

Karayayın (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) Larvalarında Toplam ve Serbest Amino Asit Kompozisyonundaki Değişimler

Abdurrahman POLAT

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Balcalı, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.10.1995

Özet: Bu çalışmada, karayayınlarda (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), yumurtadan keseli dönemin sonu ve daha sonraki açlık döneminde, yumurta, larva ve kese materyali alınmış larva dokularındaki amino asit kompozisyonundaki değişimler incelenmiştir.

Keseli dönem süresince, kese materyali alınmış larva dokusu aminoasit miktarlarında (g/100 g kuru madde), her bir amino asit bazında önemli bir değişkenlik olmazken, larvalardaki özellikle lösin, izolösin, valin, alanin ve serin miktarlarında önemli değişimler saptanmıştır. Bu amino asitlerin larva tarafından tecihli bir kullanıma uğradığı sonucuna varılmıştır. Kese materyali alınmış larva dokusu amino asit kompozisyonu kullanılarak, larva yemi formülasyonunda kullanılacak bir A/E referansı hesaplanmıştır. Yumurta ve larvalara ait toplam serbest amino asit miktarlarında, yumurta kesesi tam olarak absorbe edilmeden önce hızlı bir düşüşün olduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Balık larvası, amino asit metabolizması, karayayın

Changes in The Total and Free Amino Acid Composition in African Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) Larvae

Abstract: In this study, changes in amino acid composition of egg, larvae and larvae tissue which was separated from yolk sac mass of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) during yolk sac stage and starving larvae were investigated.

In the yolk sac period, there was no change of each amino acid amounts (g/100 g dry matter) in larvae tissue in spite of conspicuous changes were determined in whole larvae amino acid amounts such as leucine, isoleucine, valine, alanine and serine. It was evaluated that these amino acids were used preferentially by larvae. A/E reference was calculated for larval feed formulation. A conspicuous fall in the amounts of free amino acid of larvae was determined before depletion of yolk sac material.

Key Words: Fish larvae, amino acid metabolism, African catfish

Giriş

Aminoasitler, organizma için önemli pek çok maddenin başlangıç materyali olup, özellikle balıklarda enerji metabolizmasında çok önemli bir yerleri vardır. Ronnestad (1), kalkan balıkları (*Psetta maxima*) üzerine yaptığı bir çalışmada, yumurtadaki serbest amino asitlerin % 25'nin embriyo dokusu proteini olarak kalırken, % 75'nin enerji amacıyla kullanıldığını saptamıştır. Yine, Polat ve ark. (2), proteinin, karayayın (*Clarias gariepinus*) larvalarında, erken dönemde (prelarva) ve bundan sonraki açlık periyodunda, çok önemli bir enerji kaynağı olduğunu ortaya

koymuşlardır. Özellikle deniz balığı larvalarında yumurta kesesi materyalinin tükendiği dönemde çok sık görülen yoğun ölümlerin nedeni, besleme açısından uygun nitelikteki yemlerin bulunmamasına bağlanmaktadır (3). Bu döneme ait bilgiler, larva yem almaya başladığında ihtiyaç duyacağı besinin niteliği açısından çok önemlidir.

Bu çalışma, hem karayayınlarda erken larva dönemindeki amino asit metabolizması konusunu aydınlatmak, hem de diğer türlerde de uygulanabilecek bir model geliştirmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla larvaların yumurta kese materyali, embriyo dokusundan

ayrılmış, gerek tüm olarak larvada, gerekse kese materyali alınmış larva dokusunda yapılan analizlerle, yumurta kesesi amino asit rezervinin larva dokusuna geçişi ve keseli dönem sonrasındaki açlık döneminde amino asit kompozisyonundaki değişimler incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Balık Materyali ve Tesisler

Bu çalışma, Hollanda'nın Wageningen Ziraat Üniversitesi, Su Ürünleri Bölümüne ait laboratuvarlarda gerçekleştirilmiştir. İhtiyaç duyulan sayıdaki karayayın (*Clarias gariepinus*) materyali, yaklaşık 60 anaç balığın bulunduğu (0.6-0.8 kg) bir anaç populasyonundan tesadüfen alınmıştır. Dişi anaç balıklara sazan hipofizinden hazırlanan solusyon enjekte edilmiş ve sağıma hazır duruma gelen anaçların yumurtaları plastik kaplara sağılmıştır. Erkek anaç balıklar ise testisleri çıkarılarak, spermeleri bir kaptan toplanmıştır. Döllenen yumurtalar, her biri 30 litrelik 24 adet akvaryuma yerleştirilmiştir. Her bir akvaryuma, sedimentasyon tankı, biyolojik filtre ve UV'den geçirilen resirküle su sisteminden, yaklaşık 1 lt/dak su akışı sağlanmıştır. Bu şekilde yaklaşık 300.000 adet larvadan oluşan bir populasyon elde edilmiş ve örnekler bu populasyondan alınmıştır. Araştırma süresince su sıcaklığı 28±0.9°C civarında tutulmuştur.

