

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TATLISU İSTAKOZU (*PONTASTACUS LEPTODACTYLUS*)  
RASYONUNA İLAVE EDİLEN VİTAMİN A'NIN  
DOKULARDAKİ OKSİDATİF STRES VE BAZI ENZİMLER  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**Bünyamin ÖZDEMİR**

Yüksek Lisans Tezi

SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİK ANABİLİM DALI

ŞUBAT 2025

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**TATLISU İSTAKOZU (*PONTASTACUS LEPTODACTYLUS*)  
RASYONUNA İLAVE EDİLEN VİTAMİN A'NIN DOKULARDAKİ  
OKSİDATİF STRES VE BAZI ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Tez Yazarı  
**Bünyamin ÖZDEMİR**

Danışman  
Prof. Dr. Özden BARIM ÖZ

ŞUBAT 2025  
ELAZIĞ

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

---

Başlığı: Tatlısu İstakozu (*Pontastacus leptodactylus*) Rasyonuna İlave Edilen Vitamin A'nın Dokulardaki Oksidatif Stres ve Bazı Enzimler Üzerine Etkisi

Yazarı: Bünyamin ÖZDEMİR

İlk Teslim Tarihi: 04.02.2025

Savunma Tarihi: 14.02.2025

---

**TEZ ONAYI**

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Danışman:	Prof. Dr. Özden BARIM ÖZ Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi	<i>İmza</i> Onayladım
Başkan:	Prof. Dr. Önder AKSU Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi	Onayladım
Üye:	Dr. Öğr. Üyesi Sibel DOĞAN Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi	Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ...../...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

*İmza*

Prof. Dr. Burhan ERGEN  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım ‘‘Tatlısu İstakozu (*Pontastacus leptodactylus*) Rasyonuna İlave Edilen Vitamin A’nın Dokulardaki Oksidatif Stres ve Bazı Enzimler Üzerine Etkisi’’ Başlıklı Yüksek Lisans Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

14.02.2025

**Bünyamin ÖZDEMİR**



# ÖNSÖZ

---

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bilgi, tecrübe ve yönlendirmesiyle bana katkı sağlayıp yardımcı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Özden BARIM ÖZ hocama teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Bünyamin ÖZDEMİR**  
ELAZIĞ, 2025



# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
TABLolar LİSTESİ .....	viii
KİSALTMALAR .....	ix
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. A VİTAMİNİ .....</b>	<b>2</b>
2.1. Kimyasal Yapısı ve Özellikleri.....	2
2.2. Emilimi ve Metabolizması.....	3
2.3. Taşıma ve Depolama .....	3
2.4. Hücrelere Dağılım .....	4
2.5. Biyotransformasyon ve Atılımı .....	4
2.6. Vücutta A Vitamini Oluşumunun Etkenleri .....	4
2.7. A Vitamini Vücuttaki İşlevleri .....	5
2.8. A Vitamini Yetersizliğinin Etkileri .....	6
<b>3. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI .....</b>	<b>7</b>
<b>4. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>9</b>
4.1. Materyal.....	9
4.1.1. Araştırma Ortamı.....	9
4.1.2. Tatlısu İstakozu Materyali.....	9
4.1.3. Yem Düzenlemesi .....	9
4.1.4. Çalışmada Kullanılan Suyun Özellikleri .....	10
4.1.5. Farklı Araç ve Gereçler .....	10
4.2. Metot .....	10
4.2.1. Araştırmanın Planlanması ve Kurulması .....	10
4.2.2. Çalışmada Kullanılan Rasyonun Hazırlanması .....	11
4.2.3. Araştırma Rasyonlarının pH ve Suda Çözünürlük Sürelerinin Tespiti.....	11
4.2.4. Biyokimyasal Analizler .....	11
4.2.5. Malondialdehit (MDA)'in Belirlenmesi.....	11
4.2.6. Antioksidanların Tayini.....	11
<b>5. BULGULAR.....</b>	<b>16</b>
<b>6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>19</b>
KAYNAKLAR.....	25
ÖZGEÇMİŞ	

## ÖZET

### Tatlısu İstakozu (*Pontastacus leptodactylus*) Rasyonuna İlave Edilen Vitamin A'nın Dokulardaki Oksidatif Stres ve Bazı Enzimler Üzerine Etkisi

**Bünyamin ÖZDEMİR**

Yüksek Lisans Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Şubat 2025, Sayfa: ix + 27

Bu çalışma 16 Haziran-13 Eylül tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada tatlısu istakozu (*Pontastacus leptodactylus*) rasyonuna farklı oranlarda ilave edilen vitamin A'nın dokulardaki oksidatif stres (malondialdehit (MDA)), bazı enzimler (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px) ve glutatyon (GSH)) üzerine etkisi araştırıldı. Bunun için kerevitlerin ihtiyaçlarına yönelik olarak kontrol rasyonu (K) ve üç adet deneme (A1, A2, A3) rasyonu hazırlandı. Kontrol rasyonuna 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg vitamin A (VA) katılarak sırasıyla A1, A2 ve A3 rasyonları oluşturuldu. Her bir deneme üç tekrar halinde gerçekleştirildi. Araştırmada erkek kerevitler kullanıldı. Ayrıca çalışmanın başında bir negatif kontrol grubu (NEK)'da oluşturuldu. Çalışma sonunda her deneme grubundaki kerevitlerin hepatopankreas, solungaç, gonad ve kas dokuları analiz edildi.

Sonuç olarak, araştırmada tatlı su istakozu rasyonlarına (Kontrol (K), Deneme 1 (A1), Deneme 2 (A2), Deneme 3 (A3)) farklı oranlarda A vitamini katılmasının; tatlısu istakozunun (*P. leptodactylus*) gonad gelişimi ve kabuk gelişiminin görüldüğü periyotta MDA, SOD, GSH-Px ve GSH seviyeleri üzerinde oldukça etkili olduğu görüldü. Kas dokusunda oksidatif stres, SOD, GSH-Px ve GSH düzeylerinde değişime rastlanılmadı. Hepatopankreas, gonad ve solungaç dokularında NEK grubuna göre K grubunda MDA değerinin yükseldiği belirlendi. Bu dokularda deneme gruplarındaki MDA değerinin K grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecelerde düştüğü tespit edildi. Her üç dokuda da SOD, GSH-Px ve GSH düzeylerinde doku özelliğine göre değişimler saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Tatlısu istakozu, *Pontastacus leptodactylus*, Vitamin A, oksidatif stres, antioksidan.

## ABSTRACT

---

### Effect on Oxidative Stress and Some Enzymes in Tissues of Vitamin A Added To The Ration of Freshwater Crayfish (*Pontastacus leptodactylus*)

**Bünyamin ÖZDEMİR**

Master's Thesis

FIRAT UNIVERSITY  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Aquaculture

February 2025, Pages: ix + 27

---

This study was conducted between June 16 and September 13. In this study, the effects of vitamin A added to the freshwater crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) ration at different rates on oxidative stress (malondialdehyde (MDA)), some enzymes (superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase ((GSH-Px) and glutathione (GSH)) in tissues were investigated. For this purpose, a control ration (K) and three trial rations (A1, A2, A3) were prepared according to the needs of the crayfish. 100 mg/kg, 200 mg/kg and 400 mg/kg vitamin A (VA) were added to the control ration to form A1, A2 and A3 rations, respectively. Each trial was carried out in three replicates. Male crayfish were used in the study. In addition, a negative control group (NEK) was created at the beginning of the study. At the end of the study, the hepatopancreas, gills, gonads and muscle tissues of the crayfish in each trial group were analyzed.

As a result, it was observed that the addition of vitamin A at different rates to freshwater crayfish ration (Control (K), experimental group 1 (A1), experimental group 2 (A2), experimental group 3 (A3)) was quite effective on MDA, SOD, GSH-Px and GSH levels during the period when gonad and shell development of freshwater crayfish (*P. leptodactylus*) was observed. No change was observed in oxidative stress, SOD, GSH-Px and GSH levels in muscle tissue. It was determined that MDA values increased in the K group compared to the NEK group in hepatopancreas, gonad and gill tissues. It was determined that MDA values in these tissues decreased statistically significantly compared to the K group. Changes were detected in SOD, GSH-Px and GSH levels according to tissue characteristics in all three tissues.

**Keywords:** Freshwater crayfish, *Pontastacus leptodactylus*, Vitamin A, MDA, antioxidant.

## TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
<b>Tablo 3.1.</b> Suda yaşayan canlılarda Vitamin A kaynaklı yapılan araştırmalar.....	7
<b>Tablo 3.2.</b> Balıklarda vitamin A azlığı ve fazlalığının yaygın klinik belirtileri. ....	8
<b>Tablo 4.1.</b> Kontrol rasyonunu bileşimi (%).....	9
<b>Tablo 4.2.</b> Laboratuvarıda kullanılan suyun bazı özellikleri .....	10
<b>Tablo 4.3.</b> GSH ölçümü .....	12
<b>Tablo 4.4.</b> Süperoksit dismutaz aktivite ölçümü .....	14
<b>Tablo 4.5.</b> Protein ölçümü.....	15
<b>Tablo 5.1.</b> Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın hepatopankreas (H) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (µmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması. ....	16
<b>Tablo 5.2.</b> Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın gonad (G) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (µmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması. ....	17
<b>Tablo 5.3.</b> Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın Kas (KA) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (µmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması. ....	17
<b>Tablo 5.4.</b> Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın Solungaç (S) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (µmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması. ....	18

## KISALTMALAR

- ADS : Eksiklik belirtilerinin yokluğu  
FQ : Fileto kalitesi  
G : Büyüme  
LS : Maksimum karaciğer depolaması  
ND : Kemik deformitesi yok  
SGR : Spesifik büyüme oranı  
VAP : Plazmadaki Vitamin A içeriği  
WG : Ağırlık kazancı



# 1. GİRİŞ

Vitamin A (VA) veya retinol, yağda çözünebilen ADEK vitamin grubunun ilkidir. Bu vitamin suda çözünemeyen organik çözücülerde ve yağda eriyen bir maddedir. Tüm trans-retinolün kalitatif biyolojik aktivitesine sahiptir. Sikloheksenil halka içeren bir polizoprenoid bileşiğidir. Vitamin A aktif bileşikleri retinoidler ve provitamin A (karotenoidler) olmak üzere iki temel gruba ayrılır. Vücutta VA aktif retinoidleri retinal ve retinil esterleridir. Tüm trans retinolün oksidize edilen formu olan retinoik asit, hücre farklılaşmasının kontrolünde rol oynayan bir diğer önemli retinoiddir. Ancak retinoik asit metabolik olarak bütün trans retinollere dönüştürülemediğinden, bu trans retinollerin işlevlerini yerine getiremez. Bu nedenle retinoik asit vitamin A olarak kabul edilemez (Yıldırımkaaya, 2003; Aksoy, 2000; Gürdöl ve Ademoğlu, 2010; Hernandez ve Hardy, 2020)

Karotenoidler oksidatif reaksiyonlarla retinale dönüştürülebilen sarı ile kırmızı pigmentlerdir. Doğal olarak meydana gelen 500 adet karotenoidin yaklaşık olarak 60 adeti farklı derecelerde VA aktivitesine sahiptir. Yapılan araştırmada, bu bileşiklerin VA aktivitesi genellikle uluslararası birimler (IU) olarak bildirilir (Hernandez ve Hardy, 2020).

