

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**SİNARİT (*Dentex dentex*, L.) LARVALARINDA  
İZLENEN PROTEAZ AKTİVİTESİNDEKİ  
DEĞİŞİMLER**

**Gözde KÜÇÜK**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Cüneyt SUZER**

**Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu: 504.04.01**

**Sunuş Tarihi: 13.08.2010**

**Bornova-İZMİR**

**2010**

## ÖZET

### **Sinarit (*Dentex dentex*, L.) Larvalarında İzlenen Proteaz Aktivitesindeki Değişimler**

KÜÇÜK, Gözde

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Cüneyt SUZER

Ağustos 2010, 58 sayfa

Son on yıldır, Akdeniz ülkelerinde akuakültür üretimi daha çok çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) üzerinde yoğunlaşmış durumdadır. Bu durum, ekonomik değeri yüksek potansiyel alternatif türlerin üretimini gündeme getirmiştir. Bu çalışmada, son yıllarda alternatif türler arasında değerlendirilen sinarit (*Dentex dentex*) balığının larva kültüründe (0-40 gün) önemli yere sahip olan sindirim enzimlerinden proteaz grubu enzimlerin aktivitesindeki değişimler incelenmiştir. Yumurtadan çıkan larvalarda 3. günde ağız ve anüs açılımı gözlenmiş ve dışarıdan yem girişi yapılmıştır. Alkalın proteaz aktivitesi, eksojen besin alımı ile birlikte tespit edilmiş ve larval gelişime bağlı olarak spesifik aktivitesi yükselmiştir. Bununla birlikte, asit proteaz aktivitesi, 28. günden itibaren fonksiyonel mide oluşumu ile tespit edilmiş, aynı şekilde spesifik aktivitesi deneme sonuna kadar değişim göstermiştir. Larval üretim sonunda, total boy ve ağırlık gelişimi sırası ile  $19.83 \pm 2.6$  mm ve  $42.12 \pm 4.3$  mg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca spesifik büyüme oranı (SBO) ve yaşama oranı ise sırası ile  $9.35 \pm 1.9$  %/gün ve  $18.6 \pm 3.7$  olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, sinarit larvalarının proteaz grubu enzimlere ait aktivite değişimleri, alternatif türler kapsamında yer alan fangri (*Pagrus pagrus*), kırma mercan (*Pagellus erythrinus*) ve sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) gibi diğer Sparidae türleri ile yakın benzerlikler göstermiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Enzim aktivitesi, sindirim fiziolojisi, sinarit (*Dentex dentex*), larval gelişim, alkalın proteaz, asit proteaz, protein.

**ABSTRACT****Variations of digestive protease activity in Common dentex  
(*Dentex dentex*, L.) larvae**

KÜÇÜK, Gözde

MSc in Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Cüneyt SUZER

August 2010, 58 pages

During the last decade, Mediterranean aquaculture mainly based on gilthead sea bream, *Sparus aurata*, and European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, and this situation caused production of promising candidate species. In this study, changes of alkaline and acid protease enzymes activity in recent candidate species common dentex larvae (between 0 and 40 days) were investigated. Mouth and anus were opened on day 3 and also exogenous feeding started. The specific activity of alkaline protease was firstly detected on day 3 concurrently with starting of exogenous feeding and also relatively increased by larval age and size. However, the specific activity of acid protease was firstly measured at 28 days after hatching concurrently with formation of functional stomach. At the end of the larval rearing, total length and weight development was determined as  $19.83 \pm 2.6$  mm and  $42.12 \pm 4.3$  mg, respectively. Additionally, specific growth rate (SGR) and survival rate were calculated as  $9.35 \pm 1.9$  %/day and  $18.6 \pm 3.7$ %, respectively. As a result, ontogenic development and enzymatic profile in common dentex larvae were demonstrated similar profile as observed in the other promising candidate Sparid species such as red porgy (*Pagrus pagrus*), common pandora (*Pagellus erythrinus*) and sharpsnout (*Diplodus puntazzo*) sea bream larvae.

**Keywords:** Enzyme activity, digestive physiology, common dentex (*Dentex dentex*), larval development, alkaline protease, acid protease, protein.

**TEŞEKKÜR**

Biyoloji mezunu olmama rağmen beni koşulsuzca öğrencisi olarak kabul eden, tez konumun belirlenmesinden tezimin bitimine kadar olan süreçte beni yönlendiren, her türlü katkı ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocam sayın *Doç. Dr. Cüneyt SUZER*'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tezimin hazırlanmasında tecrübelerini ve manevi desteklerini eksik etmeyen değerli hocalarım sayın *Prof. Dr. M. Kürşat FIRAT*, *Prof. Dr. Şahin SAKA*, *Doç. Dr. Deniz ÇOBAN*'a, ve kendisini her zaman saygı, minnet ve rahmetle anacağım hocam *Dr. H. Okan KAMACI*'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın yürütülmesinde sahip oldukları teknik imkânları sınırsızca kullanmamı sağlayan *işletme müdürü Salih KÖSELER* nezdinde tüm *Çamlı Yem Besicilik San. Tic. A.Ş. Pınar Deniz Ürünleri İşletmesi Ildırı Kuluçkahane Tesisi çalışanlarına*,

Çalışmam süresince bana katlanan, pratik bilgisi ile hiçbir sorumu yanıtsız bırakmayan arkadaşım *Su Ürünleri Müh. Burak ÇETİNSÖZ*'e ve *Su Ürünleri Müh. Murat DEĞERLİ*'ye,

Her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanması esnasında da desteklerini her zaman yanımda hissettiğim arkadaşlarım *Uzm. Biyolog. Serdar UZAR* ve *Uzm. Biyolog Hale GÜNER*'e teşekkür ederim.

Sıcaklıklarını bir an olsun eksiltmeyip bana olan güvenlerini hiç kaybetmeyen, bugünlerimin mimarı kıymetli *AİLEME* sonsuz teşekkürler.

Gözde KÜÇÜK

Ağustos, 2010

**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
TEŞEKKÜR .....	ix
İÇİNDEKİLER .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	5
2.1 Sinarit Balığının Biyolojisi .....	5
2.2 Sinarit Larvalarının Fizyolojik Gelişimi .....	7
2.2.1 Prelarval Dönem .....	7
2.2.2 Postlarval Dönem .....	8
2.3 Sindirim Sistemi Fizyolojisi .....	10
2.4 Enzimler .....	12
2.4.1 Enzimin Tanımı .....	12
2.4.2 Enzimlerin Yapısı ve Özellikleri .....	13

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4.3 Enzimlerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler .....	17
2.4.4 Sindirim Enzimleri .....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	20
3.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu .....	20
3.2 Larval Üretim ve Deneme Düzeni .....	22
3.3 Enzim Analizleri .....	27
3.3.1 Alkalın Proteaz .....	27
3.3.2 Asit Proteaz .....	28
3.3.3 Protein .....	29
3.4 İstatistik .....	30
4. BULGULAR .....	31
4.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu .....	31
4.2 Larval Gelişim .....	32
4.3 Enzim Aktiviteleri .....	35
4.3.1 Alkalın Proteaz .....	35
4.3.2 Asit Proteaz .....	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	37

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	49
ÖZGEÇMİŞ .....	58

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Türkiye’de 2007-2008 yıllarında üretilen alternatif türlere ait yavru balık miktarı .....	2
2.1 Sinarit balığının genel görünüşü .....	5
2.2 Sinarit balığının dağılım alanları .....	6
2.3 Yumurtadan yeni çıkmış sinarit prelarvası .....	8
2.4 3 günlük sinarit larvasının enine kesiti .....	9
2.5 Larvalarda sindirim tüpü gelişimi .....	10
2.6 8 günlük sinarit larvasının enine kesiti .....	11
2.7 40 günlük sinarit larvası .....	11
2.8 Enzimlerin genel çalışma prensibi .....	12
2.9 Enzim-substrat mekanizması .....	15
3.1 Pınar Deniz Ürünleri İşletmesi Ildırı Kuluçkahane Tesisleri .....	20
3.2 Denemede kullanılan anaç balıklar .....	21
3.3 Larval üretimde kullanılan deneme tankları .....	22
3.4 3 günlük sinarit larvasında ağız açılımı .....	23
3.5 Denemede kullanılan canlı yemler .....	23



## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Farklı safhalardaki sinarit balığı yumurtası .....	31
4.2 Larvalarda vitellüs ve yağ damlası durumu .....	31
4.3 Deneme süresince larvalarda gözlenen total boy-ağırlık değişimi .....	32
4.4 2 günlük sinarit larvası .....	34
4.5 5 günlük sinarit larvası .....	34
4.6 10 günlük sinarit larvası .....	34
4.7 15 günlük sinarit larvası .....	34
4.8 20 günlük sinarit larvası .....	34
4.9 30 günlük sinarit larvası .....	34
4.10 40 günlük sinarit larvası .....	34
4.11 Deneme süresince larvalarda gözlenen alkalın proteaz aktivitesindeki değişimler .....	35
4.12 Deneme süresince larvalarda gözlenen asit proteaz aktivitesindeki değişimler .....	36

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Türkiye’de kültür balığı üretimi .....	1
2.1 Mide ve pankreastan proenzim halinde sentezlenen başlıca proteolitik enzimler .....	19
3.1 Denemede kullanılan mikropartikül yemin besin madde içeriği .....	24
3.2 Sinarit larva üretim protokolü .....	26
5.1 Bazı türler ile yapılan çalışmalarda alkalın proteaz aktivitesinin tespit edildiği günler .....	43
5.2 Bazı türler ile yapılan çalışmalarda fonksiyonel mide oluşumunun gözlendiği günler .....	45

## 1. GİRİŞ

Yaşamın devamlılığını sağlamak için en önemli gereksinim kuşkusuz beslenmedir. Artan dünya nüfusu ile ortaya çıkan besin kıtlığı insanoğlunun yaşadığı problemlerin başında gelmektedir. Bitkisel besin kaynaklarının azalması ile hayvansal protein kaynaklarına yönelim, bu beslenme probleminin yeterli ve dengeli hâle getirilebilmesi için mevcut karasal ve denizel kaynakların olabildiğince etkin kullanımını gündeme getirmiştir. Bu bağlamda, insanoğlu deniz ve iç sulara yönelmiştir. Yüzyıllardan beri iç su ve denizlerden avcılık yolu ile yararlanan insanoğlu, geçen yüzyılın ikinci yarısından sonra yapay yollar ile su ürünleri üretimine yoğunlaşmış ve özellikle bu yüzyılın sonlarında teknolojik gelişimlere paralel olarak akuakültür, insan eli altında su ürünleri üretimi, başlı başına bir sektör hâlini almıştır. Çizelge 1.1’de, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)’nun 2008 verilerine göre Türkiye’de yapılan toplam kültür balığı üretimi değerleri verilmiştir. Günümüzde, dünya üzerinde elde edilen yıllık su ürünleri üretiminin 92 milyon tonu avcılık yoluyla, yaklaşık 52 milyon tonu ise yetiştiricilik yoluyla elde edilmektedir (FAO, 2008).

Çizelge 1.1 Türkiye’de kültür balığı üretimi (TÜİK, 2008).

<b>Kültür Balıkları Üretimi (Ton)</b>									
<b>Tür</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>
<b><i>İç su Balıkları</i></b>									
<b>Alabalık</b>	42 572	36 827	33 707	39 674	43 432	48 033	56 026	58 433	65 928
<b>A. Sazan</b>	813	687	590	543	683	571	668	600	629
<b>Toplam</b>	<b>43 385</b>	<b>37 514</b>	<b>34 297</b>	<b>40 217</b>	<b>44 115</b>	<b>48 604</b>	<b>56 694</b>	<b>59 033</b>	<b>66 557</b>
<b><i>Deniz Balıkları</i></b>									
<b>Alabalık</b>	1 961	1 240	846	1 194	1 650	1 249	1 633	2 740	2 721
<b>Çipura</b>	15 460	12 939	11 681	16 735	20 435	27 634	28 463	33 500	31 670
<b>Levrek</b>	17 877	15 546	14 339	20 982	26 297	37 290	38 408	41 900	49 270
<b>Toplam</b>	<b>35 298</b>	<b>29 725</b>	<b>26 866</b>	<b>38 911</b>	<b>48 382</b>	<b>66 173</b>	<b>68 504</b>	<b>78 140</b>	<b>83 661</b>

Su ürünleri yetiştirme teknolojisinin gelişimine paralel olarak et kalitesi ve ekonomik değeri yüksek balık türlerinin kültür çalışmaları artmıştır. Bugüne kadar ülkemizde üreticilerin tercih ettiği türlerin başında gelen çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) pazarında son yıllarda yaşanan bazı darboğazlar ve üretim maliyetlerinin artması, girişimcileri alternatif türlerin üretimine yönlendirmiştir. Yeni türlerin pazara girmesi ile birlikte, sektörde ekonomik canlanmanın yanı sıra üreticilerin sıkıntılarının da aşılabileceği beklenmektedir. Günümüzde alternatif olarak üretime alınan türler; sinarit (*Dentex dentex*), kırma mercan (*Pagellus erythrinus*), fangri (*Pagrus pagrus*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*), mırmır (*Lithognathus mormyrus*), lahos (*Epinephelus auneus*), kalkan (*Scophthalmus maximus*) sargos (*Diplodus sargus*) gibi oldukça geniş bir yelpazeye yayılmıştır. Şekil 1.1’de, TÜİK’in 2008 verilerine göre Türkiye’de 2007-2008 yılları arasında üretilen alternatif türlere ait yavru balık miktarları gösterilmiştir.



Şekil 1.1 Türkiye’de 2007-2008 yıllarında üretilen alternatif türlere ait yavru balık miktarı (TÜİK, 2008).

Akdeniz ülkelerinde akuakültür sektörü, toplam deniz balığı üretiminin %60'ını kapsayan levrek ve çipura türlerinin üretimine dayanır (SIPAM, 2004). Son yıllarda, üretimde izlenen büyük artışın aynı oranda tüketime yansımaması, akuakültür sektörüne yeni bir ivme kazandırabilmek amacı ile ekonomik değeri yüksek alternatif türlerin üretimini gündeme getirmiştir (Shields, 2001; Kaiser and Stead, 2002). Bu bağlamda, hızlı bir büyüme gösteren sınırlı, son yıllarda akuakültür sektöründe alternatif türler arasında değerlendirilen ekonomik değeri yüksek bir Sparidae türüdür (Riera et al., 1993; Pastor et al., 1995; Koumoundouros et al., 1999a; Pavlidis et al., 2000; Rueda and Martínez, 2001).

Son yıllarda, akuakültür alanında üretim miktarının ve ürün kalitesinin artırılmasına yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar arasında özellikle biyoteknoloji alanında (enzimoloji, genetik, histoloji, vb.) yapılan araştırmalar önemli bir yere sahiptir. Bu konulardaki bilimsel araştırmalar sonucunda ortaya çıkan larva ve yavru balık kalitesinin artırılması, yaşama oranının yükseltilmesi, yemin değerlendirilmesi ve spesifik büyüme oranının artırılması, hastalıklara karşı bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve değişen koşullarda optimal besleme stratejilerinin geliştirilmesine yönelik olumlu veriler, kaliteli larval üretim üzerinde doğrudan etkili olan konulardır.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde yavru balık kalitesini doğrudan etkileyen fizyolojik değişimler genellikle larval dönemde meydana gelmektedir. Larval dönemde biyotik ya da abiyotik faktörlerden kaynaklanan ölümlerin en aza indirilmesi bilim adamlarının ve üreticilerin ilk sıradaki hedeflerinden biri olmuştur. Birçok fizyolojik değişimin yaşandığı larval dönem sürecinde meydana gelen olayların ayrıntılı biçimde tanımlanması ve sindirim enzimleri aktivitesindeki değişimlerin bilinmesi, yaşama oranının ve üretilen yavru balık kalitesinin artırılmasında büyük önem taşımaktadır.

Akuakültür alanında, sindirim enzimleri ile ilgili çalışmalar daha çok levrek ve çipura türleri üzerinde yoğunlaşmış durumda olsa da alternatif tür kapsamında değerlendirilen türlerin kültüre alınma çalışmaları için yürütülen öncelikli çalışmaların konusunu da yine sindirim enzimleri aktivitesinin bilinmesi oluşturmaktadır.

Çalışmada, alternatif tür kapsamında değerlendirilen sinarit türünün larval dönem süresince (0-40 gün) gelişimi ve sindirim enzimlerinden proteaz grubu enzimlerin aktivitesindeki değişimleri incelenmiştir. Bu bağlamda, sinarit balığının larval üretim süreci boyunca zaman zaman üreticilerin karşı karşıya kaldığı yetersiz beslenme ve özellikle de metamorfoza bağlı besinsel değişimlerin fizyolojik olarak tanımlamasında meydana gelen değişiklikler enzimatik açıdan yakından izlenmiştir.

