



Farklı Protein Kaynaklarının Çuka Mersini, *Acipenser ruthenus* Linnaeus 1758, Juvenillerinde Proteaz Aktivitesi Üzerine Etkileri

Recep KURT¹ , Kaya GÖKÇEK^{2*} 

¹İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, 31200 İskenderun, Hatay, Türkiye

²Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootehni Bölümü 31000 Antakya, Hatay, Türkiye

Ö Z

Bu çalışmada, çuka balığı, *Acipenser ruthenus*, larvaları yumurtadan çıkış anından itibaren 29 gün boyunca standart besleme protokolü ile beslenmiştir. Karma yeme geçiş yapılan 29. gündeki proteolitik aktivite ve farklı protein kaynaklarının proteaz aktivite üzerine inhibisyon etkileri ölçülmüştür. Çalışmadan elde edilen bilgiler ışığında, çuka balığı juvenillerinin karma yemlerinde protein kaynağı olarak soya protein konsantresi (%38,57±10,44) ve mısır gluten (%43,07±1,72) kullanmanın, diğer yem hammaddeleri ile karşılaştırıldığında, proteolitik enzim aktivitesini istatistiki açıdan daha olumlu etki yaptığı görülmüştür (P<0,05). Yem hammaddelerinin ikili kombinasyonları incelendiğinde ise, en düşük inhibisyon oranı balık unu: soya protein konsantresinin 1:1 oranda kullanılması (%47,93±1,72) ile elde edilmiş ve bu değer soya protein konsantresi ve mısır gluteninin tek başlarına kullanılması ile elde edilen etki ile aynı seviyede olduğu tespit edilmiştir (P>0,05). En yüksek inhibe edici etki ise, buğday ile pirinç kepeğinin 3:1 oranda kullanılması ile oluşmuştur (%82,39±7,23).

Anahtar kelimeler: *Acipenser ruthenus*, çuka balığı, proteaz aktivitesi, protein kaynakları, inhibisyon etkisi

MAKALE BİLGİSİ

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Geliş : 03.07.2017
Düzeltilme : 22.11.2017
Kabul : 24.11.2017
Yayın : 27.04.2018



DOI:10.17216/LimnoFish.325726

* SORUMLU YAZAR

kayagokcek@yahoo.com
Tel : +90 534 415 07 16

Effects of Different Protein Sources on Proteolytic Activity in Juveniles of Sterlet, *Acipenser ruthenus* Linnaeus 1758

Abstract: In this trial, Sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus*, larvae were fed by a standart feeding protocol from hatching until 29th day, and the proteolytic activity and the inhibition effect of different portein sources on protease activity were also measured. The data obtained from study showed that using soybean protein consantrate (38.57±10.44%) and corn gluten (43.07±1.72%) as protein source in mixed feeds of dulcite juvenile strains compared to other feed raw materials, was found to have a more positive effect on proteolytic enzyme activity in terms of statistics (P<0.05). When the binary combinations of feedstuffs were examined, he lowest inhibition rate was obtained using 1: 1 (47.93 ± 1.72%) fish meal: soy protein concentrate, and this value was similar to that of soybean protein consantrate and corn gluten as a single protien sources in the diets (P>0.05). The highest inhibitory effect was obtained by using 3: 1 ratio of wheat and brass bran (82.39±7.23%).

Keywords: *Acipenser ruthenus*, sterlet, protease activity, protein sources, inhibition effect

Alıntılama

Kurt R, Gökçek K. 2018. Farklı Protein Kaynaklarının Çuka Mersini, *Acipenser ruthenus* Linnaeus 1758, Juvenillerinde Proteaz Aktivitesi Üzerine Etkileri LimnoFish. 4(1): 1-5. doi: 10.17216/LimnoFish.325726

Giriş

Mersin balıkları dünyada yaşayan en eski omurgalılar gruplarından birini oluşturmaktadır. Mersin balıkları yetiştiriciliği temel olarak havyar, tütsülenmiş balık, çorba, yapıştırıcı ve deri üzerine odaklanmıştır. Özellikle, siyah havyarının kilogramı birkaç bin dolara alıcı bulabilmektedir. Eti için üretiminden ziyade, esas hedef “siyah altın” diye bilinen havyarın üretimidir. Tüm Mersin balığı türleri

aşırı avcılık baskısı, barajlar ve sulak alanlarda yapılan derinleştirme gibi düzenlemeler dolayısıyla yok olma tehlikesi ile yüz yüzedirler (Napora-Rutkowski vd. 2009).

