



Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi

Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X
www.agrifoodscience.com
Türk Bilim ve Teknolojisi

Isochrysis affinis galbana ve *Phaeodactylum tricornutum* Kültürlerinde Kuru Madde Tahminlerinin Karşılaştırılması

Leyla Uslu¹, Gökhan Tamer Kayaalp^{2*}, Oya Işık¹, Burcu Ak Çimen¹, Melis Çelik Güney²

¹Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, 01330 Adana, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 01330 Adana, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş 28 Mayıs 2018
Kabul 10 Temmuz 2018

Anahtar Kelimeler:

Isochrysis affinis galbana
Phaeodactylum tricornutum
Kuru madde
Optik yoğunluk
Klorofil *a*
Regresyon analizi

*Sorumlu Yazar:

E-mail: tkayaalp@cu.edu.tr

Ö Z

Isochrysis affinis galbana tek hücreli denizel bir mikroalg türü olup yüksek miktarda uzun zincirli doymamış yağ asitleri (PUFA) içermesinden dolayı akuakültürde özellikle bivalvia larvalarının beslenmesinde canlı yem kaynağı olarak kullanılmaktadır. *Phaeodactylum tricornutum* ise oval ve fusiform hücre şekilleri olan tek hücreli pennat bir diyatom türüdür. *Phaeodactylum tricornutum* %30-45 arasında uzun zincirli doymamış yağ asitlerini (PUFA) içermekte ve bu oranın da %20-40'ını eikosapentaenoik asit (EPA) oluşturmaktadır. Esansiyel yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit'in önemli potansiyel kaynağı olarak düşünülen mikroalgler insan gıdası olarak ve akuakültürde hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır. Çalışmada, *Isochrysis affinis galbana* ve *Phaeodactylum tricornutum* kültürlerine ait kuru madde miktarlarının çoklu regresyon analizi yöntemi kullanılarak tahmin edilmesi amaçlanmıştır. Türler, F/2 besi ortamında %20 aşılama oranı ile kontrol grubu ve %50 oranında azotun eksiltildiği besi ortamı kullanılarak, laboratuvar ortamında kültüre alınmıştır. Deneme süresince optik yoğunluk, kuru madde ve klorofil *a* günlük olarak ölçülmüştür. Türler için kontrol grubu ve %50 oranında azotun eksiltildiği gruplarda optik yoğunluk ve klorofil *a* kullanılarak matematiksel bir model oluşturulmuştur. Bu modellerin önem testleri yapılarak, R² ve HKO bulunmuştur.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(8): 1088-1091, 2018

Comparison of Dry Matter Estimates in *Isochrysis affinis galbana* and *Phaeodactylum tricornutum* Cultures

ARTICLE INFO

Research Article

Received 28 May 2018
Accepted 10 July 2018

Keywords:

Isochrysis affinis galbana
Phaeodactylum tricornutum
Dry matter
Optical density
Chlorophyll *a*
Regression analysis

*Corresponding Author:

E-mail: tkayaalp@cu.edu.tr

ABSTRACT

Isochrysis affinis galbana is a single-cell marine species. *Isochrysis affinis galbana* is used as a live feed source in aquaculture because it contains high amount of long chain unsaturated fatty acids (PUFA), especially in the feeding of larvae of bivalves, *Phaeodactylum tricornutum* is a diatom species of pennate with oval and fusiform cell forms. *Phaeodactylum tricornutum* contains 30-45% long chain unsaturated fatty acids (PUFA) of which 20-40% is eicosapentaenoic acid (EPA). And the diatom which is thought to be sources of essential fatty acids and carotenoids (fucoxanthin) is used in the feeding of animal in aquaculture and human. The aim of this study was to estimate the dry matter content of cultured *Isochrysis affinis galbana* and *Phaeodactylum tricornutum* by using multiple regression analysis method. Species were cultured in the laboratory conditions with a control group with 20% inoculation rate in F/2 medium and 50% nitrogen deficient medium. During the experiment, optical density, dry matter and chlorophyll *a* were measured daily. A mathematical model was developed using optic density and chlorophyll *a* data of the control group and in the group where 50% of the nitrogen was eliminated. Significance test of these models, R² and MSE were found.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i8.1088-1091.2039>