Örnekleme

Örnekleme periyodu içinde, amino asit miktarlarındaki değişimler, Huisman (4) tarafından ortaya konan Fizyolojik Gün Derece zaman dilimine göre açıklanmıştır ($P^{\circ}C = Sıcaklık (^{\circ}C) \times Saat / 24 \times 9$; 28°C su sıcaklığında : $q = 0.52$, 1 P°C = 2.24 saat). İlk örnek döllenmiş yumurtalardan, ikinci örnek akvaryum içindeki döllenmiş yumurtalardan, daha sonraki örnekler ise larvalardan alınmıştır. Keseli dönem süresince alınan larva örneklerinden bir kısmının yumurta kese materyali, binoküler mikroskop altında ince uçlu özel iğneler kullanılarak, larva dokularından ayrılmıştır.

Kimyasal Analizler

Alınan tüm örneklerde, yumurta ve larva sayıları belirlenmiş, daha sonra bu örnekler 103°C'de 4 saatlik bir sürede kurutularak kuru madde oranları saptanmıştır. Tüm kimyasal analiz sonuçları, bu sayede bireysel (her bir yumurta ve larva) olarak hesaplanabilmektedir.

Toplam amino asit analizine alınacak örnekler homojen bir şekilde ezilip karıştırıldıktan sonra, önce sıvı azotla dondurulmuş ve daha sonra geçici olarak bir

derin dondurucuda (-26°C) muhafaza edilmiştir. Bu örnekler 10 gün içerisinde çıkarılmış ve soğuk kurutucuda kurutulmuştur. Toplam amino asit analizlerinde, sülfür içeren amino asitler ve triptofan dışındaki amino asit analizleri asit hidrolizasyonu, sülfür içeren amino asitler için Hirs (5)'in metodundan uyarlanan oksidasyon ve triptofan analizi için ise alkali hidrolizasyonu yapılmıştır. Asit hidrolizasyonunda HCl, alkali hidrolizasyonunda Ba (OH)₂, oksidasyonda ise formik asit kullanılmıştır. Analizlerde, Heinrichson ve Meredith (6)'in iyon-değişim kolon likit kromatografi metodu kullanılmıştır.

Serbest amino asit analizleri için her bir örnekleme zamanında, yaklaşık 100 mg yumurta ve larva örneği, 3 veya 4 defa alınarak appendorf kaplarına konmuş ve hemen sıvı azotla dondurulmuş, daha sonra Mikrobiyoloji Bölümü tarafından Cross ve ark.'nın (7) metodundan uyarlanan bir yöntemle ekstraksiyon işlemleri yapılmıştır. Analizler otomatik bir amino asit analizatörde iyon-değişim kolon kromatografi metodu (8) ile yapılmıştır.

Bulgular

Kuru Madde ve Toplam Amino Asitler

Araştırmada, kuluçka süresinin 50-55 P°D olduğu ve yumurta kesesinin 205 P°C'de tamamen absorbe olduğu saptanmıştır. Larvaların yumurta kesesi henüz tam olarak absorbe edilmeden (yaklaşık 160-165 P°D), dışarıdan yem almaya hazır duruma geldikleri gözlenmiştir. Her bir örnekleme zamanında bireysel olarak yumurta-larva ve embriyonun sahip olduğu kuru madde miktarları Tablo 1'de, tüm larva kese materyali

Tablo 1. Örnekleme dönemlerinde bireysel olarak yumurta, larva ve kese materyali alınmış larva dokularının sahip olduğu ortalama kuru madde miktarları (mg/birey).