Çalışmada, sinarit türünde proteaz grubuna ait sindirim enzimlerinin başlangıç ve gelişimini tanımlamak, bu türün yumurta çıkışından juvenil evreye kadar olan sindirim fizyolojisini kavramak ve sinarit larva kültürünün kritik evreleri ile bu veriler arasında bağlantı kurmak amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1 Sinarit Balığının Biyolojisi

Sinarit balığının sistematikteki yeri aşağıda verilmiştir.

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Superclassis	: Osteichthyes
Classis	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Familia	: Sparidae
Genus	: Dentex
Species	: <i>Dentex dentex</i> (Linnaeus, 1758)

Yabancı dillerdeki adlandırılması ise Common dentex (İng.), Zahnbrassen (Alm.), Denté (Fra), Dentón (İsp.), Dentice (İtal.), Synagrida (Yun.) şeklindedir.



Şekil 2.1 Sinarit balığının genel görünüşü.

Oval vücut yapısına sahip olan sinarit balığının gövdesi yüksek ve lateralden yassılaştırmıştır. Balık, gümüş gri üzerine yeşil, pembe, altın sarısı ve parlak mavi renk tonlarında olup canlıken bunlar üzerinde koyu renkli benekler taşır. Yüzgeç ışınları DXI+12-15, AIII+7-9, AIII+18-22 olarak formüle edilir. Kaudal yüzgeç homoserktir. Baş büyüktür, ağız kalın dudaklıdır ve keskin bir çenesi vardır. Başın üst kısmı genç bireylerde konveks bir yapıda iken ergin bireylerde düz, yaşlı bireylerde kambur şeklindedir. Sinarit balığının genel görünüşü, şekil 2.1'de gösterilmiştir. Boyu maksimum 1.5 m, ortalama 35-40 cm civarındadır. Ağırlığı ortalama 1.5 kg, maksimum 13 kg olabilir (Bauchot and Hureau, 1986; Ramos-Esplá and Bayle-Sempere, 1991).

Demersal bir tür olan sinarit, sıcaklık ve tuzluluğa toleransı nedeniyle fazla derin olmayan kıyı sularında, lagünlerde ve nehir ağızlarında bulunur. Bütün Akdeniz'de, Doğu Atlantik'te, İngiliz Adaları'ndan Biscay Körfezi'ne kadar olan bölgede yayılım gösterir. Şekil 2.2'de sinarit balığının dağılım alanları gösterilmiştir. 200 m derinlikten daha sığ sularda, sert dip yapısına sahip kayalık bölgelerde yaşar. Ergin bireyler tek, genç bireyler sürü hâlinde dolaşır. Karnivor olup kemikli balıklar, yumuşakçalar, eklem bacaklılar ve kafadan bacaklılar ile beslenir. Sinarit, diğer Sparidae üyelerinin aksine gonokoristik hermafrodit özellik göstermektedir (Loir et al., 2001). İki yaşında cinsel olgunluğa ulaşır (17 cm) ve Nisan-Haziran ayları arasında yumurtlar. Bu aylarda üreme amacı ile derin sulara doğru göç eder. İleri telolesital tipteki yumurtaları pelajik ve şeffaf özellikte olup tek yağ damlası içerir (Saka ve diğ., 2004).



Şekil 2.2 Sinarit balığının dağılım alanları.



Sinarit larva üretimi ile ilgili çalışmalar ağırlıklı olarak embriyolojik gelişim, erken dönem fizyolojik özellikler, morfolojik ve osteolojik gelişim ve beslenme konuları üzerinde yapılmıştır (Koumoundouros et al., 1999b; Fırat ve diğ., 2003; Espinós et al., 2002; Saka ve diğ., 2004; Fırat ve diğ., 2005).

Sinarit, son yıllarda alternatif türler kapsamında sıklıkla ele alınmasına rağmen özellikle larval dönemde yaşanan yüksek oranda iskelet deformasyonları, düşük yaşama oranı değerleri, besinsel gereksinimlerinin tam olarak tanımlanmaması gibi sorunlar bu türün yoğun üretime geçirilmesindeki önemli engeller olarak görülmektedir (Rueda and Martinez, 2001; Koumoundouros et al., 2004; Bermejo-Nogales et al., 2007).

## **2.2 Sinarit Larvalarının Fizyolojik Gelişimi**

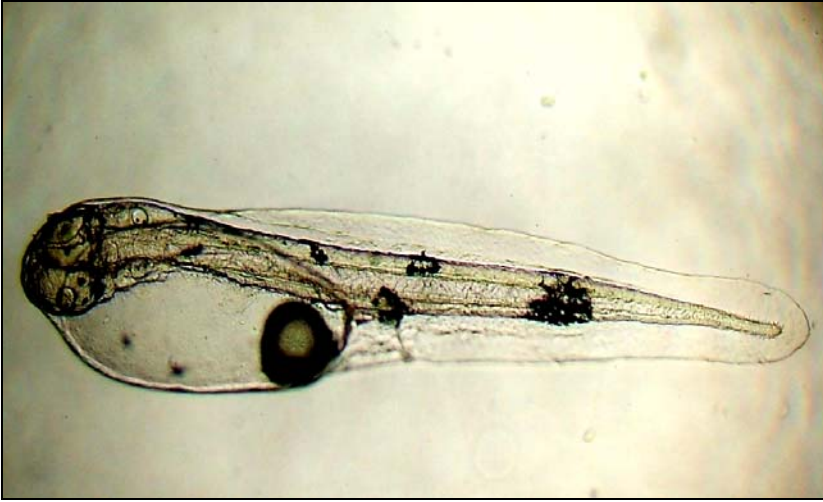
### **2.2.1 Prelarval Dönem (0-2. gün)**

Bu evrede, sinarit larvaların ağız ve anüsleri kapalıdır. Larvalar pasif durumda olup yağ damlası ve vitellin rezervleri içeren besin kesesinden sağlanan enerji ile hayatlarını sürdürürler. Ağız ve anüs kapalı olduğundan eksojen beslenme söz konusu değildir. Vitellüs kesesi, vücudun anteriyöründe yer alır. Yağ damlası ise vitellüs kesesinin posteriyöründedir. Şekil 2.3'te, yumurtadan henüz çıkmış sinarit prelarvası gösterilmiştir. Su sıcaklığı, vitellüs kesesinin tüketiminde ve ağız ve anüs açılımlında en önemli faktördür. Larvada, larvanın tüm vücudunu saran bir primordial yüzgeç bulunur. Işınsız bir deri kıvrımı şeklinde olan bu yüzgeç, başın hemen arka kısmından başlayıp tüm vücudu geçer ve besin kesesinde son bulur. Bu sayede larva, hem suda yüzebilir hem de gerek duyduğu oksijeni sağlar (Fırat ve diğ., 2005). Baş, aşağıya doğru eğiktir, gözlerde retinal renklenme yoktur.

Yumurtadan henüz çıkmış larvada sindirim tüpü düz bir boru şeklindedir. Sindirim tüpünün dorsalinde pankreas, ventralinde ise karaciğer farklılaşmamış küçük tomurcuksu yapıdaki hücrelerden oluşur. Mide bu dönemde bir boğum ile belirlenir. Bağırsak çeperi yumurta çıkışından itibaren düz bir yapıdadır. Daha

sonraki günlerde meydana gelen yoğun mitoz ile tek tabaka olan hücreler 2-3 tabakalı bir hâl alır. Karaciğerdeki hepatik hücreler ilk gün ile birlikte görülmeye başlar. Bu dönemde pankreasta gelişim proksimal, karaciğerde ise distal yöndedir. 2. günde sindirim tüpü 50°'lik bir açı ile dönme hareketi yapar. Bununla beraber karaciğer sol laterale kayarken, pankreas da sağ laterale yerleşir. Sindirim tüpünün dorsalinde ise hava kesesinin ilk oluşumu başlar (Santamaria et al., 2004).

Pigmentasyon; burunda, ağız bölgesinde, besin kesesinin ön kısmında, kuyruğun ventralinde, bağırsağın üstü boyunca ve anüsün üst kısmında belirginleşmeye başlar. Hareket su debisiyle gerçekleşir.



Şekil 2.3 Yumurtadan yeni çıkmış sinarit prelarvası.

### 2.2.2 Postlarval Dönem (3-40. gün)

Larvanın ağız ve anüsünün açılması ile postlarval evre başlar. Doğal olarak bu dönemde larvanın canlı yemler ile eksojen beslenmesi gerekir. Vitellüs kesesinin çoğu absorbe olmasına rağmen az miktarda yağ damlası mevcuttur. Salgı bezleri tam oluşmadığından sindirim mekanizması mükemmel değildir. Şekil 2.4'te, 3 günlük sinarit larvasının enine kesiti verilmiştir.



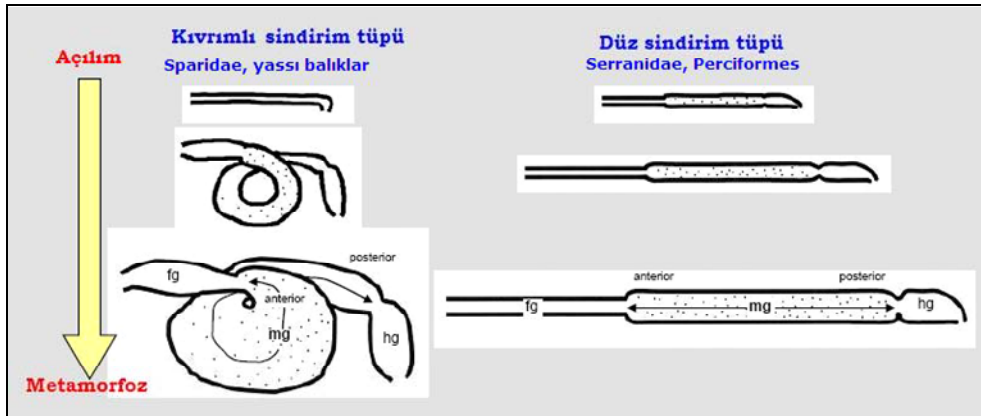
Şekil 2.4 3 günlük sinarit larvasının enine kesiti. K: karaciğer, st: sindirim tüpü, p: pankreas, v: vitellüs (Santamaria et al., 2004).

Hava kesesi oluşumu ve gelişimi, sinarit larvalarının yaşama yüzdesini sınırlayıcı temel fizyolojik yapıdır. Sinarit larvalarında hava kesesi ve sindirim tüpü birbirine bağlı olduğundan sinarit, fizoglist türler içinde yer alır. Sinarit balıklarında hava kesesi, sindirim tüpünün dorsal divertikülünden köken alır.

Fizoglist türlerde genellikle hava kesesinin ilk olarak şişmesi ve hidrostatik fonksiyonunun kullanılması ağız açılımı ve eksojen ilk besleme sonrasında gerçekleşmektedir (Doroshev et al., 1981). Hava kesesinin gelişimi esnasında vitellüs ve yağ damlası hacminde küçülme olur. Sinarit larvalarının 6-8. günler arasında hava kesesini şişirdiği tespit edilmiştir (Fırat ve diğ., 2005).

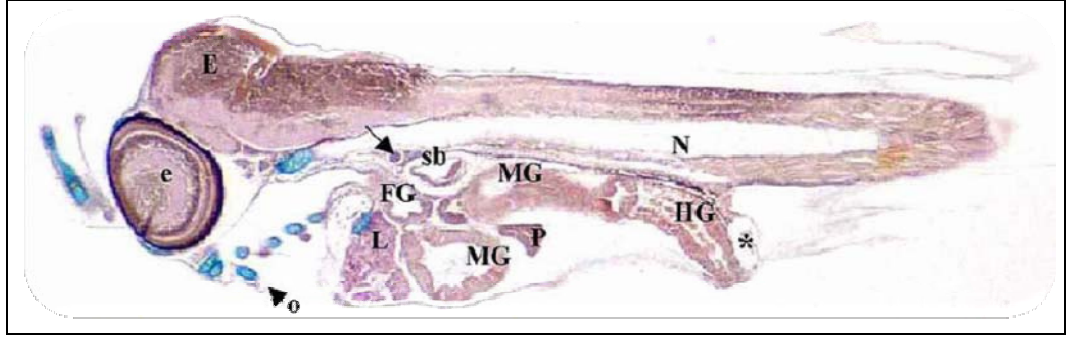
### 2.3 Sindirim Sistemi Fizyolojisi

Yavru balık kalitesini doğrudan etkileyen fizyolojik değişimler (embriyonik ve ontogenik gelişim) genel olarak larval dönemde meydana geldiğinden bu süreç oldukça önemlidir. Balık larvalarındaki sindirim kanalı morfolojik, histolojik ve fizyolojik açıdan erginlerinkine nazaran daha basit yapıdadır. Vitellüs kesesi ve yağ damlasının emiliminden önce ilkel bir sindirim tüpü mevcuttur. Sindirim kanalı, larval dönem boyunca değişmezken juvenil dönemin sona ermesi ile erişkin yapıya doğru hızlı bir değişim başlar. Bunun en büyük nedeni, larvanın aldığı besinin değişmesidir. Larva, öncelikle küçük boyutlu fitoplankton ve zooplankton ile beslenir ve geliştikçe daha büyük boyuttaki canlı yemleri almaya başlar. Bu değişim, canlı yemin miktarı ve toz yemlere olan fizyolojik adaptasyona paralel olarak gelişmektedir. Şekil 2.5'te, metamorfoz süresince larvalarda sindirim tüpü gelişimi gösterilmiştir.



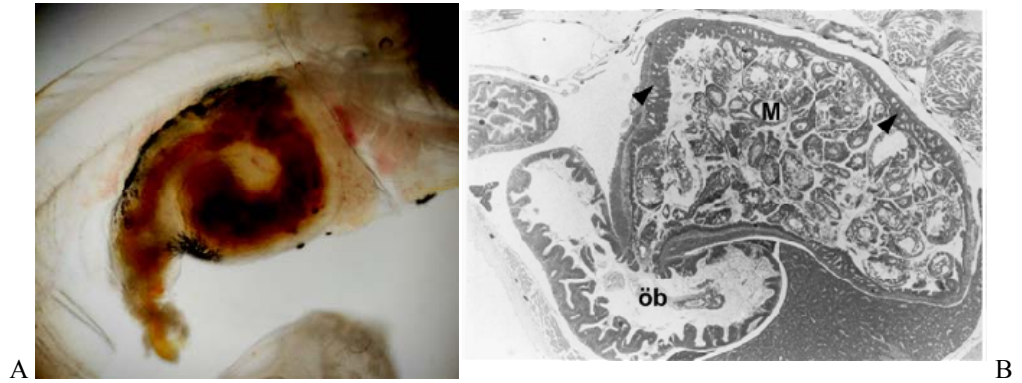
Şekil 2.5 Larvalarda sindirim tüpü gelişimi. fg: Ön bağırsak, mg: Orta bağırsak, hg: Arka bağırsak.

İnkübasyon sırasında sindirim kanalı, vitellüs kesesinin dorsalinde düz bir tüp şeklindedir ve histolojik olarak fark edilmemektedir. Bu esnada ağız ve anüs kapalıdır. Vitellüs kesesi ve yağ damlası emiliminin tamamlanması ile bukkofarinks, sindirim sisteminin ön, orta ve arka kısımlarını oluşturmaya başlar. Şekil 2.6'da, 8 günlük sinarit larvasının enine kesiti gösterilmiştir.



Şekil 2.6 8 günlük sinarit larvasının enine kesiti. FG: Ön bağırsak, MG: Orta bağırsak, N: Notokorda, Oe: Özafagus, L: karaciğer, HG: Arka bağırsak, P: Pankreas, sb: Hava kesesi, o: Operkulum, e: Göz, E: Beyin, \*: Mesane (Santamaria et al., 2004).

Ön kısmın posteriyöründe mide ve pilorik çekanın gelişmesi ile sindirim kanalının en büyük değişimi gerçekleşmiş olur. Şekil 2.7’de, 40 günlük sinarit larvasındaki gelişmiş sindirim sistemi ve mide gösterilmiştir. Lipid emilimi orta kısımda gerçekleşirken, proteinlerin aminoasitlere hidrolizi ise orta ve son kısımdaki tripsin, kimotripsin ve aminopeptidaz aktivitesi ile meydana gelmektedir (Zambonino Infante and Cahu, 2001).

