T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Doktora Tezi

BİTKİSEL YAĞ İÇEREN YEMLERLE BESLENEN JUVENİL ÇİPURA BALIĞININ (*Sparus aurata*) YAĞ ASİDİ METABOLİZMASININ İNCELENMESİ

Samuel OFORI-MENSAH

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat Arslan

Aralık, 2019

İSTANBUL

Bu çalışma, 30.12.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Mustafa YILDIZ(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Devrim MEMİŞ
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEİNUM
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Orhan Tufan EROLDOĞAN
Çukurova Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

Doç. Dr. Kenan ENGİN
Mersin Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 24093 ve 30604 numaraları projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu doktora tezinde, juvenil çipuranın diyetlerinde balık yağı yerine tamamen yada kısmen kullanılan kamelina tohumu ve çiya yağlarındaki yağ asidi metabolizması "Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi" kullanılarak değerlendirilmiştir. Yağ asidi metabolizmasını etkileyen enzim aktivitelerini ölçmek amacıyla balıklarda gen ekspresyonu analizleri yapılmıştır. Ayrıca araştırmada sindirim sisteminin kullanılan diyetlerden nasıl etkilendiğini anlamak için gerekli histolojik analizler yapılarak değerlendirilmiştir.

Araştırmada kullanılan diyetler İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretimi, Uygulama ve Araştırma Birimi Yem Ünitesi'nde hazırlanmıştır. Araştırmanın yemleme deneyleri Tarım Bakanlığına bağlı Antalya Beymelek'te bulunan Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretme ve Eğitim Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın yem, balık eti, balık karaciğeri ve balık dışkısındaki yağ asidi analizleri Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarlarında yapılmıştır. Araştırmamız için gerekli olan enzim aktivite ölçümleri ise İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür.

Bu doktora tezinin gerçekleştirilmesinde, çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a, ikinci tez danışman hocam Prof. Dr. Murat ARSLAN'a, yemleme deneylerinin yapılmasında tüm olanakları sağlayan Antalya Beymelek'te bulunan Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretme ve Eğitim Enstitüsü yönetici ve çalışanlarına teşekkür ederim. Tez izleme komite üyeleri Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM ve Doç. Dr. Kenan ENGİN'e tavsiye ve teşvikleri için teşekkür ederim. Araştırmamızda, gerekli olan enzim aktiviteleri ölçüm çalışmaları süresince yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Vahap ELDEM'e teşekkür ederim. Doktora eğitimimde bana doktora bursuyla destek sağlayan Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na çok teşekkür ederim.

Türkiye'de uzakta olmalarına karşın desteklerini benden esirgemeyen aileme ve eşim Mercy VEDDİ'ye ve henüz göremediğim altı aylık oğlum Nhyira OFORI-MENSAH'ya teşekkür ederim.

Aralık 2019 Samuel OFORI-MENSAH

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
TABLO LİSTESİ ..... **x**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xii**
ÖZET ..... **xiv**
SUMMARY ..... **xvii**
1. GİRİŞ **1**
1.1 AMAÇ 10
2. GENEL KISIMLAR **12**
2.1 ÇİPURANIN BİYOLOJİSİ VE YETİŞTİRİCİLİĞİ 12
2.2 LİPİTLER 15
2.2.1 Yağ Asitleri 16
2.2.1.1 Doymuş Yağ Asitleri (SFA) 16
2.2.1.2 Doymamış Yağ Asitleri 17
2.3 BALIKLARIN YAĞ ASİDİ İHTİYAÇLARI 17
2.4. BALIKLARDA YAĞ ASİDİ METABOLİZMASI 19
2.4.1. Lipit ve Yağ Asidi Sindirimi 19
2.4.2. Yağ Asidi Absorpsiyonu ve Taşınması 20
2.4.3. Yağ Asidi Sentezi 21
2.4.4. Yağ asidi katabolizması 24
2.4.5. Yağ asidi metabolizmasında rol alan genlerin ekspresyonu 26
2.4.5.1 Yağ asidi sentez (FAS) enzimi 26
2.4.5.2 Desaturazlar 27
2.4.5.3 PUFA'ların elongazları (ELOVL) 28
2.4.5.4 PUFA oksidasyonu 29
2.5 BİTKİSEL YAĞLAR 30
2.5.1 Kamelina Tohumu Yağı 32
2.5.2 Çiya Yağı 33
2.6 TÜM VÜCUT YAĞ ASİDİ DENGE METABOLİZMASI 34

3. MALZEME VE YÖNTEM 37
3.1 MALZEME 37
3.1.1 Araştırma yeri ve süresi 37
3.1.2 Deneylerde kullanılan balıklar 37
3.1.3 Deney tankları ve kullanılan su 38
3.1.4 Deneme Yemleri 39
3.2 YÖNTEM 43
3.2.1 Diyetlerin hazırlanması 43
3.2.2 Deney Koşulları 43
3.2.3 Büyüme Performansı 44
3.2.4 Örnek Toplama 45
3.2.5 Kimyasal Analizler 46
3.2.5.1. Kuru Madde 47
3.2.5.2. Ham Protein 47
3.2.5.3 Ham Yağ 48
3.2.5.4 Ham Selüloz 48
3.2.5.5 Ham Kül 49
3.2.5.6 Azotsuz Ekstrakt Maddeler 49
3.2.5.7 Toplam ve Metabolize Olabilir Enerji Değerleri 49
3.2.5.8 Yağ Asidi Analizleri için Yağların Elde Edilmesi 50
3.2.5.9 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması 50
3.2.5.10 Gaz Kromatografisinde Yağ Asitlerinin Analizi 50
3.2.5.11 Yağ Asidi Sindirilebilirliği 51
3.2.5.12 Kromoksit Analizi 52
3.2.6 Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu Hesaplamaları 52
3.2.7 Gen Ekspresyon Ölçümleri 55
3.2.7.1 Toplam RNA İzolasyonu 55
3.2.7.2. Toplam RNA'ların Kalite ve Miktar Ölçümü 56
3.2.7.3. Komplementer DNA Sentezi 58
3.2.7.4. Primer Tasarımı ve Seyreltilmesi 58
3.2.7.5. Gerçek zamanlı kantitatif PCR (RT-qPCR) Analizleri 59
3.2.8 Histolojik İnceleme 60
3.2.9 Çalışmada elde edilen verilerin istatiksel analizi 60
4. BULGULAR 61

4.1 YEMDEKİ YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU 61
4.2 BALIKLARIN BÜYÜME PERFORMANSI DEĞERLERİ 61
4.3 VÜCUT KOMPOZİSYONU 66
4.4 DENEY TANKLARINDA KULLANILAN SUYUN FİZİKO-KİMYASAL ÖZELLİKLERİ 67
4.5 BALIKLARIN TÜM VÜCUT YAĞ ASİDİ PROFİLİ 68
4.6 BALIKLARIN KARACİĞER YAĞ ASİDİ PROFİLİ 70
4.7 BALIKLARIN TÜM VÜCUDUNDAKİ YAĞ ASİDİ SİNDİRİLEBİLİRLİĞİ 72
4.8 GÖRÜNEN VE KAYBOLAN YAĞ ASİDİ MİKTARLARI 74
4.9 BALIKLARDA GÖRÜNEN YAĞ ASİTLERİNİN B-OKSİDASYON, DESATURASYON VE ELONGASYON MİKTARLARI 76
4.10 BALIKLARDA N-6 PUFA'LARIN ELONGASYON, B-OKSİDASYON, DESATURASYON VE DEPOLAMA MİKTARLARI 77
4.11 BALIKLARDA N-3 PUFA'LARIN ELONGASYON, B-OKSİDASYON, DESATURASYON VE BİRİKİM MİKTARLARI 79
4.12 GEN EKSPRESYONU 82
4.12.1 Karaciğer gen ekspresyonu 82
4.12.2 Ön bağırsak gen ekspresyonu 86
4.13 HİSTOLOJİ 90
4.13.1 Karaciğer 90
4.13.2 Bağırsak 91
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 95
KAYNAKLAR 113
ÖZGEÇMİŞ 143

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1 Dünya balıkçılık üretimi (FAO, 2018). 2

Şekil 1.2 Dünyadaki nüfus artışı (UN, 2019). 2

Şekil 1.3 Türkiye'de yıllara göre içsu ve denizlerdeki toplam akuakültür üretimi. 3

Şekil 1.4 Türkiye'deki toplam akuakültür üretimi (TÜİK, 2018). 4

Şekil 1.5 Dünya balık yemi üretiminin 2000-2017 yılları arasındaki miktarları ile 2020 ve 2025 yıllarındaki tahmini değerler (Tacon, 2019). 5

Şekil 1.6 Dünyada balık unu ve yağı üretiminin 2007-2016 yılları arasındaki miktarları (IFFO, 2017). 6

Şekil 1.7 Balık unu ve yağının 1997-2027 yılları arasındaki fiyat değişimleri 7

Şekil 2.1 Çipura balığı yetiştiren temel ülkeler (FAO Fishery Statistics, 2006)…….13

Şekil 2.2 Entansif yetiştiricilik sisteminde *Sparus aurata*'nın üretim döngüsü 14

Şekil 2.3 Trigliserit metabolizması, sindirimi ve absorpsiyonu (Smith ve ark., 1983). 21

Şekil 2.4 HUFA'ların balıklarda 18C öncüllerinden *de novo* sentezi için alternatif yollar (Li ve ark., 2010; Scholefield ve Schuller, 2014; Scholefield ve ark., 2015).....24

Şekil 3.1 Yemleme deneylerinde kullanılan balıklar……..37

Şekil 3.2 Deney tankları. 38

Şekil 3.3 Silindiro-konik tankları. 38

Şekil 3.4 Araştırmada kullanılan diyetlerden bir örnek. 39

Şekil 3.5 Deney balıklarında iç organların genel görünümü. 46

Şekil 3.6 Yakma Ünitesi 47

Şekil 3.7 Soxhelet cihazı. 48

Şekil 3. 8 Gaz kromatografisi. 51

Şekil 4.1 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın karaciğerindeki FADS2, SCD1b, FAS ve LPCAT1 gen expresyonları.……82

Şekil 4.2 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının karaciğerindeki elongazlar (ELOVL6, ELOVL5, ELOVL4 ve ELOVL1b) gen ekspresyonu. 83

Şekil 4.3 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının karaciğerindeki lipazlar (HL, CEL, LPL ve HSL) gen ekspresyonu. 84

Şekil 4.4 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının karaciğerindeki CPT1a, CPT1b, COX2, PPARα, PPARβ ve PPARγ gen expresyonları. 85

Şekil 4.5 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki FADS2, SCD1b, FAS ve LPCAT1 gen ekspresyonları. 86

Şekil 4.6 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki ELOVL6, ELOVL5, ELOVL4 ve ELOVL1b gen ekspresyonları. 87

Şekil 4.7 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki HL, CEL, LPL ve HSL gen ekspresyonları. 88

Şekil 4.8 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki CPT1a, CPT1b, COX2, PPARα, PPARβ ve PPARγ gen ekspresyonları. 89

Şekil 4.9 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın karaciğer dokusunda periferal konumlu nükleuslar (mavı ↑) ve hepatositler arasında yağ vakuolleri (siyah ↑) (H&E). 90

Şekil 4.10 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura ön bağırsağındaki enterosit hücrelerinin etrafında lipit damlacıkları (mavı ↑) ve goblet hücreleri (siyah ↑) (H&E). 92

Şekil 4.11 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura ön bağırsağındaki enterosit hücrelerinin etrafında lipit damlacıkları (mavı ↑) ve goblet hücreleri (siyah ↑) (H&E). 93

Şekil 4.12 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın son bağırsağının doku kesitlerinde lipit damlacıkları (mavı ↑) ve goblet hücreleri (siyah ↑) (H&E). 94

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1 Araştırmada kullanılan yem formülasyonu[1]. 40

Tablo 3.2 Diyetlerde kullanılan yağların yağ asidi kompozisyonu (%)[1]. 41

Tablo 3.3 Diyetlerdeki yağ asidi kompozisyonu (mg g yağ)[1]. 42

Tablo 3.4 İzolasyonu gerçekleştirilen RNA örneklerinin kalite ve miktarını gösteren NanoDrop Sonuçları. 57

Tablo 3.5 "RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit" cDNA hazırlık kimyasalları. 58

Tablo 3.6 "RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit" cDNA sentez kimyasalları. 58

Tablo 3.7 RT-qPCR reaksiyonu için belirlenen primer listesi. 59

Tablo 3.8 RT-qPCR Reaksiyonu için gerekli karışım. 60

Tablo 4.1 Balıkların bireysel canlı ağırlıkları (g)[1]. 62

Tablo 4.2 Balıkların bireysel canlı ağırlık artışları (g)[1]. 62

Tablo 4.3 Balıkların spesifik büyüme oranları[1]. 63

Tablo 4.4 Ortalama bireysel yem tüketim miktarları (g)[1]. 64

Tablo 4.5 Balıkların yemden yararlanma oranları[1]. 64

Tablo 4.6 Balıkların ortalama bireysel boyları (cm)[1]. 65

Tablo 4.7 Balıkların kondüsyon faktörleri[1]. 65

Tablo 4.8 Balıkların hepatosomatik ve viserosomatik indeks değerleri[1]. 66

Tablo 4.9 Balıkların vücut kompozisyonu ve karaciğer yağ oranları (%)[1]. 67

Tablo 4.10 Araştırmada kullanılan suyun kalite parametreleri[1]. 67

Tablo 4.11 Deney başlangıcı ve sonunda balıkların tüm vücudundaki yağ asidi profilleri (mg g yağ)[1]. 69

Tablo 4.12 Deney başlangıcı ve sonunda balıkların karaciğer yağ asidi profilleri 71

Tablo 4.13 Balıkların yağ asidi sindirilebilirliği (%)[1]. 73

Tablo 4.14 Görünen ve kaybolan yağ asidi miktarları (mg yağ asidi her balık için)[1].....75

Tablo 4.15 Balıkların görünen yağ asitlerinin β-oksidasyon, desaturasyon ve elongasyon (nmol/g/gün)[1]. 77

Tablo 4.16 Deney balıklarının tüm vücudunda diyetle alınan *n-6* serisi yağ asidi dönüşüm (elongasyon, β-oksidasyon ve desaturasyon) miktarları (nmol/g balık/gün)[1].....79

Tablo 4.17 Deney balıklarının tüm vücudunda diyetlerden alınan *n-3* serisi yağ asidi dönüşüm (elongasyon, β-oksidasyon ve desaturasyon) miktarları (nmol/g/gün)[1].....81

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler **Açıklama**

L : Balığın toplam boyu
t : Zaman (gün olarak)
W : Balığın ağırlığı
W_1 : Periyot başındaki canlı ağırlık değeri
W_2 : Periyot sonundaki canlı ağırlık değeri
W_f : Deney sonundaki bireysel canlı ağırlık
W_i : Deney başındaki bireysel canlı ağırlık

Kısaltmalar **Açıklama**

AEM : Azotsuz ekstrakt maddeler
BCAA : Bireysel canlı ağırlık artışı
CEL : Karboksil ester lipaz
COX2 : Sitokrom C oksidaz 2
CO : Çiya yağı
CSO : Kamelina tohumu yağı
CPT1a : Karnitin palmitoyltransferaz 1a
CPT1b : Karnitin palmitoyltransferaz 1b
DHA : Dokosaheksaenoik asit
ELOVL6 : Elongasyon 6
ELOVL5 : Elongasyon 5
ELOVL4 : Elongasyon 4
ELOVL1b : Elongasyon 1b
EPA : Eikosapentaenoik asit
FADS2 : Yağlı açil desaturaz 2
FAS : Yağ asidi sentez
FO : Balık yağı
KF : Kondüsyon faktörü
HL : Hepatik lipaz
HP : Ham protein
HSL : Hormona duyarlı lipaz

HSİ : Hepatosomatik indeks

HUFA : Yüksek derece çoklu doymamış yağ asitleri

HY : Ham yağ

LPCAT1 : Lizofosfatidilkolin açiltransferaz 1

LPL : Lipoprotein lipaz

MOE : Metabolize olabilir enerji

PL : Fosfolipit

PPARα : Peroksisom proliferaktoraktive edilmiş reseptörler α

PPARβ : Peroksisom proliferaktoraktive edilmiş reseptörler β

PPARγ : Peroksisom proliferaktoraktive edilmiş reseptörler γ

PUFA : Çoklu doymamış yağ asitleri

SBO : Spesifik büyüme oranı

SCD1b : Stearoyl-CoA desaturaz 1b

TAG : Triaçilgliseroller

TCAA : Toplam canlı ağırlık artışı

TYTM : Toplam yem tüketim miktarı

VSİ : Viserosomatik indeks

YYO : Yemden yararlanma oranı

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BİTKİSEL YAĞ İÇEREN YEMLERLE BESLENEN JUVENİL ÇİPURA BALIĞININ (*Sparus aurata*) YAĞ ASİDİ METABOLİZMASININ İNCELENMESİ

Samuel OFORI-MENSAH

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

II. Danışman : Prof. Dr. Murat ARSLAN

Bu araştırmada, balık yağının (FO) tamamı (kamelina tohumu yağı, CSO ve çiya yağı, CO) ve bir kısmı (%60CSO ve %60CO) yerine kullanılan farklı bitkisel yağların juvenil çipuranın (*Sparus aurata*, 61,5±4,9 g) büyüme performansına ve yağ asidi metabolizmasına olan etkileri incelenmiştir. Farklı yağ kaynakları içeren beş izo-nitrojenik (%48 ham protein) ve izo-lipidik (%18 ham lipit) yem hazırlanmış ve balıklar bu diyetlerle 90 gün süresince beslenmişlerdir. Balıklardaki yağ asidi metabolizmasını ortaya koymak amacıyla 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi' ile birlikte yağ asidi metabolizmasında görev yapan bazı temel genlerin nasıl etkilendiğini belirlemek amacıyla gen ekspresyonu analizleri yapılmıştır. Araştırmada kullanılan diyetlerin balıkların sağlık ve refahı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için sindirim sisteminin histolojik analizleri yapılmıştır.

Deney diyetleriyle beslenen balıkların büyümelerinde istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$). Benzer şekilde, balıkların kondüsyon faktörü, hepatosomatik indeks ve viserosomatik indeks değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Bununla birlikte, sadece CSO ve CO içeren diyetlerle beslenen balıkların yem tüketim miktarları ile yemden yararlanma oranları diğer deney gruplarından daha düşük bulunmuştur ($P < 0,05$). Balıkların tüm vücutlarında yapılan besin maddeleri analizlerinde önemli bir farklılık görülmemiştir ($P > 0,05$).

Deney başlangıcıyla kıyaslandığında, bitkisel yağ tabanlı diyetlerle beslenen balıkların vücutlarındaki linoleik asit (LA, 18:2n-6) düzeyi azalırken karaciğerdeki miktar artmıştır. Aynı balıkların vücut ve karaciğer linolenik asit (ALA, 18:3n-3) ve n-3/n-6 yağ asidi oranları artmıştır. Buna karşın, bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların vücut ve karaciğerindeki n-3 HUFA'lardan (çok doymamış yağ asitleri) eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, 22:6n-3) ile n-6 HUFA'lardan araşidonik asit (ARA, 20:4n-6) düzeyleri sadece balık yağı ile beslenen balıklarınkinden daha düşük bulunmuştur ($P < 0,05$).

CSO diyeti ile beslenen balıklarda β-oksidasyon en yüksek düzeyde kaydedilmiştir. Elongaz, Δ6 desaturaz ve Δ9 desaturaz aktiviteleri CO diyetiyle beslenen balıklarda en yüksek düzeyde hesaplanmıştır ($P < 0,05$). Ancak, 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi' hesaplamalarına göre Δ5 desaturaz aktivitesi belirlenemedi. CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıklarda LA'nın 18:3n-6, 20:2n-6 ve 20:3n-6 yağ asitlerine dönüşümü diğer deney gruplarından daha yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Aynı balıklarda, ALA'nın 18:4n-3, 20:3n-3 ve 20:4n-3 yağ asitlerine dönüşümü diğer deney gruplarından daha yüksek olmuştur ($P < 0,05$).

Yemleme deneylerinin tamamlanmasından sonra alınan balık örneklerindeki yağ asitlerinin sentezi, oksidasyonu, lipolizi, elongasyonu ve desaturasyonunu (Δ6 ve Δ9) belirlemek amacıyla farklı genlerde yapılan gen ekspresyonu sonucunda CSO, CO ve 60CO gruplarındaki balıklarda, yağ açil desaturaz 2 (FADS2, Δ-6 desaturaz) düzeyi diğer deney gruplarından daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). Stearoil-CoA desaturaz 1b (SCD1b, Δ-9 desaturaz) gen ekspresyonu, CSO ve CO gruplarındaki balıklarda daha yüksek düzeylerde gerçekleşmiştir ($P < 0,05$). ELOVL 6, ELOVL 5, ELOVL 4 ve ELOVL 1b'nin gen ekspresyonu, FO diyetiyle beslenen balıklarda en düşük düzeyde kaydedilmiştir. Karboksil Ester Lipaz (CEL) ekspresyonu CO ile beslenen balıklarda en yüksek düzeyde bulunmuştur. Ancak, diğer bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıklar arasında önemli bir fark kaydedilmemiştir ($P > 0,05$). Hepatik lipaz (HL) gen ekspresyonu, 60CSO diyeti ile beslenen balıklarda en yüksek düzeyde ($P <0,05$) iken, CO diyeti ile beslenen balıklarda ise lipoprotein lipaz (LPL) gen ekspresyonu en yüksek düzeyde ($P < 0,05$) kaydedilmiştir. Hormon duyarlı lipaz (HSL), karnitin palmitoiltransferaz (CPT) 1a ve sitokrom C oksidaz 2 (COX2) için yapılan gen ekspresyonu analizlerinde, CO diyeti ile beslenen balıklarda en yüksek düzey ($P < 0,05$) elde edilmiştir. CPT 1b gen ekspresyonu, CO ve 60CSO diyetleri ile beslenen balıklarda diğer gruplardaki balıklardan daha yüksek düzeyde kaydedilmiştir. Peroksizom proliferatoraktivedilen reseptörler (PPAR) için yapılan analizlerde, PPARα ekspresyon düzeyi 60CSO, CO ve 60CO diyetleri ile beslenen balıklarda diğer gruplara göre daha yüksek düzeyde kaydedilmiştir ($P < 0,05$). CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıkların PPARβ ekspresyonu diğer deney gruplarından daha yüksek düzeyde kaydedilmiştir ($P < 0,05$). PPARγ ekspresyonu ise 60CO diyeti ile beslenen balıklarda en yüksek düzeyde kaydedilmiştir ($P < 0,05$). Yağ asidi sentaz (FAS) ve lizofosfatidilkolin açiltransferaz 1 (LPCAT1) ekspresyonu, sırasıyla 60CO ve 60CSO diyetleri ile beslenen balıklarda en yüksek düzeylerde bulunmuştur ($P <0.05$).

Araştırmada elde edilen sonuçlara göre diyetlerde balık yağı yerine tamamen (CO ve CSO) yada kısmen (60CO ve 60CSO) kullanılan kamelina tohumu ve çiya yağlarının juvenil çipuranın büyüme performansını olumsuz olarak etkilenmediği görülmüştür. Bununla birlikte balık yağı içermeyen diyetlerle beslenen balıklarda yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı düşmüştür. Bu durum, balıkların FO içermeyen diyetleri de etkili bir şekilde kullandıkları sonucunu ortaya koymaktadır. CSO ve CO bazlı diyetlerle yapılan beslenme sonucunda, balıklardaki β-oksidasyon düzeyleri artmış ve sözü edilen diyet gruplarındaki β-oksidasyon için ALA tercih edilen substrat olmuştur. n-3 ve n-6 HUFA'ları düşük miktarda içeren diyetlerle (CO ve CSO bazlı diyetler) beslenen juvenil çipuradaki elongaz ve desaturaz (Δ-6 ve Δ-9)

aktiviteleri FO grubuna göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu durum, balıkların tüm vücut ve karaciğerindeki elongasyon ve desaturasyon aktiviteleri sonucunda daha çok doymamış yağ asitlerinin üretildiğini göstermiştir. Yapılan bu doktora tezi araştırması sonucunda, yağ asidi metabolizmasında görev yapan genlerin ekspresyon düzeyleri 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu' ile yapılan hesaplamalar ile elde edilen sonuçları desteklediği görülmüştür. Çok düşük düzeylerde n-3 ve n-6 HUFA içeren CO ve CSO diyetleri ile beslenen balıklarda gerçekleşen elongasyon ve desaturasyon aktiviteleri, balıkların EFA ihtiyaçlarını hafifletme yönünde bir etki gösterdiği sonucu ortaya çıkmıştır. Ancak bu durumun balıkların HUFA'lara olan ihtiyacını tamamen ortadan kaldırmak için yeterli olmadığını göstermiştir.

Aralık 2019, 144 sayfa.

Anahtar kelimeler: Beslenme, balık yağı, kamelina tohumu yağı, çiya yağı, yağ asidi metabolizması

SUMMARY

Ph.D. THESIS

INVESTIGATION OF FATTY ACID METABOLISM OF JUVENILE GILTHEAD SEA BREAM (*Sparus aurata*) FED DIETS CONTAINING VEGETABLE OIL

Samuel OFORI-MENSAH

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Aquaculture and Fish Diseases

Supervisor : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Co-Supervisor : Prof. Dr. Murat ARSLAN

This study evaluated the effects of total (camelina seed oil, CSO and chia oil, CO) or partial (60%, 60CSO and 60CO) replacement of fish oil with different vegetable oils on growth performance and fatty acid metabolism in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*, 61.5 ± 4.9 g). Five iso-nitrogenous (48% crude protein) and iso-lipidic (18% crude lipid) experimental diets were prepared with different oils and fed to juvenile gilthead sea bream for 90 days. The Whole Body Fatty Acid Balance Method was used to investigate the *in vivo* fatty acid metabolism in fish. Further, gene expression studies was carried out to determine the effects of the diets on some of the major genes involved in fatty acid metabolism in sea bream. Histological examination of digestive system was performed to assess the effects of the dietary treatments on welfare and health of gilthead sea bream.

Growth did not differ ($P > 0.05$) when juvenile gilthead sea bream were fed the experimental diets. Similarly, condition factor, hepatosomatic index and viscerosomatic index did not differ among experimental groups ($P > 0.05$). In addition, fish fed CSO and CO diets recorded lower feed intake and feed conversion ratios ($P < 0.05$). Slight variations in proximate composition of whole body of juvenile gilthead sea bream were recorded.

Feeding vegetable oil-based diets reduced body content of linoleic acid (LA, 18:2n-6) whereas this fatty acid increased in liver in comparison to the initial fish. Body and liver contents of linolenic

acid (ALA, 18:3n-3) fatty acid and n-3/n-6 ratio were increased when fish were fed CSO and CO-based diets. However, reduced ($P < 0.05$) body and liver contents of the highly unsaturated fatty acids (HUFA) eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3), docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) and arachidonic acid (ARA, 20:4n-6) were associated with feeding CSO and CO-based diets.

Fish fed CSO diets recorded the highest β-oxidation ($P < 0.05$). Elongase, Δ-6 desaturase and Δ-9 desaturase activities were highest in CO fed fish ($P < 0.05$). However, Δ-5 desaturase activity could not be determined when the whole body fatty acid balance method was applied. Bioconversion of dietary LA to 18:3n-6, 20:2n-6 and 20:3n-6 and ALA to 18:4n-3, 20:3n-3 and 20:4n-3 fatty acids was recorded in fish fed CSO and CO-based diets.

Expression of the various genes involved in fatty acid synthesis, oxidation, lipolysis, elongation and desaturation (Δ6 and Δ9) were analyzed at the end of the experimental feeding. Fish fed CSO, CO and 60CO diets recorded higher expression ($P < 0.05$) of fatty acyl desaturase 2 (FADS2, Δ-6 desaturase). For stearoyl-CoA desaturase 1b (SCD1b, Δ-9 desaturase), all fish fed CSO and CO-based diets had higher expression ($P < 0.05$). FO fed fish expressed the lowest expression of the elongases, ELOVL 6, ELOVL 5, ELOVL 4 and ELOVL 1b genes ($P < 0.05$). CO fed fish had the highest expression for carboxyl ester lipase (CEL), although it did not differ from the levels of expression observed in fish fed the other VO-based diets. Expression of hepatic lipase (HL) gene was highest ($P < 0.05$) in 60CSO fed fish whereas CO fed fish exhibited the highest ($P < 0.05$) expression in lipoprotein lipase (LPL) gene. Gene expressions for hormone sensitive lipase (HSL), carnitine palmitoyltransferases (CPT) 1a and cytochrome C oxidase 2 (COX2) were highest in CO fed fish ($P < 0.05$). Higher expression for CPT 1b gene was observed in fish fed CO and 60CSO diets. For the peroxisome proliferatoractivated receptors (PPARs), PPARα expression was comparatively higher ($P < 0.05$) in 60CSO, CO and 60CO fed fish. Fish fed CSO and CO-based diets showed higher ($P < 0.05$) levels of PPARβ expression. For PPARγ, highest level ($P < 0.05$) of expression was recorded in 60CO fed fish. Gene expression for fatty acid synthase (FAS) and lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (LPCAT1) were highest ($P < 0.05$) in fish fed 60CO and 60CSO diets, respectively.

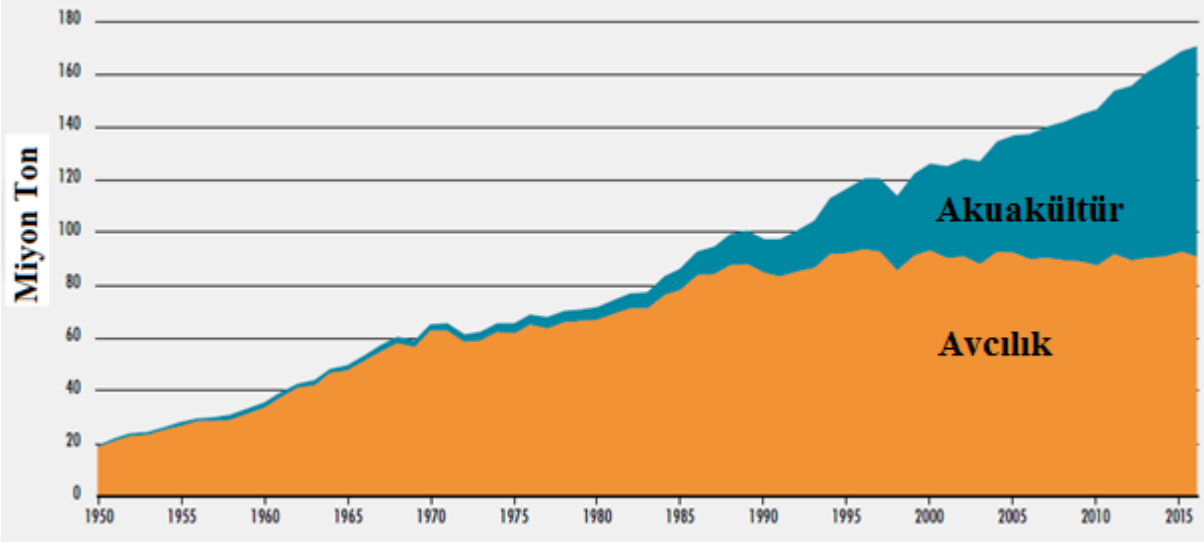
Based on our results, the total (CSO and CO) or partial (60CSO and 60CO) replacement of dietary FO with CSO or CO did not negatively affect growth in juvenile gilthead sea bream. Further, feed intake and feed conversion ratio decreased when fish were fed FO-devoid diets. This suggests that fish were able to use such diets efficiently. Feeding CSO and CO-based diets led to increased β-oxidation, with dietary ALA being the preferential substrate for β-oxidation. Feeding sea bream diets low in HUFA led to increased *in vivo* elongase and desaturase (Δ-6 and Δ-9) activities. Consequently, this resulted in the appearance of products associated with elongase and desaturase activities in whole body and liver of fish. The expression of genes involved in fatty acid metabolism was higher in fish fed CSO and CO-based diets, corroborating the results of the whole body fatty acid balance method. With limited supply in HUFA, the presence of products of elongation and desaturation of dietary ALA and LA signify attempts by the juvenile gilthead sea bream to alleviate EFA deficiencies in their diets. However, this was not enough to alleviate these deficiencies.

December 2019, 144 pages.

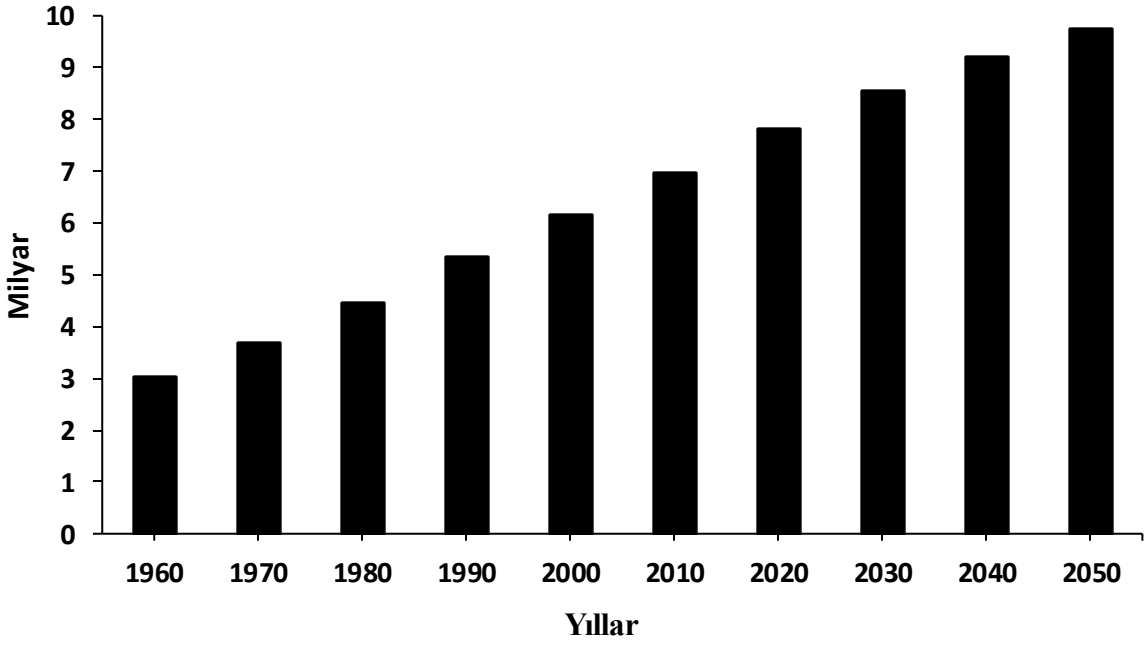
Keywords: Fish nutrition, fish oil, camelina seed oil, chia oil, fatty acid metabolism

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği, tüm dünyada son 20 yıldır içsularda ve denizlerde hızlı bir gelişme göstermiştir (FAO, 2011). Yapılan aşırı avcılık nedeniyle 1970'lerden bu yana (Pickova ve Morkore, 2007) sulardaki balık stoklarının %75'nin tüketildiği ve birçok türün biyolojik sınırlarının aşılmakta olduğu bildirilmiştir (FAO, 2009). Avcılıktaki bu eğilimin devam etmesi durumunda 2048 yılına kadar denizlerdeki bir çok balık türünün yok olacağı belirtilmiştir (Worm ve ark., 2006). İnsan nüfusun küresel olarak hızlı artış göstermesi ve kaliteli proteine olan talep balık tüketiminin artmasına neden olmaktadır. Doğal stoklardaki balık avcılığının durgunluk göstermesi (Şekil 1.1) nedeniyle akuakültüre olan talep artmaktadır. Akuakültür üretiminin yükselişi, insan nüfus artışını da geride bırakarak, günümüzde en hızlı hayvansal gıda üreten sektör olmaya devam etmektedir (FAO, 2010). Bu yükseliş son 50 yılda küresel balık üretiminde istikrarlı büyümeye önemli katkı sağlamıştır (FAO, 2014). Akuakültür üretimi 1980 ve 2012 yılları arasında yılda ortalama %8,6 oranında artmıştır. Ancak son yıllarda bu artış yıllık olarak %3,2 oranında gerçekleşmiştir. Oysa aynı zaman diliminde dünyadaki insan nüfusu artışı (Şekil 1.2) %1,6 düzeyinde gerçekleşmiştir (FAO, 2018). Su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilen üretim çoğunlukla insan tüketimine yöneliktir. 2008 yılında dünya balık üretiminin %45,7'si insanlar tarafından tüketilirken, 2012 yılında bu tüketim %48,9'luk bir orana ulaşmıştı (FAO, 2012, 2014). Akuakültür üretimi, 2014 yılında ilk kez avcılık yoluyla elde edilen üretimi geçmeye başlamış ve insan tüketimine yönelik önemli bir katkı sağlamıştır (FAO, 2016). Kişi başına düşen balık tüketim miktarının bugünkü düzeyde devam edebilmesi için akuakültür yoluyla 2030 yılına kadar 23 milyon ton daha fazla üretimin gerçekleşmesi gerekmektedir (FAO, 2012). Ancak yapılacak üretim artışı için kaliteli ve uygun maliyetli balık yemlerinin üretilmesi, çevresel ve sosyal sorumluluk uygulamalarının dikkate alınması gerekmektedir (FAO, 2012).



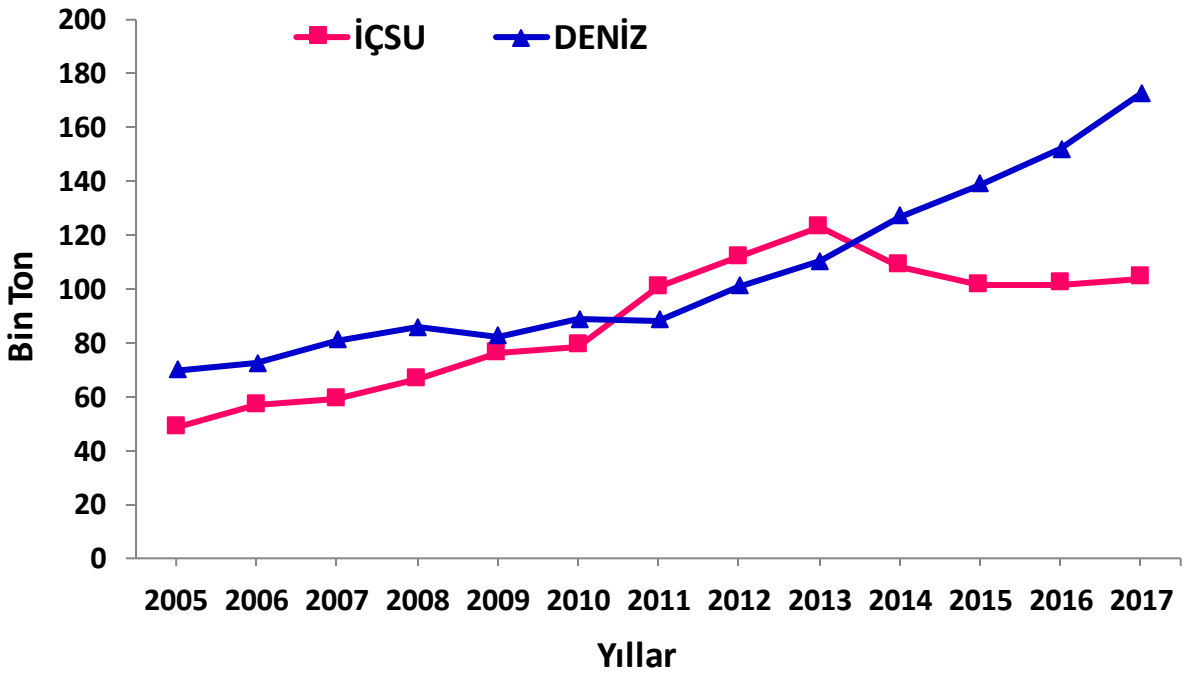
Şekil 1.1 Dünya balıkçılık üretimi (FAO, 2018).



Şekil 1.2 Dünyadaki nüfus artışı (UN, 2019).

Türkiye'de de akuakültür dünyadaki üretime benzer bir şekilde hızlı bir artış göstermiştir. Dünyadaki bilimsel gelişmelerin su ürünleri üretiminde kullanılması, ülkedeki iklim ve coğrafik özellikler, akarsu ve içsu kaynaklarının çeşitliği ve denize olan kıyısal alanların deniz akuakültürüne uygunluğu da Türkiye'deki akuakültürün artışını desteklemiştir. Türkiye'de akuakültür içsularda 1970 yılının başında gökkuşağı alabalığı (*Oncorhyncus mykiss*) üretimiyle başlamıştır (Şener ve Yıldız, 2000; Karakaş ve Türkoglu, 2005). Deniz akuakültürü ise 1980 yılının ortalarında deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) çiftliklerinin

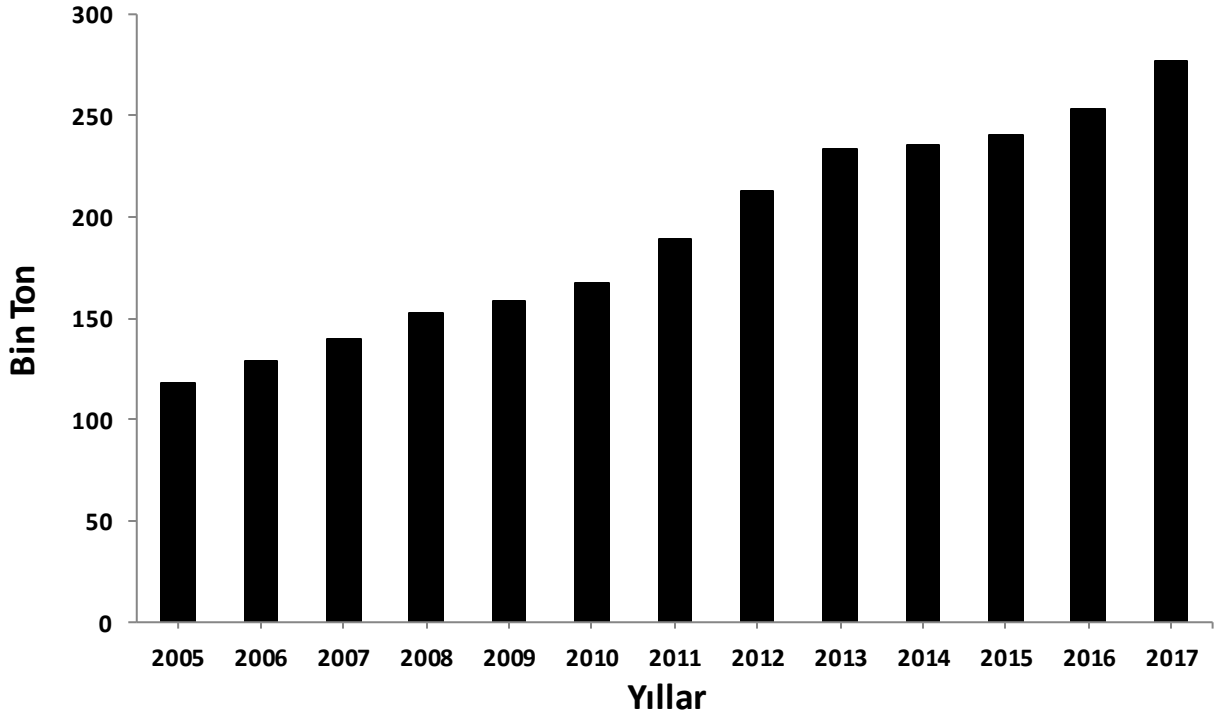
kurulmasıyla devam etmiştir (Şener ve Yıldız, 2000; Giannetto ve ark., 2014; Kayhan ve Ölmez, 2014). Akuakültürdeki bu gelişmelerle birlikte son 10 yılda üretim yıllık olarak ortalama %15 oranında artmıştır. Türkiye'deki su ürünleri üretim miktarları Şekil 1.3'te verilmiştir. Türkiye'deki toplam su ürünleri üretimi 1986 yılında 3.075 ton olarak gerçekleşmiştir. Son yıllarda üretilen deniz balıklarının büyük bir bölümü farklı ülkelere ihraç edilmektedir. 2000 yılında 14.533 ton olan deniz balıkları ihracatı 2018 yılında 177.539 tona ulaşmıştır (Şekil 1.4). Yapılan ihracatın 2000 yılındaki değeri 46,4 milyon dolar iken 2018 yılında 952 milyon dolara yükselmiştir (TÜİK, 2018). Türkiye'deki akuakültür endüstrisindeki hızlı gelişmelerin bir sonucu olarak Avrupa pazarlarında içsu balıklarından özellikle gökkuşağı alabalığı ve deniz balıklarından çipura ve levrek çokça görülmeye başlanmıştır (Şahin, 2011).



Şekil 1.3 Türkiye'de yıllara göre içsu ve denizlerdeki toplam akuakültür üretimi.

Akuakültür üretimi 2012 yılında 212.410 tona ulaşmış ve bu üretimin %98,5'ini gökkuşağı alabalığı, çipura, levrek ve ton balığı (*Thunnus thynnus*) gibi türler oluşturmuştur (TÜİK, 2012). Görüldüğü gibi Türkiye akuakültür üretimi karnivor türlerin entansif üretimine dayanmaktadır (Kayhan ve Ölmez 2014; TÜİK, 2015). Türkiye'deki deniz akuakültürü 2014 yılından itibaren içsulardaki üretimi geçmeye başlamıştır. Toplam üretim içerisinde içsulardaki akuakültürü temsil eden gökkuşağı alabalığı %46,0 ve deniz akuakültürünü temsil eden çipura %17,8 ve

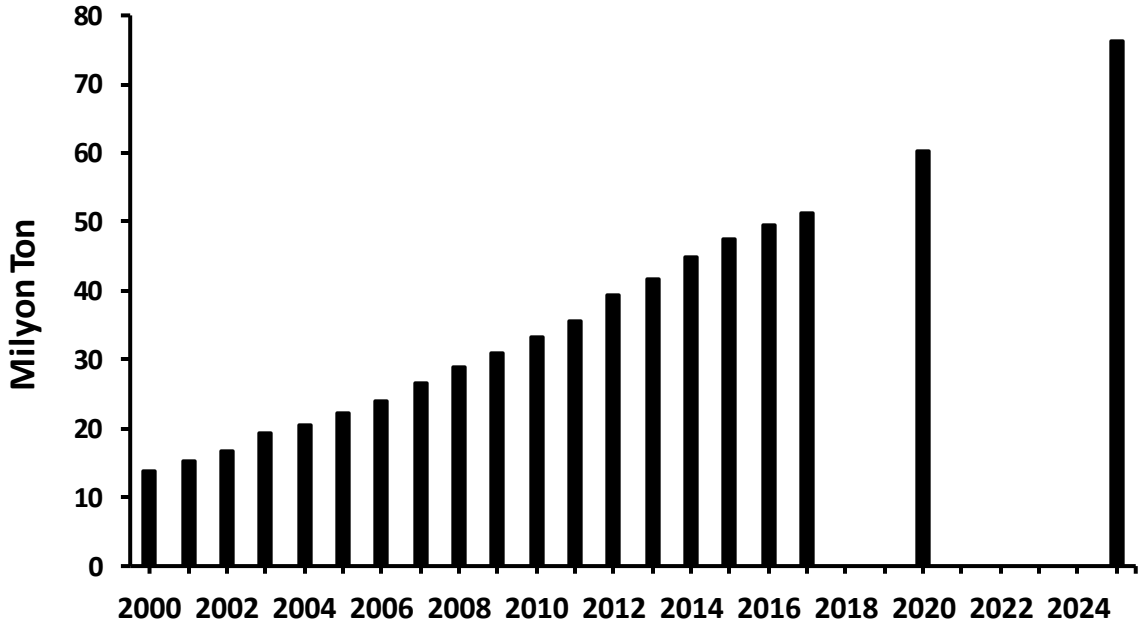
levrek %31,7 oranlarıyla yer almıştır. 2014 yılındaki toplam akuakültür üretiminin değeri yaklaşık olarak 758 milyon dolar olarak hesaplanmıştır (TÜİK, 2015). Türkiye'deki son akuakültür üretim verilerine göre (TÜİK, 2018), toplam üretim içerisinde gökkuşağı alabalığı %37,5; çipura %22,1 ve levrek %36,2 oranlarında üretildiği rapor edilmiştir. Belirtilen bu üç tür toplam akuakültür üretiminin %95,8'sini oluşturmaktadır. Türkiye'de yıllara göre akuakültürdeki üretim miktarları Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Şekil 1.4 Türkiye'deki toplam akuakültür üretimi (TÜİK, 2018).

Global akuakültürün gelişmini engelleyecek en önemli faktörlerden biri kullanılan yemlerdir (FAO, 2016). Yapılan son hesaplamalara göre akuakültür üretimindeki giderlerin %50 - %70'ini yemlerin oluşturduğu belirtilmiştir (Jamiu ve Ayinla, 2003; Rana ve ark., 2009). Dünyadaki insan nüfusunun artışıyla birlikte gıda kaynaklarının tüketimi de artmıştır. Bu nedenle balık yemlerinde kullanılan hammaddelerin temin edilmesinde süreçle birlikte problemler artmaya başlamıştır (Adebowale ve Olubamiwa, 2008). Bu durum akuakültürde kullanılan yem hammadde fiyatlarının önemli ölçüde artmasına neden olmuştur. Balık yemlerindeki bu soruna çözüm bulmak amacıyla ucuz, balıklar için besleyici özelliği olan ve kolay temin edilebilen hammaddelerle ilgili araştırmalar son yıllarda yoğun bir şekilde

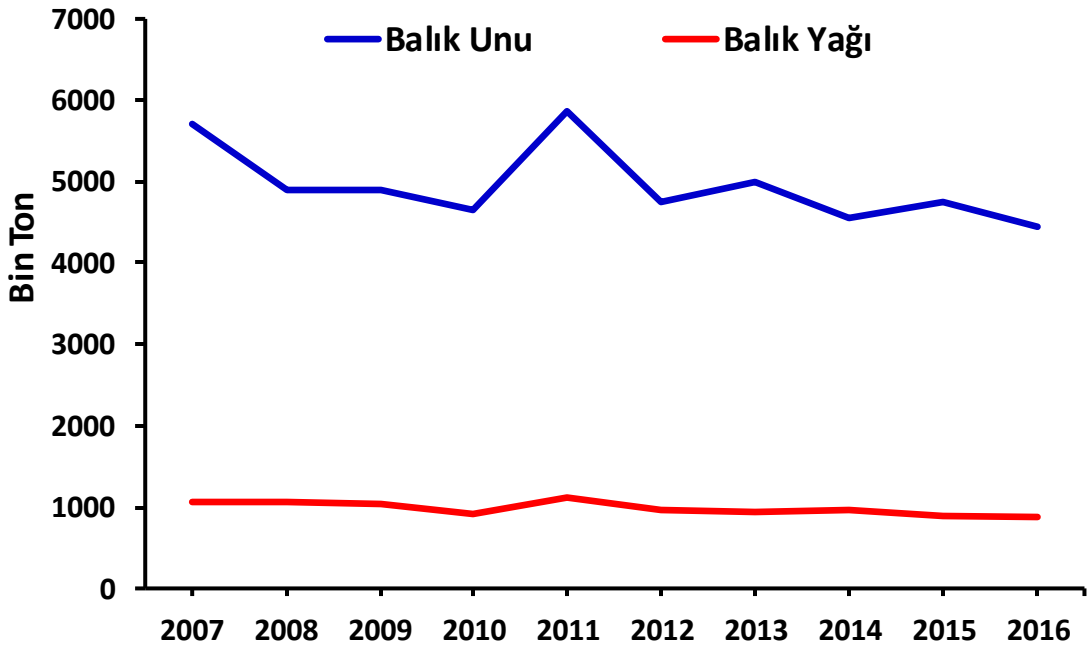
yapılmaya başlanmıştır (Tocher ve ark., 2011; Benedito-Palos ve ark., 2016; Yıldız ve ark., 2018). Dünya balık yemi üretiminin 2000-2017 yılları arasındaki üretim değerleriyle 2020 ve 2025 yıllarındaki üretim miktarlarının tahmini değerleri Şekil 1.5'te sunulmuştur. Şekil 1.5 incelendiğinde, dünya balık yemi üretiminin 2000 yılında 15 milyon tondan daha az olduğu, ancak 2000 yılından itibaren düzenli bir şekilde artış göstererek 2017 yılında 51,2 milyon tona ulaştığı görülmüştür. Bu üretiminin 2020 yılına kadar yaklaşık olarak 59 milyon tona ve 2025 yılına kadar ise 73 milyon tona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Tacon, 2019).



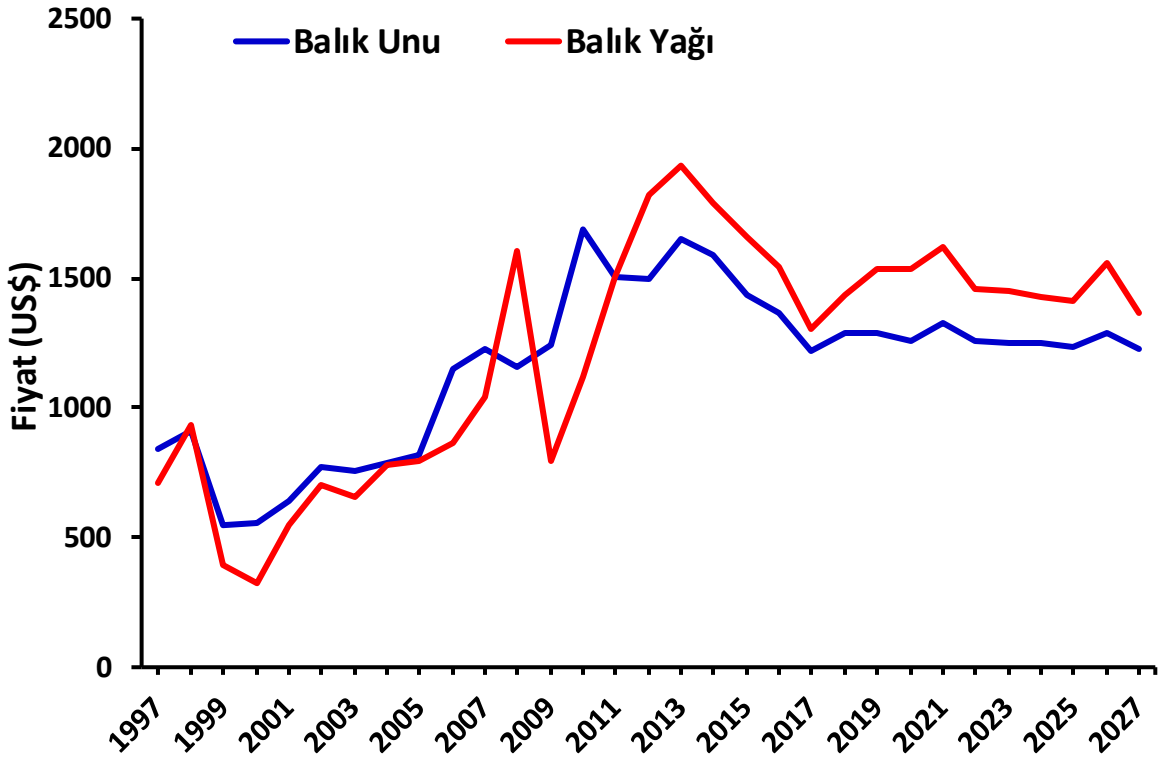
Şekil 1.5 Dünya balık yemi üretiminin 2000-2017 yılları arasındaki miktarları ile 2020 ve 2025 yıllarındaki tahmini değerler (Tacon, 2019).

Balik unu ve balik yagi karnivor balik yemlerinin temel ham maddeleridir. Balık unu temel protein kaynağı ve balık yağı ise temel enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Diğer hayvanlarda olduğu gibi balıklar da esansiyel yağ asitlerine (EFA) ihtiyaç duymaktadır. Balıklar çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) n-3 ve n-6 yüksek derecede çoklu doymamış yağ asitlerine (HUFA) yüksek oranda gereksinim duydukları rapor edilmiştir (Izquierdo, 1996; Sargent ve ark., 2002; Tocher, 2003; Glencross, 2009). n-3 HUFA'lardan özellikle eikosapentaenoik asit (EPA; 20:5n-3), dokosaheksaenoik asit (DHA; 22:6n-3) ve n-6 HUFA'lardan araşidonik asit (ARA; 20:4n-6) balıkların normal gelişmeleri ve büyümeleri için esansiyeldir (Koven ve ark., 1993; Sargent ve ark., 1997; NRC, 2011). Balık yemlerinde temel enerji kaynağı olarak balık yağının kullanıldığı bilinmektedir ve dolayısıyla 2006 yılında

dünyada üretilen balık yağının yaklaşık olarak %90'ı balık yemlerinde kullanılmıştır (Tacon ve Metian, 2008). Dünyada akuakültürün giderek artış göstermesine karşın balık unu ve balık yağı üretimi azalmaktadır. Bu nedenle balık unu ve yağının fiyatları da giderek artmaktadır. Bu temel hammaddelerin üretimindeki düşüş ve fiyatlarındaki artış akuakültürün gelecekteki büyümesini sınırlıyacak en büyük etkenlerin başında gelmektedir (Shepherd ve Jackson, 2013; Boyd, 2015). Balık unu ve yağı üretimindeki düşüşün asıl nedenleri; dünyadaki insan nüfusunun artışından dolayı avlanan balıkların büyük bir kısmının gıda olarak tüketilmesi, sanayinin gelişmesi nedeniyle oluşan çevre kirliliği ve dolayısıyla doğadaki balık stoklarının azalması gösterilebilir. Bu soruna çözüm bulmak amacıyla balık unu ve balık yağı yerine ucuz, sürekli temin edilmesi mümkün olan ve balıklar için besleyici özellikliklere sahip alternatif kaynaklarla ilgili yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Izquierdo ve ark., 2005; Turchini ve ark., 2009; Betancor ve ark., 2016; Yıldız ve ark., 2018). Dünya balık unu ve yağının 1964-2011 yılları arasındaki üretim miktarları Şekil 1.6'da ve 1983-2008 yılları arasındaki fiyat değişimleri Şekil 1.7'de gösterilmiştir.



Şekil 1.6 Dünyada balık unu ve yağı üretiminin 2007-2016 yılları arasındaki miktarları (IFFO, 2017).



Şekil 1.7 Balık unu ve yağının 1997-2027 yılları arasındaki fiyat değişimleri (OECD/FAO, 2018).

Çipura Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi Türkiye'de de yetiştiriciliği yapılan en önemli deniz balığı türlerinden biridir. Bu balığın global olarak üretimi 2001 yılında 82.512 ton iken bu üretim 2013 yılında ikiye katlanarak 173.062 tona olmuştur (FAO, 2015). Üretimdeki bu artışla birlikte çipura balığının 21. yüzyıldaki en önemli deniz kültür türü olduğu belirtilmiştir (Emre ve ark., 2013). Çipura gibi karnivor balık türlerinin yemlerinde balık unu ve yağının sürdürülebilirliği halen bir sorun olarak ortada durmaktadır (Naylor ve ark., 2000). Bu nedenle, özellikle karasal orijinli alternatif kaynakların araştırılması, hem doğadaki balık stokları üzerindeki baskıyı hafifletmek hem de yetiştiricilikte büyümeyi sağlamak için gereklidir (Pickova ve Mørkøre, 2007; Hua ve ark., 2019). Özellikle son 20 yıldan bu yana balık yemlerinde kullanılacak alternatif ve sürdürülebilir lipit kaynakları ile ilgili önemli araştırmalar yapılmaktadır. Araştırılan kaynaklar arasında çoğunlukta bitkisel yağlar, hayvansal yağlar, alternatif deniz kaynaklarına ait yağlar (krill, kopepod ve amfipod yağları) ve tek hücreli organizmalar bulunmaktadır (Miller ark., 2011; Tocher ve ark., 2011, 2019). Bu kaynaklar arasında bitkisel yağlardan özellikle yağlı tohum bitkilerinden elde edilen yağlar, fiyat istikrarı ve temin edilme konusundaki sürdürülebilirlik durumundan dolayı büyük ilgi görmüştür (Hardy

ve ark., 2001; Mourente ve Bell, 2006; Turchini ve ark., 2009). Bu konuda yapılan araştırmalar, özellikle bitkisel yağların balıkların büyüme performansı, yem kullanımı, sağlık, üreme ve fizyolojik durumları üzerindeki etkilere odaklanmıştır (Sargent ve ark., 1999; Montero ve ark., 2003; Arslan ve ark., 2008; Turchini ve ark., 2009; Nasopoulou ve Zabetakis, 2012; Arslan ve ark., 2012; Zuo ve ark, 2015; Yıldız ve ark., 2018).

