

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

FARKLI ORANLARDAKİ DEMİRİN *ASTACUS LEPTODACTYLUS* (ESCH., 1823)'LARDAKİ YAŞAMA ORANI, OKSİDATİF STRES, Fe, Cu, Cr ve Zn SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Hülya ŞAHİN

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Mühendisliği

1. DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Özden BARIM ÖZ

TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ORANLARDAKİ DEMİRİN *ASTACUS LEPTODACTYLUS* (ESCH., 1823)'LARDAKİ YAŞAMA ORANI, OKSİDATİF STRES, Fe, Cu, Cr ve Zn SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya ŞAHİN

141106106

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Mühendisliği

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ

2. DANIŞMAN

Prof. Dr. Özden BARIM ÖZ

TUNCELİ – 2018

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

FARKLI ORANLARDAKİ DEMİRİN *ASTACUS LEPTODACTYLUS* (ESCH., 1823)'LARDAKİ YAŞAMA ORANI, OKSİDATİF STRES, Fe, Cu, Cr ve Zn SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

**Hülya ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 04 / 01 / 2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ
(Munzur Üniversitesi)

Doç. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ
(Fırat Üniversitesi)

Yrd. Doç. Dr. Önder AKSU
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLTUB016-10

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Bu çalışma 15 Nisan 2016 – 15 Temmuz 2016 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada, erkek tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus*) rasyonlarına farklı oranlarda demir (Fe) katılmasının; *Astacus leptodactylus* 'un yaşama oranı, hepatopankreas ve karapaktaki demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), krom (Cr) ve lipid peroksidasyon (Malondialdehit (MDA)) düzeyleri üzerine etkisinin ortaya konması amaçlandı. Bu amaçla, bir kontrol (K) ve dört adet deneme (F1, F2, F3, F4) rasyonu hazırlandı. Rasyon öğeleri kontrol rasyonuna $28,60 \pm 2,21 \text{ mg kg}^{-1}$ demir katkısı sağlamaktadır. Kontrol rasyonuna 50 mg kg^{-1} , 100 mg kg^{-1} , 200 mg kg^{-1} ve 300 mg kg^{-1} demir sülfat katılarak sırasıyla F1, F2, F3 ve F4 rasyonları oluşturuldu. Çalışma üç tekrar halinde gerçekleştirildi.

Sonuç olarak, araştırmada *Astacus leptodactylus* kontrol rasyonuna farklı oranlarda demir katılmasının; *Astacus leptodactylus* 'un yaşama oranını etkilemediği görüldü. Dokulardaki Cr değeri standartların altında olduğundan dolayı tespit edilemedi. Karapaks da MDA değeri belirlenemedi. Hepatopankreasta MDA olarak belirlenen lipid peroksidasyon düzeyini önlemede kontrol rasyonuna 300 mg kg^{-1} demir ilavesinin yeterli olduğu bulundu. Ayrıca bu çalışmada yemdeki demir miktarının dokulardaki Fe, Cu ve Zn birikimi üzerinde etkili olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Tatlı Su İstakozu, *Astacus leptodactylus*, Demir, MDA.

ABSTRACT

The Effects on Survival Rate, Oxidative Stress, Fe, Cu, Cr and Zn Levels in *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) of the Iron in Different Proportions

This study was made between April 15, 2016 - July 15, 2016. In the study, the effects on the iron (Fe), copper (Cu), zinc (Zn), chromium (Cr) and lipid peroxidation (Malondialdehyde (MDA)) levels in hepatopancreas and carapace of *Astacus leptodactylus* of addition of iron (Fe) at different ratios in diets of the male crayfish (*Astacus leptodactylus*) were investigated. For this aim, a control (K) and for treatment (F1, F2, F3, F4) rations were prepared. The control ration constituted $28,60 \pm 2,21$ mg kg⁻¹ iron. 50 mg kg⁻¹, 100 mg kg⁻¹, 200 mg kg⁻¹ ve 300 mg kg⁻¹ iron sülphate were added to the control ration in order to prepare the treatment rations F1, F2, F3, F4 respectively. The study was carried out with 3 replicates for each dietary treatment.

As a result, in the study seen that *Astacus leptodactylus* did not affect the survival rate that iron was added at different ration in diet of the *Astacus leptodactylus*. The Cr value in the tissues could not be determined because it was below the standarts. The MDA level in karapax did not determine. It was found that 300 50 mg kg⁻¹ iron supplementation in the control diet was sufficient in the prevention of lipid peroxidation level determined as MDA in hepatopancreas. In addition to, it was observed that the amount of iron in the feed was effect on Fe, Cu and Zn accumulation in the tissues.

Key words: Crayfish, *Astacus leptodactylus*, Iron, MDA.

TEŞEKKÜRLER

Çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ 'ye,

Tez sürecinde benden destek ve ilgisini esirgemeyen her konuda yanımda olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Özden BARIM ÖZ 'e,

Yüksek lisansım boyunca benden destek ve ilgisini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ 'ye,

Çalışmalarımı sağlıklı bir şekilde yürütmemde laboratuvarlarını kullandığım Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı 'na,

Tez çalışmamın bir kısmını laboratuvarlarında yapmamı sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN ve Prof. Dr. Kazım ŞAHİN 'e,

Bu çalışmayı YLTUB016-10 nolu proje ile destekleyen MÜNİBAP birimine,

Yüksek lisansım boyunca her an destek olup yanımda bulunan arkadaşlarım Şükran ACAR, Aslıhan KILINÇ, Semih KAYAOĞLU, Enes ERGEN, Ahmet YILAYAZ, Müjdat ORTAÇ, Ahmad Sharif Ahmad HABEED, Mustafa TAŞDEMİR, Enes TEPEHAN, Bilal OFLAZ, Mustafa KAVAK, Can ŞAHİNKAYA, Serkan ÇETE 'ye,

Sürekli bana destek olup yalnız olmadığımı hissettiren arkadaşlarım İnci ARMAĞAN, Emine İPEK 'e,

Tez çalışmam süresince her konuda desteğini gördüğüm arkadaşım Ayşe ASAN 'a,

Her şeyden önce bu hayattaki tek vazgeçilmezim olan hayatımın her anında yanımda olduklarını hissettiren ve desteklerini esirgemeyen ablalarım Hediye ŞAHİN, Fatma ŞAHİN, Sevda ŞAHİN ve kardeşim Şehmus ŞAHİN 'e en içten duygularıyla,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Hülya ŞAHİN
TUNCELİ – 2018

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜRLER	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Astacus leptodactylus</i> İle İlgili Genel Bilgiler	5
1.1.1. <i>A. leptodactylus</i> 'larda Beslenme	7
1.1.2. Kültür Şartlarında <i>A. leptodactylus</i> 'ların Besin İhtiyaçları	8
1.1.3. <i>A. leptodactylus</i> 'larda Sindirim Enzimleri ve Salgıları	9
1.1.4. Hepatopankreas	10
1.1.5. <i>A. leptodactylus</i> 'larda Büyüme	11
1.1.6. <i>A. leptodactylus</i> 'larda Üreme	12
1.1.7. <i>A. leptodactylus</i> 'larda Su Kalitesi	12
1.2. Demir (Fe)	13
1.2.1. Demir (Fe)'in Genel Tanımı ve Organizmadaki Dağılımı	13
1.2.2. Demirin Emilimi, Taşınması, Depolanması, Metabolizması ve Atımı	14
1.2.3. Demirin Metabolizması ve Dönüşümü	15
1.2.4. Demirin İşlevleri	16
1.2.4.1. Redoks İşlevi	16
1.2.4.2. İmmün Sistem	16
1.2.4.3. Kan Yapımı ve Elektron Transport Sistemi	16
1.3. Su Canlılarında Demir İle İlgili Yapılan Çalışmalar	17
2. MATERYAL ve METOT	19
2.1. Materyal	19
2.1.1. Araştırma Süresi, Yeri ve Alanı	19
2.1.2. <i>A. leptodactylus</i> Materyali	19
2.1.3. Yem Materyali	19

2.1.4. Araştırmada Kullanılan Suyun Fiziksel Ve Kimyasal Özellikleri	20
2.1.5. Diğer Araç Ve Gereçler	21
2.2. Metot	21
2.2.1. Araştırmanın Planlanması ve Kurulması	21
2.2.2. Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması	22
2.2.3. Araştırma Rasyonlarının pH ve Suda Çözünürlük Seviyelerinin Tespiti	22
2.2.4. Yaşama Oranı (YO)	22
2.2.5. Oksidatif Stresin (MDA) Belirlenmesi	23
2.2.6. Fe, Cu, Cr ve Zn 'nin Belirlenmesi	23
3. BULGULAR	24
4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	27
5. ÖNERİLER.....	30
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. <i>Astacus leptodactylus</i>	5
Şekil 1.2. <i>A.leptodactylus</i> 'un anatomisi	7
Şekil 1.3. <i>Astacus leptodactylus</i> 'un beslenmesi	8
Şekil 1.4. <i>Astacus leptodactylus</i> 'un kabuk değişimi	11
Şekil 1.5. Demirin emilimi, taşınması, depolanması ve atımı	15
Şekil 3.1. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki <i>A. Leptodactylus</i> 'ların hepatopankreaslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) ve Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) değerleri	25
Şekil 3.2. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki <i>A. Leptodactylus</i> 'ların hepatopankreaslarındaki ortalama MDA (nmol / g doku) değerleri	25
Şekil 3.3. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki <i>A. Leptodactylus</i> 'ların karapakslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) ve Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) değerleri	26

TABLÖLER LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Çevresel Koşullar ve Su Kalitesi İstekleri	13
Tablo 2.1. Çalışmada kullanılacak rasyonların yapısına giren yem maddelerinin bileşimi (%)	20
Tablo 2.2. Araştırma suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri	21
Tablo 2.3. Berghoff mikro dalga fırının çalışma programı	23
Tablo 3.1. <i>A. Leptodactylus</i> 'ların ağırlık ve toplam uzunlukları	24
Tablo 3.2. Araştırma süresince teknelerdeki suyun ortalama sıcaklık (°C), Oksijen (mg/L) ve pH değerleri	24
Tablo 3.3. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki <i>A. Leptodactylus</i> 'ların hepatopankreaslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$), Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) ve MDA (nmol / g doku) değerleri..	25
Tablo 3.4. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki <i>A. Leptodactylus</i> 'ların karapakslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$), Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) değerleri	26

