



ISSN:1306-3111  
e-Journal of New World Sciences Academy  
2009, Volume: 4, Number: 3, Article Number: 3B0006

**VETERINARY SCIENCES**

Received: April 2009

Accepted: June 2009

Series : 3B

ISSN : 1308-7339

© 2009 [www.newwsa.com](http://www.newwsa.com)

Özden Barım Öz

Seval Yılmaz

University of Firat

[obarimzo@firat.edu.tr](mailto:obarimzo@firat.edu.tr)

Elazig-Turkey

**KABUK DEĞİŞTİRME DÖNEMİNDEKİ TATLI SU İSTAKOZU (*Astacus leptodactylus* ESCH. 1823)'NA AİT BAZI DOKULARDA OLUŞAN OKSİDATİF STRESİ ÜZERİNE VİTAMİN E,C, ASTAKSANTİN VE  $\beta$ -KAROTENİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**ÖZET**

Bu çalışmada kabuk değiştirme dönemindeki tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus*)'nun rasyona ilave edilen antioksidanların (vitamin E (VE), C (VC), astaksantin (AX),  $\beta$ -karoten ( $\beta$ K)) hepatopankreas, gonad, kas ve solungaç dokusundaki antioksidan savunma elemanları (süperoksit dismutaz (SOD), catalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px)), redükte glutatyon (GSH) ve oksidatif stres (lipid peroksidasyon (MDA olarak)) üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla hazırlanan kontrol rasyonuna VE (150 mg kg<sup>-1</sup>), VC (200 mg kg<sup>-1</sup>), AX (200 mg kg<sup>-1</sup>) ve  $\beta$ K (200 mg kg<sup>-1</sup>) ilave edilerek araştırma grupları oluşturuldu. *A. leptodactylus* canlı ağırlığının %2'si oranında rasyonlarla 75 gün süresince beslendi. Çalışma sonucunda kabuk değiştirme döneminde *A. leptodactylus*'un rasyonuna VE, VC, AX ve  $\beta$ K ilave edilmesinin hepatopankreas (p<0,001), gonad (p<0,001) ve kas (p<0,01) dokularındaki MDA seviyesini istatistiksel açıdan önemli derecede azalttığı belirlendi. Ayrıca SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinin ve GSH düzeylerinin doku özelliğine göre değiştiği tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** *A. leptodactylus*, Antioksidan, MDA, Doku, Kabuk Değişirme

**THE DETERMINATION OF EFFECTS OF VITAMIN E, C, ASTAXANTHIN AND  $\beta$ -CAROTENE ON OXIDATIFE STRESS IN SOME TISSUES OF FRESHWATER CRAYFISH (*ASTACUS LEPTODACTYLUS* ESCH. 1823) IN MOULTING PERIOD**

**ABSTRACT**

In this study, we examined the effects of dietary antioxidant (vitamin E (VE), vitamin C (VC), astaxanthin (AX) and  $\beta$ -carotene ( $\beta$ K)) supplementation on oxidative stress and antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and redukte glutathione (GSH)) in the hepatopankreas, gonad, muscle and gills tissues of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* during moulting. The VE (150 mg kg<sup>-1</sup>), VC (200 mg kg<sup>-1</sup>), AX (200 mg kg<sup>-1</sup>) and  $\beta$ K (200 mg kg<sup>-1</sup>) were added the control diet for preparation of experimental diet. *A. leptodactylus* with these diet were fed with 2% of their total weight daily, in a day during 75 days. The results of the study showed that the supplemental of VE, VC, AX ve  $\beta$ K in diet of *A. leptodactylus* decreased malondialdehyde levels in the hepatopankreas, gonad, muscle and gills tissues. However, SOD, CAT, GSH-Px and GSH activity changed according to tissue specific.