Bitkisel yağlar çoğunlukta palmitik asit (PA, 16:0) gibi doymuş yağ asitlerini (SFA), oleik asit (OA, 18:1n-9) gibi tek doymamış yağ asitlerini (MUFA), linoleik asit (LA, 18:2n-6) ve α-linolenik asit (ALA, 18:3n-3) gibi PUFA'ları içermektedir. Balık diyetlerinde bitkisel yağların türü ve miktarının kullanımı, 18C'lu PUFA'ları HUFA'ya biyolojik olarak dönüştürebilme ve enerji ihtiyaçlarını karşılayabilme durumuna bağlı olarak farklılık göstermektedir. Diyette yer alan yağ asitlerinin balıklardaki biyolojik dönüşümünü etkileyen enzim aktiviteleri üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Söz konusu enzimler, metabolik faaliyetler sonucunda 18C'lu PUFA'ları n-3 ve n-6 HUFA'lara dönüştürmekten sorumludurlar (Torstensen ve Tocher, 2011; Thanuthong ve ark., 2011c). Soya fasulyesi, kolza tohumu ve keten tohumu yağı gibi bazı bitkisel yağların, tatlı su balıklarının diyetlerinde balık yağına alternatifler olduğu gösterilmiştir (Bell ve ark., 2001; Rosenlund ve ark., 2001; Caballero ve ark., 2002). Bu konudaki araştırmalar, balık yağının tamamının yerine sadece bu bitkisel yağlardan birinin yada bunların karışımlarının kullanılabileceğini göstermiştir. Ancak, deniz balıkları linoleik ve linolenik serisindeki yağ asitlerini kendileri için esansiyel olan ARA, EPA ve DHA'ya (Bell ve Koppe, 2011) sınırlı oranda dönüştürebilme yeteneğine sahiptirler (Sargent ve ark., 1995; Tocher, 2003). Tüm bitkisel yağlar, balık yağında yüksek oranda bulunan HUFA'dan yoksundur (Holub ve Holub, 2004; Turchini ve ark., 2011; Tocher ve ark., 2019). Bitkisel yağların çoğu n-6 ve n-9 yağ asitlerinden oluşur. Bitkisel yağlarla beslenen deniz balıklarının dokularında n-6 ve n-9 yağ asitleri yüksek oranda birikirken, EPA ve DHA düzeyleri ise düşmektedir (Jobling ve ark., 2008; Bell ve ark., 2010; Alhazzaa ve ark., 2011). Bu durum, söz konusu balıklarla beslenen insanların sağlık açısından elde edecekleri yararları sınırlandırmış olur.

n-3 serisindeki 18C'lu PUFA'lar bakımından zengin olan bitkisel yağlar yemlerde balık yağı yerine kullanılabilecek iyi alternatiflerdir (Tocher ve ark., 2011). Bu yağların temel alternatif kaynakları olmalarının asıl nedeni, ALA bakımından zengin olmaları ve bu yağ asitlerinin birçok balık türleri tarafından metabolik faaliyetler sonucu HUFA'lara dönüştürülebilmesidir.

Keten tohumu yağı, perilla yağı, kamelina tohumu yağı ve çiya yağı ALA içeriği bakımından zengin olan az sayıdaki önemli bitkisel yağlar arasında bulunmaktadır (Tocher ve ark., 2011). Keten tohumu yağı çoğunlukta salmon yemlerinde kullanılmıştır (Tocher ve ark., 2000; Bell ve ark., 2004; Leaver ve ark., 2008; Geurden ve ark., 2009; Turchini ve Francis, 2009; Yildiz ve ark., 2015). Ancak Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan çipura (Montero ve ark., 2003; Izquierdo ve ark., 2003, 2005; Caballero ve ark., 2004; Menoyo ve ark., 2004) ve levrek (Mourente ve Dick, 2002; Izquierdo ve ark., 2003) yemlerinde bu yağ kaynağı sınırlı ölçülerde kullanılmıştır. Ancak, balık yemlerinde kamelina tohumu yağı ve çiya yağı gibi ALA bakımından zengin olan diğer bitkisel yağ kaynaklarının kullanımı hakkındaki bilgiler yetersizdir. Bu yağların yüksek oranda ALA içermelerinden dolayı balık yemlerinin formüle edilmesinde bir potansiyele sahip oldukları düşünülmektedir. Çiya yağı ve kamelina tohumu yağı, sırasıyla *Salvia hispanica* L. ve *Camelina sativa* tohumlarından üretilmekte ve sırasıyla %68 ve %50 oranlarına kadar ALA içermektedirler (Tocher ve ark., 2011). Her iki yağ da tokoferoller, polifenoller, karotenoidler ve fosfolipit (PL)'ler gibi önemli biyoaktif bileşenlere sahip olmalarından dolayı insan sağlığı açısından da önemlidirler (Zubr, 1997; Taga ve ark., 1984; Ixtaina ve ark., 2011). Keten tohumu ve balık yağı gibi diğer n-3 PUFA kaynaklarıyla beslenen balıklarada görülen tat, sindirim ve kilo kaybı gibi problemler, çiya yağı ve kamelina tohumu yağı içeren diyetlerle ilgili yapılan sınırlı sayıdaki denemelerde yaşanmamıştır (Peiretti ve Gai, 2009; Hixson ve ark., 2014b; Betancor ve ark., 2015, 2018).

Balık yemlerinde kullanılan alternatif yağ kaynaklarındaki yağ asitlerinin balıklar tarafından nasıl sindirildiği son zamanlarda merak edilen konular arasında yer almıştır. Bu nedenle, balıklardaki yağ asidi metabolizmasının iyi bir şekilde değerlendirilmesi amacıyla farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler Δ-6-desaturaz aktivitelerini *in vitro* (laboratuvar ortamda) ve Δ6-desaturaz değerlendirmelerini *in vivo* (balıklarda) içermektedir (Brown, 2005). *In vivo* metotta, metodun gereği olarak tüm vücut (Brown, 2005) kullanılarak bütüncül bir sistem bağlamında balığın EFA'yı metabolize etme kapasitesinin bir tahminini oluşturmaktadır (Cunnane ve Anderson, 1997; Likhodii ve Cunnane, 1999; Emken, 2001). Kullanılan bu yöntemlerden biri olan tüm vücut yağ asidi denge metodu (Cunnane ve Anderson, 1997) rutin laboratuvar tekniklerini kullanmaktan daha pratik ve daha basittir (Brown, 2005; Turchini ve ark., 2006). Tüm vücut yağ asidi denge metodu, tek tek yağ asitlerinin desaturasyon, elongasyon ve oksidasyonunun değerlendirilmesine olanak tanır. Elongasyon ve desaturasyon (Δ-6 ve Δ-5

desaturazlar) aşamalarında yer alan enzimlerin aktivitelerini hesaplamayı mümkün kılar (Turchini ve ark., 2007).

1.1 AMAÇ

İnsanların yüksek kaliteli proteinlere ve faydalı n-3 serisi yağ asitlerine olan ihtiyacı artmaya devam etmekte ve geleneksel olarak avlanan balıkçılıktan elde edilen üretim ile karşılanmaktadır. Dünyada, 1980'lerin sonlarından bu yana avcılık yoluyla elde edilen balık üretimi stabil hale gelmiş ve akuakültürün gelişmesine neden olmuştur. Son yıllarda, global akuakültürün en hızlı büyüyen hayvansal gıda sektörü olduğu bilinmektedir. İlk kez 2014 yılında, yetiştiricilik yoluyla üretilen balıkların insan tüketimine yaptığı katkı avlanan balıklardan daha fazla olduğu belirtilmiştir (FAO, 2016). Bu durum kültür balıklarının gelecekte de insan tüketiminin bu yöndeki temel kaynağı olacağını göstermektedir.

Balık yağı, geleneksel olarak özellikle deniz balıklarının yemlerinde başlıca lipit kaynağı olmuştur (Sargent ve Henderson, 1995; Sargent ve ark., 1989, 1997, 1999, 2002; Turchini ve ark., 2009). Su ürünleri avcılığındaki durgunluk, temel ham maddelerin sınırlı miktarda bulunması, su ürünleri üretimindeki istikrarlı artış ve kültür balıklarının balık yağına olan aşırı bağımlılığı, bitkisel yağlar gibi alternatif kaynaklar bulmaya yönelik çalışmaların sürdürülmesini gerektirmektedir (Turchini ve ark., 2009). Bitkisel yağların balık yemlerinde balık yağı yerine kullanımıyla ilgili bilgi elde etmek için önemli araştırmalar yapılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda MUFA ve n-6 PUFA açısından zengin olan bitkisel yağlar kullanılmıştır. Bu nedenle, MUFA ve n-6 PUFA yönünden zengin olan bitkisel yağların kullanımı hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçları bitkisel yağlarla beslenen balıkların büyüme performansının etkilenmediğini, ancak balıkların etindeki lipit bileşiminde MUFA ve n-6 PUFA yağ asidi düzeylerinin arttığını göstermiştir. Bu nedenle, n-3 PUFA'ları yüksek oranda içeren bitkisel yağlar yemlerde balık yağı yerine kullanılabilecek ideal lipit kaynaklarıdır. Kamelina ve çiya yağları yüksek oranda ALA ile karakterize olmalarından dolayı balık yemlerinde kullanılma potansiyeline sahiptir.

Son zamanlarda, balık beslemeciler kamelina tohumu ve çiya yağlarının balık yemleri için sadece alternatif yağ kaynakları olduğuyla yetinmeyip aynı zamanda bu yağlardaki yağ asitlerinin balıklarda (*in vivo*) nasıl metabolize oldukları da dikkatlerini çekmeye başlamıştır (Betancor ve ark., 2016, 2018). Sonuç olarak, bazı araştırmacılar balıklarda yağ asidi

metabolizmasını değerlendirmek için bazı matematiksel modeller geliştirmişlerdir. "Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi" bu metotlardan bir tansesidir. Hemen hemen tüm organizmalara uygulanabilirliği ve rutin laboratuar prosedürleri bakımından uygunluğu nedeniyle bu yöntem tercih edilmektedir.

Bu doktora tez çalışmasının amacı, juvenil çipura diyetlerinde balık yağı yerine tamamen ya da kısmen çiya yağı ve kamelina tohumu yağı kullanılmasının balıklarda büyüme performansı, vücuttaki besin maddeleri miktarı, yağ asidi içeriği ve karaciğer ve sindirim sistemi histolojisi ile yağ asidi metabolizmasına etkisini tespit etmektir. Bu amaca uygun olarak yapılan çalışmalar aşağıda sıralanmıştır.

i) Yemleme deneyleri sırasında ve sonrasında juvenil çipura balıklarının büyüme performansı ve yaşam oranlarını hesaplamak ve tüm vücut yağ asidi kompozisyonunu analiz etmek,

ii) Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu kullanılarak deney balıklarındaki yağ asidi metabolizmasını değerlendirmek,

iii) Yağ asidi metabolizmasında desaturasyon ve elongasyondan sorumlu enzimlere ait gen ekspresyonu analizlerini yapmak ve değerlendirmek,

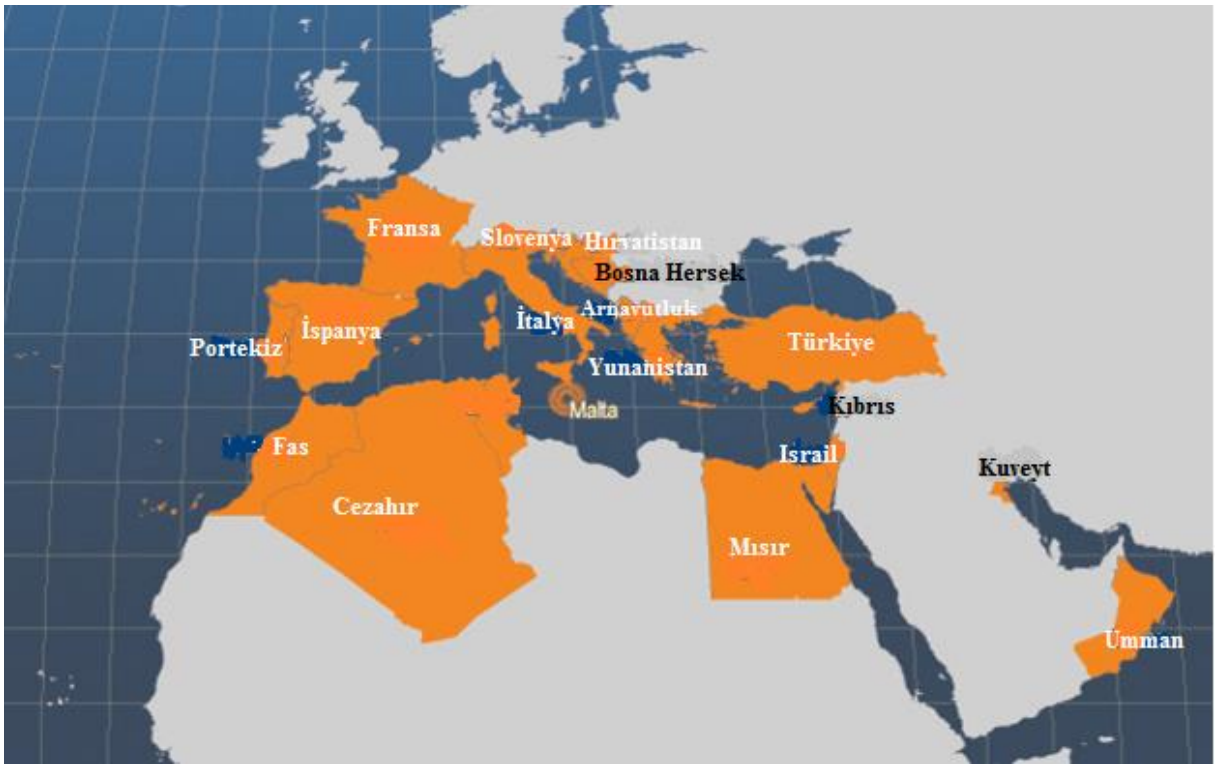
iv) Karaciğer ve sindirim sistemi histolojisini üzerine incelenmek.

2. GENEL KISIMLAR

2.1 ÇİPURANIN BİYOLOJİSİ VE YETİŞTİRİCİLİĞİ

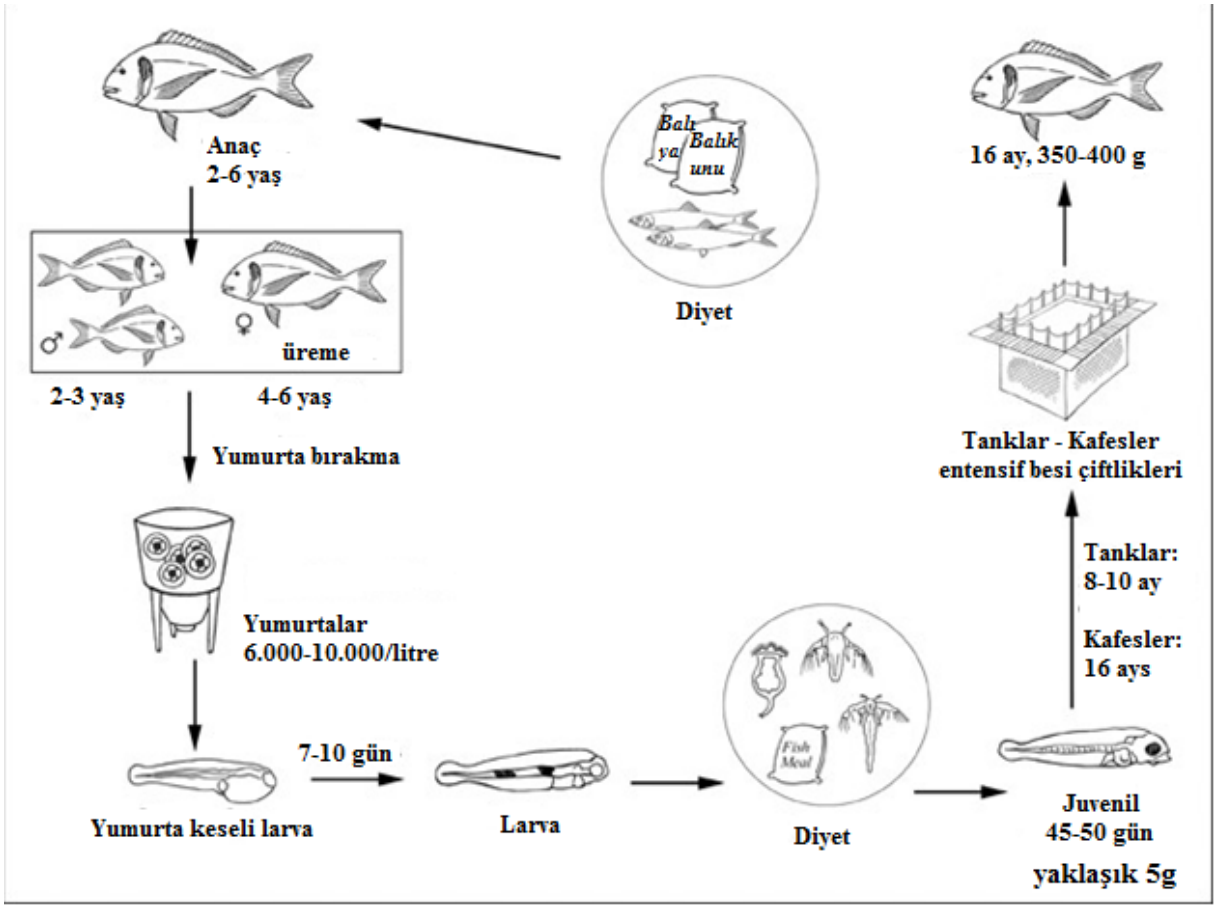
Çipura derin ve lateralden yassılaşmış oval bir gövdeye, küçük gözlere ve düzenli olarak eğimli bir kafa yapısına sahiptir (FAO 2005–2009). Hafif eğik ve kalın dudaklı ve terminal konumlu ağız yapısındadır. Ön çenelerde dört ila 6 adet keskin diş bulunur ve çenenin arka taraflarında bir molar benzeri olan ve daha sonra 2 ila 4 sıralı (2 dış sıradaki dişler daha güçlü) dizilmiş olan keskin dişler bulunur. Renk dorsalde gri-esmer, ventralde gümüşidir. Pektoral yüzgecin dorsalinde ve operkulum üzerinde kırmızı-menekşe renkli bir leke karakteristiktir. Göz çukuru önündeki mesafe, göz çapından en az iki kat daha uzun bulunmaktadır. Gözler arasında V şeklinde yıldızsı bir bant vardır. Yanal çizgi hafif eğimli olarak operkulumdan kaudal yüzgece kadar kesintisiz olarak devam eder. Yanal çizgi üzerinde 73-85 adet pul bulunur. Dorsal yüzgeç anal yüzgeçten daha uzundur. Pektoral yüzgeç anüse kadar uzanır. Kaudal yüzgeç homoserk yapıdadır. Üreme biyolojisi ile ilgili protandöz hermafrodit bir balıktır. İlk iki yılda (20–30 cm) türlerin çoğunluğu fonksiyonel erkek olup daha sonra 2-3 yılda (33-40 cm) dişilere dönüşürler (Basucro ve ark., 2011).

Balıklarda yumurtlama genel olarak Aralık ayından Nisan ayına kadar su sıcaklıkları 13-17 °C olduğunda gerçekleşir (Cataudella ve ark., 1995). Dişiler toplu halde yumurta bırakır ve bir dişi 4 ay süreyle her gün yaklaşık 20.000 ile 80.000 adet yumurta bırakabilir. Balıklar kıyı ortamlarında, deniz yataklarında, kayalık ve kumlu zeminlerde, sörf bölgesinde ve yaklaşık 30 m derinlikte bulunurlar. Ancak, yetişkinler ise 150 m derinliklerdeki bölgelerde bulunurlar. Balıklar eurohalindir ve genellikle acı sulara girerler (FAO, 1987). Karnivor beslenme (yumuşakçalar, özellikle kolayca ezebileceği midye, kabuklular ve balıklarla beslenen) şekline sahiptirler. Çipura Akdeniz genelinde yaygın olarak bulunur (Şekil 2.1); ancak Doğu ve Güney Doğu Akdeniz'de az rastlanır ve Karadeniz'de çok nadir görülür. Ayrıca Atlantik Okyanusu'nda Britanya Adaları'ndan Cape Verde'ye kadar ve İspanya'daki Kanarya Adaları'nın çevresinde de rastlanmaktadır.



Şekil 2.1 Çipura balığı yetiştiren temel ülkeler (FAO Fishery Statistics, 2006).

Çipuranın üretim döngüsü Şekil 2.2'de gösterilmiştir. Farklı yaş gruplarındaki anaçlar seçilerek üreme mevsiminin başlangıcında yumurtlama tanklarına transfer edilirler. Anaçların daha kolay yumurta bırakması için gerek duyulması halinde çevresel ve/veya hormonal olarak manipüle edilebilirler. Yeni yumurtadan çıkmış larvalar, kendilerinin yarısı kadar büyüklükte olan besin kesesine sahiptirler ve 3-6 gün süreyle buradan beslenirler. Daha sonra dışarıdan besin almaya başlayarak yumurta kesesiyle olan beslemeyi bırakırlar. Bu sürede beslenmelerini gerçekleştirmek için ağızları gelişir ve bu süreçte pigmentli gözlere sahiptir. Entansif akuakültürde, çipura larvaları önce rotiferlerle (*Brachionus plicatilis*) ve daha sonra (yumurtadan çıktıktan 10-11 gün sonra) EPA ve DHA ile zenginleştirilmiş rotifer ve *Artemia salina* nauplii karışımıyla beslenirler. Larvalar bu karışımla metamorfozu gerçekleştirene kadar (yumurtadan çıktıktan 32-35 gün sonra) beslenirler. Yaklaşık 5-10 mg ağırlığa ulaşıncaya kadar artemiya ile beslenmeye devam ederler. Sonra 18°C sıcaklıktaki ve ‰37 tuzluluktaki suyu içeren büyük üretim tanklarında kuru ve formüle edilmiş yüksek proteinli (%50-60 oranında) diyetlerle beslenmelerine devam edilir.



Şekil 2.2 Entansif yetiştiricilik sisteminde *Sparus aurata*'nın üretim döngüsü (FAO, 2005-2019).

Larva yetiştiriciliğinden sonra balıklar, büyüklüklerine göre ve üretim taleplerine bağlı olarak, çeşitli boyutlardaki tanklara veya kafeslere aktarılır. Burada, yemleme genellikle otomatik sistemlerle veya elle yapılır. Genellikle küçük balıklar (1-3 g) 08:00 – 20:00 saatleri arasında 2 saatlik aralıklarla 150-300 µm boyutlarındaki mikropartikül yemler kullanılarak elle beslenirler. Verilen yemler balıkların büyüklüklerine ve kullanılan suyun sıcaklığına bağlı olarak ayarlanır. Yetiştirilen balıklar arasındaki büyüme farklılıklarını önlemek amacıyla kültür sezonu süresince en az iki veya üç kez boylama yapmak önemlidir. Çipura balıkları ortalama olarak bir buçuk yıllık bir sürenin sonunda ticari boyuta (350-400 g) ulaşır.

2.2 LİPİTLER

Lipitler, genellikle gliseritler durumundaki alkol gruplarına ve sfingolipit durumundaki amino gruplarına esterlenmiş yağ asitlerini içeren ve organik çözücülerle çözünen bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Tocher, 2003). Lipitleri oluşturan yağ asitleri, balıkların optimum ve sağlıklı büyümesi, üremesi ve et kalitesi üzerinde aktif rol oynamaktadır (Higgs ve Dong, 2000). Balık yağlarını da içeren hayvansal yağlar iki ana gruba ayrılır. Bunlar çoğunlukta trigliseritleri kapsayan nötral lipitler ve çoğunlukta PL'leri kapsayan polar lipitlerdir (Tocher, 2003). Nötral lipitler, kloroform ve hekzan gibi polar olmayan çözücülerde tamamen çözünebilen lipitlerdir. Polar lipitler ise lipit formunda olmayan ve geniş bir çözücü grubunda çözünebilen lipitlerdir.

Temel nötral lipit sınıfları, triaçilgliserol (TAG)'ler, mum esterleri, steroller, steril esterler ve serbest yağ asitleridir (Bell ve Koppe, 2011). Nötral lipitler, balık yumurtasında bulunan yağ damlacıklarındaki temel lipit bileşenleridir. Bunlar gerek yumurta içinde larva gelişimi gerekse besin kesesine sahip olan larvaların gelişimi süreçlerinde temel enerji kaynağı olarak görev yaparlar (Mourente ve ark., 1999). TAG, gliserolun üç hidroksil grubundaki sn-1, sn-2 ve sn-3 pozisyonlarına esterlenmiş üç yağ asidi moleküllerinden oluşmaktadır. TAG balıklarda en çok bulunan temel lipit sınıfıdır (Sargent vd., 2002). Genellikle, SFA ve MUFA, sn-1 ve sn-3 pozisyonlarında bulunma eğilimindeyken, PUFA ve HUFA ise balık yağlarında sn-2 pozisyonundadır (Tocher, 2003; Bell ve Koppe, 2011). Mum esterleri, tek bir yağ alkolunun molekülüne esterlenmiş olan tek bir yağ asidinin molekülü formundadır. Bunlar, kalanoid kopepodlar gibi denizel zooplanktonda ve euphausidlerde çok bol miktarda bulunurlar. Çoğunlukta zooplanktonla beslenen balıklar ve kuzey yarımkürede bulunan balıklar 20:1n-9 ve 22:1n-11 MUFA'lar bakımından zengindir (Sargent ve Henderson, 1995). Mum esterleri, bazı balık türlerinin vücut dokularında ve yumurtalarında da önemli düzeylerde bulunabilir. Nötral lipitlerin diğer sınıfını temsil eden steroller balık dokularında en çok bulunan kolestrol ile birlikte tetrasiklik hidrokarbon bileşikleridir. Kolesterol, hücre membranlarında ve PL'lerle birlikte plazma lipoproteinlerinde bulunur ve sıvıların membranlardan geçişi ile birlikte hücre zarının düzenli çalışmasına yardımcı olur (Sargent ve ark., 2002). Ayrıca kolestrol kan hücreleri ve plazmada olduğu gibi karaciğer ve adrenal bezlerinde de bulunur (Gurr ve Harwood, 1991). Fitosteroller, kolestrolün bitkilerde bulunan formdur ve serbest steroller veya steril esterler olarak oluşabilirler (Bell ve Koppe, 2011). Farklı bitkisel yağlardaki sterol miktarı, serbest ve esterleşmiş steroller arasındaki dağılımları büyük farklılıklar gösterir (Verleyen ve ark., 2002).

Polar lipitler çoğunlukta PL'leri temsil etmektedirler. Ancak sfingolipitler, glikolipitler ve sülfatitler de bu gruba dahildirler (Bell ve Koppe, 2011). PL ve sfingolipitler omurgalı hücre zarlarında zara bağlı reseptörler ve enzimler için optimize edilmiş ortamı sağladığı gibi iyon taşınmasında, endo ve ekzositozda çok önemli rol oynarlar (Bell ve Koppe, 2011). PL'lerin en yaygın olanları fosfor içeren fosfogliseritlerdir (Sargent ve ark., 2002; Tocher, 2003). SFA ve MUFA'lar tercihen sn-1 konumunda esterlenirken, PUFA'lar sn-2 konumunda esterlenirler. Fosfatidik asit, balık dokularının ana fosfogliseritlerini oluşturmak üzere kolin, etanolamin, serin ve inositol ile esterleşirler (Sargent ve ark., 2002).

2.2.1 Yağ Asitleri

Kolesterol dışındaki tüm lipitlerin yapısını gliseritlerdeki alkol gruplarına veya sfingolipitlerdeki amino gruplarına esterlenmiş yağ asitleri oluşturur (Christie, 2003). Bu yağ asitleri diğer moleküllere bağlı olmadıkları zaman serbest yağ asitleri olarak bilinirler. Uzun bir alifatik zincire sahip olan yağ asitleri doymuş ya da doymamış bir karboksilik asit formunda bulunabilirler. Doğada bitki ve hayvanlarda bulunan 40'tan fazla farklı yağ asitlerinin olduğu bilinmektedir (Bell ve Koppe, 2011). Çoğunlukta yağ asitleri 12 ile 28 karbon atomuna sahiptirler. Genellikle bu karbon atomları çift sayıdadır. Balıklarda ise yağ asitleri 24'e kadar karbon atomuna sahiptirler (Bell ve Koppe, 2011). Yağ asitleri, hidrokarbon zincirlerinin uzunluğuna, doymamışlık derecelerine (etilenik veya "çift" bağların sayısı) ve çift bağlarının pozisyonu temelinde tanımlanırlar (Sargent ve ark., 2002; Tocher, 2003; Bell ve Koppe, 2011). Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri genellikle karbon zincirlerinin türevlerine sahiptir, doymuş ve doymamış yağ asitleri şeklinde iki gruba ayrılırlar.

2.2.1.1 Doymuş Yağ Asitleri (SFA)

Doymuş yağ asitleri, hidrokarbon zincirinde çift bağları olmayan ve en basit yağ asitleridir. Bu yağ asitleri 14:0, 16:0 şeklinde gösterilirler ve sırasıyla 14 ve 16 karbon atomuna sahip yağ asitleridir ve çift bağları yoktur. SFA, balıklar dahil olmak üzere hayvanlarda doğal olarak bulunur ve 14 ile 24 arasında değişen sayıda karbon içeren hidrokarbon zincirlerine sahiptirler. Ancak 6 ile 12 karbon atomu taşıyan orta uzunluktaki hidrokarbon zincirlerine sahip yağ asitleri çoğunlukta bitkisel yağlarda bulunur ve genellikle enerji üretimi için doğrudan kullanılırlar (Bell ve Koppe, 2011). PL'ler 16:0, 18:0 ve düşük düzeyde 20:0 yağ asitleri dışında genellikle

az miktarlarda SFA içerir. Bu durum hayvan hücre zarlarını oluşturan PL bakımından zengin çift katmanların genişliğindeki sınırlamalardan kaynaklanmaktadır (Sargent ve ark., 2002).

2.2.1.2 Doymamış Yağ Asitleri

Genel olarak doymamış yağ asitleri iki grup altında değerlendirilir. Bunlar tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) ve çoklu doymamış yağ asitleridirler (PUFA). Tekli doymamış yağ asitleri hidrokarbon zincirindeki karbon atomları arasında bir tane, çoklu doymamış yağ asitleri ise iki veya daha fazla çift bağa sahiptirler. Çift bağın iki tarafına da bağlı olan karbon zincirindeki iki karbon atomunun biri cis yada trans konfigürasyonunda ortaya çıkabilir.

Birçok balıktaki TAG'lar, zooplanktondaki mum esterlerinden gelen 20:1n-9 ve 22:1n-11 gibi MUFA'lar bol miktarda bulunur (Akman, 1989; Bogevik ve ark., 2009). Bunlar, hayvan hücre zarlarını oluşturan membran çift katmanlarındaki geometrik kısıtlamalar nedeniyle PL'lerde nadiren iz düzeylerin üzerinde bulunur (Bell ve Koppe, 2011). Oleik asit (OA, 18:1n-9) bitkisel yağlarda bulunan başlıca MUFA'dır. Kamelina tohumu yağı da 20:1n-9 yağ asidini önemli miktarda içerir (Marquard ve Kuhlmann, 1986).

Deniz organizmaları genellikle çeşitli uzunluktaki hidrokarbon zincirine sahip olan (16'dan 22 karbona kadar) ve ikiden altıya kadar çift bağı olan yağ asitlerini içerir. Bunlar n-3 serisindeki en önemli yağ asitleridir (Sargent ve ark., 1995b). Coğrafi konuma ve türlere bağlı olarak n-3 ve n-6 serisindeki yağ asitlerinin bir kombinasyonu tatlı su balıkları için yeterli olduğu belirtilmektedir (Lim, 2004; Karapanagiotidis ve ark., 2006, 2007). ALA ve LA, n-3 ve n-6 PUFA'ların temel yağ asitleridir. HUFA'lar, 20 yada daha büyük ($\geq$ C20) karbon atomuna sahip PUFA'ların temsilcileridir ve hidrokarbon zincirinde üç veya daha fazla çift bağ taşılar. EPA ve DHA n-3 serisindeki ve araşidonik asit (ARA) ise n-6 serisindeki HUFA'ların en önemli yağ asitlerini oluştururlar. Deniz balıkları için PUFA'ların ana kaynağı EPA ve DHA iken tatlı su balıkları için LA ve ALA'dır.

2.3 BALIKLARIN YAĞ ASİDİ İHTİYAÇLARI

Lipitler ve yağ asitleri, balıklarda sağlıklı üreme ve büyüme için ihtiyaç duyulan metabolik enerjinin temel kaynağıdırlar (Tocher, 2003). Balıkların gereksinim duyduğu kesin lipit düzeyi, yemlerde yer alan protein, lipit ve karbonhidrat arasındaki metabolik etkileşimlerden dolayı

sabit bir orana sahip değildir (Sargent ve ark., 2002). Genel olarak, %10-20 (diyetin kuru ağırlığına göre) oranları arasındaki diyet lipit içeriği, balık dokularında aşırı yağ birikimi yapmadan ve proteinin balık büyümesinde etkili bir şekilde kullanılmasını sağlamak için yeterlidir (Cowey ve Sargent, 1979; Watanabe, 1982; Sargent ve ark., 1989). Çipura karnivor beslenme özelliğine sahiptirler ve yemlerinde %15-22 oranlarında lipite gereksinim duyar (Vergara ve Jauncey, 1993; Vergara ve ark., 1996, 1999; Santinha ve ark., 1999). Balıklar doğal olarak vücut dokularında yüksek oranda HUFA içerir ve dolayısıyla bu yağ asitlerine de yüksek oranda gereksinim duyarlar (Sargent ve ark., 1997). n-3 HUFA'lardan EPA ve DHA ve n-6 HUFA'lardan ARA düşük su sıcaklıklarında balıkların normal hücre fonksiyonlarını sürdürmesiyle birlikte farklı pozitif etkilere sahiptir (Sargent ve ark., 1997, 1999). Balıklar da dahil olmak üzere tüm hayvanlar yemlerinde esansiyel yağ asitlerine (EFA) gereksinim duyarlar. Balık türlerinin farklı fizyoloji ve metabolizmaya sahip olmalarından dolayı EFA ihtiyaçları da farklıdır.

Genellikle deniz balıklarının kısa zincirli PUFA'ları HUFA'lara dönüştürme kabiliyetinin çok sınırlı olduğu belirtilmektedir (Tocher ve ark., 1989; Tocher ve Sargent, 1990). Deniz balıkları vücutlarında n-3 HUFA'ları yüksek oranda depolarlar. Bu durum deniz balıklarının EFA ihtiyaçları hakkında önemli bir bilgi ortaya koymaktadır (Sargent ve ark., 1995a). Deniz balıkları kuru diyetin %0,4–3,7 (Bell ve Koppe, 2011) oranları arasında HUFA'ya gereksinim duyar ve özellikle diyetin %1-2 oranları arasında EPA ve DHA'ya ihtiyaçları vardır (NRC, 2011). Deniz balığı larvaları DHA/EPA ≈ 2 oranına ihtiyaç duyarlar (Sargent ve ark., 1999). Çipura larva ve erken juvenillerinin yemlerinde diyetin %1,5-5,5 oranlarında (DHA/EPA'nın %0,3-2 oranları) HUFA'ya ihtiyaç duyarlar (Takeuchi ve Watanabe, 1977; Yang ve ark., 1994). Büyümüş juvenil çipura balıkları diyetlerinin %0,9-1,9 oranları arasında n-3 HUFA'ya ihtiyaç duyarlar. Ancak bu durumda n-3 HUFA özellikle DHA/EPA oranının 0,5-1 değerleri arasında olması gerektiği belirtilmiştir (Kalegeropulos ve ark., 1992; Ibeas ve ark., 1994, 1997). Deniz balıklarının 18C'lu n-3 ve n-6 yağ asitlerini 20 ve 24C'lu HUFA'lara dönüştürebilme yeteneklerinin sınırlı olduğu belirtilmekle birlikte bazı araştırmacılar (Hixson, 2014; Castro ve ark., 2016; Betancor ve ark., 2016, 2018) çipura ve levrek gibi deniz balıklarının belli bir oranda ALA ve LA'yı HUFA'lara dönüştürebildikleri konusunda bazı tezler ileri sürmüşlerdir.

2.4. BALIKLARDA YAĞ ASİDİ METABOLİZMASI

2.4.1. Lipit ve Yağ Asidi Sindirimi

Genel olarak sindirim, hayvanlardaki lipit ve yağ asitleri metabolizmasının ilk basamağıdır. TAG ve PL'ler balıklar için diyet lipitlerinin büyük bileşenlerini oluştururken; steroller, serbest yağ asitleri, pigmentler ve mumlar küçük lipit bileşenlerini oluştururlar (Glencross, 2009). Lipitlerin hidrofobik yapısı sindirilmelerini zorlaştırır ve genellikle diğer lipitler veya safra tuzları ile emülsifiye edilerek bu sorun önemli ölçüde ortadan kaldırılır. Ayrıca lipaz ve enteraz enzimleri etkisiyle yağ asitlerinin sindirimi gerçekleşmektedir (Smith ve ark., 1983).

Kolat ve taurokolat (genellikle 85:15 oranında) karaciğer tarafından üretilen ve yağ asitlerinin sindirilmesini kolaylaştıran safra kesesinde depolanan safra tuzlarını oluşturur (Denton ve ark., 1974; Kellogg, 1975). Balıklarda yağ asidi sindirimi, mide, pilorik kese ve çoğu balığın ön ve son bağırsakları dahil, enteraz ve safra tuzuna bağlı lipazlar dahil olmak üzere tüm sindirim sistemi boyunca meydana gelir (Hepher, 1988). Ancak lipolitik aktivite, genellikle bağırsakların ön kısmında ve eğer varsa pilorik kesede en yüksek oranda gerçekleşir. Bununla birlikte ilerleyen aşamada aktivite yavaşlar ve bağırsak son kısımlarına kadar uzanabilir (Tocher, 2003). Genellikle pankreas veya hepatopankreas balıklarda yağların sindiriminde rol alan lipaz enzimlerinin temel kaynağı oldukları varsayılmaktadır (Kapoor ve ark., 1975; Fange ve Grove, 1979).

TAG hidrolizi pankreatik lipaz-kolipaz sistemi ve daha az spesifik safra tuzu ile aktive olan lipaz tarafından gerçekleştirilirken, PL'ler pankreas veya bağırsak fosfolipazları tarafından sindirilmektedir. Sonra bağırsak mukozal hücreleri tarafından emilen 1-açil lizogliserofosfolipitlerin ve serbest yağ asitlerinin oluşması ile sonuçlanır (Henderson ve Tocher, 1987; Sargent ve ark., 1989; Tocher, 2003). Böylece, lipit sindiriminin ana ürünlerini serbest yağ asitleri ve monoaçilgliserol oluşturur. Balıklardaki lipaz aktivitesi memelilerden önemli ölçüde daha yüksektir, lipazların substrat afinitesi ise memelilere kıyasla 40 kat daha fazladır (Glencross, 2009). Ancak lipazların aktivitesi, safra tuzunun varlığına büyük ölçüde bağlıdır (Ananichev, 1959).

Farklı türlerdeki ve aynı türün farklı yaşlarındaki balıklarda diyet yağlarını sindirme kapasitesi önemli değişkenlik gösterir (Cowey ve Sargent, 1972; Morais ve ark., 2005a,b; Bogevik ve ark., 2008). Genel olarak, larvaların diyetsel yağları kullanma kapasiteleri daha düşüktür

(Morais ve ark., 2005a,b). Lipit sindirimi, su sıcaklığından önemli ölçüde etkilenir. Bu nedenle, balıklarda lipit sindiriminin sıcak sularda daha yüksek olduğu görülmüştür (Cho ve Slinger, 1979; Hepher, 1988).

Karnivor balıkların diyet lipitlerini sindirme yeteneğinin omnivor ve herbivor balıklardan daha yüksek olduğu bilinmektedir (Chou ve Shiau, 1996; Peres ve Oliva-Teles, 1999; Williams ve ark., 2003; Denstadli ve ark., 2004). Karnivor balıkların yüksek lipit sindirimi kapasitesinin özellikle spesifik lipaz aktivitesi olmak üzere sindirimde etkili olan diğer birçok faktöre de bağlı olduğu düşünülmektedir (Patankar, 1973).

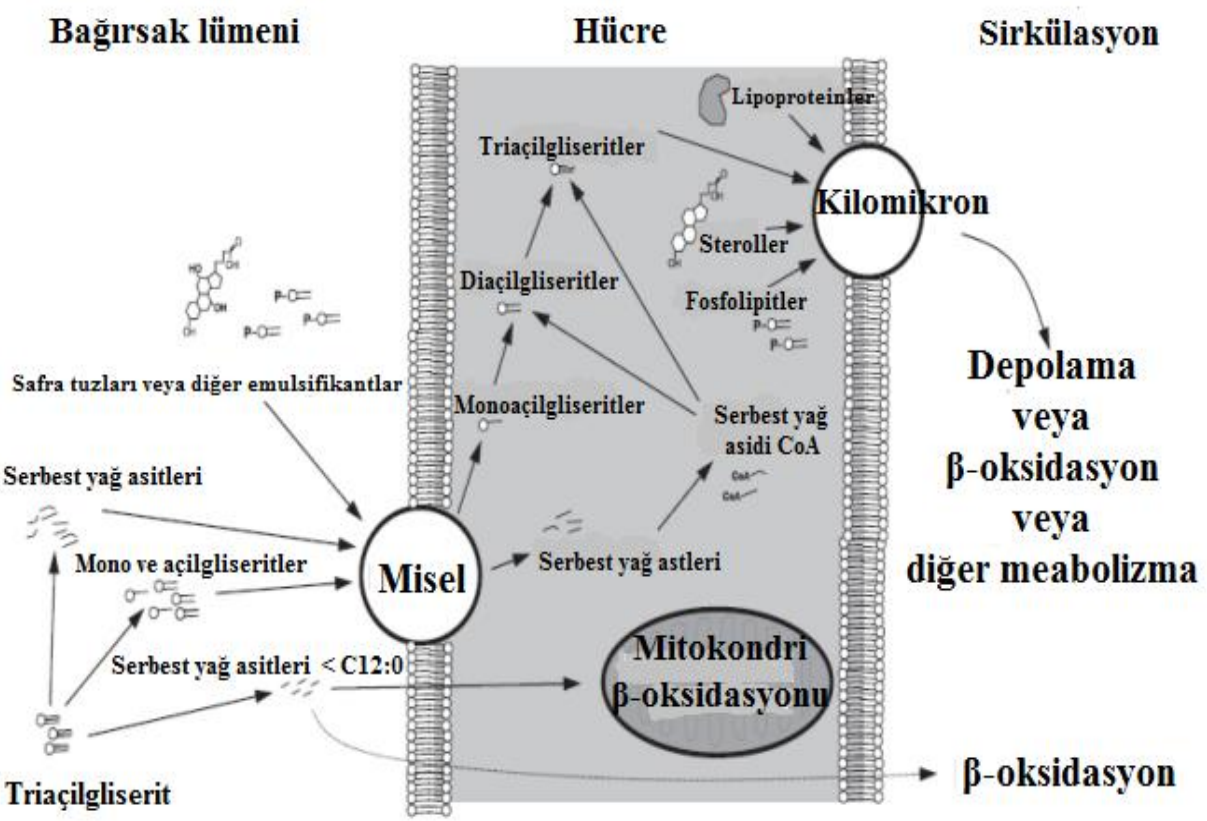
2.4.2. Yağ Asidi Absorpsiyonu ve Taşınması

Balıklardaki lipit sindiriminin başlıca ürünleri serbest yağ asitleri ve monoaçilgliserollerdir. Kısmen açil gliseroller (ağırlıklı olarak 2-monoaçilgliseroller), diaçilgliseroller ve gliserol, PL'lerin sindirilmesinden ve sırasıyla kolesterol, uzun zincirli alkoller kolesteril ile mum esterlerinin hidrolizinden üretildiği belirtilmektedir (Tocher, 2003).

Yağ asitleri (10 karbondan daha kısa zincirli olanlar) doğrudan enterositlerden emilir. Oysa uzun zincirli olanlar (12 karbondan daha uzun zincirli olanlar) lipaz yardımıyla bağlanır ve miseller oluşturmak için safra tuzları ile emülsifiye edilir (Rust, 2002). Miseller, bağırsak lümeninden fırça kenarlıya taşınırlar ve sonra ayrılarak serbest yağ asitleri şeklinde epitelyal membran boyunca yayılırlar (Şekil 2.3). Genel olarak, balıklarda sindirim ürünlerinin emilimi, memelilerdekine benzerdir. Ancak, balıklarda düşük vücut sıcaklığına bağlı olarak besinlerin sindirilebilirlik oranı da önemli düzeyde yavaş bir şekilde gerçekleşmektedir (Kapoor ve ark., 1975). Enterositlerde, serbest yağ asitleri yeniden esterlenir ve kilomikronları oluşturmak için proteinlerle birleşir ve sonra hepatik portal ven üzerinden karaciğere taşınır (Rust, 2002). Bağırsak mukozal hücrelerinde, serbest yağ asitleri ağırlıklı olarak TAG'leri ve PL'leri yeniden oluşturmak için gliserol, kısmen açil gliseroller ve lisofosfolipitler ile tekrar esterleştirilir (Sargent ve ark., 1989).

Yağ asitlerinin balıklar tarafından emilimini, sahip oldukları zincir uzunluğu, doymamışlık derecesi ve erime noktası gibi özellikleri önemli ölçüde etkiler (Turchini ve ark., 2009). Yağ asidi absorpsiyonu karbon zincirinin uzunluğu ile azalırken doymamışlık derecesine bağlı olarak da artmaktadır (Austreng ve ark., 1980; Olsen ve ark., 1998; Røsjø ve ark., 2000; Morais

ve ark., 2005; Francis ve ark., 2007b). Bu nedenle, görünür yağ asidi sindirilebilirliği şu sırayı takip etmektedir: HUFA > C18 PUFA > MUFA > SFA (Turchini ve ark., 2009). Ayrıca, n-3 serisindeki yağ asitleri, n-6 ve n-9 serilerindeki yağ asitlerinden daha yüksek bir oranda emilmektedir (Agaba ve ark., 2005; Francis ve ark., 2007b).



Şekil 2.3 Trigliserit metabolizması, sindirimi ve absorpsiyonu (Smith ve ark., 1983).

2.4.3. Yağ Asidi Sentezi

Yağ asitleri, sindirim sistemi hücreleri tarafından asimile edildikten sonra balıkların türlerine göre yeniden sentezlenir (Glencross, 2009). Bu aşama, yağ asitlerinin balıklar tarafından sentezlenmesinin birinci basamağa olarak kabul edilir (Smith ve ark., 1983). Genellikle, balık bağırsaklarında TAG ve fosfotidilkolin sentezi için tercihli olarak substrat sn-2-monoaçilgliseroller kullanılır (Oxley ve ark., 2007). Yağ asidi biyosentezi, asimile edilmiş serbest yağ asitlerinin bir CoA molekülü ile yoğunlaştırılarak aktivasyonunu gerektirir ve yağlı açil CoA üretimine yol açar. Bu yağlı açil CoA daha sonra asimile edilmiş monoaçilgliserollerin gliserit yapısının serbest pozisyonları üzerinde yeniden esterlenir (Glencross, 2009). Bu işlem,

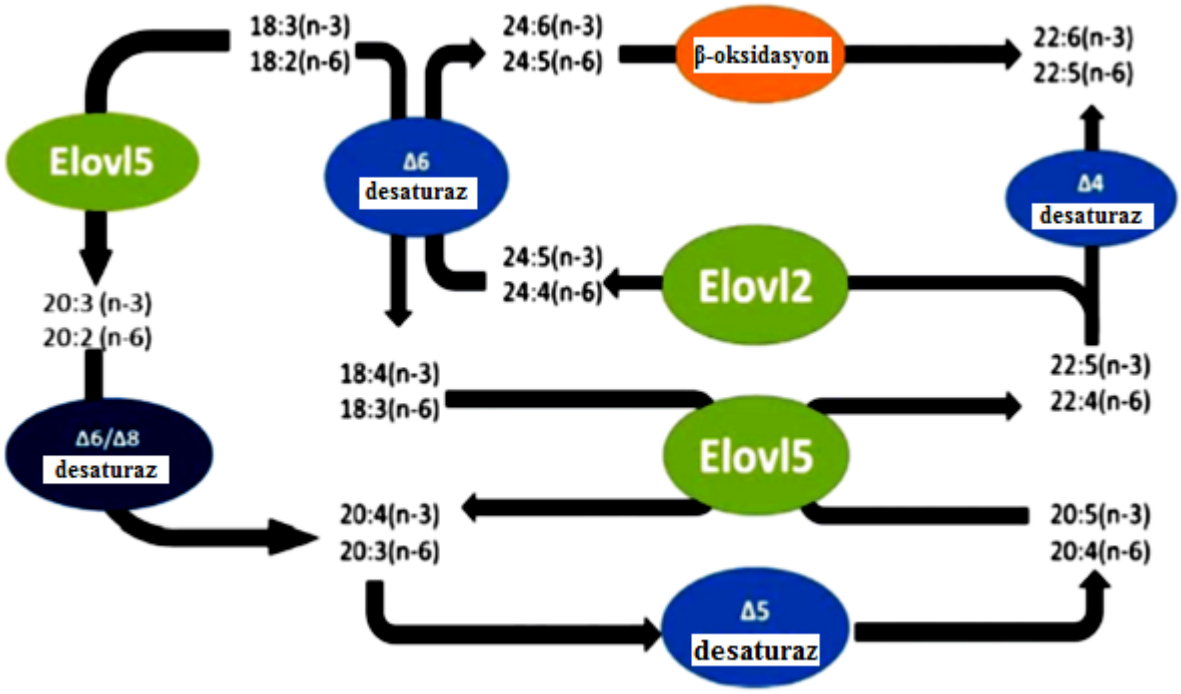
yeniden esterleşme işlemini tamamlamak için yeni oluşturulan diaçilgliserol üzerinde tekrarlanır. Balık dahil tüm organizmalar, asetil-CoA, malonil CoA ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfatı (NADPH) kullanarak, sitozolik yağ asidi sentetaz (FAS, yağ asidi sentezleyen enzim) (Sargent ve ark., 1989) yardımıyla doymuş yağ asitlerinden 16:0 ve 18:0'ı biyolojik olarak (*de novo*) sentezleyebilme yeteneğine sahiptirler (Rawn, 1989). Biyosentezin başlaması, asetil CoA ve malonil CoA'nın ATP'ye bağlı olarak yoğunlaştırılması ile fosfopantethein enziminin (Pan-Enz) üretimini sağlayarak gerçekleşir. Böylece asetil Pan-Enz ve malonil Pan-Enz üretildikten sonra birleşir ve bu birleşik asetoasetil Pan-Enz'i üretir (Glencross, 2009). Yoğuşma işleminin tamamlanması, keton grubunu öncelikle bir hidroksile, sonra da bütiril Pan-Enz'e yoğunlaştırmadan önce bir alken bağına indirgemek için NADPH'nin azaltılmasını gerektirir (Glencross, 2009). Palmitik asit (16:0) biyosentezi, primer olarak görev yapan bir asetil-CoA ünitesiyle birlikte sekiz adet 2-karbon asetil ünitesine gereksinim duyar. Ayrıca, yedi asetil ünitesi asetil-CoA karboksilaz enzimi tarafından karboksile edildikten sonra NADPH gerektiren bir dizi yoğunlaştırma sürecinde FAS enzimi ile birleşmektedir (Henderson ve Sargent, 1985). Yağ asidi sentezindeki diğer anahtar yollar, pentoz fosfat yolu ve malat dehidrojenaz enzimleri dahil olmak üzere indirgeyici element olan NADPH'yi üretmektir. Balıklarda ana NADPH üreten enzim muhtemelen glukoz-6-fosfat dehidrojenazdır (Dias ve ark., 1999).

Balıklar, hem mitokondrial hem de mikrozomal enzim sistemlerini kullanarak 16:0 ve 18:0'ı desaturasyon yoluyla sırasıyla 16:1n-7 (palmitoleik asit) ve 18:1n-9 yağ asitlerine dönüştürme kapasitesine sahiptirler (Rawn, 1989; Sargent ve ark., 2002). Tüm hayvanlarda olduğu gibi, balıklarda da 16:0 ve 18:0 yağ asitlerinin desaturasyonu, CoA-bağlantılı substratlar kullanılarak aerobik bir işlemle belirli doku hücrelerinin endoplazmik retikulumunda gerçekleştirilir. Bu işlemler NAD(P)H-sitokrom b5 redüktaz, sitokrom b5 ve terminal desaturaz enzimlerini içeren çok bileşenli sistemler tarafından katalize edilen NAD(P)H ve oksijene ihtiyaç duyar (Brenner, 1974). Balıklarda desaturasyon işlemi sonucunda üretilen 16:1n-7 ve 18:1n-9 yağ asitlerinin doymuş öncüllerinden belirgin şekilde daha düşük erime noktalarına sahip olmaları nedeniyle fizyolojik olarak önemlidirler (Tocher, 2003).

Balıklar da dahil olmak üzere birçok hayvan türü n-3 ve n-6 yağ asitlerini sentezleme yeteneğine sahip değildirler ve bu nedenle bu yağ aitleri diyetlerinde hazır formda verilmelidir (Henderson ve Tocher, 1987). Bu durum tüm omurgalıların 18:1n-9'dan LA ve ALA'yı

sentezlemek için FA Δ12-desaturaz ve Δ15-desaturaz enzimlerine sahip olmamalarından kaynaklanmaktadır (Tocher ve ark., 2006b). Dolayısıyla, LA ve ALA, omurgalıların diyetlerinde ihtiyaç duyulan yağ asitleridir (Sargent ve ark., 2002; Tocher, 2003). Çoğunlukta canlılar ise LA ve ALA'ları kullanarak 20-24C'lu n-3 ve n-6 HUFA'ları biyosentez yoluyla üretme kapasitesine sahiptir. Diyet ALA ve LA'dan DHA, ARA ve EPA'nın sentezi için izlenen prosedür Şekil 2.4'te özetlenmiştir. HUFA'ların biyosentezinde yer alan reaksiyonların hemen hemen tümü, DHA üretmek için peroksizomlarda meydana gelen son zincir kısalma aşaması hariç karaciğerin mikrozomal fraksiyonunda meydana gelir (Sargent ve ark., 2002). Aynı enzimlerin (desaturaz ve elongaz) n-3 ve n-6 serisindeki yağ asitlerinin metabolizmasını etkilediği ve bu enzimlerin substrat tercihine sahip oldukları da bilinmektedir (Tocher, 2003). Desaturazlar n-3 serisindeki yağ asitleri üzerinde daha yüksek bir etkiye sahiptirler (Tocher, 2003). Elongazların HUFA, PUFA ve MUFA'lar için yüksek substrat kapasitesine sahip olduğu, ancak bu kapasitenin SFA'lar için oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (Agaba ve ark., 2005). Elongazların aktif bölgesi, substrat tercihini 18C > 20C > 22C ve n-3 > n-6 sıralamadaki gibi göstermektedir. Ancak bu durum balık türleri arasında farklılıklar gösterebilmektedir (Agaba ve ark., 2005).

Desaturasyon ve elongasyon yoluyla LA ve ALA'dan 20-24C'lu HUFA'ların üretilmesi balık türleri arasında büyük ölçüde farklılıklar gösterir (Glencross, 2009; Castro ve ark., 2016; Beheshti Foroutani ve ark., 2018). Bu farklılıklar tatlı su, diadrom ya da deniz balığı olup olmamasına kısmen bağlıdır (Tocher ve Sargent, 1990; Sargent ve ark., 1999; Tocher, 2003). Bir balığın dokularındaki elongaz ve desaturaz (Δ6 ve Δ5) enzimlerinin aktivitesi bu durumun ana nedeni olarak belirtilmektedir. Balıkların elongaz ve desaturaz aktiviteleri, doğal diyetlerden elde edilen ARA, EPA ve DHA miktarlarına bağlı olarak değişir (Tocher, 2003). HUFA'lar bakımından zengin olan küçük balıklarla beslenen karnivor deniz balıkları gibi yırtıcı türlerin ALA ve LA'dan EPA, DHA ve ARA üretme ihtiyaçları bulunmamaktadır. Sonuç olarak çipura gibi deniz balıkları bu tür dönüşüme gereksinim olmadığı bir ortamda yaşadıklarından evrimleşme sırasında belirtilen HUFA'ları yüksek kapasitede sentezleme yeteneğine sahip olmamışlardır (Hixson, 2014). Ancak birçok araştırmacı deniz balıklarının kültür koşullarında ALA ve LA'dan belli bir ölçüde HUFA'ları üretebildiklerini rapor etmişlerdir (Menoyo ve ark., 2004; Izqueirdo ve ark., 2008; Fountoulaki ve ark., 2009; Hixson ve ark., 2013; Hixson ve Parish, 2014; Scholefield ve Schuller, 2014; Betancor ve ark., 2016; Torno ve ark., 2018).



Şekil 2.4 HUFA'ların balıklarda 18C öncüllerinden *de novo* sentezi için alternatif yollar (Li ve ark., 2010; Scholefield ve Schuller, 2014; Scholefield ve ark., 2015).

Anadrom ve deniz balıkları, elongaz ve Δ6 ve Δ5 desaturaz aktivitesine sahip olmalarına rağmen, düşük bir düzeyde yağ asidi sentezi yapabilmektediler (Tocher ve ark., 2006b). Deniz balıklarının ALA'dan EPA ve DHA ve LA'dan ARA sentezleme kabiliyetinin düşük olması, Δ5 desaturaz ve/veya 18C'lu yağ asitlerini 20C'lu yağ asitlerine dönüştürme basamağında gerekli olan genlerden bir veya daha fazlasının yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır (Bell ve Koppe, 2011). Örneğin, kalkan balığından elde edilen hücreler ile yapılan bir çalışmada, türün çok düşük bir elongasyona sahip olduğu, ancak yüksek bir Δ5 desaturaz aktivitesi görüldüğü bildirilmiştir (Ghioni ve ark., 1999). Buna karşın, çipuradan elde edilen hücreler ile yapılan bir araştırmada, balığın aktif bir elongasyon aktivitesine sahip olduğu, ancak çok düşük bir Δ5 desaturaz aktivitesi görüldüğü rapor edilmiştir (Tocher ve Ghioni, 1999).

2.4.4. Yağ asidi katabolizması

Yeniden esterleşmeyen FA'lar ya doğrudan dolaşım sistemi içine absorbe edilirler ve katabolize olurlar (özellikle kısa zincirli doymuş yağ asitleri) ya da balığın diğer dokularına veya hücrenin belli kısımlarına depolanması, katabolizması veya sentezlemesi için taşınırlar (Glencross, 2009). Lipitler ve yağ asitleri, özellikle deniz balıkları için metabolik enerji kaynağıdırlar

(Sargent ve ark., 2002). Yağ asidi katabolizması birçok balık türünde ana enerji kaynağıdır ve mitokondrilerde (ve peroksizomlarda) gerçekleşir (Tocher, 2003). Bu işlem β-oksidasyon olarak adlandırılır ve tüm ökaryotik hücrelerde yaygındır (Rawn, 1989). Asetil-CoA olarak salınan 2 karbon atomunun sıralı olarak FA zincirinden ayrılması dört enzimin sıralı olarak katalizleme reaksiyonları sonuncunda gerçekleşir (Glencross, 2009). Özetle FA'lar, yağlı açil-CoA üretmek için yağlı açil CoA sentetaz enzimi ile aktive edilir. Bununla birlikte karnitin açiltransferazın etkisi ile yağlı açil-CoA, yağ açil-karnitin esterleri şeklinde mitokondriye taşınır. Bunlar sonra tekrar yağlı açil-CoA türevlerine dönüştürülür ve daha sonra asetil-CoA ve NADH üretmek üzere bir miktar dehidrojenasyon, hidrasyon, ikinci hidrojenasyon ve ayrılma aşamalarına tabi tutulur (Tocher, 2003). Asetil-CoA birimleri, sonra asetil-CoA birimi başına 11 ATP molekülü üretmek üzere sitrik asit döngüsü (TCA döngüsü) tarafından oksitlenir (Glencross, 2009). Oksidatif fosforilasyon işlemi sayesinde, yağ asitlerinin oksidasyonundan üretilen NADH daha sonra ATP formunda metabolik enerji sağlayabilir (Tocher, 2003). Bu metabolik süreç, tüm hücresel işlemlerin en yüksek enerji verimliliğini sağlamaktadır (Rawn, 1989).

