zorlukları hedef almak ve bunların iç yüzünü anlayabilmek üzerine tasarlandı. Avrupa deniz levreği ve Atlantik somonu olmak üzere toplamda iki ekonomik değeri olan türde çalışıldı ve (i) radyasyona maruz bırakılmış gametlerden yeni nesillere geçebilecek potansiyel genetik katkılar, (ii) optimize edilen UV protokollerinin verifikasyonu, (iii) genetik bağlantı haritaları oluşturularak telomerik belirteçlerin tanımlanmasıyla mayotik ve mitotik ginogenetik bireyler arası sağlıklı bir ayrımın yapılması sağlandı. Sonuçlar, Avrupa deniz levreğinde hem mitotik hem de mayotik ginogenetik üretiminin başarı ile yapıldığını; dolayısıyla üretimde kullanılan protokollerin UV radyasyonu ve takip eden şok zamanı ve müddetinin optimize edildiğini ortaya koydu. Atlantik somonu genomu evrimsel süreçlerde yakın dönemde (25-100 myö) geçirdiği tüm genom

duplikasyonu sebebiyle verifikasyon çalışmaları esnasında çok daha zorlu bir çalışma materyali oluşturdu. Ancak kromozomal seviyedeki iyi kalite referans genom bilgisinin (Ssa_04; AGKD00000000.4) var olması; optimize edilmiş UV radyasyon protokolü ve diploidliğin sağlanması için takip eden şok uygulamalarının verifikasyonunu sağladı. Özetle, yeni nesil dizileme teknolojileri hem tüm genom duplikasyonu geçmiş olan ve olmayan iki türde yüksek sayılarda ve çalışılan türün genomunu kapsayıcı genetik belirteçler tanımlayarak verimliliğini kanıtladı.

Klon yapıcılarının döl verebilmesi durumunda, bu grup Avrupa deniz levreğinde ve Atlantik somonunda ilerleyen jenerasyonlarda izogenik klonal hatların üretiminde kullanılacaklardır. Söz konusu hatların Avrupa'da sıklıkla yetiştiriciliği yapılan öncelikli türlerde, su ürünleri araştırmalarında kullanılmak üzere, güvenilir bir şekilde oluşturulmaları AQUAEXCEL2020 hedeflerinden bir tanesidir.

Anahtar kelimeler: *İzogenik klonal balık hatları, Mitotik ginogenetik (G1), ddRAD-seq, Su ürünleri.*

Bu proje Avrupa Birliği Ufuk 2020 araştırma ve yenilik programı No. 652831 sayılı anlaşması (AQUAEXCEL2020) hibe sözleşmesi uyarınca desteklenmiştir. MO Türkiye Cumhuriyeti, Milli Eğitim Bakanlığı'na (1416/YLSY) doktora eğitim bursu için şükranlarını sunar.

Development and Verification of Isogenic Clonal Fish Lines Using Next Generation Sequencing Technologies

**Münevver ORAL^{1,2}, Michaël BEKAERT¹, John B TAGGART¹,
Brendan J MCANDREW¹, David J PENMAN¹**

¹ *Institute of Aquaculture, School of Natural Sciences, University of Stirling,
Stirling/UK*

² *Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of Fisheries and Aquaculture,
Rize/Turkey*

munevver.oral@erdogan.edu.tr

Isogenic clonal lines of fish are a valuable tool for aquaculture-related research, as inbred animals have been in biomedical research, yet to date they are available in only a few species. Although the production of such lines can be achieved in two generations through induced parthenogenesis (either mitotic gynogenesis or androgenesis), challenges such as reduced survival of doubled haploid clone founders and spontaneous, partially heterozygous meiotic gynogenetics (due to non-targeted retention of second polar body in the mitotic gynogenesis process) hamper the successful establishment of such lines. Until recently only small numbers of genetic markers were available for the verification of such lines. Reliable marker technologies are needed for genome-wide screening during development of isogenic lines, and next generation sequencing offers this potential. This research set out to address challenges and gain insights into isogenic clonal fish lines development by using double-digest RADseq (ddRAD-seq) to generate large numbers of genetic markers covering the genome of interest. In total, two species of commercial interest (European seabass and the Atlantic Salmon) have been studied and (i) analysis of potential contribution from irradiated gametes, (ii) verification of optimized UV protocols, (iii) identification of telomeric markers so as to differentiate meiotic gynogenetics from those of mitotic gynogenetics by constructing genetic linkage maps have been investigated.

Results suggested successful production of both mitotic and meiotic gynogenetics in European seabass thus optimized UV irradiation and subsequent shock timing and duration protocols. The Atlantic salmon genome presented more challenging material for verification purposes due to a recent (25-100 mya) whole genome duplication origin within the course of evolution. Yet, availability of good quality chromosomal level reference genome assembly (Ssa_04; AGKD00000000.4) made it possible to verify optimized UV irradiation protocol and subsequent shock

treatments for restoring diploidy. In summary, next generation sequencing technologies have proven its efficiency in identifying large number of markers covering the entire genome of interest in both species with/without WGD origin. Provided that the clonal founders are fertile, they will be used for producing isogenic clonal lines in European seabass and the Atlantic salmon in the successive generations. Successful establishment of such lines in species of prime commercial interest in Europe is one of the objectives of the AQUAEXCEL2020 as a resource for aquaculture-related research.

Keywords: *Isogenic clonal fish lines, Mitotic gynogenetics (G1), ddRAD-seq, Aquaculture.*

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No. 652831 (AQUAEXCEL²⁰²⁰). MO gratefully acknowledges the funding of National Education Department of Turkish Government (1416/YLSY) for her PhD.