Örnekleme Zamanı P°D	Yaş Ağırlık	Kuru Ağırlık	
		Yumurta - larva	Larva Dokusu
0	1.425±0.030	0.436±0.009 (% 29.7)	
26.9	1.858±0.051	0.418±0.011 (% 22.5)	
62.8	1.414±0.025	0.386±0.006 (% 27.3)	
80.8	1.520±0.058	0.380±0.006 (% 25.0)	
107.7	1.835±0.070	0.379±0.005 (%20.7)	0.162±0.001
134.6	2.126±0.065	0.352±0.004 (% 16.7)	0.204±0.003
161.5	2.575±0.076	0.342±0.002 (% 13.3)	0.274±0.006
205.3	2.883±0.075	0.301±0.003 (% 10.5)	
269.2	2.700±0.043	0.249±0.002 (% 9.2)	
323.1	2.540±0.038	0.218±0.001 (% 8.6)	
376.9	2.327±0.022	0.190±0.002 (%8.2)	

Örn.zamanı, P°C	Glx*	Lösin	Asx*	Alanin	Lizin
0	8.02±0.03	6.74±0.01	6.15±0.22	5.46±0.03	5.17±0.01
26.9	8.38±0.02	6.90±0.01	6.05±0.26	5.43±0.02	5.26±0.01
62.8	8.59±0.01	6.77±0.03	6.04±0.04	5.29±0.01	5.31±0.01
80.8	8.60±0.01	6.69±0.07	6.21±0.08	5.21±0.05	5.39±0.05
107.7	8.43±0.05	6.32±0.02	6.21±0.17	4.80±0.05	5.20±0.03
134.6	8.53±0.01	5.94±0.03	6.14±0.06	4.31±0.03	5.22±0.02
161.5	8.53±0.06	5.34±0.01	6.36±0.05	3.78±0.02	5.16±0.03
205.3	8.65±0.03	4.91±0.01	6.12±0.04	3.50±0.00	5.16±0.02
269.2	8.53±0.07	4.81±0.03	6.01±0.04	3.45±0.02	5.10±0.05
323.1	8.12±0.07	4.57±0.02	5.73±0.04	3.40±0.02	4.88±0.03
376.9	8.07±0.02	4.62±0.00	5.77±0.03	3.44±0.01	4.87±0.02
Serin	Valin	Isolösin	Arjinin	Treonin	Glisin
4.67±0.04	4.39±0.01	4.42±0.04	4.19±0.01	3.48±0.01	2.20±0.01
4.88±0.03	4.50±0.04	4.43±0.00	4.27±0.04	3.57±0.05	2.27±0.00
4.67±0.01	4.27±0.02	4.32±0.01	4.29±0.01	3.34±0.01	2.28±0.00
4.62±0.09	4.25±0.02	4.22±0.05	4.13±0.00	3.36±0.06	2.24±0.34
4.28±0.01	4.05±0.05	3.92±0.02	4.04±0.04	3.22±0.01	2.62±0.03
3.91±0.01	3.87±0.05	3.66±0.02	3.02±0.07	3.15±0.01	2.91±0.00
3.45±0.01	3.54±0.05	3.25±0.01	3.81±0.01	2.99±0.01	3.28±0.02
3.19±0.02	3.39±0.01	2.94±0.01	3.84±0.04	2.89±0.00	3.70±0.05
3.17±0.03	3.22±0.03	2.88±0.02	3.81±0.02	2.86±0.03	3.74±0.03
3.08±0.01	3.09±0.01	2.74±0.04	3.77±0.02	2.76±0.03	3.82±0.04
3.11±0.00	3.15±0.01	2.78±0.00	3.75±0.05	2.77±0.00	3.95±0.02
Prolin	Metionin	Fenilalanin	Tiyrosin	Histidin	Sistein
3.01±0.20	2.12±0.11	2.63±0.01	2.29±0.04	2.91±0.00	0.71±0.10
3.02±0.19	2.16±0.09	2.74±0.03	2.42±0.05	2.18±0.04	0.70±0.06
3.35±0.03	2.08±0.10	2.72±0.01	2.41±0.01	2.33±0.07	0.77±0.07
2.92±0.04	2.12±0.08	2.70±0.03	2.32±0.05	2.36±0.12	0.78±0.06
2.53±0.15	2.04±0.05	2.77±0.01	2.32±0.05	2.25±0.02	0.76±0.05
2.93±0.11	1.99±0.02	2.76±0.01	2.38±0.01	2.25±0.01	0.80±0.04
2.90±0.07	1.96±0.15	2.63±0.04	2.30±0.01	2.22±0.02	0.84±0.12
3.45±0.02	1.74±0.08	2.60±0.00	2.34±0.03	2.13±0.03	0.84±0.03
3.31±0.14	1.69±0.12	2.53±0.02	2.29±0.00	1.92±0.02	0.83±0.04
3.36±0.14	1.66±0.09	2.42±0.01	2.17±0.01	1.79±0.02	0.80±0.05
3.19±0.02	1.61±0.07	2.44±0.00	2.21±0.01	1.73±0.04	0.80±0.06

Tablo 2.

Her bir örnekleme zamanında alınan yumurta ve larva (bütün olarak) örneklerinde, g/100 g kuru madde olarak amino asit miktarları.

