



Kabuk Değişirme Döneminde Kerevit (*Astacus leptodactylus*, Esch. 1823) Yemine İlave Edilen Vitamin E ve C'nin Büyüme, Oksidatif Stres, Vitamin A, E, C ve Beta Karoten Üzerine Etkileri

Özden BARIM-ÖZ¹✉, Mustafa KARATEPE

1. Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
2. Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
25.03.2016	31.10.2016	31.12.2016

Öz: Bu araştırmada; kabuk değişirme döneminde olan *Astacus leptodactylus* türü kerevitlerin yemine ilave edilen antioksidanların (vitamin E, C) yaşama oranı, canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, hepatopankreas, kas ve solungaç dokularındaki oksidatif stres (malondialdehit (MDA)), vitamins A, E, C, beta karoten ve astaksantin miktarı üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla %38 oranında ham protein içeren bir kontrol rasyonu (K) düzenlenmiştir. Bu rasyona 150 mg kg⁻¹ vitamin E, 200 mg kg⁻¹ vitamin C ve 150 mg kg⁻¹ vitamin E/200 mg kg⁻¹ vitamin C ilave edilerek sırasıyla deneme E (DE), deneme C (DC) ve deneme DEC (DEC) grupları beslenmiştir. Çalışma sonunda; yeme ilave edilen antioksidan maddelerin kerevitlerin kabuk değişirme döneminde dokulardaki MDA değerini düşürdüğü ancak büyüme üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir. Kontrol grubuna oranla DE, DC ve DEC grubundaki kerevitlerin dokularındaki vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarlarının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kabuk değişirme döneminde 150 mg kg⁻¹ vitamin E'nin yeme ilave edilmesinin yararlı olacağı belirlenmiştir. Ayrıca insanlar tarafından tüketilen kerevitlerin abdomen kasının et kalitesinin de kabuk değişirme döneminde oldukça önemli miktarda azaldığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Astacus leptodactylus*, Karotenoid, MDA, Vitamin.

The Effects on Growth, Oxidative stress, Vitamin A, E, C and Beta Caroten of Vitamin E and C Added to the Ration of Freshwater Crayfish (*Astacus leptodactylus*, Esch. 1823) in Moulting Period

Abstract: In this study, it was examined the effects of dietary antioxidant (vitamin E (VE), vitamin C (VC)) which supplemented on crayfish *Astacus Leptodactylus* diets during moulting on survival rate, live weight gain, specific growth rate, oxidative stress in hepatopancreas, muscle and gills tissues (malondialdehyde (MDA)), vitamins A, E, C, amount of β -carotene and astaxanthin. For this aim, a control diet (K) containing 38% crude protein was prepared. Crayfish of the experimental E (DE), experimental C (DC) and experimental DC (DEC) groups were respectively fed by adding the 150 mg kg⁻¹ vitamin E, 200 mg kg⁻¹ vitamin C and 150 mg kg⁻¹ and vitamin E /200 mg kg⁻¹ vitamin C in this ration. At the end of the study, it was determined that the supplemental of antioxidants in the diet decreased MDA levels in the tissues during moult, but it wasn't effected on the growth. It was assigned that the levels of vitamin E, C, A, beta-carotene, and astaxanthin were high in the tissues of crayfish in the DE, DC and DEC groups according to C group. It was determined that the addition of 150 mg kg⁻¹ vitamin E to the diet during moulting is beneficial. Additionally, the meat quality of abdominal muscles of crayfish which consumed by people was also found to be reduced in a considerable amount during molting.

Keywords: *Astacus leptodactylus*, Carotenoid, MDA, Vitamin.

GİRİŞ

Crustacea (kabuklular) sınıfında yer alan ve ekonomik krustaselerden olan *A. leptodactylus* (kerevit) birçok habitatta yaşama yeteneğine sahiptir. Özellikle Kuzey Amerika'nın güney eyaletlerinde, Avrupa ve Avusturalya'da yetiştiriciliği yapılmaktadır (1). Ülkemizde doğal olarak bulunan ve önemli bir ihraç ürünü olan bu kerevit türüne ait doğal stokların hızla azalması, bu ürünün verimini artırmak için araştırma yapma gerekliliğini ortaya koymuştur (2).