Giriş

Algler, çok uzun yıllardan beri farklı alanlarda kullanılmaktadır. Alglerin hücre içinde biriktirdikleri protein, vitamin, yağ asitleri, karbonhidrat, mineral, pigment, hidrokarbonlar, polisakkaritler, antibiyotikler ve daha birçok metabolitler nedeniyle insanlar tarafından başlıca besin desteği olmak üzere değişik amaçlarla kullanılmaktadırlar (Becker, 1994). Mikroalglerin büyük ölçekli yığın kültürlerinden elde edilen algal kuru madde ile bundan elde edilen metabolitlere olan ticari ilgi giderek artmaktadır. Birçok bilim adamı, mikroalgleri, zengin bir PUFA (polyunsaturated fatty acid) kaynağı, vitamin E, pigmentler ve diğer metabolitler (steroller, protein, aminoasit gibi) kaynağı olduğunu kabul etmişlerdir (Bandarra ve ark., 2003). Mikroalgler, organik madde sentezini gerçekleştirmek için karbon, azot ve fosfor gibi temel elementlere gereksinim duyarlar (Davis, 1977). Azot, karbondan sonra kuru madde üretimi için en önemli besin maddesidir. Azot enzimlerin ve proteinlerin yapıtaşı olduğu için, yağ asitleri sentezi, algal hücrelerin protein fonksiyonlarında ve yapılaşmasında gereklidir. Azot kaynakları ve konsantrasyonları, alg kültürlerinde büyümeyi ve biyokimyasal kompozisyonu etkilemekte ve özellikle yağ asitleri değerlerinde ve karotenoid miktarında değişikliklere neden olmaktadır. Bunun yanı sıra azot sınırlamasının temelinde hücreysel yağ asitleri ile hücreysel büyüme ilişkili olduğundan dolayı, yağ asitleri bakımından zenginleştirmede azot sınırlaması etkilidir. Mikroalg kültürlerinde azot sınırlaması, hücre sayısı ve klorofil *a* miktarlarında azalmaya neden olurken, mikroalglerin biyokimyasal yapısındaki yağlar gibi organik karbon bileşikler oranlarında artışa neden olmaktadır (Shifrin ve Chisholm, 1981; Sukenik ve ark., 1989).

Kontrollü koşullar altında kültüre alınan mikroalglerde büyüme, hücre sayımı ve pigment ölçümü gibi parametreler ile belirlenebilirken, dışarı ortam koşullarında büyük hacimlerdeki kültürlerde ise optik yoğunluk veya kuru madde miktarının belirlenmesi ile yapılabilir. Kuru madde miktarı ve optik yoğunluk belirlenmesi laboratuvar ortamında yapılması gereken analizlerdir. Kuru madde etüv ve hassas terazi; optik yoğunluk ise spektrofotometre ile belirlenmektedir (Acien Fernández ve ark., 2003; Richmond, 2004; Griffiths ve ark., 2011). Algal biyoteknolojideki gelişmelere rağmen mikroalg türlerinin kültürlerinde çeşitli güçlüklerle karşılaşmaktadır. Mikroalg kültürlerinde kuru maddenin biyokimyasal kompozisyonu, çevresel faktörler, besin ortamı, sıcaklık, tuzluluk, pH, ışık gibi büyüme koşullarına bağlıdır (Sukenik, 1991).

Alg üretiminde kuru madde miktarı çok önemlidir. Alg kültürlerinde kuru madde miktarını etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörler ele alınarak kuru madde miktarı tahmini için regresyon analizine ihtiyaç duyulmaktadır. Regresyon analizi ile en iyi regresyon modeli tahmin edilmektedir (Draper ve Smith, 1998). Salama ve ark. (2013), *Chlamydomonas mexicana* ve *Scenedesmus obliquus* tatlı su alg türlerinde, tuzluluğun kuru madde, yağ ve yağ asitleri kompozisyonuna etkisini araştırmışlardır. Regresyon analizi yöntemiyle optik yoğunluk değerlerini kullanarak, kuru madde miktarını tahmin etmişlerdir. Çamdeviren ve ark. (2005), su

kalitesini belirleyen 16 parametreyi kullanarak temel bileşenler analizi ile değişken indirgemesi yapıp, kalan 5 parametre ile çoklu regresyon analizi yaparak klorofil *a*'yı tahmin etmişlerdir. Ak ve ark. (2017), *Phaeodactylum tricorutum* mikroalg türü için kontrol grubu ve %50 oranında azotun eksiltildiği kültür oluşturmuşlardır. Bu ortamlarda optik yoğunluk, sıcaklık ve ışık şiddeti ve klorofil *a* kullanarak kuru madde miktarını tahmin etmişlerdir.