Kültüre alınması kararlaştırılan bir türün temel yetiştiricilik uygulamalarının hayata geçirilebilmesi için yapılması gereken bazı temel araştırmalar bulunmaktadır. Öncelikli olarak, suni tohumlamanın yapılabilirliği,

sağlıklı bir inkübasyon sürecinin hangi optimum şartlarda olması gerektiği, yumurta açılımı sonrası pre ve post-larval aşamadaki gelişimlerin hem histolojik hem de fizyolojik olarak tespiti, larval dönemde optimum protein ve enerji oranının tespiti yapılmalıdır.

Bazı mersin balığı türlerine ait yapay dölleme, larva besleme ve sindirim enzimleri ile ilgili birçok çalışma hali hazırda mevcut olup (Willot vd. 2001; Gawlicka vd. 2002; Furne vd. 2005; Napora-Rutkowski vd. 2009; Babaei vd. 2011; Sanz vd. 2011; Noori vd. 2012), bu türler için ticari yemler üretilmiştir. Ancak, karma yemlerde kullanılan yem hammaddelerinin proteaz aktivitesi üzerine etkisi halen net bir şekilde bilinmemektedir. Yukarıda bahsedilen noktalar göz önüne alındığında çuka balığı, *Acipenser ruthenus*, alternatif tatlı su balığı olma potansiyeli çok iyi olan bir türdür. Bu çalışmada hedeflenen amaç; besin kesesinin tükenmesine müteakiben *Artemia*, *Tubifex*, *Chironomid* larvaları ve alabalık mikro diyet yem ile beslenen çuka balığı post-larvalarının, proteaz aktivitesi üzerine karma yemlerde kullanılan yem hammaddelerinin ve bunların ; ikili kombinasyonlarının etkilerini tespit etmektir. Elde edilen sonuçların ışığında, larvanın büyüme ve yaşama gücünü arttırmak amacı ile bu tür için hazırlanacak karma yemlerde hangi yem hammaddelerinin tercih edilmesi gerektiği belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Yavru temini

Deneme, Macaristan'da bulunan bir ticari balık işletmesinde yapılmıştır (Riged&Riged Ltd., Homogmegey, Macaristan). Döllenen yumurtalar Rusya'dan ithal edilmiş ve inkübasyon McDonald şişelerinde gerçekleştirilmiştir. Deneme boyunca su sıcaklığı 17°C'de tutulmuştur. Yumurtadan çıkan besin keseli larvalar kapalı devre sisteme transfer edilmiş ve burada 29 gün boyunca ticari besleme protokolü ile beslenmiştir. Boy-Ağırlık ilişkisinin hesaplanabilmesi için günlük olarak örnekleme yapılmış (en az 10 adet birey) ve %4'lük formalin içinde muhafaza edilmiştir.

Yemleme protokolü

Çuka balıklarının pre-post larva ve juvenillerin beslenmesinde aşağıdaki ticari besleme protokolü kullanılmıştır (Tablo 1).

Ekstraksiyon prosedürü ve proteaz aktivitesinin ölçümü

Proteaz aktivitesi ve inhibisyon analizleri için balık stoğundan 29. günde tesadüfen 1g örnek alınmış, distile suda yıkanmış ve 3 ml'lik

ependorf tüplerde analizler yapılana kadar -80°C'de saklanmıştır. Sindirim enzimlerinin ekstraksiyonunda tüm larva vücudu homojenize edilmiş (35 mg ml⁻¹) ve ekstraktlar santrifüjle elde edilmiştir (12000 g, 20 dk, 4°C).

Araştırmanın 29. gününde örneklenen çuka balığı örneklerinin toplam proteaz enzim aktivitesi Walter (1984)'e göre yapılmıştır. Analizde, substrat olarak kazein (10 mg ml⁻¹ pH=9), kullanılmıştır. Substrata, larvadan elde edilen sindirim enzimine ek olarak Tris-HCl (50 mM) eklenmiş ve karışım 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda, reaksiyonun kontrollü bir şekilde durdurulabilmesi için karışıma Trikloroasetikasit (TCA) (500 µl, 120 g L⁻¹) ilave edilmiştir. Absorbans değeri, spektrofotometrede 280 nm'de ölçülmüştür. Juvenillerin çözünebilir protein konsantrasyonlarının ölçümü ise Bradford (1976)'ya göre yapılmıştır.

