



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2016; 30 (3): 203 – 209
http://www.fusabil.org

Özden BARIM ÖZ¹
Mustafa KARATEPE²

¹ Firat Üniversitesi,
Su Ürünler Fakültesi,
Elazığ, TÜRKİYE

² Firat Üniversitesi,
Fen Fakültesi,
Kimya Bölümü,
Elazığ, TÜRKİYE

Yeme İlave Edilen Vitamin A, Beta karoten ve Astaksantin'in Kerevit (*Astacus leptodactylus*, Esch. 1823)'lerin Kabuk Değişirme Döneminde Etkileri*

Bu çalışmada; yeme ilave edilen vitamin A, beta karoten ve astaksantin'in kabuk değişirme döneminde olan *Astacus leptodactylus* türü kerevitlerin hepatopankreas, kas ve solungaç dokularındaki oksidatif stres (malondialdehit (MDA)), vitamin A, E, C, beta karoten ve astaksantin miktarı üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla %38 oranında ham protein içeren bir kontrol rasyonu (K) düzenlendi. Bu rasyona vitamin A (240 mg kg⁻¹), beta karoten (200 mg kg⁻¹) ve astaksantin (200 mg kg⁻¹) ilave edilerek sırasıyla DA, DβC ve DAX kerevit grupları beslendi. Yapılan analizler sonucunda; yeme ilave edilen antioksidan maddelerin kerevitlerin kabuk değişirme döneminde dokulardaki malondialdehit (MDA) değerini düşürdüğü tespit edildi. Kontrol grubuna oranla DA, DβC ve DAX grubundaki kerevitlerin dokularındaki vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarlarının yüksek olduğu belirlendi. Diğer gruplara oranla DAX grubundaki kerevitlerin dokularında vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarlarının daha yüksek, MDA seviyesinin daha düşük olduğu saptandı. Bu nedenlerle, kabuk değişirme döneminde 200 mg kg⁻¹ astaksantin'in yeme ilave edilmesinin yararlı olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: *A. leptodactylus*, vitamin A, beta karoten, astaksantin, MDA

The Effects of Vitamin A, Beta Carotene and Astaxanthin Added to the Ration on Moulting Period of Freshwater Crayfish (*Astacus leptodactylus*, Esch. 1823)

In this study, the effects of dietary vitamin A, beta carotene and astaxanthin supplementation on oxidative stress and vitamins A, E, C, β-carotene and astaxanthin in the hepatopancreas, muscle and gills tissues of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* during moulting was investigated. For this aim, a control diet (K), containing 32% crude protein was prepared. The DA, DβC and DAX groups of crayfish respectively were fed by added vitamin A (240 mg kg⁻¹), beta carotene (200 mg kg⁻¹) and astaxanthin (200 mg kg⁻¹) in control diet. In the results of analysis, it was determined that the supplemental of antioxidants in diet decreased malondialdehyde (MDA) levels in the tissues during moulting. The levels of vitamin E, C, A, beta carotene and astaxanthin in the tissues were high in the DA, DβC and DAX groups compared to C group. It was concluded that the vitamin E, C, A, beta carotene and astaxanthin levels were higher than the other groups in DAX group, and were lower in MDA levels. For these reasons, it is useful to add 200 mg kg⁻¹ astaxanthin to the diet during moult.

Key Words: *A. leptodactylus*, vitamin A, beta carotene, astaxanthin, MDA

Giriş

Dünya üzerinde yaklaşık 600 kerevit türü Afrika ve Antartika kıtaları hariç diğer kıtalarda doğal olarak bulunmaktadır (1). Crustacea (kabuklular) sınıfında yer alan *Astacus leptodactylus* türü kerevitler ise fizyolojik, morfolojik ve davranış özellikleri bakımından birçok habitatta yaşama yeteneğine sahiptir (2). Yetiştiriciliği özellikle Kuzey Amerika'nın güney eyaletlerinde, Avrupa ve Avustralya'da yapılmaktadır (3). Akuatik sistemlerde organik madde dönüşümünü sağlayan besin zinciri için anahtar tür özelliğindedir (4). Ülkemizde doğal olarak bulunan bu kerevitin birçok ülkede sevilerek tüketilmesi nedeniyle ekonomik değerinin her geçen gün yükselmesi, diğer taraftan bilinçsiz avlanma, sulardaki kirlenme ve son yıllarda etkili olan hastalık nedeniyle doğal stokların hızla azalması, bu ürünün verimini artırmak için araştırma yapma gerekliliğini ortaya koymuştur (5).

Kerevitlerde vücut büyümeyen bir kutikula tarafından örtülüdür ve büyüme sadece kabuk değişirme ile mümkündür. Kabuk değişirme dönemi, iç organ ve dokuların büyümesi, gastrolit oluşumu ve eksoskeleton (hayvanın dış kabuğu)'un periyodik değişimini içeren bir süreçtir (6, 7). Bu süreç krusteselerin hücre biyolojisini, fizyolojisini ve tavırlarını etkilemektedir (8, 9). Kabuk değişirme sürecini ve sıklığını ise fotoperiyot, sıcaklık, yoğunluk, hidrolojik şartlar, stres, üreme ve beslenme gibi faktörler

Geliş Tarihi : 25.04.2016
Kabul Tarihi : 15.06.2016

Yazışma Adresi Correspondence

Özden BARIM ÖZ
Firat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Elazığ - TÜRKİYE

obarimoz@hotmail.com

* 1st International Conference on Organic Electronic Material Technologies (OEMT2015) March 25-28, 2015 Elazığ, TURKEY.

değiştirebilmektedir (6, 10). Kerevitler genellikle birinci sene yaklaşık 6-7, ikinci sene 5, üçüncü sene 2 defa, olgunluk devresinde dişiler bir, erkekler iki defa kabuk değiştirirler (11).