Tıp, eğitim, ekonomi, ziraat, su ürünleri gibi fen ve sosyal bilim alanlarındaki çalışmalarda bağımlı değişkene etki eden değişkenler arasındaki ilişkinin matematiksel ifadesini belirlemek gerekmektedir. Bunun için çoklu regresyon analizine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu analizin amacı bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkendeki toplam değişimi açıklamaktır (Kayaalp ve ark., 2015).

Bu çalışmanın amacı, mikroalg türleri olan *Porphyridium tricorutum* ve *Isochrysis affinis galbana* kültürlerine ait optik yoğunluk ve klorofil *a* verilerini kullanarak çoklu regresyon analizi ile bu türlerde kuru madde miktarının tahmin modellerini oluşturmaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, mikroalg türlerinden *Phaeodactylum tricorutum* ve *Isochrysis affinis galbana* materyal olarak kullanılmıştır. Denemenin yürütüldüğü laboratuvarında sıcaklık, iklimlendirme cihazı kullanılarak $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de tutulmuştur. Deneme süresince kültürlerde $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti kullanılmış, 16:8 saat aydınlık-karanlık periyodu uygulanmıştır. Uygulanan ışık şiddeti, ışık metre (Licor, LI-250) ile belirlenmiştir. Işık kaynağı olarak floresan (Tekfen, TLD36 watt) lambalar kullanılmıştır. Denemeler 8L'lik cam kavanozlarda 7 L'lik kültür hacminde %20 aşılama yapılarak 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur. Denemede kullanılacak olan deniz suyunun tuzluluğu salinometre (Orion 3 Star) ile %30 olacak şekilde ayarlanmıştır. Tuzluluk ayarlanmasında saf su kullanılmıştır. Denemenin başlangıç hücre yoğunluğu (optik yoğunluk), kuru madde ve klorofil *a* değerini belirlemek amacıyla deneme kaplarından örnekler alınmıştır. Optik yoğunluk için 5 mL ve klorofil *a* analizi için 5 mL örnek alınmıştır. Optik yoğunluk *Isochrysis affinis galbana* türü için 680 nm (Lin ve ark., 2007) ve *Phaeodactylum tricorutum* türü için 625 nm (Acien Fernández ve ark., 2003) dalga boyunda visible spektrofotometre (Shimadzu, UV mini 1240) ile değerlendirilmiştir.

Klorofil *a* analizi için alınan 5 mL'lik örnek su trombu yardımı ile GFC filtre kağıdından süzölmüş ve 15 mL'lik deney tüplerine konmuştur. Üzerine 10 mL %90'lık aseton ilavesi yapılmıştır. Asiditenin artması ve pigmentin zarar görmesini önlemek amacıyla filtre sırasında 2 damla %1'lik MgCO_3 eklenmiştir. Ağzuları mantar tıpa ile kapatılan deney tüpleri çalkalandıktan sonra buzdolabında ($+4^\circ\text{C}$) 24 saat karanlıkta bırakılmış ve ekstraksiyon süresi sonunda üstteki berrak kısım alınarak visible spektrofotometrede 630, 645, 665 ve 750 nm'de absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. 750 nm'de okunan değerler bulanıklık düzeltme faktörü olarak kullanılmıştır. Bu amaçla 750 nm'de okunan absorpsiyon değerleri diğer

dalga boylarında okunan değerlerden çıkartılmış ve klorofil *a* konsantrasyonları ilgili eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Parsons ve Strickland, 1963).