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 hayvanın dış kabuğunun periyodik değişimini içeren bir süreçtir (3-6). Krustaselerin bütün gelişim dönemlerinde olduğu gibi bu dönemlerinde de beslenmesi için gerekli olan, vücutta sentezlenemeyen ve dışarıdan alınması gereken bazı maddeler vardır. Bu maddelerden bazıları vitamin E, C ve karotenoid grubuna aittir (3,6,7). Vitamin E, yağda eriyen, ısıya dayanıklı güçlü bir antisteril vitamindir (2). Vitamin C, metabolik olarak kuvvetli bir reduktan, interselüler materyalin oluşması ve muhafazası ile ilgilidir (8). Bu iki grubun bilinen en önemli özelliklerinden biri de enzimatik olmayan antioksidan veya serbest radikal giderici olmalarıdır (2,8).

Serbest radikaller normal metabolizma esnasında sürekli olarak üretilmektedir. Ancak vücudun savunma mekanizmasının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrenel bileşenlere zarar vermektedirler. Özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımına (lipid peroksidasyon) sebep olurlar. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonu inhibe ederler. Bu antioksidanlar; endojen enzimler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), gluttayon peroksidaz(GSH-Px) gibi.), enzim olmayanlar (Vitamin

E, C, A, karoten gibi), eksojen ve gıda antioksidanları olarak bölümlere ayrılırlar (9).

Yapılan araştırma sonuçlarına dayanılarak oluşturulan bu çalışmada; kabuk değişirme döneminde olan kerevitler kontrol yemi ve antioksidan madde (vitamin E, C, E/C) içeren yemlerle beslenerek; yaşama oranı, canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, hepatopankreas, kas ve solungaç dokularındaki oksidatif stres (MDA) ve enzimatik olmayan antioksidanların (vitamin E, C, A, beta karoten, astaksantin) düzeyleri araştırıldı. Elde edilen bulgularla; bu dönemde doku özelliğine göre oksidatif stres ile bu vitaminler ve karotenoid maddeler arasındaki ilişki saptandı. Böylece; hem yetiştiricilik çalışmalarında kerevitlerin kabuk değişirmesi esnasında bağışıklık sistemlerini güçlendirmek amacıyla yapılacak yem formüllerinin oluşturulmasına katkı sağlanacak hem de insan gıdası olarak tüketilen abdomen kasının besin kalitesinin kabuk değişirme döneminden etkilenme oranı tespit edilecektir.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma 16 Temmuz-30 Eylül 2014 (76 gün) tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışma esnasında yerel etik kurul ilkelerine uyulmuştur. Çalışmada kullanılan kerevitler Keban Baraj Gölü Aydıncık popülasyonundan yakalanmıştır.

Kerevitlerin hazırlanan yemlerle beslenmesi için 12 adet fiberglas tank (110 x 25 x 25 cm) kullanılmıştır. Bu tanklara yeterli plastik borular ve havalandırmalar bırakılmıştır. Tanklarda ortalama su sıcaklığının 19.20 ± 2.04 °C, çözülmüş oksijen miktarının 6.15 ± 0.27 mg/L, pH'nın ise 7.43 ± 0.31 olduğu tespit edilmiştir. Kerevitlerin laboratuvar şartlarına 10 günlük adaptasyonlarından sonra her bir tanka 10 adet kerevit olmak üzere toplamda 120 adet kerevit yerleştirilmiştir. Bu esnada kontrol (18.17 ± 1.67 g, 40.99 ± 0.78 mm), DE (17.99 ± 2.03 g, 41.34 ± 0.21 mm), DC (18.09 ± 2.07 g, 40.97 ± 0.86 mm)

ve DEC (17.54±1.91 g, 40.77±0.80 mm) gruplarına ait kerevitlerin ağırlıkları ve uzunlukları arasında istatistiksel açıdan fark olmamasına dikkat edilmiştir. Kerevitlere ağırlıklarının %2'si oranında günlük olarak yem verilmiştir.

Araştırmada kullanılan kontrol rasyonu Barım (2) ve Wheatly ve ark., (10) na göre düzenlenmiştir (Tablo 1). Kontrol rasyonunun ham besin madde düzeyleri Weende analiz metotlarına göre belirlenmiştir (11).

Tablo 1. Kontrol yeminin kompozisyonu ve analizi (%).

Table 1. The composition and analysis of the control diet (%).