İnhibisyon analizleri

Bu çalışmada, ticari yem rasyonlarında protein kaynağı olarak kullanılan balık unu (BU), soya unu (SU), kan unu (KU), soya protein konsantrasyonu (SPK), mısır gluteni (MG), pirinç kepeği (PK), buğday unu (Buğ.U), soya küspesi (SK) ve BU: SK (1:3, 1:1, 3:1), SU:MG (1:3, 1:1, 3:1), BU:SPK (1:3, 1:1, 3:1), Buğ.U:PK (1:3, 1:1, 3:1) kombinasyonları kullanılmıştır. Bu yem hammaddelerinden elde edilen ekstraktlar, karma yeme geçiş yapmış juvenillerden elde edilen sindirim enzimleri ile reaksiyona sokulmuştur. Bu amaçla, Garcia-Carreno (1996)'nun modifiye edilmiş metodu kullanılmıştır. İlk önce, karma yeme geçiş günü olan 29. günde örneklenen larvaların enzim ekstraktları (20 µl) ile protein kaynakları (20 µl) 500 µl Tris-HCl (pH 9,0) inkübe edilmiştir (25°C'de 60 dk). Kontrol grubunda ise, protein kaynağı yerine aynı miktarda saf su kullanılmıştır. Daha sonra, karışıma 100 µl kazein eklenmiş ve 120 dk daha inkübasyona devam edilmiştir. Sonuçta, karışıma 500 µl TCA (120 g L⁻¹) eklenerek reaksiyon durdurulmuş ve absorbans değeri 280 nm'de ölçülmüştür (Alarcon vd. 1999).

İstatistik analizler

Analizler sonucunda elde edilen verilerden boy-ağırlık ilişkisi regresyon analizi ile, proteaz aktivitesi ve inhibisyon değerleri ise SPSS (15.0) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Normalite testi olarak Kolmogorov-Simironov testi ve varyansın homojenitesi ise Bartlett's testi uygulanmıştır. Varyans analizi için ise One-way ANOVA testi

uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farklılığın tespitinde ise, Duncan çoklu karşılaştırma testi

yapılmıştır. Farklar arasındaki önem derecesi $P < 0,05$ olarak değerlendirilmiştir.

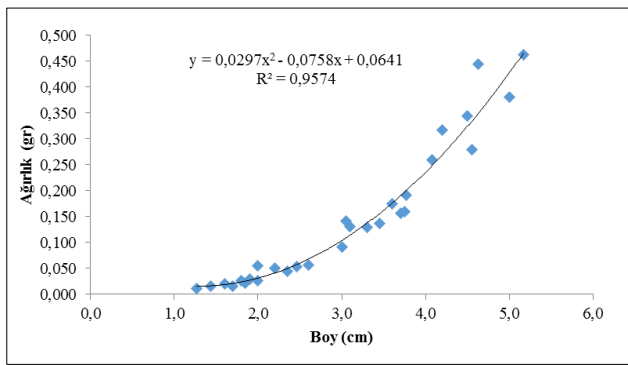
Tablo 1. Çuka mersin balığı ticari besleme protokolü

1-6. Günler	7-14. Günler	15-20. Günler	21-24. Günler	24. ve Sonra
Besin Kesesi	Artemia	Tubifex+ M.D	Chironomid +M.D.	Mikrodiyet

*M.D. :Mikrodiyet yem

Bulgular

Araştırmanın örnekleme süresince elde edilen boy-ağırlık ilişkisi ve derecesi aşağıdaki Şekil 1' de verilmiştir.