KISALTMALAR

Fe: Demir

Cu: Bakır

Cr: Krom

Zn: Çinko

K : Kontrol rasyonu

F1 : Bir nolu deneme rasyonu

F2 : İki nolu deneme rasyonu

F3 : Üç nolu deneme rasyonu

F4 : Dört nolu deneme rasyonu

F5 : Beş nolu deneme rasyonu

Fe(OH)₃: Ferrik hidroksil

FeSO₄: Demir sülfat

CaCO₃: Kalsiyum bikarbonat

YO : Yaşama oranı

MDA : Malondialdehit

O₂^{-*} : Süperoksit anyonu

O₂^{2-*} : Peroksit anyonu

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

***OH :** Hidroksil radikali

R* : Karbon merkezli radikal

LPO : Lipid peroksidasyon

RO* : Alkoksil radikali

ROO* : Peroksit radikali

ROOH : Hidroperoksit radikali

PTFE : Politetrafloroetilenden yapılmış teflon kapaklı tüp

HSİ : Hepatosomatik indeks

RE : Retikülo endotelyal

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde geniş bir dağılım alanına sahip olan tatlı su istakozlarının yaklaşık 600 türü bulunmasına rağmen yurdumuzda tek tür, *Astacus leptodactylus* (*A.leptodactylus*) doğal olarak bulunmaktadır (Köksal, 1988). Dünyanın birçok bölgesinde lüks bir gıda maddesi olarak tüketilen *A. leptodactylus* türü ülkemizde çok fazla tercih edilmemektedir. Bu nedenle büyük oranda Avrupa'ya ihraç edilmektedir. Ülkemiz ihracatı için önemli bir yere sahip olan bu türün miktarı, 1985-1986 yıllarında sularımızda görülen *A. leptodactylus* vebasından ve balıkçıların aşırı ve bilinçsiz avcılık yapmasından dolayı oldukça azalmıştır (Köksal, 1988; Harlıoğlu, 2004). Bunun yanı sıra, sularımızın evsel ve endüstriyel atıklarla kirlenmesi, *A. leptodactylus*'ların et kalitesinin düşmesine de yol açmıştır (Barım ve ark., 2009; Barım ve Karatepe, 2010; Aksu ve ark., 2014). Bu nedenlerle; devlet kontrolünde önlemlerin alınması, bilimsel olarak araştırmaların yapılması gerekmektedir. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz sularında da görülen evsel ve endüstriyel atıklar bu sularda yaşayan canlıların yaşam ortamlarını bozmaktadır. Buna paralel olarak et kalitelerinde de düşmeler meydana gelmektedir.

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından sonra insanoğlu doğada oluşturduğu kirliliği fark etmeye başlamıştır. Bu tarihten sonra hızla artan dünya nüfusu, belirli süreçlerde ortaya çıkan evsel ve endüstriyel atıklar yaşadığımız çevrenin hızla kirlenmesine neden olmuştur. Çağımızda meydana gelen bu denli komplike kirlilik gıda kaynaklarının korunması ve geliştirilmesi konusunu gündeme getirmektedir. Çünkü, dünya nüfusu zamanla artmakta; 2000 yılında 6,1 milyar olan nüfus 2015 yılında 7,2 milyar, 2030 yılında ise 8,2 milyara ulaşması beklenmektedir. Buna karşın gıda kaynaklarında azalmalar olduğu bilinmektedir. Araştırmalar, gıda üretiminin dünyada yılda %1,2 oranında artacağını, talebin ise %1,3 oranında artarak gıda açığının yaşanacağı gösterilmektedir (URL 1). Bu ihtiyacı karşılamak amacıyla özellikle tarım ve hayvancılıkta kullanılan hormonlar ve kimyasal maddeler ürün miktarını arttırırken besin kalitesini düşürmekte, insan sağlığını tehdit edecek boyuta dahi ulaşabilmektedir. Bunun sonucunda da insanlar sularda doğal olarak yetişen, üreyip çoğalabilen su canlılarının tüketimine yönelmektedir.

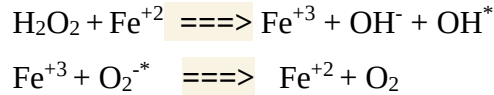
Bu besin maddeleri açlığa doğru giden dünyamız için bu kadar önemli, sağlıklı yaşam için ise bu kadar gerekli olmasına rağmen kentsel/endüstriyel atıklar sonucu oluşan kirlilik su kaynaklarının fiziksel ve kimyasal yapısının bozulmasına, kirli sularda bulunan organik,

inorganik, radyoaktif ve biyolojik kirleticilerin etkileriyle su canlılarının yaşam ve besin kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır (Oost ve ark., 2003; Canpolat, 2007; Barım ve ark., 2009; Barım ve Karatepe, 2010).

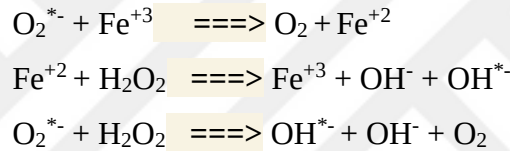
Kentsel ve endüstriyel atıkların suya karışmasıyla meydana gelen kirlilik özellikle Fe, Cu, As, Zn gibi metallerin oranındaki artışla kendini göstermekte ve tabii olarak su canlılarının biyolojik dengesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Çünkü, tüm canlılarda olduğu gibi suda yaşayan canlılarda da vücut içerisinde 'homeostasis' olarak ifade edilen bir vücut dengesi vardır. Canlı yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için dışarıdan besin alır ve bu besinler vücut içerisinde sindirim, absorpsiyon, dolaşım, solunum, metabolizma ve boşaltım mekanizmalarında değerlendirilir. Bu esnada özellikle elektron transportu olmak üzere çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda karbon (C), oksijen (O) ve sülfür (S) atomlarının ağırlıklı olarak meydana getirdiği serbest radikaller oluşur. Bu radikaller antioksidan olarak ifade edilen savunma mekanizmasının oranını aşacak oranda oluştuğu zaman süperoksit distmütaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlar, vitamin A, E, C, β -karoten gibi antioksidan maddeler devreye girerek serbest radikallerin oluşturacağı zararları önlemeye çalışır. Bu antioksidanlar da vücut dengesini bozan radikalleri ortamdaki temizleyemezse hücre membranındaki protein, kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları radikallerle kolayca tepkimeye girerek oksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediklerinden, oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür ve oldukça zararlıdır (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995; Oost ve ark, 2003; Gözükara, 2011; Lushchak, 2012).

Vücut içerisinde radikal oluşumu genel olarak metabolik reaksiyonlar sırasında oksijenin tek elektronlu indirgenmesidir. Orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), iki elektron alması ile peroksit anyonu (O_2^{2-}) meydana gelir. Peroksit anyonu ortamda iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir veya süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron taşıyıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir. İki süperoksit radikali birbirleriyle etkileşerek, biri oksitlenirken diğeri redüklenir. Böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelir (Gözükara, 2011). Dismütasyon tepkimesi olarak ifade edilen $O_2^{\cdot-}$ 'nin ortamdaki temizlendiği bu reaksiyon ya kendiliğinden ya da enzimler aracılığıyla gerçekleştirilir. Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl üretimi süperoksidin ortamdaki temizlenmesi ile olur (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995; Gözükara, 2011).

Hidrojen peroksit, ortaklanmamış elektrona sahip olmadığından dolayı, serbest radikal tanımına uymaz, fakat reaktif oksijen türleri sınıfına dahildir ve hidroksil radikalının öncüsüdür. Ayrıca demir proteinlerdeki demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olduğundan hücre membranlarında bulunan lipid peroksidasyon gibi radikal etkinlikli tepkimeleri başlatabilir.



Bu tepkime katalizörlü gerçekleşebildiği gibi katalizörsüz de gerçekleşebilir. Katalizörsüz tepkime çok yavaş ilerlerken, demirle katalizlenen tepkime oldukça hızlıdır.



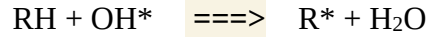
Metal katalizörlerin bulunmadığı durumlarda, süperoksit ve hidrojen peroksit kolayca ortamdan uzaklaştırılarak zararsız hale getirilebilir. Bu görevi katalaz ve peroksidaz gibi hücrelerde önemli antioksidan olan enzimler yerine getirir (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995).

Vücut içerisinde oluşan radikallere karşı antioksidanlar yetersiz kalırsa, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve yararlı enzimleri bozularak zararlı etkiler meydana gelir (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995). Mitokondrideki aerobik solunum ve kapiller permeabilite bozulur (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995; Winston ve Giulio, 1991; Gözükara, 2011).

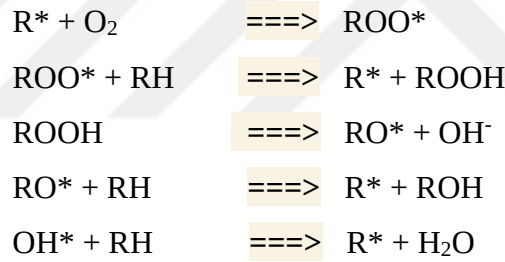
Biyomoleküllerin büyük bir çoğunluğu serbest radikaller tarafından etkilenirler. Ancak lipidler en hassas sınıfı oluşturur. Membrandaki doymamış bağlar, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek malondialdehit gibi peroksidasyon ürünleri oluştururlar. PUFA'nın oksidatif yıkımı olarak da ifade edilen lipid peroksidasyon kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediğinden meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Bjørneboe ve ark., 1990; Murray ve ark., 1993; Akkuş, 1995; Wang ve Quinn, 1999).

Çeşitli reaksiyonlar sonucunda oluşan radikal, lipid moleküllerinden bir H atomu çıkartarak karbon merkezli lipid radikalının (R*) oluşmasına yol açmaktadır (Kılınç, 1985;

Gökalp ve ark., 1992; Macpherson, 1994; Akkuş, 1995; Kinter, 1995).

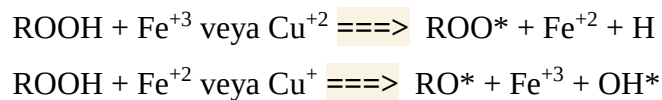


Bu aşamada H atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksit radikali (ROO*) oluşturmaktadır. Oluşan ROO* yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup, başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir lipid hidroperoksit (ROOH) ve yeni bir R* oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu R* yeniden oksijen ile birleşir ve RH (doymamış yağ asidi)'dan yeniden bir H⁺ ayrılmasını sağlar. Birçok olayda bu şekilde oluşan ROOH, RO* ve OH* verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan R* radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (Kılınç, 1985; Murray ve ark., 1993; Macpherson, 1994; Kinter, 1995; Wang ve Quinn, 1999; Bell ve ark., 2002).