Yem Bileřimi	K	DE	DC	DEC
Balık unu	35.78	35.78	35.78	35.78
Soya Küşpesi	37.74	37.725	37.720	37.705
Buęday unu	19.40	19.40	19.40	19.40
Bitkisel Yağ	4.00	4.00	4.00	4.00
Sodyum fosfat	0.40	0.40	0.40	0.40
Dikalsiyum fosfat	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamin karması ⁽¹⁾	0.50	0.50	0.50	0.50
Mineral karması ⁽²⁾	0.18	0.18	0.18	0.18
Vitamin E	-	0.015	-	0.015
Vitamin C	-	-	0.020	0.020
Toplam	100.00	100.00	100.00	100.00
Ham Besin Maddeleri				
Protein	38.52	38.49	38.54	38.50
Yağ	7.63	7.61	7.64	7.60
Kül	14.90	14.94	14.98	14.95
Selüloz	4.00	4.00	3.98	4.00
Azotsuz Öz Madde	28.51	28.53	28.46	28.48
Nem	6.44	6.43	6.40	6.47
Toplam	100.00	100.00	100.00	100.00

K: Kontrol, DE: Deneme E yemi, DC: Deneme C yemi, DEC: Deneme EC yemi, (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.

Bu rasyona ilave edilen VE (150 mg kg⁻¹) (2) ve VC (200 mg kg⁻¹) (8) krutaselerle ilgili yapılan

çalışmalar göz önüne alınarak oluşturuldu. Yüksek performanslı likid kromatografisi (HPLC) ile yapılan

analizler sonucunda kontrol yeminin 13.12 ± 2.03 mg kg^{-1} vitamin E, 16.11 ± 2.03 mg kg^{-1} vitamin C, 2.51 ± 0.17 mg kg^{-1} vitamin A, 1.30 ± 0.61 mg kg^{-1} astaksantin, 15.22 ± 1.28 mg kg^{-1} beta karoten, DE yeminin 135.16 ± 1.75 mg kg^{-1} vitamin E, DC yeminin 181.12 ± 1.45 mg kg^{-1} vitamin C, DEC yeminin ise 133.12 ± 1.61 mg kg^{-1} vitamin E ve 182.27 ± 2.05 mg kg^{-1} vitamin C içerdiği tespit edilmiştir (12).

Dört farklı yemle 66 gün kerevitlerin beslenmesi sonunda yaşama oranı ve bazı büyüme parametreleri belirlenmiştir (2). Bunlar:

Yaşama Oranı (%): $(\text{Den.Boy. Hayatta Kalan Kerevit. Sayısı}) / (\text{Den. Baş. Kerevit.Sayı}) \times 100$

Canlı Ağırlık Artışı: $\text{Deneme Sonu Ort. Ağ.} - \text{Deneme Baş. Ort. Ağ.}$

Spesifik Büyüme Oranı: $[(\text{Log}_e \text{ Deneme sonu Ort.Ağ.}) - (\text{Log}_e \text{ Deneme Baş. Ort.Ağ.})] / \text{Deneme Süresi}] \times 100$

Araştırma sonunda kerevitlerin hepatopankreas, kas ve solungaçları çıkarılarak analize kadar $-80^\circ C$ 'de muhafaza edilmiştir.

Biyokimyasal Analizler

Vitamin C ve MDA düzeylerinin analizi için dokular $1000-1500$ mg arasında tartılarak ayrıldı. Perklorik asit ve saf su ile homojenize edildi. Her bir

örnek 20 dk vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2500 RPM'de 45 dk santrifüj edildi. HPLC'de okunan örnekler mg kg^{-1} olarak hesaplandı (12). Vitamin E, A ve beta-caroten düzeylerinin analizleri için ise dokular $200-1000$ mg arasında tartılarak ayrıldı. Sülfirik asit (2 ml) ile homojenize edildikten sonra tüplere bırakılarak üzerine 2 ml etanol bırakıldı. Her bir örnek 5 dk vorteks ile karıştırıldı ve üzerine 0.3 ml hekzan ilave edildi. Tüpler 2500 RPM'de 5 dk santrifüj ile muameleden sonra 200 μ l hekzan tekrar ilave edilerek 2500 RPM'de 5 dk tekrar santrifüj edildi. HPLC'de okunan örnekler mg kg^{-1} olarak değerlendirildi (12).

İstatistiksel Analiz

İncelenen parametrelere ait değerlerin karşılaştırılmasında 'SPSS 21,0' paket programı kullanılarak One Way Anova testi uygulandı.