Doğal Ekosistemlerde Moleküler Yöntemlerin Uygulanması: Karadeniz’de Zooplankton Tayini İçin Hızlı Bir Yöntem

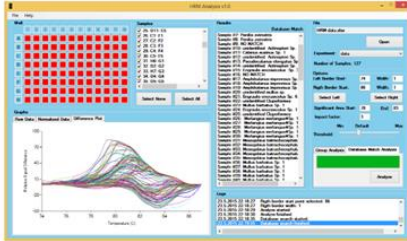
**Orhan İNCE¹, İbrahim MIRALIOĞLU²,
E. Gözde ÖZBAYRAM¹, Bahar İNCE²**

¹*İstanbul Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, İstanbul/ Türkiye,*

²*Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul/Türkiye,*

gozbayram@itu.edu.tr

Zooplankton denizlerdeki yaşam için son derece önemli organizmalardır. Beslenme zincirinde ara basamağı oluşturarak üreticilerle tüketiciler arasındaki enerji akışını sağlamaktadır. Zooplankton türlerinin morfolojik yöntemlerle belirlenmesi uzmanlık, emek ve zaman gerektiren bir süreçtir. Bu durum, ekosistem dinamiklerini anlamada kullanılan rutin izleme programlarını zorlaştırmaktadır. Karadeniz dünyadaki en büyük sucul ekosistemlerden biridir. Bunun yanında zooplankton çeşitliliği tam anlamıyla bilinmemektedir. Morfolojik yöntemin alternatifi olarak kullanılabilen DNA barkodlama ise görece pahalı ve zaman alan bir metot olup, ilgili veritabanındaki bilgilerle sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı Karadeniz’deki zooplankton türlerini belirlemek ve daha hızlı, ekonomik, uzmanlık gerektirmeyen yeni bir uygulama geliştirmektir. Bu kapsamda, yüksek çözünürlüklü erime eğrilerini (HRM) kullanabilen bir yazılım geliştirilmiş, bu eğriler türleri ayıran bir çeşit dijital imza gibi kullanılmıştır (Şekil 1). Geliştirilen yöntem ile yaklaşık 3 saatlik bir sürede sonuç alınmaktadır. Erime eğrisi verilerini



Şekil 1. HRM yazılımında tüm örnekler için veritabanı sonuçları

bu şekilde çok yüksek sayılarda gruplandırılabilir ve bir veri bankası ile karşılaştırılması yönünden bu çalışma bir ilki teşkil etmektedir. Sonuçlar, HRM yazılımının zooplankton tür tayininde uygulanabilir bir yöntem olduğunu göstermiştir. HRM yazılımının rutin biyoçeşitlilik araştırmalarında ve kıyılarımızdaki ekosistem yönetiminde kullanılabilen bir yöntem olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Çevre biyoteknolojisi, HRM analizi, Karadeniz, Zooplankton.

Application of Molecular Methods in Natural Ecosystems: A Quick Method to Identify Zooplankton Species in Black Sea

Orhan İNCE¹, İbrahim MİRALİOĞLU²,
E. Gözde ÖZBAYRAM¹, Bahar İNCE²

¹*Istanbul Technical University, Environmental Engineering Dept, İstanbul/ Turkey*

²*Bogazici University, İstanbul/ Turkey*

gozbayram@itu.edu.tr

Zooplankton are essential for marine ecosystems. These organisms form an intermediate step in the food chain, which sustain the energy flow between producers and consumers. It is extremely difficult to identify marine zooplankton using classical morphological methods, which require expertise and intensive effort. This situation harms our understanding of ecosystem dynamics by making harder routine monitoring programs. The Black Sea is one of the largest marine ecosystems in the world, yet the zooplankton diversity is not entirely known. DNA barcoding can be considered as a good alternative for conventional morphology-based identification. On the other hand, it is time consuming, expensive and limited to the information recorded in the universal DNA databases. The aims of this study were to identify zooplankton species in Black Sea and develop a new identification methodology which is not only cost and time effective but also do not require expertise. In this scope, new software created which could use the HRM curves as a specific signature to identify or categorize the samples according to their species (Figure 1). The developed method can give the results in approximately 3 hours. In

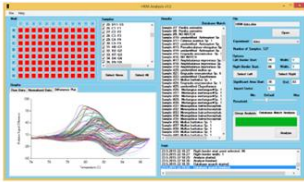


Figure 1. Database match analysis of all samples created by HRM software

terms of high grouping capacity, this study represents a first comparison of melt curves with a specific database. The results indicate that HRM software is a feasible method to identify zooplankton species. The created HRM software can be used in routine biodiversity investigations and in ecosystem management in Turkish coastal waters where the impacts of invasive species are strong.

Keywords: Black sea, Environmental biotechnology, HRM analysis, Zooplankton

Balık Sağlığı Yönetiminde Biyoteknolojik Uygulamalar

**Özgür ÇANAK, Menekşe Didem ERCAN,
Süheyla KARATAŞ STEINUM**

*İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Ana Bilim Dalı,
İstanbul/ Türkiye
dican@istanbul.edu.tr*