Hidroperoksitler ve bunlara bağlı olarak oluşan serbest radikaller (ROO*, RO* ve R*) ya birbirleri ile reaksiyona girerler ve zincir uzaması durur (Bjørneboe ve ark., 1990; Murray ve ark., 1993; Wang ve Quinn, 1999) ya da zincir uzamasının durması antioksidanlar tarafından gerçekleştirilir (Murray ve ark., 1993; Macpherson, 1994).

Düzeyi artmış olan ROOH, olayın etkisi ile serbestleşmiş olan Fe⁺³, Cu⁺², Fe⁺² veya Cu⁺ ile de reaksiyona girer ve daha güçlü radikallere dönüşür (ROO* ve RO*).



Lipid peroksidasyonun son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA), membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olduğundan deformasyon, iyon

taşınımı, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin toplanması gibi membran özelliklerini değiştirir (Murray ve ark., 1993; Bell ve ark., 2002).

Yapılan literatür taramaları sonucunda demirin etkinliği ile ilgili araştırmaların önemi ve özellikle kabuklu su canlılarındaki araştırmaların eksikliği dikkati çekmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında *A.leptodactylus* türü *A. leptodactylus*'ların yemine ilave edilen demir ile yapılan besleme sonucunda kabuk ve hepatopankreasta oksidatif stresin göstergesi ve lipid peroksidasyonun son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ile bu mekanizmada etkili olan Fe, Cu, Cr ve Zn'nin düzeyleri tespit edildi.

1.1. *Astacus leptodactylus* İle İlgili Genel Bilgiler

Astacidae familyasına ait olan *A.leptodactylus* orijinal olarak Türkiye, Ukrayna, Güneybatı Rusya, İran, Kazakistan, Belarus, Slovakya, Bulgaristan, Romanya ve Macaristan'a kadar geniş bir alanda dağılım göstermektedir. Bu tür günümüzde 27 ülkede bulunmaktadır. Ayrıca 14 ülkeye (Çek Cumhuriyeti, Polonya, Almanya, Finlandiya, Danimarka, Hollanda, İngiltere, Litvanya, Letonya, Fransa, İsviçre, Avusturya, İspanya ve İtalya) aşılanmıştır (Skurdal ve Taugbøl, 2002).

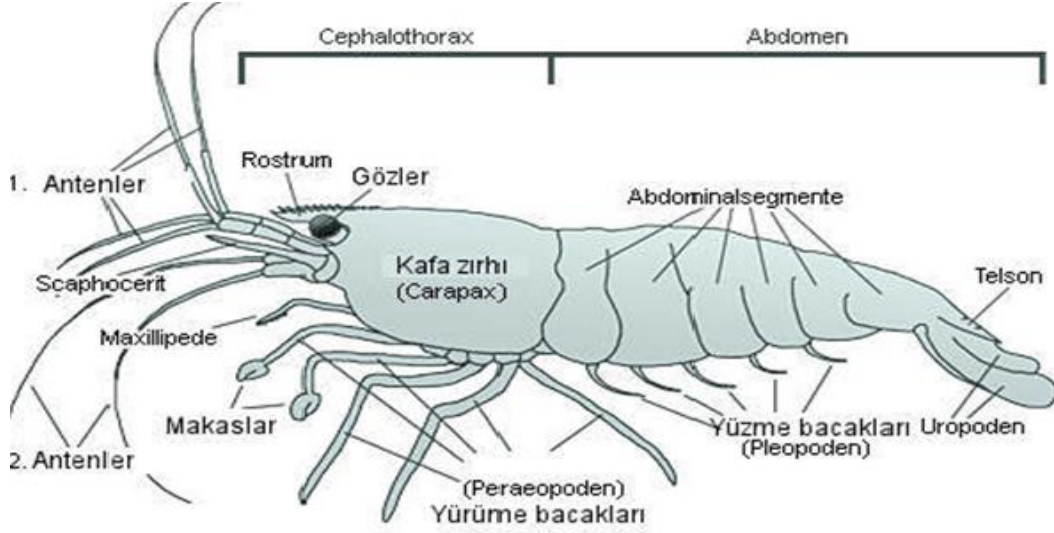


Şekil 1.1. *Astacus leptodactylus* (URL 1)

A. leptodactylus 'ların Sistematikteki Yeri

Regnum	: Animalia	: Hayvanlar
Phylum	: Arthropoda	: Eklem bacaklılar
Classis	: Crustacea	: Kabuklular
Subclasis	: Malacostraca	: Gelişmiş kabuklular
Ordo	: Decapoda	: Ön ayaklılar
Familya	: Astacidae	: İstakozlar
Genus	: <i>Astacus</i>	: İstakoz

A. leptodactylus 'larda vücut, cephalotorax (sefalotoraks) ve abdomen olmak üzere iki kısımdan oluşur. Bu bölümler toplam olarak 19 segmentten oluşmaktadır. Baş ve toraksı kapsayan bölüm olan sefalotoraks sert ve bölümlenmemiş bir kabuk olup karapaksı oluşturur. Baş kısmında; gözler, 2 çift anten, 1 çift mandibular uzantı, 2 çift maksil ve 3 çift de maksilliped bulunur. Gözler arasından ileri doğru uzayan çıkıntıya rostrum adı verilir. Toraks kısmında 5 çift yürüme ayakları (periopod) bulunmaktadır. Bunların ilk iki çifti keskin ve geniş olup kıskaç (cheliped) olarak bilinir. Abdomen kısmı 5 çift yüzme ayakları (pleopod) ve kuyruktan (telson) oluşmuş ve net bir şekilde bölümlenmiştir. Kuyruk kısmı, telson ve üropod bölümlerinden oluşmaktadır (Şekil 2). Pleopodlar *A. leptodactylus* türlerinin teşhisinde, cinsiyet ve cinsi olgunluğun tespitinde kullanılarak dişi erkek ayrımı yapılmaktadır. Gonopod olarak adlandırılan ilk iki pleopod çifti erkek bireylerde spermin transferini sağlayacak biçimde özelleşmiş ve uzun bir yapıya sahiptir. Dişilerde pleopodlar üreme aktivitesi dahil, tüm koşullarda aynıdır ve yumurtaları ve larvaları taşıyacak biçimde adapte olmuştur (Mazlum ve Yılmaz, 2012).



Şekil 1.2. *Astacus leptodactylus*'un anatomisi (URL 2)

A. leptodactylus'lar göllerde, çaylarda, nehirlerde ve hatta bataklıklarda yaşarlar. Genel olarak yassı taşların altında, çakıllı diplerde veya sığ çukurların içinde barınırlar. Bol bitkili, taşlıklı, çok derin olmayan kıyıları, oyuk ve balıksız suları severler. *A. leptodactylus*'lar, Türkiye akarsularında çeşitli bölgelerdeki göl ve göletler ile göller bölgesinde geniş bir alana yayılmıştır. Bol besin ve *A. leptodactylus* için yeterli su kalitesine sahip iç sularımızda hızlı çoğalma olanağına sahip olan *A. leptodactylus*, *Astacus astacus* türüyle benzerlikler göstermektedir. Bu özelliğinden dolayı Türkiye başta Batı Almanya olmak üzere 1980'li yıllarda Avrupa ülkelerine birinci sırada *A. leptodactylus* ihraç eden ülke haline gelmiştir. Fakat bilinçsiz yaklaşımlar sonucunda bu önemli potansiyel yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır (Alpbaz, 2005).

Anadolu'da geniş bir dağılım gösteren bu *A. leptodactylus*'lar bol bitkili, sazlı ve balçıklı yerlerde yaşadıklarında açık yeşil sarıdan koyu zeytin yeşiline kadar değişen renklerde kumlu ve çakıllı bölgelerde kısaçlarda kahverengi noktalarla bal sarısı renkte, balçıklı diplerde yaşayan örneklerin renkleri ise siyah görünümlü olabilmektedir. Vücutlarının bazı kısımlarında (kısaçlarında ve sefalotoraksın üzerinde) kahverengi benekler bulunur. (Daloğulları, 2012).

1.1.1. *A. leptodactylus*'larda Beslenme

Çok yönlü bir beslenme özelliğine sahip olan *A. leptodactylus*'lar hayvansal kaynaklı (kurtlar, böcekler, molluskalar, zooplankton vb.) ve bitkisel kaynaklı besinleri değerlendirebildikleri gibi, mikrobiyal açıdan zengin olan detritus ile de beslenme özelliğine sahiptir. Erişkin dönemlerinde özellikle yeşil bitkilerle beslenen *A. leptodactylus*'ların asıl besin olarak yararlandıkları kaynaklar dekompoze olmuş bitki saplarının üzerinde bulunan bakteri, mantar ve diğer mikroorganizmalardır. Yapılan araştırmalarda *A. leptodactylus* yavrularının, özellikle su bitkileri arasında yaşayan krustaselerle beslendiği, yetişkinlerin ise besin kaynaklarının %70'inin bitkisel orijinli olduğu belirlenmiştir (URL 3).



Şekil 1.3. *Astacus leptodactylus*'un beslenmesi (URL 2)

A. leptodactylus'lar ilkbahar başlangıcından sonbahara kadar çok iyi beslenirler. Yoğun besin aldıkları zaman ise su sıcaklığının 20-25°C olduğu dönemlerdir. Kabuk değiştirme döneminde istakozlar bir müddet için besin almayı durdururlar (URL 2).

1.1.2. Kültür Şartlarında *A. leptodactylus* 'ların Besin İhtiyaçları

Kültür şartlarında yapılan *A. leptodactylus* yetiştiriciliğinde temel yemlerinin hazırlanmasında bitkisel ve hayvansal kökenli yem maddeleri kullanılır. Bunlar içerisinde en yaygın olanları balık unu, soya unu, kazein ve karides unudur (Huner ve ark., 1975;

D'Abramo ve ark., 1985; Cuzon ve ark., 1994; Chen, 1998). Bu maddeler içerisinde en pahalı olan proteindir. Bütün canlılarda olduğu gibi *A. leptodactylus*'ların maksimum büyümesi için optimum protein seviyesinin tespit edilmesi çok önemlidir. Bu nedenle krustaselerin esansiyel aminoasit ihtiyaçlarının belirlenmesi oldukça önemlidir (Conklin, 1995a). Krustaselerin protein ihtiyacı türe, yaşam dönemine, fizyolojik duruma ve çevresel faktörlere göre değişmekle beraber %25-60 arasında değişmektedir (D'abramo ve Conklin, 1995; Chen, 1998).