BULGULAR

Çalışma sonucunda belirlenen, kerevitlerin canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve yaşama oranları Tablo 2'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda kontrol ve deneme grupları arasında bu parametreler arasında önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarındaki kerevitlerin yaşama ve büyüme oranları.

Table 2. Survival and growth rates of the crayfish in control and experimental groups.

T	K	VE	VC	VEC	P
A_B	18.17 ± 1.67	17.99 ± 2.03	18.09 ± 2.07	17.54 ± 1.91	-
n	30	30	30	30	-
A_S	19.60 ± 1.42	19.16 ± 1.81	19.22 ± 1.90	18.94 ± 1.75	-
n	27	28	28	27	-
YO	90.00	93.33	93.33	90.00	-
CAA	1.47 ± 0.10	1.48 ± 0.11	1.51 ± 0.10	1.48 ± 0.13	-
SBO	0.0447 ± 0.0005	0.0450 ± 0.0008	0.0445 ± 0.0005	0.0450 ± 0.0008	-

T: Tespit edilen parametreler, K: Kontrol, DE: Deneme E grubu, DC: Deneme C grubu, DEC: Deneme EC grubu, A_B : Kerevitlerin ortalama başlangıç ağırlığı, n: Kerevitlerin sayısı, A_S : Kerevitlerin ortalama son ağırlığı, YO: Kerevitlerin ortalama yaşama oranı, CAA: Kerevitlerin ortalama canlı ağırlık artışı, SBO: Kerevitlerin ortalama spesifik büyüme oranı, $-P > 0.05$.

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda elde edilen değerler Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarındaki kerevit dokularına ait analiz sonuçları (Not: n=10, P1: Grup içi doku karşılaştırmalarında istatistiksel önem derecesi, farklılık düzeyinin tanımlanmasında K, L, M harfleri kullanıldı. P2: Aynı dokuya ait grup karşılaştırmalarında istatistiksel önem derecesi, farklılık düzeyinin tanımlanmasında a, b, c harfleri kullanıldı, -: P>0.05, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

Table 3. The analysis results in the tissues of crayfish in control and experimental groups (Note: n=10, P1: K, L, M letters were used in the comparison of statistical significance of tissues in the groups, P2: a, b, c letters were used in the comparison of statistical significance of groups in the same tissues, -: P>0.05, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

Parametre	Doku	Araştırma Grupları				P1
		K	DE	DC	DEC	
MDA (mg kg ⁻¹)	H	2.47±0.23 ^{K/a}	1.06±0.10 ^{K/b}	1.19±0.01 ^{K/b}	1.31±0.36 ^{K/b}	***
	M	1.23±0.06 ^{L/a}	0.74±0.07 ^{L/b}	0.81±0.09 ^{M/b}	0.78±0.05 ^{L/b}	***
	G	1.23±0.05 ^{L/a}	0.98±0.06 ^{K/b}	0.94±0.12 ^{L/b}	0.96±0.10 ^{L/b}	***
	P2	***	***	***	**	
E (mg kg ⁻¹)	H	1.07±0.04 ^{K/b}	1.99±0.13 ^{K/a}	0.97±0.02 ^{K/b}	2.09±0.10 ^{K/a}	***
	M	0.08±0.01 ^{M/b}	0.14±0.06 ^{M/a}	0.16±0.03 ^{M/a}	0.17±0.03 ^{M/a}	***
	G	0.53±0.02 ^{L/b}	0.84±0.05 ^{L/a}	0.44±0.01 ^{L/b}	0.90±0.05 ^{L/a}	***
	P1	***	***	***	***	
C (mg kg ⁻¹)	H	30.49±1.98 ^{K/c}	44.14±1.60 ^{K/b}	68.57±1.16 ^{K/a}	71.64±3.16 ^{K/a}	***
	M	16.04±0.96 ^{L/c}	20.84±1.22 ^{M/b}	30.49±1.99 ^{M/a}	32.13±2.64 ^{L/a}	***
	G	32.06±2.36 ^{K/b}	28.51±2.01 ^{L/c}	37.44±1.36 ^{L/a}	34.02±2.01 ^{L/a}	***
	P1	***	***	***	***	
A (mg kg ⁻¹)	H	0.023±0.002 ^{K/c}	0.092±0.004 ^{K/a}	0.043±0.004 ^{K/b}	0.081±0.005 ^{K/a}	***
	M	0.005±0.001 ^{L/c}	0.015±0.001 ^{M/a}	0.007±0.001 ^{M/b}	0.016±0.002 ^{M/a}	***
	G	0.005±0.001 ^{L/a}	0.024±0.002 ^{L/a}	0.014±0.002 ^{L/b}	0.022±0.001 ^{L/a}	***
	P1	***	***	***	***	
AX (mg kg ⁻¹)	H	0.03±0.001 ^{M/c}	0.32±0.02 ^{K/a}	0.25±0.01 ^{K/b}	0.33±0.03 ^{K/a}	***
	M	0.07±0.008 ^{L/c}	0.17±0.01 ^{M/b}	0.26±0.02 ^{K/a}	0.24±0.02 ^{L/a}	***
	G	0.15±0.008 ^{K/b}	0.23±0.01 ^{L/a}	0.11±0.01 ^{L/c}	0.23±0.01 ^{L/a}	***
	P1	***	***	***	***	
βC (mg kg ⁻¹)	H	3.08±0.06 ^{K/c}	6.22±0.46 ^{K/a}	5.01±0.23 ^{K/b}	6.09±0.38 ^{K/a}	***
	M	1.52±0.06 ^{M/a}	1.23±0.13 ^{M/b}	1.20±0.13 ^{M/b}	1.60±0.09 ^{M/a}	**
	G	2.06±0.10 ^{L/a}	2.08±0.17 ^{L/a}	2.07±0.14 ^{L/a}	2.46±0.11 ^{L/a}	-
	P1	***	***	***	***	