Yağ asidi oksidasyonu karaciğer, kalp, kırmızı ve beyaz kaslar dahil olmak üzere balıkların birçok dokusu için önemli bir enerji kaynağıdır (Tocher, 2003). Hücresel düzeyde peroksizomlar, çok uzun karbon zincirine (24C'lu yağ asitleri) sahip yüksek oranda doymamış yağ asitlerinin konvansiyonel β-oksidasyonu öncesinde başlangıçtaki zincir kısaltmasında özellikle kullanılabilecekleri bir başka β-oksidasyon bölgesidir (Tocher, 2003). Tüm doymuş ve 22:1n-11 dahil tekli doymamış yağ asitlerinin, balıkta mitokondriyal β-oksidasyonu ile kolayca katabolize oldukları görülmüştür (Sargent ve ark., 1989). Ancak, PUFA'nın β-oksidasyonu farklı FA molekülleri arasında değişkenlik gösterir ve daha karmaşık olabilir. Yapılan farklı araştırmalarda, diyetlerde PUFA'ların yüksek konsantrasyonlarda bulunması durumunda kolayca oksitlendikleri rapor edilmiştir. Örneğin, yüksek oranda LA ve ALA içeren diyetlerle beslenen balıklarda bu yağ asitlerinin kolayca katabolize oldukları belirtilmiştir (Bell ve ark., 2003a,b; Menoyo ve ark., 2004; Stubhaug ve ark., 2007; Fountoulaki ve ark., 2009). Ayrıca yüksek büyüme periyotlarında, Atlantik salmonu diyetlerinde EPA ve DHA'nın yüksek oranda olması durumunda bu yağ asitlerinin yüksek düzeyde β-oksidasyona uğradıkları da bildirilmiştir (Stubhaug ve ark., 2007). Böylece, bazı yağ asitlerinin kullanılması balıklar tarafından daha fazla tercih edilmesine rağmen, diyet yağ asitlerinin yüksek olmasıyla bu tercihli kullanım en aza indirgenmiş olur (Turchini ve ark., 2009). Bitkisel kaynaklı yağ içeren

diyetlerle beslenen balıkların mitokondrilerinde EPA'yı DHA'dan daha fazla okside ettikleri rapor edilmiştir (Bell ve ark., 2001, 2003a; Izquierdo ve ark., 2005; Yıldız ve ark., 2018). Diyetlerdeki EPA'nın DHA'ya göre tercihen daha yüksek miktarda kullanılması balıkların doku zarı bütünlüğü ve fonksiyonu için gereklilikleri yerine getirmenin bir göstergesi olabileceği ifade edilmiştir (Fountoulaki ve ark., 2009). Diyetlerdeki yağ asidi profillerinin değişimiyle β-oksidasyon için gerekli olan substratlar da değişmektedir.

2.4.5. Yağ asidi metabolizmasında rol alan genlerin ekspresyonu

Yapılan balık besleme araştırmalarında, desaturasyon ve elongasyon yoluyla hem moleküler hem de enzimatik düzeylerde farklı çalışmalar yapılmıştır (Tocher ve ark., 2001, 2002a,b, 2003, 2006b; Bell ve ark., 2001; Hastings ve ark., 2001, 2004; Agaba ve ark., 2004, 2005; Zheng ve ark., 2004, 2005a,b; Oxley ve ark., 2005; Stubhaug ve ark., 2005a,b; Francis ve ark., 2009; Thanuthong ve ark., 2011a,b,c). Yağ asidi biyosentezi için desaturaz ve elongaz enzimlerini temsil eden birçok gen tatlı su ve deniz teleostlarında klonlanmıştır (Hastings ve ark., 2001; Agaba ve ark., 2004; Zheng ve ark., 2004; Tocher ve ark., 2006b). Diyet lipit kaynaklarının, gen ekspresyonunu ve lipit metabolizmasında rol alan anahtar enzimlerin aktivitesini düzenleyerek FA biyosentezini etkilediği bilinmektedir (Liang ve ark., 2002; Menoyo ve ark., 2004; Stubhaug ve ark., 2005a; Morais ve ark., 2011, 2012a; Castro ve ark., 2016; Qiu ve ark., 2017; Torno ve ark., 2018; Riera-Heredia ve ark., 2019). Diyetlerde kullanılan bitkisel yağlarda yüksek oranda bulunan ALA'dan EPA ve DHA sentezi deniz balıkları tarafından kısmen gerçekleştirilmektedir. Yemlerde, optimum büyüme için gerekli olan n-3 HUFA'nın yetersiz olması durumunda çipura balığı da dahil olmak üzere deniz balıklarının ALA'dan EPA ve DHA üretme eğilimleri artmaktadır. Yağ asitleri metabolizmasında görev alan genlerle ilgili detay bilgiler aşağıda sunulmuştur.

2.4.5.1 Yağ asidi sentez (FAS) enzimi

Genel olarak canlı organizmalarda olduğu gibi, sitosolik çok fonksiyonlu enzimatik bir kompleks olan FAS emzimi, balıklarda palmitik aside (16:0) kadar olan SFA'ların *de novo* biyosentezinden sorumludur. Diyetlerdeki yağlarla beslenen balıkların yağ asidi metabolizması sırasında FAS tarafından sentezlenen yağ asitleri, endoplazmik retikulumda bulunan desaturaz

ve elongaz enzimleri ile de daha ileriki bir aşamaya dönüştürülmektedir (Monroig ve ark., 2011c).

Sparide familyasından bir tür olan kara çipura balığının (*Acanthopagrus schlegelii*) genç bireyleri düşük n-3 HUFA (Jin ve ark., 2017a) ve bitkisel yağ bazlı diyetlerle (Jin ve ark., 2017b) beslendiklerinde karaciğerde FAS ekspresyonunun yükselmeye başladığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, bitkisel yağ ve karbonhidratlarla zenginleştirilmiş diyetlerle beslenen çipuranın bağırsak ve karaciğerindeki FAS ekspresyonunun artış gösterdiği rapor edilmiştir (Castro ve ark., 2016). Bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen salmon balıklarında da bağırsakta FAS ekspresyonunun artış gösterdiği görülmüştür (Morais ve ark. 2012).

2.4.5.2 Desaturazlar

Desaturazlar, uzun zincirli çok doymamış bir yağ asidinin çift bağlarının artırılması yoluyla yağ asitlerinin doymamışlığının düzenlenmesinden sorumlu enzimlerdir (Guillou ve ark., 2010). Desaturazlar, stearoil-CoA desaturazları (SCD) ve yağlı açil desaturazları (FAD) olarak ikiye ayrılırlar (Marquardt ve ark., 2000). SCD, Δ-9 desaturasyon aktivitesi gösterir, 16:0 ve 18:0 SFA'lardan desaturasyon yoluyla sırasıyla 16:1n-7 ve 18:1n-9 yağ asitlerini üretmekten sorumludur. FAD enzimleri ise memelilerde FADS1, FADS2 ve FADS3 olarak üç grup altında isimlendirilmektedir (Guillou ve ark., 2010; Rioux ve Legrand, 2019). FADS1 ve FADS2 genlerin sırasıyla Δ-5 ve Δ-6 desaturasyon aktivitelerine sahip oldukları belirtilmiştir (Guillou ve diğerleri, 2010).

FADS1 enzimi, Δ-5 desaturaz aktivitesine sahip olan teleost Japon yılan balığı (*Anguilla japonica*) dışında (Lopes-Marques ve ark.2018), genel olarak teleost balıklarının evrimleşmesi sırasında Δ-5 desaturaz aktivitesini kaybettikleri ve böylece teleost balıkların farklı sayıda FADS2 genine sahip oldukları rapor edilmiştir (Castro ve diğerleri, 2012, 2016). Bu nedenle, birçok teleost balığında FADS2'nin spesifik substratlarla Δ-6 desaturaz aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (De Antueno ve ark., 2001). Ancak son çalışmalar, teleost balıklarının FADS2 genlerinin yardımıyla ek spesifik substratların elde edilebilebileceğini ve yeni substrat spesifisitelerinin ikame edilebilebileceğini göstermiştir (Castro ve ark., 2016; Fonseca-Madrigal ve ark., 2014). Bu nedenle, FADS2'nin zebra balığı, *Danio rerio* (Hastings ve ark., 2001), tavşan balığı, *S. canaliculatus* (Li ve ark., 2010), Nil tilapia, *Oreochromis niloticus* (Tanomman ve ark., 2013), *Chirostoma estor* (Fonseca- Madrigal ve ark., 2014), Afrika kedi

balığı, *Clarias gariepinus* (Oboh ve ark., 2016), çizgili yılanbaşı *Channa striata* (Kuah ve ark., 2016) ve gökkuşağı alabalığı (Oboh ve ark., 2017a) gibi balıkların Δ-6 ve Δ-5 desaturaz aktivitelerine sahip oldukları belirtilmiştir. Yapılan farklı araştırmalarda, FADS2 Δ-4 desaturaz aktivitesi herbivor deniz tavşan balığı (Li ve ark., 2010), denizde yaşayan bir yassı balık tür olan *Solea senegalensis* (Morais ve ark., 2012b, 2015), tatlı suda yaşayan *Chirostoma estor* (Fonseca-Madrigal ve ark., 2014), tatlı su ve acı sularda yaşayan çizgili yılanbaşı, *Channa striata* (Kuah ve ark., 2015), tatlı su, acı su ve denizde yaşayan *Oryzias latipes* ve Nil tilapia (Oboh ve ark., 2017a) balıklarında rapor edilmiştir.

Atlantik morina (*Gadus morhua*), cobia (*Rachycentron canadum*), Asya levreği (*Lates calcarifer*), yassı balık (*S. senegalensis*), ve *Nibea coibor* dahil olmak üzere deniz balığı türlerinde FADS2 gen ekspresyon analizleri için balık beyninin ana metabolik bölge olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Tocher ve ark., 2006; Zheng ve ark., 2009; Mohd-Yusof ve ark., 2010; Morais ve ark., 2012b; Huang ve ark., 2017; Kabeya ve ve ark., 2017).

2.4.5.3 PUFA'ların elongazları (ELOVL)

Nugteren'e (1965) göre ELOVL, uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezi için gerekli olan enzimlerdir. Memelilerde farklı substratlara göre ELOVL1'den ELOVL7'ye kadar değişen yedi adet farklı enzimin olduğu saptanmıştır (Jakobsson ve ark. 2006). ELOVL2, ELOVL4 ve ELOVL5, yetiştiriciliği yapılan farklı balık türlerinde araştırılmıştır.

ELOVL5, hem 18C'lu (18:4n-3 ve 18:3n-6) hem de 20C'lu (20:4n-3 ve 20:3n-6) PUFA'ların karbon sayısını artırmada rol oynayan ana elongaz enzimdir. Ancak bu enzim 22C'lu (22:5n-3 ve 22:4n-6) yağ asitlerinin elongasyonunda daha düşük bir etki göstermektedir (Agaba ve ark., 2004; Monroig ve ark., 2012; Castro ve ark., 2016). Balıklarda ELOVL5'in çok yönlü olduğu görülmüş ve genellikle 18:1n-7 ve 18:1n-9 gibi MUFA'ların karbon sayısını uzatarak sırasıyla 20:1n-7 ve 20:1n-9 yağ asitlerine dönüştürebildiği bildirilmiştir (Hastings ve ark., 2005; Kabeya ve ark., 2015; Mohd-Yusof ve ark., 2010; Monroig ve ark., 2013; Morais ve ark., 2009). ELOVL2, balıklarda HUFA biyosentezinin gerçekleşmesinde rol oynayan önemli bir elongaz enzimdir. ELOVL2 aktivitesi özellikle 20C'lu (20:4n-3 ve 20:3n-6) ve 22C'lu (22: 5n-3 ve 22: 4n-6) HUFA'ların dönüşümünde etkilidir (Gregory ve ark., 2013; Leonard ve ark., 2002; Monroig ve ark., 2018a). Ancak günümüze kadar yapılan araştırmalarda ELOVL2 geninin

kültürü yapılan deniz teleost türlerinin büyük çoğunluğunda olmadığı belirtilmiştir (Castro ve ark., 2016; Morais ve ark., 2009). ELOVL4, çok uzun zincirli (> 24C) PUFA'ların biyosentezinde rol oynar (Castro ve ark., 2016; Jin ve ark., 2017c; Oboh ve ark., 2017b). Teleost balıklarında iki ayrı ELOVL4 (ELOVL4a ve ELOVL4b) geni vardır (Carmona-Antoñanzas ve ark., 2011; Kabeya ve ark., 2015; Monroig ve ark, 2011c, 2012; Castro ve ark., 2016; Li ve ark., 2017b). ELOVL4 geninin her ikisi de çok uzun zincirli (> 24C) doymuş yağ asitlerini verimli bir şekilde üretme kabiliyetine sahiptir.

2.4.5.4 PUFA oksidasyonu

Bilindiği gibi hayvanlarda PUFA'lar mitokondrinin iç zarına doğrudan giriş yapamazlar (Bartlett ve Eaton, 2004; Eaton ve ark., 2001). Ancak, yağ asitlerinin β-oksidasyon sürecinde uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye alınmasına mitokondriyal karnitin palmitoiltransferaz (CPT) sistemi aracılık etmektedir (McGarry ve Brown, 1997; Jemberg ve ark., 2017).

CPT'nin CPT1 ve CPT2 gibi iki enzimatik modülü vardır. Özellikle CPT1, bir yağ asidi sentezinin ara maddesi olan malonil-CoA tarafından yapılan etki göz önüne alındığında hayati bir önem taşımaktadır (Bonnefont ve ark., 2004). CPT1 mitokondrinin dış zarlarında bulunur ve açilkarnitin oluşturmak için koenzim A'nın karnitine bağımlı esterleştirmesini katalize ettiğinden yağ asidi oksidasyonunda bir hız sınırlayıcı enzimi olarak bilinmektedir (Kerner ve Hoppel, 2000; Zammit ve ark., 1997). Balıklarda iki çeşit CPT1 enzimi (CPT1a ve CPT1b) tanımlanmıştır (Boukouvala ve ark., 2010; Lopes-Marques ve ark., 2015). Yapılan birkaç araştırmada, balıklarda beslenme ve hormonal uyaranlara yanıt olarak CPT1b'nin yanıtını analiz etmişlerdir (Boukouvala ve ark., 2010; Kolditz ve ark., 2008; Morash ve ark., 2010). Çipurada CPT1b enzimi kalpte ve çoğunlukla beyaz yada kırmızı kaslarda analiz edildi (Boukouvala ve ark., 2010). Betancor ve ark. (2016)'nın yakın tarihli bir araştırmasında, kamelina yağı içeren diyetlerle besledikleri çipuraların karaciğerlerinde CPT1a ve CPT1b enzimlerinin belirgin bir artış gösterdiklerini rapor etmişlerdir.

Peroksizom proliferaktoraktive edilmiş reseptörler (PPAR'ler), yağ asitlerinin β-oksidasyonunu düzenleyen hayati genlerdir (Zheng ve ark., 2013; Zuo ve ark., 2013). PPAR'ler yağ asitleri ve kolesterolün spesifik sensörleri gibi davranmanın yanı sıra lipit metabolizmasında önemli rol oynarlar (Benedito-Palos ve ark., 2014). PPARα, beslenme ve enerji gereksinimlerindeki değişikliklere yanıt olarak peroksizomlarda ve mitokondride yağ

asitleri β-oksidasyonunda yer alan genlerin ekspresyonunu kontrol ederek lipit katabolizmasını aktive eder (Ji ve ark., 2011).

2.5 BİTKİSEL YAĞLAR

Bitkisel yağlar, hayvansal beslenme için en büyük diyet lipit kaynağıdırlar (Brown ve Hart, 2009). Bu yağlar aynı zamanda, kültür balıklarının yemleri için zengin bir enerji, temel yağ asitleri ve yağda eriyen vitaminlerin (A, D, E ve K) kaynağıdırlar. Balık yemlerinde kullanılan tüm alternatif lipitler arasında, bitkisel yağlar üretim, fiyat istikrarı ve sürdürülebilirliği nedeniyle balık yağı yerine kullanılabilecek en iyi adaylardan biri olarak görülmektedir (Hardy ve ark., 2001; Mourente ve Bell, 2006; Turchini ve ark., 2009). Bu nedenle yapılan birçok araştırmada, soya fasulyesi, keten tohumu, kolza tohumu, zeytin, pamuk tohumu, kanola, palmiye ve mısır gibi farklı bitkisel yağlar balık yağ yerine tamamen yada kısmen kullanılmıştır (Torstensen ve ark., 2000; Bell ve ark., 2001; Izquierdo ve ark., 2005; Mourente ve Bell, 2006; Fountoulaki ve ark., 2009; Arslan ve ark., 2012; Eroldoğan ve ark., 2013; Yıldız ve ark., 2018; Riera-Heredia ve ark., 2019).

Diyetlerde balık yağı yerine bitkisel yağların kullanımıyla ilgili yapılan araştırmaların büyüme, doku kompozisyonu, karaciğer metabolizması, yağ asidi metabolizması, immünolojik yanıt ve et kalitesi gibi birçok farklı amacı vardır. Bu çalışmaların çoğu, araştırılmakta olan türlerin EFA ihtiyaçlarının karşılandığı ve diyette yeterli miktarda balık unu bulunduğunda balık yağı yerine bitkisel yağların kullanımı tatlı su balıklarında tamamen ve deniz balıklarında kısmen (% 60-70) kullanılabileceğinin mümkün olduğunu göstermiştir. Örneğin, balık yağının tamamı yerine kullanılan kolza ve palmiye yağları (Bell ve ark., 2002), keten tohumu yağı (Menoyo ve ark., 2005; Arslan ve ark., 2012), ayçiçeği yağı (Brandensen ve ark., 2003), pamuk tohumu ve kanola yağları (Yıldız ve ark., 2015) ile bitkisel yağların farklı karışımları (Jordal ve ark., 2007; Petropoulos ve ark., 2007; Tortensen ve ark., 2005; Yıldız ve ark., 2018) salmonid balıkların diyetlerinde araştırılmıştır. Çipura diyetlerinde balık yağı yerine palmiye yağı dışında diğer bitkisel yağların %70 oranına kadar kullanılması balıklarda büyümeyi olumsuz etkilemediği belirtilmiştir (Caballero ve ark., 2004, Menoyo ve ark., 2004; Montero ve ark., 2004; Izquierdo ve ark., 2005; Fountoulaki ve ark., 2009).

Diyetlerde balık yağı yerine bitkisel yağların kullanılması ile ilgili yapılan araştırmalarda, balıkların dokularındaki yağ asidi profilinin diyetlerle benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir

(Bell ve ark., 2003a, 2004; Menoyo ve ark., 2004; Izquierdo ve ark., 2005; Miller ve ark., 2007; Arslan ve ark., 2012; Yıldız ve ark., 2013, 2015). Bitkisel yağ içeren diyetlerle beslenen balıkların dokularında DHA ve EPA'nın düzeyleri daha düşük oranda bulunmuştur (Jobling ve ark., 2008; Bell ve ark., 2010; Alhazzaa ve ark., 2011; Yıldız ve ark., 2018) ancak ALA ve LA bakımından zengin yemlerle beslenen alabalıklarda EPA, DHA ve ARA'nın önemli düzeyde arttığı tespit edilmişti (Arslan ve ark., 2012; Yıldız ve ark., 2015, 2016; Köse ve Yıldız, 2017). Bitkisel yağlar çoğunlukta n-6 ve n-9 serisindeki yağ asitlerinden oluşur. Yemlerde yüksek oranda bitkisel yağların kullanılmasından kaynaklanan düşük n-3/n-6 oranları bazı balık türlerinde gelişim bozukluklarına neden olabilmektedir (Waagbo ve ark., 2008; Beheshti Foroutani ve ark., 2018; Colombo ve ark., 2018).

Diyetlerde balık yağı yerine bitkisel yağlar kullanılarak balık dokularındaki lipit metabolizmasını araştıran çalışmalar, bu durumda balıkların mitokondrilerinde enerji üretimi için SFA ve MUFA'ları kullanmayı tercih ettiğini göstermiştir. Ancak, bu konudaki araştırmaların sonuçları balıkların MUFA ve özellikle SFA'yı PUFA'lar kadar iyi sindiremediğini ve iyi absorbe etmediklerini göstermiştir (Sigurgisladottir ve ark., 1992; Colombo-Hixson ve ark., 2011; Eroldoğan ve ark., 2013). Bu nedenle, balık yağı yerine yüksek miktarda n-3 PUFA ve yüksek oranda n-3/n-6 yağ asitleri, yüksek miktarda MUFA ve düşük düzeyde LA içeren yağlar kullanılmasının daha doğru olduğu belirtilmiştir.

Yukarıda da belirtildiği gibi, diyetlerde kullanılan çoğunluktaki bitkisel yağlar düşük n-3/n-6 oranlarına sahiptirler ve SFA, MUFA, n-6 ve/veya n-9 yağ asitleri bakımından zengindirler. Böylece bitkisel yağlarla beslenen balık etindeki düşük n-3 HUFA'yı tüketecek olan insanların balık yağının klasik avantajlarından yeterince yararlanamayacakları bildirilmiştir (Sargent ve ark., 2002; Bell ve Waagbo, 2008). ALA bakımından zengin olan keten tohumu, çiya ve kamelina yağları gibi bitkisel yağlar balık yemlerinde balık yağı yerine kullanılabilecek uygun alternatif kaynaklardır ve bu yağların yüksek n-3/n-6 oranlarına sahip olduğu bilinmektedir. ALA bakımından zengin olan bitkisel yağlarla ilgili yapılan araştırmalar, diyetlerdeki EPA ve DHA'nın önemli ölçüde azaldığını ve deney balıklarının etinde özellikle deniz balıklarında artan bir ALA içeriği ile sonuçlandığını göstermiştir (Izquierdo ve ark., 2003, 2005; Montero ve ark., 2003; Regost ve ark., 2003a,b; Caballero ve ark., 2004; Menoyo ve ark., 2004; Piedecausa ve ark., 2007; Colombo ve ark., 2018). Diğer yandan, yağ kaynağı olarak tamamen keten tohumu yağı içeren yemlerle beslenen kahverengi alabalıkta önemi ölçüde EPA ve DHA

artışı gözlenmiş ve bu balığın 18C'lu n-3 yağ asitlerini etkili biçimde 20-22C'lu n-3 yağ asitlerine dönüştürdüğü belirtilmiştir (Arslan ve ark., 2012).

Yapılan deneylerin sonucu diyetlerde balık yağı yerine keten tohumu yağının kullanılmasının daha çok tercih edilmesi gerektiğini göstermiştir. ALA bakımından zengin bitkisel orijinli yağlarla beslenen balık dokularındaki EPA ve DHA oranları insan sağlığı bakımından olumsuz olacak şekilde önemli ölçüde azalmakta, ancak dokulardaki n-3/n-6 oranları ise insan sağlığını destekleyecek miktarlarda artmaktadır. Ayrıca, ALA bakımından zengin olan bitkisel kaynaklı diyetler, balıklarda 20:3n-3 (Tocher ve ark., 2011) ve 20:4n-3'ün (Samel ve ark., 1987) üretiminin gerçekleştirilmesine ve bu yağ asitlerinin dokularda biriktirilmesine neden olmaktadır. Bu yağ asitlerinin tüketicilerde çok sayıda hastalığı engelleyerek sağlık açısından yararlı etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Bu nedenle, çiya ve kamelina yağları gibi ALA bakımından zengin olan bitkisel yağların balık yemlerinde kullanılarak sonuçları hakkında gerekli bilgilere ulaşılması gerekir.

2.5.1 Kamelina Tohumu Yağı

Aynı zamanda yalancı keten ya da altın değerindeki yağ olarak bilinen kamelina tohumu yağı *Camelina sativa*, Brassicaceae bitkisinden üretilmektedir (Betancor ve ark., 2015). Kamelina tohumu yağı, içerdiği yüksek orandaki PUFA (%40-60) ve ALA (%35-45)'dan dolayı benzersiz bir kaynaktır (Zubr, 1997; Abramovic ve Abram, 2005; Hrastar ve ark., 2012; Betancor ve ark., 2015; Raczyk ve ark., 2016) ve yaklaşık olarak üçe bir ALA: LA oranına sahiptir (Tocher ve ark., 2011). Bu yağ ayrıca %15–18 oranları arasında LA, %30 oranında MUFA ve %7-9 oranları arasında SFA'yı içermektedir (Eidhin ve ark., 2003; Abramovic ve ark., 2007; Raczyk ve ark., 2016). Diğer bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında, CSO genellikle hem balıklar hem de insanlar için faydalı olan PUFA, MUFA'ları yüksek düzeyde ve SFA'ları ise düşük oranda içermektedir (Hixson ve ark., 2013). Bu yağın sahip olduğu yüksek doymamışlık düzeyine rağmen, yüksek oranda (kg başına 751-821 mg) içerdiği tokoferol nedeniyle oksidasyona karşı da yüksek bir direnci vardır (Zubr, 1997; Eidhin ve ark., 2003; Abramovic ve ark., 2007). Kamelina tohumu yağı tüketiminin yararlarını değerlendiren araştırmalar, insan beslenmesinde bu yağın kolesterol ve inflamasyon düşürücü etkiler yaptığını doğrulamıştır (Karvonen ve ark., 2002; Zubr, 2009; Campbell ve ark., 2009). FA profili ve yüksek oksidatif stabilite bakımından benzersiz bir kombinasyona sahip olması nedeniyle bu

yağ daha önce balık beslemede kullanılan bitkisel yağlara karşı daha çok avantajlı olduğunu göstermiştir (Hixson ve ark., 2013; Betancor ve ark., 2016, 2018).

Balık yağının tamamının yerine kamelina tohumu yağının kullanıldığı yemlerle 12 hafta süresince beslenen gökkuşağı alabalığı (Hixson ve ark., 2014a) ve 16 hafta süresince beslenen Atlantik salmonunun büyüme performanslarında herhangi olumsuz bir etki görülmediği bildirilmiştir (Hixson ve ark., 2014b). Ayrıca *Gadus morhua* diyetlerinde balık yağının tamamı yada bir kısmı yerine kullanıldığında balıkların büyümelerinde önemli ölçüde olumsuz bir etki görülmediği rapor edilmiştir (Morais ve ark., 2012a; Hixson ve ark., 2013; Hixson ve Parish, 2014). Balık yemlerinde bu yağın kullanılmasıyla ilgili ön araştırmalar olumlu olmasına rağmen, oldukça sınırlıdır. Bu nedenle, çipura gibi deniz balıklarının diyetlerinde kamelina tohumu yağının balık yağı yerine kullanılma potansiyelini değerlendirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2.5.2 Çiya Yağı

Çiya yağı *Salvia hispanica* L. tohumlarından üretilen bir bitkisel yağdır ve yağın üretildiği bu bitki Lamiaceae familyasına aittir (Ayerza, 1995). Çiya tohumları %25-39 oranları arasında yağ içerebilmektedir. Çiya yağı doğada bilinen yağlar içerisinde en yüksek oranda ALA (yaklaşık olarak %68) (Ayerza, 1995; Coates ve Ayerza, 1996; Peiretti ve Gai, 2009) ve dolayısıyla n-3 PUFA'ya sahiptir (Palma ve ark., 1947; Ayerza, 1995; Coates ve Ayerza, 1996; Ayerza, 2010). Bu yağ aynı zamanda %20'ye kadar LA içermektedir (Dubois ve ark., 2007; Ayerza, 2010; Ixtaina ve ark., 2011; Marineli ve ark., 2014; Bodoira ve ark., 2017). Bu yağ asidi profili çiya yağına n-6 ve n-3 PUFA'lar bakımından iyi bir denge sağlayarak bu yağı diğer diyet yağları arasında ilginç bir duruma getirmektedir (Dubois ve ark., 2007). Çiya yağı ayrıca güçlü antioksidan aktivitesine sahip bileşikler içermektedir (Taga ve ark., 1984; Ixtaina ve ark., 2011; Montanher ve ark., 2016; Bodoira ve ark., 2017).

Çiya, kanatlı yemlerinde (Ayerza ve Coates, 1999, 2000, 2001, 2002; Coorey ve ark., 2017), süt inekleri yemlerinde ve ürünlerinde (Ayerza ve Coates, 2006; Ullah ve ark., 2017), tavşan yemlerinde (Peiretti ve Gai, 2009) ve domuz yemlerinde (Coates ve Ayerza, 2009) başarıyla kullanılmıştır. Montanher ve ark. (2016) Nil tilapiyası yemlerinde çiya yağı ve tohumu küspesi kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre yemlerin n-3 PUFA bakımından zenginleştiğini ve bu yemlerle beslenen balıkların büyüme ve gelişmelerine herhangi negatif bir etkisinin

görülmediği rapor edilmiştir. Yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı çiya yağının balık yemlerinde n-3 ve n-6 PUFA kaynağı olarak kullanılabileceği görülmektedir.

2.6 TÜM VÜCUT YAĞ ASİDİ DENGE METABOLİZMASI

Yağ asidi metabolizmasını değerlendirmek için bir dizi yöntem kullanılabilmektedir. Bu yöntemler arasında; doku yağ asidi kompozisyonları (dokulardaki yağ asidi miktarlarını değerlendirmek için yemlerle birlikte alınan yağ asidi miktarları da değerlendirilir), laboratuvar ortamında (*in vitro*) yağ asidi metabolizma aktiviteleri ve canlıda (*in vivo*) yağ asidi metabolizma yöntemleri bulunmaktadır (Brown, 2005).

In vitro metotlarda, bütün hücrelerin (örneğin, hepatositler) veya doku mikrozomlarının izolasyonu ve bunların izotopik olarak etiketlenmiş yağ asitleri ile inkübasyonları en yaygın kullanılan yöntemdir (Turchini ve ark., 2007). Bu yöntemler, araştırma kurumlarının çoğunda genellikle bulunmayan pahalı ve sofistike ekipman gerektirir.

In vivo yağ asidi metabolizmasını değerlendirmek için birkaç farklı metodoloji kullanılabilir (Cunnane ve Anderson, 1997; Likhodil ve Cunnane, 1999; Emken, 2001). *In vivo* yöntemlerde tüm vücut metodu kullanır ve bir organizmanın EFA'yı entegre bir sistem bağlamında metabolize etme kapasitesinin bir tahminini sağlar (Brown, 2005). Yukarıda belirtilen yöntemler hücre içi fraksiyonlar kullanan yöntemlerden farklıdır ve genel EFA metabolizması şeması içinde önemli olan kontrol edici faktörlerden (örneğin, yağ asidi bağlayıcı proteinler) ve diğer yöntemlerden (örneğin, β-oksidasyon) yoksundur (Brown, 2005).

"Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu", yağ asidi metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılan *in vivo* yöntemlerden biridir. Bu yöntem ilk olarak Cunnane ve Anderson (1997) tarafından fareler üzerinde kullanılması önerilmiş ve daha sonra Turchini ve ark. (2006) ve Francis ve ark. (2007a) tarafından geliştirilerek balıklarda uygulanmıştır. Tüm vücut yağ asidi denge yöntemi, bir organizmanın HUFA üretmek için metabolik kabiliyetini ele alan en yeni ve en basit bir *in vivo* yöntemdir (Turchini ve ark., 2007). Yöntem, yağ asitlerinin balıklar tarafından alımını, toplam atılımını ve birikimini belirler ve bununla birlikte ilgili desaturasyon, elongasyon ve β-oksidasyonu hesaplar. Bu yöntem nispeten basittir ve rutin laboratuvar tekniklerini kapsar.

Tüm vücut yağ asidi denge yönteminin başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için yeterli süreye sahip bir besleme denemesini yapılması esastır. Yöntem, tüm vücut ilk ve son yağ asidi kompozisyonunun ve bir beslenme denemesine dayanarak diyet yağ asitlerinin net alımının ölçülmesine dayanır. Ayrıca, mevcut yöntem temel olarak bir kütle denge analizi olduğundan, faktörler arasındaki farkı artırarak, ölçümün hassasiyetini de artırması mümkündür (Turchini ve ark., 2006). Bu nedenle, yem alımının doğru bir şekilde hesaplanması çok önemlidir. Toplam dışkı toplanması veya kromik oksit gibi sindirilmeyen uygun bir diyet markırı kullanılarak buna karşılık gelen bir sindirilebilirlik tahmini, yağ asitlerinin net alımının miktarının belirlenmesi için esastır. Metot, desature ve elonge edilmiş yağ asidi miktarlarını değerlendirdiği için hazırlanan diyetlerde ya hiç yada çok az HUFA bulunmalıdır (Brown, 2005).

Turchini ve ark. (2006) bir tatlı su balığı olan *Maccullochella peelii peelii* türünü kanola yada keten tohumu yağı içeren diyetlerle besleyerek balığın yağ asidi metabolizmasını araştırmak için tüm vücut yağ asidi denge yöntemini başarıyla kullanmışlardır. Araştırmada, balıkların LA ve ALA'daki karbon ve çift bağ sayılarını arttırdığı görülmüştür. Ayrıca araştırmada kullanılan balık türünün enerji üretmek amacıyla 18C'lu yağ asitlerini ALA > LA > OA şeklinde belirtilen sıraya göre tercihli olarak kullandığını göstermişlerdir. FO ve LO bazlı diyetlerle 72 gün süresince beslenen gökkuşağı alabalığındaki yağ asidi metabolizmasının araştırılması için tüm vücut yağ asidi denge yöntemi kullanılmıştır (Turchini ve Francis, 2009). Bu çalışmada, LO içeren diyetle beslenen balıklarda 18:3n-3 yağ asidinin büyük bir oranının (%58,1) vücutta depolandığı, %29,5'lik bir oranın okside olduğu ve çok az bir miktarının (%12,4) elongasyon ve desaturasyona (Δ-6 ve Δ-5) uğradığı rapor edilmiştir. Gökkuşağı alabalığı ile ilgili yapılan başka bir araştırmada (Thanuthong ve ark., 2011), balık yağı içermeyen ve ALA/LA oranları farklı olan ve bitkisel yağlar içeren beş farklı diyet hazırlanarak balıklar bu diyetlerle 7 hafta süreyle beslenmişlerdir. Araştırmada tüm vücut yağ asidi denge yöntemi kullanılarak balıkların ALA ve LA'ları nasıl metabolize ettikleri ölçülmüştür. Yapılan hesaplamalarda toplam 18C'lu PUFA miktarları arttıkça, hem n-3 hem de n-6 yağ asitlerinin biyolojik dönüşümlerinde ara yağ asitlerinin önemli düzeylerde ortaya çıktığı bildirilmiştir. Δ-6 desaturazın etkinliği, 18C'lu PUFA mevcudiyetinden olumsuz etkilenmiş olmasıyla birlikte toplam görünür *in vivo* enzim aktivitesi ile 18C'lu PUFA substrat mevcudiyeti arasında doğru bir orantı olduğu belirtilmiştir. n-3 PUFA'ların Δ-6 desaturaz afinitesi n-6 PUFA'lardan daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Diyetlerdeki n-3 HUFA'nın ortadan kaldırılması ile Δ-6 desaturaz transkripsiyon oranının yukarı doğru bir artış gösterdiği, ancak toplam görünen *in vivo* biyoçevirim aktivitesinin

substrat mevcudiyetinden doğrudan ve pozitif olarak etkilendiği belirtilmiştir (Thanuthong ve ark., 2011).

Atlantik morina balığı (14,4 g/balık) ile ilgili yapılan bir araştırmada (Hixson ve Parrish, 2014) ise, balık yağı yerine farklı oranlarda CSO yağı kullanılmış ve bu yağların balıklar tarafından nasıl metabolize edildiği tüm vücut yağ asidi denge metodu kullanılarak hesaplanmıştır. Balık yağının tamamı yerine CSO yağının kullanıldığı diyetle 13 hafta süreyle beslenen balıkların 18:3n-3 yağ asidinin %13'ünü 20:3n-3 yağ asidine dönüştürdüğünü ve geri kalan %87 oranındaki 18:3n-3 yağ asidinin okside edildiği belirtilmiştir. Eroldoğan ve ark. (2013), FO'nun tamamı yerine MUFA'lar bakımından zengin olan kanola yağı ve n-6 PUFA'lar bakımından zengin olan pamuk tohumu yağı ile bu iki bitkisel yağın eşit oranda kullanıldığı yemlerle juvenil Avrupa levrek balıklarını 162 gün süreyle beslemişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda belirtilen yemlerdeki yağ asitlerinin nasıl metabolize edildiğini hesaplamak amacıyla tüm vücut yağ asidi denge yöntemini kullanmışlardır. Yapılan hesaplamalarda yemlerde yüksek oranda balık unu kullanımından dolayı *in vivo* yağ asidi biyoçevirimi çok düşük düzeyde kaydedilmiştir. β-oksidasyon düzeyleri diyetlerdeki yağ kaynağından doğrudan etkilenmişlerdir.

Yukarıda belirtilen araştırmalardan da görüleceği gibi deniz balıklarının yağ asidi metabolizmasında tüm vücut yağ asidi denge yönteminin uygulanması hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle, çipura gibi deniz balıklarında yağ asidi metabolizmasının nasıl gerçekleştiği ile ilgili bu yöntemin kullanılmasına yönelik çok sayıda araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEME

3.1.1 Araştırma yeri ve süresi

Araştırmanın yemleme deneyleri Tarım Bakanlığına bağlı Antalya Beymelek'te bulunan Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretme ve Eğitim Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Yemleme deneyleri 31 Temmuz – 28 Ekim 2017 tarihleri arasında 15 günlük 6 periyot ve toplam 90 günde tamamlanmıştır.

3.1.2 Deneylerde kullanılan balıklar

Yemleme deneylerinde 2017 yılı üretim dönemine ait çipura balıkları, *Sparus aurata*, (ortalama ağırlık 61,5 ± 4,9 g ve ortalama boy 14,75 ± 0,5 cm) kullanılmıştır. Balıklar araştırma enstitüsünün üretim havuzlarından temin edilmiştir. Araştırmada her deney tankında 30 adet olacak şekilde, 15 adet tanka rastgele toplam 450 adet balık yerleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Yemleme deneylerinde kullanılan balıklar.

3.1.3 Deney tankları ve kullanılan su

Araştırmada her deney grubu için 3 tekerrürlü olacak şekilde toplam 15 adet dairesel tank (500 L kapasiteli) kullanılmıştır (Şekil 3.2). Sindirilebilirlik deneylerinin yürütülebilmesi amacıyla ayrıca her deney grubu için 2 tekerrürlü olacak şekilde toplam 10 silindiro-konik tank (150 L kapasiteli) kullanılmıştır. Bu tanklara balık dışkılarının kolay toplanabilmesi için ayrı bir dışkı toplama sistemi yerleştirilmiştir (Şekil 3.3). Deney tanklarına denizden filtre edilen su kullanılmıştır.



Şekil 3.2 Deney tankları.



Şekil 3.3 Silindiro-konik tankları.

3.1.4 Deneme Yemleri

Deney yemlerinde yağların haricindeki kullanılan hammaddeler ülkemizde balık yemi üretimi yapan yem fabrikalarından temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan yağlar ise Türkiye'de yağ ticareti yapan özel bir firmadan satın alınmıştır. Diyetler juvenil çipura balığının besin ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde daha önceki araştırmalardan yararlanılarak formüle edilmiştir (Menoyo ve ark., 2004; Izquierdo ve ark., 2005). Diyetlerde sırasıyla balık yağı (FO), kamelina tohumu yağı (CSO) ve çiya yağı (CO) kullanılmıştır. Son iki diyet grubunda balık yağı yerine %60 oranında CSO yağı (60CSO) ve yine %60 oranında CO yağı (60CO) kullanılarak hazırlamıştır. Sindirilebilirlik deneylerinde, hazırlanan yem formülasyonuna %1 oranında kromik oksit (Cr_2O_3) ilave edilen diyetler kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan yem formülasyonu ile besin maddeleri miktarı, diyetlerde kullanılan yağların yağ asidi kompozisyonu ve diyetlerdeki yağ asidi kompozisyonu sırasıyla Tablo 3.1., 3.2 ve 3.3'te sunulmuştur. Hazırlanan diyetler yemleme deneylerinde kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Sindirilebilirlik deneyleri için aynı yem formülasyonuna bağlı kalmak koşuluyla %1 oranında kromik oksit (Cr_2O_3) ilave edilerek yemler hazırlanmıştır. Bu yemler sindirilebilirlik deneyleri için hazırlanan tanklarda kullanılmıştır.



Şekil 3.4 Araştırmada kullanılan diyetlerden bir örnek.

Tablo 3.1 Araştırmada kullanılan yem formülasyonu[1].

	Diyetler[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
Hammaddeler (g/kg)					
Balık unu	382	382	382	382	382
Mısır gluteni	278	278	278	278	278
Soya unu	40	40	40	40	40
Tam buğday unu	40	40	40	40	40
Jelatin	40	40	40	40	40
Balık yağı	180	0	0	72	72
Camelina tohumu yağı	0	180	0	108	0
Chia yağı	0	0	180	0	108
Mineral karışımı[a]	15	15	15	15	15
Vitamin karışımı[b]	15	15	15	15	15
Cr_2O_3	10	10	10	10	10
Yemdeki Besin Maddeleri (%) ve enerji					
Nem	7,9	7,9	7,8	7,6	7,4
Ham Protein	48,1	48,1	48,0	48,5	48,5
Ham Yağ	21,8	21,2	21,4	21,9	21,6
Ham Kül	11,4	11,5	11,4	11,4	11,6
Ham Selüloz	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9
AEM[c]	9,9	9,9	10,0	9,8	9,9
MOE[d]	15,5	15,5	15,5	15,6	15,5
Toplam Enerji	21,3	21,3	21,3	21,4	21,3

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort.±S.E.M.) olarak sunulmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Camelina tohumu yağı, CO: Chia yağı, 60CSO: 60%CSO+40%FO, 60CO: 60%CO+40%FO.
[a]Mineral karışımı: Calciumcarbonate 2,1g; Calciumphosphatedibasic 73,5 g; Citricacid 0,227 g; Cupriccitrate 0,046 g; Ferriccitrate (16 to 17% Fe) 0,558 g; Magnesiumoxide 2,5 g; Manganesecitrate 0,835 g; Potassiumiodide 0,001 g; Potassiumphosphatedibasic 8,1 g; Potassiumoxide 6,8 g; Sodiumchloride 3,06 g; Sodiumphosphate 2,14 g ve Zinccitrate 0,133 g.
[b]Vitamin karışımı: A Vitamini 10.582,00 IU; D3 Vitamini 881,84 IU; E Vitamini 176,36 mg; B12 Vitamini 48,52 µg; Riboflavin 52,92 mg; Niacin 246,92 mg; D-pantothenicacid 88,20 mg; Menadione 5,28 mg; Folicacid 7,04 mg; Pyridoxine 17,68 mg; Thiamine 31,80 mg; D-biotin 1,24 mg.
[c]AEM: Azotsuz Ekstrakt Maddeler. [d]MOE: Metabolize Olabilir Enerji.

Tablo 3.2 Diyetlerde kullanılan yağların yağ asidi kompozisyonu (%)[1].

Yağ asitleri	Kullanılan Yağlar[2]		
	FO	**CSO**	**CO**
14:0	2,15 ± 0,00[a]	0,05 ± 0,00[b]	0,04 ± 0,00[c]
15:0	0,83 ± 0,00[a]	0,02 ± 0,00[b]	0,02 ± 0,00[b]
16:0	15,41 ± 0,00[a]	5,13 ± 0,02[c]	6,84 ± 0,01[b]
17:0	0,27 ± 0,00[a]	0,04 ± 0,01[b]	0,04 ± 0,00[b]
18:0	4,64 ± 0,01[a]	2,40 ± 0,02[c]	2,72 ± 0,04[b]
20:0	0,34 ± 0,01[b]	0,96 ± 0,00[a]	0,23 ± 0,00[c]
22:0	0,28 ± 0,01[a]	0,26 ± 0,04[a]	0,07 ± 0,00[b]
24:0	0,13 ± 0,01[a]	0,16 ± 0,01[a]	0,08 ± 0,00[b]
16:1n-7	3,49 ± 0,00[a]	0,16 ± 0,00[b]	0,16 ± 0,01[b]
17:1n	0,16 ± 0,00[a]	0,01 ± 0,00[b]	0,01 ± 0,00[b]
18:1n-7	4,32 ± 0,00[a]	1,06 ± 0,01[b]	0,46 ± 0,01[c]
18:1n-9	12,98 ± 0,00[b]	16,91 ± 0,00[a]	6,08 ± 0,04[c]
20:1n-9	8,40 ± 0,03[b]	11,01 ± 0,00[a]	0,48 ± 0,01[c]
24:1n-9	0,35 ± 0,06[b]	0,58 ± 0,01[a]	0,03 ± 0,00[c]
18:2n-6	15,81 ± 0,00[c]	18,37 ± 0,02[b]	20,70 ± 0,05[a]
20:2n-6	1,05 ± 0,01[b]	2,05 ± 0,03[a]	0,08 ± 0,01[c]
22:2n-6	0,09 ± 0,00[b]	0,21 ± 0,01[a]	0,21 ± 0,01[a]
18:3n-6	0,23 ± 0,01[b]	0,13 ± 0,00[c]	0,33 ± 0,00[a]
20:3n-6	0,74 ± 0,01	ND	ND
20:4n-6	0,48 ± 0,01[a]	0,08 ± 0,01[b]	0,06 ± 0,00[b]
18:3n-3	5,15 ± 0,02[c]	39,93 ± 0,11[b]	60,20 ± 0,09[a]
20:3n-3	0,36 ± 0,01[a]	0,02 ± 0,00[c]	0,05 ± 0,00[b]
18:4n-3	1,35 ± 0,02	0,02 ± 0,00[c]	0,07 ± 0,00[d]
20:4n-3	1,23 ± 0,00	ND	ND
20:5n-3	7,38 ± 0,06	ND	ND
22:6n-3	12,26 ± 0,01	ND	ND
∑SFA	24,05 ± 0,00[a]	9,04 ± 0,06[c]	10,04 ± 0,03[b]
∑MUFA	29,70 ± 0,06[a]	29,73 ± 0,01[a]	8,23 ± 0,04[b]
∑PUFA	46,01 ± 0,07[c]	60,73 ± 0,11[b]	81,63 ± 0,04[a]
∑n-3 PUFA	27,72 ± 0,06[c]	39,98 ± 0,11[b]	60,43 ± 0,04[a]
∑n-6 PUFA	18,39 ± 0,01[c]	20,75 ± 0,01[b]	21,19 ± 0,05[a]
n-3/n-6	1,508 ± 0,00[c]	1,926 ± 0,01[b]	2,851 ± 0,01[a]
n-3 HUFA	21,22 ± 0,06[a]	0,02 ± 0,00[c]	0,05 ± 0,00[b]
EPA + DHA	19,64 ± 0,10	ND	ND

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve ortalamanın standart hata (Ort.±S.E.M.) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre % 95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Camelina tohumu yağı, CO: Chia yağı, 60CSO: 60%CSO+40%FO, 60CO: 60%CO+40%FO. ND = Saptanamamıştır.

Tablo 3.3 Diyetlerdeki yağ asidi kompozisyonu (mg g yağ)[1].

Yağ asitleri	Diyetler[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
14:0	64,8±0,02^{a}	28,3±0,02^{d}	23,9±0,01^{e}	52,0±0,01^{b}	43,6±0,01^{c}
15:0	3,1±0,03^{a}	1,2±0,02^{c}	0,7±0,02^{d}	2,0±0,02^{b}	1,9±0,03^{b}
16:0	156,2±0,05^{a}	68,3±0,03^{e}	75,8±0,02^{d}	97,0±0,05^{c}	103,6±0,02^{b}
17:0	2,9±0,07^{a}	1,4±0,05^{b}	0,8±0,01^{c}	0,9±0,05^{c}	1,4±0,04^{b}
18:0	37,1±0,10^{a}	26,5±0,05^{e}	35,5±0,07^{b}	27,9±0,02^{d}	29,2±0,02^{c}
20:0	2,5±0,05^{c}	10,0±0,07^{a}	1,9±0,01^{d}	5,7±0,01^{b}	2,1±0,01^{d}
21:0	7,3±0,04^{c}	10,6±0,06^{a}	0,8±0,01^{e}	8,5±0,04^{b}	3,5±0,16^{d}
24:0	1,4±0,06^{c}	2,3±0,04^{a}	0,8±0,01^{d}	1,9±0,02^{b}	1,2±0,01^{c}
16:1n-7	36,8±0,13^{a}	12,6±0,12^{d}	10,6±0,01^{e}	20,4±0,01^{c}	21,6±0,08^{b}
17:1n	2,7±0,08^{a}	1,1±0,03^{c}	0,3±0,06^{e}	0,9±0,06^{d}	1,6±0,06^{b}
18:1n-7	23,1±0,11^{a}	12,0±0,01^{d}	11,8±0,02^{d}	14,9±0,07^{c}	15,8±0,01^{b}
18:1n-9	122,1±0,01^{c}	155,3±0,12^{a}	41,4±0,04^{e}	139,9±0,02^{b}	76,5±0,02^{d}
20:1n-9	57,5±0,04^{c}	91,1±0,00^{a}	10,1±0,02^{e}	70,2±0,01^{b}	12,6±0,03^{d}
24:1n-9	3,1±0,01^{a}	3,2±0,02^{a}	1,3±0,01^{c}	3,1±0,01^{a}	1,9±0,01^{b}
18:2n-6	108,7±0,01^{e}	130,2±0,01^{c}	146,8±0,03^{a}	124,9±0,01^{d}	130,2±0,01^{b}
20:2n-6	3,9±0,03^{b}	4,0±0,05^{b}	4,3±0,01^{a}	3,5±0,04^{c}	3,5±0,11^{c}
18:3n-6	3,1±0,02^{a}	1,6±0,01^{c}	1,7±0,04^{c}	2,1±0,01^{b}	2,1±0,06^{b}
20:3n-6	7,0±0,05^{a}	ND	ND	3,9±0,03^{b}	3,8±0,03^{b}
20:4n-6	6,5±0,01^{a}	3,4±0,03^{c}	3,2±0,02^{d}	4,9±0,03^{b}	4,8±0,05^{b}
18:3n-3	43,2±0,02^{e}	287,2±0,05^{c}	474,5±0,06^{a}	208,3±0,05^{d}	330,0±0,03^{b}
20:3n-3	3,7±0,02^{a}	ND	ND	1,4±0,06^{b}	1,3±0,08^{b}
18:4n-3	20,4±0,05^{a}	3,0±0,02^{d}	3,0±0,03^{d}	8,5±0,00^{b}	8,3±0,04^{c}
20:4n-3	11,1±0,05^{a}	ND	ND	6,5±0,03^{b}	6,5±0,03^{b}
20:5n-3	68,1±0,10^{a}	13,1 ±0,00^{e}	13,3±0,00^{d}	36,7±0,01^{c}	39,0±0,01^{b}
22:6n-3	102,8±0,00^{a}	29,5±0,00^{e}	32,2±0,00^{d}	51,2±0,01^{c}	51,9±0,00^{b}
∑SFA	275,2±0,16^{a}	148,6±0,20^{d}	140,2±0,05^{e}	196,8±0,07^{b}	186,4±0,12^{c}
∑MUFA	245,3±0,09^{b}	275,3±0,15^{a}	75,4±0,12^{d}	249,4±0,06^{b}	130,0±0,09^{c}
∑PUFA	376,8±0,16^{e}	472,0±0,11^{c}	679,0±0,06^{a}	451,8±0,11^{d}	581,3±0,08^{b}
∑n3	249,4±0,20^{e}	332,8±0,06^{c}	523,0±0,03^{a}	312,6±0,11^{d}	436,9±0,10^{b}
∑n6	127,4±0,08^{d}	139,1±0,10^{c}	156,0±0,03^{a}	139,2±0,05^{c}	144,4±0,06^{b}
n3/n6	1,930^{e}	2,392^{c}	3,353^{a}	2,245^{d}	3,026^{b}
n-3 HUFA	185,8±0,15^{a}	42,6±0,00^{e}	45,5±0,00^{d}	95,7±0,08^{c}	98,7±0,06^{b}
EPA+DHA	170,9±0,10^{a}	42,6±0,00^{e}	45,5±0,00^{d}	87,9±0,01^{c}	90,9±0,01^{b}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve ortalamanın standart hata (Ort.±S.E.M.) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre % 95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Camelina tohumu yağı, CO: Chia yağı, 60CSO: 60%CSO+40%FO, 60CO: 60%CO+40%FO. ND = Saptanamamıştır.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Diyetlerin hazırlanması

Araştırmada kullanılan diyetler İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretimi, Uygulama ve Araştırma Birimi Yem Ünitesi'nde hazırlanmıştır. Diyetlerin hazırlanmasında ihtiyaç duyulan hammaddeler öncelikle öğütülerek (400 – 500 µm) kullanıma hazır hale getirilmiştir. Bu hammaddeler yem formülasyonunda belirtildiği gibi tartılarak homojen hale gelinceye kadar karıştırılmıştır. Yapılan bu karışım hazırlanacak 5 farklı diyet için ayrı ayrı tartılmış ve her diyet için formülasyonda belirtildiği gibi farklı yağlar spreylenerek ilave edilmiştir. Araştırma için 5 farklı izo-nitojenik (48 g/kg ham protein) ve izo-lipidik (18 g/kg ham yağ) yemler hazırlanmıştır. Farklı lipit kaynakları içeren yemler balıkların büyüklükleri dikkate alınarak 4 mm'lik pelet boyutunda üretilmiştir. Diyetler Sapanca Araştırma Birimi'nde bulunan sanayii tipi kıyma makinesi kullanılarak hazırlanmıştır. Sindirilebilirlik deneyleri için aynı yem formülasyonuna bağlı kalmak koşuluyla %1 oranında Cr_2O_3 ilave edilerek yemler üretilmiştir. Hazırlanan yemler yaklaşık 30°C olan oda sıcaklığında 3 gün süre ile kurutulmuştur.

3.2.2 Deney Koşulları

Deney tanklarına filtre edilen deniz suyundan dakikada 2 litre olacak şekilde su girişi sağlanmıştır. Deneylerin yürütüldüğü kuluçkahanede 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde normal günün aydınlık ve karanlık periyodu uygulanmıştır. Tanklarda kullanılan suyun çözülmüş oksijen miktarı, su sıcaklığı ve pH ölçümleri günlük olarak ve tuzluluk oranı ise haftada bir otomatik olarak çalışan YSI Pro DSS Dijital cihaz ile ölçülmüştür. Yemleme deneylerinde kullanılan toplam 450 balıktan her deney tankına 30 adet olacak şekilde rastgele bir şekilde yerleştirilmiştir. Balıklar hazırlanan araştırma yemleriyle beslenmeden önce iki hafta süreyle deney tanklarında adaptasyona tabi tutulmuştur. Balıklar sabah saat 0900 ve akşam 1600'da günde iki kez olmak üzere elle ve doyuncaya kadar beslenmişlerdir.

Araştırmada uygulanan metotların gereği olarak her deney grubu için 2 tekerrürlü olacak şekilde 150 L hacmindeki sindirilebilirlik tankları kullanılmıştır. Tanklarda kolay dışkı toplamak için ilaveler yapılmıştır. Sindirilebilirlik deneylerinin yürütüldüğü tanklara daha önce

yemleme deneylerinde kullanılan aynı grup balıklardan her tankta 10'ar adet olacak şekilde paralelli olarak yerleştirilmiştir. Bu balıklara kromik oksit ilave edilen yemler verilmiştir.

Balıkların yağ asidi sindirilebilirliğinin hesaplanmasında kullanılmak amacıyla balık dışkıları toplanmıştır. Bu amaçla balıklara yem verildikten 2 saat sonra tanklarda kalan yem artıkları toplanmış ve deneme tanklarının su çıkış borularına yerleştirilen örnek toplama sistemi vasıtasıyla dışkılar toplanmıştır. Dışkılar toplanmadan önce deneme tanklarında kalan yem artıklarının toplanması ve uzaklaştırılması sifon yoluyla yapılmıştır. Toplanan dışkılar liyoflizasyon ile kurutulduktan sonra analizler yapılıncaya kadar uygun ambalajlar içinde -80°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Yemlerdeki ve balık dışkılarındaki Cr_2O_3 konsantrasyonu Petry ve Rapp (1970)'e göre analiz edilmiştir. Cr_2O_3 analizlerinde spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır.

3.2.3 Büyüme Performansı

Yemleme deneylerinin başlangıcında ve her 15 günde bir olmak üzere periyodik olarak deney tanklarında bulunan balıkların bireysel ağırlıkları (g) ölçülmüştür. Balıkların ağırlıkları 0,1 g'a duyarlı terazi ile yapılmıştır. Deney başlangıcında ve deney sonunda deney tanklarında bulunan balıkların bireysel boyları (cm) da sabit bir zemin üzerindeki ölçüm tahtası kullanılarak yapılmıştır (Lindsay ve Barbara, 1984). Bireysel boy ve ağırlık tartımları yapılmadan önce balıklar anesteziye (1,6 g Benzaquin + 10 ml asetat + 10 l su) tabi tutulmuştur. Balıkların büyüme performansı parametreleri Ricker (1979)'a göre hesaplanmıştır.

Bireysel Canlı Ağırlık Artışı (BCAA); periyot sonundaki canlı ağırlık değerinden (W_2) periyot başındaki canlı ağırlık değeri (W_1) çıkartılarak hesaplanmıştır.

$BCAA = W_2 - W_1$

Kondüsyon Faktörü (KF);

$KF = (W/L^3) \times 100$

W: Balığın ağırlığı (g)

L: Balığın toplam boyu (cm)

Spesifik Büyüme Oranı (SBO);

SBO = 100 x (Ln W_f - Ln W_i / t)

W_f: Periyot sonundaki bireysel canlı ağırlık (g)

W_i: Periyot başındaki bireysel canlı ağırlık (g)

t: Zaman (gün olarak) formülleri ile hesaplanmıştır.

Tüketilen yem miktarı tanklara göre periyodik olarak hesaplanmıştır. Periyodik olarak tüketilen toplam yem miktarı tanktaki balık sayısına bölünerek ortalama bireysel yem tüketim miktarı hesaplanmıştır. Yemden Yararlanma Oranı (YYO);

BCAA: Bireysel canlı ağırlık artışı

YYO = Periyot süresince tüketilen yem miktarı (g)/Periyottaki BCAA (g)

şeklinde hesaplanmıştır.

Deney başlangıcında toplam 10 adet balık ve deney sonunda her deney tanklarından 4'er adet olmak üzere her gruptan rastgele alınan 12 adet balığın toplam ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve iç organların ağırlığı saptanarak balıkların viserosomatik (VSİ) ve hepatosomatik (HSİ) indeksleri hesaplanmıştır.

VSİ = [Balığın iç organları ağırlığı (g)/Balığın canlı ağırlığı (g)]x100

HSİ = [Balığın karaciğer ağırlığı (g)/Balığın canlı ağırlığı (g)]x100

formülleriyle hesaplanmıştır.

3.2.4 Örnek Toplama

Yemleme deneyinin başlangıcında, araştırmada kullanılan balıklardan toplam 40 adet, yapılacak farklı analizler için sıvı azotta dondurularak –80°C'de muhafaza edilmiştir. Örneklemeler yapılmadan önce balıklar 24 saat süreyle aç bırakılmıştır. Balık örneklerinden 10 tanesinin sindirim kanalı çıkartıldıktan sonra sindirim sistemi histolojik analizlerinde kullanılmak amacıyla %10'luk formadehit solüsyonunda muhafaza edildi. 12 adet balık HSİ ve VSİ hesaplamaları için kullanıldı. Vücut proksimet analizleri için 12 adet ve yağ asidi analizleri

için 12 adet olmak üzere toplam 24 adet balık kullanılmıştır. Hazırlanan diyetlerden de besin maddeleri ve yağ asidi analizleri için yeterli miktarda örnek alınmıştır.



Şekil 3.5 Deney balıklarında iç organların genel görünümü.

Yemleme deneylerinin sonunda, her tanktan 6 adet olmak üzere toplam 90 adet balık vücut proksimet analizleri, yağ asidi analizleri, HSİ, VSİ ve sindirim sistemi histolojik analizleri için muhafaza edilmiştir. Histolojik analizler için alınan örnekler yukarıda da belirtildiği gibi %10'luk formaldehit solüsyonunda, diğer analizler için alınan örnekler ise -80 °C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Tüm örnekler uygun ambalajlar içerisinde strafor paketler yardımıyla laboratuvara taşınmıştır.