Şekil 1. Çuka balığının erken dönem boy-ağırlık değişim grafiği

Karma yeme geçiş günü olan 29. günde çuka balığının proteaz aktivitesi $311,29 \pm 0,27$ U/mg protein bulunmuştur. Ticari olarak kullanılan protein kaynaklarının çuka balığı juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine inhibe etme oranları aşağıdaki Tablo 2'de verilmiştir. Yem hammaddelerinin tek tek test edilmesi ile elde edilen verilerin ışığında, soya protein konsantresi ve mısır glutenin proteaz aktivitesi üzerine en az etki gösteren iki yem hammaddesi olduğu ortaya çıkmıştır ve bu iki yem hammaddesinin etki açısından aralarındaki fark istatistik açıdan önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Bunları sırasıyla balık unu, pirinç kepeği, kan unu ve soya takip etmiştir. Yine, balık unu-pirinç kepeği ve kan unu ile soya arasındaki farklar istatistik açıdan önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Yem hammaddelerinin ikili kombinasyonları incelendiğinde ise, en düşük inhibisyon oranı BU:SPK'nın 1:1 oranda kullanılması ($47,93 \pm 1,72$) ile elde edilmiş ve bu değer SPK ve MG'nin tek başlarına kullanılması ile elde edilen etki ile aynı seviyede olduğu tespit edilmiştir ($P > 0,05$). En yüksek inhibe edici etki ise, buğday ile pirinç kepeğinin 3:1 oranda kullanılması ile oluşmuştur ($82,39 \pm 7,23$).

Tablo 2. Yem hammaddelerinin proteaz aktivitesini inhibe etme oranları (%)

Yem Hammaddesi	Ortalama (%)±S.D.
Balık unu (69 % Ham Protein) (BU)	57,68±4,54 ^c
Kan unu (75,5 % Ham Protein) (KU)	69,66±2,97 ^d
Mısır gluten (60 % Ham Protein) (MG)	43,07±1,72 ^a
Soya (48 % Ham Protein) (S)	73,78±3,61 ^d
Buğday Unu (12 % Ham Protein)	59,04±2,22 ^c
Soya Protein Kon. (58 % Ham Protein) (SPK)	38,57±10,44 ^a
Pirinç kepeği (PK)	59,17±2,34 ^c
S/MG (1:3)	62,91±3,89 ^c
S/MG (1:1)	68,16±5,55 ^d
S/MG (3:1)	69,66±5,62 ^d
BU/SPK (1:3)	58,05±2,34 ^c
BU/SPK (1:1)	47,93±1,72 ^a
BU/SPK (3:1)	51,68±1,95 ^b
Buğday/PK (1:3)	68,53±1,13 ^d
Buğday/PK (1:1)	73,03±3,00 ^d
Buğday/PK (3:1)	82,39±7,23 ^e
BU/S (1:3)	65,17±7,94 ^c
BU/S (1:1)	69,66±3,65 ^d
BU/S (3:1)	71,91±4,05 ^d

Tartışma ve Sonuç

Günümüzde, ticari olarak üretilen ve balık yemlerinde kullanılan protein kaynaklarının balıkların sağlıklı bir şekilde büyüme ve gelişmelerine olan etkisi halen tartışma konusudur. Töre vd. (2014), bazı ticari yem hammaddelerinin 30 günlük (proteaz aktivite değeri: $489,75 \pm 34,86$ U/mg) Turna, *Esox lucius*, balığı larvalarının proteaz aktivitesi üzerine yaptığı inhibe edici etkileri belirlemişlerdir. Bu çalışmada, krill %2,30±1,26, balık hidrolizatu %4,89±2,41, balık unu %15,69±0,84, soya unu %15,54±4,29, havyar unu %22,72±1,36 ve mısır gluten %32,24±3,61 oranlarında proteaz aktivitesini inhibe ettiği ortaya konulmuştur. Bizim çalışmamızda elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, balık unu ve soya unu çuka balığının juvenil döneminde, turna balığından daha yüksek inhibe edici etki göstermiştir. Buna karşın, mısır glutenin gösterdiği etki açısından aradaki fark nispeten az görünse de fark istatistik açıdan önemlidir ($P < 0,05$). Gökçek vd. (2016), 30 günlük Rus mersini, *Acipenser gueldenstaedtii*, larvaları ile yaptıkları çalışmalarında (proteaz aktivitesi: $592,74 \pm 47,61$ U/mg), ticari yem hammaddelerinin

