

Farklı protein kaynaklarının Neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine etkisi

İsmail Erbatur¹, Kaya Gökçek^{2*}

*Corresponding author: kayagokcek@yahoo.com

Received: 10.02.2022

Accepted: 04.03.2022

Affiliations

¹Fisheries Research Institute, Eğirdir, Isparta, TURKEY

²Hatay Mustafa Kemal University Agriculture Faculty Department of Animal Nursery, Hatay, TURKEY

Anahtar Kelimeler

Neon tetra
Proteaz aktivitesi
Protein kaynakları
İnhibisyon oranı

ÖZET

Neon tetra, *Paracheirodon innesi*, akvaryum sektörü açısından oldukça yüksek değere sahip bir balık türüdür. Bu çalışmada, farklı protein kaynaklarının (soya protein konsantresi, soya unu, balık unu, karides unu, krill unu, mısır glütenu, ve tavuk unu) erken dönem proteaz enzimleri üzerine inhibe edici etkilerini bulmak amacıyla invitro analizler yapılmıştır. Çalışma sonunda, en yüksek inhibisyon oranı bitkisel protein kaynaklarından soya protein konsantresinden (%53,59±0,58) elde edilmiştir. Diğer yandan, en düşük inhibisyon oranları karides ve tavuk unundan elde edilmiştir (sırasıyla, %21,88±0,74 ve %21,88±1,26) (p>0,05). Sonuç olarak, bu türün erken dönem beslenmesinde karma yemlerinde soya protein konsantresinin protein kaynağı olarak kullanılmaması gerektiği kanaati doğmuştur.

Effect of different protein sources on protease activity of Neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) juveniles

ABSTRACT

Neon tetra, *Paracheirodon innesi*, is a highly valuable fish species for the aquarium sector. In this study, to determine the inhibitory effects of different protein sources (soybean protein concentrate, soybean meal, fish meal, shrimp meal, krill meal, corn gluten and chicken meal) on early life stage proteases, invitro assays were applied. At the end of the study, the highest inhibition ratios were obtained from soybean protein concentrate (53.59±0.58%) as plant protein sources. On the other hand, the minimum inhibition ratios were obtained from shrimp and chicken meal (21.88±0.74% and 21.88±1.26%, respectively) (p>0.05). In conclusion, it is concluded that the soy bean protein concentrate should not be used in the commercial diets as protein source on on-growing size of this species.

Keywords

Neon tetra
Protease activity
Protein sources
Inhibition ratio

Giriş

Akvaryum balıkları yetiştiriciliği sektörü, ekonomisi bu türlerin ihracatına dayalı gelişen ve gelişmekte olan ülkeler açısından oldukça yüksek ticari öneme sahiptir (Sanaye ve ark., 2014). Neon tetra, *Paracheirodon innesi*, balığı da dünya akvaryum sektöründe çok önemli yere sahip bir tatlı su balığı türüdür. Charasidae familyasına dâhil olan bu tür, Güney Amerika kıtasında özellikle Kolombiya, Peru ve Brezilya'nın akarsularında doğal yayılım gösterir. Omnivor beslenme özelliğine sahip

olan tür, ortalama 2-3 cm boya ulaşabilir (Sealey ve ark., 2009).

Balık yetiştiriciliği sektöründe çalışan yem üreticisi ve balık çiftlik işletmeleri açısından bakıldığında en önemli husus, balıklara sunulan yemlerin en verimli şekilde sindirilmesi ve dolayısıyla balıkların verilen proteinden en yüksek derecede faydalanabilmesidir. Bunun için, hazırlanan yem rasyonunun o türe özgü en uygun protein miktar ve kompozisyonuna sahip olması beklenir (Halver, 2002). Gerek balık unu yapımında kullanılan ve doğadan avcılık

Cite this article as

Erbatur, İ. & Gökçek, C. K. (2022). Effect of different protein sources on protease activity of Neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) juveniles. *Marine and Life Sciences*, 4(1): 31-34. (in Turkish)

yolu ile elde edilen balık türlerinin stoklarının korunması açısından, gerekse yem üreticileri yem maliyetlerini minimize edebilmek amacıyla balık yemlerinde balık ununa alternatif olarak yerini ikame edebilecek hammaddeleri uzun süredir kullanmaktadırlar. Ancak, her ne kadar aminoasit kompozisyonu açısından balık ununa benzer bitkisel ve hayvansal yem hammaddeleri hali hazırda kullanılıyor olsa da, balıkların büyüme performansı, sağlıkları ve pelet kalitesinde halen istenilen başarıya ulaşamamıştır.