**Keywords:** *A. leptodactylus*, Antioxidant, MDA, Tissue, Molt



## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

*Astacus leptodactylus* Türkiye'nin doğal bir kerevit (tatlı su istakozu) türüdür. Ekonomik krustaselerden olan bu tür Arthropoda (eklembacaklılar) filumunun Crustacea (kabuklular) sınıfının Decapoda (onayaklılar) takımında toplanır [5 ve 15].

Kerevitlerde vücut sefalotorax (baş+göğüs) ve abdomen olmak üzere iki bölümden oluşmuştur [5]. Bütün vücut ise büyümeyen bir kutikula tarafından örtülüdür. Diğer krustaselerde olduğu gibi kerevitlerde de büyüme sadece kabuk değiştirme ile mümkündür. Kabuk değiştirme dönemi, iç organ ve dokuların büyümesi, gastrolit oluşumu ve eksoskeleton (hayvanın dış kabuğu)'un periyodik değişimini içeren bir süreçtir [2 ve 10]. Bu süreç krusteselerin hücre biyolojisini, fizyolojisini ve tavırlarını etkilemektedir [16 ve 23]. Kabuk değiştirme sürecini ve sıklığını ise fotoperiyot, sıcaklık, yoğunluk, hidrolojik şartlar, stres, üreme ve beslenme gibi faktörler değiştirebilmektedir [2 ve 6]. Kerevitler genellikle ilk yavru dönemlerinde (ilk sene) yaklaşık 6-7, ikinci sene 5, üçüncü sene 2 defa, olgunluk devresinde (genellikle 3 yaş ve daha büyük bireyler) dişiler bir, erkekler iki defa kabuk değiştirirler [5].

Krustaselerin bütün gelişim dönemlerinde olduğu gibi kabuk değiştirme dönemlerinde de beslenmesi için gerekli olan, vücutta sentezlenemeyen ve dışarıdan alınması gereken bazı maddeler vardır [2, 13 ve 16]. Bu maddelerden bazıları vitamin E, C ve karotenoid grubuna aittir. Vitamin E, yağda eriyen, ısıya dayanıklı güçlü bir antistabil vitamindir [6]. Vitamin C, metabolik olarak kuvvetli bir redüktan, interselüler materyalin oluşması ve muhafazası ile ilgilidir [8 ve 14]. Karotenoidler ise renk pigmentleri olup, canlıların cazip görünmelerini ve et rengini meydana getirirler [11 ve 19]. Bu üç grubun bilinen en önemli özelliklerinden biri de antioksidan veya serbest radikal giderici olmalarıdır [6, 8, 11, 14 ve 19].

Serbest radikaller, savunma mekanizmasının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. 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 hazırlarlar. 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 [3, 6 ve 26].

## 2. ARAŞTIRMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICATION)

*A. leptodactylus* ülkemiz için ekonomik önem taşıyan kabuklu su ürünlerinden biridir [5, 6 ve 15]. Bu çalışmada; kabuk değiştirme döneminde olan olgun *A. leptodactylus*'un rasyonuna farklı antioksidanlar (vitamin E, C, astaksantin,  $\beta$ -karoten) katılarak hepatopankreas, kas, ovaryum ve solungaç dokularındaki oksidatif stres (MDA), antioksidan savunma (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px)) ve redükte glutatyon (GSH) seviyesi araştırıldı.

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

Bu çalışma 01 Ağustos-14 Ekim 2006 (75 gün) tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Laboratuvarında yürütüldü. Çalışmada kullanılan kerevitler *A. leptodactylus*'un Keban Baraj Gölü popülasyonundan yakalandı.



Kerevitler 15 adet cam akvaryumlara (25x25x110 cm) yerleştirildi. Plastik borular (15 cm uzunluğunda, 7 cm çapında) kerevitler için koruyucu olarak cam akvaryumlara bırakıldı. Yeterli havalandırma sağlandı. Her bir kerevitin karapaks uzunluğu (CL) ve ağırlığı belirlendi. Kerevitlere ağırlıklarınının %2'si oranında günlük olarak yem verildi. Araştırma sonunda 5 rasyon grubunun her birinden 9 kerevit alınarak incelendi.

