



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**MİNEKOP (*UMBRINA CIRROSA*, L.) LARVALARININ
ONTOGENİK GELİŞİMİ: HİSTOLOJİSİ,
ENZİMOLOJİSİ VE KIKIRDAK-KEMİK YAPISI**

Doktora Tezi

Arif KARACAOĞLAN

Danışman: Prof. Dr. Muammer Kürşat FIRAT

**Su Ürünleri
Yetiştiricilik Anabilim Dalı**

**İzmir
2021**

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**MİNEKOP (*UMBRINA CIRROSA*, L.) LARVALARININ
ONTOGENİK GELİŞİMİ: HİSTOLOJİSİ,
ENZİMOLOJİSİ VE KIKIRDAK-KEMİK YAPISI**

Arif KARACAOĞLAN

Danışman: Prof. Dr. Muammer Kürşat FIRAT

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Su Ürünleri Yetiştiricilik Doktora Programı

İzmir

2021

DEĞERLENDİRME

Arif KARACAOĞLAN tarafından Doktora tezi olarak sunulan “Minekop (*Umbrina cirrosa*, L.) Larvalarının Ontogenik Gelişimi: Histolojisi, Enzimolojisi ve Kıkırdak-Kemik Yapısı” başlıklı çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve XX/07/2021 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday OYBİRLİĞİ ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri :

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. M. Kürşat FIRAT

Üye : Prof. Dr. Altan LÖK

Üye : Prof. Dr. Cüneyt SUZER

Üye : Prof. Dr. Deniz ÇOBAN

Raportör Üye : Prof. Dr. Erkan CAN

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Minekop (*Umbrina cirrosa*, L.) Larvalarının Ontogenik Gelişimi: Histolojisi, Enzimolojisi ve Kıkırdak-Kemik Yapısı” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

Temmuz/2021

Arif KARACAOĞLAN

ÖZET

MİNEKOP (*Umbrina cirrosa*, L.) LARVALARININ ONTOGENİK GELİŞİMİ: HİSTOLOJİSİ, ENZİMOLOJİSİ ve KIKIRDAK-KEMİK YAPISI

KARACAOĞLAN, Arif

Doktora Tezi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Kürşat FIRAT

Temmuz 2021

Çalışmada, potansiyel tür kapsamında ele alınan minekop (*Umbrina cirrosa*) balığının larval dönem sürecince (0-40. gün) histolojisi, sindirim enzimleri ile kemik-kıkırdak yapı gelişimleri intensif yetiştiricilik koşulları altında incelenmiştir.

Balıklara ait yumurtaların ortalama çapı $818 \pm 17 \mu\text{m}$, yağ damlası çapları ise $226 \pm 12 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür ($p < 0.05$). Yumurtadan yeni çıkmış larvaların ortalama boyu $2.53 \pm 0.014 \text{ mm}$ olarak saptanmıştır. Denemenin sona erdiği 40. günde total boyun ortalama $24.70 \pm 0.81 \text{ mm}$, ortalama ağırlığın ise $144.22 \pm 3.26 \text{ mg}$ olduğu tespit edilmiştir. Yaşama oranı 40. günde % 69.4 ± 1.85 olarak saptanmıştır. Minekop larvalarını 3. günde tamamının ağız ve anüsü açılmıştır. Larvalarda 5. günle birlikte sindirim tüpü belirginleşerek ön ve arka kısma ayrılmıştır. 7. günün sonunda basit mide oluşumu gözlenmiştir. Minekop larvalarında 13-18 günler arasında midneyi bağırsaktan ayıran pilorik sfinkter oluşumu görülmüştür. Larvalar 20 günlük olduğu dönemde fonksiyonel mide oluşumu net olarak izlenmiştir.

Larvalarda incelenen enzim aktivitesinde, tripsin enzimi ilk olarak ağız açılımının ardından ilk beslemenin yapıldığı 3. günde $28.47 \pm 3.52 \text{ mU/mg protein}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Aktivite 15 günde pik noktasına ulaşmış ($146.38 \pm 10.42 \text{ mU/mg protein}^{-1}$) ve bundan sonra düşüş eğilimi göstermiştir. 40. günde tripsin enzim aktivitesi $45.63 \pm 9.23 \text{ mU/mg protein}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Karbonhidrat

türevlerinin sindiriminde görev alan amilaz enzimi, larvanın yumurtadan çıktığı ilk gün 0.89 ± 0.12 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. En yüksek seviyeye 12. günde ulaşan aktivite (5.98 ± 0.46 mU/mg protein⁻¹) çalışmanın sona erdiği 40. günde ise 2.59 ± 0.21 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. Larval dönemde trigliseridlerin ve yağ türevlerinin sindiriminde rol almakta olan lipaz ilk olarak ağız açılımından sonra 3. günde 2.8 ± 0.32 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiş, bunun ardından 5. günde yapılan ölçümlerde spesifik aktivite değeri 46.89 ± 4.1 mU/mg protein⁻¹ olarak saptanmıştır. 15. güne kadar yükselen aktivite (198.23 ± 12.2 mU/mg protein⁻¹) 40. güne kadar hafif düşüş göstererek seyretmiş ve bugünde 134.87 ± 15.2 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. Larvalarda midenin oluşmasından sonra sentezlenmeye başlayan pepsin, ilk defa 15. günde 0.88 ± 0.21 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. 40. günde yapılan ölçümlerde ise spesifik aktivite 5.93 ± 0.75 mU/mg protein⁻¹ olarak bulunmuştur.

Diğer yandan, larvalarda kuyruk yüzgecinin gelişimi morfolojik olarak notokord fleksiyonu ile ilişkili olarak ortalama 4.22 ± 0.16 mm total boyda şekillenmiştir. Omurga üzerinde ilk nöral ve hemal ışınlar 3.5 ± 0.12 ve 3.9 ± 0.20 mm boyda görülmüştür. Dorsal yüzgeç ortalama 5.1 ± 0.32 mm boyda pektoral yüzgeç ışınları ise 5.8 mm uzunlukta gelişmeye başlamıştır. Yüzgeç ışınlarının tamamının görülmesi yüzgecin türüne göre değişiklik göstermiştir. Kaudal yüzgeç ışını ortalama 7.0 ± 0.21 mm, dorsal ve anal yüzgeç ışınları 7.1 ± 0.41 mm, pelvik yüzgeç ışını 7.5 ± 0.34 mm ve son olarak pektoral yüzgeç ışını 10 ± 0.54 mm uzunlukta tam olarak sayılmaya başlamıştır. 40. güne gelmiş minekop larvalarındaki tüm yüzgeç ve omurga şeklinin artık ergin bireye benzer hale gelmesi gösterilmiştir.

Sonuç olarak elde edilen veriler değerlendirildiğinde minekop türünün intensif yetiştiricilik koşullarında yetiştiriciliği yapılabilecek önemli bir akuakültür potansiyeline sahip olduğu ve birçok deniz balığı türü gibi intensif yetiştiriciliğinin yapılabileceği tespit edilmiştir.

ABSTRACT**ONTOGENIC DEVELOPMENT OF SHI DRUM (*UMBRINA CIRROSA*, L.) LARVAE: HISTOLOGY, ENZYMOLOGY AND CARTILAGE-BONE STRUCTURE**

KARACAOĞLAN, Arif

Phd in Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. M. Kürşat FIRAT

July 2021

In this study, histology, digestive enzymes and bone-cartilage structure development of shi drum (*Umbrina cirrosa*) fish during larval period (0-45 days) were examined under intense cultivation conditions.

The mean diameter of the eggs was $818 \pm 17 \mu\text{m}$ and the diameter of the oil drop was $226 \pm 12 \mu\text{m}$ ($p < 0.05$). The average length of newly hatched larvae was $2.53 \pm 0.014 \text{ mm}$. On the 40th day at the end of the trial, total neck length was found to be $24.70 \pm 0.81 \text{ mm}$, and the mean weight was $144.22 \pm 3.26 \text{ mg}$. The survival rate was $69.4 \pm 1.85 \%$ at 40 days. The mouth and anus of all larvae were opened on the 3rd day. In the larvae, the digestive tube became prominent by day 5 and it was divided into anterior and posterior parts. At the end of day 7, simple gastric formation was observed. In the larvae, pyloric sphincter formation that separates the stomach from the intestine was observed between 13-18 days. Functional gastric formation was clearly observed at the age of 20 days.

In the enzyme activity in the larvae, trypsin enzyme was first identified as $28.47 \pm 3.52 \text{ mU/mg protein}^{-1}$ on the 3rd day of first feeding after mouth opening. The activity peaked at 15 days ($146.38 \pm 10.42 \text{ mU/mg protein}^{-1}$) and then tended to decline. On day 40, trypsin enzyme activity was $45.63 \pm 9.23 \text{ mU/mg protein}^{-1}$. The amylase enzyme involved in the digestion of carbohydrate derivatives was found to be $0.89 \pm 0.12 \text{ mU/mg protein}^{-1}$ on the first day when the larvae hatched. The activity

reaching the highest level on day 12 (5.98 ± 0.46 mU/mg protein⁻¹) was measured as 2.59 ± 0.21 mU/mg protein⁻¹ on the 40th day of the study. The lipase, which is involved in the digestion of triglycerides and fat derivatives in the larval stage, was first detected as 2.8 ± 0.32 mU/mg protein⁻¹ on the 3rd day after mouth opening, after which the specific activity value was 46.89 ± 4.1 mU/mg protein⁻¹. Increasing activity until the 15th day (198.23 ± 12.2 mU/mg protein⁻¹) showed a slight decrease until the 40th day and is now measured as 134.87 ± 15.2 mU/mg protein⁻¹. Pepsin, which started to be synthesized after the formation of the stomach in the larvae, was first detected as 0.88 ± 0.21 mU/mg protein⁻¹ on the 15th day. On the 40th day, the specific activity was 5.93 ± 0.75 mU/mg protein⁻¹.

On the other hand, the development of the caudal fin in the larvae was morphologically associated with a total length of 4.22 ± 0.16 mm in relation to notochord flexion. The first neural and hemal rays on the spine were 3.5 ± 0.12 and 3.9 ± 0.20 mm in length. The pectoral fin rays with a mean length of 5.1 ± 0.32 mm began to develop with a length of 5.8 mm. The appearance of all the fin rays varied according to the fin type. The caudal fin beam was counted as 7.0 ± 0.21 mm, dorsal and anal fin rays 7.1 ± 0.41 mm, pelvic fin beam 7.5 ± 0.34 mm and finally pectoral fin beam 10 ± 0.54 mm in length. It has been shown that all the fin and spine shape in the larvae on the 40th day are now similar to the tense individual.

As a result, it was found that the shi drum species had an important aquaculture potential that could be cultivated under intensive aquaculture conditions and that many marine fish species could be intensively cultivated.

ÖNSÖZ

Avrupa akuakültüründe deniz balıkları yetiştiriciliği önemli yere sahiptir. Çipura ve levrek yetiştiriciliği ile 1970'li yıllarda başlanan süreç zaman içerisinde farklı türlerin kültüre edilmesi ile daha da gelişim göstermiştir. Özellikle çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yetiştiriciliğinde yıllar içerisinde birçok üretim sorunun çözülmesi yeni türlerin akuakültüründe başarı sağlanmasının temelini oluşturmuştur. Bu süreçte sisteme yoğun bilgi ve teknoloji girişi ile türlerin biyolojisi, biyoteknolojik gelişmeler ile akuakültür mühendisliği alanındaki teknolojiler bu başarıda etkin olmuştur. Bu gelişmeler doğrultusunda anaç, larva ve besleme protokolleri ile farklı yetiştiricilik sistemlerinin yüksek teknolojik ekipman sayesinde uygulanması başarıyı getiren en önemli unsurlar olmuştur.

Gelinen noktada deniz balıkları üretiminde Türkiye modern kuluçkahane birimleri, ağ kafes sistemleri, toprak havuz işletmeleri, yem fabrikaları ve işleme tesisleri ile Avrupa'da toplam deniz balıkları üretim miktarının % 41'ini sağlayan lider ülke konumundadır. Bunun yanı sıra çipura ve levrek üretiminde olduğu gibi 2000'li yıllardan sonra ülkemizde potansiyel türlere ait yetiştiricilik çalışmaları oldukça ağırlık kazanmıştır. Bu kapsamda ülkemizde özellikle son 20 yılda sinarit (*Dentex dentex*), fangri (*Pagrus pagrus*), kalkan (*Psetta maxima*), sariağız (*Argyrosomus regius*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*), orkinos (*Thunnus thynnus*), eşkine (*Sciaena umbra*), minekop (*Umbrina cirrosa*), sargos (*Diplodus sargus*), lahos (*Epinephelus alexandrinus*), akya (*Lichia amia*), mırmır (*Lithognathus mormyrus*) ile kırmızı bantlı mercan (*Pagrus auriga*) türleri üzerinde araştırma çalışmaları yapılmış olup bazı türlerin ticari üretimi kontrollü olarak gerçekleşmiştir.

Bu gelişmeler kapsamında hazırlanan tez konusu minekop balığı türünün intensif yetiştiricilik koşullarında yetiştiriciliğinin yapılabilmesine temel imkan sağlayacak verilerin elde edilmesi ve türün önemli bir akuakültür potansiyeline sahip olabileceğini ortaya koyması bakımından oldukça anlamlıdır.

Arif KARACAOĞLAN

İÇİNDEKİLER

İçerik	Sayfa
İÇ KAPAK	
JÜRİ ONAY SAYFASI	
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1 Akuakültür	4
2.1.1 Dünyada Akuakültür ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği	4
2.1.2 Avrupa Akuakültürü ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği	5
2.1.3 Türkiye Akuakültürü ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği	6
2.2 Minekop (<i>Umbrina cirrosa</i>) Balığının Genel Özellikleri	8
2.3 Balıklarda Gastrointestinal Sistem	10

İÇİNDEKİLER (devam)

2.4 Histolojik Analiz	19
2.5 Enzimler	21
2.5.1 Enzimlerin Yapısı ve Sınıflandırılması	22
2.5.2 Enzimlerin Özellikleri	24
2.5.3 Enzim Aktivite Birimleri	25
2.5.4 Enzimlerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler	26
2.5.5 Sindirim Enzimleri ve Çalışma Prensipleri	27
2.6. Balıklarda İskelet Sistemi	33
2.7 Minakop ve Bazı Deniz Balıkları Üzerinde Yapılmış Çalışmalar	39
2.7.1 Tür Üzerindeki Genel Çalışmalar	39
2.7.2 Histolojik Çalışmalar	41
2.7.3 Enzimatik Çalışmalar	45
2.7.4 Kemik-Kıkırdak Çalışmaları	53
3. MATERYAL ve METOT	58
3.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu	58
3.2 Larval Üretim	59
3.3 Histolojik Analizler	63

İÇİNDEKİLER (devam)

3.4 Enzim Analizleri	66
3.5 Kemik-Kıkırdak Yapısı Analizleri	71
3.6 İstatistik Değerlendirme	72
4. ARAŞTIRMA BULGALARI	73
4.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu	73
4.2 Larval ve Histolojik Gelişim	73
4.3 Enzim Analizleri	79
4.4 Kemik ve Kıkırdak Gelişimi	83
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	88
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	100
TEŞEKKÜR	121
ÖZGEÇMİŞ	122
EKLER	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1 Minekop (<i>Umbrina cirrosa</i>) balığının genel görünüşü	9
Şekil 2.2 Larvalarda sindirim tüpü gelişimi	16
Şekil 2.3 Enzimlerin reaksiyondaki etkisi	21
Şekil 2.4 Substrat-Enzim mekanizması	24
Şekil 2.5 Endopeptidaz ve ekzopeptidazların çalışma mekanizması	28
Şekil 2.6 Proteolitik enzimlerinin çalışma mekanizması	29
Şekil 2.7 Proteinlerin sindirimi	31
Şekil 2.8 Karbonhidratların sindirimi	31
Şekil 2.9 Yağların sindirim	32
Şekil 2.10 Besinlerin emilimi	32
Şekil 2.11 Balıkların iskelet sistemi	33
Şekil 2.12 Teleost nörokranium ve suspensoryumu	34
Şekil 2.13 Teleost balıklarda brankiyal yaylarla birleşmiş infraorbital ve supraorbital bölgeler	34
Şekil 2.14 Teleostei familyasına ait balıklarda gövde ve kuyruk omurlarının yandan ve arkadan görünüşü	35
Şekil 2.15 Teleostei familyasına ait balık omurgasının bir kısmı	36

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil 2.16 Dorsal yüzgeçlerin iskelet destekleri	37
Şekil 2.17 Teleost balıkların sol pektoral yüzgecinin görünüşü	38
Şekil 2.18 Teleost türlerde homoserk yapıdaki kaudal yüzgeci	38
Şekil 3.1 Denemede kullanılan minekop anaçları	58
Şekil 3.2 Larva odası	60
Şekil 3.3 Mikropartikül dönemdeki minekop larvaları	62
Şekil 3.4 Larvaların parafinde bloklanması	64
Şekil 3.5 Larva dokularının boyanması	65
Şekil 4.1 Larva taslağı oluşmuş minekop yumurtası	73
Şekil 4.2 Yumurtadan yeni çıkmış minekop larvası	74
Şekil 4.3 Yumurtadan yeni çıkmış minekop larvası	74
Şekil 4.4 Minekop larvası (5 günlük, 3.02 ± 0.18 mm)	75
Şekil 4.5 Minekop larvası (10 günlük, 4.14 ± 0.10 mm)	76
Şekil 4.6 Minekop larvası (13 günlük, 5.01 ± 0.14 mm)	77
Şekil 4.7 Minekop larvası (17 günlük, 6.04 ± 0.11 mm)	77
Şekil 4.8 Minekop larvası (28 günlük, 14.19 ± 0.17 mm)	78
Şekil 4.9 Minekop larvalarında tripsin enzim aktivitesi	79

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil 4.10 Minekop larvalarında amilaz enzim aktivitesi	80
Şekil 4.11 Minekop larvalarında lipaz enzimi aktivitesi	81
Şekil 4.12 Minekop larvalarında pepsin enzimi aktivitesi	82
Şekil 4.13 Minekop larvalarında notokorda gelişimi	83
Şekil 4.14 Minekop larvası (6 gün, 3.23 ± 0.07 mm total boy)	83
Şekil 4.15 Minekop larvası (12 gün, 4.89 ± 0.1 mm total boy)	84
Şekil 4.16 Minekop larvalarında kaudal yüzgeç gelişimi	85
Şekil 4.17 Minekop larvası (14 gün, 5.33 ± 0.1 mm total boy)	85
Şekil 4.18 Minekop larvası (20 gün, 8.10 ± 0.12 mm total boy)	86
Şekil 4.19 Minekop larvası (25 gün, 12.76 ± 0.55 mm total boy)	86
Şekil 4.20 Minekop larvası (30 gün, 16.37 ± 0.67 mm total boy)	87
Şekil 4.21 Minekop larvası (40 gün, 24.7 ± 0.80 mm total boy)	87

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1 Dünyada 2014-2018 yılları arasındaki akuakültür üretimi	4
Tablo 2.2 Dünyada 2014-2018 yılları arasındaki deniz balıkları üretimi	4
Tablo 2.3 Avrupa akuakültür üretimi	5
Tablo 2.4 Akdeniz ülkelerinin su ürünleri üretim miktarları	6
Tablo 2.5 2016-2020 yılları arasındaki deniz balıkları üretim miktarları	8
Tablo 2.6 Pankreas ve Mideden Proenzim Sentezlenen Proteolitik Enzimler	29
Tablo 3.1 40 günlük minekop larva üretim protokolü	61
Tablo 3.2 Gemma Wean mikropartikül yem besin madde içeriği (Skretting).	62

1. GİRİŞ

İlk çağlardan günümüze kadar insanoğlu sucul ortam ve onun barındırdığı canlılar ile ilgilenmiştir. Bu ilgi daha çok insanoğlunun beslenmesine yönelik olmakla birlikte günümüzde sportif amaçlar için de yoğun olarak bu ilgi sürmektedir. Tarımsal alanların artan nüfus yoğunluğu ve şehirleşme ile birlikte azalması üreticileri ve girişimcileri farklı hayvansal protein kaynaklarının olduğu ortamlara yönlendirmiştir. Bu yönelim ile doğal kaynaklar giderek daha etkin olarak kullanılmaya başlamıştır. Bu kapsamda insan eli altında kontrollü olarak başlayan su ürünleri yetiştiricilik çalışmaları son 70 yılda büyük ilerleme göstermiş ve akuakültür sektörü doğmuştur.

Özellikle beslenme açısından deniz ürünleri oldukça yüksek kaliteye sahip olup mükemmel denebilecek ölçüde besinsel içeriğe sahiptir. Protein kaynağı açısından oldukça değerli olmakla birlikte yağ içeriği bakımından da diğer ürünlere göre oldukça yüksek miktarda avantaj sağlamaktadır. Bununla birlikte omega-3 serisi çoklu doymamış yağ asitlerinin temel kaynağı olan su ürünleri predominant omega-3 yağ asidi Eicosapentaenoic asit (EPA) ve Docosahexaenoic asit (DHA) bakımından oldukça değerlidir (Turan, 2006). Bu her iki yağ asidi vücutta önemli biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklere neden olur. Kalp hastalığı, kanser, şeker, yüksek tansiyon gibi hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde yararlı etkilerinden dolayı omega-3 yağ asitlerinin kullanılması önerilmektedir

Bu sebeplerden dolayı; birçok biyolojik kaynağı, insanoğlu denizler ve tatlı sulardan elde etmektedir. Bu nedenle bilim adamları, kurtarıcı olarak gördükleri bu alanları ve içerdikleri biyolojik kaynakları bilimsel metotlarla daha iyi tanıma, tanıma, işleme ve koruma konusunda yoğun çalışmalara girişmiştir. Yetiştiricilik yolu ile elde edilen ürün miktarının artırılması bu çalışmalar içerisinde en önemli konulardan biridir.

Tatlı, acı ve deniz suyunda doğal olarak bulunan, sucul bitki ve hayvanların tam kontrollü ya da yarı kontrollü olarak üretilmesi, büyütülmesi ve pazarlanması dâhil tüm aktiviteleri içeren uygulamalar yetiştiricilik çalışmaları olarak adlandırılmaktadır. Daha geniş anlamda ise yetiştiricilik; insanlar tarafından doğal

veya suni su ortamının kullanımı ile yine insanların yararına, gerek besin amaçlı gerekse başka amaçlar için bir canlının üretilmesi, büyütülmesi ve pazarlanmasıdır.

Türkiye’de su ürünleri yetiştiricilik sektörünün, küresel gıda güvenliğine, beslenme problemlerinin iyileşmesine, çevreye en az etki; topluma maksimum fayda ile ekonomik gelişime katkı sağlaması beklenmektedir. Su ürünleri üretiminin yoğunlaşması, kullanılan tür çeşitliliği artışının devam etmesi, üretim sistemlerinin ve uygulamalarının çeşitlenmesindeki devamlılık, pazar, ticaret ve tüketici etkisinin artması, sektör yönetiminin gelişmesi ve düzenlemelerin artırılması gibi konular üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu kapsamda genel olarak incelendiğinde ülkemizde deniz balıkları yetiştiricilik sektörünün artış hızı birçok endüstri kolunun yıllık artış hızından daha fazladır. Bununla birlikte tüm sektör bileşenleri ele alındığında su alanlarının kullanımı, lisans devri, sigorta, mortgage (lisans rehni), canlı hayvan rehni, kredi temini ve pazarlama gibi sıkıntıların olduğu da kaçınılmazdır. Bunun yanı sıra sektörel büyümenin oldukça yüksek olduğu bu üretim kolunda tesislerin üretim kapasiteleri göz önüne alındığında iş gücü ve mekanizasyonun oldukça yüksek yoğunlukta kullanıldığı ve buna bağlı olumsuzlukların zaman içerisinde meydana gelmeye başladığı da gözlenmektedir.

Akuakültürdeki biyoteknolojik gelişimlere bağlı olarak her geçen gün standart olarak üretilen türlerin yanında potansiyel tür kapsamına giren yeni türler denenmektedir. Bu kapsamda da bilimsel verilere olan ihtiyaçlar da bu gelişime paralel olarak artmaktadır. Bu çalışmalar arasında özellikle biyoteknoloji alanında yapılan araştırmalar önemli yere sahiptir. Bu konulardaki bilimsel araştırmalar sonucunda ortaya çıkan larva ve yavru kalitesinin artırılması, yaşama oranının yükseltilmesi, yem değerlendirilmesi ve spesifik büyüme oranının artırılması, hastalıklara karşı bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve değişen koşullarda optimal besleme stratejisinin geliştirilmesine yönelik olumlu veriler doğrudan üretimin başarısı üzerinde etkisi olan konulardır.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde erken dönem larval gelişim özellikleri ve buna etki eden biyotik, abiyotik ve yabancı biyotiklerin belirlenmesi kaliteli larva üretiminin temelini oluşturmaktadır. Bu kapsamda larval dönem fizyolojiyle ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar çoğunlukla histoloji, enzimoloji, genetik gibi bilim

dallarına kaymıştır. Potansiyel tür olarak kültürü yapılacak balıkların larval dönemdeki başarısı bu türlerin ontogenik gelişimlerinin tanımlanması ve anlaşılması ile doğru orantılıdır.

Akuakültür sektöründe özellikle son yıllarda, Akdeniz ve buna paralel olarak Türkiye'deki üreticiler çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) dışında potansiyel tür olarak tabir edilen yeni türlerin üretimine odaklanmışlardır. Minekop balığı, akuakültür sektöründe potansiyel tür olarak değerlendirilmesine neden olan önemli biyolojik özelliklere sahip bir türdür. İlk olarak minekop balığı, yüksek market fiyatına sahip ve gelişim oranı yüksek bir tür olarak değerlendirilmektedir (Fabi and Fiorentini, 1993; Suzer, 2018). 15 aylık bir dönem içerisinde 700 gr canlı ağırlığa ulaşabilmesi üretimi cazip kılmaktadır. Bununla birlikte *Artemia spp.* kullanımı gerekmeden direkt olarak rotifer (*Brachionus plicatilis*) ile besleme uygulamasından mikropartikül yeme geçiş yapabilme potansiyeline sahip bir tür olmada türü önemli hale getirmektedir. Bu durum ticari olarak üretim yapan kuluçkahanelerdeki canlı yem üretim maliyetlerini yaklaşık olarak % 50 oranında düşürmektedir (Mylonas et al., 2000; Zambonino Infante and Cahu, 2001). Bununla birlikte, minekop akuakültür endüstrisi için büyük potansiyele sahip olmasına rağmen, sadece üreme fizyolojisi dikkate alınarak gerçekleştirilmiş çok az sayıda çalışma mevcuttur (Melotti et al., 1995; Cardellini et al., 1999; Barbaro et al., 2002; Mylonas et al., 2004). Bu kapsamda, kültür ortamında minekopların larva başarısını arttırmak için balığın sindirim sistemi ile birlikte morfolojik gelişimlerinin tanımlanması gerekmektedir.

Tüm bu değerlendirmeler doğrultusunda, potansiyel tür kapsamında ele alınan minekop (*Umbrina cirrosa*) balığının larval dönem süreci (0-40. gün) histoloji, sindirim enzimleri ile kemik-kıkırdak yapı gelişimleri intensif yetiştiricilik koşullar altında incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Akuakültür

2.1.1 Dünyada Akuakültür ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği

Dünyada toplam su ürünleri üretimi 2018 yılında 178.5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin yetiştiricilik yolu ile elde edilen miktarı 82.1 milyon ton olup geri kalanı avcılık faaliyetleri sonucunda elde edilmiştir. Ayrıca 32.3 milyon ton su bitkileri üretimi gerçekleşmiştir. **Tablo 2.1**'de 2014-2018 yılları arasındaki dünya akuakültür üretim miktarları, **Tablo 2.2**'de ise 2014-2018 yılları arasında dünyadaki deniz balıkları üretim miktarı gösterilmiştir. Dünya üretiminin % 80'inden fazlası gelişmekte olan ülkeler tarafından üretilmektedir. Yetiştiricilik üretimi ile temin edilen miktarın yaklaşık % 90'ı Asya ülkelerinden sağlanmaktadır. Çin 2017 yılında bu üretimin yaklaşık % 70'ini gerçekleştirmiştir. Çin'i, Hindistan, Endonezya ve Vietnam izlemektedir. Asya kıtasını ise Avrupa ve Kuzey Amerika kıtaları takip etmektedir. Tüm bu üretim prosedürünün gerçekleşmesinde yaklaşık 12 milyona yakın insanın çalıştığı öngörülmektedir.

Tablo 2.1 Dünyada 2014-2018 yılları arasındaki akuakültür üretimi (bin ton)
(FAO, 2020)

Tür	Su Ortamı/Yıl	2014	2015	2016	2017	2018
Balık, Eklem Bacaklı, Yumuşakça vs.	Tatlı Su	44.446	45.908	48.099	49.508	51.339
	Deniz	26.054	26.863	28.325	30.624	30.756
Su Bitkileri	Tatlı Su ve Deniz	29.052	31.082	31.649	31.810	32.386

Tablo 2.2 Dünyada 2014-2018 yılları arasındaki deniz balıkları üretimi (bin ton)
(FAO, 2020)

Yıl	2014	2015	2016	2017	2018
Deniz Balıkları	2.321	2.441	2.573	2.894	3.006

2.1.2 Avrupa Akuakültürü ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği

Avrupa akuakültür çalışmalarında, özellikle de deniz balıkları üretiminde son 40 yıl içinde önemli gelişim sağlanmıştır. Özellikle teknoloji alt yapısı hazırhale gelen ülkelerde deniz balıkları larva yetiştiriciliğinde oldukça önemli ilerlemeler kayıt edilmiştir. Konu ile ilgili önemli üretim teknolojileri ekonomik sisteme entegre edilmiş, daha sonra da bu bilgi gelişmekte olan ülkelere yönlendirilerek sektörel büyüme sağlanmıştır (**Tablo 2.3**). 2020 yılı verilerine bakıldığında Avrupa üretiminde ilk sırayı Norveç'in (1 milyon 354 bin ton) aldığı görülmektedir. Norveç'i sırası ile İspanya (347 bin ton), Türkiye (311 bin ton), İngiltere (197 bin ton) ve Fransa (185 bin ton) izlemektedir. Ülkemizin su ürünleri üretim miktarı 2020 yılı itibariyle yaklaşık 421 bin tona ulaşmıştır. Bu ülkelerde yıllık akuakültür üretiminin ortalama artış hızı % 6 olmakla birlikte ülkemizde bazı dönemlerde bu artış hızı % 10'un üzerine çıkmıştır. Bu durum dünya akuakültür artış ortalamasından da fazladır. Bunun yanı sıra dünyada 2010-2021 yılları arasında avcılık yolu elde edilen ürün miktarı sadece % 3 artarken, akuakültür üretimi ise yaklaşık % 30'lük artış göstermiştir.

Tablo 2.3 Avrupa akuakültür üretimi (bin ton) (FAO, 2020).

Ürün/Yıl	2014	2015	2016	2017	2018
Balık, Eklem bacaklı, Yumuşakça, su bitkileri vs.	2.907	2.946	2.949	3.016	3.080

Akdeniz ülkeleri akuakültür sisteminde etkin durumda olan ülkeler İspanya, Fransa, İtalya ve Mısır'dır. Adı geçen ülkeler bölgedeki toplam üretimin % 80-85'lik kısmını üretmektedirler. İspanya, İtalya ve Fransa yumuşakça yetiştiriciliğinde daha etkin olup, Mısır (1.561 bin ton) balık üretiminde lider durumdadır. Mısır özellikle kefal türlerinin (Mugilidae) yetiştiriciliğinde söz sahibi olup, özellikle doğal ortamdan toplanan kefal yavrularının toprak havuz sistemlerinde yetiştiriciliğinin temel alındığı üretim modeli kullanmaktadır. Dönemsel olarak üretim miktarını sınırlayan faktör yavruların doğal ortamdan temin edilmesidir. Bunun için üretim miktarları doğal ortamdan gelen yavru ile sınırlı kalmaktadır. Akdeniz ülkelerinde yetiştiricilik sektörüne potansiyel türlerin

üretilmesine yönelik çabalar, 1990'lı yıllardan sonra özellikle Avrupa Birliği fonlarınca finanse edilen araştırmaların uygulamaya konulmasıyla başlamıştır. Tür çeşitliliği konusunda yapılan araştırmalarda yaklaşık 30 adet balık türü ele alınmıştır. Bu balık türleri, genel olarak hızlı büyüyen buna karşın nispeten düşük fiyatlı balıklar (sarıkuyruk (*Lichia* sp.), lambuka (*Coryphaena hippurus*), sariağız (*Argyrosomus regius*) gibi) ve yavaş büyüyen yüksek fiyatlı balıklar (fangri mercan (*Pagrus pagrus*), dil (*Solea* sp.), sinarit (*Dentex dentex*) gibi) biçiminde sınıflandırılmıştır. Son dönemlerde özellikle ihracata bağlı olarak yaşanan krizler ve çipura (*Sparus aurata*)-levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarının artan üretim miktarları sonucunda azalan ekonomik getirisi üreticileri yeni türlerin yetiştiriciliği çalışmalarına yöneltmiştir. 1970'li yılların sonunda İtalya ve Fransa'da başlanan deniz balıkları yetiştiriciliği bugün Yunanistan ve Türkiye'nin liderliğinde sürdürülmektedir. Bu iki ülke Avrupa'nın deniz balıkları (çipura ve levrek) ihtiyacı için gerek duyulan üretimi üstlenmiş durumdadır. Bunun yanı sıra Arnavutluk, Lübnan ve Libya gibi diğer ülkelerde ise gelişim sınırlıdır. Bununla birlikte Cezayir, Tunus ve Fas gibi ülkelerde ise akuakültür konusunda proje ve yatırım çalışmaları devam etmektedir. Bu ülkeler deniz balıkları larva üretim tesislerinin kurulması ve ağ kafes alanlarının oluşturulması için yoğun çaba göstermektedirler. **Tablo 2.4**'te Akdeniz akuakültüründe önde gelen ülkelerinin su ürünleri üretim miktarları gösterilmiştir.

Tablo 2.4 Akdeniz ülkelerinin su ürünleri üretim miktarları (ton) (FAO, 2020)

Ülke/Yıl	2014	2015	2016	2017	2018
İspanya	282.242	289.821	283.828	311.023	347.500
Fransa	180.290	163.252	165.450	178.150	185.150
İtalya	148.730	148.763	157.109	157.000	143.338
Mısır	1.137.091	1.174.831	1.370.660	1.451.841	1.561.457
Yunanistan	104.663	106.118	123.707	125.525	132.392
Türkiye	234.302	238.964	250.331	273.477	311.681

2.1.3 Türkiye Akuakültürü ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği

Türkiye yetiştiricilik açısından oldukça önemli bir potansiyele sahip olup çalışmalar 80'li yıllardan sonra yoğunlaşmıştır. Bu durum Avrupa ülkelerindeki gelişim ile paralellik göstermektedir. Ülkemizin içinde bulunduğu coğrafik kültürel ve biyoteknolojik yapıya göre 4 ana grupta toplanmıştır.

- a) İç sularda gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve sazan (*Cyprinus carpio*) üretimi,
- b) Ege ve Akdeniz kıyılarında çipura-levrek ve potansiyel deniz balığı türlerinin yetiştiriciliği,
- c) Karadeniz’de deniz ortamında alabalık, levrek ve çipura yetiştiriciliği,
- d) Ege ve Akdeniz’de orkinos (*Thunnus thynnus*) yetiştiriciliği.

Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliği 1968 yılında karasal ortamda iç su balıkları kültürü ile başlamıştır. Geline nokta itibarı ile 2017 verileri incelendiğinde alabalık üretimimizin 99.712 tona, aynalı sazan üretimimizin ise 196 tona ulaştığı görülmektedir. Bununla birlikte, dere alabalığı ile mersin balığı üretimine ait araştırma ve deneme çalışmaları devam etmektedir.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinin ülkemizdeki tarihsel durumuna bakıldığında ise, deniz balıkları üretimi ilk defa ticari olarak 1984 yılında Çeşme’de kurulan Pınar Deniz A.Ş. Yavru Balık Üretim Tesisi’nde İngiliz tekniği modeli uygulanarak yapılmıştır. Aynı dönemde E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi’nde de deniz balıkları ve karides (*Penaeus* sp.) larva üretim çalışmaları başlamıştır. Bu tarihten sonra larva üretim tesislerinin sayısı hızla artmış ve 2000 yılında bu rakam 21 âdete ulaşmıştır. Ancak girdilerin yükselmesi, ekonomik krizler ve teknik yetersizliklerden dolayı bu rakam 2006 yılında 9 adete inmiştir. Bununla birlikte tesis sayılarındaki düşüş üretilen yavru miktarını azaltmamıştır. Bu dönemde kendini teknolojik olarak yenileyemeyen küçük firmalar elimine olmuş, sistemde mevcut olan firmalar üretim kapasitelerini, kullandıkları teknoloji altyapısını ve pazarlama yöntemlerini düzenlemişlerdir. 2021 yılı sonu itibarı ile farklı firmalar bünyesinde faaliyet gösteren toplam 19 adet kuluçkahane ve bunlara bağlı 6 adet adaptasyon tesisi bulunmaktadır. Bu tesislerden bir adeti sadece anaç yönetimi diğer bir tanesi ise ön büyütme tesisi olarak faaliyet göstermektedir. Temel üretim protokollerinin oluşturulması ile özellikle 2000’li yıllardan sonra larva üretiminde hızlı artış görülmüştür

Bununla birlikte son yıllarda aynı zamanda potansiyel deniz balıkları türlerinin üretiminde de önemli yol alınmıştır. Geçen süre zarfında

kuluçkahanelerde 23 farklı türde deniz balığının yetiştiriciliği denenmiş olup, 2015 yılından itibaren çipura ve levrek dışında istatistiklere girecek miktarda diğer deniz balıklar türleri başarıyla üretilmiştir (**Tablo 2.5**).

Tablo 2.5 2016-2020 yılları arasındaki deniz balıkları üretim miktarları (ton)
(TÜİK, 2021).

Yıl/Tür	2016	2017	2018	2019	2020
Alabalık (Gökkuşaağı)	4.643	4.972	9.235	9.411	18.182
Alabalık (<i>Salmo sp.</i>)	1.073	980	375	281	507
Çipura	58.254	61.090	76.680	99.730	109.749
Levrek	80.847	99.971	116.915	137.419	148.907
Fangri mercan	225	20	2	5	1
Antenli mercan	-	122	74	74	-
Kırmızı bantlı mercan	-	66	1	-	-
Minakop	20	125	30	47	26
Granyöz (Sarıağız)	2.463	697	1.486	3.375	7.428
Sinarit	43	51	24	27	-
Sivri burun karagöz	2	-	-	-	-
Trança	61	107	70	66	-
Orkinos	3.834	3.802	3.571	2.327	4.338
Midye	329	489	907	4.168	4.037
Diğer	-	-	-	-	-
TOPLAM	151.794	172.492	209.370	256.930	293.175

2019 yılı istatistiklerine göre ülkemizde kültür balıkları yetiştiriciliği yapan tesis sayısı 2.217 adettir ve bu tesislerden 1.693 adedinde iç su balıkları, 434 adedinde ise deniz balıkları üretimi yapmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de balık avcılığında çalışan insan sayısında azalma yaşanırken, akuakültür sektöründeki üretim artışına bağlı olarak istihdam edilen personel sayısında artış dikkati çekmektedir. Türkiye’de akuakültür sektöründe çalışan kişi sayısı konusunda net bilgi bulunmamakla birlikte üretim, işleme, pazarlama, mekanizasyon, balık yemi üretimi ve bu sektörle ilişkili işyerlerinde yaklaşık 26.000 kişiye istihdam sağlandığı düşünülmektedir (Aydın, 2016; BSGM, 2020).

2.2 Minekop (*Umbrina cirrosa*) Balığının Genel Özellikleri

Atlantik’te Biscay körfezinden Senegal kıyılarına kadar olan bölgede, Akdeniz ve Karadeniz de dağılım gösteren Minekop balığı Sciaenidae

familyasına ait demersal bir türdür (Şekil 2.1). 100 metreye yakın derinliklerde kayalık-kumluk dip yapısının hâkim bölgelerde yaşar. Genç bireyler sürü halinde dolaşır. Ergin bireyler tek ya da gruplar halinde belirli bir kayalık bölgede bulunur. Genellikle erginlere 40 cm'lik uzunluklarda rastlanır.



Şekil 2.1 Minekop (*Umbrina cirrosa*) balığının genel görünüşü
(<https://www.monaconatureencyclopedia.com/umbrina-cirrosa/?lang=en>)

Minekop balıklarında vücut lateralinden yassılaştırmıştır. Ağız küçüktür. Yüzgeç formülü D1 IX-X; D2 I+23-25, AII+7-8 şeklindedir. Vücut yeşilimsi gri den kahverengiye kadar değişen renklerde. Vücudun yanlarındaki metalik lekeli, koyu renkli longitudinal bantlar özellikle linea lateralin üst kısmında belirgindir. Operkulumun arka kenarı siyah renklidir. Yüzgeçler koyu ve birinci dorsal yüzgeç ikinci dorsal yüzgece göre oldukça yüksektir. Kaudal yüzgeç homoserk yapıdadır. Ventral yüzgeç torasik konumludur. Gözler arası mesafe burunun uzunluğundan kısa ve dudaklar incedir. Ağız subterminal konumludur.

Farklılaşmış (primer) gonokorizm özelliğe sahip olan bu türde cinsel olgunluğa dişler 3 yaşında, erkekler 2 yaşında ulaşır. 1 yaşında ki erkek bireyler ile 2 yaşındaki diş bireyler olgun gamet üretebilir Ancak bu bireylerin GSI değerlerinin çok düşük ve sayıca az olması fonksiyonel olgunluk yaşını yükseltir. İki yaşındaki erkekler ortalama 38 cm boyunda 650 gr ağırlığında, üç yaşındaki dişiler ise ortalama 48 cm boyunda ve 1.400 gr ağırlığındadır. Yumurtlama sezonu

bölgeye göre değişmekle birlikte, Akdeniz’de Mayıs-Ağustos aylarındadır. Balıklar kısmi yumurtlama özelliği gösterirler.

2.3 Balıklarda Gastrointestinal Sistem

Diğer omurgalılarda olduğu gibi, balıklarda da sindirim sistemi, bir sindirim kanalıyla sindirim ve metabolizmada rolü olan salgılar salgılayan ek bezler, yani karaciğer ve pankreastan oluşur.