proteaz aktivitesini inhibe edici etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, en düşük inhibisyon değerini balık unundan elde etmiştir (%15,44±5,59). Diğer protein kaynakları göreceli olarak oldukça yüksek inhibisyon değerleri sergilemiştir (SPK: %63,55±5,46; Soya unu: %71,81±3,82; Mısır gluten: %72,24±4,17; Kan unu: %97,28±2,31). Buna karşın, balık unu ve soya unununun 3:1 ikili kompozisyonunda %26,38±2,02 inhibisyon değeri elde edilmiştir. Alptekin ve Gökçek (2016), Sibirya mersin balığı (*Acipenser baerii*) juvenilleri ile yaptıkları çalışmalarında ise, en düşük inhibisyon değerini balık unu ve soya protein konsantresinden elde etmiştir (sırasıyla, %15,34±3,85 ve %14,45±1,58). Diğer protein kaynakları göreceli olarak oldukça yüksek inhibisyon değerleri sergilemişlerdir (Soya unu: %63,33±4,71; Mısır gluten: %25,56±7,86; Kan unu: %66,67±8,02). Bizim çalışmamızda ise, soya protein konsantresi ve mısır gluten maddelerinden en düşük inhibisyon elde edilmesine rağmen, değerler Alptekin ve Gökçek'in elde ettiği değerlerden oldukça yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Burada, türün beslenme fizyolojisinin çok önemli olduğu, yem hammaddelerinin proteaz aktivitesine bu nedenle farklı etkiler yaptığı düşünülmektedir.

Karşılaştırılan üç çalışmada, balık ununun Turna ve Rus Mersini'nin erken larval dönemlerinde hemen hemen aynı sonuçları vermesine rağmen, çuka balığında oldukça farklı bir sonuç sergilemiştir. Öte yandan, özellikle bitkisel kökenli protein kaynaklarının proteaz aktivitesi üzerine farklı etkileri olmuştur ($P<0,05$). Bunun yanında, yem hammaddelerinin ikili kombinasyonlarının proteaz aktivitesi üzerine etkisi olumsuz denebilecek seviyede yüksek bulunmuştur. Bu durum, yem hammaddelerinin kimyasal kompozisyonundan (özellikle farklı aminoasit içeriği) ve larvaların türe özgü gelişimlerine bağlı olarak farklı dönemlerde farklı sindirim enzimlerini salgılamalarından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, yem hammaddelerinin sahip olduğu aminoasit içeriklerinin birbirine antagonist ilişki oluşturacak seviyede olması da ayrı bir olasılıktır.

Çuka balığının erken larval döneminde karma yem rasyonlarında kullanılması en uygun protein kaynağı %58 ham protein oranına sahip soya protein konsantresi ve %60 ham protein oranına sahip mısır gluteni olduğu söylenebilir. Soya protein konsantresi, özellikle son yıllarda Kuzey Amerika kıtasında yaygın olarak üretilen ve aminoasit kompozisyonu soya unu ile karşılaştırıldığında balık yetiştiriciliği açısından çok daha iyi olduğu iddia edilen bir üründür (Kotzamanis vd. 2012). Öte yandan, tüm balık yemlerinde temel protein kaynağı olarak kullanılan balık ununun en düşük inhibisyon oranına