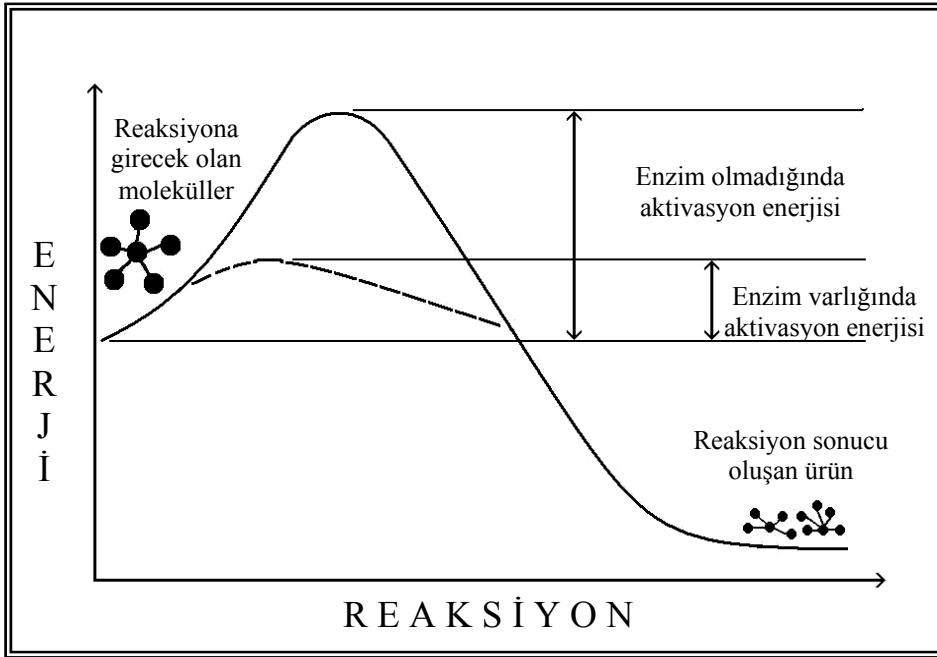


Şekil 2.7 40 günlük sinarit larvası. A: Gastrointestinal sistem, B: Gelişmiş mide  
öb: Ön bağırsak, M: Mide, oklar: Gastrik bezler (Santamaria et al., 2004).

## 2.4 Enzimler

### 2.4.1 Enzimin Tanımı

Biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların, canlıya zarar vermeyecek şekilde uygun koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapısındaki katalizörlere *enzim* adı verilir. Bilindiği gibi katalizör, kimyasal tepkimeye girerek tepkimeyi hızlandıran ve tepkime sonunda hiçbir değişikliğe uğramadan çıkan maddedir (Dinçkaya, 1997b). Yalnızca canlılar tarafından sentezlenen enzimler, canlı metabolizmasındaki binlerce tepkimenin hızını ve özgülüğünü düzenler. Solunum, büyüme, kas kasılması, sinirsel iletim, sindirim vs. gibi yaşamsal olayların temelini oluşturur.



Şekil 2.8 Enzimlerin genel çalışma prensibi (Gözükara, 1997).

Canlı organizmalardaki yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilmesi için birçok metabolik reaksiyonun gerçekleşmesi gerekir. Bu kimyasal tepkimelerin çoğu hücre içinde oluşur. Tepkimeler sırasında açığa çıkacak yüksek ısı, proteinlerin yapısını bozacağından organizmaya da zarar verecektir. Hücredeki bu kimyasal tepkimelerin canlıya zarar vermeyecek koşullarda, düşük enerji kullanımı ile ve

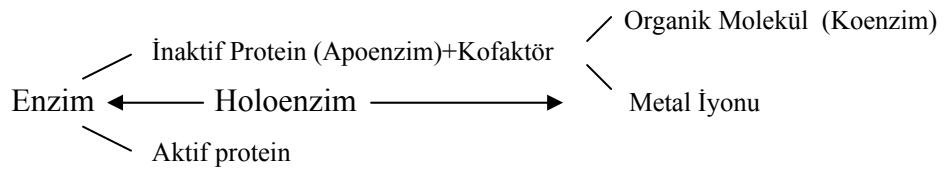
vücut ısısında gerçekleşebilmesi ancak enzimlerin varlığı ile mümkündür (Trevor Palmer, 1985; Gözükara, 1997). Enzimlerin genel çalışma prensibi, şekil 2.8'de gösterilmiştir.

### 2.4.2 Enzimlerin Yapısı ve Özellikleri

Tüm enzimlerin proteinleri genler tarafından şifrelendiğinden aminoasit dizilimi kendine özgüdür. Enzimlerin aktivite göstermeleri için gereksinim duydukları kompleks organik moleküllere *koenzim*, protein yapısında olmayan genellikle metal iyonlarının meydana getirdiği yan gruplarına ise *kofaktör* denilmektedir. Bazı durumlarda enzimler aktivite gösterebilmeleri için hem koenzime hem de kofaktöre gereksinim duyar ve enzime gevşek ya da kovalent olarak sıkı bağlanmıştır. Enzim yüzeyine sıkıca bağlanmış ve protein yapısında olmayan bu gruplara *prostetik grup* denilmektedir (Dinçkaya, 1997b).

Koenzimlerin yapısında genellikle vitaminler bulunmaktadır. Bu bağlamda vitaminler, metabolik olayların enzimler tarafından çok kolay ve hızlı biçimde gerçekleşebilmesi için organizmalar açısından oldukça önemli olan bileşiklerdir.

Enzim, koenzimi ya da kofaktörü ile birlikte ve katalitik açıdan tamamen aktif durumda ise enzimin bu haline *holoenzim* adı verilmektedir. Ayrıca, kofaktörün ve koenzimin enzimden ayrılması sonucu enzimin aktivitesini yitirip inaktif konuma geçmesi sonrasında sadece protein kısımdan oluşan inaktif şekline ise *apoenzim* denilmektedir (Trevor Palmer, 1985; Uslan, 1997).



Uluslararası Enzim Komisyonu'nun çalışmaları doğrultusunda enzimlerin adlandırılmasında üç temel ilke dikkate alınmıştır. Bunlar;

a) Enzim isimleri, sonuna -az eki alır. Bu ilke sadece tek bir reaksiyonu katalizleyen enzimler için geçerli kabul edilmiş olup birden çok enzimi içeren sistemlere uyarlanamaz.

b) Enzimler, katalizledikleri reaksiyona göre isimlendirilir ve sınıflandırılır. Bu nedenle herhangi bir enzim, katalizlediği reaksiyon tüm ayrıntıları ile bilininceye kadar sistematik olarak isimlendirilemez.

c) Enzim Komisyonunun (E.C.) belirlediği temel ilkeler dikkate alınarak yapılan bir isimlendirme, reaksiyonun geri dönüşlü olduğu deneysel olarak gösterilmiş olsa bile, bütün enzim sınıflarında, reaksiyonun sadece dikkate alınan yönünü ifade eder. Buna karşılık, enzimlerin önerilen isimleri, genellikle ilgili reaksiyonların canlı ortamdaki yönlerini göz önüne almaktadır.

1961 yılındaki Enzim Komisyonu raporuna göre, enzimler katalizledikleri reaksiyon tipine göre 6 ana gruba ayrılmış ve bu gruplarda yer alan her enzim "E.C." olarak kısaltılmış ve 4 rakamdan oluşan bir kod numarası ile tanımlanmıştır. "E.C." numarasının kapsadığı dört rakamdan birincisi o enzimin 6 ana gruptan hangisinde yer aldığını, ikinci rakam alt grubu, üçüncü rakam alt-alt grubu ve dördüncü rakam ise o enzimin alt-alt gruptaki seri numarasını ifade etmektedir. Örneğin, tripsin enziminin kod numarası E.C.3.4.21.4, amilaz enziminin kod numarası E.C.3.2.1.1 ve lipaz enziminin kod numarası ise E.C.3.1.1.3'tür (Dinçkaya, 1997b).

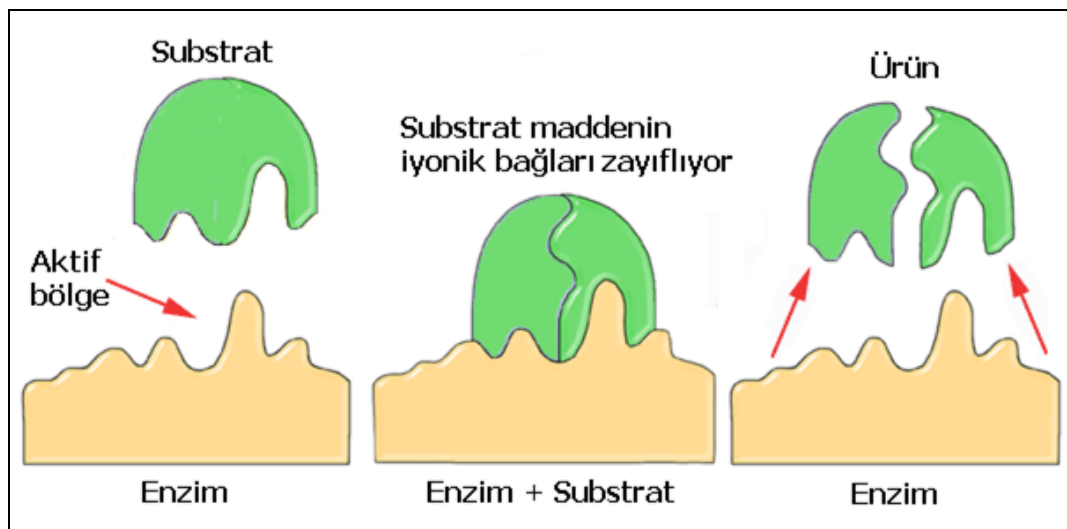
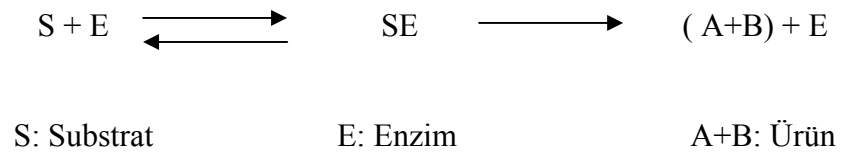
Enzimler, canlı hücreler tarafından biyolojik koşullarda sentez edilmektedir; ancak, aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmaları gerekmez. Enzimler oldukça özel yapı kazanmış ve genellikle büyük protein molekülleridir. Proteinlerdeki aminoasitlerin primer dizilişi genler tarafından belirlenen düzende gerçekleşmektedir. Enzim yapısında bulunan aminoasitlerin özel dizilişi, enzimin özgünlük ve kuarterner yapı kazanmasında büyük rol oynar.



Enzimler bir ya da daha çok substratı etkilerken aktivite göstermek için bazen koenzime, bazen de kofaktöre gereksinim duymaktadır. Bir enzimin ürünü, diğer bir enzimin substratı olmakta ve bu karşılıklı etkileşimler hücre metabolizmasının düzenlenmesinde etkin rol oynamaktadır (Trevor Palmer, 1985; Karlson, 1992; Gözükara, 1997).

Enzimlerin genel özellikleri ve çalışma mekanizmaları sekiz temel madde ile özetlenebilir;

1. Enzimlerin etki ettiği maddelere *substrat* adı verilmektedir. Enzim-substrat ilişkisi o enzimin spesifitesini oluşturur ve E. Fisher tarafından anahtar-kilit mekanizması esas alınarak tanımlanmıştır. Yalnız belirli bir anahtarın kilide uyduğu gibi substrat da sadece belirli bir enzimin aktif merkezine uymaktadır. Enzim molekülünde *aktif bölge* adı verilen özel bir bölüm yani reaksiyon merkezi bulunur. Enzim, ilgili substratına geçici olarak bu aktif bölgeden bağlanır ve enzim-substrat kompleksi meydana gelir. Enzimler, substrata dış yüzeyinden etki eder ve bunun ardından substrat parçalanarak bir ya da iki ürüne dönüşür. Şekil 2.9’da, enzim-substrat mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 2.9 Enzim-substrat mekanizması (Gözükara, 1997).

2. Organizmada yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesi için gerçekleşen reaksiyon sayısı kadar enzim çeşidi bulunmakta ve her enzim belirli bir reaksiyonu katalizlemektedir.

3. Enzim reaksiyonları çift yönlü çalışmaktadır; ancak, sindirim enzimleri bu kuralın dışında kalır; çünkü oluşan ürünün hemen organizma tarafından enerji olarak kullanılmak üzere değerlendirilmesi gerekir. Çoğunlukla sindirim enzimlerinin inaktif şekilde sentezlendikten sonra başka bir tepkime ile aktif hâle geçmesi bu kuralı bozmaktadır.

4. Belirli bir apoenzim çeşidi belirli bir koenzim ya da kofaktör ile birlikte çalışmaktadır; ancak, bir koenzim ve kofaktör, birden fazla enzim ile çalışabilmektedir. Bu nedenle, var olan enzim sayısı ve çeşidi, kofaktör ve koenzim sayısından daha fazladır.

5. Enzimler, düşük enerji ve ısı kullanarak çok hızlı çalışırlar. Örneğin, amilaz enzimi 1.100.000 ve kimotripsin enzimi ise 6.000 molekülü ürüne çevirmektedir.

6. Enzimler, biyolojik katalizör oldukları için girdikleri tepkimelerden değişmeden çıkmakta ve aynı reaksiyonu tekrar tekrar katalizlemektedir. Sürekli kullanıma bağlı olarak bozulan enzimler parçalanmakta ve ilgili hücre tarafından yeniden sentezlenmektedir.

7. Enzimatik reaksiyonlar belirli bir düzen içinde gerçekleşmektedir. Herhangi bir reaksiyon sonucu oluşan ürün, bir sonraki reaksiyonun substratı olabilmektedir. Örneğin; amilaz enzimi ile parçalanan nişastadan ürün olarak maltoz oluşmakta ve maltoz, maltaz enziminin substratını oluşturmaktadır

8. Enzimler, aktif ya da inaktif şekilde bulunabilirler. İnaktif konumdaki enzim adlandırılırken katalizlediği reaksiyonun sonuna –jen eki alır. Tripsinojen, kimotripsinojen ve pepsinojen örnek olarak verilebilir. Enzim aktif konumda ise katalizlediği reaksiyonun sonuna –az eki alır. Lipaz, amilaz, proteaz, aminopeptidaz örnek olarak verilebilir (Trevor Palmer, 1985; Gözükara, 1997).

### 2.4.3 Enzimlerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Enzimler, biyolojik sistemlerde genellikle çok küçük miktarda bulunur ve reaksiyona girer. Bu nedenle, enzim aktivitesi tanımlanırken protein miktarından çok biyolojik sistemde gösterdiği aktivite miktarından söz edilmektedir. Enzimatik reaksiyonlar her koşulda aynı verimlilikte gerçekleşmez. Özellikle enzimlerin protein yapılı olduğu düşünüldüğünde ortam parametrelerinin etkisi açıkça ortaya çıkmaktadır.

Enzimlerin aktivitesini etkileyen faktörler beş madde ile açıklanabilir;

**2.4.3.1 Sıcaklık:** Enzimler protein yapısında moleküller olduğu için öncelikle ortam sıcaklığından büyük ölçüde etkilenirler. Enzim aktivitesinin en iyi olduğu optimum sıcaklık 25-37 °C arasındadır. Enzimler, optimum noktanın biraz üzerinde etkisiz olmasına karşın, sıcaklık düşünce tekrar etkili hâle geçebilir. Fakat bu sıcaklığın devamı ya da biraz daha yükselmesi enzimlerin etkinliğini geri dönüşümsüz olarak ortadan kaldırır, protein yapı yüksek sıcaklıkta denatüre olur. Düşük sıcaklıklar enzimin yapısını bozmaz; ancak, inaktif duruma geçmesine neden olur. Enzim preparatlarının -80 °C ile -20 °C gibi çok düşük sıcaklıklarda saklanması temel nedeni budur.

**2.4.3.2 pH:** pH değişimlerine karşı oldukça duyarlı olan enzimlerin en iyi aktivite gösterdiği bir pH değeri vardır. Örneğin, tripsin ve kimotripsin pH 8.0-11.0, amilaz pH 5.6-7.2, lipaz pH 7.0 ve pepsin pH 1.5-2.5 derecesinde etkinlik gösterir. Bu değer alkalik veya bazik ortama doğru değişmesi, enzim reaksiyonunu yavaşlatmaktadır. Bu nedenle, enzim preparatları hazırlanırken pH derecesini sabit tutabilmek için ortama bazı tampon çözeltiler konulmaktadır.

**2.4.3.3 Enzim/Substrat Konsantrasyonu:** pH ve sıcaklık sabit tutulduğunda enzim/substrat derişimi arasındaki orana bağlı olarak bir tepkime hızı görülür. Substrat ya da enzimin fazla olması bu hızı değişik şekillerde etkileyebilir. Bol substrat bulunan bir ortama eklenecek enzim, son ürün miktarını da arttıracaktır.