Araştırmada kullanılan kontrol rasyonu Barım [6]'a göre düzenlendi. Kontrol rasyonunun ham besin madde düzeyleri Weende analiz metotlarına göre yapıldı [4] (Tablo 1). Bu rasyona ilave edilen VE (150 mg kg<sup>-1</sup>) [4], VC (200 mg kg<sup>-1</sup>) [8 ve 14], ASX (200 mg kg<sup>-1</sup>) [11,19] and βC (200 mg kg<sup>-1</sup>) [11,19] krutaselerle ilgili yapılan çalışmalar göz önüne alınarak oluşturuldu. Rasyonların VE, VC, AX ve βK miktarları HPLC ile tespit edildi [9,20]. Kontrol rasyonunda 7,27±2,09 mg kg<sup>-1</sup> VE, 34,12±2,01 mg kg<sup>-1</sup> VC, 2,05±0,13 mg kg<sup>-1</sup> AX ve 26,37±0,12 mg kg<sup>-1</sup> βK olduğu tespit edildi. Ayrıca antioksidan ilave edilen bütün gruplarda (VE (139,05±3,27 mg kg<sup>-1</sup> VE), VC (174,93±4,28 mg kg<sup>-1</sup> VC), AX (192,13±5,25 mg kg<sup>-1</sup> ASX), βK (169,25±1,25 mg kg<sup>-1</sup> βK)) ilavelerin yeme sağladığı katkı da yine HPLC ile belirlendi. Rasyona ilave edilen VE (50% dl-α-tocoferol asetat), VC (33% L-ascorbik asit monophosphate), AX (8% astaksantin, Carophyll Pink) ve βK (10% β-Karotene) DMS tarafından sağlandı.

Tablo 1. Kontrol rasyonunun içeriği ve yaklaşık kompozisyonu  
(Table 1. Composition and proximate analysis of the control diet)

Ingredient	%
Balık unu	35.78
Soya Küspesi	38.64
Buğday unu	19.30
Bitkisel yağ	4.00
Dikalsiyum fosfat	1.00
Sodyum fosfat	0.40
Avilamycine <sup>1</sup>	0.10
Antioksidant <sup>2</sup>	0.10
Vitamin E ve C'siz vitamin karması <sup>3</sup>	0.50
Mineral karması <sup>4</sup>	0.18
Ham Besin Maddeleri	
Ham protein	38.86
Ham yağ	8.02
Selüloz	3.02
Kül	14.17
Azotsuz öz madde	28.93
Nem	7.00
Toplam enerji (kcal/g)	3.32

(1) Kavilamycine

(2) Antioksidan (mg/kg dry diet): butylated hydroxytoluene 12.5

(3) Vitamin karması (mg/kg): A vitamini 2,000,000 IU, Menadion 600, Riboflavin 1200, Pridoxin 1000, Cobalamin 3, Niacin 5000, Biotin 8, Folic acid 200, Colin clorid 60, Calcium D-Pantothenate 1600 Calsiferol 400000

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

Araştırma sonunda kerevitler kesilerek hepatopankreas, kas, gonad ve solungaçları çıkarıldı ve analize kadar -80°C'de saklandı. Analiz başlangıcında doku örnekleri 1 gram tartılarak süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra %1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak kırılmış buz içerisinde homojenize edildi. Homojenat



MDA, GSH düzeyleri, katalaz, SOD aktivite tayini için +4°C'de 18.000 g'de 30 dakika, GSH-Px aktivite tayini için 25.000 g'de 50 dakika santrifüj edildi.

Lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyleri serum ve doku örneklerinde tiyobarbitürik asit ile reaksiyonuna dayanan Ohkawa ve ark. [21]'nin modifiye yöntemine göre; doku GSH düzeyleri Ellman [12]'in bildirdiği spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü. Doku homojenatlarında SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri sırasıyla Sun [24], Beutler [7] ve Aebi [1] tarafından; protein düzeyleri ise Lowry ve ark. [17] tarafından önerilen yöntemlerle belirlendi.