3.2.5 Kimyasal Analizler

Yem örnekleri öğütülerek analize hazır hale getirilmiştir. Yemlerdeki kuru madde (KM), ham protein (HM), ham yağ (HY), ham kül (HK) ve ham selüloz (HS) analizleri İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Yem Analiz Laboratuarı'nda yapılmıştır. Yemlerdeki azotsuz ekstrakt maddeler, toplam enerji ve metabolize olabilir enerji ise değerleri analiz sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Balık örnekleri tüm vücut ve karaciğerler laboratuvar tipi homojenizatör yardımıyla analize hazır hale getirilmiştir. Yapılan analizlerle tüm balık vücudundaki KM, HP, HY, HK ve balık karaciğerindeki HY miktarları belirlenmiştir. Yem, balık eti ve balık dışkısındaki yağ asitleri analizi Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yem Analiz Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Kimyasal analizler AOAC (2006)'ye göre üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Yemlerdeki toplam enerji ve metabolize olabilir enerji (ME KJ/g)

miktarları ise Arthur ve Phillips (1972)'e göre hesaplanmıştır. Yem, tüm vücut ve balık dışkılarındaki yağ asidi analizleri için örneklerdeki yağ miktarları Folch ve ark. (1957)'na göre ve yağ asitleri metil esterleri Ichihara ve ark. (1996)'na göre yapılmıştır.

3.2.5.1. Kuru Madde

Yem örnekleri daha önce kurutulan ve desikatörde oda sıcaklığına getirilen kurutma kaplarında tartılmıştır. Örnekler 105 ºC sabit sıcaklıkta 4-6 saat tutulduktan sonra desikatörde oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletilmiştir. Birinci tartım ile ikinci tartım arasındaki farkın örnek ağırlığına yüzde oranı ile örnekteki KM miktarı hesaplanmıştır. Balık örnekleri ise 105ºC sıcaklıkta 12 saat bekletilerek yem örneklerindekine benzer şekilde KM miktarı hesaplanmıştır.

3.2.5.2. Ham Protein

Yem ve balık örneklerinden 0,5 - 0,7 g tartılarak yaş yakma tüplerine aktarılmıştır. İki adet Kjeldahl tableti ve 20 ml sülfürik asit (H_2SO_4) ilave edilerek yakma ünitesine (Şekil 3.6) yerleştirilen tüpler 450°C'de yaklaşık olarak 1,5 saat süreyle yada tüp içindeki sıvı berraklaşıncaya kadar yaş yakma işlemi devam ettirilmiştir ve tüpler oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletilmiştir. Oda sıcaklığına gelen tüpler protein tayin cihazına (Kjeldahl, GerhardtVapodest, 45s) takılarak distilasyon ve titrasyon işlemleri yapılmıştır. Titrasyon işlemi sonucunda elde edilen değerler kullanılarak örnekteki HP oranı hesaplanmıştır.



Şekil 3.6 Yakma Ünitesi

3.2.5.3 Ham Yağ

Yem örneklerinden yaklaşık 5 g tartılarak yağ kartuşlarına aktarılmıştır, kartuşların ağzı pamuktan bir tıpayla kapatılmış ve bu kartuşlar soxhelet cihazına (VelpScientifica Ser, 148) yerleştirilmiştir. Temizlenmiş ve kurutulmuş yağ krozelerinin ağırlıkları belirlinerek yağ tayin cihazına yerleştirilmiştir. Böylece cihaz yaklaşık olarak 1 saat süreyle çalıştırılmıştır (Şekil 3.8). Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra yağ krozeleri alınarak yaklaşık olarak etüvde 1 saat süreyle 105ºC'de tutulduktan sonra desikatöre alınarak oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletilmiştir. Yapılan tartımlar sonucunda kroze ve ham yağ miktarları saptanmıştır. Kroze ve yağ ağırlığından boş kroze ağırlığı çıkartılıp örnek ağırlığına bölünmesiyle ve 100 ile çarpımı sonucunda örneklerdeki yüzde HY oranı hesaplanmıştır.



Şekil 3.7 Soxhelet cihazı.

3.2.5.4 Ham Selüloz

Yemlerde bulunan HS dışındaki organik maddeleri eritmek için yemler farklı konsantrasyonlardaki H_2SO_4 ve potasyum hidroksit (KOH) ile 30 dakika kaynatılmıştır. Muhtemel organik kalıntılar seyreltik H_2SO_4, sodyum hidroksit (NaOH), su ve asetonla yıkanmıştır. Kalıntılar 130ºC'deki etüvde 1 saat kurutulmuş ve desikatörde oda sıcaklığına

getirilerek tartılmıştır. Kuru örnek 550-600ºC'deki kül fırınında 30 dakika süreyle yakılıp tekrar desikatörde oda sıcaklığına getirilerek tartılmıştır. İkinci tartım ile birinci tartım arasındaki farkın örnek miktarına bölünmesi ve 100 ile çarpımı sonucunda örnekteki yüzde HS oranı hesaplanmıştır.

3.2.5.5 Ham Kül

Yem ve balık etinden yaklaşık 1,5 g tartılarak krozelere aktarılmış ve 450-550ºC'deki kül fırınında 4-6 saat süreyle yakma işlemi yapılmıştır. Sonra krozeler desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutularak tekrar tartım yapılmıştır. Sonuç örnek ağırlığına bölünüp 100 ile çarpılarak örneklerdeki yüzde HK oranı hesaplanmıştır.

3.2.5.6 Azotsuz Ekstrakt Maddeler

Yemlerdeki azotsuz ekstrakt maddeler analiz yoluyla değil, yapılan diğer analiz sonuçlarından yararlanarak aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

% AEM = 100 - (% Su + % HP + % HY + % HS + % HK).

3.2.5.7 Toplam ve Metabolize Olabilir Enerji Değerleri

Toplam enerji değeri yem örneklerindeki analizler sonucunda saptanan besin maddelerinden HP, HY ve karbonhidratların sahip oldukları enerji miktarlarına göre hesaplanmıştır.

Toplam enerji = [5,65(% HP)+9,45(% HY)+4,10 (% AEM)] x 10/1000 x 4,186

Metabolize olabilir enerjinin hesaplanmasında ise enerjisi olan besin maddelerinin karnivor türlerdeki sindirilebilirlik değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

MOE = [3,9(% HP) + 8,0(% HY) + 1,6(% AEM)] x 10/1000 x 4,186

Proteinler için: 3,9 Kkal/g

Yağlar için: 8,0 Kkal/g

Karbonhidratlar için: 1,6 Kkal/g

1 kal = 4,186 Joule

3.2.5.8 Yağ Asidi Analizleri için Yağların Elde Edilmesi

Yem, balık ve dışkılardaki yağ asitlerinin belirlenmesinde kullanılan yağlar Folch ve ark. (1957)'na göre analiz edilmiştir. Yem ve homojen hale getirilen balığın tüm vücudundan 1 g alınarak 100 ml'lik santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Tüpteki örneğe bir miktar petrol eteri, kloroform ve metanol ilave edilerek homojenizatör ile örnek parçalanmıştır. Tüp, santrifüj edildikten sonra yüzeyde biriken yağ tabakası bir pipet ile alındı, temiz ve ağırlığı belirlenmiş olan yağ balonuna aktarıldı. Evaporatör cihazında yağdaki eter buharlaştırıldıktan sonra yapılan bir tartım ile örneklerdeki yağ miktarı belirlenmiştir.

3.2.5.9 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Yağ asidi metil esterleri Ichihara ve ark. (1996)'nın geliştirdiği yönteme göre yapılmıştır. Yağ asidi metil esterleri metanol ve n-heksan da hazırlanan 2 molarlık KOH kullanılarak hazırlanmıştır. Elde edilen yağ örneklerinden 10 mg tartılarak önce 2 ml heksan içerisinde çözdürülmüş ve sonra bu örnek 2 molarlık metanolik KOH'ın 4 ml'si içerisinde tekrar çözdürülmüştür. Bu karışımı içeren tüpler oda sıcaklığında 2 dakika süreyle vortekste karıştırılmıştır. Tüpler dinlenmeye bırakıldı ve yağ asidi metil esterleri tüplerin üst kısmında birikmiştir. Metil esterleri pipet ile kapalı tüplere aktarıldı ve bu tüpler gaz kromotografisine takılarak yağ asidi analizleri yapılmıştır.

3.2.5.10 Gaz Kromatografisinde Yağ Asitlerinin Analizi

Araştırmanın yem, balık ve dışkı örneklerindeki yağ asidi analizleri Agilent 6890 N (Santa Clara, USA) model gaz kromatografisinde (Şekil 3.8) yapılmıştır. Analizler sırasında gaz kromotografisinde aşağıdaki koşullar oluşturulmuştur.

Kolon : DB 23 (60m x 0,25mm x 0,25µm)
Kolon uzunluğu : 60 m
Dedektör : FID
Kolon Sıcaklığı : 175°C'de 26 dk bekletildi, 2°C/dk artışlarla 205°C'de 24 dk bekletildı
Enjektör Sıcaklığı : 270 °C
Taşıyıcı Gaz : Hidrojen
Split : 1/30
Dedektör Sıcaklığı : 300 °C
Attenüasyon : -2 (16)

Range : 1

Time Sabiti : 200

Hava Basıncı : 450 ml/dk

Heliyum Basıncı : 30 ml/dk

Taşıyıcı Gaz Basıncı : 0.5 ml/dk

Metil esterleri Sigma'da belirtilen standartlara göre tanımlanmıştır. Analizler üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.



Şekil 3. 8 Gaz kromatografisi.

3.2.5.11 Yağ Asidi Sindirilebilirliği

Yem ve dışkıdaki yağ asitlerinin sindirilebilirlik düzeyini belirlemek amacıyla yemlere %1 oranında Cr_2O_3 indikatörü ilave edilmiştir. Sindirilebilirlik tanklarında balıklara yapılan yemlemeden sonra yaklaşık olarak 2 saat geçtikten sonra tanklar bir sifon yardımıyla temizlenmiş ve ortamda yem artıklarının kalmadığından emin olduktan sonra yaklaşık olarak 5 saat süreyle dışkılar toplanmıştır. Toplanan dışkılar kapaklı ve steril olan kapların içerisine konularak analiz edilinceye kadar -80ºC'deki derin dondurucuda saklanmıştır. Yağ asitlerinin sindirilebilirlik oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Maynard ve ark., 1979).

Yağ asidi sindirilebilirlik oranı (%) =

$$100 - [100 \times \left(\frac{yemdeki\ \%\ kromik\ oksit}{dışkıdaki\ \%\ kromik\ oksit}\right) \times \left(\frac{dışkıdaki\ \%\ yağ\ asidi}{yemdeki\ \%\ yağ\ asidi}\right)]$$

3.2.5.12 Kromoksit Analizi

Araştırmanın yem ve dışkıdaki Cr_2O_3 analizleri Kimura ve Miller (1957)'e göre yapılmıştır. Öncelikle 0,0005 ile 0,004 g arasında 16 farklı ağırlıklardaki kromik oksit miktarları 0,0001 g'lık hassas terazi ile tartılarak filtre kağıdına sarılıp 250 ml'lik Kjeldahl tüplerine konulmuştur. Ayrıca iki adet boş (örnek ve filtre kâğıdı olmayan) ve iki adet kontrol (sadece filtre kâğıdı içeren) tüpleri kullanılmıştır. Cr_2O_3 içeren yem örnekleri için 0,3 g, dışkı içeren örnekler için 0,0030–0,0050 g arasında liyofilize edilmiş örnek kullanılmıştır. Örneklerin üzerine 3 ml konsantre nitrik asit (NHO_3, Sigma, CAS 7697-37-2) ilave edilerek tüm örnekle temas etmesi için karıştırılmıştır. Sonra Kjeldahl tüpleri 150ºC'de 30 dakika ve 170ºC'de 1 saat süreyle yakılmıştır. Aşırı buharlaşmanın engellenmesi için tüplerin ağız kısmına 50 ml'lik balon jojeler yerleştirilmiştir. İki saatlik yakma işlemi sonucunda tüpler oda sıcaklığına kadar soğumaya bırakılmıştır. Tüpler oda sıcaklığına geldikten sonra 1,5 ml %70'lik perklorik asit ($HClO_4$, Sigma, CAS 7601-90-3) ilave edilerek 220ºC'de 15 dakika yakılmıştır. Bu yakma işlemi sırasında tüplerini ağzı açık bırakılmıştır. Tekrar oda sıcaklığına getirilen tüplerdeki sıvı miktarı 1ml'den az olmuş ise 0,5 ml %70'lik $HClO_4$ eklenerek 220ºC'de ağızları kapalı olacak şekilde renk dönüşümü oluşuncaya kadar yakma işlemine devam edilmiştir. Tüpler oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 50 ml büyüklüğündeki balon jojelere aktarılarılmış ve 50 ml'den az olan örneklere saf su eklenerek 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bu örneklerin absorbansı 346,5 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okunmuştur. Daha önce oluşturulan standart eğri yardımı ile örneklerin Cr_2O_3 konsantrasyonları belirlenmiştir.

3.2.6 Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu Hesaplamaları

Juvenil çipura balıklarındaki yağ asidi metabolizması Turchini ve ark. (2007), Turchini ve ark. (2008) ve Turchini ve Francis(2009) tarafından geliştirilen metoda göre hesaplanmıştır. Bu metotta daha önce belirlenen lipit ve yağ asidi değerleri kullanılmıştır. Tüm vücut yağ asidi denge metabolizmasının hesaplanmasında ilk basamağında, Cunnane ve Anderson (1997)

yöntemine göre yemle alınan yağ asitlerinin vücutta birikim ve boşaltım süresince görünen ve kaybolan yağ asitlerinin saptanması aşağıdaki formülle yapılmıştır.

Yağ Asidi Alımı (YAA) = [yem alımı (g) x yemdeki yağ asidi (mg)]

Yağ Asidi Atımı = [yağ asidi alımı (mg) x yağ asidi sindirilebilirliği]

Yağ Asidi Birikimi = [final tüm vücut yağ asidi (mg) - başlangıç yağ asidi (mg)]

Görünen veya Kaybolan Yağ Asitleri = [Yağ Asidi Birikimi – (YAA − Yağ Asidi Atımı)]

İkinci aşama, 18:3n-3 yağ asidi dengesinin hesaplanmasını kapsamaktadır. Balıklara verilen 18:3n-3 yağ asidi miktarının metabolik süreçte görülen veya kaybolan yağ asitlerini hesaplamak için miktarlar mg'dan µmol'e dönüştürülmüştür. Analizler sonucunda görünen uzun zincirli yağ asitlerinin sayısı, desaturasyonu ve elongasyonundan birinci basamaktaki yağ asitlerinin µmol olarak çıkartılmasıyla hesaplanmıştır.

Normal yol elongasyon ve desaturasyon (NED)

ε(22:5n-3) = δ(22:6n-3)

ε(20:5n-3) = δ(22:5n-3) + ε(22:5n-3)

ε(20:4n-3) = δ(20:5n-3) + ε(20:5n-3)

ε(18:4n-3) = δ(20:4n-3) + ε(20:4n-3)

Çıkmaz ürüne doğru elongasyon (DE)

ε(20:3n-3) = δ(22:3n-3)

Toplam 18:3n-3 yağ asidinin dengesi

$$\varepsilon(18{:}3n\text{-}3) = \delta(20{:}3n\text{-}3) + \varepsilon(20{:}3n\text{-}3) + \delta(18{:}4n\text{-}3) + \varepsilon(18{:}4n\text{-}3)$$

ε = dönüştürülmüş belirtilen yağ asidinin mmol'ü (elongasyon veya desaturasyon)

δ = hayvan başına belirtilen görünen veya kaybolan yağ asidi (µmol)

ϕ = hayvan başına belirlenen yağ asidi değerinden kayboldu (µmol)

Üçüncü aşamada, 18:3n-3'ün normal desaturasyon ve elongasyon miktarının belirlenmesi için, 18:3n-3'ün elongasyon, desaturasyon ve β-oksidasyon aşamalarında kullanılan miktarları hesaplanmıştır.

Toplam 18:3n-3 yağ asidinin son ürünlere elongaz edildi, DE(18:3n-3)] =

δ(20:3n-3) + ε(20:3n-3)

Toplam 18:3n-3 yağ asidi elongaz yada desaturaz yoluyla dönüştürülmüş, NED(18:3n-3) =

δ(18:4n-3) + ε(18:4n-3)

Toplam Toplam 18:3n-3 yağ asidi okside edildi, Ox(18:3n-3) =

ϕ(18:3n-3) - DE(18:3n-3) - NED(18:3n-3)

18:3n-3 yağ asidinin çıkmaz ürünler elongaz edildiği yüzdesi =

[DE(18:3n-3)/ NI(18:3n-3)] × 100

18:3n-3 yağ asidinin elongasyon ve desaturasyon yüzdesi =

[NED(18:3n-3)/ NI(18:3n-3)] × 100

18:3n-3 yağ asidinin okside edildiği yüzdesi =

[Ox(18:3n-3)/ NI(18:3n-3)] × 100

NI(18:3n-3) = 18:3n-3 yağ asidinin alımı – 18:3n-3 yağ asidinin atımı

ε = dönüştürülmüş belirtilen yağ asidinin mmol'ü (elongasyon veya desaturasyon)

δ = hayvan başına belirtilen görünen veya kaybolan yağ asidi (µmol)

ϕ = hayvan başına belirlenen yağ asidi değerinden kayboldu (µmol)

Son aşamada, toplam elongasyon, Δ-5 ve Δ-6 desaturasyon aktiviteleri hesaplanmıştır. Aşağıdaki formüller excel programında oluşturularak her grup için 3 tekerrürlü olarak hesaplanmıştır.

W gün =

$$\left(\frac{başlangıç\ vücut\ ağırlığı\ +\ final\ vücut\ ağırlığı}{2}\right) \times (gün)$$

Δ-6 desaturasz =

$$[\delta(18{:}4n-3) + \varepsilon(18{:}4n-3) + \delta(22{:}6n-3)] \times \left(\frac{1}{W\ g\text{ün}}\right)]$$

Δ-5 desaturaz =

$$[\delta(20{:}5\text{n}-3) + \varepsilon(20{:}5\text{n}-3) \times \left(\frac{1}{W\ g\text{ün}}\right)]$$

Elongaz =

$$[\delta(20{:}\,3n-3) + \varepsilon(20{:}3n-3) + \varepsilon(18{:}4n-3) + \varepsilon(20{:}\,5n-3) + \varepsilon(22{:}\,5n-3] \times \left(\frac{1}{W\ g\text{ün}}\right)]$$

ε = dönüştürülmüş belirtilen yağ asidinin mmol'ü (elongasyon veya desaturasyon)

δ = hayvan başına belirtilen görünen veya kaybolan yağ asidi (µmol)

ϕ = hayvan başına belirlenen yağ asidi değerinden kayboldu (µmol)

W: Balığın ağırlığı (g)

3.2.7 Gen Ekspresyon Ölçümleri

Gerekli olan enzim aktivite ölçümleri İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür.

3.2.7.1 Toplam RNA İzolasyonu

RNAlater® (Life Technologies) solüsyonu içerisinde bulunan juvenile çipura balığına ait bağırsak (her tanktan 3 adet) ve karaciğer (her tanktan 6 adet) dokuları, 15 ml'lik falcon tüpleri içerisine konularak total RNA izolasyon aşamasına kadar -80°C ultra soğutucu içinde muhafaza edilmiştir. Deneye başlamadan önce, Ribonükleaz (RNAaz) aktivitesini engellemek için DEPC kimyasalı ile deney süresince kullanılan yüzeyler temizlenmiş ve akım kabini deney öncesinde mor ötesi ışığa maruz bırakılmıştır. Total RNA izolasyonu TRIzol reagent (Invitrogen) kiti ile yapılmıştır. Analiz aşamaları aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir;

- Bistüri kullanılarak, her örnekten 100 mg doku alınıp homejen hale getirmek için uygun cam tüp içerisine alınmıştır. Bistüriler her aşamda değiştirilmiştir, homojenizasyon tüpü

ise her işlemden sonra %70'lik etanol ile dezenfekte edilerek kullanılmıştır. Cam tüpe konulmuş dokulara 1 ml Trizol eklenip "IKA RW 20" digital model homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenat 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.

- Daha sonra her 1 ml TRIzol için 0,2 ml kloroform eklenip, 3 dakika daha inkübasyon için beklenmiştir. Ardından NF 800 R model soğutmalı santrifüj cihazı kullanılarak, 15 dakika, 4°C'de, 12.000 x *g*'de santrifüj edilmiştir.
- 15 dakika sonunda santrifüjden dikkatlice alınan tüplerin üstünde biriken ve RNA içeren berrak süpernatant faz dikkatlice yeni tüplere aktarılmıştır.
- Süpernatant içeren yeni tüplere 0,5 ml izopropanol eklenip, 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra, NF 800 R model soğutmalı santrifüj cihazı kullanılarak, 10 dakika, 4°C'de, 12.000 x *g*'de santrifüj edilmiştir. Bu işlemlerden sonra RNA çökeltisi tüpün dibinde, beyaz renkli pellet olarak gözlemlenmiştir.
- RNA pelleti içinde kalmış kontaminantları uzaklaştırmak ve daha temiz hale getirmek için, pellet üzerine 1 ml %75'lik etanol eklenmiştir. Örnekler kısaca vortekslenip, ardından NF 800 R model soğutmalı santrifüj cihazı kullanılarak 5 dakika, 4°C'de, 7.500 x *g*'de santrifüj edilmiştir.
- RNA pelletleri, kabin içerisinde tüpler kurutma kağıdı üzerinde ters çevrilerek yaklaşık 5 dakika kurumaya bırakılmıştır. Ardından 50 µL 'RNAse-Free water' kullanılarak RNA çözülmeye bırakılmıştır ve 56°C'de 15 dakika inkübasyona bırakılarak RNA'ların tam olarak çözünmesi sağlanmıştır.
- İzolasyonu gerçekleştirilen RNA örnekleri -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.7.2. Toplam RNA'ların Kalite ve Miktar Ölçümü

İzolasyonu gerçekleştirilen total RNA örneklerinin kalite ve miktar ölçümleri NanoDrop Thermo 2000c (Thermo Scientific) cihazı ile belirlenmiştir. Ölçüm sonuçları, Tablo 3.4'te belirtilmiştir. NanoDrop sonuçlarına göre, izolasyonu gerçekleştirilen tüm örneklerin miktarı (>400 ng/µl) ve kalitesi (1.8 >A280/A260) komplementer DNA sentezi için yeterli olduğunu göstermiştir.

Tablo 3.4 İzolasyonu gerçekleştirilen RNA örneklerinin kalite ve miktarını gösteren NanoDrop Sonuçları.

Örnek Kodu	Miktar (ng/µl)	A260	A280	260/280	260/230
C1	11421.5	285.537	138.291	2.06	2.13
C2	2990.1	74.753	38.972	1.92	0.67
C3	8252.4	206.31	110.146	1.87	0.67
C4	4029.7	100.743	54.158	1.86	0.84
C5	4395.6	109.89	58.304	1.88	0.91
C6	4004.4	100.11	56.64	1.77	0.83
C61	7608	190.2	94.676	2.01	0.98
C62	294.3	7.356	4.217	1.74	0.89
C63	319.3	7.983	4.385	1.82	1.11
C64	195.2	4.881	2.775	1.76	1.08
C65	197.6	4.941	2.82	1.75	1.06
C66	597.4	14.934	8.09	1.85	0.73
S1	856.8	21.421	10.819	1.98	1.82
S2	428.7	10.717	5.826	1.84	0.43
S3	12634.6	315.864	161.046	1.96	1.2
S4	1281.4	32.036	16.083	1.99	1.44
S5	475	11.876	6.255	1.9	1.34
S6	439.9	10.998	6.02	1.83	0.79
S61	4833.1	120.827	61.38	1.97	0.74
S62	2837.1	70.927	39.534	1.79	0.77
S63	3589.2	89.729	44.819	2	0.97
S64	3932.2	98.305	54.404	1.81	0.84
S65	4135.6	103.391	54.056	1.91	0.91
S66	3819.5	95.488	48.349	1.97	1.01
ICS61	2836,4	70,909	35,713	1,99	1,01
ICS62	4621,9	115,547	59,242	1,95	1,55
ICS63	4853,6	121,34	63,925	1,9	1,26
ICO61	4566,6	114,166	58,377	1,96	1,37
ICO62	4628,8	115,721	59,956	1,93	1,37
ICO63	2045,3	51,132	26,086	1,96	0,96
IBT1	13387,5	334,688	172,972	1,93	1,52
IBT2	9604,8	240,12	117,784	2,04	1,74
IBT3	9631,8	240,796	118,436	2,03	1,56
ICS1	2492,9	62,322	30,285	2,06	1,8
ICS2	3862,7	96,568	48,3	2	1,51
ICS3	3388,4	84,71	42,156	2,01	1,51
ICO1	2714,6	67,865	34,974	1,94	0,8
ICO2	4105,7	102,643	51,327	2	1,51

3.2.7.3. Komplementer DNA Sentezi

RNA izolatları doğrudan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılamadığı için öncelikle, komplementer DNA (cDNA)'ya çevrilmesi gerekmektedir. NanoDrop sonuçlarından elde edilen konsantrasyon verilerine bağlı olarak cDNA çevrimi için öncesinde gerekli hesaplamalar yapılmıştır. Buna göre, tüm RNA izolatları (250 ng/µl) olacak şekilde seyreltilmiştir. cDNA çevrimi "Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis" kit protokolüne uygun şekilde aşağıda belirtildiği şeklinde gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, Tablo 3.5'te belirtilen kimyasallar bir araya getirilmiştir ve 65°C'de 5 dakika süresince inkübe edilmiştir. Daha sonra örnekler 2 dakika süresince buz içinde bekletilmiştir ve Tablo 3.6'da belirtilen kimyasallar tüp içine nakledilmiştir.

Tablo 3.5 "RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit" cDNA hazırlık kimyasalları.

Total RNA (250 ng/ µl)	8 µl
Oligo(dT) / primer	1 µl
Nuclease-free Water	3 µl
Toplam	**12 µl**

Tablo 3.6 "RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit" cDNA sentez kimyasalları.

5 x Reaction Buffer	4 µl
RiboLock RNase Inhibitor	1 µl
dNTP	2 µl
Revertaid M- MuLV RT	1 µl
Toplam	**20 µl**

Tüpler kısaca santrifüj edilip daha sonra "Thermal cycle" cihazına yerleştirilmiştir ve bu aşamada, 42°C'de 60 dakika ve 70°C'de 5 dakika termal döngü içerisinde cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen amplikonlar sonraki deney süreçleri için -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.7.4. Primer Tasarımı ve Seyreltilmesi

Farklı bitkisel yağlar içeren yemler ile beslenen juvenil çipura balığının karaciğer ve bağırsağında belirtilen genlerin ifade düzeyini belirlemek için, bu genlerin RT-qPCR (gerçek zamanlı kantitatif PCR) çoğaltılmasına olanak tanıyan primerlerin tasarlanması gerekmektedir.

Bu tasarım için Primer3 (http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/) yazılımı kullanılarak primeler sentezlenmiştir. Tablo 3.7'de gen kodu ve primer listesi sunulmuştur.

Tablo 3.7 RT-qPCR reaksiyonu için belirlenen primer listesi.

Kod	Primer Forward	Primer Reverse
ELOVL4	CGGTGGCAATCATCTTCC	TCAACTGGCTGTCTGTGT
ELOVL5	CCTCCTGGTGCTCTACAAT	GTGAGTGTCCTGGCAGTA
ELOVL6	GTGCTGCTCTACTCCTGGTA	ACGGCATGGACCAAGTAGT
FADS2	GCAGGCGGAGAGCGACGGTCTGTTCC	AGCAGGATGTGACCCAGGTGGAGGCAGAAG
SCD1b	TAAAGTGGTGATGTTCCAGA	GCATCACAGTGTATCTGAGG
LPCAT1	GAAAGAAGACTGTGGAGGAG	TAAAGGTGATTAGGCAGGAT
CEL	GCTGAGGAGATTGCTCTGAAGGT	CAGGAAGCCATAGTCTCACCAGTG
HL	TTGTAGAAGGTGAGGAAAACTG	GCTCTCCATCAGACCATCC
HSL	AGAGATGAGGTTGCAGAGTT	CAAGCCACAATATGTACAGG
CPT1A	GTGCCTTCGTTCGTTCCATGATC	TGATGCTTATCTGCTGCCTGTTTG
CPT1B	CCACCAGCCAGACTCCACAG	CACCACCAGCACCCACATATTTAG
PPARα	TCTCTTCAGCCCACCATCCC	ATCCCAGCGTGTCGTCTCC
PPARβ	CAGGTGACTTTGCTGAAGTA	TAAAGGGCTTTCTTAAGCTG
PPARγ	CTCAAGAGTCTCAGGAAACC	GATAATGACAGCCAGAAACA
FAS	TGCCATTGCCATAGCACTCA	ACCTTTGCCCTTTGTGTGGA
COX2	GAGTACTGGAAGCCGAGCAC	GATATCACTGCCGCCTGAGT
LPL	CGTTGCCAAGTTTGTGACCTG	AGGGTGTTCTGGTTGTCTGC
ACTB	TCCTGCGGAATCCATGAGA	GACGTCGCACTTCATGATGCT
ELOVL1b	CTTCCTACACATCTTCCACCACTC	CCATTCCACCAGGAGCAAAGG

50 nmol sentez ölçeğinde sentezlenen primer dizileri, 100 pmol/µl olacak şekilde seyreltilmiş ve daha sonra primer örnekleri 10 pmol/µl olacak şekilde seyreltilmiştir. Kısaca seyreltme işlemi şu şekilde gerçekleştirilmiştir; 0,5 ml'lik tüplere 360 µL USS (Ultra Saf Su) ve 40 µL stok primerinden (pmol/µl) eklenerek yapılmıştır.

3.2.7.5. Gerçek zamanlı kantitatif PCR (RT-qPCR) Analizleri

RT-qPCR analizleri LightCycler® 480 Instrument II (Roche) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesinde, analizin yapılacağı kabin etanol ile temizlenmiş ve morötesi ışığa maruz bırakılmıştır. RT-qPCR'da çoğaltılacak cDNA örnekleri -80°C ultra soğutucudan, ilgili primerler -20°C dolaptan alınarak buz içerisine yerleştirilip deneye hazır hale getirilmiştir. RT-qPCR analizi için gerekli karışım aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (Tablo 3.8). İlgili kimyasallar Roche 480 II cihazı ile uyumlu, 96 kuyucuk içeren plakalar içine yerleştirilmiştir ve termal döngü içinde reaksiyon başlatılmıştır; (i) 50 °C'de 2 dakika süresince

UDH aktivasyonu, (ii) 95 °C'de 2 dakika süresince ön denatürasyon, (iii) 40 döngü olmak üzere sırasıyla, 95 °C'de 15 saniye ve 60 °C'de 1 dakika süresince amplikasyon gerçekleştirilmiştir. RT-qPCR analizlere ilişkin ön sonuçlar (Ct değerleri) alınmıştır.

Tablo 3.8 RT-qPCR Reaksiyonu için gerekli karışım.

Primer Forward (10 pmol/µl)	1 µL
Primer Revers (10 pmol/µl)	1 µL
Power Up SYBR Green	7,5 µL
RNase Free Water	4 µL
cDNA (250 ng/µl)	1,5 µL
Toplam	**15 µL**

3.2.8 Histolojik İnceleme

Deney grupları arasında sindirim kanalı ve karaciğer gibi organlarda mikroskobik olarak farklılıkların varlığını araştırmak için histolojik inceleme gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla FO, 60CSO, 60CO, CO ve CSO deney gruplarının her birinden rastgele seçilen 6 adet balığa otopsi işlemi uygulanmış, sindirim kanalı ve karaciğerden alınan doku örnekleri %10'luk fosfat tamponlu formaldehit içinde fikse edilmiştir. Tespit etme işleminden sonra manuel olarak işlenmiş olan doku örnekleri gömme materyali ile kaplandıktan sonra parafin bloklara gömülmüştür. 4-5 µm kalınlığında Leica marka mikrotomda kesilen doku örnekleri hematoxylen-eosin (HE) boyama yöntemi ile boyanmış ve ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Culling, 1963; Drury ve Wallington, 1980).

3.2.9 Çalışmada elde edilen verilerin istatiksel analizi

Balıkların büyüme performansı değerleri ortalama ve standart sapma (Ort.±Std.) olarak sunulmuştur. Diğer sonuçlara ait veriler ise ortalama ve standart hata (Ort.±S.E.M.) şeklinde hesaplanmıştır. Deney grupları arasında önemli bir farkın olup olmadığını anlamak amacıyla verilere varyans analizi (ANOVA test) uygulanmıştır. Yapılan istatistiki analizlerde gruplar arasındaki farkın önemi %95 doğruluk sınırları içinde hesaplanmıştır. Varyans analizi sonucunun önemli olması ($P < 0,05$) durumunda, bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Analizler için SPSS 18.0 yazılımı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 YEMDEKİ YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU

Deney yemlerindeki yağ asidi profili Tablo 3.3'te sunulmuştur. Yemlerin yağ asidi kompozisyonu kullanılan yağların yağ asidi kompozisyonunu doğrudan yansıtmıştır. Deney yemlerindeki toplam SFA'lar 140,2 ile 275,2 mg g lipit değerleri arasında değişmektedir ve bu yemlerdeki doymuş yağ asitlerinden baskın olan yağ asidi palmitik asit (16:0) olmuştur. CSO bazlı yemlerde 18:1n-9 yağ asidi, CO bazlı yemlerde n-3 ve n-6 PUFA'lar ve FO yeminde n-3 HUFA değerleri diğer yem gruplarına göre daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. CO yemi diğer yem gruplarına göre daha yüksek düzeyde LA (146,8 mg g lipit) ve ALA (474,5 mg g lipit)'ya sahipken, FO yemi bu yağ asitlerini tüm yem grupları içersinde en düşük düzeylerde içermiştir. EPA, CSO yeminde 13,1 mg g lipit ve FO yeminde 68,1 mg g lipit düzeylerinde bulunmuştur. DHA ise CSO yeminde 29,5 mg g lipit ve FO yeminde 102,8 mg g lipit düzeylerinde olmuştur. ARA, FO yeminde diğer yemlere göre en yüksek düzeyde (6,5 mg g lipit) ve CO yeminde en düşük düzeyde (3,2 mg g lipit) saptanmıştır.

4.2 BALIKLARIN BÜYÜME PERFORMANSI DEĞERLERİ

Yetiştiricilik tanklarına yerleştirilen balıkların bireysel başlangıç ağırlıkları ile deneme süresince elde edilen bireysel canlı ağırlıklar Tablo 4.1'te gösterilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde birinci periyodun sonunda FO içeren yemle beslenen balıklar ile 60CSO yemiyle beslenen balıkların bireysel canlı ağırlıkları benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). Ancak bu her iki grubun bireysel canlı ağırlıkları diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). Devam eden 30 günlük yemleme sonucunda, FO içermeyen yemlerle (CSO ve CO) beslenen balıkların bireysel canlı ağırlıkları en düşük düzeyde olmuştur ($P < 0,05$). Yemleme deneylerinin sonunda ise CSO ile beslenen balıkların bireysel canlı ağırlıkları en düşük düzeyde görülmüştür ($P < 0,05$). Deney sonunda CSO ve CO ile beslenen balıkların bireysel canlı ağırlıkları FO ile beslenen balıklarla karşılaştırıldığında sırasıyla %6,7 ve %4,1 oranında daha düşük olmuştur.

Tablo 4.1 Balıkların bireysel canlı ağırlıkları (g)[1].

Periyotlar (gün)	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
Başlangıç	61,4 ± 0,2	61,5 ± 0,3	61,5 ± 0.2	61,5 ± 0.2	61,4 ± 0.2
15.	83,7 ± 1,7^{a}	77,4 ± 1,1^{b}	77,4 ± 0,2^{b}	79,5 ± 2,6^{ab}	77,3 ± 2,0^{b}
30.	95,2 ± 1,1^{a}	84,5 ± 1,1^{b}	84,0 ± 0,4^{b}	95,9 ±1,2^{a}	95,7 ± 2,9^{a}
45.	107,1 ± 1,8^{a}	95,8 ± 1,3^{c}	98,2 ± 1,6^{bc}	103,9 ± 0,9^{ab}	105,6 ± 3,8^{a}
60.	126,2 ± 1,7^{a}	116,2 ± 1,4^{b}	119,0 ±3,7^{ab}	122,1 ± 2,2^{ab}	123,6 ± 5,6^{ab}
75.	151,8± 3,1^{a}	137,5 ± 4,9^{b}	141,0 ± 4,5^{b}	153,1 ± 1,8^{a}	151,8 ± 7,9^{a}
90.	176,7 ± 7,2^{a}	164,9 ± 6,8^{b}	169,4 ± 6,3^{ab}	175,2 ± 2,8^{a}	178,2 ± 5,3^{a}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

Deneme süresince balıkların canlı ağırlık artışları ile ilgili elde edilen veriler Tablo 4.2'de sunulmuştur. 60CSO yemi ile beslenen balıkların bireysel canlı ağırlık artışları en yüksek düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$). Ancak FO ve 60CO yemleri ile beslenen balıkların bireysel canlı ağırlık artışları arasında istatiksel olarak herhangi bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$). Denemenin 30 günlük yemleme süresi sonucunda FO içermeyen yemlerle beslenen balıkların bireysel canlı ağırlık artışları en düşük değerlerde bulunmuştur ($P < 0,05$). Kırk beş günlük yemleme süresi sonucunda CO ve CSO gruplarındaki balıkların bireysel canlı ağırlık artışları en yüksek düzeylerde olmuştur ($P < 0,05$). Doksan günlük yemleme deneylerinin sonunda ise CSO ile beslenen balıkların bireysel canlı ağırlık artışları en düşük değerlerde bulunmuştur ($P < 0,05$).

Tablo 4.2 Balıkların bireysel canlı ağırlık artışları (g)[1].

Periyotlar (gün)	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
15.	22,3±1,6^{a}	15,9±1,4^{b}	15,9±0,3^{b}	18,0±2,5^{ab}	15,9±1,8^{b}
30.	11,5±0,8^{b}	7,1±0,9^{c}	6,6±0,5^{c}	16,4±1,7^{a}	18,4±1,7^{a}
45.	11,9±1,2^{ab}	11,3±0,3^{ab}	14,2±1,7^{a}	8,1±0,9^{c}	9,9±1,0b^{c}
60.	19,1±0.1	20,4±0.9	20,8±2.3	18,2±1.3	17,9±1.9
75.	25,6±1,3^{a}	21,3±5,0^{b}	22,0±3,7^{b}	31,0±0,5^{a}	28,2±3,7^{a}
90.	24,9±4.9^{b}	27,4±2.4^{a}	28,4±1.9^{a}	22,1±1.6^{b}	25,4±1.5^{b}
TBAA[3]	115,3±7,0^{a}	103,4±6,7^{b}	107,9±6,5^{ab}	113,7±2,6^{ab}	116,8±6,2^{a}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.
[3]TBAA: Toplam bireysel canlı ağırlık artışları.

Balıkların spesifik büyüme oranları, periyodik olarak yapılan tartımlar sonucundan yararlanılarak hesaplanmış ve Tablo 4.3'te sunulmuştur. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde, birinci periyodun sonunda FO içermeyen diyetlerle beslenen balıkların spesifik büyüme oranları daha düşük düzeylerde bulunmuştur. İkinci periyodun sonunda da benzer sonuçlar elde edilmiştir ($P < 0,05$). Yemleme deneylerinin sonunda yapılan hesaplamalarda, CSO grubundaki balıkların ortalama spesifik büyüme oranı en düşük düzeyde görülmüştür ($P < 0,05$).

Tablo 4.3 Balıkların spesifik büyüme oranları[1].

Periyotlar (gün)	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
15.	2,07±0,13^{a}	1,53±0,13^{b}	1,53±0,03^{b}	1,71±0,21^{a}	1,53±0,15^{b}
30.	0,86±0,07^{b}	0,58±0,07^{c}	0,55±0,04^{c}	1,25±0,15^{a}	1,42±0,11^{a}
45.	0,79±0,07^{b}	0,84±0,02^{b}	1,04±0,11^{a}	0,54±0,07^{c}	0,66±0,04^{bc}
60.	1,10±0,02^{ab}	1,29±0,06^{a}	1,28±0,12^{a}	1,07±0,06^{b}	1,04±0,07^{b}
75.	1,23±0,04^{ab}	1,12±0,25^{c}	1,13±0,19^{bc}	1,51±0,04^{a}	1,37±0,15^{a}
90.	1,01±0,18^{b}	1,21±0,08^{a}	1,22±0,05^{a}	0,90±0,06^{b}	1,04±0,10^{b}
OSBO[3]	1,18±0,04^{a}	1,09±0,05^{b}	1,12±0,05^{ab}	1,16±0,01^{ab}	1,19±0,04^{a}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.
[3]OSBO: Ortalama spesifik büyüme oranı.

Deneme süresince balıkların bireysel yem tüketim miktarları periyodik olarak hesaplanmış ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Yemleme deneylerinin birinci periyodunun sonunda yapılan hesaplamalarda en yüksek bireysel yem tüketim miktarı FO grubunda görülmüştür ($P < 0,05$). Tabloda görüldüğü gibi diğer periyotlarda gruplar arasında istatiksel olarak bazı farklılıklar görülmüştür. Doğal olarak ilerleyen periyotlarda balıkların ağırlık artışlarının artmasıyla birlikte bireysel yem tüketim miktarlar da artmıştır. Denemenin sonunda grupların toplam yem tüketim miktarları incelendiğinde sadece bitkisel yağların kullanıldığı yemlerle (CSO ve CO) beslenen balıkların yem tüketimi, balık yağı içeren gruplardan daha düşük olduğu görülmüştür ($P < 0,05$). Balık yağı kullanılan deney gruplarının yem tüketim miktarları ise benzer bulunmuştur ($P > 0,05$).

Tablo 4.4 Ortalama bireysel yem tüketim miktarları (g)[1].

Periyotlar (gün)	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
0-15.	21,49±0,03^{a}	18,77±1,24^{b}	19,20±0,08^{ab}	19,54±1,25^{ab}	18,23±1,38^{b}
16-30.	18,89±0,39^{a}	10,20±1,44^{b}	9,69±0,44^{b}	18,50±1,59^{a}	19,22±1,67^{a}
31-45.	19,28±1,12^{a}	15,04±0,71^{b}	18,16±0,08^{a}	12,61±0,59^{b}	14,40±1,88^{b}
46-60.	19,87±2,00^{b}	24,58±0,81^{a}	18,94±3,54^{b}	18,36±1,50^{b}	21,03±2,75^{ab}
61-75.	29,55±0,80^{ab}	19,13±5,46^{c}	21,03±2,68^{bc}	35,57±0,95^{a}	31,11±5,37^{a}
76-90.	28,63±5,53^{b}	30,93±3,43^{b}	39,39±2,41^{a}	33,96±3,17^{ab}	40,19±2,48^{a}
TYTM[3]	137,72±9,15^{a}	118,87±9,39^{b}	126,39±5,89^{b}	138,53±3,42^{a}	144,18±5,57^{a}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.
[3]TYTM: Toplam yem tüketim miktarı.

Yemleme deneyleri süresince balıkların yemden yararlanma oranları periyodik olarak hesaplanmış ve Tablo 4.5'te sunulmuştur. Birinci periyodun sonunda yapılan hesaplamalarda FO grubu en düşük yemden yararlanma oranına sahip olmuştur ($P < 0,05$). Tablo incelendiğinde deneme süresince deney gruplar arasında istatistiki olarak bazı önemli farklılıklar görülmekle birlikte deneme sonunda CSO ve CO beslenen balıkların ortalama yemden yararlanmaları, balık yağı içeren gruplardan daha düşük olduğu görülmüştür ($P < 0,05$). Tüm deney gruplarının ortalama yemden yararlanma oranları 1,3 değerinin altında bulunmuştur.

Tablo 4.5 Balıkların yemden yararlanma oranları[1].

Periyotlar (gün)	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
0-15.	0,97±0,07^{b}	1,19±0,04^{a}	1,21±0,03^{a}	1,09±0,09^{ab}	1,15±0,05^{a}
16-30.	1,65±0,12^{a}	1,44±0,03^{b}	1,47±0,04^{ab}	1,13±0,10^{c}	1,05±0,02^{c}
31-45.	1,62±0,08	1,33±0,05	1,29±0,15	1,57±0,18	1,45±0,19
46-60.	1,04±0,11^{bc}	1,21±0,06^{a}	0,91±0,09^{c}	1,01±0,03^{bc}	1,17±0,06^{ab}
61-75.	1,16±0,14^{ab}	0,89±0,13^{c}	0,96±0,13^{bc}	1,15±0,02^{ab}	1,10±0,09^{b}
76-90.	1,16±0,14^{b}	1,13±0,04^{b}	1,39±0,03^{a}	1,54±0,08^{a}	1,58±0,11^{a}
OYYO	1,27±0,01^{a}	1,20±0,03^{b}	1,20±0,01^{b}	1,25±0,01^{a}	1,24±0,02^{a}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.
[3]OYYO: Ortalama yemden yararlanma oranı.

Kondüsyon faktörü değerlerini hesaplamak için deney başlangıcında ve periyodik olarak balıklarının bireysel boyları ve ağırlıkları ölçülmüştür. Bireysel boylar Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda periyodik olarak balıkların bireysel boyları arasında önemli bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$). Doğal olarak balıkların büyümesiyle birlikte boy değerleri de artmıştır.

Tablo 4.6 Balıkların ortalama bireysel boyları (cm)[1].

Deney Grupları[2]	Deney Başı	Deney Sonu
FO	14,72 ± 0,52	19,59 ± 0,38
CSO	14,74 ± 0,53	19,55 ± 0,08
CO	14,71 ± 0,50	19,58 ± 0,50
60CSO	14,76 ±0,50	19,60 ± 0,06
60CO	14,74 ± 0,49	19,73 ± 0,62

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

Balıkların kondüsyon faktörleri deney başlangıcında ve periyodik olarak hesaplanmış ve Tablo 4.7'de sunulmuştur. Tablo incelendiğinde deney başlangıcında balıkların kondüsyon faktörleri yaklaşık olarak 1,9 olarak hesaplanmıştır. Ancak deneme sonundaki kondüsyon faktörü değerleri deney başlangıcından daha yüksek bulunmuştur. Deneme sonunda grupların kondüsyon faktörleri karşılaştırıldığında arasında önemli bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$).

Tablo 4.7 Balıkların kondüsyon faktörleri[1].

Deney Grupları[2]	Deney Başı	Deney Sonu
FO	1,92 ± 0,02	2,36 ± 0,23
CSO	1,92 ± 0,03	2,20 ± 0,07
CO	1,93 ± 0,05	2,26 ± 0,08
60CSO	1,88 ± 0,01	2,33 ± 0,04
60CO	1,92 ± 0,06	2,32± 0,12

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

Hepatosomatik ve viserosomatik indeks sonuçları deney başlangıcında ve sonunda yapılan tartımlar sonucunda hesaplanarak Tablo 4.8'de gösterilmiştir. Deney sonunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiki olarak fark önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Ancak deney

sonundaki hepatosomatik indeks ve viserosomatik indeks değerleri deney başlangıcındaki değerlerden daha düşük bulunmuştur ($P < 0,05$).

Tablo 4.8 Balıkların hepatosomatik ve viserosomatik indeks değerleri[1].

Deney Grupları[2]	Hepatosomatik İndeks (HSİ)		Viscerosomatik İndeks (VSİ)	
	Deney Başı	Deney Sonu	Deney Başı	Deney Sonu
FO	1,37±0,10^{a}	1,21±0,07^{b}	9,98±0,56^{a}	5,53±0,21^{b}
CSO	1,37±0,10^{a}	1,12±0,10^{b}	9,98±0,56^{a}	5,38±0,31^{b}
CO	1,37±0,10^{a}	1,24±0,08^{b}	9,98±0,56^{a}	5,30±0,25^{b}
60CSO	1,37±0,10^{a}	1,23±0,08^{b}	9,98±0,56^{a}	5,18±0,21^{b}
60CO	1,37±0,10^{a}	1,09±0,08^{b}	9,98±0,56^{a}	5,27±0,21^{b}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

4.3 VÜCUT KOMPOZİSYONU

Yemleme deneyi sonu tüm vücut proksimet sonuçları Tablo 4.9'da sunulmuştur. Besleme deneyi sonunda balıklarının vücut kompozisyonu ile ilgili sonuçlar incelendiğinde kuru madde, ham kül ve ham yağ oranları deney başlangıcından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak deney başlangıcındaki ham protein oranları deney sonundaki protein oranlarından daha yüksek bulunmuştur. Deney sonunda tüm gruplarda balıkların vücudundaki ham yağ oranları deney başlangıcından daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte FO grubuna ait balıklardaki ham yağ oranı en yüksek değere sahip olmuştur. Deney sonunda, tüm gruplara ait balıkların karaciğerindeki ham yağ oranları deney başlangıcından yaklaşık olarak iki kat daha yüksek bulunmuştur. CO ve CSO gruplarının karaciğer yağ oranları benzer ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür. FO grubu ise en düşük karaciğer yağ oranına sahip olmuştur ($P < 0,05$).

Tablo 4.9 Balıkların vücut kompozisyonu ve karaciğer yağ oranları (%)[1].

Vücut Kompozisyonu	Deney Grupları[2]					
	Deney Başı	FO	CSO	CO	60CSO	60CO
Kuru maadde	32,9±0,4^{c}	36,5±0,6^{b}	35,6±0,2^{b}	37,9±0,8^{a}	35,4±0,0^{b}	35,8±0,4^{b}
Kül	3,4±0,3^{b}	4,8±0,2^{a}	4,8±0,1^{a}	4,8±0,2^{a}	4,8±0,1^{a}	4,9±0,2^{a}
Ham Protein	18,6±0,3^{a}	17,5±0,4^{b}	17,8±0,4^{b}	17,6±0,1^{b}	17,7±0,3^{b}	17,6±0,4^{b}
Ham Yağ	9,3±0,4^{b}	16,5±0,3^{a}	16,6±0,4^{a}	16,9±0,2^{a}	16,2±0,7^{a}	16,4±0,8^{a}
Karaciğer Yağ	12,7±0,7^{d}	20,7±0,6^{c}	27,1±0,8^{a}	27,4±0,5^{a}	24,3±0,9^{b}	24,9±0,8^{b}

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.
[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

4.4 DENEY TANKLARINDA KULLANILAN SUYUN FİZİKO-KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Araştırmada kullanılan suyun kalite parametreleri yemleme deneyleri süresince ölçülerek Tablo 4.10'da verilmiştir. Deneme başlangıcından sonuna kadar elde edilen tüm ölçümlere ilişkin yapılan istatistiksel hesaplamalara göre veriler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Araştırma süresince sudaki sıcaklık 25,6 – 28,4 °C, çözünmüş oksijen 10,5 – 12,8 mg/l, tuzluluk 38,7 – 39,5 mg/l ve pH 7,7 – 8,5 değerleri arasında olduğu görülmüştür.

Tablo 4.10 Araştırmada kullanılan suyun kalite parametreleri[1].

Periyotlar (gün)	Sıcaklık (°C)	Çözünmüş Oksijen (mg/l)	Tuzluluk (mg/l)	pH
Başlangıç	28,4 ± 0,01	10,6 ± 0,1	38,8 ± 0,01	7,7 ± 0,01
15	28,1 ± 0,02	8,5 ± 0,4	38,9 ± 0,03	7,8 ± 0,01
30	29,4 ± 0,02	9,2 ± 0,2	39,4 ± 0,02	7,9 ± 0,02
45	28,7 ± 0,00	9,7 ± 0,2	39,5 ± 0,01	8,0 ± 0,02
60	26,7 ± 0,01	10,8 ± 0,5	38,7 ± 0,00	8,1 ± 0,02
75	26,3 ± 0,02	10,1 ± 0,3	38,8 ± 0,01	8,1 ± 0,02
90	25,6 ± 0,01	9,6 ± 0,2	39,5±0,00	8,5 ± 0,01

[1]Değerler (n = 3) ortalama ve standart sapma (Ort ± Std) olarak sunulmuştur. Aynı sütünde farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

4.5 BALIKLARIN TÜM VÜCUT YAĞ ASİDİ PROFİLİ

Deney balıklarının tüm vücut yağ asidi profilleri Tablo 4.11'de gösterilmiştir. Tabloda sunulan veriler incelendiğinde balıkların vücutlarındaki yağ asitleri yemlerin yağ asitlerini yansıttığı görülmektedir. Bitkisel yağ içeren yemlerle (CSO, CO, 60CSO ve 60CO) beslenen balıkların vücudundaki toplam doymuş yağ asitlerinin miktarları azalırken, sadece balık yağı ile beslenen balıklarda artmıştır ($P < 0,05$). Tüm deney gruplarında palmitik asit (16:0) en baskın doymuş yağ asidi olarak görülmüştür. CO ve CSO ile beslenen balıklardaki α-linolenik asit (ALA, 18:3n-3) düzeyleri deney başlangıcındaki değerlerden sırasıyla 6 ve 4 kat daha fazla bulunmuştur. Ancak aynı gruplarda ARA, EPA, DHA ve n-3 HUFA oranları düşmüştür. Özellikle 60CSO, 60CO, CSO ve CO gruplarındaki ARA oranları sırasıyla %4,4; %7,7; %28,8 ve %30,4 düzeylerinde deney başlangıcına göre azalırken FO grubundaki ARA düzeyi sabit kalmıştır. Doksan gün süresince yapılan yemleme deneyi sonucunda CSO ve CO gruplarındaki balıkların tüm vücudundaki EPA miktarı deney başlangıcına göre yaklaşık olarak %48 oranında ve 60CSO ve 60CO gruplarındaki balıklarda ise sırasıyla %37,3 ve %36,1 oranlarında azalmıştır ($P < 0,05$). FO grubunda ise EPA oranı daha az miktarda bir azalma gösterilmiştir. Benzer şekilde yemleme deneyi sonunda CSO, CO, 60CSO ve 60CO gruplarındaki balıkların tüm vücudundaki DHA düzeyleri başlangıç miktarlarına göre sırasıyla %26; %24,8; %15,1 ve %10,2 oranlarında azalmıştır ($P < 0,05$). Buna karşın FO grubundaki balıklarda DHA düzeyi başlangıç miktarına göre %18,9 oranında bir artış göstermiştir. Bitkisel yağ içeren yemlerle beslenen balıkların vücudundaki toplam n-3 PUFA ve n-3/n-6 oranları artmıştır. Özellikle CO grubundaki balıklar en yüksek n-3/n-6 oranına sahip olmuşlardır ve bu oran başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak iki kat daha fazla bulunmuştur. Ayrıca bitkisel yağların kullanıldığı deney gruplarında balıkların vücudundaki 20:2n-6, 18:3n-6, 20:3n-3, 18:4n-3 ve 20:4n-3 yağ asitleri artmıştır ($P < 0,05$).

Tablo 4.11 Deney başlangıcı ve sonunda balıkların tüm vücudundaki yağ asidi profilleri (mg g yağ)[1].

Yağ asitleri	Deney Grupları[2]					
	Deney Başı	FO	CSO	CO	60CSO	60CO
14:0	91,8±0,05^{a}	73,8±0,03^{b}	20,4±0,04^{f}	32,6±0,02^{e}	62,7±0,05^{c}	45,1±0,04^{d}
15:0	2,6±0,03^{c}	3,6±0,06^{a}	2,0±0,01^{d}	2,5±0,01^{c}	3,0±0,05^{b}	3,6±0,06^{a}
16:0	111,0±0,04^{b}	170,7±0,08^{a}	63,6±0,08^{d}	67,1±0,03^{c}	110,9±0,08^{b}	95,2±0,01^{c}
17:0	2,2±0,08^{d}	2,7±0,10^{c}	2,2±0,09^{d}	2,5±0,05^{c}	3,3±0,06^{b}	4,0±0,07^{a}
18:0	26,4±0,08^{b}	29,3±0,10^{a}	18,6±0,08^{e}	24,2±0,06^{d}	29,4±0,07^{a}	25,6±0,04^{c}
20:0	3,9±0,11^{b}	2,5±0,05^{c}	5,6±0,08^{a}	2,1±0,05^{d}	4,1±0,02^{b}	2,6±0,04^{c}
21:0	3,9±0,02^{e}	5,4±0,05^{c}	8,4±0,05^{a}	4,4±0,10^{d}	7,0±0,04^{b}	4,7±0,15^{d}
24:0	ND	0,4±0,01^{d}	1,3±0,02^{a}	0,6±0,02^{c}	0,9±0,01^{b}	0,8±0,02^{b}
14:1n-5	0,8±0,02^{a}	0,7±0,03^{b}	0,5±0,02^{d}	0,6±0,00^{bc}	0,6±0,01^{b}	0,8±0,07^{a}
16:1n-7	31,2±0,06^{c}	35,4±0,15^{a}	15,8±0,00^{f}	16,6±0,01^{e}	32,2±0,12^{b}	28,4±0,06^{d}
17:1	2,5±0,04^{b}	2,1±0,11^{c}	1,4±0,06^{e}	1,5±0,13d^{e}	1,7±0,07^{d}	3,5±0,05^{a}
18:1n-7	20,2±0,07^{c}	20,9±0,09^{b}	15,7±0,06^{f}	17,0±0,05^{e}	18,4±0,07^{d}	21,9±0,05^{a}
18:1n-9	160,5±0,04^{a}	112,5±0,09^{d}	139,0±0,08^{b}	84,2±0,02^{f}	133,0±0,12^{c}	93,3±0,10^{e}
20:1n-9	12,4±0,08^{f}	35,4±0,08^{c}	71,1±0,07^{a}	21,4±0,00^{e}	44,2±0,04^{b}	27,3±0,00^{d}
24:1n-9	4,1±0,06^{d}	7,7±0,05^{c}	12,5±0,01^{a}	2,7±0,05^{e}	9,0±0,00^{b}	2,5±0,03^{f}
18:2n-6	142,5±0,07^{a}	110,8±0,10^{f}	134,7±0,12^{c}	136,4±0,19^{b}	114,5±0,29^{e}	122,2±0,03^{d}
20:2n-6	5,0±0,05^{d}	4,8±0,05^{d}	12,1±0,14^{a}	11,5±0,03^{a}	7,4±0,02^{c}	8,2±0,01^{b}
18:3n-6	8,3±0,34^{d}	10,6±0,07^{c}	11,6±0,14^{ab}	12,3±0,03^{a}	10,7±0,02^{c}	11,2±0,06^{bc}
20:3n-6	5,5±0,01^{c}	6,8±0,07^{a}	6,4±0,18^{b}	6,5±0,05^{ab}	6,2±0,00^{b}	6,4±0,09^{ab}
20:4n-6	6,1±0,00^{a}	6,1±0,03^{a}	4,3±0,02^{d}	4,2±0,07^{d}	5,8±0,01^{b}	5,6±0,01^{c}
18:3n-3	64,5±0,03^{e}	43,7±0,12^{f}	164,5±0,69^{c}	252,8±0,05^{a}	105,5±0,29^{d}	190,2±0,13^{b}
20:3n-3	13,7±0,04^{d}	2,7±0,10^{e}	19,8±0,34^{b}	23,1±0,08^{a}	14,4±0,14^{c}	14,5±0,01^{c}
18:4n-3	13,6±0,33^{c}	13,1±0,21^{c}	26,4±0,09^{a}	27,2±0,03^{a}	17,0±0,04^{b}	18,9±0,10^{b}
20:4n-3	12,6±0,28^{c}	17,7±0,08^{a}	13,0±0,06^{c}	15,1±0,14^{b}	15,4±0,07^{b}	15,5±0,09^{b}
20:5n-3	47,6±0,06^{a}	42,8±0,07^{b}	23,2±0,34^{d}	24,2±0,03^{d}	29,9±0,01^{c}	30,4±0,05^{c}
22:6n-3	71,8±0,32^{b}	85,4±0,15^{a}	53,2±0,00^{f}	54,1±0,00^{e}	61,0±0,05^{d}	64,5±0,02^{c}
∑SFA	241,6±0,17^{b}	288,3±0,09^{a}	122,1±0,20^{f}	144,5±0,09^{e}	221,3±0,06^{c}	188,4±0,04^{d}
∑MUFA	231,9±0,16^{c}	214,8±0,28^{c}	256,2±0,11^{a}	135,5±0,04^{e}	239,1±0,11^{b}	170,9±0,06^{d}
∑PUFA	391,2±0,78^{e}	344,5±0,29^{f}	469,1±0,24^{c}	567,3±0,13^{a}	387,7±0,24^{d}	487,6±0,04^{b}
∑n3	223,9±0,62^{e}	205,5±0,28^{f}	300,0±0,33^{c}	396,4±0,20^{a}	243,1±0,09^{d}	334,0±0,11^{b}
∑n6	167,3±0,26^{b}	139,0±0,20^{e}	169,1±0,24^{a}	170,9±0,23^{a}	144,6±0,31^{d}	153,7±0,11^{c}
n3/n6	1,34^{f}	1,48^{e}	1,78^{c}	2,32^{a}	1,68^{d}	2,17^{b}
n-3 HUFA	145,8±0,46^{b}	148,7±0,23^{a}	109,2±0,52^{f}	116,5±0,23^{e}	120,7±0,18^{d}	124,9±0,05^{c}
EPA+DHA	119,5±0,61^{b}	128,2±0,20^{a}	76,4±0,89^{e}	78,3±0,02^{e}	90,7±0,04^{d}	95,0±0,04^{c}

[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

4.6 BALIKLARIN KARACİĞER YAĞ ASİDİ PROFİLİ

Yemleme deneylerinin başlangıcında ve sonunda balık karaciğerlerindeki yağ asidi profilleri Tablo 4.12'de verilmiştir. Balıkların tüm vücut yağ asidi profillerinde olduğu gibi balıkların karaciğerindeki yağ asidi kompozisyonu da yemlerdeki yağ asidi profillerini yansıtmıştır. FO grubu dışındaki tüm deney grupları karaciğer temel doymuş yağ asitlerinden 16:0 azalmıştır ($P < 0,05$). Deney başlangıcına göre tüm grupların karaciğer oleik asit (OA, 18:1n-9) düzeyi düşmüştür. Linoleik asit (LA, 18:2n-6) başlangıç örneklerine göre FO grubu dışında tüm deney gruplarında artış göstermiş ve CO grubunda en yüksek düzeyde görülmüştür. Bitkisel yağların kullanıldığı tüm deney gruplarında karaciğer ALA düzeyi başlangıç miktarlarına göre artmıştır. Özellikle ALA düzeyi FO grubunda en düşük ve CO grubunda en yüksek oranda bulunmuştur ($P < 0,05$). Buna karşın bitkisel yağ bazlı deney gruplarında, karaciğer EPA ve DHA düzeyleri azalmıştır. Ancak FO grubu karaciğer EPA ve DHA düzeyi artmıştır. Dolaysıyla toplam n-3 HUFA düzeyi FO grubunda artarken diğer bitkisel yağ gruplarında azalmıştır. Tüm bitkisel yağ gruplarının karaciğer toplam n-3 PUFA ve n-3/n-6 oranları artış göstermiştir ($P < 0,05$). Başlangıç karaciğer örneklerinde görülmeyen 22:2n-6 yağ asidi yemleme deneyleri sonunda sadece bitkisel yağ gruplarında (CSO ve CO) görülmüştür.