Dünya genelinde su ürünleri üretim miktarı sürekli bir artış göstermektedir. Bu artışın önündeki en önemli engellerden biri de genellikle mikrobiyal etkenlere bağlı olarak gelişen balık hastalıklarıdır. Balık hastalıklarının önlenmesi, teşhisi ve tedavisine yönelik uygulamaların tümü balık sağlığı yönetimi olarak adlandırılmaktadır. Balık sağlığı yönetiminde en önemli nokta, üretim bölgesinde, üretim periyodu boyunca risk faktörü olabilecek mikroorganizmaların bilinmesi, bunların hızlı bir şekilde varlığının tespiti ve uygun aşılama programlarının uygulanmasıdır. Geleneksel olarak kullanılan teşhis metodları ve önleyici uygulamalar, maliyetli, uğraştırıcı ve zaman alıcı olmalarının yanı sıra etkinlikleri de tartışmalı olabilmektedir. Bu gibi sorunların çözümünde son yıllarda biyoteknolojik uygulamalar ön plana çıkmıştır. Balık hastalıklarının teşhisi için etkenin izole edilip fiziksel ve biyokimyasal özelliklerine göre teşhis edilmesi günümüzde hala kullanılmakla birlikte, biyoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak çeşitli moleküler ve immünolojik teşhis yöntemlerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu yöntemler arasında yer alan genusa veya türe özgü PCR yöntemleri, nükleik asit sekanslama, RT-PCR gibi moleküler yöntemler ve monoklonal antikorların kullanıldığı immünolojik yöntemler hızlı ve kesin teşhis olanakları sağlamaktadır. Ayrıca bu yöntemlerin kullanımının yaygınlaşması ile kullanımı kolay hazır kitlere ulaşmak da mümkün olmuştur. Balık hastalıklarının önlenmesinde kullanılan aşılama çalışmalarında geleneksel olarak zayıflatılmış veya öldürülmüş etkeni içeren, anestezi ve enjeksiyon gibi elle muamele basamakları içeren ve balıklarda strese neden olabilen aşılama programları kullanılmaktadır. Rekombinant DNA teknolojisi ile düşük maliyetli ve geniş kapsamlı aşılama üretilmesi mümkün olabilmektedir. Ayrıca DNA aşılı, adjuvan tasarımı ve oral aşı uygulamaları da gelecekte daha etkin aşılama geliştirilebileceğinin göstergesidir. Faydalı mikroorganizmaların kullanıldığı probiyotik çalışmaları ile de hastalıkların önlenmesinde başarılı sonuçlar alınmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Balık sağlığı, Balık hastalıkları, Biyoteknoloji*

Biotechnology Applications in Fish Health Management

**Özgür ÇANAK, Menekşe Didem ERCAN,
Süheyla KARATAŞ STEINUM**

*Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences Fish Diseases Programme,
Istanbul/ Turkey
dican@istanbul.edu.tr*

Aquaculture productions shows a continuous increase worldwide. One of the most important limiting factor against this increase is the fish diseases caused by microbial agents. The sum of the application carried out for prevention, diagnosis and treatment of fish diseases are called the fish health management. Principal point in the fish health management is the knowledge on the potential risk factor microorganisms in the production site during the production period, rapid detection of their presence and application of the proper vaccination programs. Traditional identification methods and prophylactic applications can be costly, challenging and time-consuming. Besides, their effectiveness can be sometimes questionable. In recent years, biotechnology applications became prominent for the solution of these problems. Methods including isolation of the agent and identification depending on the biochemical characters for the diagnosis of fish diseases are still in use but, parallel to the development in biotechnology, various molecular and immunologic identification methods are widely used. Among them, molecular methods such as genus or species specific PCR methods, nucleic acid sequencing, RT-PCR and immunologic methods in which the monoclonal antibodies are used provides rapid and precise identification. Also, as they are widely used, easy and ready to use identification kits are widely available. In traditional vaccines used for the prevention of the fish diseases contains attenuated or killed microorganisms and these programs include stress-causing handling steps such as anesthesia and injection. Recombinant DNA technologies made it possible to produce low-cost and broad spectrum vaccines. Also, DNA vaccines, adjuvant design and oral vaccines indicate that more effective vaccines can be produced in the future. Successful results are achieved in the prevention of fish diseases with the probiotic studies in which the beneficial microorganisms are used.

Keywords: *Fish health, Fish diseases, Biotechnology.*

Biyoteknolojik Ürün Olarak "Su Ürünleri"

Özkan ÖZDEN, İdil CAN, Nuray ERKAN

*İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi,
Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul/ Türkiye
ozden@istanbul.edu.tr*

Biyoteknoloji kelimesi biyolojiden köken alarak gelişen biyolojiye dayalı teknoloji alanıdır. Biyoteknoloji, yaşamımızın ve gezegenimizin sağlığını geliştirmeye yardımcı olan teknolojiler ve ürünler geliştirmek için hücresel ve biyomoleküler süreçleri kullanan bir bilim alanıdır. 6000 yıldan fazla bir süredir ekme ve peynir gibi faydalı gıda ürünleri yapmak üzere bize yardımcı olduğunu biliyoruz. Bugün onları daha geniş yelpaze de ürünler geliştirmek ve korumak içinde kullanılmaktadır. Modern biyoteknoloji, hastalıklar ile mücadele etmekten, alternatif besin kaynakları ile açlığa çare olmaktan, daha az ve daha temiz enerji kullanmak ve daha güvenli, daha temiz ve daha verimli endüstriyel üretim süreçlerine sahip olmak için çığır açan ürünler ve teknolojiler sağlamaya yönelik çalışmalar yürütmektedir. Günümüzde; kök hücre, parmak izi, Dna testi, klonlama, aşı üretimi, antibiyotik üretimi, hormon üretimi, yapay uzuv ve organ, su arıtımı, yangına, ısıya, radyasyona mukavim özel giysiler tasarımı, zararlılarla mücadele, genetiği değiştirilmiş gıdalar dahil biyoteknoloji çalışma alanına girmektedir.