Yapılan çalışmada akvaryumlardaki ortalama su sıcaklığının 20,59±1,79°C, çözülmüş oksijen miktarının 6,10±0,55 mg/L, pH'nın ise 7,56±0,25 olduğu tespit edildi.

İncelenen parametrelere ait değerlerin karşılaştırılmasında 'SPSS 10,0' paket programı kullanılarak One Way Anova testi yapıldı.

#### 4. BULGULAR (FINDINGS)

Araştırma gruplarındaki kerevitlerin CL, ağırlığı ve kabuk değişimine hazırlığın göstergesi olan gastrolit ağırlıkları (K (42,75±0,41 mm, 17,69±0,68 g, 0,0235±0,004), VE (42,38±0,50 mm, 17,18±0,70 g, 0,0221±0,003), VC (43,13±0,29 mm, 17,69±0,76 g, 0,0241±0,003), AX (43,50±0,42 mm, 17,19±0,40 g, 0,0251±0,003), βK (42,75±0,37 mm, 16,53±0,61 g, 0,0241±0,003)) arasında ki farklılık istatistiksel açıdan önemli değildi (p>0,05).

A. *leptodactylus* rasyonuna antioksidan maddeler ilave edilmesi sonunda belirlenen MDA seviyesi, SOD, CAT, GSH-Px ve GSH aktiviteleri Tablo 2'de verildi.

Tablo 2. A. *leptodactylus*'un 5 farklı rasyon grubuyla (K, VE, VC, AX, βK) beslenmesi sonucunda hepatopankreas (H), gonad (G), kas (K) ve solungaç (S) dokularındaki ortalama MDA (nmol g<sup>-1</sup> tissue), SOD (U ml<sup>-1</sup>), CAT (k ml<sup>-1</sup>), GSH-Px (U ml<sup>-1</sup>) and GSH (µmol dl<sup>-1</sup>) seviyeleri (Table 2. . The mean concentrations of MDA (nmol g<sup>-1</sup> tissue), SOD (U ml<sup>-1</sup>) (CAT (k ml<sup>-1</sup>), GSH-Px (U ml<sup>-1</sup>) and the GSH (µmol dl<sup>-1</sup>) in the hepatopancreas (H), gonad (G), muscle (K) and gills (S) tissue for A. *leptodactylus* fed on the five diets (K, VE, VC, AX, βK))