* Glx : glutamik asit + glutamin, Asx : aspartik asit + asparajin

alınmış larva dokularındaki (kese materyali alınmış) amino asit miktarları ise Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Larvaların bireysel amino asit miktarları bazında, araştırma yumurta kesesinin tam olarak absorbe edildiği 205 P°D'ye kadar ve bundan sonraki dönem olarak ikiye ayrılmıştır. Her bir amino asidin, bu iki dönemdeki doğrusal regresyon eğrilerinin b katsayıları, t testi ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak farklı olmayan ($p>0.05$) amino asitler, aşağıdaki şekilde gruplanmıştır.

1. grup : alanin, serin, isolösin, lösin
2. grup : serin, isolösün lösin, valin
3. grup : lösin, valin, treonin
4. grup : treonin, metionin, arginin, histidin
5. grup : histidin, fenilalanin, lizin, tiyrosin, asx (aspartik asit + asparajin), glx (glutamik asit + glutamin), sistein

Örn.zamanı, P°D	Glx	Lösın	Asx	Alanin	Lizin
62.8	8.13±0.16	5.53±0.09	6.05±0.19	3.49±0.04	5.13±0.09
107.7	8.29±0.07	5.29±0.06	6.07±0.14	3.57±0.01	5.10±0.05
134.6	8.58±0.07	5.22±0.02	6.37±0.25	3.56±0.02	5.23±0.03
161.5	8.74±0.05	5.18±0.04	6.35±0.19	3.60±0.08	5.28±0.05
Serin	Valin	İsolösın	Arjınin	Treonin	Glisin
3.25±0.01	3.45±0.01	3.16±0.13	3.79±0.08	2.96±0.03	2.99±0.10
3.30±0.00	3.48±0.08	3.15±0.03	3.89±0.03	2.93±0.00	3.17±0.02
3.23±0.00	3.10±0.01	3.10±0.01	3.85±0.07	2.94±0.01	3.38±0.02
3.26±0.04	3.47±0.05	3.08±0.02	3.84±0.05	2.97±0.01	3.48±0.08
Prolin	Metionin	Fenilalanin	Tiyrosin	Histidin	Sistein
2.26±0.15	1.82±0.09	2.82±0.05	2.27±0.11	2.31±0.02	0.79±0.02
2.77±0.08	1.92±0.09	2.83±0.93	2.35±0.09	2.38±0.03	0.81±0.05
3.04±0.25	1.95±0.11	2.73±0.02	2.35±0.09	2.40±0.03	0.81±0.07
2.81±0.18	1.91±0.09	2.67±0.03	2.33±0.08	2.31±0.04	0.81±0.11

Tablo 4. Keseli dönem (0-205 P°D, 1. periyod) ve daha sonraki açlık döneminde (2. periyod), bireysel bazda her bir amino asitte saptanan azalma miktarının, başlangıçtaki miktara olan oranları (Dönemlerdeki kayıp (µg) - başlangıç ağırlığı (µg) / başlangıç ağırlığı) x 100.

Amino asitler	1. Periyod	2. Periyod
Alanin	54.2	38.12
Serin	51.4	38.6
İsolösın	52.6	40.5
Lösın	48.2	40.7
Valin	44.9	41.6
Treonin	40.9	39.7
Methionin	41.5	41.9
Arginin	34.8	38.4
Histidin	31.4	48.8
Fenilalanin	9.8	40.8
Lizin	29.0	40.6
Tiyrosin	27.2	40.4
Asx	29.2	40.6
Glx	24.2	41.3
Sistein	15.2	39.7
Glisin	-	41.0
Toplam EAA*	40.4	41.0
Toplam EOAA**	30.6	39.5
Toplam AA***	35.7	40.2

* esansiyel amino asitler (EAA),

** esansiyel olmayan amino asitler (EOAA),

*** amino asitler (AA)

Tablo 3. Keseli dönem süresince alınan ve yumurta kese materyali alınan larva dokularında, g/100 g kuru madde olarak amino asit miktarları.

Tablo 5. Döllenmemiş yumurta ve kese materyali alınmış larva dokularında yapılan amino asit analizleri esas alınarak hesaplanan A/E oranları.