Kısaca biyoteknoloji; hücre ve doku biyolojisi kültürü, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, genetik, fizyoloji ve biyokimya gibi doğa bilimlerinin yanı sıra makina mühendisliği, elektrik-elektronik mühendisliği ve bilgisayar mühendisliği gibi mühendislik dalları ile entegre olmuş doğal olarak var olmayan veya ihtiyacımız kadar üretilmeyen yeni ve az bulunan maddeler (ürünleri) elde etmek için kullanılan teknolojilerin tümüdür. Alglerden elde edilen biyodizel çalışmaları, doğada mavi yeşil rengin tek doğal kaynağı olan alglerden elde edilen boya maddelerinin doğal gıda boyaları olarak kullanımı, bu boya maddelerinin doğal kozmetik ürünlerin vazgeçilmezi olması, kahverengi kırmızı alglerden elde edilen aljinat ve karagenanın gıda ve ambalaj endüstrisinde kullanılması, kabuklu deniz canlılarının kabuklarındaki kitin maddesinin biyo bozunur ambalaj, yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılması, balık vd su ürünlerinin atık ürünlerinin işlenmesi ile ortaya konan kollojen, elasten, protein konsantrelerinin gıda takviyesi ve destekleyici olarak değerlendirilmesi ile su ürünleri de biyoteknolojik çalışmalarda yerini almıştır. Enzim ve prebiyotik kullanımı ile ürün geliştirme ve muhafaza, genetik çalışmalar, sensör üretimi ile su bilimleri birçok disiplinle karşılıklı işbirliği

içindedir. Azalan kaynaklarımız ve bu kaynaklardan minimum alanda maksimum verim bulma arayışı ile geliştirilecek ihtiyaçlar bilim insanlarının hayali biyoteknolojiyi daha da geliştirecektir.

Anahtar Kelimeler: *Biyoteknoloji, Su Ürünleri, Biyosensör, Yenilebilir Film, Doğada Çözünebilir Ambalaj.*

"Aquatic Materials" as a Biotechnological Product

Özkan ÖZDEN, İdil CAN, Nuray ERKAN

*Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences,
Seafood Processing Technology Programme, Istanbul/ Turkey
ozden@istanbul.edu.tr*

Biotechnology word is based on biology which derives from developing biology technology. Biotechnology is a science that uses cellular and biomolecular processes to develop technologies and products that help to improve the health of our planet and our lives. We know that it has helped us to make useful food products such as bread and cheese for more than 6000 years. Today it is also used to develop and protect products in a wider range. Modern biotechnology carries out efforts to combat diseases by providing groundbreaking products and technologies in order to use less and cleaner energy, and to have safer, cleaner and more efficient industrial production processes, from hunger with alternative food sources. Today, including stem cell, fingerprinting, DNA testing, cloning, vaccine production, antibiotic production, hormone production, artificial limb and organ, water treatment, fire resistant, heat resistant, radiation resistant special clothing design, pest control, genetically modified food are in the field of biotechnology. Biotechnology is a science that is integrated with natural sciences (cell and tissue biology culture, molecular biology, microbiology, genetics, physiology and biochemistry) and engineering sciences (mechanical engineering, electrical-electronics engineering and computer engineering) to produce new and rare products that we need. Aquatic products have been involved in biotechnological studies with subjects like, algal biodiesel production, food dye obtained from blue-green algae, the use of alginate and carrageenan as packaging material from brown red algae, evaluation of chitin obtained from shells as biodegradable packaging material, production of collagen, elastane, protein concentrate from seafood processing wastes. Aquatic sciences collaborate with many disciplines by biotechnological applications like new product development and conservation with the use of enzymes and prebiotics, genetic studies, biosensor production. Biotechnology will thrive with the dream of the scientists, the search for maximum yield with decreasing resources, and developing needs for this purpose.

Key Words: *Biotechnology, Aquatic products, Biosensor, Edible film, Biodegradable packaging.*

Ginogenetik Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Üretimi

Rahmi Can ÖZDEMİR¹, Aygül EKİCİ²

¹*Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Kastamonu/ Türkiye*

²*İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi, İstanbul/ Türkiye*

rozdemir@kastamonu.edu.tr

Ginogenetik albino gökkuşağı alabalığı üretmek amacıyla yapılan çalışma, iki ana başlık altında Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Kapalı Devre Kuluçkahanesi ve Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, ginogenetik üretim için sekiz adet normal erkek gökkuşağı alabalığından elde edilen (pooling) spermaya ultraviyole (UV) ışın uygulaması gerçekleştirilmiş ve spermatolojik özelliklere etkisi ışık mikroskopunda (40x) incelenmiştir. İkinci aşamada, sıcaklık şok uygulamasının optimizasyonu için uygulama zamanı ve süresi belirlenmeye çalışılmıştır. Spermaların UV ışınlanması sonrasında letal doz 4800 KJ/cm², optimum doz 3700 KJ/cm², UV uygulama öncesi sperm motilite yüzdesi %90'dan daha yüksek ve motilite süresi 39±7 sn, ışınlama sonrasında ise sperm motilitesi %65±7,5 ve motilite süresi 20±4 sn olarak belirlenmiştir. Albinizm gökkuşağı alabalıklarında resesif bir karakter olmasından dolayı, başarılı bir ginogenetik balık üretiminde markır olarak kullanılabilir. Ginogenetik gökkuşağı alabalığı üretim çalışmamızın başarı oranının belirlenmesi amacıyla, 3 adet dişi albino gökkuşağı alabalığından elde edilen yumurtalar kullanılmıştır. Her bir deneme grubunda yaklaşık 260 adet yumurta kullanılmış ve UV ile inaktive edilmiş sperma ile %0.9'luk NaCl sperm aktivasyon solüsyonu kullanılarak döllenmiştir. 29 °C (1. grup), 30°C (2. grup) ve 31 °C'de (3. grup) döleme işlemi sonrası; 20., 25. ve 30. dakikalarda, 15 dakika süreyle uygulanan sıcak şok değerlerine bağlı olarak deneme grupları oluşturulmuştur. Deneme grupları kendi içerisinde gözlenme, larval çıkış ve yaşama oranlarına göre karşılaştırma yapılarak ginogenetik üretim için en uygun şok zamanı ve derecesi tespit edilmiştir. Deneme gruplarının gözlenme, larval çıkış ve yaşama oranları incelendiğinde; döleme işleminden 30 dakika sonra 29 °C'de oluşturulan şok uygulama grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel fark olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Larval çıkış ve yaşama oranları karşılaştırıldığında; %70±7,5 ile 1. grubun en yüksek, %34±9 ile 3.grubun en düşük sonucu verdiği tespit edilmiştir. Çalışma sonunda, deneme gruplarının tamamında albino gökkuşağı alabalığı elde edilmesi, albinizmin başarılı bir ginogenetik uygulamada bu balık türü için genetik markır olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Ginogenez, Gökkuşağı alabalığı, Albino, Ultraviyole ışınlaması.*