Sindirim Kanalı

Sindirim kanalı başbağırsak, önbağırsak, ortabağırsak ve sonbağırsak olmak üzere dört bölümde incelenebilir (Demir, 2006).

- **Baş bağırsak (bucafaringial boşluk):** Ağız-yutak boşluğundan ibaret olan başbağırsak, ağızla başlayıp, son solungaç yayında son bulur; iç yüzeyi, bir hücreli bezler ve tat alma tomurcuklarında zengin bir epitelle örtülüdür. Başbağırsağın ön tarafının tabanında yer alan dil, genellikle belirgin bir biçimde farklılaşmamıştır ve serbest bir biçimde hareket edemez.

- **Ön bağırsak (özafagus ve mide):** Önbağırsak, son solungaç yayından midenin sonuna kadarki bölümdür. Fakat çoğu kez arka sınırının belirgin olmaması nedeni ile bu bölgenin sonu, safra kanalının bağırsağa açıldığı yer olarak kabul edilebilir. Son solungaç yayı ile mide arasında kalan yemek borusu, balıklarda kısa ve geniş bir boru biçimindedir. Yemek borusunu örten çok tabakalı epitel, düz ya da katlanmış olabilir ve çok sayıda mukus bezi içerir, kimi türlerde başlangıcında tat alma tomurcukları bulunabilir. Yemek borusu, çeperlerinin hem dairesel, hem de boyuna uzanan çizgili kas tabakalarıyla şekillenmiş olması nedeniyle, büyük bir esneme yeteneğine sahiptir. Yemek borusu ile mide arasında kesin bir sınır yoktur. Mide, sindirim kanalının tipik olarak asit salgısı olan ve yemek borusuyla bağırsağinkinden farklı bir epitelle örtülü olan kısmıdır. Midenin yemek borusuna yakın olan koluna kardiyum ya da korpus (gövde), bağırsağa yakın olan koluna pilor ya da pilorik bölge denir.

- **Orta bağırsak (ince bağırsak):** Ortabağırsak, gerçek anlamdaki bağırsak, yani ince bağırsak bölgesidir. Midenin pilorik bölgesiyle bağırsağın birleştiği yerde, pilorik çekum denilen ve genellikle parmak biçiminde, kapalı bir uçla son bulan uzantılar vardır. Pilorik çekumlar, emilim yüzeyini arttırmaktan başka, sindirimde rol oynayan salgıları salgılar.

- **Son bağırsak (rektum):** Balıklarda genellikle bir son bağırsak ayırt edilse bile, yüksek omurgalılarda olduğu kadar gelişmiş değildir. *Teleostei*'de son bağırsağın çapının, orta bağırsağınkinden büyük olduğu durumlarda ikisi arasında dairesel bir kapakçık bulunur. Son bağırsak anüsle son bulur.

Karaciğer

Karaciğer beslenme ve organizmada normal şartların devamlılığı (homeostazis) açısından büyük önem taşımaktadır. Karaciğer yalnızca besin metabolizmasında, besinlerin dönüştürülmesi ve taşınımı ile birlikte lipid depolanmasındaki önemli fonksiyonları gerçekleştirmemekle birlikte bunların yanında, metabolik ürünlerin parçalanması, atılımı ve detoksifikasyon işlemlerini de gerçekleştiren bir organdır (Rust, 2003; Hoehne-Reitan and Kjorsvik, 2004).

Karaciğer, pankreasla birlikte sindirim işlevinde görev alarak pankreasla birlikte proteolitik aktivite işlevi görür. Karaciğer ayı zamanda bilirubin ve biliverdin adı verilen safra pigmentlerini de ihtiva eder. Ayrıca bu safra tuzları yağların hidroliz edilmesini sağlar ve bağırsağın alkalinitesini düzenler. Bununla birlikte karaciğer safra salgısı dışında glikojen, yağ, A ve D vitaminlerini depo eder. Kan hücrelerinin yıkımı, üre ile ürik asit gibi maddelerin oluşumunda görev yapar (Demir, 2006).

Morfolojik gelişim ile birlikte safra sentezlenmesi ve salgılanması larval dönemde karaciğerin fonksiyonel olarak tespit edilmesinde belirleyici faktörler olarak tanımlanır.

Pankreas

Pankreas çift işlevli bir organdır. Ekzokrin (dış salgı) ve endokrin (iç salgı) olarak adlandırılan 2 bölümden oluşmaktadır. Pankreasın yarısından fazla kısmını oluşturan ekzokrin doku, karbonhidratların sindiriminden sorumlu olan amilaz, sükröz, laktaz ve maltaz, yağların sindirimini sağlayan lipaz ve protein sindiriminde görev alan tripsin enzimlerini salgılayarak sindirime destek sağlamaktadır. Endokrin doku ise insülin hormonu salgılar (Demir, 2006). Pankreatik dokunun gelişimi larval dönemde genel olarak 3 aşamada gerçekleşir:

1. İlk olarak embriyolojik gelişimde, sindirim tüpünün üstünde dorsal tomurcuk yapısının da,
2. Ekzokrin hücrelerde farklılaşma ve ağız açılımından önce salgı kanalları ile kan damarları izlenmesi,
3. Larva yaşı ile birlikte hacimsel büyüme.

Embriyolojik gelişim esnasında, endokrin hücrelerde juvenil ve yetişkinlerde gözlemlenen farklılaşma yoktur. Lecitotrofik safha ile, pankreatik endokrin hücrelerde farklılaşma başlayarak ada şeklinde gruplar oluşur. Pankreas, genellikle ağız ve anüsün açılımıyla fonksiyonel hale gelmekte ve salgılama yapmaktadır. Bu süreçte tripsin, kimotripsin, elastaz ve peptidaz enzimleri salgılanır. Bu enzimler pH değerinin 8.0-9.0 olduğu durumlarda sindirim aktivitesine katılırlar. Pankreastaki enzimler, acinar hücrelerince sentezlenerek zimojen granülleri halinde depolanmaktadır. Ekzokrin pankreastaki acinar hücrelerinde ağız açılımıyla birlikte zimojen granüller görülür. Burada tripsin enzimi anahtar rol oynayan proteolitik enzim olup inaktif formda (tripsinojen) salgılanır. Ancak bu enzim enterokinaz enzimi aracılığıyla aktif duruma geçer. Tripsin enzimi ayrıca zincirleme olarak diğer proteolitik enzimler olan kimotripsin, elastaz, lipaz, kollejenazı da aktive eder. Ekzokrin pankreas tarafından sentezlen enzim ve salgılar intestinal boşluğa (lümen) dökülür ve bu enzimler tripsin tarafından aktif hale getirilir. Ekzokrin dokulardaki değişimden sonra hacimsel büyüme, zimojen granüllerinin sıklığının artışı ile beraber, doku boyutunda, sentezlemede ve salgılamada artış şeklinde

kendini gösterir. Bununla birlikte asidik proteaz grubuna dahil olan pepsin ve pepsin-like gibi enzimler genel olarak fonksiyonel mide oluşumu ve gastrik bezlerin işleve başlaması ile pH 1.0-2.0 arasında olan asidik ortamda sindirim aktivitesinde görev alırlar (Zambonino et al., 1997; Cahu et al., 2003).

Mide

Mide, besinleri kimyasal ve fiziksel olarak parçalayan ve asidik yapıya sahip sindirim organıdır. İç kısmı mukoza adı verilen örtü ile kaplı olup sindirim sıvıları olan mukus, sindirim enzimleri, hormonlar, hidroklorik asit (HCl) ve diğer elementler buradan salgılanmaktadır. Omurgalılarda midenin başlıca görevleri; alınan besinleri depo etmek, pepsinojen ve HCl salgılamak, organın hareketini, şişip, gerilmesine olanak sağlayan kasların hareketi ile birlikte alınan besinleri ve gastrik sıvıları karıştırmaktır. Farklı morfolojik yapıya sahip mide şekilleri mevcuttur. Y, V, J şeklinde mide yapıları gözlenmektedir. Bütün mideler histolojik yapı olarak homojendir ve yüksek omurgalılarınkinden en azından fonksiyon olarak çok az farklılıklar göstermektedir (Stevens and Hume, 2005).

Birçok türde mide, açılımdan sonra bağırsak ve özafagus arasındaki bölgede farklılaşmaya başlasa da, mide sindirim sisteminde farklılaşan en son organdır. Bu safhada, mide kübikten sütuna değişen yapıda epitel hücre kümesinden oluşmaktadır. Sazan gibi bazı türlerde mide tüm hayatları boyunca oluşmaz iken diğer bazı türlerde ise açılımda görülmeyen mide yaşamlarının ilk haftalarında gelişmeye başlar. Larval gelişim devam ederken mide mukozası gelişir ve katlanır. İnce granüler stoplazma ile epitel hücreler uzar ve bu sütun benzeri epitel hücreler basal ve merkezi kısımlarında oval bir nukleus ve apikal uçlarında kısa mikrovilli bulundurlar. Gastrik mukozayı örten epitel hücreler enine katlanarak, gastrik bezlerin farklılaşacağı gastrik çukurları oluştururlar. Midenin gelişmesi ve fonksiyonellik kazanması başlıca besinlerin mekanik ve enzimatik sindirimini arttıran gastrik bezlerin farklılaşması ile ilişkilidir. Mide genel olarak; ayrı sindirim fonksiyonlarını yerine getirebilmek için anatomik ve histolojik uyumlar göstererek kardiyak (anterior), fundik ve pilorik (posterior) bölge olmak üzere üç bölüme ayrılır. Her bölgedeki mukozaya ait epitel tek sıralı ve katlanmış yapıdadır.

Kardiyak bölgedeki katlanmalar normal olarak sığ, bununla birlikte fundik ve pilorik bölgedekiler ise daha derindir. Genel olarak kardiyak bölgedeki epitel hücreler şekil bakımından kübik yapıdadır. Midenin geri kalan kısmında ise epitel hücreler, silindirik (sütun benzeri) yapıda olmaktadır. Kardiak bölge; goblet hücrelerden yoksun, basal çekirdeğe sahip basit, kısa, silli epitel hücrelerle örtülü birkaç uzunlamasına mukosal kıvrımlara sahiptir ve midenin anterior kısmını oluşturmaktadır. Fundik bölge basit, uzun ve silindirik yapıda epitel hücreler ile örtülüdür (Zambonino Infante et al., 2008).

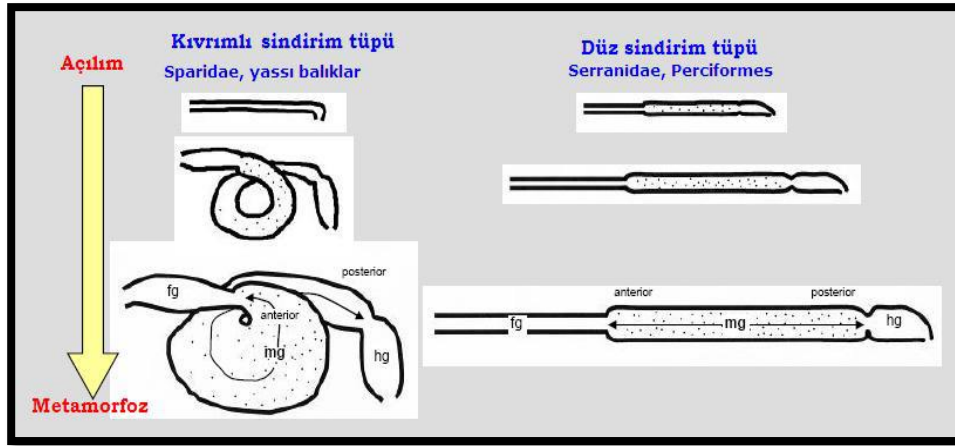
Gelişimin daha sonraki aşamalarında bağ dokusunun kalınlaşmış bir tabakasından ve sindirim sistemi epitelini sıkacak derecede saran düz kas hücrelerinin dairesel şekilde kümeleşmesinden oluşan, ilk olarak sindirim kanalının gastrik bölgesini özafagustan ve daha sonra pilorik bölgeyi anterior bağırsaktan ayıran büzgen kas oluşumu görülür. Bu oluşumlar larval gelişim esnasında gastrik bezlerin görülmeye başlandığı dönemde oluşarak bağırsağa geçen besinlerin mideye geri dönmesine engel olur. Bu yapı mide ve bağırsak yapısının farklı pH değerlerinde çalışmasına imkan sağlar (Zambonino Infante et al., 2008).

Morfogenezis devam ederken midenin kardiyak ve fundik bölgesinin epiteli enine olacak şekilde katlanır ve gastrik lümene açılan gastrik bezlerin ilk olarak oluştuğu gastrik çukurları oluşturur. Boru şeklindeki gastrik bezler genel olarak lamina propriada yerleşmiş halde bulunur ve gevşek bağ dokusuyla çevrilidir. Bu bezler; HCl ve enzim salgılayan oksintopeptik hücreler olarak adlandırılan tek çeşit hücre tipinden oluşmaktadır. Gastrik bez salgısı olan pepsinojen ve hidroklorik asit başlıca, çok düşük etkili bir işlem olan proteinlerin hücre içi pinositotik sindirimini yerini alan ve membran taşınımı ile takip edilen hücre dışı protein sindirimini sağlamaktadırlar (Govoni et al., 1986). Histokimyasal olarak gastrik bezler glikojen, nötral ve özellikle karboksil glikokonjugat ile farklı aminoasitlerce zengin proteinler içerir. Proteinler özellikle arjinin, triozin ve triptofan açısından zengindir. Bu aminoasitler pepsinojen gibi enzimatik öncülerin sentezlenmesi ve salınımıyla ilgilidir (Ortiz-Delgado et al., 2003). Midenin epitel hücreleri boyunca nötral mukosubstances salgılayan goblet hücreleri bulunmaktadır. Bu nötral mukosubstances salgılarının başlıca görevleri, gastrik bezlerde üretilen enzimlerin ve HCl'nin neden olacağı oto sindirimden mide epitelini korumaktır. Midenin

pilorik veya posterior kısmı nispeten boyca kısa ve kısa silli, silindirik epitel ile örtülüdür ve katlanmış mukozada gastrik bez görülmez (Zambonino et al., 2008). Midedeki nötral mucin varlığı disakkarit ve kısa zincirli yağ asitleri gibi kolay bir şekilde sindirilebilen maddelerin emilimi ile ilgilidir. Midenin kardiyak ve pilorik bölgelerinde görülen mikrovilusların bol miktardaki mukoz örtüsünün dağılımına ve düzenlenmesi ile birlikte alınan besin maddesinin hareketinde sindirim ile ilgili kaslara yardım eder. Mide ile pilorik çekumun fonksiyonel gelişimi, larva dönemden juvenile geçişe ilişkin gelişimler olup (Tanaka, 1971; Govoni et al., 1986), metamorfoz sürecinde türler arasında önemli farklılıklara neden olur (Zambonino Infante et al., 2008).

Bağırsak

Yumurtadan yeni çıkan larvada, bağırsağın henüz ilkel şekli olarak tanımlanan sindirim tüpü görülür. Bu sistem sindirim sisteminde yer alan en uzun yapı olup gastrik bez ve sfinkter oluşana kadar sindirim tüpü veya kanalı, gastrik bez ve sfinkter oluştuktan sonraysa bağırsak olarak adlandırılır. Bağırsak abdominal boşluğun büyük bir kısmını işgal eden ve gelişim sırasında ilk olarak farklılaşan aynı zamanda sindirim sisteminin en uzun parçasını oluşturan sindirim organlarından biridir. Açılım sırasında pürüzsüz bir lümen ile birlikte farklılaşmamış düz bir tüp şeklindedir. Yeni yumurtadan çıkmış bir larva; basit bir silindirik epitel ile örtülmüş ilkel bir bağırsağa sahiptir. Lecitotrophic (endojen beslenme) dönemde bağırsağın posterior kısmı kıvrılmakta ve intestinal kapakçık veya ileorectal valf; bağırsağı postvalvular (posterior) ve prevalvular (anterior) olmak üzere intestinal mukozayı daraltarak iki bölgeye ayıran bir yapı olarak oluşur. Bağırsak gelişimi devam ederken mukoza katlanmaları artar ve abdominal boşluğun çoğunluğunu kaplayacak şekilde kıvrılır. Bu morfoanatomik değişiklikler azalan abdominal boşluk içerisinde sindirim tüpünün artan uzunluğunu sığdırmak veya yerleştirmek, alınan besinlerin miktarındaki artış ile birlikte sindirim ve bağırsak yüzeyindeki emilimi arttırmak için gerçekleşmektedir (**Şekil 2.2**).



Şekil 2.2 Larvalarda sindirim tüpü gelişimi

Bu safhada, intestinal mukoza birkaç kısa katlanma ile birlikte çoğunlukla doğrusal bir yapıdadır. Birçok türün, anterior ve posterior bağırsakları histolojik olarak incelendiğinde farklılık görülmez. İki bölgede de basal nükleuslu, hafifçe basofilik sitoplazmalı ve belirgin şekilde eosinofilik mikrovile sahip basit yapıda silindirik bir epitele sahiptir. Bağırsak epiteli; biri dairesel ve iç, diğeri boyuna ve dış olmak üzere çok ince bir bağ dokusu ile birbirinden ayrılmış iki katmandan oluşmuş ince bir kas tabakası ile sarılmıştır. Posterior bağırsak kübik epitel ile örtülü, kıvrımlardan ve goblet hücrelerinden yoksun kısa bir rektal bölge ile birlikte son bulur.

Histolojik organizasyona göre bağırsak boyunca üç farklı bölge ayırt edilebilmektedir. Antero-median segment (pre-valvular intestine) pankreatik ve safra salgılarını alan bölgedir. Histolojik olarak çok sayıda goblet hücresi ile birlikte belirgin şekilde mikrovili içeren, pilorik sfinktere yakın olan ve bol miktarda bulunan silindirik epitel ile örtülüdür. Bağırsağın bu kısmı lipid emiliminin gerçekleştiği başlıca bölgedir (Diaz et al.,1997; Olsen et al., 2000). Bununla birlikte; bazı çalışmalarda, levrek gibi kısa sindirim sistemi olan karnivor balıklarda, bağırsağın posterior ve rektal bölgesinde lipid sindiriminin ve emiliminin devam ettiği tespit edilmiştir (Garcia- Hernandez et al., 2001).

Proteinlerin peptid ve amino asitlere hidroliz edilmesi ön ve arka bağırsakta tripsin, kimotripsin ve aminopeptidas aktivitesine bağlı olarak gerçekleşir. Protein

emilimi sindirim tüpünün bu bölgesinde gerçekleşir (Deplano et al., 1991). Bu bölgede protein emilimini hücre içi sindirim faaliyetleri gerçekleştirmektedir. Bağırsak lümeninden makromoleküllerin pinositik emilimi de bu bölgede meydana gelmektedir. Bağırsağın posterior kısmı, larval dönemde aktif olarak emilimde görev alır. Bununla birlikte, asidofilik supranuclear vakuoller genel olarak larvanın arka bağırsak kısmında görülür (Govoni et al., 1986). Bu oluşumlar, mide gerçek durumuna geçene kadar, pinositoz yardımı ile protein makromoleküllerinin emilmesini sağlar. Ancak bu emilim basit moleküllerin emilmesi şeklindedir. Larvada bağırsak bölgesinde bulunan enterositler, yetişkin bireylere benzese de aktivite sınırlıdır. Arka bağırsağın son bulmasının ardından, kübik epitel hücreler ile örtülü, çoğunlukla katlanma ve goblet hücresi bulunmayan kısa bir bölümden oluşan rektal bölüm ise anüs ile sonlanmaktadır. Bu kısımda, mesane rektumun posteriorundan sindirim kanalının dışına doğru açılır (Zambonino et al., 2008).

Bağırsak epitelinde dört farklı hücre tipi ayırt edilmektedir. Bunlar enterosit, enteroendokrin hücreler, rodlet hücreleri ve goblet hücreleridir. Enterositler, bağırsakta en çok ve en fazla bulunan epitel hücreleridir ve besin emilimi, intraselüler sindirim ve osmoregülasyon ile ilgili olarak görev yapmaktadırlar. Anteriör bağırsaktaki enterositler difüzyon ile aminoasitler ve lipid emiliminden sorumlu iken, distal bağırsaktaki enterositler protein makro moleküllerinin pinositoz ile emilimi için organize olmuştur.

Goblet hücreleri, bağırsak epitelinde ikinci derecede en fazla ve dağınık halde bulunan hücrelerdir. Bu hücrelerin epitel ve lümen içeriği arasında fiziksel bir bariyerin üretimi için organize olduğu bilinmektedir. Mucin salgılayan goblet hücreleri bu karmaşık mukopolisakkarit bariyerin kurulmasında esas teşkil etmektedir. İntestinal goblet hücreleri nötral ve asit glikoprotein karışımı içerirler ve kimyasal özellikleri larval dönemden juvenil döneme ve daha sonraki yetişkin dönemde değişmez. Bağırsağın diğer bölgelerinde sindirim mukozasını koruyup besin emilimini kolaylaştırırken, rektal ve distal bağırsak goblet hücrelerinde üretilen mukosubstances fekesi yağlar. Goblet hücreleri tarafından üretilen asidik glikoproteinlerin varlığı proteinlerin veya protein kısımlarının, pinositoz yoluyla bu

bileşiklerin sindirileceği yer olan eritrositlere transferini gerçekleştirir (Domenghini et al., 1998).

Enteroendokrin hücreler, sinir sistemi ile işbirliği içinde gastrointestinal sistemin muskular ve salgısal aktivitesini kontrol ve koordine eden peptid hormonlarının üretimi ve salınımını gerçekleştirir. Bağırsak lümenine doğru dar bir uzantı ile birlikte iğ veya piramit şeklinde bir yapıdadırlar. Dağılımları ve farklılaşma zamanları türlere göre farklılık göstermektedir. Kıvrımlı sindirim sistemine sahip türlerde, enteroendokrin hücreler nadir olarak anterior bağırsağın haricinde görülmez. Bu hücrelerin tamamen sindirilmemiş besinlerin tutulduğu bölgelerde sınırlandırılmış olduğu görülmüş ve sonuç olarak sindirim hormonlarının salınımını kontrol etmek için sindirim işlevi sırasında besinlerden gelen kimyasal sinyalleri aldıkları belirtilmiştir. Yumurtadan çok iyi bir şekilde farklılaşmış bir sindirim sistemine sahip olarak çıkmış olan türlerde enteroendokrin hücreler açıktan hemen sonra bulunabilmektedir (Kamisaka et al., 2003). Bununla birlikte sindirim sistemi tam gelişmemiş pelajik bazı türlerde bu hücreler eksojen beslenmeye başlamadan hemen önce gözükmetedir (Kurokawa et al., 2000).

Bağırsak rodlet hücreleri; osmoregülasyon, iyon transferi ve spesifik olmayan bağışıklık yanıt gibi özel fonksiyonlarla ilgili olarak düzenleyici bir unsur olduğu düşünülmektedir (Manera and Dezfuli, 2004).

Pilorik çekum

Bağırsağın kendi içinde bağırsağın uzunluğunda ve kalınlığında herhangi bir artışa yol açmadan bağırsak yüzey alanını arttırmak için modifiye olmuş bir yapı olarak düşünülmektedir. Bağırsağa ait bu üyeler hiperosmatik ortama maruz kalmış balıklarda su alınımlarını ve osmoregülasyon işlevi ile ilgilidir. Parmak benzeri bu yapılar emilim için bağırsağın ön kısmında yüzey alanını arttırmaktadır. Buna ek olarak pankreatik enzimlerin yardımı ile birlikte sindirim sürecinde yer almaktadır. Bazı araştırmacılar pilorik çekumu yardımcı besin deposu ve bağırsak florası için üreme bölgesi olarak düşünmektedirler (Buddington and Diamond, 1987).

Pilorik çekumun mideden bağırsağa gelen asidik yumuşak besini nötralize ettiği belirtilmiş, bu durum midesi olmayan balıklarda bu yapıların yokluğu ile desteklenmiştir (Rust 2002). Pilorik çekumun histolojik organizasyonu bağırsak yapısının histolojik organizasyonuna benzemektedir. Pilorik çekum ve midenin gelişimi, larval dönemin bittiği, juvenil dönemin başladığını karakterize eden anatomik sindirim özelliklerinin oluşumundaki gibi sindirim kanalının farklılaşmasındaki son adımı oluşturmaktadır. Bununla birlikte, türler arasında bazı farklılıklar da tespit edilmektedir. Levrek (*Dicentrarchus labrax*), mezgıt (*Melanogrammus aeglefinus*), tatlı su levreği (*Stizostedion lucioperca*) gibi bazı türlerde pilorik çekumun morfolojik gelişiminin gastrik bezlerin farklılaşması ile eş zamanlı olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir (Garcia-Hernandez et al., 2001; Hamlin et al., 2003; Ostaszewska et al., 2005).

2.4 Histolojik Analiz

Histolojik inceleme çeşitli organlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik açıdan değerlendirilmesi olup dokular mikroskopik düzeyde incelenebilir. Bu kapsamda hayvan ve bitki dokularının yapılarını açıklayarak, bunların işlevleri hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlar. Aynı zamanda dokulardan meydana gelen organların ve çeşitli dokuların birbiri ile olan ilişkilerini de tanımlar. Bu kapsamda organizmanın en küçük canlı birimi olan hücrenin temel yapısal özellikleri ve işlevleri incelenebilir. Histoloji laboratuvarlarında dokuların incelenmesi ve temel hazırlıklar için yapılması gereken işlemler bulunmaktadır.

Fiksasyon (Tespit): Bu işlemin amacı dokunun en iyi biçimde stabil hale getirilmesidir. Bu kapsamda amaca yönelik olarak farklı solüsyonlar kullanılmakla birlikte en çok kullanılan solüsyon formalindir. Uygun sabitleme için % 10`luk konsantrasyon yeterlidir. Bunun dışında % 2`lik gluteraldehit solüsyonu, % 70-90 etanol solüsyonu, Bouin solüsyonu ve Zenker solüsyonu kullanılabilir. Bu durum doku yapısına göre değişir. Örneğin dokularda yağ oranı fazla olduğunda alkol uygun değildir. Uygun stabilizasyon için; doku hacminin on katı miktarda solüsyon gerekir. İşlem sonrasında dokularda sertleşme meydana geleceği için kapların ağız kısımlarının materyal sertleştikten sonra, parçalanmadan ve kolaylıkla çıkarılmasına imkan tanınmalıdır. Ayrıca örneklerin konulduğu kaplar buharlaşmaya

ve dökülmeyi engellemelidir. Örnekler tamamen solüsyon içinde kalacak şekilde yerleştirilmeli ve en az bir gece süresince işlem devam etmelidir.

Dehidratasyon (Suyunu alma): Dokuların mikrotom ile mikron düzeyinde kesilebilmesi için sert olması gerekmektedir. Bu kapsamda doku içindeki suyun çıkması ve yerine alkolün geçmesi gerekmektedir.

Saydamlaştırma: Sonrasında ise alkol yerine ksilol ve son olarak da ksilol yerine parafin geçmelidir. Ksilol uygulaması yağları eriterek dokunun saydamlaşmasını sağlar. Uygulama süresi doku yapısına bağlıdır.

Parafinizasyon: Bu aşamada dokular parafinin özelliğine göre 58-65 °C' de 2 saat bekletilir. Böylece dokulardaki ksilolün yerine parafinin geçmesi sağlanır. Ancak bu işlem kemik dokularında yapılırken kalsiyumun dışarı çıkarılması gerekmektedir. Bunun için % 5'lik formik asit veya % 8'lik HCL + % 10'luk formik asit solüsyonları kullanılmalıdır. Bu uygulamaya dekalsifikasyon ismi verilir.

Blok hazırlama: Sertleşen dokuların kesilecek yüzleri alt tarafa gelecek biçimde parafin içine gömülerek bloklar hazırlanmalıdır. Blokların soğumasını takiben kesilmeye hazır hale gelmiş olur.

Kesit hazırlama: Parafin ile kaplanmış örnek mikrotom ile kesilir. Bloktan alınan kesitler 35-40 °C'de su banyosuna (benmari) atılır ve kıvrılan dokunun düzgün şekil alması sağlanır. Düzgün hale gelen doku lam vasıtasıyla sudan alınır. Lamalar etüve yerleştirilir ve doku içindeki parafinin erimesi sağlanır. Bu şekilde lam üzerinde sadece örnek alınan dokunun kalması sağlanır.

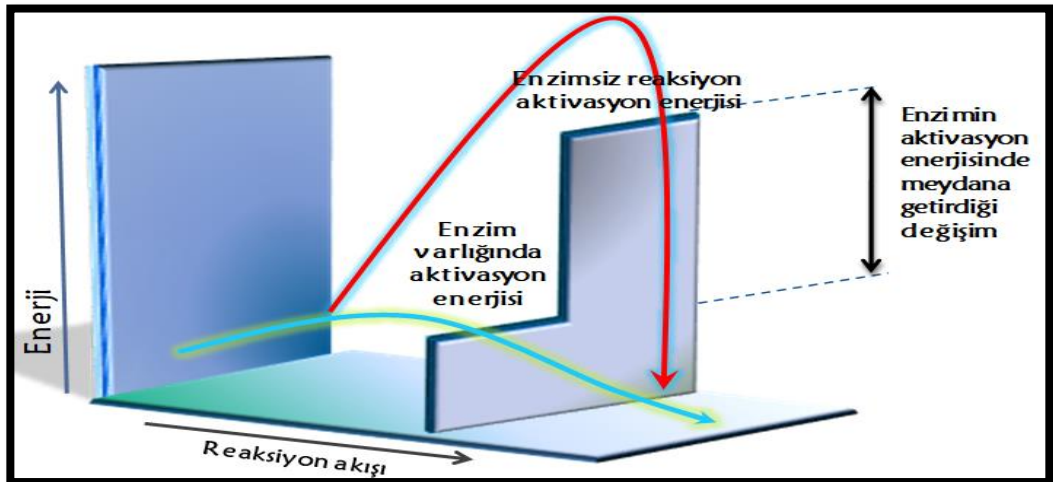
Boyama: Dokuların boyanması için öncelikle örneklerin tüm parafin kalıntılarından temizlenmesi gerekmektedir. Bu kapsamda dokular temizlenmek ve saydamlaştırılmak için en az 1.5 saat ksilolde tutulmalıdır. Sonrasında ise saf alkolden başlanarak örnekler alkol serilerinden geçirilir ve boyama işlemi uygulanır.

Boyanmamış kesitlerde doku elemanları renksiz olduğundan ışık mikroskobu ile histolojik inceleme ve ayırım yapmak zordur. Bu kapsamda dokuların boyanması

gerekmektedir. Hücre ve dokular özelliklerine göre farklı boyalara cevap vermektedir. Bu nedenle boyaların çoğu suda, bazıları ise alkol veya asetonda eritilerek hazırlanmaktadır. Bazen bir boyama yapılırken genelde birçok boyama yöntemi uygulanmaktadır. Bu kapsamda genel olarak hematoksilin-eosin tipi birleşik boyama yöntemi kullanılmaktadır. Bu boyama şekli dışında, PAS, AZAN, May-Giemsa gibi birleşik farklı boyama yöntemleri de kullanılmaktadır. Bu boyama yöntemleri dokunun özelliğine ve araştırılan doku kesitine bağlı olarak karar verilir. Bu kapsamda dokunun takibi ve kullanılan boyalar su ürünlerinin dokusuna uygun olarak seçilmelidir. Boyama işleminden sonra entellan adı verilen özel bir madde ile dokular kapatılarak kurumaya alınır. Bu aşamadan sonra hazırlanan preparatlar mikroskop yardımı ile incelenmeye hazır hale gelir.

2.5 Enzimler

Enzimler, kimyasal tepkimelerin hızını artıran (kataliz) biyomoleküllerdir. Enzimlerin tamamı protein yapısındadır. Enzim tepkimelerinde, bu sürece dahil olan moleküllere substrat adı verilir. Enzimler bunları farklı moleküllere, ürünlere dönüştürür. Canlı hücredeki tepkimelerin büyük çoğunluğu hızlı olabilmek için enzimlere ihtiyaç duyar. Enzimler substratlar için son derece seçici olduğundan ve birçok olası tepkimeden sadece birkaçını hızlandırdıklarından dolayı, bir hücredeki enzimlerin kümesi o hücrede hangi metabolik olayların gerçekleşeceğini belirler (Garrett and Grisham, 1999) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Enzimlerin reaksiyondaki etkisi

2.5.1 Enzimlerin Yapısı ve Sınıflandırılması

Bazı enzimler ki bunlar basit enzim olarak adlandırılır etkinlik için ek bir bileşiğe ihtiyaç duymazlar. Ancak bileşik enzim olarak adlandırılanlar aktivite için koenzim denen ve protein yapısında olmayan moleküllere gereksinim duyarlar. Koenzimler inorganik veya organik bileşikler olabilir. En çok bilinen koenzimler NAD (Nikotinamid adenin dinükleotid), FAD (Flavin adenin dinükleotid) ve NADP (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) gibi hidrojen taşıyıcı moleküllerdir. Bununla birlikte, Ca^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} , K^{+} , Na^{+} , Cu^{+2} ve Fe^{+2} gibi metal iyonları birçok enzimde kofaktör olarak işlev görür. Kofaktöre ihtiyaç duyan ancak buna bağlı olmayan enzimler *Apoenzim* veya *Apoprotein* olarak adlandırılır. Bu kapsamda kofaktör ile beraber olan apoenzime Holoenzim adı verilir ki bu o enzimin aktif biçimidir (Trevor Palmer, 1985). Çoğu kofaktör enzime kovalent bağlı değildir ancak ona sıkıca bağlanmıştır. Uluslararası Enzim Komisyonu enzimleri temel olarak 3 ilkede sınıflandırmıştır. Bunlar;

a) Sadece tek bir reaksiyonu katalizleyen enzim isimleri sonuna –az eki almaktadır. Eğer birden fazla enzimi içeriyorsa bu isimlendirme kullanılmaz.

b) Enzimler katalizledikleri reaksiyon sonucuna bağlı olarak adlandırılır ve sınıflandırılırlar. Bu kapsamda enzimler, katalizlediği reaksiyonun bütün aşamaları ve detaylarıyla tespit edilmeden sistematik olarak adlandırılmazlar.

c) Enzim Komisyonu (E.C.) tarafından belirlenmiş kurallar doğrultusunda gerçekleştirilen adlandırma, reaksiyonlarda geri dönüş sağlandığı deney ortamında göstermiş olsa da, enzim sınıflanmasında, sadece reaksiyonun dikkat edilmesi gereken yönünü tanımlar. Buna karşın, önerilen isimler genel olarak ilgili reaksiyonların canlı ortamdaki yönlerini önemsemektedir.

Enzim Komisyonunca 1961 yılında yayınlanan raporda enzimlerin katalizledikleri reaksiyonlara göre 6 gruba ayrılmıştır. Bütün gruplarda bulunan enzimler E.C. şeklinde kısaltılmış 4 rakamdan oluşacak şekilde isimlendirilmiştir. Bu rakamlardan ilki enzimin 6 ana gruptan hangisine ait olduğunu belirtirken, ikincisi alt grubu, üçüncü alt-alt grubu, dördüncü ve son rakam ise enzimin alt-alt

gruptaki seri numarasını belirtmek amacıyla kullanılmaktadır. Örnek olarak tripsinin kodu E.C.3.4.21.4, amilazın E.C.3.2.1.1 ve lipazın kodu ise E.C.3.1.1.3 şeklinde adlandırılmıştır (Dinçkaya, 1997).

Enzimler temel olarak 6 ana grupta tanımlanmaktadır.

a) Oksidoredüktazlar: Genel olarak biyolojik oksido-redüksiyon (redoks) reaksiyonlarını kataliz yapan enzim grubudur. Kataliz yaptıkları indirgenme reaksiyonlarında akseptör olarak oksijen kullandıklarından oksidaz olarak adlandırılırlar. Örnek: Laktat dehidrogenaz (LDH).

b) Transferazlar: Bazı grupların bir bileşikten diğer bir bileşiğe aktarılmasını kataliz yapan enzim grubudur. Glikozil, metil, amino, açıl, veya fosfat gibi spesifik grupların bir maddeden diğer bir maddeye transferini katalizlerler.

c) Hidrolazlar: Genel olarak C-O, C-N, C-C ve bazı diğer bağların hidrolitik reaksiyonlarını katalizleyen enzimler grubudur. Örnek Lipaz, tripsin, kimotripsin.

d) Liyazlar: Organik molekül gruplarının (C-O, C-N, C-C) hidrolitik olmayarak eleme yolu ile ayrılmasını kataliz yapan enzim grubudur. Örnek Karbonik anhidraz, piruvat dekarboksilaz,.

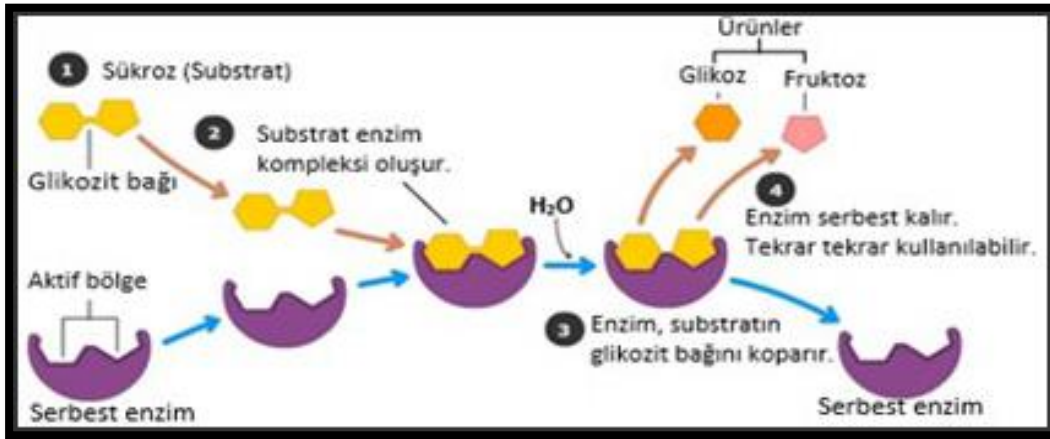
e) İzomerazlar: Substrat maddenin molekülü içindeki geometrik değişikliklerini ya da yapısal olarak yeniden düzenlenmeyi katalize eden enzimatik gruptur. Örnek: D-glukoz-6-fosfat ketol izomeraz, D-gliseraldehid-3-fosfat ketol-izomeraz.

f) Ligazlar: ATP ya da başka bir nükleozittrifosfattaki bir adet pirofosfat bağının hidroliz edilmesi ile iki molekülün birbirine bağlanması sentezini sağlayan enzimler grublarıdır. Örnek: Asparagin sentetaz, asetil-CoA karboksilaz.

2.5.2. Enzimlerin Özellikleri

Enzimler canlı hücreler tarafından biyolojik şartlarda sentez edilmektedir. Ancak aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmalarına gerek yoktur. Enzimler özel yapıya sahip ve genel olarak büyük proteinli moleküllerdir. Genler proteinlerdeki amino asitlerin primer dizilişini sağlamaktadır. Amino asitlerin özel dizilişi sayesinde enzimler intermedier metabolizmasını oluşturur ve birçok kimyasal reaksiyonu yönetirler. Enzimler bazen koenzime, bazen de kofaktöre ihtiyaç duyar. (Trevor Palmer, 1985; Karlson, 1992, Gözükara, 1997). Enzimlerin genel yapısal işleyişleri 8 temel biçimde açıklanmaktadır.

1. Enzim tarafından etkilenen maddelere *substrat* denir. Enzim-substrat ilişkisi enzimin spesifitesini oluşturur. Substratlarsa sadece belli enzimler ile reaksiyon verirler. Enzim moleküllerinde aktif bölge olarak adlandırılan özel kısım yani reaksiyon merkezi yer alır. Enzim, ilgili substrata geçici olarak aktif bölgeden bağlanır ve enzim-substrat birlikteliği gerçekleşir. Bu kapsamda substrat enzimin dış yüzeyinden etkilenir ve sonrasında da substrat parçalanarak bir veya iki ürün oluşur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Substrat-Enzim mekanizması (<http://www.biyolojiportali.com/konu-anlatimi/2/31/Enzimler-Canlilarin-Yapisinda-Bulunan-Organik-Bilesikler-4>)

2. Organizmalarda yaşamsal sürecin devam edebilmesi için meydana gelen reaksiyon sayısı kadar enzim bulunur ve bu enzimlerin her biri belirli reaksiyonları katalize etmekten sorumludur.

3. Enzimler çoğunlukla reaksiyonlarda çift yönlü çalışır. Fakat sindirim enzimleri için bu durum söz konusu değildir. Bunun nedeni ise oluşan ürünlerin organizma tarafından hemen enerji olarak kullanılması ve genel olarak sindirim enzimlerinin inaktif biçimde sentezlenerek aktif hale geçebilmesi için başka bir tepkimeye ihtiyaç duyması bu kuralı değiştirmektedir.

4. Belli bir apoenzim, belli bir koenzim veya kofaktörle birlikte çalışırken, koenzim ve kofaktörler için bu durum söz konusu değildir. Bundan dolayı enzim çeşidi ve sayısı, kofaktör ile koenzim sayısından yüksektir.

5. Enzimler çok hızlı çalışırlar ve bu aşamada düşük enerji ve ısıdan yararlanırlar. Örneğin; karbonik anhidraz C enzimi 60 saniye içinde 36 milyon, amilaz enzimi 1.1 milyon ve kimotripsin enzimi ise 6.000 molekülü ürüne dönüştürebilir.

6. Enzimler girdikleri tepkimelerden değişme uğramadan çıkarlar ve aynı reaksiyonu tekrar tekrar katalize ederler. Bu kapsamda devamlı kullanım sonucu bozulan enzim parçalanmakta olup ilişkili hücre tarafından tekrardan sentezlenmektedir.

7. Enzimatik faaliyetler belli bir düzen ile gerçekleşir. Herhangi bir reaksiyonda meydana gelen ürünler, bir sonraki reaksiyonun substratı haline gelebilirler. Örneğin amilaz enziminin nişastayı parçalaması sonucu ürün olarak maltoz oluşur ve maltoz, maltaz enzimi için substrat oluşturur.