Protein içeriği %31,7-50,5 arasında değişen yemlerle yapılan besleme sonucunda *A. leptodactylus*'larda (*Procambarus acutus*) en iyi sonuçlar %50,5 protein içeren yemlerde elde edilmiştir. *Pacifastacus leniusculus* türü *A. leptodactylus* 'ların beslenmesinde kullanılan yemin içerisinde %40'ı hayvansal kaynaklardan sağlanan %39 protein içeriğinin yeterli olduğu görülmüştür. *Astacus astacus*'larda protein oranları %30 ve %40 olan yemlerle yapılan beslemeler sonucunda; en iyi gelişme %40 protein içeren yemlerden belirlenmiştir (D'Abramo ve ark., 1985; Goddard, 1988). Krustaselerin yavru dönemlerinde yemlerdeki protein miktarlarının araştırıldığı çalışmalarda; *Penaeus monodon*'larda %40, *P. merguensis*'lerde %50, *P. japonicus*'larda ise %60 olarak tespit edilirken *P. monodon* türü yumurtalı karideslerde bu değer %40 olarak belirlenmiştir (Cuzon ve ark., 1994; Chen, 1998).

A. leptodactylus 'lar yemlerdeki yağın yüksek seviyesine tolere edemediklerinden, yetersiz veya fazla miktardaki yağın bu tür canlılarda azalan büyüme ve yüksek ölüm oranına sebep olduğu belirlenmiştir (D'Abramo ve Robinson, 1989; Lee ve Lawrence, 1997; Chen, 1998; Jover ve ark., 1999). Büyümelerinin gerçekleştiği kabuk değiştirme döneminde yağ asitlerinin seviyesi değişip yağ miktarı azaldığından, kabuk değiştirme esnasında ölüm oranında artmaya neden olur (New, 1976).

Çalışmalarda; yemlerdeki %10 yağ seviyesinin *Penaeus setiferus*'un yaşaması ve büyümesini olumsuz etkilediği saptanırken, *Palaemon serratus*'larda yemlerdeki %7,5'den %15'e kadar değişen yağ seviyesinin büyümeyi önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir. Karideslerin (penaid) beslenmesinde kullanılan yemlerdeki yağ miktarı %6-7,5, en fazla %10 olarak belirlenmiştir (Lee ve Lawrence, 1997; Shiau, 1998). *Procambarus acutus* türü *A. leptodactylus*'larda ise yemlerdeki yağ seviyesi %0'dan %15'e kadar arttırıldığında %3 yağ içeren yemin büyümede artış sağladığı, %12 ve %15 yağ içeren yemlerin ise büyümeyi önemli derecede azalttığı saptanmıştır (D'Abramo ve Robinson, 1989). Yemlerdeki yağ

miktarı vücuttaki antioksidan enzim sistemi üzerinde önemli etkiye sahip olduğundan özellikle dikkat edilmesi gerekir.

1.1.3. *A. leptodactylus* 'larda Sindirim Enzimleri ve Salgıları

A. leptodactylus 'larda ana sindirim bezleri hepatopankreastır. Ayrıca alınan besinlerin sindirilmesi için gerekli enzimler mide ve bağırsak tarafından da salgılanır (Cuzon ve ark., 1994; Conklin, 1995b; Chen, 1998).

A. leptodactylus 'ların beslenmesi esnasında alınan proteinler mide bezleri ve hepatopankreas tarafından salgılanan seyreltik hidroklorik asit ve pepsinojen ile polipeptidlere parçalar. Karboksipeptidaz ve aminopeptidaz bu polipeptidleri amino asitlere dönüştürür. Amino asitler vücutta dolaşarak hücrelerin yapıtaşlarını oluştururlar. Bunlar büyümede ve ölen hücrelerin yenilenmesinde görev alırlar.

Meydana gelen şeker gerektiğinde kullanılmak üzere hepatopankreasta glikojen şeklinde depo edilir (Goddard, 1988; Vonk, 1960; Chen, 1998).

Yağların sindirimi için gerekli olan lipaz enzimi bağırsak ve hepatopankreas tarafından salgılanır. Yağlar lipaz etkisi ile gliserin ve yağ asitlerine ayrılmaktadır (Vonk, 1960). Bunların emiliminin büyük bir kısmı bağırsakta gerçekleşir (Cuzon ve ark., 1994). Yağ asitleri yağ dokusu ve hepatopankreasta depo edilir. Yağ dokusu iç organlarda bazen de kaslarda bulunur. Fazla yağ asitleri yine şeker şekline dönüştürülerek hücrelerin solunumu sırasında enerji kaynağı olarak kullanılır (Vonk, 1960). *A. leptodactylus* ve diğer krustaselerde ana lipid deposu hepatopankreastır ve burada %92'ye kadar olan lipid seviyeleri ölçülmüştür (Suprunovic ve ark., 1983).

Karbonhidratların sindirimi amilaz enzimleri ile sağlanır. Bu enzimler hepatopankreas ve bağırsak tarafından salgılanır. *A. leptodactylus* tarafından fazla miktarda alınan karbonhidrat glikojene dönüştürülerek hepatopankreasta depolanır ve gerektiğinde şekere dönüştürülerek solunum için gerekli enerji kaynağı olarak kullanılır (Vonk, 1960; Holdich ve Reeve, 1988).

1.1.4. Hepatopankreas

A. leptodactylus'larda sefalotoraksta yer alan hepatopankreas, karapaksın ön kısmına doğru çıkıntı oluşturan iki lob ve arkaya doğru uzanan üçüncü bir lobun birleşmesinden oluşur. Proteinaz ve lipaz gibi sindirim enzimlerinin üretildiği, çeşitli sentezlerin yapıldığı ve fazla miktarda alınan besinlerin, bazı ağır metal ve kalsiyumun depolandığı yerdir. Hepatopankreas çok yönlü bir organdır ve *A. leptodactylus* 'ların karaciğeri olarak isimlendirilir (Holdich ve Reeve, 1988; Conklin, 1995b; Chen, 1998; Vogt, 2002).

Yapılan birçok çalışmada hepatopankreas krustaselerin bulundukları fizyolojik şartların belirlenmesinde anahtar organ olarak kullanılmıştır. Özellikle hepatosomatik indeksi (HSİ), hepatopankreastaki nem ve enerji içeriği bu canlıların yaşadığı ortamdaki popülasyon yoğunluğunun, yem kaynaklarının ve su kalitesinin göstergesidir. Bu indeks değeri canlının beslenme, kabuk değiştirme ve üreme dönemlerine bağlı olarak değişir (Jussila, 1997a; Barım, 2005). Dişi *A. leptodactylus* 'lar yumurta taşıdıkları dönemde cinsel olgunluğa erişmeyen *A. leptodactylus* 'lara oranla daha düşük hepatosomatik indekse sahiptir. Bunun sebebi ise hepatopankreasın enerji rezervlerini tüketmeleridir (Jussila, 1997b; Guoda, 1999). Hepatopankreastaki enerji içeriği ve nem ters orantılıdır. Genel olarak bu organdaki nem içeriğinin düşük olması ortamdaki besin bolluğu ve besin rekabetinin az olduğunun işaretidir (Jussila, 1997a,b; Barım, 2005).

1.1.5. *A. leptodactylus* 'larda Büyüme

A. leptodactylus 'ların büyüme ve gelişmeleri yaşadıkları suların yapısına, besin kaynağına ve iklim koşullarına bağlı olarak değişir (URL 3). Balıklardan farklı olarak *A. leptodactylus* 'ların boyca büyümeleri kabuk değiştirme ile gerçekleşir. Bu dönemde *A. leptodactylus* 'lar gayet sessiz ve sakin döneme girerek yem almazlar ve renklerinde değişimler olur (Atay, 1997). Genellikle ilk yılda 8 defa kabuk değiştirip 5 cm uzunluğa, ikinci yılda 5 defa kabuk değiştirip 8 cm uzunluğa erişirler. Üçüncü yılda ise 10-12 cm uzunluğa ve 150-250 g ağırlığa erişebilmektedirler. Göllerde yaşayan *A. leptodactylus*'ların üçüncü yılın sonunda 8-9,5 cm uzunlukta iken cinsi olgunluğa

eriştikleri tespit edilmiştir. Besin maddeleri bakımından fakir olan sularda *A. leptodactylus* 'ların geç kabuk değiştirdikleri ve cılız kaldıkları görülür (URL 3).



Şekil 1.4. *Astacus leptodactylus* 'un kabuk değişimi (URL 2)

A. leptodactylus 'un dış kabuğu prokutikül ve epikutikülden meydana gelir. Prokutikül tabakası endokutikula, ekzokutikula ve zarımsı bir tabakadan oluşur. Ekzokutikula melanin içerir ve krustaselerde temel pigmentasyon tabakasıdır. Kitin içermeyen epikutikulanın yapısında ise çok az yağ vardır. Dış kabuğun kalınlığı ve lipoproteinlerin tabakalaşması ile *A. leptodactylus*'lar su kaybından korunur. *A. leptodactylus* 'ların vücudunda dış iskeletini öne-arkaya hareket ettirmek için gözenek ve salgı kanalları bulunur. Kabuğun yapısında CaCO_3 ve kitin gibi maddeler bulunur (Lowery, 1988; Reynolds, 2002).

1.1.6. *A. leptodactylus* 'larda Üreme

A. leptodactylus 'lar ayrı eşeyli hayvanlardır. Çiftleşmeleri 8-9,5 cm total boyda ve 3-4 yaşında gerçekleşir. Testis ve ovaryum çift olarak bulunur ve yumurtlamak suretiyle çoğalırlar. Genital açıklık (gonofor), erkekler de V. çift pleopodların koksa denilen parçasının iç yüzeylerine, dişilerde III. çift pleopodlara açılırlar (Atay, 1997; Kumlu, 1998; Reynolds, 2002). Erkek ile dişi çiftleşir ve erkeğin spermatoforları dişinin ventral yüzeyinde depolanır. Kısa bir süre sonra yumurtalar dişi tarafından yumurtlanır. Döllenme dışarıda ve glair adı verilen mukus içerisinde gerçekleşir (Lowery, 1988; Harlıoğlu, 2000; Reynolds, 2002).