Kerevitlerin bütün gelişim dönemlerinde olduğu gibi kabuk değiştirme dönemlerinde de beslenmesi için gerekli olan ya da vücutta sentezlenemeyen ve dışarıdan alınması gereken maddeler vardır (6, 9, 12). Bu maddelerden biri olan vitamin A, hücre membranını güçlendirerek bakterilere karşı mukoz membranını korumakta, görme gücünü ve enfeksiyonlara karşı vücut direncini arttırmaktadır. A vitamini vücuda yetersiz alındığında provitamin A maddesi olan beta karotenin önemli miktarı A vitamini kaynağı olarak kullanılmaktadır. Karotenoidler immün sistemini uyarmakta, embriyo gelişimi, büyüme ve gonad olgunlaşmasını destekleyerek metabolizmayı güçlendirmektedir. Bu grup içerisinde yer alan, ovaryumda temel karotenoid maddelerden biri olan ve metabolizmayı destekleyici özelliği olan diğer bir madde de astaksantindir. Yapılan çalışmalarda penaid karideslerin, istakoz ve yengeç gibi akuatik canlıların iç organlarda metabolik dönüşüm esnasında beta karoteni astaksantine dönüştürebildikleri tespit edilmiştir (13). Vitamin A, beta karoten ve astaksantin rapor edilen en önemli özelliklerinden biri de enzimatik olmayan antioksidan veya serbest radikal giderici olmalarıdır (14-16).

Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek, pek çok patolojiye neden olabilecek zincir reaksiyonlarını önleyen moleküllerdir. Serbest radikaller ise organizmada metabolik olaylar sırasında sürekli olarak oluşan yüksek enerjili, stabil olmayan ve büyük bir reaktivite özelliği gösteren bileşiklerdir. Ancak vücudun savunma mekanizmasının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğu zaman DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermektedirler. Özellikle poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına (lipid peroksidasyon) sebep olurlar. Oluşan lipid peroksidasyon ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür ve diğer yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna zemin hazırlamaktadırlar. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonu inhibe ederler. Bu antioksidanlar; endojen (enzimler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi.) ve enzim olmayanlar (Vitamin E, C, A, karoten gibi)), eksojen ve gıda antioksidanları olarak bölümlere ayrılırlar (17-19).

Yapılan araştırmalar sonucunda oluşturulan bu çalışmada; kabuk değiştirme döneminde olan kerevitler kontrol yemi ve antioksidan madde (vitamin A, beta karoten, astaksantin) içeren yemlerle beslenerek hepatopankreas, kas ve solungaç dokularındaki oksidatif stres (malondialdehit (MDA)) ve enzimatik olmayan antioksidanların (vitamin E, C, A, beta karoten, astaksantin) düzeyleri araştırıldı. Böylece; yetiştiricilik çalışmalarında kerevitlerin kabuk değişimi esnasında bağışıklık sistemlerini güçlendirmek amacıyla yapılacak yem formüllerinin oluşturulmasına katkı sağlanacaktır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma 20 Temmuz 2014 - 15 Eylül 2014 (66 gün) tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Laboratuvarında yürütüldü. Çalışma esnasında yerel etik kurul kararlarına uyulmuştur. Çalışmada kullanılan kerevitler *A.leptodactylus*'un Keban Baraj Gölü Aydıncık popülasyonundan yakalandı. Doğal ortamdan avlanan kerevitler 7 gün boyunca (20-27 Temmuz) laboratuvara adapte edildi.

Kerevitlerin hazırlanan yemlerle beslenmesi için 12 adet fiberglas tekne (110 x 25 x 25 cm) kullanıldı. Plastik borular (15 cm uzunluğunda, 7 cm çapında) kerevitler için barınak olması için teknelere bırakıldı. Hava pompası ile yeterli havalandırma sağlandı. Her bir tekneye 10 adet kerevit olmak üzere toplamda 120 adet kerevit yerleştirildi. Bu esnada kontrol (K grubu; 20.96±2.31 g, 41.13±0.96 mm), deneme A (DA grubu; 19.63±1.27 g, 41.17±0.49 mm), deneme beta karoten (DβC grubu; 20.34±1.07 g, 41.57±0.48 mm) ve deneme astaksantin (DAX grubu; 20.09±2.11 g, 41.52±0.37 mm) gruplarına ait kerevitlerin ağırlıkları ve uzunlukları arasında istatistiksel açıdan fark olmamasına dikkat edildi. Kerevitlere ağırlıklarının %2 si oranında günlük olarak yem verildi. Araştırma sonunda 4 rasyon grubunun her birinden 12 kerevit alınarak incelendi.