	AA kompozisyonu (g/100 g protein)		A/E ORANI	
	Döllenmemiş yumurta	Larva Dokusu	Döllenmemiş yumurta	Larva Dokusu
Arjınin	6.01	5.44	117.3	123.8
Histidin	3.17	3.27	61.9	72.2
İsolösın	5.34	4.37	123.8	99.5
Lösın	9.67	7.40	188.8	168.4
Lizin	7.42	7.34	144.9	167.1
Met+sist	4.05	3.80	79.1	86.5
Methionin	3.04	2.65	59.4	60.3
Sistein	1.01	1.15		
Fen+Tiyr.	7.06	8.03	137.8	182.8
Fenilalanin	3.78	3.87	73.8	88.1
Tiyrosin	3.28	41.6		
Treonin	5.00	4.16	97.6	94.7
Valin	6.30	4.89	122.9	143.4
Tiriptofan	0.49	0.63	9.6	14.3
Ham Prt. (%, Nx6.25)		69.65*		70.60*

* Yüzdelerde, Polat ve ark. 1993 (1)'nin aynı tür üzerinde yaptıkları çalışmada saptadıkları değerler esas alınmış ve her bir amino asit miktarı, g/100 g protein esasıyla hesaplanmıştır.

Örn.zamanı, P°D	Lösin	Isolösin	Alanin	Glisin	Glut. asit
0	0.14±0.01	0.37±0.02	0.34±0.01	0.92±0.03	1.36±0.04
26.9	0.79±0.04	0.89±0.04	0.48±0.02	1.59±0.02	1.24±0.04
62.8	4.12±0.18	2.24±0.07	0.99±0.04	1.28±0.01	2.62±0.07
80.8	5.75±0.19	2.86±0.06	1.35±0.05	1.23±0.05	3.44±0.08
107.7	5.53±0.19	2.73±0.06	1.84±0.05	1.44±0.05	4.36±0.10
134.6	5.80±0.20	2.73±0.06	2.91±0.05	2.66±0.03	5.89±0.21
161.5	5.60±0.19	2.48±0.08	3.31±0.06	3.94±0.02	7.57±0.35
205.3	0.84±0.05	0.34±0.03	1.80±0.05	4.26±0.00	5.76±0.20
269.2	0.33±0.02	–	1.02±0.04	2.07±0.02	3.39±0.09
323.1	0.21±0.02	–	0.71±0.03	1.28±0.02	2.65±0.08
375.9	–	–	0.24±0.01	0.86±0.04	1.39±0.05
Glutamin	Fenilalanin	Metionin	Asx	Treonin	Tiyrosin
–	0.09±0.00	0.08±0.00	0.22±0.02	0.38±0.02	0.16±0.01
1.48±0.05	0.26±0.02	0.22±0.02	0.11±0.01	0.45±0.01	0.24±0.01
2.24±0.06	1.80±0.09	0.79±0.07	0.59±0.04	1.28±0.04	1.52±0.06
3.56±0.08	3.22±0.18	1.72±0.10	1.04±0.08	1.77±0.08	2.63±0.07
4.55±0.11	3.83±0.19	2.41±0.14	4.04±0.04	2.13±0.10	2.77±0.07
5.37±0.11	3.12±0.17	3.02±0.15	3.02±0.10	2.71±0.13	2.67±0.07
5.51±0.25	2.28±0.15	3.07±0.14	3.81±0.13	3.09±0.14	2.30±0.06
3.47±0.09	0.50±0.04	1.05±0.08	3.84±0.14	1.43±0.13	0.69±0.03
1.71±0.07	0.19±0.01	0.18±0.01	3.81±0.13	0.48±0.08	0.33±0.02
0.96±0.04	0.14±0.01	0.17±0.01	3.77±0.08	0.27±0.06	0.24±0.01
–	0.08±0.01	0.09±0.01	3.75±0.06	0.07±0.03	0.19±0.01
Serin	Arjinin	Lizin	Histidin	Valin	Sistein
0.53±0.02	0.43±0.03	0.36±0.01	0.02±0.01	0.09±0.00	0.03
0.78±0.02	0.28±0.02	0.73±0.03	0.28±0.01	0.48±0.02	0.05
1.63±0.04	1.68±0.04	1.31±0.05	0.43±0.03	1.67±0.06	0.04
2.35±0.07	2.29±0.07	1.65±0.06	0.62±0.04	2.45±0.07	0.03
2.96±0.07	2.58±0.07	1.81±0.05	–	2.51±0.07	–
3.67±0.14	2.55±0.08	2.33±0.08	1.26±0.07	2.96±0.07	–
3.70±0.13	2.49±0.08	2.79±0.09	1.33±0.07	3.02±0.07	–
1.81±0.07	2.76±0.08	1.63±0.04	0.46±0.02	1.02±0.02	–
1.09±0.05	2.50±0.08	1.24±0.04	0.32±0.01	0.19±0.01	–
0.80±0.04	0.78±0.02	1.05±0.04	0.18±0.01	0.05±0.00	–
0.55±0.03	–	0.45±0.01	0.09±0.00	–	–

Tablo 6. Yumurta ve larvalarda her bir örnekleme zamanındaki ortalama serbest amino asit miktarları, nmol/birey.