1 IU= 0,3 µg bütün trans retinoller

1 IU= 0,55 µg bütün trans retinil palmitat

1 IU= 0,6 µg bütün trans β-karoten

A vitamininin biyolojik aktivitesi, VA bileşenlerinin retinol eşdeğerlerine dönüştürülmesiyle aşağıdaki şekilde ölçülür (Hernandez ve Hardy, 2020; Chen ve ark., 2023).

1 Retinol eşdeğeri = 1 µg bütün trans retinoller

1 Retinol eşdeğeri = 3,33 IU bütün trans retinol aktivitesi gösterenler

1 Retinol eşdeğeri = 6 µg bütün trans β-karotenler

Vitamin A ve aktif metabolitleri, tüm canlıların yaşam evreleri boyunca görme, büyüme, üreme, embriyonik gelişme, mukus salgıları ve farklılaşmış epitellein devamının sağlanması gibi çeşitli roller üstlenmektedir. Görme 11-cis-retinal tarafından desteklenirken, retinoik asit VA ile ilişkili diğer ana fonkyonları destekler ( Gürdöl ve Ademoğlu, 2010; Hernandez ve Hardy, 2020; Deering ve ark., 2023)

## 2. A VİTAMİNİ

A Vitamini eksikliğinden kaynaklanan bazı semptomlar, ondokuzuncu asrın ortalarında dengeli beslenme olmadığı zamanlarda ortaya çıkmıştır. Bu vitaminin ilk tarifi 1865 yılında kötü beslenen esirlerin gözlerinde, göz iltihabı şeklinde ortaya çıkan Ophthalmia Brasiliona hastalığı ile ifade edilmeye çalışılmıştır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010). Ortadoks ve katolik rusların perhiz dönemlerinde oruç tutmaları ile de 1887 yıllarında gece körlüğü, 1913 yılında ise A Vitamininin besinlerle alınan ve yağda eriyen bir vitamin olduğu Osborne Mendel ve Mc Collum Davis tarafından saptanmıştır (Kalaycıoğlu ve ark., 2006). Araştırmacılar kendi formülleriyle oluşturdukları besinlerle deney hayvanlarını beslediklerinde, ilk etap da formüle domuz yağı ilave ettiklerinde konjunktiva ve korneanın parlaklığını kaybederek kuruması ile belirlenen Serophthalmia hastalığının ortaya çıktığını görmüşlerdir. Daha sonra hazırladıkları yem formülasyonuna tereyağı, yumurta sarısı ve morina balığı karaciğer yağı ilave ederek bu hayvanların iyileştiğini tespit etmişlerdir. A Vitamininin kimyasal yapısı 1919 yılında Steenbock tarafından sebzelerdeki pigmentasyon ile A Vitamini arasında ilişki kurularak anlaşılmasına başlanmıştır. 1929 yılında Euler ve arkadaşları ile Moore tarafından saflaştırılan bitki pigmenti karotenin (Provitamin A) A vitamini için çok kuvvetli bir kaynak olduğunu ispat etmişlerdir. Bu vitaminin formülü 1931 yılında Karrer ve arkadaşları tarafından formüle edilmiş, 1946 yılında da sentez edilmiştir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

### 2.1. Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Fizyolojik olarak alkol “retinol”, ester “retinil”, aldehit “retinal” ve asit “retinoik” yapılarında bulunan A vitamini (Aksoy, 2014), sikloheksenil halka içeren poliizoprenoid bileşiğidir (Yıldırımkaya, 2003). Bu vitaminin çok az miktarı yemek pişirme ve konserve yapmında kaybolmasına rağmen, ultraviyole ışığına maruz kaldığı zaman yıkılır. Kompleks primer bir alkol olan A vitaminini  $C_{20}H_{29}OH$  olarak formüle edilir. Retinol yapısında olan A<sub>1</sub> vitamini morina balığı karaciğerinde ve tuzlu su balıklarında bulunurken 3-Dehidroretinol yapısında olan A<sub>2</sub> vitamini tatlı su balıklarında bulunmaktadır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

Sarı ve kısmen yeşil bitkilerin pigmenti olan karotenler, önemli A vitamini kaynağıdır. Vücutta absorbe edildikten sonra barsağın mukoza hücreleri tarafından A Vitamini haline dönüştürülen  $\beta$ -karoten molekülü orta kısmından koparılarak iki adet A Vitamini haline çevrilir. Bu karoten ve kriptoksantin ‘in ancak yarısı A vitamini haline dönüşür (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

## 2.2. Emilimi ve Metabolizması

A vitamini besin maddesi ile vücuda alındığında bağırsaklarda; retinol, retinil ester ve provitamin olan karotenler, özellikle de  $\beta$ -karoten yapısında olduğu tespit edilmiştir. Retinol yapısında olan A vitamini, enterositlere girerek, hücresel retinol bağlayıcı proteinle bağlanır. Bu reaksiyonda retinil esterleri emilmeden önce retinil ester hidrolaz vasıtasıyla serbest hale gelir. Provitamin karotenler hem difüzyon hem de pasif olarak yüzeydeki reseptörlere (enterosit reseptör B1 SR-B1) bağlanarak karotenleri parçalayan veya ayıran enzimlerle retinal aldehite dönüşürler. Daha sonra “retinal aldehite redüktaz” enzimi ile etkileşime girerek retinole indirgenip, esterleşir. Bu esnada safra ve pankreatik sekresyon, bu vitaminin serbest hale geçmesinde büyük önem taşımaktadır. Retinolün esterleşmesinde “lesitin: retinol asit transferaz ve asil KoA: retinol asil transferaz gibi enzimler yer alır. Bu retinil esterler şilomikronların içinde mikrosomal triasilgliserol transfer protein aracılığıyla lenf kanalına taşınır (Aksoy, 2014).

## 2.3. Taşıma ve Depolama

Şilomikronlar aracılığıyla taşınan retinil esterleri, lenf yoluyla hepatosit olarak adlandırılan karaciğer hücresinde tutulur. Plazma membranında “retinil ester hidrolaz” enzimiyle hidrolize olan retinil esterleri parankimal hücrelerden stelatte hücelere taşınarak esterleşir. Bu vitamin, karaciğerde retinil ester yapısında %90 oranında depolanırken, %1'i serumda, %9'u akciğer, adrenal doku, böbrek ve retina gibi diğer dokularda toplanır. Metabolik aktivite esnasında vitamin A'ya ihtiyaç duyulduğunda karaciğerden retinol yapısında salınarak, bu organın parankimal hücrelerinde sentezlenen “ $\alpha$ -globülin” veya “retinol bağlayıcı protein” ile konjüge olur. Retinolün “retinol bağlayıcı protein” ile bağlanması çözünürlüğünü arttırarak, oksidatif tahriplere karşı molekülü korur. Plazmadaki retinolün %95,5'i “transtiretin- retinol bağlayıcı protein-retinol, %4,4'ü “retinol bağlayıcı protein-retinol” ve %0,1'i de serbest retinol olarak bulunur (Aksoy, 2014)

A vitamini barsakta safra tuzları aracılığıyla emildiğinde, karaciğere nakledilerek fazlası depolanır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010; Aksoy, 2014). Vücut içerisinde karotenlerden birer A vitamini molekülü meydana gelmesine rağmen sadece  $\beta$ -karotenden iki adet A vitamini meydana gelmektedir. Hem hayvanlar hem de insanlar karoteni, retinole çok etkin bir şekilde dönüştüremediğinden bir adet retinol molekülü yerine en az dört adet karoten molekülü alması gerekmektedir. Ayrıca karotenler barsakta retinol kadar kolay absorbe edilemediğinden, karotenler büyük oranda dışkı ile dışarı atılmaktadır. Buna ilave olarak retinol ve provitaminler plasentadan fetüse transfer edilememesine rağmen, A vitamini fetüse geçebilmektedir(Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

## 2.4. Hücrelere Dağılım

Dolaşım sisteminde “retinol bağlayıcı protein” ve “transtiretin” ile birlikte hareket eden retinol, diğer dokuların özgün hücre membran reseptörleri tarafından tanınarak hücreye alınır. Hedef hücreye giren retinol hücre stoplazmasındaki görevli proteinlere bağlanır (hücresel retinol bağlayıcı protein, hücresel retinoik asit bağlayıcı protein ve hücresel retinal aldehit bağlayıcı protein). Hücresel retinoik asit bağlayıcı protein karaciğer dışında akciğer, dalak, böbrek ve kaslarda, hücresel retinal aldehit bağlayıcı protein ise gözün retina tabakasında bulunur. Bunun yanı sıra “İnter-fotoreseptör retinal bağlayıcı protein” fotoreseptör hücreler ile retinol pigmentli hücreler arasında yer alır. Bu proteinler hücre içine alınan vitamini bağlayarak retinoidleri hücre nükleusuna taşır. Böylece hücrelerin farklılaşması ve büyümesinde etkin bir rol oynar. Yapılan çalışmalarda “retinoid x reseptörleri (PxR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )” tanımlanarak, bunların gen düzenlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010; Hernandez ve Hardy, 2020)

## 2.5. Biyotransformasyon ve Atılımı

Dokularda aktif çalışma sistemi olan all-trans retinol dönüşümlü olarak retinal ve aldehit yapılarına okside olabilmektedir. Özellikle retinal yapısının görme düzeneğinde rolü bulunur. Retinalin normalden daha yüksek oranda okside olması metabolik aktivitesi olmayan retinoik asidi oluşturur. Bu reaksiyon “alkol dehidrojenaz” veya “ksantin oksidaz” enzimleri tarafından katalize edilmesi sonunda, retinale dönüşemeyen retinoik asit oluşturulur. Retinoik asidin kısa sürede suda çözünebilmesi için karaciğerde glukronik asitle bağlanması gerekir. Bu şekilde oluşan glukuronit formülasyonlarsafıyla lümene akıtılıp, tekrar emilimin gerçekleşmesiyle karaciğerde depolanması sağlanır. Oluşan bu döngüye “enterohepatik dolaşımı” denir. Bir kısım metabolit ise dışkı ile vücuttan atılır (Aksoy, 2014).

## 2.6. Vücutta A Vitamini Oluşumunun Etkenleri

Vücuttaki vitamin A dengesi; hem besinlerle alınan protein, lipit ve çinko gibi maddelerin miktarına hem de canlının yaş, stres, hastalık, farmakolojik madde kullanıp kullanmadığı gibi birçok faktöre bağlıdır. Serumdaki vitamin A düzeyi ise besinlerle günlük almaya, taşıyıcı proteinlere ve depolardaki miktarlara göre belirli bir süre değişmeden kalabilir.

Yapılan çalışmalarda beslenme esnasında yeterli enerji ve protein alamayan çocuklarda serumdaki retinol ve retinol bağlayıcı protein düzeyinin düşük olduğu belirlenmiştir. Vücutta protein yetersizliğinde karaciğerde “retinol bağlayıcı protein” sentezi bozulurken, protein alımıyla vitamin A alım miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çünkü bu protein molekülünün elzem amino asitlerden zengin bir yapısı vardır. Bu nedenle kalitesiz ve yetersiz protein alımına karşı hassas bir yapıdadır (Hernandez ve Hardy, 2020).