Tablo 4.12 Deney başlangıcı ve sonunda balıkların karaciğer yağ asidi profilleri (mg g yağ)[1].

Yağ asitleri	Deney Grupları[2]					
	Deney Başı	FO	CSO	CO	60CSO	60CO
14:0	58,3±0,12[a]	57,0±0,04[b]	22,4±0,06[f]	27,8±0,05[e]	39,5±0,05[c]	38,9±0,07[d]
15:0	2,3±0,06[b]	2,5±0,03[a]	1,4±0,04[d]	1,8±0,05[c]	2,0±0,08[b]	1,6±0,05[cd]
16:0	141,0±0,04[b]	146,1±0,09[a]	39,0±0,06[f]	43,9±0,10[e]	60,8±0,09[c]	57,7±0,05[d]
17:0	2,9±0,10[b]	3,4±0,05[a]	1,9±0,02[c]	2,0±0,05[c]	2,6±0,06[b]	2,6±0,05[b]
18:0	46,9±0,04[a]	44,1±0,03[b]	20,0±0,07[f]	22,4±0,05[e]	41,0±0,09[c]	39,1±0,02[d]
20:0	ND	ND	2,9±0,00[a]	ND	1,7±0,04[b]	ND
21:0	1,9±0,09[e]	5,0±0,02[c]	11,3±0,06[a]	5,2±0,06[c]	9,2±0,06[b]	4,4±0,08[d]
24:0	0,9±0,04[c]	1,7±0,09[a]	1,0±0,05[b]	ND	ND	ND
16:1n-7	24,9±0,12[b]	28,8±0,03[a]	13,7±0,04[e]	11,4±0,10[f]	18,2±0,08[d]	18,9±0,04[c]
17:1	2,0±0,05[b]	2,7±0,05[a]	1,9±0,03[b]	1,2±0,02[d]	1,5±0,09[c]	1,4±0,06[cd]
18:1n-7	24,1±0,07[a]	23,1±0,05[b]	15,3±0,03[d]	14,0±0,04[e]	18,9±0,07[c]	18,4±0,09[c]
18:1n-9	153,1±0,06[a]	131,5±0,04[d]	150,7±0,03[b]	46,8±0,06[f]	126,4±0,05[c]	73,8±0,03[e]
20:1n-9	4,0±0,01[b]	4,3±0,03[a]	3,1±0,02[c]	2,6±0,01[d]	1,5±0,06[e]	1,6±0,04[e]
24:1n-9	4,5±0,15[c]	3,7±0,05[d]	8,6±0,10[b]	1,7±0,10[e]	12,3±0,08[a]	2,3±0,08[d]
18:2n-6	129,5±0,05[d]	121,3±0,08[e]	132,4±0,08[b]	140,1±0,04[a]	132,2±0,04[b]	131,2±0,03[c]
20:2n-6	12,8±0,13[b]	7,3±0,21[d]	16,9±0,08[a]	17,4±0,12[a]	11,6±0,24[c]	12,6±0,08[b]
22:2n-6	ND	ND	2,3±0,08[b]	2,5±0,02[a]	1,6±0,02[c]	1,4±0,02[d]
18:3n-6	7,7±0,03[f]	10,0±0,07[e]	19,1±0,04[b]	19,9±0,01[a]	16,5±0,02[d]	18,7±0,05[c]
20:3n-6	6,7±0,08[b]	6,1±0,09[d]	7,4±0,12[a]	7,5±0,10[a]	6,3±0,07[cd]	6,6±0,07[bc]
20:4n-6	9,1±0,05[a]	9,3±0,01[a]	7,7±0,08[d]	8,0±0,05[c]	8,2±0,05[b]	8,3±0,04[b]
18:3n-3	45,3±0,11[e]	41,9±0,11[f]	238,8±0,03[c]	337,5±0,04[a]	194,7±0,50[d]	258,5±0,05[b]
20:3n-3	8,8±0,03[e]	9,0±0,04[e]	23,0±0,08[b]	24,6±0,10[a]	12,6±0,04[d]	16,3±0,09[c]
18:4n-3	15,7±0,04[f]	17,9±0,06[a]	16,2±0,03[e]	16,8±0,02[d]	17,2±0,01[c]	17,6±0,07[b]
20:4n-3	15,0±0,05[b]	15,8±0,08[a]	14,9±0,02[b]	15,2±0,03[a]	15,2±0,02[a]	15,3±0,05[a]
20:5n-3	53,3±0,03[b]	59,0±0,03[a]	28,1±0,04[e]	28,7±0,04[d]	34,6±0,06[c]	34,7±0,09[c]
22:6n-3	78,1±0,06[b]	98,2±0,14[a]	56,6±0,03[f]	58,5±0,05[e]	70,6±0,04[d]	75,0±0,05[c]
∑SFA	238,6±0,16[b]	254,7±0,21[a]	80,2±0,06[f]	88,8±0,14[e]	139,1±0,10[c]	131,4±0,12[d]
∑MUFA	212,6±0,16[a]	194,1±0,07[b]	193,3±0,12[b]	77,7±0,06[e]	178,95±0,16[c]	116,3±0,05[d]
∑PUFA	394,9±0,31[e]	395,3±0,32[e]	563,4±0,19[c]	676,1±0,21[a]	521,2±0,21[d]	596,1±0,31[b]
∑n3	216,2±0,14[f]	241,3±0,23[e]	377,5±0,06[c]	481,3±0,03[a]	344,9±0,44[d]	417,4±0,16[b]
∑n6	178,7±0,17[c]	154,1±0,19[e]	185,9±0,24[b]	194,9±0,24[a]	176,4±0,35[d]	178,7±0,35[c]
n3/n6	1,21[f]	1,57[e]	2,03[c]	2,47[a]	1,96[d]	2,34[b]
n-3 HUFA	155,2±0,06[b]	181,5±0,13[a]	122,5±0,06[f]	127,0±0,06[e]	133,0±0,10[d]	141,3±0,10[c]
EPA+DHA	131,4±0,09[b]	157,2±0,15[a]	84,7±0,04[f]	87,1±0,01[e]	105,2±0,09[d]	109,7±0,04[c]

[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı sütünde farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40 FO, 60CO: %60CO+%40FO.

4.7 BALIKLARIN TÜM VÜCUDUNDAKİ YAĞ ASİDİ SİNDİRİLEBİLİRLİĞİ

Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının yağ asitleri sindirilebilirliği Tablo 4.13'te sunulmuştur. Bireysel yağ asitlerinin balıklar tarafından sindirilebilirliği %70'ten daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak, genel olarak SFA'ların sindirilebilirliği tüm deney gruplarında diğer yağ asitlerinden daha düşük (%85,9 - 89,3) bulunmuştur. 20:1n-9, MUFA'lar içerisinde en yüksek düzeyde sindirilmiş olan yağ asididir ve bu yağ asidinin sindirilme oranı (%87,0 – 93,6) tüm gruplarda benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). Aynı zamanda PUFA'ların sindirilebilirliği MUFA ve SFA'lardan daha yüksek olmuştur. Benzer şekilde n-3 PUFA'ların sindirilebilirliği n-6 PUFA'lardan daha yüksek oranda bulunmuştur. n-3 HUFA'lardan DHA en yüksek ve 20:3n-3 en düşük sindirilebilirliğe sahip olmuşlardır. ALA'nın sindirilebilirliği 60CO grubunda en yüksek ve CSO grubunda en düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Benzer şekilde CSO grubunun EPA (%93,9) ve DHA (%94,1) sindirilebilirliği en düşük oranda bulunmuştur ($P < 0,05$). n-6 PUFA'lardan 18:3n-6 yağ asidinin sindirilebilirliği en yüksek oranda gerçekleşirken 18:2n-6'nın sindirilebilirliği en düşük düzeyde olmuştur. 18:2n-6'nın en düşük (%84,4) sindirilebilirliği FO grubunda görülmüştür. ARA'nın sindirilebilirliği ise FO grubunda en düşük oranda (%88,9) bulunmuş, ancak 60CO (%94,2) ile 60CSO (%94,0) gruplarında benzer ve FO grubuna göre daha yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Genel olarak balıklardaki sindirilebilirlik önceliği PUFA > MUFA > SFA şeklinde olmuştur.

Tablo 4.13 Balıkların yağ asidi sindirilebilirliği (%)[1].

Yağ asitleri	Deney Grupları[2]				
	FO	CSO	CO	60CSO	60CO
14:0	86,0 ± 0,01^{e}	87,1 ± 0,01^{d}	87,6 ± 0,01^{c}	88,5 ± 0,01^{b}	89,3 ± 0,00^{a}
15:0	92,7 ± 0,08^{c}	91,9 ± 0,16^{d}	95,4±0,11^{a}	94,4 ± 0,06^{b}	91,0 ± 0,17^{e}
16:0	84,5 ± 0,01^{e}	85,3 ± 0,01^{d}	86,9 ± 0,00^{b}	86,6 ± 0,01^{c}	87,5 ± 0,00^{a}
17:0	91,9 ± 0,21^{b}	94,3 ± 0,22^{b}	98,9±0,01^{a}	73,8 ± 0,89^{d}	85,4 ± 0,43^{c}
18:0	83,9 ± 0,04^{d}	84,4 ± 0,03^{c}	85,3 ± 0,03^{a}	83,5 ± 0,01^{e}	85,0 ± 0,01^{b}
20:0	81,1 ± 0,41^{c}	81,2 ± 0,13^{c}	84,1 ± 0,09^{b}	86,5 ± 0,02^{a}	87,4 ± 0,08^{a}
21:0	91,6 ± 0,05^{b}	91,2 ± 0,05^{b}	97,9 ±0,06^{a}	89,7 ± 0,09^{c}	87,6 ± 0,55^{d}
24:0	71,8 ± 0,98^{c}	81,0 ± 0,34^{b}	80,5 ± 0,27^{b}	82,5 ± 0,16^{ab}	84,3 ± 0,15^{a}
16:1n-7	90,5 ± 0,03^{a}	88,6 ± 0,11^{d}	87,4 ± 0,01^{e}	89,4 ± 0,00^{c}	89,8 ± 0,04^{b}
17:1	90,3 ± 0,27^{c}	96,1 ± 0,07^{b}	98,8 ± 0,27^{a}	88,4 ± 0,79^{c}	88,6 ± 0,40^{c}
18:1n-7	89,1 ± 0,05^{b}	89,6 ± 0,01^{a}	88,9 ± 0,02^{c}	89,2 ± 0,05^{b}	89,3 ± 0,00^{b}
18:1n-9	80,6 ± 0,00^{e}	91,0 ± 0,01^{a}	87,7 ± 0,01^{c}	88,4 ± 0,00^{b}	85,6 ± 0,00^{d}
20:1n-9	100,0±0,00	100,0±0,00	100,0±0,00	100,0±0,00	100,0±0,00
24:1n-9	82,3 ± 0,07^{e}	83,4 ± 0,13^{d}	86,9 ± 0,14^{c}	91,9 ± 0,03^{a}	87,3 ± 0,09^{b}
18:2n-6	84,4 ± 0,00^{e}	87,4 ± 0,00^{c}	89,2 ± 0,00^{a}	86,4 ± 0,00^{d}	88,6 ± 0,00^{b}
20:2n-6	95,8 ± 0,04^{d}	99,1 ± 0,00^{a}	96,9 ± 0,01^{c}	98,5 ± 0,01^{b}	95,0 ± 0,08^{e}
18:3n-6	100,0±0,00^{a}	99,8 ± 0,00^{b}	100,0±0,00^{a}	100,0±0,00^{a}	100,0±0,00^{a}
20:3n-6	89,6 ± 0,05^{d}	ND	ND	92,5 ± 0,04^{b}	91,1 ± 0,03^{c}
20:4n-6	88,9 ± 0,17^{d}	90,1 ± 0,27^{c}	91,6 ± 0,09^{b}	94,0 ± 0,04^{a}	94,2 ± 0,01^{a}
18:3n-3	93,3 ± 0,01^{b}	88,7 ± 0,00^{e}	92,9 ± 0,00^{c}	88,8 ± 0,00^{d}	93,5 ± 0,00^{a}
20:3n-3	90,5 ± 0,05^{a}	ND	ND	87,9 ± 0,52^{b}	91,4 ± 0,14^{a}
18:4n-3	90,3 ± 0,06^{b}	89,7 ± 0,07^{c}	89,3 ± 0,12^{d}	91,7 ± 0,01^{a}	91,4 ± 0,07^{a}
20:5n-3	95,5 ± 0,01^{d}	93,9 ± 0,00^{e}	95,6 ± 0,00^{c}	95,7 ± 0,00^{b}	96,4 ± 0,00^{a}
22:6n-3	96,3 ± 0,01^{c}	94,1 ± 0,01^{e}	98,6 ± 0,01^{a}	94,9 ± 0,01^{d}	96,5 ± 0,01^{b}
∑SFA	85,0 ± 0,01^{a}	85,7 ± 0,02^{d}	86,7 ± 0,01^{e}	86,7 ± 0,00^{b}	87,5 ± 0,01^{c}
∑MUFA	88,1 ± 0,00^{d}	93,6 ± 0,00^{a}	88,9 ± 0,01^{c}	91,7 ± 0,00^{b}	87,6 ± 0,01^{e}
∑PUFA	91,7 ± 0,00^{c}	89,9 ± 0,00^{e}	92,9 ± 0,00^{b}	89,9 ± 0,00^{d}	92,8 ± 0,00^{a}
∑n3	95,1 ± 0,00^{a}	90,7 ± 0,00^{e}	94,2 ± 0,00^{c}	91,0 ± 0,03^{d}	94,2 ± 0,00^{b}
∑n6	86,1 ± 0,02^{d}	88,6 ± 0,01^{b}	89,4 ± 0,00^{a}	88,0 ± 0,01^{c}	89,3 ± 0,01^{a}
n-3 HUFA	95,9 ± 0,00^{b}	93,6 ± 0,00^{e}	96,9 ± 0,00^{a}	95,2 ± 0,00^{d}	96,4 ± 0,00^{c}
EPA+DHA	96,0 ± 0,00^{b}	94,0 ± 0,00^{e}	96,9 ± 0,00^{a}	95,3 ± 0,00^{d}	96,5 ± 0,00^{c}

[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

4.8 GÖRÜNEN VE KAYBOLAN YAĞ ASİDİ MİKTARLARI

Balıklarda görünen ve kaybolan yağ asidi sonuçları "Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu"na göre hesaplanmış ve Tablo 4.14'te gösterilmiştir. Eksi (-) ile gösterilen rakamlar balık vücudunda azalan miktarları (oksidasyona uğrayan ve diğer yağ asitlerine dönüşen) ve artı (+) olan değerler balık vücudunda artan (vücutta depolanmış ya da sentezlenmiş) miktarları göstermektedir. Tüm deney gruplarındaki SFA düzeylerinde azalma olmuştur. Bitkisel yağ gruplarında azalan SFA'lardan en temel yağ asidi 16:0 olurken FO grubundaki azalan temel yağ asidi 14:0 olmuştur. SFA'daki azalma en yüksek oranda CSO grubunda gerçekleşmiştir. Tüm deney gruplarında 14:1n-5 yağ asidi artmıştır. Özellikle bu yağ asidi 60CO grubunda en yüksek düzeyde (8,9 ± 1,1 mg her balık için) arttığı görülmüş ($P < 0,05$) ve bu gruptaki sonuç, FO grubu (7,6 ± 0,4 mg her balık için) ile benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). MUFA'lardan 18:1n-9 en çok azalan yağ asidi olmuştur. CSO ve FO gruplarında en yüksek oranda azalan yağ asidi sırasıyla 18:1n-9 ve 20:1n-9 olarak hesaplanmıştır. CO yemi ile beslenen balıklarda PUFA'lar en çok azalan yağ asitleri olmuştur. 60CO diyetinde n-6 PUFA en yüksek oranda azalmıştır. LA en yüksek oranda 60CSO ve 60CO gruplarında azalma göstermiştir. Tüm gruplarda 20:2n-6 ve 18:3n-6 yağ asitleri artmıştır ve bu artış en yüksek oranda CO grubunda hesaplanmıştır ($P < 0,05$). Bitkisel yağların kullanıldığı tüm deney gruplarında 20:3n-6 oranı artmıştır. Bu artış en yüksek oranda CO grubunda görülmüştür. ARA tüm deney gruplarında azalma göstermekle birlikte en yüksek kaybı FO grubunda görülmüştür. n-3 PUFA'lardan ALA en çok azalan yağ asidi olmuştur. Bu yağ asidi CO içeren gruplarda en yüksek oranda azalma gösterirken 18:4n-3 ve 20:4n-3 yağ asitleri bitkisel yağ gruplarında artış göstermiştir. Ancak bu yağ asitlerinin en yüksek artışı FO içermeyen deney gruplarında olmuştur ($P < 0,05$). Buna karşın EPA ve DHA tüm deney gruplarında azalmıştır. Bu yağ asitleri FO grubunda en yüksek oranda azalmıştır. SFA, MUFA ve PUFA kayıpları karşılaştırıldığında en fazla azalan yağ asitleri PUFA olmuştur. CO içeren gruplarda en yüksek azalan yağ asitleri n-6 ve n-3 PUFA'lardır. Genel olarak n-3 HUFA'lardan en fazla azalma gösteren yağ asidi EPA olmuştur. Tüm yağ asitleri arasında ALA en yüksek oranda azalan ve 20:3n-3 en yüksek oranda artış gösteren yağ asitleri olmuştur.

Tablo 4.14 Görünen ve kaybolan yağ asidi miktarları (mg yağ asidi her balık için)[1].

Yağ asitleri	Deney Grupları[2]				
	FO	CSO	CO	60CSO	60CO
14:0	-274,5±22,3^{a}	-602,2±4,7^{d}	-281,2±9,9^{a}	-326,3±10,9^{b}	-463,6±7,7^{c}
16:0	-207,8±47,4^{a}	-706,0±13,1^{d}	-604,9±19,0^{c}	-390,7±19,7^{b}	-731,8±18,2^{d}
18:0	-246,0 ± 6,3^{c}	-266,6 ± 5,0^{c}	-267,9 ± 6,1^{c}	-104,0 ± 5,0^{a}	-188,3 ± 4,9^{b}
20:0	-16,5 ± 1,3^{c}	-84,1 ± 2,4^{e}	-13,7 ± 0,3^{a}	-44,2 ± 0,9^{d}	-11,8 ± 0,4^{b}
24:0	-12,9 ± 1,2^{c}	-14,4 ± 0,7^{c}	-2,0 ± 0,3^{a}	-15,4 ± 0,0^{c}	-5,8 ± 0,5^{b}
14:1n-5	7,6 ± 0,4^{ab}	2,5 ± 0,3^{c}	5,9 ± 0,1^{b}	6,1 ± 0,3^{b}	8,9 ± 1,1^{a}
16:1n-7	-204,9 ± 9,3^{d}	-137,0 ± 1,7^{c}	-42,8 ± 4,9^{b}	14,2 ± 3,4^{a}	-66,2 ± 6,4^{b}
18:1n-7	-149,1 ± 7,0^{c}	-77,1 ± 4,2^{b}	-4,2 ± 2,5^{a}	-60,2 ± 4,2^{b}	-16,1 ± 5,1^{a}
18:1n-9	-797,7±32,0^{c}	-1.378,3±30,9^{e}	-36,7±19,6^{a}	-1.019,5±23,0^{d}	-534,7±15,8^{b}
20:1n-9	-799,1±12,2^{d}	-684,0±16,0^{b}	114,7 ± 5,8^{a}	-746,0 ± 6,3^{c}	132,8 ± 5,6^{a}
24:1n-9	65,1 ± 2,7^{b}	97,5 ± 3,3^{a}	4,3 ± 0,1^{c}	70,1 ± 1,3^{b}	-10,9 ± 0,6^{d}
18:2n-6	-604,6±33,1^{a}	-881,5±30,2^{c}	-771,0±35,9^{b}	-926,9±14,2^{c}	-920,8±23,0^{c}
20:2n-6	-14,4 ± 1,5^{e}	66,2 ± 3,8^{b}	91,7 ± 2,6^{a}	27,9 ± 1,6^{d}	43,8 ± 2,8^{c}
18:3n-6	85,6 ± 4,0^{c}	82,9 ± 1,9^{c}	133,8 ± 3,8^{a}	90,5 ± 1,9^{bc}	97,6 ± 2,5^{b}
20:3n-6	-34,2 ± 0,3^{d}	55,7 ± 3,7^{b}	81,1 ± 1,6^{a}	2,9 ± 0,8^{c}	9,8 ± 3,1^{c}
20:4n-6	-40,4 ± 1,2^{c}	-25,3 ± 1,3^{b}	-12,5 ± 0,6^{a}	-24,7 ± 1,1^{b}	-25,8 ± 1,6^{b}
18:3n-3	-283,6±14,2^{a}	-2.571,0±30,5^{c}	-4.068,0±66,4^{e}	-2.156,5±20,1^{b}	-3.073,4±37,9^{d}
20:3n-3	-87,6 ± 1,4^{d}	189,6 ± 5,5^{b}	316,5 ± 7,4^{a}	140,4 ± 2,1^{c}	139,2 ± 1,5^{c}
18:4n-3	-212,3 ± 5,8^{e}	228,7 ± 5,4^{b}	335,8 ± 7,0^{a}	55,3 ± 2,1^{d}	89,0 ± 2,5^{c}
20:4n-3	27,9 ± 7,0^{d}	106,8 ± 3,5^{b}	188,5 ± 6,3^{a}	60,3 ± 1,6^{c}	60,3 ± 5,0^{c}
20:5n-3	-807,5±15,7^{d}	-140,6 ± 13,9^{b}	-58,0 ± 7,2^{a}	-426,0 ± 5,1^{c}	-453,7 ± 5,5^{c}
22:6n-3	-864,0±26,6^{d}	-133,3±11,7^{b}	-22,9±8,7^{a}	-304,5±9,9^{c}	-266,8±12,3^{c}

[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %60CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO.

4.9 BALIKLARDA GÖRÜNEN YAĞ ASİTLERİNİN B-OKSİDASYON, DESATURASYON VE ELONGASYON MİKTARLARI

Deney balıklarındaki temel yağ asitlerinin β-oksidasyon, desaturasyon ve elongasyon (nmol/g balık/gün) miktarları Tablo 4.8.1'de rapor edilmiştir. Deney yağlarının (Tablo 3.2), dolayısıyla diyetlerin (Tablo 3.3), balıklar tarafından alınan, dışkıyla atılan ve vücutta depolanan yağ asitleri arasındaki farklılıklar dikkate alınarak β-oksidasyon, desaturasyon ve elongasyon hesaplamaları yapılmıştır. Toplam elongasyon, β-oksidasyon ve desaturasyon (Δ-9 ve Δ-6 her ikisi) deney gruplarına göre farklılık göstermiştir. Tüm deney balıklarında SFA'nın kullanımında Δ-9 desaturaz aktivitesi etkili olmuştur. En yüksek Δ-9 desaturaz aktivitesi CO grubundaki balıklarda kaydedilirken (30,4 ± 3,4 nmol/g/gün), en düşük değer (1,2 ± 0,1 nmol/g/gün) CSO grubunda hesaplanmıştır. Balıklarda SFA'nın elongasyonu saptanamamıştır. Benzer şekilde balıklarda Δ-5 desaturaz aktivitesi de saptanamamıştır. Buna karşın tüm deney gruplarında n-6 PUFA metabolizmasında Δ-6 desaturaz aktivitesi kaydedilirken n-3 PUFA metabolizmasında ise Δ-6 desaturaz aktivitesi bitkisel yağ içeren gruplarda görülmüştür. n-6 PUFA (82,5 ± 1,0 nmol/g/gün) ve n-3 PUFA (203,2 ± 3,2 nmol/g/gün) için en yüksek Δ-6 desaturaz aktivitesi CO grubundaki balıklarda kaydedilmiştir. Benzer şekilde n-6 PUFA (62,2 ± 0,9 nmol/g/gün) ve n-3 PUFA (183,2 ± 3,4 nmol/g/gün) için en yüksek elongasyon aktivitesi CO grubundaki balıklarda görülmüştür. n-6 PUFA'lardaki en yüksek oksidasyon düzeyi bitkisel yağ içeren deney gruplarına ait balıklarda kaydedilmiştir. Benzer şekilde n-3 PUFA'lardaki en yüksek oksidasyon düzeyi de bitkisel yağ içeren deney gruplarına ait balıklarda saptanmıştır. Diyetlere ilave edilen bitkisel yağların artışıyla toplam elongaz ve desaturaz aktiviteleri de artmıştır. En yüksek toplam elongaz, Δ-9 ve Δ-6 desaturaz aktivitesi CO grubundaki balıklarda kaydedilmiştir.

Tablo 4.15 Balıkların görünen yağ asitlerinin β-oksidasyon, desaturasyon ve elongasyon (nmol/g/gün)[1].

	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
SFA					
Net alınan	1.905,7±20,0^{a}	860,6±10,5^{c}	911,9±9,7^{c}	1.290,5±8,0^{b}	1.231,9±11,4^{b}
Elongasyon	ND	ND	ND	ND	ND
β-oksidasyon	309,1 ± 35,6^{d}	756,5 ± 19,5^{a}	477,2 ± 31,8^{c}	365,7 ± 19,1^{d}	593,2 ± 18,8^{b}
Δ-9 desat	3,5 ± 0,2^{b}	1,2 ± 0,1^{b}	30,4 ± 3,4^{a}	8,8 ± 1,5^{b}	4,2± 0,5^{b}
MUFA					
Net alınan	1.680,4±17,8^{a}	1.707,8±19,4^{a}	469,2±5,2^{d}	1.626,9±10,0^{b}	800,8±7,8^{c}
Elongasyon	37,3 ± 1,2^{c}	60,6 ± 1,3^{a}	44,7 ± 1,6^{b}	40,9 ± 0,5^{bc}	45,5 ± 1,5^{b}
β-oksidasyon	690,1 ± 30,6^{b}	871,4 ± 31,8^{a}	123,4 ± 13,4^{d}	645,3 ± 16,4^{b}	255,5 ± 14,9^{c}
n-6 PUFA					
Net alınan	846,8 ± 8,4^{d}	839,9 ± 9,8^{d}	979,1 ± 10,0^{a}	876,1 ± 5,6^{c}	905,2 ± 8,7^{b}
Elongasyon	ND	45,2 ± 2,3^{b}	62,2 ± 0,9^{a}	10,7 ± 0,8^{d}	18,5 ± 1,6^{c}
β-oksidasyon	225,4 ± 17,2^{b}	289,4 ± 19,6^{a}	193,9 ± 19,1^{b}	316,6± 9,1^{a}	303,3 ±14,6^{a}
Δ-6 desat	32,3 ± 1,2^{d}	54,7 ± 1,4^{b}	82,5 ± 1,0^{a}	35,8 ± 0,8^{d}	40,7 ± 1,7^{c}
n-3 PUFA					
Net alınan	1.654,4±19,0^{d}	2.058,7±24,0^{c}	3.449,4±35,6^{a}	1.998,5±11,5^{c}	2.856,6±26,5^{b}
Elongasyon	9,6 ± 2,3^{d}	110,6 ± 2,1^{b}	183,2 ± 3,4^{a}	70,1 ± 0,4^{c}	69,5 ± 1,6^{c}
β-oksidasyon	766,6±31,2^{c}	948,8 ± 34,8^{b}	1,329,8±52,0^{a}	986,2 ± 19,7^{b}	1,319,5±35,7^{a}
Δ-6 desat	ND	134,4 ± 1,9^{b}	203,2 ± 3,2^{a}	42,5 ± 1,0^{d}	55,4 ± 2,1^{c}
Toplam					
Net alınan	6.087,2±65,2^{a}	5.467,1±63,5^{c}	5.809,7±60,5^{ab}	5.792,0±35,0^{b}	5.794,5±54,3^{b}
Elongasyon	46,9 ± 3,5^{d}	216,4 ± 5,1^{b}	290,1 ± 5,8^{a}	121,7 ± 1,0^{c}	133,5 ± 4,7^{c}
β-oksidasyon	1.991,2±114,7^{c}	2.866,0±105,2^{a}	2.021,4±105,6^{bc}	2.313,8±64,2^{bc}	2.409,4±83,9^{b}
Δ-6 desat	32,3 ± 1,2^{e}	189,1 ± 3,3^{b}	285,6 ± 4,1^{a}	78,3 ± 1,8^{d}	96,1 ± 3,8^{c}
Δ-9 desat	3,5 ± 0,2^{b}	1,2 ± 0,1^{b}	30,4 ± 3,4^{a}	8,8 ± 1,5^{b}	4,2± 0,5^{b}

[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %6 CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO. ND: Saptanamamıştır; Δ-9 desat = Δ-9 desaturasyon; Δ-6 desat = Δ-6 desaturasyon.

4.10 BALIKLARDA N-6 PUFA'LARIN ELONGASYON, B-OKSİDASYON, DESATURASYON VE DEPOLAMA MİKTARLARI

Tüm vücut yağ asidi denge metodu ile yapılan hesaplamada balıklardaki bazı spesifik n-6 PUFA'ların elongasyon, β-oksidasyon, desaturasyon ve depolanmalarına ait sonuçlar (nmol/g/gün) Tablo 4.9.1'de sunulmuştur. Yapılan hesaplamalarda farklı gruplarda n-6 PUFA'ların elongasyon, β-oksidasyon, desaturasyon ve depolamaları arasında farklılıklar olduğu görülmüştür. Tüm deney gruplarındaki bazı spesifik n-6 PUFA'ların depolanmasına

ilişkin pozitif değerler Tablo 4.9.1'de gösterilmiştir. LA'daki elongaz ve Δ-6 desaturaz aktivitesi bitkisel yağ içeren gruplarda kaydedilirken bu yağ asidi ile ilgili FO grubundaki balıklarda sadece Δ-6 desaturaz aktivitesi ölçülmüştür. LA'nın net tüketimi ile ilgili, Δ-6 desaturaz aktivitesi (82,5 ± 1,0 nmol/g/gün) CO grubunda en yüksek düzeyde kaydedilirken FO grubunda en düşük düzeyde (32,3 ± 1,2 nmol/g/gün) hesaplanmıştır ($P < 0,05$). Bitkisel yağ içeren gruplar FO grubu ile karşılaştırıldığında, 18:2n-6 yağ asidini 20:2n-6'ya dönüştürmede daha yüksek ($P < 0,05$) bir elongaz aktivitesine sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca, bu dönüşüm reaksiyonunda CO grubunun en yüksek ($P < 0,05$) elongaz aktivitesini gösterdiği tespit edilmiştir (32,9 ± 0,6 nmol/g/gün). Tüm deney gruplarının LA β-oksidasyonu %40 oranının altında olmuştur. CSO, CO, 60CSO ve 60CO gruplarına ait balıkların tüm vücutlarında analiz edilen 20:2n-6, 18:3n-6 ve 20:3n-6 yağ asitlerinin, diyetlerinde bulunan miktarlarından daha yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür. Tüm deney gruplarına ait balıklarda18:3n-6 yağ asidinin yüksek oranda depolandığı yapılan hesaplamalarda bulunmuştur. Bitkisel yağ içeren gruplarda 18:3n-6 ve 20:3n-6 yağ asitlerinin oksidasyonu saptanamamıştır. Bitkisel yağ içeren tüm gruplarda ARA'nın oksidasyonu FO grubundan daha düşük olmuştur ($P < 0,05$). Bununla birlikte balık yağı içeren tüm gruplarda balık vücudunda yüksek oranda ($P < 0,05$) ARA'nın depolandığı görülmüştür (> 20 nmol/g balık/gün).

Tablo 4.16 Deney balıklarının tüm vücudunda diyetle alınan *n-6* serisi yağ asidi dönüşüm (elongasyon, β-oksidasyon ve desaturasyon) miktarları (nmol/g balık/gün)[1].

	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
18:2n-6					
Net alınan	711,2±7,5^{d}	785,2±9,2^{c}	921,8±9,3^{a}	783,5±4,8^{c}	817,1±8,2^{b}
Elongasyon	ND	24,5±1,1^{b}	32,9±0,6^{a}	9,7±0,5^{d}	15,1±0,9^{c}
β-oksidasyon	195,2±15,7^{b}	279,9±18,7^{a}	189,3±19,0^{b}	307,9±8,7^{a}	294,2±14,0^{a}
Δ-6 desaturasyon	32,3±1,2^{d}	54,7±1,4^{b}	82,5±1,0^{a}	35,8±0,8^{cd}	40,7±1,7^{c}
Depolama	484,1±7,3^{b}	426,1±7,3^{c}	617,1±8,1^{a}	430,2±2,8^{c}	467,0±4,4^{b}
20:2n-6					
Net alınan	26,0±0,2^{a}	24,6±0,3^{b}	26,4±0,3^{a}	22,6±0,4^{c}	21,2±0,8^{c}
Elongasyon	ND	ND	ND	ND	ND
β-oksidasyon	4,9±0.6	ND	ND	ND	ND
Depolama	21,1±0,5^{e}	49,1±1,0^{b}	59,3±0,3^{a}	32,2±0,1^{d}	36,3±0,2^{c}
18:3n-6					
Net alınan	23,9±0,1^{a}	10,8±0,2^{c}	11,7±0,4^{c}	15,4±0,1^{b}	14,8±0,3^{b}
Elongasyon	ND	20,7±1,1^{b}	29,3±0,4^{a}	1,0±0,3^{d}	3,4±1,0^{c}
β-oksidasyon	ND	ND	ND	ND	ND
Depolama	56,2±0,3^{b}	44,8±0,7^{d}	64,9±0,4^{a}	50,2±0,4^{c}	52,1±0,6^{c}
20:3n-6					
Net alınan	44,3±0,3^{a}	ND	ND	23,8±0,2^{b}	22,5±0,4^{c}
β-oksidasyon	11,7±0,2	ND	ND	ND	ND
Depolama	32,6±0,2^{a}	20,7±1,1^{d}	29,3±0,4^{b}	24,8±0,2^{c}	25,9±0,7^{c}
20:4n-6					
Net alınan	41,4±0,4^{a}	19,4±0,3^{c}	19,2±0,1^{c}	30,7±0,3^{b}	29,6±0,5^{b}
β-oksidasyon	14,0±5^{a}	9,5±0,6^{b}	8,4±0,3^{b}	8,7±0,4^{b}	9,0±0,6^{b}
Depolama	27,4±0,2^{a}	9,9±0,2^{e}	10,8±0,2^{d}	22,1±0,1^{b}	20,5±0,2^{c}

[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %6 CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO. ND: Saptanamamıştır; Δ-9 desat = Δ-9 desaturasyon; Δ-6 desat = Δ-6 desaturasyon.

4.11 BALIKLARDA N-3 PUFA'LARIN ELONGASYON, B-OKSİDASYON, DESATURASYON VE BİRİKİM MİKTARLARI

Deney balıklarında n-3 PUFA'ların elongasyon, β-oksidasyon, desaturasyon ve depolama sonuçları Tablo 4.17'de sunulmuştur. n-6 PUFA'larda olduğu gibi n-3 PUFA'ların da balıklardaki dönüşümleri tüm deney gruplarında önemli farklılıklar göstermiştir. Elongaz ve Δ-6 desaturaz aktiviteleri tüm bitkisel yağ gruplarında kaydedilmiştir. Benzer şekilde tüm deney

gruplarında 20:3n-3 yağ asidi dışında diğer n-3 PUFA'ların depolandığı kaydedilmiştir. 18:3n-3 yağ asidinin tüketimi, elongasyonu, Δ-6 desaturasyonu ve oksidayonu bitkisel yağ içeren tüm deney gruplarında FO grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). 18:3n-3 yağ asidinin balıklar tarafından en yüksek tüketimi ve depolanması CO grubunda gerçekleşmiştir ($P < 0,05$). FO, CO, CSO, 60CO ve 60CSO deney gruplarındaki balıklar tarafından alınan 18:3n-3 yağ asidi gruplara göre sırasıyla %37,8; %41,2; %47,2; %48,7 ve %54,5 oranlarında oksidasyona uğramıştır. 18:3n-3 yağ asidinin 20:3n-3'e elongasyonu ve 18:4n-3'e desaturasyonu CO grubunda en yüksek düzeylerde görülmüştür. Bitkisel yağ içeren tüm gruplarda, balıkların tüm vücutlarındaki 20:3n-3 ve 18:4n-3 yağ asitlerinin miktarı, yemlerden aldıkları miktarlardan daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). Tüm deney gruplarında 20:4n-3 yağ asidinin β-oksidasyonu saptanamamıştır. Benzer şekilde bitkisel yağ içeren hiç bir deney grubundaki balıklarda 20:3n-3 yağ asidinin oksidasyonu kaydedilememiştir. CSO grubundaki balıklar tarafından yemlerden alınan EPA'nın oksidasyonu en yüksek oranda (yemlerden alınan EPA'nın %70'i) görülmüştür. Tüm deney gruplarındaki balıklarda DHA, n-3 HUFA'nın diğer üyelerine göre daha yüksek oranda depolanmış ve daha düşük oranda oksidasyona uğramıştır. Sadece bitkisel yağ içeren yemlerle beslenen balıklarda DHA'nın birikimi (CSO ve CO gruplarında sırasıyla %71,6 ve %96,0 oranlarında) diğer deney gruplarından daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 4.17 Deney balıklarının tüm vücudunda diyetlerden alınan *n-3* serisi yağ asidi dönüşüm (elongasyon, β-oksidasyon ve desaturasyon) miktarları (nmol/g/gün)[1].

	Deney Grupları[2]				
	FO	**CSO**	**CO**	**60CSO**	**60CO**
18:3n-3					
Net alınan	284,2±3,5^{e}	1.797,4±20,9^{c}	3.156,6±32,5^{a}	1.352,0±8,1^{d}	2.202,1±20,7^{b}
Elongasyon	ND	70,6±1,6^{b}	114,3±1,5^{a}	49,0±0,9^{c}	48,4±0,2^{c}
β-oksidasyon	107,3±6,4^{d}	849,2±27,4^{b}	1.300,9±476,7^{a}	736,5±13,2^{c}	1.072,9±27,5^{b}
Δ-6 desat	ND	134,4±1,9^{b}	202,9±3,0^{a}	42,5±1,0^{b}	55,4±2,1^{b}
Depolama	176,9±3,5^{e}	743,2±4,2^{c}	1.538,5±10,7^{a}	524,1±4,6^{d}	1.025,4±4,8^{b}
20:3n-3					
Net alınan	24,0±0,4^{a}	ND	ND	7,9±0,4^{b}	7,8±0,4^{b}
β-oksidasyon	30,1±0,6	ND	ND	ND	ND
Depolama	-6,1±0,5^{d}	70,6±1,6^{b}	114,3±1,5^{a}	56,9±0,6^{c}	56,2±0,4^{c}
18:4n-3					
Net alınan	145,0±2,0^{a}	19,0±0,1^{d}	18,9±0,4^{d}	57,6±0,4^{b}	54,4±0,5^{c}
Elongasyon	9,6±2,3^{c}	40,0±0,8^{b}	68,5±1,6^{a}	21,2±0,4^{b}	21,1±1,5^{b}
β-oksidasyon	71,2±5.1	ND	ND	ND	ND
Depolama	64,2±1,5^{e}	113,4±1,1^{b}	153,3±1,1^{a}	78,9±0,3^{d}	88,7±0,3^{c}
20:4n-3					
Net alınan	79,0±1,1^{a}	ND	ND	43,1±0,2^{b}	42,5±0,6^{b}
β-oksidasyon	ND	ND	ND	ND	ND
Depolama	88,6±1,3^{a}	44,0±0,8^{c}	68,5±1,6^{b}	64,3±0,2^{b}	63,6±1,0^{b}
20:5n-3					
Net alınan	467,3±5,7^{a}	78,8±0,9^{d}	82,9±0,8^{d}	236,5±1,5^{c}	247,0±2,4^{b}
Elongasyon	ND	ND	0,3±0.0	ND	ND
β-oksidasyon	281,0±8,4^{a}	53,1±5,5^{c}	21,1±3,0^{d}	150,6±2,7^{b}	159,9±3,4^{b}
Depolama	186,2±2,8^{a}	25,7±5,1^{d}	61,6±2,0^{c}	85,9±1,2^{b}	87,1±1,1^{b}
22:6n-3					
Net alınan	654,9±7,0^{a}	163,5±1,9^{d}	191,1±2,0^{c}	301,3±1,8^{b}	302,7±2,8^{b}
β-oksidasyon	276,9±11,4^{a}	46,4±4,6^{c}	7,8±1,4^{d}	99,1±3,8^{b}	86,7±4,8^{b}
Depolama	377,9±4,5^{a}	117,1±2,7^{e}	183,4±1,4^{d}	202,2±2,1^{c}	216,1±2,0^{b}

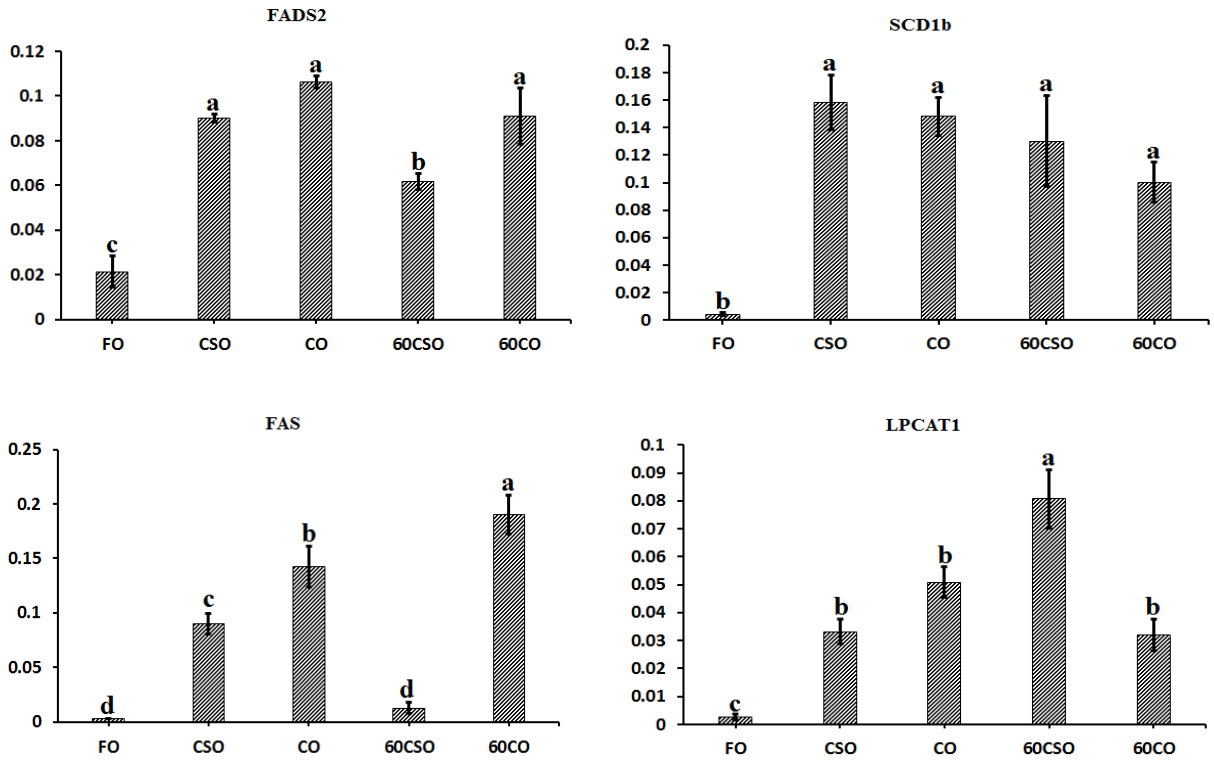
[1]Değerler ortalama ve standart hata (Ort ± S.E.M) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur.

[2]FO: Balık yağı, CSO: Kamelina tohumu yağı, CO: Çiya yağı, 60CSO: %6 CSO+%40FO, 60CO: %60CO+%40FO. ND: Saptanamamıştır; Δ-9 desat = Δ-9 desaturasyon; Δ-6 desat = Δ-6 desaturasyon.

4.12 GEN EKSPRESYONU

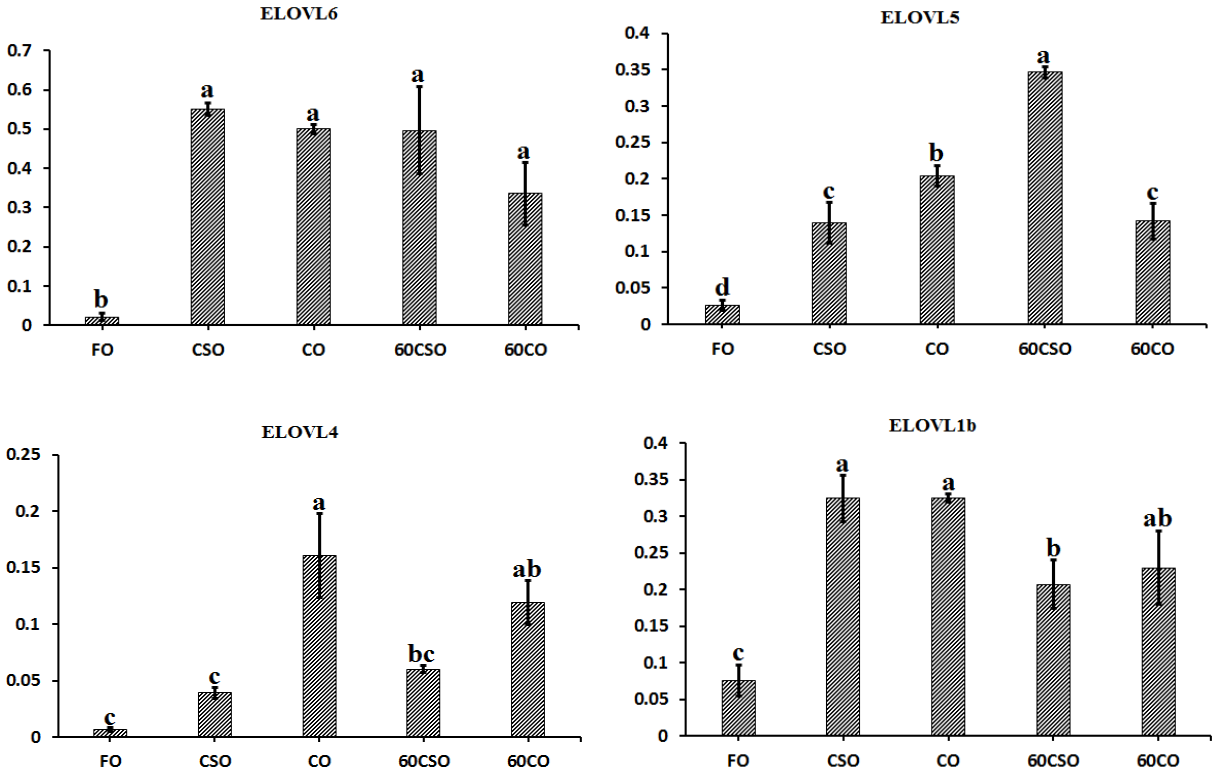
4.12.1 Karaciğer gen ekspresyonu

Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın karaciğer yağlı açil desaturaz 2 (FADS2, Δ-6 desaturaz), stearoyl-CoA desaturaz 1b (SCD1b, Δ-9 desaturaz), yağ asidi sentez (FAS) ve lizofosfatidilkolin açiltransferaz 1 (LPCAT1) gen ekspresyonları Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Bitkisel yağlar içeren tüm diyetlerle beslenen balıkların karaciğerindeki Δ-6 desaturaz ve Δ-9 desaturaz FO deney grubuna göre daha yüksek düzeylerde bulunmuştur ($P < 0,05$). En yüksek FAS ekspresyonu 60CO grubundaki balıklarda kaydedilmiştir ($P < 0,05$). Bu genin ekspresyonu, FO ve 60CSO gruplarında benzer ve diğer gruplardan daha düşük düzeylerde bulunmuştur ($P < 0,05$). LPCAT1 gen ekspresyonu, 60CSO grubundaki balıklarda en yüksek düzeyde kaydedilirken FO grubundaki balıklarda en düşük düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$).



Şekil 4.1 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın karaciğerindeki FADS2, SCD1b, FAS ve LPCAT1 gen expresyonları.

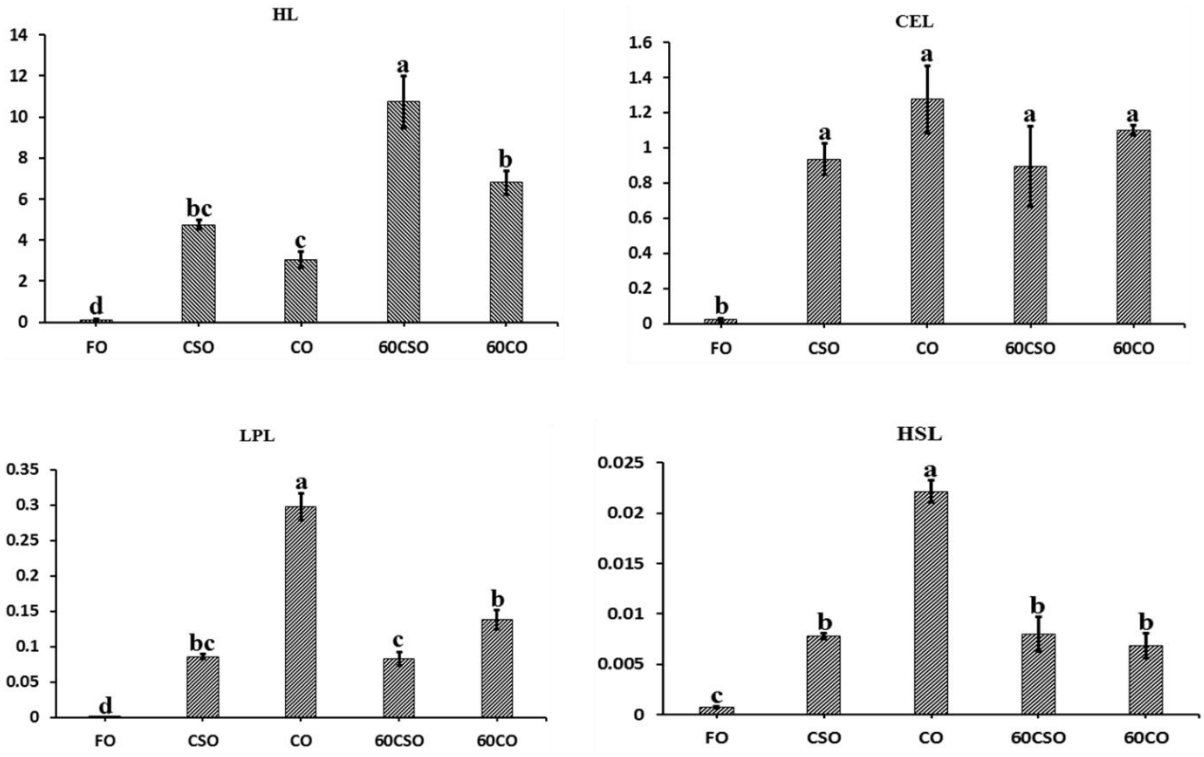
Elongasyon 6 (ELOVL6), 5 (ELOVL5), 4 (ELOVL4) ve 1b (ELOVL1b)'nın gen ekpresyonları Şekil 4.2'de sunulmuştur. ELOVL6 gen ekspresyonu bitkisel yağ içeren tüm gruplarda benzer ve FO grubundan daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$). Benzer şekilde bitkisel yağ gruplarındaki ELOVL5 ekspresyonu FO grubundan daha yüksek düzeylerde bulunmuştur ($P < 0,05$). Ancak 60CSO grubu en yüksek gen ekpresyonu düzeyine sahip olmuştur ($P < 0,05$). ELOVL4 gen ekspresyonu CO grubundaki balıklarda en yüksek düzeyde, FO ve CSO gruplarında ise en düşük düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$). ELOVL1b ekspresyonu ise CSO ve CO balıklarında diğer gruplardaki balıklardan daha yüksek düzeylerde gerçekleşmiştir ($P < 0,05$).



Şekil 4.2 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının karaciğerindeki elongazlar (ELOVL6, ELOVL5, ELOVL4 ve ELOVL1b) gen ekspresyonu.

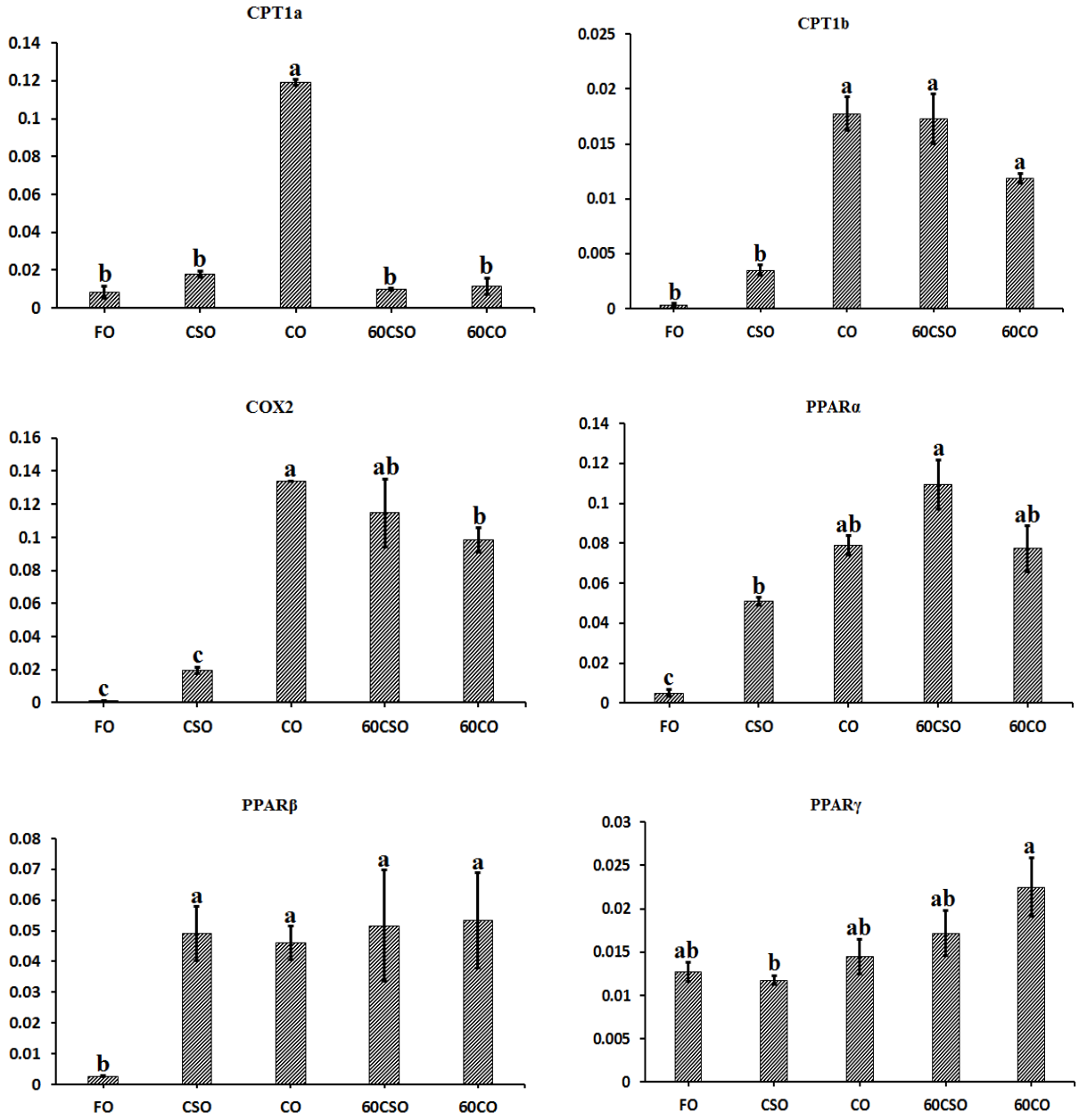
Hepatik lipaz (HL), karboksil ester lipaz (CEL), lipoprotein lipaz (LPL) ve hormona duyarlı lipaz (HSL) gen ekpresyonları Şekil 4.3'te sunulmuştur. CEL düzeyi CO grubundaki balıklarda en yüksek düzeyde olmuştur ($P < 0,05$). Ancak diğer bitkisel yağ grupları arasında herhangi önemli bir fark görülmemiştir. HL gen ekspresyonu 60CSO grubundaki balıklarda en yüksek düzeyde görülmüştür ($P < 0,05$). Benzer olarak lipoprotein lipaz (LPL) gen ekspresyonu CO grubundaki balıklarda en yüksek düzeyde tespit edilmiştir ($P < 0,05$). HSL gen ekspresyonu

CO grubunda en yüksek düzeyde görülürken, FO grubunda en düşük düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$).



Şekil 4.3 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının karaciğerindeki lipazlar (HL, CEL, LPL ve HSL) gen ekspresyonu.