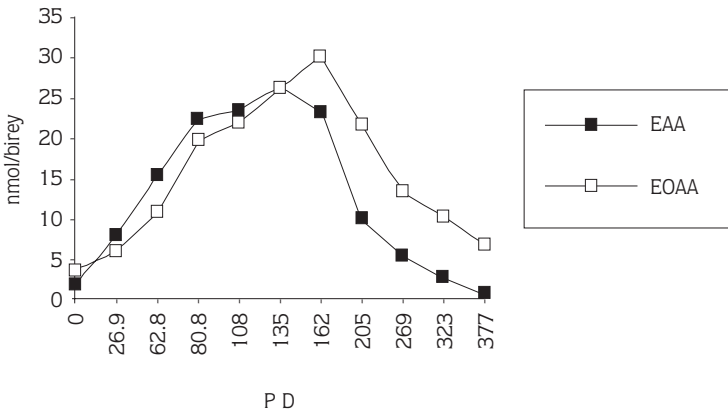
Bireysel olarak yumurta ve larvadaki amino asit miktarlarına göre, yumurtadan keseli dönemin sonuna kadarki dönemde (0-205 P°D) ve daha sonraki açlık periyodu süresince, her bir amino asitteki toplam eksilmenin, başlangıçtaki (yumurta) miktara olan oranları (%) hesaplanmış ve Tablo 4'de verilmiştir. Yumurta kesesi materyalindeki azalma ve larva dokusundaki birikimin incelenmesi sonucu, glisin'in sentezlendiği, yani eksilme yerine bir artışın olduğu saptanmıştır.

Son yıllarda balık yemlerinin formülasyonunda çok başarılı bir şekilde kullanılmaya başlanan A/E oranının (her bir esansiyel amino asit miktarı/toplam esansiyel

amino asit miktarı x 100), larval yem formülasyonuna da uygulanabilmesi açısından, keseli dönem süresince kese materyalinden ayrılan larva dokularında, 5 farklı dönemde ve döllenen yumurtada yapılan amino asit analizleri sonuçlarının ortalaması alınarak, Tablo 5'de gösterilen A/E oranları hesaplanmıştır.

Serbest Amino Asitler

Yumurta ve larvalarda yapılan serbest amino asit analiz sonuçları Tablo 6'da gösterilmiştir. Esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit bazındaki değişime baktığımızda (Şekil 1), 162 P°D'deki toplam serbest amino asit miktarındaki ani düşüşün büyük oranda



Şekil 1. Yumurta ve larvalarda toplam serbest esansiyel (EAA) ve esansiyel olmayan (EOAA) amino asit miktarlarındaki değişimler (nmol/birey).

esansiyel amino asitlerden kaynaklandığı görülmektedir. Ancak 162 P°D'den sonra, hem esansiyel hemde esansiyel olmayan amino asitlerde dikkat çekici bir değişimin olduğu açıktır.

Tartışma ve Sonuçlar

Alınan örneklerde yapılan analizler sonucunda, kese materyali alınmış larva dokusu amino asit düzeyinde (g amino asit/100 g kuru madde) herhangi bir değişim olmamasına rağmen, bazı amino asitlerin tüm larvadaki miktarlarında dikkat çekici düzeyde azalmalar saptanmıştır (Tablo 2). Dikkat çekici oranda düşüşün olduğu amino asitler, esansiyel amino asitlerden lösin, izolösin, valin, esansiyel olmayan amino asitlerden alanin ve serindir. Bireysel olarak yumurta ve larvalardaki amino asit miktarlarındaki keseli dönem süresince olan eksilmenin, başlangıç miktarına olan oranları (Tablo 4), alanin için % 54.2, serin için % 51.4, izolösin, lösin ve valin için ise sırasıyla % 52, % 48.2 ve % 44.9 olarak gerçekleşmiştir. Balıklar ve diğer hayvanların amino asit metabolizmaları arasında bazı farklılıkların olduğu bilinmektedir. Örneğin, kalkan balıkları üzerine yapılan bazı çalışmalarda lösin ve fenilalanin'in (9), glutamik asit ve alanin'in (10), verilen yemin protein düzeyine bağımlı olmaksızın sitrik asit döngüsüne girerek enerji amacıyla kullanıldıkları saptanmıştır. Bu açıdan, bu çalışmada elde edilen sonuçlara baktığımızda, bazı amino asitlerin tercihli bir kullanıma uğradığı açık bir şekilde görülmektedir. Bu sonuç, larval yemlerin formülasyonunda önemle dikkate alınması gereken hususlardan birisidir.