Protein sentezinde önemli etkisi olan minerallerden biri de çinkodur. Bu mineral maddenin yetersizliğinde vitamin A metabolizmasında rol oynayan “retinil ester hidrolaz” ve “alkol dehidrojenaz” gibi enzimlerin sentez reaksiyonları etkilenmektedir. Vücuttaki yetersizliğinde “hepatik alkoldehidrojenaz” aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Yaş ve stres vücuttaki retinol düzeyini etkilemektedir. Vücutta oluşan stres sonunda kortikosteroidler dokulardaki vitamin A düzeyinin azalmasına sebep olurlar. Ayrıca yağ malabsorbsiyonu ve bununla ilintili hastalıklar serum vitamin A düzeyi ile doğrudan ilişkilidir. Kronik ve akut böbrek problemlerinde hipervitaminosis A tespit edilmiştir. Diyabetli hastalarda da retinol bağlayıcı protein ve vitamin A düzeylerinin düşük olduğu saptanmıştır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010; Hernandez ve Hardy, 2020).

Serum vitamin A düzeyi, karaciğerde depo vitamini bulunduğu günlük besinlerle alımdan etkilenmez. A vitamininin karaciğerdeki depo miktarı  $20\mu\text{g/g}$  doku ağırlığının altına düşerse serumdaki retinol düzeyide düşer. Ancak bu organdaki depo miktarı  $300\mu\text{g/g}$  doku düzeyine çıktığında serumdaki düzeyde kontrolden çıkar (Aksoy, 2014).

## **2.7. A Vitamininin Vücuttaki İşlevleri**

Sistemik olarak A vitaminine vücutta epitel dokunun varlığını devam ettirmesi farklılaşması ve büyümesi için ihtiyaç duyulur. Yetersizliğinde “squamous metaplazisi” görülür. Bu metaplazisi, vitamin A yetersizliğinde epitel hücrelerin yerini alan skuamöz hücrelerinin keratinizasyonu ve farklılaşması demektir. Bu oluşum esnasında mukus membran yapısı ve salgısı değişirken derideki keratin miktarında artış görünür. Hücre membranı yapısında vitamin A etkinliği glikoprotein biyosentezindeki etkileşimden ileri gelmektedir. A vitamini bu proteinlerin sentezinde şeker molekülünü proteine taşıyarak ko-enzim gibi görev yapar. A vitamini yetersizliğinde genel olarak intestinal mukoza keratinize hücreler olmadığından, mukus salgısı oluşturan hücreler büyük oranda etkilenir. Buna ilaveten bu vitaminin yetersizliğinin, humoral ve hücrel immüniteyi bozduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde tetanoz immünizasyonunda A vitamini takviyesi immun globülinleri (IgG) ve T-hücrelerinin cevabını arttırmıştır. (Yıldırımkaya, 2003; Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

Göz retinasına yerleşmiş fotoreseptörler “kon” ve “rod” olarak gruplandırılır. Rod hücreleri “rodopsin denilen ışığa hassas “fotosensitif” pigment içerdiklerinden karanlıkta görmeden sorumludur. Kon hücreleri ise “iyodopsin” pigmentini içerdiklerinden ışık ve renten sorumludur. Her iki pigment de vitamin A yapısı olan “11-cis-retinal” vardır. All-trans retinol bir çok reaksiyonun sonunda 11-cis-retinol isomerine dönüşür. Retinolün 11-cis izomeri; “retinol dehidrojenaz” ve NAD hareketiyle karşılığı olan retinol izomerine oksitlenir. Süregelen reaksiyonlarla karanlıkta 11-cis-retinal opsine birleşerek tekrar rodopsini yapar. Bu esnada bir miktar A vitamini kaybolduğundan rodopsin miktarı düşer. Normal metabolik aktivitesi esnasında retinal pigmentleri, dolaşımda mevcut olan all-trans-retinolü emerler. Herhangi bir şartta vitamin

A yetersizliğinde bu işlem gerçekleşmeyeceğinden dolayı ışık değişimi esnasında görme işleminde bozulmalar meydana gelecektir. Buna “gece körlüğü” denilir (Hernandez ve Hardy, 2020).

A vitamini üremede etkili vitaminler arasında yer almaktadır. Vücutta hücre farklılaşmasındaki etkinliğinden dolayı spermatojenez ve embriyonik gelişme için önemlidir. Bu vitaminin yetersizliği deney hayvanlarının erkeklerinde genital organ hücrelerinin değişimine, dişilerinde fetusun resopsiyonuna sebep olmuştur. Testosteronun biyosentezinde spesifik ko-enzim rolü olma ihtimali olduğundan, epitel dokunun devamını sağlamada önemlidir. Fakat retinoik asit bu reaksiyon zincirinde etkili olamamaktadır (Aksoy 2014).

## **2.8. A Vitamini Yetersizliğinin Etkileri**

A vitamini yetersizliği görmede oldukça etkili bir vitamindir. Eksikliğinde gözdeki konjunktiva, retina ve kornea kısımları etkilenir. Bu vitamini oldukça hassas olan retinada “gece körlüğü” oluşur. A vitamininin yetersizliği devam ederse korneada “kuruma” meydana gelir. Kuruluk başlangıçta net olmayan görüşe neden olur ve tedaviyle normale döner. Oluşan kuruluk “bitot lekesi” ile beraber görünür. Yetersizlik ve kornea bozukluğu ile oluşan kornea ülserlerinin neticesi “keratomalasi” olarak ifade edilen görme kaybıdır. Bu durum genellikle protein-enerji bozukluğunda ortaya çıkar (Aksoy 2014).

Kemik büyüme medilasyonunda retinol ve retinoik asidin işlevleri olduğu görülmüştür. Vitamin A özellikle kırkırdak hücrelerinin aktiviteleri için gereklidir ve bunun kontrolü epifiz tarafından yapılır. Retinoik asit ve retinol granürlü retikola endotelyaldeki protein sentezinin glikosilasyonunda görev alır. A vitamininin yetersizliğinde karaciğer, intestinal mukoza ve diğer dokulardaki glikoproteinlerin azalmasına neden olur. A vitamini yetersizliğinde epitel hücrelerde çeşitli problemler ortaya çıkmaktadır. Bu vitaminin orta derecede yetersizliği bile sindirim ve solunum sistemlerinde, deride ve idrar yollarında epitel doku kalınlaşması olarak ifade edilen “keratinizasyon” ‘a sebep olur. Özofagus, ağız ve diğer kısımlardaki epitel tabaka nemliliğini kaybederek keratinle dolar. Bağırsak morfolojisinde olan bu değişimle iştah kaybı da meydana gelir. Enfeksiyon hastalıklarına karşı ilk engelleyici basamak epitel dokudur. Bu dokudaki keratinizasyon özellikle bakteri kolonilerinin oluşumuna enfeksiyonlara sebep olur. Dolaşımdaki A vitamini düzeyinin aktif enfeksiyonun belirlendiği vücutta azaldığı görülmüştür. Vitamin A ve karotenlerin vücuttaki ihtiyacı karşılayamayacak oranda alındığında mide ve solunum sistemi kanser riskinin arttığı görülmüştür (Yıldırımkaya, 2003; Aksoy, 2000; Gürdöl ve Ademoğlu, 2010; Hernandez ve Hardy, 2020).

### 3. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

Yapılan araştırmalar sonucunda VA eksikliğinden dolayı suda yaşayan canlılarda da birçok belirtilerin ortaya çıktığı saptanmıştır (Tablo 3.1, Tablo 3.2) (Hernandez ve Hardy, 2020).

**Tablo 3.1.** Suda yaşayan canlılarda Vitamin A kaynaklı yapılan araştırmalar.

Tür	Başlangıç Ağırlığı (g)	IU <sup>a</sup> kg <sup>-1</sup> (A vitamini kaynağı)	İncelenen Parametre	Referans
Rainbow trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	0,17	2,500–3,500 (Retinil asetat)	WG	Aoe et al. (1968)
Common carp ( <i>Cyprinus carpio</i> )	2,2	4,000–20,000 (Tanımlanmamış, retinol olabilir)	LS, ADS	Shim ve Tan (1990)
Guppy ( <i>Poecilia reticulata</i> )	NA	2,000–4,000 (Tanımlanmamış)	WG	Shim ve Tan (1990)
Tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	11,4	5,000 (Retinil asetat)	ADS	Saleh et al. (1995)
	13,6	5,400 (Retinil palmitat)	LS, WG	Campeche, Ramos, Teixeira ve Possebon (2009)
	5,2	3,545 (Retinil asetat)	ADS	Guimarães et al. (2014)
Tilapia ( <i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i> )	1,60	5,870–6,970 (Retinil asetat)	LS, WG	Hu, Chen, Pan ve Huang (2006)
Channel catfish ( <i>Ictalurus punctatus</i> )	NA	1,000–2,000 (Tanımlanmamış)	WG, LS	NRC (2011)
Yellowtail ( <i>Seriola quinqueradiata</i> )	NA	10,500–12,500 (Tanımlanmamış)	WG, LS	Shimeno (1991)
Greasy grouper ( <i>Ephinephelus tauvina</i> )	5,8	3,101 (Retinil asetat)	WG	Mohamed et al. (2003)
Atlantic halibut ( <i>Hippoglossus hippoglossus</i> )	0,4	8,333 (Retinil asetat)	LS, ASD	Moren, Opstad, Berntssen, Zambonino Infante, and Hamre (2004)
Sunshine bass ( <i>Morone chrysops</i> x <i>M. saxatilis</i> )	7.6	1,700–135,000 (Retinil asetat)	WG	Hemre, Deng, Wilson, and Berntssen (2004)
Red sea bream ( <i>Pagrus major</i> )	1.1	5,000–20,000 (Retinil palmitat)	WG, LS	Hernandez et al. (2004)
Japanese flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	1.5	9,000 (Retinil palmitat)	WG	Hernandez et al. (2005)
European sea bass ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	0.08	121,000 (Retinil asetat)	WG	Villeneuve, Gisbert, Le Delliou, Cahu, and Zambonino-Infante (2005)
Amur sturgeon ( <i>Acipenser schrenckii</i> )	12.09	923 (Retinil asetat)	WG, LS	Wen, Yan, Gao, Jiang, and Wei (2008)
Atlantic salmon ( <i>Salmo salar</i> )	135 (postmolting)	12,300 <sup>b</sup> (Retinil asetat)	ND	Ørnsrud, Lock, Waagbo, Krossøy, and Fjellidal (2013)

**Tablo 3.1. (Devamı)** Suda yaşayan canlılarda Vitamin A kaynaklı yapılan araştırmalar.

Tür	Başlangıç Ağırlığı (g)	IU <sup>a</sup> kg <sup>-1</sup> (A vitamini kaynağı)	İncelenen Parametre	Referans
Goldfish ( <i>Carassius auratus</i> )	6.6	2,624 (Retinyl acetate)	GP	Fries et al. (2014)
Wuchang bream ( <i>Megalobrama amblycephala</i> )	2.4	3,914 (Retinyl acetate)	SGR	Liu et al. (2016)
Gibel carp ( <i>Carassius auratus gibelio</i> var. CAS III)	69.3	2,698 (Retinyl acetate)	VAP	Shao et al. (2016)
Grass carp ( <i>Ctenopharygodon idella</i> )	5.0	4,769 (Retinyl acetate)	SGR	Wu et al. (2016)
	262.02	2,213 (Retinyl acetate)	WG	Zhang et al. (2017)
Silver catfish ( <i>Rhamdia quelen</i> )	23	2,610 (Retinyl acetate)	G, FQ	Battisti et al. (2017)
Orange spotted grouper ( <i>Epinepheus coioides</i> )	7.4	4,000 (Retinyl acetate)	WG	Yang et al. (2017)
Dourado ( <i>Salminus brasiliensis</i> )	18	8,500 (Retinyl acetate)	WG	Albers, Sabioni, Aguilar, Lorenz, and Possebon (2018)
Silver ( <i>Sillago sihama</i> )	2.05	2,516–4,434 (Retinyl acetate)	WG, LS	Huang et al. (2018)

ADS;Eksiklik belirtilerinin yokluğu, FQ; Fileto kalitesi, G; Büyüme, LS; Maksimum karaciğer depolaması, ND; Kemik deformitesi yok, SGR; Spesifik büyüme oranı, VAP; Plazmadaki Vitamin A içeriği, WG; Ağırlık kazancı

<sup>a</sup>1 IU=0,3 µg tüm-trans-ROL.