K: Kontrol, DE: Deneme E grubu, DC: Deneme C grubu, DEC: deneme EC grubu, H: Hepatopankreas, M: Kas, G: Solungaç, MDA: Malondialdehit, E: Vitamin E, C: Vitamin C, A: Vitamin A, AX: Astaksantin, βK: Beta Karoten.

Araştırma sonucunda hepatopankreas, kas ve solungaç dokusundaki MDA seviyesinin K grubuna göre DE (%57.08, %39.83, %20.33), DC (%51.82, %34.15, %23.58) ve DEC (%46.96, %36.59, %21.95) gruplarında önemli derecede düşük olduğu bulunmuştur. En yüksek MDA değerinin DE grubunda hepatopankreas ve solungaçta, K, DC ve DEC gruplarında ise hepatopankreasta olduğu saptanmıştır. Vitamin E miktarının K grubuna göre DE ve DEC gruplarındaki kerevitlerin hepatopankreasında (%85.98, %95.33), kasında (%75.00, %112.5) ve solungacında (%58.49, %69.81)

yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu miktar K grubuna göre DC grubundaki kerevitlerin sadece kasında %100 yüksek idi. Kontrol, DE, DC ve DEC grubundaki kerevitlerde en yüksek vitamin E değerinin hepatopankreasta daha sonra solungaç ve kasta olduğu tespit edilmiştir. Kerevitlerin hepatopankreasındaki vitamin C miktarının K grubuna göre DE (%44.77), DC (%124.89) ve DEC (%134.96) gruplarında yüksek olduğu bulunmuştur. Kastaki bu değer DE (%29.93), DC (%90.08) ve DEC (%100.31) grubundaki kerevitlerde kontrolden daha yüksekti. Fakat solungaçtaki vitamin C miktarı K

grubuna göre DE grubunda %11.07 düşük, DC grubunda %16.78 ve DEC grubunda %6.11 oranında yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca vitamin C miktarının K grubunun hepatopankreas ve solungacında, DE, DC ve DEC grubundaki kerevitlerin hepatopankreasında diğer dokulara oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Vitamin A miktarının DE grubunun hepatopankreasında %300.00, solungacında %380.00 ve kasında %200.00, DC grubunun hepatopankreasında %86.96, kasında %40.00 ve solungacında %180.00 oranında kontrolden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Dört araştırma grubunda da hepatopankreasdaki vitamin A değerinin diğer dokulardan yüksek olduğu belirlenmiştir.