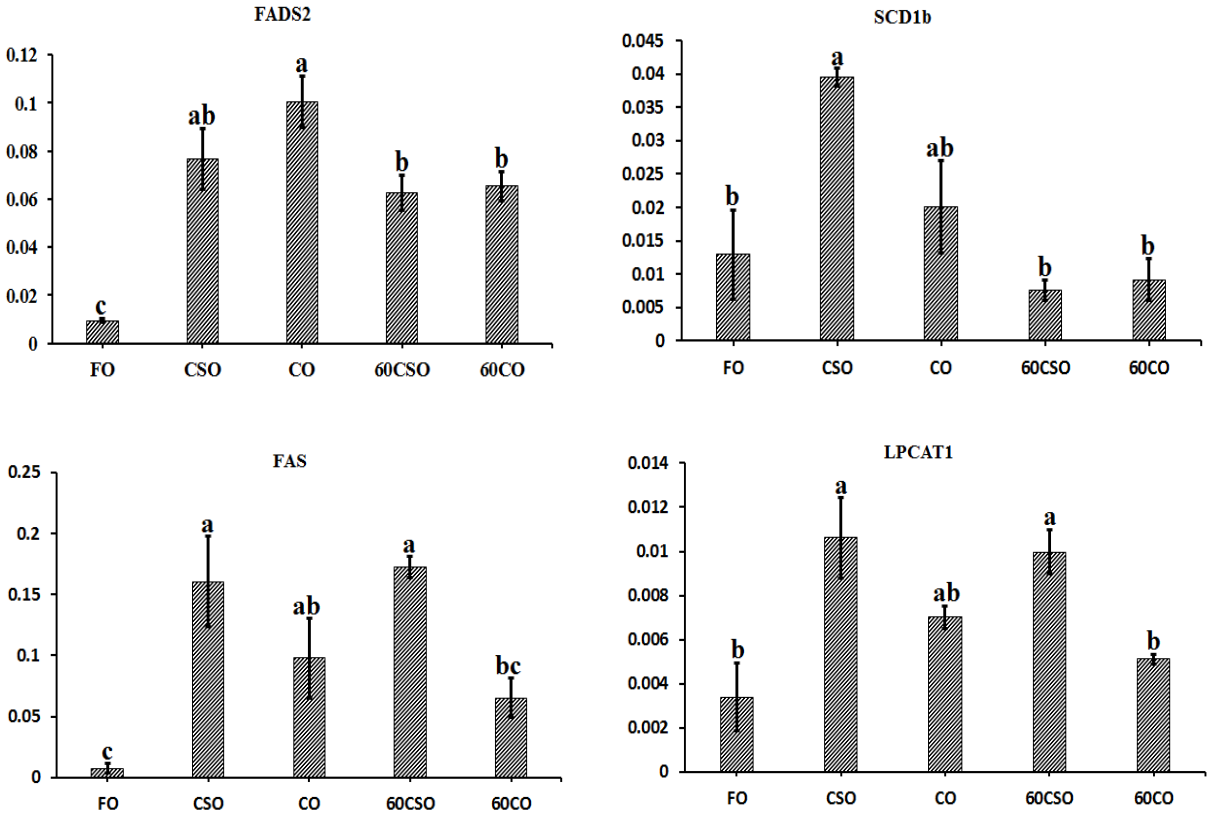
Karnitin palmitoyltransferaz (CPT1a ve CPT1b), sitokrom C oksidaz 2 (COX2) ve peroksisom proliferaktoraktive edilmiş reseptörler (PPARα, PPARβ ve PPARγ) gen ekspresyonları Şekil 4.4'te rapor edilmiştir. CPT1a gen ekspresyonu CO grubunda en yüksek bulunurken, CPT1b CO ve 60CSO gruplarında diğer gruplardan daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$). Sitokrom C oksidaz 2 (COX2) ekspresyonu CO grubundaki balıklarda en yüksek düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.13). Aynı gen FO ve CSO gruplarında diğer tüm deney gruplarından daha düşük düzeyde kaydedilmiştir. Peroksisom proliferaktoraktive edilmiş reseptörler (PPARs), 60CSO, CO ve 60CO gruplarındaki balıklarda PPARα düzeyi benzer ($P > 0,05$) ve diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). PPARβ ekspresyonu, bitkisel yağ içeren tüm gruplarda benzer olduğu görülmüş ve FO grubundan daha yüksek düzeylere sahip oldukları bulunmuştur. PPARγ ekspresyonu, CSO grubundaki balıklarda en düşük düzeyde kaydedilirken, 60CO grubundaki balıklarda ise en yüksek düzeyde olduğu görülmüştür ($P < 0,05$).



Şekil 4.4 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının karaciğerindeki CPT1a, CPT1b, COX2, PPARα, PPARβ ve PPARγ gen expresyonları.

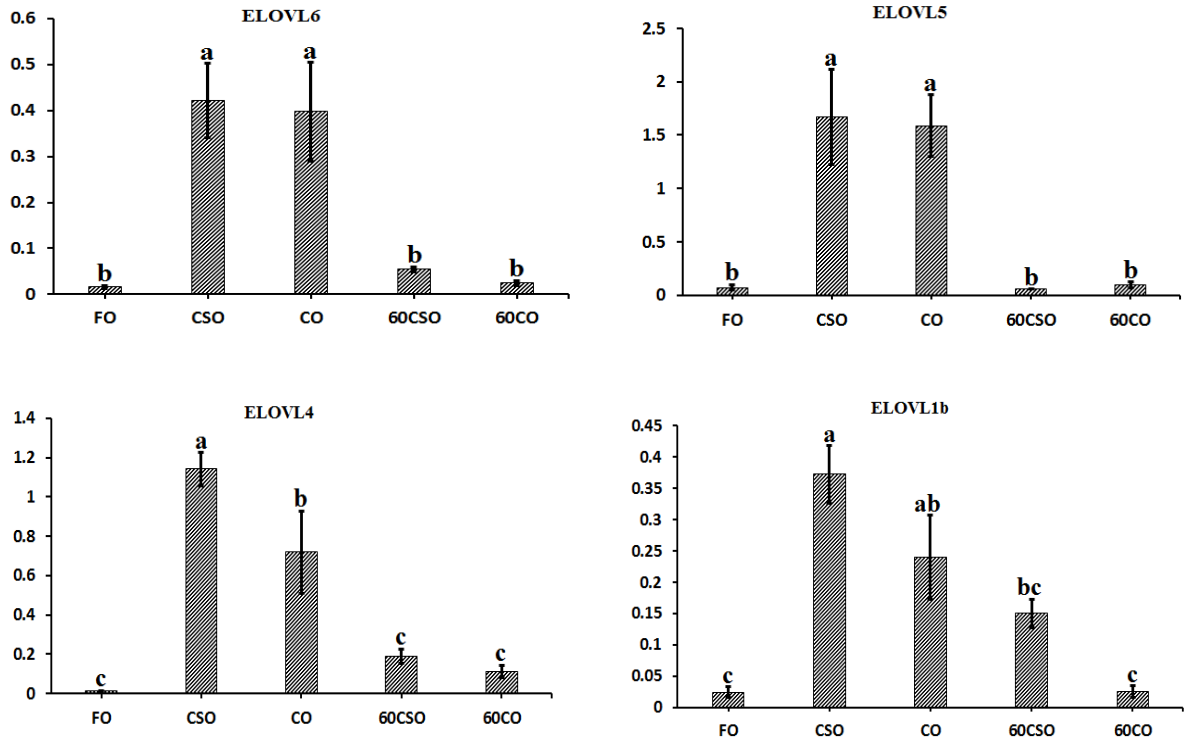
4.12.2 Ön bağırsak gen ekspresyonu

Deney diyetleriyle beslenen juvenil çipuranın ön bağırsak FADS2 (Δ-6 desaturaz), SCD1b (Δ-9 desaturaz), FAS ve LPCAT1 gen ekspresyonları Şekil 4.5'te rapor edilmiştir. Şekildeki sonuçlar incelendiğinde genel olarak bitkisel yağlar içeren yemlerle beslenen balıkların ön bağırsağındaki Δ-6 desaturaz ekspresyon düzeyleri FO grubundan daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). Ancak bu analiz CO grubundaki balıkların ön bağırsağında en yüksek düzeyde kaydedilmiştir ($P < 0,05$). Δ-9 desaturaz ekspresyonu ise CSO ve CO gruplarındaki balıkların ön bağırsağında benzer ve diğer gruplardan daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$). Kamelina yağı içeren CSO ve 60CSO deney gruplarına ait balıkların ön bağırsağındaki FAS ve LPCAT1 gen ekpresyon düzeyleri benzer ($P > 0,05$) ve diğer deney gruplarından daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$).



Şekil 4.5 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki FADS2, SCD1b, FAS ve LPCAT1 gen ekspresyonları.

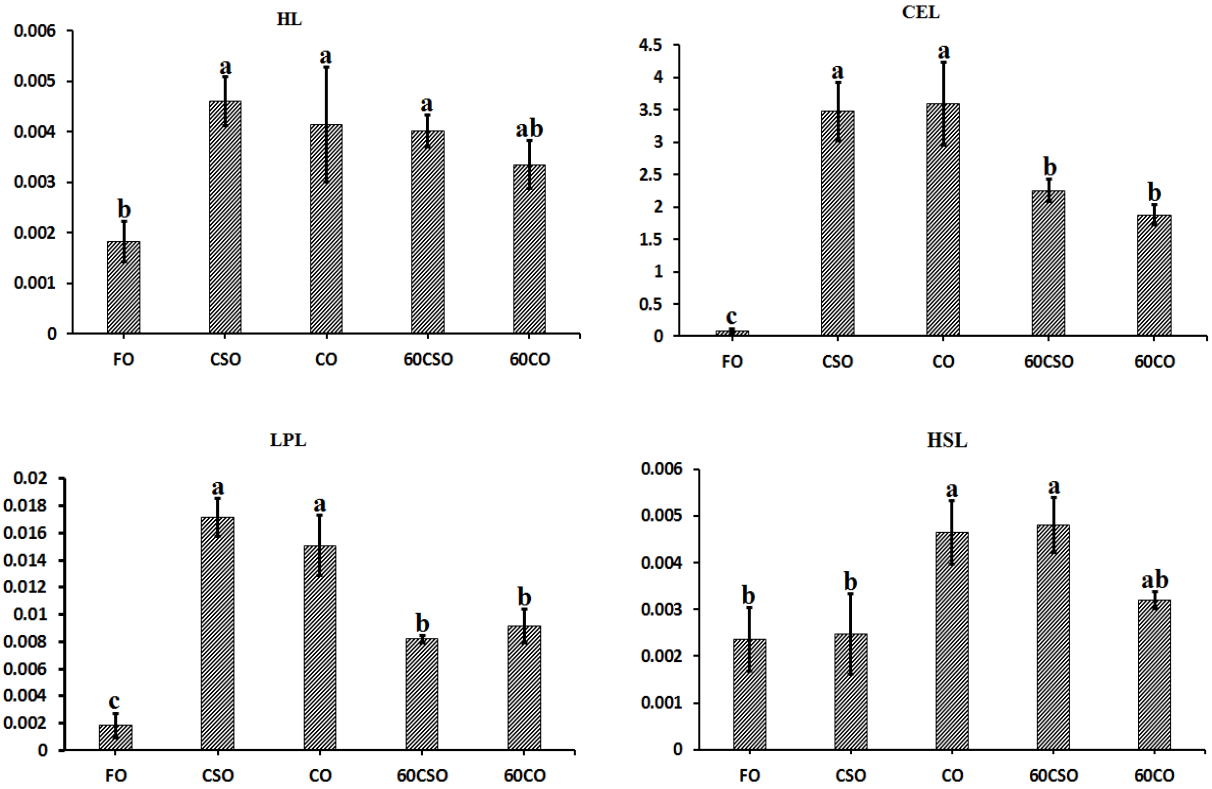
Elongaz analizlerinde (Şekil 4.6), sadece bitkisel yağ içeren (CSO ve CO) deney gruplarındaki balıkların ön bağırsaklarındaki ELOVL 6, ELOVL5 ve ELOVL 4 ekspresyon düzeyleri balık yağı içeren tüm deney gruplarından daha yüksek olmuştur ($P < 0,05$). Belirtilen bu analiz sonuçları balık yağı içeren tüm deney gruplarında benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). ELOVL1b ekspresyonu, CSO ve CO gruplarındaki balıkların ön bağırsağında diğer deney balıklarından daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$).



Şekil 4.6 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki ELOVL6, ELOVL5, ELOVL4 ve ELOVL1b gen ekspresyonları.

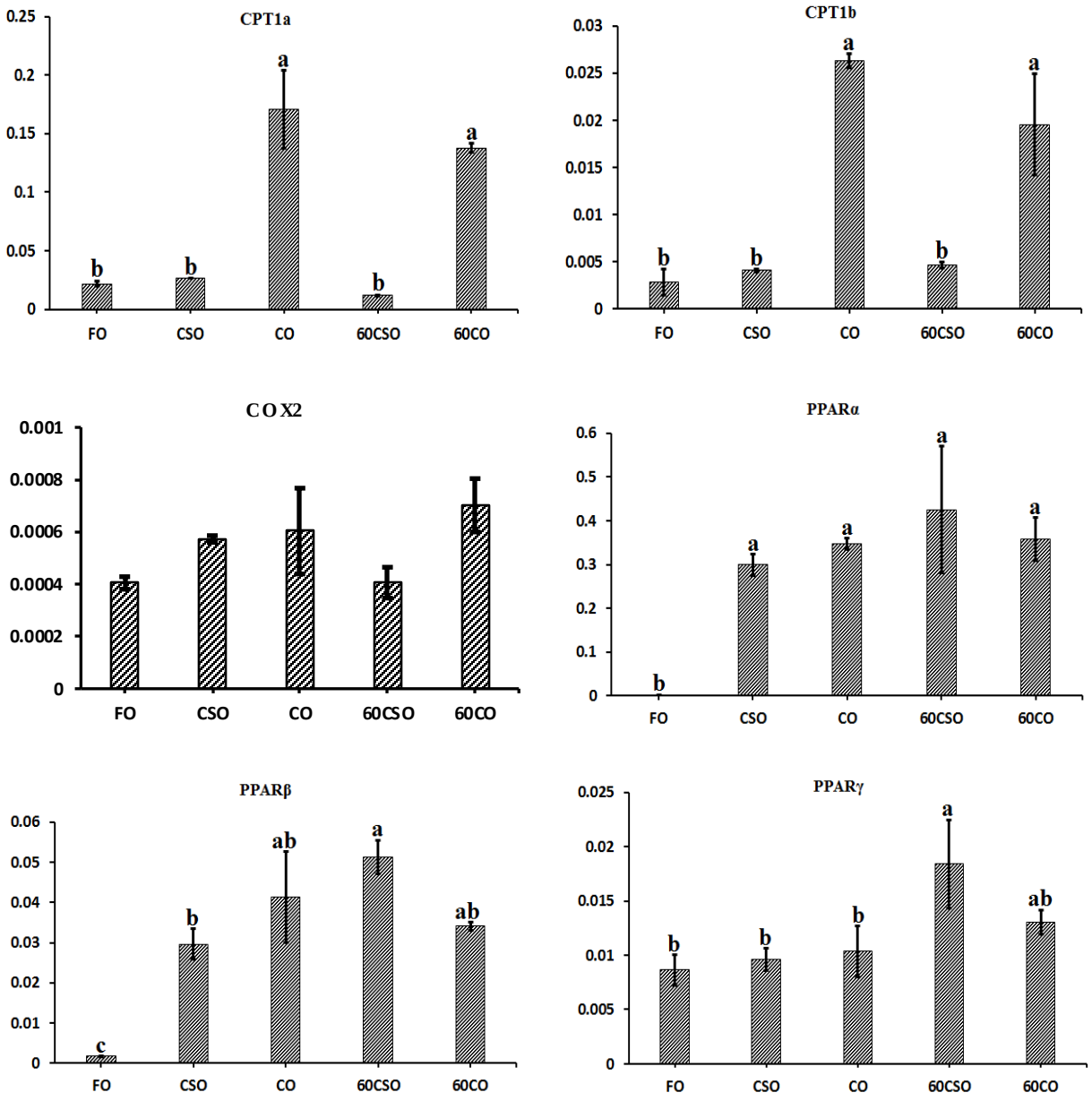
Lipaz enzimi analizlerinde (Şekil 4.7), sadece bitkisel yağ kullanılan balıkların ön bağırsağındaki CEL gen ekspresyonu diğer deney gruplarından daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P < 0,05$). Bitkisel yağ içeren tüm deney gruplarındaki balıkların ön bağırsağındaki HL ekspresyon düzeyi benzer ve diğer deney gruplarından daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). Sadece bitkisel yağ içeren deney balıklarının ön bağırsağındaki LPL ekspresyon düzeyi benzer ($P > 0,05$) ve diğer deney gruplarından daha yüksek ($P < 0,05$) olduğu görülmüştür. Ancak FO grubundaki balıklar ise en düşük LPL ekspresyon düzeyine sahip olmuşlardır ($P < 0,05$). CO ve 60CSO gruplarındaki balıkların ön bağırsağındaki HSL gen

ekspresyon düzeyi ise benzer (P > 0,05) ve diğer gruplardan daha yüksek (P < 0,05) kaydedilmiştir.



Şekil 4.7 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki HL, CEL, LPL ve HSL gen ekspresyonları.

CPT1a, CPT1b, COX2, PPARα, PPARβ ve PPARγ gen ekspresyonları Şekil 4.8'de rapor edilmiştir. FO, CSO ve 60CSO gruplarına ait balıkların ön bağırsağındaki CPT1a ve CPT1b gen ekspresyon düzeyleri benzer (P > 0,05) ve çiya yağı içeren CO ve 60CO gruplarından daha düşük bulunmuştur (P < 0,05). Ancak tüm deney gruplarındaki balıkların ön bağırsağındaki COX2 gen ekspresyon düzeyleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark görülmemiştir (P > 0,05). PPARα gen ekspresyonu analizlerinde ise bitkisel yağ içeren tüm deney gruplarında benzer (P > 0,05) ve FO grubundan daha yüksek düzeyde kaydedilmiştir (P < 0,05). 60CSO grubuna ait balıkların ön bağırsağındaki PPARβ gen ekspresyonu tüm deney grupları arasında en yüksek düzeyde bulunmuştur (P < 0,05). Deney balıklarının ön bağırsağındaki PPARγ gen ekspresyon düzeyi, bütün diyet gruplarında istatistiki olarak herhangi bir fark göstermemiştir (P > 0,05).

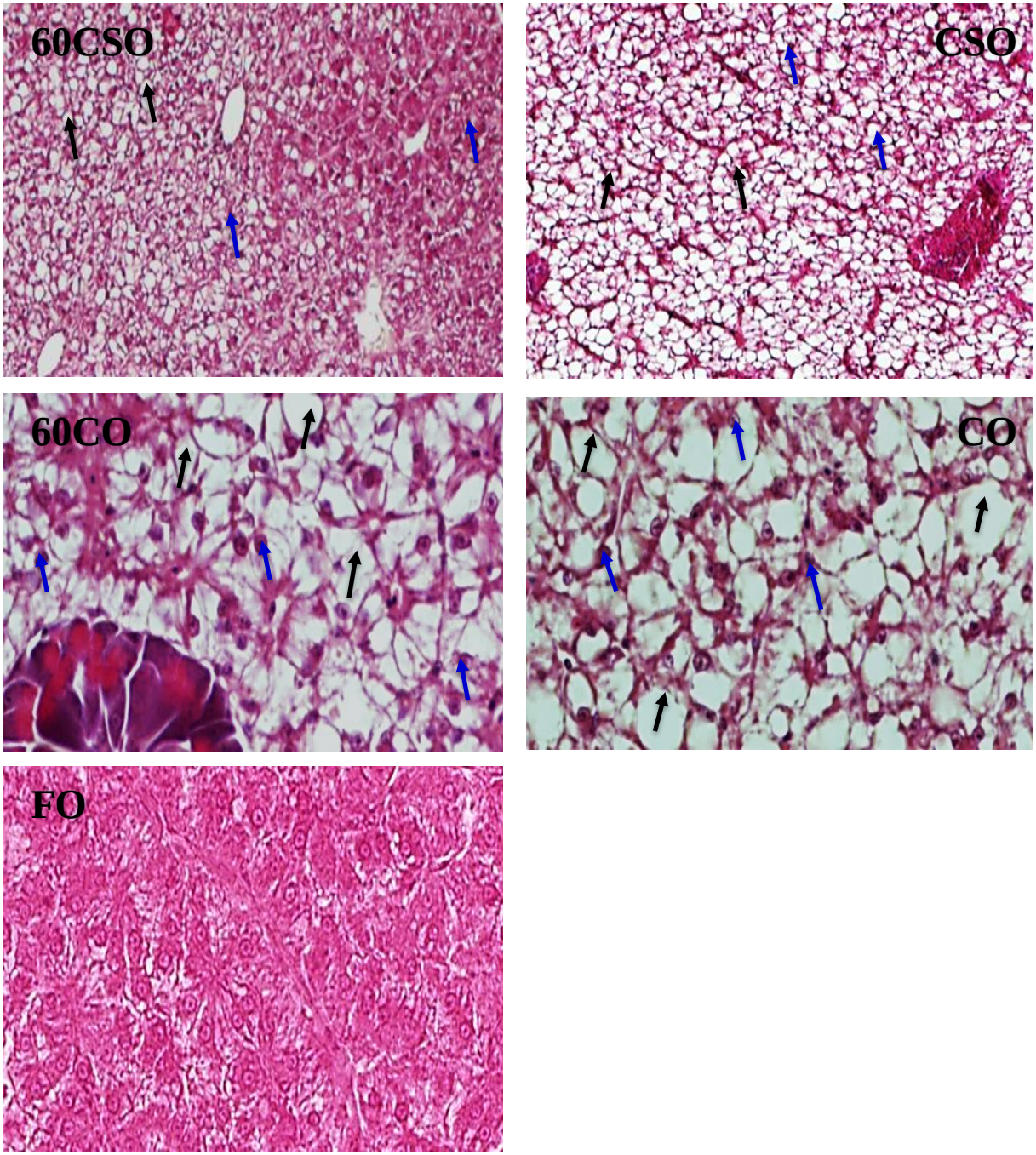


Şekil 4.8 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuralarının ön bağırsağındaki CPT1a, CPT1b, COX2, PPARα, PPARβ ve PPARγ gen ekspresyonları.

4.13 HİSTOLOJİ

4.13.1 Karaciğer

Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın karaciğer kesitleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

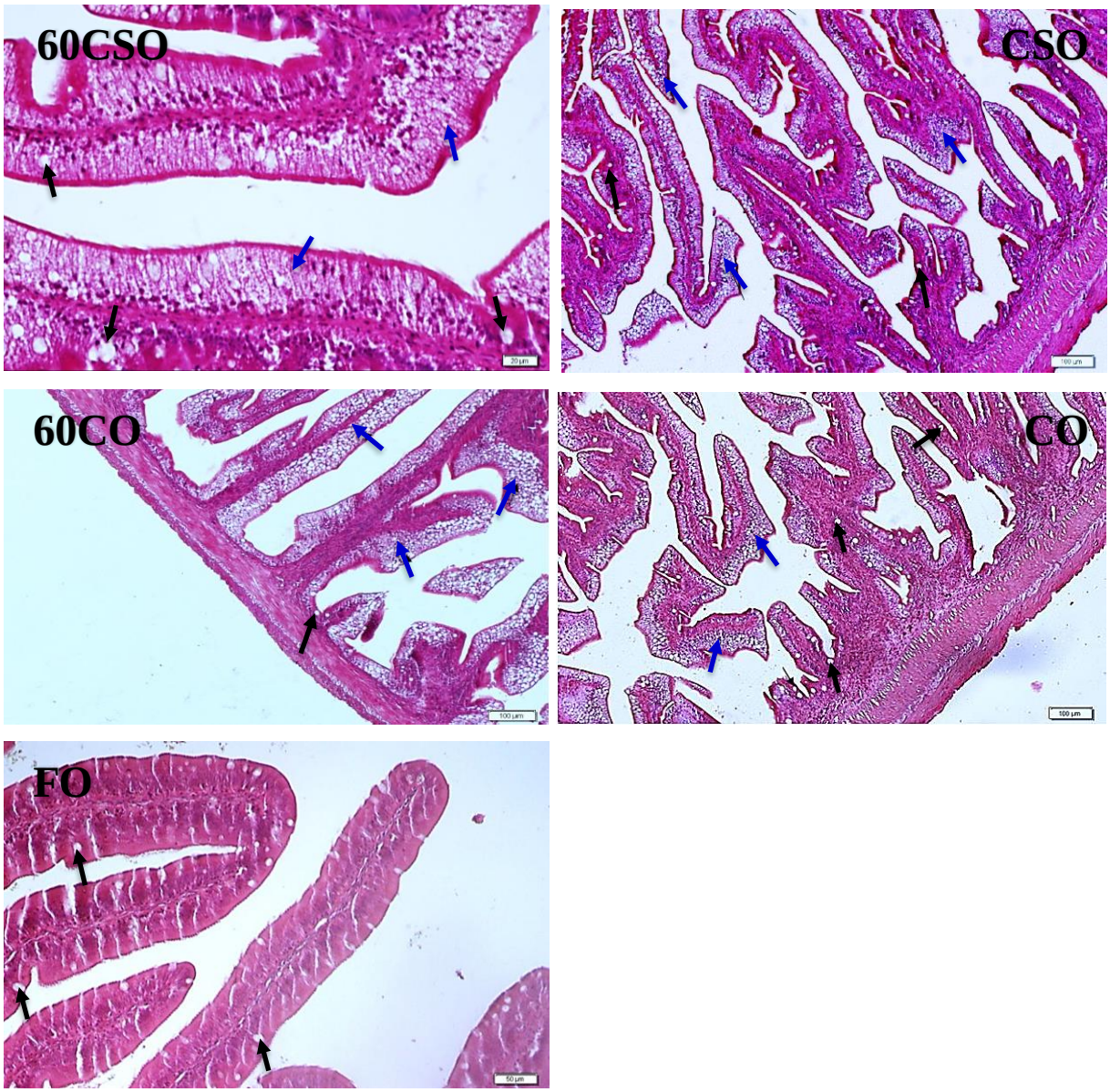


Şekil 4.9 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın karaciğer dokusunda periferal konumlu nükleuslar (mavi ↑) ve hepatositler arasında yağ vakuolleri (siyah ↑) (H&E).

FO yemi ile beslenen çipura balıklarının karaciğer kesitlerinde hepatosit hücrelerine ait nükleusların hücrenin merkezinde yer aldığı ayrıca lipid vakuollerinin sayısının da çok az olduğu saptanmıştır. 60CSO ile beslenen çipura balığının karaciğerine ait hepatosit hücre nükleuslarının periferal konumlu olduğu ve hepatosit hücreleri arasında yağ vakuolleri belirlenmiştir. CSO ile beslenen çipura balığının karaciğer dokusunda da benzer şekilde periferal konumlu nükleus içeren hepatosit hücreleri tespit edilmesine rağmen 60CSO grubundan farklı olarak hepatosit hücreleri arasında yer alan yağ vakuollerinin daha yoğun olduğu görülmüştür. 60CO ile beslenen çipura balıklarının karaciğer doku kesitlerinde periferal konumlu nükleusları içeren hepatosit hücreleri arasında yağ vakuollerinin varlığı saptanmıştır. CO ile beslenen çipura balıklarının karaciğer doku kesitlerinde bu yağ vakuollerinin genişlediği gözlenmiştir. Genel olarak incelenen tüm karaciğer kesitleri yağ vakuollerinin varlığı bakımından değerlendirildiğinde FO < 60CSO < 60CO < CO < CSO sıralaması şeklinde olduğu gözlenmiştir.

4.13.2 Bağırsak

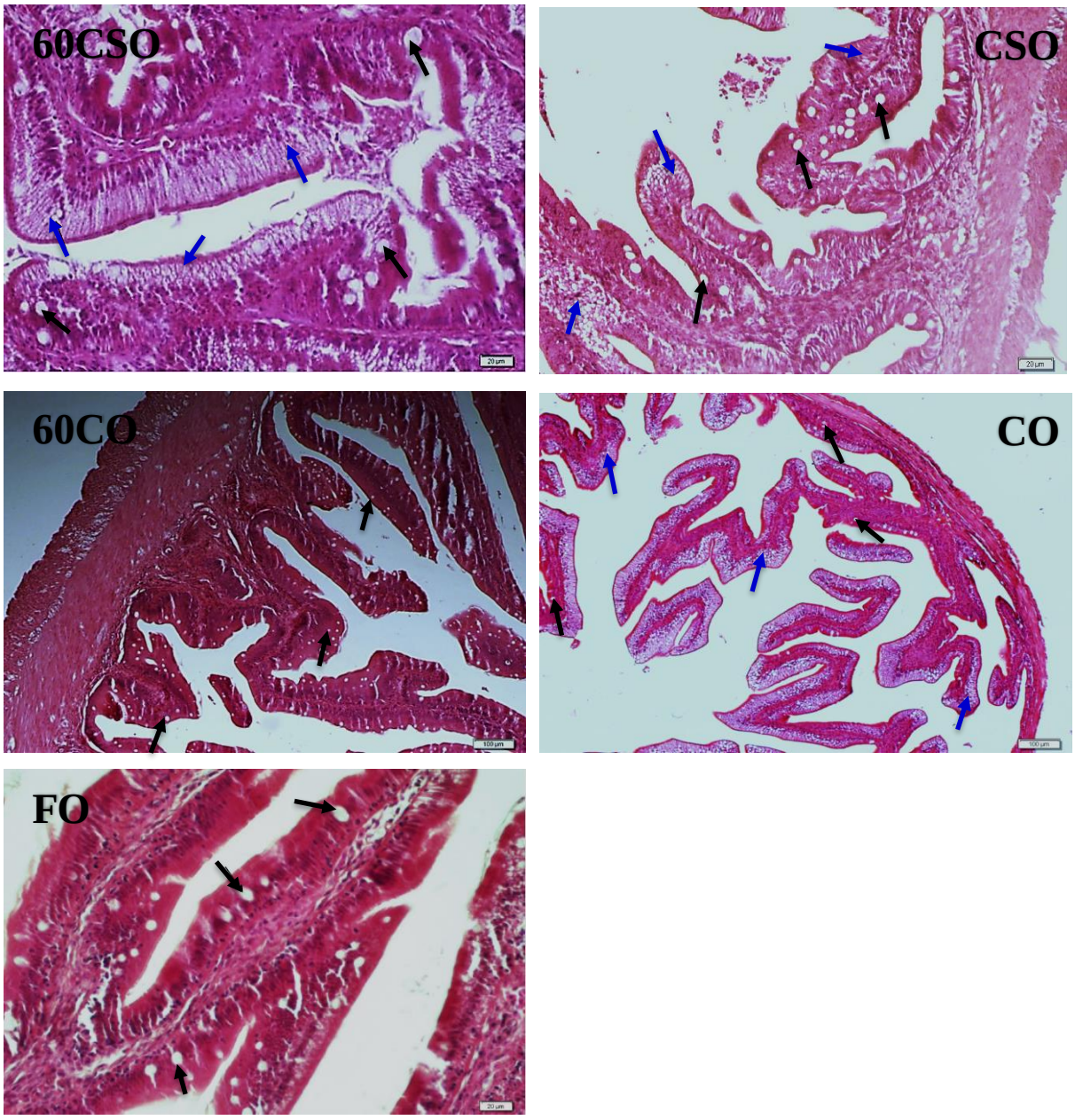
Bitkisel yağ bazlı farklı diyetlerle beslenen çipura balıklarının ön bağırsakları histolojik olarak değerlendirildiğinde tüm deney gruplarına ait ön bağırsak dokusunda patolojik bir bozukluğun olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.10). 60CSO ile beslenen çipura balıklarının ön bağırsağındaki enterosit hücrelerinin etrafında lipit damlacıklarının varlığı gözlemlenmiş olup bu lipit damlacıklarının yoğunluğunun CSO ile beslenen balıkların ön bağırsağındaki vilus uçlarında arttığı görülmüştür. CO ile beslenen balıkların ön bağırsak dokusunda yoğun miktarda yağ damlacıkları gözlemlenirken 60CO ile beslenen balıkların ön bağırsağında bu lipit damlacıklarının azaldığı ayrıca lamina proprianın da genişlediği saptanmıştır. FO ile beslenen çipura balıklarının ön bağırsak dokusunun mukoza, submukoza ve enterositlerde bütünlük olduğu, enterosit hücrelerinin nükleuslarının merkezi konumlu olduğu, goblet hücrelerinin sayısında artışın olmadığı ayrıca erterositlerin lümene bakan kısımlarında yağ damlacıklarının oluşmadığı görülmüştür.



Şekil 4.10 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura ön bağırsağındaki enterosit hücrelerinin etrafında lipit damlacıkları (mavi ↑) ve goblet hücreleri (siyah ↑) (H&E).

Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura balıklarının orta bağırsağına ait doku kesitleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir. 60CSO ile beslenen balıkların orta bağırsağına ait doku kesitlerinde herhangi bir patolojik değişiklik gözlenmemiş olup merkezi olmayan nüklesuları içeren enterosit hücrelerinin etrafında az miktarda lipit damlacıkları saptanmış, CSO ile beslenen balıklarda bu yağ damlacıklarının miktarının arttığı ve bu lipit damlacıklarının vilusların uçlarında lokalize olduğu gözlenmiştir. 60CO ile beslenen balıkların enterosit hücrelerinde yağ damlacıklarının çok az olduğu, lamina propriada genişleme ve viluslarda kısalmanın olduğu gözlenmiştir. CO ile beslenen çipura balıklarında ise yoğun miktarda yağ damlacıklarının

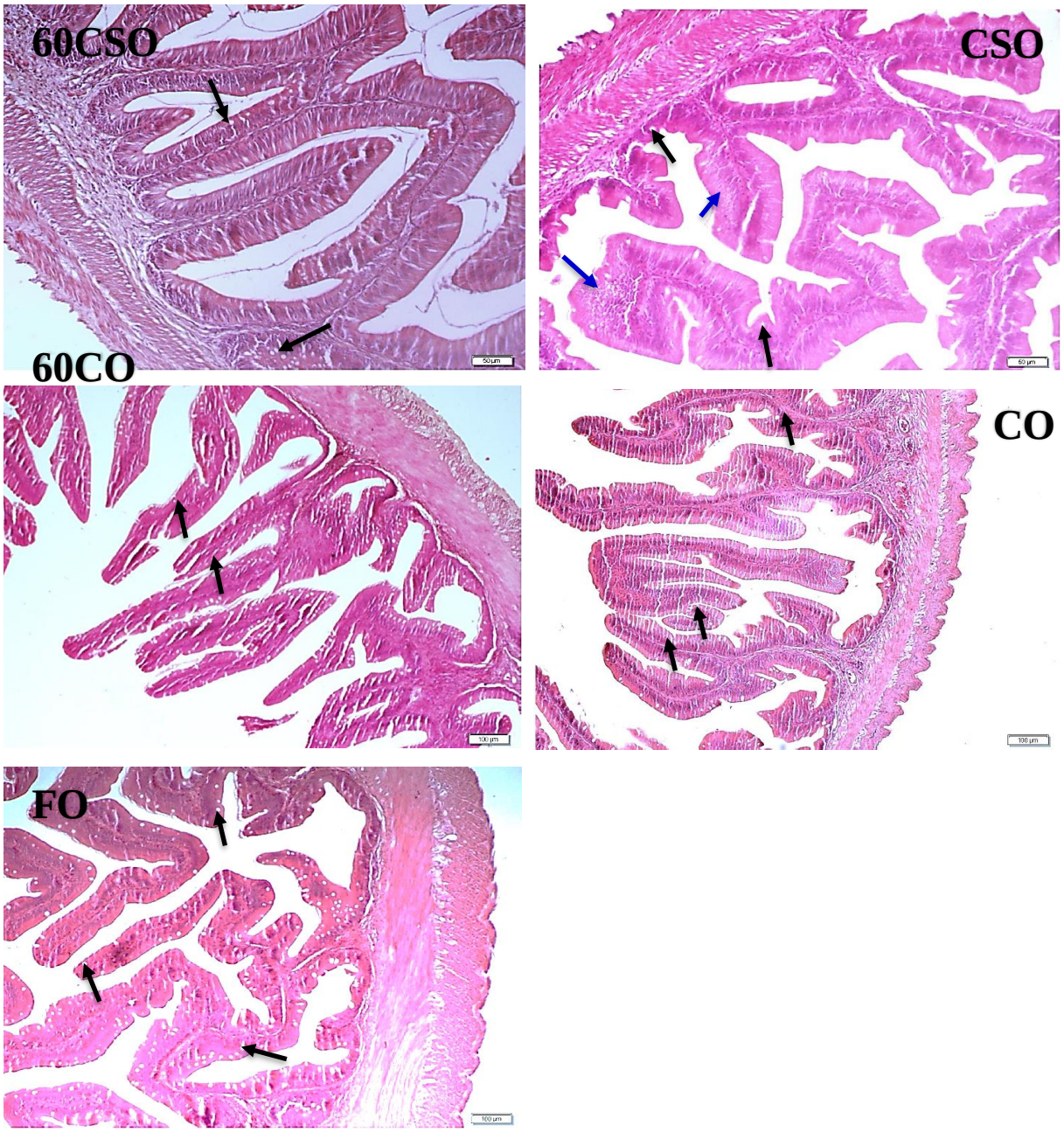
varlığı görülmüştür. FO ile beslenen balıkların orta bağırsağında goblet hücrelerinin sayısında artış tespit edilirken lipit damlacıklarının varlığına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.11 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipura orta bağırsağındaki enterosit hücrelerinin etrafında lipit damlacıkları (mavi ↑) ve goblet hücreleri (siyah ↑) (H&E).

Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın son bağırsağına ait doku kesitleri Şekil 4.12'de gösterilmiştir. FO yemi ile beslenen çipura balıklarının son bağırsağına ait doku kesitlerinde goblet hücrelerinin sayısında artış tespit edilmiştir. 60CO ile beslenen çipura balıklarında mukus hücrelerinin varlığına nadiren rastlanmış olup lamina propriada ise genişleme saptanmış,

ancak yağ damlacıkları gözlenmemiştir. Diğer yandan, CO ile beslenen çipura balıkların enterosit hücrelerinde az miktardaki lipit damlacıklarının varlığı belirlenmiştir. 60CSO ile beslenen balıkların son bağırsağındaki viluslarda kısalma ve goblet hücrelerinin sayısında artış tespit edilmiştir. Benzer histolojik yapı CSO ile beslenen balıkların son bağırsağında da gözlenmiştir.



Şekil 4.12 Deney yemleriyle beslenen juvenil çipuranın son bağırsak doku kesitlerinde lipit damlacıkları (mavi ↑) ve goblet hücreleri (siyah ↑) (H&E).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çipura, Akdeniz Bölgesi'nde çoğunlukta kafeslerinde üretilen önemli karnivor bir deniz balığıdır ve 21. yüzyılın en önemli kültür türü olarak tanımlanmaktadır (Emre ve ark., 2013). Karnivor deniz balıkları yetiştiriciliğinin en büyük sorunlarından biri geleneksel yem hammaddelerinin temin edilebiliği ve sürdürülebilirliği ile ilgilidir. Verimliliği artırmak ve ekonomik nedenlerden dolayı yüksek enerjili yemlerin geliştirilmesindeki mevcut eğilim, balık yağına olan talebi de artırmaktadır (Tacon ve ark., 2008). Bu durum, hem avlanan balık stokları üzerindeki baskıyı hafifletmek hem de su ürünleri yetiştiriciliğinde büyümeye yol açmak için özellikle karasal orijinli lipit kaynakları ile ilgili araştırmaların yapılmasını gerektirmiştir (Pickova ve Mørkøre, 2007). Yapılan araştırmalar sonucunda alternatif kaynaklar arasında bitkisel yağların en büyük kaynak olduğu görülmüştür. Ancak, bugüne kadar araştırılan bitkisel yağların çoğunun n-6 ve n-9 yağ asitleri bakımından zengin olduğu görülmüş ve bu yağlarla beslenen balıkları tüketen insanların balık eti tüketirken beklediği yararlı etkilerden odün vermiş olduğu belirtilmektedir. Balık diyetlerinde kullanılacak alternatif bitkisel yağlar yüksek bir n-3/n-6 oranına sahip olmakla birlikte sindirilebilirlik oranı da yüksek olmalıdır. Ayrıca, balık ve insan sağlığı bakımından yararlı olan n-3 HUFA'ların balık etinde yeterli miktarlarda bulunması için balığın biyosentez yoluyla yeterli üretimi yapabilmesi amacıyla diyetlerde uygun düzeyde ALA'nın bulunması gerekir (Torstensen ve ark., 2005; Seierstad ve ark., 2005). CSO ve CO yukarıda belirtilen özelliklere sahip yağlardır ve CSO %36-45 oranında ve CO %58-68 oranında ALA içermektedir (Ayerza, 1995; Coates ve Ayerza, 1996; Zubr, 1997; Karvonen ve ark., 2002; Ni Eidhin ve ark., 2003; Peiretti ve Gai, 2009). Bununla birlikte CSO ve CO, balıkların sağlıklı büyüme ve gelişmelerinde pozitif etkilere sahip olan tokoferoller, polifenoller, karotenoidler ve PL'ler dahil olmak üzere önemli biyoaktif bileşenleri içermektedir. Bu yağlar benzersiz yağ asidi profillerine sahip oldukları için balık yemlerinde balık yağı yerine kullanılabilecek ideal yağlardır ve bu yağlarla beslenen balıkların insan sağlığında yararlı etkilerinin yüksek olacağı bildirilmiştir (Zubr 2009; Hixson et al., 2013, 2014b; Carbonera ve ark., 2016; Montanher ve ark., 2016). Bundan dolayı juvenil çipura balığı diyetlerinde balık yağı yerine CO ve CSO kullanılması sonucunda ortaya çıkan etkileri değerlendirmek gerekmektedir.

Karnivor beslenme alışkanlığına sahip olan çipura balığı diyetlerinde yüksek düzeyde proteine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, optimum büyüme ve gelişme için türün diyetlerinde %40-

55 oranlarında proteine (Sabaut ve Luquert, 1973; Santinha ve ark., 1996; Vergara ve ark., 1996a,b) ve %15-22 oranında lipite (Vergara ve Jauncey, 1993; Vergara ve ark., 1996, 1999; Santinha ve ark., 1999) gereksinim duyulmaktadır. Bu tez araştırmasında kullanılan juvenil çipura balıkları için hazırlanan diyetlerde protein oranı %48,24 ve lipit oranı %21,58 olarak saptanmıştır. Araştırmamızda elde edilen protein ve lipit sonuçları ile NRC (2011)'de belirtilen ihtiyaç değerleri arasında uyum olduğu görülmüştür.

Büyüme döneminde kaydedilen su sıcaklığı, en düşük 25ºC ve en yüksek 30ºC değerleri arasında değişirken, tuzluluk oranları ise 38,8 ile 39,5 mg/l arasında değişmiştir. Araştırma süresince suda çözünmüş oksijen miktarı ortalama 9,79 ± 0,5 mg/l ve ortalama pH 8,01 ± 0,3 olarak kaydedilmiştir. Araştırmamızda kaydedilen suyun fiziksel ve kimyasal parametrelerinden su sıcaklığının deney başlangıcında biraz yüksek olması dışında juvenil çipura balığı yetiştiriciliği için uygun görülen değerlerle benzerlik göstermiştir (Mozes ve ark., 2011). Deney başlangıcında, tanklardaki su sıcaklığının yüksek olduğu zamanlarda suya oksijen takviyesi yapılarak olası bir negatif etki giderilmeye çalışılmıştır. Bununla birlikte yemleme deneylerinin yürütüldüğü tanklardaki su özelliklerinin uygun olması nedeniyle araştırmada kullanılan balıklardan iyi bir büyüme performansı elde edilmiştir.

Balık yağı yerine %60 oranında bitkisel yağların kullanıldığı diyetlerle (60CSO ve 60CO) beslenen juvenil çipura balıklarının büyüme performanslarında herhangi bir olumsuz etki görülmemiştir. Araştırmamızdaki bu sonuçlar ile çipura balığı beslenmesinde balık yağı ve bitkisel yağ karışımlarının kullanıldığı araştırmaların sonuçları arasında benzerlik olduğu görülmüştür (Izquierdo ve ark., 2003, 2005; Menoyo ve ark., 2004; Wassef ve ark., 2007). Çipura diyetlerinde balık yağı yerine %70 oranına kadar bitkisel yağ kullanımının balıkların büyümelerinde olumsuz bir etki yapmadığı rapor edilmiştir (Benedito-Palos ve ark., 2007; Fountoulaki ve ark., 2009). Juvenil çipura diyetlerinde balık yağı yerine %80 oranında bitkisel yağların kullanılması sonucunda balıkların büyüme performanslarında düşüşler olduğu belirtilmiştir (Montero ve ark., 2003; Caballero ve ark., 2004; Menoyo ve ark., 2004; Izquierdo ve ark., 2005). Ancak, juvenil çipura diyetlerinde balık yağının tamamı yerine CSO yağının kullanılmasıyla yapılan yeni bir araştırmanın sonuçlarına göre bu diyetin balıkların büyüme performanslarını negatif olarak etkilemediği rapor edilmiştir (Betancor ve ark., 2016). Yapılan başka bir araştırmada, diyetin %35'i oranında balık unu ve %5'i oranında çözünür balık proteini konsantresi kullanılmış ve bu diyette lipit kaynağı olarak sadece bitkisel yağ kullanıldığı halde

balıkların büyüme performanslarında herhangi bir olumsuz sonuç görülmediği belirtilmiştir (Bouraoui ve ark., 2011). Araştırmamızda ise diyetin %38'i oranında balık unu ve iki grupta balık yağının tamamı yerine sırasıyla CSO ve CO kullanılarak bu diyetlerle 90 gün süresince juvenil çipura balıkları beslenmiş ve araştırma sonunda tamamen bitkisel yağ içeren bu grupların büyüme performanslarında herhangi bir olumsuz etki görülmemiştir. Bilindiği gibi balık unları düşük oranda yağ içermektedir (Bimbo, 2000). Juvenil deniz balığı diyetlerinde balık ununun 300 g/kg düzeyinde kullanılması durumunda balıkların genel olarak %0,5-1 oranındaki HUFA ihtiyacını karşılayacağını rapor etmişlerdir (Turchini ve ark., 2009). Yukarıda belirtilen araştırmaların sonuçlarından da anlaşılacağı gibi araştırmamızda kullanılan balık unu düzeyinin (382 g/kg) deney balıklarının n-3 HUFA ihtiyacını karşıladığı görülmüştür. Ancak diyetlerde yağ kaynağı olarak tamamen bitkisel yağ içeren CSO ve CO gruplarındaki balıkarın büyümeleri balık yağı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bir fark görülmemekle birlikte sırasıyla %6,7 ve %4,1 oranlarında azalma olduğu görülmüştür. Düşük de olsa büyümede olan azalmanın yemlerdeki lezzet farkından dolayı balıkların daha az yem almalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız bu araştırmanın sonunda, balıkların tüm vücundaki besin maddeleri analizlerinin sonuçları değerlendirildiğinde, tüm deney gruplarının ham protein değerleri yaklaşık olarak %17,6 düzeyinde bulunmuş ve gruplar arasında önemli bir fark görülmemiştir. Benzer şekilde, tüm vücut lipit içeriği yaklaşık olarak %16,5 düzeyinde hesaplanmış ve gruplar arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Kuru madde oranı CO grubundaki balıklarda diğer gruplardan biraz daha yüksek olduğu görülmüş, oysa deney gruplarının kül oranları benzer bulunmuştur. Juvenil çipura balıklarının farklı bitkisel yağlar içeren diyetlerle beslenmesi konusunda daha önce yapılan araştırmalarda (Bouraoui ve ark., 2011; Benedito-Palos ve ark., 2013; Betancor ve ark., 2016, 2018; Torno ve ark., 2018) balıkların vücudundaki besin maddeleri ile ilgili benzer sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir.

Hazırlanan deney diyetlerin yağ asidi profili diyetlerde kullanılan yağların yağ asidi kompozisyonunu yansıtmıştır. Çipura (Menoyo ve ark., 2004; Izquierdo ve ark., 2003, 2005), levrek (Izquierdo ve ark., 2003), Amazon kedi balığı (Arslan ve ark., 2008), Atlantik salmonu (Bell ve ark., 1997, 2004, 2010; Betancor ve ark., 2015, 2018), gökkuşağı alabalığı (Caballero ve ark., 2002; Thanuthong ve ark., 2011a,b,c; Masiha ve ark., 2013; Yıldız ve ark., 2015) ve kahverengi alabalık (Arslan ve ark., 2012) yemlerinde balık yağı yerine kısmen veya tamamen

keten tohumu yağının kullanılması sonucunda yemlerde yapılan analizlerde ALA düzeyinin yüksek olduğu belirtilmiştir.Yapılan başka araştırmalarda, salmonid (Hixson ve ark., 2014a, b; Betancor ve ark., 2018), *Gadus morhua* (Hixson ve ark., 2014; Morais ve ark., 2012; Hixson ve ark., 2013, 2014a,c) ve çipura (Betancor ve ark., 2016) balıklarının diyetlerinde balık yağı yerine CSO'nun kullanılmasıyla diyetlerde ALA düzeyi artmıştır. Benzer başka araştırmalarda Nil tilapiyası diyetlerinde CO'nun kullanılması sonucunda diyetlerdeki ALA düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Carbonera ve ark., 2016; Montanher ve ark., 2016). Benzer şekilde, araştırmamızda da balık yağı yerine CSO ve CO kullanıldığında diyetlerdeki ALA düzeyi artmıştır. CSO ve CO sırasıyla %36-50 ve %58-68 ALA içermektedir (Karvonen ve ark., 2002; Zubr, 2009; Tocher ve ark., 2011) ve bu yağlar önemli düzeylerde LA ve OA da içermektedir. Bu yağların kullanıldığı diyetlerin 18C'lu PUFA miktarları da yukarıda belirtildiği gibi bu yağların sahip olduğu yağ asitleri miktarıyla açıklanabilir. Sonuç olarak bu yağların kullanıldığı diyetlerde n-3 PUFA miktarları ile n-3/n-6 oranları artmıştır. Ancak, CSO ve CO'nun kullanıldığı diyetlerdeki EPA, DHA ve ARA düzeyleinin azaldığı belirtilmiştir. Bunun nedeni olarak yağ asidi profiline bakılmaksızın bitkisel yağların HUFA içermemesinden kaynaklandığı belirtilebilir. Diyetlerde bulunan bireysel yağ asitlerinin sindirilebilirliği, yağ asitlerinin doymamışlık derecesinin artmasıyla birlikte artmakta ve karbon zincirinin uzamasıyla da azalmaktadır. Böylece, yağ asitlerinin sindirilebilirlik oranları PUFA > MUFA > SFA sıralamasına göre yüksekten düşüğe doğru gerçekleşmekte ve aynı zamanda kısa karbon zincirinin sindiriliebilirliği uzun karbon zincirine göre daha yüksek olmuştur (kısa karbon zincirine sahip yağ asidi > daha uzun karbon zincirine sahip yağ asidi). Daha önceki araştırmaların sonuçları yağ asidi sindirilebilirliğinin farklı balık türlerinde benzer olduğunu göstermiştir (Olsen ve Ringø, 1997; Morais ve ark., 2005a,b; Turchini ve ark., 2005; Eroldoğan ve ark., 2013; Betancor ve ark., 2016).

Araştırmamızdaki balıkların tüm vücut yağ asidi kompozisyonu daha önce yapılan araştırmalarda da (Menoyo ve ark., 2004; Izquierdo ve ark., 2003, 2005; Betancor ve ark., 2016) belirtlildiği gibi diyet yağ asidi profillerini yansıtmıştır. Bu tez çalışmasında kullanılan balıkların tüm vücudundaki SFA'lardan baskın olan yağ asidi 16:0 ve MUFA'lardan baskın olan yağ asidi ise 18:1n-9 olmuştur. Yine araştırmamızda balık yağı yerine kısmen yada tamamen CSO ve CO'nun kullanıldığı diyetlerle beslenen balıkların tüm vücutlarındaki 18C'lu PUFA'lardan ALA ve LA'nın arttığı görülmüştür. Diğer balık türleri ile ilgili yapılan araştırmalarda da benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Izquierdo ve ark., 2003; Bell ve ark., 2004;

Hixson ve Parish, 2014; Morais ve ark., 2012a,c; Hixson ve ark., 2013, 2014a,c; Carbonera ve ark., 2016; Montanher ve ark., 2016; Betancor ve ark., 2018). Yaptığımız bu çalışmada, bitkisel yağlar içeren diyetlerle beslenen balıkların tüm vücutlarındaki n-6 ve n-3 serisindeki yağ asitlerinin biyosentezi sonucunda ara ürünler olarak 18:3n-6, 20:2n-6, 20:3n-6, 20:3n-3, 18:4n-3 ve 20:4n-3 yağ asitlerinin arttığı görülmüştür. Hazırladığımız deney diyetlerinde yukarıda belirtiğimiz yağ asitleri yeterli miktarda bulunmamasına rağmen balık vücudunda daha yüksek düzeylerde olduğu saptanmıştır. Bu durum, diyetlerde kullanılan yağların balıkların EFA ihtiyaçlarındaki yetersizlikleri azaltma yönünde bir etki yaptığını göstermektedir. Yukarıda belirtilen ara ürün yağ asitlerinin balık vücudunda depolanabilmesinin asıl nedeni Δ6 desaturaz ve elongaz enzimlerin aktivitelerinin bir sonucu olarak belirtilebilir. Bu duruma karşın, deney başlangıcındaki balıklara oranla bitkisel yağların kullanıldığı tüm deney gruplarındaki balık vücutlarında EPA, DHA ve ARA içerikleri azalmıştır. Sunulan bu araştırmada, elde edilen *in vivo* yağ asidi biyosentezi sonuçları balık vücutlarındaki n-3 HUFA içeriğini minimal düzeylerde artırdığını göstermiştir. Daha önce farklı balık türleri ile ilgili yapılan benzer araştırmalarda (Francis ve ark., 2009; Thanuthong ve ark., 2011c; Eroldoğan ve ark., 2013) da sonuçlarımızı destekleyen bulgular elde edilmiştir. ALA insanlar için de esansiyel bir yağ asididir (Brenna ve ark., 2009). Bu nedenle araştırmamızda, CSO ya da CO içeren diyetlerle beslenen tüm balık gruplarında ALA'nın vücut içeriğindeki artışı, bu balıkların insan tüketimi bakımından yararlı olduğunu göstermektedir. Diyetlerde CSO ve CO'nun kullanılması deney balıklarında n-3/n-6 oranlarının artmasıyla sonuçlanmıştır. n-3/n-6 oranlarındaki bu artış, balık tüketen insanlarda kardiyovasküler ve enflamatuar gibi birçok hastalığın önlenmesinde yararlı etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (Sargent ve ark., 2002).

Sunulan bu araştırmadaki tüm vücut yağ asidi kompozisyonuna benzer şekilde, bitkisel yağlarla beslenen deney balıklarının karaciğer yağ asidi profilleri de değiştirmiştir. Ayrıca CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğer ALA ve LA düzeyleri artmıştır. Yaptığımız bu tez çalışmasının sonuçları ile daha yapılan benzer araştırmaların sonuçları arasında bir uyum olduğu görülmüştür (Menoyo ve ark., 2004; Betancor ve ark., 2016; Yıldız ve ark., 2016). Sonuç olarak araştırmamızda, CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğerindeki n-3 PUFA ve n-3/n-6 oranlarının arttığı görülmüş ve bu sonuçlar daha önce yapılan benzer araştırmalar (Menoyo ve ark., 2004; Turchini ve ark., 2006; Turchini ve Francis, 2009; Thanuthong ve ark., 2011c; Betancor ve ark., 2016; Yıldız ve ark., 2016) tarafından da desteklenmiştir. Araştırmamızın tüm vücut yağ asitlerinde olduğu gibi bitkisel bazlı yemlerle

beslenen balık karaciğerlerinde de biyosentez ara ürünleri olan n-6 (18:3n-6, 20:2n-6 ve 20:3n-6) ve n-3 (20:3n-3 ve 20:4n-3) PUFA'lar görülmüştür. Ayrıca, CSO veya CO bazlı diyetlerle beslenen tüm deney gruplarındaki karaciğerlerde 22:2n-6 yağ asidinin de biyosentez yoluyla balıklar tarafından üretildiği saptanmıştır. FO dahil tüm deney diyetlerinde ve tüm deney gruplarındaki balık dokularında özellikle bulunmayan 22:2n-6 yağ asidi FO grubu hariç bitkisel yağların kullanıldığı tüm gruplardaki balık karaciğerlerinde saptanmıştır. Bu sonuç juvenil çipuranın desaturasyon ve elongasyon enzimleri yardımıyla 22:2n-6 yağ asidini üretilebildiğini göstermiştir. Buna karşın, bitkisel bazlı diyetlerle beslenen deney balıklarının karaciğer EPA, DHA ve ARA düzeyleri azalmıştır. Bu sonuçlar ile farklı balık türleriyle daha önce yapılan araştırmaların sonuçları arasında bir benzerlik olduğu görülmektedir (Yıldız ve Şener, 2004; Eroldoğan ve ark., 2013; Hixson ve Parrish, 2014; Betancor ve ark., 2016).

Bu tezdeki *in vivo* yağ asidi metabolizması değerlendirmeleri 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu'na göre (Turchini ve ark., 2007) ve literatürdeki yeni gelişmelere (Turchini ve ark., 2008; Turchini ve Francis, 2009) dayanarak yapılmıştır. Araştırmamızda genel olarak balıklardaki biyosentez, β-oksidasyon ve yağ asitlerinin vücutta birikimleri diyet yağ asitlerinden etkilenmiştir. Daha önce deniz levreği (Eroldoğan ve ark., 2013), *Maccullochella peelii peelii* (Turchini ve ark., 2006) ve gökkuşağı alabalığı (Turchini ve Francis, 2009; Thanuthong ve ark., 2011c; Köse ve Yıldız, 2017) ile ilgili yapılan araştırmalarda da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Araştırmamızda balık yağının tamamı yerine kullanılan CSO ve CO diyetleriyle beslenen balıklarda diyetteki ALA'nın vücuttak depolanma oranı sırasıyla %41,3 ve %48,7; diyetteki LA'nın vücutta depolanma oranı ise yine sırsıyla %54,3 ve %66,9 olmuştur. Böylece balık vücudunda, diyetteki LA'nın yüksek bir oranı depolandığı ifade edilebilir. Gökkuşağı alabalığı (Turchini ve Francis, 2009) ve *Maccullochella peelii peelii* (Turchini ve ark., 2006) diyetlerinde keten tohumu yağı kullanılarak yapılan iki araştırmada da LA'nın vücutta depolanması ile ilgili benzer sonuçlar bildirilmiştir. Mevcut çalışmamızda, juvenil çipura vücudunda yüksek miktarda LA birikiminin gerçekleşmesi, balıkların bu yağ asidini düşük düzeyde kullandığı gerçeğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar ile Bell ve ark. (1997), Turchini ve Francis (2009) ve Francis ve ark. (2009) tarafından sırasıyla Atlantik salmon, gökkuşağı alabalığı ve *Maccullochella peelii peelii* balık türler ile yaptıkları araştırmalardaki sonuçlar arasında bir benzerlik olduğu görülmüştür. Ayrıca *Maccullochella peelii peelii* balığı diyetlerinde yüksek miktarda ALA kullanılmasıyla birlikte balıkların LA'yı düşük düzeyde kullandığı rapor edilmiştir (Turchini ve ark., 2006). Araştırmamızda balıkların ALA'yı

vücutlarında depolama oranı, diğer karnivor tatlı su balıkları ile (Turchini ve Francis, 2009; Turchini ve ark., 2006; Thanuthong ve ark., 2011c) karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmüştür. ALA'nın bu düşük oranı (< %50 net alım) juvenil çipuranın bu yağ asidini iyi bir derecede kullandığını göstermektedir.