Yapılan çalışmada akvaryumlardaki ortalama su sıcaklığının 19.07±2.13 °C, çözülmüş oksijen miktarının 6.21±0.34 mg/L, pH'nın ise 7.60±0.51 olduğu tespit edildi.

Araştırmada kullanılan kontrol rasyonu Barım (10) ve Wheatly ve ark. (20) na göre düzenlendi. Kontrol rasyonunun ham besin madde düzeyleri Weende analiz metotlarına göre yapıldı (21) (Tablo 1). Bu rasyona ilave edilen Vitamin A (240 mg kg⁻¹) (22), beta karoten (200 mg kg⁻¹) ve astaksantin (200 mg kg⁻¹) (23, 24) miktarları krutaselerle ilgili yapılan çalışmalar göz önüne alınarak belirlendi ve sırasıyla DA, DβC ve DAX grupları bu yemlerle beslendi. Rasyonların vitamin A, beta karoten ve astaksantin miktarları HPLC ile tespit edildi (25-27). Kontrol rasyonunda 3.00±0.46 mg kg⁻¹ vitamin A, 17.37±2.22 mg kg⁻¹ beta karoten ve 1.57±0.90 mg kg⁻¹ astaksantin olduğu tespit edildi. Ayrıca antioksidan ilave edilen bütün gruplarda (VA (218.64±4.29 mg kg⁻¹ VA), βC (176.91±6.67 mg kg⁻¹ βC) ve (AX (189.61±4.49 mg kg⁻¹ AX)) ilavelerin yeme sağladığı katkı da yine HPLC ile belirlendi. Rasyona ilave edilen vitamin A (1000000 IU g⁻¹ retinil asetat), beta karoten (%10 β karoten) ve astaksantin (8% astaksantin, caropil) DMS tarafından sağlandı.

Rasyonları oluşturan yem maddeleri belirlenen oranlarda tartılarak homojen bir karışım sağlanacak şekilde karıştırıldı. Hamur haline getirilen materyal kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline getirildi. Hazırlanan peletler tepsilere yerleştirilip, soğutmalı etüvde 55 °C'de 24 saat bekletilerek kurutuldu. Yemler kerevit büyüklüğüne paralel olarak peletlendi (10).

Tablo 1. Kontrol rasyonunun içeriği ve yaklaşık kompozisyonu

Yem Bileşimi	%
Balık unu	35.78
Soya Küspesi	37.74
Buğday unu	19.40
Bitkisel Yağ	4.00
Dikalsiyum fosfat	2.00
Sodyum fosfat	0.40
Vitamin karması ⁽¹⁾	0.50
Mineral karması ⁽²⁾	0.18

((1) Vitamin karması (IU or mg kg⁻¹): vitamin A 2,000,000 IU, vitamin D₃ 200,000 IU, vitamin E 20,000 IU, vitamin K 3,000 mg, vitamin B₁ 1,000 mg, vitamin B₂ 3,000 mg, Niacin 30,000 mg, Calcium D-Pantothenate 10,000 mg, vitamin B₆ 2,000 mg, vitamin B₁₂ 4 mg, Folic Acid 600 mg, D-Biotin 200 mg, Choline Chloride 100,000 mg ve vitamin C 60,000 mg.

(2) Mineral karması (mg kg⁻¹ dry diet): Mn 80, Fe 35, Zn 50, Cu 5, I 2, Co 0,4, Se 0,15.

Araştırma sonunda kerevitlerin hepatopankreas, kas ve solungaçları çıkarılarak analize kadar -80 °C'de saklandı.

Vitamin C ve MDA Düzeylerinin Analizi: Vitamin C ve malondialdehit analizi için hepatopankreas, kas ve solungaç dokuları 1000-1500 mg arasında tartılarak ayrıldı. Bu dokular perklorik asit ve saf su ile cam-cam homejenizatöründe homojenize edildi. Her bir örnek 20 dk vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2500 rpm'de 45 dk santrifüj edildi. Elde edilen örneklerden 500 µL alınarak HPLC şişelerine yerleştirildi (27). HPLC'de okunan örnekler mg kg⁻¹ olarak hesaplandı.

Vitamin E, A ve Beta Karoten Düzeylerinin Analizi: Bu analizler için dokular (200-1000 mg) tartılarak ayrıldı. Hepatopankreas, kas ve solungaç örnekleri 2 mL sülfirik asit ile cam-cam homejenizatöründe homojenize edildi. Bu örnekler tüplere bırakılarak üzerine 2 mL etanol ilave edildi. Her bir örnek 5 dk vorteks ile karıştırıldıktan sonra üzerine 0,3 ml hekzan bırakıldı. Tüpler 2500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen örneklerde oluşan fazlar ayrılarak farklı tüplere aktarıldı. Bu tüplere 200 µL hekzan tekrar ilave edilerek 2500 rpm'de 5 dk tekrar santrifüj edildi. Tüplerden alınan örnekler HPLC şişelerine yerleştirildi (25, 27). HPLC'de okunan örnekler mg kg⁻¹ olarak değerlendirildi.