Production of Gynogenetic Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Rahmi Can ÖZDEMİR¹, Aygül EKİCİ²

¹*Kastamonu University Faculty of Fisheries, Kastamonu/ Turkey*

²*İstanbul University Faculty of Aquatic Sciences, İstanbul/ Turkey*

rozdemir@kastamonu.edu.tr

The study was carried out under two main stages in the Recirculation System Hatchery and Laboratory of Fisheries Faculty of Kastamonu University. In the first step, ultraviolet (UV) irradiation was performed on sperm obtained from eight normal male (pooling) rainbow trout for gynogenetic production, and the effect of spermatological characteristics was examined in light microscope (40x). In the second stage, the timing and duration of the temperature shock application was determined. It was determined that lethal dose was 4800 Kj / cm² (0% motil) and the optimum dose was 3700 Kj / cm² of the UV irradiation, before UV application sperm motility was higher then 90% and motility duration was 39±7 seconds after UV application, the sperm motility was 65±7.5% and the motility duration was 20±4 seconds. Albinism is a recessive trait in rainbow trout. In order to determine the success rate of our gynogenetic rainbow trout production study, eggs obtained from three female albino rainbow trout were used. Experimental groups were comprised of 25±1,8 gr (~ 260 eggs) eggs, and the eggs were fertilized by UV irradiation with genetically inactivated sperm using 0.9% NaCl sperm activation solution. After fertilization at 29 °C (1st group), 30 °C (2nd group) and 31 °C (3rd group); experimental groups were comprised depending on the heat shock values applied for 15 minutes at 20th, 25th and 30th minutes. Optimal shock time and temperature degree for gynogenetic production were determined by comparing experimental groups in terms of eyed-stage, hatching rate and survival rate. When the eyed-stage, hatching and survival rates of the experimental groups were analyzed, there was statistically significant difference between the shock group, that comprised 30 minutes after fertilization at 29 °C, and the other groups (P <0.05). When the rates of hatching and survival were compared; the first group gave the best result with 70 ± 7,5%, and the third group gave the worst result with 34 ± 9%. At the end of the study, it was shown that albino rainbow trout entirely in the experimental groups, albinism, could be used as a genetic marker for this fish in a successful gynogenetic application.

Keywords: *Gynogenesis, Rainbow trout, Albino, Ultraviole irradiation.*

Sucul Ekosistemlerde Alg Artışlarının İzlenmesinde Moleküler Metodların Kullanımı

Reyhan AKCAALAN, Latife KÖKER, Meriç ALBAY

*İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi,
İçsu Kaynakları ve Yönetimi Anabilim Dalı, İstanbul/ Türkiye
akcaalan@istanbul.edu.tr*

Dünya nüfusunun artışı ile birlikte su kaynakları üzerinde oluşan insan kaynaklı baskılar sonucu sağlıklı ve temiz suya ulaşmak giderek zorlaşmaktadır. Su kaynaklı oluşabilecek risklerin ortaya konması için su kalitesinin izlenmesi ve problem yaratabilecek durumların erken tespiti oluşabilecek risklerin azaltılması ve önlem alınması bakımından önemlidir. Algler ve siyanobakteriler su kalitesinin izlenmesi ve sucul ekosistemlerin verimliliğinin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda klasik izleme yöntemlerinin yanı sıra sularda bulunan siyanobakteri- siyanotoksinlerin ve patojenlerin tespiti ve konsantrasyonlarının belirlenmesine yönelik PZR temelli pek çok metod geliştirilmiştir. PZR analizleri oldukça hızlı ve hassas bir şekilde sonuç vermektedir. Türe özgü DNA ve/veya RNA dizilerinin tespitine dayalı DNA temelli sensörlerin geliştirilmesi ise son yıllarda hız kazanmıştır. Özellikle toksik alglerin ve ürettikleri toksinlerin izlenmesinde moleküler yöntemler oldukça önem kazanmaktadır. Bu amaçla İznik ve Sapanca göllerinde yapılan izleme çalışmalarında siyanobakteri tür tespiti ve siyanotoksin izlenmesinde konvansiyonel metodlar ile birlikte moleküler temelli metodlar kullanılmıştır. İznik gölü'nde artış yapan türler tespit edilmiş ve ürettikleri Microcystin ve Cylindrospermopsin'in zamana ve derinliğe bağlı değişimi 16SrRNA, MeyE/ndaF ve CYN poliketid sentaz bölgelerine yönelik primerler kullanılarak tespit edilmiş ve toksik genotiplerin zamana bağlı değişimi gerçek zamanlı PZR kullanılarak izlenmiştir. Bir populasyonda toksin üreten ve üretmeyen genotipler bir arada bulunabilirler ve morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilemezler. Bu nedenle, populasyonda toksin üreten genotiplerin yüzdesinin ve zamana bağlı değişiminin tespit edilebilmesi ancak gerçek zamanlı PZR ile mümkün olmuştur. Sapanca Gölü'nde ise Microaqua projesi kapsamında geliştirilmiş olan mikroçip kullanılmış ve siyanobakteri ve siyanotoksinlerin zamana bağlı değişimi izlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, konvansiyonel izleme çalışmaları ile uyumlu sonuçlar vermiş, özellikle, siyanobakteri ve siyanotoksinlerin düşük konsantrasyonda olduğu dönemlerde de mikroçip ile tespit edilebildikleri görülmüştür. Elde edilen sonuçlar geliştirilen mikroçipin akademik çalışmalarda ve kamu kurumları tarafından