8. Enzimler aktif veya inaktif olabilir. İnaktif durumdaki enzimler isimlendirilirken katalizör görevi gördüğü reaksiyonun sonuna –jen (pepsinojen, tripsinojen ve kimotripsinojen) eki gelir. Bununla birlikte enzim aktif konumdaykense katalizör görevi gördüğü reaksiyonun sonuna –az eki gelir ki bunlara lipaz ve amilaz örnek gösterilebilir (Trevor Palmer, 1985; Gözükkara, 1997).

2.5.3 Enzim Aktivite Birimleri

Enzimatik reaksiyon hızı, enzim yapısının etkinliği veya enzimin aktivitesi ile bağlantılıdır. Enzimin aktivitesi, o enzim tarafından katalizlenen enzimatik

reaksiyonun hızının, enzim etkisiyle en uygun koşullarda belirli sürede ürüne dönüştürülen substrat miktarına göre ifadesidir. Etkinliği veya aktivitesi fazla olan bir enzim, belirli bir sürede daha fazla substrat molekülünü ürün haline dönüştürür.

IU en çok kullanılan enzim aktivitesi birimidir. **1 IU enzim aktivitesi**, en uygun şartlarda, 1 dakika içinde 1 μ mol substratı değiştiren enzim etkinliğini ifade eder ki bu da 1 sn'de 16.67 nmol substratın ürüne dönüştürülmesine karşılıktır. Enzim aktivitesi, bazen katal olarak da ifade edilir. **1 katal enzim aktivitesi**, en uygun koşullarda, 1 sn'de 1 mol substratı değiştiren enzim etkinliğini ifade eder. Bunun yanı sıra enzim aktivitesi, spesifik aktivite olarak da söylenir. Bir enzim için **spesifik aktivite**, 1 mg enzim proteini başına düşen enzim ünitesi (IU veya katal) sayısıdır.

2.5.4 Enzimlerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Sıcaklık: Enzimler protein yapısında olduklarından özellikle ortam sıcaklığından yüksek oranda etkilenir. Enzimlerin iyi çalışabilmesi için gerek duyulan uygun sıcaklıklar 25-37 °C arasındadır. Yüksek ve düşük sıcaklık değerleri reaksiyon hızını düşürür. Yüksek sıcaklıklarda protein yapısı denatüre olarak enzimlerin yapısını bozarken, düşük sıcaklıkta enzimlerin yapısı bozulmaz ancak inaktif duruma geçilir. Enzim preparatları bu yüzden -80 ile -20 °C arasında saklanır.

pH: Enzimlerin reaksiyon hızları hidrojen iyonu konsantrasyonu ile ilişkili olup değişime açıktır. Enzimin en yüksek aktivite gösterdiği uygun pH derecesinin her iki tarafında (asid veya baz) enzim reaksiyonu yavaşlama eğilimi gösterir. Bu sebeple enzim için kullanılacak preparatlar hazırlanırken pH derecesinin sabit tutulabilmesi ortama bir takım tampon çözeltilerin eklenmesi ile mümkündür. Örneğin pepsin pH=1.5-2.5, amilaz pH=5.6-7.2, tripsin ve kimotripsin enzimleri pH=8-11 ve lipaz pH=7 değerlerinde çalışabilmektedir.

Enzim Konsantrasyonu: Enzimlerin görev yaptıkları reaksiyonların hızı, enzimin substratına doygun olduğu şartlarda enzim konsantrasyonuna bağlı bir şekilde lineer olarak artar. Bu durum enzim moleküllerinin birbirinden bağımsız

halde çalışması ile açıklanabilir. Bu sebeple ortamda ne kadar fazla enzim molekülü aktivite gösterirse reaksiyonda o kadar hızlı meydana gelir.

Substrat Konsantrasyonu: Enzim konsantrasyonunun sabit tutulması ile substrat konsantrasyonuna bağlı ulaşılan maksimum hız noktasına V_{max} adı verilir. Bu kapsamda, substrat konsantrasyonu açısından önemli bir durum da, ortamda aşırı miktarda bulunan substratın enzimi inhibe etmesi olayıdır. Ortamda çok fazla miktarda substrat bulunması, substrat moleküllerinin enzime bağlanmasını zor hale getirir. Buna ‘substrat inhibisyonu’ adı verilir.

Zaman: Enzim katalizli reaksiyon devam ederken reaksiyonun hızı düşmektedir. Bunun nedeni reaksiyon sürecinde oluşan ürünlerin kendi aralarında tepkimeye girerek ters yönde bir reaksiyon oluşturmaları, enzimin zaman içinde inaktive olması, reaksiyonu inhibe eden maddelerin meydana gelmesi ve substratın tükenmesidir. Bu faktörlerin etkilerinin ortadan kaldırılması için enzim çalışmaları çoğunlukla reaksiyonun başlangıç aşamasında gerçekleştirilir (ilk 1-3 dakika).

Diğer iyon ve kimyasal maddelerin etkisi: Enzimatik reaksiyonlar sırasında ortamda serbest halde ağır metal iyonlarının bulunması aktivite hızını azaltır ve enzim üzerinde inhibitör (engelleyici) etkisi gösterir.

Ayrıca, özellikle sindirim enzimlerinde olduğu gibi inaktif şekilde sentezlenen enzim yapılarının aktif konuma olabilmesi için bir takım iyon ya da enzim grupları ile reaksiyonda bulunmasına ihtiyaç vardır.

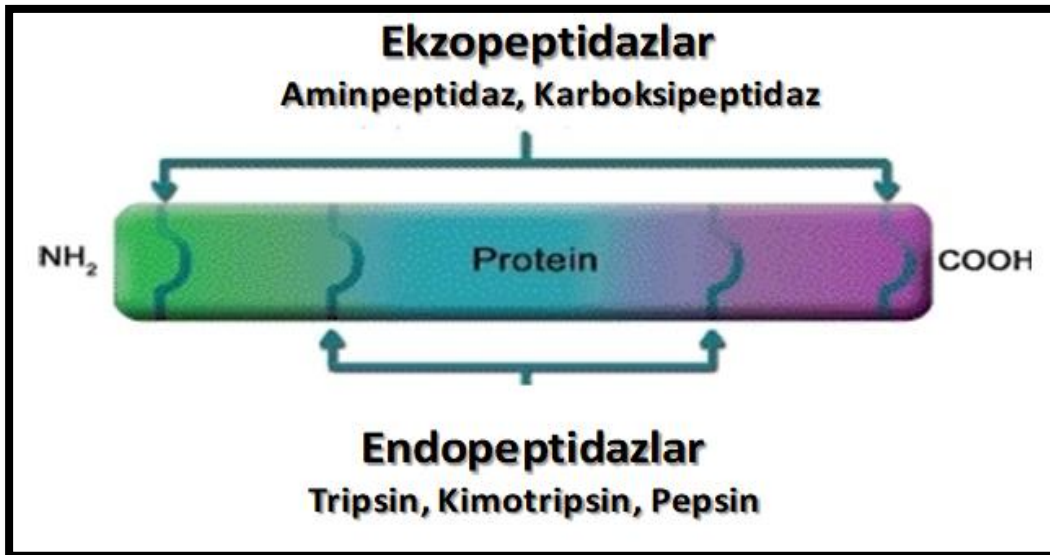
2.5.5 Sindirim Enzimleri ve Çalışma Prensibi

Fazla sayıdaki protein molekülleriyle birlikte bazı enzimler inaktif biçimde ve bir enzimin öncül molekülü olarak sentezlenir. Bundan sonra, proteinde bulunan bir veya daha fazla peptid bağının kopmasının sonucu olarak enzim aktif hale geçer. Aktif olan protein molekülü enzimin olduğu şartlarda, bu enzimin inaktif öncül şekline *Proenzim* ya da proteolitik enzimlerde olduğu gibi, *Zimojen Granülleri* adı verilmektedir (Trevor Palmer, 1985; Gözükara, 1997; Sterchi and Stöcker, 1999).

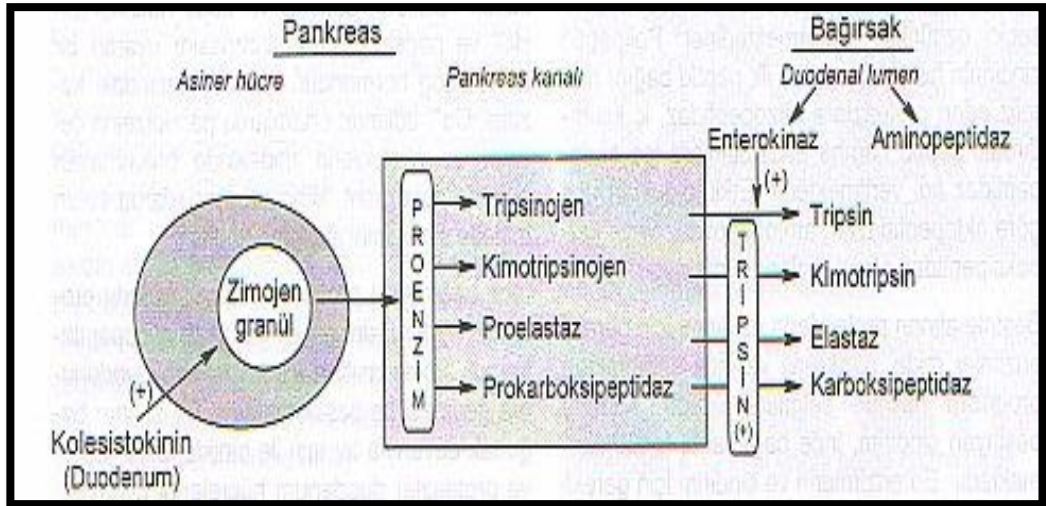
Proteinleri parçalayan sindirim enzimleri genel olarak pankreas ve mideden proenzim şeklinde sentezlenirler. Sentezlenen bu proenzimler peptid bağlarının kopmasıyla birlikte aktif hale geçerler. Bu enzimlerin inaktif durumda sentezlenmelerinin sebebi ise bu enzimlerin, sentezlendikleri hücrelere zarar vermesini önlemektir. Bu inaktif enzimler sadece sindirim kanalı içerisinde aktif hale geçerler.

a) Proteazlar: Proteazlar, protein ve polipeptidlerdeki peptid bağlarını, daha küçük peptid parçalarına ve aminoasitlere indirgeyen proteolitik enzimlerdir. Proteolitik enzimler, mide (pepsin), pankreas (tripsin, kimotripsin, elastaz), ve bağırsak (membran ve sitosolik enzimler) gibi sindirim sisteminin üç farklı bölgesinde aktivite gösteren enzimlerdir. Protein veya polipeptid zincirine göre aktivite seviyelerinde değişimler gözlenmektedir (Zambonino and Cahu, 2009).

Endopeptidaz veya enteroproteinazlar; peptid bağlarının uç kısımlarını hidrolize eden eksopeptidazların aksine, nonterminal aminoasitlerin peptid bağlarını hidrolize eden proteolitik enzimlerdir. Bu sebepten dolayı; eksopeptidazlar proteinleri monomer birimlerine indirgeyebilirken endopeptidazlar peptidleri monomer birimlere indirgeyemez (Şekil 2.5, 2.6; Tablo 2.6).



Şekil 2.5 Endopeptidaz ve eksopeptidazların çalışma mekanizması



Şekil 2.6 Proteolitik enzimlerinin çalışma mekanizması

(https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/103218/mod_resource/content/1/protein%20metabolizmas%C4%B1-bolum%201.pdf)

Tablo 2.6 Pankreas ve Mideden Proenzim O Sentezlenen Proteolitik Enzimler

Proenzim	Aktif Enzim	Salgılandığı Yer
Tripsinojen	Tripsin	Pankreas
Kimotripsinojen	Kimotripsin	Pankreas
Pepsinojen	Pepsin	Mide
Prokarboksipeptidaz	Karboksipeptidaz	Pankreas
Proelastaz	Elestaz	Pankreas

- **Pepsin;** Önce inaktif şekli olan propepsin (Pepsinojen) halinde salgılanır. Mide mukoza hücrelerinden salgılanan 42500 molekül ağırlıklı pepsinojen, HCl etkisiyle 35000 molekül ağırlıklı aktif pepsin haline dönüşür. Pepsin, polipeptit zincirindeki tirozin, fenilalanin, glutamat ve aspartat gibi amino asitlerin oluşturduğu peptit bağlarını parçalar ve peptonları oluşturur ve kısmen de serbest aminoasitler meydana gelir.

- **Tripsin;** pankreastan 24500 molekül ağırlıklı inaktif tripsinojen şeklinde salgılanır. Tripsinojen, ince bağırsakta enterokinaz veya tripsin etkisiyle aktif tripsin haline dönüştürülür. Tripsin, bir endopeptidazdır; aktif merkezinde

serin (183.AA) ve histidin (46.AA) bulunur. Tripsin, peptonlardaki arjinin ve lizin gibi bazik amino asitlerin oluşturduğu peptit bağlarını parçalar.

- **Kimotripsin;** pankreastan kimotripsinojen şeklinde salgılanır ve tripsin etkisiyle α -kimotripsin şekline dönüştürülür. α -kimotripsin, bir endopeptidazdır; aktif merkezinde serin (195.AA), histidin (57.AA) ve aspartat (102.AA) bulunur. α -kimotripsin, peptonlardaki fenilalanin, tirozin, lösin ve triptofanın oluşturduğu peptit bağlarını parçalar.

- **Elastaz;** proelastaz şeklinde salgılanır. Proelastaz da tripsin vasıtasıyla elastaz şekline dönüştürülür. Elastaz, elastindeki nötral alifatik zincirli amino asitlerin oluşturduğu peptit bağlarını parçalar.

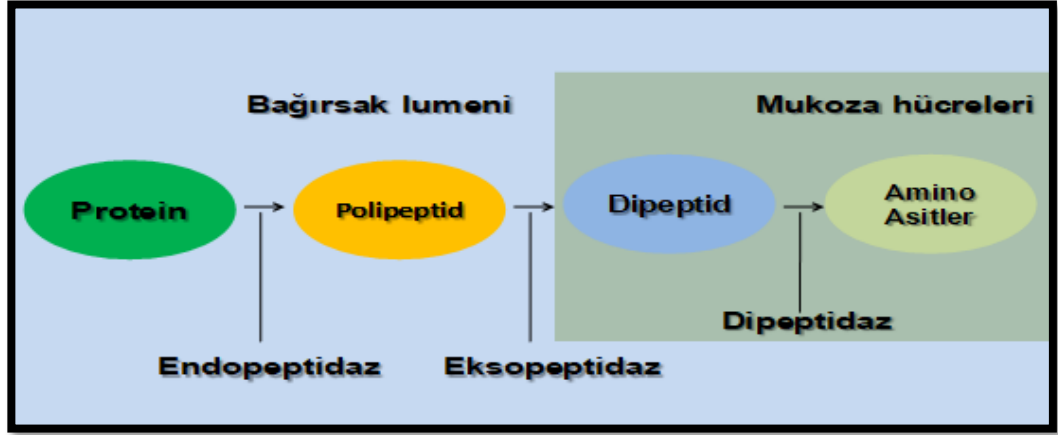
- **Karboksipeptidaz A;** prokarboksipeptidaz A şeklinde salgılanır. Prokarboksipeptidaz A da tripsin etkisiyle aktif olan karboksipeptidaz A şekline dönüştürülür. Karboksipeptidaz A, bir ekzopeptidazdır; oligopeptitlerin karboksil ucunda aromatik ve alifatik zincirli nötral amino asitlerin oluşturduğu peptit bağlarını ve dipeptitleri parçalar.

- **Karboksipeptidaz B;** prokarboksipeptidaz B şeklinde salgılanır. Prokarboksipeptidaz B de tripsin etkisiyle aktif olan karboksipeptidaz B şekline dönüştürülür. Karboksipeptidaz B, bir ekzopeptidazdır; oligopeptitlerin karboksil ucunda arjinin ve lizin gibi bazik amino asitlerin oluşturduğu peptit bağları parçalar.

- **Sitosolik ve membran enzimleri;** Leu-Ala peptidaz, Aminopeptidaz N, Alkalın Fosfataz peptidleri serbest aminoasitlere indirgeyerek protein sindiriminin son safhasını oluşturan ve protein sindirimi tamamlayan di- ve tripeptidazlardır.

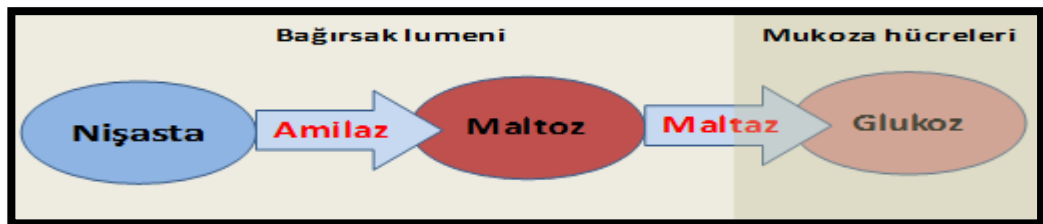
Besinler ile alınan proteinler; midede ısı ve mide hücreleri tarafından salgılanan ve mide öz suyunda bulunan HCl yardımıyla pH 1.0-2.0 aralığında denatüre olup, midede ve ince bağırsaklarda proteinaz ve peptidazlar yardımıyla parçalanırlar. Mideden ince bağırsağa gelen polipeptitler, ince bağırsak lümeni içinde tripsin, kimotripsin, elastaz gibi endopeptidazlar ve karboksipeptidaz A,

karboksipeptidaz B, aminopeptidaz gibi ekzopeptidazların etkisiyle oligopeptitlere, dipeptitlere parçalanırlar. Sindirim kanalında besinsel proteinlerin hidrolitik enzimlerin etkisiyle tamamen parçalanması sonucu amino asitler oluşur. İnce bağırsak lümenindeki amino asitlerin hemen hemen hepsi ince bağırsağın orta kısmından, intestinal villuslerin hücreleri tarafından emilirler ve çoğu portal kana geçerek karaciğere taşınırlar (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Proteinlerin sindirimi

b) Karbonhidrazlar: Diyetle bulunan polisakkaritler ve disakkaritlerdeki glikozidik bağlar sindirim kanalında özel glikozidazlarla parçalanır ve böylece karbonhidratlar sindirilirler. Pankreas α -amilazı ve ince bağırsak 1,6-glikozidazı etkisiyle gerçekleşen karbohidrat sindirimi sonunda ince bağırsak lümeni içinde maltoz, izomaltoz, laktoz ve sakkaroz disakkaritleri ile glukoz, fruktoz ve galaktoz gibi monosakkaritler bulunur. Karbonhidratların sindiriminde görev alan enzim amilazdır. Amilaz enzimi pankreastan salgılanır ve besinlerle gelen nişastayı hidrolitik olarak yıkma işleminden sorumludur (Şekil 2.8).



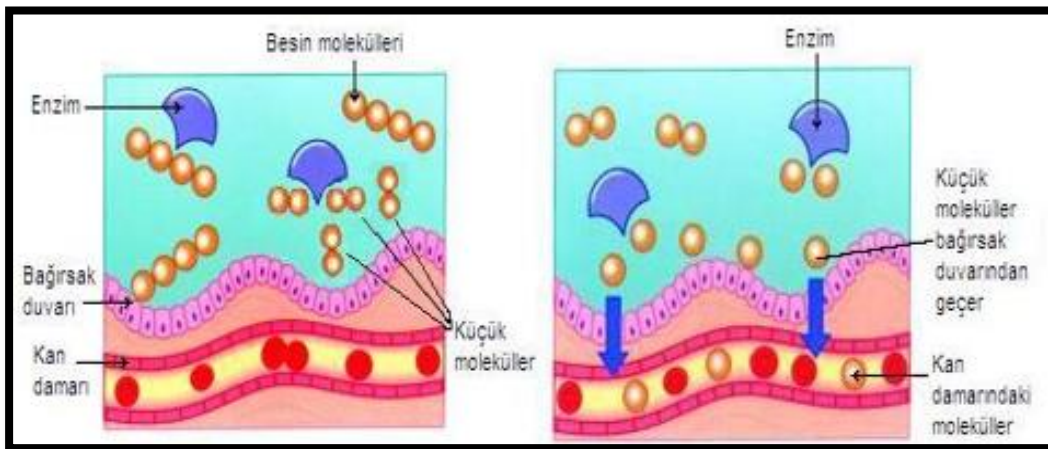
Şekil 2.8 Karbonhidratların sindirimi

c) **Lipolitik enzimler:** Lipaz, lipidlerin ve triasilgliserollerin sindiriminde rol oynayan lipolitik enzimdir. Besinle vücuda giren triasilgliseroller midede herhangi bir reaksiyona girmeden bağırsağa gelir ve bağırsakta büyük damlacıklar şeklinde bulunur. Damlacıklar burada kolatlar yardımı ile emülsiyon forma geçer ve daha ince bir yapıya geçerek lipaz enziminin hidroliz edilir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Yağların sindirimi

Enzimler aracılığıyla makromoleküllere ayrılan proteinler, yağlar ve karbonhidratlar bağırsak emici tüylerinde (enterocyte) yer alan **microvillus** adı verilen özel yapılarla difüzyon aracılığıyla bağırsak epitelinin hemen arkasında yer alan kan damarlarına geçerek organ ve dokulara iletilir (Şekil 2.10).

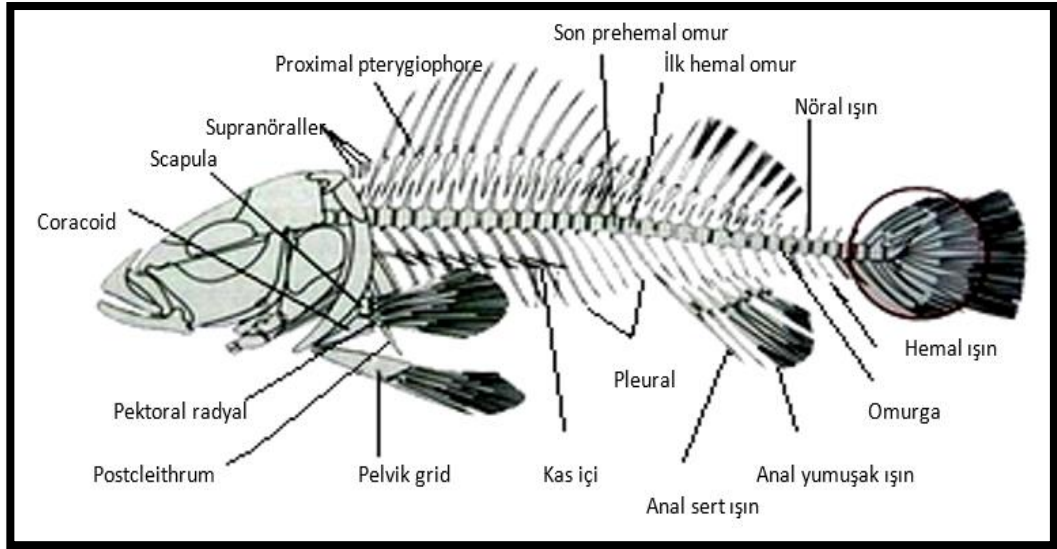


Şekil 2.10 Besinlerin emilimi

2.6. Balıklarda İskelet Sistemi

Balıklarda iskelet sistemi, dermal iskelet ve içsel iskelet olmak üzere iki kısımda incelenir. Dermal iskelet sistemi, başlıca pullar, kemik plaklar, yüzgeç ışınları ve örtü kemiklerinden oluşur. İç iskelet sistemi ise, aksiyal iskelet (eksen iskelet) ile appendeküler iskelet sistemini kapsar (Bond, 1979). Teleost balıklarda aksiyal iskelet, baş iskeleti, notokorda ve omurga, kaburgalar ve kaslar arası kemiklerden oluşmaktadır (Şekil 2.11).

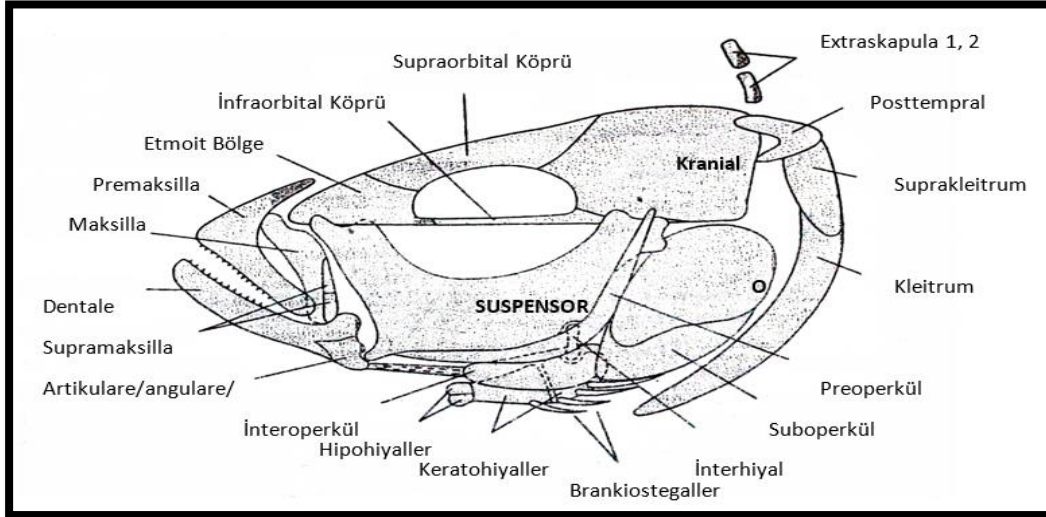
Sinkranyum olarak adlandırılan baş iskeleti kendi içerisinde 2'ye ayrılır bunlar sırasıyla; (1) beyin ve duyu organlarını (koku alma, görme, denge-işitme organları) saran ve koruyan nörokranyum, (2) çeneleri, dil ve solungaçları destekleyen bir seri yaydan oluşan suspensoryum'dan oluşur. Baş bölgesinde yaklaşık 30 adet hareket edebilen kemik bulunur ve 50'den fazla kas ile kontrol edilir (Stiassny, 1990, 2000).



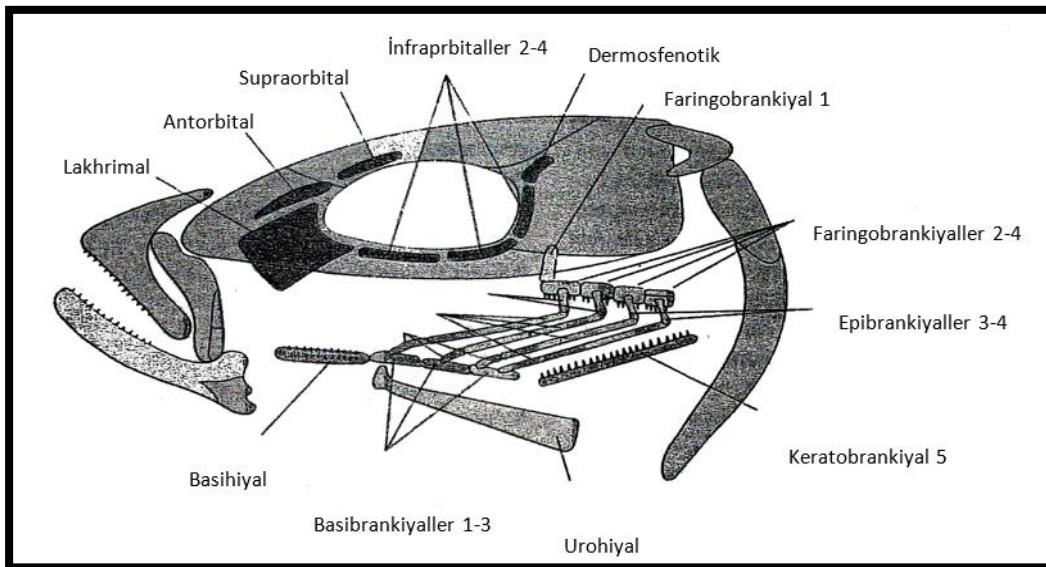
Şekil 2.11 Balıkların iskelet sistemi (Stiassny, 2000).

Nörokranyum, ethmoid bölge, supraorbital bölge, infraorbital bölge, kranial kemerden oluşmaktadır. Ethmoid bölge (lateral ethmoid, mesethmoid, vomer ve burun kemik kanalları) nörokranyum'un anterior sınırını oluşturur. Supraorbital köprü (frontallerden, orbitosfenoidlerden ve pterosfenoidlerden oluşmuştur) göz çukurunun üzerinde interorbital bölgede şekillenmiştir.

Bu köprü gözler ve gözlere ait kaslara koruyuculuk yapar. İnfraorbital köprü parasfenoit ve basisfenoidlerden oluşur. Bu köprü harici göz kaslarının ve suspensoryumun ana addüktör kaslarının tutunmasını sağlar. Kranial bölge sfenotikler, protikler, parietaller, epiokipitaller, supraokipitaller, exokipitaller, interkalarlar ve basiokipitallerden oluşur. Bu bölge beyin, kafatası sinirleri ve iç kulağa koruyuculuk yapar (Şekil 2.12; Şekil 2.13).



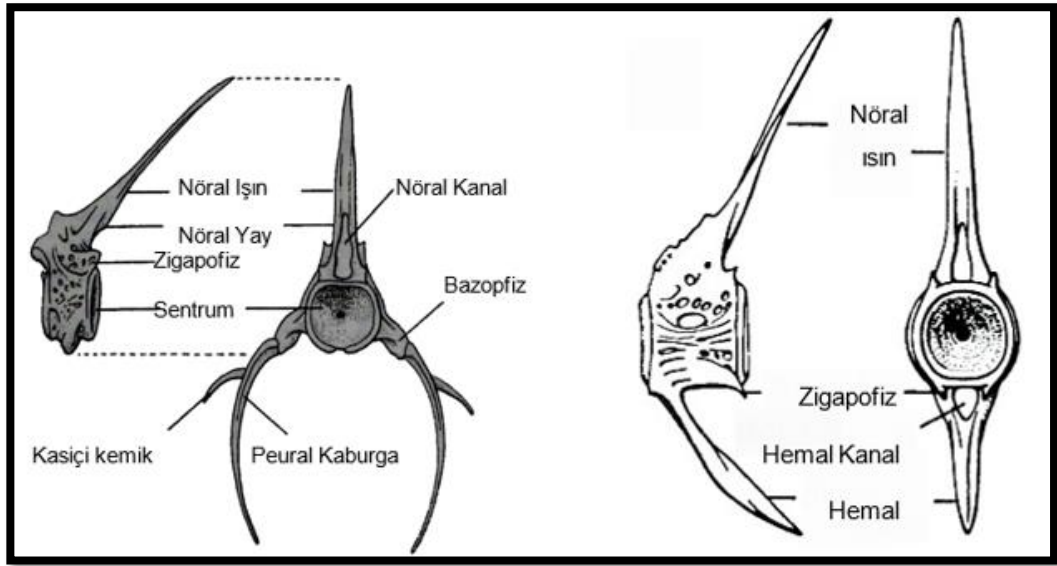
Şekil 2.12 Teleost nörokranyum ve suspensoryumu (Stiassny, 2000).



Şekil 2.13 Teleost balıklarda brankiyal yaylarla birleşmiş infraorbital ve supraorbital bölgeler (Stiassny, 2000).

En ilkel aksiyal iskelet olan notokorda, balıkların ve diğer notokordalı hayvanların ilk embriyonik gelişmeleri sırasında, vücudun orta eksenini boyunca nöral borunun ventralinde uzanan bir çubuk biçiminde görülür (Demir, 1992). Aksiyal iskeletin arka arkaya dizilmiş omurlarından yapılmış kısmı olan omurga, notokorda gibi vücudun dik durmasını sağlamaktan başka, ekstremitelerin ve istemli kontrole sahip birçok kasın doğrudan ya da dolaylı olarak tutunmalarını oluşturan bir zeminde oluşturmaktadır.

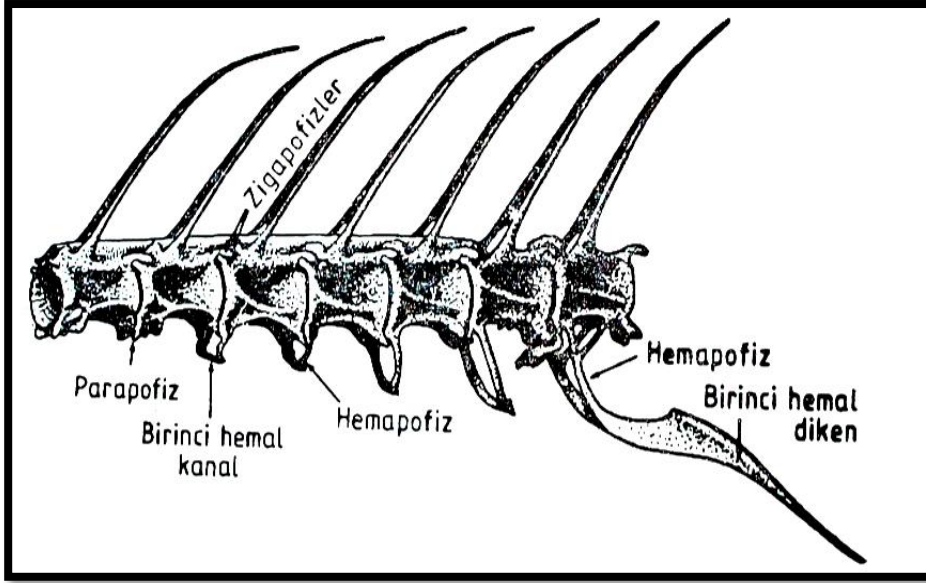
En gelişmiş omura sahip olan Teleostlarda her omurun bir sentrum'u (gövde) vardır (**Şekil 2.14**). Sentrum kemikleşmiştir ve hem ön hem de arka tarafı konkavdır. Omurga boyunca her omurda sentrumun dorsalinde omuriliği koruyan ve nöral yay adı verilen bir yay vardır. Nöral yayı oluşturan nörapofiz denilen bir çift uzantı, birbiriyle kaynaşarak nöral dikenini oluşturur. Nöral yayın içindeki kanala nöral kanal denir. Kuyruk omurlarında her omur sentrumunun ventralinde kaudal arter ve kaudal venayı koruyan bir yay bulunur, bu yay hemal yayı denir.



Şekil 2.14 Teleostei familyasına ait balıklarda gövde ve kuyruk omurlarının yandan ve arkadan görünüşü (Bond, 1979).

Hemal yayı oluşturan uzantıların (hemapofiz) birbiriyle kaynaşarak oluşturdukları dikensi çıkıntıya hemal diken, hemal yayın içindeki kanala da hemal kanal adı verilir. Gövde omurlarında hemapofizler kısa transvers uzantılara

(bazapofiz) dönüşmüşlerdir ve kaburgalar bunlara bağlanır. Hem gövde hem de kuyruk omurlarının sentrumlarının ön ve arka taraflarında zigapofiz adı verilen çıkıntılar bulunabilir, bunlar genelde küçüktür ve iki komşu omurun zigapofizleri birbirine temas etmez (Bond, 1979) (Şekil 2.15).

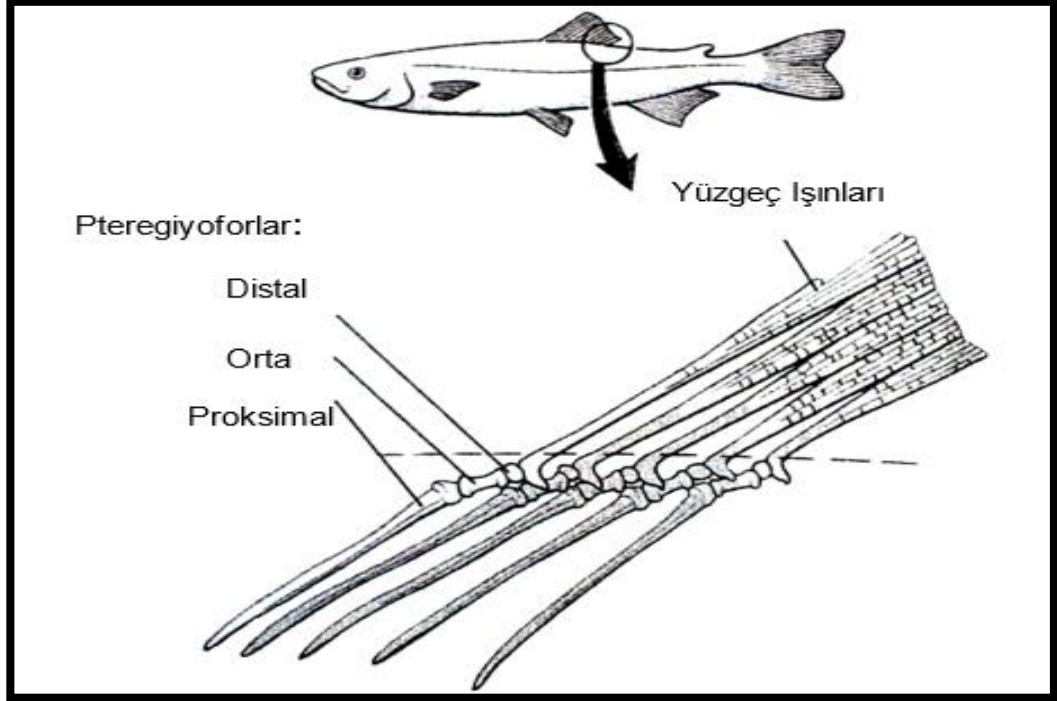


Şekil 2.15 Teleostei familyasına ait balık omurgasının bir kısmı (Clothier, 1950).

Kaburgalar, ventral ve dorsal kaburgalar olmak üzere ikiye ayrılır. Ventral kaburgalar, miyoseptumların sölomun çeperi ile kesiştikleri yerlerde yer alır ve bu nedenle de vücut boşluğunu sararlar. Dorsal kaburgalar ise, miyoseptumların horizontal iskelet septumları ile kesiştikleri yerlerde, yani miyomerlerin dorsal ve ventral yayları arasında bulunur, bundan dolayı çoğu kez dorsal kaburgalara kaslar arası kemiklerde denir (Demir, 1992).

Balıkların appendiküler iskeleti, tek veya çift yüzgeçleri destekleyen ve onları doğrudan veya dolaylı olarak aksiyal iskelete bağlayan kemiklerden ibarettir. Teleostlarda, dorsal ve anal yüzgeç ışınlının her biri, genel olarak pterigiyofor diye adlandırılan ikisi kemikleşmiş, biri kıkırdak olarak kalmış üç öğeden oluşur (Stiassny, 2000). Bu üç öğeden vücut eksenine en yakın olanına, proksimal pterigiyofor, ona eklenene orta pterigiyofor, en dışta bulunan ve yüzgeç ışını ile eklenene de, distal pterigiyofor denir (Şekil 2.16).

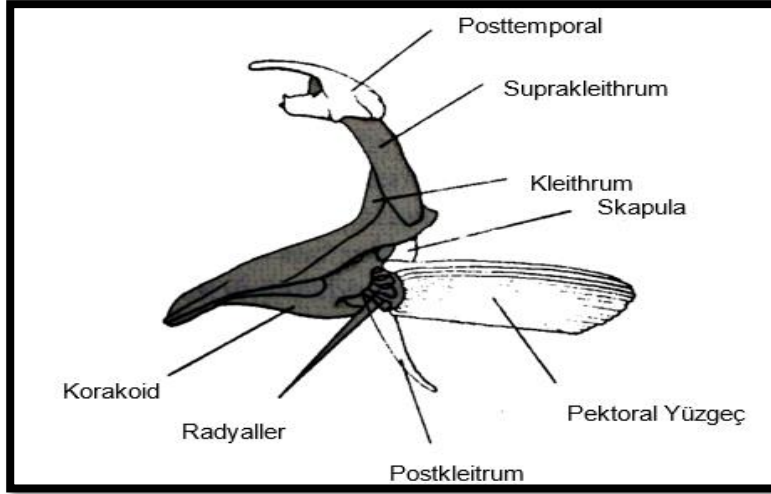
Proksimal pterigiyoforlar, gövde ve/veya kuyruk kaslarının iki lateral yarısı arasına gömülmüş olup, iki komşu omurun dikenleri (dorsalde nöral dikenler, ventralde hemal dikenler) arasında yer alırlar (Demir, 1992).



Şekil 2.16 Dorsal yüzgeçlerin iskelet destekleri (Stiassny, 2000).

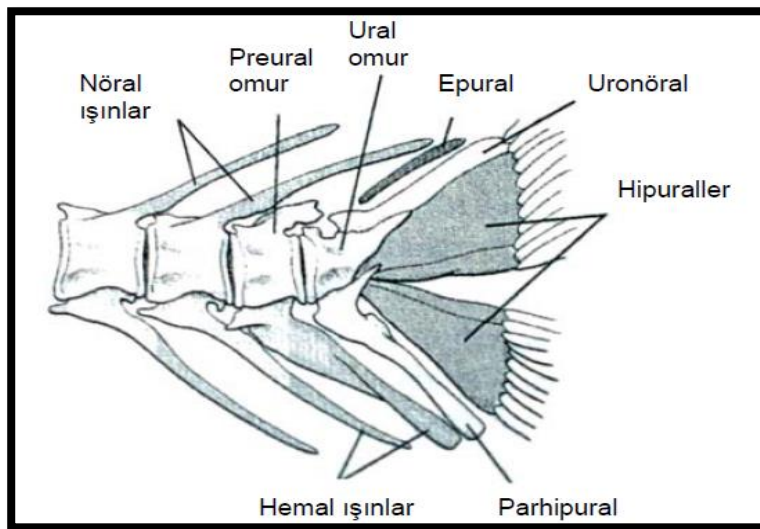
Teleost balıklarda pektoral oluşum, yüzgeci de içine alan sağlam bir yapıda meydana gelmiştir. Pektoral kemerde bir çift skapula, bir çift korakoitle birlikte genellikle 4-5 çift radyallerden ibaret olan kıkırdak kemiklerin yanı sıra üç çiftte örtü kemiği bulunmaktadır. Ayrıca kleitrum, suprakleitrum ve postkleitrum vardır. Kemerin en büyük kemiği olan kleitrum, kavislidir ve üçgenimsi bir çıkıntısı vardır. Postkleitrum bu çıkıntıya bağlanmıştır. Skapula, genellikle dörtgen biçiminde ve ortası delik bir kemiktir, kleitruma postkleitrumun ventralinde bağlanır.

Üçgen biçiminde bir kemik olan korakoit, dorsalden skapulaya, kısmende korakoide bağlanmıştır. İki yanı konkav, küçük kemikler olan radyaller, proksimal olarak başlıca skapulaya, kısmen de korakoide bağlanmışlardır; distal taraflarına da pektoral yüzgeç ışınları eklenmiştir (Şekil 2.17).