Bu türün erken dönem beslenme özelliklerinin tespiti (Sanaye ve ark., 2014), tam kontrollü şartlarda üretimi (Kucharczyk ve ark., 2010), stok yoğunluğunun büyüme ve yaşama oranları üzerine etkisi (Buduardi ve ark., 2008), ışık yoğunluğunun iridoforların oluşumuna etkisi (Yoshioka ve ark., 2011), ten rengi değişimine etkileyen faktörler (Clothier ve Lythpoe, 1987) ve dünyadaki ticari işlem hacmi üzerine (Mayoza ve ark., 2018) farklı alanlarda bir çok bilimsel araştırma yapılmıştır. Ancak, erken dönem sindirim enzimleri ve bunlar üzerinde etkisi olan faktörler üzerinde henüz bir bilimsel çalışma yapılmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile kuluçkahane şartlarında üretilmiş olan Neon Tetra balıkların proteaz aktiviteleri üzerine bitkisel ve hayvansal kökenli protein kaynaklarının olası inhibe etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Balık Materyali

Denemede kullanılan balıklar bir ticari akvaryum balıkları üretim tesisinden temin edilmiştir. Deneme, bir çift damızlıktan elde edilen juveniller üzerinde yapılmıştır. Balıklar, aynı ortamda 35 gün süre ile Artemia nauplii ile beslenmiş, takip eden 5 gün içerisinde %47,5 ham protein içeren ticari bir karma yeme dereceli olarak geçiş yapmıştır. Balıklar günde 3 öğün ad libitum olarak elle beslenmiştir. Analizlerde kullanılacak olan örnek balıklar 40. günde son yem alışlarından 1 saat sonra rastgele seçilmiş, 1,5 mL'lik ependorf tüplere teker teker konulmuş ve kuru buz içerisinde invitro analizlerin yapıldığı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Uygulama Laboratuvarı'na getirilmiştir. Örnekler, analize kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Enzim Analizleri

Proteaz Aktivitesinin Ölçümü

Araştırmanın 40. gününde örneklenen Neon tetra balığı juvenillerinin toplam proteaz enzim aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür (Walter, 1984). Analizin mantığı; substrat ortamında (kazein, %1), balıklardan elde edilen sindirim enzimlerinin tampon çözelti olan Tris-HCl (50 mM, pH 9,0) ile reaksiyona sokulması, 37°C'de 1 saatlik inkübasyon süresinin sonrasında

karışıma 500µL Trikloroasetikasit (TCA) (%20) eklenerek durdurulması ve absorbansın spektrofotometrede 280 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır.

İnhibisyon Analizleri

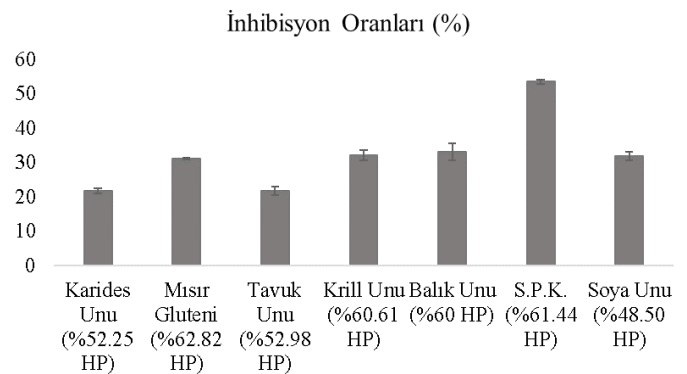
Ticari balık yemlerinde protein kaynağı olarak kullanılan soya protein konsantresi (S. P. K.), soya unu, balık unu, karides unu, krill unu, mısır glütenu, ve tavukununun sahip olduğu ham protein oranları Kjeldahl metoduyla tespit edilmiştir. İnhibisyon oranlarının tespiti için ilk önce balık örneklerinden elde edilen enzim ekstraktları (20 µl) ile yemlerde kullanılan protein kaynakları (20 µl) 25°C'de 60 dk tampon çözelti içinde (Tris-HCl pH 9,0, 500 µl) inkübe edilmiştir. Kontrol grubunda test edilen protein kaynağı yerine saf su kullanılmıştır. Daha sonra, karışıma kazein (%1,1, 100 µl) eklenmiş ve inkübasyona 2 saat süreyle devam edilmiştir. Reaksiyon, TCA (%12, 500 µl) eklenerek durdurulmuş ve karışımın absorbans değeri spektrofotometrede 280 nm'de ölçülmüştür (Garcia-Carreno 1996, Alarcon ve ark., 1999).