**2.4.3.4 Zaman:** Bir enzim reaksiyonunun hızı, belirli bir zamanda üretilen ürünün miktarı ile belirlenmektedir. Genellikle enzim aktivite tayinlerinde tespit süresi 5 dakika olarak belirlenmiştir. Bu zamanın aşılması durumunda ortamın pH derecesinde değişimler olabileceği gibi bazı durumlarda ürünün ortamda birikmesine bağlı olarak enzimin denatüre olması söz konusu olacaktır.

**2.4.3.5 Diğer Kimyasal Maddeler ve Suyun Etkisi:** Enzimatik reaksiyonlar sırasında ortamda serbest hâlde ağır metal iyonlarının bulunması aktivite hızını azaltır ve enzim üzerinde inhibitör etkisi gösterir. Özellikle sindirim enzimlerinde olduğu gibi inaktif şekilde sentezlenen enzimlerin aktif hâle geçebilmesi için bir takım iyonlar ile reaksiyona girmesi gerekmektedir.

Enzimlerin büyük bir kısmı işlevlerini su içerisinde gösterdiklerinden su miktarı da enzim aktivitesinde etken bir koşuldur. Genellikle %15'in altında su içeren ortamlarda enzimler işlev göstermezler.

#### 2.4.4 Sindirim Enzimleri

Tüm organizmalarda yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilmesi için alınan kompleks yapıdaki besin maddelerinin monomerlerine ayrılması gerekir. Bu reaksiyonlarda en önemli rolü kuşkusuz sindirim enzimleri oynamaktadır. Substrat olarak besin maddesine tutunan enzimler, besini olağan üstü bir hızla kendini oluşturan en temel bileşenlerine parçalamaktadır.

Sindirim enzimlerini genel olarak sınıflandırıldığında; karbonhidrat sindiriminden sorumlu olanlara *amilaz*, yağların sindiriminden sorumlu olanlara *lipaz* ve proteinlerin sindiriminden sorumlu olanlara *proteaz* adı verilmektedir.

Enzim aktivitesi; sindirim kanalı boyunca organlara ve aynı organ içinde bölgelere, günün saatine, mevsime, balığın aç ya da tok oluşuna, yaşına ve aldığı yeme göre değişim gösterir. Sindirimin gerçekleşmesi, ortamda bulunan enzimin miktarından çok aktivitesine bağlıdır.

Çok sayıda protein molekülü ile birlikte bazı enzimler inaktif şekilde ve bir enzimin öncül molekülü olarak sentezlenmektedir. Bunun ardından, bu protein molekülünde bulunan bir ya da daha çok peptid bağının koparılması sonucunda enzim aktif hâle geçmektedir. Aktif protein molekülünün enzim olduğu koşulda, bu enzimin inaktif öncül şekline *proenzim* ya da proteolitik enzimlerde olduğu gibi enzimin inaktif öncül şekline *Zimojen Granülleri* denilmektedir (Trevor Palmer, 1985; Gözükara,1997; Sterchi and Stöcker, 1999).

Genellikle proteinleri parçalayan sindirim enzimleri, başlangıçta pankreas ve mideden bir proenzim şeklinde sentezlenmektedir. Bu proenzimler bir ya da daha çok peptid bağının koparılması ya da belli uzunlukta bir peptid kısmının asıl zincirden uzaklaştırılması ile aktif duruma gelirler. Çizelge 2.1’de, mide ve pankreastan sentezlenen başlıca proteolitik enzimler verilmiştir.

Çizelge 2.1 Mide ve pankreastan proenzim halinde sentezlenen başlıca proteolitik enzimler.

<b>Proenzim</b>	<b>Aktif Enzim</b>	<b>Sentezlendiği Yer</b>
Tripsinojen	Tripsin	Pankreas
Kimotripsinojen	Kimotripsin	Pankreas
Pepsinojen	Pepsin	Mide
Prokarboksipeptidaz	Karboksipeptidaz	Pankreas
Proelestaz	Elestaz	Pankreas

Mide ve bağırsaklarda aktivite gösteren sindirim enzimleri başlangıçta inaktif olarak sentezlenmektedir. Proteinleri parçalayan enzimleri sentezleyen hücreler, kendilerini korumak için bu enzimleri inaktif formda ve bir proenzim şeklinde sentezlemektedir. Aksi hâlde, bu enzimler sentezledikleri hücrenin proteinlerini sindirir ve bunun sonucunda kendi kendini tahrip eder. Bu proenzimlerin aktivasyonu sadece sindirim kanalı içinde gerçekleşmektedir (Trevor Palmer, 1985; Sterchi and Stöcker, 1999).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu

Çalışma, Nisan-Haziran 2009 tarihleri arasında, İzmir ili, Çeşme ilçesi, Ildırı mevkiinde bulunan, Çamlı Yem Besicilik San. Tic. A.Ş. Pınar Deniz Ürünleri İşletmesi Ildırı Kuluçkahane Tesisleri'nde yürütülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Pınar Deniz Ürünleri İşletmesi Ildırı Kuluçkahane Tesisleri.

Çalışmada kullanılan anaç balıklar, deneme başlamadan önce doğal ortamdan paragat ile yakalanarak tesise getirilmiştir. Anaç bireyler 20 m<sup>3</sup>'lük adaptasyon tanklarına alınmıştır. Adaptasyon işleminden sonra anaç bireyler 1:1 dişi (3.978±0.664 kg)/erkek (3.543±0.837 kg) oranında ve 5 kg/m<sup>3</sup> yoğunlukta stoklanmıştır.

Analara doğal üreme periyodu, Nisan-Mayıs döneminde, doğal deniz suyu sıcaklığında (18.5-21.0  C) doğal fotoperiyot (14 saat aydınlık:10 saat karanlık) uygulanmasının yapılması planlanmıştır. Analara herhangi bir hormon uygulaması yapılmamıştır. Şekil 3.2’de, denemede kullanılan anaç balıklardan biri gösterilmiştir.

Anaçların beslenmesinde yumurta kalitesini arttırmak amacıyla taze yaş yem olarak sübye (*Sepia officinalis*), kalamar (*Loligo vulgaris*), ahtapot (*Octopus vulgaris*) kullanılmıştır. Bununla birlikte, yüksek oranda doymamış yağ asitleri içeren Vitalis Repro (Trouvit, Italy) pelet yem kullanılmıştır. Ayrıca günde 2 kere ad-libitum besleme yapılmıştır.



Şekil 3.2 Denemede kullanılan anaç balıklar.

Analardan doğal üreme periyodu olan Nisan-Mayıs ayları süresince temin edilen yumurtalar, kollektörlerde toplandıktan sonra ayrı bir kapta bekletilmiş ve l-canlı ayırımı yapılmıştır. Canlı yumurta miktarı tespit edildikten sonra yumurtalar, 200 litre hacmindeki 375  m göz açıklığına sahip inkbatrlere 3000 yumurta/lt olacak Şekilde yerleştirilmiştir. Yumurtaların, doğal deniz suyu sıcaklığında (18.5  C) tutulması planlanmıştır.

### 3.2 Larval Üretim ve Deneme Düzeni

Denemede, 22 m<sup>3</sup> hacimli, çeperleri siyah, zemini gri renkte, silindirik yapıdaki polyester tanklar kullanılmıştır. (Şekil 3.3).



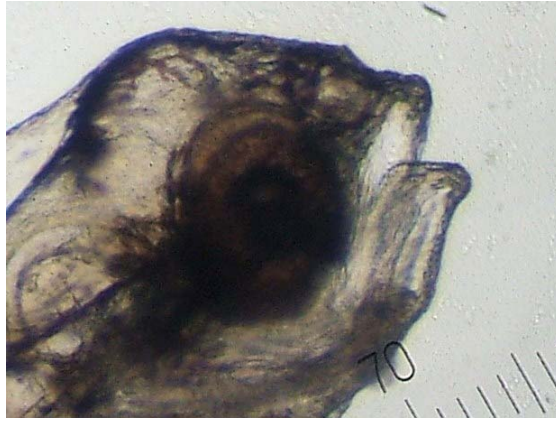
Şekil 3.3 Larval üretimde kullanılan deneme tankları.

İnkübasyon aşamasından sonra larvaların 100 adet/lt olacak şekilde tanklara yerleştirilmesi planlanmıştır. Su yüzeyinde biriken yağın giderilmesini sağlamak amacı ile hava süpürgeleri; ayrıca, sistemde kullanılan suyun saturasyonunu dengelemek için gaz atım kolonları kullanılması düşünülmüştür.

Besin kesesi ve yağ damlasının tüketildiği prelarval dönemde karanlık uygulaması yapılması ve 3. günde, ağız açılımının ardından, ışıkların açılması planlanmıştır. Aydınlatmaya 30 lüks şiddetindeki spot ışık kullanılarak başlanması düşünülmüştür. Endojen besin rezervlerinin tüketildiği prelarval dönemde larvalara herhangi bir besleme yapılmaması, eksojen beslemeye ağız açılımının gözlemlendiği anda başlanması planlanmıştır. Larva üretiminin, açık devre sistemde, yeşil su tekniği kullanılarak yapılması öngörülmüştür. Alg türü olarak  $20-40 \times 10^3$  hücre/ml *Nannochloropsis oculata* kullanılması planlanmıştır. Denemede, alg kullanıldığı sürece 24 saat aydınlatma yapılması, alg kullanımı sona erdikten sonra günde 16 saat aydınlık: 8 saat karanlık rejiminin uygulanması düşünülmüştür.

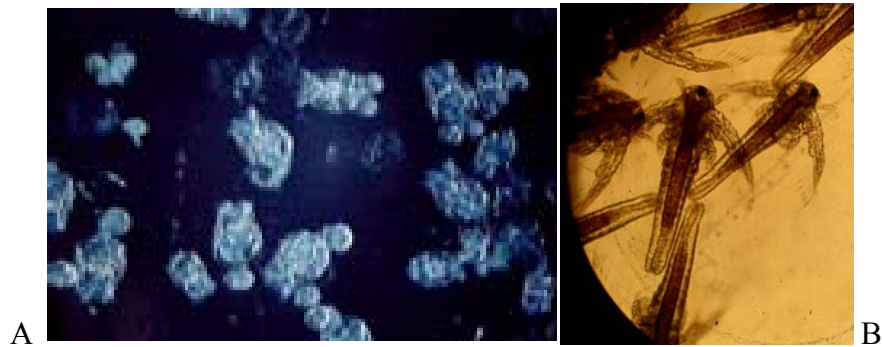


Larvalarda ağız açılımı gözlemlendikten sonra eksojen beslemeye S-type (küçük boyutlu) olarak adlandırılan *Brachionus rotundiformis* ve L-type (büyük boyutlu) olarak adlandırılan *Brachionus plicatilis* türü rotifer ile başlanması planlanmıştır. Başlangıç aşamasında 3. gün için %70 S-type+%30 L-type, 5. gün için %50 S-type+%50 L-type, ve 8. günden itibaren sadece L-type rotifer girişi yapılması düşünülmüştür. Canlı yem yoğunluğunun ortalama 10 adet/ml olması hedeflenmiştir. Şekil 3.4'te, ağız açılımının gözlemlendiği 3 günlük sinarit larvası gösterilmiştir.



Şekil 3.4 3 günlük sinarit larvasında ağız açılımı.

Rotiferin ardından canlı yem olarak beslemeye *Artemia* nauplii ile devam edilmesi planlanmıştır. Larvalara 10. günden itibaren AF tipi *Artemia* ve ilerleyen günlerde, larva gelişimine bağlı olarak 15. günden itibaren, zenginleştirilmiş *Artemia* metanauplii'nin verilmesi hedeflenmiştir. *Artemia* nauplii ve rotiferin zenginleştirilmesinde INVE firmasına ait ticari Selco ürünleri kullanılması öngörülmüştür. Denemede kullanılan canlı yemler, şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5 Denemede kullanılan canlı yemler. A: Rotifer, B: *Artemia* metanauplii.

Mide oluşumunun ardından, *Artemia metanauplii*'nin azaltılmaya başlandığı günlerde, tanklara ilk kez mikropartikül yem girişi yapılması hedeflenmiş ve denemede mikropartikül yem olarak 100-200 µm boyutundaki yemlerin kullanılması planlanmıştır. Çizelge 3.1'de, denemede kullanılan mikropartikül yemin besin madde içerikleri verilmiştir.

Çizelge 3.1 Denemede kullanılan mikropartikül yemin besin madde içeriği (INVE Catalogue, Belgium).

<b>Besinsel Madde Kompozisyonu</b>	<b>Oran</b>
Protein	%58
Yağ	%14
Kül	%12
Nitrojensiz Öz Madde	%9
Nem	%7
Selüloz	%1
Fosfor	%1.4
A vitamini	30.000 (IU/kg)
D3 vitamini	2.500 (IU/kg)
E vitamini	700 (mg/kg)
C vitamini	2.000 (mg/kg)
Σω3 HUFA	30 (mg/kg)
DHA/EPA	2
Antioksidanlar	Ethoxyquine

Larva tankındaki tuzluluğun ilk üç gün, ağız açılımına kadar, doğal deniz suyu tuzluluğunda tutulması düşünülmüştür. Hava kesesi oluşumunu kolaylaştırmak için tuzluluğun 24. güne kadar kademeli olarak düşürülmesi ve bunu izleyen günlerde, deneme sonuna kadar, yine kademeli olarak deniz suyu tuzluluğuna yükseltilmesi planlanmıştır. Denemede uygulanan sinarit larva üretim protokolü, çizelge 3.2'de verilmiştir.

Deneme süresince, larval gelişimin, örnekleme günlerinde tanktan alınan larvaların tartılması ile ve milimetrik oküler yardımı ile yapılan total boy ölçümü ile izlenmesi düşünülmüş ve deneme sonunda, her tankta kalan larvalar sayılarak yaşama oranının hesaplanması planlanmıştır.

Denemede, alternatif türlerin başında gelen sinarit balığının larval dönem süresince (0-40 gün) gelişiminin, büyüme parametrelerinin ve proteaz grubu sindirim enzimleri aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Denemenin, metamorfozun tamamlandığı 40. günde sona erdirilmesi planlanmıştır.

Çizelge 3.2 Sinarit larva üretim protokolü.

Yaş (Gün)	Sıcaklık (°C)	Tuzluluk (‰)	Debi (Saat)	Işık Yoğ. (lüx)	Işık Süresi (Saat)	Alg Yoğ. hücre/ml	Rotifer (adet/ml)	Artemia (adet/ml)	Mikropartikül Yem
0	18.5	38	10	-	-	-			
1	18.5		10	-	-	-			
2	18.5		10	-	-	-			
3	19	▼	10	30	24	2-4x10 <sup>6</sup>	10-15*		
4	19	35	5		24		10-15		
5	19		5		24		10-15**		
6	19	▼	5		24		10-15		
7	19	32	5		24		10-15		
8	19		5	70	24		10-15***		
9	19	▼	5		24		10-15		
10	19.5		5		24		10-15	0.5 (Ao)	
11	19.5	30	5		24		10-15	0.5 (Ao)	
12	19.5		5		24		10-15	0.5 (Ao)	
13	19.5		5	100	24		10-15	1 (Ao)	
14	19.5		5		24		10-15	1 (Ao)	
15	19.5		5		24		10-15	1 (Ao)+0.5 (A <sub>1</sub> )	
16	20		5		24		10-15	1 (Ao)+0.5 (A <sub>1</sub> )	
17	20		5		24		10-15	1 (Ao)+0.5 (A <sub>1</sub> )	
18	20		5		24		10-15	1 (Ao)+0.5 (A <sub>1</sub> )	
19	20		5	300	24		10-15	0.5 (Ao)+1 (A <sub>1</sub> )	
20	20		10		16	-	-	0.5 (Ao)+1 (A <sub>1</sub> )	
21	20		10		16			0.5 (Ao)+1.5 (A <sub>1</sub> )	
22	20.5		10		16			0.5 (Ao)+1.5 (A <sub>1</sub> )	
23	20.5	▼	10		16			2 (A <sub>1</sub> )	
24	20.5		10		16			2 (A <sub>1</sub> )	
25	20.5	32	20		16			2 (A <sub>1</sub> )	
26	20.5		20		16			2 (A <sub>1</sub> )	
27	20.5	▼	20		16			2 (A <sub>1</sub> )	
28	20.5	35	20	500	16			1.5 (A <sub>1</sub> )	Proton 2
29	20.5		20		16			1.5 (A <sub>1</sub> )	150-300 µ
30	20.5		30		16			1.5 (A <sub>1</sub> )	%10-12 C.A.
31	21	▼	30		16			1.5 (A <sub>1</sub> )	
32	21	38	30		16			1.5 (A <sub>1</sub> )	
33	21		30		16			1 (A <sub>1</sub> )	Proton 3
34	21		30		16			1 (A <sub>1</sub> )	200-400 µ
35	21		50-80		16			1 (A <sub>1</sub> )	%8-10 C.A.
36	21				16			1 (A <sub>1</sub> )	
37	21				16			1 (A <sub>1</sub> )	
38	21				16			1 (A <sub>1</sub> )	Proton 4
39	21				16			1 (A <sub>1</sub> )	300-500 µ
40	21	▼			16			0.5 (A <sub>1</sub> )	%6-8 C.A.