Şekil 2.17 Teleost balıkların sol pektoral yüzgecinin görünüşü (Bond, 1979).

Homoserik tip kaudal yüzgeçte, yüzgecin birincil ışınları, dorsale yönelmiş olan ürostile ait hemal dikenlerin biçim değiştirmesiyle oluşmuş hipural kemikler ile desteklenir. Dorsaldeki bir kaç ürostile ait nöral dikenlerin biçim değiştirmesiyle oluşmuş bir ya da birkaç üronöral kemikle desteklenebilir. İkincil ışınlarınsa omurganın dorsalinde bulunanların bir kısmı epuraller ile bir kısmı da ürostilin önündeki birkaç omurun nöral dikenleriyle; omurganın ventralinde bulunanları ürostilin önündeki birkaç omurun hemal dikenleriyle desteklenir (Stiassny, 2000) (Şekil 2.18).



Şekil 2.18 Teleost türlerde homoserik yapıdaki kaudal yüzgeci (Stiassny, 2000).

2.7 Minekop ve Bazı Deniz Balıkları Üzerinde Yapılmış Çalışmalar

2.7.1 Tür Üzerindeki Genel Çalışmalar

Minekop balığı özellikle son yıllarda potansiyel tür kapsamında değerlendirilmekle beraber günümüze kadar, bu türe ait kültüre yönelik çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Libertini et al., (1999); yaptıkları çalışmada, akut ve uzun salınımlı GnRH uygulamalarının minekop (*Umbrina cirrosa* L.)_anaçlarında yumurtlama üzerine olan etkilerini ortaya koymuşlardır. 29 minekop anacında gerçekleştirilen akut GnRH uygulaması % 69 oranında yumurtlamayı teşvik etmiştir. 5 µg akut GnRH/kg uygulamasıyla maksimum % 39, ortalama % 25 ± 5 döllenme oranın elde edildiği çalışmada maksimum 130.000 adet/kg, ortalama da ise 40.000 ± 18.000 adet yumurta eldesi gerçekleştirilmiştir. 23 minekop anacında gerçekleştirilen uzun salınımlı GnRH uygulaması % 96 oranında yumurtlamayı teşvik etmiştir. 40 µg uzun salınımlı GnRH/kg uygulamasıyla ortalama % 40 ± 17 döllenme oranı ve 97.000 ± 33.000 kg⁻¹ yumurta eldesi gerçekleştirilmiştir. Akut GnRH uygulaması ile karşılaştırıldığında leuprolide uygulaması ile elde edilen yumurta miktarının önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Mylonas et al., (2004); minekop (*Umbrina cirrosa* L.) balıklarının kültür potansiyelini değerlendirdikleri çalışmada 1993-1994 yılları arasında doğal stoklardan elde ettikleri juvenil minekop balıklarını üretime almışlardır. Kültür ortamında anaçlar doğal olarak kendiliğinden yumurta vermemişler ve 3 yaşındaki bireylere hormonal müdahale uygulanmıştır. GnRHa ile enjeksiyon sonucunda yumurtlama gerçekleşmiş ve az sayıda birey elde edilmiştir. Daha sonraki yıllarda 3 yaşına ulaşan bireylere GnRHa-microspheres uygulaması gerçekleştirilmiş ve döllenme başarısı % 43'e ulaşmıştır. Yumurtalar 500 lt hacmindeki inkübatörlere 23-28 °C'de stoklanmıştır. Açılımdan 2 gün sonra kültür ortamına fitoplankton girişi yapılmıştır. 3. gün karışık büyüklüklerde rotifer ile beslemeye başlanmıştır. Işıklandırma 24 saat olacak şekilde ayarlanmış ve tank yüzeyine yüzey temizleyicisi yerleştirilmiştir. 10-12. günden itibaren rotifer ile birlikte *Artemia* ile beslemeye geçilmiş, 33. gün itibariyle sövraj uygulaması tamamlanmıştır. 41 ve

203. günlerde ortalama ağırlık sırasıyla 2.0 ve 65 gr olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada sonuç olarak, doğal yumurtlamanın problem teşkil etmesine rağmen, minekop balığının kültür ortamında yüksek yaşama oranına ve büyüme performansına sahip olduğu belirtilmiştir.

Ayala et al., (2013); minekop (*Umbrina cirrosa* L.) balıklarının kuluçkadan larval metamorfozunun sonuna kadar dört farklı fotoperiyot rejimi altında (doğal bir fotoperiyot rejimi (16L: 8D), sürekli ışık (24L), eşit ışık ve karanlık süresi (12L: 12D) ve düşük gün ışığı saatleri (6L: 18D)) tutmuşlardır. Bu sürede balıkların kas ve vücut parametreleri incelenmiştir. Vitellin fazı sırasında, kas gelişimi çok az olmuş ve fotoperiyot etkisi saptanmamıştır. Ancak, miyotomda kırmızı kas ve olgunlaşmamış beyaz kas liflerinin tek tabakası gözlenmiştir. Larval yaşam oranı, diğer rejimlere kıyasla, doğal fotoperiyot koşullarında daha yüksek bulunmuştur.

Sevgili et al., (2015); juvenil minekop (*Umbrina cirrosa* L.) balıklarında yeme eklenen farklı balık unlarının beslemeye bağlı gelişim üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu kapsamda, başlıca protein kaynağı olarak, iki Peru hamsi unu (biri alev-kurutmalı BU: Peru-1, diğeri buhar-kurutmalı BU:Peru-2), düşük-sıcaklıkta işlem görmüş bir Danimarka BU (Danimarka LT), bir yerli hamsi BU (Yerli LT) ve Alaska beyaz BU (BBU) içeren beş adet deneme yemi (% 56 proteinli) hazırlanmışlardır. Bu yemler başlangıç ağırlığı 25.06 ± 0.11 gr olan balıklara 7 hafta boyunca verilmiş olup çalışma 3 tekrarlı yürütülmüştür. Peru-2 yemi ile beslenen grup, BBU ile beslenen gruptan daha yüksek final ağırlığı ve spesifik büyüme oranı göstermiştir. Bu balıklar yemden yararlanma etkinliği bakımından da BBU ve Peru-1 yem ile beslenenlerden daha iyi gelişim sağlamış, fakat Danimarka-LT ve Yerli-LT ile beslenenlerle benzer gelişim göstermişlerdir. BBU ile beslenen balıkların vücut lipit düzeyleri Danimarka-LT ile beslenenlerden önemli derecede düşük tespit edilmiş ve vücutlarında diğer gruplardan daha az miktarda yağ depolamışlardır. Bulgular, farklı ticari BU kaynaklarının juvenil minekoplara için aynı besleme değerini göstermiş ve bunun sonraki çalışmalarda dikkate alınması gerekliliğini göstermiştir.

Elena et al., (2019); minekop (*Umbrina cirrosa*) balıklarının Akdeniz akuakültüründeki düşük çeşitliliğe bağlı olarak çözüm olabilecek mükemmel bir tür

olduğunu bildirmişler ve hazırladıkları çalışmada türün cinsel yaşam döngüsünü tanımlamışlardır. Üç yaşındaki bireylerden % 65 oranında döllenmiş yumurta temin etmişlerdir. Olgun erkeklerde 11-ketotestosteron (11 KT), testosteron (T) ve progesteron (P) düzeyleri serum ve gonadlarda tespit edilirken, 17 β -estradiol (E2) sadece gonadlarda tespit edildiği bildirmişlerdir. Testikülerdeki E2 ve P seviyeleri, bu hormonların yumurtlamada ve müteakip spermatogonial proliferasyonda bir rolü olabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, olgun dişilerde, P ve E2 serum ve gonadlarda saptanırken, T ve 11 KT sadece gonadlarda saptanmıştır.

2.7.2 Histolojik Çalışmalar

Ribeiro et al., (1998); yılında yaptıkları çalışmada; Senegal dil balığı (*Solea senegalensis*) larvalarının sindirim sistemi gelişimini bir aylık larval üretim süresince incelemişlerdir. Sindirim sistemi farklılaşmasının önemli vakalarının erken dönemde gerçekleştiği belirtilmiştir. İlk besleme, ağız ve anüs açılımının gerçekleştiği, sindirim sisteminin buccafaringiyal boşluk, özafagus, ilkel mide, ön ve arka bağırsak olarak farklılaştığı 2. günde gerçekleştirilmiştir. Aynı dönemde karaciğer ve pankreas farklılaşması tespit edilmiştir. Metamorfoz süresince (12-20. gün) sindirim kanalının uzadığı ve yüzey emiliminde artış olduğu gözlenmiştir. Gastrik bezler 27. günlerde tespit edilmiştir. Çalışma süresince elde edilen veriler analiz edildiğinde, 31. günden sonra Senegal dil balıklarının morfolojik olarak gelişimini tamamlamış bir sindirim sistemine sahip olması nedeniyle besinlerin sindirimini ve emilimini gerçekleştirebilecek kapasitede olduğu belirtilmiştir.

Kaji et al., (2002); yılında yaptıkları çalışmada, çizgili palamut (*Sarda orientalis*) larva ve juvenillerinin sindirim sistemi gelişimini laboratuvar koşullarında gerçekleştirdikleri 14 günlük üretim süresince histolojik olarak incelemişlerdir. İlk beslemenin gerçekleştirildiği 2. günde larval-tip sindirim sisteminin farklılaşmaya başladığını bildirmişlerdir. 3. günde sindirim sisteminin yetişkin tip yapı kazandığını gösteren bir kör kese ile birlikte yoğun bir şekilde yayılım gösteren gastrik bezlerin geliştiğini ve pilorik çekanın oluştuğunu tespit etmişlerdir. Besin kesesinin 4. günde tamamen tüketildiğini belirtmişlerdir. Palamut larvalarının 2. günde rotifer ve *Artemia nauplii* ile beslenmeye başladığı fakat bağırsağın tam olarak doluluğunun 4. günde sağlandığı tespit edilmiştir.

Çizgili palamut larvalarında yetişkin tip sindirim sisteminin ilk beslemeden sonra oluştuğu ve bu erken gelişimin balıkçıl beslenmeye geçişle çok iyi senkron sağladığı belirtilmiştir.

Micale et al., (2006); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada; kırma mercan (*Pagellus erithrinus*) larvalarının sindirim sistemini ve sisteme ait yapıların gelişimini 50 günlük kültür süresince incelemişlerdir. Larvalar, kültür ortamına adapte edilmiş anaç stoğundan doğal yumurtlama ile elde edilmiştir. Elde edilen larvalar; açılımdan, sıcaklığın 18.5-20 °C arasında değiştiği *Artemia* ile besleme safhasına kadar *Isochrysis galbana* ve *Tetraselmis suecica* türü alg girilmiş 1500 lt hacmindeki tanklara stoklanmışlardır. Larvalar 3. günden itibaren selco ürünleri ile zenginleştirilmiş *Brachionus plicatilis*, 28. günden itibaren *Artemia* ve 35. günden itibaren formüle yemler ile beslemeye alınmıştır. Açılımda; sindirim kanalı, besin kesesinin dorsalinde düz bir tüp şeklinde uzanan, histolojik olarak farklılaşmamış bir yapı göstermektedir. İlk beslemede (3-4. gün) ağız ve anüs açılımının gerçekleştiği ve sindirim tüpünün buccafarinks, özafagus, ilkel mide ve bağırsak olarak 4 kısım halinde farklılaştığı belirtilmiştir. Pankreas, karaciğer ve safra kesesinin de aynı dönem içinde farklılaştığı tespit edilmiştir. Eksojen beslemenin başlamasından sonraki iki gün içerisinde ön bağırsak epiteli lipid emilim kapasitesini gösteren büyük vokueller şeklindeyken, arka bağırsak epitelinde proteinlerin emilimini işaret eden supranuklear inkülizyon cisimcikleri tespit edilmiştir. Bu safha da, safra ve pankreas kanallarının her ikisi de pilorik sfinkterden hemen sonra ön bağırsağa açılmaktadır. Bağırsak kıvrılması 4. günden itibaren tespit edilirken, mukosal katlanmanın 10. günde başladığı belirlenmiştir. Larval dönemden juvenil döneme geçildiğinin ve sindirimin ilerlemiş bir biçim kazandığını işaret eden gastrik bez ve pilorik çeka oluşumunun 28. günde tespit edildiği belirtilmiştir.

Zaiss et al., (2006); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada, minekop (*Umbrina cirrosa*) larvalarında gastrointestinal sistemin gelişimini histolojik olarak, total boyun 32±2 mm ve net ağırlığın 0.42±0.07 g olarak ölçüldüğü 41. güne kadar incelemişlerdir. Minekop larvaları, deniz balıkları yetiştiricilik metotları arasında ticari olarak kullanılan ve en doğal teknik olarak kabul edilen mesocosm kültür tekniği uygulanarak kültüre alınmıştır. Minekop larvaları 2.78±0.09 mm total

boyda % 90 oranında 2. günde ağız açılımlarını gerçekleştirmişlerdir. Sindirim sisteminin; buccafarinks, özafagus, ön ve arka bağırsak olarak farklılaşması, larvanın 2.82 ± 0.07 mm total boyda olduğu 3. günde tamamlanmıştır. Bir gün sonra eksojen besin alımı başlamıştır. Sindirim tüpü; pankreas ve karaciğer 3. günde farklılaşırken, 2. günde dönmeye başlayarak ilk kıvrımını oluşturmuştur. Besin kesesi rezervlerinin tüketimi 7. güne kadar devam etmiştir. Özafagusa ait, asit mucin içeren ilk goblet hücreleri 7. günde tespit edilmiş olup, buccafarinks epitelinde 8. gün itibariyle tat tomurcuklarının gelişimi belirlenmiştir. Mide morfolojik olarak, gastrik bezlerin kardiyak bölgede yoğunlaşmaya başladığı 9. günde tespit edilmiştir. Pilorik çekum 14. günde tespit edilmiştir. Arka bağırsakta supranuklear özonofilik vakuoller 3 ve 11. günler arasında gözlenmiştir. Sayıları midenin farklılaşmasına bağlı olarak değişen sindirim mekanizmasının etkisiyle azalmıştır. Çalışmanın sonucunda, minekop larvalarının ve sindirim sisteminin çok hızlı gelişim gösterdiği, 12. günden önce suni yemler ile sövraj uygulamasına başlanabileceği ifade edilmiştir.

Papadakis et al., (2009); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada; minekop (*Umbrina cirrosa*) larvalarında, *Artemia nauplii* yokluğunda uygulanan besleme protokolünün gelişim ve sindirim sistemi ontogenesi üzerine olan etkilerini histolojik teknikler kullanarak incelemişlerdir. Bir grup larvada; rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Artemia spp.* ve suni yem kombinasyonu ile birlikte standart intensif kültür proktokolü kullanılmıştır (Std-Grup). Diğer grupta da *Artemia spp.* kullanılmadan aynı protokol uygulanmıştır (No-Artemia Grup). Sindirim sistemi ontogenesinin açılımdan metamorfoza kadar olan süreçte çok hızlı bir gelişim gösterdiği ve sindirim sistemi bileşenlerinin zamana bağlı gelişimlerinin iki farklı besleme rejiminde farklılık göstermediği bildirilmiştir. Pankreatik ve hepatik dokuların tespiti, bu organların erken gelişim safhasında fonksiyon kazandığı ifade edilerek açılımdan 2-3 gün sonra tespit edildiği belirtilmiştir. *Artemia* girilmeyen grupta 13 ve 29. günler arasında bağırsak mukozasında bulunan enterositlerin boylarında azalma, ön ve arka bağırsakların primer kıvrımlarda devamlılık gösteren bir düzleşme olduğu ve nisbi açlık periyodu ifade edilerek karaciğerdeki lipid rezervlerinde bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, çalışmanın sona erdiği 41. gün, vücut uzunluğunda, bağırsak morfolojisinde ve karaciğer lipid kaynaklarında her iki grup arasında önemli farklılıklar tespit edilmemiştir. Çalışma

sonucunda; kullanılan besinin sindirim sistemi ontogenesini etkilemezken olgunlaşmasını ve fonksiyonu etkileyebileceği ifade edilmiştir. Buna ek olarak; minekop larvalarında sindirim sisteminin hızlı şekilde farklılaşması ve 29. gün ile birlikte ortaya çıkan, *Artemia* verilmeyen gruptaki açlık semptomlarının hızlı şekilde telafisinin, ontogenesis sırasındaki esnekliği ve larvanın çok erken dönemde suni yemlere adapte olabileceği sonucunu ortaya koymuştur.

Öztürk, (2011); çalışmasında, potansiyel türler içinde üretilen minekop (*Umbrina cirrosa*) balığının larval dönem (0-40 gün) boyunca gastrointestinal sistemde meydana gelen histolojik ve morfolojik değişimleri araştırmıştır. Bu kapsamda minekop larvalarının ilk 40 günlük döneminde büyüme parametreleri takip edilmiştir. Bunun yanında, gastrointestinal sistemi oluşturan pankreas, mide ve bağırsak gibi organların gelişimleri histolojik bایmdan analiz edilmiştir. Minekop larvalarında deneme sonunda 40. günde elde edilen sonuçlar incelendiğinde, total boy 34.82 ± 5.1 mm, ağırlık 183.21 ± 52.5 mg, spesifik büyüme oranı $\% 13.72 \pm 1.6$ ve yaşama oranı da $\% 67.1 \pm 3.7$ olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, dış beslenmesinin başlaması ile birlikte eş zamanlı olarak pankreatik salgılarında başladığı tespit edilmiş ve pankreas larval yaşa ve boyuta bağlı olarak gelişimini sürdürmüştür. Midenin fonksiyonel hale gelmesi larvalarda 15-16. günde saptanmış, intestinal yapılarıdaki fonksiyonel hareketlilik ise 8-9. günlerde meydana gelmiştir. Tüm verilerin incelenmesi sonucunda minekop larvalarında gastrointestinal sistem apısının ontogenik olarak gösterdiği gelişim sürecinin 26. günde tamamlandığı tespit edilmiştir.

Papadakis et al., (2013); granyöz (*Argyrosomus regius*) juvenillerinde sindirim sisteminin histolojik gelişimi, yumurtadan çıkıştan juvenil (yumurtadan 44. güne kadar) döneme kadar incelenmiştir. Ayrıca, karaciğer yağ içeriği histolojik yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir. Sindirim sisteminin oluşumu yumurtadan çıktıktan 19 gün sonra tamamlanmıştır. Mide bezleri ise yumurtadan çıktıktan 15 gün sonra ortaya çıkmıştır. Pilorik keseler yumurtadan çıktıktan 17 gün, Y şeklinde mide ise 19 gün sonra oluşmuştur. Yetiştirme periyodu kuyruk bükülmesine kadar nispeten yavaş, bükülme sonrasında daha hızlı devam etmiştir. 20 günlük iken besleme protokolü sadece rotifer iken, ortalama lipid vakuolleri ile kaplı alan düşük kalmıştır ($\% 2.39 \pm 0.34$). Hâlbuki *Artemia* ve kopepod ile

beslenirken karaciğerde lipid vakuolleri ile kaplı alan artmıştır (% 47.18±6.56). Beslenme protokolündeki değişiklikler, beslenme tercihlerine ve karaciğer lipid içeriği ve bağırsakta vakuol oluşumundaki değişikliklere yansımıştır. Canlı yemden suni yeme geçiş sırasında, lipid vakuolleri ile kaplı alan önemli ölçüde azalmıştır. Bu durum beslenme bozukluğu ile açıklanmaktadır. Kuluçkadan 36 gün sonra suni yem tüketimi, lipid vakuolleri ile kaplı alanı % 56.3±7.6 'ya yükseltmiştir. Sonuç olarak; erken gelişim sırasında sindirim sisteminin temel organlarını ve yapısını hızlı bir şekilde geliştiren ve hızlı büyüyen bir tür olan granyözün hassas larval yetiştiricilik ve besleme evresinin başarılı şekilde gerçekleştirilmesi gerektiğini ifade etmiştir. Çalışma ayrıca, lipid vakuolleri ile kaplı alan kullanılarak karaciğer lipid içeriğinin histolojik değerlendirmesinin, larva yetiştirme protokollerini ve üretim verimliliğini arttırmak için ticari kültür balıkçılığında değerli bir araç olabileceğini göstermektedir.

2.7.3 Enzimatik Çalışmalar

1990'lı yıllardan sonra teknolojinin ilerlemesine bağlı olarak enzimler sadece tıp alanında değil biyoteknolojinin her alanında kullanılarak önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Özellikle akuakültür alanında yeni alanların oluşmasıyla birlikte enzimoloji, genetik ve histoloji gibi konular doğrudan akuakültürdeki çalışmaların içine girmiştir. Doğada var olan su ürünlerinin yanı sıra kültürü sıklıkla yapılmakta olan çipura ve levrek balıklarına ait pek çok çalışma bu dönemde yapılmıştır. Son yıllarda potansiyel türlerin gündeme gelmesiyle birlikte bu biyoteknolojik alanların ana konularını yeni türler oluşturmuştur.

Cahu et al., (1998); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada iki farklı kültür tekniğinin levrek larvalarının yaşama, büyüme ve sindirim enzimleri aktiviteleri üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Levrek larvaları 5. günden 20. güne kadar olan dönemde alg varlığında ve alg kullanımı gerçekleştirilmeden üretime alınmıştır. Alg türü olarak *I. galbana* kullanılmış ve alg yoğunluğu 20.000.-40.000 hücre ml⁻¹ olacak şekilde ayarlanmıştır. 20. günde her bir grup alt gruplara ayrılmış, bir gruba alg girişine devam edilirken diğer grup 32. güne kadar mikropartikül yem ile beslemeye alınmıştır. 32. günde, alg varlığında canlı yemler ile beslenen gruptaki larvaların yaşama oranı, alg kullanılmayan gruptaki larvaların yaşama

oranından % 18 daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Mikropartikül yemlerle beslenen gruplardaki alg girişinin yaşama oranını % 26 arttırmış olduğu tespit edilmiştir. 16.günde alg kullanılarak üretimi gerçekleştirilen grubun, alg kullanımının olmadığı gruba göre % 40 daha fazla ağırlık artışı gerçekleştirmiş olduğu belirtilmiştir. 8. günden 16. güne kadar olan dönemde alg varlığının, amilaz ve kimotripsin aktivitesini etkilemediğini bununla birlikte bu dönemde tripsin enzim aktivitesinin önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, alg kullanımının hücre membranlarında hidrolitik fonksiyonu başlatmada tetikleyici etkiye sahip olduğu, alg kullanılarak yetiştiriciliği gerçekleştirilen larvaların yaşama oranlarındaki önemli artışların fırçamsı epitelin daha erken dönemde geliştiği ile ilgili olduğu, alg kullanımının hem pankreatik hem de bağırsak düzeyinde sindirim enzimi aktivitelerini tetikleyerek alglerin önemli bir görev üstlendiği ifade edilmiştir.

Nolting et al., (1999); levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvaları üzerinde yaptıkları denemede, mikropartikül yem ve canlı yem ile beslenen larvaların triptik enzim aktivitesini, protein içeriği, gelişim ve yaşama oranı bakımından incelemişlerdir. Çalışma 27 gün sürmüştür. Canlı yem ile beslenen grubun tripsin enzim aktivitesi, larval gelişimi ve protein içeriğinin mikropartikül yem ile beslenen gruplara oranlar daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Larva yaşama oranı arasında farklılık tespit edilmemiştir.

Martinez et al., (1999); Senegal dil balığı (*Solea senegalensis*) larvalarındaki pankreatik ve intestinal sindirim enzimlerinin aktivitesini incelemişlerdir. İncelenen enzimlerin aktivitelerindeki önemli değişimlerin larval periyodun ilk günlerinde ya da metamorfozun sonunda meydana geldiği belirtilmiştir. Özellikle asit ve alkalin proteaz aktiviteleri larval dönemin ilk günlerinde tespit edilirken, 9 günlük larvalarda asit proteaz aktivitesi, total proteaz aktivitesinin % 10'luk dilimini kapsarken bu oran 33 günlük larvalarda % 75 olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra maksimum lipaz aktivitesi pankreasın geliştiği günlerde (6-10 günler) ve metamorfoz sonrasında ölçülmüş, lipid rezervlerinin bu günlerde değerlendirilmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Alkalin fosfataz aktivitesinde 5-20. günler arasında bir düşüş gözlenirken bu oran 20. günden sonra hızla artmış ve bu artış bağırsak mukozasında bulunan enterositlerin gelişimi ile ilintili bulunmuştur. Sonuç olarak,

bu türün sindirim enzim aktivitesinin gelişimin diğer yassı balık türlerindeki gelişim ile benzer olduğu bildirilmiştir.

Lazo et al., (2000); yılında yaptıkları çalışmada ışkine (*Sciaenops ocellatus*) larvalarının büyüme ve yaşama oranı ile birlikte tripsin, lipaz ve amilaz aktivitelerini iki farklı denemede analiz etmişlerdir. İlk denemde sadece canlı yemle beslenen grup (L), mikropartikül (MPD) ve canlı yem ile beslenen grup (L-MP) olarak, ikinci denemede bir grup yalnızca MPD ile beslenirken diğer grup aç (ST) bırakılan grup olarak belirtilmiştir. L ve L-MP grupları arasında yaşama ve büyüme oranı açısından fark tespit edilmemiştir. ST ve yalnızca MPD ile beslenen grup canlı yemler ile beslenen gruplara göre daha az gelişim gösterdiği ve grupların sırasıyla 5 ve 14. güne kadar yaşamlarını devam ettirdiği belirtilmiştir. Tripsin, lipaz ve amilaz aktiviteleri ilk olarak ağız açılımı ile birlikte tespit edilmiş ve 14. güne kadar total enzim aktivitelerinde önemli derecede farklılıkların tespit edilmediği ifade edilmiştir. Tripsin, lipaz ve amilaz spesifik aktiviteleri ilk olarak ilk beslemenin öncesinde 3. günde artış göstermiş olduğu ve sonraki dönemlerde azalma eğilimi gösterdiği; tripsin için potansiyel enzim aktivitesi oranı, sindirilen canlı yemle ilişkilendirilerek yaşa bağlı olarak maksimum % 17'lik bir orana yükseldiği, bu durumun lipaz ve amilaz enzimi için çalışma süresince 8. gün hariç % 5'in altında tespit edildiği belirtilmiştir. Gruplar arasında sindirim enzimleri aktivitelerinde önemli farklılıkların tespit edilmeyişi; besleme rejiminin, canlı yemlerin ve eksojen enzimlerin muhtemel etkilerinin enzim aktivitelerini önemli derecede etkilemediği bildirilmiştir.

Cuvier-Péres and Kestemont (2002); yılında tatlı su levrekleri (*Perca fluviatilis*) üzerinde yaptıkları çalışmada, larval dönem süresince larval gelişimi ve sindirim enzimleri aktivitesindeki değişimleri incelemiştir. Larval dönemin ilk ayı süresince larvalar *Artemia* ile beslenmiş ve pankreatik ve intestinal sindirim enzimlerindeki aktivite diğer türlerde olduğu gibi bir model izlemiştir. Buna göre pankreatik enzimler larva yumurtadan çıktığı anda tespit edilmiş, tripsin ve amilaz spesifik aktivitesi ilk günlerde artış gösterirken sonraki günlerde larval gelişime bağlı olarak azalmıştır. Ayrıca kimotripsin aktivitesindeki artış larval gelişime bağlı olarak değişmiştir. 21. günden itibaren bağırsak mukozasındaki enterositlerin gelişimine paralel olarak alkalın fosfataz, leucine-amino peptidaz N, maltaz ve γ -

glutamil transpeptidaz aktivitesinde bir artış gözlenirken buna bağlı olarak sitosolik enzimlerden leucine-alanin peptidaz enzim aktivitesinde bir azalma tespit edilmiştir.

Cara et al., (2003); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada sargoz (*Diplodus sargos*) larvalarında protein sindirimi ve emiliminde aktivite gösteren sindirim enzimleri ile birlikte lipaz ve amilaz aktivitelerini incelemişlerdir. Tüm enzim aktiviteleri ağız açılımı ile birlikte tespit edilmiştir. Sindirim enzimleri aktivitelerinde tespit edilen farklılıkların 22. günde fonksiyonel mide oluşumu ve besin içeriğindeki değişimler ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Erken dönemde sindirim enzimi aktivitelerindeki önemli gelişimlerin, sövraj döneminden sonra yüksek yaşama oranına sebep olduğu belirtilmiştir. Sargoz balığının larval döneminde aktivite gösteren sindirim enzimlerinin gelişim özelliklerinin diğer yetiştiriciliği yapılan Sparidae türlerinin aktiviteleri ile benzer özellik taşıdığı, buna ek olarak; yüksek ve karmaşık alkalın proteaz aktivitesi ile birlikte asit proteaz aktivitesinin daha erken dönemde gelişim göstermesi ile karakterize edilmiştir. Lipaz ve amilaz aktiviteleri de çok erken dönemde tespit edilmiş olup, besinlerdeki uygun substratın eksikliği sonraki dönemlerde aktivitelerinde azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir.

Zouiten et al., (2008); yılında mesocosm kültür tekniği kullanarak gerçekleştirdikleri *Chelon labrosus* (mavraki kefal) larva üretiminde gastrointestinal sistemin gelişimini incelemişlerdir. Canlı yem olarak rotifer, *Artemia* ve doğal ortamdaki zooplanktonlar kullanılmıştır. 20. günden itibaren mikropartikül yemler beslemeye dâhil edilmiştir. Deneme süresince gelişim, ağırlık artışı ve sindirim enzimlerinin spesifik aktiviteleri tespit edilmiştir. Tripsin ve amilaz gibi pankreatik enzimler ile leucine-alanine peptidase “Leu-ala”, aminopeptidaz N “AN” ve alkaline fosfataz “AP” gibi intestinal enzimler, gelişim boyunca gastrointestinal olgunlaşmanın belirlenmesi amacıyla analiz edilmiştir. Tripsin spesifik aktivitesinin ilk iki hafta süresince yüksek olduğu, daha sonraki dönemlerde diğer deniz balıkları larvalarında olduğu gibi düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Tripsin spesifik aktivitesindeki 20. günden sonraki artışın önemli bir şekilde alınan mikropartikül yem ile alakalı olduğu bildirilmiştir. Diğer balık larvalarında daha önce genel olarak belirtilenin aksine amilaz spesifik aktivitesinin

sürekli, devam eden bir şekilde artış gösterdiği, bu durumu; bu türün omnivor özellikte olması ve balığın yüksek miktarda nişasta veya diğer karbonhidratları içeren besinleri etkili bir şekilde değerlendirdiği ile ilişkilendirmişlerdir. AP/leu-ala ve AN/leu-ala 8. günde ani bir artış göstermiş, bu durumunda mavri kefal larvalarında intestinal sistemin erken dönemde gelişmeye başlamış olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Suzer et al., (2007a); yılında yaptıkları çalışmada sivriburun (*Diplodus puntazzo*) larvalarında pankreatik ve intestinal enzimlerin spesifik aktivitelerini larval dönem boyunca sörvaj uygulamasının sona erdiği 50. güne kadar incelemişlerdir. Yeşil su tekniğinin uygulandığı çalışma 3 tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Tripsin enzim aktivitesi ilk olarak ağız açılımı ile birlikte tespit edilmiş olup, yaşa bağlı olarak 25. güne kadar hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Deneme sonuna kadar keskin bir düşüş gözlenmiştir. Amilaz açılımından iki gün sonra tespit edilmiş ve 10. güne kadar hızlı bir artış gözlenmiştir. 10. ve 20. günler arasında düşüş tespit edilmiş ve deneme sonuna kadar küçük değişimler göstermeye devam etmiştir. Lipaz aktivesi ilk olarak 4. günde tespit edilmiş, 25. güne kadar yavaş bir şekilde artış göstermiştir. Bu günden sonra önemsiz değişimler göstermiştir. Pepsin aktivitesi ilk olarak 32. günde mide oluşumuna bağlı olarak tespit edilmiş olup, 40. güne kadar hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Bu günden sonra aktivitesinde dalgalanmalar tespit edilmiştir. Fırçamsı epitel enzimleri (aminopeptidaz N ve alkalın fosfataz) spesifik aktivitelerinde ilk on gün aynı özelliği göstermiştir. Daha sonra, alkalın fosfataz spesifik aktivitesi 15. güne kadar yavaş bir şekilde düşme gösterirken 20. güne kadar dalgalanma eğilimine girmiştir. Aminopeptidaz N aktivitesi 20. güne kadar yavaş bir şekilde azalma göstermiştir. Daha sonra alkalın fosfataz ve aminopeptidaz N aktivitesi 30. güne kadar hızlı bir şekilde yükseliş göstermiştir.

Suzer et al., (2007b); yılında yaptıkları çalışmada fangri (*Pagrus pagrus*, L.) larvalarında sindirim enzimleri gelişimini larval dönem boyunca incelemişlerdir. Yeşil su tekniğinin uygulandığı ve 3 tekrarlı yürütülen çalışmada; enzimatik analizler için bütün vücut homojenatı kullanılmıştır. Çalışma süresince ölçülen tüm enzim spesifik aktivitelerindeki değişimlerin metamorfoz ve sörvaj uygulaması ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Tripsin ve kimotripsin spesifik aktivitesi ilk olarak ağız

açılımı ile birlikte 3. günde tespit edilmiş olup, 23. güne kadar yavaş bir biçimde artış gösterdiği bildirilmiştir. Bu dönemden sonra spesifik aktivitede azalma eğilimi olduğu belirtilmiştir. İlk pepsin aktivitesi mide oluşumu ile eş zamanlı olarak 28. günde tespit edilmiş olup, 30. güne kadar hızlı bir şekilde artış gösterdiği ifade edilmiştir. Amilaz ve lipaz aktivitesi ilk olarak sırasıyla 2. ve 4. günde tespit edildiği ve bu iki enzimin çalışmanın ilk haftası boyunca benzer özellik gösterdiği belirtilmiştir. Bununla birlikte 30. güne kadar önemsiz farklılıklar tespit edilirken, bu dönemden sonra çalışmanın sonuna kadar olan süreçte lipaz spesifik aktivitesinin azaldığı ve amilaz spesifik aktivitesinde artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Sindirim enzimleri spesifik aktivitelerinde görülen değişimlerin besin içeriklerindeki değişimler ve metamorfoz ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu duruma ek olarak, fangri larvalarında görülen sindirim enzimleri gelişim özelliklerinin, yetiştiriciliği gerçekleştirilen diğer Sparidae türlerindeki özellikler ile benzerlik taşıdığı bildirilmiştir.

Aktülün et al., (2008); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada; sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) larvalarında kimotripsin spesifik ve total aktivitelerini farklı pH ortamlarında 35. güne kadar incelemişlerdir. Aktivite eksojen beslenmenin başlamasından önce, larvanın 2.8 ± 0.34 mm total boyda olduğu ilk günde tespit edilmiştir. Spesifik kimotripsin aktivitesi 3. günden 25. güne kadar artış göstermiş ve bu günden itibaren düşüşe geçtiği bildirilmiştir. Total aktivite 10. güne kadar hızlı bir şekilde artış göstermiş, bu günden sonra denemenin sonu kadar olan süreçte artışına yavaş bir şekilde devam etmiştir. pH değerlerinin spesifik ve total aktiviteleri önemli bir biçimde etkilediği, her iki aktivitenin pH'ın asidik ve alkali olduğu durumlarda düşük olduğu belirtilmiştir.

Ribeiro et al., (2008); yılında *Pagellus bogaraveo* larvalarının besinsel gereksinimlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada larvaların belirli gelişim safhalarındaki sindirim enzimi aktivitelerini 55. güne kadar incelemişlerdir. 5-35. gün rotifer, 30-35. gün *Artemia nauplii*, 35-45. gün metanauplii, 45-55. günlerde mikropartikül yem ile besleme gerçekleştirilmiştir. Tripsin, amilaz, lipaz, alkalın fosfataz ve leucine-alanin peptidase aktivitelerinin belirlenmesi için 7, 11, 21, 45 ve 55. günlerde larva örnekleri toplanmıştır. 21. güne kadar olan dönemde enzim analizlerinde tüm vücut içeriği, 21. günden sonra abdominal boşluk kullanılmıştır.

Blackspot larvalarının kuru ağırlığı 5. günde 60 µg, 55. günde 30±9.7 mg olarak tespit edilmiştir. Amilaz spesifik aktivitesi deneme süresince önemli bir şekilde düşüş göstermiştir. Tripsin spesifik aktivitesi 21. güne kadar sabit seyretmiştir (38-44 mU mg protein⁻¹). Bu durumun besleme rejimi ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Gelişimin sonraki safhalarında lipaz spesifik aktivitesi 55. günde, 45. gündeki spesifik aktivitenin üç katı olarak tespit edilmiş ve önemli bir artış göstermiştir. Sindirim enzimlerinin total aktivitelerinin 21. güne kadar artış göstermiş olduğu, devam eden günlerde sadece lipaz ve leucine-alanin peptidaz aktivitesinin 45 ve 55. günler arası artış gösterdiği, sindirim enzim aktivitelerinin bu şekilde gelişiminin farklı gelişim safhalarında kullanılan besin çeşidine ve organogenesis ile ilgili olduğu bildirilmiştir.

Kamacı et al., (2010); yılında gerçekleştirdikleri çalışmada; sivriburun (*Diplodus puntazzo*) larvaların sindirim sistemi ontogenesi ile birlikte tripsin enzim aktivitesini, ağırlık ve boy gelişimlerini 40. güne kadar incelemişlerdir. Tripsin enzim aktivitesi ile birlikte pankreasın fonksiyonel gelişimi histolojik ve enzimatik analizler kullanılarak tespit edilmiştir. 3. günde ilk olarak anüs daha sonra ağız açılımı gerçekleşmiştir. Tripsin spesifik aktivitesi larvanın 2.87±0.34 mm total boyda olduğu açılımın ilk günü (42.54±6.8 mU/mg protein⁻¹) tespit edilmiştir. Aktivite devam eden günlerde eksojen besin alınımı ile birlikte 10. güne kadar artış göstermiştir. En yüksek tripsin spesifik aktivitesi (119.26±11.6 mU/mg protein⁻¹) 25. günde tespit edilmiştir. Eksokrin pankreas gelişiminin; zimojen granüllerin birikimi ve tripsin aktivitesinin artışı ile sonuçlanan sindirim sistemi gelişiminde önemli bir adımı oluşturduğu belirtilmiştir.

Suzer et al., (2013); granyöz (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801) lavalalarının (40. güne kadar) pankreas ve bağırsak enzimlerinin ontogenesi incelemişlerdir. Larva yetiştirmede yeşil su tekniği uygulanmıştır. Tüm vücut homojenatları, yumurtadan çıktıktan 15 gün sonrasına kadar larvalarda enzimatik analiz için kullanılmıştır. Sonrasında pankreas ve bağırsak segmenti olarak iki parçaya ayrılmıştır. Tripsin, yumurtadan çıktıktan hemen sonra tespit edilmiş ve yumurtadan çıktıktan 15 gün sonra yaş ve eksojen beslenme ile eşzamanlı olarak artmıştır. Amilaz aktivitesi, yumurtadan çıktıktan 2 gün sonra görülmüş ve 10. güne kadar sert biçimde artmıştır. Daha sonrasında 10. ve 15. günler arasında düşüş

göstermiştir. Bu düşüş çalışma sonuna kadar devam etmiştir. Lipaz ilk olarak 3. günde ölçülmüş, sonrasında 20 ile 25. gün arasında ani düşüş gözlenmiştir. Bu tarihten sonra, deneyin sonuna kadar yavaş dalgalanmalarla devam etmiştir. Pepsin ilk olarak gastrik bez sekresyonuna bağlı olarak açılımdan 15 gün sonra test edilmiş ve larvalar yumurtadan çıktıktan 30 gün sonra sert şekilde artmıştır. Daha sonra, deneyin sonuna kadar yavaşça değişmiştir. (Brush Border Membranes) Fırçamsı epitel, alkalın fosfataz ve aminopeptidaz N enzimleri, ilk 10 gün boyunca spesifik aktiviteler üzerinde benzer bir yapı göstermiştir. Bundan sonra, alkalın fosfatazın spesifik aktivitesi açılımdan 15 gün sonra hafifçe azalmış ve açılımdan 20 gün sonraya kadar dalgalanma göstermişken, aminopeptidaz N aktivitesi açılımdan 20 gün sonra yavaşça artmıştır. Daha sonra, alkalın fosfataz ve aminopeptidaz N aktivitesi, açılımdan 30 gün sonra sürekli olarak artmış ve bağırsak sindirim sürecinin olgunlaşmasına işaret etmiştir. Sitosolik peptidaz, lösin-alanin peptidazın spesifik aktivitesi, 8. günde artmış, daha sonra kuluçkadan 15 gün sonrasına kadar dalgalanmıştır. Bu tarihten sonra, brush border membran enzimlerinin aksine, yumurtadan çıktıktan 25 gün sonra keskin bir şekilde azalmış ve çalışma sonuna kadar yavaş yavaş azalmaya devam etmiştir. Bu bulgular, enterositlerin olgunlaşmasının ve yetişkin bir sindirim modeline geçişinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Solovyev et al., (2016); granyoz larvalarında (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801) sindirim sisteminin morfolojik ve fonksiyonel gelişimini histolojik ve enzimatik açıdan tanımlamışlar ve sindirim kapasitesinin kazanılmasını, sindirim organlarının morfolojik gelişimi ile eşleşmişlerdir. Bu amaçla, larvalar standart bir zenginleştirilmiş rotifer (2–15 days posthatching, dph), *Artemia* metanauplii (14–51 dph) ve mikrodiet (35–51 dph) ile 18 ° C'de beslenmiştir. Histolojik ve enzimatik analizler, larvaların eksojen beslenmenin başlangıcında farklılaşmış bir ekzokrin (2 günlük ve 3.2±0.1 mm) pankreas olduğunu ve besin sindirimde yer alan başlıca pankreas enzimlerinin lipaz ile alkalın proteazların olduğunu göstermiştir. Pankreatik enzimlerdeki ontogenik değişimler 3.2 ile 3.9 mm arasında, yağ damlasının emilmesi ve eksojen beslenmeye geçişte 4.2 ve 5.8 mm (20–25 dph) arasında tespit edilmiştir. Pepsin aktivasyonu larvalarda 6.0 ve 6.8 mm'ye (31 gün) kadar tespit edilmemiştir. Larvalarda pepsin aktivitesinin saptanması, ilk mide bezlerinin (4.6 ve 5.8 mm) ortaya çıkmasından sonra meydana gelmiştir. Larval

dönem beslemenin histolojik ve enzimolojik değerlendirme ile yapılması ve larval dönem besleme rejimlerinin buna göre oluşturulması, ileri dönem yetiştirme başarısı üzerinde etkili olacağı kanısına varılmıştır.