<sup>b</sup>Bu tabloda, mevcut değerler IU kg<sup>-1</sup> vücut ağırlığı gün<sup>-1</sup>

**Tablo 3.2.** Balıklarda vitamin A azlığı ve fazlalığının yaygın klinik belirtileri.

Vitamin A Azlığı	Vitamin A Fazlalığı
Büyümede azalma	Büyümede azalma
Artan ölüm oranı	Artan ölüm oranı
Anemi	Anemi
Anoreksiya	Vücudun renginde koyulaşma
Kanamalı gözler	Anormal ve nekrotik yüzgeçler
Ekzoftalmi	Kuyruk yüzgecinin nekrozu
Korneanın bulanıklaşması ve kalınlaşması	Skolyoz
Retina dejenerasyonu	Lordoz
Vücut depigmentasyonu	İskelet oluşumunda bozukluk
Operkulumun zayıf büyümesi	Omurga deformiteleri
Böbreklerin atrofisi	Soluk, kırılğan ve büyümüş karaciğerler
	Dalak büyümesi

## 4. MATERYAL VE METOT

### 4.1. Materyal

#### 4.1.1. Araştırma Ortamı

Tez çalışmasına ait araştırma 16 Haziran-13 Eylül tarihleri arasında yapıldı. Kerevitleri yemlerle besleme düzeneği, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Havuzları'nda gerçekleştirildi. Bunun için fiberglas tekneler kullanıldı.

#### 4.1.2. Tatlısu İstakozu Materyali

Çalışmada kullanılan tatlısu istakozları (*P. leptodactylus*) Keban Baraj Gölü Aydıncık Yöresi'nden pinter ağlarıyla avlandı. Her tekneye 20 adet olmak üzere deneme grublarına 60 adet kerevit yerleştirildi. Çalışmada deneme başlangıcındaki kerevitlerin durumunu belirlemek için bir negatif kontrol (NEK) grubu düzenlendi. Besleme çalışması bir kontrol, dört deneme grubu olmak üzere beş grupta ve üç tekrar olarak yürütüldü. Toplam 300 adet erkek kerevit kullanıldı. Farklı teknelere stoklanan kerevitlerin ağırlıkları ve uzunlukları belirlenerek kaydedildi.

#### 4.1.3. Yem Düzenlemesi

Tez çalışmasında, kerevitlerin beslenmesi amacıyla kontrol (K) ve VA ilave edilen deneme yemlerinden (A1, A2, A3) oluşan dört farklı rasyon hazırlandı. Bu rasyon canlının ihtiyacına yönelik olarak (yaklaşık olarak %37-39 protein, %7-7,5 yağ içerecek şekilde) belirlendi (Barım, 2005). Bunun için kontrol yemine 100 mg kg<sup>-1</sup> VA (A1), 200 mg kg<sup>-1</sup> VA (A2) ve 400 mg kg<sup>-1</sup> VA (A3) ilave edildi (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Kontrol rasyonunu bileşimi (%)

Yem Maddeleri	K
Soya Küspesi	38,6400
Balık Unu	35,9800
Buğday Unu	19,3000
Bitkisel Yağ	4,0000
Dikalsiyum fosfat	1,0000
Sodyum fosfat	0,4000
Mineral karması	0,1800
Vitamin karması	0,5000
Toplam	100,0000

#### 4.1.4. Çalışmada Kullanılan Suyun Özellikleri

Laboratuvarında kullanılan suyun bazı özellikleri Tablo 4.2' de verildi.

**Tablo 4.2.** Laboratuvarında kullanılan suyun bazı özellikleri

Özellikler	Miktarlar
Sıcaklık ( °C)	21
pH	7,82
Çözünmüş oksijen	6,91
Sertlik	19 FS°
Alkalinite	225 mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>
Çözünmüş katı madde	215 m g L <sup>-1</sup>
Kalsiyum	56 mg L <sup>-1</sup>
Magnezyum	13,28 mg/L
Klorür	23,96 mg/L
Amonyak	0 mg/L

#### 4.1.5. Farklı Araç ve Gereçler

Bu tez çalışmasında, kerevitlerin boyları 1 mm ayırmalı ölçüm tahtası, canlı ağırlık tartımı 0,001 g hassasiyetli terazi, su sıcaklığı termometre; pH ve oksijen miktarı 'Hanna-91140' model oksijen metre kullanılarak tespit edildi.

Laboratuvar çalışmasında makas, pens, falkon tüpler, petri kutuları, 50-1000µm otomatik pipetler, beher, mezür gibi cam malzemeler, dokulardaki (kas, solungaç, gonad ve hepatopankreas) MDA, SOD, GSH-Px ve GSH düzeylerinin tespit edilmesinde spektrofotometre kullanıldı.

## 4.2. Metot

### 4.2.1. Araştırmanın Planlanması ve Kurulması

Tez çalışmasında kerevitlerin oluşturulan rasyonlarla beslenme süresi 90 gün olarak planlandı. Bu kerevitler adet/m<sup>3</sup> stoklama oranında göre, her tekneye 20 adet kerevit üç tekrarlı olmak üzere beş grup halinde stoklandı. Teknelerin taban kısmına gizlenebilmeleri için çapı 7-10 cm, boyu 20-30 cm olan plastik borular yerleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce bütün kerevitlerin canlı ağırlığı ve total boyu belirlendi. Teknedeki kerevitlere verilecek yem miktarının belirlenmesinde; su sıcaklığı ön planda tutuldu (Çetinkaya, 1995). Kerevitlere belirlenen yem miktarı günde iki öğün halinde verildi (Velasco ve ark., 1999).

#### **4.2.2. Çalışmada Kullanılan Rasyonun Hazırlanması**

Kontrol ve deneme rasyonlarını oluşturan yem maddelerinin öğütülerek 1- 3 mm partikül büyüklüğüne ufalandı. Bu yem maddeleri belirlenen oranlarda tartılarak homojen bir karışım oluşturulacak şekilde karıştırıldı. Belirlenen oranlarda hazırlanan vitamin A yağ içerisinde çözdürüldü. Bu karışım homojen hale getirilmiş olan yem maddeleri ile karıştırıldı. Sodyum fosfat, dikalsiyum fosfat, vitamin ve mineral karmalarını içeren karışımı suda eritildi. Karıştırılarak hamur haline getirilen yem, kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline getirilerek tepsilere yerleştirildi. 55 °C'de soğutmalı etüvde 48 saat bekletilerek kurutuldu (He ve ark., 1992; He ve Lawrence, 1993; Baker, 1997). Yemlerin büyüklükleri ise Tan ve Dominy (1997)'ye göre ayarlandı.

#### **4.2.3. Araştırma Rasyonlarının pH ve Suda Çözünürlük Sürelerinin Tespiti**

Çalışmada kullanılan K, A1, A2 ve A3 rasyonlarının pH düzeylerini tespit etmek amacıyla 100 cc distile suda (pH = 6,30, sıcaklık = 26,5 °C) 15 g yem eritilip süspansiyon haline getirilerek dijital bir pH metre ile ölçüm yapıldı. Her bir rasyonun suda çözünme süreleri ise, içerisinde 100 cc distile su bulunan cam beherlere bırakılan pelet yemlerin fiziksel yapılarının dağılması gözlenerek tespit edildi (AOAC, 1984).

#### **4.2.4. Biyokimyasal Analizler**

Negatif kontrol, kontrol ve deneme gruplarından alınan kerevitler benzokain kullanılarak anestezi edildi. Bunu takiben otopsi yapılarak kerevitlerin kas, hepatopankreas, solungaç ve gonadları çıkarılarak folyolara sarıldı, analizler yapılmaya kadar -20 °C 'de derin dondurucuda saklandı.

#### **4.2.5. Malondialdehit (MDA)'in Belirlenmesi**

Oksidatif stresin en büyük göstergesi olan MDA analizinde, dokular üzerine %15'lik trikloroasetik asitten 250 µL ve 0.5 M HClO<sub>4</sub>'den 750 µL ilave edilerek çalkalandı. Herbir dokunun küçük parçalara ayrılması sağlanarak lizat 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısım alındı ve HPLC (Yüksek Performanslı Likit Kromatografisi)'de analiz edildi (Karatepe, 2004).

#### **4.2.6. Antioksidanların Tayini**

##### **GSH-Px aktivitesinin Tayini**

GSH-Px aktivitesinin ölçümünde Beutler (1975) metodu kullanıldı. GSH-Px, redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) oksidasyonunu hidrojen peroksid kullanarak katalize

etmektedir. GSSG 'nin oluşum hızı GR reaksiyonu vasıtasıyla belirlendi. Reaksiyon ortamındaki t-butilhidroperoksidin (bu enzim ölçümlerinde en uygun peroksid substratıdır) her bir molekülünün redüksiyonu için 1 mol GSSG oluşmakta, GSSG 'nin GSH 'a redüksiyonu ise GR enziminin katalizlediği reaksiyonla meydana gelmektedir. Bu reaksiyonda GSSG 'nin her bir molünün redüksiyonu için 1 mol NADPH okside olmaktadır. GSH-Px aktivitesi de NADPH oksidasyonunu takiben spektrofotometrik olarak 340 nm 'deki sistemin optik dansitesindeki düşüşten hesaplanarak sonuçlandırıldı.

### **GSH Tayini**

Dokulardaki Glutasyon seviyesi Chavan ve ark. (2005) 'nın yöntemine göre yapıldı. Bu metod 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoik asit eklendiğinde sülfidril gruplarının oldukça stabil sarı renk oluşturması temeline dayanan ve spektrofotometrede ölçülebilen bir yöntemdir (Tablo 4.3).

