

**T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI**

**TATLISU İSTAKOZU (*Astacus leptodactylus*)'nun ONTOGENİK
GELİŞİMİNE BAĞLI OLARAK YEM FORMÜLASYONU**

Kamile Gonca EROL

**Danışman
Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ**

**II. Danışman
Doç. Dr. Mehmet NAZ**

ISPARTA - 2020



© 2020 [Kamile Gonca EROL]

TEZ ONAYI

TATLISU İSTAKOZU (*Astacus leptodactylus*)'nun ONTOGENİK GELİŞİMİNE BAĞLI OLARAK YEM FORMÜLASYONU

Kamile Gonca EROL tarafından hazırlanan bu tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Sevgi SAVAŞ
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Erkan GÜMÜŞ
Akdeniz Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Ahmet Şeref KORKMAZ
Ankara Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Orhan DEMİR
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

İmza



Yukarıdaki Jüri kararı Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..../.... tarih ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yusuf UÇAR
Enstitü Müdürü

ETİK BEYANI

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

14/02/2020

Kamile Gonca EROL



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Tatlısu İstakozu (Kerevit)	5
2.2. Dünya ve Türkiye'deki Yayılış Alanları.....	5
2.3. Morfolojik ve Anatomik Özellikleri	7
2.3.1. Dış görünüşü ve gövdenin bölümleri	7
2.3.2. Vücut boşluğu	8
2.3.3. Sindirim sistemi	8
2.3.4. Solunum sistemi	9
2.3.5. Dolaşım sistemi.....	9
2.3.6. Boşaltım sistemi.....	10
2.3.7. Kas sistemi	10
2.3.8. Sinir sistemi ve duyu organları	10
2.3.9. Üreme sistemi.....	11
2.4. Ekolojisi ve Biyolojisi.....	11
2.4.1. Suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri	12
2.4.1.1. Su sıcaklığı.....	12
2.4.1.2. Oksijen	13
2.4.1.3. Işık yoğunluğu.....	13
2.4.1.4. Tuzluluk	14
2.4.1.5. Kalsiyum	15
2.4.1.6. pH.....	15
2.4.1.7. Organik ve yabancı madde.....	16
2.4.2. Habitat	17
2.4.3. Besin ve beslenme.....	17
2.4.4. Rekabet.....	21
2.4.5. Kanibalizm ve predatörlük	21
2.4.6. Üreme.....	23
2.4.6.1. Çiftleşme	23
2.4.6.2. Yumurtlama ve döllenme	24
2.4.6.3. İnkübasyon	24
2.4.6.4. Fekondite.....	25
2.4.7. Büyüme ve kabuk değiştirme.....	26
2.5. Kerevitlerde Sindirim Sistemi Fizyolojisi.....	30
2.5.1. Yemek borusu (özofagus), mide ve ön bağırsak.....	31
2.5.2. Orta bağırsak, orta bağırsak kesesi ve son bağırsak.....	32
2.6. Kabuklu Su Ürünlerinde Sindirim Enzimleri Üzerine Yapılan Çalışmalar	32
2.6.1. Sindirim enzimleri.....	32
2.6.2. Enzimatik aktiviteler — formüle yemlere yansımalar ve uygulamalar	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM	55

3.1. Materyal	55
3.1.1. Araştırma yeri ve kullanılan su	55
3.1.2. Araştırma materyali.....	56
3.1.3. Üretim ekipmanları ve barınaklar	57
3.1.4. Yem materyalleri.....	57
3.1.5. Diğer araç ve gereçler	57
3.2. Yöntem.....	58
3.2.1. Yumurtalı kerevitlerin temini ve yavruların elde edilmesi	58
3.2.2. Örnekleme	60
3.2.3. Analizler için örneklerin hazırlanması	60
3.2.4. Protein analizi.....	61
3.2.5. Enzim analizleri	61
3.2.5.1. Proteaz.....	61
3.2.5.2. Asit proteaz	61
3.2.5.3. Tripsin	61
3.2.5.4. Alkalın fosfataz	62
3.2.6. Yavruların proteaz aktivitesi üzerine yem hammaddelerinin inhibisyon etkilerinin değerlendirilmesi	62
3.2.7. Yem formülasyonunun oluşturulması	63
3.2.8. Mikroyem üretimi	64
3.2.9. Üretilen mikroyemin <i>in vitro</i> tekniklerle test edilmesi	64
3.2.9.1. Mikroyemin proteaz inhibisyon oranlarının belirlenmesi.....	64
3.2.9.2. pH-Stat sistem kullanılarak mikroyemin hidroliz derecelerinin belirlenmesi.....	65
3.2.10. İstatistiksel analizler.....	65
4. BULGULAR.....	66
4.1. Yumurtalı Kerevitlerden Yavruların Elde Edilmesi	66
4.2. Yumurta Örnekleme.....	68
4.3. Yavru Örnekleme	69
4.4. <i>A. leptodactylus</i> 'un Embriyonik Gelişme Evrelerindeki Enzim Aktiviteleri.....	74
4.4.1. Proteaz.....	75
4.4.2. Tripsin	76
4.4.3. Alkalın fosfataz	76
4.5. <i>A. leptodactylus</i> Yavrularının Farklı Gelişme Dönemlerindeki Enzim Aktiviteleri	77
4.5.1. Proteaz.....	77
4.5.2. Asit proteaz	78
4.5.3. Tripsin	81
4.5.4. Alkalın fosfataz	82
4.6. Kerevit Yavrularının Proteaz Aktivitesi Üzerine Yem Hammaddelerinin İnhibisyon Oranlarının Değerlendirilmesi	83
4.7. Yem Formülasyonunun Oluşturulması ve Mikroyem Üretimi	89
4.8. Üretilen Mikroyemin (kerevit yemi) <i>In Vitro</i> Tekniklerle Test Edilmesi.....	90
4.8.1. Mikroyemlerin kerevit yavrularının proteaz aktiviteleri üzerindeki inhibisyon etkileri.....	91
4.8.2. pH-Stat sistem kullanarak mikroyemlerin hidroliz derecelerinin belirlenmesi	94
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	98
5.1. Yumurtalı Kerevitlerden Yavruların Elde Edilmesi	99
5.2. <i>A. leptodactylus</i> 'un Embriyonik Gelişme Evrelerindeki Enzim Aktiviteleri....	101

5.3. <i>A. leptodactylus</i> 'un Yavru Gelişme Dönemlerindeki Enzim Aktiviteleri	104
5.4. Yem Formülasyonu	111
5.5. Üretilen Mikroyemlerin <i>In Vitro</i> Tekniklerle Test Edilmesi	116
KAYNAKLAR	123
ÖZGEÇMİŞ	137



ÖZET

Doktora Tezi

TATLISU İSTAKOZU (*Astacus leptodactylus*)'nun ONTOGENİK GELİŞİMİNE BAĞLI OLARAK YEM FORMÜLASYONU

Kamile Gonca EROL

**Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ

II. Danışman: Doç. Dr. Mehmet NAZ

Bu çalışmada, tatlısu istakozu *Astacus leptodactylus*'un farklı gelişme dönemlerindeki sindirim enzimi aktivitelerinin belirlenmesi, buna bağlı olarak besin taleplerine uygun yem formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır.

A. leptodactylus'un embriyonik gelişmesi sırasında proteaz, tripsin ve alkalın fosfataz enzim aktiviteleri incelenmiş, enzim aktivitelerinin embriyonun gelişmesine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ortaya konulmuştur. Proteaz aktivitesinde evre VIII ve XIV'te iki tepe değeri gözlenmiştir. Tripsin aktivitesi embriyonik gelişmenin ortalarına kadar genel olarak yüksek seviyelerde seyretmiş ve evre XII ve XIV'te tepe değerlere ulaşmıştır. Alkalın fosfataz aktivitesi embriyonik gelişmenin sonlarına kadar düşük seviyelerde seyretmiş evre XIII ve XIV'te yüksek seviyelere ulaşmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki sindirim enzimi aktivite paternlerinin organogenez ve fizyolojik fonksiyonlarla ilişkili olduğunu göstermiştir.

A. leptodactylus yavrularının farklı gelişme dönemlerindeki (I-VI. dönem) proteaz, asit proteaz, tripsin ve alkalın fosfataz aktiviteleri de incelenmiş; bunların tümünün yavruların dışardan beslenmeye başlamadan önceki dönemde (I. dönem) mevcut olduğu tespit edilmiştir. Enzim aktiviteleri gelişme dönemlerine bağlı olarak değişmiş, tüm enzim aktivitelerindeki en fazla artış IV. gelişme döneminde gözlenmiştir. Proteaz aktivitesi, kerevit yavrularının dışardan beslenmenin başladığı dönemden sonra gelişmeye bağlı olarak kayda değer miktarda artış göstererek V. dönemde maksimum seviyeye ulaşmıştır. Asit proteaz değerleri, çalışmada seçilen pH seviyelerinde önemli farklılıklar göstermiş ($P < 0.0001$) ve tüm dönemlerde en yüksek asit proteaz aktivitesi pH 3'te tespit edilmiştir. Tripsin ve alkalın fosfataz enzim aktivitelerinde en fazla artış IV. dönemde gözlenmiştir.

Ayrıca, farklı yem hammaddelerin yavruların proteaz aktivitesi üzerindeki etkileri de değerlendirilmiş olup, yem formülasyonunda kullanılabilecek en uygun hayvansal (balık hidrolizati, ithal balık unu, gammarus, kalamar unu, krill unu) ve bitkisel (mısır glütenu, buğday glütenu, buğday unu) hammaddeler belirlenmiştir. Belirlenen hammaddelerle ideal bir yem formülasyonu oluşturularak mikroyem üretimi sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tatlısu istakozu, *Astacus leptodactylus*, Ontogenik gelişme, Sindirim enzimleri, Enzim inhibisyonu, Yem formülasyonu

2020, 141 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

FEED FORMULATION DEPENDING ON THE ONTOGENIC DEVELOPMENT OF CRAYFISH (*Astacus leptodactylus*)

Kamile Gonca EROL

**Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Aquaculture**

Supervisor: Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet NAZ

The objective of this study is to determine the digestive enzyme activities in different developmental stages of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus*, to come up with an appropriate feed formulation for its nutritional requirements and hence.

During the embryonic development of *A. leptodactylus*, protease, trypsin and alkaline phosphatase enzyme activities were investigated and it was found that the enzyme activities showed changes depending on the development of the embryo. Two peaks were observed in protease activity in stage VIII and XIV. Trypsin activity was generally high until the middle of embryonic development and reached its peak in stages XII and XIV. Alkaline phosphatase activity remained at low levels until the end of embryonic development and reached high levels in stage XIII and XIV. These results showed that the digestive enzyme activity patterns of *A. leptodactylus* during embryonic development stages were related to organogenesis and physiological functions.

The protease, acid protease, trypsin and alkaline phosphatase activities in the different development stages (stage I-VI) of *A. leptodactylus* juveniles were also investigated and all enzymes were found to be present before exogenous feeding (stage I) started. Enzyme activities changed depending on the developmental stages of the juveniles and the highest increase in all enzyme activities was observed during development stage IV. Protease activity increased significantly and reached its maximum in stage V after juveniles started their exogenous feeding period. Acid protease values showed significant differences in the pH levels selected in the study ($P < 0.0001$) and the highest acid protease activity was determined at pH 3 in all stages. The maximum increase in trypsin and alkaline phosphatase enzyme activities were observed in stage IV.

In addition, the effects of different feed raw materials on protease activity were evaluated and the most suitable animal (fish hydrolyzate, imported fish meal, gammarus, squid meal, krill meal) and plant (corn gluten, wheat gluten, wheat meal) raw materials which could be used in the feed formulation were determined. An ideal feed formulation was formed with the determined feed raw materials and microdiet production was provided.

Key Words: Freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*, Ontogenic development, Digestive enzymes, Enzyme inhibition, Feed formulation

2020, 141 pages

TEŞEKKÜR

Tezimin yürütülmesinde desteğini ve emeğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ'e, sayın II. Danışman hocam Doç. Dr. Mehmet NAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin gerçekleşmesinde 117O001 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tezimin kabulünden sonuçlanmasına kadar her konuda desteklerini esirgemeyen Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesine teşekkür ederim.

Tez kapsamındaki analizlerimin gerçekleştirilmesinde laboratuvar desteği sağlayan İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesine teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında katkı sağlayan Tez İzleme Komitesindeki değerli hocalarım Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ, Prof. Dr. Sevgi SAVAŞ ve Prof. Dr. Erkan GÜMÜŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmaların yürütülmesinde kuluçkahane, laboratuvar vb. desteği sunan Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne ve katkı sağlayan tüm personele teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın da içinde yer aldığı TÜBİTAK proje ekibine (Prof. Dr. Murtaza ÖLMEZ, Su Ürün. Yük. Müh. Remziye ÖZKÖK, Doç. Dr. Mehmet NAZ, Doç. Dr. Meral APAYDIN YAĞCI, Dr. Mustafa CEYLAN, Su Ürün. Yük. Müh. Şakir ÇINAR, Su Ürün. Yük. Müh. Oğuz Yaşar UZUNMEHMETOĞLU) teşekkür ederim.

Ayrıca analiz çalışmalarında yardımlarından dolayı emekli Biyolog Ergun ÖZKÖK, Dr. Soner ÇETİNKAYA, Gıda Yük. Müh. Burcu BOZOVA, Laborant Elif Kübra ÖZDİL'e, İstatistiki değerlendirmeler ve diğer yardımlarından dolayı Su Ürün. Yük. Müh. Mehmet CİLBİZ, Dr. Vedat YEĞEN ve Doç. Dr. Hüseyin SEVGİLİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Kuluçkahane çalışmalarında yardımlarından dolayı da Su Ürünleri Mühendisleri Barış Çağdaş HATİPOĞLU, Mehmet Ali KAYA ve Maksut ERDEM'e ve enstitü balıkçılarına teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Kamile Gonca EROL
ISPARTA, 2020

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Dünyada yaygın olarak bulunan kerevit türleri ve dağılımları	6
Şekil 2.2. <i>A. leptodactylus</i> 'un ülkemizdeki yayılış alanları	7
Şekil 3.1. Kerevit Araştırma Merkezi (kapalı devre yetiştiricilik sistemi)	55
Şekil 3.2. İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yetiştiricilik Laboratuvarı	56
Şekil 3.3. Kerevit (<i>Astacus leptodactylus</i> , Eschscholtz, 1823)	56
Şekil 4.1. Yumurtalı kerevit	67
Şekil 4.2. Anaca bağımlı henüz kabuk değiştirmemiş I. dönem yavrular	67
Şekil 4.3. İlk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçmiş, henüz anaca bağımlı olan II. dönem yavrular	67
Şekil 4.4. Anaçlardan ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçen II. dönem yavrular	68
Şekil 4.5. <i>Astacus leptodactylus</i> 'un embriyonik gelişimi	69
Şekil 4.6. I. dönem yavru	70
Şekil 4.7. Anneye tutunmuş vaziyette olan II. dönem yavrular	71
Şekil 4.8. Anneden ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçen II. dönem yavrular....	71
Şekil 4.9. II. dönem yavru	72
Şekil 4.10. III. dönem yavru	73
Şekil 4.11. IV. dönem yavru	73
Şekil 4.12. V. dönem yavru	74
Şekil 4.13. VI. dönem yavru	74
Şekil 4.14. <i>A. leptodactylus</i> 'un embriyonik gelişme evrelerindeki proteaz enzim aktivitesinin dönemlere göre değişimi	75
Şekil 4.15. <i>A. leptodactylus</i> 'un embriyonik gelişme evrelerindeki tripsin enzim aktivitesinin dönemlere göre değişimi	76
Şekil 4.16. <i>A. leptodactylus</i> 'un embriyonik gelişme evrelerindeki alkalın fosfataz enzim aktivitesinin dönemlere göre değişimi	77
Şekil 4.17. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında proteaz enzim aktivitesinin gelişme dönemlerine bağlı değişimi	78
Şekil 4.18. <i>A. leptodactylus</i> yavrularının farklı pH seviyelerindeki asit proteaz aktiviteleri	81
Şekil 4.19. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında tripsin enzim aktivitesinin gelişme dönemlerine bağlı değişimi	82
Şekil 4.20. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında alkalın fosfataz enzim aktivitesinin gelişme dönemlerine bağlı değişimi	83
Şekil 4.21. Bitkisel ve hayvansal yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi	85
Şekil 4.22. Hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi	86
Şekil 4.23. Gammarusun yavru gelişme dönemlerine göre proteaz katkı oranları	87
Şekil 4.24. Bitkisel kaynaklı yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi	87
Şekil 4.25. Farklı türlere ait yemlerin inhibisyon oranları	92
Şekil 4.26. Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin inhibisyon oranları	93
Şekil 4.27. Farklı partikül büyüklüklerinin dönemlere göre inhibisyon oranları.....	94
Şekil 4.28. Farklı türlere ait yemlerin hidroliz dereceleri	95

Şekil 4.29. Farklı türlere ait yemlerin partikül büyüklüklerinin hidroliz dereceleri	96
Şekil 4.30. Farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz dereceleri.....	97



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Dünyada yaygın olarak bulunan kerevit türleri ve dağılımları	6
Çizelge 3.1. Yem hammaddelerinin kimyasal kompozisyonu (%).....	63
Çizelge 4.1. <i>A. leptodactylus</i> 'un embriyonik gelişme evrelerindeki proteaz enzim aktivitesi değerleri (Ort. ± SH).....	75
Çizelge 4.2. <i>A. leptodactylus</i> embriyonik gelişme evrelerindeki tripsin enzim aktivitesi değerleri (Ort. ± SH).....	76
Çizelge 4.3. <i>A. leptodactylus</i> 'un embriyonik gelişme evrelerindeki alkalın fosfataz enzim aktivitesi değerleri (Ort. ± SH)	77
Çizelge 4.4. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında proteaz enzim aktivitesi değerleri (Ort. ± SH).....	78
Çizelge 4.5. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında asit proteaz aktivitesi değerleri (Ort. ± SH).....	80
Çizelge 4.6. <i>A. leptodactylus</i> yavrularının asit proteaz aktivitelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları.....	81
Çizelge 4.7. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında tripsin enzim aktivitesi değerleri (Ort. ± SH).....	81
Çizelge 4.8. <i>A. leptodactylus</i> yavrularında alkalın fosfataz enzim aktivitesi değerleri (Ort. ± SH)	82
Çizelge 4.9. Hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin kerevit yavruları proteaz aktivitesini inhibe etme oranları (%: Ort. ± SH)	84
Çizelge 4.10. Bitkisel kaynaklı yem hammaddelerinin kerevit yavruları proteaz aktivitesini inhibe etme oranları (%: Ort. ± SH)	84
Çizelge 4.11. Gammarusun kerevit yavrularının proteaz aktivitesine katkı oranı (Ort. ± SH).....	85
Çizelge 4.12. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları	85
Çizelge 4.13. Hayvansal hammaddelerin tekrarlı ANOVA sonuçları	86
Çizelge 4.14. Bitkisel hammaddelerin tekrarlı ANOVA sonuçları.....	88
Çizelge 4.15. Kerevit yavrularının beslenmesinde kullanılmak üzere geliştirilen mikro yem formülasyonu	89
Çizelge 4.16. Üretilen mikroyemin (kerevit yemi) partikül büyüklüğüne göre kimsayal kompozisyonu (% Ort.±SH).....	90
Çizelge 4.17. Alabalık yeminin partikül büyüklüğüne göre kimsayal kompozisyonu (% Ort.±SH)	90
Çizelge 4.18. Karides yeminin partikül büyüklüğüne göre kimsayal kompozisyonu (% Ort.±SH)	90
Çizelge 4.18. Mikroyemlerin kerevit yavrularının proteaz aktiviteleri üzerindeki inhisyon değerleri (Ort.±SH)	91
Çizelge 4.19. Farklı türlere ait yemlerin inhibisyon düzeylerinin tekrarlı ANOVA sonuçları	92
Çizelge 4.20. Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin inhibisyon oranlarının tekrarlı ANOVA sonuçları.....	93
Çizelge 4.21. Farklı partiküldeki yemlerin inhibisyon düzeylerinin tekrarlı ANOVA sonuçları	94
Çizelge 4.22. Mikroyemlerin hidroliz dereceleri (Ort.±SH).....	95
Çizelge 4.23. Farklı türlere ait yemlerin hidroliz derecelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları.....	95

Çizelge 4.24. Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz derecelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları	96
Çizelge 4.25. Farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz derecelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları	97



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	Santimetre
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
p	Önem seviyesi
pH	Hidrojen konsantrasyonu
ppt	Herhangi bir karışımda toplam madde miktarının binde 1 birimlik maddeyi ifade eder (g/L)
ppm	Herhangi bir karışımda toplam madde miktarının milyonda 1 birimlik maddeyi ifade eder (mg/L)
O ₂	Oksijen
SH	Standart hata
U	Unit
μ	Mikron
μm	Mikrometre
μmol	Mikromol

1. GİRİŞ

Su ürünleri üretim miktarı ve kalitesinin arzu edilen seviyelere ulaştırılması entansif yetiştiricilik uygulamalarıyla mümkün görülmektedir (Doğan, 2012). Entansif yetiştiricilikte önemli aşamalar kaydedilmekle birlikte üretimin farklı dönemlerinde halen bazı problemlerle karşılaşılmaktadır. Karşılaşılan problemlerin büyük bir bölümünün larva dönemi beslemesi ile ilgili olduğu bilinmektedir.

Çoğu balık ve kabuklu türlerinin entansif kültürünün önemli bir problemi, larval evrelerinde canlı yemlere bağımlı olmalarıdır. (D'Abramo, 2002). Su ürünleri yetiştiriciliğinde en sık kullanılan canlı yemler, seri üretime yönelik standart maliyet-etkinlik protokollerinin varlığı nedeniyle rotifer ve artemia'dır (Conceição vd., 2010). *Artemia nauplii*'leri ve rotifer türleri genellikle birçok balık ve kabuklu larvaları için önemli bir besin kaynağı olup (D'Abramo, 2002), yetiştiricilik ortamlarında kolaylıkla ve yoğun olarak üretilen özellikleri dolayısıyla geniş kullanım alanı bulmaktadır (Gamsız ve Albaz, 2006). Ancak, hem artemia hem de rotifer türlerinin özellikle, n-3 çoklu doymamış yağ asitleri (Dokosaheksaenoik asit ve eikosapentaenoik asit) bakımından deniz türlerinin ihtiyacını karşılamada eksiklikleri vardır. Bu canlı yemlerin yüksek oranda doymamış yağ asitleri (HUFA) açısından zengin lipid emülsiyonlarıyla zenginleştirilmesi, balık larvaları için diyetle fazla miktarda lipid ve yetersiz protein içeriğine yol açabilir. Buna ek olarak, rotifer ve artemia, muhtemelen bazı türler için bazı amino asitler, vitaminler ve mineraller açısından optimal diyet düzeylerine sahip olmayabilir (Conceição vd., 2010). Bu nedenle, canlı yemlerin besin içeriğinin, özellikle esansiyel yağ asitleri açısından yetersiz olması, bu yemlerin zenginleştirilmelerini gerektirmektedir. Canlı yemlerin üretimi ve zenginleştirme faaliyetleri larva üretim maliyetlerinin artmasına neden olmaktadır (Gamsız ve Albaz, 2006).

Kopepodlar ve diğer doğal zooplanktonik organizmalar da canlı yem olarak kullanılmaktadır. Normalde larvanın hayatta kalma oranları, büyümesi ve kalitesi açısından artemia ve rotifer türlerine kıyasla oldukça iyi sonuçlar alınmıştır. Ancak, bu organizmaların seri üretiminde teknik zorluklar, hala rutin kullanımları için kısıtlayıcı bir unsur oluşturmaktadır (Conceição vd., 2010). Son 25 yılda larval mikrodietlerin gelişmesinde kayda değer ilerlemeler olmasına rağmen, canlı yemler

tercih edilmeye devam etmektedir. Canlı yemlerin kullanımı, kültürü ve besin değerleri hakkında önemli bilgiler mevcuttur. Bununla birlikte, canlı yem kullanımı, larvalarda besin maddelerinin kantitatif besin gereksinimlerini ve etkileşimini anlamayı önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Ayrıca, larva beslenmesinin anlaşılması, larva gelişiminin farklı aşamalarında besin gereksinimlerinin değişmesi dolayısıyla karmaşıktır, çünkü sindirim sistemi anatomisi ve buna ilişkin olarak belirli enzimlerin varlığı genellikle birkaç hafta boyunca değişir. Canlı yemlerin yerine geçebilecek formüle edilmiş diyetlerin değeri hem maliyet hem de canlı yemin tutarlı besleyici kalitesinden yoksun olması nedeniyle açıkça ortadadır. Canlı yem ile eşdeğer tutarlı ve güvenilir üretim sağlayabilen formüle diyetler hala mevcut değildir ve dünya balık kültürü artışına kesinlikle bir engel teşkil etmiştir (NCR, 2011).

Doğal yemler, entansif yetiştiricilikte üretimi desteklemede yetersiz kalmakta, ihtiyaca uygun şekilde formüle edilmiş ve boyutu ayarlanmış yemlere gereksinim duyulmaktadır (Figueiredo vd., 2001). Gereksinimlere cevap verebilen yem formülasyonlarının oluşturulabilmesi öncelikle besin ihtiyacı ve yemde kullanılacak uygun besin maddelerinin belirlenmesi ile mümkün olmaktadır. Son yıllarda, besin ihtiyaçları konusunda yapılan araştırmalar, genellikle hedef türlerin sindirim süreçleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Enzimatik kapasite ve enzimlerin miktar ve dönemsel değişim oranları, yavruların besin ihtiyaçları konusunda ön bilgiler sağlamaktadır. Bu bilgiler, türlerin metabolik ihtiyaçlarına özgü yemlerin geliştirilmesinde bir araç olarak kullanılabilir (Figueiredo vd., 2001).

Sindirim enzimleri fonksiyonlarının yanı sıra enzim aktivitelerindeki ontogenik değişimlerin de tam olarak anlaşılması, organizmanın formüle yemlerdeki farklı besin maddesi bileşenlerini kullanabilme yeteneğinin bilinmesi gerekmektedir (Carrillo-Farnés vd., 2007). Özellikle, alternatif türlere ait besleme stratejilerinin belirlenebilmesi, en ideal besleme tablolarının oluşturulması, larval büyümenin en hızlı ve en etkin şekilde gerçekleştirilebilmesi için o türe ait sindirim enzimleri ontogenisi üzerine çalışmaların yapılması da büyük önem taşımaktadır (Yılmaz vd., 2011). Son yıllarda balıklarda ve kabuklu su ürünlerinde hayatta kalma oranını artırmak için larva fizyolojisi ve sindirim enzimleri üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Büyüme ve gelişmenin erken döneminde özellikle fonksiyonel mide oluşumu sırasında sindirim enzimleri aktivitesindeki değişimlerin bilinmesi ve enzimatik profillerinin

ortaya konması hayati önem taşımaktadır. Bu dönemde ortaya çıkan düşük yaşam oranı ve büyüme performansı nedeniyle yapılan çalışmalar daha çok yetiştiriciliği yoğun olarak yapılan türler üzerine yoğunlaşmış ve sindirim enzimleri aktivitesindeki değişimlerin yakından izlenmesi ile yorumlanmıştır. Sindirim enzimlerinin spesifik aktivitesinde görülen değişimin ya mide oluşumu gibi metamorfoz ya da besin kompozisyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Süzer vd., 2007). Bu nedenle, larva üretiminde yoğun ölümlerin gözlemlendiği metamorfoz süresince yaşanan fizyolojik değişimlerin gerekliliklerine göre besleme yapılması önemlidir.

Erken gelişme dönemlerinde gözlenen sindirim enzimi değişimleri, canlıların sindirim yeteneğini yansıması nedeniyle besleme geçişlerinin tespit edilmesinde bir model olma özelliğine sahiptir. Aynı zamanda, bu modeller, su ürünleri yetiştiricilik uygulamalarında yönetim stratejilerine katkı sağlayan; besleme, besin tercihi, kaynak kullanım stratejileri ve ekolojik olarak da kerevitlerin sucul sistemlerdeki ekolojik konumunun tanımlanmasına ışık tutabilmektedir (Hammer vd., 2000).

Enzimatik aktiviteler, organizmanın farklı ontogenetik aşamaları için yem formülasyonlarının belirlenmesinde bir indikatör görevi görmektedir (Chamchuen vd., 2014). Yem formülasyonunda yer alan en önemli sorunlardan biri, özellikle protein kalitesi olmak üzere formülasyonda yer alacak yem hammaddelerinin kalitesidir (Alarcón vd., 2007). Bu nedenle, yetiştiriciliği yapılacak türlerin besin gereksinimlerini karşılayabilen uygun yem formülasyonlarının oluşturulabilmesi için formülasyonda kullanılacak uygun yem ham maddelerinin belirlenmesi gerekir. Yemde kullanılacak ham maddelerin, sindirimi olumsuz yönde etkileyen bileşikleri içermemesine dikkat edilmelidir. Dolayısıyla, mikro yemlerin üretiminde dikkat edilmesi gereken en önemli konulardan biri ham madde seçimidir. Yılmaz vd. (2011), formülasyonda kullanılacak olan yem hammaddelerinin yavrulara verilmeden önce olası etkilerinin in vitro analiz yöntemleri ile belirlenebildiği ve dolayısıyla *in vitro* analizlerden elde edilen bulguların yem formülasyonunun oluşturulmasında kullanımının mümkün olduğunu bildirmişlerdir. Bu bağlamda, in vitro analiz yöntemleri ile mikro yemlerde kullanılacak ham maddelerin yavruların proteaz aktiviteleri üzerindeki bireysel etkilerinin belirlenmesi amacıyla her bir hammaddenin proteaz inhibisyon değerlerinin ortaya konulması gerekmektedir. Böylece, yem ham

maddelerinin hedef türün proteaz aktiviteleri üzerindeki bireysel etkilerinden yola çıkılarak türe özgü uygun yem formülasyonları geliştirilebilir.

Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde; *Cherax quadricarinatus* (Figueiredo vd., 2001; Figueiredo ve Anderson, 2003; López-López vd., 2005; Luo vd., 2008a,b), *Cherax destructor* ve *Engaeus sericatus* (Linton vd., 2009), *Procambarus clarkii* (Hammer vd., 2000), *Cherax albidus* (Coccia vd., 2011) gibi bazı kerevit türlerinin sindirim enzimleri üzerine birçok çalışma yapılmış olup türlerin sindirim enzim profili ve enzimatik aktivitelerindeki değişimler ortaya konulmuştur. Ancak ülkemizin doğal türü olan *Astacus leptodactylus*'un besin gereksinimi ve sindirim fizyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Bu türün yetiştiricilik standartlarının geliştirilebilmesi için; farklı gelişme dönemlerindeki besin maddesi gereksinimleri ve sindirim enzimleri fonksiyonlarının belirlenmesi, türün besin ihtiyaçlarını karşılama potansiyeline sahip yem formülasyonlarının geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Bu tezde, *A. leptodactylus*'un embriyonik ve yavru gelişme dönemlerindeki (I-VI) sindirim enzimi aktiviteleri ile buna bağlı olarak yavruların besin gereksinimlerini karşılayabilecek uygun yem formülasyonunun ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Tatlısu İstakozu (Kerevit)

Tatlı su istakozları, Eklem bacaklılar (Arthropoda) şubesinin, Kabuklular (Crustacea) sınıfının, Gelişmiş kabuklular (Malacostraca) takımına ait, Astacidae, Parastacidae ve Cambaridae familyalarına ait olan *Astacus*, *Pasifastacus*, *Procambarus*, *Cambarus*, *Orconectes*, *Austropotamobius*, *Camberallus* ve *Cherax* cinslerine ait türlerdir (Huner, 1994). Türkiye genelinde bulunan *Astacus leptodactylus* (Göl istakozu) türünün sistematik açıdan sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Geldiay ve Kocataş, 1970; Alpbaz, 1993).

Şube	: Arthropoda (Eklem bacaklılar)
Sınıf	: Crustacea (Kabuklular)
Altsınıf	: Malacostraca (Gelişmiş kabuklular)
Takım	: Decapoda (On ayaklılar)
Familya	: Astacidae (İstakozlar)
Cins	: <i>Astacus</i> (İstakoz)
Tür	: <i>Astacus leptodactylus</i> (Göl istakozu)
Alt tür	: <i>Astacus leptodactylus leptodactylus</i> (Eschscholtz, 1823)
Alt tür	: <i>Astacus leptodactylus salinus</i> Nordmann, 1842

2.2. Dünya ve Türkiye'deki Yayılış Alanları

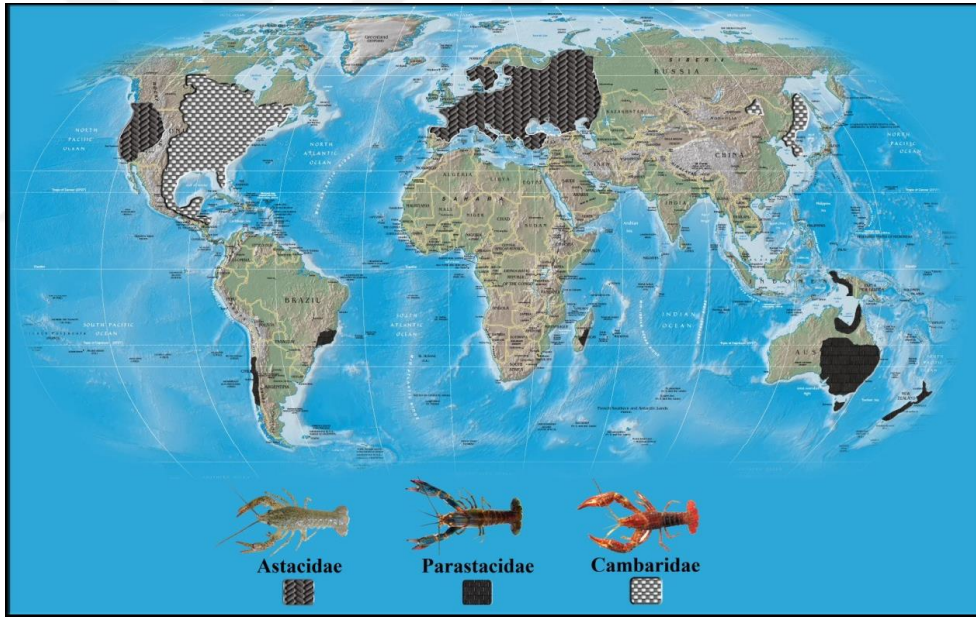
Dünyada geniş bir dağılım gösteren kerevitler, Afrika ve Antartika dışında her kıtada bulunurlar. Kerevit tür ve alt türlerinin yaklaşık %70'i Kuzey Amerika, %20'si Avustralya, %1,5'i Güney Amerika ve %1,5'i Avrupa/Asya'da bulunmakta ve dünya kerevit faunası dağılımının uniform olmadığı görülmektedir. Kerevit faunası, Astacidae, Cambaridae ve Parastacidae olmak üzere 3 familya ve 29 cinsten oluşmaktadır (Holdich, 2002).

Günümüze kadar 640'tan fazla kerevit türü tanımlanmıştır (Crandall ve Buhay, 2008). Özellikle Kuzey Amerika ve Avusturalya türleri morfolojik olarak çok farklılık gösterirler (Holdich, 2002). Kökenlerinin belirli ülkelere özgü olduğu bilinen bazı

cinslerin birçok nedenlerle bugün çeşitli ülkelere yayıldığı bilinmektedir (Alpbaz, 1993). Dünyada yaygın olarak bulunan kerevit türleri ve dağılımları Çizelge 2.1 ve Şekil 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Dünyada yaygın olarak bulunan kerevit türleri ve dağılımları (Holdich, 2002)

Familya Adı	Tür Adı	Dünyadaki Dağılımı
Astacidae	<i>Pasifastacus leniusculus</i>	Amerika ve Avrupa
	<i>Astacus astacus</i>	Avrupa
	<i>Astacus leptodactylus</i>	Avrupa ve Türkiye
Parastacidae	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Avustralya, Yeni Gine,
	<i>Cherax destrusctor</i>	Yeni Zelanda, Güney
	<i>Cherax tenuimanus</i>	Amerika, Madagaskar
Cambaridae	<i>Procambarus clarkii</i>	Amerika
	<i>Orconectes limosus</i>	Avrupa, Kuzey Amerika
	<i>Orconectes virilis</i>	Güney-Kuzey Amerika
	<i>Orconectes rusticus</i>	Amerika-Hindistan



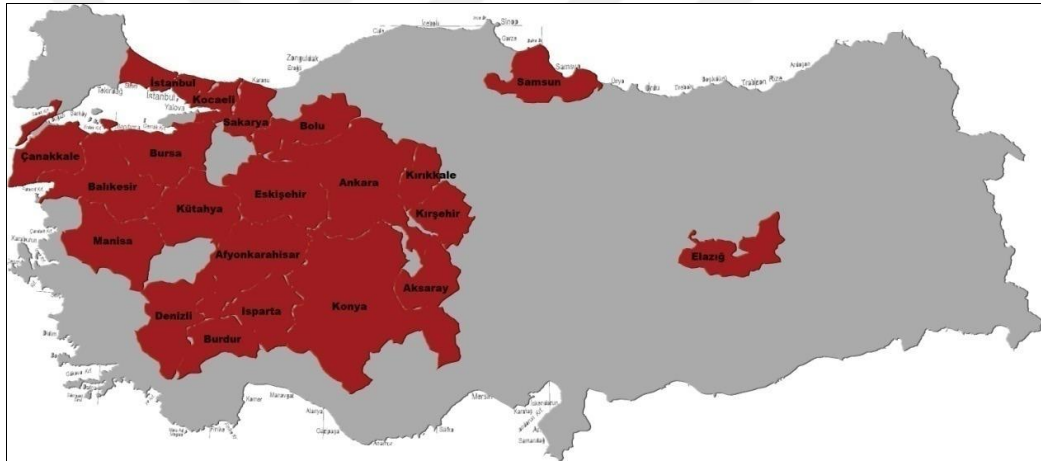
Şekil 2.1. Dünyada yaygın olarak bulunan kerevit türleri ve dağılımları (Holdich, 2002)

Türkiye’de bulunan tek doğal kerevit türü, Astacidae familyasından *A. leptodactylus*’tur. *A. leptodactylus* türünün dünya ve yurdumuzda geniş bir dağılım alanı vardır. Başta Rusya ve Ukrayna olmak üzere Karadeniz, Baltık ve Hazar Denizine akan nehirler ile bu nehirlerin kanal sistemlerinde, ayrıca Orta ve Aşağı Tuna havzası göl ve akarsularında bulunur. Ülkemizin doğal kerevit türü olan *A. leptodactylus*’un iki alt türü bulunmaktadır. Bunlar *A. leptodactylus salinus*

(Nordaman, 1842) ve *A. leptodactylus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)'tur (Alpbaz, 1993).

Astacus leptodactylus leptodactylus; Karadeniz, Kuzey Marmara ve Trakya Bölgelerinde, İznik, Terkos, Işıklı Gölleri ile Meriç ve Tunca Nehri ve Gelemen Çayında bulunur (Geldiay ve Kocataş, 1970; Alpbaz, 1993).

Astacus leptodactylus salinus; Güney Marmara, Ege ve İç Anadolu Bölgesindeki su kaynaklarında bulunur. Manyas, Eğirdir, Beyşehir, Uluabat, Akşehir, Eber, Gölcük (Ödemiş) Gölleriyle Miliç Çayında dağılım gösterirler (Geldiay ve Kocataş, 1970; Alpbaz, 1993). *A. leptodactylus* türünün ülkemizdeki yayılış alanları Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. *A. leptodactylus*'un ülkemizdeki yayılış alanları (Harlıoğlu, 2008)

2.3. Morfolojik ve Anatomik Özellikleri

2.3.1. Dış görünüşü ve gövdenin bölümleri

Kerevitlerin renkleri kırmızıdan (*Procambarus clarkii*) petrol yeşiline (*A. leptodactylus*) kadar değişebilmektedir. Doğal kerevit türümüz olan *A. leptodactylus*'un rengi popülasyonlara göre değişiklik göstermektedir, rengi üzerinde daha çok bulunduğu ortamın (akarsu, göl, havuz, bataklık gibi) özellikleri ve ortamı etkileyen özel koşullar etkili olmaktadır. Genel olarak bu türün rengi petrol yeşili olmakla birlikte, sarımsı renkten kahverengiye kadar değişebilmektedir. Bitki

topluluklarının yoğun olarak bulunduğu ortamlarda yaşayan *A. leptodactylus*'ların renginin parlak yeşilden koyu yeşile kadar değiştiği, kumluk ve çakıllı ortamlarda yaşayanların sarımsı bal renginde olduğu, kısaçlarında ise kahverengi lekelerin bulunduğu, siltli zeminde yaşayan bireylerin ise siyah renkte olduğu görülmüştür (Köksal, 1988; Harlıoğlu, 2004).

Kerevitlerde vücut, cephalothorax (baş ve thorax) ve abdomen (karın) olmak üzere iki kısımdan oluşur. Başta bir çift uzun anten ile bir çift kısa antencik bulunur. Baş ve thorax'ı kapsayan bölüm (cephalothorax) sert ve bölümlenmemiş bir kabuk olup karapaksı oluşturur. Karapaksın gözler arasından ileriye doğru uzanan çıkıntısına rostrum denir. Rostrumun iki yanında çukurlara yerleşmiş olan bir çift göz bulunur. Gözlerin ön ve arkasında diken şeklinde çıkıntılar vardır (Holdich, 2002; Alpbaz, 2005). Göğüs kısmında beş çift yürüme ayakları (periopod) bulunur, birinci çift yürüme bacakları çok fazla gelişmiş olup, uçları uzun kısaç biçimindedir ve cheliped adını almıştır. Abdomen (karın), altı adet segmentten oluşmuştur. Karın sonunda iki parçalı telson ve yelpaze şeklinde iki çift üropod vardır. Karında bulunan beş çift ayağa yüzme ayakları (pleopod) denilir. Erkeklerde bu ayaklardan öndeki birinci çifti sperma naklinde kullanılır (Alpbaz, 2005).

2.3.2. Vücut boşluğu

Kerevitlerde gövde boşluğu bulunmaktadır. Bu boşluk diğer organlar tarafından daraltılmıştır. İçi kanla doludur ve dolaşım sisteminin bir bölümünü oluşturur (Alpbaz, 1993; Diler, 2013).

2.3.3. Sindirim sistemi

Kerevitlerin sindirim sistemi ağız, yemek borusu, mide ve bağırsaklardan oluşmuştur. Ağız parçaları ve çenelerle alınan besinler, parçalandıktan sonra yemek borusuna geçer. Mide plorik ve kardiak mide olmak üzere iki kısımdan oluşmuştur. Besinler plorik midede öğütülür. Mideden sonra orta bağırsak gelir. Orta bağırsağı karına doğru uzanan son bağırsak izler. Son bağırsak anüsten dışarı açılır. Bağırsaklar mavi renklidir ve su regülasyonunu sağlarlar (Alpbaz, 1993; Holdich, 2002).

2.3.4. Solunum sistemi

Kerevitler, oksijen ve karbondioksit gibi gazlar için kısıtlı geçirgenliğe sahip olan kalın bir kalsifiye kutiküllü bir kabuğa sahiptir. Bu nedenle, gaz değişimi genellikle geniş bir yüzey alanı, ince bir kalsifiye olmamış kutikül, ince bir epitelyal bariyeri ve etkin bir kan akımı ile karakterize olan solungaçlarla sınırlı kalmaktadır. Solungaçların yüksek geçirgenliği, amonyak ve önemli azotlu ürünlerin giderilmesi için de kullanılır. Ancak, solungaçların yüksek geçirgenliği nedeniyle solungaç epiteli kanalıyla hipertonic hemolenfden suya sürekli pasif bir iyon akışı vardır. Örneğin *A. leptodactylus*'larda solungaç kutikülünün iyon geçirgenliği, karapaks kutikülünden 300 kat daha fazladır. Kerevitler iyon kayıplarını telafi etmek için, osmotik değişime karşı iyonları aktif bir şekilde hemolenflere taşıyan özelleşmiş solungaç epiteline sahiptir. Buna karşılık, hemolenflerin yüksek osmolaritesinden dolayı, osmotik değişim boyunca sürekli pasif bir su sızıntısı olmaktadır. Bu su anten salgı bezi ile boşaltılır. Bu yüzden, solungaçlar sadece solunumun önemli bir parçası değil aynı zamanda anten bezler ve bağırsaklar ile birlikte osmotik, boşaltım ve asit-baz dengesine katkıda bulunmaktadır (Holdich, 2002).

2.3.5. Dolaşım sistemi

Kerevitler, iyi gelişmiş açık dolaşım sistemine sahiptir. Dolaşım sistemi, vücudun her tarafına oksijen, besin ve hormonların dağıtımından ve aynı zamanda metabolik atık ürünlerin atılımından sorumludur. Midenin arkasında, sırta yakın bir yerde perikardiyal boşlukta bulunan kalpten kan arterlere pompalanır. Kan, kalbin belirli aralıklarla düzenli olarak yaptığı kasılmalarla pompalanır ve besin maddelerini, iç organlara ve kaslara taşır. Pompalanan kanın tümü sonra damarlar aracılığıyla solungaçlara ulaşır ve solungaçlarda kanın içindeki karbondioksit atılıp yerine oksijen alınır. Solungaçların çok ince olan kutikulaları bu alışverişi kolaylaştırır. Damarlar aracılığı ile solungaçlardan çıkan kan, kalbi çevreleyen zar (kalp dış zarı) ile kalp arasındaki boşluğa ulaşır (Holdich, 2002). Kan, soluk kırmızıdan maviye kadar değişen bir renktedir ve su veya havayla temas ederse pıhtılaşır (mavi renk, oksijenle hemosiyaninin varlığını gösterir) (Alpbaz, 1993; Holdich, 2002).

2.3.6. Boşaltım sistemi

Boşaltım organları, metabolik atıkların ve ksenobiyotiklerin elimine edilmesi ve aynı zamanda hemolenf homeostazın düzenlenmesinde rol oynar. Kerevitlerde, solungaçlar, sindirim sistemi ve anten bezleri olmak üzere üç organ sistemi boşaltımda yer almaktadır. Anten bezleri, geçirgen solungaç epitelyum yoluyla osmotik değişim süresince pasif olarak vücuda giren suyun boşaltımında rol oynamasına rağmen, decapodların ana boşaltım organı olarak kabul edilmektedir. Hipertonik hemolenfin osmotik homeostazının korunması için, gereksiz su hemolenfden çekilmeli ve elektrolit kaybı olmaksızın vücuttan atılmalıdır. Bu, anten bezleri tarafından hipotonik bir idrar oluşumu ile gerçekleştirilir. Klasik boşaltım işlevi, azotlu atıkların ortadan kaldırılması genellikle solungaçlar tarafından gerçekleştirilir. Kerevitlerin anten bezlerinin, ağır metaller ve organik ksenobiyotiklerin atılımında yer alması konusunda deneysel kanıtlar bulunmaktadır (Holdich, 2002). Kerevitlerin bir çift olan anten bezleri, sefalotoraksın ventro lateral bölgesinin önünde yer alır ve antenlerin kaidesinden dışarı açılır. Üre ve ürik asit böbreklerle, amonyak ise solungaçlarla boşaltılır (Alpbaz, 1993; Holdich, 2002).

2.3.7. Kas sistemi

Kerevitler çapraz-çizgili kas yapısına sahiptir. Bu kas yapısı, sadece iskelet kası değil aynı zamanda viseral ve kardiyak kaslar için geçerlidir. Kas lifleri, dış iskeletin iç kısmı ve kitin tabakasına ya da bu iskelet elemanlarından çıkan kitin niteliğindeki tendonlara bağlıdır. Ekstremitelerin ve abdomenin hareketleri fleksör (bükücü) ve ekstansör (açıcı) kaslar ile sağlanır (Holdich, 2002).

2.3.8. Sinir sistemi ve duyu organları

Kerevitlerin sinir sistemi, ip merdiven şeklinde olup ganglionlar ve sinir tellerinden oluşmuştur. Sinir kordonu üzerinde 6 çift ganglion bulunur. Her gangliondan 3 çift sinir çıkar. Bu sistem yutağa kadar bağırsağın altında seyreder (Alpbaz, 1993; Holdich, 2002). Kerevitlerde vücudun bir bölümü özellikle kısaçlar, ağız kısımları, karnın alt kısmı ve kuyruk ucu dokunmaya karşı oldukça hassastır. Bu bölgelerden duyu sinirlerine bağlı birçok dokunma tüyleri uzanır. Tat ve koku alma duyuları da

antenlerin ucunda, ağız parçalarında, kıskaçların uçlarındaki tüylerde bulunmaktadır. Denge merkezi her antenin bazal segmentine açılan kitin kaplı bir çift kese (statocyst) içinde yer alır. Görme işlevi herbiri facet (yüzey) olarak bilinen yaklaşık 2500 adet altıgen parçaya ayrılmış birleşik bir göz çiftiyle gerçekleşir. Her yüzey birbirinden çok küçük açılarla ayrılmıştır ve böylece kerevitler aynı anda farklı yönleri görebilmektedir (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

2.3.9. Üreme sistemi

Kerevitler ayrı eşeyli canlılardır. Hem erkek hem de dişiler 3 loblu bir gonada sahiptir. Gonadların 2/3'si hepatopankreas loplara bağlı olarak barsağın üstünde ve kalbin altında yer almaktadır (Mazlum ve Yılmaz, 2012). Boyutları ve görünüşleri, bir bireyin yaşı ve üreme durumuna bağlıdır. Üreme mevsiminde gonadlar önemli ölçüde büyür. Testisler, spermatozoa üretimi nedeniyle sütlü-beyaz renk alırken, yumurtalıklar sarımsı kahverengi yumurtalarla doludur (Kozak vd., 2015). Dişilerde yumurta kanalı (ovidukt) 3. ve 4. yürüme ayağının zemininden açılır. Yumurta dökümünden önce ve sonrasında ovidukt çok ince bir kabukla örtülür. Erkeklerde ise iki üreme organı 5. yürüme ayağında yer alır. Bu organlar dişide olduğu gibi ince bir kabuk tabaka ile örtülüdür. Spermiler erkekte bulunan birinci ve ikinci yüzme ayakları (gonopod) yardımı ile dişinin sperm cebine taşınır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

2.4. Ekolojisi ve Biyolojisi

Kerevitler tüm omurgasızlar içerisinde bol ve baskın bir şekilde bulunabilen canlılardır (Mazlum ve Yılmaz, 2012). Tür kompozisyonu ve bollukları üzerinde su sıcaklığı, su kalitesi, habitat yapısı, fiziksel bozukluk, hastalık, rekabet ve yırtıcılık (predasyon) gibi bazı abiyotik ve biyotik faktörlerin önemli etkisi bulunmaktadır (Holdich, 2002). Kerevitler değişken ortamlarda hayatta kalabilmek ve kültür koşullarında uyum sağlayabilmek için fizyolojik adaptasyon geliştirmişlerdir (Holdich, 2002; Diler, 2013).