Pa	K	Antioksidan Rasyon Grupları				p
		VE	VC	AX	βK	
MDA						
H	1,99±0,13 <sup>a</sup>	0,84±0,13 <sup>b</sup>	0,92±0,008 <sup>b</sup>	0,99±0,03 <sup>b</sup>	1,02±0,07 <sup>b</sup>	***
G	2,47±0,05 <sup>a</sup>	1,61±0,03 <sup>d</sup>	1,76±0,004 <sup>bc</sup>	1,88±0,04 <sup>b</sup>	1,66±0,06 <sup>cd</sup>	***
K	0,96±0,05 <sup>a</sup>	0,73±0,03 <sup>b</sup>	0,74±0,04 <sup>b</sup>	0,77±0,03 <sup>b</sup>	0,73±0,05 <sup>b</sup>	**
S	2,53±0,10	2,57±0,05	2,59±0,05	2,53±0,05	2,60±0,05	-
SOD						
H	3,22±0,41 <sup>bc</sup>	7,03±0,82 <sup>a</sup>	5,42±0,61 <sup>ab</sup>	5,36±0,77 <sup>ab</sup>	2,68±0,39 <sup>c</sup>	**
G	6,51±0,06	5,21±0,43	6,85±0,60	8,08±0,97	7,16±0,53	-
K	6,49±0,50	7,73±0,73	5,61±0,84	5,43±0,54	7,69±0,58	-
S	9,75±0,19 <sup>a</sup>	8,86±0,48 <sup>a</sup>	7,82±0,70 <sup>a</sup>	5,90±0,95 <sup>b</sup>	8,61±0,20 <sup>a</sup>	**
CAT						
H	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
G	0,17±0,13	0,04±0,01	0,07±0,03	0,03±0,01	0,05±0,01	-
K	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
S	0,04±0,01	0,06±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01	0,07±0,01	-
GSH-Px						
H	0,06±0,01 <sup>b</sup>	0,19±0,02 <sup>a</sup>	0,07±0,02 <sup>b</sup>	0,06±0,02 <sup>b</sup>	0,03±0,01 <sup>b</sup>	***
G	0,09±0,03	1,00±0,01	0,43±0,26	0,04±0,02	0,14±0,04	-
K	0,04±0,01 <sup>c</sup>	0,09±0,02 <sup>bc</sup>	0,13±0,01 <sup>a</sup>	0,06±0,01 <sup>c</sup>	0,12±0,02 <sup>a</sup>	**
S	0,09±0,02	0,08±0,02	0,11±0,04	0,09±0,03	0,10±0,02	-
GSH						
H	29,93±2,21	23,79±3,48	26,57±1,06	30,35±3,16	24,47±2,62	-
G	18,03±0,85 <sup>a</sup>	16,78±1,15 <sup>a</sup>	17,07±2,11 <sup>a</sup>	10,88±0,38 <sup>b</sup>	16,12±1,05 <sup>a</sup>	*
K	14,03±0,84 <sup>a</sup>	8,63±0,70 <sup>c</sup>	14,56±0,90 <sup>a</sup>	10,87±0,70 <sup>b</sup>	11,66±0,59 <sup>b</sup>	***
S	9,72±0,38 <sup>a</sup>	8,73±1,02 <sup>a</sup>	4,09±0,54 <sup>b</sup>	4,01±0,40 <sup>b</sup>	10,28±0,37 <sup>a</sup>	***



Not: Pa: Parametreler

--p>0.05, \* =p<0.05, \*\*=p<0.01, \*\*\*= p<0.001

Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli derecede farklıdır (p<0.05).

Bu çalışmada rasyona antioksidan ilave edilmesinin kabuk değiştirme döneminde olan kerevitlerin hepatopankreas, kas ve gonad dokularındaki MDA seviyesi üzerinde etkili olduğu belirlendi. Hepatopankreasdaki MDA seviyesi kontrole göre VE (%57,79), VC (%53,77), AX (%50,25) ve βK (%48,74) rasyon gruplarında önemli derecede düşüktü (p<0,001). Gonad ve kasdaki MDA seviyesi de kontrole göre VE (sırasıyla %34,82, %23,96), VC (sırasıyla %28,74, %22,92), AX (sırasıyla %23,89, %19,79) ve βK (sırasıyla %32,79, %23,96) rasyon gruplarında daha düşük olmasına rağmen (sırasıyla p<0,001, p<0,01), solungaçta istatistiksel açıdan anlamlı (hiçbir) değişim belirlenmedi (p>0,05).

Rasyona ilave edilen antioksidanların kerevit dokularındaki SOD aktivitesi üzerine etkileri incelendiğinde gonad ve kas dokusunda istatistiksel açıdan önemli bir farklılık saptanmadı. Hepatopankreasda kontrole göre VE grubunda (%118,32) bu aktivitenin yükseldiği (p<0,01), solungaç dokusunda ise AX grubunda (%39,49) düşüşün olduğu belirlendi (p<0,01). Ayrıca bu çalışmada CAT aktivitesi gonad ve solungaçta kontrole göre değişmezken, hepatopankreas ve kasda tespit edilemedi.

Bu araştırmada GSH-Px aktivitesi kontrole göre VE, VC, AX ve βK gruplarında gonad ve kasda değişmezken, hepatopankreasda VE grubunda (%216,67) (p<0,001), kasda VC (%225,0) ve βK (%200,0) gruplarında (p<0,01) istatistiksel açıdan önemli derecede yüksekti.