#### **Metodun Ayraçları**

a. Çöktürücü Solüsyon: 0.2 g disodyum EDTA, 1.67 g galsiyel metafosforik asit, 30 g NaCl tartıldı. 100 ml distile suda çözüldü. Bu solüsyon +4 °C'de 3 hafta dayanıklıdır.

b. Fosfat Ayırıcı: 0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 L distile suda hazırlandı. Bu solüsyon +4 °C'de saklandı.

c. DTNB: 40 mg DTNB % 1'lik Na-sitrat çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlandı. Bu solüsyon +4 °C'de 13 hafta saklanır.

d. Glutasyon Standartı: 2 mg/dl glutasyon.

#### **Deneyin Yapılışı**

Deney sırasında hemolizat üzerine çöktürücü solüsyondan 3 ml konulup, vortekslendi ve 5 dk sonra filtre kağıdından süzülde. Elde edilen süzüntü deney ortamında kullanıldı.

**Tablo 4.3.** GSH ölçümü

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>	<b>Standart (ml)</b>
<b>Süzüntü</b>	-	2	-
<b>Standart</b>	-	-	2
<b>Çöktürücü</b>	1.2	-	-
<b>Distile su</b>	0.8	-	-
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	8	8	8
<b>DTNB</b>	1	1	1

Deney tüpleri hazırlandıktan sonra vortekslendi ve 512 nm'de okundu.

Dokulardaki Glutasyon Aktivitesinin Hesaplanması:

$$\text{GSH mg/dl} = \frac{(\text{Standartın Konsant.}) \times (\text{Örneğin OD}) \times (\text{Sulandırma Katsayısı})}{(\text{Standartın OD})}$$

mg/dl olan GSH değerleri  $\mu\text{mol}$ 'e çevrildi, sonuçlar GSH  $\mu\text{mol/g}$  protein olarak verildi.

### SOD Aktivitesinin Tayini

Dokulardaki SOD aktivite ölçümü ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalının nitroblue tetrazolium 'u (NBT) indirgeyerek renk oluşması esasına dayanmaktadır. Bu etkileşimle üretilen süperoksit radikalının NBT 'u indirgemesi 560 nm 'de maksimum absorbans veren mavi renkli formazon oluşumu ile sonlanmaktadır (Sun ve ark., 1988). Ancak ortamda enzim olmadığı durumda bu indirgeme maksimal olmaktadır. Koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Ortamda SOD varlığında ise enzim süperoksit anyonunu hidrojen peroksite çevirmektedir. Bunun sonunda NBT indirgenmesi azalmakta ve renk değişikliği meydana gelmektedir. Renkli formazon oluşumu ortamın enzim konsantrasyonu ile ters orantılı olarak gerçekleştirilmektedir. Böylece oluşan formazonun 560 nm'de verdiği absorbanstan SOD aktivitesi hesap edilebilmektedir (Tablo 4.4).

#### Metodun Ayraçları

##### 1. Assay Reaktifi

- 150  $\mu\text{mol/L}$  NBT: 12.3 mg alınıp 100 ml distile suda çözülür.
- 0.6 mmol/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ : 23 mg alınıp 100 ml distile suda çözülür.
- 400 nmol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 2.54 gr alınıp 60 ml distile suda çözülür.
- 0.3 mmol/L xanthine: 9.13 mg alınıp 200 ml distile suda çözülür.
- 1 g/L bovine serum albümine (BSA): 30 mg alınıp 30 ml distile suda çözülür.

Hepsi karıştırılır (toplam 490 ml) koyu renkli şişede  $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanır.

2. Ksantin Oksidaz (167U/L): Mililitresinde 0.167U olacak şekilde 2M  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  içinde çözülür.

3. 2M  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ : 2.64 g amonyum sülfat tartılır bir miktar distile suda çözülür ve total hacim 10 ml'ye tamamlanır.

4. 0.8 mmol/L  $\text{CuCl}_2$ : 13.6 mg  $\text{CuCl}_2$  alınıp bir miktar distile suda çözülerek total hacim 100 ml'ye tamamlanır.

#### Deneyin Yapılışı

Kurulan sistemde 1/5 oranında dilüe edilmiş eritrosit hemolizati eşit hacimde kloroform/etanol (3/5 V/V) ile karıştırılarak 3000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. En üstteki berrak kısım SOD aktivitesi tayininde kullanılmak üzere ayrı tüplere konuldu.

**Tablo 4.4.** Süperoksit dismütaz aktivite ölçümü

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Assay reaktifi</b>	2.85	2.85
<b>Süpernatant</b>	-	0.10
<b>Distile su</b>	0.10	-
<b>Ksantin Oksidaz</b>	0.05	0.05

Örnekler 25 °C'de 20 dk süreyle inkübe edildi. Süre dolununun sonunda her iki tüpe de 1.0 ml CuCl<sub>2</sub> ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Distile suya karşı, kör ve numunenin absorbanlarının ölçümü spektrofotometrede yapıldı. 560 nm absorban dalga boyunda ölçüm yapıldı.

Dokularda Süperoksit Dismütaz Aktivitesinin Hesaplanması:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans (Kör)} - \text{Absorbans (Örnek)})}{\text{Absorbans (Kör)}} \times 100$$

1 Ünite SOD: % 50'lik NBT inhibisyonu meydana getiren enzim miktarıdır.

$$\text{Ü/ml SOD} = \frac{\% \text{ İnhibisyon}}{\% 50 \text{ İnhibisyon}}$$

#### **Biyolojik Sıvılarda Protein Tayini**

Dokular homojen hale getirilerek, homojenatlardaki protein miktarı modifiye Lowry (1951) yöntemine göre ölçüldü. Bu metotda; alkali bakır tartarat ayırıcı peptid bağları ile kompleks yapmaktadır. Her 7 veya 8 amino asit artığı 1 atom bakır bağlamaktadır. Bu reaksiyon esnasında fenol ayırıcı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor-mavi renk şekillenmektedir. Bu renk şiddeti 650 nm dalga boyunda okunmaktadır. Bu işlemler sonrasında örnekler sulandırılarak ölçümler yapıldı (Tablo 4.5).

Metodun Ayıraçları

a) Alkali Bakır Ayırıcı: 10 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.1 g Potasyum tartarat ve 0.05 g Bakır sülfat, 0.5 N NaOH içinde çözülür ve 100 ml'ye tamamlandı ve çözelti oda ısısında 30 gün dayanıklıdır.

b) Fenol Ayırıcı: 2.0 N Folin-Ciocaltue-Fenol ayırıcından 3.75 ml alınır, distile su ile 67.5 ml'ye tamamlandı ve çözeltideki örnek sayısına göre çalışma anında günlük olarak hazırlandı.

c) Protein Standartı: 50 µg/ml Sığır Serum Albumin (BSA)

e) Okuma Sınırına Getirilmiş (Sulandırılmış) Örnek:

Deneyin Yapılışı

**Tablo 4.5.** Protein ölçümü

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>	<b>Standart (ml)</b>
<b>Alkali Bakır Ayıracı</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Örnek</b>	-	1.0	-
<b>Distile Su</b>	1.0	-	-
<b>Standart</b>	-	-	1.0
<b>Tüpler iyice karıştırılır ve 10 dk oda ısısında bekletilir.</b>			
<b>Fenol Ayıracı</b>	4.0	4.0	4.0

İşlemler sonunda tüpler hemen vortekste iyice karıştırıldı ve 5 dk 55 °C’de bekletildi. İnkübasyon sonrası musluk suyu altında hemen soğutuldu ve 650 nm’de standart ve örnek tüplerinin absorbansı kör tüpüne karşı okundu.

Hesaplama:

$$\mu\text{g protein / ml} = (\text{Örnek Abs.} / \text{Standart Abs.}) \times \text{Standart Konsant.} \times \text{Sulandırma}$$

## 5. BULGULAR

Bu tez çalışması başlangıcında her bir gruptaki kerevitlerin boy ve ağırlıkları alınarak gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmamasına dikkat edildi. Buna göre kerevit ağırlıkları NEK grubunda  $20,18 \pm 1,08$ , K grubunda  $21,09 \pm 1,13$ , A1 grubunda  $21,01 \pm 1,09$ , A2 grubunda  $20,92 \pm 1,02$  ve A3 grubunda  $21,70 \pm 1,26$  olarak belirlendi.

Yapılan analizler sonucunda hepatopankreasdaki MDA değerinin NEK grubuna göre K grubunda önemli derecede yüksek olduğu belirlendi. Ancak VA ilave edilen gruplarda bu değer istatistiksel açıdan önemli derecede düştüğü görüldü. SOD, GSH-Px ve GSH analizleri sonucundada antioksidan bir madde olan VA içeren gruplarda da benzer düşmeler meydana geldi (Tablo 5.1)

**Tablo 5.1.** Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın hepatopankreas (H) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

BA	NEK	K	A1	A2	A3
MDA	$1,36 \pm 0,12$	$3,22 \pm 0,52$	$2,32 \pm 0,31$	$1,66 \pm 0,21$	$1,58 \pm 0,33$
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>		***			
SOD	$2,12 \pm 0,55$	$4,55 \pm 0,29$	$3,00 \pm 0,22$	$3,02 \pm 0,34$	$4,20 \pm 0,14$
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>		***			
GSH-Px	$102,03 \pm 15,31$	$256,31 \pm 10,09$	$126,37 \pm 14,09$	$132,09 \pm 17,46$	$129,94 \pm 10,36$
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>		***			
GSH	$42,36 \pm 7,31$	$22,63 \pm 2,34$	$15,37 \pm 2,61$	$14,31 \pm 3,12$	$14,66 \pm 3,51$
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>		***			

Gruplar arasındaki anlamlılık yıldız işaretiyle gösterildi ( $p > 0,05$ ,  $**p < .01$ ,  $***p < .001$ ).

Gonad dokusunda yapılan MDA analizleri sonucunda NEK grubuna göre K grubunda önemli derecede yüksek olduğu tespit edildi. VA ilave edilen gruplarda ise bu değer istatistiksel açıdan önemli derecede düştüğü görüldü. Benzer sonuçlar enzimatik (SOD, GSH-Px) ve enzimatik olmayan (GSH) antioksidan analiz gruplarında da belirlendi (Tablo 5.2).

**Tablo 5.2.** Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın gonad (G) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (µmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

BA	NEK	K	A1	A2	A3
MDA	0,52±	1,28±0,02	0,96±0,05	0,90±0,04	0,81±0,06
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	*				
SOD	3,25±0,34	2,23±0,12	3,12±0,30	3,38±0,26	3,01±0,23
P <sub>(NC-C)</sub>	*				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	*				
GSH-Px	86,31±17,62	128,61±10,91	95,66±8,93	98,64±7,13	86,37±7,05
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	**				
GSH	17,03±1,12	6,29±1,34	4,92±0,21	4,98±0,29	5,02±0,33
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	**				

Gruplar arasındaki anlamlılık yıldız işaretiyle gösterildi ( $p > 0.05$ ,  $**p < .01$ ,  $***p < .001$ ).

Tez çalışması sonunda elde edilen KA dokularının incelenmesi sonunda MDA, SOD, GSH-Px ve GSH gruplarında istatistiksel açıdan herhangi bir farkın olmadığı tespit edildi (Tablo 5.3).