Khoa et al., 2019; Japonya akuakültürü için son derece önemli olan mercan (*pagrus pagrus*) türünün sindirim sistemi, enzim aktivitesi (tripsin, kemotripsin, lipaz ve pepsin) ve ontogenik gelişimini gen ekspresyonu ile ilişkisini 40 günlük larvalar için tanımlamışlardır. Bu kapsamda larvaları yeşil su tekniğinde rotifer ile 15. güne kadar sonrasında ise *Artemia* ile beslemişlerdir. Yumurtadan çıktıktan ağız açılana kadar sindirim tüpünün farklılaşmadığını çok düşük enzim aktivitesi ve gen ekspresyonu olduğunu bildirmişlerdir. Ağız açılımı ve dışarıdan besleme ile birlikte sindirim tüpünde ve bağırsaklarda farklılaşma olduğunu ifade etmişlerdir. Pankreas karaciğer ve safra kesesinin endojen beslenmeden eksojen beslemeye geçişle fonksiyonellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Tripsin, kimotripsin, lipaz ve amilaz aktivitelerinin diğer deniz balıkları türlerinde olduğu gibi artma ve dalgalanma göstermiştir. 15. güne kadar pepsin aktivitesi ve gen ekspresyonu tespit edilmemiş ancak sonrasında 20. güne kadar şiddetli artış göstermiştir. Metamorfoz 40. günde mikrovillilerin düzenlenmesi ve bağırsak vakuollerinin bol miktarda görülmesi ile tamamlanmıştır.

2.7.4 Kemik-Kıkırdak Çalışmaları

Boyut farklılıklarının ölçülmesi, bir organizmanın sınıflandırılmasında kullanılan onlarca yöntemden sadece biridir. Boyut bir organizmanın evriminde en önemli faktörlerden sadece biridir. Birçok organizmanın zaman içerisinde artış gösteren vücut boyutu, canlının günden güne gelişiminde önemli bir rol oynar. Bu durum bize canlının fizyolojisi (kalp atış oranı, solunum oranı, metabolik oranı ve büyüme oranı), anatomisi (organların hacmi, kan miktarı ve yüzey alanı) ve ekolojisi (beslenmesi, üreme stratejisi ve popülasyon yoğunluğu) hakkında önemli ipuçları verir.

Kültür koşullarında, larvaların gelişim performansı ve canlının spesifik organlarının gelişim kronolojilerine uygunluğu, morfo-anatomik kriterlere bakılarak söylenebilir. Bu kriterler doğa koşullarında normal gelişim gösteren

bireyler standart alınarak ortaya çıkarılır. Kriterlerin seçiminde görülme sıklığı, büyüme ve hayatta kalma üzerine etkileri göz önüne alınır. Bu kıstaslar yapılan yetiştiriciliğin başarısını doğrudan etkiler. Genelde yetiştiriciliği yapılan türlerdeki morfolojik değişimler larvanın allometrik ontogenisi üzerine etkilidir (Koumoundouros et al., 1999, 2001).

Ontogeni; gelişen, beslenen, yaşayan larvanın genç bir yavru haline gelene kadar; vücut şekli, morfoloji, metabolizma ve davranış başkalaşımı olaylarının gözlemlendiği ve bunların tümünü kapsayan karmaşık bir prosestir. Türlerin ontogenik bilgileri sadece temel embriyoloji için değil, balıkçılık ve yetiştiricilik uygulamalarında, değişik gelişim safhalarında çevresel tercihlerle fonksiyonel davranışların anlaşılmasına yardımcı olduğu için de önemlidir (Fukuhara, 1992). Allometri ise organların farklı oranlarda büyümesinin bir sonucu olarak meydana gelen gövde şeklinin oransal değişimidir (Gould, 1966; Fuiman, 1983).

Johnson and Katavic (1984); yetiştiricilik koşullarında optimum sınırdan uzak sıcaklık ve tuzluluk değerleri ile yetersiz ışık yoğunluğunun larval dönemde omurga deformasyonlarının sebebi olduğu bildirmişlerdir. Bunun yanında, anaç balıkların yemlerinin besin içeriklerinin zengin olması, yumurta ve larva kalitesi üzerinde doğrudan etkili olacağını ifade etmişlerdir.

Dedi et al., (1995); A vitaminin farklı seviyeleriyle zenginleştirdikleri *Artemia* ile besledikleri Japon dil balığı, *Paralichthys olivaceus*, larvalarında deformasyon ve gelişimi incelemişler, yemde 1 ve 45 IU.gr⁻¹ seviyesindeki A vitamini miktarlarında en düşük deformasyon ve en yüksek ağırlık artışı kaydetmişlerdir.

Andrades et al., (1996); yılında yaptıkları çalışmada, çipuralarda (*Sparus aurata*) yumurtadan çıkıştan itibaren 60. güne kadar lordosisli bireyleri morfolojik olarak tanımlamaya çalışmıştır. Yumurtadan çıkışta çipura larvalarında yaklaşık % 27 oranında deformasyon gözlemlenmiş ve bu durumu embriyogenesis boyunca notokordada meydana gelen değişimlere bağlamıştır. Bunların % 22'sinin prelarval dönemin başında olduğunu kalan % 5'inin çoğunlukla lordosise sahip bireyler olduğunu ve juvenil safhaya ulaştığını bildirmiştir. Bunun yanında, juvenil lordotik

bireylerde fonksiyonel olmayan hava kesesi gözlenirken, erginlerde fonksiyonel hava kesesi görüldüğünü belirtmiştir. Lordosisin daha çok 10 ve 16. omurlar arasında olduğu söylemiştir.

Divanach et al., (1997); yaptıkları bir çalışmada, fonksiyonel hava kesesine sahip levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvalarının erken dönemi boyunca iskelet deformasyonlarının görülme sıklığı üzerine su debisinin etkisini incelemişlerdir. Buna göre toz yeme adaptasyonun ilk dönemlerinde tank içerisindeki yüzey akıntısının 10 cm.sn^{-1} 'den daha yüksek olduğu durumlarda levrek larvalarında deformasyonlara rastladıklarını bildirmişlerdir.

Koumoundouros et al., (2001); yaptıkları çalışmada, sinarit (*Dentex dentex*) balıklarında gözlenen kaudal yüzgeç deformasyonları ve dorsal yüzgeç sert ışınlarının olmaması (saddleback sendromu) ve bu deformasyonlara yetiştiricilik koşullarının etkilerini incelemiştir. Bu amaçla ekstansif ve yarı ekstansif yetiştiricilik koşullarını kullanmıştır. Ekstansif koşullarda karşılaşılan deformasyon frekansının yarı ekstansif koşullarda gözlenen frekanstan % 5.8 daha fazla olduğunu bildirmiştir.

Cahu et al., (2003a); levrek (*Dicentrarchus labrax*) larvalarında yaptıkları çalışmada, larval dönemde balıklarda iskelet gelişimi üzerine bazı besinsel bileşiklerin etkilerini araştırmıştır. Yaptıkları çalışmada, ağzın ilk açılımından itibaren % 1.6 seviyesinde fosfolipit türlerinden olan phosphatidylinositol'un, levreklerin gelişimi boyunca deformasyonu önlemek için uygun olduğunu bildirmiştir. Phosphatidylinositol'un larval gelişim üzerine etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte, hücrelerin yenilenmesi ve devamlılığı üzerine önemli etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Koumoundouros et al., (2002); yılında yaptıkları çalışmada yetiştiriciliği yapılan levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında omurgada gözlenen kyphosis'in ontogenisini ve ölüm oranı üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Buna göre levrek larvalarında ilk olarak omurga deformasyonunu hafif malformasyon veya bilateral simetri şeklinde 10 mm total boyda gördüklerini, 14 mm total boyda larvaların % 18.2'sinde pre-hemal bölgede birkaç kyphosis'e rastladıklarını bildirmiş, 17 mm

total boydan sonra yüksek mortaliteden dolayı kyphosis gözlenme oranının düştüğünü, fakat tanktan toplanan ölü balıkların % 52.6'sında kyphosis gözlemlendiğini belirtmiştir.

Matsuoka (2003); doğal ve kültür orijinli juvenil boydaki mercanlarda (*Pagrus major*) meristik varyasyonlar ve kemik anomalilerini analiz etmiştir. Çalışmasında doğal orijinli juvenillerin % 95'inin dorsal yüzgeç ışınları tanımlanabilir olmasına rağmen, kültür orijinli juvenillerin geniş varyasyonlar sergilediğini bildirmiştir. Bununla birlikte omur anomalileri, sert ışınların yumuşak ışına dönüşümü, küçük ağız yapısı, buldok kafa, anterior bölgedeki omurlarda eksilme, omurların birleşmesi, anormal pterygiophorlar gibi birçok deformasyonu bildirmiştir. Kemik ve kırıldak yapıları boyanmış türlerin detaylı gözlemlerinde, doğal orijinli juvenillerde her bir türün kemik anomalilerinin gözlenmesi sıklığı frekans olarak ortalama 0.2 olurken, kültür türlerinde her bir türün kemik anomalileri 2.4- 21.4 arasında gösterdiğini belirtmiştir.

Hattori et al., (2003); yaptıkları çalışmada mercan (*Pagrus major*) larvalarında başlıca omur deformasyonlarını tanımlamışlar ve bu kemik deformasyonlarının özelliklerini morfolojik olarak belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada kısa vücut yapısı formunun, tüm deformasyonlar içerisinde % 0.9-% 8.3 arasında olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca, bu balıklarda omur kısalığı % 64.3 oranında görülürken, omur erimesi % 25.2 oranında gözlenmiştir. Bununla birlikte, tek bir omur üzerindeki nöral ve hemal ışınlarda da deformasyonlar meydana geldiğini bildirmiştir.

Çoban et al., (2009); uygun üretim koşullarında (16-21 °C, tuzluluk ‰36, 7.6 pH ve % 95'in üzerinde oksijen satürasyonu) fangri mercan (*Pagrus pagrus*) larvalarının normal gelişim özellikleri ortaya konmuştur. Pektoral yüzgeç 2.90 mm boyda gelişmeye başlamış, bunu 5.5 mm total boyda dorsal yüzgeç, 5.6 mm total boyda kaudal yüzgeç, 5.9 mm total boyda pelvik yüzgeç ve 6.0 mm total boyda anal yüzgeç oluşumu izlemiştir. Pelvik yüzgeçler 7.4 mm boyda tamamen ortaya çıkmıştır. Dorsal lepidotrichia gelişimi ilk olarak 6.9 mm boyda gözlenmiş ve son olarak 7.6 mm boyda son ışın sayısına ulaşmıştır. Sırt dikenleri ilk önce 6.5 mm boyda görünmüş ve 7.4 mm boyda tamamlanmıştır. Anal lepidotrichia gelişme

aşamasında 6.8-8.6 mm boyda ortaya çıkmıştır. 5.6 mm boyda urostyle'nin yukarı doğru bükülmesi başlamıştır. Primordial fin içerisinde kaudal lepidotrichia 5.6 mm boyda sonlanmış ve sayısı 7.4 mm boyda son sayıya ulaşmıştır. Kaudal dermatotrichia ilk önce 7.3 mm boyda ortaya çıkmış ve tüm formlar 15.5 mm boyda gözlenmiştir. *Pagrus pagrus*'un yüzgeç gelişimi diğer Sparidae türleri için tanımlananlar ile oldukça benzer bulunmuştur.

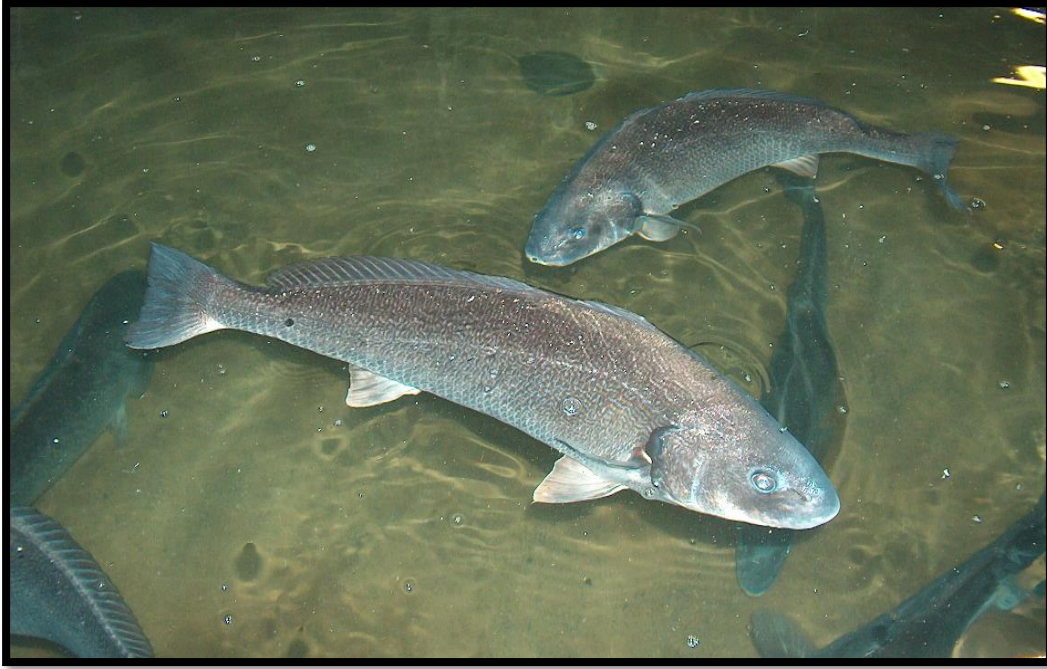
Çoban vd., (2010); sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) larvalarının intensif yetiştiricilik koşullarında omurga ve kaudal yüzgeç yapısının gelişimini tespit etmişlerdir. Osteolojik gelişimin belirlenmesinde 610 adet larvanın kıkırdak boyaması için Alsian mavisi, kemik boyaması için ise Alizarin kırmızısı kullanmıştır. Aksiyal iskelet sisteminin gelişimi hipural 1, nöral yaylar 1-4 ve hemal yaylar 1-6 ile sırasıyla 4.3, 4.7, ve 5.1 mm total boyda meydana gelmiştir. Kaudal yüzgeç uzun ışınları ilk membran kemikler olarak görülmüş (5.6 mm TB) ve tam sayıya ulaşmıştır (7.0 mm TB). Bunu 5.9 ve 8.4 mm total boy arasında omurga oluşumu takip etmiştir. 14.0 mm boyda tüm kas içi ışınlar hariç hemen hemen tüm iskelet elementleri kemikleşmiştir. Larvalarda yürütülen iskelet gelişimi sonuçları diğer Sparidae ve kemikli balıklarda önceden bildirilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında yakın benzerlik tespit edilmiştir.

Neofytou et al., (2017); minekop (*Umbrina cirrosa*) balıklarında vertebral kolon ve yüzgeçlerin osteolojik gelişimini incelemişlerdir. Osteolojik gelişim, mesocosm teknik altında yetiştirilen, toplam uzunluğu 2,7 ile 30,2 mm olan 171 birey üzerinde incelenmiştir. Vertebral ontogeni, sırasıyla ilk kıkırdaklı nöral, hemal kemerler ve dikenlerin oluşmasıyla birlikte, 3-4 mm total başlamış ve epicentrallerin (12.5 mm TL) tam olarak elde edilmesi ile tamamlanmıştır. Vertebra merkezinin oluşumu 4.1-7.4 mm boyları arasındadır. Pektoral destekler ilk olarak 3.0 mm boyda, ardından kaudal yüzgeci 3. 8 mm boyda ve pelvik yüzgeci 3.9 mm boyda gözlenmiştir. Kaudal yüzgeç, 6.9-17.5 mm boyda tüm gelişimi tamamlamıştır. Yapılan ölçümlerde üç ontogenetik aralık ortaya koymuşlar ve bunu 3-5.9 mm total boyda erken yaşam evresindeki aktif gelişim dönemi, 6.0-8.9 mm total boyda daha yavaş gelişim periyodu ve nihayetinde metamorfoz sürecindeki gelişim periyodu olarak tanımlamışlardır (>9.0 mm total boy).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu

Çalışmadaki larva üretimi Haziran-Temmuz 2010 tarihleri arasında Aydın ili, Akbük ilçesi Bozbük yolu 7. km. de bulunan Egemar Su Ürünleri A.Ş. Kuluçkahane Tesislerinde yürütülmüştür. Çalışmalarda kullanılan anaç balıklar denemeler başlamadan önce bulundukları kafes sistemlerinden tesise getirilmiş ve balıklar 20 m³ hacmindeki adaptasyon tanklarına yerleştirilmiştir. Bir haftalık adaptasyon uygulamasından sonra anaçlar 1:1 dişi (2887±168.4 gr)/erkek (2807±143.7 gr) oranında, 5 kg/m³ olacak şekilde stoklanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Denemede kullanılan minekop anaçları

Minekop yumurtaları doğal üreme döneminde (Haziran ayı süresince doğal deniz suyu sıcaklığı (21-23 °C) ve fotoperiyot (15 saat aydınlık: 9 saat karanlık)) temin edilmiştir. Yumurtlama tek doz GnRHa (10 µg/kg) ile teşvik edilmiştir. Yumurtlama dönemi boyunca anaçların beslenmesinde yumurta kalitesini artırmak amacıyla taze yaş yem olarak sübye (*Sepia officinalis*), kalamar (*Loligo vulgaris*), ahtapot (*Octopus vulgaris*) kullanılmıştır. Bununla birlikte anaçlara yüksek oranda

doymamış yağ asitleri içeren Vitalis Repro (Trouvit) marka pelet yem verilmiştir. Anaçlara günde 1 kere ad-libitum besleme yapılmıştır. Anaçlardan temin edilen yumurtalar kollektörlerden toplandıktan sonra ölü-canlı ayrımı yapılmıştır. Ayırma işleminden sonra canlı yumurtalar 200 litre hacmindeki 300 µm göz açıklığına sahip inkübatörlere 2000 yumurta/lit oranında stoklanmıştır. Karanlık ortamda inkübatörlere 6-8 lt/dk su değişimi uygulanmıştır.

3.2 Larval Üretim

Larval dönemde 4 m³ hacminde, çeperleri ve zemini siyah renkli silindirik-konik yapıda polyester tanklar kullanılmıştır (**Şekil 3.2**). Yumurtaların inkübasyon işleminden sonra temin edilen larvalar 80-100 adet/litre olacak şekilde tanklara yerleştirilmiştir. Larva üretimi açık devre sistemde yapılmış olup, yeşil su tekniği kullanılmıştır. Larval yetiştiricilik sırasında kullanılacak su, kültür ortamına verilmeden önce 100 µm süzme kapasiteli kum filtresi, daha sonra sırasıyla 20, 10, 5 ve 1 µm süzme kapasitesine sahip torba filtrelerden geçirilmiştir. Ultraviyole filtreden geçirildikten sonra su kültür ortamına verilmiştir. Her üretim tankının yanında suyun doygunluğunu dengelemek için bir saturasyon kolonu yer almıştır.

Larval dönem boyunca pH değerinin 7.5-8 arasında tutulması öngörülmüştür. Su sıcaklığının ise larval üretimin başında 23 °C, larval dönemin sonunda ise 21 °C'ye kadar kademeli indirilmesi planlanmıştır. Hava kesesi oluşumunu kolaylaştırmak için larva tankındaki tuzluluk değerinin ilk üç günde, ağız açılımına kadar, doğal deniz suyu tuzluluğundan (‰ 40) ‰30'a kadar düşürülmesi öngörülmüş ve bundan sonra deneme sonuna kadar bu değerde tutulmuştur. Larva tankı içerisinde çözülmüş oksijeni dengelemek için saf oksijen ve larva ile canlı yemin homojen dağılımını sağlamak içinde kuru hava kullanılmıştır. Tank içerisindeki çözülmüş oksijen değeri Oxyguard System kullanılarak 7.5-8.0 ppm değerleri arasında sabit tutulmuştur. Total amonyak değerleri kolorometrik identifikasyon yöntemi ile Merc firmasının test kitleri kullanılarak ölçülmüş ve 0.2 ppm'in altında tutulması planlanmıştır.

Larva üretim tanklarına günlere bağlı olarak farklı su değişim oranları uygulanmıştır. Tanklara ilk canlı yem girişi yapıncaya kadar % 10 olarak sağlanan

debi, alg kullanımı süresince ve yalnızca aydınlık periyotta % 5 olarak ayarlanmıştır. Debi oranı 15. günden itibaren % 15 düzeyine yükseltilmiş ve larva gelişimine bağlı olarak düzenli olarak artırılmıştır.

Alg türü olarak BernAqua Inc. firmasının üretmiş olduğu ω -3 Algae ticari isimli *Chloralla spp.* 7-10 gr/m³ oranında kullanılmıştır.



Şekil 3.2 Larva odası

Larvaların ağızlarının açılmasıyla birlikte beslemeye S-type olarak adlandırılan *Brachionus rotundiformis* türü rotifer ile başlanması planlanmıştır. Başlangıç aşamasında tanklarda canlı yem yoğunluğunun 12-15 adet/ml arasında tutulması hedeflenmiştir. Rotifer uygulamasının ardından tanklara canlı yem kaynağı olarak *Artemia* nauplii ile devam edilmiştir. AF tipi *Artemia* larvalara 7. günden itibaren ve ilerleyen günlerde de larva gelişimine bağlı olarak zenginleştirildikten sonra metanauplii formunda 11. günden itibaren verilmesi planlanmıştır. *Artemia* ve rotiferlerin zenginleştirilmesinde BernAqua Inc. ve Skretting firmasının zenginleştirici ürünleri kullanılmıştır. Larval dönem süresi içinde tanklara uygulanması planlanan larva üretim protokolü **Tablo 3.1**'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1 40 günlük minekop larva üretim protokolü

Yaş (gün)	Sıcaklık (°C)	Tuzluluk (‰)	Debi %/s	Işık (lüx)	Işık (saat)	Alg (gr/m ³)	Rotifer adet/ml	AF adet/ml	EG adet/ml	75µ gr/m ³	150 µm
0	22.8	41	10	-	-						
1	22.8	38	10	-	-						
2	22.8	35	10	-	-						
3	22.8	30	5	10	8	7-10	10-12				
4	22.8	30	5	10	10	7-10	10-12				
5	22.8	30	5	10	15	7-10	10-12				
6	22.8	30	5	20	Doğal	7-10	10-12				
7	22.8	30	5	20	Doğal	7-10	10-12	0.5			
8	22.8	30	5	20	Doğal	7-10	10-12	1			
9	22.8	30	5	20	Doğal	7-10	10-12	1.5			
10	22.6	30	10	30	Doğal	7-10	10-12	2			
11	22.4	30	10	50	Doğal	7-10		2	1		
12	22.2	30	10	50	Doğal	7-10		1	2		
13	22.2	30	10	80	Doğal	7-10		0.5	2		
14	21.8	30	10	80	Doğal	7-10			2	10	
15	21.5	30	15	100	Doğal	7-10			2	10	
16	21.2	30	15	100	Doğal				2	10	
17	21.2	30	20	150	Doğal				2	15	
18	21.0	30	20	200	Doğal				2.5	15	
19	21.0	30	20	250	Doğal				2.5	20	
20	21.0	30	20	300	Doğal				2	25	
21	21.0	30	20	300	Doğal				2	30	10
22	21.0	30	20	300	Doğal				1.5	30	15
23	21.0	30	20	300	Doğal				1.5	20	30
24	21.0	30	20	300	Doğal				1	15	50
25	21.0	30	20	300	Doğal				1		75
26	21.0	30	20	300	Doğal				1		80
27	21.0	30	20	300	Doğal				0.5		100
28	21.0	30	20	300	Doğal				0.5		100
29	21.0	30	20	300	Doğal				0.5		100
30	21.0	30	20	300	Doğal				0.5		100
31	21.0	30	20	300	Doğal						100
32	21.0	30	20	300	Doğal						110
33	21.0	30	25	300	Doğal						110
34	21.0	30	25	300	Doğal						120
35	21.0	30	25	300	Doğal						120
36	21.0	30	25	300	Doğal						125
37	21.0	30	30	300	Doğal						125
38	21.0	30	30	300	Doğal						150
39	21.0	30	30	300	Doğal						150
40	21.0	30	30	300	Doğal						150

Larvalarda mide oluşumunun tespit edilmesinin ardından *Artemia* miktarı azaltılmaya başlanarak mikropartikül yem girişi yapılması hedeflenmiştir. Çalışmada, Skretting firmasının Gemma Wean serisi mikropartikül yemleri kullanılmıştır (**Tablo 3.2**) (**Şekil 3.3**).

Tablo 3.2 Gemma Wean mikropartikül yemin besin madde içeriği (Skretting).

<i>Bileşen</i>	<i>Oran</i>
Protein (%)	59
Yağ (%)	14
Kül (%)	8
Nem (%)	7
Selüloz (%)	0.2
Fosfor (%)	1.3
A vitamini (IU/kg)	23.000
D3 vitamini (IU/kg)	2.800
E vitamini (mg/kg)	400
Bakır (CuSO ₄) (mg/kg)	18



Şekil 3.3 Mikropartikül dönemdeki minekop larvaları

3.3 Histolojik Analizler

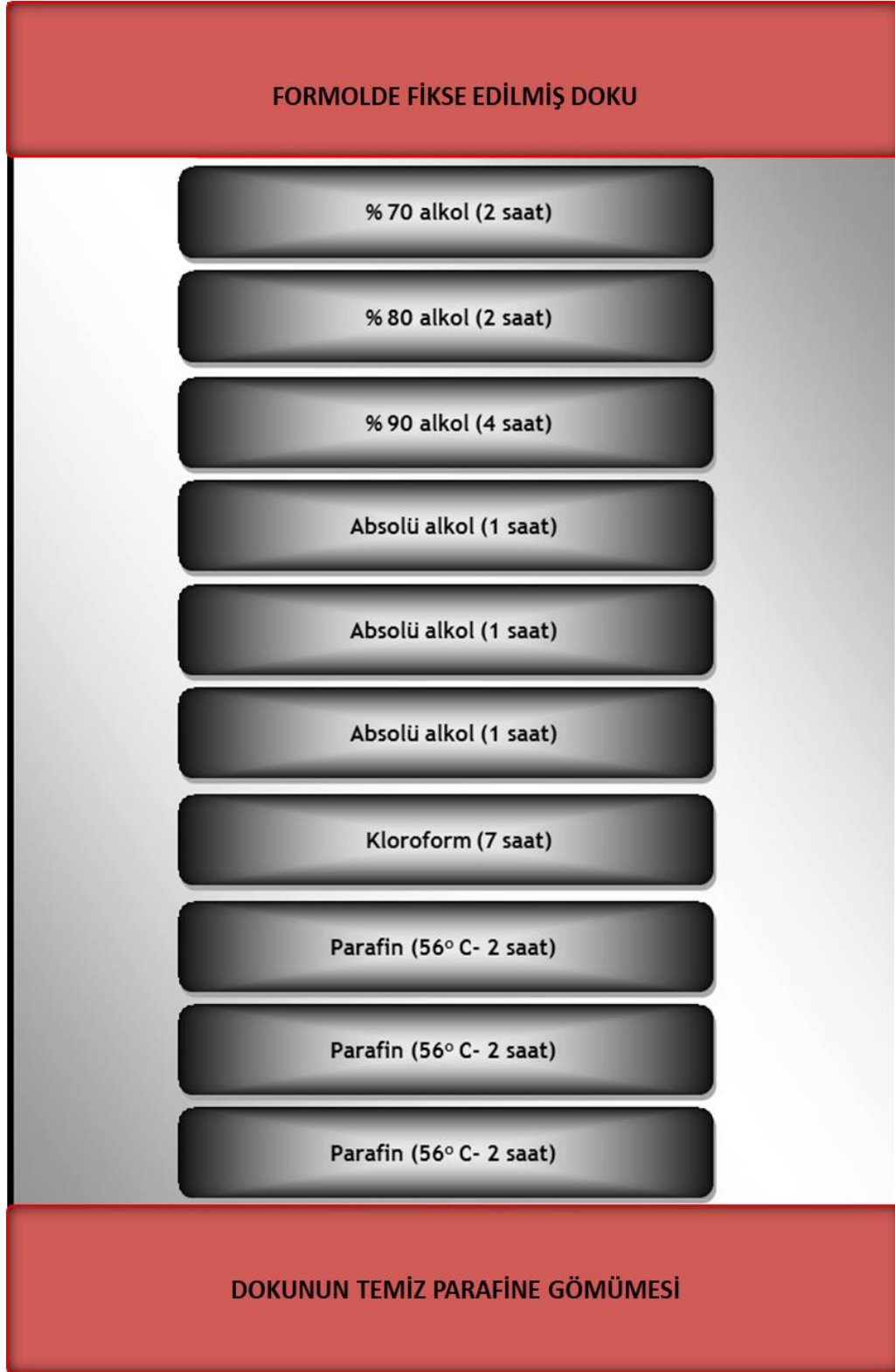
Üretim yapılan minekop larvalarında sindirim sistemi fizyolojisinin izlenebilmesi için tanklardan 0. günden 5. güne kadar her gün, 6. günden 29. güne kadar 2 günde bir, 30. Günden 40. Güne kadar ise 3 günde bir her bir tanktan 10' ar tane larva alınarak örnekleme yapılmıştır. Örnekleme için alınan larvalar sabahları yem verilmeden önce ve aynı derinlikten alınmıştır.

Örnek için alınan larvalar doku özelliklerinin bozulmadan saklanabilmesi ve histolojik kesit alınabilmesi için nötral formalin solüsyonu içerisinde fikse edilmiştir. Formaldehit çözeltisinde bekletilen örnekler bir gün boyunca akışkan temiz suda yıkanıp, alkol serisinden geçirilmiş ve parafin ile blok haline getirilmiştir. Alkol serisi ve parafin işlemleri için Shadon Citadel 100 marka cihaz kullanılmıştır. Parafin bloklar Leica 2125 rotary mikrotom cihazı kullanılarak 5µ kalınlığında kesilmiştir.

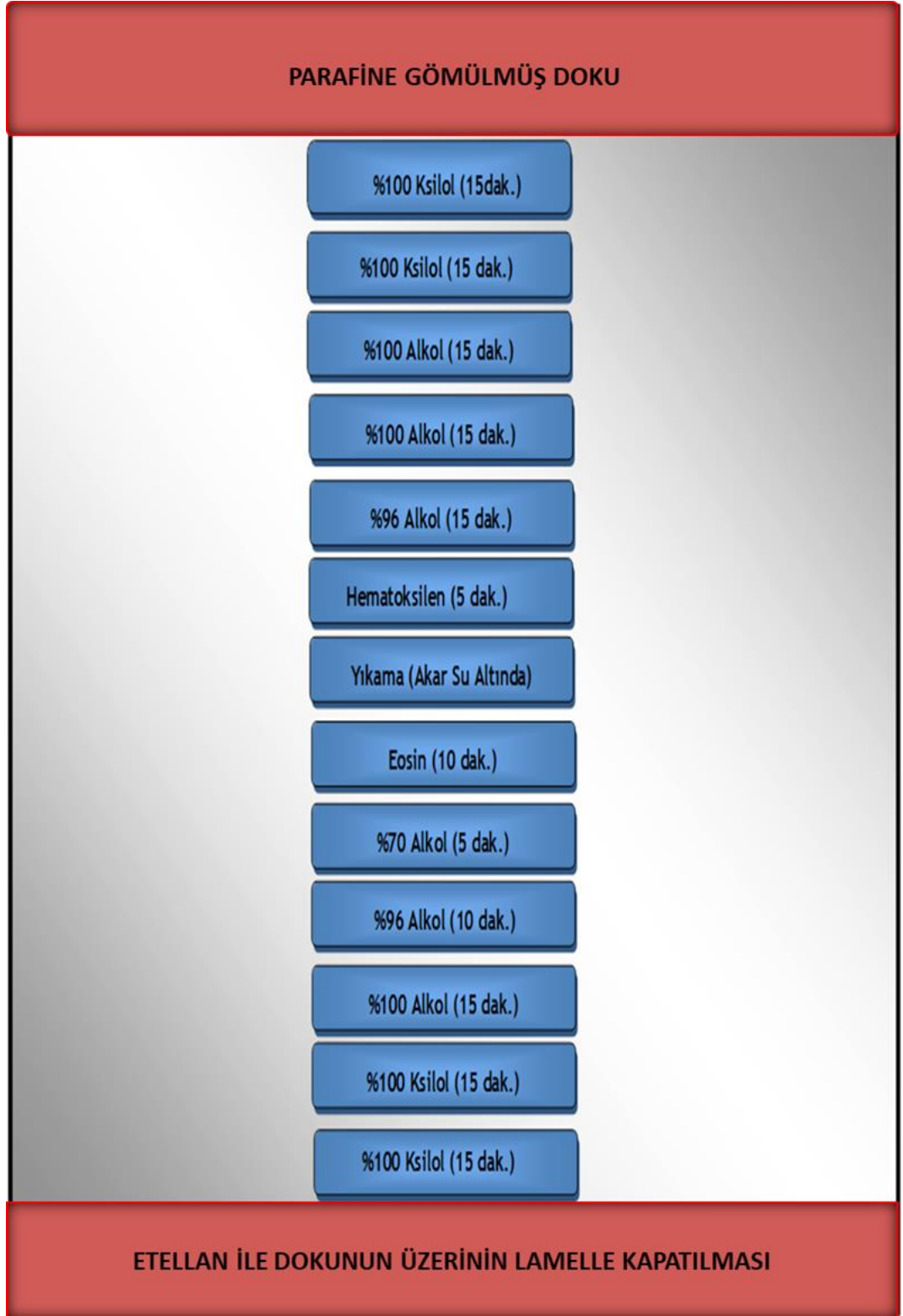
Histolojik değerlendirme amacıyla kesilen larvalara hematoksilen-eosin boyama işlemi uygulanmış ve üstleri lamel ile kaplanmıştır. Hematoksilen-eosin boyama tekniği dokuların farklı bölgelerini farklı renklere boyayarak doku okuma kolaylığı sağlayan bir tekniktir. **Şekil 3.4 ve 3.5**'te çalışmada kullanılan doku boyama prosedürü gösterilmektedir..

Dokuların değerlendirilmesinde kolaylık sağlamak ve kaynak oluşturmak amacıyla hazırlanan preparatlardaki örnekler Olympus CX31 ışık mikroskopunda incelenip, Olympus DP20 dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflanmıştır.

Doku okumasında, daha önce yapılmış çalışmalardan yola çıkılarak, dokularda gelişme ve farklılaşmalar izlenerek organlar tespit edilmiş, gelişim ve değişimleri larval dönem süresince (0-40 gün) izlenmiştir.



Şekil 3.4 Larvaların parafinde bloklanması (Luna, 1968; Bancroft and Stevens, 1996; Presnell and Schreibman, 1997)



Şekil 3.5 Larva dokularının boyanması (Luna, 1968)

3.4 Enzim Analizleri

Larva örnekleri tanklardan sabah ilk yem girişı yapılmadan önce, genellikle aynı derinlikten alınmıştır. Alınan larva örnekleri homojenizatör yardımıyla 15000xg devir, 4 °C’de 30 dakika süre ile homojenize (1/5:homojenat/soğuk saf su) edilmiş ve elde edilen homojenata 50 mM, pH 7.5, Tris HCl ile glycerol eklenerek enzim analizleri yapılmaya kadar -20°C’de saklanmıştır. Her enzim bileşeni kendine özgü spesifik aktivite tayin yöntemi ile tespit edilmiş ve spektrofotometre (Jenway 6100-Visible Spectrophotometer) cihazı yardımıyla aktiviteleri ölçülmüştür.

Tripsin Analizi

Uluslararası Enzim Komisyonu tarafından, E.C.3.4.21.4 şeklinde kodlanmıştır. Tripsin enzimi genel olarak protein sindiriminde aktiftir. Bu enzimin aktivitesi tayin edilirken substrat maddesi olarak Na-Benzoyl-DL-arginine-*p*-nitroanilide (BAPNA) kullanılmıştır (Tseng et al., 1982).

Kullanılan Reaktifler

0.001 N HCl.

0.067 M Poptasyum fosfat tampon çözeltisi, pH 7.6.

0.00025 M BAPNA (8.6 mg/100 ml).

Tripsin enzim solüsyonu.

0.001 N HCl ve 0.5-1.0 U/ml

Prosedür

- Spektrofotometri cihazı 256 nm dalga boyu ve 25°C ayarlanır.
- Quartz küvete 3.0 ml BAPNA substrate konulur.

- Quartz küvet spektrofotometrede 5 dakika süre ile 25°C’de inkübe edilir.
- 0.2 ml enzim solüsyonu konulur ve 253 nm dalga boyunda, 5. dakika sonundaki değer kaydedilir.

Kimotripsin Analizi

Uluslararası Enzim Komisyonun tarafından, E.C.3.4.21.1 şeklinde kodlanmıştır. Kimotripsin enzimi tıpkı Tripsin gibi proteinlerin sindiriminde görev almaktadır. Kimotripsin enzim aktivitesi Worthington (1982)’ ye göre izlenmiş ve substrat madde olarak Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester (BTEE) kullanılmıştır.

Kullanılan Reaktifler

0.08 M Tris/HCl tampon, pH 7.8, ve 0.1M Kalsiyumklorid

0.00107 M BTEE % 50 w/w methanol

0.001 N HCl

Kimotripsin (enzim) solüsyonu.

5 mg enzim/ml 0.001 N HCl.

Prosedür

- Spektrofotometri cihazı 253 nm dalga boyu ve 25°C ayarlanır.
- Quartz küvete 1.5 ml TrisHCl tampon ve 1.4 ml BTEE substrat konulur.
- Quartz küvet spektrofotometrede 4-5 dakika süre ile 25°C’de inkübe edilir.
- 0.1 ml enzim solüsyonu konulur ve 256 nm dalga boyunda, 5. dakika sonundaki değer kaydedilir.

Pepsin Analizi

Pesin ise Uluslararası Enzim Komisyonunca E.C.3.4.23.1 şeklinde kodlanmıştır. Pepsin, protein sindiriminde görev alan bir enzimdir. Pepsin enziminin aktivitesini izlenmek amacıyla Worthington (1982) tarafından geliştirilen analiz yöntemi Zambonino Infante ve Cahu (1994) tarafından düzenlenmiş ve substrat olaraksa sığır hemoglobini kullanılmaya başlanmıştır.

Kullanılan Reaktifler

1.0 N HCl, 0.3 N HCl, 0.01 N HCl.

% 2.0 (w/v) Hemoglobin.

% 5 (w/v) Trichloroacetic asit (TCA)

Pepsin enzim solüsyonu.

5 mg enzim/ml 0.001 N HCl.

Prosedür

- Quartz tüpte 100 µl homojenat 37 °C’de inkübe edilir.
- 500 µl hemoglobin substratı . (0.06 HCl içinde % 2 ağırlık/hacim hemoglobin) eklenerek 37 °C’de inkübasyona devam edilir.
- 10 dakika sonra 1 ml trichloroacetic asit (TCA) ile reaksiyon kesilir ve tüpteki homojenat 4000xg 6 dakika süre ile homojenize edilir.
- Elde edilen yeni homojenatın saydam kısmının optik yoğunluğu 280 nm dalga boyunda spektrofotometri cihazında okunur.

Amilaz Analizi

Karbonhidratların sindiriminde rol oynayan amilaz enzimi Uluslararası Enzim Komisyonu tarafından E.C.3.2.1.1 şeklinde kodlanmıştır. Amilaz enzim aktivitesinin tayini Metais and Bieth (1968) göre yapılmış ve substrat madde olarak çözünür nişasta kullanılmıştır.

Kullanılan Reaktifler

0.006 M Sodyum klorit, 0.02 M Sodyum fosfat tamponu, pH 6.9

2.0 M Sodyum hidroksit

1 gr çözünür nişasta 0.006 M NaCl içeren 100 ml 0.02 M pH 6.9

Sodyum fosfat tamponu 1.0 g eriyiği

Farklı konsantrasyonda hazırlanmış 1-10 µg/ml

Amilaz enzim solüsyonu

Prosedür

- Spektrofotometre cihazı 256 nm ve 25°C ve su banyosu 25°C ayarlanır.
- 0.5 ml enzim solüsyonu 0.5 ml distile su ile aynı kuvartz tüpe konur ve 25 °C’de inkube edilir.
- 3 dakikalık zaman dilimlerinde 25°C’de 0.5 ml nişasta eriyiği eklenir ve 25°C’de reaksiyona devam edilir.
- 3 dakika sonra 1 ml dinitrosalicylic asit eklenir ve kaynar suda 5 dakika beklenir. Ardından 10 ml saf su eklenerek 540 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunur.

Lipaz Analizi

Lipidlerin sindiriminde rol oynayan lipaz Uluslararası Enzim Komisyonu tarafından E.C.3.1.1.3 şeklinde kodlanmıştır. Lipaz enzim aktivitesi Versaw (1986) tarafından yapılan çalışmada kullanılan yöntemle göre belirlenmiş v substrat madde olarak Naphtyl caprylate kullanılmıştır.

Kullanılan Reaktifler

0.1 M Potasyum fosfat tamponu, pH 7.0

0.05 M 4-Aminoantipyrine-HCl (12 mg/ml) in saf su

0.05 M 1.7-Dihydroxynaphthalene (8 mg/ml ethanol)

0.05 M Magnezyum sülfat (6.02 g/1000 ml) ile saf su

0.05 M ATP (30.3 mg/ml) ile saf su

Prosedür

- Spektrofotometri cihazı 490 nm dalga boyu ve 37 °C ayarlanır.
- Quartz küvete 2.95 ml reaktif konur ve 10 dak. 37 °C’de inkube edilir.
- 10 mg liyofilize lipaz 10 ml distile suda çözünüp 1:100 eriyik hazırlanır.
- Küvete 0.05 ml lipase konup karıştırılır.
- 10 dak sonunda 490 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunur.