sahip olmaması ise beklenmeyen bir sonuçtur. Bu konu ile ilgili olarak, farklı kökenli ve farklı türlere ait balık unlarının etkisi üzerinde de çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada yapılan analizler ve elde edilen sonuçlar, karma yeme tamamen geçiş yapmış larvaların yemlerinde kullanılan protein kaynaklarının, larvalar tarafından salgılanan proteaz enzimini hangi oranda inhibe ettiğini bulma amaçlı olarak tasarlanmıştır. Ancak görüldüğü üzere, elde edilen veriler çuka balığı larvalarının karma yem rasyonunda hangi protein kaynağının tercih edilmesi gerektiği açısından tavsiye niteliği taşımaktadır. Daha ayrıntılı sonuçların elde edilmesi için, protein hidroliz oranlarının pH stat analizi ve aminoasit kompozisyonlarının ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, Macaristan'ın Szent Istvan Üniversitesi Balık Yetiştiriciliği Bölümü'ne ve çalışmanın gerçekleştirildiği Rigid&Rigid Ltd. şirketine teşekkürlerimizi sunarız. Ayrıca, analizlerin yürütülmesinde katkıda bulunan Yük.Müh.Cemal ALPTEKİN'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Alarcon FJ, Moyano FJ, Diaz M, Fernandez-Diaz C, Yufera M. 1999. Optimization of the protein fraction of microcapsules used in feeding of marine fish larvae using *in vitro* digestibility techniques. *Aquac Nutr.* 5(2):107-113.
doi: [10.1046/j.1365-2095.1999.00093.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1999.00093.x)
- Alptekin C, Gökçek K. 2016. Balık yemlerinde kullanılan farklı protein kaynaklarının Sibirya mersini, *Acipenser baerii* Brandt 1869, juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine etkileri. *Yunus Araştırma Bülteni.* 16(3):201-207. [in Turkish]
doi: [10.17683/yunus.32866](https://doi.org/10.17683/yunus.32866)
- Babaei SS, Kenari AA, Nazari R, Gisbert E. 2011. Developmental changes of digestive enzymes in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. *Aquaculture.* 318(1-2):138-144.
doi: [10.1016/j.aquaculture.2011.04.032](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.032)
- Bradford MM. 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. *Anal Biochem.* 72:248-254.
- Furne M, Hidalgo MC, Lopez A, Garcia-Gallego M, Morales AE, Domezain A, Domezaine J, Sanz A. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture.* 250(1-2):391-398.
doi: [10.1016/j.aquaculture.2005.05.017](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.05.017)
- Garcia-Carreno FL. 1996. Proteinase inhibitors. *Trends Food Sci Technol.* 7(6):197-204.
doi: [10.1016/0924-2244\(96\)10023-6](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10023-6)

- Gawlicka A, Herold MA, Barrows FT, de le Noue J, Hung SSO. 2002. Effect of dietary lipids on growth, fatty acid composition, intestinal absorption and hepatic storage in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) larvae. *J Appl Ichthyol.* 18(4-6):673-681.
[doi: 10.1046/j.1439-0426.2002.00371.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2002.00371.x)
- Gökçek K, Szabo T, Alptekin C, Kurt R, Töre Y, Urbanyi B. 2016. The effect of feeding regime and inhibitory of different feed ingredients on proteases of Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* Brandt&Ratzenburg, 1833, at early life stages. *Turkish J of Fisheries and Aquatic Sciences.* 16(4): 1025-1029.
[doi: 10.4194/1303-2712-v16_4_29](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_4_29)
- Kotzamanis YP, Vatsos IN, Cremer M, Illia V, Pyrenis G, Zonaras V, Buentello A, Van Eys J, 2012. Effects of high dietary inclusion of soybean meal and Navita 3010 soy supplemented with taurine on growth performance and muscle composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). HCMR, Greece. (Technical Report)
- Napora-Rutkowski L, Kamaszewski M, Bielawski W, Ostaszewska T, Wegner A. 2009. Effects of starter diets on pancreatic enzyme activity in juvenile starlet (*Acipenser ruthenus*). *The Israeli J Aquaculture-Bamidgeh,* 61 (2): 143-150.
- Noori F, Gilbert VS, Sorgeloos P. 2012. Preliminary study on the activity of protease enzymes in Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) larvae in response to different diets: effects on growth and survival. *Aquac Res.* 43(2):198-207.
[doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02816.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02816.x)
- Sanz A, Llorente JL, Furne M, Ostos-Garrido V, Carmona R, Domezain A, Hidalgo MC. 2011. Digestive enzymes during ontogeny of the sturgeon *Acipenser naccarii*: intestine and pancreas development. *J Appl Ichthyol.* 27(5):1139-1146.
[doi: 10.1111/j.1439-0426.2011.01864.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01864.x)
- Töre Y, Gökçek K, Alptekin C, Szabo T, Urbanyi B. 2014. Turna, *Esox lucius* Linnaeus 1758, balığı larvalarının proteaz aktivitesi üzerine ticari yem hammaddelerinin inhibisyon etkilerinin tespiti. *Doğu Anadolu 5. Su Ürünleri Sempozyumu; Elazığ, Türkiye.*
- Walter HE. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as sub-strates, In: *Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 5.* Weinheim: Verlag Chemie Press. s. 270-277.
- Willot P, Sabeau L, Gessner J, Arlati G, Bronzi P, Gulyas T, Berni P. 2001. Sturgeon farming in Western Europe: recent developments and perspectives. *Aquat Living Resourc.* 14(6):367-374.
[doi: 10.1016/S0990-7440\(01\)01136-6](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(01)01136-6)