Çalışmada, kontrol grubunda ve ortamdan %50 oranında azotun eksiltildiği grupta optik yoğunluk ve klorofil *a*'yı içeren matematiksel model oluşturularak karşılaştırılması yapılmıştır. Çalışmada kullanılan çoklu doğrusal regresyon modeli (1) numaralı eşitlikte tanımlandığı şekildedir.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon \quad (1)$$

Bu eşitlikte,

k :Bağımsız değişken sayısını,

Y :Bağımlı değişkeni,

β_j : $j=0,1,\dots,k$ parametreleri için regresyon katsayılarını,

ε :Hata terimini,

X_j :Bağımsız değişkenleri göstermektedir (Montgomery ve ark., 2013).

Tüm istatistiksel analizlerde MINITAB paket programı kullanılmıştır. Aynı tür içerisindeki kontrol grubu ve %50 N eksilmesi ile ilgili model karşılaştırılmasında kriter olarak belirtme katsayısı (R^2) ve hata kareler ortalaması (HKO) kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada ilk olarak *Phaeodactylum tricornutum* kültüründe kontrol grubundaki kuru madde miktarını etkileyen değişkenler arası korelasyon katsayıları Tablo 1'deki gibi hesaplanmıştır.

Tablo 1'de kontrol grubunda kuru madde miktarı ile optik yoğunluk ve klorofil *a* arasındaki ilişkilerin istatistiki olarak önemli olduğu görülmektedir ($P < 0,01$). Kuru madde miktarı ile optik yoğunluk ve klorofil *a* arasında pozitif, güçlü bir ilişkinin varlığı söz konusudur. Bundan dolayı optik yoğunluk ve klorofil *a* miktarı arttıkça kuru madde miktarı da artmakta tersi durumda ise kuru madde miktarı azalmaktadır.

Kontrol grubunda kuru madde miktarını tahmin etmek için bulunan matematiksel model Kuru madde= $0,427+3$ optik yoğunluk $-0,000556$ klorofil *a* şeklindedir. Bu eşitliğin R^2 değeri %79,3 bulunmuştur. Regresyon denkleminin hata kareler ortalaması ise 0,008131 olarak hesaplanmıştır.

Phaeodactylum tricornutum kültüründe ortamdan %50 N eksilmesi durumunda kuru madde miktarını etkileyen değişkenler arası korelasyonlar Tablo 2'deki gibidir.

Tablo 2'de kuru madde miktarı ile optik yoğunluk arasında pozitif bir ilişki olup, istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,01$). Ancak kuru madde miktarı ile klorofil *a* arasındaki ilişki zayıf ve önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Buna göre %50 N eksiltmede optik yoğunluk arttıkça kuru madde miktarı artmakta, optik yoğunluk azaldıkça ise kuru madde miktarı azalmaktadır.

Ortamdan %50 N eksilmesi durumunda kuru madde miktarını tahmin etmek için bulunan matematiksel model Kuru madde= $0,263+1,86$ optik yoğunluk $+0,000366$ klorofil *a* şeklindedir. Bu eşitliğin R^2 değeri %89,4 olup hata kareler ortalaması 0,00407 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada kullanılan diğer mikroalg olan *Isochrysis affinis galbana* kültüründe kontrol grubundaki kuru madde miktarını etkileyen değişkenler arası korelasyon katsayıları Tablo 3'deki gibi hesaplanmıştır.

Tablo 3'de kuru madde miktarı ile optik yoğunluk ve klorofil *a* arasında pozitif, güçlü bir ilişki olup, istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,01$). Bu türde kontrol grubunda optik yoğunluk ve klorofil *a* miktarı arttıkça kuru madde miktarı artmakta, tersi durumda ise kuru madde miktarı azalmaktadır.

Kontrol grubunda kuru madde miktarını tahmin etmek için bulunan matematiksel model Kuru madde= $0,662+0,266$ optik yoğunluk $+0,000068$ klorofil *a* şeklindedir. Bu eşitliğin R^2 değeri %96,2 bulunmuştur. Regresyon denkleminin hata kareler ortalaması ise 0,000187 olarak hesaplanmıştır.

Isochrysis affinis galbana kültüründe ortamdan %50 N eksilmesi durumunda kuru madde miktarını etkileyen değişkenler arası korelasyonlar Tablo 4'deki gibidir.