2.4.1. Suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri

2.4.1.1. Su sıcaklığı

Suyun sıcaklığı önemli olmakla birlikte kerevitler, sudaki değişik fiziksel ve kimyasal koşullara uyum sağlayabilmektedir (Alpbaz, 1993). Su sıcaklığına tolerans yeteneği, familyalar arasında az familyalar içinde ise önemli derecede değişmektedir. Astacidae familyası üyeleri, Cambaridae familyasının bazı türlerinden daha düşük sıcaklık toleransına sahiptir. *Procambarus clarkii*, Avrupa'da kış şartlarında yaşayabilmesine rağmen 1981 yılında yanlışlıkla aşılandığı Güney İsveç'te bir gölette üremede başarısız olmuştur (Holdich, 2002).

Su sıcaklığı, kerevitlerde kabuk değiştirme, büyüme, yavruların hayatta kalması ve üreme gibi çeşitli davranışları düzenler. Optimum sıcaklık veya sıcaklık aralığı türlere özeldir. Örneğin, *A. astacus*'un üreme başarısı ve yumurta gelişimi için su sıcaklığının en az 3 ay 15°C'nin üzerinde olması gerekmektedir (Holdich, 2002; Olsson, 2005). Sıcaklık 10 °C'nin altına düştüğünde sonbaharda büyüme ve kabuk değiştirme durur. Bu tür için optimum sıcaklık aralığı 16 ila 24 °C arasında değişmektedir. Su sıcaklığı düşük olursa, besin alımı yavaşlar ve artış değeri de daha az olur (Kozak vd., 2015). Sıcaklıktaki aşırı değişimler, ısı şoktan dolayı kerevitlerde ölüme yol açabilen, kabuk değiştirme başarısızlığına neden olabilir. Yüksek sıcaklıklar, yıl boyunca daha sık kabuk değiştirme ile pozitif bir etkiye sahip olması nedeniyle yüksek büyüme oranları için önemli görünmektedir, ancak çok yüksek sıcaklıklar da strese neden olabilir. Yüksek sıcaklığın (22 °C), beyaz nokta sendromu virüsü (WSSV) ile enjekte edilen kerevitlerde mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir, bu da yüksek sıcaklıkların kerevitlerde hastalık patojenitesini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir (Olsson, 2005). Ilıman bölgelerde büyüme süresi yılın sıcak yaz ayları ile sınırlıdır ve sonbaharda sıcaklık ve ışığın azalması çiftleşme mevsiminin başlangıcını tetikler. Kerevitlerin göllerdeki derinlik dağılımı da sıcaklığa bağlı olabilir. Sıcaklık coğrafi ve yerel dağılımı da etkileyebilir, *P. clarkii* türünü güney İsveç'e sokma girişimi muhtemelen türlerin daha sıcak sularda hayatta kalmaya adapte olması nedeniyle başarısız olmuştur (Olsson, 2005).

2.4.1.2. Oksijen

Kerevitler, genellikle kalıcı ya da geçici olarak düşük oksijenli sulara maruz kaldıklarında bu habitatlarda yaşayabilmek için davranışsal ve fizyolojik adaptasyonlar geliştirirler. Ancak, düşük oksijen seviyelerine tolere etme yeteneklerinde türe özgü farklılıklar vardır. *O. virilis* gibi daha az toleranslı kerevit türleri, hava-su arasında solungaçlarını açığa maruz bırakarak veya karaya yürüyerek düşük oksijen konsantrasyonunun öldürücü düzeyini önleyebilirler. Ayrıca, oksijen konsantrasyonu 2 mg/L'nin altına düştüğünde, *P. clarkii* atmosferik oksijeni kullanmak için yüzeye (ağaç, çalılık, akuatik bitkiler ve kıyı) doğru çıkar. *A. astacus* ve *P. leniusculus* gibi oksijen gereksinimi oldukça yüksek olan kerevitlerde, sığ ötrofik göletlerde yaz mevsiminde yoğun ölümler meydana gelebilir. *Elodea canadensis* tarafından istila edilmiş olan İsveç göletlerinde, *A. astacus* ve *P. leniusculus* türlerinde kabuk değiştirme dönemlerinde sıklıkla ölümler görülmektedir (Holdich, 2002).

Suyun oksijen konsantrasyonu, çoğu kerevit türünün başarılı kültürü için kritik bir faktördür. Özellikle soğuk su kerevit türleri için önemli olup, büyümeleri ve hayatta kalmaları için sınırlayıcı faktörlerden birini oluşturur. Termofilik kerevitler (Cambaridae ve Parastacidae) daha düşük oksijen gereksinimlerine sahiptir. Daha yüksek oksijen içeriği, daha fazla beslenme aktivitesi ve dolayısıyla büyüme üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Kabuk değiştirme işlevleri arasındaki süre genellikle kısaldır. Öte yandan, gün içinde düşük değerler veya dalgalanmalar, besleme aktivitesinde ve kabuk değiştirme sıklığında azalma ile boy artışında azalmalara yol açmaktadır. Genel olarak, Avrupa kereviti türlerinde, sudaki çözülmüş oksijen içeriğinin 7 mg/L'nin altına düşmemesi gerektiği ve 3 mg/L'nin altında bir oksijen içeriğinin kritik bir sınırı temsil ettiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu düşük çözülmüş oksijen içeriğinde bile kerevitlerin kısa vadede hayatta kalabildikleri bazı çalışmalarla ortaya konulmuştur (Kozak vd., 2015).

2.4.1.3. Işık yoğunluğu

Su sıcaklığı esas olarak kerevitlerin metabolik süreçleri etkilerken, ışık yoğunluğunun etkileri daha spesifiktir. Daha uzun bir ışık rejiminin, kabuk değiştirme üzerinde olumlu, ancak daimi ışığın ya da karanlık koşulların olumsuz etkiye sahip olduğu

belirtilmiştir. Fotoperiyot uygulamaları ile standart periyodun dışında dahi kerevitlerde kabuk değiştirme işlevi başarılabilmektedir (Kozak vd., 2015). Nyström (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, artan ışık yoğunluğunun *P. leniusculus* yavrularının hayatta kalma oranını artırdığı gösterilmiştir. Bu artan sağkalım, yavrular arasında düşük aktivitenin bir sonucu olarak daha yüksek gıda mevcudiyeti (örneğin, epifitik algler) veya azaltılmış kanibalizm nedeniyle olabilir. Taugbøl ve Skurdal (1992) tarafından yapılan bir çalışmada sürekli ışık şartları *A. astacus* türünde mücadeleci davranışı azaltmış, buna bağlı olarak mortaliteyi de düşürmüştür. Fotoperiyot uygulaması ayrıca *A. leptodactylus* yavrularının büyümesi üzerinde de önemli bir etkiye sahip olmuş, devamlı ışık (100 lüks) altında tutulan bireylerin hayatta kalma oranları, karanlıkta tutulanlara göre nerdeyse iki katı daha yüksek bulunmuştur (Ulikowski ve Krzywosz, 2004).

2.4.1.4. Tuzluluk

Çoğu kerevit türü, tuzlu sulara kısa süreli maruz kaldığında bir yaşama potansiyeline sahiptir. Ancak, tür ve populasyonların evrimsel geçmişindeki farklılıklar, artan tuzluluk seviyelerinde kerevitlerin yaşama ve gelişme yeteneğini etkiler (Diler, 2013). Bazı kerevit türleri, acı su bölgelerinde oldukça iyi yaşamını sürdürebilir ve osmoregülasyon yetenekleri nedeniyle türe özgü farklılıklar vardır. Örneğin Astacidler'den *Austropotamobius pallipes*, *A. leptodactylus* ve *P. leniusculus* 21 ppt tuzlulukta birkaç hafta süreyle yaşayabilmeleri için fiziksel bir kapasiteye sahip oldukları tespit edilmiştir. 28 ppt üzerindeki tuzlulukta, *P. leniusculus* yavrularının hayatta kalmaları *A. leptodactylus*'lardan daha iyi olmasına rağmen, 7 ppt'nin üzerindeki tuzlulukta üremeleri olumsuz etkilenmiştir. Bununla birlikte, *A. leptodactylus* Türkiye'de bazı nehir ağzı ortamlarında (tuzluluk oranı 4-14 ppt) kum kurdu ile beslenir (Köksal, 1988). Benzer şekilde, *Cherax quadricarinatus* 12 ppt kadar tuzluluğu kısa süre tolere edebilir. Diğer bir Avustralya türü, *Cherax destructor* artan tuzluluk seviyelerine önemli derecede tolerans gösterir. Fakat 6 ppt üzerindeki tuzluluk büyümesini olumsuz etkilemiştir. Bazı kerevit türleri beslenme amaçlı östarin ortamlara kolonize olabilirler fakat tuzluluğun 5-7 ppt'yi aşan habitatlarda üreme ve gelişme yeteneği engellemiştir (Holdich, 2002).

2.4.1.5. Kalsiyum

Kalsiyum, kerevitler için en önemli mineral maddelerinden birini temsil eder. Kalsiyum ihtiyacının artması, özellikle de kabuk deęiřtirme sonrası dönemde kendini gösterir. Kalsiyum genellikle asidik sularda sınırlayıcı faktördür. Yumuřak su, kerevitlerin dıř iskeletinin yumuřamasına neden olabilir. Sudaki kalsiyum ve magnezyum iyonlarının optimum miktarı 100-150 mg/L arasındadır. Deneysel alıřmalar, su ortamındaki kalsiyum konsantrasyonunun 5 mg/L'nin altına dūřmesi halinde kerevitlerin hayatta kalma řanslarının azaldıęını ve būyūmelerinin yavařladıęını gōstermiřtir. Bu sınırın altında, dıř iskeletin tam bir kalsifikasyonu imkansızdır. Kalsiyum konsantrasyonu ayrıca bireylerin būyūklūęū de etkiler. Konsantrasyon daha dūřuk ise, kerevit būyūklūęū ve būyūme artıřı da daha az olur (Kozak vd., 2015).

Kalsiyum, kabukluların çoğunda dış iskelette depolanır ve kerevitlerin kabuk değiştirme dōnemlerinde kullanılır. Bu nedenle, her kabuk değiştirme sonrasında yeterli miktarda kalsiyum gereklidir. Kalsiyum eksikliği, kerevitlerin daha az veya uzun sūreli yumuşak dış iskeletlere maruz kalmasına neden olur ve bōylece kereviti, predasyona ve kanibalizme karşı daha savunmasız hale getirir. Dūřuk kalsiyum konsantrasyonu *A. astacus*'da būyūmeyi sınırlayabilir. *A. astacus* yavruları için alt sınırın $> 0,0$ ile $1,0$ mg Ca/l arasında olduğu bildirilmiştir (Olsson, 2005). Kabuk değiştirmeden sonra atılan kabuklar, dūřuk kalsiyum konsantrasyonlarına sahip ortamlarda yaşayan canlılar için önemli bir kalsiyum kaynağı olabilir ve kerevitler çoęu zaman, kabuk değiştirme sırasında kaybedilen kalsiyumu telafi etmek için kendilerinin veya diğer kerevitlerin atmış oldukları kabukları yiyebilmektedirler (Olsson, 2005).

2.4.1.6. pH

pH, kerevitlerin kabuk deęiřtirme ve būyūmesini etkileyen önemli bir faktördür. Asitli gōllerde kalsiyum metabolizması bozulur, buda kabuęun sertleřmesini engeller. Dolayısıyla kerevitler predatōrlere karřı savunmasız kalırlar ve kanibalizm riski artar. Yetiřkin kerevitler kısa sūreli asitlięi tolere edebilir. Orta derecede asitli gōllerde kerevit populusyonunun olmaması muhtemelen ūreme yetersizlięinden

kaynaklanmaktadır (Holdich, 2002; Diler, 2013). *A. astacus* türünde 7,0-8,7 arasında değişen değerler optimum pH limiti olarak kabul edilmektedir. pH değerinin 5,5'in altına düşmesi durumunda çoğu kerevit türünün asidik sudan negatif olarak etkilendiği, fakat türler arasındaki hassasiyette farklılıkların olduğu saptanmıştır. İsveç göllerinde pH'nın düşmesi ile birlikte *A. astacus*'un bulunma oranı düşmüş, pH 6'dan düşük olan göllerde nadiren görülmüştür. Asidik göllerde, doğrudan öldürücü etki, üreme yetersizliği, hastalıklara direncin azalması, predasyon ve kanibalizme hassasiyetin artması gibi bazı faktörler, kerevit popülasyonunun azalmasına neden olmuştur (Holdich, 2002; Kozak vd., 2015). Asidite kerevitlerde kalsiyum alımını engellemektedir. Dış iskeletin kalsifikasyonu ve sertliğinde önemli derecede azalmaya neden olabilir. Asidifikasyon, diğer elementlerle etkileşimleri sonucu, kerevitler için toksik hale gelebilen, Hg ve Mn gibi eser metallerin alımının artmasına da yol açabilir (Olsson, 2005; Kozak vd., 2015).

pH ayrıca göllerdeki oksijen miktarını ve nispeten yüksek oksijen gereksinimi olan türleri etkileyebilir, örneğin *A. astacus* ve *P. leniusculus* türlerinde asidik göllerde yüksek mortaliteye neden olabilir. Bununla birlikte, bazı türler ekstrem koşullar ile diğerlerinden daha iyi başa çıkabilir. Örneğin, *P. leniusculus*'un yumurtadan çıkışı *A. astacus* türüne göre daha erkendir ve yavru dönemlerinde de daha hızlı bir büyümeye sahiptir ve bu nedenle, sert kış koşullarına *A. astacus*'tan daha iyi adapte olabilirler (Olsson, 2005).

2.4.1.7. Organik ve yabancı madde

Tarımsal bölgelerde, kerevitler çok çeşitli organik kirleticilere maruz kalmaktadır. Organik maddeler zamanla asidik özellik gösterir ve buda doğal kerevit popülasyonlarını olumsuz yönde etkiler (Holdich, 2002). Fenoller, pestisidler, poliklorlu bifeniller (PCB) ve ağır metaller gibi kirletici maddeler kabuk değiştirme sıklığı ve büyümenin azalmasına neden olur. Su ortamında bu yabancı maddelerin yüksek konsantrasyonlarda bulunması kerevitlerde genellikle ölümlere neden olmaktadır (Kozak vd., 2015). Bakır, demir, alüminyum ve manganez gibi elementler kerevit yetiştiriciliğini etkilemektedir. Demirin 0.5mg/lt'nin üzerinde olması kerevitlerin solungaçlarında problemlere neden olur. Bakır elementinin fazla olması beslenmeyi durdurmaktadır (Diler, 2013).

2.4.2. Habitat

Kerevitler, göl, gölet ve akarsu habitatlarında yaşarlar. Çok derin olmayan kıyıları bol bitkili, taşlıklı, balıksız suları tercih ederler. Genellikle çakıllı diplerde, yassı taşların altında veya sığ çukurların içinde barınırlar (Kumlu, 2001). Küçük kerevitler, yetişkin kerevitlere göre genellikle bol barınaklı sığ bölgeleri tercih ederler. Ilıman bölgelerde kerevitlerin (yuva yapmayanlar olarak bilinen türler) bolluğu, genellikle sığınakların yoğunluğuyla ilişkilidir. Taşlık ve makrofitler gibi heterojen habitatlar kerevitler için barınak oluşturur ve yavru kerevitler üzerindeki predatör baskısını azaltabilirler. Ayrıca, yetişkin kerevitlerde kabuk değiştirme sırasında kanibalizm riskini minimuma indirirler (Holdich, 2002; Diler, 2013).

Nehirlerde taşların altına saklanan kerevitlerin büyüklüğü taşların boyutuyla ilişkilidir. Bu, kerevitlerin stoğa katılma ve hayatta kalmaları için habitatlarında irili ufaklı taşların olması gerektiğini düşündürmektedir. Akarsu taşkınlarını tolere etme yeteneği, türler ve yaşam evreleri arasında farklılık gösterir. Taşkın sırasında özellikle yavrular sürüklenmeye eğilimlidir ve ağaç köklerinin bulunması *A. pallipes* için önemli bir koruma sağlar. Bu nedenle, besin (yaprak döküntüleri) kaynağı olarak ve fiziksel koruma sağlaması açısından ortamda ağaçların bulunması kerevitlerin bollukları üzerinde olumlu etkiler yapar. Çoğu Astasidlerin aksine, Cambaridae ve Parastacidae familyarına ait kerevit türleri yuvalarda geçici habitatlarda hayatta kalmaya adapte olmuşlardır. Bitki varlığı, *P. clarkii* gibi yuva yapan türlerin bollukları üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Bitkiler besin, barınak ve düşük oksijen kontrasyonu döneminde de atmosferik oksijene kaçış olanağı sağlar (Holdich, 2002).

2.4.3. Besin ve beslenme

Besin ve beslenme, büyüme oranını, hayatta kalmayı, kabuk değiştirme ve başarılı üremeyi etkileyen önemli bir faktördür. Alınan besin miktarı çoğunlukla su sıcaklığı ve çözülmüş oksijen içeriğinden etkilenir. Yeterli miktarda uygun besin yoksa, kerevitlerin büyümeleri azalır ve kanibalizm nedeniyle yüksek kayıp tehlikesi vardır. Ayrıca, besin bileşimi de büyüme ve gelişme için önemlidir (Kozak vd., 2015).

Kerevitlerin ağız yapısı ve yürüme bacakları özellikleri nedeniyle tutma ve yakalama yeteneği, çok çeşitli besin parçalarını tüketmelerini sağlamaktadır. Yavru kerevitler suyu süzerek ve alg kazıma ile beslenme özelliğine sahiptirler. Kerevitler büyüdükçe, detritus, ince yapılı ve dayanıklı bitkileri tüketebilme ve aynı zamanda büyük gastropod kabuklarını parçalama yeteneği kazanırlar. Kerevitler genellikle nokturnal aktivite periyoduna sahiptirler ve besinlere karşı yönelmeleri mekanoreseptörler ve kemoreseptörlerle gerçekleşir. Hayvansal organizmalar (örn. amino asitler) ve bitkiler (örn. karbonhidratlar) tarafından bileşiklerin ortama bırakılması kerevitleri beslenmeye teşvik eder (Holdich, 2002).

Kerevitlerin çok çeşitli besin maddelerini kullanabilme yeteneği kanıtlanmıştır. Mide içeriği verileri çoğu kerevit türünün omnivor olduğunu göstermiştir. Detritus, alg, makrofitler, omurgasızlar (kendileri dahil), balık ve balık yumurtaları gibi çok çeşitli besin maddeleri ile beslenirler. Besin tercihleri bireyin yaşına ve büyüklüğüne göre farklılıklar gösterebilir. Yavru kerevitler, besin olarak genellikle zooplanktonik organizmaları (su piresi, rotifer vb.) tercih ederken, yetişkin kerevitler bitkisel kaynaklı beslenme eğilimindedirler (Huner, 1994). Alderman ve Wickins (1990) kerevit yavrularının, özellikle su bitkileri arasında yaşayan krustaselerle beslendiğini, yetişkinlerin besin kaynaklarının %70'inin bitkisel orijinli olduğunu bildirmişlerdir. Yeşil bitkilerle beslenen kerevitlerin asıl besin olarak yararlandıkları kaynaklar dekompoze olmuş bitki saplarının üzerinde bulunan bakteri, mantar ve diğer mikroorganizmalardır (Huner, 1994).

Kerevitlerde hızlı büyüme; predatörlere karşı hassasiyet, olgunlaşma zamanı, dişilerin yumurta sayısı, erkeklerin çiftleşme olasılığı ve agresif etkileşimlerde başarıyı etkileyerek sağlıkları üzerinde pozitif etki yapar. Bu yüzden, kerevitlerin büyüme oranlarının yüksek olması için enerji alımlarının maksimum olması gerekmektedir. Kerevitler, kullanımı kısa zaman gerektiren enerjisi yüksek besinleri tercih ederek ve sindirim süreçlerini engelleyebilecek anti-besin bileşiklerince zengin olan besinlerden kaçınarak enerji alımını artırabilirler (Holdich, 2002).

DeneySEL çalışmalar, kerevitlerin optimal gelişmesi için protein gereksiniminin en az %30-35 olması gerektiğini göstermiştir. Bu oran, kültürü yapılan ve omnivor beslenme özelliğine sahip karideslere benzerlik göstermektedir. Fakat predatör balıkların

gereksinimlerine göre oldukça düşük bir orandır. Kerevitlerin doğal besin kaynaklarındaki protein içeriklerinin çok değişken olduğu, genellikle plankton (kuru bazda ortalama %60) ve makro-omurgasızlarda (%57) yüksek, ama bitki ve geniş bir dağılım gösteren *Cladophora glomerata* gibi filamentöz alglerde (%32) nispeten düşük olduğu bildirilmiştir (Holdich, 2002).

Sindirim etkinliği, besin kaynağının ne kadar iyi asimile edildiğini belirlemede önemlidir ve dolayısı ile sindirilebilirlik besin kaynağının yararlılığının iyi bir göstergesidir. Bitkilerde sekonder metabolitlerin bulunması (taninler gibi protein bağlayıcı fenolik maddeler) kerevitlerde sindirim sürecini olumsuz olarak etkilerken, hayvansal kaynaklı proteinler kerevitler tarafından iyi sindirilebilmektedir. Ayrıca, bazı bitkilerin lif oranı yüksektir ve bu yüzden, hayvansal olmayan besin kaynaklarının sindirilebilirliği büyük ölçüde değişir. Bu nedenle, kerevitlerin makro omurgasızları tüketmesi ve hayvansal olmayan gıda maddelerinin tüketimi açısından seçici olması gerekmektedir (Holdich, 2002).

DeneySEL çalışmalar, kerevitlerin detritus ve birincil üreticilere dayalı beslenmeye nazaran hayvansal besinlerle beslenmesinin yaşama ve gelişimlerini artırdığını ortaya koymuştur. Birçok çalışma, kerevitlerin bazı makro omurgasızlar ve makrofitleri tüketmede seçici davrandıklarını göstermiştir. Makro omurgasızların seçici tüketiminin, enerji içeriğindeki farklılıklarından ziyade, kullanım süreci, karşılaşma oranı ve makro omurgasızların davranışsal özellikleri ile ilgili olduğu görünmektedir. Kolayca yakalanabilen, protein açısından zengin fakat anti besin bileşikleri açısından düşük olan primer üreticiler kerevitler tarafından en fazla tercih edilen besinlerdir (Holdich, 2002).

Kerevitlerde besin tercihleri ve farklı besin kaynaklarının önemini tanımlamak için ne mide içeriği verileri ne de deneysel çalışmalar tek başına yeterli değildir. Midelerindeki besin öğelerinin doğru bir şekilde tanımlanması, mide içeriğinin öğütülmesinden dolayı oldukça zordur. Örneğin, kerevitler gastropodları kolaylıkla tüketebilirler fakat kabuklarını sindiremezler (Diler, 2013). Ayrıca, mide içeriği verileri sadece kerevitlerin yakın zamandaki, en son beslenme faaliyetleri hakkında bilgi verir. Öte yandan, laboratuvar denemeleri kerevitlerin doğal ortamdaki beslenmesini yansıtmayabilir. Doğal ortamda kerevitler beslenme davranışlarını

etkileyen rekabetçiler ve predatörlere maruz kalırlar. Ayrıca, enerji alımıyla ilgili olmayan besinlerin önemini ortaya koymak için laboratuvar denemeleri çok kısa, uzun dönemde ise büyüme ve hayatta kalma için esas olabilir (Holdich, 2002).

Mide içeriği ve laboratuvar denemelerine rağmen, kararlı izotop oranlarının analizi akuatik besin ağında trofik seviyeyi belirlemede başarıyla kullanılmıştır. Kararlı izotop oranları, sindirilmiş besin kaynakları konusunda da bilgi verir. Son zamanlarda, kerevitlerin enerji kaynaklarının önemini ve doğal besin ağlarında besleyici durumunu değerlendirmede, kombinasyon halinde karbon ve nitrojen izotop analizi kullanılmıştır. *Orconectes* cinsi kerevitlerde enerji kaynaklarını değerlendirmek için kararlı izotop oranlarının analizi, bitki detritusların *Orconectes punctimanus*'un hem yavru hem de yetişkin bireylerinin mide içeriğinde bol (%80'den fazla) bulunduğunu, hayvansal kaynaklı besinlerin ise oldukça düşük oranda (%11) bulunduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak, detritusun yetişkin kerevitler için %88, yavru kerevitler için %84 oranında katkı sağladığı belirtilmiştir. Hayvansal kaynaklı besinler ise yetişkinlerde %5, yavrularda %11 katkı sağlamıştır (Holdich, 2002; Diler, 2013). İzotoplarla yapılan diğer çalışmalarda kerevitlerin temel olarak enerjiyi hayvansal besin kaynaklarından daha az oranda detritustan ve primer bitkilerden aldığı belirlenmiştir (Diler, 2013).

Detritus ve bentik organizmaların orijinleri bunların besin değerini önemli derecede etkilemektedir. Başlangıçta, bitki detrituslarında karbon azot oranı yüksektir. Fakat proteince zengin olan mikroorganizmalar detritusları kolonize ettiği için bu oran düşer ve mikrobiyal zenginleştirilmiş detrituslar kerevitler için daha iyi sindirilebilir besin kaynağı olabilir. Ayrıca, dekompozisyon sırasında anti besin bileşikleri kaybolabilir ve sindirilebilirlik oranı daha da artar. Örneğin, *P. clarkii*'nin 15 günlük bir bitki (*Egera densa*) detritusunu taze bitkiden daha iyi sindirebildiği rapor edilmiştir. Çoğu makrofitlere nazaran alglerin anti besin bileşikleri ve lif oranı düşüktür ve dolayısıyla kerevitler tarafından daha iyi sindirilir (örneğin, makroalg Chara). Bu nedenle Chara, bazı sistemlerde yetişkin kerevitler için enerjik değere sahiptir ve aynı zamanda en fazla tercih edilen makrofitlerdendir. Mikroalgler oldukça sindirilebilir olmasına rağmen, enerji kaynağı olarak yetişkin kerevitler için daha az önemlidir. Ancak, yavru kerevitler için enerji kaynağı olarak mikroalgler önemli olabilir. Ayrıca, makrofitler ve algler temel mineralleri ve kerevitlerde doğal pigmentasyon için gerekli olan

karotenoidler gibi nütrientleri sağlarlar. Bu nedenle, kerevitlerin optimal yaşama ve gelişimleri için primer üreticiler gereklidir (Holdich, 2002).

2.4.4. Rekabet

Besin ve habitat rekabeti, kerevit türlerinin dağılımı, bolluğu ve üretimi üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Göllerde verimlilik artışı, bireysel büyüme oranları ve olgunlaşma üzerinde pozitif bir etkiye sahiptir. Besinsel verimlilik aynı zamanda kerevit bolluğuyla ilişkilidir (Diler, 2013). Ayrıca üretim sistemlerinde kerevitlerin yoğun bulunması ve habitatın uygun olması durumunda besin rekabeti oldukça önemlidir. Kerevit populasyonlarında besin için tür içi rekabet nedeniyle düşük büyüme ve yaşama oranları ortaya çıkar. Böyle durumda proteince zengin olan besinlerin ilavesi, büyüme ve yaşama oranında ve yetişkin bireylerin yumurta verimliliği üzerinde olumlu etkiler (Diler 2013). Bazı habitatlarda tür içi rekabet, kerevitlerin gelişmelerini, verimliliğini ve dağılım şekillerini önemli derecede etkiler. Tür içi rekabete nazaran, kerevit türleri arasındaki rekabet etkileşimi, kerevitlerin dağılımı ve bolluklarını belirlemede daha önemlidir. Yerli olmayan agresif kerevitler genellikle yerli türler üzerinde rekabet üstünlüğü sağlarlar ve habitat bozulması ve predatörlerin varlığı ile bu değişim daha da kolaylaşabilir (Holdich, 2002).

2.4.5. Kanibalizm ve predatörlük

Doğal populasyonlarda yoğunluk, besin miktarındaki değişiklikler, birey büyüklüğü ve açlık gibi faktörler kanibalizmin derecesini etkiler. Bu faktörler arasında besin yetersizliği, birçok doğal kerevit populasyonunda meydana gelen ve kanibalizme neden olan en önemli faktördür. Bu nedenle, kanibalizm alternatif besin kaynaklarının sınırlı olması durumunda kerevit populasyonlarında sık görülen bir fenomendir. Kanibalizm genellikle büyük bireylerin neden olduğu, küçük bireyler veya ya da kabuk değiştiren bireyleri daha çok etkileyen, yavruların yaşama oranlarını düşüren bir olaydır. Kanibalistik davranışlar genellikle yoğunluğa bağlı olarak ortaya çıkar. Yüksek kaliteli yem kaynakları mevcut olursa, kanibalizm minimum seviyede tutulabilir ve kerevitlerin hayatta kalma oranları arttırılabilir (Diler, 2013). Laboratuvar denemelerindeki gözlemler ve mide içeriği verilerine dayanarak, birçok doğal kerevit populasyonlarında kanibalizmin oldukça fazla görüldüğü kabul

edilmektedir. Agresif türlerden gelen kanibalizmin, kısmen daha az saldırgan türlerin azalmasından sorumlu olabileceğini gösteren bulgular vardır. Özellikle Avrupa sularına aşıl原因an *P. leniusculus* türü, *A. pallipes* ve *A. leptodactylus*'a karşı baskın bir tür haline gelmiştir (Holdich, 2002).

Kanibalizm riski dışında kerevitler, akuatik omurgasızlar, predatör balıklar, amfibiler, sürüngenler, kuşlar ve memeli hayvanlar gibi çok çeşitli predatör türlerine maruz kalmaktadır. Kerevitlerin miktarı, davranışları ve büyümeleri üzerindeki etkileri bakımından en önemli canlı predatör balıklardır. Bu avcı predatörlerin varlığı muhtemelen kerevitlerde görülen gece aktivitesi biçimine neden olur. Göllerde ve akarsulardaki kerevit ve predatör balıkların bollukları arasında negatif bir ilişki vardır. Kerevitlerin dağılımı ve predatör balıklar arasındaki ilişkinin klasik bir örneği İsveç göllerindeki yılan balıkları ve *A. astacus*'dur. Kerevit populasyonları üzerinde predatör balıklarının etkisi, habitat karmaşıklığı, balık büyüklüğü, kerevit büyüklüğü ve kerevitin predatör balıkları tanıması ve davranışsal tepki verme yeteneği gibi çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedir. Boyutlarının küçük ve dış kabuklarının daha az sert olmasından dolayı, kerevit yavruları predatör balıklara karşı en savunmasız yaşam evresine sahiptir. Fakat büyüdükçe bu boyutlarla sınırlı olan predatörler tarafından tüketilmesi daha düşük bir ihtimaldir. Deneysel çalışmalar, predatör balıkların yavru kerevitlerin bolluğunu azalttığını fakat habitat heterojenliğinin balık-kerevit etkileşiminde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Deneysel bir çalışmada predatör levrek balıkları yavru kerevitlerin yaşama oranlarının azalmasına neden olmuştur. Ancak bitki varlığı bu etkiyi azaltmıştır. Ortamda iri çakılların bulunması, yavru kerevitler için saklanma ortamı oluşturması ve predasyon riskini azaltması bakımından önemlidir. Predatör balıkların bulunması ve barınakların sınırlı olması, kerevitlerin tür kompozisyonunu olumsuz etkilemektedir. Aşıl原因an agresif ve istilacı türler (*O. rusticus* ve *P. leniusculus* gibi), yerli türleri barınaklardan çıkartarak onları predatör balıklara karşı savunmasız bırakmaktadırlar. Ayrıca, anti predatör davranışlar ve büyüme oranlarındaki farklılıklar predatör balıklara karşı hassasiyeti (korunmasızlığı) daha çok etkileyebilir ve yerli türlerin değişimini hızlandırır (Holdich, 2002).

Kerevitlerin kanibalistik özellikleri yetiştiricilikte ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Kanibalizm kabuk değişirme sıklığına bağlı olarak artar. Bu dönemde sert kabuklu yavrular yumuşak kabuklu yavruları önemli ölçüde tüketir. Besin ve barınak

yetersizliği kanibalizmi artırdığı için genç yavruların iyi beslenmesi gerekir (Huner, 1994; Diler, 2013).

2.4.6. Üreme

Kerevitlerde üreme, yaşadıkları suların kimyasal ve fiziksel özelliklerine, iklime, sıcaklığa ve besin kaynağına bağlı olarak değişir. Cinsel olgunluğa ulaşma süresi türlere göre oldukça farklılıklar gösterir. Cambarid kerevitlerin cinsi olgunluğa ulaşabilmesi çevresel koşullara bağlı olarak 3 ila 9 ay içinde olabilir. *Procambarus* türleri için bu sürenin 5-6 yıl olduğu ifade edilmektedir. Astacid kerevitlerde ise cinsel olgunluk 2-3 yaşlarında gerçekleşir (Kumlu, 2001). Dişiler yılda bir kez ve genelde 200-400 adet yumurta verir (Köksal, 1988). Çiftleşme su sıcaklığının 7-12°C olduğu Ekim-Kasım aylarında olmakta ve bundan 4-6 hafta sonra sıcaklığın 6-11°C olduğu dönemde yumurta bırakma işlemini gerçekleşmektedir. Yumurtaların kuluçka dönemi kış ve ilkbahar boyunca sürer. Dişiler sıcak iklimlerde yumurtalarını 5-6 ay boyunca, soğuk iklimlerde ise 6-7 ay veya daha fazla süre taşırlar. Yumurtanın doğal koşullardaki gelişim süreci 150-210 gün veya daha fazla olabilir (Köksal, 1988).

2.4.6.1. Çiftleşme

Kerevitlerde çiftleşme periyodu, cinsel olgunluğa erişmiş yetişkin bireylerin aktif olarak eşlerini aramaları nedeniyle artan aktivite ile karakterize edilir. Davranış hormonal olarak kontrol edilir ve bilhassa su sıcaklığı ve fotoperiyot gibi çeşitli uyaranlardan etkilenir. Feromonların çiftleşme başlangıcı üzerindeki etkisi göz ardı edilemez. Çiftleşme mevsimi boyunca, erkek kerevit sürekli olarak dişiyi izler. Çiftleşme evresinde çok hırçınlaşan erkeklerin, dişileri sürekli olarak tedirgin edip yaraladıkları, extremitelerini kopardıkları ve çoğu zaman ölümlerine bile sebep olabildikleri belirtilmektedir. Çiftleşme sırasında erkek, olgun spermatotopları, pereopodların beşinci çiftinin kaidesinde yer alan üreme kanallarının açıklıklarından çıkarır ve spermatotopları gonopodlar (modifiye olmuş 1. ve 2. çift pleopod) vasıtasıyla dişinin ventral tarafına ovidukt açıklıklarının (3. çift pereopodların tabanı) en yakınına yapıştırır (Kozak vd., 2015).

2.4.6.2. Yumurtlama ve dölleme

Dişinin üçüncü çift pereopodların tabanında yer alan yumurtalıktan yumurtlama, çiftleşme ve diğer etkilerin yanı sıra, özellikle yukarıda bahsedilen sıcaklık düşüşü ve gün ışığının kısılması ile uyarılır. Çiftleşme ve yumurtlama arasındaki süre, günler ile haftalar arasında değişebilir. İlginç bir gerçek, çiftleşmemiş dişilerde bile yumurtlamanın gerçekleşmesidir. Bu durumda hormonal ve abiyotik faktörler yumurtlamanın baskın uyarısını temsil eder (Kozak vd., 2015).

Çiftleşmeden sonra dişiler döneme bağlı olarak yumurtalarını korur. Yumurtlamadan önce, dişi alt gövdesini, özellikle de pleopodlarını temizler. Yumurtlama genellikle gece boyunca gerçekleşir ve iki ila üç saat sürer. Dişi abdomeninin arka kısmını ön kısmın altına doğru kıvrır, böylece yumurta bırakacağı kapalı bir boşluk oluşturur. Bu sırada, abdomenin ventral tarafında yer alan glair bezlerinden yapışkan bir sıvı salgılanır. Oviduktan bırakılan yumurtalar, dişinin pereopodları vasıtasıyla, pleopodlar ve abdomenin hareketleriyle bu salgı karışır. Spermatozorların zarları çözülür ve sonuç olarak yumurtalar döllendir. Dölleme kerevitin vücudunun dışında gerçekleşir. Abdomenin daha ritmik hareketi sayesinde, döllenen yumurtalar dişinin pleopodlarına yapışır (Kozak vd., 2015).

2.4.6.3. İnkübasyon

Kerevitlerin inkübasyon dönemi, türlere ve su sıcaklığına göre değişmektedir. İnkübasyon süresi, *A. astacus* ve *Austropotamobius torrentium* türlerinde 8-9 ay, *P. leniusculus*'da 166-280 gün, *Orconectes limosus*'da 37-56 gündür. *A. leptodactylus* türünün inkübasyon süresi sıcak iklimlerde 5-6 ay, soğuk iklimlerde ise 6-8 ay sürmektedir. Yumurtaların inkübasyon evresinin tümü dişinin abdomeninin altında gerçekleşir. Döllenen yumurtalar bir süre sonra dejenerasyona uğrayarak düşer. Döllenen yumurtalar herhangi bir tabiat olayı veya yapay ayırma olmadığı müddetçe üzüm salkımı şeklinde, kış mevsimi boyunca annenin kuyruk bölgesi altındaki yüzme ayaklarına asılı olarak gelişmeye devam ederler (Yazıcıoğlu, 2012). Yumurtlamadan sonra ilk birkaç gün içinde çoğu zaman dişinin rahatsız edilmesinden kaynaklanan zayıf bağlanma nedeniyle büyük bir kayıp tehlikesi söz konusudur. Ayrıca yumurtlama sırasında da kayıplar olabilmektedir. Yumurta bırakma işlemi

sırasında anacın gösterdiği sert hareketler nedeniyle bazı yumurtalar yapışkan sıvıya rağmen zarar görebilmektedir (Kozak vd., 2015).

Dişi, pleopodlarında taşıdığı yumurtalarını inkübasyon süresince temizler ve ölü yumurtaları uzaklaştırır. Ayrıca predatörlere karşı da korumaktadır. İnkübasyon esnasında, pleopodları sayesinde sürekli olarak yumurtalarını havalandırır. Pleopodların bir görevi de yumurtaların devamlı taze sularla temas etmesini sağlamak ve oksijen ihtiyacını karşılamaktadır. Koşullara bağlı olarak, daha fazla taze oksijenli su teminini sağlayan pleopod hareketinin sıklığını artırabilir. Dişiler kendi yumurtasını yemezler, ancak kuluçkada olmayan dişilerde olduğu gibi erkekler, diğer dişilerin (kendi türlerinin bile) yumurtalarını yiyebilirler (Kozak vd., 2015).

2.4.6.4. Fekondite

Fekondite temel üreme özelliklerinden üremenin en önemli göstergesi olarak bir kerevit popülasyonunun araştırılmasında kullanılan önemli bir parametredir. Fekonditenin birkaç göstergesi vardır. Potansiyel (ovarian) fekondite ovaryumlardaki oosit sayısı ile tanımlanır. Pleopodal fekondite, annenin pleopodlarına başarıyla bağlanmış olan döllenmiş yumurtaların sayısı ile verilir. Pleopodal fekondite genellikle daha değişken ve doğal olarak ovarian fekonditeden daha düşüktür. Bu, oositlerin yetersiz ovülasyonu, tüm yumurtaların döllenmemesi, yumurtaların iyi bir şekilde bağlanmamasından kaynaklanan kayıplar ve inkübasyon sırasındaki kayıplara bağlı olabilir. Pleopodal fekondite, yumurta inkübasyonunun farklı aşamalarında ölçülebilir. Bu nedenle, literatür kaynaklarında belirtilen fekondite değerleri arasında nispeten büyük farklılıklar bulunabilmektedir. Dişilerin pleopodal fekonditesi, belirli bir kerevit popülasyonunun durumuyla ilgili daha kesin bilgiler sağlar. Dişilerin ovaryan ve pleopodal fekonditesi aynı zamanda dişinin vücut uzunluğu ile pozitif ilişkilidir. Dişilerin gerçek fekonditesi, ilk kabuğunu değiştirerek II. döneme geçen ve anneden ayrılarak bağımsız hale gelen yavru sayıları ile tanımlanmaktadır (Kozak vd., 2015).

Kerevitlerin yumurta verimliliği türe, bireye, beslenmeye ve çevresel faktörlere göre değişmektedir. *A. astacus* 80-200, *P. leniusculus* 200-400, *A. torrentium* 40-70 adet yumurta verebilmektedir (Kozak vd., 2015). *A. leptodactylus* türü bütün yerli Avrupa

kerevitleri içersinde en verimli olan türlerden biridir. Bu türün pleopodal fekonditesi 200 ila 400 yumurtaya ulaşır. Vücut büyüklüğü ile ovaryum ve pleopodal yumurta sayıları arasında doğrusal bir orantı vardır. Örneğin, Harlıoğlu vd. (2004), karapaks uzunluğu 47-76 mm arasında değişen dişilerdeki pleopodal fekonditenin 306 olduğunu ve 588 olarak tespit edilen maksimum yumurta değerine karapaks uzunluğu 72 mm olarak ölçülen bir dişide erişildiğini belirtmişlerdir. Balık vd. (2005), Eğirdir Gölü kerevitlerinin ortalama fekonditesini 209 yumurta olduğunu rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, dişiler arasında önemli bir değişiklik gözlemlenmiştir (1 ile 570 yumurta arasında değişen değerler). Yine de, 700 ila 800 yumurta arasında değişen fekonditeye sahip dişilerin kanıtlarını sağlayan kayıtlar da bulunmaktadır (Köksal, 1988; Kozak vd., 2015).

2.4.7. Büyüme ve kabuk değiştirme

Kerevitlerin büyümesi tipik olarak bir dizi kabuk değiştirme ve intermolt periyodu ile karakterizedir. İç fizyolojik büyüme sürekli iken, vücut ağırlığında ve boyda hızlı bir artış, sadece kabuk değiştirme sonrası dönemde meydana gelir. Büyüme oranı kerevit türüne, cinsiyetine ve bireyin büyüme kabiliyetine göre değişir. Kabuk değiştirmeden sonraki artışın yanı sıra kabuk değiştirme sayısı da çeşitli faktörlerden etkilenir. Bunlar abiyotik (sıcaklık, fotoperiyod, su kimyası vb.) ve biyotik faktörleri (popülasyon yoğunluğu, besin, zemin yapısı, predasyon) içerir. Genel olarak, ilerleyen yaşla birlikte kabuk değiştirme sıklığının ve yüzde artışının azalması nedeniyle büyüme oranının azaldığı belirtilmektedir (Kozak vd., 2015).

Bazı vücut bölümlerinin diğer bölümlerinden daha hızlı büyümesi nedeniyle kabukluların büyümesi izometrik veya allometrik olabilir. Özellikle yavrularda izometrik büyüme ile karşılaşılmaktadır. Kerevitlerde, abdomen ve kısıkaçların allometrik büyümesi, cinsel dimorfizmin işaretlerinden birini temsil eder. Birçok kerevit türünde, genç bireylerde ve erkeklerde abdomen büyümesi ağırlıklı olarak izometrik iken, dişilerin abdomeni cinsel olgunlaşma öncesi dönemde pozitif allometri gösterir. Diğer taraftan, kısıkaçların büyümesi, yavru bireylerde ve dişilerde izometriktir, erkeklerde ise erginlik öncesi kabuk değiştirme sırasında allometri derecesi artar. Büyümedeki bu farklılık aynı zamanda ticari bir etkiye de sahiptir.

Çünkü dişilerin aksine, erkeklerin kısıkaçlarında daha fazla ve abdomenindeki aksine daha az kas vardır (Kozak vd., 2015).

Kerevitlerin dış iskeleti (kabuk) esas olarak kitinden oluşmuş ve özellikle kalsiyum karbonat ve ayrıca kalsiyum fosfat ile kaplanmıştır. Bu koruyucu yapı, çok çeşitli su ortamlarının kontrolünü ele geçirmelerini sağlamıştır. Bununla birlikte, bu sert dış iskelet, kerevitlerin büyümelerinde belirli bir sınırlama getirmektedir. Dış iskelet, bireylerin kabuk değiştirmeleri arasındaki her dönemde sadece belirli bir vücut boyutlarına ulaşmasına izin verir. Dış iskeletin büyüklüğü, kerevitin vücut büyüklüğüne nazaran yetersiz kalmasının ardından, eşsiz bir kabuk değiştirme prosesi meydana gelir. Bu süreç kerevitlerde yaşamlarının en zor dönemidir. Kabuk değiştirme sürecine hazırlanma ve bu süreci atlatmada hayatlarının önemli bir bölümünü harcarlar. Kabuk değiştirme, bir dizi fizyolojik, biyokimyasal ve en önemlisi anatomik değişikliklerin meydana geldiği bir olaydır. Aynı zamanda, spesifik davranışları, sınırlı besin tüketme ve kabuk değiştirme sürecinde başarısızlık tehlikesi ya da doğal düşmanların ve hatta diğer kerevitlerin predasyonu gibi sorunlar nedeniyle yüksek riskli bir dönemdir (Kozak vd., 2015).

Kabuk değiştirme sürecinde ana düzenleyici sistem endokrin sistemdir. Endokrin sistemin aktivitesi, iç faktörlerin (beslenme ve sağlık durumu) yanı sıra dış faktörlerden (sıcaklık, fotoperiyod, suyun kimyasal kompozisyonu, vb.) etkilenir. Kabuk değiştirme süreci, X-organı tarafından üretilen hormonların, sinüs bezi ve Y-organı ile birlikte oluşturduğu fizyolojik değişikliklerden kaynaklanır. X-organı ve sinüs bezi birlikte kabuk değiştirme sürecini inhibe eder. X-organı ve sinüs bezi kerevitlerin göz saplarında bulunur ve omurgalıların hipofizine benzer. Kerevitlerde göz saplarının çıkarılması, kabuk değiştirme sıklığında değişikliklere neden olur. Çift Y-organı özofagus ve mandibular organın arkasında yer alır ve dorso ventral kasla kaplıdır. Y-organı esas olarak kabuk değiştirmeden önceki dönemde bol miktarda bulunan salgı vezikülleri ve çok miktarda mitokondri ile steroid sentezleyen tipik hücre elemanlarına sahiptir. Y-organı ekdizon hormonunu ve türevlerini sentezler. Bu hormonlar steroidaldir ve bireysel vücut parçalarının somatik büyümesini ve rejenerasyonunu düzenlerler. Tüm kabuk değiştirme sürecinde enerji talebi olmakta ve gerekli enerji hepatopankreas yağ rezervlerinden karşılanmaktadır (Kozak vd., 2015). Kerevitlerin kabuk değiştirme süreci (ekdizis) hem yetişkin hem de yavru

dönemlerinde aynıdır (Holdich, 2002; Kozak vd., 2015). Kabuk değiştirme süreci; dış iskeletin değişimi için hazırlık (preecdysis), dış iskeletin değişimi (ecdysis), dış iskelet değişimi sonrası dönem (postecdysis) ve dış iskelet değişimleri arasındaki süre (interecdysis) olmak üzere dört temel aşamaya ayrılabilir (Kozak vd., 2015).

Doğal koşullarda, ergin kerevitlerde kabuk değiştirme senkronizasyonu meydana gelir. Bu, belirli bir bölgedeki kabuk değiştirmiş (daha da savunmasız) kerevitlerin karşılıklı kanibalizme karşı belirli bir koruma derecesi sağlar. Değişimden önceki aşama (preecdysis), örneğin *A. astacus* türünde 20 ila 25 gün sürer. Bu dönemde kerevitler besin alımlarını azaltırlar, daha az aktiftirler ve çoğu zaman saklanırlar. Oksijen talepleri artar ve daha fazla miktarda su dokulara girer. Dış iskeletten yavaş yavaş mineral maddeler salınır ve bu da çoğunlukla sefalotoraks kenarlarında görünen kütikülün incilmesi ve yumuşaması ile sonuçlanır. Kitinojen tabakaların epidermal hücrelerinin aktivitesi sayesinde, kerevitlerin dış iskeletinden kalkerli tuzlar yavaş yavaş elimine olur. Toplamda, minerallerin yaklaşık %10'u kütikülden uzaklaşır ve bu mineraller hemolenf yoluyla gastrolitlere geçer. Gastrolitler, kütikül ile foregut epidermisi arasında depolanan, mavimsi beyaz disk biçimli çift cisimlerdir. Fonksiyonları esas olarak hemolenften kalsiyumlu bileşikleri kalsiyum karbonat formunda biriktirilmesini içerir (Kozak vd., 2015). Kabuk değiştirmeden önce, gastrolitler yaklaşık 10 mm'ye kadar büyüyebilirler. Kabuk değiştirmeden hemen sonra, gastrolitler foregut lümenine iner ve orada yavaş yavaş çözünür ve çözünen gastrolitlerin muhteviyatı çoğunlukla bağırsak epiteli ve hepatopankreas tarafından resorbe edilir (Holdich, 2002; Kozak vd., 2015). Resorbe edilen kalsiyum böylece hemolenf yoluyla kutiküler epiteline transfer edilir ve yeni kabuğun sertleşmesi için kalsiyum kaynağı olarak kullanılır (Holdich, 2002).