A. leptodactylus 'larda yumurta verimliliği türe, beslenme ve çevresel faktörlere göre değişmektedir (Barım, 2005). *A. leptodactylus*'larda çiftleşme Ekim-Kasım aylarında su sıcaklığı 7-12 °C iken olur. Yumurtaların gelişimi kış ve ilkbahar boyunca devam eder. Dişiler yumurtalarını sıcak iklimlerde 5-6 ay, soğuk iklimlerde ise 6-7 hatta 8 ay taşırlar (Barım, 2005).

1.1.7. *A. leptodactylus*'larda Su Kalitesi

A. leptodactylus 'ların çevresel koşullara toleransları türlere göre değişmekle birlikte Tablo 1.1.'deki değerler tropik türler dışında diğer tüm türler için geçerlidir (URL 3).

Tablo 1.1. Çevresel Koşullar ve Su Kalitesi İstekleri

Çevresel Koşullar		Değerler
Sıcaklık	Büyümleri için	14-22 °C
	Üremeleri için	6-13 °C
pH		6,5-8,5
Sertlik		50-200
Kalsiyum		> 5 ppm
Oksijen		> 6 ppm
Tuzluluk		0-5 ppm
İyonize olmayan amonyak		< 0,1 ppm

1.2. Demir (Fe)

1.2.1. Demir (Fe)'in Genel Tanımı ve Organizmadaki Dağılımı

Demir vücutta oksijen taşınmasından redüksiyon reaksiyona kadar hayati öneme sahip birçok reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olan eser bir elementtir. Bu mineral maddenin organizmada metabolik olarak işlem gören dört yapısı vardır (Gözükara, 2001a).

a- Transport demir: Bu demir yapısı plazmada taşıyıcı protein olan β -globüline bağlı “**transferrin**” dir.

b- Hemoglobin: Organizmada işlevsel olarak bulunan demirin %70'i eritrositlerin "hem" yapısında yer alır. Geri kalanın %5'i kasların miyoglobininde bulunur. Dolaşımdaki toplam miktarı ise 2,0-2,5 gramdır.

c- Depo demir: Vücutta bulunan demirin %20'si proteine bağlı olarak "ferritin" yapısında olan depo demirdir. Depolandığı organ kemik iliği ve karaciğerdir. Vücutta kullanılmadığından dolayı depo edilen fazla demir ise "hemosiderin" yapısındadır.

d- Doku hücrelerindeki demir: Vücutta geri kalan yaklaşık 300 mg demir bütün hücrelere dağılmış halde enerji üretimindeki oksidatif enzim bileşiği olarak bulunur. Bunlar; elektron transportundaki demir-kükürt-protein yapısı, stokromlar, oksidatif fosforilizasyon ve "katalaz, triptofanoksijenaz" ve diğerleri gibi karaciğer enzimleridir (Gözükara, 2001a).

1.2.2. Demirin Emilimi, Taşınması, Depolanması, Metabolizması ve Atımı

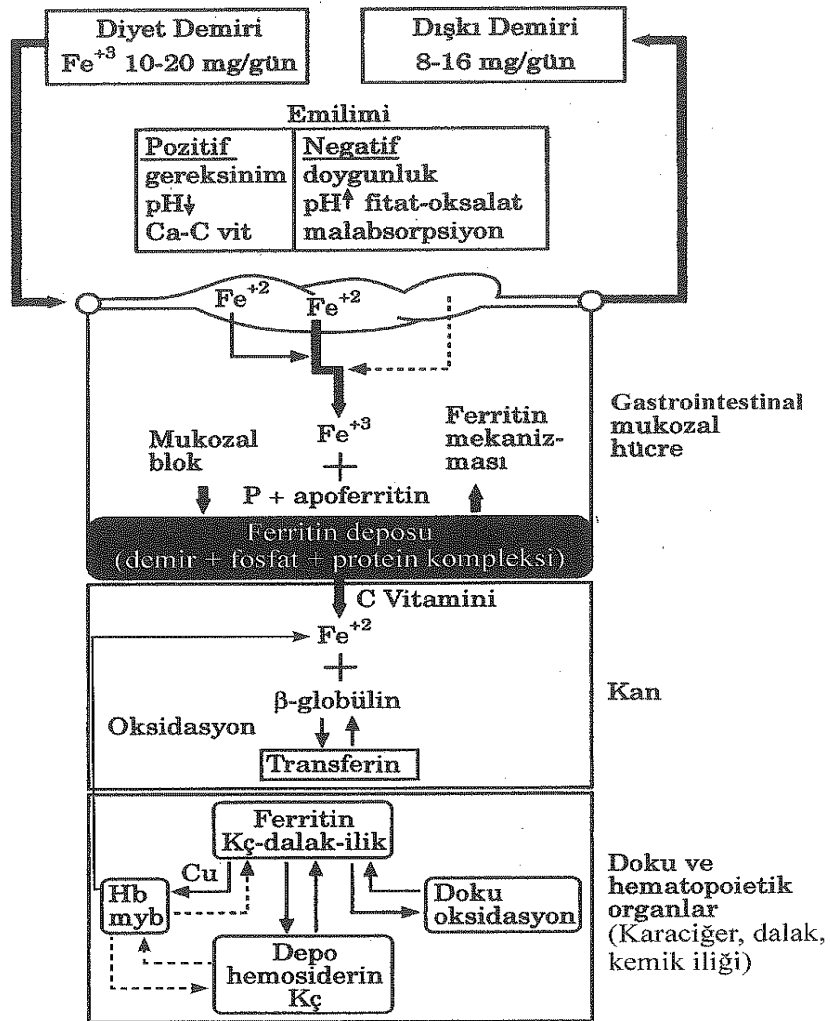
Vücut içerisinde demirin emilip taşınması, depolanması ve atılması özel bir sistemle yapılmaktadır. Vücutta "hem" ve "nonhem" (hem olmayan) yapısında olmak üzere iki şekilde alınır. Bu şekilde her iki yapının da emilimi birçok faktör tarafından etkilenir. Hayvansal kaynaklı besinlerde demirin de beşte üçü, tahıllardaki ve sebzelerdeki demirin tümü, nonhem yapısındadır. Hayvansal kaynaklı besinlerde geri kalan demir ise hem yapısındadır. Nonhem demir yapısı işlevsel olarak büyük organik moleküllere bağlı (Fe^{+2}) çok yavaş emilen ferrik (Fe^{+3}) bir demirdir. Mide asidi nonhem demiri daha çözünür olan ferros'a (Fe^{+2}) çevirir. Hayvansal protein değeri yüksek yemlerdeki hem demir metabolize edilmeden sadece hücrelerin parçalanmasıyla açığa çıktığından, doğrudan ince bağırsak mukozası ile temasla emilir. Vücutta sindirilen demirin %10-30'u duodenumdan emilmekte, emilmeyen %70-90'ının ise dışkıyla atıldığı hesaplanmıştır (Aksoy, 2014).

Vücutta demir genellikle amino asitlerle ince bağırsaktaki epitel doku hücrelerine taşınır. Burada demir indirgenerek üç değerlikten, iki değerliğe dönüşür. Ancak bulunduğu ortamda tekrar okside olmasından dolayı üç değerlikli hale gelir. Böylelikle hücre metabolizmasına girerek hem demirini oluşturur. Bu reaksiyonda üç alıcı madde rol alır;

- 1- İntrasellüler taşıyıcı molekül (ICM)
- 2- Apoferritin
- 3- Epitel ferritin ve apoferritin

Vücuttaki minerallerin emilimini vücudun gereksinimi tarafından büyük oranda etkilenilir. Depolanan demir ne kadar az ise, emilim o kadar fazla olur. Üreme, büyüme ve mukozal ferritin düzeyinin düşüklüğü emilimi artırır. Dokuların doygunluğu ise emilimi azaltır (Aksoy, 2014).

Jejunumun, duodenumun ve mukozal hücrelerinde demir ferrik yapıya (Fe^{+3}) okside olur ve plazma proteini “ β -globüline” diğer adıyla “transferin”e bağlayarak depo edileceği kemik iliğine ve karaciğere taşınır. Transferinin demir bağlama kapasitesi %20-35’tir. Geri kalan demir plazmadaki diğer alıcılar tarafından tutulur (Şekil 1.5.).



Şekil 1.5. Demirin emilimi, taşınması, depolanması ve atımı (Aksoy, 2014)

1.2.3. Demirin Metabolizması ve Dönüşümü

Her gün eritrositlerin ömrü %1 oranında sona erer. Bundan dolayı erişkin bireylerde günde hemoglobinden 19-24 mg demir açığa çıkar. Bu işlem dalağın ve karaciğer RE (retikülo endotelyal) hücrelerinde gerçekleşir. Porfirinin ve hemoglobinin yapısından ayrılan demir derhal transferin ve serum ferritinine bağlanır. Hemoglobin sentezini tekrar oluşturmak için transferin oluşan bu demiri kemik iliğine ve nerede demire gereksinim varsa oraya götürür. Serum ferritini ise; karaciğer ve diğer doku hücreleri tarafından tutulur. Bir kısım demir RE hücrelerindeki hepatositlere ve ferritine dahil olur. İntrasellüler ferritin demiri, gerektiğinde kemik iliğine taşınmak üzere mobilize edilir. Bu mobilizasyonun gerçekleşmesi için indirgenen demir bağlanmalı ve plazmaya transfer edilmelidir. Bu reaksiyonlarda plazma bakır taşıyan “seruloplazmin” proteinin rolü olduğu ileri sürülmektedir. Ortamda eritrositlerden ayrılan demir RE tarafından tutulmadan hemoglobin veya porfirine transfer edilir ve sonra sırayla haptoglobine, hemopeksine ve sonra karaciğer parenkimal hücrelerine hepatosit ferritini oluşturmak üzere girer. Hemoglobinden ayrılan demirin dalakta hemosiderine ve ferritin girmesi içinde askorbik asidin gerekli olduğu varsayılmaktadır. Buna göre, karaciğerdeki depo hemosiderin fonksiyonu askorbat ve belki de E vitamini düzeyi ile etkilenecek değişmektedir (Aksoy, 2014).

1.2.4. Demirin İşlevleri

1.2.4.1. Redoks İşlevi

Demir kolaylıkla değerlik değiştirebildiğinden dolayı elektron alarak redoks tepkimeleri katalize eder. Demir içeren bileşikler, bazı biyolojik aktivitelerde oksidasyon ve enerji metabolizmasına bağlı olarak reaktif veya redoks rolü oynarlar (Gözükara, 2001b).