Gerek Tablo 4'e, gerekse kurumadde ve bu sonuçlardan giderek hesaplanan bireysel glisin miktarlarının incelenmesi sonucunda, glisin'in sentezlendiği anlaşılmıştır. Bu sonuçlardan, özellikle embriyo sinir dokularının, kan damarlarının ve elastik

dokuların yoğun olarak olduğu bu dönemde, aşırı ihtiyaç nedeniyle glisin sentezi olduğu söylenebilir. Yine, yumurta kesesi amino asit rezervindeki azalma ve embriyo dokusundaki amino asit miktarındaki artış oranlarının incelenmesi sonunda, glisin'den başka asx (aspartik asit + asparajin), prolin ve sistein'in de sentezlendiği anlaşılmıştır.

Arai (11), coho alabalıklarında (*Oncorhynchus kisutch*), vücut amino asit kompozisyonuna göre hesaplanan A/E oranını referans alarak hazırladığı bir test diyeti uyguladığı çalışmada, A/E'ye göre hazırlanan diyetin, balıklarda gelişmeyi olumlu yönde artırdığını saptamıştır. Yine Ogata ve ark. (12) çerri salmonlarında (*Oncorhynchus masou*), Cowey ve Tacon (13) sazanlarda, benzer sonuçları bulmuşlardır. Bu çalışmada kese materyali alınmış larva dokusu amino asit sonuçları kullanılarak A/E referansı hesaplanmıştır. Bu yöndeki çalışmaların ayrıntılı olarak yapılması, larval beslemeye önemli katkılar getirebilecektir.

Serbest amino asit miktarlarında, henüz yumurta kesesi materyali tam olarak absorbe olmadan (162 P°D) hızlı bir düşüş başlamaktadır. Aynı dönemde larvaların dışardan yem almaya başladıkları gözlenmiştir. Bu durum, larvalarda ilk beslenme ile serbest amino asit miktarındaki ani düşüş arasında bir ilginin olduğunu düşündürmektedir. Bilindiği gibi, hayvansal organizmalarda kandaki serbest amino asit miktarı, aktif beslenmenin hemen arkasından hızla yükselmekte ve bir pik noktadan sonra tekrar normal düzeye inmektedir. Sazan (*Cyprinus carpio*) (14) ve tilapia'larda (*Oreochromis nilotica*) (15) yapılan çalışmalarda, kandaki serbest toplam amino asit miktarlarının test dietinden 4 saat sonra pik noktasına ulaştığı kaydedilmiştir. Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) ise (16) bu süre 24-36 saat olarak saptanmıştır. Bu çalışmada toplam esansiyel

serbest amino asit ve esansiyel olmayan amino asit miktarlarındaki, 162 P°D'den sonraki ani düşüşün (205 P°D'ye kadar), büyük oranda serbest esansiyel amino asit miktarlarındaki düşüşten kaynaklandığı anlaşılmaktadır (Şekil 1). Bu zaman diliminde esansiyel amino asit miktarındaki % 61.6'lık düşüşe karşın, esansiyel olmayan amino asitlerde % 31.7'lik bir düşüş olmuştur. Fhyn (17), atlantik halibutlar'da (*Hippoglossus hippoglossus*) yaptığı bir çalışmada, yumurta serbest amino asit miktarının, keseli dönem süresince zaman içinde giderek azaldığı ve kuluçkadan sonraki ilk üç hafta süresince tüketilen esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit miktarının, birbirine yakın olduğunu (sırasıyla % 47 ve % 53) bildirmiştir. Bizim sonuçlarımızda ise, özellikle yumurta kesesi esansiyel amino asit kaynağı, öncelikli bir kullanıma uğramaktadır. Daha sonra rezervlerin tükenmeye başlamasıyla birlikte bu serbest amino asit metabolizmasına yansımaktadır. Bireysel serbest amino asit miktarlarında, kese materyali tam olarak absorbe

olmadan serin'de % 51, alanin'de % 46, glutamin'de % 37 oranında düşüş olmuştur. Diğer amino asitlerdeki düşüş ise çok daha yüksek oranlardadır. Wilson ve ark. (18), kanal kedibalıklarında (*Ictalurus punctatus*) aktif olarak beslenme sonunda, kandaki serbest amino asitlerdeki değişimi inceledikleri bir çalışmada, alanin ve serin'in beklenen düzeyin çok üzerinde bir seviyede seyrettiğini saptamışlardır. Aynı araştırmacılar bu amino asitlerin glikojenik amino asitler olarak bu çalışmada olduğu gibi büyük öneme sahip olabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, diğer ekonomik öneme sahip balık türleri üzerinde benzer çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulmaktadır. Bu yöndeki çalışmalar, balık larvalarındaki amino asit metabolizmasının aydınlanmasına katkıda bulunabilecek ve elde edilen bulgular, şüphesiz larva kültürü ve genelde su ürünleri yetiştiriciliğinde karşılaşılan sorunların çözümüne önemli katkılar getirebilecektir.