İncelenen parametrelere ait değerlerin karşılaştırılmasında 'SPSS 21,0' paket programı kullanılarak One Way Anova-Duncan testi uygulandı. Böylece, farklı yemlerle yapılan besleme sonucunda gruplar arasında aynı doku karşılaştırması ve herbir grup içinde farklı dokuların karşılaştırılması yapıldı.

Bulgular

Yapılan çalışma sonucunda kontrol yemi ve bu yeme ilave edilen vitamin A, beta karotene ve astaksantin kabuk değiştirme döneminde olan kerevitlerin hepatopankreas, kas ve solungaç dokularındaki MDA, vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarlarını istatistiksel açıdan önemli derecede değiştirdiği belirlendi (Tablo 2).

Araştırma sonucunda hepatopankreas, kas ve solungaç dokusundaki MDA seviyesinin K grubuna göre DA (%56.28, %58.05, %44.95), DβC (%61.75, %56.78, %59.07) ve DAX (%76.50, %75.42, %67.97) gruplarında önemli derecede düşük olduğu bulundu (her bir doku için, P<0.001). Yeme ilave edilen antioksidan maddeler arasında ise astaksantin diğerlerinden daha etkin olduğu görüldü. Doku karşılaştırmalarının da yapıldığı analizlerde en yüksek MDA değerinin K, DA ve DβC gruplarında hepatopankreasda, DAX grubunda ise hepatopankreas ve solungaçta olduğu saptandı (her bir grup için, P<0.001).

Çalışma sonucunda vitamin E miktarının hepatopankreasda K grubuna göre DAX (%371.43) ve DβC (%123.81) gruplarında, solungaçta ise DA (%38.46) ve DβC (17.95) gruplarında önemli derecede yüksek olduğu belirlendi (her bir grup için, P<0.001). Kasdaki vitamin E değerinin K grubuna oranla DA (%53.33) grubunda yüksek DβC (%26.67) grubunda düşük olduğu tespit edildi (P<0.001). Hepatopankreas, kas ve solungaç dokularının karşılaştırıldığı çalışmada en yüksek değerlerin K ve VA grubundaki kerevitlerde solungaçta, DβC grubunda hepatopankreas ve solungaçta, DAX grubunda ise hepatopankreasda olduğu bulundu (her bir grup için, P<0.001).

Yapılan analizler sonucunda; kerevitlerin hepatopankreasındaki vitamin C miktarının K grubuna göre DAX (%87.21) grubunda yüksek olduğu saptandı (P<0.001). Kasdaki bu değer DA (%34.76) ve DβC (%35.53) grubundaki kerevitlerde K grubundan daha düşüktü (P<0.001). Solungaçtaki vitamin C miktarı ise K grubuna göre DA grubunda %29.58 yüksekti (P<0.001). Ayrıca vitamin C miktarının bütün gruplardaki kerevitlerin hepatopankreasında diğer dokulara oranla daha yüksek olduğu tespit edildi.

Analizler sonucunda; kerevitlerin hepatopankreasındaki vitamin A miktarının K grubuna göre DA (%633.33) grubunda yüksek olduğu bulundu (P<0.001). Kasdaki bu değer DA (%1200.00) ve DAX (%200.00) grubundaki kerevitlerde kontrolden daha yüksekti (P<0.001). Solungaçtaki vitamin A miktarı ise K grubuna göre DA (%1100.00), DβC (%400.00) ve DAX (%200.00) gruplarında daha yüksekti (P<0.001). Ayrıca vitamin A miktarının K, DA ve DAX gruplarındaki kerevitlerin hepatopankreasında, DβC grubunda ise solungaçta diğer dokulara oranla daha yüksek olduğu belirlendi.

Tablo 2. Araştırma sonucunda kontrol (K) ,vitamin A (DA), beta karoten (DβC) ve astaksantin (DAX) ilaveli yemlerle beslenen gruplara ait kerevitlerin hepatopankreas (H), kas (M) ve solungaç (G) dokularındaki malondialdehit (MDA), vitamin E (E), vitamin C (C), vitamin A (A), astaksantin (AX) ve beta karoten (βC,) miktarlarındaki değişim.