\* : %70 S + %30 L Type

Ao : *Artemia* nauplii

\*\* : %50 S + %50 L Type

A<sub>1</sub> : *Artemia* metanauplii (Zenginleştirilmiş)

\*\*\* : %100 L Type

C.A. : Canlı Ağırlık

### 3.3 Enzim Analizleri

Üretilen sinarit larvalarının proteaz grubu sindirim enzim aktivitelerini izleyebilmek için yumurta çıkışından sonra 0, 2, 3, 5, 7, 8, 10. günlerde ve sonrasında deneme sonuna kadar (40. gün) her 5 günde bir 50-250 adet larva örnekleme yapılmıştır. Larvaların, sabah ilk yem girişi yapılmadan önce ve genellikle aynı derinlikten alınması sağlanmıştır.

Alınan larvalar homojenizatör yardımıyla 15000xg devir, 4 °C'de 30 dakika süre ile homojenize (1/5: homojenat/soğuk saf su) edilmiş ve elde edilen homojenata 50 mM, pH 7.5, Tris HCl ile gliserol eklenerek enzim analizleri yapılmaya dek -20 °C'de saklanmıştır.

Her enzim, kendine özgü spesifik aktivite tayin yöntemleri ile tespit edilmiş ve spektrofotometre (Jenway 6300-Visible Spectrophotometer) cihazı yardımı ile enzim aktiviteleri ölçülmüştür.

**3.3.1 Alkalın Proteaz:** Alkalın proteaz aktivitesi, Alarcón et al. (1998) tarafından tanımlanan casein substrat analizi ile belirlenmiştir. Aktivite, 37 °C'de ve pH 8.0 derecesinde belirtilen koşullar altında, spektrofotometre cihazının 366 nm dalga boyundaki değeri ölçülerek hesaplanmıştır.

#### *Kullanılan Reaktifler*

- 50 mM Tris HCl tampon çözeltisi
- %0.5'lik casein substratı

*Prosedür*

- Alınan örnekler 50 mM Tris HCl çözeltisi ile homojenize edilir.
- Elde edilen homojenata 37 °C'de 60 dakika süre ile inkübe edilir.
- Reaksiyon %20'lik 0.5 ml trichloroacetic acid (TCA) eklenerek durdurulur. Tekrar karıştırılır.
- Tüpler 10 dakika bekletilir ve karışım filtreden geçirilir.
- Süzüntünün spektrofotometre cihazında 366 nm dalga boyundaki değeri ölçülür.

**3.3.2 Asit Proteaz:** Asit proteaz aktivitesi, Anson (1938) tarafından tanımlanan hemoglobin substrat analizi ile belirlenmiştir. Aktivite, 37 °C'de ve pH 2.0 derecesinde belirtilen koşullar altında, spektrofotometre cihazının 280 nm dalga boyundaki değeri ölçülerek hesaplanmıştır.

*Kullanılan Reaktifler*

- 0.1 M glisin HCl tampon çözeltisi
- %0.5'lik hemoglobin substratı

*Prosedür*

- Alınan örnekler 0.1 M glisin HCl çözeltisi ile homojenize edilir.
- Elde edilen homojenata 37 °C'de 60 dakika süre ile inkübe edilir.
- Reaksiyon %20'lik 0.5 ml trichloroacetic acid (TCA) eklenerek durdurulur.
- Tüpler 10 dakika bekletilir ve karışım filtreden geçirilir.
- Süzüntünün spektrofotometre cihazında 280 nm dalga boyundaki değeri ölçülür.

**3.3.3 Protein:** Her enzimin özgül spesifik aktivitesini sayısal olarak tanımlamak üzere spektrofotometre cihazından okunan göreceli değerlerin, homojenatta bulunan protein değeri ile oranlanması düşünülmüştür. Bu bağlamda, Bradford tarafından 1976 yılında yapılan çalışmada kullanılan Bradford yöntemi ile elde edilen protein miktarı, spektrofotometre cihazından okunan değer ile oranlanarak her enzimin kendine özgü spesifik aktivitesi  $\text{mU/mg protein}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir.

Bradford yönteminde substrat olarak sığır serum albümini kullanılmıştır.

#### *Kullanılan Reaktifler*

- 100 mg Coomassie Blue G-250
- 50 ml %95 ethanol
- 100 ml %85 (w/v) Fosforik asit

#### *Prosedür*

- Sırasıyla 0, 2, 4, 6, 10, 15 ve 20  $\mu\text{l}$  BSA (1 mg/ml) substratı küvetlere konulur.
- 100 mg Coomassie Blue G-250, 50 ml %95 ethanol içinde 100 ml %85 (w/v) fosforik asit eklenerek Bradford solüsyonu hazırlanır.
- 20  $\mu\text{l}$  ölçümü yapılacak örnekten konulur, üzerine 40  $\mu\text{l}$  Bradford solüsyonu ilave edilir ve 200  $\mu\text{l}$ 'ye kadar su eklenir.
- Spektrofotometre cihazında 595 nm dalga boyundaki değer ölçülür ve Lambert&Mill yasası gereğince oranlama yapılarak spesifik enzim aktivitesi tespit edilir.

### 3.4 İstatistik

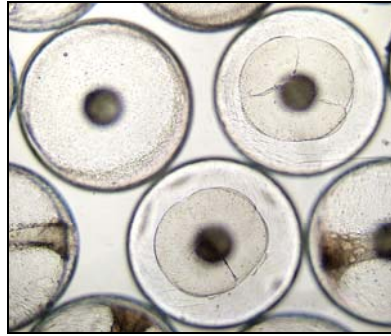
Denemeler 3 kez tekrar edilmiş ve veriler ortalamasının standart sapması ( $\bar{X} \pm sd$ ) olarak gösterilmiştir. Varyanslar arasındaki homojenite Levene testi ile test edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizinin (ANOVA) ardından Tukey testi ile tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Yaşama oranları arasındaki farklılık ise Fisher'in Ki kare testi ile saptanmıştır. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 ve Microsoft Excel 2007 yazılımlarından yararlanılmıştır.



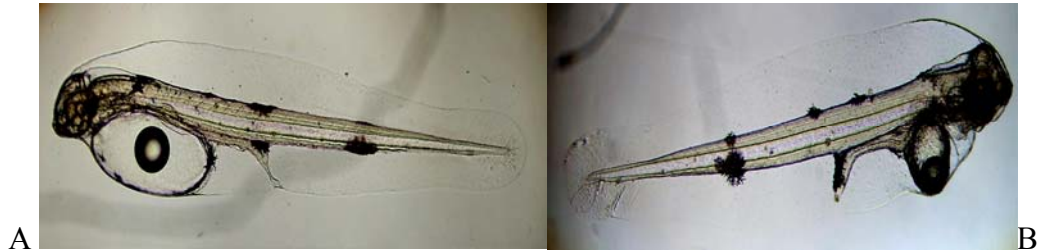
## 4. BULGULAR

### 4.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu

Anaçlar, doğal üreme periyodu içinde su sıcaklığının 18.5-21.0 °C arasında değişim gösterdiği dönemde yumurta bırakmışlardır. İnkübasyon süresince deniz suyu sıcaklığı 18.5-19.0 °C arasında tutulmuştur. Elde edilen yumurtalar, 18.5±0.2 °C’de inkübe edildikten 49 saat sonra çatlamış ve larvalar yumurtadan çıkmıştır. Şekil 4.1’de, farklı safhalardaki sinarit balığı yumurtaları gösterilmiştir. Yumurta çapı 912.8±3.6 µm olarak ölçülmüş, yumurta boyutları arasında istatistiki açıdan fark tespit edilmemiştir ( $p>0.05$ ). Vitellüs boyu 749.7±3.8 µm, yağ damlası çapı ise 199.2±3.6 µm olarak ölçülmüştür. Larvalarda 1. ve 3. gündeki vitellüs ve yağ damlası durumu, şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Farklı safhalardaki sinarit balığı yumurtası.

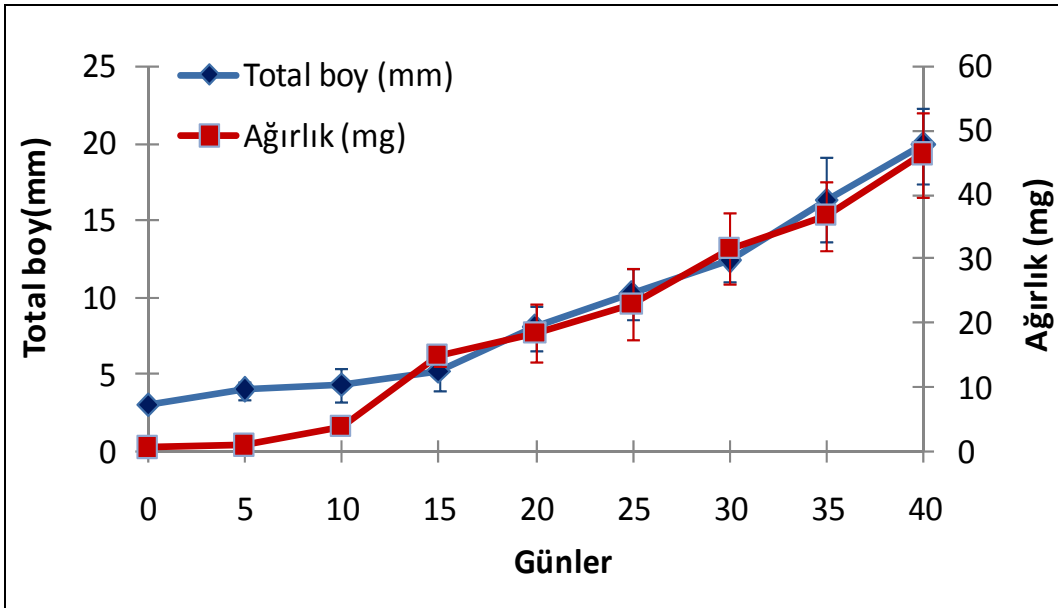


Şekil 4.2 Larvalarda vitellüs ve yağ damlası durumu. A: 1. gün, B: 3. gün.

Larval üretim süresince pH 7.6-8.1 arasında değişmiştir. Nitrit, nitrat, amonyum ve amonyak gibi azotlu bileşikler letal dozun altında tespit edilmiştir ( $\text{NH}_4^+$ : > 0.001 mg/l,  $\text{NO}_2^-$ : > 0.001 mg/l  $\text{NO}_3^-$ : > 0.001 mg/l).

#### 4.2 Larval Gelişim

Larvaların gelişim verileri incelendiğinde; denemenin sona erdiği 40. günde total boy  $19.83 \pm 2.6$  mm, ağırlık  $42.12 \pm 4.3$  mg, spesifik büyüme oranı  $9.35 \pm 1.9$  %/gün ve yaşama oranı da  $18.6 \pm 3.7$  olarak tespit edilmiştir. Larvalarda gözlenen total boy-ağırlık gelişimi, şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Deneme süresince larvalarda gözlenen total boy-ağırlık değişimi.

Sinarit larvaları, total boy gelişimi açısından ilk 15 günlük süreçte yavaş seyreden bir artış göstermiştir. Bu günden sonra, denemenin sona erdiği 40. güne kadar daha hızlı bir total boy gelişimi izlenmiştir.

Larvalarda izlenen ağırlık gelişimi ise 10. günden sonra hızlı bir artış eğilimine girmiştir. Bu hızlı artış grafiğinin deneme sonuna kadar aynı hızda seyrettiği tespit edilmiştir. Şekiller 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10'da sırası ile 2, 5, 10, 15, 20, 30 ve 40 günlük sinarit larvaları gösterilmiştir.

Denemenin 14. gününde tanktaki su giriş ve çıkış bölgelerinden alınan 50 larva örneğinden 48'inde fonksiyonel hava kesesinin oluştuğu görülmüş ve hava kesesi oluşum oranı %96 olarak hesaplanmıştır.



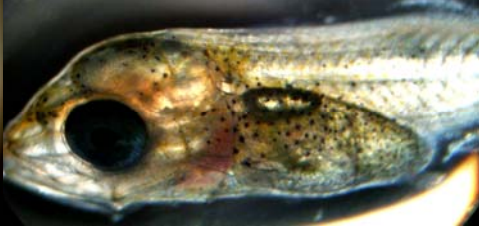
Şekil 4.4 2 günlük sinarit larvası.



Şekil 4.5 5 günlük sinarit larvası.



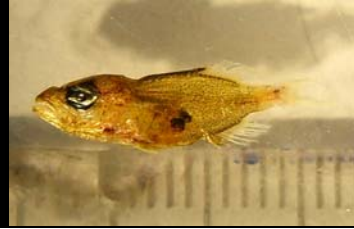
Şekil 4.6 10 günlük sinarit larvası.



Şekil 4.7 15 günlük sinarit larvası.



Şekil 4.8 20 günlük sinarit larvası.



Şekil 4.9 30 günlük sinarit larvası.

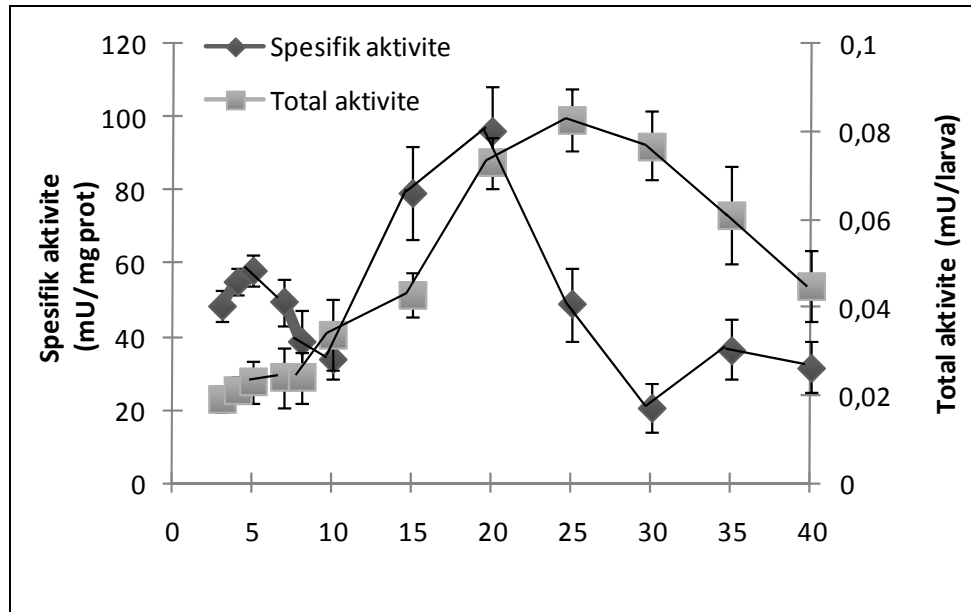


Şekil 4.10 40 günlük sinarit larvası.