İstatistik Analizler

Verilerin ön değerlendirmesinde Barlett's homojenite ve Kolmogorov-Smirnov normalite testleri kullanılmıştır. One-way ANOVA testi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi SPSS 16.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Sonuçlar

Çalışma boyunca su sıcaklığı 23±0,55°C, pH 7,89±0,98 ve çözünmüş oksijen miktarı ortalama 6,89±1,03 mg/L olarak ölçülmüştür. Karma yeme tamamen geçiş yapmış bireylerin ortalama proteaz aktivitesi 7,50±1,11 U/mg olarak bulunmuştur. Denemede test edilen farklı protein kaynaklarının Neon tetra balığının proteaz enzimlerini inhibe etme oranları Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Farklı protein kaynaklarının Neon tetra balığının proteaz enzimlerini inhibe etme oranları

Figure 1. The inhibitor ratios of different protein sources on protease enzymes of Neon tetra fish

Çalışma sonunda, en yüksek inhibisyon oranları bitkisel kökenli protein kaynaklarından soya protein

konsantresinden (%53,59±0,58) elde edilmiştir (p>0,05). En düşük inhibisyon oranları ise karides ve tavuk unundan elde edilmiştir (sırasıyla, %21,88±0,74 ve %21,88±1,26) (p>0,05). Öte yandan, mısır glütenu (%31,14±0,22), krill unu (%32,18±1,58), balık unu (%33,06±2,47) ve soya ununun (%31,89±1,29) proteaz enzimlerini inhibe etme oranları arasındaki fark istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur (p>0,05).

Tartışma

İnhibisyon analizleri, ağırlıklı olarak karma yeme geçiş yapılan ve en çok kayıpların yaşandığı erken larval dönemde yapılmaktadır. Kültür türlerinden çipura, *Sparus aurata* (Alarcon ve ark., 1999), Turna, *Esox lucius* (Töre ve ark., 2014), Rus mersini, *Acipenser gueldenstaedtii* (Gökçek ve ark., 2016), Sibiry mersini, *A. baerii* (Alptekin ve Gökçek, 2016), Çuka balığı, *A. rathenus* (Kurt ve Gökçek, 2018) ve Yayın balığı, *Silurus glanis* (Gökçek ve ark., 2018) erken larval dönemde farklı protein kaynaklarının proteaz aktiviteleri üzerine olası inhibisyon etkilerinin incelendiği karnivor balık türlerinden bazılarıdır. Bu türlerin erken larval dönemde ihtiyaç duydukları yüksek protein miktarı ve aminoasit kompozisyonu nedeni ile balık unu çeşitleri inhibisyon değerinin en düşük çıktığı yem hammaddeleri olmuştur (Alptekin ve Gökçek, 2016; Gökçek ve ark., 2016; Gökçek ve ark., 2018). Bunun yanında, krill unu (%43,49 HP) ve soya protein konsantresi (%60 HP) inhibe etme oranı düşük hammaddeler grubunda kabul görmektedir (Töre ve ark., 2014; Kurt ve Gökçek, 2018). Bu çalışmanın konusunu oluşturan Neon tetra balığı omnivor beslenen bir balık türüdür. Üzerinde çalışılan balık türlerinin beslenme

rejimlerindeki farklılıklar ve optimum büyüme, gelişme ve yaşama oranı için ihtiyaç duydukları protein miktar ve kompozisyonları arasındaki farklar nedeni ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar oldukça makul görülmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, Neon tetra balıkların karma yeme geçiş döneminde yüksek proteine sahip soya protein konsantresinin ticari yem rasyonlarında bulunmasının proteaz enzimlerinin düzenli çalışmasına olumsuz etkisi olduğu söylenebilir. Bu nedenle, türe özgü rasyonların ticari olarak üretilmesi durumunda, karma yemlerine bu yem hammaddesinin kullanılmasının uygun olmadığı kanaatindeyiz. Ancak, farklı yem hammaddelerinin enzimatik aktivite üzerindeki etkilerinin daha detaylı tespit edilebilmesi için, ileriki çalışmalarda hidroliz derecelerinin ve sıralı protein hidroliz analizlerinin yapılması tavsiye edilmektedir.