Bitkisel yağlarla beslenen balıklardaki β-oksidasyon kapasitesi, balık yağıyla beslenen balıklardan daha düşük olduğu Atlantik salmonu (Stubhaug ve ark., 2005a, 2006, 2007) ve deniz levreği (Eroldoğan ve ark., 2013) ile ilgili yapılan araştırmalarda rapor edilmiştir. Buna karşın araştırmamızda, bitkisel yağ içeren diyetlerle beslenen juvenil çipurada β-oksidasyonunun arttığı görülmüştür. Diğer bir deyişle tüm vücut yağ asidi denge metodu sonuçlarına göre yapılan hesaplamalarda, bitkisel yağ içeren diyetlerle beslenen juvenil çipura balıklarında kaydedilen β-oksidasyon düzeyleri sadece balık yağı içeren diyetlerle beslenen balıklardan oldukça yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde Turchini ve Francis (2009) tarafından yapılan araştırmada, keten tohumu yağı içeren diyetlerle beslenen gökkuşağı alabalığının yağ asidi metabolizması, tüm vücut yağ asidi denge yöntemine göre hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalarda balıklardaki β-oksidasyon düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu doktora tezinde β-oksidasyonda görev yapan genlerin analiz edilmesindeki amaç, balık yağı ve bitkisel yağlarla beslenen juvenil çipura balıklarının enerji sağlama aşamasındaki farklılıkları ortaya çıkarmaktır. Bağırsakta COX2 (mitokondriyal katabolik bir gen) ekspresyonu CO bazlı deney gruplarında, diğer deney gruplarından biraz daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak gruplar arasında fark önemsiz bulunmuştur. Ancak diğer taraftan COX2 ekspresyonu, CO, 60CSO ve 60CO diyetleriyle beslenen balık karaciğerlerinde artış yönünde bir eğilim göstermiştir. CPT ve PPAR ekspresyon düzeyleri aynı zamanda balıklardaki yağ asitlerinin β-oksidasyon etkisini ve düzenlenmesini yansıtan hayati genlerdir (Zheng ve ark., 2013; Zuo ve ark., 2013). Araştırmamızda PPARα, PPARβ ve PPARγ gibi PPAR gen izoformları, balıkların karaciğer ve ön bağırsaklarında analiz edilerek değerlendirilmiştir. PPARα, hem karaciğerde hem de ön bağırsakta en yüksek düzeyde (PPARβ ve PPARγ'dan 10 kat daha yüksek) bulunmuştur. PPARα, karaciğerde ekspresyonu yapılabilen baskın PPAR izoformudur (Leaver ve ark., 2005) ve bu izoform yağ asidi oksidasyonunda ana aktivatör olarak görev yapmaktadır (Evans ve ark., 2004). PPAR'ler nükleer reseptör üst ailesine aittirler ve yağ asitleri ile kolesterolün spesifik sensörleri olarak görev yapan lipit metabolizmasında kilit rol oynamaktadırlar (Benedito-Palos ve ark., 2014). PPARα ise, peroksizomlarda ve mitokondrideki yağ asitlerinin β-oksidasyonunda, balıklardaki beslenme ve enerji

gereksinimlerinde oluşan değişikliklere cevap olarak genlerin ekspresyonunu düzenlemek süretiyle lipit katabolizmasını aktive eder (Ji ve ark., 2011). Araştırmamızda, bitkisel yağ içeren yemlerle beslenen balıkların karaciğerinde ve ön bağırsaklarında PPARα ekspresyonu yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Benzer şekilde, bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balık karaciğerinde ve ön bağırsaklarında CPT1a ve CPT1b gen transkripsyon oranları yüksek bulunmuştur. Rimoldi ve ark. (2016)'nın yaptığı araştırmada, aç bırakılan levrek bireylerinin karaciğerlerindeki PPARα ekspresyon düzeyinin artışı, yine balık karaciğerindeki CPT1a ekspresyonunun artışıyla ilişkilendirilmiştir. PPARα aktivasyonu, yağ asidi oksidasyonunu arttırmak için CPT gibi lipolitik genlerin ekspresyonunu arttırabilir (Poudyal ve ark., 2011). Mevcut çalışmamızda, CO diyetiyle beslenen balıkların karaciğerindeki CPT1a ve CO, 60CSO ve 60CO diyetleriyle beslenen balıkların karaciğerindeki CPT1b ekspresyonu önemli düzeyde artmıştır. Benzer şekilde, CO-bazlı diyetlerle beslenen balıkların ön bağırsağında CPT1a ve CPT1b ekspresyonunun arttığı kaydedilmiştir. Yapılan bir araştırmada, diyette yer alan ALA'nın deney farelerinde CPTI ve II (Ide, 2000) ve *Larimichthys crocea* balığında CPTI dahil olmak üzere hepatik yağ asidi oksidasyon enzimlerinin mRNA düzeylerini önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür (Qui ve ark., 2017). Yaptığımız bu araştırmada, değerlendirilen gen ekspresyonu analizlerinin sonuçları bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen juvenil çipura balıklarındaki COX2, CPT1a, CPT1b ve PPAR izoformlarında (β-oksikdasyonda görev alan genler) bir artış göstermiştir. Ayrıca tüm vücut yağ asidi denge metodundan elde edilen bu sonuçlar, CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıkların β-oksidasyon aşamasındaki artışı kanıtlamaktadır.

Bu çalışmada, bitkisel yağların kullanılması deney diyetlerindeki ALA ve LA oranlarını arttırmıştır. Yaptığımız araştırmada juvenil çipura balıkları metabolizmasında, ALA'nın β-oksidasyonda öncelikle tercih edilen substrat olduğu görülmüştür. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar ile PUFA bakımından zengin diyetlerle beslenen farklı balık türlerinden elde edilen sonuçlar arasında bir uyum olduğu görülmüştür (Bell ve ark., 2003; Francis ve ark., 2009; Thanuthong ve ark., 2011c). Mevcut çalışmamızda, CSO ve CO diyetleri ile beslenen balıkların vücudunda, diyetlerdeki oranlarına göre ALA'da sırasıyla %37,4 ve %82,8; yine diyetlere göre LA'da sırasıyla %12,8 ve %15,7 oranlarında bir kayıp yaşanmıştır. Bu sonuçlar, balıkların ALA ve LA'yı belirtilen oranlarda oksidasyona uğratarak enerji amaçlı kullandığını göstermektedir. Dolayısıyla tüm diyetlerde, balıklar tarafından ALA'nın β-oksidasyonu LA'nın 3 katından daha fazla olduğu görülmüştür. Mevcut araştırmamızda, ALA ve LA'nın balıklar tarafından okside

edilmesiyle ilgili elde edilen sonuçlar ile bu konuda daha önce farklı balık türleri ile yapılan araştırmaların (Stubhaug ve ark., 2005a,b, 2006, 2007) sonuçları arasında benzerlikler bulunmuştur. Bu nedenle balıklar tarafından diyet alımı arttıkça, β-oksidasyon düzeyinin de artma olasılığı görülmektedir. Ancak araştırmamızda, diyetlerle birlikte SFA'nın alımındaki artış olduğu durumlarda bu yağ asitlerinin β-oksidasyonu düzeyinin artmadığı tespit edilmiştir. FO diyetinde SFA düzeyi bitkisel yağ içeren yemlerden daha yüksek olmasına rağmen balıkların bitkisel yağlardaki SFA'ları daha fazla okside ettiği görülmüştür. Bu durum, FO yemindeki n-3 HUFA miktarının yüksek olmasından dolayı balıkların enerji sağlamak amacıyla SFA'ları okside etme ihtiyacı duymadıklarını göstermektedir. Böylece, SFA'nın diyetlere göre net alımı FO > 60CO > 60 CSO > CO > CSO şeklinde olduğu görülmüştür. Ancak SFA'nın β-oksidasyonu ise verilen sıralamanın tersi şeklinde gerçekleşmiştir. Diyetlerde DHA'nın yüksek oranda olması (EPA'dan daha yüksek), balıklar tarafından DHA'nın β-oksidasyonunun yüksek olmasıyla sonuçlanmamıştır. Sargent ve ark. (2002), yağ asidi metabolizması sırasında balıkların vücut DHA'sındaki Δ-4 bağının β-oksidasyona uğramadan önce ayırması ihtiyacı, bu yağ asidinin enerji üretimi için kullanılmasını azalttığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar juvenil çipuranın DHA'yı diyetteki düzeyine göre değil, ihtiyaç duyduğu miktara göre okside ettiğini göstermektedir. Dolayısıyla balıklar DHA'yı enerji olarak kullanmak yerine vücutlarında depoladıkları görülmektedir. Daha önceki araştırmalarda (Turchini ve Francis 2009; Thanuthong ve ark., 2011c; Eroldoğan ve ark., 2013), balıkların diyetlerdeki yağ asidi oksidasyonu için farklı tercihlere sahip oldukları rapor edilmiştir. Benzer şekilde, yaptığımız bu araştırmada, balıkların n-3 HUFA'lardan EPA'yı en yüksek oranda okside ettikleri görülmüştür. HUFA biyosentezinin ilk aşaması, ALA ve LA'daki Δ-6 desaturaz aktivitesi olduğu belgelenmiştir (Turchini ve ark., 2009). Yapılan araştırmalar, çipurada Δ-6 desaturaz aktivitesinin belirgin olduğunu göstermiştir (Mourente ve Tocher, 1993; Tocher ve Ghioni, 1999). Araştırmamızda yapılan enzim analizlerinde de tüm deney diyetleriyle beslenen balıkların bağırsak ve karaciğerlerinde Δ-6 desaturaz aktivitesi kaydedilmiştir. Ayrıca bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıklarda Δ-6 desaturaz aktivitesi sadece balık yağı içeren diyetlerle beslenen balıklardan daha yüksek bulunmuştur. Daha önce yapılan araştırmalarda, bitkisel yağlarla beslenen juvenil çipura balıklarındaki Δ-6 desaturaz transkripsiyon oranının arttığını göstermişlerdir (Izquierdo ve ark., 2008; Betancor ve ark., 2016; Torno ve ark., 2018). Francis ve ark. (2009) *Maccullochella peelii peelii* ve Thanuthong ve ark. (2011c) gökkuşağı alabalığında yaptıkları araştırmalarda, diyetlerdeki ALA ve LA'nın yüksek yada düşük

miktarlarına bağlı olarak Δ-6 desaturaz aktivitesinin de yüksek yada düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmamızdaki analiz sonuçları da sadece bitkisel yağların kullanıldığı (CSO ve CO) deney gruplarındaki balıkların Δ-6 desaturaz aktivitesinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak, 60CO diyeti yüksek miktarda ALA ve LA'yı içermesine rağmen bu diyetle beslenen balıklarda Δ-6 desaturaz aktivitesi beklendiği kadar yüksek düzeyde bulunmamıştır. Bu durumun diyette balık yağı ile bitkisel yağın birlikte kullanılmasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir.

CSO ve CO gruplarındaki balıklarda Δ-6 desaturasyon aktiviteleri sırasıyla 134,4 ± 1,9 ve 202,9 ± 3,0 nmol/g/gün değerlerinde kaydedilmiştir. Elde edilen bu yüksek değerler, CSO (1.797,4 ± 20,9 nmol/g/gün) ve CO (3.156,6 ± 32,5 nmol/g/gün) diyetlerinde bulunan yüksek ALA düzeylerinden kaynaklanmıştır. Benzer şekilde CSO (785,2 ± 9,2 nmol/g/gün) ve CO (921,8 ± 9,3 nmol/g/gün) diyetlerinde bulunan yüksek düzeylerdeki LA'ya bağlı olarak Δ-6 desaturasyon aktiviteleri de sırasıyla 54,7 ± 1,4 ve 82,5 ± 1,0 nmol/g/gün değerlerinde bulunmuştur. Farklı balık türleriyle ilgili daha önce yapılan benzer araştırmalarda, yüksek düzeyde ALA içeren diyetlerle beslenen balıklardaki Δ-6 desaturaz aktivitesi, yine yüksek düzeyde LA içeren diyetlerle beslenen balıklardakinden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Sargent ve ark., 2002; Stubhaug ve ark., 2005b; Zheng ve ark., 2005; Francis ve ark., 2009).

Araştırmamızda, 90 gün süresince tüm deney diyetleriyle beslenen balıklarda belirgin bir Δ-5 desaturaz aktivitesi saptanamamıştır. Benzer şekilde, yüksek düzeyde n-6 PUFA ve MUFA içeren diyetlerle 90 gün süresince beslenen deniz levreklerinde belirgin bir Δ-5 desaturaz aktivitesi görülmediği rapor edilmiştir (Eroldoğan ve ark., 2013). Çipura ile yapılan ilk araştırmalarda, yapılan analizler sonucunda balıklarda düşük düzeyde Δ-5 desaturaz aktivitesi kaydedilmiştir (Mourente ve Tocher, 1993; Tocher ve Ghioni, 1999). Ancak, zeytin yağı içeren ve n-3 HUFA'lar bakımından yetersiz olan diyetlerle 96 gün süresince beslenen çipuralarda Δ-5 desaturaz aktivitesi saptanamadığı belirtilmiştir (Seiliez ve ark., 2003). Aynı araştırmada, çipura balıkları ile ilgili çalışmaların daha farklı koşullarda yada daha uzun süreli yapılması durumunda düşük düzeyde de olsa Δ-5 desaturaz aktivitesinin görüleceği bildirilmiştir.

Δ-5 ve Δ-6 desaturazların aksine, Δ-9 desaturaz (SCD1 enzimleri) aktivitesi tüm canlılarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzimler ile 16:0 (palmitik asit) yağ asidi 16:1n-7 (palmitoleik asit)'ye ve 18:0 (stearik asit) yağ asidi ise 18:1n-9 (oleik asit)'a dönüştürülebilmektedir (Benedito-Palos ve ark., 2014). Yaptığımız çalışmada, CSO ve CO diyetleriyle beslenen

balıkların ön bağırsaklarında yüksek oranda SCD1b ekspresyonu görülürken, kamelina tohumu yağı ve çiya yağı içeren tüm diyet gruplarındaki balıklarda yine yüksek oranda SCD1b transkripsiyonu saptanmıştır. Bitkisel yağ bazlı gruplar karşılaştırıldığında, karaciğerlerdeki SCD1b transkripsiyon oranı ön bağırsaklardakinden 10 kat daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıklarda yüksek düzeylerde Δ-9 desaturaz aktivitesi kaydedilmiştir.

Belirgin olarak kaydedilen Δ-6 desaturaz aktivitesine benzer şekilde, CSO ve CO bazlı diyet gruplarındaki balıklarda yüksek düzeyde elongasyon (18:3n-3 yağ asidinin 20:3n-3'e dönüşümü) aktivitesi de saptanmıştır. Yaptığımız araştırmanın sonuçları bu yönüyle değerlendirildiğinde bitkisel yağ içeren diyetlerle beslenen balıklardaki elongasyon transkripsiyon oranının arttığı görülmüştür. Önceki çalışmalara benzer şekilde (Bell ve ark., 2001; Alhazzaa ve ark., 2011; Thanuthong ve ark., 2011c) araştırmamızda da balıklardaki elongasyon transkripsyiyon oranları (ELOVL6, ELOVL5, ELOVL4 ve ELOVL1b) bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğer ve ön bağırsaklarında artış göstermiştir. Elongasyonlar arasında, ELOVL6 ve ELOVL1b substrat olarak SFA ve MUFA'yı tercih ederken ELOVL5 ise substrat olarak 18C'lu PUFA'ları tercih etmiştir (Benedito-Palos ve ark., 2014). Bu nedenle araştırmamızda, ALA bakımından zengin olan CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğerlerinde ve ön bağırsaklarında yüksek ELOVL5 transkripsiyon oranı saptanmıştır. Farklı balık türleriyle ilgili daha önce yapılan araştırmalarda (Turchini ve Francis, 2009; Turchini ve ark., 2006) görüldüğü gibi araştırmamızda da bitkisel yağ bazlı gruplardaki balıklarda elongasyon aktivitesi yüksek oranda bulunmuştur. Bununla birlikte bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıklarda LA'yı etkileyen elongasyon aktivitesi, ALA'dakinden daha düşük oranda bulunmuştur. Örneğin, balıklar tarafından diyetlerden ALA alımını etkileyen elongasyon aktivitesi, CSO ve CO gruplarındaki balıklarda, LA'dan sırasıyla 2,9 ve 3,5 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır. Daha önce yapılan araştırmalarda, ALA ve LA'yı bir arada ve yüksek oranda içeren diyetlerle beslenen balıklarda metabolizma sonucu üretilen ürünlerin (yağ asitlerinin) miktarları balıklardaki elongasyon aktivitesini doğrudan göstermektedir. Bu diyetlerle beslenen balıklardaki ALA elongasyon aktivitesi LA'nınkinden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Tocher ve ark., 2002b; Stubhaug ve ark., 2005b). Benzer şekilde araştırmamızda, CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıklarda ALA için gerçekleşen elongasyon aktivitesi LA'dan daha yüksek bulunmuştur. Balıklarda, yağ asidi metabolizması sırasında n-3 serisindeki yağ asitlerinin elongasyon afinitesi n-6 serisindeki yağ asitlerinden

daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu metabolik aşamada balıklardaki EFA'ların küçük bir miktarı elongasyon aktivitesiyle son ürünlere (daha uzun zincirli yağ asitlerine) dönüştürüldüğü ve bu durumun tüm balıklarda yaygın olduğu Turchini ve ark. (2006) tarafından da belirtilmiştir. Genel olarak mevcut çalışmada 60CSO ve 60CO grubundaki balıkların elongaz aktivitesi FO grubundan sırasıyla 2,6 ve 2,8 kat daha yüksek iken, CSO ve CO gruplarındaki balıkların elongaz transkripsiyon oranı FO balıklarından sırasıyla 4,6 ve 6,2 kat daha yüksek bulunmuştur. Daha önce yapılan benzer araştırmalarda, *Maccullochella peelii peelii* (Francis ve ark., 2007b, 2009), gökkuşağı alabalığı (Turchini ve Francis, 2009; Thanuthong ve ark., 2011c) ve Atlantik salmonunda (Tocher ve ark., 2003) da yüksek elongaz aktiviteleri rapor edilmiştir.

Yaptığımız bu tez çalışmasında, CO diyetiyle beslenen balıkların ALA metabolizmasında gerçekleşen β-oksidasyonu, Δ-6 desaturasyon ve elongaz aktivitelerinden sırasıyla 6,4 ve 11,4 kat daha yüksek olması balıkların yağ asidi elongasyonu, β-oksidasyonu ve desaturasyon süreçlerinde biyoçevirimi kapasitelerini açık bir şekilde göstermektedir. Benzer şekilde, CSO ile beslenen balıklarda ALA'nın β-oksidasyonu, Δ-6 desaturasyon ve elongasyon aktivitelerinden sırasıyla 6,3 ve 12 kat daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, CO ve CSO gruplarındaki balıkların LA için β-oksidasyonu, Δ-6 desaturasyon aktivitesinden sırasıyla 2,3 ve 5,1 kat daha yüksek bulunmuştur. Yine aynı grup yemlerle beslenen balıklardaki LA β-oksidasyonu, balıklardaki elongasyon aktivitesinden sırasıyla 5,8 ve 11,4 kat daha yüksek olmuştur. Turchini ve Francis (2009) tarafından gökkuşağı alabalığıyla yapılan bir araştırmada, diyetlerde yağ kaynağı olarak sadece keten tohumu yağı kullanılmasıyla balıklarda gerçekleşen ALA β-oksidasyonu araştırmamızdaki sonuçlara benzer şekilde yüksek düzeylerde kaydedilmiştir. Ancak, aynı yazarlar LA β-oksidasyonunun, desaturasyon proseslerinden daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durumun çipura balığı gibi karnivor deniz balıklarının enerji kaynağı olarak LA'yı düşük düzeyde kullanmalarından kaynaklandığı düşünmektedir. Diyetlerde yüksek oranda ALA'nın bulunması, LA'nın biyolojik dönüşümlerini baskıladığını da ayrıca göstermektedir. Tocher ve ark. (2002b) tarafından yapılan bir araştırmada, keten tohumu yağı içeren diyetlerle beslenen Atlantik salmonunun LA Δ-6 desaturaz aktivitesinin inhibe edildiği belirtilmiştir. Ancak araştırmamızda, yüksek düzeyde ALA içeren CO diyetiyle beslenen juvenil çipura balıklarında LA Δ-6 desaturaz aktivitesinin inhibe olmadığı görülmüştür. Araştırmamızdaki bu sonuçlar ile gökkuşağı alabalığı (Turchini ve Francis, 2009;

Thanuthong ve ark., 2011c) ve *Maccullochella peelii peelii* (Francis ve ark., 2007b) balıklarıyla yapılan benzer araştırmaların sonuçları arasında bir uyum olduğu görülmüştür.

Tüm vücut yağ asidi denge yöntemine göre yapılan hesaplamalarda, CSO ve CO diyetleriyle beslenen çipura balıklarının ALA ve LA elongasyon aktiviteleri sonucunda ortaya çıkan son ürünleri (daha uzun zincirli yağ asitleri) vücutlarında depoladıkları görülmüştür. Aynı şekilde, Δ-6 desaturaz ve elongaz aktiviteleri sonucunda ortaya çıkan ürünler (daha çok doymamış ve daha uzun zincirli yağ asitleri) özellikle CSO ve CO bazlı gruplardaki balıklarda belirgin bir şekilde depolanmıştır. Bu diyetlerle beslenen balıklarda Δ-6 desaturasyon sonucunda ALA ve LA'dan ortaya çıkan ürünlerin tamamı balık vücutlarında birikmiştir. Araştırmamızdaki bu sonuçlar ile balık yağı yerine bitkisel yağların kullanıldığı diyetlerle beslenen gökkuşağı alabalığı (Turchini ve Francis, 2009) ve *Maccullochella peelii peelii* (Turchini ve ark., 2006; Francis ve ark., 2007b, 2009) balığında gerçekleşen Δ-6 desaturaz ürünlerinin vücutta depolandığı sonuçları arasında bir uyum olduğu görülmektedir. Δ-6 desaturaz, yağ asidi biyosentetik metabolizma sürecinde hız sınırlayıcı enzim olarak tanımlanmıştır (Brenner, 1981). Ancak, Δ-6 desaturaz ürünleri bakımından zengin olan yağlar içeren diyetlerin balıkların dokularındaki n-3 HUFA düzeyinin azalmasını engellemediği rapor edilmiştir (Bell ve ark., 2006; Tocher ve ark., 2006a). Çipura balıkları ALA bakımından zengin olan diyetlerle beslendiğinde balıklarda Δ-6 desaturaz ürünlerinin düzeyleri artmaktadır (Betancor ve ark., 2016). Bununla birlikte balıklarda n-3 ve n-6 HUFA üretiminin Δ-5 desaturaz enzim tarafından muhtemelen sınırlandırıldığı düşünülmektedir. Bu nedenle araştırmamızda, CSO ve CO bazlı diyet gruplarındaki balıklarda Δ-6 desaturaz ürünlerinin düzeyleri yükselmesine rağmen, 20:4n-3 ve 20:3n-6 yağ asitlerinin *de novo* (balıkların vücudunda) sentezinin olmaması, aynı zamanda Δ-5 desaturaz aktivitesinin olmadığını göstermektedir. Sonuç olarak, CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen juvenil çipuranın tüm vücut ve karaciğer dokularındaki HUFA düzeyinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.

Bu çalışmada, LPCAT1 geni bitkisel yağlar ile beslenen balıkların hem karaciğerinde hem de ön bağırsağında artış göstermiştir. LPCAT gibi açiltransferazlar, fosfolipidin yeniden şekillenmesinde (Land döngüsü) sn-2 konumundaki fosfolipidlerin yağ asidi bileşimini değiştirdikleri için önemli bir rol oynamaktadır (Lands, 1958). Teleost balıklarda, LPCAT1'in düzenlenmesi ile ilgili sınırlı bilgiler bulunmaktadır. Daha önce yapılan bir araştırmada (Bonacic ve ark., 2016), keten tohumu yağı içeren diyetlerle beslenen *Solea senegalensis*

larvalarındaki LPCAT1 geni, soya yağı içeren diyetlerle beslenen balıklardan daha yüksek bulunmuştur. Ancak keten tohumu ve balık yağı ile beslenen larvalar arasında bu gen bakımından herhangi bir fark görülmemiştir. Yapılan başka bir araştırmada (Betancor ve ark., 2016) ise kamelina yağı ile beslenen juvenil çipura balıklarındaki LPCAT1 geni, balık yağı ile beslenenlerden daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte ihtiyaç düzeyinde yemlenen çipura balıklarının iskelet kasında LPCAT1 geni transkripsiyonel olarak regule olmadığı (Benedito-Palos ve ark., 2013), ancak aç bırakılan aynı balıklarda bu gen düzeyinin düşme eğilimi gösterdiği saptanmıştır (Benedito-Palos ve ark., 2014). Mevcut araştırmanın sonuçları ile bu konuda daha önce yapılan araştırmaların sonuçları bir arada değerlendirildiğinde, n-3 PUFA'ların balıkların karaciğer ve bağırsağındaki LPCAT1 gen ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür.

Genel olarak balıkların beslenme ve fizyolojik durumlarını değerlendirirken karaciğer ve bağırsak hedef organlar olarak kabul edilmektedir (Gisbert ve ark., 2008). Yaptığımız bu doktora tez çalışmasında, bitkisel yağlarla beslenen balıkların karaciğer histolojik kesitleri incelendiğinde, yağ birikiminin olduğu görülmüştür. Özellikle sadece bitkisel yağ içeren CSO ve CO diyetleriyle beslenen balıkların karaciğer yağ düzeyleri diğer deney gruplarından daha yüksek bulunmuştur. Karaciğer yağ metabolizmasında görev yapan bazı enzimlerle birlikte yağ asitlerinin sentezini ve oksidasyonunu düzenleyen ana organdır. Balık yemlerinde bitkisel yağların kullanılmasıyla birlikte yemlerdeki yağ asidi profilinde dengesizliklere yol açabilir. Bu durum karaciğer ve bağırsak doku bütünlüğünü etkiliyerek değiştirebilir (Caballero ve ark. 2004). Karaciğer, çipura ve levrekte yağları trigliserit formunda depolamakta ve temel enerji organı olarak işlev görmektedir (Kaushik, 1997). Karaciğerdeki lipit birikimi, tüketilen fazla yağların oksitlenemediği durumlarda meydana gelir (Wassef ve ark., 2007; Lu ve ark., 2014). Sindirim sisteminin histolojik incelemeleri, CSO ve CO grubundaki balıkların hücrelerinde yağ damlacıklarının yüksek düzeyde depolanmasından dolayı hücre çekirdeği ile sitoplazmik organelin bulunması gereken yerlerin dışına kaydığını göstermiştir. Yapılan farklı araştırmalarda (Fountoulaki ve ark., 2009; Benítez-Dorta ve ark., 2013; Betancor ve ark., 2015, 2016; Ballester-Lozano ve ark., 2015), yüksek düzeyde bitkisel yağlarla beslenen balıkların dokularındaki lipit birikiminin arttığı rapor edilmiştir. Yaptığımız analizlerde, bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğer ve ön bağırsaklarındaki CEL, HL, LPL ve HSL genlerin ekspresyonunun arttığı görülmüştür. Elde ettiğimiz bu sonuçlar ile daha önce yapılmış ve yüksek oranda bitkisel yağlarla beslenen çipuradan elde edilen sonuçlar arasında benzerlikler

olduğu görülmüştür (Torno ve ark. , 2018). LPL geninin lipoproteinlerdeki triaçilgliserol hidrolizinde aracılık ettiği, HL geninin ise orta yoğunluklu lipoproteini düşük yoğunluklu lipoproteine dönüştürdüğü ve yağ asitlerinin dokular tarafından alımına aracılık ettiği bildirilmiştir (Lafontan ve Langin, 2009; Betancor ve ark., 2016). Yağ birikimi, çipuradaki hepatik LPL (Saera-Vila ve ark., 2005) ve HSL (Cruz-Garcia ve ark., 2011) ekspresyonunun yükselişiyle ilişkilendirilmiştir. Bu araştırmada, bitkisel bazlı yağlarla beslenen juvenil çipura balıklarında CEL, HL, LPL ve HSL ekspresyonları artış göstermiş ve bu durum balıkların hepatosit ve enterositlerinde yağ birikimine neden olmuştur. Elde ettiğimiz bu sonuçlar daha önce çipurada yapılan benzer araştırmalar tarafından da desteklenmektedir (Cruz- Garcia ve ark., 2011; Peng ve ark., 2014; Betancor ve ark., 2016). Yaptığımız bu araştırmada, karaciğerde CEL dışındaki diğer lipazların ekspresyon düzeyi her zaman daha yüksek bulunmuştur. Bu sonucun bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen juvenil çipura hepatositlerindeki lipit birikimi ve modifikasyonunun enterositlerdekinden daha yüksek olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıklardaki lipit birikiminin nedeni yemlerdeki yağları daha fazla kullanımı sonucunda lipogenezin artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Arzel ve ark., 1994; Robaina ve ark., 1998). FAS, uzun zincirli yağ asitlerinin *de novo* biyosentezini düzenleyen önemli bir enzimdir (Dong ve ark., 2014) ve bir yağ asidi sentezlemek için art arda yoğunlaşma reaksiyonlarını katalize eden ana lipojenik enzimdir (Chen ve ark., 2015). Bu doktora tez araştırmasında, yemlerde yer alan bitkisel yağların balıkların karaciğer ve ön bağırsağında bulunan FAS genindeki mRNA ekspresyonunun artışına neden olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, bitkisel yağların yüksek oranda kullanıldığı (Jin ve ark., 2017b) ve dolayısıyla n-3 HUFA oranının düştüğü (Jin ve ark., 2017a) diyetlerle beslenen juvenil *Acanthopagrus schlegelii*'de FAS'ın arttığı rapor edilmiştir. Benzer sonuçlar bitkisel yağlarla beslenen Atlantik salmonunda da elde edilmiştir (Morais ve ark., 2011). Juvenil çipura karaciğerindeki FAS, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ve malik enzim aktivitelerinin yüksek olması, karaciğerde yüksek glikojen depolanması ve yüksek bir lipojenik potensiyelin oluşmasını ifade etmektedir (Castro ve ark., 2016). Diyette yüksek düzeyde kullanılan palmiye yağıyla beslenen Nil tilapyası yüksek oranda FAS ekspresyonuna sahip olmuş ve aynı zamanda lipogenez yoluyla daha yüksek hepatik lipit birikimi sağlamıştır (Ayisi ve Zhao, 2017). Benzer şekilde daha önce yapılan araştırmalarda, lipogenezdeki artışın enterositlerde lipid birikimini ifade ettiği belirtilmiştir (Caballero ve ark., 2003; Olsen ve ark., 2003). Balık yağı içeren diyetle

beslenen Atlantik salmonunda lipogenezin düşmesi aynı zamanda FAS ekspresyonunun azaldığını da göstermektedir (Morais ve ark., 2012c). Mevcut araştırmamızda juvenil çipuraya ait hepatosit ve enteroksitlerde artan lipid birikiminin kısmen lipojenik genlerin ekspresyonunun artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bitkisel yağlar içeren diyetlerle beslenen balıklarda artan lipit birikiminin arkasındaki mekanizma hala belirsizliğini korumaktadır. Balık yağının temel n-3 HUFA'lardan özellikle EPA ve DHA'yı yüksek oranda içerdiği bilinmektedir. Genel olarak yüksek miktarda EPA ve DHA tüketimi, peroksizomal β-oksidasyonun aktifleştirilmesiyle lipit oksidasyonunu tetiklediği için lipit birikimini önlemekte (Duplus ve ark., 2000; Clarke, 2001), lipojenik metabolizmayı inhibe etmektedir (Shikata ve Shimeno 1994; Alvarez ve ark., 2000; Regost ve ark., 2003a; Menoyo ve ark., 2004) ve lipoprotein sentezini stimule etmektedir (Watanabe, 1982). Ayrıca, balık yağındaki n-3 HUFA'nın Atlantik salmonu adipositlerinde (Todorcević ve ark., 2008) ve memelilerin ön adipositlerindeki (Kim ve ark., 2006) lipit ve triaçilgliserol birikimini baskıladığı saptanmıştır. Atlantik salmonu ile yapılan bir *in vitro* araştırmada, n-3 HUFA'nın gerçek β-oksidasyon yerine hepatositlere artan miktarda yağ asitlerinin alınması yoluyla toplam β-oksidasyonunu stimule ettiğini ortaya koymaktadır (Torstensen ve Stubhaug, 2004).

SONUÇ

Sonuç olarak bu araştırmada elde edilen bulgular özetlendiğinde aşağıdaki konular açık olarak ifade edilebilir. Balık yağının tamamı yerine CSO ve CO yağlarının kullanıldığı diyetlerle beslenen juvenil çipura balıklarının büyümelerinin, kondüsyon faktörlerinin, hepatosomatik ve viserosomatik indeks değerlerinin negatif olarak etkilenmediği görülmüştür. CSO yemi ile beslenen balıkların büyüme performansı diğer deney gruplarından daha düşük bulunmuş, ancak bu gruptaki balıkların yemden yararlanma oranı olumsuz olarak etkilenmemiştir. Bitkisel yağ içeren diyetlerle beslenen balıkların tüm vücut lipit miktarı ve balık yağı grubundakiler arasında önemli bir fark görülmemiştir. Buna karşın, bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğer lipit oranı balık yağı ile beslenen balıkların karaciğer yağı oranından daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu miktar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Balıkların tüm vücut ve karaciğer yağ asidi kompozisyonu kullanılan yağlardan önemli düzeyde etkilendiği görülmüştür. Bu nedenle, CSO ve CO yağlarını içeren diyetlerle beslenen balıkların tüm vücut

ve karaciğer ALA, n-3 PUFA ve n-3/n-6 oranları yüksek düzeyde bulunmuş, ancak, SFA, EPA ve DHA düzeyleri düşük bulunmuştur.

Bu araştırmada, diyetlerde yüksek düzeyde lipit kullanılmasına rağmen CEL, HL, LPL ve HSL gibi lipojenik genlerin ekspresyonu CSO ve CO bazlı diyetlerle beslenen balıkların karaciğer ve ön bağırsağında önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, FAS ekspresyonu (SFA'nın *de novo* biyosentezinde yer alan ana lipojenik gen) da bitkisel yağların kullanıldığı tüm gruplardaki balıkların karaciğer ve ön bağırsağında önemli oranda bir artış göstermiştir. Balık yağı yerine %100 oranında bitkisel yağların kullanıldığı diyetlerle beslenen balıkların karaciğer histolojik analizlerinde yüksek düzeyde lipit birikimi gözlemlenmiştir. Genel olarak, karaciğer kesitlerinde FO < 60CO < 60CSO < CO < CSO sıralamasına göre lipit birikiminin gerçekleştiği görülmüştür. Farklı yağlarla beslenen balıkların ön bağırsak histolojik analizlerinde herhangi bir patolojik bozukluk görülmemekle birlikte CO ve CSO gruplarındaki balıklarda lipit damlacıklarının birikim sağladığı saptanmıştır. Balıkların bağırsaklarının son kısımlarında yapılan histolojik incelemelerde, tamamen bitkisel yağların (CSO ve CO) kullanıldığı gruplarda az sayıda lipit damlacıkları saptanmıştır.

Balıklar β-oksidasyon için yağ asitlerini tercihli olarak kullanmalarıyla birlikte diyetlerde yağ oranının yüksek olması durumunda bu tercihli kullanım ortadan kalkmaktadır. 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Metodu' hesaplamalarına göre diyetteki ALA'nın β-oksidasyon için öncelikli olarak tercih edilen yağ asidi olduğu görülmektedir. Yine aynı metodun sonuçlarına göre bitkisel yağ bazlı diyet gruplarında β-oksidasyonunun arttığı görülmüştür. Yağ asidi katabolizmasında yer alan CPT1a, CPT1b, COX2, PPARa, PPARβ ve PPARγ gibi genlerin ekspresyon düzeyleri bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi'nden elde edilen sonuçları desteklemektedir.

Bu araştırmada, HUFA bakımından düşük olan bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların kullanılan yönteme göre tüm vücudundaki elongaz ve Δ-6 desaturaz aktiviteleri ortaya çıkan ürünlerle ilişkili olarak yüksek bulunmuştur. Buna karşın, ne Δ-5 desaturaz aktivitesi ne de mRNA transkripsiyonu herhangi bir deney grubunda saptanamamıştır. Gen ekspresyonu sonuçları, yağ asitlerinin *de novo* biyosentezinde yer alan ELOVL6, ELOVL5, ELOVL 4, FADS2 ve SCD1b gibi genlerin, bitkisel bazlı yağ içeren diyetlerle beslenen balıklarda yükseldiğini göstermiştir. Bu nedenle, bitkisel yağ bazlı diyet gruplarındaki 20:3n-6, 20:3n-3 ve 20:4n-3 gibi yağ asitlerinin, n-6 ve n-3 biyosentez sürecinde ara ürünler olarak tüm vücutta

ortaya çıkmasına neden olmuştur. 22:2n-6 yağ asidi ise sadece bitkisel yağ bazlı deney gruplarındaki balıkların karaciğerinde bulunmuştur. Belirtilen yağ asitlerinin (20:3n-6, 20:3n-3 ve 20:4n-3) diyetlerde çok düşük miktarlarda bulunması durumunda, balıkların bu yağ asitlerini düşük düzeyde de olsa üretebilmesinden dolayı EFA ihtiyacını kısmen karşılayabileceği görülmektedir. Araştırmamızın sonuçları, tamamen bitkisel yağların kullanıldığı diyetlerle (CSO ve CO) beslenen juvenil çipurada tüm vücut ve karaciğer n-3 HUFA içeriğinin azaldığını göstermiştir.

Sindirim sisteminin histolojik analizleri değerlendirildiğinde, bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıkların sonuçlarından herhangi bir patolojik bozukluk görülmemiştir. Ancak, sadece CSO ve CO yağlarının kullanıldığı diyet gruplarındaki balıkların karaciğerinde lipit birikiminin arttığı görülmüştür. Buna karşın, son bağırsak histolojik incelenmesinde herhangi bir şekilde lipit damlacıklarının birikmediği saptanmıştır.

Mevcut araştırmamızda, 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi' kullanılarak juvenil çipuranın yüksek düzeyde ALA içeriğine sahip diyetlerin *in vivo* metabolizmasını araştırmak mümkün olmuştur. Böylece, bu yöntemi kullanarak, juvenil çipura tarafından alınan yağ asitlerinin metabolizması değerlendirmek mümkün olmuştur. Balıkların tüm vücudundaki β-oksidasyon değerleri ile karaciğer ve ön bağırsaklardaki ilgili genler bitkisel yağ bazlı diyetlerle beslenen balıklarda açık bir şekilde yüksek düzeylerde bulunmuştur. Diyetlerdeki LA ile ALA'nın metabolizmaları karşılaştırıldığında, ALA'nın β-oksidasyon için daha çok tercih edilen yağ asidi olduğu görülmüştür. Bu araştırmada, 'Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi' kullanılarak yağ asitlerinin elongasyonu, Δ-9 ve Δ-6 desaturaz aktiviteleri ve sentezlenen yağ asitlerinin düzeyini hesaplama olanağı ortaya çıkmış, ancak Δ-5 desaturaz aktivitesi saptanamamıştır. Bu nedenle, Tüm Vücut Yağ Asidi Denge Yöntemi kullanılarak juvenil çipura balıklarında Δ-5 desaturaz aktivitesini ortaya çıkarmak için daha uzun süreli denemelere ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abramovic, H. and Abram, V., 2005, Physico-chemical properties, composition and oxidative stability of camelina sativa oil. Food Technol Biotechnol. 43: 63–70.

Abramovic, H., Butinar, B. and Nikolic, V., 2007, Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil during storage. Food Chem. 104: 903–9.

Ackman, R. G., 1989, *Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils.* Florida: CRC Press.

Adebowale, B. A. and Olubamiwa, O., 2008, Growth response of *Clarias gareipinus* juvenile to cocoa husk endocarp based diets. *Agric. J., 3, 425-428*

Agaba, M., Tocher, D. R., Dickson, C., Dick, J. R., Teale, A. J., 2004, A zebrafish cDNA encoding a multifunctional enzyme involved in the elongation of polyunsaturated, monounsaturated and saturated fatty acids. Marine Biotechnology 6, 251–261.

Agaba, M., Tocher, D. R., Zheng, X., ., Dickson, C., Dick, J. R., Teale, A. J., 2005, Cloning and characterization of polyunsaturated fatty acid elongases of marine and freshwater teleost fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B 142: 342–352.

Alhazzaa, R., Bridle, A., Nichols, P., Carter, C., 2011, Replacing dietary fish oil with echium oil enriched barramundi with C18 PUFA rather than long-chain PUFA. Aquaculture 312: 162–171.

Alvarez, M. J., Diez, A., López-Bote, C. J., Gallego, M., and Bautista, J. M., 2000, Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. British Journal of Nutrition 84: 619–628.

Ananichev, A. V., 1959, Digestive enzymes of fish and seasonal changes in their activity. Biochemistry 24: 952–958.

AOAC., 2006, Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.

Arslan, M., Dabrowski, K., Rinchard, J., Portella, M. C., 2008, Effects of different dietary lipid sources on the survival, growth and fatty acid composition of South American catfish, Pseudoplatystoma fasciatum, Surubim, juveniles. Journal of the World Aquaculture Society 39 (1): 51-61.

Arslan, M., Sirkecioglu, N., Bayir, A., Arslan, H., Aras, M., 2012, The influence of substitution of dietary fish oil with different vegetable oils on performance and fatty acid composition of brown trout, Salmo trutta. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 12 (3): 575 – 583.

Arthur, M. and Phillips, J. R., 1972, Caloric and energy requirement. In: Halver, J. E. (Ed.), Fish Nutrition. pp. 1- 27, Academic Press, London.

Arzel, J., Lopez, F.X.M., Métailler, R., Stéphan, G., Viau, M., Gandemer, G., and Guillaume, J., 1994, Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. Aquaculture 123: 361–375.

Austreng, E., Skrede, A. and Eldegard, A., 1980, Digestibility of fat and fatty acids in rainbow trout and mink. Aquaculture 19: 93–95.

Ayerza, R., 1995, Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. Journal of the American Oil Chemists' Society 72: 1079- 1081.

Ayerza, R., and Coates, W., 1999, An omega-3 fatty acid enriched chia diet: Its influence on egg fatty acid composition, cholesterol and oil content. Can. J. Anim. Sci. 79: 53‑58.

Ayerza, R. and Coates, W., 2000, Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition for two strains of hens. Poult Sci 79(5): 724–39.

Ayerza, R. and Coates, W., 2001, Omega -3 enriched eggs: The influence of dietary α-linolenic fatty acid source on egg production and composition. Can J Anim Sci 81(3): 355–362.

Ayerza, R. and Coates, W., 2002, Dietary levels of chia: influence on hen weight, egg production and sensory quality for two strains of hens. Br Poult Sci 43(2): 283–290.

Ayerza, R. and Coates, W., 2006, Influence of chia on total fat, cholesterol, and fatty acid profile of Holstein cow's milk. Revista Cientifica de UCES 10(2): 39-48.

Ayerza, R., 2010, Effects of seed color and growing locations on fatty acid content and composition of two chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes. Journal of the American Oil Chemists' Society 87: 1161-1165.

Ayisi, C. L. and Zhao, J-L., 2017, Fatty Acid Composition, Lipogenic Enzyme Activities and mRNA Expression of Genes Involved in the Lipid Metabolism of Nile Tilapia Fed with Palm Oil. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 17: 405-415.

Ballester-Lozano, G. F., Benedito-Palos, L., Estensoro, I., Sitjà-Bobadilla, A., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J., 2015, Comprehensive biometric, biochemical and histopathological assessment of nutrient deficiencies in gilthead sea bream fed semi-purified diets. Br J Nutr 114:713–726.

Bartlett, K., Eaton, S., 2004, Mitochondrial beta-oxidation. Prog Clin Biol Res. 321(3): 23-36. https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2003.03947.x.

Basurco, B., Lovatelli, A. and García, B., 2011, Current status of Sparidae aquaculture, In: Pavlidis, M. A., Mylonas, C. C., (Eds.), Sparidae. Blackwell Publishing Ltd, pp. 1-42.

Beheshti Foroutani, M., Parrish, C. C., Wells, J., Taylor, R. G., Rise, M. L., Shahidi, F., 2018, Minimizing marine ingredients in diets of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects on growth performance and muscle lipid and fatty acid composition. PLoS ONE 13(9): e0198538. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198538

Bell, J. G., Tocher, D. R., Farndale, B. M., et al., 1997, The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. Lipids 35, 515–525.

Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F., Campbell, P. J., Sargent, J. R., 2001, Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid composition and hepatocyte fatty acid metabolism. J. Nutr. 131, 1535–1543.

Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., McGhee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen, R. P. and Sargent, J. R., 2002, Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. The Journal of Nutrition 132: 222–230.

Bell, J. G., McGhee, F., Campbell, P. J., and Sargent, J. R., 2003a, Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil ''wash out''. Aquaculture 218: 515–528.

Bell, J. G., Tocher, D. R., Henderson, R. J., Dick, J. R., and Crampton, V. O., 2003b, Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. The Journal of Nutrition 133: 2793–2801.

Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., Sargent, J.R., 2004, Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil; modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. Lipids 39, 223-232.

Bell, J. G., Strachan, F., Good, J. E., Tocher, D. R., 2006, Effect of dietary echium oil on growth, fatty acid composition and metabolism, gill prostaglandin production and macrophage activity in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquacult. Res., 37*, 606-617.

Bell, J. G. and Waagbo, R., 2008, Safe and nutritious aquaculture produce: benefits and risks of alternative sustainable aquafeeds. In: Holmer, M., Black, K. D., Duarte, C. M., Marba, N., and Karakassis, I. (Eds.), Aquaculture in the Ecosystem. Berlin, Springer Verlag, pp. 185-225.

Bell, J. G., Pratoomyot, J., Strachan, F., Henderson, R. J., Fontanillas, R., Hebard, A., Guy, D. R., Hunter, D., and Tocher, D. R., 2010, Growth, flesh adiposity and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) families with contrasting flesh adiposity: Effects of replacement of dietary fish oil with vegetable oils. Aquaculture 306: 225-232.

Bell, J. G. and Koppe, W., 2011, Lipids in Aquafeeds, In: Turchini, G. M., Ng W-K. and Tocher, D. R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press, Boca Raton, pp. 22-59.

Benedito-Palos, L., Saera-Vila, A., Calduch-Giner, J.-A., Kaushik, S.J., Pérez-Sánchez, J., 2007, Combined replacement of fish meal and oil in practical diets for fast growing juveniles of gilthead sea bream (Sparus aurata L): networking of systemic and local components of GH/IGF axis. Aquaculture 267: 199–212.

Benedito-Palos, L., Navarro, J. C., Sitjá-Bobadilla, A., Bell, J. G., Sadasivam, K. and Pérez-Sánchez, J., 2008, High levels of vegetable oils in plant protein-rich diets fed to gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): growth performance, muscle fatty acid profiles and histological alterations of target tissues. British Journal of Nutrition 100: 992–1003.

Benedito-Palos, L., Navarro, J. C., Kaushik, S., and Pérez-Sánchez, J., 2010, Tissue-specific robustness of fatty acid signatures in cultured sea bream (*Sparus aurata*) fed practical diets with a combined high replacement of fish meal and fish oil. J Anim Sci 88:1759–1770

Benedito-Palos, L., Calduch-Giner, J. A., Ballester-Lozano, G. F., and Pérez-Sánchez, J., 2013, Effect of ration size on fillet fatty acid compositions, phospholipid allostasis and mRNA expression patterns of lipid regulatory genes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Br J Nutr 109: 1175–1187.

Benedito-Palos, L., Ballester-Lozano, G. and Pérez-Sánchez, J., 2014, Wide-gene expression analysis of lipid-relevant genes in nutritionally challenged gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Gene 547: 34–42.

Benedito-Palos, L., Ballester-Lozano, G. F., Simó, P., Karalazos, V., Ortiz, Á., Calduch-Giner, P., Pérez-Sánchez, J., 2016, Lasting effects of butyrate and low FM/FO diets on growth performance, blood haematology/biochemistry and molecular growth-related markers in gilthead sea bream *(Sparus aurata*). Aquaculture 454: 8–18.

Benítez-Dorta, V., Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Manchado, M., Infante, C., Zamorano, M. J., Montero, D., 2013, Total substitution of fish oil by vegetable oils in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) diets: effects on fish performance, biochemical composition and expression of some glucocorticoid receptor related genes. Fish Physiol Biochem 39: 335–349.

Betancor, M. B., Sprague, M., Sayanova, O., Usher, S., Campbell, P. J., Napier, J. A., Tocher, D. R., 2015, Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. Aquaculture 444: 1–12.

Betancor, M. B., Sprague, M., Montero, D., Usher, S., Sayanova, O., Campbell, P. J., Napier, J. A., Caballero, M. J., Izquierdo, M., Tocher, D. R., 2016a, Replacement of Marine Fish Oil with *de novo* Omega-3 Oils from Transgenic *Camelina sativa* in Feeds for Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.). Lipids 51(10): 1171–1191.

Betancor, M.B., Sprague, M., Sayanova, O., Usher, S., Metochis, C., Campbell, P.J., Napier, J.A., Tocher, D.R., 2016b, Nutritional evaluation of an EPA-DHA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). PLoS One 11: e0159934.

Betancor, M. B., Li, K., Bucerzan, V. S., Sprague, M., Sayanova, O., Usher, S., Han, L., Norambuena, F., Torrissen, O., Napier, J. A., Tocher, D. R. and Olsen, R. F., 2018, Oil from transgenic *Camelina sativa* containing over 25% n-3 long-chain PUFA as the major lipid source in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*). British Journal of Nutrition 119: 1378–1392.

Bimbo, A. P., 2000, Fish meal and oil. In: Martin, R. E., Carter, E. P., Flick, G. J., and Davis, L. M. (Eds.), Marine and Freshwater Products Handbook, pp. 541–581. Technomic Publishing, Lancester.

Bodoira, R. M., Penci, M. C., Ribotta, P. D., Martínez, M. L., 2017, Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. LWT - Food Science and Technology 75: 107-113.

Bogevik, A. S., Tocher, D. R., Waagbo, R., Olsen, R. E., 2008, Triacylglycerol-, wax ester- and sterol ester-hydrolases in midgut of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture Nutrition 14: 93–98.

Bonacic, K., Campoverde, C., Sastre, M., Hachero-Cruzado, I., Ponce, M., Manchado, M., Estevez, A., Gisbert, E., Morais, S., 2016, Mechanisms of lipid metabolism and transport underlying superior performance of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) larvae fed diets containing n-3 polyunsaturated fatty acids. Aquaculture 450: 383–396.

Bonnefont, J. P., Djouadi, F., Prip-Buus, C., Gobin, S., Munnich, A., Bastin, J., 2004, Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. Mol. Aspects Med. 25: 495–520.

Boukouvala, E., Leaver, M. J., Favre-Krey, L., Theodoridou, M., Krey, G., 2010, Molecular characterization of a gilthead sea bream (*Sparus aurata*) muscle tissue cDNA for carnitine palmitoyltransferase 1B (CPT1B). Comp. Biochem. Physiol. 157B: 189–197.

Bouraoui, L., Sánchez-Gurmaches, J., Cruz-Garcia, L., Gutiérrez, J., Benedito-Palos, L., Pérez-Sánchez, J., and Navarro, I., 2011, Effect of dietary fish meal and fish oil replacement on lipogenic and lipoprotein lipase activities and plasma insulin in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquacult. Nutr. 17: 54–63.

Boyd, C. E., 2015, Feed and Feeding Practices in Aquaculture. Woodhead Publishing, United Kingdom, p 21.

Brandsen, M., Carter, C. and Nichols, P., 2003, Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. Comp. Biochem. Physiol. B. 135: 611-625.

Brenna, J. T., Salem, N. Jr., Sinclair, A. J., and Cunnane, S.C., 2009, α-Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. Prostaglandins Leukotr. Essent. Fatty Acids 80, 85‑91.

Brenner, R. R., 1974, The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. Mol. Cell. Biochem. 3: 41–52.

Brenner, R. R., 1981, Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. Prog. Lipid Res. 20: 41-47.

Brown, J. E., 2005, A critical review of methods used to estimate linoleic acid Δ6-desaturation *in vitro* and *in vivo*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 107: 119–134.

Brown, P. B. and Hart, S. D., 2011, Soybean Oil and Other n-6 Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Vegetable Oils. In Turchini, G. M., Ng W-K. and Tocher, D. R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press, Boca Raton, pp. 133-160.

Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M., and Izquierdo, M. S., 2002, Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 214, 253–271.

Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjorsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernandez, A. J., and Rosenlund, G., 2003, Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. Aquaculture 225: 325–340.

Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjørsvik, E., Fernández, A. J., and Rosenlund, G., 2004, Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. Journal of Fish Diseases 27: 531–541.

Campbell, C. G., Picotte 1, M. S., Syndergaard, S., Filipowicz, R., Thorland, W. G., 2009, Anti-inflammatory effects of *Camelina sativa* oil in postmenopausal women. Faseb J. 23: 910-14.

Carbonera, F., Montanher, P. F., Figueirdo, I. L., Bonafé, E. G., Júnior, O. O. S., Sargi, S. C., Gonçalves, R. M., Matsushita, M. and Visentainer, J. V., 2016, Lipid Composition and Antioxidant Capacity Evaluation in Tilapia Fillets Supplemented with a Blend of Oils and Vitamin E. J. Am. Oil Chem. Soc. 93, 1255–1264.

Carmona-Antoñanzas, G., Monroig, Ó., Dick, J. R., Davie, A., Tocher, D. R., 2011, Biosynthesis of very long-chain fatty acids (C ≥ 26) in Atlantic salmon: cloning, functional characterisation, and tissue distribution of an Elovl4. Comp. Biochem. Physiol. 159B: 122–129.

Castro, L. F. C., Monroig, Ó., Leaver, M. J., Wilson, J., Cunha, I., Tocher, D. R., 2012, Functional desaturase Fads1 (Δ5) and Fads2 (Δ6) orthologues evolved before the origin of jawed vertebrates. PLoS One 7: e31950.

Castro, C., Corraze, G., Firmino-DioÂgenes, A., Larroquet, L., Panserat, S., Oliva-Teles, A., 2016, Regulation of glucose and lipid metabolism by dietary carbohydrate levels and lipid sources in gilthead sea bream juveniles.Br J Nutr 116(1): 19-34.

Cataudella, S., Crosetti, D. and Marino, G., 1995, The sea breams. In: Nash, C. E. and Navotny, A. J. (Eds.), *Production of Aquatic Animals*, pp. 289–303. Fishes, Elsevier, Amsterdam.

Chen, Q.-L., Luo, Z., Wu, K., Huang, C., Zhuo, M.-Q., Song, Y.-F. and Hu, W., 2015, Differential effects of dietary copper deficiency and excess on lipid metabolism in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 184: 19-28.

Christie, W.W., 2003, Lipid Analysis, 3rd ed. Bridgewater, UK, Oily Press, 416 pp.

Cho, C. Y. and Slinger, S. J., 1979, Apparent digestibility measurement in feedstuff for rainbow trout. In: Halver, J. E. and Tiews, K. (Eds). Finfish Nutrition and Fishfood Technology, Vol. 2, pp. 239–247. Heenemann, Berlin.

Chou, B. S. and Shiau, S. Y., 1996, Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. Aquaculture 143: 185–195.

Clarke, S. D., 2001, Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. 1. Molecular mechanism for polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology 281: 865–869.

Coates, W. and Ayerza, R., 1996, Production potential of chia in Northwestern Argentina. Ind. Crops. Prod. 5: 229‑233.

Coates, W. and Ayerza, R., 2009, Chia (*Salvia hispanica* L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. J. Anim. Sci. 87: 3798–3804.

Colombo-Hixson, S., Olsen, R., Milley, J., and Lall, S., 2011, Lipid and fatty acid digestibility in *Calanus* copepod and krill oil by Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture. 313: 115-122.

Colombo, S. M., Parrish, C. C., Wijekoon, M. P. A., 2018, Optimizing long chain-polyunsaturated fatty acid synthesis in salmonids by balancing dietary inputs. PLoS ONE 13(10): e0205347. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205347.

Coorey, R., Novinda A., Williams H., and Jayasena, V., 2015, Omega-3 Fatty Acid Profile of Eggs from Laying Hens Fed Diets Supplemented with Chia, Fish Oil, and Flaxseed. Journal of Food Science 80(1): 180-187.

Cowey, C. B. and Sargent, J. R., 1972, Fish nutrition. Marine Biology 10: 383–492.

Cruz-Garcia, L., Sánchez-Gurmaches, J., Bouraoui, L., Saera-Vila, A., Pérez-Sánchez, J., Gutiérrez, J., Navarro, I., 2011, Changes in adipocyte cell size, gene expression of lipid metabolism markers, and lipolytic responses induced by dietary fish oil replacement in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 158: 391–399.

Culling, C. F. A., 1963, Handbook of Histopatological Tecniques (Including Museum Tecnique) Second education, Butterworth & Co. (Publisher) Ltd.

Cunnane, S. C. and Anderson, M. A., 1997, The majority of dietary linoleate in growing rats is b-oxidised or stored in visceral fat. J Nutr. 127, 146–152.

Denstadli, V., Vegusdal, A., Krogdahl, A., Bakke-McKellup, A. M., Berge, G. M., Holm, H. et al., 2004, Lipid absorption in different segments of the gastrointestinal tract of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 240: 385–398.

Denton, J. E., Yousef, M. K., Yousef, I. M., Kuksis, J. E., 1974, Bile acid composition of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*). Lipids 9: 945–951.

De Antueno, R. J., Knickle, L. C., Smith, H., Elliot, M. L., Allen, S. J., Nwaka, S., Winther, M. D., 2001, Activity of human Δ5 and Δ6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. FEBS Lett. 509: 77–80.

Dias, J., Corraze, G., Arzel, J., Alvarez, M. J., Bautista, J. M., Lopez-Bote, C., and Kaushik, S. J., 1999, Nutritional control of lipid deposition in rainbow trout and European seabass: effect of dietary protein/energy ratio. Cybium 23(suppl.): 127–137.

Dong, G-F., Zou, Q., Wang, H., Huang, F., Liu, X-C., Chen, L., Yang, C-Y. and Yang, Y-O., 2014, Conjugated linoleic acid differentially modulates growth, tissue lipid deposition, and gene expression involved in the lipid metabolism of grass carp. Aquaculture 432: 181–191. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.008

Drury, R. A. B. and Wallington, E. A., 1980, Carleton's Histological Technique, Fifth Education, Oxford University Press, ISBN 0-19-261310-3.

Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J., and Parmentier, M., 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. European Journal of Lipid Science and Technology 109: 710-732.

Duplus, E., Glorian, M., and Forest, C., 2000, Fatty acid regulation of gene transcription. J. Biol. Chem. 275: 30749-30752.

Eaton, S., Bartlett, K., Quant, P. A., 2001, Carnitine palmitoyl transferase I and the control of beta-oxidation in heart mitochondria. Biochemical & Biophysical Research Communications 285(2): 245-50. https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5201.

Eidhin, D. N., Burke, J. and O'Beirne, D., 2003, Oxidative stability of omega-3 rich camelina oil and camelina oil-based spread compared with plant and fish oils and sunflower spread. J Food Sci. 68:345–53.

Emken, E. A., 2001, Stable isotope approaches, applications and issues related to polyunsaturated fatty acid metabolism studies. Lipids 36: 965–973.

Eroldoğan, T. O., Yılmaz, A. H., Turchini, G. M., Arslan, M., Sirkecioğlu, N. A., Engin, K., Özşahinoğlu, I., and Mumoğullarinda, P., 2013, Fatty acid metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects of n-6 PUFA and MUFA in fish oil replaced diets. Fish Physiol Biochem 39, 941–955.

Evans, R. M., Barish, G. D. and Wang, Y. X., 2004, PPARs and the complex journey to obesity. Nat Med. 10:355–361.

Fänge, R. and Grove, D., 1979, Digestion. **In** Hoar, W. S., Randall, D. J. and Brett, J. R. (Eds), *Fish Physiology*, Vol. VIII. New York: Academic Press, pp. 161–260.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2005–2009, Cultured Aquatic Species Information Programme. *Sparus aurata*. In: FAO Fisheries and Aquaculture

Department [online] (eds. F. Colloca & S. Cerasi). Rome. Available at: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus aurata/en.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2005-2019, Cultured Aquatic Species Information Programme. Sparus aurata. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Colloca, F.; Cerasi, S. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 8 February 2005. [Date accessed: October 2019]. Available at: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus aurata/en.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2006, State of the World Aquaculture. FAO Fisheries Technical paper 500 (ISBN 978-92-5-105631-8)

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2009, The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. Rome, Italy.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2010, The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. FAO, Rome. 197 pp.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2012, The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome. (http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf).

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2014, The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and Challenges. FAO, Rome.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2015, Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Service FishStatJ: Universal software for fishery statistical time series. FAO Fisheries and Aquaculture Department [http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en].

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2016, The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome. 200 pp.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2018, The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome.

Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H., 1957, A simple method for the ısolation and purification of total lipids from animal tissues, Journal of Biological Chemistry 226: 497-509.

Fonseca-Madrigal, J., Navarro, J. C., Hontoria, F., Tocher, D. R., Martínez-Palacios, C., Monroig, Ó., 2014, Diversification of substrate specificities in teleostei Fads2 fatty acyl desaturases: cloning and functional characterisation of Δ4 and bifunctional Δ6Δ5 desaturases in the freshwater atherinopsid *Chirostoma estor*. J. Lipid Res. 55: 1408–1419.

Francis, D. S., Turchini, G. M., Jones, P. L., and De Silva, S. S., 2007a, Growth performance, feed efficiency and fatty acid composition of juvenile Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*, fed graded levels of canola and linseed oil. Aquacult. Nutr. 13: 335–350.

Francis, D. S., Turchini, G. M., Jones, P. L. and De Silva, S. S., 2007b, Dietary Lipid Source Modulates *in Vivo* Fatty Acid Metabolism in the Freshwater Fish, Murray Cod (*Maccullochella peelii peelii*). J. Agric. Food Chem, 55: 1582-1591.

Francis, D. S., Peters, D. J. and Turchini, G. M., 2009, Apparent *in vivo* delta-6 desaturase activity, efficiency, and affinity are affected by total dietary C-18 PUFA in the freshwater fish Murray cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57: 4381–4390.

Geurden, I., Jutfelt, F., Olsen, R.E., Sundell, K.S., 2009. A vegetable oil feeding history affects digestibility and intestinal fatty acid uptake in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Comp. Biochem. Physiol. 152A, 552‑559.