gerçekleştirilen izleme çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Siyanobakteri, Siyanotoksin, Gerçek zamanlı PZR, Mikroçip.*

Application of Molecular Methods in Monitoring of Algal Blooms in Aquatic Ecosystems

Revhan AKCAALAN, Latife KÖKER, Meriç ALBAY

*Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences
Freshwater Resources and Management Programme, Istanbul/ Turkey
akcaalan@istanbul.edu.tr*

It became difficult to reach clean water as a result of anthropogenic pressures on water resources. It is important to monitor water quality in order to determine the water-borne problems that may arise from the deterioration of water quality and to reduce the risks by early detection. Algae and cyanobacteria are widely used to monitor water quality and determine the productivity of aquatic ecosystems. In recent years, many PCR based methods have been developed for the detection and concentration of cyanobacteria-cyanotoxins and pathogens in water. PCR analysis is very fast and precise. Besides, the development of DNA-based sensors using the genomic DNA and/or RNA sequences has gained momentum in recent years. Especially, molecular methods are very important in monitoring toxic algae and their toxins. For this purpose, monitoring studies in İznik and Sapanca lakes for the detection of cyanobacteria species and cyanotoxins with molecular based methods together with conventional methods were conducted. Cyanobacteria species in İznik lake were identified and the spatial and temporal changes of microcystin and cylindrospermopsin were detected by using primers for 16S rRNA, McyE/ndaF ve CYN polyketide synthase domains and the time dependent changes of genotypes producing both toxins were monitored using real time PCR. Toxin producing and nontoxic genotypes could be found in the same population, and could not be distinguished from each other morphologically, so that more accurate results on spatio-temporal distribution of toxic genotypes can be obtained with real-time PCR. On the other hand, a microarray, an RNA-based sensor developed under the Microaqua project, was used and the temporal change of cyanobacteria and cyanotoxins was detected. The results obtained were consistent with conventional monitoring efforts and microarray detected cyanobacteria and cyanotoxins in lower concentrations. These results show that the developed microarray can be used successfully in monitoring studies.

Keywords: *Cyanobacteria, Cyanotoxin, Real-time PCR, Microarray.*

Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Cinsiyet Kontrolü

Tülin ARSLAN

*Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Bölümü, Muğla/Türkiye
atulin@mu.edu.tr*

Kültürü yapılan balık ve kabukluların üreme özelliklerinin üretim verimi ve ekonomisi üzerindeki etkileri sebebiyle, cinsiyet kontrolü su ürünleri yetiştiriciliğinde en yaygın kullanılan biyoteknoloji haline gelmiştir. Bu biyoteknoloji su ürünleri yetiştiricilik endüstrisine erken erginleşme ve porsiyonluk üretim sistemlerinde yumurtlama, et kalitesinde erginleşmeye bağlı düşüşler gibi problemlerin çözümünde yardımcı olmaktadır. Bunun yanında, üretim için daha hızlı büyüyen ve yüksek ekonomik değere sahip cinsiyeti seçme, dişi ve erkek anaç sayılarını kontrol altında tutma ve çevresel etkiyi minimuma indirme olanağı sağlamaktadır. Balıklarda cinsiyeti kontrol etmek için direkt veya dolaylı hormonal cinsiyet-dönüşüm, çevresel ve sosyal faktörlerin manipülasyonu, ginogenez, poliploidi, hibridizasyon, belirteç yardımı ile seleksiyon gibi çeşitli teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yeni bir tür için uygun teknik veya tekniklerin seçimi türün cinsiyet belirleme ve gelişim mekanizmaları bilgisini gerektirir. Çünkü cinsiyet belirleme mekanizmaları balıklarda yüksek bir çeşitlilik gösterir, ayrıca çevresel ve sosyal faktörlerden etkilenebilir. Bu sunumda balıkların cinsiyet belirleme mekanizmaları konusunda güncel bilgiler özetlenecek, cinsiyet ve cinsiyet değişimi kontrolü için geliştirilen stratejiler ülkemizde yetiştiriciliği yapılan türler ve kendi laboratuvarımızda yapılan çalışmalar üzerinden tartışılacaktır. Üniversitemizde gökkuşuğu alabalığı'nda (*Oncorhynchus mykiss*) en pratik ve etkili tamamı dişi üretim prosedürünü geliştirmek üzere yıllar içerisinde bir seri çalışma yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, XX erkeklerinin üretimini gerektiren dolaylı hormonal cinsiyet-dönüşüm kullanılmıştır. Çeşitli dozlarda androjenler (11 β -hidroksandrostenedion, 17 α -metiltestosteron (MT) and 17 α -metildihidrotestosteron (MDHT)), değişik (yumurta açılmasından bir hafta sonrasında dış beslenmeye geçişe değişen) gelişim aşamalarında, değişik yoğunluklarda oral veya banyo yoluyla verilmiştir. Sonrasında bu hormon uygulamalarının gonad morfolojisi and fonksiyonu üzerindeki etkileri direkt olarak gonad gelişimi üzerinden ve dölleme denemeleri ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarımız gökkuşuğu alabalığında cinsiyet kontrolü için en etkili androjenlerin MT ve MDHT olduğunu göstermiştir. Her iki androjende 0.5 mg/L banyo ve 1 mg/L yem veya daha düşük dozajlarda etkili bulunmuştur. Daha yüksek dozajlar ve uzun uygulama süreleri ise gonad boyutlarının küçülmesine ve hatta steriliteye