Protein Analizi

Her enzim için spesifik aktiviteyi sayısal belirlemek için spektrofotometrede okunan değerlerin, homojenatta ki protein değerine oranlaması yapılmış ve her

enzim için kendisine ait spesifik aktivitesi $\text{mU/mg protein}^{-1}$ olarak bulunmuştur (Bradford, 1976). Uygulamada kullanılan substrat ise sığır serum albüminidir.

Kullanılan Reaktifler

100 mg Coomassie Blue G-250

50 ml % 95 etanol

100 ml % 85 (w/v) Fosforik asit

Prosedür

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

3.5 Kemik-Kıkırdak Yapısı Analizleri

Kemik ve kıkırdak analizleri için larvalar yumurtadan çıktıkları andan itibaren (0. gün) 40. güne kadar her 5 günde her tanktan en az 10 adet olacak şekilde alınmıştır. Örneklerin alınmasında tank içerisinde su sütununun her yerinden alınmasına dikkat edilmiştir. Alınan örnekler % 10'luk formol içerisinde sabitlenerek Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliğinde incelenmiştir.

Kemik ve kıkırdak analizleri için % 10 formalin içerisinde sabitlenen larvalarda ikili boyama yöntemi kullanılmıştır. Kıkırdak yapı alcian mavisi ile kemik yapı alizerin kırmızısı ile boyanmıştır. Balıkların boyanması ve analizlerin yorumlanması Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği laboratuvarlarında yapılmıştır. Boyama sırasında izlenecek prosedür; a) Beyazlatma b) Şeffaflatma c) Alcian mavisi ile boyama d) Nötralizasyon e) Beyazlatma f) Alizerin kırmızısı ile boyama g) Temizleme h) Fotoğraf çekimi ı) Kemik ve kıkırdak yapı analizi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Boyanan balıklar stereomikroskop altında fotoğrafları çekilmiş ve bilgisayara kayıt edilerek kemik-kıkırdak yapı analizleri yapılmıştır.

3.6 İstatistik Değerlendirme

Üç tekrarlı yürütülen çalışmada elde edilen veriler veriler ortalamasının standart sapması (SD) olarak gösterilmiştir. Varyanslar arasındaki homojenite Levene testi ile sınanmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar, tek yönlü varyans analizinin (ANOVA) ardından Tukey testi ile tespit edilmiştir ($p=0.05$). Yaşama oranları arasındaki farklılık ise Fischer'in Ki kare testi ile belirlenmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 22 programından yararlanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Anaç Yönetimi ve Yumurta İnkübasyonu

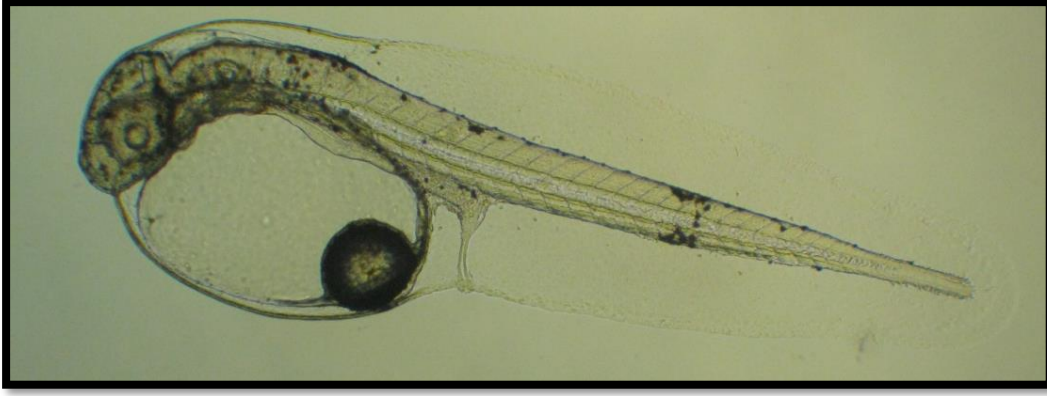
Anaçlar, doğal üreme periyodunda Haziran ve Temmuz ayları arasında, sıcaklığının 22-23 °C olduğu dönemde yumurta bırakmışlardır. Elde edilen yumurtalar, 22.5-23.0 °C’de inkübe edildikten 25-26 saat sonra açılım gözlenmiştir. Yumurta çapı $818 \pm 17 \mu\text{m}$, yağ damlası çapı ise $226 \pm 12 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür (Şekil 4.1). Yumurtaların çapları arasında fark tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).



Şekil 4.1 Larva taslağı oluşmuş minekop yumurtası

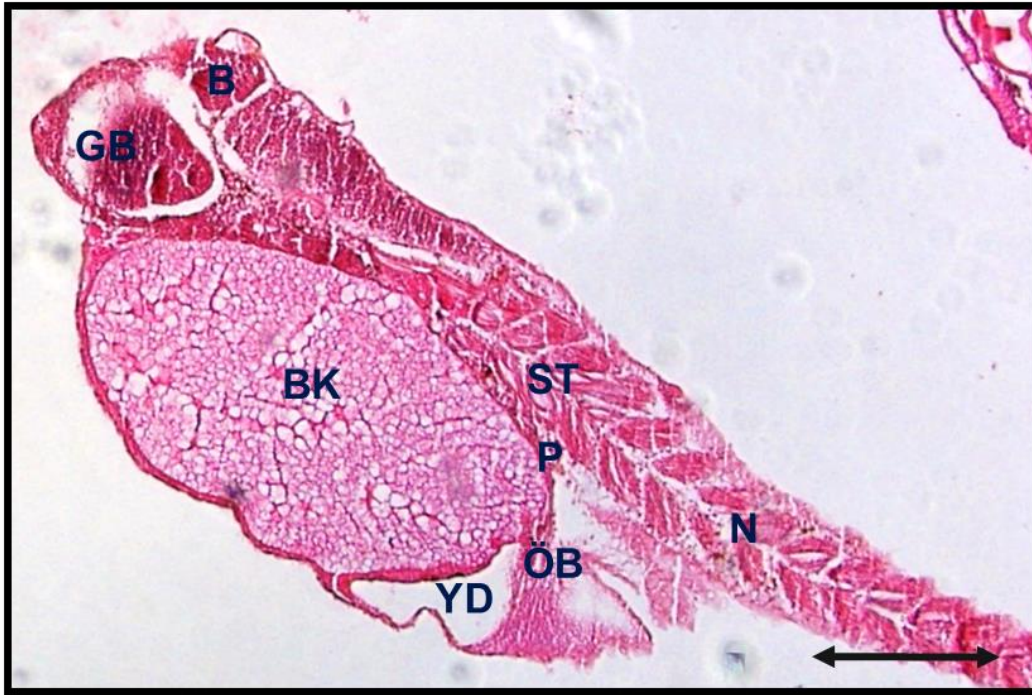
4.2 Larval ve Histolojik Gelişim

Deneme süresince öngörülen larva üretim protokol değerlerinde ve su parametrelerinde herhangi olumsuz bir durum ile karşılaşılmamıştır. Larvaların günlere bağlı gelişimi Şekil 4.2’ de (EK 1) gösterilmiştir. Larvaların genel gelişim verileri incelendiğinde, denemenin sona erdiği 40. günde total boyun ortalama $24.70 \pm 0.81 \text{ mm}$ ortalama ağırlığın ise $144.22 \pm 3.26 \text{ mg}$ olduğu tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yaşama oranı 40. günde ortalama % 69.4 ± 1.8 olarak tespit edilmiş ve tanklar arasında farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).



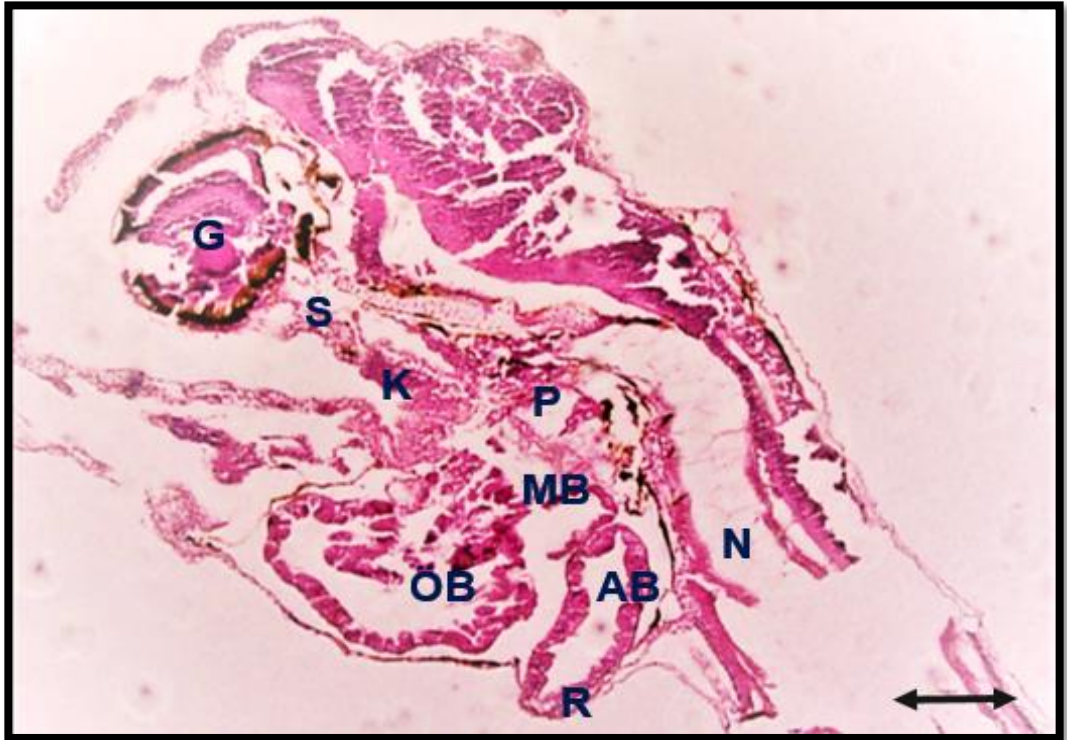
Şekil 4.2 Yumurtadan yeni çıkmış minekop larvası

Yumurtadan yeni çıkmış minekop larvaları ortalama 2.53 ± 0.01 mm ve düz sindirim tüpüne sahiptir. Histolojik farklılaşma henüz yoktur. Bu dönemde larva homojen ve yoğun bir besin kesesi taşımaktadır. Besin kesesinin posteriöründe yağ damlası mevcuttur. Yağ damlası damlacıklı yapıya sahiptir. İlkel omurga olan notokorda belirgin ve düzdür. Larvanın ağız ve anüs henüz açılmamıştır (Şekil 4.3).



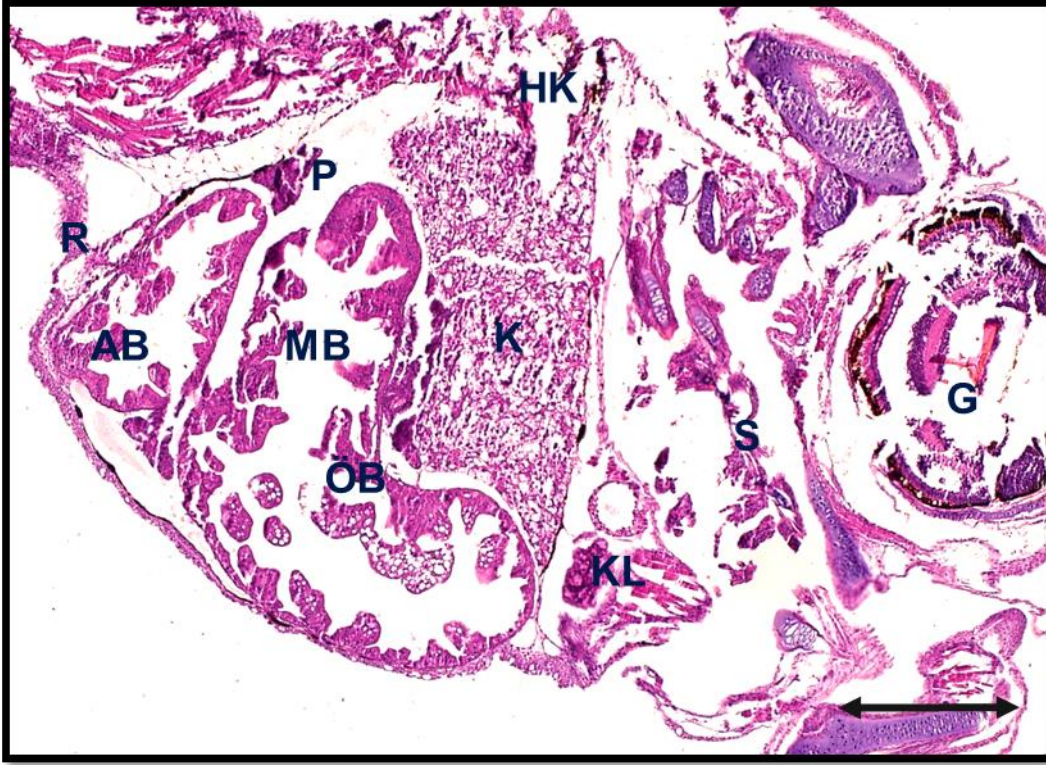
Şekil 4.3 Yumurtadan yeni çıkmış minekop larvası (GB: Göz Bölgesi, BK: Besin Kesesi, YD: Yağ Damlası, ÖB: Ön Bağırsak, P: Pankreas, N: Notokorda, ST: Sindirim Kanalı; B: Beyin, Bar=250 mikron)

Larval gelişimin 2. gününde sindirim tüpü 90 °'lik bir açı ile ventral kısma doğru dönmüştür. Ayrıca bazı larvaların 2. günde (2.69 ± 0.06 mm) hava keselerini şişirdiği tespit edilmiştir. 3. günde larvaların (2.76 ± 0.09 mm) tamamının ağız ve anüsü açılmıştır. Ağız terminal konumlu olup 12. günde subterminal konuma geçiş başlamış ve deneme sonunda geçiş tamamlanmıştır. Gözler daha belirgin hale gelmiştir. Larvalarda yeme atak modeli açıkça gözlenmiş olup dışarıdan yem almaya başlanmıştır. Yapılan örneklemede minekop larvalarında pankreatik hücre gelişiminin, karaciğer hücrelerinin gelişimi ile birlikte 3. günde görülmeye başladığı tespit edilmiştir. Yem alımı ile birlikte sindirim kanalı daha belirgin hale gelmiş ve bölümsel farklılaşma başlamıştır (buccopharynx, esophagus ve intestine). Larvada 5. günle birlikte sindirim tüpü daha da belirginleşerek ön ve arka kısma ayrılmıştır. Dışarıdan yem alan larvalarda yemek borusu boyunca kıvrılmalar tespit edilmiştir. Larva boyu ortalama 3.02 ± 0.18 mm boya ulaşmıştır (**Şekil 4.4**). 8. günde (3.99 ± 0.12 mm) yağ damlası tamamen kaybolmuştur. Larvalarda 9. günde ilk pharyngeal dişler görülmüştür. Yemek borusunda bükülmeler artmıştır.



Şekil 4.4 Minekop larvası (5 günlük, 3.02 ± 0.18 mm) (ÖB: Ön Bağırsak, AB: Arka Bağırsak, K: Karaciğer, P: Pankreas, MB: Mide Bölgesi, S: Solungaç, G: Göz, N: Notokorda, R: Rektum, Bar: 100 mikron)

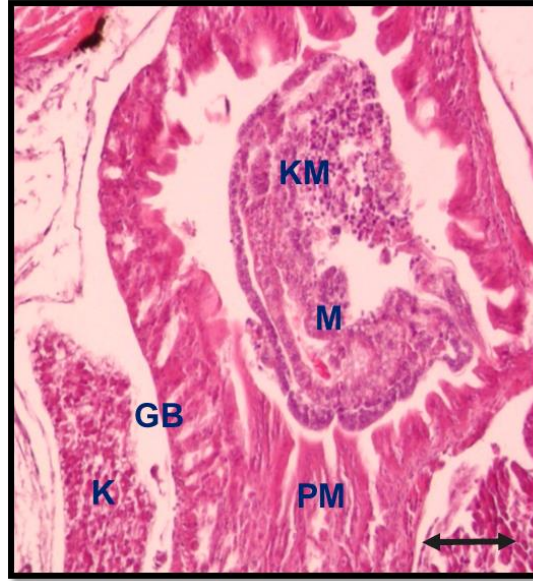
Minekop larvalarında mide gelişimi 3. günde taslak şeklinde görülmeye başlasa da fonksiyonel mide haline gelebilmesi için öncelikle gastrik bezlerinin gelişmesi zorunludur. 7. günün sonunda başlayan basit mide, 12. günde minekop larvasında midenin ilerleyen dönemlerde oluşturacağı kardiyak bölgesindeki oluşumlar görülmeye başlanmıştır. Bölgedeki gastrik bezlerin kübik yapıdaki tek sıra hücrelerden oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Minekop larvası (10 günlük, 4.14 ± 0.10 mm) (HK: Hava Kesesi, ÖB: Ön Bağırsak, AB: Arka Bağırsak, K: Karaciğer, KL: Kalp, P: Pankreas, MB: Mide Bölgesi, S: Solungaç, G: Göz, R: Rektum, Bar: 75 mikron)

Minekop larvalarında 13-18. günler arasında midneyi bağırsaktan ayıran pilorik sfinkter oluşumu görülebilir. Yemek borusundan mideye geçiş henüz tam kapalı olmayıp kas demetleri izlenmektedir. Bu evrede, midenin şekilsel yapısı değişime uğramaktadır. Midenin kardiyak bölgesindeki gastrik bezlerde artış görülmüştür. Midenin boyutları gittikçe artmaktadır (Şekil 4.6). Bu aşamadan sonra mide Y şekline daha çok benzer hale gelmiştir. Dairesel kas tabakalarının varlığı artmıştır. 15 günle birlikte larvada (5.39 ± 0.17 mm) midneyi bağırsaktan ayıran

pilorik sfinkter oluşumu görülebilir. Bununla birlikte mide de, kardiyak bölgede pilorik kısma doğru gastrik bezler gitgide gözden kaybolmuştur (Şekil 4.7).

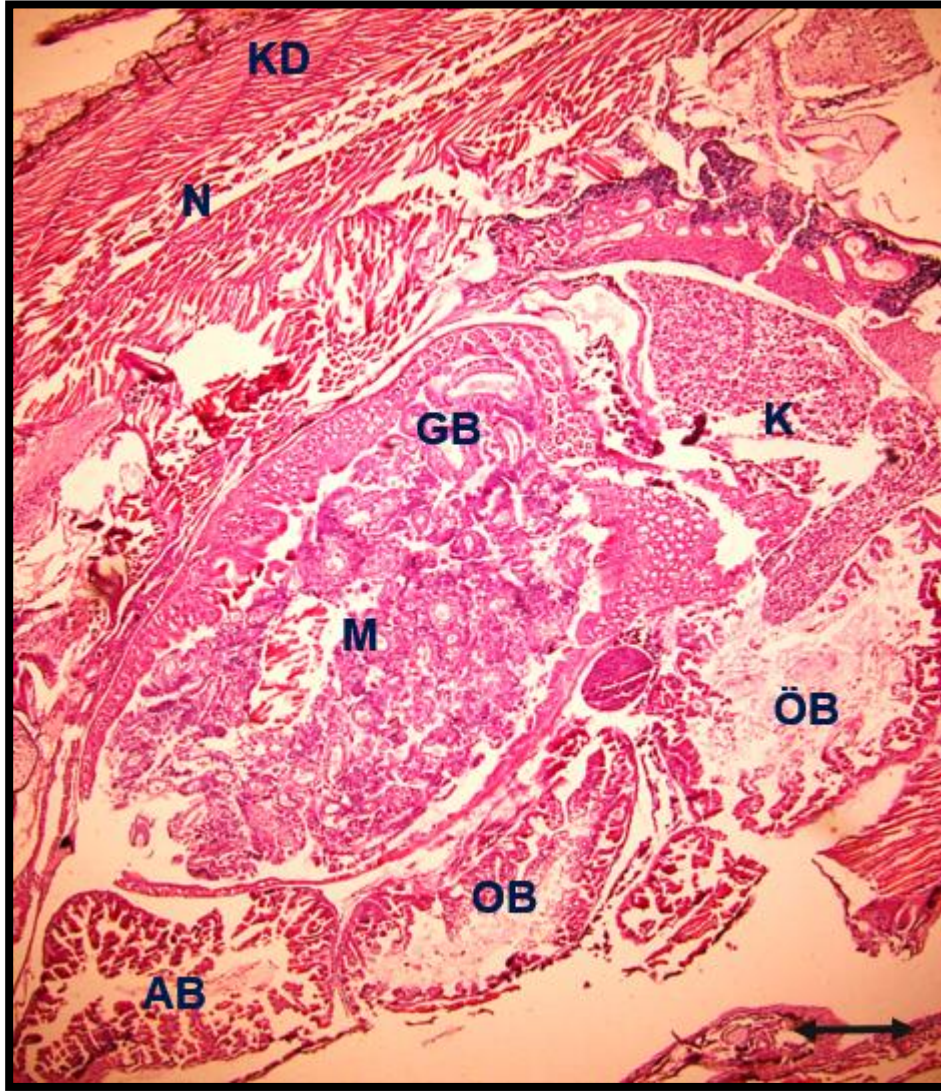


Şekil 4.6 Minekop larvası (13 günlük, 5.01 ± 0.14 mm) (K: Karaciğer, PM: Pilorik Mide, KM: Kardiyak Mide, M: Mide, GB: Gastrik Bezler, Bar: 100 mikron)



Şekil 4.7 Minekop larvası (17 günlük, 6.04 ± 0.11 mm) (K: Karaciğer, AB: Arka Bağırsak, ÖB: Ön Bağırsak, GB: Gastrik Bezler, S: Sfinkter, M: Mide, GB: Gastrik Bezler, P: Pankreas, Bar: 100 mikron)

Minekop larvaları 20 günlük (8.10 ± 0.14 mm) olduğu dönemde fonksiyonel mide oluşumu net olarak izlenmiştir. Bu aşamadan sonra sindirim sisteminin tamamen fonksiyonel olması ise 26. günde gerçekleşmiş ve bu durum enzim aktivitesi ile desteklenmiştir. 15. günden 40. güne (24.70 ± 0.81 mm) kadar mide de göze çarpan yapısal değişiklikler olmamıştır. Bununla birlikte gastrik bez sayıları ve hacimlerinde artış meydana gelmiştir. (Şekil 4.8).



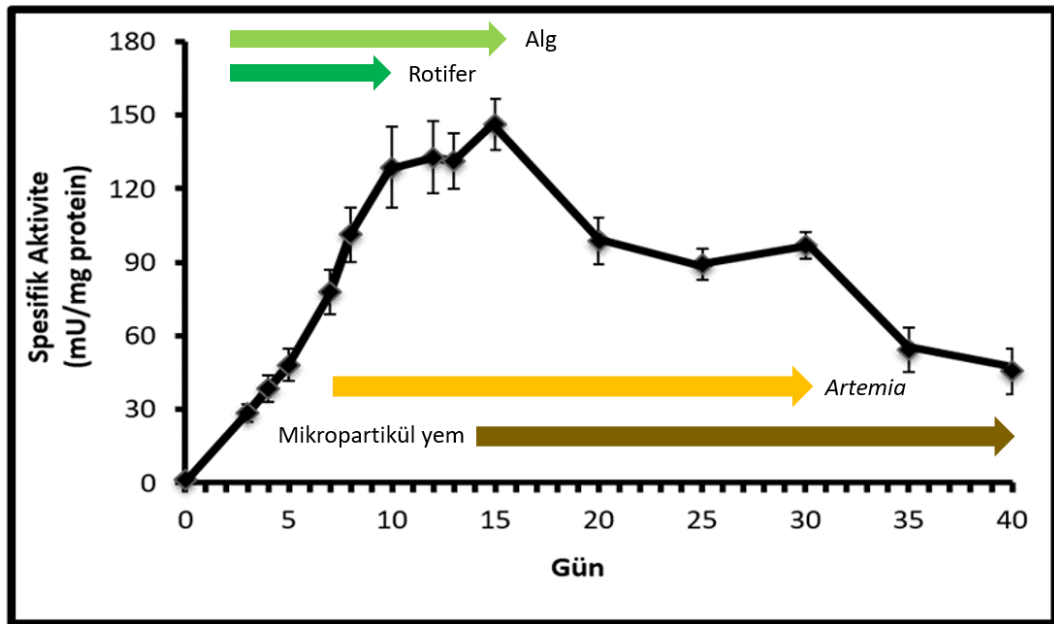
Şekil 4.8 Minekop larvası (28 günlük, 14.19 ± 0.17 mm) (KD: Kas Demeti, N. Notokorda, M: Mide, GB: Gastrik Bezler, K: Karaciğer, AB: Arka Bağırsak, OB: Orta Bağırsak, ÖB: Ön Bağırsak, Bar: 100 mikron)

4.3 Enzim Analizleri

Tripsin (E.C.3.4.21.4)

Pankreasın salgıladığı proteolitik enzimlerden olan tripsin aktivitesi ilk olarak ağız açılımının ardından ilk beslemenin yapıldığı 3. günde 28.47 ± 3.52 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Daha sonra 5. güne kadar artış eğilimi gösteren enzim aktivitesi 5. günde 48.16 ± 6.65 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. Tripsin aktivitesi 7. günde 77.92 ± 8.92 mU/mg protein⁻¹ olarak saptanmıştır. Bundan sonra tripsin aktivitesi 10. güne kadar sürekli artarak 128.68 ± 16.54 mU/mg protein⁻¹ değerine ulaşmıştır. En yüksek spesifik tripsin aktivitesi 15. günde 146.38 ± 10.42 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Bu günden sonra tripsin enzim aktivitesi düşüş eğilimi göstermeye başlamış olup, 20. günde 98.74 ± 9.65 mU/mg protein⁻¹, 25. günde 89.42 ± 6.4 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. Bununla birlikte aktivite 30. günde tekrar artış göstererek 96.78 ± 5.37 mU/mg protein⁻¹ değerine ulaşmıştır. Denemenin sona erdiği 40. günde ise tripsin enzim aktivitesi 45.63 ± 9.23 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9).



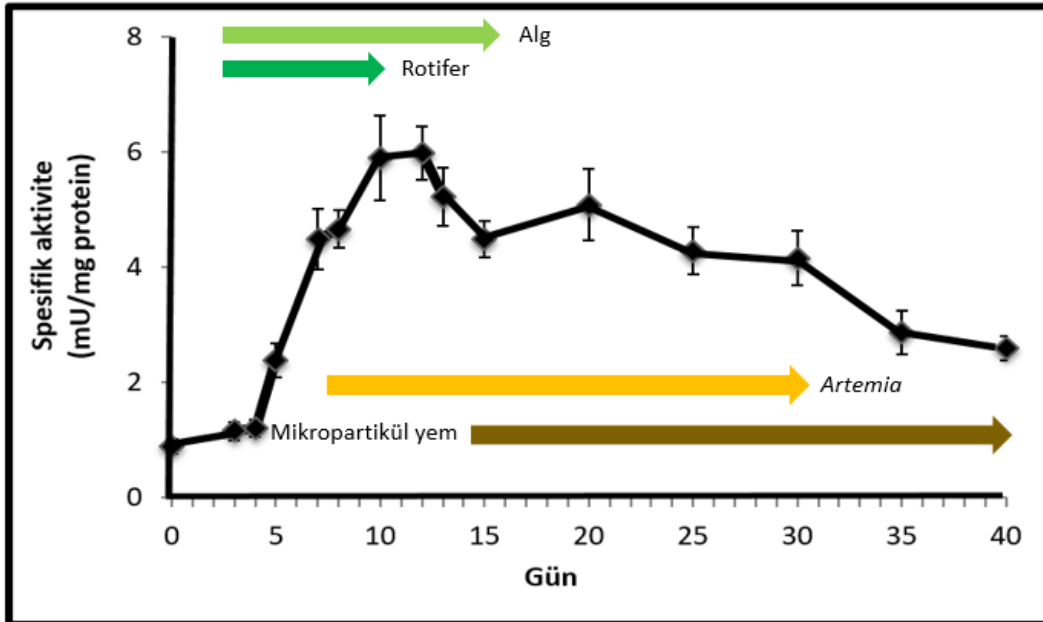
Şekil 4.9 Minekop larvalarında tripsin enzim aktivitesi.

Amilaz (E.C.3.2.1.1)

Karbonhidrat türevlerinin sindiriminde görev alan amilaz enzimi, larvanın yumurtadan çıktığı ilk gün 0.89 ± 0.12 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. Ağız açılımının ardından 3. günde 1.16 ± 0.16 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. 5. günde yapılan ölçümlerde bu değerin % 50'nin üzerinde artış gösterdiği tespit edilerek 2.38 ± 0.29 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür.

7. günde 4.48 ± 0.52 mU/mg protein⁻¹, 10.günde ise bu değer artış göstererek 5.88 ± 0.74 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Çalışma süresince en yüksek amilaz aktivitesi değeri ise 12. günde 5.98 ± 0.46 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür.

Bu günden itibaren sürekli azalış göstererek 20. günde 5.08 ± 0.62 mU/mg protein⁻¹, 25. günde 4.28 ± 0.41 mU/mg protein⁻¹, 30. günde 4.16 ± 0.48 mU/mg protein⁻¹, 35. günde 2.87 ± 0.38 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın sona erdiği 40. günde ise amilaz aktivitesi değeri 2.59 ± 0.21 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür (Şekil 4.10).



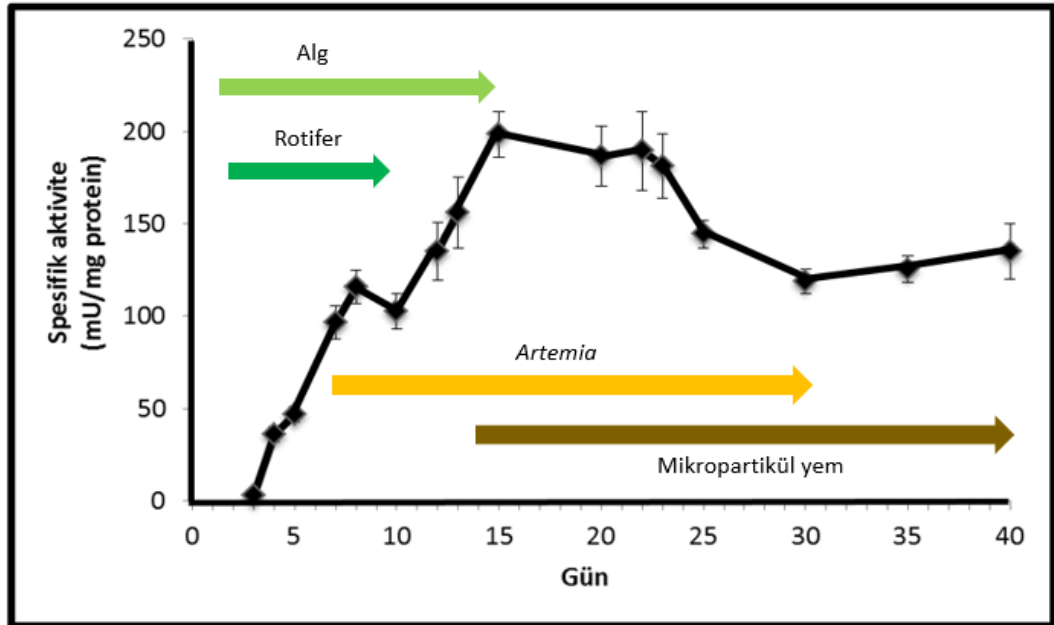
Şekil 4.10 Minekop larvalarında amilaz enzimi aktivitesi.

Lipaz (E.C.3.1.1.3)

Larval dönemde trigliseridlerin ve yağ türevlerinin sindiriminde rol almakta olan lipaz ilk olarak açılımdan sonra 3. günde 2.8 ± 0.32 mU/mg protein⁻¹, bunun ardından 5. günde yapılan ölçümlerde spesifik aktivite değeri 46.89 ± 4.1 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

7. güne kadar yükselme eğilimine devam eden lipaz aktivitesinin bu gündeki 96.58 ± 9.2 mU/mg protein⁻¹ olarak saptanmıştır. Daha sonra 10. günde 102.78 ± 9.6 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Çalışma süresince en yüksek lipaz aktivitesi 15. günde 198.23 ± 12.2 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. 20. günde 186.56 ± 16.3 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiş olup, bu günden itibaren 30. güne kadar sürekli azalma eğilimi gösteren lipaz aktivitesi 22. günde 189.27 ± 21.3 mU/mg protein⁻¹, 25. günde 144.22 ± 7.4 mU/mg protein⁻¹, 30. günde 118.65 ± 6.74 mU/mg protein⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bunun ardından tekrar artış göstererek 35. gün 125.28 ± 7.2 mU/mg protein⁻¹ ve 40. gün 134.87 ± 15.2 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür (Şekil 4.11).

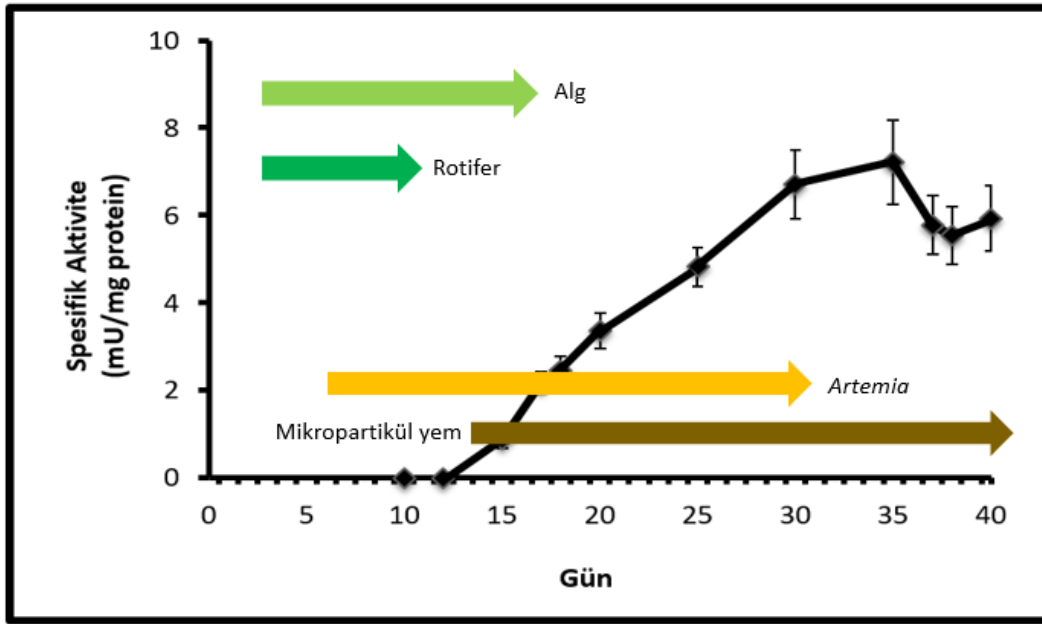


Şekil 4.11 Minekop larvalarında lipaz enzimi aktivitesi.

Pepsin (E.C.3.4.23.1)

Larvalarda midenin oluşmasından sonra sentezlenmeye başlayan pepsin, ilk defa 15. günde 0.88 ± 0.21 mU/mg protein⁻¹ olarak tespit edilmiştir. 17. günde yapılan ölçümlerde 2.18 ± 0.25 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülen pepsin aktivitesi 20.gün 3.37 ± 0.41 mU/mg protein⁻¹, 25.gün 4.82 ± 0.44 mU/mg protein⁻¹ olarak saptanmıştır.

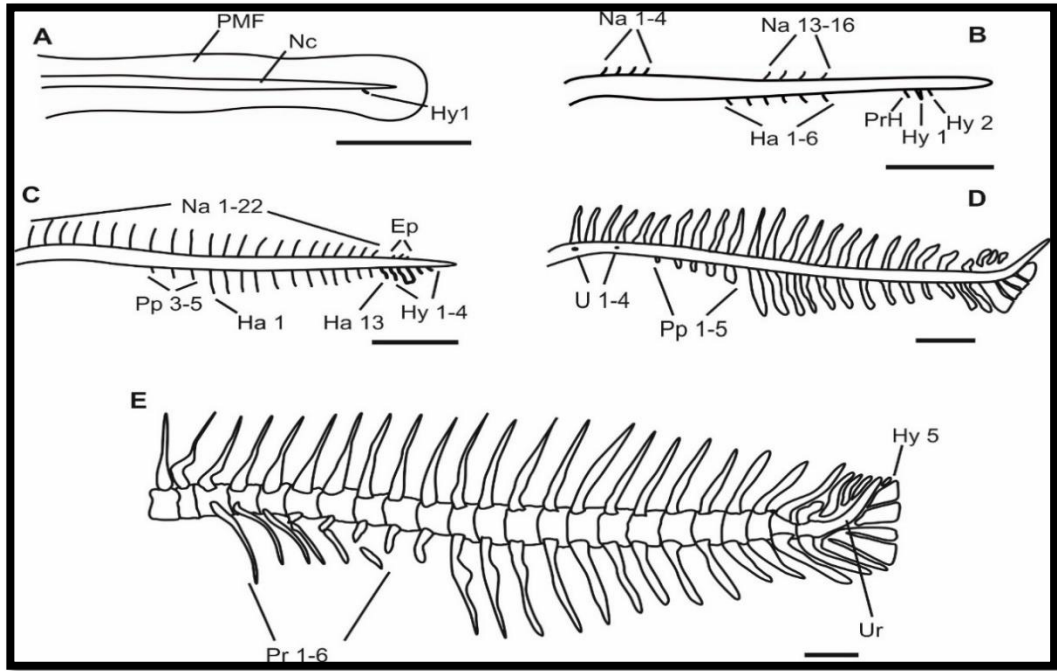
Bu günden itibaren pepsin aktivitesi artış göstermiş ve en yüksek pepsin enzim aktivitesi 35. günde 7.22 ± 0.97 mU/mg protein⁻¹ olarak ölçülmüştür. 40. günde yapılan ölçümlerde ise spesifik aktivite 5.93 ± 0.75 mU/mg protein⁻¹ olarak bulunmuştur (Şekil 4.12).



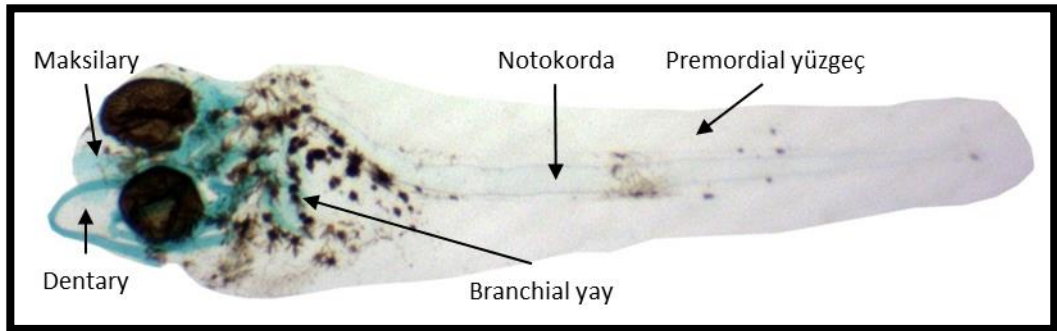
Şekil 4.12 Minekop larvalarında pepsin enzimi aktivitesi.

4.4. Kemik ve Kıkırdak Gelişimi

Larval safha başında büyük bir besin kesesine sahip minekoplarda sadece primordial yüzgeç marjinal olarak göze çarpmaktadır. Besin kesesinin tamamen tüketilmesine kadar gözler siyah renktedir. Ağız açılımı ile birlikte pektoral yüzgeç tomurcukları gelişmeye başlamıştır. Bu dönemde larva boyu ortalama 2.53 ± 0.14 mm'dir. Larva düz bir notokordaya sahiptir (Şekil 4.13; 4.14).



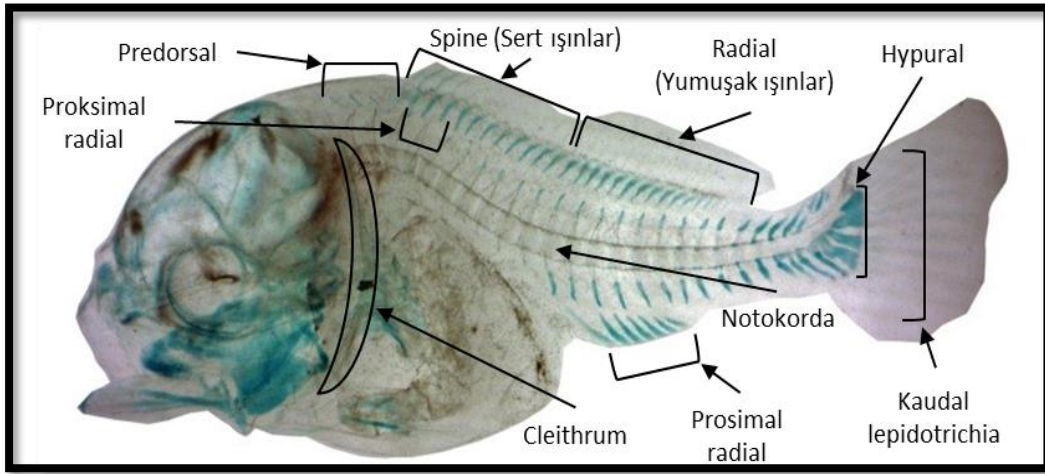
Şekil 4.13 Minekop larvalarında notokorda gelişimi. (PMF, Primordial yüzgeç; Nc, Notokorda; Na, Nöral yay; Hy, Hipural; Ha, Hemal yay; PrH, Parhypural; Pp, Parapophis; Ep, Epural; U, Omur; Pr, kas içi ışın; Ur, Urosital. Skala 1 mm dir).