Canlı organizmada demirin oksidatif gücü ve zararlı reaktivitesi demir taşıyan proteinin bağlanmasıyla veya diğer antioksidanların varlığıyla engellenir. Kontrol edilmediği zaman redoks tepkimeler yağ asitleri, protein ve nükleik asitlerde hücresel zararlara neden olabilirler. Demir “fantom” tepkimesini katalize eder ve bu olayda süperoksit ile hidrojen peroksit çok reaktif serbest radikallere çevrilir. Serbest radikaller (hidroksi radikal gibi) peroksidasyona veya membran lipidlerinin çapraz bağının

bozulmasına ve hücrenin yaşlanıp, ölmesine neden olurlar. Bu normal bir hücre yaşlanması olmasına karşın, oksidatif stresin artması olgunlaşmamış hücrenin erken yaşlanmasına neden olur (Gözükara, 2001a).

1.2.4.2. İmmün Sistem

Demir normal immün sistem işlevi için gereklidir. Mineralin hem yetersizliği hem de fazlalığı immün cevabı etkiler (Aksoy, 2014).

1.2.4.3. Kan Yapımı ve Elektron Transport Sistemi

Mineral kan hücrelerinden eritrositlerin yapısında bulunan hemoglobin ve molekülünün çekirdeğini oluşturur (Aksoy, 2014).

1.3. Su Canlılarında Demir İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Demirin su canlıları üzerine en büyük etkisi özellikle çevre kirliliği ile gündeme gelmektedir. Dünyada olduğu gibi ülkemizde ve yöremizde de bu kirliliğin etkileri hissedilir derecede kendini göstermeye başlamıştır. Örneğin; Keban Baraj Gölü'nde yapılan çalışmalarda Ağın Deri Fabrikası atıklarının suda oluşturduğu demir ve diğer ağır metal birikiminin burada yaşayan *Capoeta trutta* türü balıkların gelişimi ve üremelerini olumsuz yönde etkilediği (Canpolat, 2007), *A.leptodactylus*'ların etindeki vitamin değerlerini düşürerek, oksijenin toksik ürünleri sonucu oluşan oksidatif strese sebep olduğu belirlenmiştir (Barım ve Karatepe, 2010; Barım ve ark., 2009). Doğal ortamda meydana gelen ve su canlılarına yansıyan bu olumsuz etkiler su ürünleri yetiştiriciliği koşullarında da kendini göstermektedir. İşletmelerde meydana gelen hastalıklar, bu hastalıkları önlemek için kullanılan ilaçlar, yem yapımı ve depolanmasında meydana gelen aksaklıklar, balıkların boylanması, taşınması, aşılması gibi faktörlerde sularda metal kirliliği oluşturarak oksidatif stresin artmasına sebep olmaktadır (Winston ve Giulio, 1991; Gözükara, 2011).

Kültür şartlarında yapılan yetiştiricilikte; demir eksikliğinden meydana gelebilecek sonuçların oluşmasını önlemek ve besin değeri daha yüksek olan *A. leptodactylus* elde etmek amacıyla rasyonlara ilave edilmesi gereken demir miktarının belirlenmesi çok büyük önem

taşımaktadır. Ancak yapılan çalışmaların çoğunluğu demirin sudaki toksik etkinlik düzeyinin belirlenmesi üzerinedir. Örneğin; Sarıkaya ve ark. (2011)'nın *A. leptodactylus*'lar (27.3 ± 0.56 g) üzerine fenitrothionun akut toksisitesini inceledikleri araştırmada 96 saatlik LC₅₀ değeri $15.75 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu maddenin canlı üzerinde yüksek oranda toksik olduğu tespit edilen çalışmada lipid peroksidasyonun indikatör olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır. Çalışmada canlının juvenil formunda 24, 48 ve 96 saatteki LC₅₀ değeri 1.9, 1.5 ve $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$ idi. Bu çalışmada postlarva ve juvenil karideslerin özellikle $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak değişen demir miktarlarının 96 saatlik LC₅₀ değerlerine en hassas dönemleri; PL7 ve juvenil arasında olduğu bildirilmiştir.

Wang ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada *Chromochloris zofingiensis*'lerdeki yağ asidi ve astaksantin birikimi üzerine demirin ilavesinin büyümeyi azalttığı, fakat astaksantin ve toplam yağ asitlerinin üretimini arttırdığını bulmuşlardır. Demirin (0.02-20 mM) ek bir ilavesinin kuru hücre biyokütlesinde büyük azalmaya sebep olduğu araştırmada hem astaksantin içeriği hem de astaksantin veriminin artan Fe⁺² ile belirgin bir şekilde arttığı, 2 mM düzeyindeki Fe⁺² ile de düzelmeye meyillendiği tespit edilmiştir. Çalışmada Fe⁺²'nin düşük seviyesi daha büyük yağ asit birikimini desteklediği, pigment ve yağ asitlerinin kompozisyonunun analizinde optimal sonuçların 0,2 mM Fe⁺²'de görüldüğü, yağ asitleri arasındaki oranların Fe⁺² ile güçlü bir şekilde değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada, Fe⁺² ile muamele edilen kültürde %27'den 32.8'e kadar doymamış yağ asitlerinde çarpıcı bir artma, %27.5'den 19.2'ye kadar önemli bir azalma meydana geldiği ifade edilmiştir.

Debnath ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada aşırı demirin fenton reaksiyonunda bir katalizör olarak hareket ettiğini belirlemişlerdir. Bu sağlığa zararlı olan serbest radikalleri oluşturur. Çözünen demir toksisitesi için mümkün bir mekanizma sodyum dengesinin bozulmasıdır. Lameller epitelyumunun hipertrofi ve nekrozis, dış epitelyal tabakanın ayrılması, solungaç lamellasının erimesi gibi bazı patolojik değişimler aşırı demire maruz bırakılan teleostlarda gözlenilmiştir (Peuranen ve ark., 1994). Maksimum total demir konsantrasyonu (EPA, 1986) demirin tespit edilen etkilerinden akuatik sistemi korumak için 1.0 mg L^{-1} 'yi aşmamalıdır. Akuakültür uygulamaları için tanımlanan demir konsantrasyonu 0.01 mg L^{-1} 'den azdır. Tripura'nın farklı kısımlarında akuakültür suyunun yüksek demir içeriği ($0.14\text{-}3.96 \text{ mg L}^{-1}$) sazan havuzlarında yüksek ölümlerin temel sebeplerinden biri olarak kaydedilmiştir. Demir hayvan yaşamının bütün görünüşünde fizyolojik anahtar bir rol oynar. Ferro demir akuatik hayvanlarda demirin en toksik formlarından biridir. Kısmen

ferro demir çoğu koşullar altında en hazır biyoyararlanımlı formdur (Bhattacharya ve Saha, 1991).

Yapılan araştırmada kullanılan demirin (0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 mg L⁻¹) beş konsantrasyonu arasında yumurtlayan balıkların mortaliteleri, 0.01 mg L⁻¹ hariç bütün vakalarda görülmüştür. %100 ölüm 10 mg L⁻¹ demir konsantrasyonunda gözlenilmiştir. Çözünen demir türleri düşündürücü bir şekilde toksik olmasına rağmen, ferrik demir (Fe⁺³) balıklara özellikle tehlikeli olmamış, %100 ölüm 2 mg/L⁻¹ dozu ile tüm balıklarda gözlenmiştir (Debnath ve ark. (2012)). Aynı çalışmada yumurtalı *Catla catla*, *Labeo rohita* ve *Cirrhinus mrigala* için demirin 96 h LC₅₀ değeri sırasıyla 0.59 ± 0.07 mg L⁻¹, 0.73 ± 0.06 mg L⁻¹ ve 0.30 ± 0.06 mgL⁻¹ olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar demir toksisitesinin üç balık türü arasında önemli derecede değiştiğini göstermiştir.

Gethardt (1992) tarafından yapılan çalışmada FeSO₄ olarak 10, 20 ve 50 mg L⁻¹ demire 30 gün boyunca maruz bırakılan *Leptophlebia marginata* 'larda besin tüketiminin azaldığı bildirilmiştir. Büyüme oranındaki bir azalma mevcut çalışmanın kısa dönem kısmi yaşam döngüsünde bazı tavırsal değişimler ile canlının yumurta bırakmasında gözlenmiştir. Bu çalışmada yumurtlama ağırlığı ve demir konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon görülmüştür. Alabalıklarda 12 mg L⁻¹ ve daha fazla ilave edilen demirde büyüme gecikmiş, 6 mg L⁻¹ aşan seviyelere maruz bırakılan balıklar ise hastalıklara ve hasarlara daha hassas olmuştur. Sonuç olarak suyun demir (FeSO₄) konsantrasyonunun güvenli seviye aralığı yumurta bırakan İMC için 0.12-0.17 mg L⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Qiao ve ark.(2013), yaptıkları çalışmada balığı da içeren daha yüksek yapıllı hayvanların yaşam fonksiyonları için demirin esansiyel bir element olduğunu saptamışlardır. Bunun sebebini ise demirin oksijen taşıma ve hücre solunumunda önemli bir role sahip olması, özellikle balıkların solungaç membranı ve bağırsak mukozası içerisinde çözünür demiri absorbe edebilmeleri ile bağdaştırmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Araştırma Süresi, Yeri ve Alanı

Araştırma 15 Nisan 2016-15 Temmuz 2016 tarihleri arasında yapıldı. Uygulama, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi binası içerisinde Araştırma Havuzları'nda yapıldı. Araştırmada 15 adet fiberglas tekne kullanıldı.

2.1.2. *A. leptodactylus* Materyali

Araştırmada kullanılan *A. leptodactylus* 'lar Keban Baraj Gölü'nden temin edildi. Her tekneye 20 adet erkek *A. leptodactylus* yerleştirildi. Çalışmada bir kontrol, dört deneme grubu olmak üzere beş grup oluşturuldu. Araştırma üç tekrar olarak yürütüldüğünden toplam 300 adet *A. leptodactylus* kullanıldı. Farklı havuzlara stoklanan *A. leptodactylus* 'ların ağırlıkları ve uzunlukları arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmamasına dikkat edildi. Her tekneye havalandırma sistemi takıldı. Gizlenme yeri olarak 15 cm çapında boru kullanıldı. Teknedeki suyun oksijen, sıcaklık ve pH 'ı periyodik olarak ölçüldü.