Kerevitlerin hepatopankreas ve kasındaki astaksantin miktarının K grubuna göre DE (%966.67, %142.86), DC (%733.33, %271.43) ve DEC (%1000.00, %242.86) gruplarında yüksek olduğu bulunmuştur. Fakat solungaçtaki astaksantin miktarı kontrole göre DE ve DEC gruplarında %53.33 yüksek, DC grubunda %26.67 düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kerevitlerdeki astaksantin miktarının K grubunun solungacında DE ve DEC gruplarının hepatopankreasında, DC grubunun ise hepatopankreas ve kasda diğer dokulara oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hepatopankreastaki beta karoten miktarının K grubuna göre DE (%101.95), DC (%62.66) ve DEC (%97.73) gruplarında yüksek olduğu bulunmuştur. Kasdaki bu karoten miktarının K grubuna göre DE (%19.08) ve DC (%21.05) gruplarında düşük olduğu saptanmıştır. Solungaç dokusunda gruplar arasında herhangi bir farkın olmadığı görülmüştür. Bütün araştırma gruplarında da hepatopankreasdaki beta karoten miktarının diğer dokulardan yüksek olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sucul organizmaların yemlerine antioksidan madde ilave edilerek yapılan çalışmalarda, bu maddelerin bağışıklık sistemini ve üremeyi olumlu etkilediği, ancak büyüme üzerine kontrol yeminden

farklı bir etki oluşturmadığı rapor edilmiştir (2,6,7,8). Bu çalışmada da kontrol yemine vitamin E ve C ilave edilerek yapılan besleme sonucunda bu maddelerin kerevitlerin yaşama oranı ve büyüme parametreleri üzerine etkili olmadığı tespit edilmiştir. Barım (2) ve Barım-Oz ve Yılmaz (13) yaptıkları çalışmada kontrol yemine farklı oranlarda ilave edilen antioksidan maddelerin *A. leptodactylus*' ların yaşama oranı ve büyüme performansları üzerinde etkili olmadığını ve bu canlıların oldukça yavaş büyüme özelliğine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Kabuklu canlılarda yapılan bir çok çalışmada da büyümenin yavaş olduğu teyit edilmiştir. Örneğin; SBO değerini Jussila (14) *C. tenuimanus*'da 0.4-0.7; Jussila ve Evans (15) *A. astacus*'larda 0.1-0.2, *P. leniusculus*'larda 0.1 ve Barım-Oz ve Yılmaz (13) *A. leptodactylus*'larda 0.11 olarak tespit etmişlerdir. Veriler arasındaki fark hem su kalitesi, yem ve tür farklılığından hem de kerevitler kabuk değişirme döneminde olduklarından verilen yemi ete çevirmekten ziyade biyolojik performansları için kullanmalarından kaynaklanabilir.

Krustaseler için kabuk değişirme yaşama, büyüme ve üreme gibi organizmanın varlığının temel bir parçasıdır (2-5). Bu dönemin sıklığı kabuk değişirmeyi izleyen doku büyümesinin oranı tarafından sınırlanır. Besleme ise doku büyümesi ve gelişiminde ana etmenlerden biridir. Fazla miktarda alınan besinlerin sentez ve depo edildiği, kerevit karaciğeri olarak isimlendirilen hepatopankreas, krustaselerin buldukları fizyolojik şartların belirlenmesinde anahtar organdır (2). Çalışmamızda genel olarak vitamin E, C, A, beta karoten, astaksantin ve MDA'nın en yüksek değerlerinin hepatopankreasda olduğu tespit edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada da bu parametrelerin hepatopankreasda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (12,16-18).

Bütün canlılarda olduğu gibi sucul organizmalarda da vücuda alınan fazla besinler dokularda depo edilmektedir. Örneğin; Vitamin E ilave edilen yemlerle besleme sonucunda *S. salar*'ların karaciğerinde (19), *S. maximus*'un