**Tablo 5.3.** Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın Kas (KA) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (µmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

BA	NEK	K	A1	A2	A3
MDA	0,32±0,01	0,38±0,02	0,41±0,02	0,39±0,01	0,36±0,03
P <sub>(NC-C)</sub>	-				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	-				
SOD	2,23±0,21	2,56±0,17	2,41±0,15	2,59±0,34	2,13±0,25
P <sub>(NC-C)</sub>	-				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	-				
GSH-Px	65,31±7,23	68,39±8,62	69,63±7,39	71,18±6,72	70,31±10,06
P <sub>(NC-C)</sub>	-				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	-				
GSH	10,08±1,03	11,21±1,42	10,18±1,05	9,86±0,98	11,02±1,01
P <sub>(NC-C)</sub>	-				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	-				

Gruplar arasındaki anlamlılık yıldız işaretiyle gösterildi ( $p > 0.05$ ,  $**p < .01$ ,  $***p < .001$ ).

Vitamin A ile yapılan besleme sonunda solungaç dokuları analiz edildiğinde MDA değerinin diyet gruplarında düşük olduğu belirlendi. GSH analizinde istatistiksel açıdan düşme görülürken SOD ve GSH-Px değerlerinde değişimin olmadığı saptandı (Tablo 5.4).

**Tablo 5.4.** Negatif kontrol (NEK), kontrol (K), diyet grupları (A1, A2, A3)'nın Solungaç (S) dokusunda test edilen biyokimyasal analizlerin (BA) (malondialdehit (MDA (nmol g-1 doku)), süperoksit dismutaz (SOD (U ml-1)), glutatyon peroksidaz ((GSH-Px (U g-1)), glutatyonun ((GSH) (μmol mL-1))) ortalama konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

BA	NEK	K	A1	A2	A3
<b>MDA</b>	2,88±0,01	3,59±0,03	1,79±0,04	1,78±0,01	1,69±0,02
P <sub>(NC-C)</sub>	*				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	**				
<b>SOD</b>	10,28±0,42	7,62±0,49	6,65±0,39	7,02±0,50	7,29±0,45
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	-				
<b>GSH-Px</b>	122,61±11,03	200,34±15,61	216,21±14,63	215,19±13,99	212,63±15,66
P <sub>(NC-C)</sub>	***				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	-				
<b>GSH</b>	9,12±0,75	14,36±1,13	5,09±0,42	5,13±0,34	6,04±0,61
P <sub>(NC-C)</sub>	**				
P <sub>(C-VE-VC-VE+VC)</sub>	***				

Gruplar arasındaki anlamlılık yıldız işaretiyle gösterildi ( $p > 0.05$ ,  $**p < .01$ ,  $***p < .001$ ).

## 6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bir canlının yaşam süreci içerisinde biyokimyasal düzeylerdeki değişimler gelişim aşamasının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu esnada canlının farklı dokularında oluşan birikim ve dokularda rezervlerin harekete geçmesi biyokimyasal olarak belirlenip değerlendirilebilmektedir. Bu değerlendirme sonucunda ise canlıya dışarıdan yapılacak besleme, aşı, ilaçlarla tedavi gibi konularda sonuçlar alınıp iyileştirme sürecine girilmektedir. Bu tez çalışmasında, kerevitlerin VA ilave edilen yemlerle beslenme süreci sonunda hem gonadlarının geliştiği hem de kabuk değiştirmek için gastrolitlerin oluşmaya başladığı belirlenmiştir.

Geniş bir fizyolojik fonksiyon yelpazesine sahip temel bir mikro besin olan A vitamini, uzun zamandır güçlü antioksidan özellikleriyle tanınmaktadır. Monaghan ve Schmitt tarafından 1932'de yürütülen bir araştırmada, retinolün düşük konsantrasyonlarda *in vitro* linoleik asidin oksijen alımını birkaç saat boyunca inhibe edebileceğini ortaya koymuştur. Dahası, bir *in vitro* peroksidasyon sistemi retinoidlerin antioksidan aktivitelerini şu sıraya göre sıralamıştır: retinol > retinal > retinil palmitat > retinoik asit. Retinol ve analoglarının,  $\alpha$ -tokoferol dahil olmak üzere bazı iyi bilinen antioksidanlardan daha güçlü antioksidan özelliklere sahip olabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, A vitamininin *in vivo* antioksidan aktivitesinin altında yatan mekanizma belirsizliğini korumaktadır ve yapısı ile işlevi arasındaki ilişki şimdiye kadar tam olarak açıklanamamıştır. Son yıllarda, A vitamini durumu ile hayvanlarda oksidatif stres arasındaki ilişkiye olan ilgi artmaktadır (Hernandez ve Hardy, 2020).

Kerevitlerin gelişim süreçleri içerisinde; kabuk değiştirme ile büyümesi biyokimyasal boyutta canlıyı önemli derecede etkilemektedir. Bu süreç içerisinde gonadlarda gelişim devam etmekte, canlı bu iki süreci bazen birlikte yürütmektedir. Bu esnada ise hem oksidatif stres hem de enzimlerde büyük oranda değişimler görülmektedir. Bell ve ark., (2000) ve Cavalli ve ark., (2003) yaptıkları çalışma sonucunda hücre zarlarının hayati bileşenleri olan yüksek oranda doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen radikallerinin saldırılarına karşı özellikle duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Hücre zarında yağ asitlerinin kontrolsüz hasar ve oksitlenmiş parçalanma ürünlerinin birikmesi, hücre ve organ fonksiyonu için zararlı sonuçlara yol açabilir ve antioksidan gereksinimini artırabilir (Bell ve ark., 2000; Cavalli ve ark., 2003). Mevcut çalışmada, hepatopankreas ve gonad dokularındaki MDA düzeylerinin K grubunda NEK grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu belirlemiştir. MDA'daki artış, dokularda lipid birikimi ve gonadal olgunlaşma sırasında artan metabolik aktivite ile bağlantılı olabilir.

Genel olarak lipid peroksidasyon; lipid radikallerinin etkileşimleri ve/veya ROO\* tarafından radikal olmayan türlerin oluşumu sonucu oluşan, hücresel bileşenlerin oksidatif hasarının değerli bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Ayala ve ark., 2014; Regoli ve ark., 2014). Bu nedenle, yaptığımız tez çalışmasında ikincil bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerini

hepatopankreas, solungaç, gonad ve kas dokularında araştırdık. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, kerevitlerin antioksidan savunma ve OS düzeylerindeki değişimlerin genellikle hepatopankreasta kas, solungaç ve gonadlara kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Elde ettiğimiz bulgular, Paital ve Chainy (2013) tarafından yapılan ve OS fizyolojinin belirteçlerinin (SOD, CAT, GSH-Px, GR) *S. serrata*'nın solungaçlarına ve karın kasına kıyasla tüm mevsimlerde hepatopankreasta daha yüksek olduğunu bulan araştırma sonucuyla uyumlu olduğunu belirlemiştir. Benzer şekilde, Verghese ve ark., (2008) sindirim bezinin *P. viridis*'in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipid proksidasyonu gibi ROS düzeylerinin mevsimsel değişiminde özellikle incelenmesi gereken doku olduğunu belirlemiştir. Kabuklu canlılarda sindirim bezinin ana bezi olan hepatopankreas'ın yağda eriyen vitaminleri içerdiği, vücudun metabolizmasını düzenlediği ve yüksek oksijen tüketimi gösterdiği bilinmektedir (Borkovic ve ark., 2008; Bayir ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda hepatopankreasın metabolik olarak daha aktif olduğunu ve oksiradikal üreten enzimlerin diğer dokulara kıyasla nispeten daha yüksek aktiviteler gösterdiğini göstermiştir. Bu nedenle, hepatopankreas lipid açısından zengin olması ve yüksek metabolik hızı nedeniyle kendiliğinden otooksidasyona uğrayabilir ve böylece bu organda O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi diğer organlara göre nispeten daha fazla olabilir (Arun ve Subramanian, 1998; Dandapat ve ark., 2000; Borkovic ve ark., 2008). Yapılan çalışmalara paralel olarak; bu farklılıkların temel nedeni dokulardaki farklı serbest radikal üretim oranları ve farklı antioksidan potansiyelleri gösterilebilir.

Bu tez çalışması sonucunda NEK grubuna göre K grubundaki kerevitlerin hepatopankreas, gonad ve solungaçlarında MDA seviyesinin önemli ölçüde artarken, VA ilave edilen gruptaki kerevitlerin aynı dokularındaki MDA seviyesinde istatistiksel açıdan önemli derecede düşüşler tespit edilmiştir. Bu kerevitlerinin gonadlarının gelişmeye başlaması ve gastrolit oluşturarak kabuk değiştirmeye hazırlanmasının başlangıç aşamasında olmasından kaynaklanabilir. Kabuk değiştirme, kabuklu biyolojisinin tüm yönlerini (hücresel metabolizma, fizyoloji ve davranış) etkilemektedir. Metabolizma, mineral madde birikimleri, glikoz,  $\alpha$ -kitin-protein, gastrolit matris proteini, glikoprotein, dokulardaki (özellikle hepatopankreas) ve hemolenfteki ekdisteroidler gibi organik rezervlerin dönüştürülmesi ve salınması nedeniyle yükselir (Aiken ve Waddy 1992; Ghanawi ve Saoud 2012). Aiken ve Waddy (1992), doku metabolizmasının kabuk değiştirme öncesi dönemde oksijen tüketimini %1900'e kadar artırabileceğini bildirmiştir. Yudkovski ve diğerleri (2010), kabuk değiştirme öncesi gastrolit diskinde oksidatif stresi etkileyen genlerin yukarı düzenlenmesi ve üç ek gen değişikliğinin meydana geldiğini belirlediler. MDA düzeylerindeki bu artış, kabuk değiştirmeye hazırlık sırasında öncelikle yukarıda açıklananlar nedenlerden dolayı değişen metabolik aktivitenin neden olduğu fizyolojik aktivitenin artması sebebiyle aşırı serbest radikal üretiminin biyolojik moleküllere ve dokulara verdiği doğrudan hasarla ilişkili olabilir.

Genel olarak VA gibi antioksidan maddeler balık ve kabuklu hayvan dokularının mitokondri ve mikrozomlarındaki membran lipid peroksidasyonunu önlemede etkili olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (He ve Lawrence 1993; Bell ve ark., 2000; Dandapat ve ark., 2000; Izquierdo ve ark., 2001; Linan-Cabello, ve ark., 2002; Palace ve Werner, 2006). Linan-Cabello ve ark., (2003), antioksidanların gonad olgunlaşması gibi kritik süreçler sırasında lipid ve DNA gibi molekülleri koruyarak oksidatif stresi önlemede önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir. Barım (2005), 100 mg kg<sup>-1</sup> vitamin E'nin diyet takviyesinin *A. leptodactylus*'un hepatopankreasında ve kasında MDA düzeyini önemli ölçüde azalttığını elde etmiştir. Barım Öz (2024) yaptığı çalışmada VA ilave edilen yemlerle beslediği kerevitlerin, kabuk değiştirdiği anda yumuşak ve pelte halinde olduğu zaman diliminde hepatopankreasdaki MDA düzeyinin istatistiksel açıdan önemli derecede düştüğünü belirlemiştir. Yaptığımız tez çalışmasında VA takviyesinin gonadal gelişim sırasında *P. leptodactylus*'un hepatopankreas, gonad ve solungaçlardaki LPO üzerinde inhibitör etkisi olduğunu bulduk. Bu nedenle hücre zarlarında bulunan başlıca antioksidan biri olan VA'nın diyet seviyelerinin, dokuları peroksidasyondan koruyarak lipidlerin kullanımını potansiyel olarak artırabilir ve sonuç olarak *P. leptodactylus*'un gonad ve gastrolitlerinin geliştiği dönemde daha yüksek oksidatif stres seviyeleriyle başa çıkmak için oldukça etkili olduğunu göstermiştir.