Parametre	Doku	K	DA	DβC	DAX	P1
MDA (mg kg ⁻¹)	H	3.66±0.39 ^{Ka}	1.60±0.10 ^{La}	1.40±0.14 ^{La}	0.86±0.09 ^{Ma}	***
	M	2.36±0.57 ^{Kb}	0.99±0.08 ^{Lc}	1.02±0.11 ^{Lc}	0.58±0.04 ^{Mb}	***
	G	2.81±0.21 ^{Kb}	1.20±0.19 ^{Lb}	1.15±0.21 ^{Lb}	0.90±0.09 ^{Ma}	***
	P2	***	***	***	***	
E (mg kg ⁻¹)	H	0.21±0.02 ^{Mb}	0.28±0.07 ^{Mb}	0.47±0.05 ^{La}	0.99±0.08 ^{Ka}	***
	M	0.15±0.01 ^{Lc}	0.23±0.04 ^{Kb}	0.11±0.01 ^{Mb}	0.12±0.02 ^{Lmc}	***
	G	0.39±0.04 ^{Lma}	0.54±0.08 ^{Ka}	0.46±0.06 ^{KLa}	0.35±0.05 ^{Mb}	**
	P1	***	***	***	***	
C (mg kg ⁻¹)	H	36.36±4.02 ^{La}	43.15±5.52 ^{La}	44.49±4.65 ^{La}	68.07±8.93 ^{Ka}	***
	M	23.53±3.90 ^{Kb}	15.35±2.06 ^{Lb}	15.17±0.84 ^{Lc}	28.97±3.11 ^{Kb}	***
	G	33.67±3.49 ^{La}	43.63±5.73 ^{Ka}	32.50±3.05 ^{Lb}	29.69±3.74 ^{Lb}	***
	P2					
A (mg kg ⁻¹)	H	0.03±0.003 ^{La}	0.22±0.03 ^{Ka}	0.04±0.004 ^{Lb}	0.05±0.01 ^{La}	***
	M	0.01±0.001 ^{Mb}	0.13±0.01 ^{Kb}	0.02±0.00 ^{Mc}	0.03±0.01 ^{Lb}	***
	G	0.01±0.00 ^{Nb}	0.12±0.01 ^{Kb}	0.05±0.01 ^{La}	0.03±0.00 ^{Mb}	***
	P2					
AX (mg kg ⁻¹)	H	0.30±0.02 ^{Ka}	0.11±0.01 ^{Mb}	0.15±0.02 ^{Lc}	0.32±0.03 ^{Kb}	***
	M	0.10±0.01 ^{Mc}	0.06±0.01 ^{Nc}	0.23±0.03 ^{Lb}	0.47±0.02 ^{Ka}	***
	G	0.16±0.01 ^{Mb}	0.26±0.03 ^{La}	0.34±0.03 ^{Ka}	0.18±0.02 ^{Mc}	***
	P2	***	***	***	***	
βC (mg kg ⁻¹)	H	3.24±0.45 ^{Ma}	3.45±0.36 ^{Ma}	8.66±0.94 ^{Ka}	5.89±0.63 ^{La}	***
	M	1.53±0.67 ^{Mb}	0.67±0.09 ^{Nc}	3.13±0.31 ^{Kb}	2.70±0.16 ^{Lb}	***
	G	3.01±0.19 ^{Ka}	2.29±0.35 ^{Lb}	1.54±0.16 ^{Mc}	3.04±0.11 ^{Kb}	***
	P2	***	***	***	***	

Not: P1: Aynı dokuya ait grup karşılaştırmalarında istatistiksel önem derecesi, farklılık düzeyinin tanımlanmasında K, L, M harfleri kullanıldı. P2: Grup içi doku karşılaştırmalarında istatistiksel önem derecesi, farklılık düzeyinin tanımlanmasında a, b, c harfleri kullanıldı.

Çalışma sonucunda; kerevitlerin hepatopankreasındaki astaksantin miktarının K grubuna göre DβC (%50.00) ve DAX (%220) gruplarında yüksek olduğu bulundu (her bir dokuda, P<0.001). Solungaçtaki astaksantin miktarı kontrole göre DA (%62.50) ve DβC (%112.50) gruplarında yüksek olduğu belirlendi (her biri için, P<0.001). Fakat kasdaki astaksantin miktarı K grubuna göre DA (%40.00) grubunda dūřuk, DβC (%130.00) ve DAX (%370.00) gruplarında yūksekti. Ayrıca kerevitlerdeki astaksantin miktarının K, DA ve DβC gruplarının solungacında, DAX grubunun ise kasında diğer dokulara oranla daha yūksekti olduğu tespit edildi (her bir grup için, P<0.001).

Yapılan analizler sonucunda; hepatopankreasdaki beta karoten miktarının K grubuna göre DβC (%167.28) ve DAX (%81.79) gruplarında yūksekti olduđu bulundu (her bir dokuda, P<0.001). Kasdaki bu karoten miktarının K grubuna göre DA (%56.21) grubunda dūřuk, DβC (%104.58) ve DAX (%76.47) gruplarında yūksekti olduđu saptandı. Solungaçdaki beta karoten miktarının ise K grubuna göre DA (%56.21) ve DβC (%104.58) gruplarında dūřuk olduđu tespit edildi. Doku karşılařtırmalarında ise K grubunda hepatopankreas ve solungaçta, DA, DβC ve DAX gruplarında ise hepatopankreasda P<0.001 önemlilik deđerinde diđer dokulardan yūksekti olduđu belirlendi.