Kerevitlerde kabuk değiştirme (ecdysis), dış iskeletin sefalotoraks ve karın arasındaki dorsal tarafının ayrılması ile başlar (Kozak vd., 2015). Önce sefalotoraksı çıkarırlar ve bundan sonra, keskin hareketlerle, abdomeni, kısıkaçları ve eski dış iskeletten diğer uzuvlarını çıkarırlar. Bu dönemde kerevitin bedeni yumuşak ve hassastır. Bu nedenle, kerevitler saklanma yerlerine girerler ve bu safhada karşılıklı temastan kaçınırlar. Kabuk değiştirme süresi birkaç dakikadan fazla uzun sürmez, ancak istisnai durumlarda birkaç saat sürebilir ve tüm kabuk değiştirme döngüsünde en zorlu dönemdir. Dış iskeletin tam bir değişimi, tüm ektodermal vücut kısımlarından (gözler,

anten ve antencikler, solungaçlar, mide ve rektum) kütikülün çıkarılmasını kapsar. Atılan eski kütikülün altında, hala yumuşak olan yeni katmanlar vardır. Kabuk değiştirme işlemi sırasında, bazı ekstremiteler çoğu kez kaybolur. Herhangi bir sağlıksızlık durumunda ya da dış ortamdaki uygun olmayan koşullar, kabuk değiştirme sırasında komplikasyonlara neden olabilir ya da başarısız kabuk değişimi sonucu bireyler ölebilir (Kozak vd., 2015).

Kabuk değiştirmeden sonraki periyotta (the postecdysis), öncelikle kalsiyum başta olmak üzere mineral maddelere duyulan ihtiyaç oldukça fazladır. Kabuk değiştirmeden sonra, hepatopankreas ve gastrolitlerden önemli vücut kısımlarının (kıskaçlar, yürüme bacakları, mandibulalar maksilla, maksilla uzantıları ve mide) rekalsifikasyonunu sağlayan rezerv maddeler salınır. Kerevitler bazen eski dış iskeletlerini yiyerek mineral ihtiyacını da dengelerler. Remineralizasyon, dış iskeletin ilk olarak kitin ile sertleştirildiği ve bundan sonra kalsifiye olduğu anlamına gelir. Dış iskeletin sertleşmesi sırasında kerevitler büyümeye devam eder. Yiyecek alımının hızlı bir şekilde başlamasından dolayı ağız kısımlarının yeniden rekalsifikasyonu için vücut rezervleri 24 saat içinde kullanılır. Vücudun yeniden kalsifikasyonu 2-4 gün içinde tamamlanır. Bu adımdan sonra, kerevitler tekrar besin almaya başlar. Kabuk değiştirmeleri arasındaki dönemde (interecdysis), kerevitler tamamen gelişmiş kalsifiye dış iskelete sahip olurlar, besinleri standart bir şekilde alırlar ve bir sonraki döngü için yedek maddeler üretirler (Kozak vd., 2015).

Büyüme ve kabuk değiştirmeyi etkileyen faktörler abiyotik ve biyotik olarak sınıflandırılabilir. Abiyotik faktörler başlıca su sıcaklığı, suda çözülmüş oksijen içeriği, pH, su kalitesi ve habitat yapısını içerir. Biyotik faktörler ise gıda, populasyon yoğunluğu, üreme periyodu yaş durumu gibi populasyon arasındaki ilişkileri içerir. Gıda, sıcaklık ve populasyon yoğunluğu, kerevitlerin tüm yaşam döngüsünü etkileyen en önemli faktörler arasında sınıflandırılabilir, bununla birlikte, büyüme oranı, bir dizi diğer faktörlerden de (pH, çözülmüş maddelerin içeriği, beslenme durumu, vb.) etkilenebilir (Kozak vd., 2015).

Populasyon yoğunluğu, kerevitlerinde kabuk değiştirmeyi etkilediği kadar aktivite, büyüme ve hayatta kalmayı da etkiler. Populasyon yoğunluğundan dolayı, saklanma yerleri ve gıda kaynakları eksikliği ortaya çıkabilir. Bazı durumlarda, suda çözülmüş

oksijen içeriği gibi bazı su kalitesi parametreleri de bozulabilir. Öte yandan, daha fazla miktarda saklanma yeri ve besin bulunması daha düşük bir predasyon baskısı ile birlikte populasyon yoğunluğu üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Avrupa kereviti türleri genellikle yeterli miktarda ağaç kök yapısı ya da taş şeklinde saklanma yeri olan durgun veya akan suları tercih eder. Erişkin kerevitler, daha çok, yeteri kadar saklanma yeri oluşturan ağaçların batık kök sistemini ya da taş parçalarının oluşturduğu bankları ya da oyuk açabileceği yumuşak substratları kullanır. Buna karşılık, yavru kerevitler aynı zamanda bir besin kaynağı olan makrofitlerin içinde ya da büyüklüklerine göre farklı boyutlarda saklanma yeri sağlayan akarsuların sığ, çakıllı kısımlarında saklanırlar. Yavru döneminde optimum büyüme ve hayatta kalma için yeterli sayıda saklanma yeri gereklidir. Yeterince saklanma yeri olmazsa, büyüme azalır ve kerevitler arasında saldırganlık ve rekabet artar. Saklanma yeri eksikliği, kerevitleri özellikle kabuk değiştirme döneminde artan bir predasyon baskısına da maruz bırakmaktadır. Populasyon yoğunluğu kerevit türlerine, lokaliteye ve diğer birçok faktöre bağlıdır. Birçok lokalitede kerevit yoğunluğu m² başına 1 kerevitden daha düşüktür, fakat diğer yandan yoğunluğun m² başına 10 kereviti aştığı yerler de vardır (Kozak vd., 2015).

2.5. Kerevitlerde Sindirim Sistemi Fizyolojisi

Kerevitlerin sindirim sistemi, vücut boşluğunda bulunan en hacimli organ sistemidir. Üç kısımdan oluşur (Holdich, 2002).

- (1) Özofagus, mide ve ön bağırsak
- (2) Orta bağırsak, orta bağırsak kanalı ve hepatopankreas
- (3) Son bağırsak

Orta bağırsak, kör bağırsak ve hepatopankreas korumasız iken özofagus, mide ve arka bağırsak bir kutikül ile kaplıdır. Ağızdan alınan besinler özofagusun girişinde subtegumental bezleri tarafından salgılanan asidik mukopolisakkaridlerce zengin mukus ile kayganlaştırılır ve oradan mideye gönderilir. Mide aparatı ve komplekse süzme aparatları içeren mide, besinlerin çiğnenmesi ve besin moleküllerinin kimyasal parçalanması işlevini görür. Ayrıca, katı maddelerden sindirim ürünlerince zengin sıvıyı ayırıştırır (Holdich, 2002).

Kerevitler midelerinde mide taşı olarak da adlandırılan gastrolitlere sahiptir. Bunlar kardiyak midenin her iki yanında yer alır ve kalsiyum karbonat içerir. Kabuk değiştirme esnasında, eski kabuktaki kalsiyum karbonatın bir kısmı gastrolitlerde depolanır. Kabuğun değişimi sürecinde midedeki kalsiyum karbonat tekrar çözünmüş forma getirilerek ağız kısmının ve dış kabuğun oluşumunda kullanılır. Yeni kabuğun gelişmesi için gerekli olan toplam kalsiyum karbonat miktarının 1/3'ü mide, hepatopankreas ve kandan sağlanmaktadır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Hepatopankreas sindirim enzimleri ve lipid emulgatörlerini sentezler, besinleri absorbe ve metabolize eder, besin maddelerinin diğer organlara iletimini sağlar ve besin rezervelerini muhafaza eder. Ayrıca, ksenobiotiklerin detoksifikasyonuna iştirak eder ve hemosiyanin gibi kan proteinlerinin ve vitellogenin sentezinde yer almaktadır. Arka bağırsak dışkının dışarı atılmasını sağlar, bakteriyel simbiyontları barındırır, kabuk değiştirmeden sonra hızlı su alımında yer alır ve iyon ve osmoregülasyon ile ilişkili diğer fonksiyonlara sahip olabilir (Holdich, 2002).

2.5.1. Yemek borusu (özofagus), mide ve ön bağırsak

Ön bağırsak ağızdan orta bağırsağa kadar uzanmaktadır. Ağız uzantıları maksillipedlerle birlikte besinleri küçük parçacıklara ayırır. Bunlar, subtegumental bezlerden salgılanan asidik mukopolisakkaritlerince zengin mukus yardımıyla yemek borusunun girişinde yağlanır. Yemek borusu esneme yeteneği olan kaslardan oluşmuştur. Bu özelliğin büyük besinlerin alımı ve mideye iletiminde önemli işlevi bulunur (Holdich, 2002). Mide, geniş ince duvarlı kardiyak ve pilorik olmak üzere iki bölümden oluşur. Bu iki bölge gastrik mill olarak adlandırılan bir yapı tarafından ayrılır (Mazlum ve Yılmaz, 2012). Midenin kardiyak kısmı, besinlerin fiziksel ve kimyasal parçalanmasını sağlar. Pilorik kısım, sindirimi tamamlanmak üzere olan koyu kıvamlı sıvı içeren ve emilimi gerçekleştiren midenin bağırsağa yakın olan kısmıdır. Midede kaslara bağlı büyük bir kemikçik sistemi bulunur. Bu kemikçikler, kütüküllerin sertleşmiş bölgelerini kalınlaştırır ve midenin öğütücü görevini destekler. Midenin kardiyak bölgesi kahverengi bir sindirim sıvısıyla doludur. Besinler kardiyak mideye geçtiğinde koyu kıvamlı sıvıya dönüşene kadar defalarca çiğnenir ve sindirim enzimleriyle karıştırılır. Bu sıvı daha sonra kardiyak midenin altına yerleşik filtrelerce

ilk kez emilir. Besin maddeleri ikinci kez emilim için pilorik mide kesesine iletilir (Holdich, 2002).

2.5.2. Orta bağırsak, orta bağırsak kesesi ve son bağırsak

Kerevitlerin bağırsağı, pilorik mideden anüse kadar uzanan çifti olmayan bir ön sırt kesesi, kısa orta bağırsak ve uzun arka bağırsaktan oluşur. Orta bağırsak kesesi hücreleri besinleri emebilmekte ve yağ damlacıklarını depolayabilmektedir. Ancak bu organların küçük olması nedeniyle besinlerin emilimine çok fazla katkısı olmamaktadır. Bu emilim daha çok hepatopankreasın R- hücreleri tarafından yerine getirilmektedir. Son bağırsak, orta bağırsaktan birçok yönüyle farklıdır. Daha uzun olan bu bağırsak kutikuli taşıyan daha kalın duvarlı bir kas sistemine sahiptir. Orta bağırsaktaki epitel hücrelerinin mikrovillüsü yoktur ve besin emilim fonksiyonu yoktur. Kerevitlerin bağırsağı önemli ölçüde simbiyotik mikroflora barındırır. Simbiyotik bakteriler, dışkı toplarının bileşenlerini sindirir ve gerekli besinleri salgılayarak kerevitlerin beslenmesine katkıda bulunur (Holdich, 2002).

2.6. Kabuklu Su Ürünlerinde Sindirim Enzimleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

2.6.1. Sindirim enzimleri

Canlıya zarar vermeyecek şekilde, biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların uygun koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapısındaki biyokatalizörlere enzim adı verilmektedir. Bilindiği gibi katalizör, kimyasal tepkimeye girerek tepkimeyi hızlandıran ve tepkime sonunda hiçbir değişikliğe uğramadan çıkan maddedir (Dinçkaya, 1997).

Yaşamsal faaliyetlerin canlı organizmalarda sürdürülebilmesi için yüzlerce metabolik reaksiyonun gerçekleşmesi gerekmekte ve bu kimyasal tepkimelerin çoğu hücre içinde oluşmaktadır. Tepkimeler sırasında açığa çıkacak yüksek sıcaklık proteinlerin yapısını bozacağı için organizmaya da zarar verecektir. Hücredeki bu kimyasal tepkimelerin canlıya zarar vermeyecek koşullarda, düşük enerji kullanımıyla ve vücut sıcaklığında gerçekleşebilmesi ancak enzimlerin varlığı ile mümkündür (Gözükara, 1997).

Sindirim enzimleri genel olarak sınıflandırıldığında; karbonhidrat sindiriminden sorumlu olanlara karbohidraz, yağların sindiriminden sorumlu olanlara lipaz ve proteinlerin sindiriminden sorumlu olanlara proteaz adı verilmektedir. 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. 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 halinde sentezlemektedir. Aksi halde, bu enzimler sentezledikleri hücrenin proteinlerini sindirir ve bunun sonucunda kendi kendini tahrip eder. Bu proenzimlerin aktivasyonu sadece sindirim kanalı içinde gerçekleşmektedir (Gözükara, 1997).

Sindirim enzimleri, bağırsak sistemindeki sindirim oranı ve hemolenfe besin alınımı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir ve dolayısıyla organizmanın büyümesini potansiyel olarak etkilemektedir. Bu nedenle, sindirim enzimi çalışmaları, herhangi bir organizmanın besin mevcudiyetindeki dalgalanmalara adaptasyonlarını, bireylerin beslenme durumlarını, sirkadiyen ritimlere ve kabuk değiştirme döngüsüne veya gelişimsel değişikliklere adaptasyonlarını incelemek için büyük önem taşımaktadır (Carrillo-Farnés vd., 2007). Bu yönler özellikle yapıda, fizyolojide, bedende ve vücut şeklindeki önemli değişikliklerin olduğu ve bireylerin besin miktarı ve kalitesindeki değişikliklere maruz kalması durumunda larval gelişim sırasında önemlidir. Bu nedenle, çok sayıda çalışma, krustaselerde sindirim enzimi aktivitelerinin ontogenisinin değerlendirilmesine odaklanmıştır (Lovett ve Felder, 1990; Kamarudin vd., 1994; Ribeiro ve Jones, 2000; Figueiredo ve Anderson, 2003; Johnston, 2003; Saborowski vd., 2006; Serrano ve Traifalgar, 2012; Chen vd., 2018).

Bir organizmada bulunan sindirim enzimleri bilgisi, sindirim kabiliyetlerini belirlemeye dolayısıyla diyete dahil edilecek bileşenlerin seçimine yardımcı olur. Kabukluların sindirim enzimleri, son yüzyılda fizyoloji, biyokimya ve besleme bilimindeki uygulamalar için incelenmiştir (Carrillo-Farnés vd., 2007). Kabuklu su ürünleri diyeti için önemli ve pahalı bileşenlerden biri de protein fraksiyonudur. Kabuklu proteinlerin katalitik yeteneklerini değerlendirmek için, sindirim

proteazlarının özelliklerini anlamak önemlidir. Proteinlerdeki peptid bağlarının hidrolizinden sorumlu enzimler olan proteazlar genel olarak kabukluların bağırsaklarında bulunur. Bunlar arasında tripsin veya tripsin benzeri bir serin proteaz, astasin, kimotripsin ve ekzopeptidazlar (karboksipeptidaz A, karboksipeptidaz B) ve aminopeptidazlar yer almaktadır. Bununla birlikte, çoğu kabuklu hayvanın pepsin ve mide asidinin bulunmadığı genel olarak kabul edilmektedir (Saoud vd., 2012).

Total proteaz [iki optimum pH tepe noktası: 5.0 ve 7.5 (mide sıvısı) ve 4.0 ve 7.0 (midgut bezi)], tripsin, kimotripsin, karboksipeptidaz A, karboksipeptidaz B ve lösün aminopeptidaz (düşük seviyelerde) enzimlerinin tümü kerevitlerin bağırsağında bulunur, ancak yaşa ve yeme bağlı olarak aktivite ve konsantrasyon değişebilir. Örneğin, *C. quadricarinatus*'taki ontogenetik değişiklikler total proteazlar, tripsin, lösün aminopeptidaz ve karboksipeptidaz A ve B'nin yavrularda yüksek aktivite sergilemesine ve erişkinlerde aktivitenin azalmasına neden olur (Figueiredo ve Anderson, 2003).

Lipazlar, biyolojik sistemlerde önemli bir enzim olup, triaçilgliserollerin, gliserol ve yağ asitlerine hidrolizini sağlarlar. Hayvansal, bitkisel ve bakteriyel kaynaklarda var olan lipazlar, lipit metabolizmasında önemli rol oynarlar. Lipazlar fizyolojik olarak önemlidir çünkü yağları hücre zarı boyunca emilim için hızlı bir şekilde yağ asitlerine parçalarlar ve trigliseritleri daha fazla polar moleküllere dönüştürürler. Lipazlar birçok türde bulunmuş, ancak dekapod kabuklularda lipazlar hakkında çok az çalışma bildirilmiştir. Dekapodlarda gerçek bir lipazın (gliserol-ester hidrolaz E.C.3.1.1.3) mevcudiyeti hakkındaki ilk rapor *Homarus americanus* yetişkinlerinde mide suyunda trioleinin sindirimini doğrulamıştır (López-López vd., 2003). Biesot ve Capuzzo (1990), *H. americanus* larvalarındaki lipaz aktivitesini belirlemek için triolein kullanmışlar ve oleik asitin serbest bırakılmasını gözlemlemişlerdir. González-Baró vd. (2000), *Macrobrachium borelli*'nin embriyonik gelişiminin farklı evrelerindeki lipaz aktivitesini incelemişler ve en yüksek aktiviteyi mikrozomal fraksiyon evresinde tespit etmişlerdir. Figueiredo vd. (2001), yetişkin kırmızı kısıkaçlı kerevit *C. quadricarinatus*'un gastrik sıvısında lipaz (EC 3.1.1.3) aktivitesini rapor ederken, López-López vd. (2003) ise, yavru kerevitlerin hepatopankreasında esteraz-lipaz aktivitesini gözlemlemişlerdir. *Penaeus vannamei*'nin tüm larva evrelerinde lipaz aktivitesi tespit edilmiştir. Ek olarak, in vitro çalışmalar, çoğu türün, glikozu

karboksimetil selülozdan serbest bırakabildiğini, bu da selüloz substratlarının hem kerevit hem de karides türleri için bir enerji kaynağı olabileceğini göstermiştir (Rivera-Pérez vd., 2010).

Kabukluların sindirim sisteminde bazı önemli karbohidrazlar (amilazlar, laminarinazlar, sitinazlar) bulunur (Saoud vd., 2012). Bu karbohidrazların aktivitesi yaşa ve gelişim aşamalarına göre değişir (Figueiredo ve Anderson, 2003). Örneğin, *C. quadricarinatus* türünde büyük bireylerin amilaz ve laminarinaz aktiviteleri küçük bireylere oranla anlamlı derecede daha yüksekken, proteaz aktiviteleri bireyler büyüdükçe azalmıştır. Yetişkin *C. quadricarinatus*'un midgut bezi ve gastrik sıvısında tespit edilen karbohidrazlar, α -amilaz (EC 3.2.1.1), laminarinaz (EC 3.2.1.6/EC 3.2.1.19), maltaz (EC 3.2.1.20) ve birkaç para -nitrofenil glikosidazlardır (Figueiredo vd., 2001). Kırmızı kısıkaçlı kerevitlerin sindirim sisteminde ayrıca ksilanaz aktivitesi de rapor edilmiştir (Crawford vd., 2005). Crawford vd. (2005), endoglukanaz ve endoksilanaz enzimlerinin, kabuklu diyetlerde bitki materyallerinin kullanımında önemli bir rol oynayabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, selülaz ve ksilanaz aktivite seviyelerinin, kerevit ve karides türleri arasında geniş ölçüde değiştiğini, genel olarak diyet tercihi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu bağlamda, tatlı su kabuklularının, deniz türleriyle karşılaştırıldığında diyetlerinde daha fazla bitki materyali tüketme eğiliminde olmaları koşuluyla, kerevitler için (karideslere kıyasla) gözlenen daha yüksek enzim aktivitesi seviyeleri beklenmektedir.

Sindirim sistemindeki endojen selülaz enzimlerinin saptanması, kabuklu deniz ürünleri yetiştiriciliğinde yem formülasyonu için önemli etkilere sahiptir (Pavasovic vd., 2006). Selülozu içeren lif, doğrudan veya dolaylı bir besin maddesi olarak giderek daha fazla tanınmakta ve kullanımı karides türleri arasında farklılık gösterebilmektedir (D'Abramo ve Sheen, 1994). Selüloz, diyet proteinlerinin verimli kullanılmasına katkıda bulunabilir (Gomez Diaz ve Nakagawa, 1990). Her ne kadar Fair vd. (1980), %30'a kadar diyet selüloz seviyelerinin büyümeyi olumsuz yönde etkilemediğini bildirmiş olsalar da, Gomez vd. (1988) diyet selüloz seviyelerinin %15 ila %20 arasında büyüme geriliği ile sonuçlandığını bulmuşlardır. Ayrıca, %12'nin üzerindeki diyet selüloz seviyelerinin *C. quadricarinatus*'un yaşama oranı, büyüme performansı ve yem dönüşüm verimliliği üzerinde olumsuz etkisi olduğu görülmüştür (Pavasovic vd., 2006). Crawford vd. (2005), *C. quadricarinatus*'un glukozu karboksimetil

selülozdan serbest bırakma kapasitesine sahip olduğunu dolayısıyla selüloz substratlarının kerevitler için bir enerji kaynağı olabileceğini belirtmişlerdir. Pavasovic vd. (2006), tarafından yapılan bir çalışmada ise kırmızı kiskaçlı kerevitlerde (*C. quadricarinatus*) selüloz aktivitesinin mevcut olmasına rağmen, çözünmeyen selülozun (α -selüloz) yem formülasyonlarına dahil edilmesinin saptanabilir bir besleyici yararı olmadığı sonucuna varılmıştır.

2.6.2. Enzimatik aktiviteler — formüle yemlere yansımalar ve uygulamalar

Yeni türlerin yetiştiriciliğinde sürdürülebilir teknolojiler geliştirmek için uygun maliyetli ve besleyici olarak yeterli formüle yemlerin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Kabuklu su ürünlerinde yem gelişimi konusunda 30 yıldan uzun bir süredir araştırmalar yapılmıştır ancak şaşırtıcı bir şekilde formüle edilmiş yemlerin düşük performans göstermesi, bu türlerin yetiştiriciliğinde en büyük engellerden biri olmaya devam etmektedir. Bu kısmen, formüle yemlerin nasıl sindirildiği ve assimile edildiği konusunda bilgi eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Yem bileşenlerinin partikül boyutunun azaltılması, sindirilebilir bağlayıcıların kullanılması, daha fazla çözünür makro besinlerin seçilmesi veya ön işleme tabi tutulması ve pH tamponları, emülsifiye edici ajanlar ve / veya eksojen enzimler gibi katkı maddelerinin yeme eklenmesi ile besleme iyileştirilerek bu durumun üstesinden gelinebilir (Perera ve Simon, 2014).

Son zamanlarda balık ve kabuklu su ürünlerinde hayatta kalma oranını artırmak için larva fizyolojisi ve sindirim enzimleri üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Büyümenin erken dönemlerindeki sindirim enzim profillerinin ve enzimatik aktivitelerdeki değişimlerin bilinmesi önem taşımaktadır. Bu dönemde ortaya çıkan düşük yaşama oranı ve büyüme performansı nedeniyle yapılan çalışmalar daha çok kültürü yoğun olarak yapılan türler üzerine yoğunlaşmış ve sindirim enzimleri aktivitesindeki değişimlerin yakından izlenmesi ile yorumlanmıştır (Yılmaz vd., 2011). Sindirim enzimlerinin spesifik aktivitesinde görülen değişim ya mide oluşumu gibi metamorfoz ya da besin kompozisyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Süzer vd., 2007). Bu nedenle, larva üretiminde yoğun ölümlerin gözlemlendiği metamorfoz süresince yaşanan fizyolojik değişimlerin gerekliliklerine göre besleme yapılması önemlidir.

Kabukluların beslenme ihtiyaçları konusundaki güncel araştırmalar, genellikle hedef türlerin besinleri hidrolize, absorbe ve asimile etme yeteneği üzerine odaklanmıştır. Bu süreçlerin araştırılması için sindirim enzimi profili ve enzimatik aktivitelerdeki değişimlerin belirlenmesi gerekmektedir (Pavasovic vd., 2004). Sindirim enzim aktiviteleri analizi, kabuklularda sindirim süreçlerinin daha iyi anlaşılmasında etkili bir yaklaşımdır. Yem ve üretilen sindirim enzimleri çeşitliliği arasında yakın bir ilişki olduğu belgelenmiştir. Ancak, spesifik besin maddelerine sindirim tepkisi türler arasında oldukça farklılık göstermektedir (Fernández Gimenez, 2013).

Kabuklu su ürünlerinde besinlerin asimilasyonu, kompleks sindirim mekanizmalarına bağlıdır. Morfoloji, histoloji, biyokimya ve moleküler biyoloji alanlarında yapılan çok sayıda araştırma, sindirim ve yem kullanımı süreci hakkında ilginç sonuçlar vermiştir (Fernández Gimenez, 2013). Kabukluların sindirim kanalının temel işlevleri yem seçimi, yutma, mekanik sindirim, enzim aktivitesi, hücresele emilim ve depolamanın yanı sıra boşaltımdır (Ceccaldi, 1998). Sindirim sisteminin farklı bir yönü, besin rezervlerinin depolanması için fonksiyonlar içermesidir. Bu rezervler, yeni dokuların yapımı için her bir kabuk değiştirme döngüsünün intermolt aşamasında kullanılmaktadır (Ceccaldi, 1998).

Dekapod kabukluların sindirim sistemi ile ilgili ayrıntılı çalışmalar, besleme biyolojilerinin anlaşılmasında önemlidir. Sindirim sistemi anatomisi ve hücresele bileşimi birçok açıdan omurgalı sisteminden oldukça farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar arasında öncelikle gastrik mill, mide ve midgut bezinin tubüllerinde komplike bir filtre aparatı sayılabilir. İlave farklılıklar, midede kuvvetli asidik pH ve pepsin eksikliğidir. Dolayısıyla, fizyolojik süreçlerin birçoğu, özellikle de yemlerin fiziksel ve kimyasal olarak işlenmesi, sentezi ve depolanması hatta sindirim enzimlerinin etki şekli bile farklıdır (Fernández Gimenez, 2013).

Dekapod kabukluların sindirim sistemi foregut (ön bağırsak), midgut (orta bağırsak) ve hindgut (son bağırsak) olmak üzere üç kısma ayrılabilir. Foregut; ağız (mandibulalar ile birlikte), özefagus (yemek borusu) ve çiğneme parçalarının bulunduğu kardiyak midenin büyük bir bölümünü içerir. Özefagus, ağız ve mideyi birbirine bağlayan kısa, düz dikey bir yapıdır. Oval benzeri bir kese olan kardiyak mide, sefalotoraksta dorsal olup, kardiyak mideye göre ventro-posterior bir konumda

yer alan pilorik midede (elips şeklinde) sonlanır. Kör tübül adı verilen temel bir birim ile midgut'un büyük, iki taraflı, multilobar bir divertikülü olan hepatopankreas sefalotorasik boşluğun çoğunu kaplar. Hepatopankreas, sindirim enzimlerinin sentezi ve salgılanması, besin emilimi, minerallerin, lipidlerin ve glikojenin depolanması ve depo rezervlerin intermoult döneminde dağılımı dahil çeşitli işlevlere sahiptir (Saoud vd., 2012). Ayrıca, tuz ve iyon dengesinin korunması ve vitellogeniz gibi diğer süreçlerde de yer alır ve aynı zamanda yabancı cisimlerin dolaşım sisteminden uzaklaştırılmasında, atık metabolitlerin atılımında ve yabancı organik maddelerden metallerin detoksifikasyonunda immünolojik bir rol oynar (Fernández Gimenez, 2013). Çoğu kabukluda, hepatopankreasın sindirim epiteli en az dört farklı hücre tipinden oluşur: E, R, F ve B ve bazı kabuklularda bir M hücresi bulunur. Aynı zamanda embriyonik hücreler olarak da adlandırılan E-hücreleri, her bir hepatopankreatik tübülün distal uçlarındaki mitotik bölünme ile ortaya çıkar ve farklılaşarak R hücreleri ve F hücrelerini meydana getirir (Saoud vd., 2012). Bunlar belirgin bir nükleolusa sahip büyük bir çekirdek ile karakterizedir (Fernández Gimenez, 2013). R-hücreleri mikrovillüye sahiptir ve ayrıca lipid damlacıkları ve glikojen içerir ve birincil rolleri depolamadır. R-hücrelerine benzer şekilde F-hücrelerinde (fibril hücreler), emilime katkıda bulunabilecek mikrovillüleri bulunur. Bu hücreler sindirim enzimlerini salgılar ve sentezler ve B hücrelerine farklılaşırlar. B-hücreleri (blister hücreler) protein sentezi ve enzim sekresyonu ile ilişkilidir. Bazı kabuklularda bulunan başka bir hücre tipi de, besin emiliminde ve depolanmasında rol alabilecek M hücreleridir. Kitin ile kaplı olmayan midgut, midenin arka ucundan başlar ve anüste sonlanan abdomen boyunca uzanır. Hindgut hemen hemen düzdür ve kitine emdirilmiştir, rektuma posterior olarak genişler ve anüste sonlanır (Saoud vd., 2012).

Sindirim sisteminin fonksiyonel morfolojisinin ontogenez sırasında gözlemlenmesi, yem değişikliklerini tanımlamak için yararlı olabilir. Sindirim enzim aktivitesindeki değişim, krustaselerin erken ontogenetik gelişimi sırasında karakteristik yaşam öyküsü ile ilişkili olabilir, bu da herbivordan omnivor bir beslenme biçimine geçişin önemini gösterir (Fernández Gimenez, 2013). Sindirim sisteminin morfolojik yönleri, oral uzantıların gelişimi, habitat ve diyetin değişmesi ve metamorfoz sırasında meydana gelen temel değişikliklerle ilişkilendirilebilir. Sindirim sistemi ve beslenme uzantılarının ontogenetik değişiklikleri, metamorfozdan sonra meydana gelen

planktonik yaşamdan bentik yaşam tarzına geçiş sırasında meydana gelen davranışsal değişikliklerle örtüşmektedir (Díaz vd., 2008). *Penaeus setiferus*'ta enzim aktivitelerinde önemli artışlar (özellikle tripsin, karboksipeptidaz A ve amilaz) postlarval gelişimin dördüncü ve beşinci haftasında meydana gelmiştir. Aktivitedeki bu artışlar, hepatopankreasta hücre farklılaşmasının tamamlanması ile aynı zamana rastlamıştır (Díaz vd., 2008). Ayrıca, bu gelişim aşamalarında, ön bağırsak yetişkin morfolojisine ve fonksiyonuna neredeyse ulaşmış, posterior divertikül farklılaşmış ve bağırsakta besin tutma süresi, erken postlarval aşamalarınkine göre çarpıcı bir şekilde artmıştır (Lovett ve Felder, 1990). Sindirim enzimi aktivitelerinin seviyeleri, ilk dört ila altı haftanın, hepatopankreas gelişiminde önemli bir aşamayı temsil edebileceğini göstermektedir. Larval dönemde hepatopankreatik tübüllerin sayısı ve uzunluğu ardışık her aşamada artmış ve enzim aktivitesindeki artışlar hepatopankreasın büyümesi ve farklılaşması ile örtüşmüştür (Biesiot ve Capuzzo, 1990). Kamarudin vd. (1994), ayrıca tatlı su karideslerinde tripsin aktivitesinde (aşama VI'da) bir zirvenin, hepatopankreas hacmindeki bir artış ile çakıştığını tespit etmişlerdir. Bazı çalışmalar sindirim sistemi morfolojisinin öncelikle türlerin filogenisine bağlı olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, diyet tercihleri gibi diğer faktörler anatomisini değiştirebilir. Sindirim enzimlerinin ortaya çıkışı ve aktivitesinin birçok dış ve iç faktör tarafından etkilendiğinden şüphe yoktur. Díaz vd. (2008), *Pleoticus muelleri* ontogenezi sırasında enzim düzeylerindeki farklılıkların, benzersiz postlarval yaşam öyküsü ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Dekapod kabukluların beslenme alışkanlıkları ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu, mide içeriği gözlemine dayanmasına rağmen, mide içerikleri, diyet tercihi ya da diyetin hayvanı beslemek için uygunluğu hakkında herhangi bir bilgi vermemektedir. Ancak, sindirim enzimleri, hangi diyet bileşenlerinin en etkili şekilde metabolize edildiğini belirlemede yararlı olan tamamlayıcı bir araç olabilir. Spesifik diyet bileşenlerinin sindirimini ve asimilasyonunu anlayarak, hayvanların tercih ettiği av tipini ve sindirmek için en iyi donanımına sahip olduklarını belirleyebiliriz. Örneğin, karnivor türler, yüksek protein içeren yemleri sindirmek için çok çeşitli ve proteolitik enzimlerin yüksek aktivitesini sergilerler, oysa büyük miktarda karbonhidrat alan herbivor ve omnivorlar yüksek oranda aktif karbohidraza sahiptirler (Johnston ve Freeman, 2005). Dekapod kabukluların enzimatik sistemi üzerinde yapılan önceki çalışmalar, yem bileşimi ve sindirim enzimlerinin varlığı arasında ilişki olduğunu

göstermiştir (Figueiredo vd., 2001). Bununla birlikte, spesifik besinlere sindirim tepkileri, türler arasında geniş çapta farklılık göstermektedir (Johnston ve Freeman, 2005; Figueiredo ve Anderson, 2009).

Farklı kurustase türlerinin, beslenme alışkanlıkları ve habitatlarını yansıtan özel bir dizi sindirim enzimlerine sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar, çeşitli proteinazlar, lipazlar, esterazlar ve glukanzlardır. Özellikle, proteinazlar birçok türde yüksek aktivite gösterir. Proteolitik aktivite genellikle serin proteinaz sınıfına ait olan tripsin ve kimotripsin benzeri enzimler tarafından sağlanır (Fernández Gimenez, 2013). Tripsin enziminin şimdiye kadar incelenen dekapodların çoğunluğunda yüksek aktiviteler gösterdiği rapor edilmiştir (Saborowski vd., 2012).

Gelişmekte olan dekapod kabuklular arasında sindirim enzimi ekspresyon paternlerinde gözlemlenen farklılıklar genellikle erken yaşam dönemi stratejilerindeki farklılıklara bağlanabilir. Yavru kerevitler, serbest yüzen planktonik yaşam öyküsü evresine sahip olmadıkları için diğer birçok kabuklulardan (istakoz, penaeid karidesleri ve tatlı su karidesleri) farklıdır. Bunun yerine, yavrukerevitler dişinin kuyruğundan serbest bırakıldıktan hemen sonra bentik bir yaşam biçimine başlar. Bu, yumurtadan yeni çıkmış yavru ve juvenil kerevit stratejisinin diğer birçok kabuklulardan çok farklı olduğunu ve kerevitin sindirim fizyolojisinin bu farklılıkları yansıttığını göstermektedir (Hammer vd., 2000). Erken kerevit embriyoları ve larvaları öncelikle lipit ve proteinden oluşan yumurta sarısından yaşamını sürdürür. *P. clarkii*'nin 2 günlük yumurtalarının kuru ağırlığının sırasıyla %20'sini lipit ve %54'ünü protein oluşturmaktadır. Kerevitlerin erken gelişme döneminde lipit içeren yumurta sarısının kullanılması, kerevitlerin yumurtalarında ve beslenmedikleri larval aşamalarında gözlenen nonspesifik esteraz seviyelerini açıklayabilir. Amerikan istakozu *H. americanus* 'un da embriyogenez sırasında besin kaynağı olarak öncelikle lipit ve bazı proteinleri kullandığı bildirilmiştir (Hammer vd., 2000).

Enzim aktivitesindeki ontogenetik değişiklik, diyet ve beslenme alışkanlığı ile de ilişkilendirilebilir. Protozoa (P) döneminde, *P. setiferus*'un larvaları alglerle beslenmeye başlar; esteraz aktivitesi maksimumdur. Mysis (M) döneminde *Artemia nauplii* sağlandığında, tripsin ve karboksipeptidaz A ve B'nin aktiviteleri Z₃-M₁'de maksimum seviyelerdedir. Enzim aktivitesindeki ontogenetik değişimin beslenme

alışkanlıklarındaki değişiklik ile ilişkili olmasına rağmen, aktivitedeki ontogenetik değişiklik gelişimsel olarak bir işaret olabilir ve yem değişikliğinden ziyade, enzim sentezinin zamansal genetik düzenlemesini yansıtabilir. Yani, tüketilen yem her ne kadar enzim aktivitesini değiştirse de sindirim enzimi aktivitesindeki ontogenetik değişimin birincil etkeni gibi görünmemektedir. Bunun yerine, sindirim enzimi aktivitesindeki ontogenetik değişim, ya enzim sentezindeki gelişimsel bir değişiklik işareti ya da farklılaşma sırasında midgutun fonksiyonundaki ve nisbi büyüklüğündeki değişimin ikincil etkisini yansıtabilir (Lovett ve Felder, 1990). Örneğin, *Homarus* larvalarının ilk besleme safhalarında sindirim enzimi aktivitesinin ontogenetik değişimi, eksojen gıda substratlarına erişim olmadığında bile oluşur. Larvaların planktotropik olmaları nedeniyle, yumurtadan çıkıştan hemen sonra, ancak beslenmeden önce fonksiyonel sindirim kabiliyetine sahip olmaları bir avantajdır. Bununla birlikte, sindirim yeteneklerinin tamamen işlevsel olduğu sonucuna varılmadan önce, erken gelişme evreleri aralarında sindirim enzimlerinin aktiviteleri ölçülmelidir (Biesiot, 1986). Saborowski vd. (2006), tarafından yapılan bir çalışmada, yengeçlerden *Lithodes santolla*'nın yumurta ve larvalarının endopeptidazlardan mahrum olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, ekzopeptidazlar, fosfatazlar ve esteraz / lipaz yüksek aktiviteler sergilemiştir. Araştırmacılar, bu enzimlerin, yumurta sarısı rezervlerinin hücre içi kullanımını kolaylaştırdığı varsayımında bulunmuşlardır.

Kabuklularda sindirim enzimleri aktivitesi kabuk değiştirme döngüsüyle de ilişkilidir. Kabukluların büyümesi, günler veya haftalarca sürebilen ve morfolojik, fizyolojik ve davranışsal değişikliklerin eşlik ettiği, kompleks hormonal olarak kontrol edilen bir işlem olan sıralı kabuk değiştirme (ecdysis) sonucuyla gerçekleşir. Bu işlem sırasında, beslenme değişimi ve beslenmeme periyodu apaçık ortadadır. Besin bulunduğunda, kabuklular özel depolama organlarında enerji rezervlerini biriktirebilir. Bunların hepatopankreasları, sindirim enzimlerinin sadece en önemli sentez ve salgılama bölgeleri değil, aynı zamanda beslenmedikleri dönemlerde besin maddelerinin (lipitler ve daha düşük bir dereceye kadar glikojen) sindirimi, emilimi ve depolanması için ana organdır (Calvo vd., 2013). Kabuk değiştirme döngüsü, kabuklu fizyolojisinde en kritik ve zorlu aşamadır. Bu metabolik süreç, davranışsal, integumental, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri yönlendirir. Sindirimdeki rolünün yanı sıra, sindirim bezi, kabuk değiştirme döngüsüne aktif olarak katılır; premolt sırasındaki glikojen, yağlar ve kalsiyum depolanması için ana bölgedir ve bu nedenle sonraki kabuk değiştirme

aşamaları için gerektiğinde bu rezervlerin taşınmasında birincil faktördür. Fernández Gimenez vd. (2002), *Artemesia longinaris*'in midgut bezindeki proteolitik aktivitenin, kabuk değiştirme döngüsünden etkilendiğini rapor etmişlerdir. Midgut bezindeki total proteolitik aktivite postmolt sırasında, tripsin ve kimotripsin aktiviteleri ise intermolt sırasında en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Kabuklularda, gelişim sırasında sıralı aşamalarla gerçekleşen ve büyümeyi sağlayan kabuk değiştirme döngüsünde beslenme ve açlık zaman dilimleri olur. Bu kabuk değiştirme işlemi yüksek miktarda enerji gerektirir. Kabuk değiştirme döngüsü, farklı besleme davranışına sahip bir dizi aşamayı içerir. İntermolt sırasında kabuklular aktif olarak beslenir. Beslenme, kabuk değiştirmeden önce azalır ve kabuğun atılımı tamalanana kadar beslenme aktivitesi tamamen biter. Daha sonra postmolt sırasında beslenme tekrar başlar. Kabukluların intermolt aşamasında açlık indüksiyonunun, büyüme süreçlerinde doğal olarak meydana gelen moleküler ve enzimatik değişiklikleri anlamada iyi bir model olduğu öne sürülmüştür. Ancak hormonların etkisinin de dikkate alınması gerekir (Fernández Gimenez vd., 2002).

Fernández Gimenez vd. (2001), kabuk değiştirme döngüsünün farklı aşamalarında kırmızı karides *P. muelleri*'nin hepatopankreasındaki proteinazların aktivitesini ve bazı özelliklerini açıklamaktadır. Proteolitik aktivite, pH 7.5 ile 8.0 arasında en yüksek seviyededir. Premolt safhasındaki hepatopankreatik protein içeriği ise, kabuk değiştirme döngüsünün diğer aşamalarından daha yüksektir. Hepatopankreastaki toplam proteolitik aktivitede, kabuk değiştirme aşamalarını karşılaştırırken anlamlı bir fark bulunmamıştır. *P. muelleri* hepatopankreas enzim preparatlarının proteolitik aktivitesi, serin proteinazların ana sorumluluğudur. İntermolt sırasında tripsin ve kimotripsin aktivitesi düşük bulunmuş ve postmolta aktivitelere artış gözlenmiştir. *P. muelleri*'nin hepatopankreasındaki enzimatik aktivite, beslenme alışkanlığı ve kabuk değiştirme döngüsü ile ilgili olarak farklılıklar göstermiştir.

Muhlia-Almazán ve García-Carreño (2002), beyaz karides *Litopenaeus vannamei* sindirim sistemi proteinaz aktiviteleri üzerinde sindirim sisteminin bir uyarıcısı olarak açlığın etkisini araştırmışlardır. Aç kalmış organizmalar, kabuk değiştirme aşamasına göre periyodik olarak örneklenmiş ve sürekli beslenen grupla karşılaştırılmıştır. Kabuk değiştirme aşaması bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Tripsin hariç analiz edilen değişkenlerin çoğu, kabuk değiştirmeden daha çok açlıktan etkilenmişler, bu da

açlığın kabuk değiştirmeye etkisini maskeleyen bir uyarıcı olduğunu ve gıda veya beslenme stresinin fizyolojik olandan daha belirgin olduğunu göstermiştir. Açlık çeken organizmalarda, tripsin ve kimotripsin aktivitesi benzer bulunmuş ve birbirlerine bağlı olduğunu göstermiştir. Proteolitik aktivitedeki değişiklikler ve elektroforez sırasında açığa çıkarılan protein bantlarının sayısı, beyaz karidesin midgut bezindeki sentez regülasyonunun kanıtlarını göstermiştir. Araştırmacılar, açlığın kabuk değiştirmeyi baskılayan bir uyarıcı olması ve sindirim proteinazlarının aktivitesini etkilemesi nedeniyle, açlık çeken organizmaların moleküler biyoloji teknik ve araçlarıyla birlikte çalışılmasını, bunun sindirim enzimi aktivite mekanizmalarının anlaşılmasında yardımcı bir çalışma modeli olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kerevitlerde sindirim enzimleri konusunda yapılan çalışmalar sindirim yeteneğinin beslenme öncesinde kazanıldığını göstermiştir. Hammer vd. (2000), kırmızı bataklık kerevit *P. clarkii*'nin erken yaşam dönemlerindeki α -amilaz, tripsin ve nonspesifik esterazın spesifik ve toplam aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında; her üç enzimin spesifik aktivitelerinde önemli artışların beslenmenin başlamasından önce gözlemlendiğini belirterek, sindirim yeterliliğinin, beslenmeye başlamadan önce elde edildiğini ve genetik olarak kontrol edildiğini ifade etmişlerdir. Beslenmenin başlamasından sonra, sindirim enzimi spesifik ve toplam aktivite, 42. günden itibaren düzenli bir şekilde artmış, bundan sonra nokta etkinliği önemli ölçüde değişmemiştir. Spesifik aktivitedeki gözlenen artışın, doku ağırlığı artışına bağlı olarak daha fazla miktarda sindirim enzimi üretildiğinden, hepatopankreasın olgunlaşmasını yansıttığı varsayımında bulunmuşlardır. Bireylerin toplam ağırlığı yaklaşık 100 mg'ı aştığında, spesifik aktivitenin değişken olduğunu ancak büyük ölçüde değişmediğini belirtmişlerdir. Toplam enzim aktivitesindeki (toplam sindirim kapasitesi) daha fazla artışın, öncelikle bireyin ağırlık artışlarına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, gelişimin ilk dört ila altı haftasının, hepatopankreasın gelişiminde çok önemli bir aşamayı temsil edebileceğini ve bu gelişme aşamasında meydana gelen bozulmaların gelecekteki büyümeyi etkileyebileceğini öne sürmüşlerdir. Sonuç olarak, *P. clarkii* türündeki sindirim enzim ekspresyonu paterninin, planktotrofik yaşam öyküsüne sahip olan dekapod kabuklularda gözlemlenen paternlerden farklı olduğunu belirtmişlerdir. Hammer vd. (2000), *P. clarkii*'de enzimatik aktivitenin, üçüncü instarda beslenmenin başlamasıyla birlikte anlamlı bir şekilde artmadığını, ancak 42. günde 5.7 kat artarak zirveye ulaştığını, tripsin enziminin ise 20. günden sonra hızla

artığını bildirmişlerdir. Saborowski vd. (2006), kral yengeç *L. santolla*'nın erken ontogenik aşamalarındaki sindirim enzimlerini araştırdıkları çalışmalarında, yumurta ve henüz besin almayan larvalarda (zoea I-III, megalop) esterazlar, fosfatazlar ve eksopeptidazların yüksek aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Endopeptidazlar, tripsin ve kimotripsin aktiviteleri, yumurta ve larvalarda düşük bulunmuş, juvenil dönemde ise artış göstermiştir.

Litopenaeus setiferus, *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon* ve *Farfantepenaeus paulensis* gibi penaeid türlerinde de yapılan çalışmalar, sindirim enzimi aktivitesinin yumurtadan çıkıştan önce embriyolarda çok düşük olduğunu, daha sonra geç zoea ve erken mysis aşamalarında arttığını göstermiştir. Bu değişiklikler yoğun yüzme davranışı ve yem alımıyla ilişkili artan enerji döngüsünü yansıtmaktadır (Lovett ve Felder, 1990; Fang ve Lee, 1992; Puello-Cruz vd., 2002). Postlarval dönemlerde, *L. setiferus* ve *P. monodon*'da amilaz aktivitesi artarken, proteaz aktivitesi postlarval gelişimin 5. haftasına kadar nispeten sabit kalmıştır (Lovett ve Felder, 1990; Fang ve Lee, 1992). Postmetamorfik evreler arasındaki enzim aktivitelerindeki değişiklikler, vücut formu ve habitattaki değişiklikler ya da enerji depolama ve kullanım şekilleri ile ilgili olabilmektedir.

Kabuklular, diyetteki lif oranı değişiklikleri durumunda gerekli besinlerin kullanımını maksimize edebilmektedirler. Nişasta olmayan polisakkarit hidrolaz aktivitelerini module etme yeteneğine sahip olmaları genel adaptif yanıtını göstermektedir. Çamur yengeci *Scylla serrata*'nın sindirim enzimleri aktivitelerini module etme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Bunlar, besin profili değişiklikleri durumunda gerekli besin maddelerinin kullanımını maksimum düzeyde tutabilmektedir (Pavasovic vd., 2004). Kırmızı kısıkaçlı kerevit *C. quadricarinatus* türünde selülaz ve laminarinaz enzimleri bildirilmiştir. Bu enzimlerin bulunması, selüloz ve algal polisakkaritlerden besin maddelerini ekstrakte etme yeteneğine sahip olduklarını göstermektedir (Figueiredo vd., 2001). Pavasovic vd. (2007a), bitkisel kaynaklı diyetler ile beslenen *C. quadricarinatus* hepatopankreasında hayvansal kaynaklı diyetlere beslenenlere kıyasla, daha yüksek bir lipaz aktivitesi olduğunu bildirmişlerdir.

Kabuklularda sindirim enzimleri aktiviteleri, boy ve gelişim aşamalarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. *Fenneropenaeus indicus* postlarvalarında doğal ve karma

yemler kullanılmış, büyüme ve enzim tepkileri araştırılmış olup, tripsin ve amilaz yanıtının önemli derecede larvanın boyu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sindirim enzimleri yanıtının larva boyu ve gelişim aşamasına bağlı olarak artış gösterdiği fakat larvaların beslendiği diyet ile anlamlı bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Ribeiro ve Jones, 2000). *L. vannamei* yavrularında besin alımı ve sindirim enzimi aktivitesinin araştırıldığı çalışmada elde edilen sonuçlar, vücut ağırlığı arttıkça yavruların daha düşük protein içerikli diyetlere karşı enzimatik aktivite uyumu gösterdikleri, bunun midede bulunan farklı öğelerin değişimiyle ilgili olabileceği belirtilmiştir (Gamboa-Delgado vd., 2003).