Tablo 1 *Phaeodactylum tricornutum* kültüründe kontrol grubundaki değişkenler arası korelasyon katsayıları
Table 1 Correlation coefficients between variables in control group in *Phaeodactylum Tricornutum* culture

	KM	OY
OY	0,871**	
K	0,776*	0,954**

OY: Optik Yoğunluk, K: Klorofil a, KM: Kuru Madde,
*: $P < 0,05$, **: $P < 0,01$, - : $P > 0,05$

Tablo 2 *Phaeodactylum tricornutum* kültüründe %50 N eksilmesiyle değişkenler arası korelasyon katsayıları
Table 2 Correlation coefficients between variables in 50% N deprivation medium in *Phaeodactylum Tricornutum* culture

	KM	OY
OY	0,908**	
K	0,394-	0,146-

OY: Optik Yoğunluk, K: Klorofil a, KM: Kuru Madde,
*: $P < 0,05$, **: $P < 0,01$, - : $P > 0,05$

Tablo 3 *Isochrysis affinis galbana* kültüründe kontrol grubundaki değişkenler arası korelasyon katsayıları
Table 3 Correlation coefficients between variables in control group in *Isochrysis Affinis Galbana* culture

	KM	OY
OY	0,964**	
K	0,975**	0,957**

OY: Optik Yoğunluk, K: Klorofil a, KM: Kuru Madde,
*: $P < 0,05$, **: $P < 0,01$, - : $P > 0,05$

Tablo 4 *Isochrysis affinis galbana* kültüründe ortamdan %50 N eksilmesiyle değişkenler arası korelasyon katsayıları

Table 4 Correlation coefficients between variables in 50% N deprivation medium in *Isochrysis Affinis Galbana* culture

	KM	OY
OY	0,857*	
K	0,511-	0,860*

Tablo 4’de kuru madde miktarı ile optik yoğunluk arasında pozitif ilişki olup, istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Ancak kuru madde miktarı ile klorofil *a* arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Bu durum göstermektedir ki bu türde optik yoğunluk arttıkça kuru madde miktarı artmakta, tersi durumda da kuru madde miktarı azalmaktadır.

Ortamdan %50 N eksiltilmesi durumunda kuru madde miktarını tahmin etmek için bulunan matematiksel model Kuru madde = $0,608+1,27$ optik yoğunluk $-0,000165$ klorofil *a* şeklindedir. Bu eşitliğin R^2 değeri %93,0 olup hata kareler ortalaması 0.0001026 olarak hesaplanmıştır.

Ticari boyutlarda alg kültürlerinin sürdürülebilirliği, ortam koşullarına bağlı olmakta ve bu koşullardan özellikle sıcaklık ve ışık üretimi etkileyen önemli faktörlerdendir. Ekonomik değere sahip olan mikroalg metabolitlerin ticari olarak üretimi bu faktörlerin etkisi altındadır. *Phaeodactylum tricorutum* ve *Isochrysis affinis galbana* yağ üretimi ile bilinen mikroalg türleri olup azot eksikliği stres faktörü koşulunda yağ üretmektedir. Büyük ölçekli mikroalg ticari kültürlerinde büyümede ve kuru madde verimliliğinde sürekliliğinin sabitlenmesi etkin bir kültür için son derece önemlidir. Klorofil *a* ve optik yoğunluk değerleri mikroalg kültürlerinde büyümenin belirlenmesinde kullanılan parametrelerdir.