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda hepatopankreasdaki ve gonadlardaki MDA düzeyinin besleme sonunda K grubunda artarken bu yükselişin solungaçlarda da benzer olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, üreme mevsimi boyunca *P. viridis*'in sindirim bezinde belirlenen artmış lipid peroksidasyon düzeyini belirten Vergheze ve ark. (2008) tarafından yapılan gözlemlerle de doğrulanmıştır. Bu durum *P. perna* için de tespit edilmiştir (Wilhelm Filho ve ark. 2001). Laboratuvarlarda yapılan immünohistokimyasal tanımlamalar, vitellogeninin hepatopankreasta (Lee ve Chen 2004) yumurtalıklardaki folikül hücreleri tarafından üretilen estradiolün kontrolü altında sentezlendiğini göstermiştir (Liñán-Cabello ve ark. 2002; Palace ve Werner 2006). Rodriguez-Gonzalez ve ark. (2006) *C. destructor*'un gametogenezini aktive etmek ve sürdürmek için hepatopankreastan gonada sürekli besin transferi olduğunu saptamıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen bu veriler hepatopankreastaki yüksek MDA düzeyinin, gamet oluşumu esnasında hepatopankreas ve solungaçlardan gonadlara enerji transferi sırasında serbest radikallerin artışından kaynaklanabileceğini ve solungaçlardaki MDA artışlarının büyük olasılıkla aşırı ROS üretimine atfedilebileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasında solungaçtaki MDA seviyesinin K grubunda NEK grubuna kıyasla önemli ölçüde değiştiğini belirledik. Borkovic ve ark., (2008)' nın yaptığı çalışmada solungaçların biyotransformasyon ve solunumun ana organı olması nedeniyle oksidatif strese düşük eşikli bir yanıt sergilediğini tespit etmiştir. Barım Öz (2024) yaptığı çalışmada farklı oranlarda VA ilave edilen yemlerle beslediği kerevitlerin, kabuk değiştirdiği anda yumuşak ve pelte halinde olduğu zaman diliminde solungaçlardaki MDA düzeyinin istatistiksel açıdan önemli

derecede düştüğünü belirlemiştir. Solungaçlar solunum organı olduğundan dolayı sürekli olarak ortam oksijenine maruz kalırlar. Bu tez çalışması esnasında *P. leptodactylus*'ta hem gonadal gelişime hem de kabuk değişimine hazırlık aynı anda gerçekleştiği için, bu zaman diliminde metabolik aktivite daha yüksek olabilir.

Süperoksit dismütaz, oksijen radikallerine karşı ilk yanıt veren enzimdir ve oksidatif strese en büyük yanıtı veren enzimdir (Winston ve Di Giulio, 1991). Bu çalışmada, K grubunda kerevitin hepatopankreas, gonad ve solungaçlardaki SOD aktivitesi, NEK grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlendi. Mevcut çalışmanın sonuçları, SOD'un önemli ölçüde daha yüksek aktivitesinin, artan serbest radikal üretiminin bir sonucu olarak aşırı SOD tüketiminden kaynaklanabileceğini bulan Ahmed (2005) ve Ahmed ve ark., (2000) bulgularını desteklemektedir. Bu bulgular SOD aktivitesi ve MDA seviyesi arasındaki negatif ilişkiyle de desteklenmiştir (Ahmed ve ark., 2000). Ancak bu çalışmada, SOD aktivitesinin kas dokusunda değişmediği tespit edilmiştir. Bazı dokularda da yükseldiği saptanmıştır. Xiao-Dong (2007), antioksidan madde açısından zengin diyetlerle beslenen balıklarda (*Sparus macrocephalus*) toplam serum SOD aktivitesinin önemli ölçüde arttığını saptamıştır. Çalışmamızla paralel olarak, Sankar ve ark., (2006), SOD seviyesindeki artışın lipid peroksidasyon seviyelerinin düşük olması nedeniyle azalan kullanımdan kaynaklanabileceğini bildirmiştir. Ancak, SOD aktivitesi genellikle hem NEK hem de K gruplarında kerevitin diğer dokularıyla karşılaştırıldığında solungaçlarda daha yüksektir. Bu, solunum sırasında solungaçlarda  $O_2^-$ 'yi yok etme ihtiyacının arttığını göstermektedir (Arun ve Subramanian, 1998).

Rektif oksijen türlerinin üretiminin biyobelirteci olarak kullanılan SOD, CAT ve GSH-Px enzimleri oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur. Süperoksit dismütaz,  $O_2^-$ 'nin  $H_2O_2$  ve suya dönüşümünü katalize etmektedir (Oost ve ark., 2003). Bu çalışmada, hepatopankreastaki ve gonadlardaki SOD aktivitesinin NEK grubuna göre K grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yüksek sıcaklık, gonad gelişimi ve üreme döneminde artan SOD seviyesi Wilhelm Filho Ve ark., (2001) tarafından *P. perna*'da, Verghese ve ark., (2008) tarafından *P. viridis*'te ve Bayir ve ark., (2011) tarafından *S. glanis*'te de belirlenmiştir. Yüksek  $H_2O_2$  seviyesi, bu dönemlerde Fenton reaksiyonu ile  $OH^*$  üretimi yoluyla hücre fizyolojisini değiştirir. Bu nedenle, SOD artışı peroksidasyon nedeniyle  $O_2^-$  anyonlarının ve  $H_2O_2$ 'nin aşırı üretimini nötralize etmekle ilişkilendirilebilir. Ayrıca bu çalışmada solungaçlardaki SOD aktivitesinde de yükselme görüldü. Bu, metabolik aktivite sırasında dokularda  $O_2^-$ 'yi yok etme ihtiyacının arttığını gösterebilir (Ayala ve ark., 2014).

GSH-Px esas olarak organik peroksitlerin uzaklaştırılmasında oldukça önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, GSH-Px'in oksidatif stresin neden olduğu hasardan membranları korumada çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Barim ve ark., 2009; Ayala ve ark., 2014; Regoli ve Giuliani 2014). Mevcut çalışma, kerevitlerde GSH-Px aktivitesinin NEK grubuna göre K grubunda arttığı, VA ilave edilen yemlerle besleme sonunda ise azaldığı belirlendi. Bu sonuçlar, metabolik aktiviteler sırasında  $O_2^{\cdot-}$  radikallerinin üretiminin arttığını bildiren daha önceki bir çalışmalarla (Barim Oz ve Yılmaz 2009; Wilhelm Filho ve ark., 2001; Verlecar ve ark., 2008; Ayala ve ark., 2014) büyük ölçüde uyuşmaktadır. Hepatopankreastaki artan GSH-Px aktivitesi,  $H_2O_2$  seviyelerini azaltarak bu organı lipid peroksitlerin oluşumundan korumakta ve bu da  $OH^{\cdot}$  oluşumunu zayıflatmaktadır. Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda  $H_2O_2$ 'nin hücrel sistemde bulunan iki farklı enzim tarafından nötralize edildiği bildirilmiştir, Bunlar GSH-Px ve CAT'dır. Her biri  $H_2O_2$ 'ye olan afinitesinde farklılık gösterir ve hücre içi  $H_2O_2$  konsantrasyonu, her biri farklı bir  $K_m$  değerine sahip olduğundan, bu enzimlerden hangisinin işlevsel olacağına karar vermede etkili faktörlerden biridir (Beytut ve ark. 2009). Bunun yanısıra, özellikle GSH-Px hem inorganik hem de organik hidroperoksitlerin nötralizasyonundan sorumludur. Bu nedenle, hepatoankreas, gonad ve solungaçlardaki GSH-Px seviyesinin azalması  $H_2O_2$  aktivitesinin azalmasının nedeni olabilir. Çalışmamıza paralel olarak Nahrgang ve ark. (2013) de *M. edulis*'te gonadal gelişim ve yumurtlama mevsiminde GSH-Px düzeyinin yılın geri kalanında bulunanlardan daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, Barim Öz ve Yılmaz (2009) da *A. leptodactylus*'un gonadındaki GSH-Px düzeyinin kabuk değiştirme döneminde arttığını saptamışlardır. Daha önce de belirtildiği gibi, yüksek GSH-Px düzeyleri üreme döneminde OS'i azaltmak için yeterli olmayabilir, bu durum yüksek MDA düzeyinden de anlaşılmaktadır.

Glutasyon düzeyi, VA ilave edilen gruplardaki kerevitlerin hepatopankreas, solungaç ve gonad dokularında antioksidan maddenin metabolizmadaki etkinliğini göstermiştir. Gonad, hepatopankreas ve solungaçlardaki GSH içeriği K grubunda NEK grubuna göre önemli ölçüde yüksekti, ancak bu aktivite kas dokusunda değişmemiştir. Çalışmamıza paralel olarak, Wilhelm Filho ve ark., (2001) da *P. perna*'da üreme döneminde GSH konsantrasyonlarının yılın geri kalanında bulunanlardan daha düşük olduğunu saptamıştır. Bu dokulardaki GSH içeriğindeki düşüş, oksitlenmiş glutatyona dönüştürülebilen GSH'nin artan kullanımından ve etkisiz GSH rejenerasyonundan kaynaklanabilir. Şiddetli oksidatif stres ve adaptif mekanizmaların bozulması dokulardaki GSH seviyelerini baskılayabilir

(Zhang ve ark., 2004). Ancak, K grubunda NEK grubuna kıyasla solungaçlardaki GSH'nun artışı, solungaç dokusunda oksidatif zorluğun önlenmesiyle ilişkili olabilir. Yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen bulgular balıkların solungaçlarındaki yüksek GSH düzeyinin, yukarıda tartışıldığı gibi oksidatif stresin azalmasıyla ilişkili olduğunu da göstermektedir.

Glutasyon enzimatik olmayan bir antioksidandır, birincil indirgeyicidir ve hücrelerde düşük molekül ağırlıklı en bol bulunan tiyol içeren maddedir. Bu özelliğinden dolayı da dokuları oksidatif hasardan korumada ve hücre içi ortamı indirgenmiş halde tutmada çoklu işlevler görmektedir. Buna ilaveten GSH, GSH-Px tarafından katalize edilen bir reaksiyon yoluyla hidrojen ve organik peroksitleri indirger; OH\* ve IO<sub>2</sub> temizleyicisi olarak görev yapar (Ayala ve ark. 2014; Regoli ve Giuliani, 2014). Çalışmamızda, hepatopankreas ve solungaçlardaki GSH aktivitesinin genel olarak daha düşük olduğu belirlendi. Ayrıca, bu aktivite besleme sonunda kerevitlerin gonadlarında da azaldı. Wilhelh Filho ve ark., (2001) yaptığı çalışmada *P. perna*'daki GSH konsantrasyonunun üreme döneminde azaldığını açıklamıştır. Bu enzim aktivitelerindeki azalma, muhtemelen GSH kullanımının artmasına karşı dokularda oluşan yanıt olabilir. Ayrıca, şiddetli oksidatif stres, *P. leptodactylus*'ta kabuk değiştirme ve üreme mekanizmalarının bozulması nedeniyle GSH seviyelerini baskılayabilir (Barim, 2009; Barim ve ark.. 2009; Barim Oz ve Yılmaz 2009; Ayala ve ark., 2014).