2.1.3. Yem Materyali

Bu araştırmada, *A. leptodactylus* 'ların beslenmesi amacıyla kontrol (K) ve deneme yemlerinden (F1, F2, F3, F4) oluşan beş farklı rasyon kullanıldı. Kontrol rasyonu ilgili literatürlerin ışığında yaklaşık olarak %38-39 protein, %7-8 yağ içerecek şekilde Barım (2005), tarafından oluşturulan ve *A. leptodactylus* gelişiminde olumlu sonuçların alındığı formüle göre düzenlendi. Oluşturulan kontrol rasyonunun $28,60 \pm 2,21 \text{ mg kg}^{-1}$ oranında demir içerdiği, yem maddelerinin içerisindeki demir miktarının varlığı ile hesaplandı. Deneme yemlerinin oluşturulması amacıyla kontrol yemine;

Deneme 1 (F1) : $50 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Fe}$,

Deneme 2 (F2) : $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Fe}$,

Deneme 3 (F3) : 200 mg kg⁻¹ Fe,

Deneme 4 (F4) : 300 mg kg⁻¹ Fe ilavesi soya küspesi miktarının azaltılmasıyla düzenlendi (Tablo 2.1.). Yemlerde FeSO₄.7H₂O formunda demir kullanıldı (Qiao ve ark., 2013).

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan rasyonların yapısına giren yem maddelerinin bileşimi (%)

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

(a) Vitamin Karması (Rovimix 107): Her 5 kg Rovimix 107’de aktif madde olarak: A vitamini 10,000,000 IU, D₃ vitamini 1,000,000 IU, E vitamini 100,000 IU, K vitamini 15,000 mg, B₁ vitamini 5,000mg, B₂ vitamini 15,000 mg, Niacin 150,000 mg, Calcium D-Pantothenate 50,000 mg, B₆ vitamini 10,000 mg, B₁₂ vitamini 20 mg, Folic Acid 3,000 mg, D-Biotin 1,000 mg, Choline Chloride 500,000 mg ve C vitamini 300,000 mg içerir.

(b) Mineral Karması (mg/kg): Mn 80,000, Fe 35,000, Zn 50,000, Cu 5,000, I 2,000, Co 400, Se 150.

2.1.4. Araştırmada Kullanılan Suyun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Araştırmada kullanılan suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.2.’de verildi.

Tablo 2.2. Araştırma suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellikler	Miktarlar
Bulanıklık (NTU)	0
Sıcaklık (°C)	13
pH	7,54
Çözülmüş oksijen	7,42
Toplam sertlik	17 FS ^o
Toplam alkalinite	227 mgCaCO ₃ L ⁻¹
Çözülmüş katı madde	213 mg L ⁻¹
Kalsiyum	52 mg L ⁻¹
Magnezyum	11,8 mg L ⁻¹
Klorür	24,02 mg L ⁻¹
Amonyak	0 mg L ⁻¹

2.1.5. Diğer Araç ve Gereçler

Araştırmada, *A. leptodactylus* 'ların canlı ağırlık tartımı 0,001 g hassasiyetli 'AND EJ-303' model dijital terazi; total boyları 1 mm taksimatlı ölçüm tahtası; suyun sıcaklığı termometre; pH'ı ve oksijen miktarı 'Hanna-91140' model oksijen metre kullanılarak tespit edildi.

Laboratuvarlarda kesim için makas, pens, petri kutuları, falkon tüpler, otomatik pipet (50-1000 µm), cam malzemeler (beher, mezür), kabuk ve hepatopankreastaki lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesinde spektrofotometre, mineral madde analizi için Mikro dalga fırını (Berghoff), mineral konsantrasyonlarının belirlenmesi için de AA WinLab yazılımı (Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, ABD) ile birlikte bir Perkin Elmer AAnalyst 800 atomik absorpsiyon spektrometresi, 4.1 SP sürümü kullanıldı.

2.2. Metot

2.2.1. Araştırmanın Planlanması ve Kurulması

Araştırma süresi 3 ay olarak planlanan bu çalışmada; *A. leptodactylus* 'ları adet/m³ stoklama oranında tesadüf parselleri deneme planına göre, her havuza 20 *A. leptodactylus* üç tekrarlı olmak üzere beş grup halinde stoklandı. Teknelerin taban kısmına gizlenebilmeleri için plastik borular (çap: 7 cm, boy: 25 cm) yerleştirildi. Yemlemeye geçilmeden önce K, F1, F2, F3 ve F4 teknelerine bırakılan *A. leptodactylus* 'ların canlı ağırlığı ve total boyu tespit edildi.

A. leptodactylus 'lara verilecek yem miktarının belirlenmesinde; su sıcaklığı ön planda tutuldu (Çetinkaya, 1995). Bu amaçla yemleme yapılacak *A. leptodactylus* 'ların ortalama canlı ağırlıkları ve suyun sıcaklığı (°C) ölçüldü. Sudaki çözünmüş oksijen miktarı (mg L⁻¹) ve pH değerleri iki haftalık periyotlarla belirlendi. Tespit edilen yem miktarı, *A. leptodactylus* 'lara günde iki öğün halinde verildi (Velasco ve ark., 1999).

2.2.2. Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması

Rasyonları oluşturan yem maddelerinin uygun bir karışım haline getirilebilmesi için öğütülerek partikül büyüklüğüne (1-4 mm) getirildi. Öğütülen yem maddeleri belirlenen

oranlarda tartılarak homojen bir karışım sağlanacak şekilde karıştırıldı. Daha sonra, belirlenen oranlarda hazırlanan demir suyun içerisinde iyice eritildi. Bu karışım harmanlanarak homojen hale getirilmiş olan yem maddeleri ile karıştırıldı. Sodyum fosfat, dikalsiyum fosfat, avilamycine, antioksidan, vitamin ve mineral karmalarını içeren karışım, sıcaklığı 20°C olan suda eritildi. Bu karışım da demir ilave edilen yem maddelerine 1/1 oranında ilave edilen su ile birlikte karıştırıldı. Hamur haline getirilen yem kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline getirilerek tepsilere yerleştirilip, soğutmalı etüvde 55°C 'de 48 saat bekletilerek kurutuldu (He ve ark., 1992; He ve Lawrence, 1993; Baker, 1997). Yemlerin büyüklükleri ise Tan ve Dominy (1997)'nin tavsiye etmiş oldukları pelet yem büyüklükleri esas alınarak hazırlandı.

2.2.3. Araştırma Rasyonlarının pH ve Suda Çözünürlük Sürelerinin Tespiti

Çalışmada kullanılan K, F1, F2, F3 ve F4 rasyonlarının pH düzeylerini tespit etmek amacıyla 100 cc distile suda (pH = 6,30, sıcaklık = 26,5 °C) 10 g yem eritilip süspanse hale getirilerek dijital bir pH metre ile ölçüm yapıldı. Rasyonlarının suda çözünme süreleri ise, içerisinde 100 cc distile su bulunan cam beherlere bırakılan pelet yemlerin fiziksel yapılarının dağılması gözlenerek tespit edildi (AOAC, 1984).

2.2.4. Yaşama Oranı (YO)

A. leptodactylus 'ların yaşama oranlarının hesaplanmasında Ravi ve ark. (1999) tarafından belirtilen yöntem kullanıldı. Yaşama oranı; verilen yemin *A. leptodactylus* 'ların yaşama oranına etkisini araştırmak için kullanılan parametredir. Hayatta kalan *A.leptodactylus* 'ların deneme başındaki *A. leptodactylus* sayısına oranı şeklinde ifade edilir. Yaşama oranı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:

$$YO (\%) = (\text{Den. Boy. Hayatta Kalan } A.leptodactylus \text{ Sayısı}) / (\text{Den. Baş. } A.leptodactylus \text{ 'lar Sayısı}) \times 100 \text{ (Ravi ve ark., 1990).}$$

2.2.5. Oksidatif Stresin (MDA) Belirlenmesi

Oksidatif stresin göstergesi lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA) tayini Placer ve ark. (1966) tarafından modifiye edilen yönteme göre yapıldı. Bu yöntem lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbandsı 532 nm'de spektrofotometrik olarak     l r k lipid peroksidasyonun derecesi saptandı.

2.2.6. Fe, Cu, Cr ve Zn'nin Belirlenmesi

Mineral madde analizleri için, *A. leptodactylus* 'ların kabuk ve hepatopankreas  r nekleri (kuru homojenize dokusunun yaklaşık 0.25 g) politetrafloroetilen (PTFE) t  plerine konulup üzerine 6 ml HNO₃ (% 65 Merck) ve 2 ml H₂O₂ (% 30 Merck)   zeltisi karışımı eklenerek sindirildi ve bir mikrodalga sindirim sisteminde (Berghoff) yakıldı. Ayrışmadan önce, belirli miktarda ortaya çıkan nitrik oksit buharını uzaklaştırmak için, tepkin maddeleri (6 ml HNO₃ ve 2 ml H₂O₂) eklenen  r neklerin gevşek şekilde teflon kapaklı t  plerde (PTFE) oda sıcaklığında en az 25 dakika süreyle sindirilmesine izin verildi. Mikrodalga sindirimi 30 dakika sürdü (Tablo 2.3.). Doku mineral konsantrasyonlarının belirlenmesi için, AA WinLab yazılımı (Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, ABD) ile birlikte bir Perkin Elmer AAnalyst 800 atomik absorpsiyon spektrometresi, 4.1 SP sürümü kullanıldı. Fe, Cu, Zn ve Cr konsantrasyonları alevli atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılarak aynı araç üzerinde belirlendi. Tüm numuneler en az iki kez analiz edildi ve sonuçların ortalaması alındı.

Tablo 2.3. Berghoff mikro dalga fırının çalışma programı

	Term (�C)	Minuet (dk)	Power
1	155 �C	0,5 dk	% 75
2	180 �C	10 dk	% 80
3	100 �C	10 dk	% 60

3. BULGULAR

Araştırmada kullanılan *A. leptodactylus* grupları arasında ağırlık ve uzunluk açısından istatistiksel bir farklılık olmamasına dikkat edildi. Ölçümler sonucunda *A.leptodactylus* 'ların ağırlık ve toplam uzunlukları Tablo 3.1.'de olduğu gibi belirlendi. Yapılan Duncan testi sonucunda istatistiksel farkın olmadığı görüldü.