C. quadricarinatus yavrularında başlangıçta proteazların yüksek, karbonhidrazların düşük düzeyde aktivitelere sahip olduğu, yavruların büyümesi ile birlikte proteazların seviyesinde düşüş, karbonhidrazların seviyesinde bitkisel kaynaklara artan tercih ile paralel olarak artış olduğu belirtilmiştir (Figueiredo ve Anderson, 2003). Ayrıca, *C. quadricarinatus* türü kerevitler diyetteki farklı bileşenlere karşılık hepatopankreatik enzim düzeylerini modifiye edebilmektedir ve özellikle nişasta olmak üzere çok çeşitli besin maddelerini sindirebilmektedir. Karbonhidratları etkili bir şekilde kullanabilme özelliği, bu türü diğer organizmalardan daha avantajlı kılmaktadır (López-López vd., 2005).

Coccia vd. (2011), *Cherax albidus* yavrularının sindirim sisteminde bulunan amilaz, pektinaz, alginaz, lipaz ve proteaz enzimlerinin polimorfizmi ve karakterizasyonunu inceledikleri çalışmalarında, karbohidrazlardan amilazın en yüksek aktiviteye sahip olduğu, mide sıvısı ve hepatopankreasa oranla bağırsakta daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hepatopankreasdaki lipaz aktivitesi bağırsak ve mide sıvısına oranla önemli derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca alkalın proteaz ve asit proteaz enzimleri tespit edilmiştir.

Kamarudin vd. (1994), *Macrobrachium rosenbergii*'nin larval gelişim dönemindeki enzim aktivitelerindeki ontogenetik değişiklikleri belirlemek için yapmış oldukları çalışmalarında, iki dişiden elde edilen iki *M. rosenbergii* larva grubu, 50 larva/L yoğunluğunda 300 L'lik siyah plastik tanklarda farklı periyotlarda ayrı ayrı yetiştirilmiştir. Larvalar II. evreden itibaren günlük olarak *Artemia nauplii* ile 5 nauplii/ml konsantrasyonunda beslenmiştir. Sindirim enzimi aktivitelerinin, ilk larva

grubunda daha yüksek olmasına rağmen, ontogenetik model, ikinci larva grubunda gözlemlenen paterne benzediğini tespit etmişlerdir. Aktiviteler arasındaki farkı da, spesifik olmayan genetik çeşitlilik ve/veya anaç yaşından kaynaklanabileceği ile yorumlamışlardır. Ayrıca, anacın beslenme durumunun, bu çalışmada anaçların aynı beslenme geçmişine sahip olması nedeniyle göz ardı edilebileceğini ifade etmişlerdir. Çalışmada, tripsin, nonspesifik esteraz ve amilaz aktivitelerindeki ontogenetik değişimler izlenmiştir. Tripsin aktivitesi ilk beslenmede (aşama II) düşmüş ve aşama V-VII'de maksimum bir zirveye yükselmiştir. Aktivite daha sonra, X-XI. aşamasında tekrar yükselmeden önce azalmıştır. Nonspesifik esteraz aktivitesi, genellikle gelişim evreleri ile birlikte artmıştır. Amilaz aktivitesi, larva VI-VIII. aşamasına gelinceye kadar düşük kalmış ve bu, *M. rosenbergii* larvalarının erken evrede sadece karnivor olduğunu göstermiştir. Tripsin aktivitesindeki keskin artışların, bu aşamalarda hepatopankreas hacmindeki büyük artıştan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Biesiot (1986), Amerikan ıstakozu (*Homurus umericanus*) için maksimum spesifik proteaz aktivitesinin IV. aşamada meydana geldiğini bildirmiştir.

Brito vd. (2001), tarafından *Artemia nauplii*, karma yem ve alg kombinasyonları içeren altı beslenme rejimi altında *L. vannamei* erken post larvalarında, büyüme oranı, çözülebilir protein içeriği ve sindirim enzimi aktiviteleri incelenmiştir. Karma yemle beslenen post-larvalarda büyüme ve çözünür protein içeriği önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Tek başına kullanılan veya alglerle birlikte verilen karma yem en düşük büyümeye ve çözülebilir protein içeriğine neden olmuştur. Tripsin benzeri aktivite, *Artemia nauplii* ve sadece karma yemle veya artı yosunlarla beslenen post larvalarda daha yüksek (10 kat) bulunmuştur. Karma yem, görünüşte bu diyetle mevcut kalamar diyetine cevaben kimotripsin aktivitesini uyarmıştır. Amilaz aktivitesi, post larvalar karma yemle beslendiğinde artmıştır. Bunun, nişastanın kaynağı ile diyetin toplam karbonhidrat seviyesinden daha fazla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Herhangi bir yem kombinasyonunda enzim aktivitesi ile büyüme arasında belirgin bir ilişki bulunamamıştır.

Figueiredo ve Anderson (2003), tarafından kırmızı bataklık kereviti *C. quadricarinatus*'un sindirim proteazları ve karbohidrazlarındaki ontogenetik değişiklikler incelenmiştir. Çalışmada, kerevitlerin ilk bağımsız olduklarında hangi sindirim enzimlerinin mevcut olduğunu ve gelişme döneminde bu enzim seviyelerinde

değişiklik olup olmadığını belirlenmiştir. 2.0-10.0 cm toplam boyda serbest yaşam dönemindeki kerevitlerin midgut bezindeki protein düzeyinde önemli bir artış gözlenmiş, ancak 10.0 ile 14.0 cm uzunluğunda olan kerevitler arasında fark görülmemiştir. Serbest yaşam dönemindeki protein seviyesi, midgut bezinin ıslak ağırlığındaki artışla ilişkili olarak, toplam uzunluğu 10.0 cm'ye kadar artmış ve daha sonra büyüme sırasında değişmeden kalmıştır. Protein konsantrasyonundaki bu artışın, bazı enzimler için spesifik aktivitede gözlemlenen farklılıkları açıklayabileceği, ancak protein seviyelerindeki değişikliklerin nedenlerinin belirsiz olduğu ifade edilmiştir. Kerevitlerin midgut bezinde sindirim enzimi aktivitesindeki iki genel ontogenetik değişim paterni gözlenmiştir. Birincisi, proteazlarla ilgili olarak, total proteaz, tripsin, lösin-aminopeptidaz ve karboksipeptidazlar A ve B spesifik aktiviteler genel olarak benzer modeller göstermiştir. Toplam 2.0 cm boya sahip kerevitlerde en yüksek aktivite tespit edilmiş ve bireyler büyüdükçe aktivitede azalma görülmüştür. En küçük ve en büyük bireyler arasındaki tüm proteazların aktivitesindeki bu farklılıklar önemli bulunmuştur. Kerevitlerin ilk beslenmeden önceki yüksek proteaz aktivitesinin, yumurta sarısı emiliminin son aşamaları ile bağlantılı enzimlerden kaynaklanabileceği, bu yüksek aktivitenin kısa bir süre devam ettiği ve ardından azaldığı, bu durumun yem değişikliği ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Karbonhidrazlar selülaz, amilaz, maltaz, laminarinaz ve invertaz aktivitelerinde, proteazlarda görülenlerden farklı bir eğilim gözlenmiştir. Maltaz büyüme boyunca sabit kalmıştır. Amilaz ve laminarinaz, daha büyük bireylerde en yüksek artışları göstermiştir; aktivite, 14.0 cm toplam boya ulaşıldığı evrede, diğer evrelerden anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar kerevitlerin gelişimi sırasında gözlenen sindirim enzimlerindeki değişikliklerin, ek yemle ilişkili olmadığını, çünkü tüm aşamalarda haftada üç kez havuzlara atılan aynı ticari pelet yemle beslendiklerini ancak, gölette bulunan doğal yemin yem alımına nasıl katkıda bulunabileceğinin bilinmediği, diyet ve gözlemlenen enzim aktiviteleri üzerinde önemli bir etkisinin olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, yavru kerevitlerin selülozu sindirme kapasitesine sahip olduğunu ve proteinleri büyük bireylerden daha fazla sindirme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Johnston vd. (2004), tarafından dikenli istakoz *Jasus edwardsii*'nin, sindirim yeteneklerinin ve besin gereksinimlerinin anlaşılması ve doğal av özelliklerinin tanımlanmasını sağlamak için phyllosoma larvalarının kültür (aşama I - VI) ve doğal

ortamdaki (aşama V - XI) gelişim aşamalarındaki sindirim enzim aktiviteleri incelenmiştir. Hem kültürü yapılan hem de doğal ortamdan alınan bireylerde proteaz, tripsin, amilaz, α -glukozidaz, kitinaz ve lipaz tespit edilmiş; bu, larvaların gelişmenin tüm aşamalarındaki kitin de dahil olmak üzere diyet proteini, lipid ve karbonhidratı kolayca sindirebileceğini göstermiştir. Proteaz ve lipaz aktiviteleri, amilaz ve α -glukosidazdan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle, protein ve lipidlerin, karbonhidratlardan daha önemli olduğunu belirtilerek karnivor bir diyet önerilmiştir. Toplam sindirim enzim aktiviteleri, larva gelişimi ile birlikte önemli ölçüde artmış; bu, artan larva vücut kütlelerinin metabolik ihtiyaçlarını karşılayabilmek için sindirim kapasitesindeki önemli artışı yansıtmıştır. Aynı diyetle beslenen kültür larvalarda nispeten sabit spesifik enzim aktivitesi, doğal ortamdaki larvalarda ortaya çıkan spesifik aktivite değişikliklerinin doğal diyet veya beslenme becerilerindeki değişiklikleri yansıtabileceğini göstermiştir. Doğal ortamdaki larvaların VI ve VII. dönemler arasındaki proteaz, tripsin ve amilaz spesifik aktivitesindeki büyük oranda artışın, besin çeşitliliğinin artışından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Hem kültür hem de doğal ortamdaki *J. edwardsii* larvalarının enzim profilleri, çok çeşitli zooplanktonları sindirebilme yeteneklerinin olduğunu, ancak en iyi protein ve lipid bakımından zengin olan besin maddelerini kullandıklarını göstermiştir.

Kabuklu su ürünlerinde sindirim enzimlerinin ortaya çıkışı ve aktivitesinin, diyet, kabuk değiştirme ve büyüme-gelişme gibi birçok iç ve dış faktörlerden etkilendiği kuşkusuzdur. Sindirim enzimleri üzerine yapılan çalışmalar temel sindirim fizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlar ve besin ve beslenme ekolojisi araştırmaları için önemlidir. Sindirim mekanizmaları hakkında daha derin bilgiler, yemlerin formülasyonunda yardımcı olabilir (Fernández Gimenez, 2013).

Her bir türün beslenme gereksinimi ve sindirim enzimi aktivitesi hakkında spesifik bilgi eksikliği, türe özgü formüle yem gelişimi ve dolayısıyla kültür endüstrisinin gelişimi üzerinde önemli bir sınırlama getirmektedir. Belirli bir türün kendine özgü besin gereksinimlerine göre optimize edilmemiş yem formülasyonları ve besleme uygulamaları, sektörü iki şekilde olumsuz yönde etkileyebilir; üretim maliyetini artırabilir ve ayrıca her bir kültür türünün optimum büyümesini ve dolayısıyla kültüründeki nispi verimini tehlikeye atabilir. Bunun, endüstrinin ekonomik uygulanabilirliği üzerinde doğrudan etkileri vardır ve gelişmeyi olumsuz etkiler. Bu

nedenle, sadece her bir türün diyete ilişkin sindirim enzimi özelliklerini değil, aynı zamanda türlerin sindirim kapasitesini tam olarak kullanabilmelerini sağlayan temel genetik faktörleri de anlamak önemlidir. Böylece türün optimum büyümesini desteklemek için yeterli beslemeyi sağlayan spesifik formüllü diyetler geliştirilebilir. Her bir hedef türle tam olarak eşleşen diyetlerin geliştirilmesi, üretim maliyetlerini düşürebilir ve endüstri verimliliğini artırabilir (Dammannagoda, 2014).

Son zamanlarda kabuklu larvaları ile yapılan besleme denemelerinin sonuçları, türlerin besin gereksinimleri ile ilgili temel bir bilgi çerçevesinin oluşturulmasına yardımcı olmuştur ve bu gelişmeler kuşkusuz geleneksel olarak rotiferler ve *Artemia nauplii* gibi canlı gıdalara bağlı olan kuluçkahane üretimini geliştirecektir. Bununla birlikte, kabuklularda larval beslemenin birçok yönü hala tam olarak anlaşılmamıştır ve optimize edilmiş yemlerin geliştirilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Son yıllarda, ticari açıdan önemli kabuklular için formüle edilmiş yemlerin geliştirilmesine yönelik araştırmalar büyük ilgi görmüştür. Canlı yemin tamamen ikamesi, penaeid karideslerinin larva kültüründe rutin olarak yapılmasına rağmen bu uygulama karides ve diğer kabuklular için daha az başarılı olmuştur. Bununla birlikte, son zamanlarda, kabuklular, balıklar ve hatta çift kabuklular için mikro partikül yemlerin geliştirilmesine odaklanılması, yem alımı, sindirimi ve enerji gereksinimleri kontrol eden kriterler üzerinde araştırma yapmayı ve bazı önemli besin gereksinimlerinin tanımlanmasını sağlamıştır (Holme vd., 2009).

Kabukluların farklı larva aşamaları için formüle bir yemin başarılı bir şekilde geliştirilmesi, hedef türdeki beslenmenin davranışsal, mekanik ve fizyolojik süreçlerinin anlaşılmasını gerektirir. Örneğin, çamur yengeci larvaları, penaeid karideslerinin aksine karnivordur ve ilk besleme aşamasından itibaren zooplanktonlarla beslenirler. *S. serrata* tarafından gıda parçacıklarının yutulması ve tutulma oranları üzerinde yapılan denemeler, beslenme davranışının çeşitli larva aşamaları arasında değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Megaloplar, aktif olarak gıda maddelerini takip eder ve daha düzenli beslenirler. Yeni yumurtadan çıkmış zoea I larvaları ise çoğunlukla tesadüfen avlanırlar ve dolayısıyla daha az beslenirler (Genodepa vd., 2004). Bu durum, megalop evresinde, zoea evrelerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek alım oranlarına yol açmaktadır ve maliyet tasarrufu açısından bakıldığında, daha büyük larva evreleri için bir mikrodiet geliştirilmesinin

çamur yengeç kuluçkahaneleri için önemli tasarruflarla ilişkili olabileceği anlamına gelmektedir. Bu, megalop evresinin daha uzun sürmesi (7-10 gün, 3-5 gün süren zoea evresine karşı) ile vurgulanmaktadır ve sürekli yüksek kabuk değişimi ölüm sendromu oluşumu megalop evresi ile ilişkilidir (Holme vd., 2009).

Formüle edilmiş bir yem iyi dengelenmiş olabilir ve tüm esansiyel diyet besinlerini içerebilir, ancak çeşitli besinlerin kolayca kullanılabilir olmaması durumunda hala istenen sonuçları veremez. Dolayısıyla, formüle bir yemin gerçek besin değeri, sadece diyet kompozisyonuna değil, içeriklerin biyolojik olarak kullanılabilirliğine bağlıdır. Kabukluların, yemde bulunan besin maddelerini verimli bir şekilde kullanabilmeleri fonksiyonel bir sindirim sistemine bağlıdır ve sindirim sisteminin morfolojisi, larvaların fizyolojik durumu ve yetiştirme ortamı, besinlerin sindirilebilirliğinin belirlenmesinde büyük rol oynar (Holme vd., 2009).

Yem formülasyonunda yer alan en önemli sorunlardan biri, özellikle protein kalitesi olmak üzere formülasyonda yer alacak yem hammaddelerin kalitesidir. Kalite, amino asit kompozisyonuna ilaveten proteinaz inhibitörleri gibi antinütrisyonel faktörlerin varlığı ve miktarına bağlı olan sindirilebilirlikle de ilişkilidir. Proteinaz inhibitörleri, besinin proteininin sindirilebilirliğini azaltacak şekilde sindirim enzimini ve dolayısıyla amino asitlerin yararlanılabilirliğini etkilemektedir. Proteaz inhibitörü, besin proteininin asimilasyonunu azaltarak beslenmeyi olumsuz yönde etkileyerek ileride organizmanın gelişimini yavaşlatır. Bu nedenle, enzim inhibitörlerinin varlığı, yem formülasyonu için hammadde seçiminde bir sınırlama getirmektedir (Alarcón vd., 2007).

Larval beslemede kullanılacak en uygun yem formülasyonlarının veya yem hammaddelerinin belirlenmesi için özellikle protein kaynaklarının uygunluğunun tespit edilmesi gereklidir. Yemlerde kullanılacak protein kaynakları sindirimi olumsuz yönde etkileyen bileşikler içeriyor ve enzimsel faaliyetleri indiriyor ise bunlar formülasyondan çıkarılmalıdır. Benzer şekilde enzimatik faaliyetleri olumsuz etkilemeyen hammaddelerin kullanımına öncelik verilmesi gereklidir. Bu yaklaşımda öncelikle mikro yemlerde kullanılması muhtemel yem hammaddelerinin larva proteaz aktivitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi önemlidir (Yılmaz vd., 2011).

Biyolojik denemelerin hem pahalı hem de zaman alıcı olması ve aynı zamanda sadece yaklaşık sonuçların elde edilmesi nedeniyle birçok araştırmacı protein kalitesini değerlendirmek için uygun laboratuvar yöntemleri araştırmışlardır. Dimes ve Haard (1994), pH stat testi kullanarak protein sindirilebilirliğini belirlemek için bir *in vitro* metod geliştirmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde *in vitro* analizlerin kullanılması, daha az hayvan ve tesise ihtiyaç duyulduğu için hem ekonomik hem de hayvan refahı bakımından avantajlar sağlamaktadır (Alarcón vd., 2007). Chamchuen vd. (2014), *in vitro* protein sindirilebilirliği tekniğinin organizmanın farklı gelişme evreleri için uygun olabilecek formüle yemlerin yanı sıra yem hammaddelerini de ayırt edebileceğini belirtmiştir.

Ezquerria vd. (1997), *P. vannamei* türünde protein sindirilebilirliği çalışmasında pH-stat yöntemi ile elde edilen verileri kimyasal analiz ve *in vivo* görünür protein sindirilebilirlik analizi ile elde edilen verileri karşılaştırmışlar ve sonuç olarak pH-stat yönteminin daha iyi sonuç verdiğini, bu yöntemin karides yemleri için alternatif protein kaynaklarının sindirilebilirliğini tahmin etme potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Alarcón vd. (2007), *P. vannamei* postlarvalarının sindirim kapasitesini ve *in vitro* hidroliz teknikleri kullanılarak larva proteazları üzerinde yem bileşenlerinin inhibisyon etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, *P. vannamei* postlarva proteazlarının protein kaynaklarını ve mikrokapsülleri farklı derecede hidrolize ettiklerini saptamışlardır. Kazein, mürekkep balığı unu ve bu bileşenleri içeren yemlerin hızlı bir şekilde hidrolize edildiğini, buna karşın ovalbumin ve ovalbumin içeren mikrokapsüllerin hidrolize edilemediğini belirtmişlerdir. Lemos vd. (2004), *Farfantepenaeus paulensis* yavrularının proteinaz aktiviteleri üzerinde yem ve yem bileşenlerinin inhibisyonunu inceledikleri çalışmalarında soya unu ve buğday ununun yüksek inhibisyon etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Fernandez Gimenez vd. (2009a), tarafından *A. longinaris*'in proteaz aktivitesi üzerine alternatif protein kaynaklarının etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçları, *A. longinaris*'deki proteolitik aktivitenin, diyet proteininin kalitesine adapte olduğunu ve kalamar protein konsantresi ile birlikte soya unu'nun balık unu yerine kısmen ikame edilebileceğini göstermişlerdir.

Chamchuen vd. (2014), tarafından *Portunus pelagicus* türüne özgü gelecekte yem formülasyonunun geliştirilmesi amacıyla türün farklı gelişim aşamalarından elde edilen ham enzim özütleri kullanılarak farklı yem hammaddelerinde proteinin in vitro sindirilebilirliği incelenmiştir. Larval dönemlerinde (Z1-C) incelenen 10 farklı hammadde arasında canlı *Artemia* sp. ve rotifer (*Brachionus plicatilis*), ve *Moina* sp.'nin *P. pelagicus*'un bu erken aşamaları için en uygun yemler olduğu tespit edilmiştir. Canlı yemlerin yanı sıra karides yemi ve artemia pul yemi kullanılmasının alternatif olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir. Yetişkin aşamalar için, yem hammaddeleri arasındaki sindirilebilirlikler genellikle kültür ve doğal ortamdaki yetişkinler arasında benzerlik göstermiş, ancak 1M aşamasında (erken yetişkin) manyok unu daha sonraki aşamalardan daha iyi kullanabilmiştir. Bu, manyokunun 1M aşaması için (juvenil) yem formülüne dahil edilmesinin (gençlik) bir avantaj olabileceğini göstermiştir. Hayvansal yem hammaddeleri (balık ve kümes hayvanları), bitkiler ve bakteri proteinlerinden daha iyi protein kalitesi göstermiş olması nedeniyle *P. pelagicus* kültürü için faydalı olduğu belirtilmiştir.

Kattakdad vd. (2018), *Caridina cantonensis* türünde *in vitro* sindirilebilirlik çalışmaları yapmışlardır. Protein sindirimi üzerine yapılan çalışma, balık ununun uygun bir protein kaynağı olduğunu göstermiş, karbonhidrat sindirilebilirliği ise, karbonhidrat kaynağı olarak buğday unu ve maltodekstrin'in manyok, pirinç kepeği ve Na-aljinattan daha fazla uygun olduğunu göstermiştir. Çalışmanın neticesinde, karideslerin yemlerinde protein kaynağı olarak balık unu'nun uygun olduğunu, buğday unu'nun ise en iyi karbonhidrat kaynağı seçimi olduğu sonucuna varmışlardır.

Yapılan çalışmalar neticesinde, balıklarda olduğu gibi kabuklu su ürünleri yetiştiriciliğinde de özellikle yavru dönemde karşılaşılan yüksek ölüm oranları ve kanibalizmin, besinsel ihtiyaçların yeterince karşılanamamasından kaynaklandığı görüşü hakimdir. Beslenme kaynaklı bu problemlerin çözümünde izlenen temel metodoloji sindirim enzimi profili ve enzimatik aktivitedeki değişimlerin belirlenmesidir. Çoğu kabuklu türünde sindirim enzimi aktivitesi incelenmiş ve enzimatik aktivitenin ontogenik gelişme (Lovett ve Felder, 1990; Ribeiro ve Jones, 2000; Hammer vd., 2000; Figueiredo ve Anderson, 2003; Saborowski vd., 2006; Díaz vd., 2008; Serrano ve Traifalgar, 2012; Chamchuen vd., 2014), kabuk değiştirme (Fernández Gimenez vd., 2001,2002; Chamchuen vd., 2014) beslenme alışkanlığı ve

yem kompozisyonu (Pavasovic vd., 2004; López-López vd., 2005; Johnston ve Freeman, 2005; Pavasovic vd., 2007a) ve hatta habitat (Figueiredo ve Anderson, 2009) gibi farklı faktörlerden etkilendiği kanıtlanmıştır. Ancak, türlerin sadece enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi ile yetiştiricilik uygulamalarında karşılaşılan beslenme problemlerine çözüm getirilemeyeceği aşikardır. Bu nedenle, türe özgü besinsel ihtiyaçları karşılayabilecek uygun bir yem formülasyonunun geliştirilmesi için, formülasyonda kullanılacak hammaddelerin enzimatik aktiviteler üzerindeki etkilerinin de bilinmesi gerekmektedir. Dolayısıyla, mikro yemlerin üretiminde dikkat edilmesi gereken en önemli konulardan biri hammadde seçimidir. Mikro yem formülasyonuna yer alacak hammaddelerin enzimatik faaliyetleri olumsuz yönde etkilememesi gerekmektedir. Bu bağlamda, mikro yemlerde kullanılacak hammaddelerin yavruların proteaz aktiviteleri üzerindeki bireysel etkilerinin *in vitro* tekniklerle belirlenmesi gerekmektedir. *In vitro* çalışmalar, özellikle larval besleme için önemli olup, türün besin ihtiyaçlarını karşılayabilecek yem formülasyonlarının oluşturulabilmesi için formülasyonda kullanılacak uygun yem hammaddelerinin seçimine olanak sağlamaktadır. Bu durumda, *in vitro* analizlerden elde edilen bulguların yem formülasyonunun oluşturulmasında kullanımı mümkündür. Sonuçta, formülasyonda kullanılması planlanan yem hammaddelerinin hedef türün proteaz aktiviteleri üzerindeki bireysel etkileri değerlendirilerek türe özgü uygun yem formülasyonlarının geliştirilmesi sağlanabilir.

Kerevitlerden *C. quadricaricarinatus* (Figueiredo vd., 2001; Figueiredo ve Anderson, 2003; López-López vd., 2005; Luo vd., 2008a,b), *Cherax destructor* ve *Engaeus sericatus* (Linton vd., 2009), *P. clarkii* (Hammer vd., 2000), *Cherax albidus* (Coccia vd., 2011) türlerinin sindirim enzimleri konusunda bazı çalışmalar yapılmış olup, türlerin sindirim enzimleri ve enzimatik aktivitelerdeki değişimler ortaya konulmuştur. Buna karşılık, ülkemizin yerel türü olan *A. leptodactylus*'un besin gereksinimi ve sindirim fizyolojisi tam olarak bilinmemektedir. *A. leptodactylus* gerek besin değerleri gerekse ekonomik değeri açısından önemli su ürünleri içerisinde yer almaktadır. Ayrıca, dünyanın birçok yerinde lüks gıda maddesi olarak kullanılması nedeniyle ekonomik değeri her geçen gün artmaktadır. Kerevitin ülkemiz için önemli bir ihraç ürünü ve aynı zamanda da geniş bir üretim potansiyeline sahip olması, bu türün yetiştiriciliğini önemli kılmaktadır. İyi bir kültür potansiyeline sahip olan bu türün kültür gereksinimleri ve performans bilgilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Kültür

ortamında yetiştiriciliği ile ilgili çalışmalarda, yavruların bağımsız yaşamlarının ilk dönemlerinde hayatta kalma ve büyüme oranlarının düşük olması kerevitin entansif yetiştiriciliğinde önemli bir sorun teşkil etmektedir. Başarısız sonuçların genellikle beslenme gibi temel bir faktörle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden, bu türün yetiştiricilik standartlarının geliştirilmesi için gelişiminin farklı dönemlerindeki besin madde gereksinimleri ve sindirim enzimleri fonksiyonları bilinmelidir. Bu konudaki bilgiler, türün besinsel gereksinimlerini karşılama potansiyeline sahip yem formülasyonlarının geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

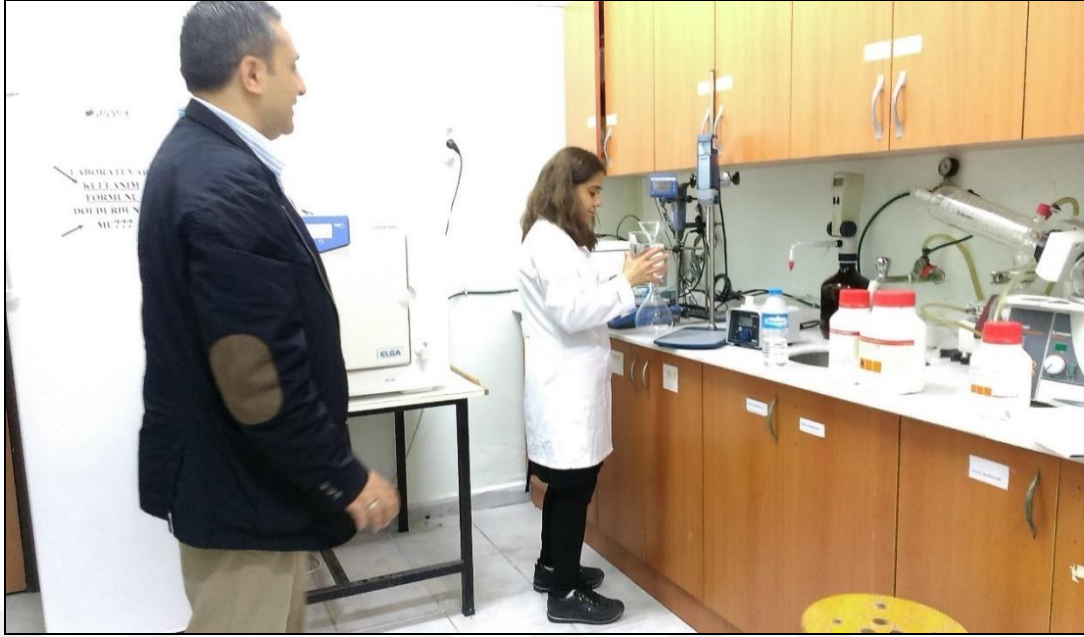
3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma yeri ve kullanılan su

Üretim ve örnekleme çalışmaları Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde bulunan Kerevit Araştırma Merkezi kapalı devre kuluçkahane sisteminde (Şekil 3.1), analiz çalışmaları İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi'ne ait yetiştiricilik laboratuvarında (Şekil 3.1) gerçekleştirilmiştir. Kerevit Araştırma Merkezinde birbirinden bağımsız kullanılabilen 2 adet tam kontrollü kapalı devre üretim sistemi bulunmaktadır. Her bir modülde mekanik ve biyolojik filtrasyon, UV reaktörü, ısıtma/soğutma sistemi, havalandırma donanımı ve ozon dezenfeksiyon sistemi bulunmaktadır. Her iki modül farklı su sıcaklıklarında, birbirinden bağımsız olarak çalışma özelliğine sahiptir. 186 ton tank kapasitesine sahip olan tesis 2015 yılında hizmete geçmiş olup, günlük 6,5 kez su değişimi sağlanmaktadır. Tesiste kullanılan su kuyu suyu olup dalgıç motorla kuyudan alınmakta ve tesise ulaştırılmaktadır.



Şekil 3.1. Kerevit Araştırma Merkezi (kapalı devre yetiştiricilik sistemi)



Şekil 3.2. İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yetiştiricilik Laboratuvarı

3.1.2. Araştırma materyali

Araştırma materyalini ülkemizin doğal kerevit türü olan *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) türü oluşturmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kerevit (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823)

3.1.3. Üretim ekipmanları ve barınaklar

Kerevit anaçlarından yavru üretimi ve örnekleme çalışmalarında 280 x 60 x 60 cm boyutlarında polyester tanklar ve 60 x 40 x 30 cm boyutlarında şeffaf plastik kutular kullanılmıştır. Anaçların ve yavruların saklanabilmesi için PVC malzemedan yapılmış ve muhtelif ebatlarda çok sayıda barınak malzemesi ve delikli tuğlalar kullanılmıştır.

3.1.4. Yem materyalleri

Yavruların ilk beslenmesinde tatlı su rotiferi, artemia, daphnia ve chironomid larvaları gibi canlı yemler kullanılmış olup, açık ve kapalı alandaki kültür ortamlarında üretimleri gerçekleştirilmiştir. *In vitro* çalışmada kullanılan ticari alabalık ve karides yemleri yem firmasından temin edilmiştir. Yem formülasyonunda kullanılması planlanan yem hammaddeleri (hamsi unu, ithal balık unu (ringa ve çaça balığı), karides unu, kalamar unu, balık hidrolizati, gammarus, mısır gluteni, buğday gluteni, krill unu, soya küspesi, soya proteini, buğday unu, bezelye proteini) ticari yem üreticisi özel bir firmadan (Nektar Yem ve Yem Katkı Mad. Gıda Hayv. San. ve Tic. Ltd. Şti) temin edilmiştir.

3.1.5. Diğer araç ve gereçler

Örnekleme çalışmaları kapsamında; yumurta ve yavru gelişmesinin izlenmesi ve ölçümler için stereo mikroskop (Olympus SZX10) kullanılmıştır. Yine aynı mikroskoba bağlı Nikon DS-Fi2 model kamera ile her bir gelişme dönemindeki yumurta ve yavruların görüntüsü alınmıştır. Ayrıca, daha büyük yavruların boy ölçümleri için 0.01 mm hassasiyetli dijital kumpas, ağırlık ölçümleri için ise 0.0001 g hassasiyetli elektronik terazi kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan suyun pH, çözülmüş oksijen ve sıcaklık parametreleri günlük olarak WTW Multi 3430 ölçüm cihazı ile ölçülmüştür.

3.2. Yöntem

Bu çalışma 4 farklı aşamada gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın Aşamaları

1. Aşama

- ✓ *Astacus leptodactylus* üretimi ve örnekleme

2. Aşama

- ✓ *A. leptodactylus* türünün ontogenik gelişme dönemlerindeki sindirim enzim aktivitelerinde gözlenen değişimlerinin izlenmesi

3. Aşama

- ✓ Proteaz inhibisyonlarına göre kerevit yavrularının beslenmesinde kullanılacak uygun yem ham maddelerinin belirlenmesi

4. Aşama

- ✓ Kerevitlerin besin gereksinimlerini karşılayabilen ekonomik ve aynı zamanda sürdürülebilir yem hammaddelerinden oluşan yem formülasyonunun oluşturulması
- ✓ Hazırlanan yemin *in vitro* tekniklerle test edilmesi

3.2.1. Yumurtalı kerevitlerin temini ve yavruların elde edilmesi

Örnekleme çalışmasında kullanılan kerevit yumurta ve yavrularının elde edilmesinde, Kerevit Araştırma Merkezi'ndeki mevcut ve adaptasyonları sağlanmış olan anaçlar kullanılmıştır. 2016 yılı üretim sezonunda yumurta örnekleme için, 2017 yılı üretim sezonunda ise yavru örnekleme için üretim çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Yumurta örnekleme çalışması kapsamında; gerekli koşulların oluşturulduğu üretim tanklarındaki (280 x 60 x 60 cm) anaçlar kontrol edilerek yumurta gelişmesi izlenmiş ve örneklemede kullanılmak üzere sağlıklı görünen ve yumurtlama zamanları birbirine en yakın olan yumurtalı anaçlar seçilmiştir. Seçilen anaçlar üretim tanklarının içine dizayn edilmiş olan (60 x 40 x 30) cm boyutlarındaki şeffaf plastik kutulara bireysel olarak yerleştirilmiştir.

Yavru örnekleme çalışması kapsamında; anaç vasfına sahip olan yumurtalı kerevitler seçilerek içinde barınak malzemelerinin bulunduğu ve gerekli abiyotik koşulların oluşturulduğu polyester üretim tanklarına (280 x 60 x 60 cm) 4 adet/m² yoğunlukta stoklanmıştır. Üretim tanklarına stoklanan yumurtalı anaçlar günlük olarak kontrol edilerek yumurta gelişme durumları takip edilmiş ve her bir gelişme evresini temsil edecek yavru örnekleme çalışmaları için, yumurta açılım zamanları en yakın olan anaçlar seçilmiştir. Seçilen anaçlar yavru üretim tanklarının içine dizayn edilmiş olan (60 x 40 x 30) cm boyutlarındaki 20 adet şeffaf plastik kutulara bireysel olarak yerleştirilmiş ve bu üretim kutularında yavru çıkışı sağlanmıştır. Yumurtadan yeni çıkmış yavruların, bağımsız yaşama geçene kadar anaçlarla birlikte kalmaları sağlanmıştır. Yavrular bağımsız hale geldikten sonra, anaçlar ortamdaki alınmış ve yavruların bakım ve besleme çalışmaları örnekleme çalışmaları tamamlanıncaya kadar sürdürülmüştür. Yavruların beslenmesi günde 1 kez doyana kadar yapılmış ve beslemede ilk 30 gün tatlı su rotiferi ve *Artemia* sp. nauplii, daha sonraki dönemde ise *Daphnia* sp. ve chironomid larvaları kullanılmıştır.

Tüm bu üretim çalışmalarında, agresif davranış, stres ve kanibalizmi engellemek amacıyla üretim kutularının tabanına, anaç ve yavrulara uygun özellikte çeşitli barınak materyalleri (PVC boruları, delikli tuğla) yerleştirilmiştir. Anaçlar günlük olarak canlı ağırlıklarının %2'si oranında (Harlıoğlu ve Barım, 2004) %47 protein içeren karides yemi ile beslenmiştir. Anaçlara ayrıca haftada üç kez taze balık eti verilmiştir.

Yavru üretimi ve besleme kapalı devre yetiştiricilik sisteminde gerçekleştirilmiş olup, kapalı devre sistem ve ekipmanları (biyolojik ve mekanik filtrasyon sistemi, havalandırma sistemi, ısıtma-soğutma sistemi, ozonlama sistemi vs.) sayesinde su kalite parametrelerinin optimum seviyelerde tutulması sağlanabilmiştir. Isıtma-soğutma sistemi sayesinde su sıcaklığı ayarlanarak yavruların aktif beslenme gösterdikleri sıcaklık aralığı korunabilmiştir.

Yine bu sistem sayesinde, üreme döneminde (çiftleşme, yumurtlama ve inkübasyon) anaçların ihtiyaç duyduğu su sıcaklığı parametrelerinin ayarlanması sağlanmıştır. Sıcaklığın ayarlanmasında, doğal ortamındaki model baz alınmıştır. İnkübasyon döneminde uygun koşulların ve sürenin sağlanması, embriyonun gelişmesini en iyi

şekilde tamamlaması ve böylece daha kaliteli yavru elde edilmesi bakımından önemli olmaktadır.

3.2.2. Örnekleme

Yumurta örneklemleri 2016 yılı üretim sezonunda, yavru örneklemleri 2017 yılı üretim sezonunda gerçekleştirilmiştir. Örneklemler gelişme evrelerine göre yapılmış olup, her bir evrede yaklaşık 3-4 g yumurta ve yavru örneği alınmıştır. Örnekleme yapılırken popülasyonun %80'inin ilgili gelişme evresine ulaşmış olmasına dikkat edilmiştir (Rivera-Pérez vd., 2010). Embriyonik gelişme Celada vd. (1987; 1991)'ne göre değerlendirilmiştir. Post-embriyonik gelişme evrelerinin belirlenmesinde Köksal (1984), Scholtz ve Kawai (2002) ve Kozak vd. (2015)'nin çalışmalarından yararlanılmış olup, gelişme dönemlerinin ayrımı aynı dönemde yumurtadan çıkmış yavruların ilk kabuğunu değiştirip II. döneme girdikten sonra sürekli izlenmesiyle yapılmıştır. İlk üç dönemin belirlenmesinde yavruların morfolojik özellikleri, özellikle kuyruk morfolojileri esas alınmış, daha sonraki dönemlerde yavruların kabuk değiştirmeleri sürekli takip edilerek yapılmıştır. Örnekleme çalışmaları kapsamında yumurta ve yavruların gelişmeleri stero-mikroskop altında incelenmiş ve mikroskoba bağlı kamera ile her bir gelişme dönemine ait görüntüleri alınmıştır.

2016 yılı üretim sezonunda örnekleme için ayrılan yumurtalı anaçlardan Ocak ayından itibaren yavru çıkışına kadar 9 kez yumurta örneği alınmıştır. 2017 yılı üretim sezonunda ise yumurtaların açılmasından itibaren VI. yavru dönemine kadar 7 kez yavru örneği alınmıştır. II. dönemde, anneye bağımlı ve bağımsız yaşam evresindeki II. dönem yavrular arasında enzimatik aktiveler bakımından farklılık olup olmadığının belirlenmesi amacıyla 2 kez örnekleme yapılmıştır. Alınan örnekler distile su ile yıkanıp kurulandıktan sonra 3ml'lik cryo tüplerde analiz aşamasına kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir (Hammer vd., 2000).

3.2.3. Analizler için örneklerin hazırlanması

Sindirim enzim aktivitesinin belirlenmesi için örneklenen yumurta ve yavrular -80°C dondurucudan alınarak kısa süre içinde çözdürülmüş ve tartım yapılmıştır. Enzim analizleri için tüm vücut homojenatları kullanılmış örnekler distile su ile homojenize

edilmiştir. Analizler için kullanılan ekstraktlar, örneklerin homojenize edilmesi sonunda elde edilen homojenatların, 4°C’de dakikada 16.000 devirde 30 dakika santrifüj edilmesiyle sağlanmıştır. Santrifüj sonrası elde edilen supernatantlar analiz aşamasına kadar -80°C’de muhafaza edilmiş ve enzimatik aktivitelerin belirlenmesi için kullanılmıştır.

3.2.4. Protein analizi

Yumurta ve yavru ekstraktlarında çözülebilir protein konsantrasyonları Bradford (1976) tarafından geliştirilen bir protein renk (dye) çözeltisine dayalı yöntem ile belirlenmiştir (Biorad Protein Assay, Cat. No: 5002). Biorad kit prosedürleri uygulandıktan sonra spektrofotometrede (Shimadzu, UV mini 1204) 595 nm’de ölçümler yapılmıştır.

3.2.5. Enzim analizleri

3.2.5.1. Proteaz

Proteaz aktiviteleri Walter (1984)’e göre belirlenmiştir. Substrat olarak kazein (10 g/L) (buffer: 50 mM Tris HCl, pH:8.5) kullanılmıştır. Reaksiyon 500µl trikloroasetik asitin (TCA, 120g/L konsantrasyonunda) ilavesiyle durdurulmuştur. Sonuçlar U/mg protein olarak verilmiştir.

3.2.5.2. Asit proteaz

Asit proteaz aktivitesi Anson (1938), tarafından tanımlanan metoda göre hemoglobinin (%1) substratı kullanılarak belirlenmiştir. Reaksiyon 500µl trikloroasetik asitin (TCA, 120 g/L konsantrasyonunda) ilavesiyle durdurulmuştur. Sonuçlar U/mg protein olarak verilmiştir.

3.2.5.3. Tripsin

Tripsin enzim aktivitesi Tseng vd. (1982), tarafından tanımlanan analiz yöntemine göre yapılmıştır. Tampon çözeltisi olarak Tris-HCl, 50 mM, CaCl₂ 20 mM, pH=8.2

ve substrat olarak 0.1 M D.M.S.O'da çözünen BAPNA (Molekül Ağırlığı=434.9) kullanılmıştır. Sonuçlar, mU/ mg protein olarak ifade edilmiştir. Unit=Her dakika BAPNA'nin 1 µmol'unu hidrolize eden aktivite olarak ifadesidir.

3.2.5.4. Alkalın fosfataz

Alkalın fosfataz enzim aktivitesi Bessey vd. (1946)'ne göre yapılmıştır. Tampon çözeltisi olarak NaHCO₃, 30 mM, pH=9.8 ve substrat olarak 100 ml tampon içinde çözdürülmüş 20.3 mg MgCl₂.6H₂O ve 185 mg p- nitrofenil fosfat karışımı kullanılmıştır. Sonuçlar, mU/ mg protein olarak ifade edilmiştir. Unit=37 °C'de her dakikada hidrolize olan substratin µmol cinsinden ifadesidir.

3.2.6. Yavruların proteaz aktivitesi üzerine yem hammaddelerinin inhibisyon etkilerinin değerlendirilmesi

Çalışmada yem hammaddesi olarak, hamsi unu, ithal balık unu, karides unu, kalamar unu, balık hidrolizati, gammarus, mısır gluteni, buğday gluteni, krill unu, soya küspesi, soya proteini, buğday unu ve bezelye proteininin kullanılması planlanmış olup, bu ham maddelerinin kimyasal kompozisyonları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Protein solüsyonları (yem hammaddeleri) 100 mg/mL'lik konsantrasyonlarda distile suyla hazırlandıktan sonra homojenize edilmiş, homojenize olan örneklere +4°C'de dakikada 15000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj işlemi uygulanmış ve elde edilen supernatantlar analizlerde kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir.

4°C'de dakikada 16.000 devirde 30 dakika

Protein solüsyonlarının (yem hammaddeleri) yavruların proteaz aktivitesi üzerine inhibisyonlarının belirlenmesinde García-Careño (1996), tarafından tanımlanan ve Alarcón vd. (1999), tarafından modifiye edilen yöntemler kullanılmıştır. Öncelikle yavru ekstraktı, buffer ve protein solüsyonları oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilip kazein (10 g/L) solüsyonu ilave edilerek 60 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Reaksiyon 500 µl TCA (120 g/L konsantrasyonunda) ilavesi ile durdurulmuştur. Proteaz inhibisyonu kontrol grubundakine göre azalan proteaz aktivitesi olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1. Yem hammaddelerinin kimyasal kompozisyonu (%)*

Yem hammaddeleri	Kuru madde	Ham protein	Lipit	Kül
Hayvansal				
Balık hidrolizatı (Fransa)	95.8	74.30	19.5	5.60
Hamsi unu (Türkiye)	94.0	72.00	9.0	11.00
İthal balık unu (Fas)	91.2	65.14	10.5	-
Karides unu (Fransa)	72.0	56.00	28.0	10.00
Kalamar unu (Fransa)	91.7	81.99	4.32	4.88
Krill unu (Fransa)	72.0	56.00	28.0	10.00
Gammarus (Rusya)	92.0	40.00	4.0	4.00
Bitkisel				
Buğday unu (Türkiye)	86.1	11.4	-	0.70
Buğday gluteni (Çin)	95.4	83.14	-	0.81
Mısır gluteni (Türkiye)	89.9	60.00	-	-
Soya küspesi (Türkiye)	87.2	46.42	1.53	-
Soya proteini (Brezilya)	90.0	60.00	0.4	7.00
Bezelye proteini (Çin)	94.0	72.90	-	4.60

*Yem hammaddelerinin kimyasal kompozisyonu Nektar Yem ve Yem Katkı Mad. Gıda Hayv. San. Ve Tic. Ltd. Şti'nin 22.05.2018 tarihli analiz sonuçlarına dayanmaktadır.

3.2.7. Yem formülasyonunun oluşturulması

Çalışmada yapılan enzim ve inhibisyon analizleri sonrasında, kerevit yavrularının dönemsel besin gereksinimlerini karşılayabilecek mikroyemin içeriğini oluşturmak üzere bir formülasyon geliştirilmiştir. Yavrularının beslenmesinde kullanılacak en uygun formülasyonun geliştirilmesinde aşağıdaki analiz sonuçlarından yararlanılmıştır. Bunlar;

- Yavruların farklı gelişme dönemlerindeki enzimatik aktivite değişimleri
- Çalışmada test edilen hammaddelerin yavruların proteaz aktiviteleri üzerindeki inhibisyon etkileri

Ayrıca mikroyemin içeriğinin belirlenmesinde Carral vd. (2011)'nin extrude yem çalışması, diğer kerevit türleri ile ilgili yapılan besleme çalışmaları (González vd., 2012; Fuertes vd., 2012; Celada vd., 2013), enstitüde yavru yetiştiriciliği konusunda

yapılan çalışmalar (Özkök vd., 2006; Erol vd., 2011, 2017) ve elde edilen deneyimlerden yararlanılmıştır. Yemin protein içeriğinin, Holdich (2002) ve Güner (2009)'in yavru kerevitlerin proteince yüksek yemlerle beslenmesi gerektiği tavsiyeleri doğrultusunda %55'den düşük olmamasına, lipid içeriğinin ise Valipour vd. (2012)'nin yapmış oldukları çalışma sonucundaki öneriler doğrultusunda %13'ün altında olmamasına dikkat edilmiştir.

3.2.8. Mikroyem üretimi

Analiz sonuçlarının ışığında belirlenen yem hammaddeleri kullanılarak en uygun formülasyonun içeriğine karar verildikten sonra mikroyem üretimi aşamasına geçilmiştir. Mikroyem üretimi, istenen boyutlarda soğuk ekstrüzyon (sıcaklık 60-70°C) yem yapımı yöntemi ile özel ticari yem üreticisi firması tarafından gerçekleştirilmiş olup, yemin *in vitro* değerlendirilmesi aşamasında kullanılmak üzere 300-500 µ (II. dönem yavrular için), 500-800 µ (III. dönem yavrular için) ve 800-1200 µ (IV., V. ve VI. dönem yavrular için) boyutlarda yemlerin üretimi sağlanmıştır. Mikroyemlerin kül analizleri Vollenweider (1974)'a, protein analizleri Kjeldahl yöntemi (Nx6,25) AOAC (2000)'a ve lipid analizleri Bligh ve Dyer (1959)'e göre yapılmıştır.

3.2.9. Üretilen mikroyemin *in vitro* tekniklerle test edilmesi

3.2.9.1. Mikroyemin proteaz inhibisyon oranlarının belirlenmesi

Protein solüsyonları (mikroyemlerin) 100 mg/mL'lik konsantrasyonlarda distile suyla hazırlandıktan sonra homojenize edilmiş, homojenize olan örneklerle +4°C'de dakikada 15.000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj işlemi uygulanmış, elde edilen supernatantlar analizlerde kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Protein solüsyonlarının (mikroyemlerin) yavruların proteaz aktivitesi üzerine inhibisyonlarının belirlenmesinde García-Careño (1996), tarafından tanımlanan ve Alarcón vd. (1999), tarafından modifiye edilen yöntemler kullanılmıştır. Öncelikle yavru ekstraktı, buffer ve protein solüsyonları oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilip kazein (10 g/L) solüsyonu ilave edilerek 60 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur.

Reaksiyon 500µl TCA (120 g/L konsantrasyonunda) ilavesi ile durdurulmuştur. Proteaz inhibisyonu kontrol grubundakine göre azalan proteaz aktivitesi olarak hesaplanmıştır.

3.2.9.2. pH-Stat sistem kullanılarak mikroyemin hidroliz derecelerinin belirlenmesi

Mikroyemlerin hidroliz derecelerinin belirlenmesi Dimes ve Haard (1994)'e göre yapılmıştır. Mikroyemlerin protein solusyonları 5 mL reaksiyon şişesine konarak 0.1 M NaOH ilavesiyle pH'sı 8'e ayarlanmış ve 10 dakika süre ile 25°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Karışım magnetik karıştırıcı ile sürekli olarak karıştırılmıştır. Reaksiyon değişimleri pH-Stat ile belirlenmiştir. Reaksiyon karışımının pH'sının korunması için gerekli olan 0.01 M NaOH alkali sarfiyatına dayalı hidrolizin derecesi reaksiyondan 90 dakika sonra hesaplanmıştır.