Tartışma

Canlılarda beslenme var olabilme kořullarının bařında gelmektedir. Bununda yeterli dengeli ve sađlıklı olması, canlının yařam sūrecindeki deđerislerini sađlıklı atlatması için gereklidir. Krustasea grubu canlıların en önemli ozelliklerinden biri diđer canlılardan farklı olarak yařam sūreci içerisinde kabuk deđeristirme dōnemlerine sahip olmalarıdır. Bu dōnem yařama, būyūme ve ūreme gibi organizmanın varlıđının temel bir parçasıdır (6-8, 10). Doku būyūmesinin oranı tarafından sınırlanan deđeristirme sūreci besleme ile direk etkilenmektedir. Yetersiz besleme sadece kabuk deđeristirme sonucunda hacim artıřını da azaltabilir. Yapılan alıřmalarda *Cambaroides*'lerde aılıđın kabuk deđeristirme sūrecini uzattıđı ve gastrolit būyūmesini ūnlediđi, *Faxonella*'larda ūlūmlerin olduđu, *Homarus*'larda ise kabuk deđeristirme ūzerine besinlerin direk etkilerinin olduđu tespit edilmiřtir (6). Petit ve ark. (28) tarafından yapılan çalıřmada astaksantin ilave edilen rasyonla beslenen *Penaeus japonicus*'ların kabuk deđeristirme sūrelerinin kısaltıđı belirlenmiřtir. Beslenme krustaceaların kabuk deđeristirme dōnemini etkileyen önemli faktörlerden biri olmasına rađmen bu konu ile ilgili çalıřmaların oldukça az olduđu belirlenmiřtir. Mevcut olan çalıřmalar ise canlının

özellikle postlarva dönemine aittir. Ancak bu gelişim süreci içerisinde biyokimyasal gelişimler de çok fazla irdelenmemiştir. Yapılan çalışmada hazırlanan kontrol rasyonu kabuk değişimi süreci içerisinde kerevitlerin ihtiyaçlarını karşılayacak temel bir rasyondur. Canlı bu rasyonla düzenli beslendiğinde herhangi bir ölümle karşılaşmama ve kabuk değiştirme sürecini başlatan gastrolitleri oluşturmaktadırlar (9).

Bu çalışmada üç farklı doku tespit edilerek analizler yürütülmüştür. Fazla miktarda alınan besinlerin sentez ve depo edildiği, kerevit karaciğeri olarak isimlendirilen hepatopankreas, krustaselerin buldukları fizyolojik şartların belirlenmesinde anahtar organdır. Abdomen bölgesinden alınan kas kerevitlerin insanlar tarafından tüketilen kısmı, solungaç ise biotransformasyon ve solunum organıdır (29, 30) Çalışmamızda genel olarak vitamin E, C, A, beta karoten, astaksantin ve oksidatif stres göstergesi olan MDA'nın en yüksek değerlerinin hepatopankreasda olduğu tespit edildi. Yapılan bir çok çalışmada da bu parametrelerin hepatopankreasda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (27, 31-33).

Bütün canlılarda olduğu gibi akuatik organizmalarda da vücuda alınan ve ihtiyaçtan fazla olan besinler dokularda depo edilebilmektedir. Pan ve Chien (34) yaptığı çalışmada yeme ilave edilen astaksantin *P. monodon*'ların vücut astaksantin miktarını arttırdığını belirlemiştir. Hu ve ark. (35) tarafından yapılan çalışmada da yeme yüksek oranda yapılan (6000 IU kg⁻¹) vitamin A ilavesinin tilapia karaciğerinde depolandığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da K grubuna oranla DA grubundaki kerevitlerin dokularındaki vitamin A miktarının, DβC grubundaki kerevitlerin dokularında beta karoten miktarının, DAX grubunda ise astaksantin miktarının hepatopankreas, kas ve solungaç dokularında arttığı saptandı. Ayrıca bu çalışmada genel olarak kontrole oranla DA, DβC ve DAX gruplarındaki kerevit dokularında vitamin A, beta karoten ve astaksantin miktarının da yüksek olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarının azalması; kabuk değişimi esnasında artan oksidatif stresi önlemek, hücre ve dokuları serbest radikallere karşı korumak için bu maddelerin antioksidan olarak kullanılmasından kaynaklanabilir. Antioksidan içeren gruplarda vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarının yüksek olması ise bu maddelerin kendi antioksidan etkinliklerini kullanarak dokularda mevcut diğer antioksidan maddelere gereksinim duymamaları ile bağdaştırılabilir (15, 16).

Organizmanın prooksidan ve antioksidan dengesinin korunması, sağlıklı bir yaşam sürdürmesi için çok önemli ve gereklidir. Oksijenle sürekli temas halinde olmak reaktif oksijen oluşumuna sebep olmaktadır. Organizmada reaktif oksijen türleri; süperoksit anyonları (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali (OH^{*}), peroksit radikali (LOO^{*}) ve lipid peroksit gibi temelde oksijen kaynaklı metabolitlerdir. Bunlar organizmalar tarafından hücre içinde mitokondriyal solunum zincirinde veya hücre dışında, özellikle fagositler tarafından