ETİK STANDARTLARA UYUM

Yazarların Katkısı

Yazarların katkısı aynıdır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını deklare etmektedir.

Etik Onay

Yazarlar bu tür bir çalışma için resmi etik kurul onayının gerekli olmadığını bildirmektedir.

Kaynaklar

- Alarcon, F. J., Moyano, F. J., Diaz, M., Fernandez-Diaz, C. & Yufera, M. (1999). Optimization of the protein fraction of microcapsules used in feeding of marine fish larvae using in vitro digestibility techniques. *Aquaculture Nutrition*, 5: 107-113.
- Alptekin, C. & Gökçek, K. (2016). Balık yemlerinde kullanılan farklı protein kaynaklarının Sibiry mersini, *Acipenser baerii* Brandt 1869, juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine etkileri. *Yunus Araştırma Bülteni*, 3: 201-207. <https://doi.org/10.17693/yunus.32866>
- Budiardi, T., Solehudin dan, M. A. & Wahjuningrum, D. (2008). Production of M-Size Neon tetra fish *Paracheirodon innesi* in recirculation system with density of 25, 50, 75 and 100 litre⁻¹. *Journal Akuakultur Indonesia*, 7(1): 19-24.
- Clothier, J. & Lythgoe, J. N. (1987). Light-induced colour changes by the iridophores of the Neon tetra, *Paracheirodon innesi*. *Journal of Cell Science*, (88): 663-668.
- Garcia-Carreno, F. L. (1996). Proteinase inhibitors. *Trends in Food Science & Technology*, 7(6): 197-204. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10023-6](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10023-6)
- Gökçek, K., Szabo, T., Alptekin, C., Kurt, R., Töre, Y. & Urbanyi, B. (2016). A preliminary study on protease activity of Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* Brandt and Ratzenburg, 1833, at early life stages. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(4): 1025-1029. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_4_29
- Gökçek, K., Szabo, T., Urbanyi, B., Erbatur, İ., Sevgili, H. & Kanyılmaz, M. (2018). Effect of different protein sources on protease activity of European catfish, *Silurus glanis* Linnaeus 1758, juvenile. *FABA 2018*. Ankara, Turkey.
- Halver, J. E. (2002). *Fish Nutrition*. Academic Press. p. 506.
- Kucharczyk, D., Targońska, K., Żarski, D., Krejszeff, S., Kupren, K., Łuczyński, M. J. & Szczerbowski, A. (2010). The reproduction of Neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936), under controlled conditions. *Polish Journal of Natural Sciences*, 25(1): 81–92. <https://doi.org/10.2478/v10020-010-0006-x>
- Kurt, R. & Gökçek, K. (2018). Farklı protein kaynaklarının Çuka Mersini, *Acipenser rathenus* Linnaeus 1758, juvenillerinde proteaz aktivitesi üzerine etkileri. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 4(1): 1-5. <https://doi.org/10.17216/limnofish.325726>
- Mayoza, L., Agus, A., Lili, W. & Rizal, A. (2018). Analytical business development on Neon tetra (*Paracheirodon innesi*) ornamental fish cultivation. *Global Scientific Journals*, 6(7): 938-945.
- Sanaye, S. V., Dhaker, H. S., Tibile, R. M. & Mhatre, V. D. (2014). Effect of green water and mixed zooplankton on growth and survival in Neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) during larval and early fry rearing. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Bioengineering and Life Sciences*, 8(2): 159-163.
- Sealey, W. M., Barrows, F. T., Casten, M. & Hardy, R.W. (2009). Dietary Protein Source and Level Affects Growth in Neon Tetras. *North American Journal of Aquaculture*, 71:320–324.

- Töre, Y., Gökçek, K., Alptekin, C., Szabo, T. & Urbanyi, B. (2014). Turna, *Esox lucius* Linneaus 1758, balığı larvalarının proteaz aktivitesi üzerine ticari yem hammaddelerinin inhibisyon etkilerinin tespiti. *Doğu Anadolu 5. Su Ürünleri Sempozyumu Bildiri Kitabı*, pp. 228-229.
- Yoshioka, S., Matsuhana, B., Tanaka, S., Inouye, Y., Oshima, N. & Kinoshita, S. (2011). Mechanism of variable structural colour in the neon tetra: quantitative evaluation of the Venetian blind model. *Journal of the Royal Society Interface*, 8(54): 56–66. <https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0253>
- Walter, H. E. (1984). *Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as sub-strates*. In: *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.J. ed.), 5: 270-277.