3.2.10. İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS v25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) istatistik paket programı ile değerlendirilmiştir. Öncelikle verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlenmiştir. Normal dağılım göstermeyen verilere uygun transformasyon yöntemleri (Karekök, Logaritmik, Logit dönüşüm vb.) uygulanmıştır. Bu işlemler sonrasında normal dağılım gösteren veriler için parametrik testlerden tek yönlü varyans analizi (Oneway-ANOVA) yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır. Normal dağılım göstermeyen veriler için non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey HSD nonparametrik çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Veriler arasındaki önemlilik seviyesi $\alpha=0.05$ olarak kabul edilmiştir (Özdamar, 2010; SPSS, 2014).

4. BULGULAR

4.1. Yumurtalı Kerevitlerden Yavruların Elde Edilmesi

2016 yılı üretim sezonunda yumurta örnekleme amacı ile yapılan üretim çalışmaları kapsamında, Kerevit Araştırma Merkezindeki mevcut anaçlardan sağlıklı ve yumurtlama zamanları birbirine yakın olan 40 adet anaç ayrılarak üretime alınmıştır. Bu anaçlar, gerekli koşulların oluşturulduğu üretim kutularına bireysel olarak yerleştirilmiş ve yumurta örnekleme çalışmaları tamamlanıncaya kadar bu kutularda bakım ve beslemeleri devam etmiştir. Yumurta örnekleme için kullanılan anaçların ortalama toplam boyu 12.77 ± 0.76 cm, karapaks boyu 6.19 ± 0.51 cm ve ağırlığı 55.55 ± 9.39 g olarak belirlenmiştir. Örnekleme süresince su sıcaklığı 8.5-17°C, çözünmüş oksijen 8-10.5 mg/l, pH 8.5-9 arasında değişim göstermiştir.

2017 yılı üretim sezonunda yavru örnekleme amacı ile yapılan üretim çalışmaları kapsamında Kerevit Araştırma Merkezindeki mevcut anaçlardan sağlıklı görünen yumurta açılım zamanları en yakın olan 20 adet anaç ayrılarak üretime alınmıştır (Şekil 4.1). Üretime alınan anaçlardan, yumurtadan yavru çıkışı 04 Haziran 2017 tarihinde başlamış olup, yaklaşık 4-5 gün içinde tüm yumurtalar açılmış ve I. dönem yavrular elde edilmiştir (Şekil 4.2). I. dönem yavrular yaklaşık 10-12 gün sonra (14 Haziran 2017 tarihinden itibaren) ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçmeye başlamışlardır (Şekil 4.3). II. döneme geçen yavrular bir süre (8-11 gün) anaca bağımlı kalmışlar ve 21 Haziran 2017 tarihinden itibaren yavrular anaçlardan ayrılmaya başlamışlar ve 26 Haziran 2017 tarihinde yavruların tümü bağımsız yaşam evresine geçmişlerdir (Şekil 4.4). Yavrular bağımsız hale geldikten sonra, anaçlar ortamdaki alınmış ve yavruların bakım ve besleme çalışmaları yine aynı kutularda örnekleme çalışmaları tamamlanıncaya kadar sürdürülmüştür. Örnekleme dönemi süresince deneme kutularında su sıcaklığı 19-21°C, çözünmüş oksijen 8-9.5 mg/l, pH 8.5-9 arasında değişim göstermiştir. Örneklemede kullanılan yumurtalı anaçların ortalama toplam boyu 12.63 ± 0.62 cm, karapaks boyu 6.35 ± 0.47 cm ve yumurtalı ağırlığı 64.90 ± 8.27 g olarak belirlenmiştir.



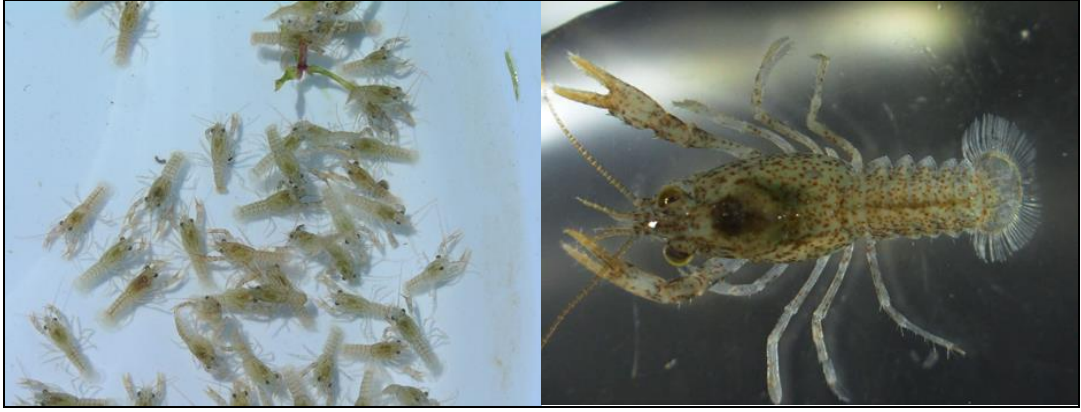
Şekil 4.1. Yumurtalı kerevit



Şekil 4.2. Anaca bağımlı henüz kabuk değiştirmemiş I. dönem yavrular



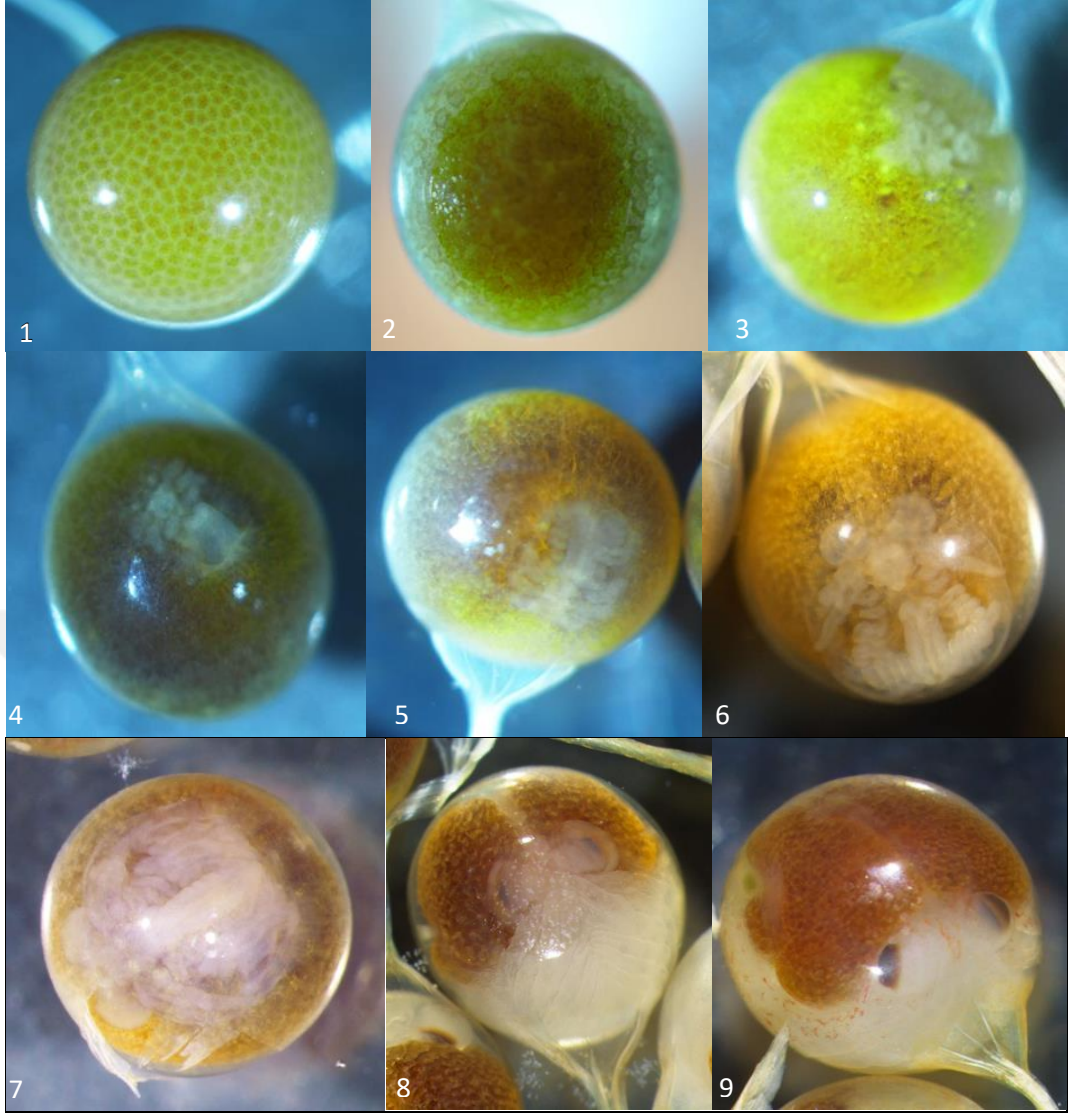
Şekil 4.3. İlk kabuklarını değiştiren II. döneme geçmiş, henüz anaca bağımlı olan II. dönem yavrular



Şekil 4.4. Anaçlardan ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçen II. dönem yavrular

4.2. Yumurta Örneklemesi

2016 yılı üretim sezonunda yumurtalı anaçlardan ocak ayından itibaren yavru çıkışına kadar 9 kez yumurta örneği alınmıştır. Alınan yumurta örnekleri mikroskop altında incelenerek spesifik morfolojik özelliklerine göre evreler belirlenmiş ve fotoğraflanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *Astacus leptodactylus*'un embriyonik gelişimi (9 karakteristik evre). 1) Evre II; yüzeyde hücre bölünmesinin açıkça görüldüğü evre. 2) Evre III; blastula. 3) Evre VIII; mandibul oluşumlu embriyo (md). 4) Evre IX; Naupli uzantılı embriyo, bu safhada at1, at2 ve md karakteristiktir. 5) Evre X; çiğneme uzantıları oluşumlu embriyo. 6) Evre XI; periopod oluşumlu embriyo. 7) Evre XII; kalp atımlı embriyo. 8) Evre XIII; göz pigmentleri gelişmiş embriyo. 9) Evre XIV; posterior hepatopankreas lobları iyi gelişmiş olan embriyo.

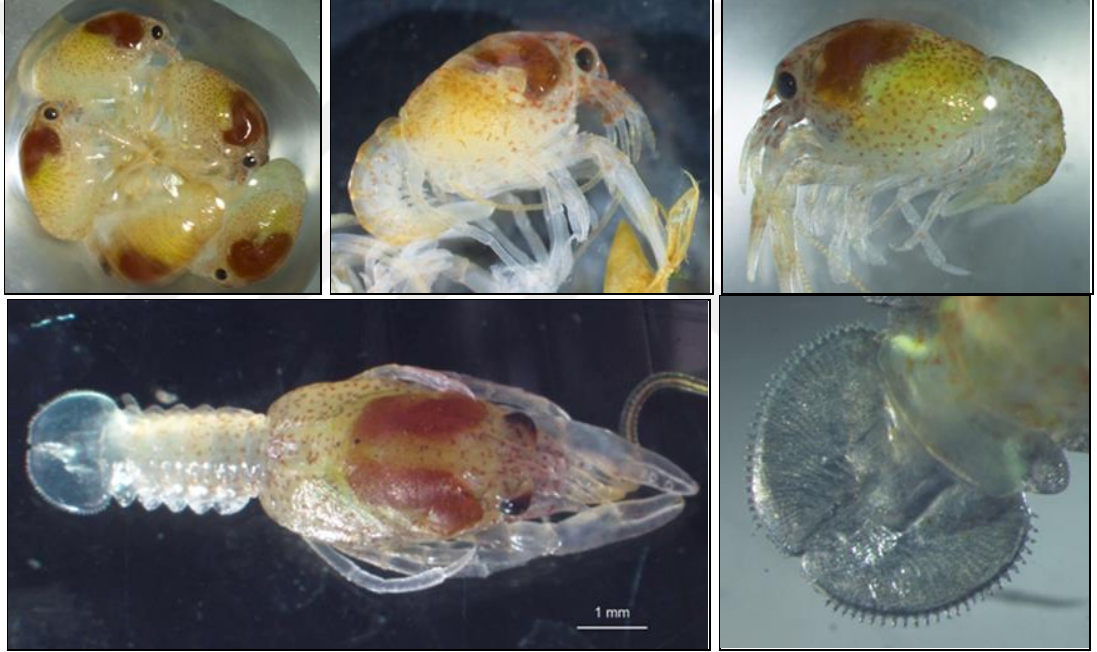
4.3. Yavru Örneklememe

Yavru örneklemeleri gelişme evrelerine göre yapılmış olup, yumurtaların açılmasından itibaren VI. yavru dönemine kadar toplam 7 kez örneklememe yapılmıştır.

Gelişme evrelerine göre yavru örneklemeleri;

I. dönem yavru

Yumurtadan yeni çıkmış ve yumurta sarısı kalıntısı taşıyan I. dönem yavruların sesil gözlere sahip, karapaksın küresel parçasız iri bir kabuk şeklinde ve turuncu-yeşil-kahverengi pigmentli, rostrumun küçük ve ventrale doğru eğik, telsonun geniş, bölmesiz olup, kısa setalarla donatılı olduğu belirlenmiştir. Bu aşamadaki juvenillerin, pereopodları ve yumurta sapları ile annelerinin pleopodlarına, başka yavrulara ya da yumurta kabuklarına tutundukları görülmüştür (Şekil 4.6). I. dönem yavruların toplam boyu ortalama 8.11 ± 0.56 mm, karapaks boyu ise 4.57 ± 0.38 mm olarak belirlenmiş olup, 10-12 gün sonra ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçtikleri saptanmıştır.



Şekil 4.6. I. dönem yavru

II. dönem yavru

II. dönem yavrularda, 2 kez örnekleme yapılmıştır. Birinci örneklemede, ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçmiş, anneye tutunmuş vaziyette olan II. dönem yavrular örneklenmiştir (Şekil 4.7). İkinci örneklemede ise, anneden ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçen II. dönem yavrular örneklenmiştir (Şekil 4.8). Bağımlı ve bağımsız yaşam evresinde olan II. dönem yavrularda morfolojik özellikler bakımından farklılık gözlenmemiştir.

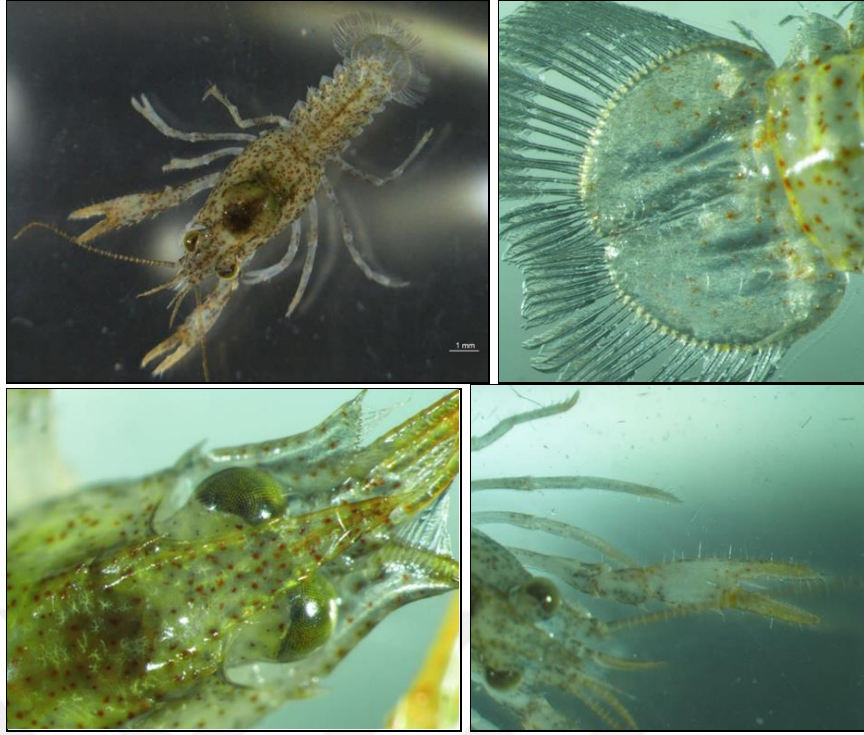


Şekil 4.7. Anneye tutunmuş vaziyette olan II. dönem yavrular



Şekil 4.8. Anneden ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçen II. dönem yavrular

II. dönem yavrularda, karapaksın I. dönemdeki gibi küresel olmadığı, gözlerin kısa saplı olduğu, vücut yüzeyinde setaların oluştuğu, özellikle telsonun uzun tüysü setalarla kaplı olduğu görülmüştür (Şekil 4.9). Bu dönemdeki yavruların vücut uzantılarının oldukça hareketli olduğu gözlenmiş ve dönemin sonuna doğru da annenin üzerinde ve etrafında hareket etmeye başladıkları görülmüştür. II. dönem yavruların toplam boyu ortalama 11.32 ± 0.37 mm, karapaks boyu ise 5.89 ± 0.21 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9). II. dönem yavrular yaklaşık 8-11 gün anneye tutunmuş vaziyette yaşadıktan 9-12 gün sonra ikinci kabuklarını değiştirerek III. yavru döneme ulaşmışlardır.



Şekil 4.9. II. dönem yavru

III. dönem yavru

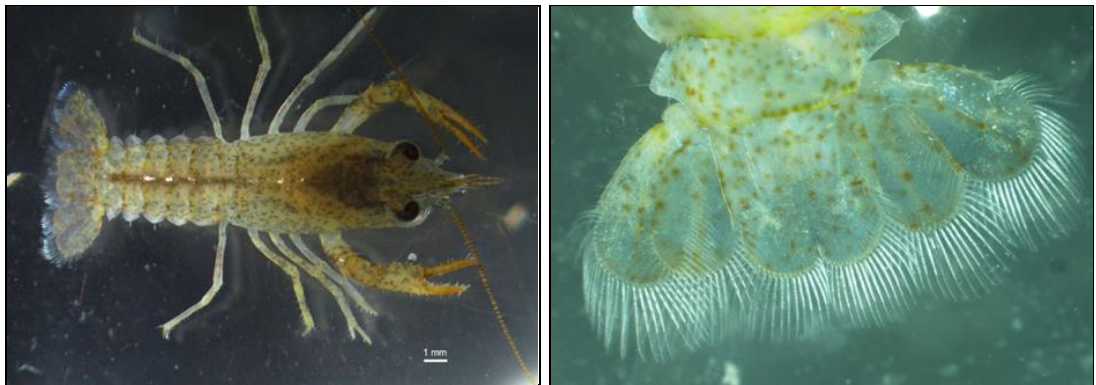
İkinci kabuk değişiminden sonra III. döneme ulaşan yavruların az ya da çok erişkin bir bireye benzedikleri görülmüştür. Üropodların oluştuğu ve telsonun üropodlarla birlikte kuyruk yelpazesini tamamladığı gözlenmiştir. Telson üzerindeki uzun setalar bir dereceye kadar kısalmış ve aynı tip tüysü setalar üropodların kenarında da oluşmuştur (Şekil 4.10). Bu dönemdeki yavruların toplam boyu ortalama 13.41 ± 0.32 mm, karapaks boyu ise 6.71 ± 0.20 mm olarak belirlenmiştir. III. dönem yavrular 20-23 gün sonra üçüncü kabuklarını değiştirerek IV. döneme ulaşmışlardır.



Şekil 4.10. III. dönem yavru

IV. dönem yavru

IV. dönemde yavruların toplam boyu ortalama 17.46 ± 1.79 mm, karapaks boyu ise 9.11 ± 0.95 mm olarak belirlenmiştir. IV. dönem yavrular 20-25 gün sonra dördüncü kabuklarını değiştirerek V. döneme ulaşmışlardır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. IV. dönem yavru

V. dönem yavru

V. dönemde yavruların toplam boyu ortalama 26.06 ± 1.71 mm, karapaks boyu ise 13.62 ± 0.83 mm olarak belirlenmiştir. V. dönem yavrular 30-35 gün sonra beşinci kabuklarını değiştirerek VI. döneme ulaşmışlardır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. V. dönem yavru

VI. dönem yavru

VI. dönemde yavruların toplam boyu ortalama 35.27 ± 1.68 mm, karapaks boyu 17.27 ± 1.19 mm, canlı ağırlıkları ise 1188.18 ± 177.13 mg olarak belirlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. VI. dönem yavru

4.4. A. *leptodactylus*'un Embriyonik Gelişme Evrelerindeki Enzim Aktiviteleri

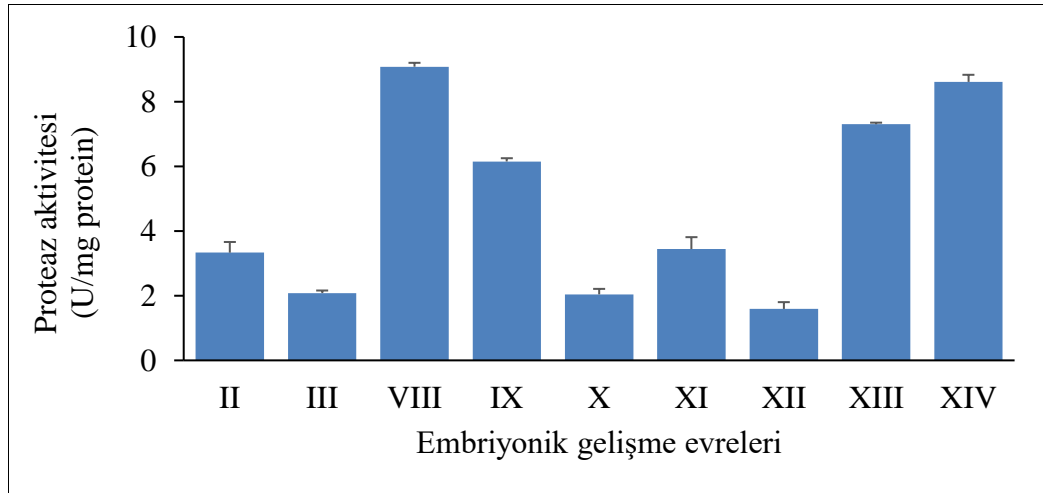
A. *leptodactylus*'un belirgin özelliklerin tespit edildiği embriyonik gelişme evrelerindeki proteaz, tripsin ve alkalın fosfataz enzimlerindeki değişimler izlenmiştir.

4.4.1. Proteaz

Embriyonik gelişmenin II. ve III. evresinde düşük seviyelerde seyreden proteaz aktivitesi VIII. evrede maksimum seviyeye ulaşmış, bu evredeki aktivite değeri 9.08 ± 0.82 U/mg protein olarak ölçülmüştür. Daha sonra aktivite belirgin bir şekilde azalmış ve evre X'da 2.04 ± 0.24 U/mg protein değerine düşmüştür. Bu dönemden sonra aktivitede az miktarlarda artış ve azalmalar olmuş evre XII'den sonra hızlı bir artış göstermiş evre XIII'te 7.30 ± 0.85 U/mg protein, evre XIV'te 8.61 ± 0.73 U/mg protein değere ulaşmıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.14).

Çizelge 4.1. *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki proteaz enzim aktivitesi değerleri (Ort. \pm SH)

Embriyonik gelişme evreleri	Proteaz (U/mg protein)
II	3.33 ± 0.50^d
III	2.08 ± 0.47^d
VIII	9.08 ± 0.82^a
IX	6.15 ± 0.47^c
X	2.04 ± 0.24^d
XI	3.44 ± 0.36^d
XII	1.59 ± 0.27^d
XIII	7.30 ± 0.85^{bc}
XIV	8.61 ± 0.73^{ab}



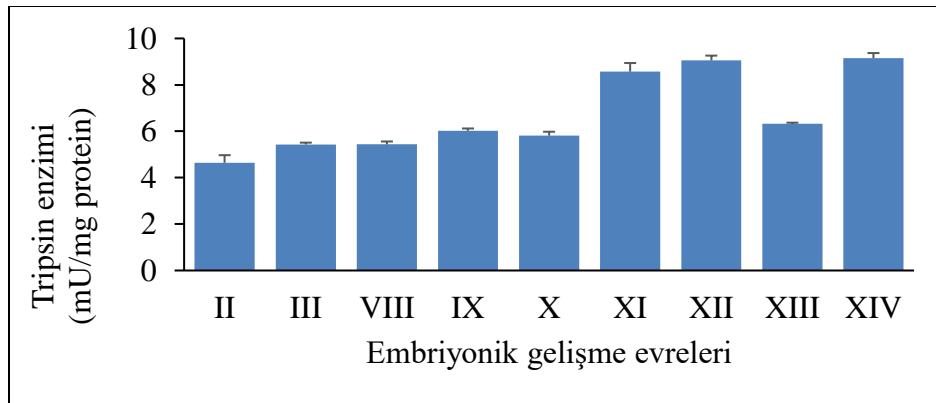
Şekil 4.14. *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki proteaz enzim aktivitesinin dönemlere göre değişimi

4.4.2. Tripsin

En düşük tripsin aktivitesi 4.64 ± 0.33 mU/mg protein olarak evre II’de tespit edilmiştir. Evre X’a kadar nisbeten stabil bir seyir sergileyen aktivite hızlı bir artış göstererek evre XII’de 9.05 ± 0.21 mU/mg protein değerine ulaşmıştır. Bu dönemden sonra aktivite, belirgin bir azalma ile evre XIII’te 6.32 ± 0.05 mU/mg protein değerine düştükten sonra tekrar keskin bir artış görülmüş ve evre XIV’te 9.15 ± 0.22 mU/mg protein olarak en yüksek seviyeye ulaşmıştır (Çizelge 4.2, Şekil 4.15).

Çizelge 4.2. *A. leptodactylus* embriyonik gelişme evrelerindeki tripsin enzim aktivitesi değerleri (Ort. \pm SH)

Embriyonik gelişme evreleri	Tripsin enzimi (mU/mg protein)
II	4.64 ± 0.33^b
III	5.43 ± 0.08^{ab}
VIII	5.44 ± 0.12^{ab}
IX	6.02 ± 0.10^{ab}
X	5.81 ± 0.17^{ab}
XI	8.57 ± 0.37^{ab}
XII	9.05 ± 0.21^a
XIII	6.32 ± 0.05^{ab}
XIV	9.15 ± 0.22^a



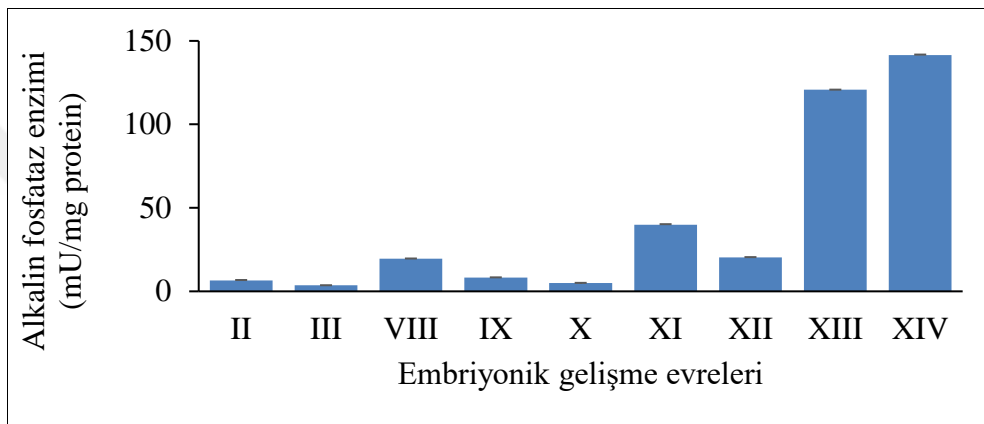
Şekil 4.15. *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki tripsin enzim aktivitesinin dönemlere göre değişimi

4.4.3. Alkalın fosfataz

Alkalın fosfataz evre II-XII dönemleri arasında düşük, evre XIII ve XIV’te yüksek seviyelerde aktivite sergilemiştir. En yüksek aktivite, 141.58 ± 2.58 mU/mg protein olarak evre XIV’te tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.16).

Çizelge 4.3. *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki alkalın fosfataz enzim aktivitesi değerleri (Ort. \pm SH)

Embriyonik gelişme evreleri	Alkalın fosfataz enzimi (mU/mg protein)
II	6.47 \pm 0.76 ^c
III	3.58 \pm 0.43 ^g
VIII	19.55 \pm 0.70 ^c
IX	8.28 \pm 0.56 ^d
X	4.91 \pm 0.28 ^f
XI	39.87 \pm 0.28 ^b
XII	20.30 \pm 0.74 ^c
XIII	120.76 \pm 1.04 ^a
XIV	141.58 \pm 2.58 ^a



Şekil 4.16. *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki alkalın fosfataz enzim aktivitesinin dönemlere göre değişimi

4.5. *A. leptodactylus* Yavrularının Farklı Gelişme Dönemlerindeki Enzim Aktiviteleri

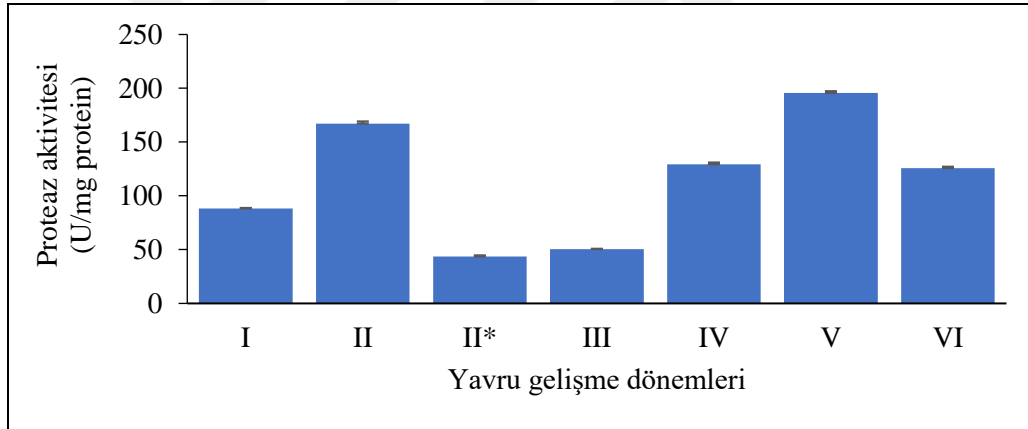
4.5.1. Proteaz

A. leptodactylus yavrularının farklı gelişme evrelerindeki proteaz enzim aktivitesi belirlenerek gelişmeye bağlı enzimatik aktivitelerdeki değişimler izlenmiştir (Çizelge 4.4., Şekil 4.17). Yumurtadan yeni çıkmış henüz kabuk değiştirmemiş I. dönem yavrularda proteaz aktivitesinin mevcut olduğu görülmüş olup, bu dönemdeki aktivite miktarı 88.29 \pm 0.52 U/mg protein olarak belirlenmiştir. II. gelişme dönemindeki proteaz aktivitesi, yavruların anneye bağımlı ve bağımsız oldukları dönem olmak üzere iki aşamada değerlendirilmiştir. I. dönem yavruların ilk kabuklarını değiştirerek II. gelişme dönemine ulaştıkları ve anneye bağımlı oldukları evrede proteaz aktivitesinde hızlı bir artış, ancak bağımsız döneme geçtikleri evrede ise hızlı bir düşüş

gözlenmiştir. En düşük proteaz aktivitesinin (43.61 ± 1.11 U/mg protein) bu evrede (yavruların annelerinden ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçtikleri, dışardan beslenmeye başladıkları evre) olduğu belirlenmiştir. Daha sonra yavruların gelişmesine bağlı olarak proteaz aktivitesi kademeli olarak artış göstermiş V. dönemde en yüksek değere (195.65 ± 1.73 U/mg protein) ulaşmış, VI. dönemde düşüş olmuştur. Proteaz aktivitesindeki en büyük artış IV. dönemde olmuştur.

Çizelge 4.4. *A. leptodactylus* yavrularında proteaz enzim aktivitesi değerleri (Ort. \pm SH)

Yavru gelişme dönemleri	Proteaz aktivitesi (U/mg protein)
I	88.29 ± 0.52^d
II	167.18 ± 2.07^b
II*	43.61 ± 1.11^f
III	50.42 ± 0.47^e
IV	129.34 ± 1.73^c
V	195.65 ± 1.73^a
VI	125.83 ± 1.35^c



Şekil 4.17. *A. leptodactylus* yavrularında proteaz enzim aktivitesinin gelişme dönemlerine bağlı değişimi

4.5.2. Asit proteaz

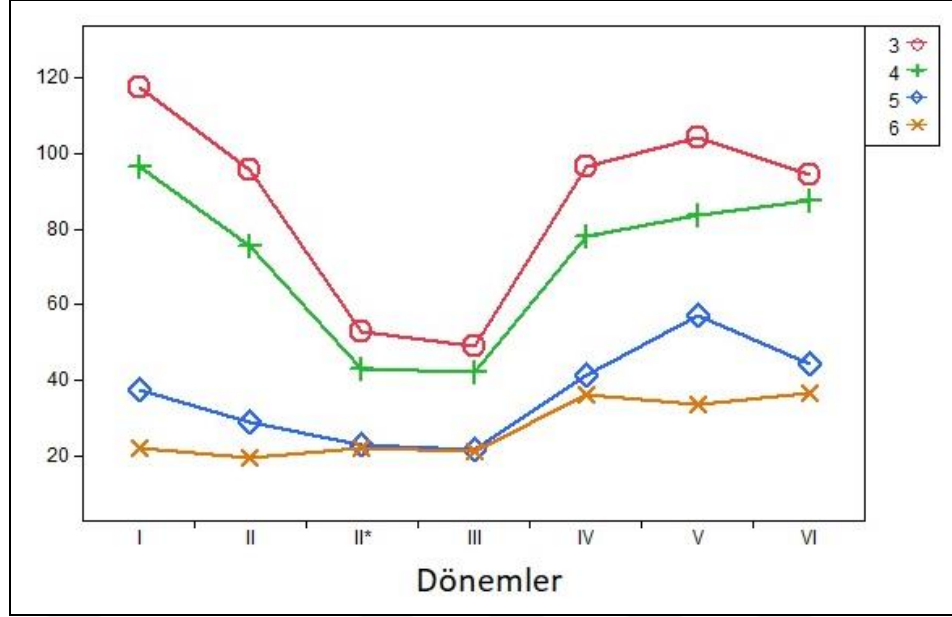
Kerevit yavrularının farklı gelişme dönemleri ve farklı pH seviyelerindeki asit proteaz aktiviteleri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.18’de verilmiştir. Buna göre asit proteaz değerleri, çalışmada seçilen pH seviyelerinde önemli farklılıklar göstermiştir ($p < 0.0001$). Tüm yavru gelişme dönemlerinde en yüksek aktivite pH 3’te tespit edilmiş olup, bunu sırasıyla pH 4, pH 5 ve pH 6 izlemiştir. Bu bulgular, ortamdaki asitlik düzeyinin artması ile birlikte aktivitede de artış olduğu ortaya koymuştur. Ayrıca, incelenen yavru gelişme dönemleri arasında da asit proteaz düzeyleri önemli derecede değişim

göstermiştir. II*. ve III. dönemlerde diğer dönemlere göre daha düşük asit proteaz aktivitesi belirlenmiştir. Farklı pH seviyeleri farklı dönemlerde değişen bir seyir göstermiştir (pH×dönem; $p < 0.0001$) (Çizelge 4.6).

pH 3'teki asit proteaz I. dönemde en yüksek seviyede aktivite sergilemiş, daha sonra III. döneme kadar hızlı bir seyirde azalmanın ardından artış eğilimine geçmiş ve bu artış eğilimi V. döneme kadar devam etmiştir. VI. dönemde aktivitede tekrar bir azalma görülmüştür. pH 4'teki asit proteaz aktivitesi dönemlere bağlı olarak pH 3'tekine benzer ancak daha düşük seviyelerde değişim göstermiştir. pH 5'teki asit proteaz aktivitesinin III. döneme kadar yavaş bir şekilde azaldığı, ardından hızlı bir artış eğilimine geçerek V. dönemde en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. pH 6'daki asit proteaz aktivitesi, III. döneme kadar nisbeten sabit bir seyir izlemiş, IV. dönemde hızlı bir artış ardından düşük düzeylerde azalan ve artan seviyelerde değişkenlik göstermiştir. Tüm pH değerlerindeki asit proteaz aktivitesindeki büyük artışlar IV. gelişim dönemine rast gelmiştir.

Çizelge 4.5. *A. leptodactylus* yavrularında asit proteaz aktivitesi değerleri (Ort. ± SH)

Yavru gelişme dönemleri	pH	Asit proteaz (U/mg Protein)
I	3	117.54±0.65 ^a
	4	96.82±0.64 ^b
	5	37.63±0.49 ^c
	6	21.86±0.31 ^d
II	3	95.93±0.18 ^a
	4	75.53±0.66 ^b
	5	28.76±0.77 ^c
	6	19.31±0.24 ^d
II*	3	52.72±0.84 ^a
	4	43.06±0.80 ^b
	5	22.98±0.78 ^c
	6	21.87±0.42 ^d
III	3	49.22±0.33 ^a
	4	42.21±1.25 ^b
	5	21.63±0.42 ^c
	6	21.18±0.47 ^c
IV	3	96.78±0.58 ^a
	4	78.03±0.85 ^b
	5	41.19±0.70 ^c
	6	36.06±0.51 ^d
V	3	104.22±0.64 ^a
	4	83.57±0.69 ^b
	5	57.26±0.42 ^c
	6	33.75±0.76 ^d
VI	3	94.38±0.45 ^a
	4	87.49±0.61 ^b
	5	44.18±0.72 ^c
	6	36.53±0.41 ^d



Şekil 4.18. *A. leptodactylus* yavrularının farklı pH seviyelerindeki asit proteaz aktiviteleri

Çizelge 4.6. *A. leptodactylus* yavrularının asit proteaz aktivitelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

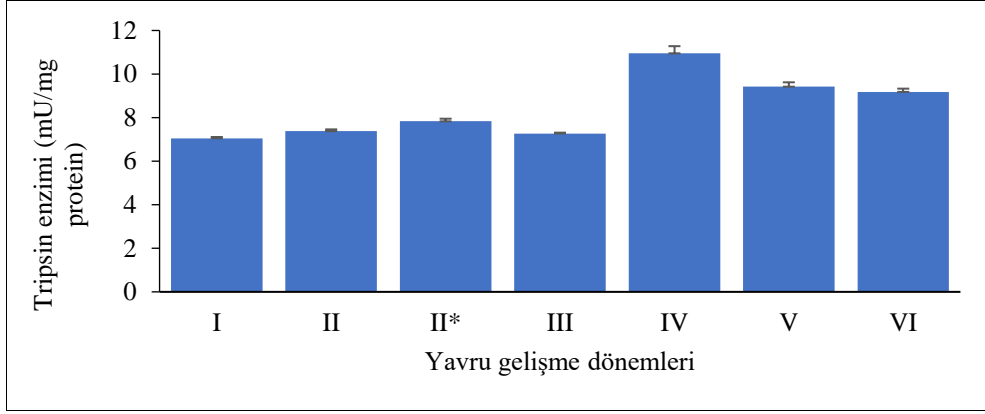
Test	NumDF	Exact F	Prob>F
pH	3	18160.047	<,0001*
Dönemler	6	3509.8654	<,0001*
İnteraksiyon	18	365.3524	<,0001*

4.5.3. Tripsin

I. dönemde 7.05 ± 0.06 mU/mg protein olarak ölçülen tripsin aktivitesi III. dönemden sonra hızlı bir artış göstererek IV. dönemde maksimum seviyeye (10.95 ± 0.33 mU/mg protein) ulaşmıştır. Aktivitede V. dönemde düşüş izlenmiş ve sonrasında aynı düzeyde devam etmiştir. Tripsin enzim aktivitesindeki en büyük artış IV. dönemde gözlenmiştir (Çizelge 4.7, Şekil 4.19).

Çizelge 4.7. *A. leptodactylus* yavrularında tripsin enzim aktivitesi değerleri (Ort. \pm SH)

Yavru gelişme dönemleri	Tripsin enzimi (mU/mg protein)
I	7.05 ± 0.06^d
II	7.38 ± 0.08^d
II*	7.83 ± 0.12^c
III	7.27 ± 0.04^d
IV	10.95 ± 0.33^a
V	9.42 ± 0.20^b
VI	9.18 ± 0.15^b



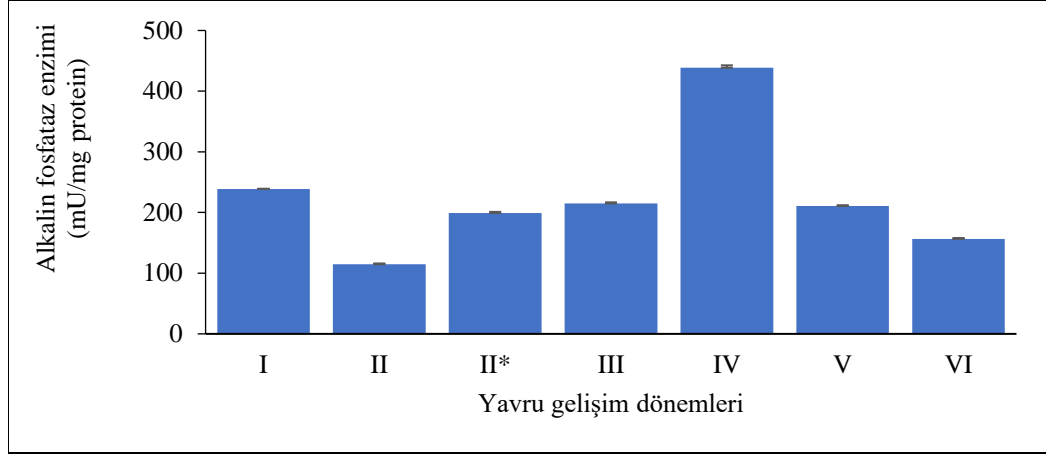
Şekil 4.19. *A. leptodactylus* yavrularında tripsin enzim aktivitesinin gelişme dönemlerine bağlı değişimi

4.5.4. Alkalın fosfataz

Alkalın fosfataz aktivitesi, I. dönemden II. döneme (anneye bağımlı evre) geçişte yaklaşık %50 oranında azalmış, ardından gelişme dönemlerine bağlı olarak artış eğilimine geçmiştir. En büyük artış IV. dönemde görülmüş olup, maksimum seviyeye ulaştığı bu dönemdeki aktivite miktarı 438.57 ± 4.00 mU/mg protein olarak ölçülmüştür. IV. dönemden sonra aktivite düşüş eğilimine geçmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.20).

Çizelge 4.8. *A. leptodactylus* yavrularında alkalın fosfataz enzim aktivitesi değerleri (Ort. \pm SH)

Yavru gelişme dönemleri	Alkalın fosfataz enzimi (mU/mg protein)
I	238.80 ± 0.43^b
II	114.79 ± 1.28^f
II*	199.28 ± 1.80^d
III	215.00 ± 1.78^c
IV	438.57 ± 4.00^a
V	210.76 ± 1.29^c
VI	156.70 ± 1.11^e



Şekil 4.20. *A. leptodactylus* yavrularında alkalın fosfataz enzim aktivitesinin gelişme dönemlerine bağlı değişimi

4.6. Kerevit Yavrularının Proteaz Aktivitesi Üzerine Yem Hammaddelerinin İnhibisyon Oranlarının Değerlendirilmesi

I. dönem, yavruların yumurtadan çıkıp ilk kabuğunu değiştirip ikinci döneme girinceye kadar, yani 8, 10, 12 günlük bir süreyi kapsayan bir dönemdir. Bu dönemdeki yavrular kısıkaçları ve yumurta sapları ile annelerinin pleopodlarına bağlı vaziyettedir. Bu dönemde beslenme tamamen yumurta sarısına dayanır, yani dışardan beslenme söz konusu değildir. Birinci dönem yavrular ilk kabuklarını değiştirip ikinci döneme geçtiklerinde de bir süre annelerine bağlı yaşarlar, yumurta sarısı tükeninceye kadar annelerini bırakmazlar. Bu evrede yavruların beslenmesi kısmen yumurta sarısına dayanır. Yumurta sarısı tabakası kaybolunca yem arayışına girerler ve annelerini terk ederek bağımsız hale geçerler. Bağımsız yaşam evresine girdiklerinde tamamen dışardan beslenme dönemine geçerler. Bu nedenle, formülasyonun belirlenmesinde, hammaddelerin II*. dönemden itibaren inhibisyon oranları değerlendirilmiştir.

Çalışmada, bitkisel ve hayvansal kaynaklı yem hammaddelerin proteaz inhibisyonu üzerindeki etkileri ayrı ayrı değerlendirilmiş olup, hayvansal kaynaklı yem hammaddelerin dönemlere göre inhibisyon oranları Çizelge 4.9, bitkisel kaynaklı yem hammaddelerin dönemlere göre inhibisyon oranları ise Çizelge 4.10'da verilmiştir. Hayvansal kaynaklı hammaddelerden gammarus yavruların proteaz aktivitesine katkı sağlamış olup, gelişme dönemlerine göre katkı oranları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin kerevit yavruları proteaz aktivitesini inhibe etme oranları (%: Ort. ± SH)

Yavru gelişme dönemi	Balık hidrolizatı	Hamsi unu	İthal balık unu	Kalamar unu	Karides unu	Krill unu
II*	8.07±0.69 ^{Bc}	28.01±1.04 ^{Aba}	21.99±1.56 ^{ABb}	27.05±0.32 ^{Aba}	38.92±0.96 ^{Aa}	13.77±4.19 ^B
III	6.43±1.19 ^c	23.32±0.45 ^b	11.81±1.96 ^c	4.26±3.36 ^c	18.38±1.62 ^c	18.54±5.28
IV	11.33±1.06 ^{Bc}	21.82±0.70 ^{Ab}	10.49±1.27 ^{Bc}	14.59±1.60 ^{Bb}	24.90±4.29 ^{Abc}	11.14±0.73 ^B
V	26.32±2.80 ^a	30.76±1.15 ^a	31.76±2.29 ^a	28.11±1.08 ^a	31.37±0.66 ^b	30.21±0.22
VI	16.15±0.70 ^{ABCb}	17.33±2.02 ^{ABc}	12.94±1.64 ^{BCc}	11.46±0.72 ^{Cb}	20.59±1.51 ^{Ac}	15.70±2.80 ^{ABC}

Aynı satırda farklı büyük harflerle, aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.10. Bitkisel kaynaklı yem hammaddelerinin kerevit yavruları proteaz aktivitesini inhibe etme oranları (%: Ort. ± SH)

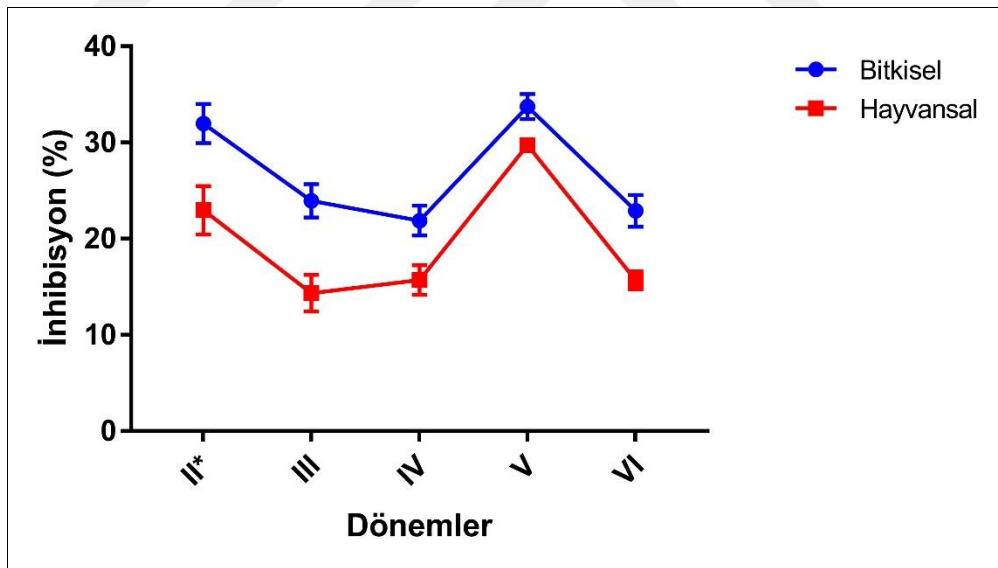
Yavru gelişme dönemi	Bezelye proteini	Buğday gluteni	Buğday unu	Mısır gluteni	Soya küspesi	Soya proteini
II*	35.92±0.99 ^{Aa}	22.31±3.17 ^{Bbc}	26.11±1.67 ^{Ba}	26.74±1.41 ^{Bab}	39.40±5.17 ^{Aa}	41.46±2.93 ^{Aa}
III	23.62±1.47 ^{ABb}	26.31±1.65 ^{Bab}	24.06±2.45 ^{ABa}	14.50±5.21 ^{Bb}	21.97±5.83 ^{AAb}	32.59±1.56 ^{Ab}
IV	21.49±1.14 ^{Bb}	17.67±1.33 ^{Cc}	18.23±0.36 ^{BCb}	18.69±0.55 ^{BCab}	35.48±1.05 ^{Aa}	19.81±1.33 ^{BCc}
V	35.50±0.79 ^{Ba}	29.94±1.07 ^{CDa}	28.72±1.40 ^{Da}	31.37±0.24 ^{CDa}	43.99±1.85 ^{Aa}	32.98±0.49 ^{BCb}
VI	23.16±1.10 ^{Bb}	17.38±0.35 ^{Bc}	18.03±1.80 ^{Bb}	22.32±0.84 ^{Bab}	36.15±3.62 ^{Aa}	20.39±1.25 ^{Bc}

Aynı satırda farklı büyük harflerle, aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.11. Gammarusun kerevit yavrularının proteaz aktivitesine katkı oranı (Ort. \pm SH)

Yavru gelişme dönemleri	Proteaz katkı oranı (%)
II*	296.04 \pm 7.69 ^c
III	288.79 \pm 2.69 ^c
IV	69.74 \pm 2.39 ^b
V	12.96 \pm 1.46 ^a
VI	75.01 \pm 2.63 ^b

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin kerevit yavrularının proteaz aktiviteleri üzerine inhibisyon oranlarının dönemlere göre değişimi Şekil 4.21’de verilmiştir. Buna göre hayvansal kaynaklı yem hammaddeleri bitkisel kaynaklı yem hammaddelerine göre önemli derecede düşük oranda enzim inhibe etmiştir (P = 0.0004). İnhibisyon oranları dönemlere göre önemli derecede değişmiş, II* ve V. dönemlerde diğer dönemlere göre daha yüksek oranlar gözlenmiştir (P < 0.0001). Ayrıca, dönemlere göre yem hammadde orjinlerinin inhibisyon değerlerinde önemli derecede farklılık tespit edilmiştir (P < 0.05) (Çizelge 4.12).