### 4.3 Enzim Aktiviteleri

#### 4.3.1 Alkalın Proteaz

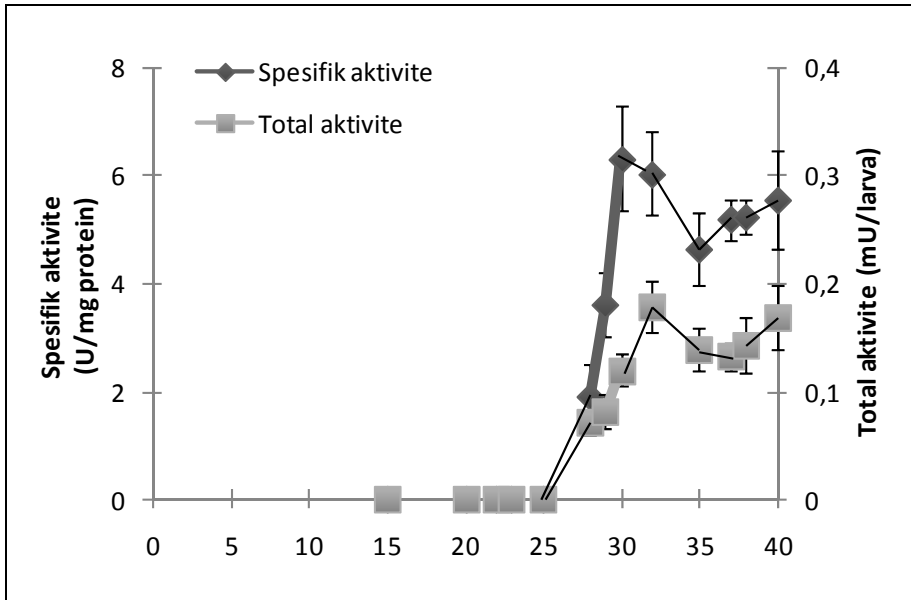
Larval dönemde, daha çok alkali ortamlarda (pH 8.0-9.0) sindirim aktivitesine katılan proteaz grubu enzimlere (tripsin, kimotripsin, elastaz, peptidaz) ait spesifik aktivite, 3. günde tespit edilen ağız açılımı ve eksojen besin alımı ile birlikte artış göstermiş, ardından aktivitede 10. güne kadar yavaş bir azalma eğilimi tespit edilmiştir. Bu günden sonra, 20. günde, hızlı bir artışın ardından tekrar hızlı bir azalma gözlenmiştir. Mikropartikül toz yem girişi ile birlikte aktivitede yeniden artış izlenmiştir. Deneme süresince larvalarda gözlenen alkalın proteaz aktivitesindeki değişimler, şekil 4.11’de gösterilmiştir.



Şekil 4.11 Deneme süresince larvalarda gözlenen alkalın proteaz aktivitesindeki değişimler.

### 4.3.2 Asit Proteaz

Larval dönemde özellikle fonksiyonel mide oluşumu ve gastrik bezlerin salgı işlevine başlaması ile birlikte asidik ortamda (pH 1.0-2.0) sindirim aktivitesine katılan proteaz grubu enzimlere (pepsin, pepsin-like) ait spesifik aktivitede, 25. güne kadar herhangi bir tespit yapılamamış, 25. günde ise çok düşük miktarda aktivite tespit edilmiştir. Bunun ardından, 28. günde, ilk kez aktivite izlenmiş ve 30. güne kadar düzenli artışa devam etmiştir. Mikropartikül toz yem girişinin ardından, ilk anda spesifik aktivitede düşüş izlenmesine rağmen sonraki günlerde başlayan artış eğilimi deneme sonuna kadar devam etmiştir. Asit proteaz aktivitesinin 32. günden itibaren azalmaya başladığı, 35. günden itibaren yeniden artış eğilimine girdiği ve bu artışın deneme sonuna kadar sürdüğü gözlenmiştir. Şekil 4.12’de, deneme süresince larvalarda gözlenen asit proteaz aktivitesindeki değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.12 Deneme süresince larvalarda gözlenen asit proteaz aktivitesindeki değişimler.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son on yıldır, Akdeniz ülkelerinde akuakültür üretimi daha çok çipura ve levrek üzerinde yoğunlaşmış durumdadır. Bu durum, ekonomik değeri yüksek potansiyel alternatif türlerin üretimini gündeme getirmiştir. Son yıllarda akuakültür sektöründe alternatif türlerin gündeme gelmesi, başta sinarit olmak üzere fangri, kırma mercan, sargos ve sivriburun karagöz gibi Sparidae üyelerinin öneminin artmasına neden olmuştur.

Bu çalışmada, son yıllarda alternatif türler arasında değerlendirilen sinarit balığının larva kültüründe (0-40 gün) proteaz grubu sindirim enzimlerinin başlangıç ve gelişimi ile bu enzimlerin aktivitesindeki değişim profili incelenmiştir.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde başarılı bir larva üretimi birçok faktörün etkisi altındadır. Bu faktörlerin en önemlisi, kuşkusuz larval üretimin temelini oluşturan kaliteli yumurta teminidir. Larval üretime kaliteli yumurta ile başlamak öncelikle endojen besin rezervlerinin kullanıldığı prelarval dönemde yaşanan mortalitenin önüne geçtiği gibi ağız açılımı ve eksojen besleme ile başlayan postlarval dönem boyunca larvanın büyüme performansı ve gelişimini de etkilemektedir.

Deniz balıkları larva kültüründe kaliteli larva üretiminin temelini kaliteli yumurta temini oluşturmaktadır. Bu amaçla, ortalama ağırlıkları dişi bireyler için  $3.978 \pm 0.664$  kg, erkek bireyler için  $3.543 \pm 0.837$  kg olarak tespit edilen anaçlardan doğal üreme periyodu olan Nisan-Mayıs aylarında,  $18.5-19.0$  °C sıcaklık aralığında, herhangi bir hormon müdahalesi yapılmadan doğal yollar ile yumurtalar elde edilmiştir. Elde edilen yumurtalar,  $18.5 \pm 0.2$  °C'de inkübe edildikten 49 saat sonra çatlamış ve larvalar yumurtadan çıkmıştır. Saka ve diğ.'nin (2006) sinarit üzerine yaptığı çalışmada, larvalar  $18.0 \pm 0.2$  °C'de 56.30 saatte yumurtadan çıkmışlardır. Pavlidis et al. (2000),  $15.0-18.0$  °C'de 55 saatte ve Glamuzina et al. (1989),  $16.6$  °C'de 58-61 saat arasında açılım olduğunu bildirmiştir. Bu bakımından çalışmada elde edilen sonuçlar önceki çalışmalar ile büyük benzerlikler göstermiştir.

Balıklarda erken dönem ontogenik gelişim, inkübasyon sıcaklığından oldukça fazla etkilenir (Blaxter, 1969, 1988; Alderdice, 1972). Saka ve diğ.'nin (2004) yaptığı çalışmada, sinarit yumurtalarının embriyonik gelişimi ve sıcaklık arasında güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Çipura (*Sparus aurata*) için optimum sıcaklık  $19.0 \pm 3$  °C (Polo, Yufera and Pascual, 1991), levrek (*Dicentrarchus labrax*) için ise optimum sıcaklık aralığı 15.0-17.0 °C olarak bildirilmiştir (Conides and Glamuzina, 2001). Senegal dil balığı (*Solea senegalensis*) yumurtası için en başarılı çatlamanın 8.0-12.0 °C arasındaki su sıcaklığında gerçekleştiği bildirilmiştir (Baynes et al., 1993). Son yıllarda yapılan denemeler, sinarit (*Dentex dentex*) yumurtalarının gelişimi için optimum sıcaklığın 16.0-18.0 °C dolaylarında olduğunu, buna rağmen, en düşük çatlama oranının 12.0 °C'de, en yüksek çatlama oranının da 18.0 °C'de olduğunu göstermiştir. Saka ve diğ.'nin (2004) farklı inkübasyon sıcaklıkları ile yaptığı çalışmada, inkübasyon sıcaklığının 8, 10, 20, 22 ve 24 °C olduğu koşullarda, yumurta gelişimi tamamlanamadan yumurtalarda %100 oranında mortalite görülmüştür. Glamuzina et al. (1989), Jug-Dujakovic et al. (1995), Pastor et al. (1995) ve Loir et al. (2001), sinarit yumurtalarının en başarılı gelişimi için benzer sıcaklık değerleri ortaya koymuştur. Abellan et al. (1997) ise yaptığı çalışmada, sinarit yumurtalarının su sıcaklığının 21.0-22.0 °C olduğu koşulda çatladığını bildirmiştir.

Çalışmada, yumurta çapı  $912.8 \pm 3.6$  µm olarak ölçülmüş, yumurta boyutları arasında istatistiki fark tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Öte yandan, yumurtadan henüz çıkan larvalarda vitellüs boyu  $749.7 \pm 3.8$  µm, yağ damlası çapı ise  $199.2 \pm 3.6$  µm olarak ölçülmüştür. Jug-Dujaković et al. (1995) tarafından yapılan ve sinarit yumurtalarının embriyolojik gelişimlerinin incelendiği çalışmada, yumurta çapının 943-964 µm, yağ damlası çapının ise 198-210 µm arasında değiştiği bildirilmiştir. Fırat ve diğ. (2005) tarafından yapılan çalışmada da yumurta çapı 0.938 mm'den 1.089 mm'ye kadar değişim göstermiştir. Ayrıca, Saka ve diğ.'nin (2006) sinarit yumurtalarının embriyolojisi üzerine yaptıkları çalışmada, yumurta ortalama çapı  $1.032 \pm 0.008$  mm, yağ damlası çapı  $0.233 \pm 0.002$  mm olarak tespit edilmiştir. Bu değerler, denemede gözlenen yumurta ve yağ damlası çapı değerleri ile paralellik göstermektedir.



Çalışmada, vitellüs ve yağ damlası emiliminin olduğu prelarval dönem süresince karanlık uygulaması yapılmış, böylece endojen besin rezervlerinin tüketilmesi sağlanmıştır. Fırat ve diğ.'nin (2003) karanlık, 30 ve 450 lüx olmak üzere 3 farklı ışık yoğunluğu uyguladığı çalışmada, sinarit larvalarında en yüksek yaşama oranı karanlık uygulamasının olduğu koşulda gözlenmiştir. Ayrıca total boy gelişiminin en iyi olduğu durum da yine karanlık uygulamasının yapıldığı durumda kaydedilmiştir. 450 lüx ışık yoğunluğu uygulanan larvalarda yaşama oranı çok düşük iken 30 lüx ışık yoğunluğunda yaşam oranının yükseğe yakın olduğu bildirilmiştir. Çalışmada kullanılan ışık şiddeti, bu değer ile paralellik göstermektedir.

Karanlık uygulamasının ardından, 3. günde görülen ağız ve anüs açılımı ile 30 lüx şiddetindeki spot ışık açılmış ve dışarıdan beslemeye başlanmıştır. Alg girişi yapıldığı sürece 24 saat aydınlık uygulaması yapılmıştır. Yeşil su tekniği gereğince tanklara alg girişi, rotifer verilmesinin kesilmesi ile birlikte 20. günde sona ermiştir. Bu dönem süresince alg kullanımının avantajları olarak başta rotiferin doğrudan beslenmesi sayesinde besin madde içeriğinin yüksek oranda kalması, 24 saat aydınlatma ile metabolitlerin ortamdan uzaklaştırılması, pH optimizasyonu ve O<sub>2</sub> üretimi sayılabilir (Cahu et al., 1998). Alg türü olarak 20-40x10<sup>3</sup> hücre/ml yoğunluğunda kullanılan *Nannochloropsis oculata* Sparidae üyelerinin ve diğer birçok türün larval kültür çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. (Cahu et al., 1998; Martinez et al., 1999; Riberio et al., 1999; Lazo et al., 2000). Bu durum, yapılan çalışmada kullanılan alg türünün ve yetiştirme tekniğinin diğer deniz balıkları larva üretim teknikleri ile benzerlik göstermesi açısından önemlidir.

Hava kesesi yapı, büyüklük ve biçim olarak türlere göre farklılık gösterse de kimi türler için solunum organı olarak, bazı türler için de ses çıkarma ya da ses algılama rolünü de üstlenmiştir. Fakat hiç kuşkusuz, tüm türler için hidrostatik görevi en önemli özelliğidir (Steen, 1970). Fizoglist türlerde genellikle, hava kesesinin ilk olarak şişirilmesi ve hidrostatik fonksiyonun kullanılması, ağız açılımı ve eksojen ilk besleme sonrasında gerçekleşmektedir (Doroshev ve diğ., 1981). Çalışmada, larvaların hava kesesini ilk olarak şişirmesi 5. günde izlenmiştir. Suzer ve diğ.'nin (2006) yaptığı çalışmada, sinarit larvalarının 5-7.

günleri arasında hava kesesini şişirdiği tespit edilmiştir. Kıрма mercan (*Pagellus erythrinus*) türü ile yapılan çalışmada, tüm gruplar için larval evrenin 5-7. günleri arasında ve 3.2-3.4 mm boy aralığındaki larvaların hava kesesini şişirdiği tespit edilmiştir (Suzer ve Kamacı, 2004). Mercan, (*Pagrus major*) türü üzerinde yapılan bir çalışmada, ilk hava kesesi şişmesinin 3.5-4.0 mm boy aralığında ve larval evrenin 5-10. günleri arasında meydana geldiği bildirilmiştir (Mihelakakis et al., 2001). Ayrıca, Suzer ve diğ.,'nin (2007b) alternatif türlerden biri olan fangri (*Pagrus pagrus*) türü ile yaptığı çalışmada, ilk hava kesesi şişmesi 5-7. günler arasında gerçekleşmiştir. Benzer şekilde, çipura (*Sparus aurata*) ve sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) larvalarında ilk hava kesesi şişmesinin larval evrenin 5-9. günler arasında ve larvaların 4-5 mm boy uzunluğuna ulaştığında geliştiği belirtilmiştir (Chatain, 1986; Marangos, 1995). Hava kesesi gelişimi açısından bu çalışma ile elde edilen değerler ile önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasında paralellik izlenmiştir.

Denemenin sona erdiği 40. günde larva tanklarından elde edilen büyüme parametrelerine ait ortalama değerlere bakıldığında; total boy  $19.83 \pm 2.6$  mm, ağırlık  $42.12 \pm 4.3$  mg olarak bulunmuştur. Fırat ve diğ.'nin (2005) sinarit balığının erken dönemi üzerine yaptığı çalışmada, 10. günde total boy  $3.958 \pm 0.256$  mm olarak tespit edilmiştir. Suzer ve diğ.'nin (2006) sinarit larva kültüründe kullanılan 3 farklı üretim tekniğini karşılaştırdığı çalışmada, akışkanlı su tekniğinin uygulandığı gruptaki larval gelişim verilerine bakıldığında, denemenin başlangıcında  $2.61 \pm 0.4$  mm olan larva boyu, 7 gün sonra yapılan ilk ölçümde  $3.66 \pm 0.5$  mm olarak tespit edilmiştir. Bunun ardından devam eden ölçümlerde total uzunluk sırası ile 14. gün için  $4.23 \pm 0.8$  mm, 21. gün için  $7.85 \pm 1.4$  mm, 28. gün için  $13.44 \pm 3.5$  mm ve denemenin sona erdiği 35. günde yapılan ölçümde  $16.96 \pm 5.2$  mm olarak bulunmuştur. Aynı gruptaki larvaların ağırlık gelişimleri incelendiğinde ise denemenin başlangıcında  $0.432 \pm 0.01$  mg olarak ölçülen larva ağırlığı, 7 gün sonra yapılan ölçümde  $0.81 \pm 0.16$  mg olarak saptanmıştır. Bunun ardından periyodik olarak yapılan ölçümlerde total ağırlık sırası ile 14. gün için  $2.78 \pm 1.25$  mg, 21. gün için  $15.37 \pm 1.6$  mg, 28. gün için  $20.32 \pm 3.5$  mg ve denemenin sona erdiği 35. günde yapılan ölçümde  $71.34 \pm 7.4$  mg olarak tespit edilmiştir. Öte yandan, Abellán ve diğ.'nin (1997) yaptıkları ön çalışmalarda ve sonrasında ve Abellán'ın (2000) akışkanlı su üretim sisteminde yaptığı

denemelerde, sinarit larvalarının ortalama total boyu 32. günde 16.5 mm, 35. günde ise 17 mm olarak bildirilmiştir. Ayrıca, Rueda ve Martínez (2001), akışkanlı su sisteminde yaptıkları larva üretim çalışmasında, 30. günde larva ağırlığını ortalama 18.4 mg olarak tespit etmiştir. Yaptığımız çalışmadan elde edilen sonuçlar, bu araştırmacıların elde ettiği değerler ile paralellik göstermektedir. Ancak, deneme sonundaki gelişim değerleri incelendiğinde, elde edilen önemsiz farklılıkların denemeler sırasında izlenen su sıcaklığı protokolünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü su sıcaklığı, sucul organizmalar için büyümeyi ve hayati fonksiyonları etkileyen temel faktörler arasında gelmektedir. Bunun yanında, uygulanan besleme protokolleri ve ortam koşullarındaki değişimlerin de etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Deniz balıkları larva üretiminde kullanılan üretim protokolün geçerliliği ve larval üretimin başarısı, üretim sonunda tespit edilen yaşama oranı ile yakın ilişkilidir. Deneme sonunda yapılan ölçümlerde yaşama oranı,  $18.6 \pm 3.7$  olarak saptanmıştır. Fotoperiyodun larval dönemde hava kesesi gelişimi, büyüme ve yaşama oranı üzerine olan etkilerinin incelendiği, Abellán et al. (2000) tarafından yapılan çalışmada, 22. günde yaşama oranının  $2.2$  ile  $7.5$  arasında değiştiği belirtilmiştir. Ayrıca, Riera et al. (1993) yine sinarit larvaları ile yaptığı çalışmasında, 30. günde yaşama oranının  $5$  civarında olduğunu, Bibiloni et al. (1993) ise larval dönemin sonunda  $2$ 'yi geçmediğini bildirmiştir. Bununla birlikte, yaşama yüzdeleri arasında tespit edilen farkın, çalışmalarda kullanılan yumurta ve larva kalitesinin yanı sıra, ortam koşullarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Pankreatik enzimlerin salgılanması *Pankreozimin* adı verilen bir hormon tarafından kontrol edilmektedir. İnce bağırsağın başlangıç kısmındaki mukoza hücrelerinden kan dolaşımına hormonun salgılanması ise duodenumunda bulunan peptidler, proteinler, karbonhidratlar ve diğer birçok maddenin bulunması ile uyarılmaktadır. Pankreatik enzimlerin aktivasyonu, bağırsak mukoza hücrelerinden salgılanan Enterokinaz enzimi tarafından başlatılmaktadır. Bu bileşik bazen enzim aktivatörü olarak kabul edilirse de aslında bir enzimdir (Karlson, 1992; Gözükara, 1997; Kolkovski, 2001; Zambonino Infante and Cahu, 2001). Bu bağlamda, alkalın proteaz enzimi, proteinlerin sindiriminde görev alan

pankreatik bir enzimdir. İnce bağırsağa pankreas kanalı ile dökülen pankreas özsuyu, proteinlere doğrudan etki eden alkalın proteaz (tripsin, kimotripsin ve karboksipeptidaz) adı verilen enzimleri içermektedir. Alkalın proteaz enzim aktivitesinin larval dönem süresince değişmesini etkileyen temel faktörler arasında; larva yaşı, kullanılan üretim tekniği (akışkanlı ya da yeşil su tekniği) ve larvalara uygulanan besleme protokolü yer alır.