sebepe olmuştur. Buna karşılık düşük dozlar ve kısa süreli uygulamalar sperm kanallı XX erkekleri üretmiştir. Fakat yüksek oranda XX erkeği üretimi pre-larval dönemin son iki haftasını ve post-larval döneminin ilk ayını kapsayan bir uygulama süresi gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Cinsiyetin belirlenmesi ve gelişimi, Cinsiyet kontrolü, Cinsiyet dönüşümü, Triploidi, Hibridizasyon.*

Sex Control in Aquaculture

Tulin ARSLAN

*Mugla Sıtkı Kocman University, Faculty of Fisheries, Department of Aquaculture,
Mugla/ Turkey
atulin@mu.edu.tr*

Since reproductive characteristics of cultured fishes and shellfishes have tremendous impacts on the production efficiency and economics, sex control has become the most commonly applied biotechnology in aquaculture. This biotechnology has helped to aquaculture industry in solution of the problems such as precocious maturation and spawning in grow-out systems, deterioration of meat quality upon maturation. Additionally, it has provided opportunities for choosing the faster growing and economically more valuable sex, controlling the numbers of male and female brooders and minimizing the risk of environmental impact. Techniques such as direct or indirect hormonal sex-reversal, manipulation of environmental and social factors, gynogenesis, polyploidy, hybridization and marker assisted selection has commonly been employed to control sex and sexual differentiation in fishes. Selection of the appropriate technique or techniques for sex control in a new species, on the other hand, requires knowledge of sex determination and differentiation mechanisms, because sex determination mechanisms in fishes are highly variable and labile to influence of environmental and social factors. This presentation will summarize our current knowledge on sex determination mechanisms of fishes and strategies developed for the sex control and sexual differentiation will discussed with an emphasis on the fishes cultured in Turkey and researches conducted in our institution. Over the years, several studies have been conducted in our institution in order to develop the most practical and effective monosex female production procedure for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). With this aim we employed indirect hormonal sex-reversal technique which requires production of XX males. We administered variable dosages of androgens (11 β -hydroxyandrostenedione, 17 α -methyltestosterone (MT) and 17 α -methyl dihydrotestosterone (MDHT)) at different developmental stages (changing from one week after hatching to first feeding) in different intensities either orally or through rearing water. Then, we determined the effects of these hormone treatments on gonadal morphology and function via direct evaluation of gonadal development and fertilization trials. Results of our studies demonstrated that the most effective androgens in control of sexual differentiation of rainbow trout were MT and MDHT. Both androgens were effective at dosages as low or lower as 0.5 mg/L of rearing water or 1 mg/kg diet. Higher dosages and extended treatment

periods reduced the size of gonads and even induced sterility, while low dosages and shorter treatment periods yielded XX males with intact sperm ducts. However, high level of XX male production required a treatment period covering the last two weeks of pre-larval and first month of post-larval stages.

Keywords: *Sex determination and differentiation, Sex control, Sex-Reversal, Triploidy, Hybridization.*

Ozonlama Sonrası Ultrases Kullanımıyla Mikroalg Hücre Parçalama Veriminin Arttırılması

Ülker Diler KERİS ŞEN, Ünal ŞEN, Mirat D. GÜROL

Gebze Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Kocaeli/Turkey
udkeris@gtu.edu.tr

Mikroalglerden üretilen üçüncü nesil biyoyakıtlar artan küresel enerji ihtiyacına sürdürülebilir bir çözüm üretme potansiyeline sahiptir. Öte yandan, ticari ölçekte mikroalg kaynaklı biyoyakıt üretiminin önünde halen çözülmeyi bekleyen pek çok engel mevcuttur. Özellikle üretilen mikroalg biyokütlesinin hasatlanması aşaması biyoyakıt üretim maliyetini en çok arttıran unsurdur. Hasatlama işlemi sırasında, mikroalg hücre duvarlarının etkili ve düşük maliyetli bir yöntemle parçalanarak hücre içi değerli materyalin (karbonhidrat ve lipit) bir sonraki biyoyakıt dönüşüm aşaması için kullanılabilir hale getirilmesi şu sıralar büyük ölçekli mikroalg biyoyakıt üretimi konusunda aşılması gereken en başlıca engeldir. Bu doğrultuda yapılan önceki çalışmalarımızda biyoyakıt hammaddesi olarak üretilen mikroalglerin hasatlanması sırasında ozonlama ve ultrases uygulamasının birer hücre parçalama yöntemi olarak kullanılabilirliği ayrı ayrı incelenmiştir. Bu çalışmalar neticesinde hem ozon hem de ultrases uygulaması sonucu mikroalg hücrelerinin beklenildiği gibi parçalandığı ve biyoyakıt hammaddesi olarak kullanılabilir değerli materyalin hücre dışına taşındığı, ancak ozonun lipitle reaksiyona girerek lipit yapısına zarar verdiği gözlemlenmiştir. Bu bağlamda gerçekleştiren bu çalışmada bu iki etkili hücre parçalama metodunu aynı zamanda kullanılarak mikroalg hücre parçalama veriminin arttırılması hedeflenmiştir. Çalışmada BG11 ortamında yetiştirilen karışık bir mikroalg kültürü kullanılmıştır. Karışık kültürden elde edilen biyokütle öncelikle farklı ozon dozlarında (0,03, 0,15, 0,27 g O₃/g kuru biyokütle (kb)), daha sonra da ozonlanan hücreler farklı ultrases güçlerinde (0,3, 0,4, 0,5 W/ml) ve farklı sürelerde (10, 20, 30 dk) parçalanmaya maruz bırakılmıştır. Gerçekleştirilen parçalama deneyleri sonucunda ortama salınan lipit ve karbonhidrat miktarları ölçülmüş ve ortak parçalama etkisini daha başarılı bir şekilde belirlemek için elde edilen hasatlama verimleri yaygın olarak kullanılan Box–Behnken deneysel tasarımına dayalı yanıt yüzey metoduyla analiz edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda en yüksek parçalama verimine tüm hücre bileşenleri için 0,15 g O₃/g kb ozon dozunda ve 0,3 kWh/g kb ultrases dozunda ulaşılmıştır. Bu ultrases ve ozon dozunda, hasatlama verimlerinin karbonhidrat ve lipit için sırasıyla yaklaşık olarak %80 ve %60 oranlarına çıktığı görülmüştür. Box–Behnken metodu kullanılarak oluşturulan yüzey modeli incelendiğinde ozonlama sonrası