Yapılan araştırmada hepatopankreas ve gonad dokularında GSH aktivitesinde gruplar arasında farklılığa rastlanılmadı. Bu aktivite kontrole göre gonatda AX grubunda (%39,66) ((p<0,05), kasda VE (%38,49), AX (%22,52) ve βK (%16,89) gruplarında (p<0,001), solungaçta ise VC (%57,92) ve βK grubunda (%58,74) (p<0,001) önemli derecede düşüktü.

## 5. TARTIŞMA (DISCUSSION)

Yaşama, büyüme ve üreme bir organizmanın varlığının temel birliğidir. Krustaseler için büyüme sadece kabuk değişimi ile mümkün olabilir [2, 6, 10 ve 23]. Kabuk değiştirme sıklığı kabuk değiştirmeyi izleyen doku büyümesinin oranı tarafından sınırlanır. Besleme ise doku büyümesi ve gelişiminde ana etmenlerden biridir. Yetersiz besleme sadece kabuk değişimini ertelemekle kalmaz aynı zamanda kabuk değiştirme sonucunda hacim artışını da azaltabilir. Yapılan çalışmalarda Cambaroides'lerde açlığın kabuk değişimini uzattığı ve gastrolit büyümesini önlediği, Faxonella'larda ölümlerin olduğu, Homarus'larda ise kabuk değiştirme üzerine besinlerin direk etkilerinin olduğu tespit edilmiştir [2]. Ancak bu gelişim süreci içerisinde biyokimyasal gelişimler irdelenmemiştir. Yapılan çalışmada hazırlanan kontrol rasyonu kabuk değişimi süreci içerisinde kerevitlerin ihtiyaçlarını karşılayacak temel bir rasyondur. Canlı bu rasyonla düzenli beslendiğinde herhangi bir ölümle karşılaşılmakta ve kabuk değiştirme sürecini başlatan gastrolitleri oluşturmaktadırlar [16].

Kabuk değiştirme; krustaselerin biyolojisi, hücre metabolizması, fizyolojisi ve bütün tavırlarını etkilemektedir [2 ve 23]. 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 [2]. Cuzon ve ark. [10] kabuk değişimini fizyolojik bir kriz olarak ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubundaki kerevitlerde MDA düzeyinin arttığı, rasyona antioksidan olarak VE, VC, AX ve  $\beta$ K ilave edildiğinde ise hepatopankreas, kas ve gonad dokularında MDA düzeyinin istatistiksel açıdan önemli derecede düştüğü tespit edilmiştir. Hepatopankreas, gonad ve kas dokusundaki MDA düzeyinin artışı; *A. leptodactylus*'un kabuk değiştirme döneminde olmasından dolayı dokulardaki lipidlerin birikimi ve bu süreç esnasında artan metabolik aktivite ile ilişkilendirilebilir. Antioksidan ilave edilen rasyon gruplarında MDA düzeyindeki azalma ise rasyona ilave edilen antioksidanların dokuları peroksidasyondan koruyarak lipidlerin kullanımını arttırması ve böylece oksidatif strese karşı kerevitlerin dayanıklılığını yükseltmesi ile bağdaştırılabilir.

Beslenme krustaceaların kabuk değiştirme sıklığını etkileyen önemli faktörlerden biri olmasına rağmen bu konu ile ilgili çalışmaların oldukça az olduğu belirlenmiştir. Mevcut olan çalışmalar ise canlının özellikle postlarva dönemine aittir. Petit ve ark. [23], tarafından yapılan çalışmada astaksantin ilave edilen rasyonla beslenen *Penaeus japonicus*'ların kabuk değiştirme sürelerinin kısaldığı belirlenmiştir. Merch ve ark. [18] ise tatlı su karideslerinin larval devresi ile karşılaştırıldığında postlarval devrelerinde askorbik asit (AA) miktarının azaldığı ve metamorfozis döneminde canlının bu vitamine ihtiyacının arttığını bildirmiştir. Ayrıca kabuk değiştirme esnasında krustaselardaki büyüme hızlı bir kollejen oluşumu ile bağdaştırılmış ve bu nedenle bir kofaktör olarak AA için ihtiyacın arttığı ifade edilmiştir [18].