karaciğer ve kasında (20), *E. malabaricus*'un hepatik dokularında (21) vitamin E miktarının, Vitamin C ilave edilen yemlerle besleme sonucunda ise *M. salmoides*'lerin karaciğer dokusunda (22) vitamin C miktarının yükseldiği belirlenmiştir. Bu çalışmada K grubuna oranla DE grubundaki kerevitlerin dokularındaki vitamin E miktarının, DC grubundaki kerevitlerin dokularında ise vitamin C miktarının hepatopankreas, kas ve solungaç dokularında arttığı tespit edilmiştir. Ancak hem vitamin E hem de vitamin C ilave ettiğimiz gruptaki vitamin E ve C miktarının DE ve DC gruplarından farklı olmadığı ancak K grubuna oranla daha yüksek olduğu belirlendi. Hamre ve ark. (16) tarafından yapılan çalışmada da *S. salar*'ların karaciğer dokularındaki vitamin E ve C miktarının, bu maddelerin ilave edildiği grupta yükseldiği ancak her iki vitamin ilavesinin yapıldığı grupta bu değerlerde diğer gruplara oranla önemli bir yükselmenin olmadığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada genel olarak kontrole oranla DE, DC ve DEC 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 değişirme esnasında artan oksidatif stresi önlemek, hücre ve dokuları serbest radikallere karşı korumak için bu maddelerin antioksidan olarak kullanılmasından kaynaklanabilir. Antioksidan içeren grupta vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin miktarının yüksek olması ise bu maddelerin kendi antioksidan etkinliklerini kullanarak dokularda mevcut diğer antioksidan maddelere gereksinim duymamalarından kaynaklanmaktadır. Özellikle vitamin E grubunda ki kerevit dokularında vitamin A, beta karoten ve astaksantin miktarının yüksek olması vitamin C'den daha etkin bir antioksidan olduğunu gösterebilir. Hamre ve ark. (17) da yaptıkları çalışmada vitamin C'ye oranla vitamin E'nin daha etkin, hatta anahtar bir antioksidan olduğunu tespit etmişlerdir.

Organizmada reaktif oksijen türleri; süperoksit anyonları (O_2^*), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^*), peroksit radikali (LOO^*) ve lipid

peroksit gibi temelde oksijen kaynaklı metabolitlerdir (9). Bu metabolitler sonucu oluşan peroksidasyonun ikincil ürünü ise malondialdehit (MDA) olduğundan (12), araştırmada özellikle oksidatif stres göstergesi olarak incelendi. Yapılan analizler sonucunda, kabuk değişirme döneminde K grubundaki *A. leptodactylus*'ların dokularındaki MDA değerlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Böylece, kabuk değişirmenin kerevitlerin de biyolojisi, hücre metabolizması ve fizyolojisini etkilediği teyit edilmiştir. 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 değişirme esnasında organik rezervlerin dönüşümü ve boşalımından dolayı yükselir. Dokulardaki oksijen tüketimi kabuk değişirme öncesinde %1900'e kadar artabilir (3). Barım ve Yılmaz (18) kabuk değişirme dönemindeki kerevitlerin MDA değerinin yükseldiğini SOD, CAT, GSH-Px ve GSH gibi enzimatik antioksidan değerlerinin büyük oranda değiştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca Cuzon ve ark. (4) 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 değişirme döneminde olmasından dolayı dokulardaki lipid miktarının ve metabolik aktivitenin artması, ancak antioksidan düzeyinin yetersiz kalarak serbest radikal miktarının yükselmesi ile ilişkilendirilebilir.

Lipit peroksidasyon esnasında açığa çıkan LOO^* lipofilik özelliğinden dolayı membranda erimiş halde bulunan E vitamini ile reaksiyona girer ve kendisi daha zayıf oksidan olan lipid hidroperokside, E vitamini ise zayıf radikal etkinliği 'radikal E vitaminine' dönüşür. Ancak bu radikal vitamin E, ortamda mevcut olan vitamin C ile reaksiyona girerek kendisi aktif vitamin E olur. Bu reaksiyon sonucunda oluşan zayıf oksidan radikal vitamin C ise $2H^+$ ile reaksiyona girerek tekrar aktifleşebilir (9,23). Bu çalışmada DE, DC ve DEC grubundaki kerevitlerin hepatopankreas ve kas

dokularındaki MDA değerinin istatistiksel açıdan önemli derecede düştüğü tespit edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada da vitamin E ve C ilave edilen yemlerin stres esnasında dokulardaki MDA düzeyini düşürdüğü belirlenmiştir (2,9,18,22,23). Ayrıca bu çalışmada hem vitamin E hem de vitamin C ilave edilen yemle beslenen DEC kerevit dokularındaki MDA değerinin DE ve DC grubu kerevit dokularındaki MDA değerinden farklı olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmaya paralel olarak Hamre ve ark. (16) tarafından yapılan çalışmada da yeme ilave edilen vitamin E ve C'nin *Salmo salar*'ların karaciğerindeki MDA düzeyini K grubuna oranla düşürdüğü, ancak vitamin E ile C karışımı ilave edilen yemlerle beslenen balık dokusundaki MDA değerinin K grubundan düşük, diğer gruplarla benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada DE, DC ve DEC 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.