Çalışmada *Phaeodactylum tricorutum* ve *Isochrysis affinis galbana* kültürlerinde kontrol grubu ve ortamdan %50 N eksiltelen grupta optik yoğunluk ve klorofil *a* kullanılarak kuru madde miktarı tahmin edilmeye çalışılmıştır. *Phaeodactylum tricorutum* kültüründe her iki ortam incelendiğinde %50 N eksiltelen ortamın R^2 değeri daha yüksektir ancak kuru madde miktarı ile klorofil *a* arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur. *Isochrysis affinis galbana* kültüründe ise R^2 değeri kontrol grubunda daha yüksek olup tüm değişkenler önemli bulunmuştur. Yani bu kültürde kontrol grubunda optik yoğunluk ve klorofil *a* değişkenleri kuru maddedeki toplam varyasyonu daha iyi açıklamaktadır. Ayrıca her iki kültürde her iki ortam için matematiksel model oluşturulmuştur. Bu modellere göre kuru madde miktarı analizi yapmadan kuru madde miktarı tahmin edilebilecektir. Çünkü kuru madde miktarı analizi, laboratuvar ortamı gerektirip zaman alıcıdır ve maliyetlidir. Her üreticinin bu imkanları sağlayamaması sebebiyle kuru madde miktarı bu çalışmada kullanılan ortamlarda bulunan modellerle tahmin edilebilecektir.

Teşekkür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje ID: SÜF2006D2) desteklenmiş ve doktora tezinden üretilmiştir.

Kaynaklar

- Acien Fernández GF, Hall DO, Cañizares Guerrero E, Krishna Rao K, Molina Grima E. 2003. Outdoor Production of *Phaeodactylum tricorutum* Biomass in a Helical Reactor. *Journall of Biotechnology*, 103: 137-152.
- Ak B, Kayaalp GT, Işık O, Çelik Güney M. 2017. *Phaeodactylum tricorutum* Kültürlerinde Biyomas Tahmini. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2): 182-184.
- Bandarra NM, Pereira PA, Batista I, Vilela H. 2003. Fatty acids, Sterols and α -tocopherol in *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Lipids*, 10: 25-34.
- Becker EW. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Çamdeviren H, Demir N, Kanık A, Keskin S. 2005. Use Of Principal Component Scores in Multiple Linear Regression Models for Prediction of *Chlorophyll-A* in Reservoirs. *Ecological Modelling*, 181: 581-589.
- Davis AR. 1977. *Principles of Oceanography*. Univ. of South Florida Aquafarms, Inc., Florida, pp. 126.
- Draper NR, Smith H. 1998. *Applied Regression Analysis*. John Wiley and Sons.
- Griffiths MJ, Garcin C, Van Hille RP, Harrison ST. 2011. Interference By Pigment in the Estimation of Microalgal Biomass Concentration By Optical Density. *J Microbiol Methods*, 85: 119-123.
- Kayaalp GT, Çelik M, Cebeci Z. 2015. Çoklu Doğrusal Regresyon Modelinde Değişken Seçiminin Zootečniye Uygulanışı. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1): 1-8.
- Lin YH, Chang FL, Tsao CY, Leu JY. 2007. Influence of Growth Phase and Nutrient Source on Fatty Acid Composition of *Isochrysis galbana* CCMP1324 in a Batch Photoreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 37: 166-176.
- Montgomery DC, Peck EA, Vining GG. 2013. *Introduction to Linear Regression Analysis*. Fifth Edition.
- Parsons TR, Strickland JDH. 1963. Discussion of Spectrophotometric Determination of Marine Plant Pigments, with Revised Equations for Ascertaining Chlorophylls and Carotenoids. *Journal of Marine Research*, 21(3): 115-163.
- Richmond A. 2004. *Handbook of Microalgae Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. In: Basic Culturing Techniques (Eds; Lee Yuan-Kun ve Shen Hui) Oxford: Blackwell Science, pp. 40-56.
- Salama E, Kim H, Abou-Shanab R, Ji M, Oh Y, Kim S, Jeon B. 2013. Biomass, Lipid Content, and Fatty Acid Composition of Freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* Grown Under Salt Stress. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36(6): 827-33. doi:http://dx.doi.org/10.1007/s00449-013-0919-1.
- Shifrin NS, Chisholm SW. 1981. Phytoplankton Lipids: Interspecific Differences and Effects of Nitrate, Silicate and Light-dark Cycles. *J. Phycol.*, 17: 374-384.
- Sukenik A, Carmeli Y, Berner T. 1989. Regulation of Fatty Acid Composition by Irradiance Level in the Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *J. Phycol.*, 25: 686-692.
- Sukenik A. 1991. Ecophysiological Considerations in the Optimization of Eicosapentaenoic Acid Production by *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Bioresource Technology*, 35(3): 263-269.