GSH, hücre metabolizmasına katılan, hücre bütünlüğünün muhafazası için esansiyel bir bileşiktir [3]. Yapılan çalışmada GSH düzeyinde kontrole göre gonadda AX grubunda, kasda VE ve AX grubunda, solungaçda VC ve AX grubunda istatistiksel açıdan önemli derecede azalmanın olduğu tespit edildi. Kabuk değiştirme döneminde GSH düzeyindeki azalma redükte glutatyonun okside glutatyona dönüşümündeki artmaya ve GSH oluşumundaki azalmaya bağlı olabilir. GSH düzeylerindeki bu azalmalar dokuların oksidatif strese karşı bir tepkisi olarak değerlendirilebilir.

Lipid peroksidasyona karşı oluşan korunma mekanizmasında GSH-Px ve CAT birincil antioksidan enzimler olarak bilinirler. GSH-Px okside glutasyon oluşumunda GSH aracılığıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi etkin radikallerin indirgenmesinde; CAT ise karaciğerde çok bulunan ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in oksijen ve suya indirgenmesinde GSH-Px'la birlikte etkiyen önemli bir enzimdir. Her iki enzim vücuttaki hücrel korunmada önemli rol oynarlar [3 ve 26]. Xiao-Dong ve ark. [24] *Sparus macrocephalus* türü balıklarda rasyona yüksek oranda VE ilave edilmesinin serum SOD aktivitesini arttırdığını belirlemiştir. Bu çalışmada da hepatopankreasda kontrole göre SOD ve GSH-Px aktivitesinde önemli derecede bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Bu artışın sebebi MDA seviyesi azaldığından dolayı bu enzimlerden yararlanma oranının düşük olmasına bağlanabilir. GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerindeki değişiklikler oksijen radikallerine karşı dokularda koruyucu bir etkinlik oluştuğunu ortaya koymaktadır.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular kabuk değiştirme döneminde hepatopankreas, gonad ve kas dokularında lipid peroksidasyona (malondialdehit olarak) neden olarak oksidatif stres oluşumunu önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir. Kerevitlerin kabuk değiştirme döneminde oksidatif stresi engellemek için antioksidanlara (VE, VC, AX ve  $\beta$ -K) ihtiyacı olduğu belirlenmiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSSION AND SUGGESTS)