oluşturulur. Metabolizma esnasında oluşan OH^{*}, HO₂ ve singlet oksijen gibi reaktif bir serbest radikal ile membran yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin etkileşimi sonucu lipid peroksidasyon meydana gelmektedir. Bu peroksidasyonun ikincil ürünü ise MDA olduğundan (18, 19, 27), çalışmada özellikle oksidatif stres göstergesi olarak incelendi. Yapılan analizler sonucunda, kabuk değiştirme döneminde K grubundaki *A. leptodactylus*'ların dokularındaki MDA değerlerinin yüksek olduğu görüldü. Böylece, kabuk değişiminin kerevitlerin de biyolojisi, hücre metabolizması ve fizyolojisini etkilediği teyit edildi. Kerevitler bu dönemde özellikle hepatopankreasda fosfat, glikojen, lipid ve protein gibi organik rezervleri biriktirerek kabuk değişimi için hazırlanırlar. Yağ asidi ve gliserol formundaki yağlar depolanan rezervlerin büyük bir kısmını oluşturur. Ayrıca metabolik aktivite kabuk değiştirme esnasında organik rezervlerin dönüşümü ve boşalımından dolayı yükselir. Dokulardaki oksijen tüketimi kabuk değiştirme öncesinde %1900'e kadar artabilir (6). Barım ve Yılmaz (32) kabuk değiştirme dönemindeki kerevitlerin MDA değerinin yükseldiğini enzimatik antioksidan (SOD, CAT, GSH-Px, GSH) değerlerinin büyük oranda değiştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca Cuzon ve ark. (7) kabuk değişimini fizyolojik bir kriz olarak ifade etmişlerdir. Çalışmalara paralel olarak; K grubundaki kerevitlerin; hepatopankreas, kas ve solungaç dokusundaki MDA düzeyinin artışı, *A. leptodactylus*'un kabuk değiştirme döneminde olmasından dolayı dokulardaki lipid miktarının ve metabolik aktivitenin artması, ancak antioksidan düzeyinin yetersiz kalarak serbest radikal miktarının yükselmesi ile ilişkilendirilebilir.

Vitamin A, beta karoten ve astaksantin serbest radikallerin tutunmasında yardımcı antioksidan maddelerdir. Lipit peroksidasyon esnasında açığa çıkan LOO^{*} lipofilik özelliğinden dolayı membranda erimiş halde bulunan karotenoidler ile reaksiyona girer ve kendisi daha zayıf oksidan olan lipid hidroperokside, karotenoidler ise zayıf radikal etkinlikli 'radikal karotenoid' dönüşür. Ancak bu radikal karotenoidler, ortamda mevcut olan peroksitlerle tepkimesini devam ettirerek çoklu merkezli radikaller oluşturur ve LOO^{*} ile tekrar tepkimeye girerek kendini radikal olmaktan kurtarır. Bu çalışmada DA, DβC ve DAX grubundaki kerevitlerin hepatopankreas, kas ve solungaç dokularındaki MDA değerinin istatistiksel açıdan önemli derecede düştüğü tespit edildi. Yapılan birçok çalışmada da antioksidan ilave edilen yemlerin stres esnasında dokulardaki MDA düzeyini düşürdüğü belirlenmiştir (14, 31, 32, 36, 37). Çalışmamızda DA, DβC ve DAX gruplarında MDA düzeyindeki azalma; rasyona ilave edilen antioksidanların hücre membranlarını ve özellikle bu yapıda yer alan doymamış yağ asidi moleküllerini, lipid peroksidasyondan koruyarak hücre yıkımını engelleyip, oksidatif strese karşı kerevitlerin dayanıklılığını yükseltmesi ile bağdaştırılabilir. Özellikle DAX grubundaki kerevit dokularında DA ve DβC oranla vitamin A, beta karoten ve astaksantin miktarının yüksek, MDA seviyesinin düşük olması astaksantin vitamin A ve beta karotenden daha etkin bir antioksidan olduğunu

gösterebilir. Astaksantin beta karotenden 10 kez daha güçlü bir antioksidan olduğu yapılan çalışmada da rapor edilmiştir (36). Wang ve ark. (37) tarafından yapılan çalışmada karotenoid ilave edilen yemle beslenen *H. callistus*'larda özellikle astaksantin antioksidan enzimler üzerinde beta karotenden daha etkin olduğu belirlenmiştir.

Yapılan alışma sonunda, kabuk değiştirme döneminde kerevitlerde oksidatif stresin olduğu ancak

olan kerevitlerin yemlerine antioksidan madde katılarak dokulardaki oksidatif stresin düşürülebileceği belirlendi. Astaksantin bu dönemde vitamin A ve beta karotenden daha etkin bir antioksidan olduğu saptandı. Ayrıca insanlar tarafından tüketilen kerevitlerin abdomen kasının vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin düzeyinin kabuk değiştirme döneminde oldukça önemli miktarda azaldığıda tespit edildi.