## KAYNAKLAR

- Ahmed R.S., Suke, S.G., Seth, V., Jain A., Bhattacharya, S.M., Banerjee, B.D. 2000. Impact of oral vitamin E supplementation on oxidative stress and lipid peroxidation in patients with polymorphous light. *Indian J. Med Res.*, 123, 781-787.
- Ahmed RG 2005. Is there a balance between oxidative stress and antioxidant defense system during development?. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences* 15(2): 55-63
- Aiken, D. E., Waddy, S.L., 1992. The Growth Process in Crayfish. *Reviews in Aquatic Sciences*, 6(3,4), 335-381.
- Aksoy, M., 2014. Beslenme Biyokimyası. *Hatiboğlu Yayınları*:126, IV. Basım, ISBN 978-975-8322-07-7, 339-365.
- AOAC, 1984. Official methods of analysis (14th Ed). Association of Official Analytical Chemists. Inc. Arlington 1141 p.
- Arun S, Subramanian P., 1998. Antioxidant enzymes in freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* during embryonic and larval development. *Comparative Biochem Physiol C* 147(1): 122-128
- Ayala A, Munoz MF, Argüelles S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-0-Nonenal. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity Article ID 360438
- Baker, R. T. M., 1997. The effects of dietary  $\alpha$ -tocopherol and oxidised lipid on postthaw drip from catfish muscle. *Animal Feed Science Technology*, 65: 35-43.
- Barım O. (2009) The effects of dietary vitamin E on the oxidative stress and antioxidant enzyme activities in their tissues and ovarian egg numbers of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8(6), 1190-1197.
- Barım Öz, Ö., 2024. Effects of vitamin A added to diet in different amounts on oxidative stress, antioxidant defence of soft shelled freshwater crayfish *Pontastacus leptodactylus* (Esch, 1823). *Journal of materials and Electronic Devices*, 5, 7-13.
- Barım, Ö., 2005. Keban Baraj Gölü'nde yaşayan tatlı su istakozu (*astacus leptodactylus* esch. 1823) rasyonuna farklı oranlarda ilave edilen vitamin e 'nin etkileri. *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 73s.
- Barım-Öz., Ö. ve Yılmaz, S., 2009. Kabuk Değiştirme Dönemindeki Tatlı Su İstakozu (*Astacus leptodactylus*, Esch. 1823) ' na Ait Bazı Dokularda Oluşan Oksidatif Stresi Üzerine Vitamin E, C, Astaksantin ve  $\beta$ -Karotenin Etkisinin Belirlenmesi, e- *Journal of New World Sciences Academy* Volume : 4, Number : 3, Article Number : 3B0006.
- Barım O, Benzer F, Erisir M, Dorucu M., 2009. Oxidant and antioxidant status of tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) from different stations in the Keban Dame Lake. *Fresenius Environmental Bulletin* 18(6): 948-954
- Bayir A, Sirkecioglu AN, Bayir M, Haliloglu HI, Kocaman EM, Aras NM., 2011. Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: oxidative stress and antioxidant defenses. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 159:191-196
- Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., Sargent, J.R., 2000. Depletion of  $\alpha$ -Tocopherol and astaxanthin in atlantic salmon (*Salmo salar*) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism. *The Journal of Nutrition (Nutrient Interaction and Toxicity)*, 1800-1808.
- Beytut E., Barım Ö. & Kamiloglu N.N. (2009) Different levels of dietary DL- $\alpha$  tocopheryl acetate modulate the antioxidant defence system in the hepatopancreas, gills and muscles of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8(6), 1177-1184.
- Beutler, E., 1975. Red Cell Metabolism, In: Beutler, E., (Ed.): *A Manual of Biochemical Methods*, Grunef and Strottan, New York, pp. 67-69.

- Borkovic SS, Pavloviae SZ, Kovacevic TB, Stajn AS, Petroviae VM, Saieie ZS., 2008. Antioxidant defence enzyme activities in hepatopancreas, gills and muscle of Spiny cheek crayfish (*Orconectes limosus*) from the River Danube. *Comparative Biochem Physiol C* 141(1):122-128
- Cavalli, R.O., Batista, F.M.M., Lavens, P., Sorgeloos, P., Nelis, H.J. & Leenheer, A.P.D., 2003. Effect of dietary supplementation of vitamins C and E maternal performance and larval quality of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 227, 131-146.
- Chavan, S., Sava, L., Saxena, V., Pillai, S., Sontakke, A.ve Ingole, D., 2005. Reduced Glutathione: Importance of Specimen Collection, *I J of Clin Biochem*, 20(1): 150-152.
- Chen, G., Weiskirchen, S. and Weiskirchen, R., 2023. Vitamin A: too good to be bad. *Frontiers in Pharmacology, University of Naples Federico II, Italy*, 1-13.
- Çetinkaya, O., 1995. Balık besleme. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 9, Van, 137 s.
- Dandapat J, Chainy GBN, Rao KJ . 2000. Dietary vitamin E antioxidant defence system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochem Physiol C* 127:101-115.
- Deering, M.J., Paradis, H., Ahmad, R. and Al-Mehiawi, A.S., 2023. The role of dietary vitamin A in mechanisms of cataract development in the teleost lumpfish. *Journal of Fish Diseases*, 47. 1-15.
- Ghanawi J. & Saoud I.P. (2012) Moulting, reproductive biology, and hatchery management of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens 1868). *Aquaculture* **358-359**, 183-195.
- Gürdöl, F. ve Ademoğlu, E., 2010. Biyokimya. *Nobel Tıp Kitabevi*, ISBN 97975-420-725-5, 825-835.
- He, H. and Lawrence A. L., 1993. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 118: 245-255.
- He, H., Lawrence L. and Liu R., 1992. evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A, D, E, and K for Penaeid Shrimp (*Penaeus vanamei*). *Aquaculture*, 103: 177-185.
- Hernandez, L.H. and Hardy, R.W., 2020. Vitamin A functions and requirements fish. *Aquaculture Research*, 51:3061-3071.
- Izquierdo M.S. Fernandez-Palacios H., Tacon A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamhoğlu, M., BaşpınarN., Tiftik, A.M., 2006. Biyokimya. Nobel Yayınları;153, 3. Basım, ISBN 975-591-131-6,654s.
- Karatepe, M., 2004. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. *LC-GC North America*. 22(4);362-5.
- Lee WC, Chen JC., 2004. Nitrogenous excretion and arginase specific activity of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* exposed to elevated ambient nitrite. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 308:103-111
- Linan-Cabello, M.A., Paniagua-Mishel, J., Hopkins, P.M., 2002. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquaculture Nutrition*, 8, 299-309.
- Linan-Cabello, M.A., Paniagua-Mishel, J., Zenteno, T., 2003. Carotenoids and retinal levels in captive and wild shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 9, 383-389.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.A
- Nahrang J., Brooks S.J., Evenset A., Camus L., Jonsson M., Smith T.J. & Lukina J. (2013) Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus mnhua*)- Implications for environmental monitoring in the Barents Sea. *Aquatic Toxicology* **127**, 21-35.
- Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol* 13(2):57-149
- Palace, V. & Werner, J., 2006. Vitamins A and E in the maternal diet influence egg quality and early life stage development in fish: a review. *Scientia Marina*, 70S2, 41-57.
- Paital B. & Chainy G.B.N. (2013) Seasonal variability of antioxidant biomarkers in mud crabs (*Scylla serrata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **87**, 33-41.

- Regoli F, Giuliani ME, 2014. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine Environmental Research* 93:106-117
- Rodriguez-Gonzalez H., Hernandez-Llamas, A., Villarreal H., Saucedo P.E., Garcia-Ulloa M. & Rodriguez-Jaramillo, C. (2006) Gonadal development and biochemical composition of female crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) in relation on the gonadosomatic index at first maturation. *Aquaculture* **254**, 637-645.
- Sankar, A., Rao, M.R., Sambandam, G. Pugalendi, K.V., 2006. Effect of sesame oil on diuretics or  $\beta$ -blockers in the modulation of blood pressure, Anthropometry, lipid profile, and redox status. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 79, 19-26.
- Sun, Y. and Oberley, W.L., 1988. Li Y.: A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clin. Chem.*, 34: 97-500.
- Tan, R.K.H. and Dominy, W.G., 1997. Commercial pelleting of crustacean feeds. In: *Crustacean Nutrition*, (D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M.ed.), World Aquaculture Society, Louisiana, 520-549.
- Velasco, M., Lawrence, A.L. and Castille, F.L., 1999. Effect of variations in daily feeding frequency and ration size on growth of shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*, 179:141-148.
- dismutase. *Clin Chem* **34**, 97-500.
- Verlecar X.N., Jena K.B. & Chainy G.B.N. (2008) Seasonal variation of oxidative biomarkers in gills and digestive gland of green-lipped mussel *Perna viridis* from Arabian Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **76**, 745-752.
- Vergheze B, Radhakrishnan EV, Padhi A., 2008. Effect of moulting, eyestalk ablation, starvation and transportation on the immune response of the Indian spiny lobster, *Panulirus homarus*. *Aquaculture Research* 39:1009-1013
- Wilhelm Filho, D.V., Tribes, T., Gaspari, C., Claudio, F.D., Torres, M.A., Magalhaes, A.R.M., 2001. Seasonal changes in antioxidant defenses of the digestive gland of the brown mussel (*Perna perna*). *Aquaculture*, 203, 149-158.
- Winston, G. W. and Giulio, R. T. D., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19, ss: 137-161.
- Xiao-Dong, Z., Tian-Xing, W., Li-Sheng, C., 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).
- Yudkovski Y., Glazer L., Shechter A., Reinhardt R., Chalifa-Caspi V., Sagi A. & Tom M. (2010) Multi-transcript expression patterns in the gastrolith disk and the hypodermis of the crayfish *Cherax quadricarinatus* at premoult. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics* **5(2)**, 171-177.
- Yıldırımkaya, M., 2003. Özet Biyokimya TUS ve Diğer Sınavlar için. *Nobel Tıp Kitabevi*, ISBN 975-567-024-6, 275-280.
- Zhang, L., Feng, L., Jiang, W.-D., Liu, Y., Jiang, J., Li, S.-H., Tang, L., Kuang, S.-Y. and Zhou, X.-Q., 2016. The impaired flesh quality by iron deficiency and excess is associated with increasing oxidative damage and decreasing antioxidant capacity in the muscle of young grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture Nutrition*, 22: 191-201.



[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