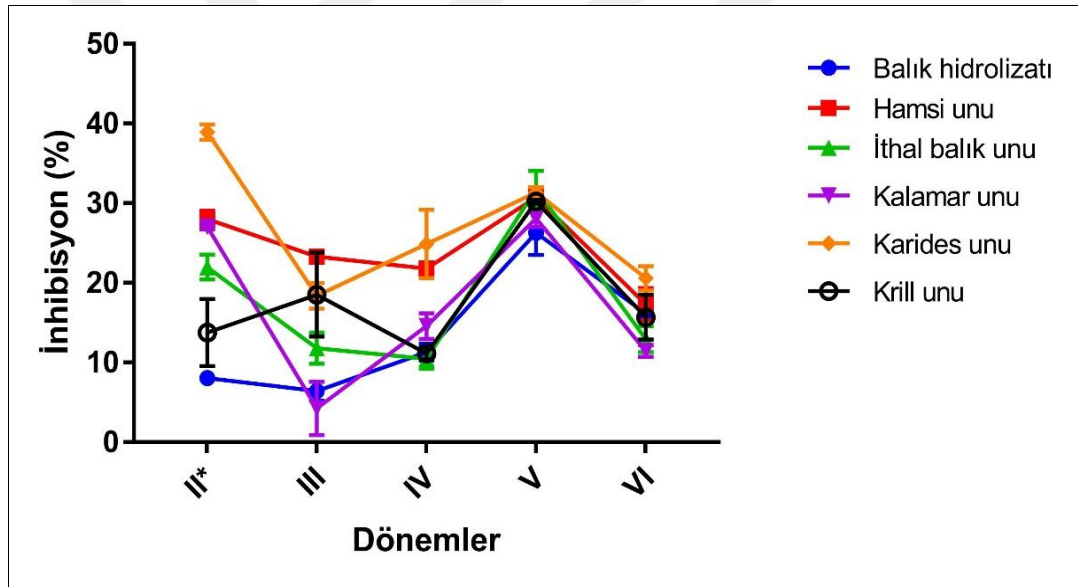


Şekil 4.21. Bitkisel ve hayvansal yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi

Çizelge 4.12. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yem hammadde orijini	1	15.8628	0.0004
Dönem	4	111.6502	<,0001
İnteraksiyon	4	3.379	0.0219

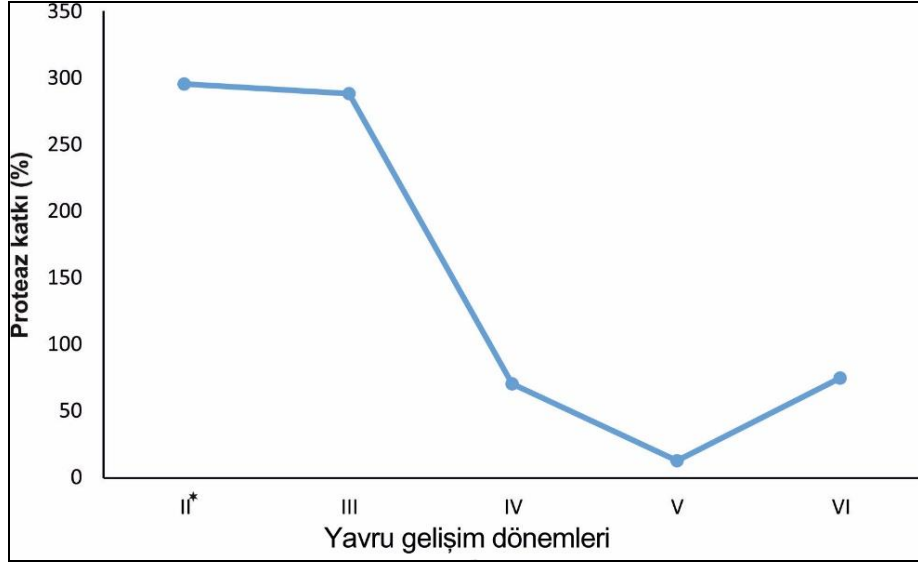
Hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin inhibisyon oranları hem kendi aralarında hem de dönemlere göre önemli derecede farklılık göstermiştir (Çizelge 4.13, Şekil 4.22). Hammaddeler özellikle II*, III ve IV. dönemlerde farklı derecelerde inhibisyon gösterirken, V. ve VI. dönemlerde nispeten daha düşük varyasyonlar göstermiştir. Tüm dönemlerde en düşük inhibisyon oranları balık hidrolizatı, kalamar unu, krill unu ve ithal balık ununda görülmüştür. Hamsi unu ile karides unlarının ise oldukça yüksek düzeylerde inhibisyon gösterdikleri belirlenmiştir. Hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinden gammarusun proteaz katkısı sağladığı belirlenmiş ve bu nedenle ayrıca değerlendirilmiştir. Gammarus genel olarak tüm gelişme dönemlerinde proteaz katkısı sağlamış, özellikle II* ve III. dönemdeki proteaz katkısı oldukça yüksek olmuştur (Şekil 4.23). Bu nedenle, gammarusun formülasyonda kesinlikle yer almasına karar verilmiştir.



Şekil 4.22. Hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi

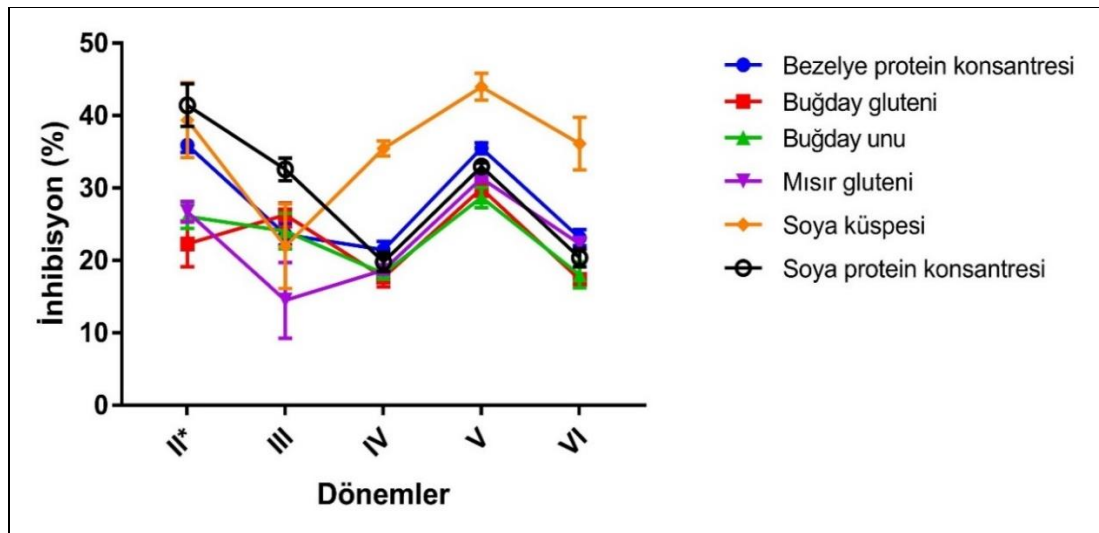
Çizelge 4.13. Hayvansal hammaddelerin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Hayvansal kaynaklı yem hammaddeleri	5	14.5845	0.0002
Dönem	4	93.1496	<,0001
İnteraksiyon	20	7.0561	<,0001



Şekil 4.23. Gammarusun yavru gelişme dönemlerine göre proteaz katkı oranları

Bitkisel kaynaklı yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi Şekil 4.24'te verilmiştir. Bitkisel hammaddeler arasında yapılan tekrarlı ANOVA testi, hammaddeler arasında önemli farklılıklar olduğunu ve zamana bağlı olarak önemli değişiklikler gösterdiğini ortaya koymuştur (Çizelge 4.14). Genel olarak soya proteini erken dönemlerde, soya küspesi ise tüm dönemlerde yüksek inhibisyon oranları göstermiştir. Bitkisel kaynaklı yem hammaddelerinin en iyileri mısır glütenu, buğday glütenu ve buğday unu olarak görülmektedir.



Şekil 4.24. Bitkisel kaynaklı yem hammaddelerinin proteaz inhibisyonlarının dönemlere göre değişimi

Çizelge 4.14. Bitkisel hammaddelerin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Bitkisel kaynaklı hammaddeler	5	21.61	<,0001
Dönem	4	182.6	<,0001
İnteraksiyon	20	5.798	<,0001

Analiz sonuçlarına göre, bitkisel ve hayvansal kaynaklı yem hammaddelerinin inhibisyon değerleri %45'in altında bulunmuş olup, dönemler bazında değerlendirme yapılarak en düşük inhibisyon değerlerine sahip yem hammaddelerinin formülasyonda kullanılmasına ve kullanılma oranlarına öncelik verilmiştir.

Elde edilen sonuçlardan, balık hidrolizatının yavruların proteaz aktivitesini çok az miktarda indirgediği özellikle II* dönemde diğer hammaddeler içerisinde en düşük inhibisyon değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yavruların dışardan beslenmeye başladıkları bu dönemde balık hidrolizatının oldukça düşük inhibisyon vermesi formülasyonda kullanılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Ayrıca balık hidrolizati diğer gelişme dönemlerinde de düşük inhibisyon vermiştir. En yüksek inhibisyon değeri %26.32±2.80 olarak V. dönemde tespit edilmiş ancak bu değer, söz konusu dönemdeki diğer hammaddelerinin verdiği inhibisyon değerlerinin altında yer almıştır. Dolayısıyla, balık hidrolizatının formülasyonda yer alması önemlidir. İthal balık unu V. dönem dışındaki dönemlerde hamsi unundan daha düşük inhibisyon sergilemiştir. III, IV ve VI. dönemlerdeki inhibisyon değerleri %13'ün altında bulunmuş ve II* dönemde inhibisyonu düşük hammaddeler içerisinde 3. sırada yer almıştır. Yine kalamar ununun da inhibisyonları III, IV ve VI. dönemde oldukça düşük bulunmuştur. Krill ununun ilk 3 dönemde ve VI. dönemdeki inhibisyon etkisinin oldukça düşük olduğu, II* dönemde inhibisyonu düşük hammaddeler içerisinde 2. sırada yer aldığı belirlenmiştir. Mısır ve buğday glutenininin diğer bitkisel kaynaklı ham maddelerden oldukça düşük inhibisyon sergilemesi nedeniyle formülasyonda kullanılmasına karar verilmiştir. Soya proteinin erken dönemlerde, soya küspesinin ise tüm dönemlerde yüksek inhibisyon oranları göstermesi nedeniyle formülasyonda yer almaması gerektiğine karar verilmiştir. Yine, bezelye proteininin özellikle II* ve V. dönemdeki inhibisyon oranları oldukça yüksek olması nedeniyle formülasyonda tercih edilmemiştir.

4.7. Yem Formülasyonunun Oluşturulması ve Mikroyem Üretimi

Gerçekleştirilen analizler sonrasında, kerevit yavrularının karma yem ile beslenmesine, yavruların annelerini terk edip bağımsız yaşam evresine geçtikleri dönemde (II*. dönem) başlanmasının uygun olduğu görüşüne varılmıştır. Elde edilen sonuçlardan, yavruların proteaz aktivitelerini olumsuz yönde etkilemeyen, düşük inhibisyon değerlerine sahip olan yem hammaddelerinin (balık hidrolizatı, ithal balık unu, gammarus, kalamar unu, krill unu, buğday glütenu, mısır glütenu) formülasyonda kullanılmasına ve kullanılma oranlarına öncelik verilerek yavruların beslenmesinde (II*-VI dönemler) kullanılmak üzere bir yem formülasyonu oluşturulmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Kerevit yavrularının beslenmesinde kullanılmak üzere geliştirilen mikro yem formülasyonu

Yem Bileşenleri	Miktar (%)
Balık hidrolizatı	24
İthal balık unu	16
Gammarus	15
Kalamar unu	12
Krill unu	8
Buğday glütenu	6
Mısır glütenu	4
Balık yağı	3
Lesitin	1.5
Dekstrin	4
Choline chloride	0.5
Dicalcium phosphate	1
Vitamin karışımı	1.5
Mineral karışımı	1.5
Vitamin C	1
Vitamin E	1

Analizlerden elde edilen sonuçlar ışığında kerevit yavrularının beslenmesinde kullanılabilir uygun yem formülasyonunun içeriği belirlendikten sonra mikro yem üretim aşamasına geçilmiştir. Mikroyem üretimi, soğuk ekstrüzyon (sıcaklık 60-70°C) extrude yem yapımı yöntemi ile özel ticari yem üretim firması tarafından gerçekleştirilmiş olup, yemin *in vitro* değerlendirilmesi aşamasında kullanılmak üzere 300-500µ (II*. dönem yavrular için), 500-800µ (III. dönem yavrular için) ve 800-1200µ (IV., V. ve VI. dönem yavrular için) boyutlarda yemlerin üretimi sağlanmıştır. Yine *in vitro* değerlendirme aşamasında kullanılmak üzere genel olarak kerevit

yavrularının beslenmesinde kullanılan ticari yemlerden aynı boyutlarda alabalık ve karides yemi aynı firmadan temin edilmiştir. Üretilen mikroyemin (kerevit yemi) kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.16’da, alabalık yeminin kimyasal kompozisyonu 4.17’de, karides yeminin kimyasal kompozisyonu ise Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Üretilen mikroyemin (kerevit yemi) partikül büyüklüğüne göre kimsayal kompozisyonu (% Ort.±SH)

Üretilen yem (kerevit yemi)	Protein	Lipid	Kül
300-500µ	60.48±0.16	14.88±0.35	11.54±0.01
500-800µ	60.88±0.06	12.69±0.22	12.99±0.04
800-1200µ	58.69±0.06	13.87±0.07	14.35±0.07
Ortalama	60.02±0.34	13.81±0.34	12.96±0.41

Çizelge 4.17. Alabalık yeminin partikül büyüklüğüne göre kimsayal kompozisyonu (% Ort.±SH)

Alabalık yemi	Protein	Lipid	Kül
300-500µ	50.52±4.55	12.02±0.35	8.34±0.07
500-800µ	59.60±0.03	11.41±0.16	8.31±0.03
800-1200µ	60.65±0.39	9.99±0.13	9.18±0.04
Ortalama	56.92±2.08	11.14±0.32	8.61±0.14

Çizelge 4.18. Karides yeminin partikül büyüklüğüne göre kimsayal kompozisyonu (% Ort.±SH)

Karides yemi	Protein	Lipid	Kül
300-500µ	58.82±0.51	12.72±0.16	8.10±0.01
500-800µ	59.96±0.22	11.40±0.05	8.25±0.04
800-1200µ	53.13±0.45	13.91±0.26	7.51±0.07
Ortalama	57.30±1.08	12.67±0.37	7.95±0.12

4.8. Üretilen Mikroyemin (kerevit yemi) *In Vitro* Tekniklerle Test Edilmesi

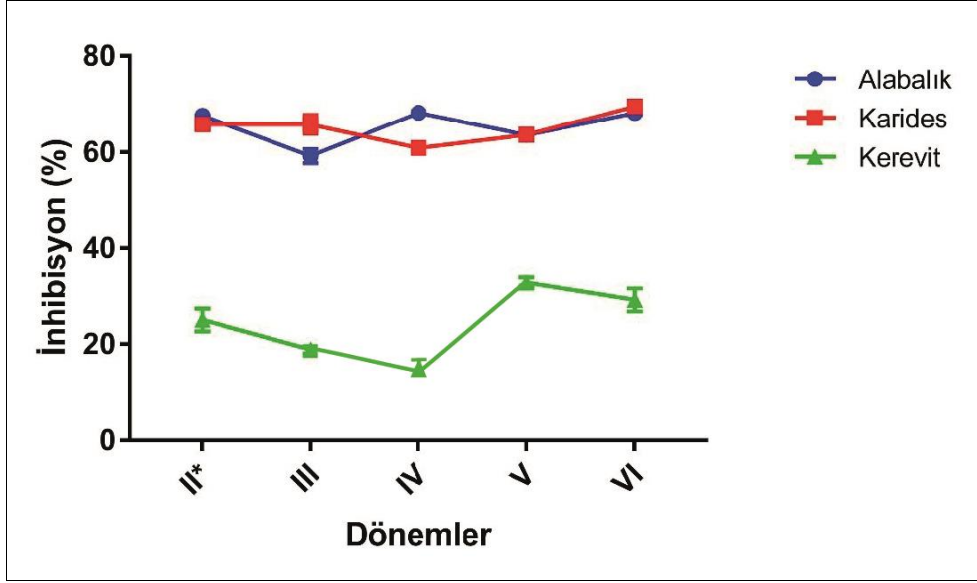
Belirlenen formülasyona göre üretilen mikroyemin performansı *in vivo* koşullarda denenmeden önceki muhtemel etkileri *in vitro* teknikler ile belirlenmiştir. Bu çalışmalar diğer ticari yemler (alabalık ve karides yemi) ile karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilmiştir.

4.8.1. Mikroyemlerin kerevit yavrularının proteaz aktiviteleri üzerindeki inhibisyon etkileri

Üretilen mikroyem ile ticari yemlerin inhibisyon oranları Çizelge 4.18, Şekil 4.25'te verilmiştir. En düşük inhibisyon oranı tüm dönemlerde kerevit yemi ile elde edilmişken alabalık ve karides yeminin inhibisyon oranları kerevit yemine göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu iki yemin inhibisyon oranları IV. dönem hariç birbiriyle büyük benzerlik göstermiştir. Yem türü ve döneme göre gözlenen farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.18. Mikroyemlerin kerevit yavrularının proteaz aktiviteleri üzerindeki inhibisyon değerleri (Ort.±SH)

Yavru gelişme dönemleri	Yem çeşidi	Mikroyem İnhibisyon (%)
II*	Alabalık	68.75±3.70 ^a
	Karides	65.51±1.24 ^a
	Kerevit	24.29±1.20 ^b
III	Alabalık	61.36±3.13 ^a
	Karides	67.12±1.82 ^a
	Kerevit	18.76±1.56 ^b
IV	Alabalık	68.09±0.87 ^a
	Karides	59.77±0.57 ^b
	Kerevit	14.15±0.45 ^c
V	Alabalık	63.57±0.34 ^a
	Karides	64.13±0.38 ^a
	Kerevit	36.92±0.31 ^b
VI	Alabalık	67.43±0.36 ^a
	Karides	68.40±0.52 ^a
	Kerevit	30.77±0.71 ^b

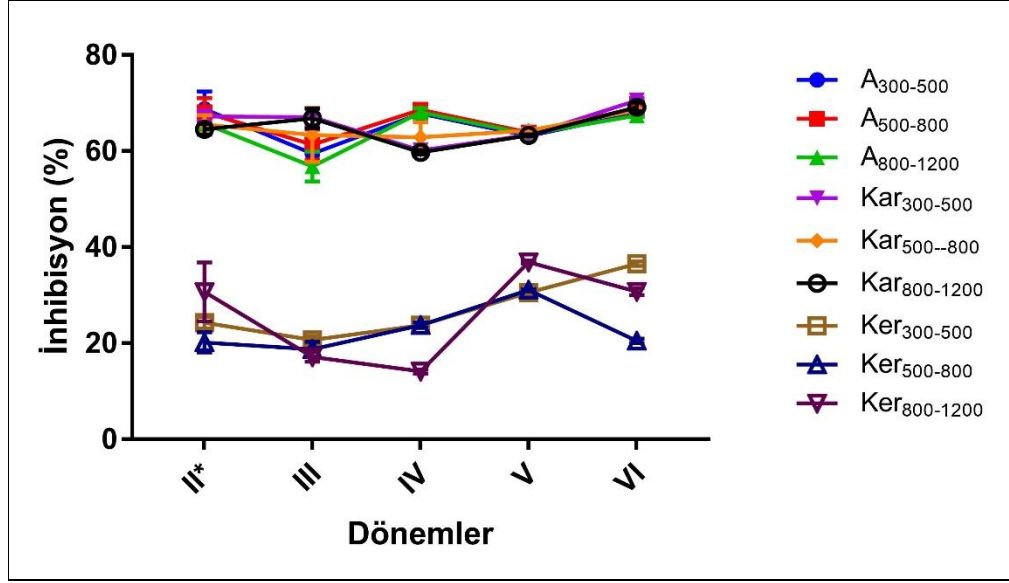


Şekil 4.25. Farklı türlere ait yemlerin inhibisyon oranları

Çizelge 4.19. Farklı türlere ait yemlerin inhibisyon düzeylerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yem (tür)	2	1715.013	<,0001
Dönem	4	14.0207	<,0001
İnteraksiyon	8	11.5773	<,0001

Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin inhibisyon oranları Şekil 4.26'da verilmiştir. Şekil 4.25'te olduğu gibi kerevit yeminin inhibisyon oranları alabalık ve karides yemine göre farklı partikül büyüklüklerinde de düşük bulunmuştur. Partikül büyüklükleri ile inhibisyon oranları arasındaki farklılık önemli bulunmuş ($P < 0.05$), bu durum kerevit yemlerinin daha düşük inhibisyon göstermesinden kaynaklanmıştır (Çizelge 4.20). Sonuç olarak, kerevit yeminin tüm gelişme dönemlerinde göstermiş olduğu düşük inhibisyon oranları ile alabalık ve karides yeminden çok daha iyi performans sergilediği görülmüştür.

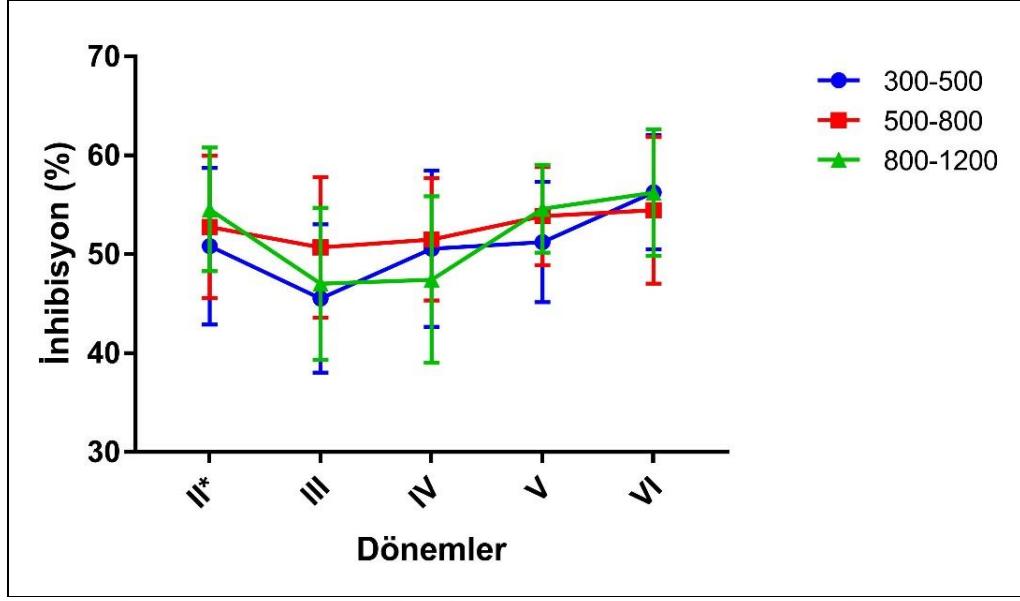


Şekil 4.26. Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin inhibisyon oranları

Çizelge 4.20. Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin inhibisyon oranlarının tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yemler	8	712.7214	<,0001
Dönem	4	110.0492	<,0001
İnteraksiyon	32	16.659	<,0001

Yemlerin partikül büyüklüğüne göre farklı dönemlerdeki linhibisyon oranları Şekil 4.27’de verilmiştir. Farklı partikül büyüklüklerinin inhibisyon oranları genel olarak benzerlik göstermektedir ($P>0.05$). Ancak özellikle III. dönemde partikül büyüklüğünün inhibisyon oranı üzerine etkisinin olduğu görülmektedir. Yemlerin partikül büyüklüğünün dönemler arasındaki inhibisyon oranı üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.21).



Şekil 4.27. Farklı partikül büyüklüklerinin dönemlere göre inhibisyon oranları

Çizelge 4.21. Farklı partiküldeki yemlerin inhibisyon düzeylerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

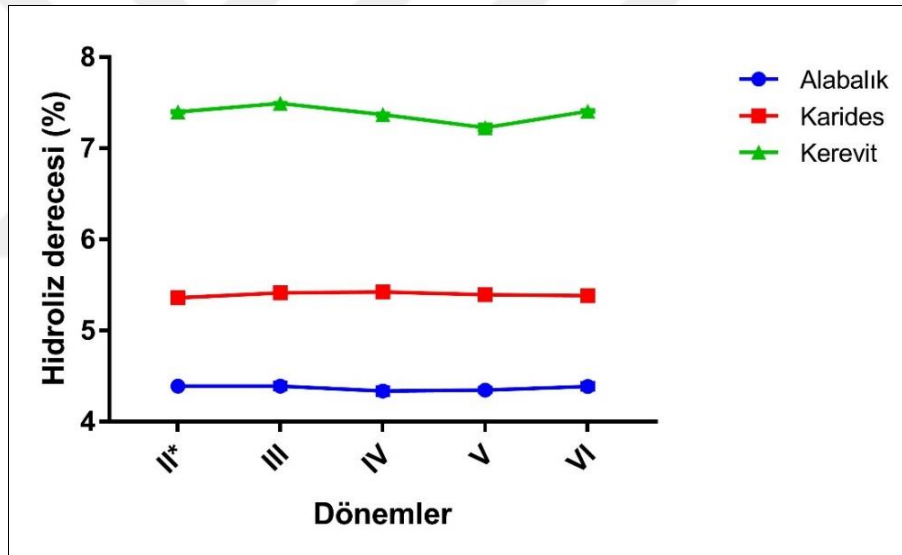
Varyasyon kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yem partikül	2	0.0175	0.9827
Dönem	4	16.5691	<,0001
İnteraksiyon	8	1.8444	0.0955

4.8.2. pH-Stat sistem kullanarak mikroyemlerin hidroliz derecelerinin belirlenmesi

Üretilen mikroyem ile ticari yemlerin hidroliz dereceleri Çizelge 4.22, Şekil 4.28'de verilmektedir. En yüksek hidroliz derecesi tüm dönemlerde kerevit yemi ile elde edilmiş, bunu sırasıyla karides yemi ve alabalık yemi izlemiştir. Bu farklılıklar ANOVA sonuçlarına göre karides yeminin tüm dönemlerde alabalık ve kerevit yemine benzer hidroliz değerleri göstermesine karşın, tekrarlı ANOVA testi yem türü ve dönemlerin istatistiki olarak önemli farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur ($P < 0.05$) (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.22. Mikroyemlerin hidroliz dereceleri (Ort.±SH)

Yavru gelişme dönemleri	Yem çeşidi	pH STAT (%)
II*	Alabalık	4.28±0.06 ^b
	Karides	5.29±0.02 ^{ab}
	Kerevit	7.39±0.01 ^a
III	Alabalık	4.48±0.01 ^b
	Karides	5.36±0.04 ^{ab}
	Kerevit	7.50±0.02 ^a
IV	Alabalık	4.24±0.04 ^b
	Karides	5.49±0.04 ^{ab}
	Kerevit	7.39±0.03 ^a
V	Alabalık	4.29±0.02 ^b
	Karides	5.47±0.06 ^{ab}
	Kerevit	7.23±0.06 ^a
VI	Alabalık	4.31±0.07 ^b
	Karides	5.51±0.08 ^{ab}
	Kerevit	7.42±0.02 ^a



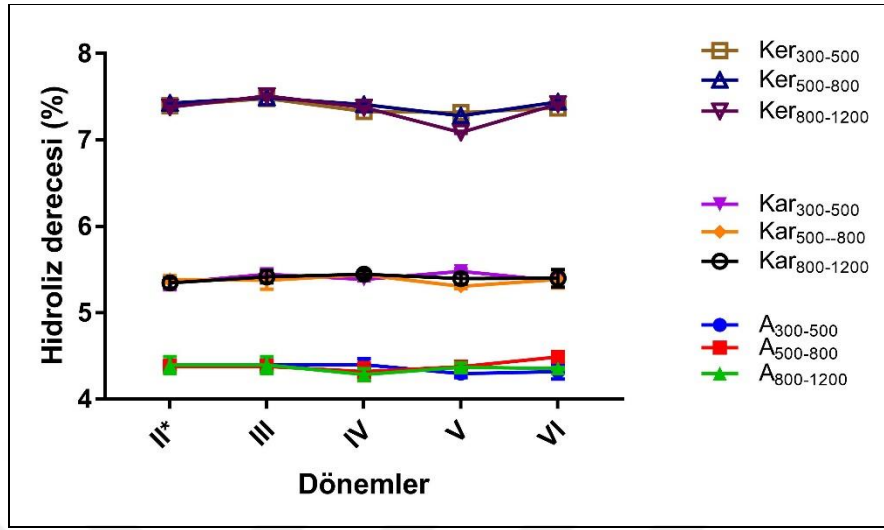
Şekil 4.28. Farklı türlere ait yemlerin hidroliz dereceleri

Çizelge 4.23. Farklı türlere ait yemlerin hidroliz derecelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyans kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yem türü	1	222893.7	<,0001
Dönem	4	7.9378	0.0005
İnteraksiyon	8	4.5576	0.0005

Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz dereceleri Şekil 4.29'da verilmiştir. Şekil 4.28'de olduğu gibi kerevit yeminin hidroliz dereceleri alabalık ve karides yemine göre farklı partikül büyüklüklerinde de yüksek

bulunmuştur. Ayrıca, yemlerin farklı dönemlerde farklı hidroliz dereceleri gösterebileceği belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.24).

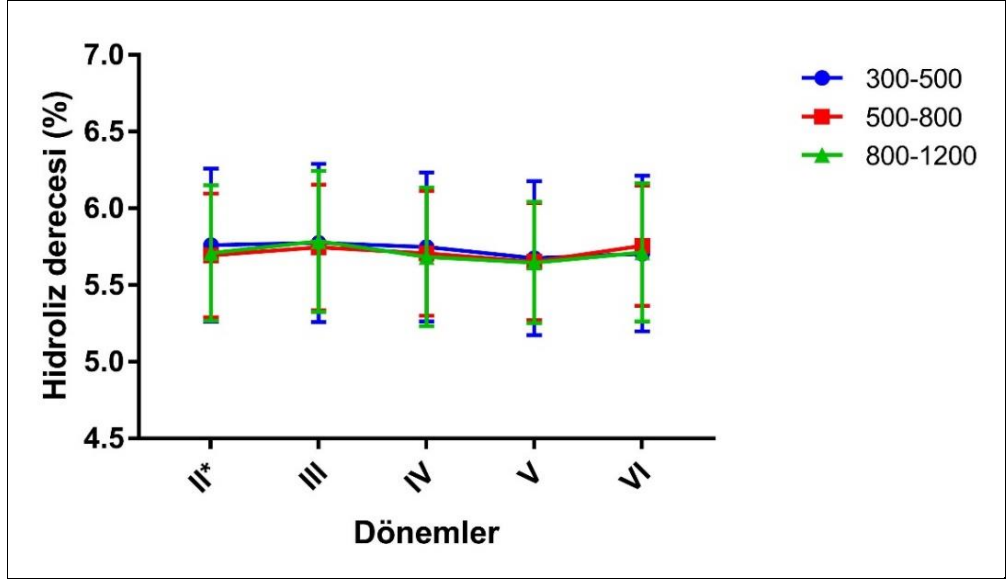


Şekil 4.29. Farklı türlere ait yemlerin partikül büyüklüklerinin hidroliz dereceleri

Çizelge 4.24. Farklı türlere ait yemlerin farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz derecelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyans kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yemler	8	1079.423	<,0001
Dönem	4	9.3777	0.0005
İnteraksiyon	32	2.7542	0.0004

Yem partikül büyüklüğüne göre hidroliz dereceleri farklı dönemler için Şekil 4.30'da verilmektedir. Farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz dereceleri genel çerçevede birbirlerine benzerlik göstermiş ($P>0.05$), ancak bunun farklı dönemlerde değişebileceği tespit edilmiştir (Çizelge 4.25). Sonuç olarak, kerevit yeminin tüm gelişme dönemlerinde göstermiş olduğu düşük inhibisyon oranları ve yüksek hidroliz dereceleri ile alabalık ve karides yeminden çok daha iyi performans sergilediği görülmüştür.



Şekil 4.30. Farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz dereceleri

Çizelge 4.25. Farklı partikül büyüklüklerinin hidroliz derecelerinin tekrarlı ANOVA sonuçları

Varyans kaynakları	SD	F değeri	Prob>F
Yem partikül	2	0.0009	0.9991
Dönem	4	4.5252	0.0086
İnteraksiyon	8	1.6127	0.1503

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kerevitin kültür ortamında yetiştiriciliği ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda özellikle beslenmenin kritik bir faktör olduğu ve bağımsız yaşamın ilk aylarında, yavruların büyüme ve hayatta kalma oranlarının düşük olmasının önemli bir sorun teşkil ettiği belirtilmektedir. Bu sorunun birçok nedeni olmakla birlikte, daha çok yavruların bu dönemde besin ihtiyaçlarının karşılanamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle yavruların farklı gelişme dönemlerindeki besin gereksinimleri tam olarak anlaşılmalı ve besin taleplerine uygun besleme stratejileri geliştirilmelidir.

Besin ihtiyacı konusunda yapılan güncel araştırmalar, genellikle hedef türlerin sindirim süreçleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Organizma tarafından besinlerin yeterli miktarda alımı, o organizmanın besinleri ayırt etme, sindirme yeteneğine ve sindirim enzimleri kapasitesine bağlıdır. Bu da sindirim enzimi profilinin anlaşılmasının önemini göstermektedir. Sindirim enzimi profili, türlerin metabolik ihtiyaçlarına özgü yemlerin geliştirilmesinde bir araç olarak kullanılabilir (Figueiredo vd., 2001).

A. leptodactylus türünün besin taleplerine uygun formüle edilmiş bir yem mevcut değildir. Önceki çalışmalarda, kontrollü koşullar altında dışardan beslenmenin başlangıcından itibaren, çok çeşitli doğal gıdalar (özellikle taze veya dondurulmuş organizmalar ve sebzeler) ve diğer sucul türler için formüle edilmiş kuru yemler kullanılmıştır. *A. leptodactylus* türü ile ilgili sindirim enzimleri, ontogenik gelişme aşamalarındaki enzimatik aktivite değişimleri ve yavruların yemlerinde kullanılabilecek protein kaynakları konusunda şu ana kadar yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu yüzden bugüne kadar türe özgü bir yem formülasyonu da oluşturulamamıştır.

Bu çalışmada, kültür ortamında üretimi yapılan *A. leptodactylus*'un yumurta ve yavrularında gelişmeye bağlı enzimatik aktivitedeki değişimler incelenmiş ve proteaz inhibityonlarına göre yavrularının beslenmesinde kullanılacak uygun yem ham maddeleri belirlenerek türe özgü yem formülasyonu ilk kez geliştirilmiştir. Ayrıca geliştirilen formülasyona göre üretilen mikroyemin performansı da *in vitro* tekniklerle test edilmiştir.

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar beş başlık altında tartışılmıştır.

5.1. Yumurtalı Kerevitlerden Yavruların Elde Edilmesi

Kerevitlerde yumurtaların inkübasyon dönemi 5-6 ay kadar sürmektedir. Genellikle ocak ayının ilk haftasında eksternal olan yumurtalardan yavru çıkışı, sıcaklığa bağlı olarak mayıs ayı sonunda ya da haziran ayının ilk haftasında gerçekleşmektedir. Yumurtadan henüz çıkmış yavrular (I. dönem yavru) 8-10. günlerde ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme, II. dönem yavrular 7-10 gün daha anneleri ile beraber kaldıktan sonra ayrılarak bağımsız yaşam evresine geçerler (Köksal, 1988; Özkök vd., 2006).

Kerevitlerde, çiftleşme, yumurtlama, inkübasyon süresi ve yavru çıkış zamanının türlere göre değişiklik gösterdiği ifade edilmektedir (Alpbaz, 1993; Kumlu, 2001). Bazı araştırmacılara göre çiftleşme, yumurtlama, inkübasyon süresi ve yavru elde edilme zamanları gibi hususlar aynı türün farklı populasyonları arasında bile değişiklik gösterebilmektedir (Taugbøl ve Skurdal, 1992). Köksal vd. (1992), *A. leptodactylus* türü ile yapmış oldukları çalışmada kanallara yerleştirilen yumurtalı dişilerden ilk yavruların 1989 yılında 23 mayıs'ta, 1990 yılında ise 13 mayıs'ta elde edildiğini bildirmişlerdir. Aydın (1992), tarafından yapılan bir diğer çalışmada, yumurtalı kerevitlerden ilk yavru çıkışının 17 mayıs'ta görüldüğü ve haziran ayının ortasına kadar yavruların tamamının yumurtadan çıktığı, yumurtadan yeni çıkmış ve dişinin pleopodlarına bağlı olan kerevit yavrularının 7-10 gün içerisinde ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçtikleri tespit edilmiştir. Erdem (1993), tarafından yapılan çalışmada, kerevit yavrularının ilk kabuklarını 7-9. günlerde değiştirdikleri, annelerini ise 17. günde terk ettikleri bildirilmiştir. Diler vd. (2004), *A. leptodactylus* türü ile yapmış oldukları çalışmada ilk yavru çıkışının 2001 yılında 28 mayıs'ta 2002 yılında ise 30 mayıs'ta meydana geldiğini, ilk kabuk değişiminin 9-12. günlerde, yavruların annelerini terk edişinin ise 20. günde olduğunu ifade etmişlerdir. Özkök vd. (2006), farklı populasyonlardan (Eğirdir, Işıklı, İznik ve Çernek Gölleri) getirdikleri yumurtalı anaçlardan, yumurtadan yavru çıkışının ilk olarak 15 Mayıs 2005 tarihinde Çernek Gölü anaçlarında, en geç yavru çıkışının ise 9 Haziran 2005 tarihinde Eğirdir Gölü anaçlarından meydana geldiğini belirtmişlerdir. Yumurtadan çıkan I. dönem yavruların 8-12 gün sonra ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçtiklerini, 7-11

gün daha annelerine tutulu kaldıktan sonra annelerini terk ederek bağımsız yaşam evresine geçtiklerini yani yavruların yumurtadan çıktıktan 19-22 gün sonra annelerini terk ettiklerini bildirmişlerdir. Erol vd. (2011), tarafından yapılan çalışmada, 2008, 2009 ve 2010 yıllarında Eğirdir Gölü'nden avlanarak kuluçkahanedeki üretim tanklarına yerleştirilen yumurtalı kerevitlerden mayıs ayının ikinci yarısında ve haziran ayının ilk haftasında I. dönem yavrular elde edilmiş olup, 9-12 gün sonra yavruların ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçtiği ifade edilmiştir. Bahadır Koca vd. (2013), tarafından yapılan çalışmada, *A. leptodactylus* anaçlarının yumurta açılımından 7-8 gün sonra, I. dönem larvaların ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme ulaşmış oldukları bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise 2017 yılı üretim sezonunda yumurtalı anaçlardan haziran ayının ilk haftasında yumurtadan yavru çıkışı gerçekleşmiş ve I. dönem yavrular elde edilmiştir. I. dönem yavrular yaklaşık 10-12 gün sonra ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme geçmeye başlamışlardır. II. döneme geçen yavrular yaklaşık 8-11 gün sonra annelerini terk ederek bağımsız yaşam evresine geçmişlerdir. Çalışmamızda, kerevit yavrularının elde edilme zamanı, ilk kabuk değişimi ve yavruların annelerini terk etme zamanları ile ilgili bulgular diğer araştırmacıların bildirdikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Köksal (1984), *A. leptodactylus* türünün embriyonik ve post-embriyonik gelişme dönemlerini incelediği çalışmasında, I. dönem yavruların toplam boyunun 8.9-9.2 mm arasında değiştiğini, yavruların 8-10 gün sonra kabuk değiştirerek II. döneme geçtiklerini ve bu dönemde karapaks boyunun ortalama 5.12 ± 0.168 mm olarak ölçüldüğünü bildirmiştir. Bu dönemdeki yavruların kuyruk yüzgeçleri dışında küçük bir istakoza benzediklerini, ancak kuyruğun yuvarlak kenarlarının ince, uzun saçak gibi tüylerle kaplı olduğunu ifade etmiştir. II. dönem yavrular annelerinden ayrıldıktan 8-10 gün sonra ikinci kabuk değişimini tamamlayarak III. döneme girdiklerini saptamış ve karapaks boyunun ortalama 8.29 ± 0.155 mm olduğunu belirlemiştir. Bu dönemdeki yavruların kuyruk yüzgecinin gelişimini tamamladığını ve telsonun üropodla birlikte kuyruk yüzgecini oluşturduğunu gözlemlemiştir. III. dönem yavruların 40-45 gün sonra üçüncü kabuğu değiştirip IV. döneme girdiklerini ve bu dönemde karapaks boyunun ortalama 11.09 ± 0.143 mm olduğunu bildirmiştir. IV. dönem yavruların 20-25 gün sonra dördüncü kabuğu değiştirip V. döneme girdikleri

ve bu dönem içerisinde genç yavrularda morfolojik cinsiyet farklılığının olduğu gözlenmiş, erkek ve dişiler için ortalama karapaks boyu sırasıyla 14.30 ± 0.160 mm ve 14.11 ± 0.307 mm olarak belirlenmiştir. Bahadır Koca vd. (2013), *A. leptodactylus*'un embriyonik ve postembriyonik gelişimini inceledikleri çalışmada, II. dönem yavrularının toplam boyunu 9-11 mm, III. dönem yavrularının toplam boyunu ise 12-14 mm olarak belirlemişlerdir.

Çalışmamızda dönemsel olarak yavruların ortalama toplam boy ve karapaks boyları sırasıyla; I. dönemde 8.11 ± 0.56 mm ve 4.57 ± 0.38 mm, II. dönemde 11.32 ± 0.37 mm ve 5.89 ± 0.21 mm, III. dönemde 13.41 ± 0.32 mm ve 6.71 ± 0.20 mm, IV. dönemde 17.46 ± 1.79 mm ve 9.11 ± 0.95 mm, V. dönemde 26.06 ± 1.71 mm ve 13.62 ± 0.83 mm, VI. dönemde ise 35.27 ± 1.68 mm ve 17.27 ± 1.19 mm olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda boy değerleri, dönemsel olarak hem toplam boy hem de karapaks boyu olmak üzere iki ayrı kategoride ölçülmüş ve ayrı ayrı verilmiştir. Ancak diğer araştırmalarda aynı şekilde dönemsel ve her iki boy ölçümü şeklinde verilmediğinden kıyaslama verilen değerler üzerinden yapılabilmektedir. Yavruların toplam boy değerleri ile ilgili elde ettiğimiz bulgular diğer araştırmacıların sonuçlarına genel olarak benzerlik göstermiş, III, IV ve V. dönemlerdeki karapaks boyu değerleri ise Köksal (1984)'ın bildirdiği değerlerden biraz düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda I. dönem yavrularının 10-12 gün sonra ilk kabuklarını değiştirerek II. döneme, 17-23 gün sonra ikinci kabuklarını değiştirerek III. döneme, 20-23 gün sonra üçüncü kabuklarını değiştirerek IV. döneme, 20-25 gün sonra da dördüncü kabuklarını değiştirerek V. döneme ulaştıkları saptanmıştır. III. dönem dışındaki dönemlerin (I., II. ve IV. dönem) süreleri ile ilgili bulgular Köksal (1984)'ın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Literatürde yavruların 5. ve 6. dönem sürelerine ilişkin veriye rastlanmamış olmakla birlikte çalışmamızda dördüncü kabuğunu değiştirerek V. döneme giren yavruların bu dönemde 30-35 gün geçirdikten sonra beşinci kabuğunu değiştirip VI. döneme girdikleri gözlenmiştir.

5.2. A. *leptodactylus*'un Embriyonik Gelişme Evrelerindeki Enzim Aktiviteleri

Embriyonik gelişme döneminde sindirim enzim aktiviteleri ve biyokimyasal bileşimi ile ilgili çalışmalar, ontogenez döneminde yumurta sarısındaki besleyici maddelerin

kullanımının göstergesidir ki bu, embriyonun besin gereksiniminin tahminini sağlar ve dolayısıyla anaçların durumunun iyileştirilmesinde de kullanılabilir. Ayrıca, embriyonik gelişme sırasında yumurta sarısının kullanımına ilişkin bilgi, yumurtalı anaçların ve erken dönem larvalarının besin gereksinimlerinin tam olarak anlaşılması ve uygun besleme stratejilerinin belirlenmesi için önemlidir (Luo vd., 2008a). Bu çalışma kapsamında da *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme dönemlerindeki sindirim enzimleri (proteaz, tripsin, alkalın fosfataz) aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir.

Proteinler, embriyonik gelişim döneminde öncelikli olarak doku oluşumunda ve gelişimin son aşamalarında da enerji kaynağı olarak kullanılabilirler (García-Guerrero vd., 2003). Luo vd. (2008b), proteinlerin embriyonik metabolizmada önemli bir rolü olduğunu, embriyonik gelişme sırasında en önemli enerji kaynağını temsil ettiğini ve bu yüzden toplam proteolitik aktivitede hızlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki proteaz aktiviteleri, gelişmeye bağlı olarak değişimler göstermiştir. Doku, organ ve sistemlerin oluştuğu aşamayı temsil eden evre VIII'de proteaz aktivitesi en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde Luo vd. (2008b), *C. quadricarinatus*'un embriyonik gelişme dönemlerindeki (embriyogenez 6 evrede sınıflandırılmış) enzim aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, III. aşamadan sonra (aşama IV; gastrula aşaması) proteolitik aktivitede önemli derecede artış gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, evre VIII'den sonra proteaz aktivitesi düşüş eğilimine girmiş ve evre XII (düzensiz kalp atımlarının görüldüğü)'de en düşük seviyeye ulaşmıştır. Bu dönemden sonra tekrar hızlı bir artış göstererek artış eğilimine geçmiş ve posterior hepatopankreas loblarının iyi geliştiği dönemde (evre XIV) yüksek bir seviyeye ulaşmıştır. *C. quadricarinatus* türünde de göz pigmentlerinin iyi geliştiği (aşama V) ve yumurtadan çıkıştan önceki evre (aşama VI)'de proteolitik aktivite yüksek seviyelerde bulunmuştur (Luo vd., 2008b).

Tripsin, en önemli kabuklu sindirim enzimlerinden biri olup, sindirim proteolizinin yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır (Galgani vd., 1984). Embriyogenez sırasında tripsinin işlevi diğer fizyolojik durumlardan (açlık, kabuk değiştirme vb.) tamamen farklıdır. Tripsin, yaşamın sürdürülmesi için diyet proteinlerinin hidrolize edilmesinde değil, dokular, organlar ve tüm embriyo sistemlerinin oluşturulması için yumurta

sarısındaki proteinlerin sindirilmesinde önemli rol oynar (Luo vd., 2008b). Çalışmamızda *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki tripsin aktivitelerinde gelişmeye bağlı olarak değişimler gözlenmiştir. Evre II'de 4.64 ± 0.33 mU/mg protein olarak ölçülen aktivite bu dönemden sonra düşük oranlarda kademeli bir artış göstermiştir. Aktivite evre X'dan sonra hızla artarak evre XI'de 8.57 ± 0.37 mU/mg protein, evre XII 9.15 ± 0.21 mU/mg protein değerine ulaşmıştır. Evre XI ve XII'deki yüksek seviyedeki aktiviteler, yumurta sarısının yüksek oranda hidrolize edildiğini göstermektedir. Tripsin aktivitesinin yüksek seviyelere ulaştığı evrede (evre XI) embriyonik organlar ve vücut uzantılarının gelişimlerinin ilerlediği gözlenmiştir. Bu gelişimler fizyolojik fonksiyonların başlangıcına da yol açmaktadır. Örneğin evre XII'de düzensiz kalp atışları gözlenmiştir. Dolayısıyla, tripsin tarafından hidrolize edilen yumurta sarısı proteinleri, yalnızca yapısal bileşen olarak değil, aynı zamanda enerji kaynağı olarak da işlev görmektedir. Benzer olarak Dai vd. (2009), *P. clarkii* türünde blastula aşamasından sonra tripsinin spesifik aktivitesinin arttığını, organ ve vücut uzantılarının hızla gelişim gösterdiği nauplius aşamasında (aşama IV) yüksek bir seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, göz pigmenti oluşum aşamasında (evre XIII) tripsin aktivitesi azalmış olsa da, XIV. evrede (embriyonik dönemin son evresi) tekrar artmıştır. Bu dönemdeki yüksek tripsin aktiviteleri, organizmanın yumurtadan çıkmaya hazır hale gelebilmesi için daha fazla enerjiye ihtiyaç duyulduğunun bir göstergesi olabilir. Benzer bulgular, *M. rosenbergii*, *Eriocheir sinensis*, *P. clarkii* türleri için de bildirilmiştir (Tian vd., 2003; Yao vd., 2006; Dai vd., 2009). Ek olarak, *C. quadricarinatus*'un embriyonik gelişmesi sırasında, tripsin aktivitelerinin inkübasyon döneminin son aşamasında (aşama VI) nispeten yüksek bulunmasının, larvanın beslenmeye hazır hale gelmesi şeklinde yorumlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki sindirim enzimi aktivite modellerinin organogenez ve fizyolojik fonksiyonlarla ilişkili olduğu görülmektedir. Benzer sonuçlar *C. quadricarinatus* (Luo vd., 2008a) ve *P. clarkii* (Dai vd., 2009) türleri için de bildirilmiştir.