Şekil 4.14 Minekop larvası (6 gün, 3.23 ± 0.07 mm total boy)

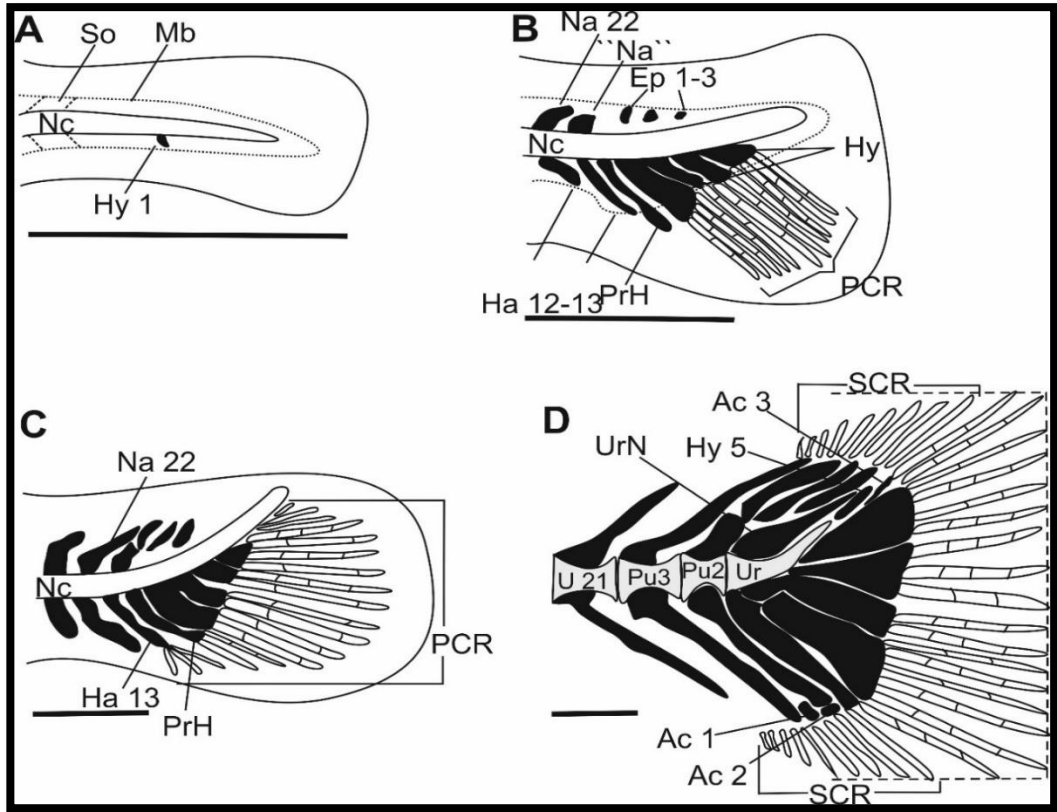
Kuyruk yüzgecinin gelişimi morfolojik olarak notokord bükülmesi ile ilişkili olarak ortalama 4.22 ± 0.16 mm total boyda şekillenmiştir. Bu dönemde ayrıca pelvik yüzgeçlerin temel şekilleri ile anal yüzgeç tomurcukları ve anal yüzgecin formu görülmüştür (lepidotrichia formu).

Omurga üzerinde ilk nöral ve hemal ışınlar 3.53 ± 0.12 ve 3.9 ± 0.20 mm boyda görülmüş olup yapılar kıkırdak formadadır. Bu yapıların tamamının görülmesi 12.72 ± 0.31 mm boyda meydana gelmiştir. Pektoral yüzgeç gelişimi 3.26 ± 0.15 mm boyda başlamış olup bunu kaudal yüzgeç (3.75 ± 0.18 mm) ve pelvik yüzgeç (4.05 ± 0.22 mm) elementleri takip etmiştir. Gelişen larvalar büyük bir kafatasına ve karın bölgesi ile karakterize olmuştur. Ayrıca notokordada güçlü bir post-kranyal ventral eğriliği olduğu da saptanmıştır (Şekil 4.15).

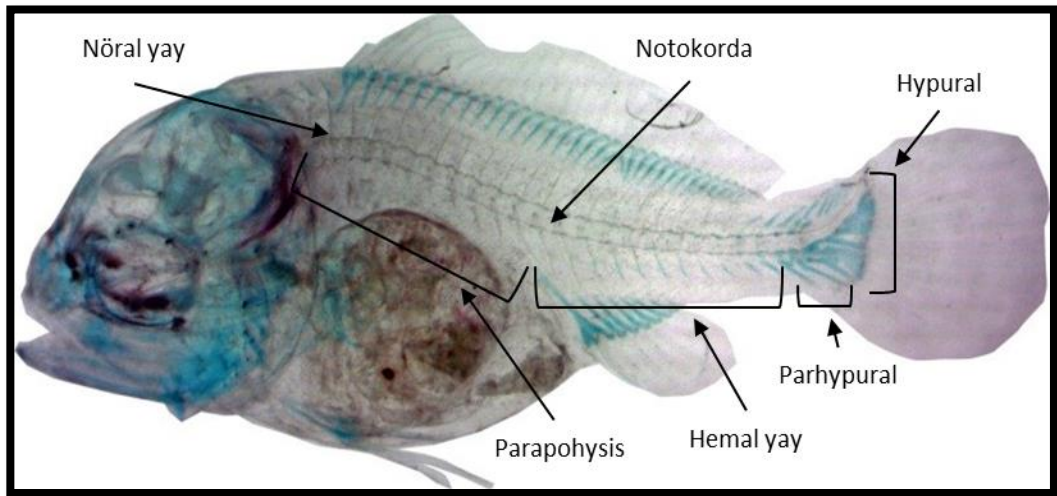


Şekil 4.15 Minekop larvası (12 gün, 4.89 ± 0.14 mm total boy)

Dorsal yüzgeç ve anal yüzgeç kaideleri 4.62 ± 0.13 mm boyda gelişmiştir. Kaudal yüzgeç yumuşak ışınları $4.61-7 \pm 0.21$ mm arasında tamamlanırken, kaudal yüzgecin sert ışınları daha uzun sürede tamamlanmıştır ($7.0-18.0$ mm). Dorsal yüzgeç ortalama 5.19 ± 0.32 mm boyda pektoral yüzgeç ışınları ise 5.8 mm uzunlukta gelişmeye başlamıştır. Yüzgeç ışınlarının tamamının görülmesi yüzgecin türüne göre değişiklik göstermektedir. Kaudal yüzgeç ışını ortalama 7.0 ± 0.21 mm, dorsal ve anal yüzgeç ışınları 7.12 ± 0.41 mm, pelvik yüzgeç ışını 7.5 ± 0.34 mm ve son olarak pektoral yüzgeç ışını 10.01 ± 0.54 mm uzunlukta tam olarak sayılmaya başlamıştır. Hava kesesi şişmesine bağlı olarak notokorda yukarı doğru bükülmüştür. Larval aşama sonrasında da yavrularda 25 adet omur sayılmıştır (Şekil 4.16; 4.17).



Şekil 4.16 Minekop larvalarında kaudal yüzgeç gelişimi (So, Somit; Mb, vücut kenarı; Nc, Notokorda; Hy, Hipural; PrH, Parhipural; Ep, Epural; Na, Nöral yay; “Na” özelleşmiş nöral yay; Ha, Hemal yay; PCR, Kaudal yüzgeç uzun ışınları; Pu, Preural omurga; U, Omurga; Ur, Urosital; UrN, Uronöral; Ac, Ekstra kıkırdak; SCR Kaudal yüzgeç kısa ışınları. Skala 1 mm’dir).

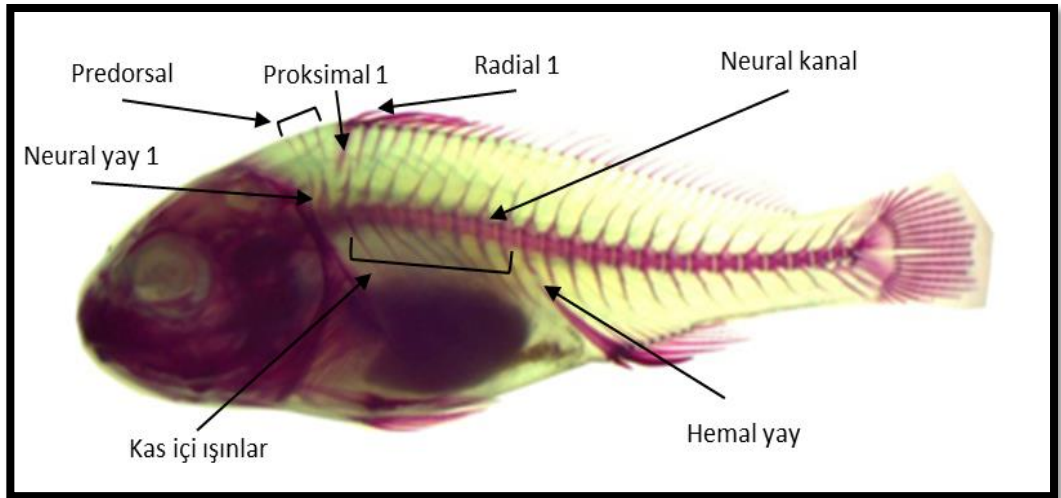


Şekil 4.17 Minekop larvası (14 gün, 5.33±0.13 mm total boy)

Larvalarda Hypural bölgenin net olarak izlenmesi **Şekil 4.20**'da, 40. güne gelmiş minekop larvalarındaki tüm yüzgeç ve omurga şeklinin artık ergin bireye benzer hale gelmesi gösterilmiştir (**Şekil 4.21**).



Şekil 4.20 Minekop larvası (30 gün, 16.37 ± 0.67 mm total boy)



Şekil 4.21 Minekop larvası (40 gün, 24.7 ± 0.81 mm total boy)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Akdeniz ülkelerinde 1980’li yıllardan itibaren Avrupa Birliği tarafından desteklenen projeler sayesinde özellikle deniz balıkları yetiştiriciliğinde önemli aşamalar kaydedilmiştir. Bu kapsamda yaklaşık 30 tür üzerinde çalışmalar yapılmış ve bunlar içerisinde biyolojik özellikler tanımlandıktan sonra iyi gelişim özellikleri gösteren türlerde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Ülkemizde de Avrupa ülkeleri ile hemen hemen aynı dönemde ağırlık kazanan deniz balıkları yetiştiricilik sektörü son yıllarda yaşanan ekonomik krizler ve çipura-levrek balıklarının artan üretim miktarları sonucunda tıkanma sürecine girmiştir. Bu durum yeni türlerin üretimini kaçınılmaz kılmış ve özellikle son 25 yılda sinagrit (*Dentex dentex*), fangri (*Pagrus pagrus*), kalkan (*Psetta maxima*), sariağız (*Argyrosomus regius*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*), orkinos (*Thunnus thynnus*), eşkine (*Sciaena umbra*), minekop (*Umbrina cirrosa*), sargos (*Diplodus sargus*), lahos (*Epinephelus alexandrinus*), akya (*Lichia amia*), mırmır (*Lithognathus mormyrus*) ile kırmızı bantlı mercan (*Pagrus auriga*) türleri üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu kapsamda özellikle sariağız, sinarit, sivriburun karagöz ve minekop gibi bazı türlerde başarılı üretim gerçekleşmiştir. Bu başarıda özellikle çipura üretiminde uzun süredir elde edilen tecrübelerin diğer *Sparidae* familyasına ait türlere başarı ile uygulanması gelmektedir. Bu çalışmada da potansiyel türler arasında üretimi ülkemizde de yapılan minekop balığının intensif kültürde (0-40 gün) larval gelişimi, gastrointestinal sisteminin gelişimi, enzim aktivasyonu ve kemik-kıkırdak gelişimi incelemiştir.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde başarılı bir larva üretimi birçok faktörün etkisi altındadır. Doğru anaç yönetiminden başlayan bu süreç ilk olarak kaliteli yumurta temini ile hedefine ulaşmaktadır. Larval üretime kaliteli yumurta kriterleri ile başlayabilmek bu yeni türler için oldukça değerli sonuçları ortaya çıkaracağı şüphesizdir. Bu kapsamda yüksek kondisyona sahip doğadan temin edilmiş anaçlardan doğal üreme periyodunda elde edilen yumurtaların düzgün çeper tekli yağ damlası ve eşit blastomer bölünmeleri ve yüksek açılım oranı verileri düşünüldüğünde oldukça yüksek kaliteye sahip oldukları söylenebilir.

Larval dönemde ontogenik gelişim, yumurtaların inkübasyon sıcaklığının etkisi altında olup, bu durum sinarit (*Dentex dentex*) yumurtalarının embriyonik gelişimi ile sıcaklık arasında ilişkinin tespit edildiği çalışmada açıkça gösterilmiştir (Saka et al., 2004). Minekop yumurtaları için optimum inkübasyon sıcaklığı 22.7 ± 0.3 °C (Zaiss et al., 2006) çipura (*Sparus aurata*) için 19.0 ± 3 °C (Polo et al., 1991), levrek (*Dicentrarchus labrax*) için 15.0-17.0 °C (Conides and Glamuzina, 2001) ve Senegal dil balığı (*Solea senegalensis*) yumurtası için en başarılı inkübasyonun 8.0-12.0 °C arasındaki su sıcaklığında gerçekleştiği bildirilmiştir (Baynes et al., 1993). Çalışmada, minekop yumurtalarının gelişimi için sağlanan şartlar düşünüldüğünde inkübasyon sürecinin türe özgü koşullar altında gerçekleştiği ve embriyonik gelişimin olumsuz etkileneceği sıcaklık değerlerinin görülmediği bilinmektedir. Bu durum sağlıklı bir larva üretimin ilk işareti olarak anlamlıdır.

Prelarval dönem boyunca karanlık ortamda tutulan larvaların ağız ve anüs açılımı 3. güne doğru meydana gelmiştir. Bu durum birçok deniz balığı ile benzerlik göstermekle birlikte düşük su sıcaklığında yumurta bırakan türlerden farklıdır. Minekopun yaz aylarında üreme periyoduna girmesi yumurta inkübasyon süresinin yanı sıra prelarvarval döneminde hızlı geçilmesini sağlamıştır. Minekopta görülen ağız ve anüs açılımını takiben yeşil su tekniği uygulanarak beslemeye başlanmıştır. Bu dönemde alg takviyesi başta rotiferin doğrudan beslenmesini sağladığı gibi besin madde içeriğinin yüksek oranda kalmasına neden olmuştur. Ayrıca, yoğun aydınlatma ile metabolitlerin ortamdaki uzaklaştırılması, pH optimizasyonu ve O₂ üretimi yeşil su tekniğinin türün larval dönemi üzerindeki pozitif etkileri olarak gösterilebilir (Cahu et al., 1998). Bu kapsamda $20-40 \times 10^4$ hücre/ml yoğunluğunda *Nannochloropsis sp.* veya *Isochrysis sp.* türü algler kullanılabilir. *Nannochloropsis oculata*, Sparidae üyelerinin ve diğer birçok türün larval kültür çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, 25. güne kadar *Chlorella minutissima* türü fitoplankton kullanılmış olup kullanılan teknik, ortama eklenen alg türleri ve miktarları, yeşil su tekniği ile üretim yapılan diğer deniz balıkları türleri ile benzerlik göstermiştir (Cahu et al., 1998; Martinez et al., 1999; Lazo et al., 2000; Zaiss et al., 2006).

Minekop larvalarında besin kesesinin ağız açılımı ile aynı zamanda tüketildiği ifade edilse de (Cardellini et al., 1998), diğer taraftan besin kesesinin 7. günde tüketildiği de bildirilmiştir (Zaiss et al., 2006). Bu durum uygulanan larval yetiştirme tekniklerinin farklılığından kaynaklanmaktadır. Bizim kullandığımız intensif teknikte elde ettiğimiz veriler, mesocosm teknik uygulanan çalışmaların sonuçlarından (Zaiss et al., 2006) farklı olmasını açıklamaktadır.

Larval dönem morfolojisi türler arasında farklılık göstermekle birlikte metamorfoz sürecine kadar meydana gelen değişimler gelişim ve hayatta kalma üzerinde oldukça etkilidir. Minekop larvalarında fizyolojik olarak larval dönemin başında ağız boşluğunda gelişmeye başlayan tat tomurcukları, goblet hücreleri ve faringial dişler ile mide mukozasında gelişmeye başlayan gastrik bezlerin görülmesi birbirine yakın zamanlıdır. Bununla birlikte, minekop larvalarında ağız pozisyonu, başlangıçtaki terminal pozisyondan, larval büyümenin sonunda giderek daha sub-terminal bir pozisyona doğru evrilir (Zaiss et al., 2006). Minekop larvaları ile yapılan çalışmada ağzın sub-terminal pozisyona 12,7 mm total boydan sonra geçmeye başladığı bildirilmiştir (Koumoundouros et al., 2005). Mesocosm kültür tekniği uygulanan diğer çalışmada sub-terminal konuma geçişin 8. günde başladığını ve çalışmanın sona erdiği 41. güne doğru geçişin tamamlandığı bildirilmiştir (Zaiss et al., 2006). Bu değişim yapılan çalışmada yaklaşık 12. günler de başlamış olup, denemenin sona erdiği 40. günde tamamlanmıştır.

Larval dönemde başarının devam edebilmesi için meydana gelmesi gereken önemli olaylardan biri de hava kesesinin fonksiyonel hale gelmesidir. Birçok olayda görev alan (solunum, ses çıkarma, ses algılama) bu organın en önemli görevi tüm balıklar için hidrostatik görevidir. Genellikle fizoglist balıklarda hava kesesinin ilk şişirilmesi ve hidrostatik fonksiyonun aktif hale gelmesi, ağız açılımını takiben ilk beslemeye geçiş sonrasında gerçekleşmektedir. Çalışmada, larvaların hava kesesini ilk şişirmesi ağız açılımını izleyen gün içinde meydana gelmiştir. Bu durum kültürü yapılan bir çok deniz balığı türünden daha önce meydana gelmesi bakımından ilginçtir (Sinagrit (*Dentex dentex*), 5-7. günleri arası, Fırat et al., 2005; kırma mercan (*Pagellus erythrinus*) 5-7. günler arası, Suzer and Kamacı, 2004; mercan (*Pagrus major*), 5-10. günler arası, Mihelakakis et al., 2001; fangri mercan (*Pagrus pagrus*), 5-7. günler arası, Suzer et al., 2007b). Minekopla ilgili yapılan çalışmada

larvaların 2. günde % 90 oranında ilk hava kesesi şişmesini gerçekleştirdiği (Zaiss et al., 2006) ifadesi yaptığımız tespitler ile örtüşmektedir. Akuakültürde kullanılan üretim protokolü yumurta kalitesine bağlı olarak larval üretimin başarısı ile ilişkilidir. İntensif üretim yöntemi kullanılan bu çalışmada elde edilen yaşama oranı verisi mesocosm tekniği kullanılarak yapılan çalışmadaki 50. gün yaşama oranı verisinden yüksek bulunmuştur (Koumoundouros et al., 2005). İntensif yetiştirme yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada 41. günde mortalite oranı % 18.3 ± 2.5 ve 20.6 ± 1.7 olarak hesaplanmıştır ki (Papadakis et al., 2009), bu değerler bizim bulgularımızdan daha düşüktür. İntensif yetiştiricilik yöntemiyle yürütülen çalışmada uygulanan protokol elde edilen yüksek yaşama oranı bakımından oldukça anlamlıdır.

Balık larvalarında sindirim sisteminin ontogenik gelişimi yoğun larva yetiştiriciliğinde yem girişine bağlı olarak sindirim sistemi fizyolojisinin daha iyi anlamamızı ve değerlendirmemizi sağlamaktadır (Zambonino and Cahu, 2001; Galaviz et al., 2015; Solovyev et al., 2016; Cui et al., 2017; Yúfera et al., 2018). Bunun yanı sıra, genetik şifreleme sindirim sisteminin ilkel evreden itibaren fonksiyonellik kazandığını bize göstermektedir ki, çalıştığımız tür içinde bu süreç besin keseli dönemden itibaren olağan süreçte gerçekleşmiştir.

Bir çok deniz balığı larvasında (summer flounder (*Paralichthys dentatus*; Bisbal and Bengston, 1995); fangri (*Pagrus pagrus*; Roo et al., 1999); sargoz (*Diplodus sargus*; Ortiz-Delgado et al., 2003); çipura (*Sparus aurata*); Elbal et al., 2004); Kaliforniya halibut (*Paralichthys californicus*; Gisbert et al., 2004) olduğu gibi minekop larvalarında da sindirim tüpü, besin kesesinin dorsal bölümüne bitişik ve farklılaşmamış bir boru şeklinde meydana gelmiştir. Minekop balığında larval dönemde gastrointestinal sisteminin gelişimi, hem morfolojik hem de histolojik gelişim özelliklerine bağlı olarak aynı tür üzerinde farklı ve benzer üretim teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalar ile uyum göstermiştir. Minekop larvalarında da eksojen beslenme başlangıcında sindirim sistemi histolojik olarak tanımlanabilir ve fonksiyonel olarak ayrı bölgeler, (buko-farinks, yemek borusu, mide bağı, bağırsak ve anüs) görülebilir. Bu bölgeler ön, orta ve arka bağırsak olarak da tanımlanabilir. Eksojen beslenmenin başlangıcında bağırsak uzunluğu genellikle vücut uzunluğunun yarısı kadardır. Gelişimin sonraki aşamalarında sindirim sisteminin

emme kapasitesi artar ve duvar kalınlığında artma meydana gelir. Bu gelişim süreci deneme süresince minekop larvalarında da gözlenmiş olup, temel fizyolojik gelişim tipik deniz balığı larvalarına ve minekop üzerindeki diğer çalışmalara paralel şekilde meydana gelmiştir (Zaiss et al., 2006; Öztürk, 2011).

Fonksiyonel midenin henüz şekillenmediği bir süreçte, tripsin gibi alkali proteaz aktivitelerinin protein sindirimini gerçekleştirdiği ön bağırsağın sindirimden sorumlu olduğuna değinilmiştir (Moyano et al., 1996). Bir çok kemikli balık sınıfındaki larvada, tamamen farklılaşmış mide yapısı, eksojen beslenmenin başlamasından itibaren birkaç hafta sonrasında görülmektedir (Ribeiro et al., 1999). Ancak dil (*Solea solea*; Veggetti et al., 1999), yaz pisi balığı (*Paralichthys dentatus*; Bisbal and Bengston, 1995) ve sarı kuyruklu pisi balığı (*Pleuronectes ferrugineus*; Baglole et al., 1997) gibi bazı türlerde, kuluçkada farklılaşmamış, salgı yapmayan sindirim tüpünün, hızlı gelişimle morfolojik olarak farklılaşmış bir safhaya 12. günden sonra geçiş yaptığı bildirilmiştir. Bu çalışmadaki minekop larvalarında gastrik bezlerin oluşmaya başlaması ve mide farklılaşmasının 12. günde tespit edilmesi daha önceki çalışma ile uyumludur. Bununla birlikte sargozda (*Diplodus sargus*) ilk gastrik bez oluşumu işareti 13-15. günlerde (sayı artış ve gelişimi 22-23, tam gelişim 30-33. günlerde) (Ortiz-Delgado et al., 2003), sivriburun karagözde (*Diplodus puntazzo*) 28. günde (Kamacı et al., 2009), kırmızı mercanda (*Pagellus erythrinus*) 28. günde (Micale et al., 2006), sarı kuyruk ta (*Seriola lalandi*) 15. günde (Chen et al., 2006) belirlenmiştir. Bunun yanı sıra gastrik bezlerin görülmesi, fonksiyonel olarak bunların çalıştığı anlamına gelmemektedir.

Midedeki gastrik bezlerin gelişimi, hücre dışı sindirim için önkoşuldur. Bunun nedeni buralardan HCl ve pepsin enzimi başta olmak üzere diğer enzimlerin salgılanmasıdır. Lavalarda ilkel mide taslağına kullanılan tekniğe su parametrelerine bağlı olmak üzere 3-4. günlerde rastlanabilir ki çalışmada da bu durum bu günler arasındaki geçişte tespit edilmiş, gastrik bezlerin ilk oluşumu 12. günde saptanmıştır. Yine bu çalışmada, gastrik bezlerin gelişiminin tamamlanmasıyla fonksiyonel yapıdaki mide, 15-16. günlerde görülür hale gelmiştir. Bu durum enzim aktivitesi ile saptanmış olup ileride açıklanmıştır. Bununla birlikte, diğer deniz balığı türlerinde midenin fonksiyonel olması çipurada 38-40. gün (Moyano et al., 1996), levrekte 24-25. gün (Zambonino Infante and

Cahu, 1997; Suzer et al., 2007a), fangride (*Pagrus pagrus*) 28. gün (Suzer et al., 2007b), çizgili levrekte (*Hydrocynus goliath*) 17. gün (Walford and Lam, 1993) meydana gelebilir. Midenin fonksiyonel hale gelmesi ve yetiştiricilik bakımından mikropartikül yeme geçiş için en doğru zamanı bize verir ki bu aşamadan sonra larval gelişim çok daha hızlı biçimde ilerleyebilir.

Bunun yanı sıra larvalarda pankreasın yapısı, midenin fonksiyonellik kazandığı aşamaya kadar olan sürede sindirimde önemli rol oynar. Pek çok türde görüldüğü gibi minekopta da, pankreas yapısı kuluçkalama aşamasında gelişmeye başlar ve farklılaşmayla birlikte 3. günde hem endokrin hem ekzokrin dokusu görülür (Zaiss et al., 2006). Bu kapsamda alınan kesitlerde pankreas dokusuna rastlanmış olup yapılan enzim tayinlerinde de organel gelişiminin larva yaşıyla uygun olarak gittiği doğrulanmıştır.

Yaygın olan görüş balıkların enzim aktiviteleri, ekolojik dağılımlarının ve buna bağlı beslenmelerinin temel göstergesidir. Bu durum doğal ortamın sunduğu koşullar ve besin madde gereksinimi ile ilişkilidir (Faulk and Holt, 2009). Balıklarda iyi bir gelişim larval üretimde uygulanan besleme protokollerinin ve yem içeriklerinin iyi tanımlanmış ve gelişim aşamaları ontogenik olarak ortaya konmuş bir sindirim sisteminin tanımlanması ile hedefe ulaşabilir. Deniz balıkları larva sindirim sistemi fizyolojisi; kültür koşulları altında larva yaşama oranını etkileyen ontogenik gelişim sürecinde birçok farklı morfolojik ve fonksiyonel değişime uğramaktadır. bu yüzden sindirim enzimleri aktivitelerinin seviyesi ve varlıklarının belirlenmesi, balık larvalarının gelişim oranı, yem alımı, sindirim kapasiteleri ve daha ileriki dönemlerde yaşama oranının belirlenmesi açısından belirleyici bir unsurdur (Ueberschar, 1995; Zambonino Infante et al., 2008). Bu süreçte; pankreas salgısının başlaması, bağırsaktaki fırçamsı epitel enzimlerinin varlığı, mide gelişimi ve asidik sindirimin başlaması olarak belirlenen üç aşama son derece önemlidir (Zambonino and Cahu, 2001; Lazo et al., 2011; Yúfera, 2018). Bununla birlikte sindirim enzim aktivitesi; verilen yemle ilişkili olan sindirim kapasitesinin belirleyicisi olması açısından önem arz etmektedir.

Araştırma bulgularına bakıldığında, tripsin enzimi ilk olarak ağız açılımı ile ilk beslemenin yapıldığı 3. günde tespit edilmiştir. Tripsin spesifik enzim

aktivitesinin larval dönem boyunca değişme uğramasının temel nedenleri arasında larva yaşı, uygulanan üretim tekniği (temiz su tekniği ya da yeşil su tekniği) ve larvalara uygulanan besleme tipi gösterilebilir. Larvalarda ince, uzun ve dar yapıdaki sindirim tüpü aktif mide ve sindirim sistemi oluşumu gerçekleşene kadar görev görür. Bu dönemde pankreas sindirim enzimlerinin sekresyonunda oldukça önemli rol oynar. Bu olay sindirim tüpü içindeki besinin enteroendokrin hücrelerdeki hormonu aktif hale getirmesini takiben uyarılması ve pankreastan tripsin enzimi salgılanmasıyla gerçekleşir (Zambonino Infante and Cahu, 2001).

Benzer şekilde, larval dönemde sindirim enzim aktivitelerindeki değişimlerin incelendiği çalışmalarda da tripsin enzim aktivitesi ağız açılımı ve larval beslemenin yapıldığı ilk günlerde tespit edilmiştir. Larval dönemde tripsin aktivitesinde hızlı bir artış olurken, ileriki dönemlerde aktivitede zıt eğilim gözlenir. İlk beslemenin yapıldığı dönemde, ringa balığının (*Clupea harengus*; Pedersen, 1993), morina balığının (*Melanogrammus aeglefinus*; Pérez-Casanova et al., 2006; Sveinsdóttir et al., 2006), Kaliforniya halibutun (*Paralichthys californicus*; Alvarez-González et al., 2006) ve sarı renkli soytarı balığının (*Pseudosciaena crocea*; Ma et al., 2005) larval dönemdeki sindirim enzim aktiviteleri incelendiğinde tripsin aktivitesinin ilk kez ağız açıldığı ve beslemenin yapıldığı günlerde tespit edildiği ifade edilmiştir (Riberio et al., 1999). Ayrıca Polynemidae familyasından *Polydactylus sexfilis* ve Carangidae familyasından *Caranx melampygus* türlerinin sindirim enzim aktiviteleri incelendiğinde, pankreatik ve intestinal proteazların sindirim tüpündeki besin varlığıyla birlikte sentezlenmeye başladığı görülmüştür (Kim et al., 2001).

Bu çalışmadaki sonuçlar, denemelerden elde edilen verilerle uyumludur. Ayrıca, işkine (*Sciaenops ocellatus*) türünde yapılan sindirim enzimi gelişimi ile ilgili çalışmalarda tripsin enziminin, larvaların yumurtadan çıktığı anda tespit edildiği, ancak aktivitenin ilk beslenme ile başladığı vurgulanmıştır (Lazo et al., 2000). Benzer gelişim süreci levrek (*Dicentrarchus labrax*; Zambonino Infante and Cahu (1994) ve sinarit (*Dentex dentex*; Gisbert et al., 2009; Suzer et al., 2014) gibi bazı deniz balıkları türlerine ait larvalarda da tanımlanmıştır.

Besinlerle alınan nişastayı hidrolitik olarak yıkan ve pankreastan salgılanan amilaz enzimi karbonhidratların sindiriminde rol oynar. Amilaz aktivitesinin genellikle erken tespit edildiği ve deniz balıkları larvalarının ilk haftasından itibaren larva yaşı ile kademeli olarak arttığı bilinmektedir. Bu aşamadan sonra, metamorfoz ve ontogenik evrelerle ilgili olarak miktar yavaş yavaş azalır ve dalgalı bir seyir izleyebilir. Amilaz aktivitesi için türlere özgü erken gelişim profili, programlanmış gen ekspresyonu sonucu daha iyi açıklanabilir (Zambonino Infante and Cahu, 2001; Zambonino Infante et al., 2008). Bu fenomenin, amilazın spesifik aktivitesinin larva aşamalarında daha yüksek profil gösterebileceği ve genellikle deniz balıklarında pankreas olgunlaşmasının bir göstergesi olarak kabul edilen gençlik evresinin başlangıcına kadar azaldığı açıkça ifade edilmektedir. Ayrıca, besin madde içeriğinin biyokimyasal bileşimi, sövraj süresinin kayması, glikolitik zincirler, glikojen ve yiyeceklerin nişasta içeriği amilaz aktivitesini tetikleyebilir (Zambonino Infante and Cahu, 2001; Zambonino Infante et al., 2008; Rønnestad et al., 2013).

Amilaz yumurtadan yeni çıkmış larvalarda ortak olarak tespit edilmiş olup sonuçlar bazı Sparidae familyası türlerinden sargos (*Diplodus sargus*; Cara et al., 2003) ve fangri mercan (*Pagrus pagrus*; Darias et al., 2006) ile diğer türlerden sarı kuyruk, (*Seriola lalandi*; Chen et al., 2006), işkine (*Sciaenops ocellatus*; Lazo et al., 2007) ve Kaliforniya halibut (*Paralichthys californicus*; Alvarez-González et al., 2006) ile uyumludur. Bununla birlikte, bazı türlerde de ağız açılması veya çok kısa süre sonra enzim aktivitesi bulguları tespit edilmiştir [(işkinede (*Sciaenops ocellatus*) 28 ° C'de yumurtadan çıktıktan 1 gün sonra (Lazo et al., 2000); (Levreklerde (*Dicentrarchus labrax*) 18 ° C'de yumurtadan çıktıktan 4 gün sonra (Zambonino-Infante and Cahu, 2001); (Senegal dil balığında (*Solea senegalensis*) 22-25 ° C'de 3 gün sonra (Ribeiro et al., 1999))].

Çalışma süresince amilaz aktivitesi larvalar yumurtadan çıktıktan sonra 12. güne kadar yükselme eğilimi göstermiştir. Bu durum Kaliforniya halibut (*Paralichthys californicus*; Alvarez-González et al., 2006) ile oldukça uyumludur. Yukarıda bahsedildiği üzere bazı türlerde amilaz seviyesinin yumurtadan çıktıktan sonra yükselmesi, bazı türlerde ise düşüş göstermesi, beslemede kullanılan canlı yemlerin ve mikroyemlerin karbonhidrat içeriği ile ilgili olabilir. Bu durum bazı

tatlı su balıkları türlerinde de Solovyev et al., 2014 tarafından tanımlanmış ve üretim protokolünün bunda etkisi olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca bu durum genetik şifreleme ile larvalara, “erken dönemlerde karbonhidratları sindirin ve proteinleri depolayın” şeklinde aktarılmış olabilir (Zambonino-Infante and Cahu, 2007).

Lipolitik enzimlerden biri olan lipaz aktivitesi ise karnivor balıklarda herbivor veya omnivor türlere göre daha yüksek değerler sunmaktadır (Zambonino-Infante et al., 2008; Solovyev et al., 2014). Elde edilen verilerde lipaz aktivitesi ilk olarak 3. günde tespit edilmiş ve 15. güne kadar artış göstermiştir. 15 ile 23 günlerde yakın değerlerde kalan lipaz seviyesi bu günden sonra azalma eğilimine girmiştir. 23. günden sonra 30. güne kadar aktivitede düşüş gözlemlendikten sonra 30. günden itibaren tekrar yükselişe geçmiştir. Bazı türlerde lipaz aktivitesine larvalar yumurtadan çıktıktan hemen sonra rastlanmakla birlikte (sinarit (*Dentex dentex*; Gisbert et al., 2009) kimi türlerde aktivite ağzın açıldığı ya da dışarıdan besleme yapıldığı dönemlerde (sarı kuyruk, (*Seriola lalandi*; Chen et al., 2006); Kaliforniya halibut (*Paralichthys californicus*; Alvarez-González et al., 2006) gözükmemektedir. Bu durum lipaz aktivitesinin türe özgü davranış biçimi gösterdiğinin işaretidir. Ayrıca ilk beslemeden sonra lipaz seviyesinde meydana gelen değişimler yine türe özgüdür. İşkinede (*Sciaenops ocellatus*) toplam lipaz aktivitesi ilk beslemeden sonra düşüş göstermiş, sonrasında 17. ve 22. günlerde pik yapmıştır (Lazo et al., 2007). Sargoslarda (*Diplodus sargus*) ise lipaz aktivitesi metamorfoz aşamasına kadar aşağı yukarı sabit kalmış, mikropartikül yeme geçiş aşamasından sonra yavaşça artış eğilimine girmiştir (Cara et al., 2003).

Larval dönemdeki lipaz aktivitesi farklılıkları, lipaz ekspresyonunun bir sonucu olabilir. Bu durum genellikle larva yemlerindeki trigliserid miktarının etkisi altında şekillenebilir (Cahu et al., 2003b; Morais et al., 2004). Ayrıca, erken dönemlerde lipaz aktivitesi tropikal gar (*Atractosteus tropicus*; Frías-Quintana et al., 2015) ve pembe noktalı snapper (*Lutjanus guttatus*; Moguel-Hernández et al., 2014) türlerinde de ifade edilmiştir. Bunun yanı sıra düşük lipaz aktivitesi larval dönemde kullanılan düşük yağ rezervlerine sahip *Artemia* kullanımı ile de açıklanabilir, ayrıca bu durum daha az gelişim ile kendini gösterebilir (Gisbert et al., 2014; Darias et al., 2015a, b). Bu durum da aktivite mikropartikül yeme geçiş ile değişime uğrar. Benzer lipaz enzim aktivitesi kültürü yapılan *Solea senegalensis*

(Martínez et al., 1999), *S. ocellatus* (Lazo et al., 2000), *D. sargus* (Cara et al., 2003), *P. erythrinus* (Suzer et al., 2006), *D. puntazzo* (Suzer et al., 2007a), ve *P. pagrus* (Suzer et al., 2007b) türlerinde de tespit edilmiştir.

Birçok türde olduğu gibi morfolojik olarak larval dönemin ilk zamanlarındaki mide eksikliği bu türde de karakteristiktir. Bu kapsamda diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim verilerimizde de herhangi bir asit salgılanması veya pepsin sindirimi mide oluşumundan önce meydana gelmemiştir (Govoni et al., 1986; Zambonino-Infante et al., 2008). Mide tarafından salgılanan pepsin enzimi larvaların fonksiyonel mide oluşumuna ve metamorfozun tamamlanmasına da bağlı olarak şekillenmektedir. Pepsin aktivitesindeki dalgalanmalar mikropartikül yeme geçişle birlikte gözlenebilir. Bu durum yemin içeriği ile ilişkilidir. Pepsin aktivitesindeki artışların tespiti çizgili levrekte 17. gün (Walford and Lam, 1993), çipurada (*Sparus aurata*) 40. gün (Moyano et al., 1996), levrekte (*Dicentrarchus labrax*) 24. gün (Zambonino Infante and Cahu, 1994), kırma mercanda (*Pagellus erythrinus*) 25. gün (Suzer et al., 2006) ve fangri mercanda (*Pagrus pagrus*) 28. günde (Suzer et al., 2007b) bildirilmiş olup bir çok deniz balıkları larvasında olduğu gibi minekop larvalarında da erken dönem (15. gün) içinde gelişim tamamlanmıştır. Bu tür için yaptığımız histolojik çalışmalar neticesinde elde ettiğimiz araştırma bulguları da bu tespiti doğrulamaktadır.

Larvalarda iskelet yapısının oluşumu ve şekillenmesi, gerek türler arasında gerekse türler içinde değişiklik gösterebilir. Bu kapsamda gelişimsel ontogeni çalışmalarında total boyun kullanımı zamana göre etkili bir yöntemdir (Jennings, 1991; Takizawa et al., 1994; Koumoundouros et al., 1999). Çalışmada, larvalar üzerindeki morfolojik ölçümler *in vivo* olarak yapılmış olduğunda elde edilen veriler de yukarıda bahsedilen etkiler en aza indirgenmiştir ki bu durum diğer çalışmalara da ortaya konmuştur (Pothoff et al., 1984; Matsuoka, 1985, 1987; Çoban et al., 2009).

Omurga sisteminin kemik yapı dönüşmesi bazı Sparid'lerde öncelikle anteriordan posteriora doğru ilerler ve iskelet sistemi üzerindeki omur, nöral ve hemal yaylar üzerinden tanımlanır (Pothoff et al., 1984, 1987; Matsuoka, 1987). Bununla birlikte, sinarit (*Dentex dentex*; Koumoundouros et al., 1999) ve çipura (*Sparus aurata*; Faustino and Power, 1998) türlerinde ilk önce omurlarda

kemikleşme başlamaktadır. Bununla birlikte, Clupeiformes ordosuna ait balılarda ilk öne kaudal bölge kemikleşmeye başlayarak anteriora doğru ilerler (Richards et al., 1974). Yapılan incelemede minekop larvalarında kıkırdak yapıdan kemik yapısına geçişin notokorda üzerinde anteriordan posteriora doğru meydana gelmiştir. Bununla birlikte, bu yapılaşma nöral ve hemal yaylarda ise merkezden dışarıya izlenmiştir.

Kaudal yüzgeçler balıklarda yönlendirme görevini üstlenmesini yanında hız kontrolü ile geri gitme aktivitelerinde de kullanılan organellerden biridir (Flammang and Lauder, 2009). Özellikle erken dönemde larvalarda meydana gelen iskelet ve kas sistemi değişimleri, yüzme davranışının şekillenmesi bakımından oldukça önemlidir (Bainbridge, 1963; Blaxter, 1984). Bu durum larvanın hareket kabiliyetini etkileyerek yeme atak modeli üzerinde etki yaratır. Ayrıca diğer avcılardan korunmak içinde etkilidir. Sparidae familyasında kaudal yüzgeç gelişim ontogenisi türlere göre farklılık gösterir ve bu durum çipura (*Sparus aurata*; Faustino and Power, 1998), sinarit (*Dentex dentex*; Koumoundouros et al., 1999) ve mercan (*Pgrus pagrus*; Çoban et al., 2009) türleri için önceden bildirilmiştir. Değerlendirme sonucu minekop larvaları için kaudal yüzgeç gelişiminin diğer Sparidae familyası üyeleri ile oldukça benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Osteolojik gelişim çalışmaları doğal ortamdan örnek toplama zorluğu bakımından genel olarak yetiştiricilik yoluyla elde edilen larvalarda yapılmaktadır (Matsuoka, 1987; Wimberger, 1993; Faustino and Power, 1998; Çoban et al., 2009). Bu durum kullanılan üretim modeli (ekstensif, mesocosm, intensif,) ve buna bağlı su ortamı (temiz su, yeşil su ve pseudo-yeşil su) bakımından larva üzerinde farklılık gösterebilir (Cahu et al., 2003a; Papandroulakis et al., 2004). Her ne kadar ekstansif teknik doğal ortam şartlarına daha uygun olsada mesocosm ve intensif yetiştiricilikte elde edilen veriler arasında farklılık bulunmamakta olup, sadece zaman dilimleri bakımından kaymalar mevcuttur (Kentouri, 1985; Koumoundouros et al., 1997; 1999). Farklı gelişim safhalarının tespiti yetiştiricilik ve balıkçılık biyolojisi bakımından önemlidir (Koumoundouros et al., 1999). Bununla birlikte yetiştiriciliği yapılan türün normal gelişiminin bilinmesi o türün başarılı üretimi için oldukça önemlidir (Çoban et al., 2009). Özellikle yetiştiricilik çalışmalarında meydana gelen deformasyonların büyük bölümünün omurgada meydana geldiği düşünüldüğünde kemik kıkırdak gelişimi aşamalarının tanımlanması ve koruyucu

tedbirlerin alınması kaçınılmazdır. Yapılan çalışmada uygulanan yetiştiricilik tekniğine bağlı olarak balıkların kemik ve kıkırdak yapısı gelişiminde farklılık tespit edilmemiş olup sadece bu yapıların oluşum zamanlarında farklılık tespit edilmiştir.