Ghioni, C., Tocher, D. R., Bell, M. V., Dick, J. R. and Sargent, J. R., 1999, Low C_{18} to C_{20} fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18:4n-3, to eicosapentaenoic acid, 20:5n-3, in cell line from turbot, *Scophthalmus maximus*. Biochimica Biophysica Acta 1437: 179-181.

Gisbert, E., Ortiz-Delgado, J. B. and Sarasquete, C., 2008, Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. Histol Histopathol 23: 1525-1539.

Giannetto, D., Acar, U., Demir, O. and Turker, A., 2014, Current Status and Future Prospective for Aquaculture Sector in Turkey. Austin J Aquac Mar Biol. 1(1): 3.

Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P., Bonen, A., 2010, Membrane Fatty Acid Transporters as Regulators of Lipid Metabolism: Implications for Metabolic Disease. Physiological Reviews 90(1): 367-417. https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2009.

Glencross, B. D., 2009, Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. Reviews in Aquaculture 1: 71–124.

Gregory, M. K., Cleland, L. G., James, M. J., 2013, Molecular basis for diferential elongation of omega-3 docosapentaenoic acid by the rat Elovl5 and Elovl2. J. Lipid Res. 54: 2851–2857.

Guillou, H., Zadravec, D., Martin, P. G. P., Jacobsson, A., 2010, The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice. Prog. Lipid Res. 49: 186-199.

Gurr, M. I. and Harwood, J. L., 1991, Lipid Biochemistry: An Introduction, 4th ed. London, Chapman and Hall, 406 pp.

Hall, S.J., Delaporte, A., Phillips, M. J., Beveridge, M., and O'Keefe, M., 2011, Blue Frontiers: Managing the Environmental Costs of Aquaculture. The World Fish Center, Penang.

Hardy, R. W., Higgs, D. A., Lalla, S. P, and Tacon, A. G. J., 2001, Alternative dietary protein and lipid sources for sustainable production of salmonids. Fisken-Havet 8, 44 pp.

Hastings, N., Agaba, M., Tocher, D. R., Leaver, M. J., Dick, J. R., Sargent, J. R. et al., 2001, A vertebrate fatty acid desaturase with delta 5 and delta 6 activities. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98: 14 304–14 309.

Hastings, N., Agaba, M., Tocher, D. R., Zheng, X., Dickson, C. A., Dick, J. R. et al., 2004, Molecular cloning and functional characterization of fatty acyl desaturase and elongase cDNAs involved in the production of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from alpha-linolenic acid in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Marine Biotechnology 6: 463–474.

Henderson, R. J. and Sargent, J. R., 1985, Fatty acid metabolism in fish. In: Cowey, C. B., Mackie, A. M. and Bell J. G. (Eds.), *Nutrition and Feeding in Fish*. London, England: Academic Press, pp. 349–364.

Henderson, R. J. and Tocher, D. R., 1987, The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Progress in Lipid Research 26: 281–347.

Hepher, B., 1988, Nutrition of Pond Fishes. Cambridge University Press, Cambridge.

Hernández-Cruz, C. M., Mesa-Rodríguez, A., Betancor, M., Haroun-Izquierdo, A., Izquierdo, M., Benítez-Santana, T., Torrecillas, S. and Roo, J. (2015). Growth performance and gene expression in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed microdiets with high docosahexaenoic acid and antioxidant levels. Aquaculture Nutrition 21, 881-891.

Higgs, D.A. and Dong, F.M., 2000, Lipids and fatty acids. In: Stickney, R.R. (Ed), Encyclopedia of Aquaculture. New York, John Wiley, pp. 476‑496.

Hixson, S. M., Parrish, C. C. and Anderson, D. M., 2013, Effect of replacement of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil on growth, lipid class and fatty acid composition of farmed juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). Fish Physiology Biochemistry, 39, 1441–1456.

Hixson, S. M., 2014, Use of ω3 Rich Oilseed Camelina (*Camelina Sativa*) as a Fish Oil Replacement in Aquaculture Feeds: Implications for Growth and Lipid Biochemistry of Farmed Atlantic Cod (*Gadus Morhua*), Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) And Atlantic Salmon (*Salmo Salar*). PhD Thesis. Department of Biology, Memorial University of Newfoundland.

Hixson, S. M. and Parrish, C. C., 2014, Substitution of fish oil with camelina oil and inclusion of camelina meal in diets fed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) and their effects on growth, tissue lipid classes and fatty acids. J. Anim. Sci. 92: 1055–1067.

Hixson, S. M., Parrish, C. C. and Anderson, D. M., 2014a, Changes in tissue lipid and fatty acid composition of farmed rainbow trout in response to dietary camelina oil as a replacement of fish oil. Lipids 49, 97–111.

Hixson, S. M., Parrish, C. C. and Anderson, D. M., 2014b, Full substitution of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil, with partial substitution of fish meal with camelina meal, in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its effect on tissue lipids and sensory quality. Food Chem. 157: 51–61.

Hixson, S. M., Parrish, C. C. and Anderson, D. M., 2014c, Use of camelina oil to replace fish oil in diets for farmed salmonids and Atlantic cod. Aquaculture 431: 44–52.

Holub D. J. and Holub B. J., 2004, Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. Molecular and Cellular Biochemistry 263: 217–225.

Hrastar, R., Abramovič, H. and Košir, I. J., 2012, In situ quality evaluation of *Camelina sativa* landrace. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 114(3): 343-351.

Huang, Y., Lin, Z., Rong, H., Hao, M., Zou, W., Li, S., Wen, X., 2017, Cloning, tissue distribution, functional characterization and nutritional regulation of Δ6 fatty acyl desaturase in chu's croaker *Nibeacoibor*. Aquaculture 479: 208–216.

Hua, K., Cobcroft, J. M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D. R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M. J., Zeng, C., Zenger, K., Strugnell, J. M., 2019, The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets. One Earth 1(3): 316-329.

Ibeas, C., Izquierdo, M. and Lorenzo, A., 1994, Effect of different levels of n-3 highly unsaturated fatty acid levels on growth and fatty acid composition of juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture 127: 177–188.

Ibeas, C., Cejas, J. R., Fores, R., Badia, P., Gomez, T., Lorenzo, A., and Hernandez, A., 1997, Influence of the eicosapentaenoic to docosahexaenoic acid ratio (EPA/DHA) of dietary lipids on growth and fatty acid composition of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. Aquaculture 150, 91–102.

Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K., and Nakayama, T., 1996, An improved method for rapid 304 analysis of the fatty acids of glycerolipids. Lipids 31: 535-539.

Ide, T., 2000, Effect of dietary α-linolenic acid on the activity and gene expression of hepatic fatty acid oxidation enzymes. Biofactors 13: 9-14.

Ixtaina, V. Y., Martínez, M. L., Spotorno, V., Mateo, C. M., Maestri, D. M., Diehl, B. W. K., Nolasco, S. M., Tomás, M. C., 2011, Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. Journal of Food Composition and Analysis 24: 166-174.

Izquierdo, M. S., 1996, Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. Aquacult. Nutr. 2(4): 183-191.

Izquierdo, M. S., Obach, A., Arantzamendi, L., Montero, D., Robaina, L., and Rosenlund, G., 2003, Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. Aquaculture Nutrition 9, 397–407.

Izquierdo, M. S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M. J., Rosenlund, G., and Gines, R., 2005, Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period, recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. Aquaculture 250, 431–444.

Izquierdo, M. S., Juárez-Carrillo, E., Oliva, V., Hernández-Cruz, C. M. and Afonso, J. M., 2008, Regulation of growth, fatty acid composition and delta 6 desaturase expression by dietary lipids in gilthead seabream larvae (*Sparus aurata*). Fish Physiol Biochem 34:117–127.

Jamiu, D. M. and Ayinla, O. A., 2003, Potential for The development of Aquaculture in Africa. NAGA 26(3): 9-13.

Jakobsson, A., Westerberg, R., Jacobsson, A., 2006, Fatty acid elongases in mammals: Their regulation and roles in metabolism. Prog. Lipid Res. 45: 237-249.

Jemberg, J. N., Bowman, C. E., Wolfgang, M. J., Scafidi, S., 2017, Developmental regulation and localization of carnitine palmitoyltransferases (CPTs) in rat brain. Journal of Neurochemistry, 142(3), 407-419. https://doi.org/10.1111/jnc.14072.

Ji, H., Li, J. and Liu, P., 2011, Regulation of growth performance and lipid metabolism by dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Comp Biochem Phys B 159: 49–56.

Jin, M., Lu, Y., Yuan, Y., Li, Y., Qiu, H., Sun, P., Ma, H-N., Ding, Li-Y., Zhou, Q-C., 2017a, Regulation of growth, antioxidant capacity, fatty acid profiles, hematological characteristics and expression of lipid related genes by different dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*). Aquaculture 471: 55–65.

Jin, M., Yuan, Y., Lu, Y., Ma, H., Sun, P., Li, Y., Qiu, H., Ding, L., Zhou, Q., 2017b, Regulation of growth, tissue fatty acid composition, biochemical parameters and lipid related genes expression by different dietary lipid sources in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegelii*. Aquaculture 479: 25–37.

Jin, M., Monroig, Ó., Navarro, J. C., Tocher, D. R., Zhou, Q., 2017c, Molecular and functional characterisation of two elovl4 elongases involved in the biosynthesis of very long-chain (>C_{24}) polyunsaturated fatty acids in black seabream *Acanthopagrus schlegelii*. Comp. Biochem. Physiol. 212B: 41–50.

Jobling, M., Leknes, O., Sæther, B. S., and Bendiksen, E. Å., 2008, Lipid and fatty acid dynamics in Atlantic cod, *Gadus morhua*, tissues: influence of dietary lipid concentrations and feed oil sources. Aquaculture 281: 87–94.

Jordal, A., Lie, Ø. and Torstensen, B., 2007, Complete replacement of dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquacult. Nutr. 13: 114-130.

Kabeya, N., Yamamoto, Y., Cummins, S. F., Elizur, A., Yazawa, R., Takeuchi, Y., Haga, Y., Satoh, S., Yoshizaki, G., 2015, Polyunsaturated fatty acid metabolism in a marine teleost, Nibe croaker *Nibea mitsukurii*: functional characterization of Fads2 desaturase and Elovl5 and Elovl4 elongases. Comp. Biochem. Physiol. 188B: 37–45.

Kabeya, N., Chiba, M., Haga, Y., Satoh, S., Goro, Y., 2017, Cloning and functional characterization of *fads2* desaturase and elovl5 elongase from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Comp. Biochem. Physiol. 214B: 36–46.

Kabeya, N., Yevzelman, S., Oboh, A., Tocher, D. R., Monroig, Ó., 2018, Essential fatty acid metabolism and requirements of the cleaner fish, ballan wrasse *Labrusbergylta*: Defining

pathways of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. Aquaculture 488: 199–206.

Kalogeropoulos, N., Alexis, M. & Henderson, R.J., 1992, Effect of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*). Aquaculture 104: 293–308.

Kapoor, B. G., Smit, H. and Verighina, I. A., 1975, The alimentary canal and digestion in teleosts. Adv. Mar. Biol. 13: 109–239.

Karakaş, H. H. and Türkoğlu, H., 2005, Fisheries of the World and in Turkey Status. Hr.ü.z.f.dergi 9: 21-28.

Karapanagiotidis, I. T., Bell, M. V., Little, D. C., Yakupitiyage, A., and Rakshit, S. K., 2006, Polyunsaturated fatty acid content of wild and farmed tilapias in Thailand: effect of aquaculture practices and implications for human nutrition. J. Agric. Food Chem. 54: 4304‑4310.

Karapanagiotidis, I. T., Bell, M. V., Little, D. C., and Yakupitiyage, A., 2007. Replacement of dietary fish oils by alpha-linolenic acid-rich oils lowers Omega 3 content in tilapia flesh. Lipids 42: 547‑560.

Karvonen, H. M., Aro, A., Tapola, N. S., Salminen, I., Uusitupa, M. I. J., and Sarkkinen, E. S., 2002, Effect of a-Linolenic Acid-Rich *Camelina sativa* Oil on Serum Fatty Acid Composition and Serum Lipids in Hypercholesterolemic Subjects", Metabolism 51(10): 1253-1260.

Kaushik, S. J., 1997, Recent developments in the nutrition and feeding of marine finfish of interest to the Mediterranean. Communication at INVE Conference Nutritional and the improvement of the sea bass and sea bream production in the Mediterranean Region. ALIIA Trades Show, Thessaloniki, Greece.

Kayhan, M. H. and Olmez, M., 2014, Aquaculture and Organic Aquaculture in Turkey. J Aquac Res Development 5: 259. doi:10.4172/2155-9546.1000259.

Kellogg, T. F., 1975, The biliary bile acids of the channel catfish, *Ictulurus punctatus*, and the blue catfish *Ictulurus furcatus*. Comparative Biochemistry and Physiology – Part B 50: 109–111.

Kerner, J., Hoppel, C., 2000, Fatty acid import into mitochondria. Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids 1486(1): 1-17. https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00044-5.

Kim, H. K., Della-Fera, M., Lin, J., and Baile, C. A., 2006, Docosahexaenoic acid inhibits adipocyte differentiation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. J Nutr 136: 2965–2969.

Kimura, F. T. and Miller, V. L., 1957, Chromic oxide measurement, improved determination of chromic oxide in cow feed and feces. Journual Agriculture Food Chemistry 5: 216-216.

Kolditz, C., Borthaire, M., Richard, N., Corraze, G., Panserat, S., Vachot, C., Lefèvre, F., Médale, F., 2008, Liver and muscle metabolic changes induced by dietary energy content and genetic selection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 294: 1154–1164.

Koven, W. M., Tandler, A., Sklan, D., and Kissil, G. W., 1993, The association of ecoisapentaenoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different age *Sparus aurata* larvae with growth. Aquaculture 116: 71–82.

Köse Reis, İ., and Yıldız, M., 2017, Fatty Acid Metabolism Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Diets Containing Vegetable Oil. PhD Thesis. Department of Aquaculture, Institute of Graduate Studies in Science and Engineering, Istanbul University.

Kuah, M.-K., Jaya-Ram, A., Shu-Chien, A. C., 2015, The capacity for long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis in a carnivorous vertebrate: functional characterisation and nutritional regulation of a Fads2 fatty acyl desaturase with Δ4 activity and an Elovl5 elongase in striped snakehead (*Channa striata*). Biochim. Biophys. Acta 1851: 248–260.

Kuah, M.-K., Jaya-Ram, A., Shu-Chien, A. C., 2016, A fatty acyl desaturase (*fads2*) with dual Δ6 and Δ5 activities from the freshwater carnivorous striped snakehead *Channa striata*. Comp. Biochem. Physiol. 201A: 146–155.

Lafontan, M. and Langin, D., 2009. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. Prog. Lipid Res. 48: 275–297.

Lands, W. E., 1958, Metabolism of glycerolipids; a comparison of lecithin and triglyceride synthesis. J Biol Chem 231: 883–888.

Leaver, M. J., Boukouvala, E., Antonopoulou, E., Diez, A., Favre-Krey, L., Ezaz, M. T., Bautista, J. M., Tocher, D. R., Krey, G. 2005. Three peroxisome proliferator-activated receptor isotypes from each of two species of marine fish. Endocrinology, 146: 3150–3162.

Leaver, M. J., Villeneuve, L.A.N., Obach, A., Jensen, L., Bron, J.E., Tocher, D.R., Taggart, J.B., 2008. Functional genomics reveals increased cholesterol and highly unsaturated fatty acid biosynthesis after dietary substitution of fish oil with vegetable oils in Atlantic salmon (*Salmo salar*). BMC Genomics 9, 299. Doi:10.1186/1471-2164-9-299.

Leonard, A. E., Kelder, B., Bobik, E. G., Chuang, L.-T., Lewis, C. J., Kopchick, J. J., Mukerji, P., Huang, Y.-S., 2002, Identification and expression of mammalian long-chain PUFA elongation enzymes. Lipids 37: 733–740.

Liang, X., Ogata, H. Y. and Oku, H., 2002, Effect of dietary fatty acids on lipoprotein lipase gene expression in the liver and visceral adipose tissue of fed and starved red sea bream *Pagrus major*. Comp Biochem Physiol A: Mole Int Physiol 132(4): 913-919.

Likhodii, S. S. and Cunnane, S. C., 1999, Uptake of 13C-tracer arachidonic acid and g-linolenate by the brain and liver of the suckling rat observed by 13C-NMR. *J Neurochem*. **72**, 2548–2555.

Lim, B.S., 2004, Endocrine mechanisms of sex differentiation in the red sea bream, *Pagrus major*. Ph.D. Thesis, Tokyo University of Marine Science and Technology.

Lindsay, G.R. and Barbara, R., 1984, Anaestic and sedative techniques for fish, Institute of Aquaculture, Stirling Scotland, ISBN: 0901636525.

Li, Y., Monroig, Ó., Zhang, L., Wang, S., Zheng, X., Dick, J. R., You, C., Tocher, D. R., 2010, Vertebrate fatty acyl desaturase with Δ4 activity. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107: 16840– 16845.

Li, S., Monroig, Ó., Navarro, J. C., Yuan, Y., Xu, W., Mai, K., Tocher, D.R., Ai, Q., 2017a, Molecular Cloning, functional characterization and nutritional regulation by dietary fatty acid profiles of a putative Elovl4 gene in orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*. Aquacult. Res. 48: 537–552.

Li, S., Monroig, Ó., Wang, T., Yuan, Y., Navarro, J.C., Hontoria, F., Liao, K., Tocher, D. R., Mai, K., Xu, W., Ai Q., 2017b, Functional characterization and differential nutritional regulation of putative Elovl5 and Elovl4 elongases in large yellow croaker (*Larimichthy-scrocea*). Sci. Rep 7: 2303.

Lopes-Marques, M., Delgado, I. L., Ruivo, R., Torres, Y., Sainath, S. B., Rocha, E., Cunha, I., Santos, M. M., Castro, L. F., 2015, The origin and diversity of Cpt1 genes in vertebrate species. PLoS One 10: e0138447.

Lopes-Marques, M., Ozório, R., Amaral, R., Tocher, D. R., Monroig, Ó., Castro, L. F. C., 2017, Molecular and functional characterization of a *fads2* orthologue in the Amazonian teleost, *Arapaima gigas*. Comp. Biochem. Physiol. 203B: 84–91.

Lopes-Marques, M., Kabeya, N., Qian, Y., Ruivo, R., Santos, M., Venkatesh, B., Tocher, D. R., Castro, L. F. C., Monroig, Ó., 2018, Retention of fatty acyl desaturase 1 (fads1) in Elopomorpha and Cyclostomata provides novel insights into the evolution of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in vertebrates. BMC Evol Biol 18: 157. https://doi.org/10.1186/s12862-018-1271-5.

Lu, K-L., Xu, W-N., Wang, L-N., Zhang, D-D., Zhang, C. N., and Liu, W-B., 2014, Hepatic β-oxidation and regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) I in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed a high fat diet. PLoS ONE 9: 93135. doi:10.1371/journal.pone.0093135 PMID: 24676148

Marineli, R. D. S., Moraes, É. A., Lenquiste, S. A., Godoy, A. T., Eberlin, M. N., Maróstica Jr, M. R., 2014, Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). LWT - Food Science and Technology 59: 1304-1310.

Marquard. R. and Kuhlmann, H., 1986, Investigations of productive capacity and seed quality of linseed dodder (*Camelina sativa* Crtz). Fette Seifen Anstrichmittel 88: 245‑249.

Marquardt, A., Stöhr, H., White, K., Weber, B. H. F., 2000, cDNA cloning, genomic structure, and chromosomal localization of three members of the human fatty acid desaturase family. Genomics 66: 175-183.

Masiha, A., Soofiani, N. M., Ebrahimi, E., Kadivar, M., and Karimi, M. R., 2013, Effect of ietary flaxseed oil level on the growth performance and fatty acid composition of fingerlings of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. SpringerPlus, 2:1.

Maynard, L., Loosli, J., Hintz, H., Warner, R., 1979, Animal nutrition (7th edn). The carbohydrates and their metabolism. McGraw-Hill, Inc., New York, pp 74–103.

McGarry, J. D., Brown, N. F., 1997, The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system-From concept to molecular analysis. European Journal of Biochemistry 244(1): 1-14. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00001.x.

Menoyo, D., Izquierdo, M. S., Robaina, L., Ginés, R., Lopez-Bote, C. J., and Bautista, J. M., 2004, Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. British Journal of Nutrition 92: 41–52.

Miller, M. R., Nichols, P. D. and Carter, C. G., 2007a, Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. Comparative Biochemistry and Physiology A 148: 382–392.

Miller, M. R., Nichols, P. D. and Carter, C. G., 2007b, Replacement of dietary fish oil for Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) with a stearidonic acid containing oil has no effect on omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations. Comparative Biochemistry and Physiology B 146: 197–206.

Miller, M. R., Nichols, P. D. and Carter, C. G., 2011, New Alternative n-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Oil Sources. In Turchini, G. M., Ng W-K. and Tocher, D. R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press, Boca Raton, pp. 325-349.

Mohd-Yusof, N. Y., Monroig, Ó., Mohd-Adnan, A., Wan, K.-L., Tocher, D. R., 2010, Investigation of highly unsaturated fatty acid metabolism in the Asian sea bass, *Lates calcarifer*. Fish Physiol. Biochem. 3: 827–843.

Monroig, Ó., Kabeya, N., 2018, Desaturases and elongases involved in polyunsaturated fatty acid biosynthesis in aquatic invertebrates: a comprehensive review. Fisheries Science 84: 911–928.

Monroig, Ó., Zheng, X., Morais, S., Leaver, M. J., Taggart, J. B., Tocher, D. R., 2010a, Multiple genes for functional Δ6 fatty acyl desaturases (Fad) in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): gene and cDNA characterization, functional expression, tissue distribution and nutritional regulation. Biochim. Biophys. Acta 1801: 1072–1081.

Monroig, Ó., Rotllant, J., Cerdá-Reverter, J. M., Dick, J. R., Figueras, A., Tocher, D. R., 2010b, Expression and role of Elovl4 elongases in biosynthesis of very long-chain fatty acids during zebrafish *Danio rerio* early embryonic development. Biochim. Biophys. Acta 1801: 1145–1154.

Monroig, Ó., Webb, K., Ibarra-Castro, L., Holt, G. J., Tocher, D. R., 2011a, Biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in marine fish: Characterization of an Elovl4-like

elongase from cobia *Rachycentron canadum* and activation of the pathway during early life stages. Aquaculture 312: 145-153.

Monroig, Ó., Li, Y., Tocher, D. R., 2011b, Delta-8 desaturation activity varies among fatty acyl desaturases of teleost fish: high activity in delta-6 desaturases of marine species. Comp. Biochem. Physiol . 159B: 206-213.

Monroig, Ó., Navarro, J. C., Tocher, D. R., 2011c, Long-chain polyunsaturated fatty acids in fish: recent advances on desaturases and elongases involved in their biosynthesis. In Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M. G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Hernández-Hernández, L. H. (Eds). Proceedings of the XI International Symposium on Aquaculture, Publisher: Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 257-282.

Monroig, Ó., Wang, S., Zhang, L., You, C., Tocher, D. R., Li, Y., 2012, Elongation of long-chain fatty acids in rabbitfish *Siganus canaliculatus*: cloning, functional characterisation and tissue distribution of Elovl5- and Elovl4-like elongases. Aquaculture 350-353: 63–70.

Monroig, Ó., Tocher, D. R., Hontoria, F., Navarro, J. C., 2013, Functional characterisation of a Fads2 fatty acyl desaturase with Δ6/Δ8 activity and an Elovl5 with C16, C18 and C20 elongase activity in the anadromous teleost meagre (*Argyrosomus regius*). Aquaculture 412–413: 14–22.

Monroig, Ó., Tocher, D. R., Castro, L. F. C., 2018, Polyunsaturated fatty acid biosynthesis and metabolism in fish. In: Burdge GC (Ed.) Polyunsaturated fatty acid metabolism. Academic Press and AOCS Press, London, pp 31–60.

Montanher, P. F., e Silva, B. C., Bonafe, E. G., Carbonera, F., dos Santos, H. M. C., Figueiredo, I. d. L. Maruyama, S. A., Matsushita, M., and Visentainer, J. V., 2016, Effects of diet supplementation with chia (*Salvia hispanica* L.) oil and natural antioxidant extract on the omega-3 content and antioxidant capacity of Nile tilapia fillets. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 118: 698–707.

Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort, L., Caballero, M. and Izquierdo, M., 2003, Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. Aquaculture 225: 353–370.

Montero, D., Socorro, J., Tort, L., Caballero, M-J., Robaina, L. E., Vergara, J. M., and Izquierdo, M.S., 2004, Glomerulonephritis and immunosuppression associated with dietary essential fatty acid deficiency in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., juveniles. J. Fish Dis. 27, 297‐306.

Montero, D., Robaina, L., Caballero, M. J., Gines, R., and Izquierdo, M. S., 2005, Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of are feeding period with a 100% fish oil diet. Aquaculture 248: 121–134.

Morais, S., Koven, W., Ronnestad, I., Dinis, M. T., and Conceicao, L. E. C., 2005a, Dietary protein:lipid ratio and lipid nature affects fatty acid absorption and metabolism in teleost larva. British Journal of Nutrition 93: 813–820.

Morais, S., Conceicao, L. E. C., Ronnestad, I., Koven, W., Cahu, C., Zambonin Infante, J. L., et al., 2005b, Dietary neutral lipid level and source in marine fish larvae: effects on digestive physiology and food intake. Aquaculture 268: 106–122.

Morais, S., Monroig, Ó., Zheng, X., Leaver, M. J., Tocher, D. R., 2009, Highly unsaturated fatty acid synthesis in Atlantic salmon: characterization of Elovl5- and Elovl2-like elongases. Mar. Biotechnol. 11: 627–639.

Morais, S., Pratoomyot, J., Taggart, J. B., Plagnes-Juan, E., Piumi, F., Esquerré, D., et al., 2011, Genotype specific responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) subject to dietary fish oil replacement by vegetable oil: a liver transcriptomic analysis. BMC Genomics 12: 255. doi: 10.1186/1471-2164-12-255.

Morais, S., Edvardsen, R., Tocher, D., and Bell, G. 2012a, Transcriptomic analyses of intestinal gene expression of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed diets with Camelina oil as replacement for fish oil. Comp Biochem Physiol B 161:283–293.

Morais, S., Castanheira, F., Martínez-Rubio, L., Conceição, L. E. C., Tocher, D. R., 2012b, Long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis in a marine vertebrate: ontogenetic and nutritional regulation of a fatty acyl desaturase with Δ4 activity. Biochim. Biophys. Acta 1821, 660–671.

Morais, S., Silva, T., Cordeiro, O., Rodrigues, P., Guy, D. R., Bron, J. E., et al., 2012c, Effects of genotype and dietary fish oil replacement with vegetable oil on the intestinal transcriptome and proteome of Atlantic salmon (*Salmo salar*). BMC Genomics 13: 448. doi: 10.1186/1471-2164-13-448.

Morais, S., Mourente, G., Martínez, A., Gras, N., Tocher, D. R., 2015, Docosahexaenoic acid biosynthesis via fatty acyl elongase and Δ4-desaturase and its modulation by dietary lipid level and fatty acid composition in a marine vertebrate. Biochim. Biophys. Acta 1851: 588–597.

Morash, A. J., Le Moine, C. M. R., McClelland, G. B., 2010, Genome duplication events have led to a diversification in the CPT I gene family in fish. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 299: R579–R589.

Mourente, G. and Tocher, D. R., 1993, Incorporation and metabolism of ^{14}C-labelled polyunsaturated fatty acids in wild-caught juveniles of golden grey mullet,*Liza aurata, in vivo*. Fish Physiology and Biochemistry 12(2): 119–130.

Mourente, G. and Dick, J. R., 2002, Influence of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on the metabolism of [1-^{14}C]18:3n-3 in isolated hepatocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Fish Physiol. Biochem. 26, 297‑308.

Mourente, G. and Bell, J. G., 2006, Partial replacement of dietary fish oilwith blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass

(*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 145, 389–399.

Mourente, G., Rodriguez, A., Grau, A., and Pastor, E., 1999, Utilization of lipids by *Dentex dentex* L. (Osteichthyes, Sparidae) larvae during lecitotrophia and subsequent starvation. Fish Physiol. Biochem. 21, 45‑58.

Mozes, N., Papandroulakis, N., Vergara, J. M., Biswas, A., Takii, K., and Ntatsopoulos, A., 2011, Production Systems. In: Pavlidis, M. A., and Mylonas, C. C. (Eds.), Sparidae: Biology and Aquaculture of Gilthead Sea Bream and Other Species, First Edition, pp 169-198. Blackwell Publishing Ltd.

Nasopoulou, C. and Zabetakis, I., 2012, Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. LWT–Food Sci Technol 47:217–224.

National Research Council (NRC)., 2011, *Nutrient Requirements of fish and shrimp*. Washington, DC, National Academies Press, 392 pp.

Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., et al., 2000, Effects of aquaculture on world food supplies. Nature 405: 1017–1024.

Norambuena1, F., Hermon, K., Skrzypczyk, V., Emery, J. A., Sharon, Y., Beard, A., and Turchini, G. M., 2015, Algae in Fish Feed: Performances and Fatty Acid Metabolism in Juvenile Atlantic Salmon. PLoS ONE 10(4): e0124042. doi:10.1371/journal.pone.0124042.

Nugteren, D. H., 1965, The enzymatic chain elongation of fatty acids by rat-liver microsomes. Biochim. Biophys. Acta 106: 280-290.

Oboh, A., Betancor, M. B., Tocher, D. R., Monroig, Ó., 2016, Biosynthesis of long-chain poly-unsaturated fatty acids in the African catfish *Clarias gariepinus*: molecular cloning and functional characterisation of fatty acyl desaturase (*fads2*) and elongase (*elovl2*) cDNAs. Aquaculture 462: 70–79.

Oboh, A., Kabeya, N., Carmona-Antoñanzas, G., Castro, L. F. C., Dick, J. R., Tocher, D. R., Monroig, Ó., 2017a, Two alternative pathways for docosahexaenoic acid (DHA 22:6n-3) biosynthesis are widespread among teleost fish. Sci. Rep. 7: 3889. DOI:10.1038/s41598-017-04288-2.

Oboh, A., Navarro, J. C., Tocher, D. R., Monroig, Ó., 2017b, Elongation of very long-chain (>C24) fatty acids in *Clarias gariepinus*: Cloning, functional characterization and tissue expression of *elovl4* elongases. Lipids 52: 837–848.

OECD/FAO., 2019, OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028. OECD Publishing, p. 140.

Olsen, R. E. and Ringø, E., 1997, Lipid digestibilty in fish: A review. Recent Res. Dev. Lipid Res., 1, 199–265.

Olsen, R. E., Henderson, R. J. and Ringø, E., 1998, The digestion and selective absorption of dietary fatty acids in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. Aquaculture Nutrition 4: 13–21.

Olsen, R. E., Dragsnes, B. T., Myklebust, R., and Ringø, R., 2003, Effect of soybean oil and soybean lecithin on intestinal lipid composition and lipid droplet accumulation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. Fish Physiol Biochem 29: 181–192.

Oxley, A., Torstensen, B. E., Rustan, A. C., and Olsen, R. E., 2005, Enzyme activities of intestinal triacylglycerol and phosphatidylcholine biosynthesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Comparative Biochemistry and Physiology B 141: 77–87.

Oxley, A., Jutfelt, F., Sundell, K., and Olsen, R. E., 2007, sn-2-monoacylglycerol, not glycerol, is preferentially utilised for triacylglycerol and phosphatidylcholines biosynthesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) intestine. Comparative Biochemistry and Physiology – Part B 146: 115–123.

Palma, F., Donde, M., Lloyd, W.R., 1947, Fixed oils of Mexico. 1. Oil of chia - *Salvia hispanica*. Journal of American Oil Chemists' Society 24, 27.

Panserat, S., Kolditz, C., Richard, N., Plagnes-Juan, E., Piumi, F., Esquerré, D., et al. (2008). Hepatic gene expression profiles in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed fishmeal or fish oil-free diets. Br J Nutr 100: 953-967.

Patankar, V. B., 1973, Esterases in the stomach of fishes with different food habits. Folia of Histochemistry and Cytochemsitry 11: 253–282.

Peiretti, P.G. and Gai, F., 2009, Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. Animal Feed Sci. Technol. 148: 267-275.

Peng, M., Xu, W., Mai, K., Zhou, H., Zhang, Y., Liufu, Z., Zhang, K., Ai, A., 2014, Growth performance, lipid deposition and hepatic lipid metabolism related gene expression in juvenile turbot (*Scophtalmus maximus* L.) fed diets with various fish oil substitution levels by soybean oil. Aquaculture 433:442–449.

Peres, H., and Oliva-Teles, A., 1999, Effect of the dietary lipid level on growth performance and feed utilisation by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 179: 325–334.

Petropoulos, I., Thompson, K., Morgan, A., Dick, J., and Tocher, D., 2009, Effects of substitution of dietary fish oil with a blend of vegetable oils on liver and peripheral blood leucocyte fatty acid composition, plasma prostaglandin E2 and immune parameters in three strains of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquacult. Nutr. 15: 596-607.

Petry, H. and Rapp, W., 1970, Zur Problematik der Chromoxidbestimmung in Verdauungsversuchen. Z. Tierphysiologie Tierernährung Futtermittelkunde 27: 181‐189.

Pickova, J. and Mørkøre, T., 2007, Alternate oils in fish feeds, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 109: 256-263.

Piedecausa, M.A., Mazon, M.J., Garcia, B., Hernandez, M.D., 2007, Effects of replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). Aquaculture 253, 211‑219.

Poudyal, H., Panchal, S. K., Diwan, V., Brown, L., 2011, Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: effects and emerging mechanisms of action. Prog Lipid Res 50:371–387.

Qiu, H., Jin, M., Li, Y., Lu, Y., Hou, Y., Zhou, Q., 2017, Dietary Lipid Sources Influence Fatty Acid Composition in Tissue of Large Yellow Croaker (*Larmichthys crocea*) by Regulating Triacylglycerol Synthesis and Catabolism at the Transcriptional Level. PLoS ONE 12(1): e0169985. doi:10.1371/journal.pone.0169985

Raczyk, M., Popis, E., Kruszewski, B., Ratusz, K., and Rudzińska, M., 2016, Physicochemical quality and oxidative stability of linseed and camelina cold-pressed oils from retail outlets. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 118: 834–839.

Rana, K. R., Siriwardena, S. and Hasan, M. R., 2009, Impact of Rising Feed Ingredient Prices on Aquafeeds and Aquaculture Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Rawn, J. D., 1989, Biochemistry. Neil Patterson Publishers, Burlington.

Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Rosenlund, G., Kaushik, S.J., 2003a, Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. Aquaculture 217, 465‑482.

Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Rosenlund, G., Kaushik, S.J., 2003b, Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 2. Flesh quality parameters. Aquaculture 217: 737-747.

Ricker, W. E., 1979, Growth Rates and Models. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. and Brett, J. R. (Eds.), Fish physiology, Vol. 8., pp. XVII+786. Academic Press, New York, NY.

Riera-Heredia, N., Lutfi, E., Gutiérrez, J., Navarro, I., Capilla, E., 2019, Fatty acids from fish or vegetable oils promote the adipogenic fate of mesenchymal stem cells derived from gilthead sea bream bone potentially through different pathways. PLoS ONE 14(4): e0215926. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215926

Rimoldi, S., Benedito-Palos, L., Terova, G., and Pérez-Sánchez, J., 2016, Wide-targeted gene expression infers tissue-specific molecular signatures of lipid metabolism in fed and fasted fish. Rev Fish Biol Fisheries 26:93–108.

Rioux, V., Legrand, P., 2019, Fatty Acid Desaturase 3 (FADS3) Is a Specific Δ13-Desaturase of Ruminant trans-Vaccenic Acid. Lifestyle Genomics 12: 18–24. https://doi.org/10.1159/000502356.

Robaina, L., Izquierdo, M. S., Moyano, F. J., Socorro, J., Vergara, J. M., and Montero, D., 1998. Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acid ratio and addition of phosphorus improves liver histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream, *Sparus aurata*. Aquaculture 161: 281–293.

Rosenlund, G., Obach, A., Sandberg, M.G., Standal, H., and Tveit, K., 2001, Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquacult. Res. 32, 323– 328.

Røsjø, C., Nordrum, S., Olli, J. J., Krogdahl, A., Ruyter, B., and Holm, H., 2000, Lipid digestibility and metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed medium-chain triglycerides. Aquaculture 190: 65–76.

Rust, M., 2002, Nutritional physiology. In: Halver, J. E. and Hardy, R. W. (Eds.), Fish nutrition, 3rd edn. pp. 367-452. Academic Press. New York, USA.

Sabaut, J. J. and Luquet, P., 1973, Nutritional requirements of the gilthead bream Chrysophrys aurata. Quantitative protein requirements. Marine Biology, 18, 50–54.

Saera-Vila, A., Calduch-Giner, J. A., Gómez-Requeni P., Médale, F., Kaushik, S., and Pérez-Sánchez, J., 2005, Molecular characterization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) lipoprotein lipase. Transcriptional regulation by season and nutritional condition in skeletal muscle and fat storage tissues. Comp Biochem Phys 142B: 224–232.

Samel, N., Jarving, I., Lohmus, M., Lopp, A., Kobzar, G., Sadovskaya, V., Valimae, T., Lille, U., 1987, Identification and biological activity of a novel natural prostaglandin, 5,6-dihydro-prostaglandin E3. Prostaglandins 33, 137‑146.

Santinha, P. J. M., Gomes, E. F. S. and Coimbra, J. O., 1996, Effects of protein level of the diet on digestibility and growth of gilthead sea bream, *Sparus auratus* L. [*sic*]. Aquaculture Nutrition 2: 81–87.

Santinha, P. J. M., Medale, F., Corraze, G. and Gomes, E. F. S., 1999, Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition 5: 147–156.

Sargent, J. R. and Henderson, R. J., 1995, Marine (n-3) polyunsaturated fatty acids. In: Hamilton, R. J. (Ed), Developments in Oils and Fats. Glasgow, Blackie Academic and Professional, pp. 32‑65.

Sargent, J. R., Henderson, R. J. and Tocher, D. R., 1989, The lipids. **In**: Halver, J. E. (Ed.), *Fish Nutrition*, 2nd ed. New York: Academic Press, pp.153–218.

Sargent, J. R., Bell, M. V., and Henderson, R. J., 1995b, Protists as sources of essential (n-3) polyunsaturated fatty acids for predator development. Eur. J. Protistol. 31: 460–461.

Sargent, J. R., McEvoy, L. A. and Bell, J. G., 1997, Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. Aquaculture 155: 117–127.

Sargent, J., Bell G., McEvoy, L., Tocher D., Estevez A., 1999, Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture 177: 191–199.

Sargent, J. R., Tocher, D .R. and Bell, J. G., 2002, The lipids. In: Halver, J. E., Hardy, R. W. (Eds.), Fish nutrition, 3rd edn. pp. 181–257. Academic Press, San Diego, CA.

Scholefield, A. M. and Schuller, K. A., 2014, Cell Proliferation and Long Chain Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism in a Cell Line From Southern Bluefin Tuna (*Thunnus maccoyii*). Lipids 49:703–714.

Shaviklo, G. R., Thorkelsson, G., Sveinsdottirc, K., Rafipour, F. 2011. Chemical properties and sensory quality of ice cream fortified with fish protein. J Sci Food Agric. 91: 1199–204.

Shepherd, C. J. and Jackson, A. J., 2013, Global fishmeal and fish-oil supply: inputs, outputs and markets. J. Fish Biol. 83: 1046–1066.

Shikata, T. and Shimeno, S., 1994, Metabolic response to dietary stearic acid, linoleic acid, and highly unsaturated fatty acid in carp. Fisheries Science 60: 735–739.

Seierstad, S. L., Poppe, T. T., Koppang, E. O., Svindland, A., Rosenlund, G., Frøyland, L., et al., 2005, Influence of dietary lipid composition on cardiac pathology in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Diseases 28: 677–690.

Seiliez, I., Panserat, S., Kaushik, S., Bergot, P., 2001, Cloning, tissue distribution and nutritional regulation of a Δ6-desaturase-like enzyme in rainbow trout. Comp. Biochem. Physiol. 130B: 83-93.

Seiliez, I., Panserat, S., Corraze, G., Kaushik, S., and Bergot, P., 2003, Cloning and nutritional regulation of a Δ6-desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B 135: 449–460.

Sigurgisladottir, S., Lall, S., Parrish, C., and Ackman, R., 1992, Cholestane as a digestibility marker in the absorption of polyunsaturated fatty acid ethyl esters in Atlantic salmon. Lipids 27: 418-424.

Smith, E. L., Hill, R., Lehman, I. R., Lefkowitz, R. J., Handler, P., and White, A., 1983, Principles of Biochemistry: General Aspects. McGraw and Hill, Singapore.

Stubhaug, I., Frøyland, L. and Torstensen, B. E., 2005a, Beta-oxidation capacity of red and white muscle and liver in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) – effects of increasing dietary rapeseed oil and olive oil to replace capelin oil. Lipids 40: 39–47.

Stubhaug, I., Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., and Torstensen, B. E., 2005b, Fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes and influence of dietary vegetable oil. Biochim Biophys Acta 1734: 277–288.

Stubhaug, I., Lie, O. and Torstensen, B.E., 2006. Beta-oxidation capacity in liver increases during parr-smolt transformation of Atlantic salmon fed vegetable oil and fish oil. Journal of Fish Biology 69: 504–517.

Stubhaug, I., Lie, Ø. and Torstensen, B. E., 2007, Fatty acid productive value and b-oxidation capacity in Atlantic salmon tissues (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period. Aquaculture Nutrition 13: 145–155.

Subasinghe, R., Soto, D., and Jia, J., 2009, Global aquaculture and its role in sustainable development. Rev. Aqua. 1: 2-9.

Şahin, Y., 2011, The EU and the Business World, Fisheries Sector.

Şener, E. and Yıldız, M., 2000. Aquaculture potential and fish feed production in Turkey. World Aquaculture 31(3): 52-56.

Tacon, A. G. J. and Metian, M., 2008, Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture, 285(1–4): 146–58.

Tacon, A. G. J., Hasan, M. R. and Subasinghe, R. P., 2006, Use of fishery resources as feed inputs to aquaculture development: trends and policy implications. FAO Fisheries Circular No. 1018. FAO Fisheries Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Tacon, A. G. J., Metian, M. and Turchini, G. M., 2010, Responsible aquaculture and trophic level implications to global fish supply. Rev. Fish. Sci. 18: 94-105.

Tacon, A. G. J., 2019, Trends in Global Aquaculture and Aquafeed Production: 2000–2017, Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, DOI:10.1080/23308249.2019.1649634

Taga, M. S., Miller, E .E. and Pratt, D.E., 1984, Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. Journal of American Oil Chemists' Society 61: 928-931.

Takeuchi, T. and Watanabe, T., 1977, Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 43: 541.

Tanomman, S., Ketudat-Cairns, M., Jangprai, A., Boonanuntanasarn, S., 2013, Characterization of fatty acid delta-6 desaturase gene in Nile tilapia and heterogenous expression in *Saccharomyces cerevisiae*. Comp. Biochem. Physiol. 166B: 148–156.

Thanuthong, T., Francis, D. S., Senadheera, S. P. S. D., Jones, P. L., and Turchini, G. M., 2011a, LC-PUFA Biosynthesis in Rainbow Trout is Substrate Limited: Use of the Whole Body Fatty Acid Balance Method and Different 18:3n-3/18:2n-6 Ratios. Lipids 46: 1111–1127.

Thanuthong, T., Francis, D. S., Senadheera, S. D., Jones, P. L., and Turchini, G. M., 2011b, Fish oil replacement in rainbow trout diets and total dietary PUFA content: I) Effects on feed efficiency, fat deposition and the efficiency of a finishing strategy. Aquaculture 320: 82–90.

Thanuthong, T., Francis, D. S., Manickam, E., Senadheera, S. D., Cameron-Smith, D., and Turchini, G. M., 2011c, Fish oil replacement in rainbow trout diets and total dietary PUFA content: II) Effects on fatty acid metabolism and *in vivo* fatty acid bioconversion. Aquaculture 322-323: 99–108.

Tocher, D. R., Carr, J. and Sargent, J. R., 1989, Polyunsaturated fatty acid metabolism in cultured cell lines: differential metabolism of (n-3) and (n-6) series acids by cultured cells originating from a freshwater teleost fish and from a marine teleost fish. Comp. Biochem. Physiol. 94B: 367–374.

Tocher, D. R. and Sargent, J. R., 1990, Effect of temperature on the incorporation into phospholipid classes and the metabolism via desaturation and elongation of (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in fish cells in culture. Lipids 25: 435–442.

Tocher, D. R. and Ghioni, C., 1999, Fatty acid metabolism in marine fish: Low activity of fatty acyl Δ5 desaturation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cells. *Lipids 34(5)*: *433*–440.

Tocher, D. R., Bell, J. G., Henderson, R. J., McGhee, F., Mitchell, D. and Morris, P. C., 2000, Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. Fish Physiol. Biochem. 23: 59‑73.

Tocher D. R., Bell, J. G., MacGlaughlin, P., McGhee, F., Dick, J. R., 2001, Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. Comparative Biochemistry and Physiology B 130: 257–270.

Tocher D. R., Agaba, M., Hastings, N., Bell, J. G., Dick, J. R., Teale, A. J., 2002a, Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Physiology and Biochemistry 24: 309–320.

Tocher D. R., Fonseca-Madrigal, J., Bell, J. G., Dick, J. R., Henderson, R. J. and Sargent, J. R., 2002b, Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Fish Physiology and Biochemistry 26: 157–170.

Tocher, D. R., 2003, Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Rev. Fisheries Sci. 11: 107-184.

Tocher D. R., Bell, J. G., Dick, J. R. and Crampton, V. O., 2003. Effects of dietary vegetable oil in Atalntic salmon hepatocyte fatty acid desaturation and liver fatty acid composition. Lipids 38: 723–732.

Tocher D. R., Dick, J. R., MacGlaughlin, P. and Bell, J. G., 2006a, Effect of diets enriched in Δ6 desaturated fatty acids (18:3n-6 and 18:4n-3), on growth, fatty acid composition and highly unsaturated fatty acid synthesis in two populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Comparative Biochemistry and Physiology B 144: 245–253.

Tocher, D. R., Zheng, X., Schlechtriem, C., Hastings, N., Dick, J. R., Teale, A. J., 2006b, Highly unsaturated fatty acid synthesis in marine fish: cloning, functional characterisation, and nutritional regulation of fatty acyl Δ6 desaturase of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Lipids 41: 1003–1016.

Tocher, D. R., David S. Francis, D. S., Coupland, K., 2011, n-3 Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Vegetable Oils and Blends. In Turchini, G. M., Ng W-K. and Tocher, D. R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press, Boca Raton, pp. 209-244.

Tocher, D. R., Betancor, M. B., Sprague, M., Olsen, R. E., Napier, J. A., 2019, Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids, EPA and DHA: Bridging the Gap between Supply and Demand. Nutrients 11: 89; doi:10.3390/nu11010089.

Todorcević, M., Vegusdal, A., Gjøen, T., Sundvold, H., Torstensen, B. E., Kjær, M. A. and Ruyter, B., 2008, Changes in fatty acids metabolism during differentiation of Atlantic salmon preadipocytes; effects of n-3 and n-9 fatty acids. Biochim Biophys Acta 1781: 326–335.

Torno, C., Staats, S., Michl, S. C., de Pascual-Teresa, S., Izquierdo, M., Rimbach, G., and Schulz, C., 2018, Fatty Acid Composition and Fatty Acid Associated Gene-Expression in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) are Affected by Low-Fish Oil Diets, Dietary Resveratrol, and Holding Temperature. Mar. Drugs 16: 379; doi:10.3390/md16100379

Torstensen, B. E., Lie, Ø. and Frøyland, L., 2000, Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) – effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. Lipids 35: 653–664.

Torstensen, B. E. and Stubhaug, I., 2004, Beta-oxidation of 18: 3n-3 in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes treated with different fatty acids. Lipids 39: 153-160.

Torstensen, B. E., Bell, J. G., Rosenlund, G., Henderson, R. J., Graff, I. E., Tocher, D. R., et al., 2005, Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetable oil blend. Journal of Agricultural Food Chemistry 53(10): 166–10 178.

Torstensen, B. E. and Tocher, D. R., 2011, The effects of fish oil replacement on lipid metabolism of fish. In: Turchini, G. M. N., Ng, W. K. and Tocher, R.D. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, pp. 405-438.

Turchini, G. M., Caprino, F., Giani, I., Panseri, S., Bellagamba, F., Moretti, V. M., Valfre, F., 2005, The relative absorption of fatty acids in brown trout (*Salmo trutta*) fed a commercial extruded pellet coated with different lipid sources. Ital. J. Anim. Sci., 4 241–252.

Turchini, G. M., Francis, D. S., and Da Silva, S. S., 2006, Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balance method. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 144: 110–118.

Turchini, G. M., Francis, D. S. and De Silva, S. S., 2007, A whole body, *in vivo*, fatty acid balance method to quantify PUFA metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation). Lipids 42: 1065–1071.

Turchini, G. M. and Francis, D. S., 2009, Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and β-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets. Br. J. Nutr. 102, 69-81.

Turchini, G.M., Torstensen, B.E. and Ng, W-K., 2009, Fish oil replacement in finfish nutrition. Revi Aquac 1:10–57.

Turchini G. M., Ng W. K. and Tocher D. R. (editors), 2011, Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, p. 541

TÜİK, 2016, TÜİK Su Ürünleri İstatistikleri 2015, T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.

TÜİK, 2015, TÜİK Su Ürünleri İstatistikleri 2014, T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.

TÜİK, 2012, TÜİK Su Ürünleri İstatistikleri 2011, T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.

Ullah, R., Nadeem, M. and Muhammad, I., 2017, Omega-3 fatty acids and oxidative stability of ice cream supplemented with olein fraction of chia (*Salvia hispanica* L.) oil. Lipids in Health and Disease 16:34. DOI 10.1186/s12944-017-0420-y.

United Nations. (2019). Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects: The 2019 Revision. https://population.un.org/wpp/

Vergara, J. M. and Jauncey, K., 1993, Studies on the use of dietary energy by gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. In: *Fish Nutrition in Practice. Les Colloques*, Vol. 61 (eds. S.J. Kaushik & P. Luquet), pp. 453–458. INRA, France.

Vergara, J. M., Fernandez-Palacios, H., Robaina, L., *et al.*, 1996, The effects of varying dietary protein level on the growth, feed efficiency, protein utilization and body composition of gilthead sea bream fry. Fisheries Science 62: 620–623.

Vergara, J. M., Lopez-Calero, G., Robaina, L., *et al.*, 1999a, Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality. Aquaculture 179: 35–44

Vergara, J. M., Robain´a, L., Izquierdo, M. *et al.*, 1996b, Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead seabream. Fisheries Science 62: 624–628.

.Verleyen, T., Forcades, M., Verhe, R., Dewettinck, K., Huyghebaert, A., and De Greyt, W., 2002, Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils. JAOCS 79, 117‑122.

Waagbo, R., 2008, Reducing production related diseases in farmed fish. In: Lie, O. (Ed.), Improving Farmed Fish Quality and Safety. VS Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 363-398.

Wassef, E. A., Wahby, O. M. and Sakr, E. M., 2007, Effect of dietary vegetable oils on health and liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*) growers. Aquaculture Research 38: 852–861.

Watanabe, T., 1982, Lipid nutrition in fish. Comp. Biochem. Physiol. 73B: 3–15.

Williams, K. C., Barlow, C., Rodgers, L., Hocking, I., Agcopra, C., and Ruscoe, I., 2003, Asian seabass *Lates calcarifer* perform well when fed pelleted diets high in protein and lipid. Aquaculture 225: 191–206.

Worm, B., Barbier, E. B., Beaumont, N., Duffy, J. E., Folke, C., Halpern, B. S. et al., 2006, Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. Science 3: 787–790.

Yang, X., Tabachek, J. L. and Dick, T. A., 1994, Fish Physiol. Biochem. 12: 409.

Yan, J., Liang, X., Cui, Y., Cao, X., Gao, J., 2018, Elovl4 can effectively elongate C18 polyunsaturated fatty acids in loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 495: 2637–2642.

Yıldız, M., and Şener, E., 2004, Farklı bitkisel yağlar ilave edilen diyetlerin levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) yavrularında büyüme performansı ve vücut kompozisyonuna etkileri, İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi., 30: 75-88.

Yıldız, M., Eroldoğan, O.T., Engin K., Gülçubuk, A., Baltacı, M.A., 2013, Effects of dietary cottonseed and/or canola oil inclusion on the growth performance, FA composition and organ histology of the juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 13: 453‑464.

Yildiz, M., Kose, I., Issa, G., Kahraman, T., 2015, Effect of different plant oils on growth performance, fatty acid composition and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Res. 46: 2885–2896.

Yildiz, M., Kose, I., Issa, G., Kahraman, T., Guven, E., Baltaci, M. A. and Yuruten, K. (2016). Cold storage effects on flesh quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) fed diets containing different vegetable oils. J. Appl. Ichthyol. 32: 569‑576.

Yıldız, M., Eroldoğan, T. O., Ofori-Mensah, S., Engin, K. Baltacı, M. A., 2018, The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. Aquaculture 488: 123–133.

Zammit, V. A., Fraser, F., Orstorphine, C. G., 1997, Regulation of mitochondrial outer-membrane carnitine palmitoyltransferase (CPT I): Role of membrane-topology. Advances in Enzyme Regulation 37: 295-317. https://doi.org/10.1016/S0065-2571(96)00015-5.

Zheng, X., Seiliez, I., Hastings, N., Tocher, D. R., Panserat, S., Dickson, C. A. et al., 2004, Characterization and comparison of fatty acyl D6 desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species. Comparative Biochemistry and Physiology B 139: 269–279.

Zheng, X., Tocher, D. R., Dickson, C. A., Bell, J. G., and Teale, A. J., 2005a, Highly unsaturated fatty acid synthesis in vertebrates: new insights with the cloning and characterization of a delta6 desaturase of Atlantic salmon. Lipids 40: 13–24.

Zheng, X., Torstensen, B. E., Tocher, D. R., Dick, J. R., Henderson, R. J., and Bell, J. G., 2005b, Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid

biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Biochim Biophys Acta 1734: 13–24.

Zheng, X., Ding, Z., Xu, Y., Monroig, O., Morais, S., Tocher, D. R., 2009, Physiological roles of fatty acyl desaturase and elongase in marine fish: characterisation of cDNAs of fatty acyl Δ6 desaturase and Elovl5 elongase of cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture 290: 122–131.

Zheng, J. L., Luo, Z., Zhu, Q. L., Tan, X. Y., Chen, Q. L., Sun, L. D., et al., 2013, Molecular cloning and expression pattern of 11 genes involved in lipid metabolism in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Gene 53: 53–63. doi: 10.1016/j.gene.2013.08.028

Zubr, J., 1997, Oil-seed crop: *Camelina sativa*. Ind. Crop. Prod. 6: 113-119.

Zubr, J., 2009, Unique dietary oil from *Camelina sativa* seed. Agro Food Ind. 20(2): 2.

Zuo, R. T., Ai, Q. H., Mai, K. S., and Xu, W., 2013, Effects of conjugated linoleic acid on growth, non-specific immunity, antioxidant capacity, lipid deposition and related gene expression in juvenile large yellow croaker (*Larmichthys crocea*) fed soyabean oilbased diets. Br. J. Nutr. 110: 1220–1232.

Zuo, R., Mai, K., Xu, W., Turchini, G.M., and Ai, Q., 2015, Dietary ALA, but not LNA, increase growth, reduce inflammatory processes, and increase anti-oxidant capacity in the marine finfish *Larimichthys crocea*. Lipids 50(2): 149–163.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Samuel OFORİ-MENSAH
Doğum Yeri	Kumasi, Gana
Doğum Tarihi	21.01.1984
Uyruğu	❒ T.C. ☑ Diğer: GANA
Telefon	05394734031
E-Posta Adresi	somrpp@yahooçcom
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Gana Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Okyanus ve Balıkçılık
Mezuniyet Yılı	14.06.2008

Yüksek Lisans	
Üniversite	Gana Üniversitesi
Enstitü Adı	Lisansüstü
Anabilim Dalı	Deniz ve Balıkçılık Bilimleri Anabilim Dalı
Programı	Balıkçılık Bilimleri Programı

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Programı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programı

Makale ve Bildiriler

SCI,SSCI,AHCI İNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

- **Ofori-Mensah, S.**, Nunoo, F. K. E., & Atsu, D. K. (2018). Effects of Stocking Density on Growth and Survival of Young Gulf killifish in Recirculating Aquaculture Systems. *Journal of Applied Aquaculture*, 30:4, 297-311.

- Yıldız, M., Eroldoğan, T. O., **Ofori-Mensah, S.**, Engin, K., & Baltacı, M. A. (2018). The Effects of Fish Oil Replacement by Vegetable Oils on Growth Performance and Fatty Acid Profile of Rainbow Trout: Re-Feeding with Finishing Diet Improved Body HUFA Contents. *Aquaculture*, 488, 123–133.

- Yildiz, M. & **Ofori-Mensah, S.** (2017). The Effects of Different Commercial Feeds and Seasonal Variation on Fillet Amino Acid Profile of Sea Bream (*Sparus aurata*) and Sea

Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 17, 1297-1307.

• **Ofori-Mensah, S.**, Green, C. C. & Nunoo, F. K. E. (2013). Growth and survival of juvenile Gulf killifish *Fundulus grandis* in Recirculating Aquaculture Systems. *North American Journal of Aquaculture*, 75:3, 436-440**.**

HAKEMLİ KONGRE / SEMPOZYUMLARIN BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER ALAN YAYINLAR

• Yıldız, M., **Ofori-Mensah, S.**, Damir, N. Effects of different diets and seasonal changes on the nutritional quality in sea bream and sea bass: comparing cultured and wild fish. International Fisheries & Aquaculture Conference and Expo – 2019, January 30-31, 2019 at UVAS, Lahore.

• Yıldız, M., **Ofori-Mensah, S.**, Ekici, A., Yamaner, G., Tacer, Ş., Korkmaz, F., Baltacı, M. A., Arslan, M. The effects of dietary lipid sources on the egg quality and reproductive performance in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). 2nd International Fisheries Symposium (IFSC 2018), November 4-8, 2018, Girne-Cyprus.

• Mustafa, Y. and **Ofori-Mensah, S**. Effects of different diets and seasonal changes on the nutritional quality in sea bream and sea bass: comparing cultured and wild fish. Oral Presentation at the 5th Fish Nutrition and Feed Technology, Ataturk University Faculty of Fisheries, 06-07. September 2018, ERZURUM.

• Yıldız, M., Eroldoğan, T. O., **Ofori-Mensah, S.**, Engin, K., & Baltacı, M. A. The Effects of Fish Oil Replacement by Vegetable Oils on Growth Performance and Fatty Acid Profile of Rainbow Trout: Re-Feeding with Finishing Diet Improved Body HUFA Contents. AQUA 2018, World Aquaculture Society, August 25-29, 2018, Montpellier, France. Abstract accepted

• Yildiz, M., Kose, I., Issa, G., Kahraman, T., Guven, E., **Ofori-Mensah, S.**, Baltaci, M. A. and Yuruten, K. Effects of Substituting Fish Oil with Mixtures of Vegetable Oils on Growth Performance, Fatty Acids and Flesh Quality of Rainbow Trout. Oral Presentation at World Aquaculture 2017, June 26-30, 2017, Cape Town, South Africa.

• Yildiz, M., Kose, I., Issa, G., Kahraman, T., Guven, E., **Ofori-Mensah, S.,** Baltaci, M. A. and Yuruten, K. Effect of total and/or partial replacement of fish oil by plant oils on growth performance, fatty acids and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 6th International Fisheries Symposium & Expo-2017, "*Innovative and Sustainable Aquaculture for Blue Revolution*", February 8-9, 2017, Faletti's Hotel, Egerton Road, Lahore.

• Atasever, A., **Ofori-Mensah, S.**, Arslan, M. and Yildiz, M. The State of Turkish Aquaculture. Poster Presentation at LAQUA16 "Innovative Aquaculture under Environmental Changes", 28th November-1st December, 2016, Sheraton Convention Centre, Lima, Peru.

• Mustafa, Y. and **Ofori-Mensah, S**. Effects of Alternative Feed Ingredients on Quality of Fish Flesh. Oral Presentation at the 4th Fish Nutrition and Feed Technology, Çukurova University Faculty of Fisheries, 01-02. September 2016, ADANA.