Kerevitlerin embriyonik gelişme dönemlerinde alkalın fosfataz enzimi ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu çalışmada *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki alkalın fosfataz enzim aktivitelerindeki değişimler de

incelenmiştir. *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişimi sırasında alkalın fosfataz aktivitesinin, evre II-XII dönemleri arasında düşük, gelişmenin son dönemleri olan evre XIII ve XIV'te yüksek seviyelerde seyrettiği gözlenmiştir. En yüksek aktivite, 141.58 ± 2.58 mU/mg protein olarak hepatopankreas gelişiminin ilerlediği ve yumurtadan çıkışa yakın bir dönem olan evre XIV'te tespit edilmiştir. Alkalın fosfatazın, embriyonun son aşamalarında yüksek aktiviteler sergilemesi, hepatopankreas gelişimi ile birlikte sindirim sisteminin erken fonksiyonel gelişimini yansıtabilmektedir.

Balık larvalarında, alkalın fosfataz aktivitesindeki artış, bağırsak epitelindeki emme fonksiyonunun başlamasının bir göstergesi olduğu, ön bağırsak epitel hücrelerinin çizgili kenarlarında dağıldığı ve bağırsakta besin emilimiyle ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Shan vd., 2009). Örneğin, Atlantic halibutu (*Hippoglossus hippoglossus*) larvalarında keseli dönemde yüksek miktarda alkalın fosfataz aktivitesi bulunmuş ve bu aşamada bağırsakların yüksek bir emilim kapasitesine ulaştığı tespit edilmiştir. Bu nedenle alkalın fosfataz aktivitesinin, balık larvalarında emilim yeteneğinin bir göstergesi olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir (Shan vd., 2009). Ayrıca alkalın fosfataz, uzun yıllardan beri mineralizasyon süreciyle ilişkilendirilmiş ve karideslerde besin maddelerinin sindirimi ve metabolizmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Bunun yanı sıra, fosfor taşıyıcı olarak görev yaptığı da ifade edilmektedir (Chen vd., 2018).

5.3. *A. leptodactylus*'un Yavru Gelişme Dönemlerindeki Enzim Aktiviteleri

Diğer balık ve kabuklu türlerinde olduğu gibi kerevit yetiştiriciliğinde de başarılı sonuçların elde edilebilmesi için öncelikle canlının besin gereksinimlerinin tam olarak bilinmesi ve büyüme-gelişme dönemlerine uygun besleme protokolleri uygulanarak ihtiyaçlarının tam olarak karşılanması gerekmektedir. Bu noktada öncelikle türün sindirim yeteneğinin bilinmesi ve bu yeteneği doğrultusunda besleme stratejilerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Dolayısıyla türün sindirim enzim aktiviteleri ve gelişmeye bağlı olarak enzimatik aktivitelerdeki değişimler bilinmelidir. Bu çalışmada da *A. leptodactylus* yavrularının farklı gelişme dönemlerindeki enzim aktiviteleri belirlenmiş ve gelişmeye bağlı enzimatik aktivitelerdeki değişimler izlenmiştir. Yılmaz vd. (2011), erken larval dönemde yaşanan kanibalizm ve yüksek ölüm oranı

gibi sorunların daha çok larvaların erken yaşam dönemlerinde besinsel ihtiyaçlarının yeterince karşılanamamasından ileri geldiğini ve özellikle larva üretim sürecinde en yoğun ölümlerin gözlendiği metamorfoz süresince yaşanan fizyolojik değişimlerin gerekliliklerine göre besleme yapılmasının önemli olduğunu, bunun da türe özgü sindirim modellerinin bilinmesiyle mümkün olabileceğini bildirmişlerdir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde, sindirim fizyolojisi bilgisi, kabuklu üretimi ve gelişimini maksimum düzeye çıkarmak için besin oranları optimum düzeyde olan karma yemlerin formüle edilmesi açısından önemlidir (Fernández Gimenez, 2013). Fiqueriredo vd. (2001), yetiştiriciliği yapılan kerevit türlerinden maksimum verim alınabilmesi için türün sindirim yeteneğinin bilinmesi ve bu doğrultuda diyetlerin hazırlanmasının önem arz ettiğini belirtmekle birlikte, sindirim enzim profilinin, türlerin metabolik ihtiyaçlarına özgü yemlerin geliştirilmesinde bir araç olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Hammer vd. (2000), *P. clarkii* türünün gelişme dönemlerindeki enzim aktivitelerini incelemişler ve çalışma sonucunda, bu türün sindirim yeteneğinin beslenme öncesinde kazanıldığını ve genetik olarak kontrol edildiğini ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da *A. leptodactylus* yavrularının farklı gelişme dönemlerindeki (I-VI. dönem) sindirim enzim aktiviteleri (proteaz, asit proteaz, tripsin ve alkalın fosfataz) incelenmiş olup, enzim aktivitelerinin, yumurtadan çıkıştan hemen sonraki dönemde (I. dönem) yani yavruların dışardan beslenmeye başlamadan önceki dönemde mevcut olduğu görülmüştür. Bu sonuç, Hammer vd. (2000)'nin *P. clarkii* türü ile ilgili olarak bildirdiği bilgiler ile uyumludur. Enzim aktivitelerinin ilk beslenme öncesi dönemde gözlenmesi *A. leptodactylus* yavrularının sindirim yeterliliğinin, beslenmeye başlamadan önce elde edildiğini göstermektedir. Bu bulgu, diğer kabuklu türleriyle yapılan çalışmalar ile de tutarlıdır. Biesiot (1986), istakoz embriyolarının hepatopankreasındaki emici hücrelerin varlığını göstermiş ve yumurtadan yeni çıkmış istakoz yavrularında enzim sentezleyici hücrelerin bulunduğunu ve daha beslenmeye başlamadan önce enzim salgılayıcı hücrelerinin mevcut olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, ontogenetik gelişmeye bağlı sindirim enzimi aktivitesindeki değişikliklerin, canlının aç kalmasına veya beslenmesine bakılmaksızın ve her iki muamelede de hepatopankreastaki enzim salgılayan hücre sayısının artmasından bağımsız olarak meydana geldiğini bildirmiştir. Johnston (2003), *J. edwardsii* türünde beslemenin olmadığı dönemlerde amilaz, tripsin ve lipaz aktivitelerini tespit etmiş ve bu durumu iki şekilde yorumlamıştır; Birincisi, enzim üretiminin post-puerulus döneminde

beslenmeye hazırlanmak için gelişimsel bir işareti olabilir. İkinci olarak, beslenmediği puerulus dönemini sürdürmek için endojen enerji rezervlerinin hidrolizinde enzimler yer alabilir.

Figueiredo ve Anderson (2003), kırmızı bataklık kereviti *C. quadricarinatus* ile yapmış oldukları çalışmada, kerevit yavrularının ilk bağımsız oldukları dönemde hangi sindirim enzimlerinin mevcut olduğunu ve gelişme dönemleri boyunca bu enzim seviyelerinde değişiklik olup olmadığını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda kerevitlerin ilk beslenmeden önceki dönemdeki proteaz aktivitesinin yüksek olduğunu ve bunun yumurta sarısı emilimi ile bağlantılı enzimlerden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Bu yüksek aktivite seviyesinin kısa bir süre devam ettiğini ve ardından azaldığını bunun da diyet değişikliği ile ilişkili bir durum olabileceğini ifade etmişlerdir. Benzer olarak çalışmamızda da ilk kabuklarını değiştirip, ikinci gelişme aşamasına geçen ve henüz anneye bağımlı olan yavrularda yüksek proteaz aktivitesi tespit edilmiştir. Ancak daha sonra yavruların anneyi terk ederek bağımsız yaşam evresine geçtikleri ve dışardan beslenmeye başladıkları dönemde proteaz aktivitesinde hızlı bir azalma görülmüştür. Çalışmamızda *A. leptodactylus* yavrularının ilk beslenmeye başlamadan önceki dönemde tespit edilmiş olan yüksek proteaz aktivitesinin, yumurta sarısı emiliminden sorumlu enzimlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Figueiredo ve Anderson (2003), 2.0-14.0 cm boya sahip *C. quadricarinatus*'un sindirim enzim aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında en yüksek aktivitenin 2,0 cm toplam boya sahip kerevitlerde olduğunu, kerevitler büyüdükçe enzim aktivitelerinin azaldığını ve en küçük ve en büyük kerevitler arasındaki proteaz aktivitesindeki bu farklılıkların önemli olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda da aynı araştırmacının bulgusuna benzer şekilde, *A. leptodactylus* yavrularındaki proteaz aktivitesi dışardan beslenmenin başladığı dönemden sonra artış eğilimine geçmiş ve gelişmeye bağlı olarak ciddi oranda artış göstererek V. dönemde (ortalama yavru boyu 26.06 ± 1.71 mm) maksimum seviyeye ulaşmıştır. Yavruların VI. gelişim döneminde ise, proteaz aktivitesinde azalma gözlenmeye başlanmış olsa da, bu dönemdeki seviyenin, II*. dönemdeki enzim aktivite seviyesinin çok üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu durum kerevit yavrularının dıştan beslenmeye başladığı dönemden itibaren yüksek proteinli besinlere ihtiyaç duyduklarının bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Zaten

örneklemenin yapıldığı dönemler büyümenin en hızlı olduğu dönemler olduğu dikkate alınrsa yüksek protein ihtiyacı daha net anlaşılabilir. VI. dönemde tespit edilmiş olan enzim aktivite seviyesinin yavruların hızlı büyüme döneminde olmaları nedeniyle proteine olan ihtiyacının bu dönemde de devam ettiğini göstermektedir. Bundan sonra bu konuda yapılacak çalışmalarla sonuçların desteklenmesi bilimsel anlamda daha çok ışık tutacaktır.

Çalışmamızda *A. leptodactylus* yavrularındaki proteaz aktivitesi, kırmızı bataklık kereviti *C. quadricarinatus* yavruları (Figueiredo vd., 2001; López López vd., 2005), beyaz karides *L. vannamei* post larvalarında (Brito vd., 2001), dikenli istakoz *J. edwardsii* larvalarında (Johnston vd., 2004) bildirilenlerden yüksek bulunmuştur. Proteaz aktivitesindeki farklılıklar doku protein konsantrasyonlarındaki değişimin bir sonucu olabilir. Beslenme durumuna bağlı olarak doku protein konsantrasyonu değişkenlik gösterebilmektedir. Doku protein konsantrasyonunun yüksek olması, organizmanın beslenme durumunun iyi olduğunu yansıtabilmektedir. Figueiredo ve Anderson (2003), protein konsantrasyonundaki artışın, bazı enzimler için spesifik aktivitede gözlemlenen farklılıkları açıklayabileceğini ifade etmiştir. Chamchuen vd. (2014), enzim aktivitesi seviyelerindeki farklı tepkilerin, yem doygunluk koşullarında olup olmadığına bağlı olarak besin arzı seviyelerindeki değişikliklerden ve ayrıca gelişme aşamalarında enzim aktivite seviyeleri değişiminin yanı sıra yemlerin sindirilebilirlik kalitesindeki farklılıklar nedeniyle olabileceğini bildirmişlerdir.

Sindirim enzimleri, çeşitli substratları hidrolize edebilmekte ve düzenlemelerinde çeşitli faktörler bulunmaktadır. Dolayısıyla enzimatik aktiviteler bu faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Bunlar arasında, diyet, ontogenik değişiklikler, vücut büyüklüğü, sirkadiyen ritimler, kabuk değiştirme aşaması ve hatta havuz suyundan uyarıcı bir etki bile rapor edilmiştir (Fernández Gimenez, 2013). Aynı türe ait anaçlardan elde edilen ve aynı yemle beslenen yavruların enzim aktivitelerinde dahi önemli farklılıklar bulunmuş, bu farklılıkların spesifik olmayan genetik çeşitlilik ve/veya anaç yaşından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan anaçların aynı beslenme geçmişine sahip olmaları nedeniyle beslenme faktörünün göz ardı edilebileceği ifade edilmiştir (Kamarudin vd., 1994). Çalışmamızda da yavrular, kerevit araştırma merkezindeki kültür koşullarına adaptasyonları sağlanmış anaçlardan elde edilmiştir. Dolayısıyla enzim aktivitelerindeki farklılıklar, kültür koşulları,

anaçların beslenme durumu ve hatta anaç büyüklüğüne dahi bağlı olabilir. Ayrıca stres faktörü de enzim aktivitelerinde farklılıklara neden olabilmektedir. Kültür ortamında türün gereksinim duyduğu optimum koşulların sağlanması canlının beslenme aktivitesini artırabilmektedir. Ayrıca uygun koşullar stres faktörünü minimize edebilmektedir. Uygun olmayan ortam koşulları, canlıda strese neden olması nedeniyle beslenme aktivitesi olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Çalışmamızda *A. leptodactylus* kültürü kapalı devre yetiştiricilik sisteminde gerçekleştirilmiş olup, sistem donanımı sayesinde bu türün farklı dönemlerindeki gereksinimlerine göre optimum koşullar sağlanabilmiştir. Ayrıca hem anaçlar hem de yavrular için uygun olan çeşitli barınaklar kullanılmış, stres faktörünün etkisi minimize edilmeye çalışılmıştır. Bunun yanısıra, larval besleme döneminde kullanılan canlı yemlerin de enzimatik aktivitelere katkı sağladığı rapor edilmiştir (Kamarudin vd., 2011). Kamarudin vd. (2011), özellikle erken besleme aşamalarında larva sindiriminde canlı besinlerden gelen eksojen enzimlerin önemli rolünü ortaya çıkarmışlardır. Dahası, canlı yemle ve kombine yemle (artemia+karma yem) beslenen larvaların yüksek enzim aktiviteleri sergilediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda da yüksek enzim aktiviteleri gözlenmiş olup, bunun beslemede canlı yemlerin (tatlısu rotiferi, artemia, daphnia, chironomid larvaları) kombine olarak kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bununla birlikte proteaz aktivitesi, besin kalitesi ve miktarından da etkilenebilmektedir. Yapılan çalışmalarda diyet kompozisyonu ve sindirim enzimleri arasında ilişki olduğu bildirilmiş olup, özellikle, proteaz, lipaz ve amilaz aktivitelerinin diyet protein ve lipid seviyelerinden bir dereceye kadar etkilendiği belirtilmiştir. Proteaz aktivitesinin değerlendirildiği diğer deneysel çalışmalarda da proteaz aktivitesinin diyet kompozisyonundan etkilendiği rapor edilmiştir (Figueiredo ve Anderson, 2003; López-López vd., 2005; Pavasovic vd., 2006). Diyet protein seviyelerinin *L. setiferus* (Guzman vd., 2001) ve *L. vannamei* (Le Moullac vd., 1994), türlerindeki proteaz aktivitesindeki değişikliklerle de ilişkili bulunmuştur. *C. quadricarinatus*'un sindirim enzimi profili, proteaz, amilaz ve selüloz aktiviteleri ile yem protein düzeyi arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Pavasovic vd., 2007b). Fernández Gimenez vd. (2001), farklı türlerin sindirim sistemlerine ilişkin adaptasyonlarının, taksonomik kategorilerinden ziyade diyetleri ile daha yakın ilişki gösterdiğine dikkat çekmiştir. Bu aynı zamanda sindirim enzimi aktivitesindeki

değişikliklerin beslenme davranışlarından ve yemin biyokimyasal kompozisyonundan etkilendiğini belirten Kuzmina (1996) tarafından da doğrulanmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan bireyler, farklı gelişme evrelerinde olup ancak, gelişme evresinin de birçok kabuklu türünde sindirim enzimi aktivitelerini etkilediği bilinmektedir (Lovett ve Felder, 1990; Kamarudin vd., 1994; Hammer vd., 2000; Figuiro ve Anderson, 2003; Johnston vd., 2004; Díaz vd., 2008). Bu sonuçlara benzer olarak, çalışmamızda da *A. leptodactylus* yavrularının gelişme dönemlerine bağlı olarak enzim aktivitelerinde değişimlerin olduğu gözlenmiştir.

Figuiro ve Anderson (2003), *C. quadricarinatus* türünde en yüksek proteaz aktivitesinin ilk beslenmeden önceki dönemde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Gamboa-delgado vd. (2003)'nin 2-12 g arasındaki *L. vannamei* yavrularındaki sindirim enzimi aktivitelerindeki değişimleri inceledikleri çalışmalarında, en yüksek proteaz aktivitesini 6 g'lık bireylerde tespit etmişler ve bundan sonra aktivitede düşüş gözlemlemişlerdir. Biesiot (1986), Amerikan istakozu (*H. americanus*) için maksimum spesifik proteaz aktivitesinin IV. aşamada meydana geldiğini bildirmiştir. Johnston vd. (2004), kültür (aşama I-VI) ve doğadan yakalanan (V-XI) *J. edwardsii* larvalarının enzim aktivitelerini incelemişler, çalışma sonunda proteaz aktivitesinin, kültür larvalarında aşama I ve VI arasında sabit olduğunu, ancak doğadan yakalananlarda aşama VI ve VII arasında önemli ölçüde artış görülmesinin ardından aşama XI'de düşüş gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, beslenme öncesinde yüksek bir proteaz aktivitesinin tespiti yönünden Figuiro ve Anderson, (2003)'nun *C. quadricarinatus* türü için bildirilene benzerlik göstermekte, maksimum aktivitenin V. dönemde saptanması bakımından farklılık göstermektedir. Ayrıca Johnston vd. (2004), kültürü yapılan larvalar için bildirdiğinden farklı olarak proteaz aktivitesi gelişme dönemlerine bağlı olarak değişmiştir.

Galgani ve Benyamin (1985), penaeid larvalarında tripsinin proteolize %40-50 katkıda bulunduğunu bildirmiştir. Figueiro ve Anderson (2003), *C. quadricarinatus* yavrularında proteazlar ile ilgili olarak, toplam proteaz, tripsin, lösin-aminopeptidaz ve karboksipeptidazlar A ve B aktivitelerinin genel olarak benzer modeller gösterdiğini, en yüksek aktivitenin 2.0 cm uzunluğunda bireylerde tespit edildiğini ve en küçük ve en büyük birey arasındaki tüm proteazların aktivitesindeki bu farklılıkların önemli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında, tripsin aktivitesinin

döllenmiş yumurtalarda az miktarda tespit edildiği ve aktivitenin ikinci yavru dönemin sonuna kadar 17 kat arttığını belirtmişlerdir. Hammer vd. (2000), *P. clarkii*'nin erken yaşam dönemlerindeki spesifik enzim aktivitelerindeki gözlenen artışın, doku ağırlık artışına bağlı olarak daha fazla miktarda sindirim enzimi üretildiğinden, hepatopankreasın olgunlaşmasını yansıttığını belirtmişlerdir. Tripsin aktivitesinde büyük artışlar, *P. monodon* ve *L. setiferus* türü karideslerde karnivor beslenmenin başlamasından önce meydana gelmiştir (Lovett ve Felder, 1990; Fang ve Lee, 1992). Tatlı su karidesi *M. rosenbergii* türünde de tripsin aktivitesinin, beslenmeye başlamadan önce daha yüksek olduğu bulunmuştur (Kamarudin vd., 1994). *L. setiferus* larvalarında tripsin aktivitesinde büyük artış postlarval gelişmenin dördüncü ve beşinci haftasında meydana gelmiştir. Aktivitedeki bu artış, hepatopankreasta hücre farklılaşmasının tamamlanması ile aynı zamana rastlamıştır (Lovett ve Felder, 1990). Kamarudin vd. (1994), tatlı su karidesi *M. rosenbergii* tripsin aktivitesindeki (aşama V-VI) artışın, hepatopankreas hacmindeki artış ile çakıştığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, tripsin enzim aktivitesindeki en büyük artış IV. dönemde gözlenmiştir. Bu durumun, *P. clarkii* (Hammer vd., 2000) türünde olduğu gibi hepatopankreas olgunlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda, ayrıca *A. leptodactylus* yavrularının farklı gelişme dönemlerindeki asit proteaz aktiviteleri de belirlenmiştir. Asit proteaz aktivitesi, kerevitlerde sadece *C. albidus* (Coccia vd., 2011) türünde bildirilmiştir. Coccia vd. (2011), *C. albidus*'da 2-5 pH aralıklarındaki asit proteaz aktivitesinin pH 2.0'de optimum olduğunu, spesifik aktivitenin pH 2.5'tan pH 5.0'e kadar sabit bir şekilde düştüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda 3-6 pH aralıklarındaki asit proteaz aktivitesi incelenmiş olup, *A. leptodactylus*'un tüm gelişme dönemlerinde en yüksek aktivite pH 3'te saptanmış ve pH 3'ten pH 6'ya kadar aktivitede düşüş gözlenmiştir. Perera vd. (2008) ise, dikenli istakoz *Palinurus argus* için asidik pH'da farklı bir aktivite modeli bildirmişlerdir. *P. argus*'un mide sıvısındaki zayıf asit proteaz aktivitesinin, pH'nın 2.5'tan 3'e yükseldiğinde 7-8 kat arttığını, pH 3.5-4.5 arasında ise yavaş yavaş artmaya devam ettiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda *A. leptodactylus*'un farklı pH değerlerindeki asit proteaz aktivite modelleri, *C. albidus* türünde bildirilene benzerlik, *Palinurus argus* türünde bildirilene ise farklılık göstermiştir.

A. leptodactylus türünde alkalın fosfataz aktivitesi Valipour vd. (2019), tarafından çalışılmış olup, çalışmada kerevitleri farklı dozlarda probiyotik *Lactobacillus plantarum* (LB7; 10^7 CFU g/yem, LB8; 10^8 CFU g/yem, LB9; 10^9 CFU g/yem) içeren yemlerle beslemişler, deneme sonunda diğer gruplara kıyasla LB8 ve LB9 uygulamalarında daha yüksek aktivite tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise *A. leptodactylus*'un farklı gelişme dönemlerindeki alkalın fosfataz aktiviteleri incelenmiş olup, gelişme dönemlerine bağlı olarak aktivitede değişimler gözlenmiş ve en yüksek aktivite IV. dönemde tespit edilmiştir.

5.4. Yem Formülasyonu

A. leptodactylus'un kültür ortamında yetiştiriciliğine ilişkin yapılan çalışmalarda, özellikle yavruların bağımsız yaşamlarının ilk aylarında hayatta kalma ve büyüme oranlarının düşük olması gibi ciddi problemler yaşanmaktadır. Bu nedenle, bu türün yetiştiriciliği ile ilgili bilimsel çalışmalar yavrularda yaşama ve büyüme oranlarının artırılması yönünde devam etmektedir. Kontrollü koşullar altında gerçekleştirilen çalışmalarda, yavruların ilk olarak dışarıdan besin almaya başladığı dönemde çok çeşitli besinler (*Artemia nauplii*, *Chlorella* sp., *Daphnia* sp., chironomid larvaları, taze balık eti, çeşitli sebzeler) test edilmiştir. Ayrıca yavruların beslenmesinde bazı pelet yemler (alabalık yemi, karides yemi vs.) de kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar bir bütün olarak ele alındığında, sonuçların çok değişkenlik gösterdiği, yavruların büyüme ve yaşama oranlarına ilişkin farklı oranlar elde edildiği görülmektedir. Bu farklılıkların beslenme ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Diğer balık ve kabuklu türlerinde olduğu gibi kerevit yetiştiriciliğinde de başarılı sonuçların elde edilmesinde beslenme önemli bir faktördür. Özellikle yavruların büyüme performansı ve yaşama oranları üzerinde beslenmenin doğrudan etkisi bulunmaktadır. Ayrıca besin yetersizliği durumunda bu türe özgü olan agresif davranışların ortaya çıkması ve kanibalizmin tetiklenmesi büyük sorun teşkil etmektedir. Agresif davranışlar ve kanibalizm nedeniyle yavrularda bazı uzuvların kaybedilmesi ve yüksek oranda ölümlerin gerçekleşmesi kaçınılmaz olmaktadır. Bu nedenle kültür ortamındaki yavruların yeterli ve dengeli bir şekilde beslenmesi ve besin ihtiyaçlarının tam olarak karşılanması oldukça önemlidir. Türün besinsel gereksinimlerinin bilinmesi ve tam olarak karşılanabilmesi açısından öncelikle

sindirim fizyolojisinin ortaya konulması gerekmektedir. Organizmanın sindirim enzimlerin profili ve gelişmeye bağlı olarak enzim aktivitesindeki değişimler, besleme stratejisi açısından önem arz etmektedir. Dolayısıyla sindirim enzimi fonksiyonlarının yanı sıra, ontogenik gelişme dönemlerine bağlı olarak enzim aktivitelerindeki değişimlerin tam olarak anlaşılması ve organizmanın formüle yemlerdeki besin madde bileşenlerini kullanabilme yeteneğinin ortaya konulması gerekmektedir.

Kabukluların beslenme ihtiyaçları konusundaki güncel araştırmalar, genellikle hedef türlerin sindirim süreçleri ve besinleri hidrolize, absorbe ve asimile etme yeteneği üzerine odaklanmıştır. Bu süreçlerin araştırılması için ana yöntemlerden biri sindirim enzimi profili ve enzimatik aktivitelerdeki değişimleri belirlemektir (Pavasovic vd., 2004). Kerevitlerde sindirim enzimleri ile ilgili olarak, *C. quadricarinatus* (Figueiredo vd., 2001; Figueiredo ve Anderson, 2003; López-López vd., 2005; Pavasovic vd., 2007a,b; Luo vd., 2008a,b; Calvo vd., 2013; Sacristán vd., 2014; Dammannagoda vd., 2015), *C. albidus* (Coccia vd., 2011), *P. clarkii* (Hammer vd., 2000; Dai vd., 2009), *C. destructor* (Linton vd., 2009; Dammannagoda vd., 2015), *C. tenuimanus* (Dammannagoda vd., 2015), *Engaeus sericatus* (Linton vd., 2009) türlerinde birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, Türkiye'nin doğal kerevit türü olan *A. leptodactylus*'un sindirim enzimleri ülkemizde yeni çalışılmaya başlanmıştır. Acar vd. (2018), *A. leptodactylus*'un sindirim enzimi aktiviteleri üzerine mevsim, cinsiyet ve büyüklüğün etkisini incelemişlerdir. Bir başka çalışmada, bu türün farklı gelişme dönemlerindeki sindirim enzimi aktivitelerindeki değişimler kısmen incelenmiş olup, sadece I. ve II. dönem yavrulardaki enzim aktiviteleri çalışılmış, örnek yetersizliği nedeniyle II. dönem yavrularda proteaz aktivitesi belirlenememiştir (Bahadır Koca vd., 2018). Bizim çalışmamızda ise, kültür ortamında yavru üretimi gerçekleştirilmiş olup, yumurtadan çıkıştan itibaren VI. dönem dahil olmak üzere tüm gelişme dönemlerinde yavru örnekleri alınmış ve gelişmeye bağlı olarak enzim aktivitelerindeki değişimler ilk kez tarafımızdan bu çalışmada belirlenmiştir. Ülkemiz dışında yapılan bir çalışmada yine aynı türün sindirim enzimi aktiviteleri üzerine *L. plantarum*'un etkisi araştırılmıştır (Valipour vd., 2019).

Kerevitlerle ilgili olarak şu ana kadar yapılan çalışma sonuçlarından, türe özgü mikro yem üretimi alanına aktarımı ile ilgili bir girişim bulunmamaktadır. Bu çalışmanın temel amacı türe özgü mikroyem üretimi olup, özellikle *A. leptodactylus*'un yavru

dönemindeki beslenme problemlerine çözüm getirmek için öncelikle ontogenik gelişme dönemlerine bağlı enzim aktivitelerindeki değişimleri izlemek olmuştur. Enzimatik aktiviteler, organizmanın farklı ontogenik aşamaları için yem formülasyonlarının belirlenmesinde bir indikatör görevi görmektedir. Organizmanın sindirim enzimlerinin değişimi ve protein sindirim yeteneğinin anlaşılması türe özgü yem formülasyonunun geliştirilmesinde bir ön koşuldur (Chamchuen vd., 2014). Yılmaz vd. (2011), son zamanlarda, larval dönemde karşılaşılan beslenme problemlerinin çözümünde izlenen metodun, türlerin enzimatik profillerinin ortaya konulması ve ontogenik gelişmeye bağlı enzimatik aktivitelerdeki değişimlerin incelenmesi esasına dayanmakta olduğunu, ancak sadece enzimatik çalışmaların bu sorunların çözümü için yeterli olmadığını, yemlerde kullanılması muhtemel protein kaynaklarının da larva proteaz aktivitesi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Yem formülasyonunda yer alan en önemli sorunlardan biri, özellikle protein kalitesi olmak üzere formülasyonda yer alacak yem hammaddelerinin kalitesidir. Kalite amino asit kompozisyonuna ilaveten proteinaz inhibitörleri gibi antinütrisyonel faktörlerin varlığı ve miktarına bağlı olan sindirilebilirlikle ilişkilidir. Proteinaz inhibitörleri, besin proteinin sindirilebilirliğini azaltarak beslenmeyi olumsuz yönde etkilemekte ve ileride organizmanın gelişimini yavaşlatmaktadır. Bu nedenle, enzim inhibitörlerinin varlığı, yem formülasyonu için hammadde seçiminde bir sınırlama getirmektedir (Alarcón vd., 2007). Dolayısıyla mikro yemlerin üretiminde dikkat edilmesi gereken en önemli konulardan biri hammadde seçimidir. Yem formülasyonunda kullanılacak hammaddeler enzimatik faaliyetleri olumsuz yönde etkilememelidir. Bu nedenle *in vitro* teknikler ile yem hammaddelerinin yavruların proteaz aktivitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir. Yemlerde kullanılması planlanan protein kaynaklarının *in vivo* koşullarda denenmeden önceki muhtemel etkileri *in vitro* teknikler ile belirlenebilmektedir. Çalışmamızda da yavruların beslenmesinde kullanılacak en uygun yem hammaddelerini belirleyebilmek için 13 adet yem hammaddesi *in vitro* tekniklerle test edilmiş, yavruların tüm gelişme dönemleri için her bir hammaddenin proteaz inhibisyon değerleri belirlenmiştir. Yem formülasyonunda kullanılacak hammaddelerin seçiminde, yavruların dışardan beslenmeye başladığı (II*. dönem) dönemden itibaren hammadde inhibisyon oranları değerlendirilmiştir.

Alarcón vd. (2007), beyaz karides (*P. vannamei*) larvalarında kazein, mürekkep balığı ununun ve bu bileşenleri içeren yemlerin hızlı bir şekilde hidrolize edildiğini, buna karşılık, ovalbümin ve ovalbümin içeren mikrokapsül yemlerin hidrolize edilemediğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında ovalbüminin inhibisyon değeri %80, krill ununun inhibisyon değeri ise %33 bulunmuştur. Benzer olarak çalışmamızda da krill ununun inhibisyon etkisi test edilmiş olup, kerevit yavrularının proteaz aktiviteleri üzerine krill ununun inhibisyon değerleri beyaz karides larvalarından daha düşük bulunmuştur. García-Carreño vd. (1997), soya küspesinin *P. vannamei*'nin proteaz aktivitesini 38 ± 1.41 , *Penaeus californiensis*'in proteaz aktivitesini ise 53 ± 4.32 oranında inhibe ettiğini belirtmiştir. Çalışmamızda, soya küspesinin tüm gelişme dönemlerindeki (II*-VI.) inhibisyon değerleri (%21.97-43.99) *P. californiensis* türünde bildirilenden daha düşük bulunmuştur.

Kattakdad vd. (2018), *Caridina cantonensis* türünde *in vitro* sindirilebilirlik çalışmaları yapmışlardır. Protein sindirimi üzerine yapılan çalışma, balık ununun uygun bir protein kaynağı olduğunu göstermiş, karbonhidrat sindirilebilirliği ise, karbonhidrat kaynağı olarak buğday unu ve maltodekstrinin manyok, pirinç kepeği ve Na-aljinattan daha uygun olduğunu göstermiştir. Çalışmada, karides yemlerinde protein kaynağı olarak balık ununun uygun olduğu, buğday ununun ise en iyi karbonhidrat kaynağı seçimi olduğu sonucuna varmışlardır. Çalışmamızda ithal balık unu, hamsi unundan daha düşük inhibe etkisi gösterdiğinden hayvansal kaynaklı protein hammaddesi olarak yem formülasyonunda tercih edilmiştir.

Chamchuen vd. (2014)'nin farklı yem hammaddelerinin *in vitro* protein sindirilebilirliği çalışmaları, artemia, rotifer ve moina'nın *P. pelagicus*'un larva aşamaları için en uygun hammadde olduğunu göstermiştir. Alternatif olarak karides yemi ve artemia pul yeminin de kullanılabileceği, yavru dönemlerinde ise, manyok ununun yem formülüne dahil edilmesinin bir avantaj olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, yetişkin yengeç kültürü için hayvansal kaynaklardan elde edilen proteinlerin bitkilerden ve bakterilerden elde edilen proteinlerden daha faydalı olduğu, larva evrelerinde diyet proteininin sindirilebilir kalitesinin çok önemli olduğu ancak sindirim enzimleri tamamen gelişmiş yetişkinlerde diyetin protein seviyesinin daha önemli olduğu ifade edilmiştir. Fernandez Gimenez vd. (2009a), tarafından *A. longinaris*'in proteaz aktivitesi üzerine alternatif protein kaynaklarının etkisi

incelenmiştir. Çalışma sonuçları, *A. longinaris*'deki proteolitik aktivitenin, diyet proteininin kalitesine adapte olduğunu ve kalamar protein konsantresi ile birlikte soya ununun balık unu yerine kısmen ikame edilebileceğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda test edilen hammaddelerden gammarusun, proteaz katkısı sağlaması nedeniyle formülasyonda mutlaka yer alması gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca soya proteininin erken dönemlerde, soya küspesinin ise tüm dönemlerde yüksek inhibisyon oranları göstermesi dolayısıyla sindirimi ile ilgili sorunlar yaşanabileceği düşünülerek bu kaynakların formülasyonda yer almaması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Aynı şekilde bezelye proteini de II*. ve V. dönemdeki inhibisyon oranlarının yüksek olması nedeniyle formülasyonda tercih edilmemiştir.

Sonuç olarak, analiz sonuçları dönemler bazında değerlendirilerek, kerevit yavrularının proteaz aktivitelerini olumsuz yönde etkilemeyen, düşük inhibisyon değerlerine sahip olan yem hammaddelerinin (balık hidrolizatu, ithal balık unu, gammarus unu, kalamar unu, krill unu, buğday gluteni, mısır gluteni) formülasyonda kullanımlarına ve kullanım oranlarına öncelik verilerek yem formülasyonu oluşturulmuştur.

Formüle edilen diyet partiküllerinin ortak bir avantajı, canlı yemlerin aksine, mikro partikül diyetlerin boyutunun ve kompozisyonunun, çeşitli türlerin ve farklı larva aşamalarının tam gereksinimlerine uyacak şekilde ayarlanabilmesidir (Holme vd., 2009). Balıklarda erken dönem larval beslemede verilen canlı veya mikro yem partiküllerinin miktar ve büyüklüğünün, yemlemenin etkinliği ve yaşama oranları bakımından belirleyici olduğu bildirilmiştir (Yılmaz vd., 2011). Balıklarda olduğu gibi kabuklu larvaları için formüle yemlerin sunumunda önemli bir husus yem partikül büyüklüğüdür. Yem alımının en üst düzeye çıkarılması, yem partikül boyutunun uygun özelliklere sahip olmasıyla sağlanabilir (Holme vd., 2009).

Kerevitler, yürüme bacaklarının ucundaki kıskaçları ile yemlerini yakalayıp ağızlarına götürüp beslenebilen canlılardır. Dolayısıyla, yemlerinin büyüklükleri tutabilecekleri boyutlarda olmalıdır. Bu nedenle, II. dönem yavrular 300-500µ, III. dönem yavrular 500-800µ, IV. V. ve VI. dönem yavrular ise 800-1200µ boyutlarındaki olmak üzere 3 farklı boyutta mikroyem üretimi sağlanmıştır. Yem partikül büyüklüğü

ile ilgili olarak penaeid karides larvaları ile yapılan çalışmalar, optimum partikül boyutunun türlere göre değiştiğini ve tercih edilen partikül boyutunun larva büyüdükçe arttığını göstermiştir. Örneğin, *P. monodon*, *P. japonicus* ve *P. indicus* larvaları küçük partiküller (5-25 μ m) ile beslenirken, *P. stylirostris*, *P. kerathurus* ve *P. vannamei* larvaları daha büyük partiküllerle beslenebilmektedir (5-50 μ m) (Holme vd., 2009). Jones (1998) ayrıca, *P. monodon*'un ilk beslenmede sadece alg hücreleri (3-30 μ m) ile aynı büyüklükteki partikülleri aldığını, ikinci aşamada zoea larvalarının 100 μ m boyutundaki gıda maddelerini alabildiğini göstermiştir. *S. serrata* zoea I larvalarının hem rotifer hem de artemia ile beslenebilme yetenekleri ise besleme şeklinin raptorial (yırtıcı) olduğunu ve larvaların geniş bir aralıkta gıda parçacıklarını alabildiğini belirtmektedir (Holme vd., 2009). Genodepa vd. (2004), *S. serrata*'nın farklı larva aşamalarında partikül büyüklüğünün kabulünü incelemiş ve zoea I için <150 μ m, zoea III için 150-250 μ m, zoea V için 250-400 μ m ve megalop aşaması için 400-600 μ m olan bir partikül boyutu önermişlerdir. Bununla birlikte, megaloplarda 400-600 μ m arasında değişen partiküllerin alımı, 600-800 μ m partiküllerinden önemli ölçüde daha fazla olmamıştır. Amerikan ıstakozu *H. americanus* dahil diğer kabuklu larvaları üzerine yapılan araştırmalar, larvaların tamamen gelişmiş kısıkaçlara sahip olduğu geç larva aşamalarında 800-1200 μ m büyüklüğündeki partiküllerin tercih edildiğini göstermiştir (Fiore ve Tlustý, 2005). Bu çalışmada yem partikül büyüklüğünün, kerevit yavrularının farklı gelişme dönemlerindeki alım oranları test edilmemiş ancak gelişme dönemlerine özgü boyutlarda sunulan yemlerin yavrular tarafından kolaylıkla alınabildiği gözlenmiştir.

5.5. Üretilen Mikroyemlerin *In Vitro* Tekniklerle Test Edilmesi

Mikroyem üretiminden sonra, bu yemin yavruların enzimatik aktiviteleri üzerindeki etkilerinin de belirlenmesi gerekmektedir. Mikroyem içeriği, her ne kadar yavruların enzimatik aktivitelerini olumsuz yönde etkilemeyen hammaddelerden oluşturulmuş olsa da, bu hammaddelerinin ve diğer yem bileşenlerinin bir arada kullanımı olumlu ya da olumsuz sonuçlar doğurabilir. Ya da yem üretim teknolojisinde kullanılan diğer bazı maddeler olumsuz etkilere sahip olabilir. Bu nedenle üretilen mikro yemin de yavrulara verilmeden önce değerlendirilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir. Çalışmamızda da üretilen yemin yavrular üzerindeki etkileri, *in vivo* koşullarda denenmeden önce *in vitro* koşullarda değerlendirilmiştir. Ayrıca, *in vitro*

değerlendirme çalışmaları, kerevit konusunda yapılan çalışmalarda yavruların beslenmesinde sıklıkla kullanılan ticari yemlerden alabalık ve karides yemleri üzerinde de gerçekleştirilmiş olup, yemlerin etkinliği kıyaslanmıştır.

Ezguerra vd. (1997), su ürünleri yetiştiriciliğinde yemlerin besleyici değerini ölçmede en güvenilir yöntemin besleme denemeleri olduğunu ancak, bu yöntemlerin pahalı ve zaman alıcı olduğunu ve sonuçların da çevresel faktörlerden etkilenebildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, protein sindirilebilirliğini değerlendirmede *in vitro* yöntemlerin hızlı olduğunu ve sadece küçük miktarlarda hammadde kullanarak bağların ne kadar uzağa bölündüğünü yakından gözlemlenmesini sağladığını ifade ederek *in vitro* yöntemlerin önemini vurgulamışlardır. Lemos vd. (2000), yemlerin sindirilebilirliğinin *in vitro* olarak değerlendirilmesi, alternatif protein kaynakları seçiminde yardımcı olan pH-stat yöntemi ile sağlanabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda pH-stat yöntemi kullanılarak mikroyemlerin hidroliz dereceleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra mikro yemlerin yavruların proteaz aktivitesi üzerine inhibisyonları da tespit edilmiştir.

Fernández Gimenez vd. (2009b), *A. longinaris* için (Crustacea, Penaeidae) formüle yemlerin *in vivo* ve *in vitro* protein sindirilebilirliğini inceledikleri çalışmalarında, balık unu yemi en yüksek sindirilebilirliği sunmuştur (%92). Et ve kemik unu yemleri için orta düzeyde sindirilebilirlik (%83) bulunmuş, daha az sindirilebilir yem (%63) soya unu ve kalamar proteinleri içeren yem olmuştur.

Chamchuen vd. (2014), *P. pelagicus*'un gelecekteki yem formülasyonu için bilgi sağlanması amacıyla farklı yem hammaddelerinde proteinin *in vitro* sindirilebilirliğini, *P. pelagicus*'un farklı büyüme aşamalarından elde edilen ham enzim özütleri kullanarak incelemiştir. Çalışmalarında çeşitli canlı yemler ve artemia pul yemi ve karides yemi test edilmiştir. *In vitro* sindirilebilirlik sonuçları, *P. pelagicus*'un larval dönem beslenmesinde en iyi seçimin artemia, rotifer ve moina'nın olduğunu, alternatif olarak karides yemi ve artemia pul yemi kullanılabilirliğini göstermiştir. Çalışmamızda ise karides yeminin, *A. leptodactylus* yavrularının proteaz aktivitesi üzerine inhibisyon etkisinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (%59.77-68.40). Alabalık yemi, karides yemine benzer bir etki göstermiş, en düşük inhibisyon değerleri ise bu çalışma kapsamında üretilen kerevit yeminden elde edilmiştir. Chamchuen vd.

(2014), ayrıca hammaddelerin protein içeriği ile *P. pelagicus*'un larva evrelerinden ham enzim özütleri kullanılarak *in vitro* protein sindirilebilirlik seviyeleri arasında bir ilişki bulunamadığını, ancak yetişkin aşamalarında hammaddelerin protein içeriği ile *in vitro* protein sindirilebilirlik seviyeleri arasında anlamlı bir ilişkinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle, yemdeki proteinlerin sindirilebilirlik kalitesinin larva aşamalarında çok önemli olduğu, protein seviyelerinin de, sindirim enzimlerinin tam olarak geliştiği yetişkin aşamalarında daha önemli olduğu sonucuna varmışlardır. Bir başka çalışmada pembe karides (*Farfantepenaeus paulensis*) yavruları için farklı yem hammaddeleri ve ticari karides yemleri test edilmiş olup, karides yeminde ana bir bileşen olarak kullanılan soya ununun sindirilebilirliği azaltığı ve *F. paulensis* için yüksek derecede inhibisyon etki gösterdiği belirtilmiştir (Lemos vd., 2004).

Yapılan çalışmaların sonuçları, yem hammaddelerinin ve yemlerin inhibe etkileri ve protein hidroliz oranlarında farklılıkların olduğunu göstermiştir. Bu farklılıklar, türlerin farklı beslenme fizyolojilerine sahip olması, yine türe özgü gelişimlerine bağlı olarak farklı dönemlerde farklı sindirim enzimlerinin salgılanması hatta enzim aktiviteleri miktarındaki farklılıklardan dahi kaynaklanabilmektedir. Ayrıca yemlerin biyokimyasal kompozisyonları, yemin içeriğindeki hammaddenin protein kalitesi, bitkisel kaynaklı hammaddelerin sindirim etkinliğini azaltan antinutrisyonel faktörler içermesi de etkili olmaktadır.

Neticede, mikroyemler her ne kadar *in vitro* teknikler ile test edilip, olumlu sonuçlar alınan hammaddelerin formülasyonda kullanımı ile oluşturulmuş olsa da, bu hammaddelerin ve diğer yem bileşenlerin bir arada kullanımı durumunda olası etkilerinin değerlendirilmesi daha sağlıklı sonuçların elde edilmesi bakımından önemlidir.

Sonuç olarak, *A. leptodactylus* türünde embriyonik gelişme evreleri ve yumurtadan çıkıştan itibaren VI. dönem dahil olmak üzere tüm yavru gelişme dönemlerindeki ontogenik gelişmeye bağlı enzim aktivitelerindeki değişimler ulusal ve uluslararası kapsamda yeni bir çalışma verisi olup, gelecek çalışmalara ışık tutabilecek önemli bir araştırma kaynağı olabilecektir.

Çalışmanın sonuçları, *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki sindirim enzimi aktivitelerinin embriyonun gelişmesine bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Proteaz aktivitesi evre VIII (mandibul oluşumlu embriyo) ve XIV (posterior hepatopankreas loblarının iyi gelişmiş embriyo) iki tepe değeri gözlenmiştir. Tripsin aktivitesi embriyonik gelişmenin ortalarına kadar genel olarak yüksek seviyelerde seyretmiş ve düzensiz kalp atışlarının görüldüğü evre (evre XII) ve posterior hepatopankreas loblarının gelişiminin ilerlediği evrede (evre XIV) tepe değerlere ulaşmıştır. Alkalın fosfataz aktivitesi embriyonik gelişmenin sonlarına kadar düşük seviyelerde dalgalanmalar göstermiş evre XIII (göz pigmentleri gelişmiş embriyo) ve XIV'te yüksek seviyelere ulaşmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişme evrelerindeki sindirim enzimi aktivite modellerinin organogenez ve fizyolojik fonksiyonlarla ilişkili olduğunu göstermektedir.

A. leptodactylus'un farklı embriyonik evrelerindeki sindirim enzim aktiviteleri hakkında elde edilen bu bilgiler, embriyoların ve erken dönem larvaların besin gereksinimlerinin anlaşılması için önemli bilgiler sağlayabilir ve dolayısıyla maternal kültür teknolojisinin yönlendirilmesine katkıda bulunabilir.

Diğer kerevit türlerinde olduğu gibi yumurta sarısı proteini *A. leptodactylus*'un embriyonik gelişmesi sırasında hem yapısal bileşenler hem de enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, *A. leptodactylus*'un maternal kültüründe yemin, embriyogenez için yeterli protein sağlayacak şekilde yüksek bir protein içeriğine sahip olması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında *A. leptodactylus* yavrularının farklı gelişme dönemlerindeki (I-VI. dönem) sindirim enzim aktiviteleri incelenmiş, ontogenik gelişmeye bağlı enzim aktivitelerindeki değişimler ortaya konulmuştur. Çalışmada, yavruların dışardan beslenmeye başlamadan önce enzim aktivitelerinin nisbeten yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. Bu sonuç, kırmızı bataklık kereviti *P. clarkii* (Hammer vd., 2000) türünde olduğu gibi, *A. leptodactylus*'un sindirim yeterliliğinin, beslenmeye başlamadan önce elde edildiğini göstermektedir.

Çalışmanın sonuçlarına göre, proteaz aktivitesinin *A. leptodactylus* yavrularının dışarıdan beslenmeye başladığı dönemden itibaren gelişmeye bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu, yavrularının dışardan beslenmeye başladığı dönemden itibaren yüksek proteinli besinlere ihtiyaç duyduklarını göstermektedir. Bu nedenle *A. leptodactylus* türü ile gelecekte yapılacak çalışmalarda hayatta kalma ve büyüme performansının etkin olması için protein oranı yüksek yemlerin kullanılması tavsiye edilebilir.

Bu çalışma sonuçlarına göre yavruların gelişme dönemlerindeki besin ihtiyaçlarını karşılayabilecek en uygun hammaddeler *in vitro* tekniklerle test edilerek proteaz inhibisyon değerlerine göre ortaya konulduğundan üretilecek olan yem formülasyonunda bu uygun hammaddelerin kullanılması yararlı olacaktır. Buna göre yem formülasyonunda kullanılması önerilen hayvansal kaynaklı protein hammaddeleri; gammarus, balık hidrolizatu, ithal balık unu, kalamar ve krill unu'dur, yine önerilecek bitkisel kaynaklı protein hammaddeleri ise buğday ve mısır gluteni ve buğday unu'dur. Özellikle proteaz katkısı sağlaması nedeniyle gammarusun yem formülasyonun da mutlaka yer alması önerilir.

Mikro yemlerin sindirilebilirliğinin yüksek olması ve yavruların enzimatik gelişimlerini olumsuz yönde etkilememesi gerekmektedir. Bu nedenle mikro yem formülasyonuna girecek tüm hammaddelerin yavruların proteaz aktiviteleri üzerindeki etkileri bireysel olarak değerlendirilmelidir. Yem formülasyonunda enzimatik aktiviteleri olumsuz yönde etkilemeyen hammadde kaynakları tercih edilmelidir.

Mikroyem içeriği, her ne kadar yavruların enzimatik aktivitelerini olumsuz yönde etkilemeyen hammaddelerden oluşturulmuş olsa da, bu hammaddelerinin ve diğer yem bileşenlerinin bir arada kullanımını olumlu ya da olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Bu nedenle üretilen mikro yemin de yavrulara verilmeden önce *in vitro* tekniklerle değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

Ayrıca, *in vitro* tekniklerle türe özgü üretilen mikroyemlerin *in vivo* koşullarda çalışılarak desteklenmesi gerekmektedir. Besleme çalışmaları, her ne kadar yorucu ve zaman alıcı olsa da yetiştiricilikte yemlerin performansının canlı üzerinde denenmesi

en güvenilir yöntemdir. Bu nedenle *in vitro* tekniklerle elde edilen sonuçların *in vivo* koşullarda test edilmesi fayda sağlayacaktır.