Yeni bir türün üretime alınma isteği türün hem bilinen hem de bilinmeyen kültür özelliklerinin bir özeti olarak yorumlanarak kültür balıkçılığı yapanların etkili kararlar almalarına yardımcı olabilir. Bilinen özellikler, kazanılmış tecrübeler, mevcut bilimsel bilgi ve literatür desteği ile sağlanabilir. Bilinmeyen özellikler ise, türlerin kültür balıkçılığı potansiyeli konusunda potansiyel üreticilere tavsiyelerde bulunulmadan önce ele alınması gereken bilgilerin araştırma konusu ihtiyaçlarını belirlemelidir. Bir balık türünün su ürünleri yetiştirme potansiyelini değerlendirirken, öncelikle ürünün ülkenin doğal stoklarındaki varlığı, üretilebilme şartları ve pazarlanmasıyla ilgili mevcut yasa ve koşulların kontrol edilerek teminat altına alınması gerekir. Bu değerlendirmeler doğrultusunda yapılan çalışmada üretimi gerçekleştirilen minekop balığı türünün intensif yetiştiricilik koşullarında yetiştiriciliğinin yapılabilmesine temel imkan sağlayacak verilerin elde edildiği şüphesizdir. Bu verilerin sonraki aşamalarında türün ağ kafes ve toprak havuz gelişim performanslarının artırılması ve pazarlama kabiliyetlerinin yükseltilmesi gibi yetiştiriciliğe katkı sağlayacak diğer çalışmalarla desteklenecek olması, üretimin artırılması ve teşvik edilmesi için değerli katkılar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aktülün, S., Suzer, C., Kamacı, H.O., Çoban, D., Saka, S. and Fırat, K.,** 2008, Activity of the digestive protease, chymotrypsin, in larvae of the cultured sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) larvae, *Israel Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 60: 82–88.
- Alvarez-González, C.A., Cervantes-Trujano, M., Tovar-Ramírez, D., Conklin, D.E., Nolasco, H., Gisbert, E. and Piedrahita, R.,** 2006, Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae, *Fish Physiology and Biochemistry*, 31, 83–93.
- Andrades, J., Becerra, J. and Fernandez-Llebrez, P.,** 1996, Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.), *Aquaculture*, 141: 1-11.
- Ayala, M. D., Abellán, E., Arizcun, M., García-Alcázar, A., Navarro, F., Blanco, A. and López-Albors, O. M.** 2013, Muscle development and body growth in larvae and early post-larvae of shi drum, *Umbrina cirrosa* L., reared under different larval photoperiod: muscle structural and ultrastructural study, *Fish physiology and biochemistry*, 39 (4): 807-827.
- Aydın, H.,** 2016, Türkiye’de Kültür Balıkçılığı Potansiyeli ve Akuakültür Sektörünün Ekonomiye Katkısı, ICOMEP, 26-27 Kasım, İstanbul.
- Baglolle, C. J., Murray, H. M., Goff, G. P. and Weight, G. M.,** 1997, Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellowtail flounder: A light microscopic and mucous histochemical study, *Journal of Fish Biology*, 51: 120-134.
- Barbaro, A., Francescon, A., Bertotto, D., Bozzato, G., Di Maria, I., Patarnello, P., Furlan, F. and Colombo, L.,** 2002. More elective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L (Sciaenidae, Teleostei), a valuable candidate for Mediterranean mariculture, *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 1-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bainbridge, R.**, 1963, Caudal fin and body movement in the propulsion of some fish, *J. Exp. Biol.*, 40: 23-56.
- Bancroft, J.D., Stevens, A. and Turner, D.R.**, 1996, Theory and Practice of Histological Technique. 4th ed., Churchill Livingstone, N.Y., London, San Francisco, Tokyo.
- Baynes, S. M., Howell, B. R. and Beard, T.W.**, 1993, A review of egg production by captive sole *Solea solea* (L.), *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 171-180.
- Bisbal, G. A. and Bengston, D. S.**, 1995, Development of the digestive tract in larval summer flounder, *Journal of Fish Biology*, 47: 277-291 pp.
- Blaxter, J. H. S.**, 1984, Ontogeny, systematics and fisheries. In: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S. L. (Eds), *Ontogeny and Systematics of Fishes*, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication 1, 1–6. Laurence: Allen Press Inc.
- Bond, C.**, 1979, *Biology of Fishes*. Saunders College Publications, Philadelphia.
- Buddington, R.K. and Diamond, J.M.**, 1987, Pyloric ceca of fish: a “new” absorptive organ, *Am. J. Physiol.*, 252:65-76.
- Bradford, M.M.**, 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72: 248- 254.
- BSGM**, 2016, GTHB Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri İstatistikleri.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- BSGM**, 2020, GTHB Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri İstatistikleri.
- Cara, J. B., Moyano, F. J., Ca´rdenas, S., Ferna´ndez-Di´az, C. and Yu´fera, M.**, 2003, Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream, *Journal of Fish Biology*, 63: 48–58.
- Cardellini, P., Francescon, A., Zanella, S., Bozzato, G., Benedetti, P., Borgoni, N. and Barbaro, A.**, 1999, Allevamento in cattività dell’ombrina, *Umbrina cirrosa* (L.), in diverse condizioni termiche, *Biol. Mar. Med.*, 6; 287–290.
- Cahu, C. L., Zambonino Infante, J. L., Escaffre, A. M., Bergot, P. and Kaushik, S.**, 1998, Preliminary results on sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae rearing with compound diet from first feeding comparison with carp (*Cyprinus carpio*) larvae, *Aquaculture*, 169: 1-7.
- Cahu, C. L., Zambonino Infante, J. L. and Takeuchi, T.**, 2003a, Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae, *Aquaculture*, 227: 245–258.
- Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L. and Barbosa, V.**, 2003b, Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet, *Brit. J. Nutrition*, 90, 21–28.
- Cara, B., Moynao, F. J., Cárdenas, S., Fernández-Díaz, C. and Yúfera, M.**, 2003, Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream, *J. Fish Biology*, 63, 48–58.
- Chen, B. N., Qin, J. G., Kumar, S. M., Hutchinson, W.G. and Clarke, S. M.**, 2006, Ontogenetic development of digestive enzymes in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae, *Aquaculture*, 260: 264–271.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Clothier, C. R.**, 1950, A key to some southern California fishes based on vertebral characters, *Calif. Dep. Fish Game Fish Bull*, 79 :1–83.
- Conides, A. and Glamuzina, B.**, 2001, Study on the effects of rearing density, temperature and salinity on hatching performance of the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), *Aquaculture International*, 9: 217-224.
- Cui, K., Cheng, D., Ma, Z., Qin, J.G., Jiang, S., Sun, D. and Ma, S.** 2017, Ontogenetic development of digestive enzymes in larval and juvenile crimson snapper *Lutjanus erythropterus* (Bloch 1790), *Aquaculture Research*, 48 (8), 4533–4544.
- Cuvier-Péres, A. and Kestemont, P.**, 2002, Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*, *Fish Physiology and Biochemistry*, 24: 279-285.
- Çoban, D., Suzer, C., Kamacı, H.O., Saka, Ş. and Fırat, K.**, 2009, Early osteological development of the fins in the hatchery-reared red porgy, *Pagrus pagrus* (L. 1758), *Journal of Applied Ichthyology*, 25: 26-32.
- Çoban, D., Suzer, C., Kamacı, H.O., Yıldırım, Ş., Saka, Ş. ve Fırat, K.**, 2010. Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) Larvalarında Omurga ve Kaudal Yüzgecin Osteolojik Gelişimi, *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Dergisi*, 57: 119-124.
- Darias, M.J., Murray, H.M., Gallant, J.W., Astola, A., Douglas, S.E., Yúfera, M. and Martínez-Rodríguez, G.**, 2006. Characterization of a partial α -amylase clone from red porgy (*Pagrus pagrus*): expression during larval development, *Comp. Biochem. Physiol., Part B* 143, 209–218.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Darias, M.J., Castro-Ruiz, D., Estivals, G., Quazuguel, P., Fernández-Méndez, C., Núñez-Rodríguez, J., Clota, F., Gilles, S., García-Davila, C., Gisbert, E. and Cahu, C.,** 2015a, Influence of dietary protein and lipid levels on growth performance and the incidence of cannibalism in *Pseudoplatystoma punctifer* (Castelnau, 1855) larvae and early juveniles, *J. Appl. Ichthyology*, 31, 74–82.
- Darias, M.J., Castro-Ruiz, D., García-Dávila, C. and Gisbert, E.,** 2015b, Effects of *Artemia* and inert diet enrichment with DHA on lipid deposition in the intestine and liver of *Pseudoplatystoma punctifer* larvae and early juveniles, In: FENACAM & LACQUA/SARA (WAS)'15: Abstract book. LACQUA, ABCC, WAS, Fortaleza, pp. 140.
- Dedi, J., T. Takeushi, T. and Seikai, T.,** 1995, Watanabe Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia* nauplii, *Aquaculture*, 133: 135-146.
- Demir, N.,** 1992, İskelet Sistemi, İhtiyoloji, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul.
- Demir, N.,** 2006, İhtiyoloji. Nobel Yayın No: 924. Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi: 31, Ankara.
- Deplano, M., Díaz, J. P., Connes, R., Kentouri-Divanach, M. and Cavalier, F.,** 1991, Appearance of lipid-absorption capacities in larvae of the sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to the exotrophic phase, *Marine Biology*, 108: 361–371.
- Diaz, J. P, Guyot, E., Vigier, S. and Connes, R.,** 1997, First events in lipid absorption during post-embryonic development of the anterior intestine in gilt-head sea bream, *Journal of Fish Biology*, 51: 180–192.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dinçkaya, E.**, 1997, Enzimolojiye Genel Bakış: Enzimoloji Konulu Lisansüstü Yaz Okulu Kitabı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Divanach, P., Papandroulakis, N., Anastasiadis, P., Koumoundouros, G. and Kentouri, M.**, 1997, Effect of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder during postlarval and nursery phase, *Aquaculture*, 156: 145–155.
- Domenghini, C., Pannelli Straini, R. and Veggenti, A.**, 1998, Gut glycoconjugates in *Sparus aurata* L. (Pisces, Teleostei). A comparative histochemical study in larval and adult ages, *Histol Histopathol*, 13;. 359-372.
- Elbal, M.T., García Hernández, M.P., Lozano, M.T. and Agulleiro, B.**, 2004, Development of the digestive tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) light and electron microscopic studies, *Aquaculture*, 234, 215–238.
- Elena, C., Emilia, A. and Marta, A.**, 2019, An overview of the reproductive cycle of cultured specimens of a Potential candidate for Mediterranean aquaculture, *Umbrina cirrosa*, *Aquaculture*, 505: 137–149.
- Fabi, G. and Fiorentini, L.**, 1993. Catch and growth of *Umbrina cirrosa* around artificial reefs in the Adriatic Sea, *Boll. Oceanol Teor Appl.*, 11; 235-242.
- FAO**, 2019, <http://www.fao.org/fi/statist/statist.asp>, (Erişim tarihi: 29 Ağustos 2020).
- Faulk, C.K. and Holt, G.J.**, 2009, Early weaning of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, larvae and ontogeny of selected digestive enzymes, *Aquaculture*, 296, 213–218.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Faustino, M. and Power, D. M.**, 1998, Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex, *J. Fish Biology*, 52: 11–22.
- Flammang, B.E. and Lauder, G.V.**, 2009, Caudal fin shape modulation and control during acceleration, braking and backing maneuvers in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, *J. Exp. Biol*, 212: 277-286.
- Fırat, K., Saka, Ş. and Çoban, D.** 2005. Early life history of common dentex (*Dentex dentex*), *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 735-741.
- Fuiman, L.A.**, 1983, Growth gradients in fish larvae, *J. Fish Biol.*, 23: 117-123.
- Fukuhara, O.**, 1992, Study on the development of functional morphology and behaviour of the larvae of eight commercially valuable teleost fishes. *Contrib. Fish. Res. Japan Sea Block*, 25: 1–22.
- Frías-Quintana, C.A., Márquez-Couturier, G., Alvarez-González, C.A., Tovar-Ramírez, D., Nolasco-Soria, H., Galaviz-Espinosa, M.A., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Martínez-Yañez, R. and Gisbert, E.**, 2015, Development of digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*, *Fish Physiol. Biochemistry*, 41, 1075–1091.
- Galaviz, M.A., López, L.M., García Gasca, A., Álvarez González, C.A., True, C.D. and Gisbert, E.**, 2015, Digestive system development and study of acid and alkaline protease digestive capacities using biochemical and molecular approaches in totoaba (*Totoaba macdonaldi*) larvae, *Fish Physiol. Biochemistry*, 41 (5), 1117–1130.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Garcia-Hernandez, M. P, Lozano, M. T., Elbal, M. T. and Agulleiro, B.,** 2001, Development of the digestive tract of sea bass (*Dicentrarchus labrax*); Light and electron microscopic studies, *Anatomy and Embryology*, 204: 39–57.
- Garrett, R. H. and Grisham, C. M.,** 1999, Biochemistry, Second Edition Saunders College Publishing, 426-427.
- Gisbert, E., Piedrahita, R. H. and Conklin, D. E.,** 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices, *Aquaculture*, 232: 455–470.
- Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y. and Estevéz, A.,** 2009, Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny, *Aquaculture*, 287: 381–387.
- Gisbert, E., Moreira, C., Castro-Ruiz, D., Öztürk, S., Fernández, C., Gilles, S., Núñez, J., Duponchelle, F., Tello, S., Renno, J.-F., García-Davila, C. and Darias, M.J.,** 2014, Histological development of the digestive system of the Amazonian pimelodid catfish *Pseudoplatystoma punctifer*. *Animal*, 8, 1765–1776.
- Govoni, J. J., Boehlert, G. W. and Watanabe, Y.,** 1986, The physiology of digestion in fish larvae, *Environmental Biology of Fishes*, 16: 59–77.
- Gözükara, E. M.,** 1997, Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara.
- Gould, S. J.,** 1966, Allometry and size in ontogeny and phylogeny, *Biol. Rev.*, 41: 587–638.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hamlin, P. A, Zelenetz, A. D, Kewalramani, T., Qin, J., Satagopan, J. M., Verbel, D., Noy, A., Portlock, C. S., David J. Straus, D. J., Yahalom, J., Nimer, S. D. and Moskowitz, C. H.,** 2003, Age-adjusted International Prognostic Index predicts autologous stem-cell transplantation outcome for patients with relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma, *Blood*, 102: 1989-1996.
- Hattori, M., Sawada, Y., Takagi, Y., Suzuki, R., Okada, T. and Kumai, H.,** 2003, Vertebral deformity in cultured red sea bream, *Pagrus major*, Temminck and Schlegel, *Aquaculture Research*, 23: 1129–1137.
- Hoehne-Reitan K. and Kjørsvik, E.,** 2004, Functional development of the liver and exocrine pancreas in teleost fish, American Fisheries Society Symposium, 40: 9–36.
- Jennings, S.,** 1991, The effects of capture, net retention and preservation upon lengths of larval and juvenile bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), *J. Fish Biology*, 38: 349–357.
- Johnson, D. W. and Katavic, I.,** 1984, Mortality, growth and swim bladder stress syndrome of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae under varied environmental conditions, *Aquaculture*, 38: 67-78.
- Kaji, T., Kodama, M., Arai, H., Tagawa, M. and Tanawa, M.,** 2002, Precocious development of the digestive system in relation to early appearance of piscivory in striped bonito *Sarda orientalis* larvae, *Fish. Sci.*, 68: 1212-1218.
- Kamacı, O. H., Çoban, D., Suzer, C., Saka, Ş. and Fırat, K.,** 2009, Development of gastrointestinal tract in sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) larvae: Histological and enzymatic ontogeny, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (12): 2571-2579.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kamacı, H. O., Suzer, C., Çoban, D., Saka, S. and Fırat, K., 2010,** Organogenesis of exocrine pancreas in sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) larvae: characterization of trypsin expression, *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 993–1000.
- Kamisaka, Y., Fujii, Y., Yamamoto, S., Kurokawa, T., Ronnestad, I., Totland, G. K., Tagawa, M. and Tanaka, M., 2003,** Distribution of cholecystokinin-immunoreactive cells in the digestive tract of the larval teleost, ayu, *Plecoglossus altivelis*, *Gen. Comp. Endocrinology*, 134: 116-121.
- Karlson, P., 1992,** Biyokimya, Arkadaş Tıp Kitapları Seri No: 7, Çeviren: Prof. Dr. Azmi Telefoncu, İstanbul.
- Kentouri, M., 1985,** Comportement Larvaire de 4 sparide's me'diterrane'ens en e'levage *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo* (Poissons Te'leo' steens). The'se d'Etat, Universite' des Sciences et Techniques de Languedoc. 492 p.
- Khoa, T.N.D. Waqalevu, V. Honda, A., Shiozaki, K., and Kotani, T. 2019,** Early ontogenetic development, digestive enzymatic activity and gene expression in red sea bream (*Pagrus major*), *Aquaculture*, 512; 734283.
- Kim, B.G, Divakaran, S, Brown, C.L, Ostrowski, A.C., 2001,** Comparative digestive enzyme ontogeny in two marine larval fishes: Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*) and bluefin trevally (*Caranx melampygus*), *Fish Physiology and Biochemistry*, 24: 225– 241.
- Koumoundouros, G., Gagliardi, F., Divanach, P., Boglione, C., Cataudella, S. and Kentouri, M., 1997,** Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry. *Aquaculture*, 149, 215–226.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Koumoundouros, G., Divanach, P. and Kentouri, M.,** 1999, Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions, *Marine Biology*, 135: 561–572.
- Koumoundouros, G., Divanach, P. and Kentouri, M.,** 2001, The effect of rearing conditions on development of saddleback syndrome and caudal fin deformities in *Dentex dentex* (L.), *Aquaculture*, 200: 285–304.
- Koumoundouros, G., Maingot, E., Divanach, P. and Kentouri, M.,** 2002, Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): ontogeny and effects on mortality, *Aquaculture*, 209: 49–58.
- Koumoundouros, G., Kouttouki, S., Georgakopoulou, E., Papadakis, I., Maingot, E., Kaspiris, P., Kiriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P., Kentouri, M. and Mylonas, C. C.,** 2005, Ontogeny of the shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus 1758), a candidate new species for aquaculture, *Aquaculture Research*, 36: 1265–1272.
- Kurokawa, T., Suzuki, T. and Andoh, T.,** 2000, Development of cholecystokinin and pancreatic polypeptide endocrine systems during the larval stage of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, *General and Comparative Endocrinology*, 120: 8–16.
- Lazo, J. P., Holt, G. J. and Arnold, C. R.,** 2000, Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus*, *Aquaculture Nutrition*, 6: 183–192.
- Lazo, J. P., Mendoza, R., Holt, G. J., Aguilera, C. and Arnold, C.R.,** 2007, Characterization of digestive enzymes during larval development of red drum (*Sciaenops ocellatus*), *Aquaculture* 265, 194–205.
- Lazo, J.P., Darias, M.J. and Gisbert, E.,** 2011, Ontogeny of the digestive tract. In: Holt, G.J. (Ed.), *Larval fish nutrition*, Wiley-Blackwell, Chichester, pp. 5–46.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Libertini, A., Francescon, A., Bozzato, G. and Barbaro, A.,** 1999, The shi drum, *Umbrina cirrosa* (L.), an unexploited resource for Mediterranean aquaculture: recent advances in captive reproduction and applied cytogenetics. In: *New Species for Mediterranean Aquaculture* (ed. by G. Enne & G.F. Greppi), pp: 237-244. Biofutur. Elsevier, Paris.
- Luna, L.G.,** 1968, *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, McGrawHill, New York, pp: 258.
- Ma, H., Cahu, C., Zambonino Infante, J.L., Ya, H., Duana, Q., Le Gall, M.M. and Ma, K.,** 2005, Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*), *Aquaculture*, 245, 239–248.
- Manera, M. and Dezfuli, B. S.,** 2004, Rodlet cells in teleost's: A new insight into their nature and functions, *J. Fish Biology*, 65: 597–619.
- Martinez, I., Moyano, F. J., Fernandez-Diaz, C. and Yufera, M.,** 1999, Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*), *Fish Physiology and Biochemistry*, 21: 317-323.
- Matsuoka, M.,** 1985, Osteological development in the red sea bream, *Pagrus major*, *Jap. J. Ichthyology*, 32: 35–51.
- Matsuoka, M.,** 1987, Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in the red sea bream, *Bull Seikai Reg. Fish. Res. Lab.*, 65: 1–114.
- Matsuoka, M.,** 2003, Comparison of meristic variations and bone abnormalities between wild and laboratory-reared red sea bream, *Japanese American Research Center*, 37: 21–30.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Melotti, P., Roncarati, A., Gennari, L. and Mordenti, O.,** 1995, Trials of induced reproduction and larval rearing of curb (*Umbrina cirrosa* L.), *Oebalia*, 21: 37–42.
- Metais, P. and Bieth, J.,** 1968, Détermination de l' α -amylase par une microtechnique, *Ann. Biol. Clin.*, 26: 133–142.
- Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L., Spedicato, M. T. and Muglia, U.,** 2006, The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L., *Aquaculture*, 251: 354–365.
- Mihelakakis, A., Yoshimatsu, T. and Tsoikas, C.** 2001, Spawning in captivity and early life history of cultured red porgy, *Pagrus pagrus*, *Aquaculture*, 199: 333-352.
- Moguel-Hernández, I., Peña, R., Nolasco-Soria, H., Dumas, S. and Zavala-Leal, I.,** 2014, Development of digestive enzyme activity in spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) larvae, *Fish Physiology Biochemistry*, 40, 839–848.
- Morais, S., Cahu, C., Zambonino-Infante, J.L., Robin, J., Ronnestad, I., Dinis, M.T. and Conceição, L.E.C.,** 2004, Dietary TAG source and level affect performance and lipase expression in larval Sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Lipids*, 39, 449–458.
- Moyano F. J., Diaz M., Alarcon F.J. and Sarasquete, M.C.,** 1996, Characterisation of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiol. Biochem.*, 15: 121–130.
- Mylonas, C., Georgiou, G., Stephanou, D., Atack, T., Afonso A. and Zohar, Y.,** 2000, Preliminary data on the reproductive biology and hatchery production of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in Cyprus, *Cahier Option Mediterranennes*, 47: 303-312.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mylonas, C., Kyriakou, Y., Sigelaki, I., Georgiou, G., Stephanou, D. and Divanach, P.**, 2004, Reproductive biology of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in captivity and induction of spawning using GnRH α , *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 56: 75-92.
- Neofytou, M., Sfakianakis, D.G., Koumoundouros, G., Mylonas, C. and Kentouri, M.**, 2017, Skeletal ontogeny of the vertebral column and of the fins in shi drum *Umbrina cirrosa* (Teleostei: Perciformes: Sciaenidae), a new candidate species for aquaculture, *Fish Biology*, 91 (3): 764-788.
- Nolting, M., Ueberschar, B. and Rosenthal, H.**, 1999, Trypsin activity and physiological aspects in larval rearing of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using live prey and compound diets, *J. Appl. Ichthyol.*, 15: 138-142.
- Olsen, A.I., Attramadal, Y., Reitan, K.I, Olsen, Y.**, 2000, Food selection and digestion characteristics of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae fed cultivated prey organisms, *Aquaculture*, 181: 293–310.
- Ortiz-Delgado, J.B., M. Darias, J.P. Canabate, M. Yufera and C. Sarasquete**, 2003, Organogenesis of the digestive tract in the white seabream, *Diplodus sargus*. Histological and histochemical approaches. *Histology and Histopathology*, 18: 1141-1154.
- Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Czuminiska, K., Olech, W. and Olejniczak, M.**, 2005, Rearing of pike-perch larvae using formulated diets—first success with starter feeds, *Aquac. Res.*, 36: 1167-1176.
- Öztürk, S.**, 2011, Minekop (*Umbrina cirrosa*) Larvalarında (0-40 gün) Gastrointestinal Sistem Gelişimi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İzmir.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Papandroulakis, N., Kentouri, M., Maingot, E. and Divanach, P.,** 2004, Mesocosm: a reliable technology for larval rearing of *Diplodus puntazzo* and *Diplodus sargus sargus*, *Aquac. Int.*, 12: 345–355.
- Papadakis, I.E., Zaiss, M.M., Kyriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P. and Mylonas, C.,** 2009, Histological evaluation of the elimination of *Artemia* nauplii from larval rearing protocols on the digestive system ontogeny of shi drum (*Umbrina cirrosa* L.), *Aquaculture*, 286: 45-52.
- Papadakis, I.E., Kentouri, M., Divanach, P. and Mylonas, C.,** 2013, Ontogeny of the digestive system of meagre *Argyrosomus regius* reared in a mesocosm, and quantitative changes of lipids in the liver from hatching to juvenile, *Aquaculture*, 388: 76-88.
- Pedersen, B.H.,** 1993, Growth and mortality in young larval herring (*Clupea harengus*); effects of repetitive changes in food availability, *Marine Biology*, 117:177–186.
- Pérez-Casanova, J.C., Murray, H.M., Gallant, J.W., Ross, N.W., Douglas, S.E. and Johnson, S.C.,** 2006, Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*), *Aquaculture*, 251: 377–401.
- Presnell, J. K. and Schreibman, M. P.,** 1997, Humason's Animal Tissue Techniques, 5th ed. The Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 572 pp.
- Polo, A., Yufera, M. and Pascual, E.,** 1991, Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L., *European Aquaculture Society Special Publication* 1989, Bredene, Belgium, 10: 207–208.
- Potthoff, T., Kelley, S., Moe, M. and Young, F.,** 1984, Description of porkfish larvae (*Anisotremus virginicus*, Haemulidae) and their osteological development, *Bull. Marine Sci*, 34: 21–59.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Potthoff, T., Kelley, S., Saksena, V., Moe, M. and Young, F.**, 1987, Description of larval and juvenile yellowtail damselfish *Microspathodon chrysurus*, Pomacentridae, and their osteological development, *Bull. Marine Sci.*, 40: 330–375.
- Ribeiro, D.**, 1998, O processo civilizatório: etapas da evolução sociocultural. 1 ed. Editora Companhia das Letras.
- Ribeiro, L., Sarasquete, C. and Dinis, M.T.**, 1999, Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae, *Aquaculture*, 171: 293-308.
- Ribeiro, L., Couto, A., Olmedo, M., Álvarez-Blázquez, B., Linares, F. and Valente, L.M.P.**, 2008, Digestive enzyme activity at different developmental stages of blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich 1768), *Aquaculture Research*, 39: 339–346.
- Richards, W. J., Miller, R. V. and Houde, E.** 1974, Egg and larval development of the Atlantic thread herring, *Opisthonema oglinum*, *Fish Bull U.S.*, 72: 1123–1136.
- Rønnestad, I., Yúfera, M., Ueberschär, B., Ribeiro, L., Sæle, Ø. and Boglione, C.**, 2013, Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge and gaps and bottlenecks in research, *Reviews in Aquaculture*, 5: 559–598.
- Roo, F. J., Socorro, J., Izquierdo, M., Caballero, M. J., Hernandez-Cruz, C. M., Fernandez, A. and Fernandez-Palacios, H.**, 1999, Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits, *Aquaculture*, 179: 499-512.
- Rust, M. B., Hardy, R. W. and Stickney, R.R.**, 1993, A new method for force-feeding larval fish, *Aquaculture*, 116: 341–352.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Saka, Ş., Fırat, K. and Çoban, D.**, 2004, Development of the common dentex (*D. dentex*) eggs in relation to temperature. *Aquaculture Res.*, 35 (3): 224-231.
- Sevgili, H., Akpınar, Z. and Emre, Y.**, 2015, Juvenile Shi Drum (*Umbrina cirrosa* L.) Responds Differently to Selected Commercial Fish Meals, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15: 29-38.
- Solovyev, M.M., Kashinskaya, E.N., Izvekova, G.I., Gisbert, E. and Glupov, V.V.**, 2014, Feeding habits and ontogenic changes in digestive enzyme patterns in five freshwater teleost's, *J. Fish Biology*, 85: 1395–1412.
- Solovyev, M.M., Campoverde, C., Öztürk, S., Moreira, C., Diaz, M., Moyano, F.J. and Gisbert, E.**, 2016, Morphological and functional description of the development of the digestive system in meagre (*Argyrosomus regius*): An integrative approach, *Aquaculture*, 464: 381-391.
- Suzer, C. and Kamacı, H. O.**, 2004, Effects of light intensity on larval development in common pandora (*Pagellus erythrinus*, L.1758) larvae, *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21: 319-323.
- Suzer, C., Fırat, K. and Saka, Ş.**, 2006. Ontogenic development of the digestive enzymes in common pandora, *Pagellus erythrinus*, L. larvae, *Aquaculture Research*, 37: 1565–1571.
- Suzer, C., Aktülün, S., Çoban, D., Kamacı, H.O., Saka, Ş., Fırat, K. and Alpbaz, A.**, 2007a, Digestive enzyme activities in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) larvae, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 148: 470–477.
- Suzer, C., Kamacı, H. O., Çoban, D., Saka, S., Fırat, K., Özkara, B. and Özkara, A.**, 2007b, Digestive enzyme activity of the red porgy (*Pagrus pagrus* L.) during larval development under culture conditions, *Aquaculture Research*, 38: 1778–1785.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Suzer, C., Kamacı, H.O., Çoban, D., Yıldırım, Ş., Fırat, K. and Saka, Ş.** 2013, Functional changes in digestive enzyme activities of meagre (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) during early ontogeny, *Fish physiology and biochemistry*, 39 (4): 967-977.
- Suzer, C, Çoban, D., Yıldırım, Ş., Hekimoğlu, M. A., Kamacı, H.O., Fırat, K. and Saka, Ş.,** 2014, Stage-Specific Ontogeny of Digestive Enzymes in the Cultured Common Dentex (*Dentex dentex*) Larvae, *T. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14 (3): 759-768.
- Suzer, C.,** 2018, Bir Başarı Öyküsü; Türkiye’de Çipura ve Levrek Üretimi, *Tarım Türk Su Ürünleri Dergisi Özel Eki*, 27-36.
- Sterchi, E. and Stöcker, W.,** 1999, Proteolytic Enzymes Tools and Targest, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1999.
- Stevens, C. E. and Hume, I. D.,** 1995, Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Stiassny, M. L. J.,** 1990, Notes on the anatomy and relationships of the bedotiid fishes of Madagascar, with a taxonomic review of the genus, *Rheocles Am. Mus. Novitates*, 2979: 1-33.
- Stiassny, M.L.J.,** 2000, Skeletal System, Ostrander (Eds), Academic Press, USA.
- Sveinsdóttir, S., Thorarensen, H. and Gudmundsdóttir, A.,** 2006, Involvement of trypsin and chymotrypsin activities in Atlantic cod (*Gadus morhua*) embryogenesis, *Aquaculture*, 260: 307–314.
- Takizawa, K., Fujita, Y., Ogushi, Y. and Matsuno, S.,** 1994, Relative change in body length and weight in several fish larvae due to fixation and preservation, *Fish Sci*, 60: 355–359.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tanaka, M.**, 1971, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae-III. Development of the digestive system during postlarval stage, *Japanese Journal of Ichthyology*, 18: 164–174.
- Trevor Palmer, B. A.**, 1985, Understanding Enzymes, Second Edition, Ellis Horwood Limited, 1985.
- Tseng, H. C., Grendell, J. H. and Rothman, S. S.**, 1982, Food, deodenal extracts, and enzyme secretion by the pancreas, *Am. J. Physiol.*, 243: 304–312.
- Turan, H., Kaya, Y. ve Sönmez, G.**, 2006, Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1/3); 505-508.
- Ueberschär, B.**, 1995, The use of tryptic enzyme activity measurement as a nutritional condition index: laboratory calibration data and field application, *ICES Mar. Sci. Symp.*, 201: 119–129.
- Veggetti, A., Rowlerson, A., Radaelli, G., Arrighi, S. and Domeneghini, C.**, 1999, Post-hatching development of the gut and lateral muscle in the sole, *Solea solea*, *Journal of Fish Biology*, 55: 44-65.
- Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D. and Williams L. E.**, 1989, An improved colorimetric assay for bacterial lipase in non-fat dry milk, *J. Food Sci.*, 54: 1557–1558.
- Walford, J. and Lam, T. J.**, 1993, Development of the digestive tract and proteolytic enzyme activity in sea bass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles, *Aquaculture*, 109: 187-205.
- Wimberger, P. H.**, 1993, Effects of vitamin C on body shape and skull osteology in *Geophagus brasiliensis*: implications for interpretations of morphological plasticity, *Copeia*, 2: 343–351.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Worthington, T. M.**, 1982, Enzymes and Related Biochemicals, Biochemical Products Division, Worthington Diagnostic System, Freehold, NJ, USA.
- Yúfera, M.**, 2018, Emerging issues in fish larvae research, *Emerg. Issues Fish Larvae Res.*, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-73244-2>
- Yúfera, M., Moyano, F.J. and Martínez-Rodríguez, G.**, 2018, The digestive function in developing fish larvae and fry. From molecular gene expression to enzymatic activity, *Emerg. Issues Fish Larvae Res.*, https://doi.org/10.1007/978-3-319-73244-2_3.
- Zaiss, M. M, Papadakis, I. E., Maingot, E., Divanach, P. and Mylonas, C.**, 2006, Ontogeny of the digestive tract in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.) reared using the mesocosm larval rearing system, *Aquaculture*, 260: 357–368.
- Zambonino Infante, J.L. and Cahu, C.L.**, 1994, Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae, *Fish Physiology and Biochemistry*, 12: 399–408.
- Zambonino Infante, J. L., Cahu, C. L. and Peres, A.**, 1997, Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development, *Journal of Nutrition*, 127: 608–614.
- Zambonino Infante, J.L. and Cahu, C.L.**, 2001, Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae, *Comp. Biochem. Physiol.*, 130: 477-487.
- Zambonino-Infante, J.L. and Cahu, C.L.**, 2007, Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: applications to diet formulation, *Aquaculture*, 268: 98–105.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zambonino Infante, J. L., Gisbert, E., Sarasquete, S., Navarro, I., Gutie´rrez, J. and Cahu, C. L., 2008, Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae. In: Cyrino JEP, Bureau D, Kapoor BG (Eds.) Feeding and Digestive Functions in Fishes, pp: 281–348. Science Publishers, Enfield, NH.

Zambonino Infante, J. L., Gisbert, E., Sarasquete, C., Navarro, I., Gutiérrez, J. and Cahu, C.L., 2009, Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae. In: J.E.P. Cyrino, D. Bureau and B.G. Kapoor (Eds.), Feeding and Digestive Functions of Fish., pp: 277–344, Science Publishers, Inc., Enfield, USA.

Zouiten, D., Ben Khemis, I., Besbes, R. and Cahu, C., 2008, Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in ‘mesocosm’, *Aquaculture*, 279: 166–172.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecinde olduğu gibi, uzun ve zorlu bir doktora eğitim sürecinde de; sahadaki aktif çalışma yaşamımın getirmiş olduğu zorlukları sabır ve hoşgörü ile karşılayan, bu zorlukların çözümünde beni yalnız bırakmayan, çalışma konusunun belirlenmesinde ve gerçekleşmesinde, tez sürecinin başlangıcından sonuna yardımlarını ve emeğini eksik etmeyen danışman hocam Prof. Dr. Kürşat FIRAT'a şükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

Lisans ve lisans üstü eğitim hayatım boyunca kendilerinden edindiğim bilgilerle mesleki anlamda bana farklı bakış açıları kazandıran, tecrübe kazandığım konularda ciddi emekleri olan, tez çalışması süresince yardımlarını eksik etmeyen ve tezin oluşumunda önemli katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Şahin SAKA'ya, Prof. Dr. Cüneyt SÜZER'e ve Prof. Dr. Deniz ÇOBAN'a,

Çalışmanın gerçekleşmesinde gerekli tüm imkanları sağlayan Metin ve Doğan NEKE ile tüm EGE MAR A.Ş. personeline,

Ve son olarak yaşamım boyunca maddi manevi desteklerini eksik etmeyen Aileme,

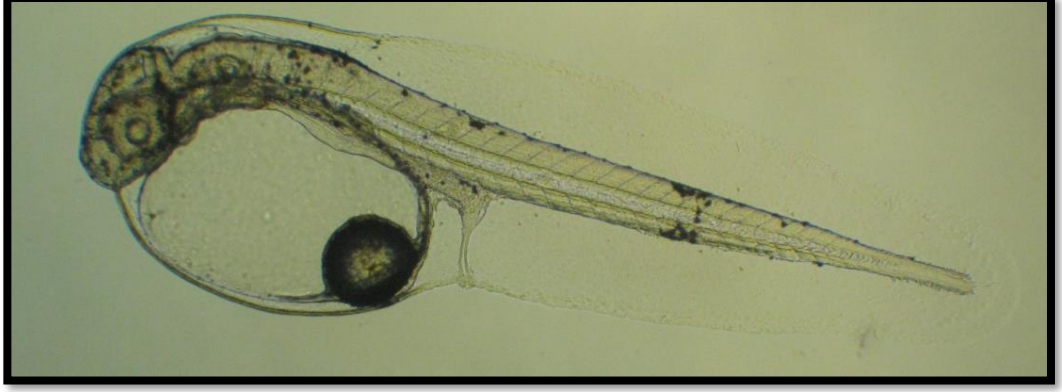
SONSUZ TEŞEKKÜRLER

Arif KARACAOĞLAN

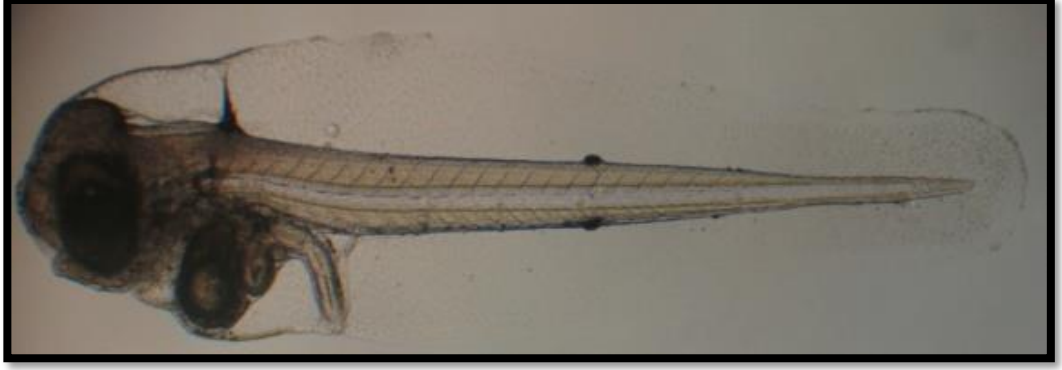
TEMMUZ, 2021

ÖZGEÇMİŞ

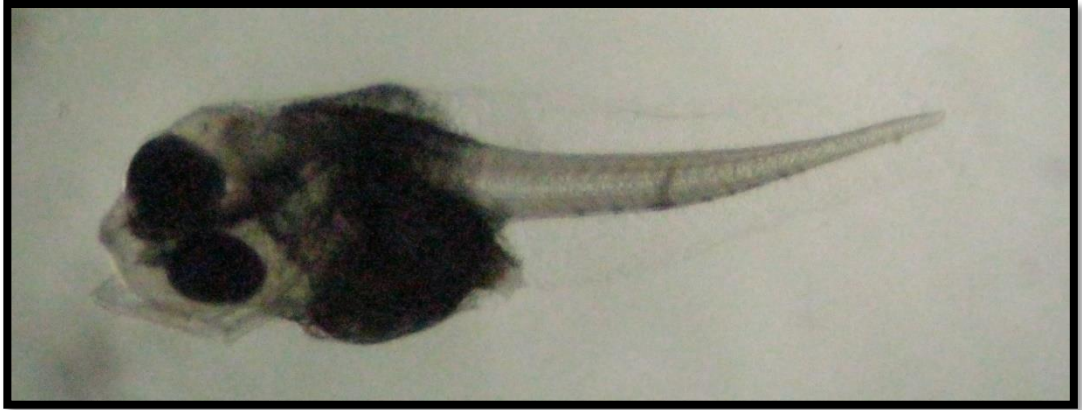
Arif KARACAOĞLAN 16.12.1979 tarihinde İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini tamamladıktan sonra 1997 yılında E. Ü. Su Ürünleri Fakültesinde öğrenim görmeye başladı. 2000 yılında Ege Mar Su Ürünleri Akbük kulaçkahane tesisinde ve Kopuz Su Ürünlerine ait ağ kafes sistemlerinde stajını tamamladı. 2002 yılında Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümünü bitirdikten sonra aynı yıl E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Bununla birlikte aynı dönemde Hatko A. Ş. yavru balık üretim tesisinde mühendis olarak göreve başladı. 2002-2007 yılları arasında Hatko A.Ş. yavru balık üretim tesislerinde larva, sörvaj, canlı yem ve adaptasyon bölümlerinde görevlerde bulundu. 2007 yılında E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalında doktora eğitimine ve aynı yıl Ege Mar Su Ürünleri Kulaçkahane tesisinde göreve başlayan Arif KARACAOĞLAN, larva ve sörvaj üretim sorumlusu olarak görev yapmaya devam etmektedir.

EK 1:

Şekil 4.2a Yumurtadan yeni çıkmış minekop larvası (2.53 ± 0.014 mm total boy)



Şekil 4.2b 1 günlük minekop larvası (2.62 ± 0.01 mm total boy)



Şekil 4.2c 3 günlük minekop larvası (2.76 ± 0.09 mm total boy)



Şekil 4.2d 5 günlük minekop larvası (3.02 ± 0.18 mm total boy)



Şekil 4.2e 10 günlük minekop larvası (4.14 ± 0.10 mm total boy)



Şekil 4.2f 12 günlük minekop larvası (4.89 ± 0.11 mm total boy)



Şekil 4.2g 15 günlük minekop larvası (5.39 ± 0.17 mm total boy)



Şekil 4.2h 20 günlük minekop larvası (8.10 ± 0.10 mm total boy)



Şekil 4.2ı 25 günlük minekop larvası (12.99 ± 0.76 mm total boy)



Şekil 4.2i 30 günlük minekop larvası (30 gün, 16.37 ± 0.67 mm total boy)



Şekil 4.2j 35 günlük minekop larvası (35 gün, 19.99 ± 0.80 mm total boy)



Şekil 4.2k 40 günlük minekop larvası (40 gün, 24.70 ± 0.81 mm total boy)