Çalışmada, larval dönemde, daha çok alkali ortamlarda (pH 8.0-9.0) sindirim aktivitesine katılan proteaz grubu enzimlere (tripsin, kimotripsin, elastaz, peptidaz) ait spesifik aktivite, 3. günde tespit edilen ağız açılımı ve eksojen besin alımı ile birlikte artış göstermiştir. Benzer sonuç; Suzer ve diğ.'nin sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) üzerinde yaptığı çalışmada (2007a), fangri (*Pagrus pagrus*) üzerinde yaptığı çalışmada (2007b) ve kırma mercan (*Pagellus erythrinus*) üzerinde yaptığı çalışmada (2006a) da bildirilmiştir. Zambonino Infante and Cahu'nun (1994b) yaptığı çalışmada, levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvalarında 5. günde ağız açılımı ile alkalın proteaz aktivitesi gözlenmiştir. Zambonino-Infante and Cahu, (2001, 2007) ve Pérez-Casanova et al., (2006) yaptıkları çalışmalarda, eksojen beslemenin başladığı 3. günde ve bunu izleyen larval süreçte tripsin ve kimotripsin total aktivitesinin kademeli olarak arttığını bildirmiştir. Riberio et al. (1999), Senegal dil balığının (*Solea senegalensis*) larval dönemdeki sindirim enzim aktivitelerini incelemiş ve tripsin aktivitesini ilk kez ağzın açıldığı ve eksojen beslemenin yapıldığı 2. günde tespit etmiştir. Ayrıca, eşkine (*Sciaenops ocellatus*) türünde yapılan sindirim enzim gelişimi ile ilgili çalışmalarda, tripsin enziminin larvaların yumurtadan çıktığı anda tespit edildiği; ancak, aktivitenin ilk besleme ile başladığı vurgulanmıştır (Lazo et al., 2000; Buchet et al., 1997). Çizelge 5.1'de, alternatif türlerde alkalın proteaz aktivitesinin tespit edildiği günler verilmiştir.

Çizelge 5.1 Bazı türler ile yapılan çalışmalarda alkalın proteaz aktivitesinin tespit edildiği günler.

<b>Tür</b>	<b>Alkalın Proteaz Aktivitesinin Tespiti</b>	<b>Araştırmacı</b>
<i>Sinarit</i> ( <i>Dentex dentex</i> )	3 (Ağız Açılımı)	<i>Bu çalışma</i>
Sivriburun karagöz ( <i>Diplodus puntazzo</i> )	3 (Ağız Açılımı)	Suzer et al. (2007a)
Levrek ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	5 (Ağız Açılımı)	Zambonino Infante and Cahu (1994b)
Çipura ( <i>Sparus aurata</i> )	3 (Ağız Açılımı)	Moyano et al. (1996)
Fangri ( <i>Pagrus pagrus</i> )	3 (Ağız Açılımı)	Suzer et al. (2007b)
K. Mercan ( <i>Pagellus erythrinus</i> )	3 (Ağız Açılımı)	Suzer et al. (2006a)
Senegal Dil ( <i>Solea senegalensis</i> )	2 (Ağız Açılımı)	Ribeiro et al. (1999)
Eşkine ( <i>Sciaenops ocellatus</i> )	3 (Ağız Açılımı)	Lazo et al. (2000)

Aynı doğrultudaki veriler levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvalarından da elde edilmiştir. Zambonino Infante and Cahu (1994b), levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvalarının besin değişimlerine karşı enzimatik olarak verdikleri tepkileri incelemiş ve larvalarda ağız açılımından 1 gün önce tripsin enziminin proenzimi olan tripsinojenin varlığını saptamış, ağız açılımı ile birlikte enzimin sentezlendiğini ve spesifik aktivitesinin tespit edildiğini bildirmiştir. Levrek postlarvalarında farklı ışık yoğunluklarının sindirim enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, denemenin ilk 7 günü boyunca ışık

yoğunluğunun tripsin ve kimotripsin aktivitesini etkilediği; ancak, daha sonraki günlerde herhangi bir değişimin olmadığı bildirilmiştir (Cuvier-Peres et al., 2001). Tripsin spesifik aktivitesinin larval dönem süresince değişmesinin nedeni, yalnızca larva yaşına bağlı değildir. Özellikle yem alımı ve kullanılan canlı yem ya da mikropartikül yemin besin madde içerikleri de son derece önemlidir (Beccaria et al., 1991; Cahu and Zambonino Infante, 2001; Kolkovski, 2001; Alvarez-González et al., 2001). Levrek larvalarında yapılan çalışmalarda, kimotripsin aktivitesi tripsin ile birlikte ağız açılımından 1 gün önce proenzim olarak tespit edilmiş; ancak, aktivitenin ağız açılımı ve yem alımı ile birlikte başladığı vurgulanmıştır (Cahu and Zambonino Infante, 1994; Cahu et al., 1998). Kimotripsin aktivitesi, larva yaşı ile doğrudan ilişkili olup alınan yem miktarı ve yemin besin madde içeriği de enzim aktivitesinde etkilidir (Cuvier-Peres et al., 2001; Cahu et al., 1998).

Proteinlerin sindiriminde rol alan enzimlerden biri de mideden salgılanan asit proteaz (pepsin, pepsin-like) enzimidir. Midedeki asiditenin artması ile birlikte pH 2.0'ye yükselmekte ve aktif pepsinin varlığında polipeptidin N terminalinden 42 aminoasitlik bir kısmın koparılması ile proenzim, aktif formu olan pepsin hâline dönüşmektedir. Pepsin, protein molekülünün iç kısımlarına, özellikle tirozin ya da fenilalaninin iştirak ettiği peptid bağlarına etki eder. Bu şekilde proteinlerden proteozlar, peptonlar, çeşitli büyüklükteki peptidler ve kısmen de serbest aminoasitler meydana gelir. (Zambonino Infante and Cahu, 1994a; Gözükara, 1997; Sterchi and Stöcker, 1999).

Çalışmada, asit proteaz spesifik aktivitesi, ilk olarak mide oluşumunun gözlemlendiği 28. günde izlenmiştir. Bununla birlikte, 25. günde yapılan spesifik enzim tayininde çok düşük miktarda enzimatik aktivite tespit edilmiştir. Bu durum, popülasyonu oluşturan bazı bireylerin, mide yapılarını erken fonksiyonel hâle getirmesi ile ilişkilidir. Hızlı gelişim gösteren bireyler, su sıcaklığı ve besin içeriği ile bu gelişimlerini arttırmırlar. Çalışmada, 28. günden önce tespit edilen önemsiz düzeydeki aktivitenin ( $p>0.05$ ), hızlı gelişim gösteren bireylerin örnekleme içinde yer almasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Çünkü larval enzimoloji çalışmalarında, asit proteaz enzim aktivitesinin tespit edilmesi, fonksiyonel mide ve sindirim sistemi oluşumunun net bir göstergesi

olarak kabul edilir. Bu durum, Zambonino Infante and Cahu (2001), Cahu and Zambonino Infante (2001) ve Kolkovski (2001) tarafından da bildirilmiştir. Deniz balık larvalarında mide oluşumu gözlenmeden asit sekresyonu ya da protein sindirimi tespit edilmez (Govoni et al., 1986; Zambonino-Infante et al., 2008). Metamorfoz dönemine bağlı mide oluşumu ile asit proteaz aktivitesindeki artışın tespiti, çipurada 38. gün (Moyano et al, 1996), levrekte 24. gün (Zambonino Infante and Cahu,1994a), kırma mercanda 25. gün (Suzer ve diğ., 2006b), sivriburun karagözde 32. gün (Suzer ve diğ., 2007a) ve fangride 28. gün (Suzer ve diğ., 2007b) olarak bildirilmiştir. Çizelge 5.2’de, alternatif türlerde fonksiyonel mide oluşumunun gözlendiği günler verilmiştir.

Çizelge 5.2 Bazı türler ile yapılan çalışmalarda fonksiyonel mide oluşumunun gözlendiği günler.

<b>Tür</b>	<b>Fonksiyonel Mide Oluşumu</b>	<b>Araştırmacı</b>
<i>Sinarit</i> ( <i>Dentex dentex</i> )	28	<i>Bu çalışma</i>
Sivriburun karagöz ( <i>Diplodus puntazzo</i> )	32	Suzer et al. (2007a)
Levrek ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	24	Zambonino Infante and Cahu (1994a)
Çipura ( <i>Sparus aurata</i> )	38	Moyano et al. (1996)
Fangri ( <i>Pagrus pagrus</i> )	28	Suzer et al. (2007b)
K. Mercan ( <i>Pagellus erythrinus</i> )	25	Suzer et al. (2006b)

Denemede, asit proteaz aktivitesinin 32. günde azalmaya başladığı, 35. günden itibaren yeniden artış eğilimine girdiği gözlenmiştir. Mide oluşumundan sonra mikropartikül yem oranının arttırılmasına bağlı olarak zenginleştirilmiş *Artemia* matanauplii girişi de azaltılmıştır. Özellikle yüksek oranda HUFA içeren besin madde içeriği artan *Artemia* metanauplii'nin larva tarafından daha az alınmasının asit proteaz aktivitesini azalttığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, 35. günden sonraki yeniden artış eğiliminin ise larvalara verilen mikropartikül yem oranının arttırılmasına bağlı aktivite artışından kaynaklandığı sanılmaktadır. Benzer sonuçlar, Zambonino Infante and Cahu (1994a) ve Cahu and Zambonino Infante (1994) tarafından da bildirilmiştir. Özellikle mikropartikül yemlerin pepsin ve bazı pankreatik sindirim enzimlerine olan etkilerinin incelendiği çalışmada, levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvalarında pepsin enzim aktivitesinin 24. günde tespit edildiği ve fonksiyonel midenin bu günden itibaren oluştuğu bildirilmiştir (Zambonino Infante and Cahu, 1994b). Ayrıca, mikropartikül yemin kullanıldığı gruplarda asit proteaz aktivitesinin daha yüksek olduğu ve protein oranının yüksek olduğu yemler ile beslenen larvalarda asit proteaz aktivitesinin daha yüksek olduğu vurgulanmıştır. Mikropartikül yem kullanımının tripsin ve kimotripsinin yanı sıra özellikle asit proteaz spesifik aktivitesini arttırdığı diğer araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (Kolkovski, 2001; Zambonino Infante and Cahu, 2001; Cahu and Zambonino Infante, 2001).



Birçok fizyolojik değişimin yaşandığı larval dönem süresince meydana gelen olayların ayrıntılı biçimde tanımlanması; ancak, biyoteknolojinin gelişimi ve akuakültür alanına entegrasyonu ile mümkün olmuştur. Bu gelişim süreci, larva yaşama oranının ve yavru balık kalitesinin artırılmasında bilinmesi gereken en önemli süreçlerden biridir. Özellikle alternatif tür olarak kültüre alınacak türlerin larval dönemdeki besinsel gereksinimlerinin bilinmesi ve yaşama yüzdesinin artırılmasına yönelik tüm uygulamaların temelini, bu dönemdeki sindirim enzimlerinin aktivitesi oluşturmaktadır.

Deniz balıkları larva üretiminde sindirim enzimleri aktivitesinin tespiti ve günlere bağlı değişimlerinin bilinmesi, larva kalitesinin yükselmesi ve yaşama oranının artırılmasında önemli bir adımı oluşturmaktadır. Özellikle, larval gelişimi hızlandırmak amacı ile mikropartikül yem girişinin yapılacağı günlerin tespiti, bu aktivitelerin değişimi ile çok yakından ilgilidir. Bununla birlikte, kültürü yapılan türlerin beslenme alışkanlıklarına göre besleme stratejileri, sindirim enzim aktivitelerinin gelişimi sonucunda belirlenmektedir.

Larva üretim çalışmalarında canlı yem üretim prosesinin kompleks bir yapı sergilemesi, spesifik koşullara gereksinim duyması ve üretim maliyetinin yüksek olması üreticileri mikropartikül yem kullanımına yönlendirmektedir. Bununla birlikte, mikropartikül yemlerin besin madde içeriğinin larvanın besin gereksinimlerine göre düzenlenebilmesi ise önemli bir avantaj oluşturmaktadır.

Başarılı bir larval üretimin temelini, biyotik (besleme, genetik, fizyoloji) ve abiyotik (sıcaklık, ışık, tuzluluk) faktörlerin optimizasyonu belirlemektedir. Özellikle, biyotik faktörlerden besleme, larval gelişim ve yaşama oranını doğrudan etkilemektedir. Larva üretim çalışmalarında kullanılan yemin boyutları ve özellikleri ile birlikte larva gelişimine bağlı olarak larvanın besin madde gereksinimi de önemlidir. Bu bağlamda, sindirim enzimleri aktivitesinin değişimleri belirleyici bir rol oynamaktadır. Larval dönemde meydana gelen fizyolojik olayların ve söz konusu bu enzimlerin aktivitelerindeki günlere bağlı değişimlerin bilinmesi ile oluşturulacak besleme stratejileri, larval gelişimi hızlandırıp yaşam oranını da arttıracaktır.

Akuakültür ortamında sinaritin sahip olduğu yüksek ekonomik değer, adaptasyon, üretim ve yüksek büyüme oranı diğer deniz balığı türlerinden çipura ve levrek ile karşılaştırıldığında önemli avantajlar sağlar. Sinaritin, 50-62 gün olan larval evre ve sövraj safhasından ön büyütme safhasına geçişi, benzer yetiştirme koşullarında çipura ve levrekten 40-60 gün daha kısadır (Koumoundouros et al., 2002).

Sonuç olarak, son yıllarda Akdeniz ülkelerinde alternatif türler arasında sıklıkla anılmaya başlanan sinarit türünün, larval dönemdeki asit ve alkalın proteaz enzim aktivitesi değişimlerinin incelendiği bu çalışmada, söz konusu enzimlerin aktivite gelişimi, bugüne kadar çalışılmış Sparidae üyelerinde gözlenen tabloya benzer bir profil sergilemiştir. Ayrıca, fonksiyonel mide oluşumunun en büyük göstergesi olarak kabul edilen asit proteaz enzimi sentezi 28. günde başlamış ve bu sonuç, türün sövraj uygulamalarının bugünden itibaren rahatlıkla başlayabileceği düşüncesini oluşturmuştur. Bu durum, yapılan yetiştiricilik çalışmalarından elde edilen değerlerin, biyoteknoloji kullanılarak daha bilimsel ve daha geçerli üretim protokolü ve metotlarının tanımlanıp uygulanması için oldukça önemlidir. Yapılacak yeni çalışmalar ile bu türe ait diğer sindirim enzimlerinin ontogenik gelişimlerinin tespiti ve histolojik bulgular ile bu verilerin desteklenmesi yerinde olacaktır.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

**Abellan, E., Garcia-Alcazar, A., Arizcun, M., Delgado, J. and Martin, P.,**

1997, Experiencias preliminares sobre reproduccion y cultivo de denton (*Dentex dentex*, L.), In: de Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A., Zamora, S. (Eds.), *Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura, Cartagena, Ministerio de Agricultura*, Pesca Alimentacion, Madrid, Spain, 477-482 pp.