Kaynaklar

- Harlıoğlu M, Yonar SM. Yabancı tatlı su istakozu türlerinin Türkiye'ye stoklanmasının meydana getirebileceği muhtemel sonuçlar. Ege Üniv Su Ürünleri Derg 2007; 24: 213-218.
- Mazlum Y, Yılmaz, E. Kerevitlerin Biyolojisi ve Yetiştiriciliği. Mustafa Kemal Üniversitesi Yayınları No: 34, İskenderun: Color Ofset Yayıncılık Ltd şti, 2002.
- Kumlu M. Karides, İstakoz ve Midye Yetiştiriciliği. ukurova Üniv. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 6, Adana: Gürdal Ofset, 2001.
- Diler Ö. Tatlısu İstakozu Üretimi. Ankara: Nobel Yayınevi, 2013.
- Harlıoğlu MM, Barım Ö. The effect of dietary vitamin E on the pleopodal egg and stage-1 juvenile numbers of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). Aquaculture 2004; 236: 267-276.
- Aiken DE, Waddy SL. The growth process in crayfish. Reviews in Aquatic Sciences 1992; 6: 335-381.
- Cuzon, G, Guillaume J, Cahu C. Composition, preparation and utilization of feeds for crustacea. Aquaculture 1994; 124 : 253-267.
- Scott-Fordsmand JJ, Depledge MH. Changes in the tissue concentrations and contents of calcium, copper and zinc in the Shore Crab (*Carcinus maenas* L.) (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle and following copper exposure during ecdysis. Marine Environmental Research 1997; 44: 397-414.
- Lowery RS. Growth, moulting and reproduction. In: Holdich DM, Lowery R. (Editors). Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitaiton. London: Timber Press, Chapman and Hall, 1998: 83-114.
- Barım Ö. Keban Baraj Gölü'nde Yaşayan Tatlı Su İstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) Rasyonuna Farklı Oranlarda İlave Edilen Vitamin E'nin Etkileri. Doktora tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.
- Atay D. Kabuklu Su Ürünleri ve Üretim Tekniği. Ankara Ziraat Fakültesi. Yayınları No:1478, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1997.
- Goddard JS. Food and Feeding. In: Holdich DM, Lowery R. (Editors). Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitaiton. London: Timber Press, Chapman and Hall, 1998: 145-167.
- Wade NM, Gabaudan J, Glencross BD. A review of carotenoid utilisation and function in crustacean aquaculture. Reviews in Aquaculture 2015; 0: 1-16.
- Wouters R, Lavens P, Nieto J, Sorgeles P. Penaeid shrimp broodstock nutrition: An updated review on research and development. Aquaculture 2001; 202: 1-21.
- Kiokias S, Gordon MH. Antioxidant properties of carotenoids in vitro and in vivo. Food Reviews International 2004; 20: 99-124.
- Skibsted LH. Carotenoids in antioxidant Networks. Colorants or radical scavengers, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2012; 60: 2409-2417.
- Winston GW, Giulio RTD. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquatic Toxicology 1991; 19: 137-161.
- Benzie FF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. Eur J Nutr 2000; 39: 53-61.
- Regoli F, Giuliani ME. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. Marine Environmental Research 2014; 93: 106-117.
- Wheatly MG, Zanotto FP, Hubbard MG. Calcium homeostasis in crustaceans: Subcellular Ca Dynamics. Com Bioc Physiol Part B 2002; 132: 163-178.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis (14th Edition), Association of Official Analytical Chemists. Inc. Arlington 1984.
- D'Abramo LR, Conklin DE. New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridean species of shrimp. In: Browdy CL, Hopkins JS. (Editors). Swimming through troubled water, proceedings of the special session on shrimp farming, Aquaculture'95. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society, 1995; 95-107.
- Meyers SP, Latscha T. Carotenoids. In: D'Abramo LR, Conklin DE, Akiyama DM. (Editors). Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture, United States of America, 1995; 6, 164-193.
- Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H, Tacon AGJ. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 2001; 197: 25-42.
- Miller KW, Lorr NA, Yang CS. Simultaneous determination of plasma retinol α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography. Analytical Biochem 1984; 138: 340-345.
- Cerhata D, Bauerova A, Ginter E. Determination of ascorbic acid in blood serum using high performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric

- (colorimetric) determination. Caska-Slov-Farm 1994; 43: 166-168.
27. Barım O, Karatepe M. The effects of pollution on the vitamins A, E, C, beta-carotene contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 2010; 73: 138-142.
 28. Petit H, Negre-Sadargeus G, Castillo R, Trilles JP. The effects of dietary astaxanthin on growth and moulting cycle of postlarval stages of the prawn, *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Comp Biochem Physiol* 1997; 117A: 539-544.
 29. Muriana FJ, Ruiz-Gutierriz V, Bolufer J. Phospholipid fatty acid composition of hepatopancreas and muscle from prawn, *Penaeus japonicus*. *J Biochem* 1993; 114: 404-407.
 30. Borković SS, Pavlović SZ, Kovačević TB, et al. Antioxidant defence enzyme activities in hepatopancreas, gills and muscle of Spiny cheek crayfish (*Orconectes limosus*) from the River Danube. *Comparative Biochem Physiol Part C* 2008; 147: 122-128.
 31. Hamre K, Christiansen R, Waagbo R, et al. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): Effects on growth performance and filet quality. *Aquaculture Nutr* 2004; 10: 113-123.
 32. Barım-Öz O, Yılmaz S. The determination of effect of vitamin E, C, ataxanthin and β -carotene on axidative stres in some tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) in moulting period. e-journal of New World Sciences Academy 2009; 4: 3B0006, ISSN:1306-3111.
 33. Hamre K. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutr* 2011;17: 98-115.
 34. Pan CH, Chien YH. Effects of dietary astaxanthin on body astaxanthin, growth and survival of *Penaeus monodon* postlarvae. *J Fish Soc* 2004; 31: 269-280.
 35. Hu CJ, Chen SM, Pan CH, Huang CH. Effects of dietary vitamin A or β -carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O aureus*. *Aquaculture* 2006; 253: 602-607.
 36. Chien YH, Pan CH, Hunter B. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture* 2003; 216: 177-191.
 37. Wang Y, Chien YH, Pan CH. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobry concallistus*. *Aquaculture* 2006; 261: 641-648.