Kaynaklar

1. Ronnestad, I., Ammonia excretion, oxygen uptake, free amino acids and globule resorption during embryonic development of Turbot (*Scophthalmus maximus*). *Freeding and Nutrition in Fish*, Toba, Japan, 357-365, 1989.
2. Polat, A., Concelçao, L., Sarihan, E., Verreth, J., The protein, lipid and energy metabolism in eleuthero-embryos and starving larvae of the African catfish *C. gariepinus* (Burchell), *ICES Mar. Sci.* 201: 74-79, 1995.
3. Jones, A., Houde, E.D., Mass rearing of fish fry for Aquaculture. In M. Bilio, H. Thal and C.F. Sinderemann (Editors), *Realism in Aquaculture: Achievements, Constraints Perspectives*. European Aquaculture Society, Bredene, 351-373, 1986.
4. Huisman, E.A., *Optimalisering van de groei bij de carper (Cyprinus carpio L.)* Vissertatie, Wageningen, 95 s, 1974.
5. Hirs, C.H.W., *Determination cysteine as cysteic acid*. *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, 2: 59-62, 1966.
6. Henrikson, R.C., Meredith, S.C., *Amino acid analysis by reverse-phase high performance liquid chromatography. Precolumn derivatization with phenylisothiocyanate*. *Anal. Biochem.*, 136: 65-74, 1984.
7. Cross, D.L., Boling, J.A. ve Ely, D.G., *Plasma amino acids in fed and fasted wethers*. *J. Animals Sci.*, 41: 1164-1169, 1975.
8. Benson, J.V., Gordon Jr, M.J., Patterson, J.A., *Accelerated chromatographic analysis of amino acids in physiological fluids containing gln. and asparagine*. *Anal. Biochem.*, 18: 228-240, 1967.
9. Cowey, C.B., Sargent, J.R., *Nutrition In Fish Physiology*, Academic Press, London, 8: 15-58, 1979.
10. Nagai, M., Ikeda, S., *Carbohydrate metabolism in fish III. Effect of dietary composition on metabolism of glucose (U-14C) and glutamate (U-14C)*. *Nipp. Suis. Gakkaishi*, 38: 137-143, 1972.
11. Arai, S., *Qualitative requirements of amino acids*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 40: 447-550, 1981.
12. Ogata, H., Arai, S., Nose, T., *Growth responses of cherry salmon *O. masou* and mago salmon *O. rhodurus* fry fed purified casein diets supplemented with amino acids*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 49: 1381-1385, 1983.
13. Cowey, C.B., Tacon, A.G.J., *Biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition*. In *Proc. Second Int. Conf. Aquaculture Nutr.* 13-30, 1983.
14. Plakas, S.M., Katayama, T., Tanaka, Y. and Deshimaru, O., *Changes in the levels of circulating plasma free amino acids of carp (*Cyprinus carpio*) after feeding a protein and an amino acid diet of similar composition*. *Aquaculture*, 21: 307-322, 1980.
15. Yamada, S., Tanaka, Y., Katayama, T., Sameshima, M. and Simpson, K.L., *Plasma amino acids changes in *T. nilotica* fed a casein and a corresponding FAA diet*. *Bull. of Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48: 1783-1787, 1982.
16. Yamada, S., Simpson, K.L., Tanaka, Y. and Katayama, T., *Plasma amino acid changes in rainbow trout *Salmo gairdneri* force-fed casein and a corresponding amino acid mixture*. *Bull. of Jpn. Soc. Sci. Fish.* 47: 1035-1040, 1981.
17. Fyhn, H.J., *First feeding of Marine Fish Larvae: Are free amino acids the source of energy?* *Aquaculture*, 80: 111-120, 1989.
18. Wilson, R.P., Gatlin, D.M., Poe, W.E., *Postprandial changes in serum amino acids of channel catfish fed diets containing different levels of protein and energy*. *Aquaculture*, 49: 101-110, 1985.