Sonuç olarak, insanlar tarafından tüketilen kerevitlerin abdomen kasının vitamin E, C, A, beta karoten ve astaksantin düzeyinin kabuk değişirme döneminde oldukça önemli miktarda azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca kabuk değişirme döneminde olan kerevitlerin yemlerine antioksidan madde katılarak dokulardaki oksidatif stresin düşürülebileceği ve vitamin E'nin vitamin C'den daha etkin olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Kumlu M., 2001. Karides, istakoz ve midye yetiştiriciliği. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Adana.
2. Barım Ö., 2005. Keban Baraj Gölü'nde yaşayan tatlısu istakozu (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) rasyonuna farklı oranlarda ilave edilen vitamin E'nin etkileri. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
3. Aiken DE., Wadd SL., 1992. The growth process in crayfish. *Reviews in Aquatic Sciences*, 6, 335-381.
4. Cuzon G., Guillaume J., Cahu C., 1994. Composition, preparation and utilization of feeds for crustacea. *Aquaculture*, 124, 253-267.
5. Scott-Fordsmand JJ., Depledge MH., 1997. 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*, 44, 397-414.
6. Lowery RS., 1998. Growth, moulting and reproduction. In "Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation", Eds., DM Holdich, R Lowery, Chapman and Hall, London.
7. Goddard JS., 1988. Food and feeding. In "Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation", Eds., DM Holdich, R Lowery, Chapman and Hall, London.
8. Harı B., Kurup BM., 2002. Vitamin C (ascorbyl 2 polphosphate) requirement of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Asian Fisheries Science*, 15, 145-154.
9. Regoli F., Giuliani ME., 2014. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine Environmental Research*, 93, 106-117.
10. Wheatly MG., Zanott FP., Hubbard MG., 2002. Calcium homeostasis in crustaceans: subcellular Ca Dynamics. *Comperative Biochemistry and Physiology Part B, Biochemistry and Molecular Biology*, 132, 163-178.
11. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1984. Official methods of analysis, 14th Ed, Association of Official Analytical Chemists. Inc. Arlington.
12. Barım O., Karatepe M., 2010. The effects of pollution on the vitamins A, E, C, beta-carotene contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 73, 138-142.
13. Barım-Oz O., Yılmaz S., 2016. Effects of dietary antioxidants on oxidative stress, antioxidant

- defence and growth of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) during the reproductive period in females. *Aquaculture Research*, 1, 1-12.
14. Jussila J., 1997. Physiological responses of astacid and parastacid crayfishes (crustacea: decapoda) to conditions of intensive culture. Universty of Kuopio, Australia.
15. Jussila J., Evans LH., 1996. On the factors affecting marron, *Cherax tenuimanus*, growth in intensive culture. *Freshwater Crayfish*, 11, 428-440.
16. Hamre K., Waagbq R., Berge RK., Live Q., 1997. Vitamins C and E interact in juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Free Radical Biology and Medicine*, 22, 137-149.
17. Hamre K., Christiansen R., Waagbo R., Maage BE., Torstensen BE., Lygren B., Lie O., Wathne E., Albrektsen S., 2004. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects an growth performance and filet quality. *Aquaculture Nutrition*, 10, 113-123.
18. Barım-Öz O., Yılmaz S., 2009. The determination of effect of vitamin E, C, ataxanthin and β -carotene on oxidative stres in some tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) in moulting period. *E-journal of New World Sciences Academy*, 4, 3B0006.
19. Hamre K., Lie O., 1995. Effect of smoltification, dietary levels of n-3 polyunsaturated fatty acid and α -tocopherol levels in different organs of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comparative Biochemistry Physiology*, 111A, 547-554.
20. Tocher DR., Mourente G., Van Der Eecken A., Evjemo JO., Diaz E., Bell JG., Geurden I., Lavens P., Olsen Y., 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), lalibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition*, 8, 195-207.
21. Lin YH., Shiau SY., 2005. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture*, 248, 235-244.
22. Chen YJ., Yuan RM., Lui YJ., Yang HJ., Liang GJ., Tian LX., 2015. Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture*, 435, 431-436.
23. Hamre K., 2011. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition*, 17, 98-115.