kullanılan ultrases yönteminin ozonun lipit üzerindeki yıkıcı etkisini azalttığı ve artan ultrases uygulama süresiyle beraber hücre parçalama kabiliyetini ortaya çıkardığı görülmektedir. Model ayrıca ozonun, bu yan etkisine rağmen, ultrases yoğunluğu ve süresine nazaran hasatlama süreci üzerinde daha etkin rol oynadığını göstermektedir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında ozon-ultrases uygulamasının karbonhidrat hasatlama verimi bakımında etkili bir metot olduğu, öte yandan daha verimli bir lipit hasadı için bu metodun daha düşük ozon dozlarında ve ultrases sonrası ozonlama şeklinde yeniden düzenlenmesinin hücre içi lipitin, yapısal zarara uğratmadan, hücreden ayrıştırılmasını sağlayacağı ön görülmektedir.

Teşekkürler: Bu çalışmanın bir parçasını teşkil eden bilimsel araştırma projesine yaptıkları mali destekten ötürü TÜBİTAK'a teşekkür ederiz (Proje No: 109Y296).

Anahtar Kelimeler: *Mikroalg, Ozon, Ultrase, Hücre parçalama, Biyoyakıt.*

Increasing Microalgal Cell Disruption Efficiency by Successive Application of Ozonation and Sonication

Ülker Diler KERİŞ ŞEN, Ünal ŞEN, Mirat D. GÜROL

*Gebze Technical University Environmental Engineering Department,
Kocaeli/Turkey
udkeris@gtu.edu.tr*

Third generation biofuels derived from microalgae have potential to provide a sustainable solution to growing global energy demand. On the other hand, there are still several obstacles in the way of industrial scale production of microalgal biofuels. Especially, harvesting of microalgal biomass is the most cost intensive step of the whole microalgal biofuel production process. In harvesting step, finding an effective and low-cost cell disruption method to release valuable cell content (carbohydrates and lipids) for following biofuel conversion step is the most challenging task that must be handled before moving to large-scale microalgal biofuel production stage. In our two previous studies, we investigated the efficiencies of two distinct cell disruption methods (ozonation and sonication) separately to release microalgal metabolites for biofuel production. In these studies, it was found that both ozonation and sonication are highly capable of disruption of microalgal cells and releasing microalgal metabolites as expected, while it was also observed that ozone reacts with lipids readily and damages their organic structures. In this regard, this study aims to increase cell disruption efficiency by using these two promising cell disruption methods successively. A mixed microalge culture, cultivated in BG11 medium, was used in this study. The biomass produced from mixed culture was first subjected to disruption by using different ozone dosages (0.03, 0.15, 0.27 g O₃/g dry weight biomass (DWB)), and then the ozonated biomass was sonicated at different ultrasound powers (0.3, 0.4, 0.5 W/ml) and for different durations (10, 20, 30 min) for extra cell disruption. After disruption experiments, the lipid and carbohydrate contents in both solution and biomass were measured separately. The harvesting efficiencies for two metabolites were calculated and a surface response model based on a common experimental design (Box–Behnken) was used to distinguish the roles of two disruption methods on the harvesting efficiencies. The highest harvesting efficiencies for both metabolites were reached at 0.15 g O₃/g DWB ozone dosage and 0.3 kWh/g DWB ultrasound intensity. For this ultrasound intensity and ozone dosage, the harvesting efficiencies for carbohydrates and lipids were reached to about 80% and 60%, respectively. The polynomial model, which was built by using Box–Behnken design, showed that

application of ultrasound after ozonation could reduce destructive effects of ozone on lipid structure and at longer ultrasound applications the cell disruption efficiency of ozone becomes higher. Moreover, the model indicates that despite its destructive effects ozonation plays a more effective role on cell disruption process compared to sonication. In conclusion, the results reveal that consecutive application of ozone and ultrasound on microalgae cells is an effective disruption method especially due to its high carbohydrate harvesting yields. Low lipid harvesting yields could be improved in further studies by lowering ozone dosages or changing the process sequence by applying first ultrasound and then ozone to reduce destructive effects of ozone while maintaining its high disruptive efficiency.

Acknowledgements: This study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) (Grant No. 109Y296).

Keywords: *Microalgae, Ozone, Ultrasound, Cell disruption, Biofuel.*

SPONSORLARIMIZ



Tarım Ürünleri Sanayi ve Ticaret AŞ



S Ü M D E R
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLERİ DERNEĞİ