Araştırmamızda kontrol rasyonuna antioksidan ilave edilmesi *A. leptodactylus*'ların hepatopankreas, kas ve gonad dokularındaki oksidatif stresi (MDA) istatistiksel açıdan önemli derecede azalttığı, antioksidan savunma (SOD, CAT, GSH-Px, GSH) sisteminin ise doku özelliğine göre değiştiği belirlendi. Bu değişimlerinin fizyolojik öneminin ne olduğu ile ilgili daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Aebi, H., (1983). Catalase. In: Bergmeyer HU. Ed. Methods in Enzymatic Analysis. New York: Academic Press, ss:276-286.
2. Aiken, D.E. and Waddy, S.L., (1992). The Growth Process in Crayfish. Reviews in Aquatic Sciences, 6(3,4), ss:335-381.
3. Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri, 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya. ss: 157.
4. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), (1984). Official methods of analysis (14<sup>th</sup> Ed), Association of Official Analytical Chemists. Inc. Arlington p:1141.
5. Atay, D., (1997). Kabuklu Su Ürünleri ve Üretim Tekniği. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 1478, Ankara, ss:348.
6. Barım, Ö., (2005). The effects of different levels of vitamin E added to the ration of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) living in Keban Dam Lake. Graduate School of Natural and Applied Sciences. Department of Aquaculture, PhD Thesis p 73.
7. Eutler, E., (1975). Red cell metabolism. In: Beutler, E.(ed.), A manual of biochemical methods. Grunef and Strottan, New York, pp:67-69.
8. Conklin, D.E., (1995). Vitamins. In: Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture. (L.R. D'Abramo, D.E. Conklin and D.M. Akiyam, eds.) Vol:6, pp:123-149.
9. Cerhata, D., Bauerova, A., Ginter, E., (1994). Determination of ascorbic acid in blood serum using high performance liquid chromatography and its correlation with spectrofotometric (colorometric) determination. Caska-Slov-Farm. 43, ss :166-168.
10. Cuzon, G., Guillaume, J., and Cahu, C., (1994). Composition, Preparation and Utilization of Feeds for Crustacea. Aquaculture, 124, ss:253-267.
11. D'Abramo, L.R. and Conklin, D.E., (1995). New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridean species of shrimp. In: Swimming through troubled water, proceedings of the special session on shrimp farming, Aquaculture'95 (Browdy, C.L. and Hopkins, J.S. eds.). World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. pp:95-107.
12. Ellman, G., (1959). Tissue sulphhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 82, ss:70-77.
13. Goddard, J.S., (1988). Food and Feeding. In: Freshwater Crayfish: Biology, Management and Explaitation (Holdich D. M. and Lowery, R. Eds). Chapman and Hall, London, ss:145-166.
14. Harı, B. and Kurup, B.M., (2002). Vitamin C (ascorbyl 2 polphosphate) requirement of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Asian Fisheries Science, 15, ss:145-154.
15. Kumlu, M., (1998). Karides, İstakoz ve Midye Yetiştiriciliği, Çukurova Üniv. Su Ürün. Fak., Ders Kitabı No: 6, ss:340.
16. Lowery, R.S., (1998). Growth, Moulting and Reproduction. In: Freshwater Crayfish: Biology, Management and Explaitation (Holdich D.M. and Lowery, R. Eds). Chapman and Hall, London, ss:83-113.



17. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr A.L., and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, Vol. 193, ss:265-275.
18. Merchie, G., Lavens, P., and Sorgeloos, P., (1997). Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. *Aquaculture*, 155, ss:165-181.
19. Meyers, S.P. and Latscha, T., (1995). Carotenoids. In: *Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture.* (L.R. D'Abramo, D.E. Conklin and D.M. Akiyam, eds.) Vol:6, pp:164-193.
20. Miller, K.W., Lorr, N.A., and Yang, C.S., (1984). Simultaneous determination of plasma retinol  $\alpha$ -tocopherol, lycopene,  $\alpha$ -carotene, and  $\beta$ -carotene by high performance liquid chromatography. *Analytical Biochem.* 138, ss:340-345.
21. Ohkawa, H, Ohishi, N., and Yagi, K., (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95, ss:351-358.
22. Petit, H., Negre-Sadargues, G., Castillo, R., and Trilles, J-P., (1997). The Effects of Dietary Astaxanthin on Growth and Moulting Cycle of Postlarval Stages of the Prawn, *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Comp. Biochem. Physiol.*, 117A(4), ss:539-544.
23. Scott-Fordsmand, J.J. and Depledge, M.H., (1997). Changes in the Tissue Concentrations and Contents of Calcium, Copper and Zinc in the Shore Crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Decapoda) during the Moulting Cycle and Following Copper Exposure during Ecdysis. *Marine Environmental Research*, 44(4), ss:397-414.
24. Sun, Y., Oberley, L.W., and Li, Y., (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34, ss:497-500.
25. Xiao-Dong, Z., Tian-Xing, W., Li-Sheng, C., and Yong-Fei, Z., (2007). Effects of  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation in preslaughter diet on antioxidant enzyme activities and fillet quality of commercial-size *Sparus macrocephalus*. *Journal of Zhejiang*, 8(9), ss:680-685.
26. Winston, G.W. and Giulio, R.T.D., (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19, ss:137-161.