Kritik dönem olarak adlandırılan II. yavru dönemini de kapsayan ve büyümenin en hızlı olduğu gelişme dönemlerinde (II-VI) kerevit yetiştiriciliğinde kullanılacak mikro yemlerin formülasyonundaki protein oranının ya da uygun hammaddelerin öneminin yanı sıra yem kalitesi, besin madde kompozisyonlarının homojenliği ve yem partikül büyüklüğünün önemi de bu çalışma ile daha net anlaşılmıştır. Kerevitler yüzme kabiliyeti bulunmayan dipte yürüyebilen canlılardır ve beslenmeye başlaması balıklardan farklı olarak biraz zaman almakta, güvenli bir hissiyat sonrasında bu adıma geçebilmektedir. Bu nedenle yavruların verilen yemi alabilmeleri için biraz zaman gerekmekte ve etkin bir besleme sağlanabilmesi için de yemin dibe bataabilen özellikte olması, zaman dilimlerinde fiziksel bozulmalara mukavim olması gerekmektedir. Başka bir deyişle mikro yem üretimindeki tekniklerin uygulaması aşamasında canlının bu özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır.

Üretilecek olan formüle kerevit yeminin boyutları da genel olarak yetiştiricilik prensiplerine paralel olarak yavruya uygun bir boyutta ve biçimde olmalı, yavru büyüdükçe yem boyutları büyütülmelidir. Kerevitler dipten beslenen ve balıklardan yine farklı olarak ikinci yürüme bacaklarının ucundaki minik kısıkaçlar ile yemlerini tutarak ağızlarına götürüp beslenebilen eklem bacaklı canlılardır. Bu nedenle yem boyutu tutabilecekleri bir büyüklükte olmalıdır. Bu yüzden bu çalışmada II-VI. gelişim dönemlerinde kerevit yavrularının beslenmesinde 3 farklı boyutta yem kullanılmıştır. Başlangıç döneminde 300-500 μ (II. dönem yavrular için), sonraki dönem de 500-800 μ (III. dönem yavrular için) ve IV. dönemden itibaren de 800-1200 μ (IV. V. ve VI. dönem yavrular için) boyutlarında partikül şeklinde yemler kullanılmış ve verilen yemin kerevitler tarafından kolaylıkla alınabildiği gözlenmiştir. Bu nedenle tamamen toz şeklindeki yemler kerevit yavruları için uygun görülmemektedir.

Yapılan çalışmalarda erken dönem yavru beslemede kullanılan canlı yemlerin enzimatik aktivitelere katkı sağladığı, özellikle yavru sindiriminde canlı yemlerden gelen eksojen enzimlerin önemli rolünün olduğu ortaya konmuştur. Hatta canlı yemle ve kombine yem (artemia+karma yem) ile beslenen larvaların yüksek enzim aktiviteleri sergilediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde yüksek

enzim aktiviteleri gözlenmiş olup, bunun beslemede canlı yemlerin (tatlısu rotiferi, artemia, daphnia, chironomid larvaları) kombine olarak kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu sonuca dayanarak, II-VI. dönem kerevit yavru yetiştiriciliğinde en uygun formülasyon ile üretilmiş partikül yemlerle beslemede tatlısu rotiferi, artemia, daphnia, chironomid larvalarının yeme ilave olarak verilmesi hem enzimatik katkı sağlaması hem de hayatta kalma ve büyüme-gelişme açısından gerekli görülmektedir.

Literatür bilgilerinden de anlaşıldığı üzere stres faktörü de enzim aktivitelerinde farklılıklara neden olabilmektedir. Hangi tür olursa olsun kültür koşullarında en büyük sorunlardan biri strestir. Kültür ortamında türün gereksinim duyduğu optimum koşulların sağlanması stres faktörlerini minimize edebilmekte ve canlının beslenme aktivitesini artırabilmektedir. Bu nedenle kerevit erken dönem yavru yetiştiriciliğinde ortam şartlarının optimum tutulması, tüm yetiştiricilik prensiplerinde olduğu gibi hayvan refahına önem verilmesi, bol barınak sağlanarak rahat ve güvende bir ortam hazırlanması, kanibalizmi tetiklememek için yem miktarı dahil her türlü rekabet unsurlarından kaçınılması ve yavruları huzursuz edecek müdahalelerden uzak durulması önerilmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada izlenen metodoloji larval dönem beslenmesinde problem yaşanan diğer alternatif türler için iyi bir model teşkil etmiş ve uygulanabilir bir yaklaşım sunmuştur. Dolayısıyla, alternatif türler için uygun yem hammaddelerinin belirlenerek ideal mikro yemlerin formüle edilmesi ile larval dönemdeki beslenme sorunlarına çözüm getirebilmesi ve bu türlerin kültüre alınabilirliğine imkan tanınması açısından yetiştiricilik sektörüne ekonomik katkı sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

- Acar, E., Bahadır Koca, S., Naz, M., Koşkan, M. & İlhan, İ. (2018). Eğirdir Gölü'nden tatlısu ıstakozu (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823)'nun sindirim enzim aktivitelerinin mevsim, büyüklük ve cinsiyete bağlı olarak değişimi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 14(1),1–8. <https://doi.org/10.22392/egirdir.370760>
- Alarcón, F.J., Moyano, F.J., Díaz, M., Fernández–Díaz, C. & Yúfera, M. (1999). Optimization of the protein fraction of microcapsules used in feeding of marine fish larvae using *in vitro* digestibility techniques. *Aquaculture Nutrition*, 5(2), 107–113. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1999.00093.x>
- Alarcón, F.J., Oña, C., Díaz, M., García-Carreño, F.L., Moyano, F.J. & Navarrete del Toro, M.A. (2007). The effect of proteinase inhibitors in food protein hydrolysis by digestive proteinases of white shrimp (*Penaeus vannamei*) larvae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(1), 120–126. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2686>
- Alderman D.J. & Wickins, J.F. (1990). *Crayfish Culture*. Ministry of Agriculture, Fisheries & Food Directorate of Fisheries Research, Laboratory Leaflet, No:62, 22.
- Alpbaz, A. (1993). *Kabuklu ve Eklembacaklılar Yetiştiriciliği*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Basımevi.
- Alpbaz, A. (2005). *Su Ürünleri Yetiştiriciliği*. Alp Yayınları, İzmir.
- Anson, M.L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of General Physiology*, 22(1), 79–89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>
- AOAC, (2000). AOAC Official Method 940.25 Nitrogen (Total) in Seafood. First Action 1940, Official Methods of Analysis of AOAC International 17th Edition, Maryland.
- Aydın, H. (1992). *Farklı Yemlerle Beslenen Kerevit (Astacus leptodactylus Esch, 1823) yavrularının Büyüme Oranlarının Karşılaştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Bahadır Koca, S., Yiğit, N.Ö. & Eralp, H. (2013). Embryonic and postembryonic development of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 9(1), 21–30.
- Bahadır Koca, S., Naz, M. & Acar, E. (2018). Changes in digestive enzyme activities during different developmental stages of the crayfish *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Indian Journal of Fisheries*, 65(2), 129–132. <http://dx.doi.org/10.21077/ijf.2018.65.2.70290-17>

- Balık, İ., Çubuk, H., Özkök, R. & Uysal, R. (2005). Some biological characteristics of crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) in lake Eğirdir. *Turkish Journal of Zoology*, 29(4), 295–300.
- Bessey, O.A., Lowry, O.H. & Brock, M.J. (1946). A method for the rapid determination of alkaline phosphates with five cubic millimeters of serum. *Journal of Biological Chemistry*, 164, 321–329.
- Biesiot, P.M. (1986). *Changes in midgut gland morphology and digestive enzyme activities associated with development in early stages of the American lobster Homarus americanus*. (Ph.D. Dissertation, Massachusetts Institute of Technology, Woods Hole Oceanographic Institution)
- Biesiot, P.M. & Capuzzo, J.M. (1990). Changes in digestive enzyme activities during early development of the American lobster *Homarus americanus* Milne Edwards. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 136(2), 107–122. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(90\)90190-N](https://doi.org/10.1016/0022-0981(90)90190-N)
- Bligh, E.G. & Dyer, J. (1959). A rapid method of total extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/y59-099>
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brito, R., Rosas, C., Chimal, M. E. & Gaxioia, G. (2001). Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early post-larvae. *Aquaculture Research*, 32(4), 257–266. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00548.x>
- Calvo, N., Stumpf, L., Sacristán, H.J. & López Greco, L.S. (2013). Energetic reserves and digestive enzyme activities in juveniles of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* nearby the point-of-no-return. *Aquaculture*. 416–417, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.017>
- Carral, J.M., González, Á., Celada, J.D., Sáez-Royuela, M., García, V., & González, R. (2011). Proposal of a practical diet for juvenile astacid crayfish studies from the onset of exogenous feeding under controlled conditions. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 401, 201–208. <https://doi.org/10.1051/kmae/2011034>
- Carrillo-Farnés, O., Forrellat-Barrios, A., Guerrero-Galván, S. & Vega-Villasante, F. (2007). A review of digestive enzyme activity in penaeid shrimps. *Crustaceana*, 80(3), 257–275. <http://doi.org/10.1163/156854007780162424>
- Ceccaldi, H.J. (1998). A synopsis of the morphology and physiology of the digestive system of some crustacean species studied in France. *Reviews in Fisheries Science*, 6(1-2), 13–39. <https://doi.org/10.1080/10641269891314177>

- Celada, J.D., Gaudioso, V.R. & Fernandez, R. (1987). Embryonic development of the freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana): a scanning electron microscopic study. *The Anatomical Record*, 219(3), 304–310. <https://doi.org/10.1002/ar.1092190311>
- Celada, J.D., Carral, J.M. & Gonzales, J. (1991). A study on the identification and chronology of the embryonic stages of the freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858). *Crustaceana*, 61(3), 225–232. <https://doi.org/10.1163/156854091X00119>
- Celada, J.D., Fuertes, J.B., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, A. & González-Rodríguez, A. (2013). Effects of vitamin C inclusion in practical diets on survival and growth of juvenile crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana, Astacidae) from the onset of exogenous feeding. *Aquaculture Nutrition*, 19(1), 110–116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00949.x>
- Chamchuen, P., Pratoomchat B., Engkakul A., Kovitvadi U. & Rungruangsak-Torrissen K. (2014). Development of enzymes and *in vitro* digestibility during metamorphosis and molting of blue swimming crab (*Portunus pelagicus*). *Journal of Marine Biology*, 2014, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2014/436789>
- Chen, J., Chen, C., & Tan, Q. (2018). Ontogenic changes in the digestive enzyme activities and the effect of different starvation duration on the digestive enzyme activities of larval red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture research*, 49(2), 676–683. <https://doi.org/10.1111/are.13497>
- Coccia, E., Varricchio, E. & Paolucci, M. (2011). Digestive enzymes in the crayfish *Cherax albidus*: polymorphism and partial characterization. *International Journal of Zoology*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/310371>
- Conceição, L.E.C., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S. & Dinis, M.T. (2010). Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 41(5), 613–640. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02242.x>
- Crandall, K.A. & Buhay, J.E. (2008). Global diversity of crayfish (Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595(1), 295–301. <http://doi.org/10.1007/s10750-007-9120-3>
- Crawford, A.C. Richardson, N.R. & Mather, P.B. (2005). A comparative study of cellulase and xylanase activity in freshwater crayfish and marine prawns. *Aquaculture Research*, 36(6), 586–592. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01259.x>
- D'Abramo, L.R. & Sheen, S.S. (1994). Nutritional requirements, feed formulation, and feeding practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Reviews in Fisheries Science*, 2(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/10641269409388551>
- D'Abramo, L. (2002). *Challenges in developing successful formulated feed for culture of larval fish and crustaceans*. Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias

del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, 3–6 September, Cancún, 143–151.

- Dai, Y., Wang, T.T., Wang, Y.F., Gong, X.J. & Yue, C.F. (2009). Activities of digestive enzymes during embryonic development in the crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda). *Aquaculture Research*, 40(12), 1394–1399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02237.x>
- Dammannagoda, L.K. (2014). *An investigation of functional diversity of endogenous cellulase and expression of other digestive enzyme genes in freshwater crayfish (Cherax) species*. (Ph.D Thesis, Queensland University of Technology)
- Dammannagoda, L.K., Pavasovic, A., Hurwood, D.A. & Mather, P. B. (2015). Effects of soluble dietary cellulose on specific growth rate, survival and digestive enzyme activities in three freshwater crayfish (*Cherax*) species. *Aquaculture Research*, 46(3), 626–636. <https://doi.org/10.1111/are.12209>
- Díaz, A.C., Fernández Gimenez, A.V., Velurtas, S.M. & Fenucci, J.L. (2008). Ontogenetic changes in the digestive system of *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea). *Invertebrate Reproduction & Development*, 52(1-2), 1–12. <https://doi.org/10.1080/07924259.2008.9652266>
- Diler, Ö., Diler, A., Özen, R., Kuşat, M., Altun, S., Demir, O., Kubilay, A., Bolat, Y., Gümüş, E., Işıklı, B. & Aybal, N. (2004). Eğirdir Gölü Tatlısu İstakozlarından (*Astacus leptodactylus salinus* Nordman 1842) yavru üretimi, S.D.Ü. Eğirdir Su Ürün. Fakültesi proje sonuç raporu. DPT Proje No: 2001 K1 21 150.
- Diler, Ö. (2013). *Tatlısu İstakozu Üretimi*. Nobel Yayınevi.
- Dimes, L.E. & Haard, N.F. (1994). Estimation of protein digestibility–I. Development of an in vitro method for estimating protein digestibility in salmonids (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 108(2-3), 349–362. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(94\)90106-6](https://doi.org/10.1016/0300-9629(94)90106-6)
- Dinçkaya, E. (1997) *Enzimolojiye Genel Bakış*. Enzimoloji Lisansüstü Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Basımevi.
- Doğan, G. (2012). *Sentetik lizin ve metiyonin ile desteklenmiş fındık küspesi içeren yemlerin gökkuşaağı alabalığının (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792) gelişmesi üzerine etkileri*. (Doktora Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Erdem, M. (1993). *Eğirdir Gölü kerevitlerinden (Astacus leptodactylus salinus Nordman, 1842) yapay olarak elde edilen yavruların yaşama oranlarının tesbiti üzerine bir araştırma*. (Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Erol, K.G., Özkök, R., Diler, Ö., Cilbiz, N., Küçükkara, R., Çınar, Ş., Ceylan, M., Didinen B.I., Tümgelir, L., Meke, T. & Bahadır Koca, S. (2011). Kültür Ortamında Yetiştirilen Kerevit Yavrularının Yaşama Oranlarının Artırılması.

Egirdir Su ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Proje Sonuç Raporu, Tagem/Haysüd/32132, 207s.

- Erol, K.G., Özkök, R., Cilbiz, N., Küçükkara, R., Çınar, Ş., Tümgelir, L., Ceylan, M., Meke, T., Diler, Ö., Didinen, B.I. & Bahadır Koca, S. (2017). Effect of different feed and stocking density on survival and growth performance of *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) juveniles. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 3(3), 159–165. <https://doi.org/10.17216/limnofish.304140>
- Ezquerro, J.M., García-Carreño, F.L., Civera, R. & Haard, N.F. (1997). pH-stat method to predict protein digestibility in white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 157(3-4), 251–262. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00058-6)
- Fair, P.H., Fortner, A.R., Millilin, M.R. & Sick, L.V. (1980). Effects of dietary fiber on growth assimilation and cellulase activity of the prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Proceedings of the World Mariculture Society*, 11(1-4), 369–381. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1980.tb00131.x>
- Fang, L.S. & Lee, B.N. (1992). Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaeus monodon*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 103B(4), 1033–1037. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90234-1](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90234-1)
- Fernández Gimenez, A.V., García-Carreño, F.L., Navarrete del Toro, M.A. & Fenucci, J.L. (2001). Digestive proteinases of red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): partial characterization and relationship with molting. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 130(3), 331–338. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00437-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00437-7)
- Fernández Gimenez, A.V., García-Carreño, F.L. Navarrete del Toro M.A. & Fenucci, J.L. (2002). Digestive proteinases of *Artemesia longinaris* (Decapoda, Penaeidae) and relationship with molting. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 132(3), 593–598. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(02\)00080-5](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(02)00080-5)
- Fernández Gimenez, A.V., Díaz, A.C., Velurtas, S.M. & Fenucci, J.L. (2009a). Partial substitution of fishmeal by meat and bone meal, soybean meal, and squid concentrate in feeds for the prawn, *Artemesia longinaris*: effect on digestive proteinases. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 61, 48–56.
- Fernández Gimenez, A.V., Díaz, A.C., Velurtas, S.M. & Fenucci, J.L. (2009b). *In vivo* and *in vitro* protein digestibility of formulated feeds for *Artemesia longinaris* (Crustacea, Penaeidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(6), 1379–1386. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000600009>
- Fernández Gimenez, A.V. (2013). Digestive physiology of three species of decapoda crustaceans of Argentina. *Journal of Shellfish Research*, 32(3), 767–777. <https://doi.org/10.2983/035.032.0320>

- Figueiredo, M.S.R.B., Krickler, J.A. & Anderson, A.J. (2001). Digestive enzyme activities in the alimentary tract of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 21(2), 334–344. <https://doi.org/10.1163/20021975-99990133>
- Figueiredo, M.S.R.B. & Anderson, A.J. (2003). Ontogenetic changes in digestive proteases and carbohydrases from the Australian freshwater crayfish, redclaw *Cherax quadricarinatus* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Aquaculture Research*, 34(13), 1235–1239. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00929.x>
- Fiore, D.R. & Tlustý, M.F. (2005). Use of commercial *Artemia* replacement diets in culturing larval American lobsters (*Homarus americanus*). *Aquaculture*, 243(1-4), 291–303. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.009>
- Fuertes, J.B., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M. & González-Rodríguez, A. (2012). Effects of dietary protein and different levels of replacement of fish meal by soybean meal in practical diets for juvenile crayfish (*Pacifastacus leniusculus*, Astacidae) from the onset of exogenous feeding. *Aquaculture*, 364-365, 338-344. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.050>
- Galgani, F.G., Renyamin, Y. & Ceccaldi, H.J. (1984). Identification of digestive proteinases of *Penaeus kerathurus* (Forskål): A comparison with *Penaeus japonicus* Bate. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 78(2), 355–361. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(84\)90043-9](https://doi.org/10.1016/0305-0491(84)90043-9)
- Galgani, F.G. & Benyamin, Y. (1985). Radioimmunoassay of shrimp trypsin: application to the larval development of *Penaeus japonicus* Bate, 1888. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 87(2), 145–151. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(85\)90087-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(85)90087-5)
- Gamboa-Delgado, J., Molina-Poveda, C. & Cahu, C. (2003). Digestive enzyme activity and food ingesta in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. *Aquaculture Research*, 34(15), 1403–1411. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2003.00959.x>
- Gamsız, K. & Alpbaz, G.A. (2006). Çipura (*Sparus aurata* L., 1758) larva yetiştiriciliğinde mikrokapsül yemler kullanılarak *Artemia* (*Artemia salina* L., 1758) kullanımının azaltılması. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23, 101–106.
- García-Carreño, F.L. (1996). Proteinase inhibitors. *Trends in Food Science & Technology*, 7(6), 197–204. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10023-6](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10023-6)
- García-Carreño, F.L., del Toro, N. & Ezquerro, J.M. (1997). Digestive shrimp proteases for evaluation of protein digestibility *in vitro*. I: Effect of protease inhibitors in protein ingredients. *Journal of Marine Biotechnology*, 5, 36–40.
- García-Guerrero, M., Racotta, I. & Villarreal, H. (2003). Variation in lipid, protein and carbohydrate content during the embryonic development of the crayfish

Cherax quadricarinatus (Decapoda: Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 23(1), 1–6. <https://doi.org/10.1163/20021975-99990308>

Geldiay, R. & Kocataş, A. (1970). Türkiye *Astacus* (Decapoda) Populasyonlarının Dağılışı ve Taksonomik Tespiti. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Raporlar Serisi, No:94, 3-12.

Genodepa, J., Southgate, P.C. & Zeng, C. (2004). Diet particle size preference and optimal ration for mud crab, *Scylla serrata*, larvae fed microbound diets. *Aquaculture*, 230(1-4), 493–505. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.009>

Gomez, D.G., Nakagawa, H. & Kasahara, S. (1988). Effect of dietary protein/starch ratio and energy level on growth of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 54(8), 1401–1407. <https://doi.org/10.2331/suisan.54.1401>

Gomez Diaz, G. & Nakagawa, H., (1990). Effects of dietary carbohydrates on growth and body components of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquatic Living Resources*, 3(2), 99–105. <https://doi.org/10.1051/alr:1990009>

González-Baró, M.R., Heras, H. & Pollero, R.J. (2000). Enzyme activities involved in lipid metabolism during embryonic development of *Macrobrachium borellii*. *Journal of Experimental Zoology*, 286(3), 231–237. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(20000215\)286:3%3C231::AID-JEZ2%3E3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(20000215)286:3%3C231::AID-JEZ2%3E3.0.CO;2-1)

González, Á., Celada, J.D., Sáez-Royuela, M., González, R., Carral, J.M. & García, V. (2012). Response of juvenile astacid crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) to three commercial dry diets with different protein levels during the first 6 months of intensive rearing. *Aquaculture Research*, 43(1), 99–105. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02808.x>

Gözükara, E.M. (1997). *Biyokimya 2*, Nobel Tıp Kitabevi.

Guzman, C., Gaxiola, G., Rosa, C. & Torre-Blanco, A. (2001). The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 7(2), 113–122. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2001.00161.x>

Güner, Ö. (2009). *Protein Seviyeleri Farklı Yemlerin Yavru Tatlısu Kerevitlerinin (Astacus leptodactylus Eschscholtz, 1823) Büyümeleri, Yaşama Oranları ve Vücut Kompozisyonları Üzerine Etkileri*. (Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)

Hammer, H.S., Bishop, C.D. & Watts, S.A. (2000). Activities of three digestive enzymes during development in the crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda). *Journal of Crustacean Biology*, 20(4), 614–620. <https://doi.org/10.1163/20021975-99990084>

- Harlioğlu, M.M. (2004). *Tatlı Su İstakozu Yetiştiriciliği* (Ders Kitabı). Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 86s.
- Harlioğlu, M.M. & Barım, Ö. (2004). The effect of dietary vitamin E on the pleopodal egg and stage-1 juvenile numbers of freshwater crayfish *A. leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Aquaculture*, 236, 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.022>
- Harlioğlu, M.M., Barım, Ö., Türkgülü, İ. & Harlioğlu A.G. (2004). Potential fecundity of an introduced population, Keban Dam Lake, Elazığ, Turkey, of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* (Esch., 1852). *Aquaculture*, 230(1-4), 189–195. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00430-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00430-7)
- Harlioğlu, M.M., (2008). The harvest of the freshwater crayfish *A. leptodactylus* Eschscholtz in Turkey: harvest history, impact of crayfish plague, and present distribution of harvested populations. *Aquaculture International*, 16(4), 351–360. <http://doi.org/10.1007/s10499-007-9145-7>
- Holdich, D.M. (2002). *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science, Oxford, 702 pp.
- Holme, M., Zeng, C. & Southgate, PC. (2009). A review of recent progress toward development of a formulated microbound diet for mud crab, *Scylla serrata*, larvae and their nutritional requirements. *Aquaculture*, 286(3-4), 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.021>
- Huner, J.V. (1994). *Freshwater Crayfish Aquaculture in North America, Europe and Australia: Families Astacidae, Cambaridae and Parastacidae*. Haworth press Inc. Binghamton, New York.
- Johnston, D.J. (2003). Ontogenetic changes in digestive enzyme activity of the spiny lobster, *Jasus edwardsii* (Decapoda; Palinuridae). *Marine Biology*, 143(6), 1071–1082. <http://doi.org/10.1007/s00227-003-1154-0>
- Johnston, D., Ritar, A., Thomas, C. & Jeffs, A. (2004). Digestive enzyme profiles of spiny lobster *Jasus edwardsii* phyllosoma larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 275, 219–230. <http://doi.org/10.3354/meps275219>
- Johnston, D. & Freeman, J. (2005). Dietary preference and digestive enzyme activities as indicators of trophic resource utilization by six species of crab. *The Biological Bulletin*, 208(1), 36–46. <http://doi.org/10.2307/3593099>
- Jones, D.A. (1998). Crustacean larval microparticulate diets. *Review in Fisheries Science*, 6(1-2), 41–54. <https://doi.org/10.1080/10641269891314186>
- Kamarudin, M.S., Jones, D.A., Le Vay, L. & Abidin, A.Z. (1994). Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 123(3-4), 323–333. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90068-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90068-X)

- Kamarudin, M.S., Otoi, S. & Saad, C.R. (2011). Changes in growth, survival and digestive enzyme activities of Asian redbtail catfish, *Mystus nemurus*, larvae fed on different diets. *African Journal of Biotechnology*, 10(21), 4484–4493. <http://doi.org/10.5897/AJB09.1895>
- Kattakdad, S., Jintasataporn O., Worawattanamateekul, W. & Chumkam, S. (2018). pH characterization of digestive enzyme and *in vitro* digestibility of red bee shrimp *Caridina cantonensis* (Decapoda: Atyidae). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 9, 2–6. <http://doi.org/10.4172/2155-9546.1000522>
- Kozák, P., Buřič M., Kouba A. (2015). Reproduction and life cycle. In *Crayfish Biology and Culture*. (pp. 203-228).
- Köksal, G. (1984). Freshwater crayfish *Astacus leptodactylus salinus* (Nordmann, 1842) eggs and embryonic and post-embryonic development process studies. *Ege University Fisheries Faculty Journal*, 1:3.
- Köksal, G. (1988). *Astacus leptodactylus* in Europe. In *Freshwater Crayfish, Biology, Management and Exploitation*. (pp. 365-400).
- Köksal, G., Ölmez, M., Bekcan, S. & Güler, A. S. (1992). Doğal suların restorasyonu için tatlısu ıstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) yavru yetiştiriciliği. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 1, 1–16.
- Kumlu, M. (2001). *Karides, İstakoz, Midye Yetiştiriciliği*, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, No:6, Adana, 305s.
- Kuzmina, V.V. (1996). Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture*, 148(1), 25–37. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01370-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01370-1)
- Le Moullac, G., & Van Wormhoudt, A. (1994). Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fibre levels and influence of protein and carbohydrate quality in *Penaeus uannamei* larvae (Crustacea, Decapoda). *Aquatic living resources*, 7(3), 203-210.
- Lemos, D., Ezquerro, J.M. & García-Carreño, F.L. (2000). Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture*, 186(1-2), 89–105. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00371-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00371-3)
- Lemos, D., Navarrete del Toro, A., Córdova-Murueta, J.H. & Garcia-Carreño, F. (2004). Testing feeds and feed ingredients for juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: in vitro determination of protein digestibility and proteinase inhibition. *Aquaculture*, 239(1-4), 307-321. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.032>
- Le Moullac, G., Van Wormhoudt, A. & AQUACOP. (1994). Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fibre levels and influence of

protein and carbohydrate quality in *Penaeus uannamei* larvae (Crustacea, Decapoda). *Aquatic Living Resources*, 7(3), 203–210. <https://doi.org/10.1051/alr:1994022>

- Linton, S.M., Allardyce B.J., Hagen W., Wencke P. & Saborowski, R. (2009). Food utilisation and digestive ability of aquatic and semi-terrestrial crayfishes, *Cherax destructor* and *Engaeus sericatus* (Astacidae, Parastacidae). *Journal of Comparative Physiology B*, 179(4), 493–507. <http://doi.org/10.1007/s00360-008-0332-2>
- López-López, S., Nolasco, H. & Vega-Villasante, F. (2003). Characterization of digestive gland esterase–lipase activity of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 135(2), 337–347. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(03\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00087-3)
- López-López, S., Nolasco, H., Villarreal-Colmenares, H. & Civera Cerecedo, R. (2005). Digestive enzyme response to supplemental ingredients in practical diets for juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition*, 11(2), 79–85. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00305.x>
- Lovett, D.L. & Felder, D.L. (1990). Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biological Bulletin*, 178(2), 144–159. <https://doi.org/10.1002/jmor.1052010305>
- Luo, W., Zhao, Y.L. & Yao, J.J. (2008a). Biochemical composition and digestive enzyme activities during embryonic development of the redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Crustaceana*, 81(8), 897–915. <http://doi.org/10.1163/156854008x354939>
- Luo, W., Zhao, Y., Zhou, Z., An, C. & Ma, Q. (2008b). Digestive enzyme activity and mRNA level of trypsin in embryonic redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 26(1), 62–68. <http://doi.org/10.1007/s00343-008-0062-z>
- Mazlum Y. & Yılmaz, E. (2012). *Kerevitlerin Biyolojisi ve Yetiştiriciliği*. Mustafa Kemal Üniversitesi Yayınları, Color Ofset Yayıncılık.
- Muhlia-Almazán, A. & García-Carreño F.L. (2002). Influence of molting and starvation on the synthesis of proteolytic enzymes in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 133(3), 383–394. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(02\)00163-X](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(02)00163-X)
- NRC. (2011). *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. Animal Nutrition Series, National Research Council (NRC), National Academies Press.

- Nyström, P. (1994). Survival of juvenile signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) in relation to light intensity and density. *Nordic Journal of Freshwater Research*, 69, 162–166.
- Olsson, K. (2005). The Importance of Predation, Cannibalism and Resources for Production and Abundance of Crayfish. Introductory paper No. 164. Institute of Limnology, Lund University, Sweden, 46p.
- Özdamar, K. (2010). *PASW ile Biyoistatistik* (10. Basım). Eskişehir: Kaan Kitabevi.
- Özkök, R., Özkök, E., Erol, K.G., Çınar, Ş., Çetinkaya, S. & Cesur, M. 2006. Kerevit Üretimi ve Yetiştiriciliği Üzerine Bir Araştırma. Egirdir Su ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Proje Sonuç Raporu, TAGEM/HAYSÜD/2000/12/01/008, 89s.
- Pavasovic, M., Richardson, N.A., Anderson, A.J., Mann, D. & Mather, P.B. (2004). Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata*. *Aquaculture*, 242(1-4), 641–654. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.08.036>
- Pavasovic, A., Richardson, N.A., Mather, P.B. & Anderson, A.J. (2006). Influence of insoluble dietary cellulose on digestive enzyme activity, feed digestibility and survival in the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Aquaculture Research*, 37(1), 25–32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01389.x>
- Pavasovic, A., Anderson, A.J., Mather, P.B. & Richardson, N.A. (2007a). Effect of a variety of animal, plant and single cell-based feed ingredients on diet digestibility and digestive enzyme activity in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens 1868). *Aquaculture*, 272(1-4), 564–572. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.027>
- Pavasovic, A., Anderson, A.J., Mather, P.B. & Richardson, N.A. (2007b). Influence of dietary protein on digestive enzyme activity, growth and tail muscle composition in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Aquaculture Research*, 38(6), 644–652. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01708.x>
- Perera, E., Moyano, F.J., Díaz, M., Perdomo-Morales, R., Montero-Alejo, V., Alonso, E., Carrillo, O. & Galich, G.S. (2008). Polymorphism and partial characterization of digestive enzymes in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 150(3), 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.03.009>
- Perera, E. & Simon, C. (2014). Digestive physiology of spiny lobsters: implications for formulated diet development. *Reviews in Aquaculture*, 6, 1–19. <https://doi.org/10.1111/raq.12066>
- Puello-Cruz, A.C., Sangha, R.S., Jones, D.A. & Le Vay, L. (2002). Trypsin enzyme activity during larval development of *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed on

live feeds. *Aquaculture Research*, 33(5), 333–338.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00676.x>

Ribeiro, F.A.L.T. & Jones, D.A. (2000). Growth and ontogenetic change in activities of digestive enzymes in *Fennero Penaeus indicus* postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 6(1), 53-64. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2000.00132.x>

Rivera-Pérez, C., Navarrete del Toro, MA. & García-Carreño, FL. (2010). Digestive lipase activity through development and after fasting and re-feeding in the whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 300, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.030>

Saborowski, R., Thatje, S., Calcagno, J.A., Lovrich, G.A. & Anger, K. (2006). Digestive enzymes in the ontogenetic stages of the southern king crab, *Lithodes santolla*. *Marine Biology*, 149(4), 865–873. <http://doi.org/10.1007/s00227-005-0240-x>

Saborowski, R., Schatte, J. & Gimenez, L. (2012). Catalytic properties and polymorphism of serine endopeptidases from the midgut gland of the brown shrimp *Crangon crangon* (Decapoda, Caridea). *Marine Biology*, 159(5), 1107–1118. <http://doi.org/10.1007/s00227-012-1890-0>

Sacristán, H., Nolasco-Soria, H. & López Greco, L. (2014). Effect of attractant stimuli, starvation period and food availability on digestive enzymes in the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Parastacidae). *Aquatic Biology*, 23(1), 87–99. <http://doi.org/10.3354/ab00611>

Saoud, I., Garza de Yta, A. & Ghanawi, J. (2012). A review of nutritional biology and dietary requirements of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens 1868). *Aquaculture Nutrition*, 18(4), 349–368. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00925.x>

Scholtz, G. & Kawai, T. (2002). Aspects of embryonic and postembryonic development of the Japanese freshwater crayfish *Cambaroides japonicus* (Crustacea, Decapoda) including a hypothesis on the evolution of maternal care in the Astacida. *Acta Zoologica*, 83(3), 203–212. <https://doi.org/10.1046/j.1463-6395.2002.00113.x>

Serrano, A.E.J. & Traifalgar, R.F.M. (2012). Ontogeny and induction of digestive enzymes in *Scylla serrata* larvae fed live and artificial feeds or their combination. *AAFL Bioflux*, 5(3), 101-111.

Shan, X.J., Huang, W., Cao, L., Xiao, Z.Z., & Dou, S.Z. (2009). Ontogenetic development of digestive enzymes and effect of starvation in miiuy croaker *Miichthys miiuy* larvae. *Fish physiology and biochemistry*, 35(3), 385–398. <http://doi.org/10.1007/s10695-008-9263-9>

SPSS, (2014). IBM SPSS Advanced Statistics 23. Erişim Adresi: <ftp://public.dhe.ibm.com/software/analytics/spss/documentation/statistics/23>.

0/en/client/Manuals/IBM_SPSS_Advanced_Statistics.pdf (Son erişim tarihi: 18.12.2015)

- Süzer, C., Kamaci, H.O., Çoban, D., Saka, Ş., Firat, K., Özkara, B. & Özkara, A. (2007). Digestive enzyme activity of the red porgy (*Pagrus pagrus*, L.) during larval development under culture conditions. *Aquaculture Research*, 38(16), 1778–1785. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01841.x>
- Taugbol, T. & Skurdal, J. (1992). Growth mortality and moulting rate of noble crayfish, *Astacus astacus* L., juveniles in aquaculture experiments. *Aquaculture and Fisheries Management*, 23(4), 411–420. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1992.tb00785.x>
- Tian, H., Wang, Q., Zhao, Y., Luo, W. & Fan, Y. (2003). Digestive enzyme activities and amino acids composition during embryonic development of *Eriocheir sinensis*. *Journal of fishery sciences of China*, 10(5), 404–408.
- Tseng, H.C., Grendell, J.H. & Rothman, S.S. (1982). Food, duodenal extracts, and enzyme secretion by the pancreas. *American Journal of Physiology*, 243(4), G304–G312. <http://doi.org/10.1152/ajpgi.1982.243.4.g304>
- Ulikowski, D. & Krzywosz, T. (2004). The impact of photoperiod and stocking density on the growth and survival of narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch.) larvae. *Archives of Polish Fisheries*, 12 (1), 81–86.
- Valipour, A., Ozorio, ROA., Shariatmadari, F., Abedian, A., Seyfabadi, J. & Zahmatkesh, A. (2012). Effects of dietary lipid levels on growth, survival, and molting of yearling narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 24(4), 316–325. <https://doi.org/10.1080/10454438.2012.678784>
- Valipour, A., Nedaei, S., Noori, A., Khanipour A.A. & Hoseinifar S.H. (2019). Dietary *Lactobacillus plantarum* affected on some immune parameters, air-exposure stress response, intestinal microbiota, digestive enzyme activity and performance of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz). *Aquaculture*, 504, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.064>
- Vollenweider AR. (1974). *Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Enviroments*. Burges and Son Lmt., Oxford, 72p.
- Walter, H-E. (1984). Proteinases: Methods with haemoglobin, casein and azocoll as substrates. In *Methods of Enzymatic Analysis* (pp. 270–277).
- Yao, J., Zhao, Y., Wang, Q., Zhou, Z., Hu, X., Duan, X., & An, C. (2006). Biochemical compositions and digestive enzyme activities during the embryonic development of prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 253(1-4), 573–582. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.08.011>
- Yazıcıoğlu, B. (2012). *Farklı Oranlarda Astaksantin İlave Edilen Yemlerle Beslenen Tatlı Su Istakozunda (Astacus Leptodactylus, Esch, 1823) Pigmentasyon*,

Büyüme ve Yaşama Oranı Üzerine Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)

Yılmaz, E., Süzer, C., Naz, M., Mazlum, Y. & Demirci, A. (2011). Sparid Larvalarının Besinsel Sorunlarına Yeni Bir Yaklaşım: Enzimatik Gelişimlerin Sinagrit (*Dentex dentex*) Larva Kültüründe Değerlendirilmesi. Proje sonuç raporu (Proje no:1070730), 112s.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kamile Gonca EROL
Doğum Yeri ve Yılı : Acıpayam, 1973
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : gonca_erol@hotmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Isparta Sağlık Meslek Lisesi, 1992
Lisans : SDÜ, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi

Mesleki Deneyim

Ahlat Devlet Hastanesi 1992-1993
Eğirdir Kemik Hastalıkları Hastanesi 1993-2001
Muğla Tarım İl Müdürlüğü 2001-2002
Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü 2002-..... (halen)

Yayınlar

Uzunmehmetoğlu, O. Y., Buřič, M., Erol, K.G., Özkök, R., Çınar, Ş., & Kozák, P. (2019). Habitat separation of the crab *Potamon potamios* and the crayfish *Pontastacus leptodactylus* in Lake Eğirdir, Turkey. *Limnologica*, 125692. doi:10.1016/j.limno.2019.125692.

Erol, KG., Özkök, R., Cilbiz, N., Küçükkara, R., Çınar, Ş., Tümgelir, L., Ceylan, M., Meke, T., Diler, Ö., Didinen, B.I. & Bahadır Koca, S. (2017). Effect of different feed and stocking density on survival and growth performance of *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) juveniles. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 3(3), 159–165. doi:10.17216/limnofish.304140.

Didinen, B.I., Bahadır Koca, S., Metin, S., Diler, O., Erol, K.G., Dulluc, A., Koca, H.U., Yigit, N.O, Ozkok, R. & Kucukkara R. (2016). Effect of lactic acid bacteria and the potential probiotic *Hafnia alvei* on growth and survival rates

of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) stage II juveniles. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(4), 1307–1317.

Çınar Ş., Küçükpara R., Balık İ., Çubuk H., Ceylan M., Erol K.G., Yeğen V. & Bulut C. (2013). Uluabat (Apolyont) Gölü'ndeki balık faunasının tespiti, tür kompozisyonu ve ticari avcılığın türlere göre dağılımı. *Journal of FisheriesSciences.com*, 7(4), 309–316.

Koca, S.B., Yigit, ON., Dulluc, A., Erol, G., Cılbız, N. & Kucukkara R. (2011). Appropriate usage level of shrimp waste meal as chitin source for feeding young crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823). *Pakistan Veterinary Journal*, 31(3), 207-210.

Erol, K.G., Özkök, R., Küçükpara, R. & Çınar, Ş. (2010). Tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) yetiştiriciliğinde yavru dönemde muhtemel ölüm nedenleri. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(2), 23–30.

Çınar, Ş., Küçükpara, R., Ceylan, M., Çubuk, H., Erol, K.G., Akçimen, U. & Savaşer, S. (2008). Uluabat Gölü'ndeki kıızıkanat (*Scardinius erythrophthalmus* L., 1758) populasyonu'nun büyüme parametrelerinin araştırılması. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 25(4), 289–293.

Tümgelir, L., Çubuk, H., Çınar, Ş., Özkök, R., Küçükpara, R., Ceylan, M., Erol, K.G. & Çetinkaya, S. (2007). Beyşehir Gölü'ndeki tatlısu kefali (*Leuciscus lepidus* heckel, 1843) populasyonunun büyüme özellikleri. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3-5, 5-8, 200–208.

Çınar, Ş., Çubuk, H., Özkök, R., Tümgelir, L., Çetinkaya, S., Erol, K.G. & Ceylan, M. (2007). Beyşehir Gölü'ndeki gümüşü havuz balığı (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) populasyonunun büyüme özellikleri. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3-5, 5-8, 401–409.

Özkök, R., Çubuk, H., Tümgelir, L., Uysal, R., Çınar, Ş., Küçükpara, R., Erol, K.G. & Ceylan, M. (2007). Eğirdir Gölündeki gümüşü havuz balığı (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) populasyonunun büyüme özellikleri, *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3-5, 5-8, 313–322.

Çubuk, H., Balık, İ., Çınar, Ş., Özkök, R., Tümgelir, L., Küçükpara, R., Erol, K., Uysal, R. & Yağcı, M. (2007). Eğirdir Gölü balıkçılığında son durum. *Turkish Journal of Aquatic Life*. 3-5, 5-8, 182–188.

Erol, KG., Özkök, R., Didinen, BI., Bahadır Koca, S. & Çınar, Ş. (2018). *The Effect of Different Photoperiods on the Growth and Survival of Narrow-Clawed Crayfish (Astacus leptodactylus, Esch., 1823) Juveniles*. 13th International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, ISBN: 978-605-68894-0-0, November 23-27, Ankara, Turkey.

Özkök, R., Erol, K.G. & Uzunmehmetoglu, O.Y. (2017). *Share of in Fishery Production of Crustacean in Turkey and World*. I st International Symposium

on Limnology and Freshwater Fisheries, 4-6 October 2017, Eğirdir-Isparta/Turkey.

Erol, K.G., Özkök, R., Veske, E., Uzunmehmetoglu, O.Y. & Çınar, Ş. (2017). *Crayfish Research Center in Turkey*. European Crayfish Conference 2017: The IAA Cruise 2017, 16-18 August 2017, Finland.

Özkök, R., Erol, K.G., Uzunmehmetoğlu, O.Y. & Çınar, Ş. (2017). *The Status of Indigenous Crayfish Species, Astacus leptodactylus (Eschscholtz, 1823) In Turkey*. European Crayfish Conference 2017: The IAA Cruise 2017, 16-18 August 2017, Finland.

Erol, K.G. (2014). *Inland Fish Hatchery Management in Turkey*. CACFish regional workshop Inland Fish Hatchery Management, 27-30 October 2014, Bishkek, Kyrgyz Republic.

Diler, Ö., Didinen, B.I., Bahadır Koca, S., Ekici, S., Erol, G., Dulluç, A. & Koca, H., (2009). *The Effects of Using a Commercial Probiotic on The Survival and Growth of Freshwater Crayfish, Astacus leptodactylus Juveniles*. 14th EAFP International Conference, Prague, September 14-19, 2009. Diseases of Fish and Shellfish.

Erol, K.G. & Özkök, R. (2016). *Kapalı Devre Sistemleri: Kerevit Araştırma Merkezi. Alternatif İçsu Ürünleri Yetiştiriciliği Çalıştayı*, 11-13 Ocak 2016, Antalya.

Erol, K.G. & Özkök, R. (2016). *Kontrollü Koşullarda Kerevit Üretimi. Alternatif İçsu Ürünleri Yetiştiriciliği Çalıştayı*, 11-13 Ocak 2016, Antalya.

Çavdar, N., Özkök, R. & Erol, K.G. (2015). *Su Ürünlerinde Melatonin Uygulamaları. II. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu*, 20-22 Mayıs 2015, Eğirdir.

Cilbiz, M. Küçükkara, R., Çapkın, K. & Erol, K.G. (2015). *Avlama Dönemi ve Eşey Farklılıklarının, Solungaç Ağı Seçiciliği Üzerine Etkileri: Manyas Gölü'nde Carassius gibelio (Bloch, 1782) Örneği. II. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu*, 20-22 Mayıs 2015, Eğirdir.

Cilbiz, M., Küçükkara, R., Cilbiz, N., Çapkın, K. & Erol, K.G. (2014). *Manyas Gölü'nde (Balıkesir-Türkiye) Gümüş Sazanı Balığı (Carassius gibelio Bloch, 1782) Avcılığında Kullanılan Monofilament Sade Uzatma Ağların Seçiciliğinin Araştırılması. V. Doğu Anadolu Bölgesi Su Ürünleri Sempozyumu*, 31 Mayıs-02 Haziran 2014, Elazığ.

Özkök, R., Erol, G., Çınar, Ş., Çetinkaya, S. & Cesur, M. (2014). *Farklı Populasyonların Tatlısu İstakozu (Astacus leptodactylus)'nun Yetiştiricilik Performansı Üzerine Etkisi. V. Doğu Anadolu Bölgesi Su Ürünleri Sempozyumu*, 31 Mayıs-02 Haziran 2014, Elazığ.

- Özkök, R. & Erol, K.G. (2014). *Tatlı Su Istakozu (Kerevit)'nun Ülkemizdeki ve Dünyadaki Durumu İle Yaygın Yetiştiricilik Teknikleri*. Eğirdir Gölü Kerevit Çalıştayı, 29.04.2014, Isparta.
- Çınar, Ş., Cilbiz, M., Çavdar, N., Erol, K.G. & Babar Yoldaş, B. (2013). *Farklı Göz Açıklıklarındaki Mono ve Multifilament Uzatma Ağlarının, Eğirdir Gölü'nde Sazan Balığı (Cyprinus carpio L., 1758) Avcılığındaki Seçiciliğinin Hesaplanması*. FABA 2013 (Fisheries and Aquatic Sciences- Balıkçılık ve Akuatik Bilimler) Sempozyumu (Uluslararası katılımlı), 30 Mayıs-1 Haziran 2013, Erzurum.
- Çınar Ş., Bulut C., Korkut S.O., Ceylan, M., Erol, K.G., Cilbiz, N. & Hanol, Z. (2012). *Uluabat Gölü'ndeki Turna Populasyonu (Esox lucius L., 1758)'nun Bazı Biyolojik Özellikleri ve Stok Büyüklüğü*. 5.Limnoloji Sempozyumu, 27-29 Ağustos 2012, Isparta.
- Küçükpara R., Ceylan M., Korkut S.O., Çapkın K., Bulut C., Erol K.G., Savaşer S. & Cilbiz N. (2012). *Manyas Gölü'ndeki Gümüşi Havuzbalığı (Carassius gibelio Bloch, 1782) Populasyonunun Büyüme Özellikleri*. 5.Limnoloji Sempozyumu, 27-29 Ağustos 2012, Isparta.
- Erol, K.G., Diler, Ö., Küçükpara, R., Özkök, R., Cilbiz, N., Çınar, Ş., Tümgelir, L., Ceylan, M., Meke, T. & Didinen, B.I. (2009). *Farklı Yem ve Stok Yoğunluğunun Kerevit yavrularının (Actacus leptodactylus) Büyüme ve Yaşama Oranı Üzerine Etkisi*. Doğal Kaynaklarda Kerevit Stoklarının Korunması ve Yönetimi Çalıştayı, 25-26 Haziran 2009, Eğirdir/Isparta.
- Didinen, B., Bahadır Koca, S., Ekici, S., Dulluç, A., Koca, H.U., Gülle, İ., Diler, Ö., Erol, G., Özkök; R. & Küçükpara, R. (2009). *Probiyotik Uygulamalarının Kerevit (Actacus leptodactylus) Yavrularının Büyüme ve Yaşama Oranı Üzerine Etkisi*. Doğal Kaynaklarda Kerevit Stoklarının Korunması ve Yönetimi Çalıştayı, 25-26 Haziran 2009, Eğirdir/Isparta.
- Çınar, Ş., Küçükpara, R., Balık, İ., Çubuk, H., Ceylan, M., Erol, K.G. & Yeğen, V. (2009). *Uluabat (Apolyont) Gölündeki Balık Faunasının Tespiti ve Tür Kompozisyonu Üzerine Bir Araştırma*. XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 1-4 Temmuz 2009, Rize.
- Didinen, B.I., Diler, Ö., Özkök, R., Ekici, S., Dulluç, A. & Erol, G. (2007). *Stoklama Yoğunluğunun Kerevit (Astacus leptodactylus Esch. 1823) Yavrularının Gelişimlerine ve Yaşama Oranlarına Etkisi*. Ulusal Su Günleri Sempozyumu, 16-18 Mayıs, Antalya.
- Erol, K.G., Çetinkaya, S., Tümgelir, L. & Çubuk, H. (2006). *Beyşehir Gölündeki Kadife Balığı (Tinca tinca L., 1758) Büyüme Özellikleri*. I. Uluslararası Beyşehir ve Yöresi Sempozyumu, 11-13 Mayıs, 315-321, Beyşehir/Konya.
- Apaydın Yağcı, M., Özkök, R., Erol, K.G. & Çubuk, H. (2006). *The Feeding Features of Pike-Perch (Sander lucioperca (Linnaeus, 1758)) Population in Beyşehir*

Lake. I. Uluslararası Beyşehir ve Yöresi Sempozyumu. 11-13 Mayıs, 420-427, Beyşehir/Konya.

Çetinkaya, S., Çınar, Ş., Özkök, R. & Erol, K.G. (2006). *Beyşehir Gölündeki Sazan Populasyonu (Cyprinus carpio L., 1758) nun Büyüme Özellikleri. I. Uluslararası Beyşehir ve Yöresi Sempozyumu Beyşehir, 11-13 Mayıs, 697-704, Beyşehir/Konya.*