**Abellan, E., Garcia-Alcazar, A., Arizcun, M., Nortés, M.D. and Garcia-**

**Alcazar, S.,** 2000, Effect of the photoperiod on growth, survival and inflation of the swimbladder in dentex larvae (*Dentex dentex*, L.), *Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Mediterraneennes*, 47: 177-180 pp.

**Abellán, E.,** 2000. Culture of common dentex (*Dentex dentex* L.) Present

knowledge, problems and perspectives. *Cah. Options. Méditerr.*, 47: 157-168 pp.

**Alarcon, F.J., Díaz, M., Moyano, F.J. and Abellán, E.,** 1998, Characterization

and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) and common dentex (*Dentex dentex*, L.), *Fish Physiol. Biochem.*, 19: 257-267 pp.

**Alderdice, D.F.,** 1972, Factor combinations, Responses of marine poikilotherms

to environmental factors acting in concert, *Marine Ecology*, (ed. by O. Kinne), Wiley-Interscience, New York, USA, 3: 1659-1722 pp.

**Alvarez-González, C.A., Nolasco-Soria, H., Civera-Cerecedo, R., Dumas, S.,**

**Ortiz-Galindo, J.L. and Rosales-Velázquez, M.O.,** 2001, Development of some digestive enzymes in spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae, Larvi'01-Fish and Shellfish Larviculture Symposium, C.J. Hendry, G. Van Stappen, M. Wille and P. Sorgeloos (Eds), *European Aquaculture Society, Special Publication*, Oostende, Belgium, 30: 44-47 pp.

**Anson, M.L.,** 1938, The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with

hemoglobin, *The Journal of General Physiology*, Downloaded from jgp.rupress. Org.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bauchot, M.L. and Hureau, J.C.**, 1986, Sparidae. In Whitehead, Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nisen, J. and Tortonese, E. (eds.), *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO, Great Britain, 2: 883-907 pp.
- Baynes, S.M., Howell, B.R. and Beard, T.W.**, 1993, A review of egg production by captive sole *Solea solea* (L.), *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 171-180 pp.
- Beccaria, C., Diaz, J.P., Connes, R. and Chatain, B.**, 1991, Organogenesis of exocrine pancreas in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reared extensively and intensively, *Aquaculture*, 99: 339-354 pp.
- Bermejo-Nogales, A., Saera-Vila, A., Calduch-Giner, J.A., Navarro, J.C., Sitja-Bobadilla, A. and Perez-Sanchez, J.**, 2007, Differential metabolic and gene expression profile of juvenile common dentex (*Dentex dentex*, L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) in relation to redox homeostasis, *Aquaculture*, 267: 213-224 pp.
- Bibiloni, G., Cladera, A., Gomila, M.A., Massuti, S., Zaratiegui, I.**, 1993, A small scale experiment on rearing of *Dentex dentex*, *EAS Special Publication*, 19: 317 pp.
- Blaxter, J.H.S.**, 1969, Development: eggs and larvae, *Fish Physiology*, (ed. by W.S. Hoar & D.J. Randall), Academic Press, New York, USA, 3: 177-252 pp.
- Blaxter, J.H.S.**, 1988, Patterns and variety in development. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, Academic Press, New York, 1: 1-58 pp.
- Bradford, M.M.**, 1976, A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72: 248-254 pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Buchet, V., Zambonino Infante, J.L., and Cahu, C.L.,** 1997, Variation in activities of some digestive enzymes during larval development of *Sciaenops ocellatus*. In: Creswell, L., Harache, Y. (Eds.), *Island Aquaculture and Tropical Aquaculture, Communications and Abstracts Martinique, European Aquaculture Society International Conference, Les Trois Ilets, Martinique, Oostende*, 55-56 pp.
- Cahu, C. and Zambonino Infante, J.L.,** 1994, Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: Effect on digestive enzymes, *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A: 213-222 pp.
- Cahu, C.L., Zambonino Infante, J.L., Peres, A., Quazuguel, P., Le Gall, M.M.,** 1998, Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes, *Aquaculture*, 161: 479-489 pp.
- Cahu, C. and Zambonino Infante, J. L.,** 2001, Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae, *Aquaculture*, 200: 161-180 pp.
- Chatain, B.,** 1986, La Vessie Natatoire Chez *Dicentrarchus labrax* et *Sparus auratus*. 1. Aspects Morphologiques du Development sur la Croissance de la Larvae, *Aquaculture*, 65: 175-181 pp.
- Conides, A. and Glamuzina, B.,** 2001, Study on the effects of rearing density, temperature and salinity on hatching performance of the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), *Aquaculture International*, 9: 217-224 pp.
- Cuvier-Péres, A., Jourdan, S., Fontaine, P. and Kestemont, P.,** 2001, Effects of light intensity on animal husbandry and digestive enzyme activities in sea bass *Dicentrarchus labrax* post-larvae, *Aquaculture*, 202: 317-328 pp.
- Dinckaya, E.,** 1997b, Enzimolojiye Genel Bakış, Enzimoloji Lisansüstü Yaz Okulu, (Editör: Azmi Telefoncu), 1-15 s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Doroshev, S.I., Cornacchia, J.W. and Hogan, K.,** 1981, Initial swim bladder inflation in the larvae of physoclistous fishes and its importance of larval culture, *Rapp. P. Reun-Cons. Int Explor. Mer.*, 178: 495-500 pp.
- Espinosa, F.J., Tomas, A., Perez, L.M., Balasch, S. and Jover, M.,** 2002, Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid, *Aquaculture*, 62070: 1-12 pp.
- FAO, (Food and Agriculture Organisation),** 2008, The statistics of world fisheries and aquaculture, Rome.
- Firat, K., Saka, Ş. and Çoban, D.,** 2003, The effect of light intensity on early life development of the common dentex (*Dentex dentex* L., 1758) larvae, *Aquac. Res.*, 34: 727-732 pp.
- Firat, K., Saka, Ş. and Çoban, D.,** 2005, Early life history of cultured common dentex (*Dentex dentex* L., 1758), *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 735-741.pp
- Glamuzina, B., Jug-Dujakovic, J. and Katavic, I.,** 1989, Preliminary studies on reproduction and larval rearing of common dentex, (*Dentex dentex*), *Aquaculture*, 77: 75-84 pp.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W. and Watanabe, Y.,** 1986, The physiology of digestion in fish larvae, *Environ. Biol. Fish.*, 16: 59-77 pp.
- Gözükara, E. M.,** 1997, Biyokimya 2, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Jug-Dujakovic, J., Dulcic, J. and Katavic, I.,** 1995, Embryonic and yolk-sac larval development of the sparid Dentex (*Dentex dentex*, L.), *Fish Res.*, 24: 91-97 pp.
- Kaiser, M. and Sread, S.M.,** 2002, Uncertainties and values in European aquaculture: Communication, management and policy issues in times of “changing public perceptions”, *Aquaculture International*, 10: 469-490 pp.
- Karlson, P.,** 1992, Biyokimya, Arkadaş Tıp Kitapları Seri No.:7, (Çev. Prof. Dr. Azmi Telefoncu), İstanbul.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kolkovski, S.**, 2001, Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets, *Aquaculture*, 200: 181-201 pp.
- Koumoundouros, G., Divanach, P. and Kentouri, M.**, 1999a, Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes, Sparidae) in rearing conditions. *Mar. Biol.*, 135: 561-572 pp.
- Koumoundouros, G., Divanach, P. and Kentouri, M.**, 1999b, Osteological development of the vertebral column and of the caudal complex in *Dentex dentex*, *J. Fish Biol.*, 54: 424-436 pp.
- Koumoundouros, G., Maingot, E., Divanach, P. and Kentouri, M.**, 2002, Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Ontogeny and effects on mortality, *Aquaculture*, 209: 49-58 pp.
- Koumoundouros, G., Carrillo, J., Divanach, P. and Kentouri, M.**, 2004, The rearing of common dentex (*Dentex dentex*, L.): During the hatchery and on-growing phases, *Aquaculture*, 240: 165-173 pp.
- Lazo, J. P., Holt, G. J. and Arnold, C. R.**, 2000, Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*), *Aquaculture Nutrition*, 6: 183-192 pp.
- Loir, M., Le Gac, F., Somarakis, S. and Pavlidis, M.**, 2001, Sexuality and gonadal cycle of common dentex (*Dentex dentex*) in intensive culture, *Aquaculture*, 194: 363-381 pp.
- Marangos, C.**, 1995, Larviculture of the sheephead bream, *Puntazzo puntazzo* Gmelin 1789 Pisces. Sparidae. A Workshop on Diversification in Aquaculture, *Cyprus. Cah. Options Mediterr.*, 16: 41-46 pp.
- Martinez, I., Moyano, F.J., Fernandez-Diaz, C. and Yufera, M.**, 1999, Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*), *Fish Physiology and Biochemistry*, 21: 317-323 pp.
- Mihelakakis, A., Yoshimatsu, T. and Tsolkas, C.**, 2001, Spawning in captivity and early life history of cultured red porgy, *Pagrus pagrus*, *Aquaculture*, 199: 333-352 pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Moyano F.J., Diaz M., Alarcon F.J. and Sarasquete, M.C.**, 1996, Characterisation of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*), *Fish Physiol. Biochem.*, 15: 121-130 pp.
- Pastor, E., Riera, F., Pou, S., Grau, A.M. and Grau, A.**, 1995, Summary of investigations on reproduction and larval rearing of common dentex (*Dentex dentex*, L.), *ICES Mar. Sci. Symp.*, 201: 148-152 pp.
- Pavlidis, M., Greenwood, L., Mourot, B., Kokkari, C., Le Menn, F., Divanach, P. and Scott, A.P.**, 2000, Seasonal variations and maturity stages in relation to differences in serum levels of gonadal steroids, vitellogenin, and thyroid hormones in the Common dentex (*Dentex dentex*), *General and Comparative Endocrinology*, 118: 14-25 pp.
- Pérez-Casanova, J.C., Murray, H.M., Gallant, J.W., Ross, N.W., Douglas, S.E. and Johnson, S.C.**, 2006, Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*), *Aquaculture*, 251, 377-401 pp.
- Polo, A., Yufera, M. and Pascual, E.**, 1991, Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L., *European Aquaculture Society Special Publication*, Bredene, Belgium, 10: 207-208 pp.
- Ramos-Esplá, A.A. and Bayle-Sempere, J.T.**, 1991, Estatuto del *Dentex dentex* (Linnaeus, 1758) en el Mediterráneo. In Boudouresque, C.F., Avon, M. and Gravez, V. (eds.) *Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée*. GIS Posidonie Publ., Fr., 238-244 pp.
- Ribeiro, L., Sarasquete, C. and Dinis, M.T.**, 1999, Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae, *Aquaculture*, 171: 293-308 pp.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Riera, F., Pastor, E., Grau, A.M., Pou, S., Grau, A. and Massuti, E.,** 1993, Experiencias en el cultivo del denton, *Dentex dentex* (L.), In: Cervino, A., Laudin, A., de Coa, A., Guerra, A., Torre, M. (Eds.), *Actas IV Congreso Nacional de Acuicultura*, Villanova de Arousa, Galicia, Spain, Centro de Investigaciones Marinas, Pontevedra, Spain, 143-148 pp.
- Rueda, F.M. and Martinez, F.J.,** 2001, A review on the biology and potential aquaculture of *Dentex dentex*, *Rev. Fish Biol. Fish.*, 11: 57-70 pp.
- Saka, Ş., Firat, K. and Çoban, D.,** 2004, Development of the common dentex (*Dentex dentex*) eggs in relation to temperature, *Aquaculture Research*, 35: 224-231 pp.
- Saka, Ş., Firat, K. and Çoban, D.,** 2006, Embryonic development of Common dentex (*Dentex dentex*, L.) eggs, *Turk J Vet Anim Sci.*, 30, TÜBİTAK.
- Santamaría Rojas, C.A., Marín de Mateo, M., Traveset, R., Sala, R., Grau, A., Pastor, E., Sarasquete, M.C. and Crespo, S.,** 2004, Organogenesis in larval common *Dentex dentex* L., (Sparidae): histological and histochemical aspects, *Aquaculture*, 237: 207-228 pp.
- Shields, R.J.,** 2001, Larviculture of marine finfish in Europe, *Aquaculture*, 200: 55-88 pp.
- SIPAM,** 2004, Information System for the Promotion of Aquaculture in the Mediterranean, <http://www.faosipam.org>.
- Skalli, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E., Arizcun, M. and Cardenete, G.,** 2004, Effects of the dietary protein/lipid ratio on growth and nutrient utilization in common dentex (*Dentex dentex*, L.) at different growth stages, *Aquaculture*, 235: 1-11 pp.
- Steen, J. B.,** 1970, The swimbladder as a hydrostatic organ, *Fish Physiology*, 4: 413-433 pp.
- Sterchi, E. and Stöcker, W.,** 1999, Proteolytic enzymes tools and targets, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Suzer, C. and Kamacı, H.O.**, 2004, Effects of light intensity on larval development in common pandora (*Pagellus erythrinus*, L.1758) larvae, *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21: 319-323 pp.
- Suzer, C., Çoban, D., Kamacı, O., Saka, Ş. and Fırat, K.**, 2006, Sinagrit (*Dentex dentex*, L.) Larva Yetiştiriciliğinde Kullanılan Üretim Teknikleri, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi/E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1-2: 31-35 pp.
- Suzer, C., Fırat, K. and Saka, Ş.**, 2006a, Effects of illumination on early life development and digestive enzyme activities in common pandora (*Pagellus erythrinus*, L.) larvae, 260: 86-93 pp.
- Suzer, C., Fırat, K. and Saka, Ş.**, 2006b, Ontogenic development of the digestive enzymes in common pandora (*Pagellus erythrinus*, L.) larvae, *Aquaculture Research*, 37: 1565-1571 pp.
- Suzer, C., Aktülün, S., Çoban, D., Kamacı, H. O., Saka, Ş., Fırat, K. and Albaz, A.**, 2007a, Digestive enzyme activities in larvae of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*), *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 148: 470-477 pp.
- Suzer, C., Kamacı, H. O., Çoban, D., Saka, Ş., Fırat, K., Özkara, B., and Özkara, A.**, 2007b, Digestive enzyme activity of the red porgy (*Pagrus pagrus*, L.) during larval development under culture conditions, *Aquaculture Research*, 38: 1778-1785 pp.
- Trevor Palmer, B. A.**, 1985, Understanding enzymes, Second edition, Ellis Horwood limited.
- TÜİK**, 2008, Türkiye İstatistik Kurumu, 2008 Su Ürünleri İstatistikleri.
- Uslan, H. A.**, 1997. Enzim Kinetiği. Enzimoloji Lisansüstü Yaz Okulu (Editör: Azmi Telefoncu), 45-81 s.
- Zambonino Infante J.L. and Cahu, C.L.**, 1994a, Influence of diet on pepsin and some pancreatic enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae, *Comp. Biochem. Physiol.*, 109: 209-212 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Zambonino Infante, J.L., and Cahu, C.L.,** 1994b. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae, *Fish Physiol. Biochem.*, 12: 399-408 pp.
- Zambonino Infante, J. L. and Cahu, C. L.,** 2001, Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae, *Comp. Biochem. Physiol.*, 130C: 477-487 pp.
- Zambonino-Infante, J.L. and Cahu, C.L.,** 2007, Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: applications to diet formulation, *Aquaculture*, 268: 98-105 pp.
- Zambonino-Infante, J., Gisbert, E., Sarasquete, C., Navarro, I., Gutiérrez, J. and Cahu, C.L.,** 2008, Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae, In: Cyrino, J.E.O., Bureau, D., Kapoor, B.G. (Eds.), *Feeding and Digestive Functions of Fish*, Science Publishers, Inc, Enfield, USA, 277-344 pp.

## ÖZGEÇMİŞ

T.C. vatandaşı olan Gözde KÜÇÜK, 23 Nisan 1984 tarihinde İzmir’de doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini İzmir’de tamamladıktan sonra 2003 yılında, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandı. 2007’de lisans eğitimini başarıyla tamamlayan Küçük, Şubat 2008’de, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü’nde yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimi esnasında, “Sparid larvalarının besinsel sorunlarına yeni bir yaklaşım: Enzimatik gelişimlerinin sinagrit (*Dentex dentex*) larva kültüründe değerlendirilmesi” başlıklı, TÜBİTAK destekli çalışmada yer aldı. Çeşitli kongre, sempozyum ve forumlara katıldı, diksiyon eğitimi aldı. Sinema, şiir ve her türlü müzikten zevk alan Küçük, bekârdır.