Tablo 3.1. *A. leptodactylus* 'ların ağırlık ve toplam uzunlukları

	K	F1	F2	F3	F4
Ağırlık (g)	30,28 ± 3,12	29,27 ± 4,03	31,30 ± 3,95	29,59 ± 4,11	28,95 ± 3,92
Uzunluk (cm)	10,05 ± 0,52	10,02 ± 0,42	10,51 ± 0,63	10,15 ± 0,62	10,23 ± 0,74

A. leptodactylus 'ların bırakıldığı teknelerde düzenli aralıklarla yapılan analizlerle suyun ortalama sıcaklığı, oksijen (mg L⁻¹) ve pH değerleri tespit edildi (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. Araştırma süresince teknelerdeki suyun ortalama sıcaklık (°C), Oksijen (mg L⁻¹) ve pH değerleri

	°C	O₂	pH
Nisan	13,5 ± 0,56	7,51 ± 0,32	8,01 ± 0,02
Mayıs	14,7 ± 0,75	7,55 ± 0,57	8,07 ± 0,09
Haziran	22,13 ± 1,08	7,02 ± 0,16	8,35 ± 0,07
Temmuz	26,9 ± 0,32	6,51 ± 0,52	8,22 ± 0,04

Araştırma gruplarında yeme ilave edilen demirin, *A. leptodactylus* 'ların yaşama oranlarını etkilemediği tespit edildi. Çalışmamızda yaşama oranı K grubunda % 96.66, F1 grubunda %96.66, F2 grubunda %98.33, F3 grubunda %100, F4 grubunda ise %98.33 olarak kaydedildi.

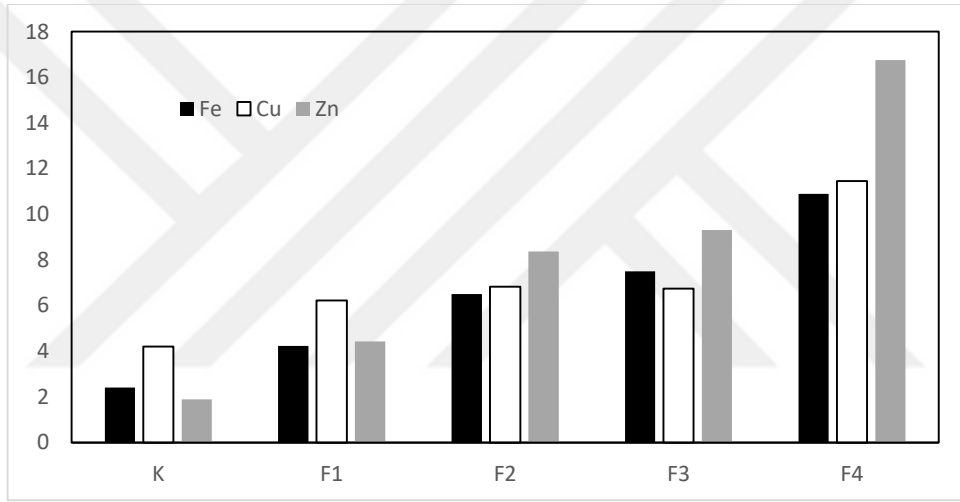
Araştırma sonucunda elde edilen, araştırma gruplarındaki *A. leptodactylus* 'ların hepatopankreas ve karapakslarında Cr seviyesi standartların (p değeri) altında olduğu için okuma yapılamadı.

Çalışma sonucunda elde edilen, araştırma gruplarındaki *A. leptodactylus* 'ların hepatopankreaslarındaki Fe, Cu, Zn ve MDA düzeyleri Tablo 3.3., Şekil 3.1 ve Şekil 3.2.'de verildi.

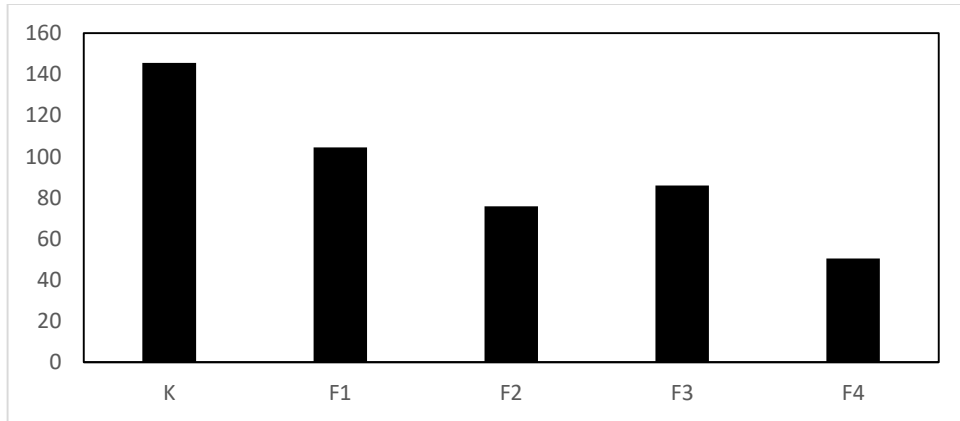
Tablo 3.3. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki *A.leptodactylus* 'ların hepatopankreaslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$), Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) ve MDA (nmol / g doku) değerleri.

	K	F1	F2	F3	F4	p
Fe	2,41 $\pm$ 0,64 ^d	4,23 $\pm$ 0,55 ^c	6,50 $\pm$ 0,71 ^b	7,50 $\pm$ 0,77 ^b	10,89 $\pm$ 1,94 ^a	***
Cu	4,20 $\pm$ 1,01 ^c	6,22 $\pm$ 1,01 ^b	6,83 $\pm$ 1,02 ^b	6,74 $\pm$ 1,36 ^b	11,46 $\pm$ 1,00 ^a	***
Zn	1,89 $\pm$ 0,45 ^d	4,42 $\pm$ 0,60 ^c	8,37 $\pm$ 1,00 ^b	9,30 $\pm$ 0,56 ^b	16,76 $\pm$ 1,59 ^a	***
MDA	145,53 $\pm$ 13,27 ^a	104,50 $\pm$ 9,92 ^b	75,76 $\pm$ 12,67 ^c	85,88 $\pm$ 14,85 ^c	50,39 $\pm$ 7,39 ^d	***

Not: ([a, b, c, d]) Aynı satırda farklı harfle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan Testi). ***: p<0.001



Şekil 3.1. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki *A.leptodactylus* 'ların hepatopankreaslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) ve Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) değerleri



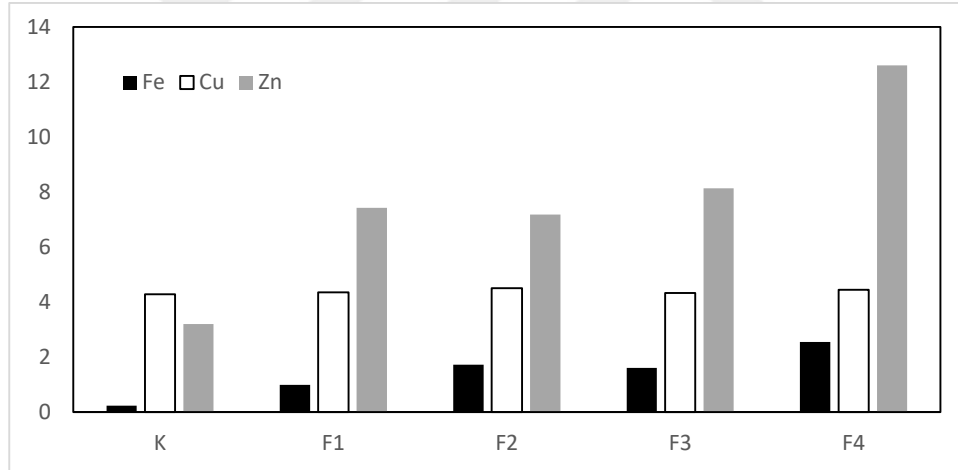
Şekil 3.2. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki *A.leptodactylus* 'ların hepatopankreaslarındaki ortalama MDA (nmol / g doku) değerleri

Yapılan besleme sonucunda, araştırma gruplarındaki *A. leptodactylus* 'ların karapaksında MDA değeri belirlenemedi. *A. leptodactylus* 'ların bu dokuda tespit edilen Fe, Cu ve Zn düzeyleri Tablo 3.4. ve Şekil 3.3.'de verildi.

Tablo 3.4. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki *A.leptodactylus* 'ların karapakslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$), Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) değerleri.

	K	F1	F2	F3	F4	p
Fe	$0,23 \pm 0,02^d$	$0,99 \pm 0,11^c$	$1,72 \pm 0,23^b$	$1,60 \pm 0,36^b$	$2,54 \pm 0,72^a$	***
Cu	$4,28 \pm 0,86$	$4,35 \pm 0,72$	$4,50 \pm 0,70$	$4,32 \pm 0,54$	$4,44 \pm 1,09$	-
Zn	$3,20 \pm 0,60^c$	$7,42 \pm 1,03^b$	$7,18 \pm 0,91^b$	$8,13 \pm 1,56^a$	$12,60 \pm 2,07^a$	***

Not: ([a, b, c, d]) Aynı satırda farklı harfle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan Testi). - : $p > 0.05$, ***: $p < 0.001$.



Şekil 3.3. Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4) gruplarındaki *A.leptodactylus* 'ların karapakslarındaki ortalama Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) ve Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) değerleri

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

A. leptodactylus yemine farklı oranlarda demir ilave ederek yapılan çalışma sonucunda teknelerde oluşturulan şartların canlının yaşaması için optimal değerlere sahip olduğu görüldü. Köksal (1988), Skurdal ve Taugbol (2002), *A. leptodactylus*'un yaşadığı ortamlarda su sıcaklığının kabuk değiştirmek için 7-12 °C, üremeleri için 4-13 °C, büyümeleri için 14-22 °C, oksijenin en az 2 mg L⁻¹, pH'ın 6,5-8,5, kalsiyumun 5 mg L⁻¹'den az olmaması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ortalama su sıcaklığı 19,31 °C, oksijen 7,15 mg/L, pH 8,16 olarak belirlenmiştir. Araştırmacıların belirttikleri değerler ile bu çalışmada elde edilen değerler arasında paralellik görülmektedir.

Rasyonlarda bulunması gereken ham protein ihtiyacını D'Abramo ve ark. (1985), Goddard (1988) *Procambarus acutus* 'larda %50,5; *Pacifastacus leniusculus* 'larda %39; *Astacus astacus* 'larda %40; Köksal (1988) *A. leptodactylus* 'larda %30,93; Ravi ve ark. (1999) *Cherax tenuimanus* 'larda %21,87 olarak saptamışlardır. Bu araştırmada kontrol yemindeki ham protein değeri yaklaşık olarak %37 olarak belirlenmiştir. Ham protein değerleri arasındaki bu farklılıkların farklı tür ve büyüklükteki örneklerin kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Krustase rasyonlarında bulunması gereken ham yağ miktarını Köksal (1988) *A. leptodactylus*'larda % 7,82; Ackefors ve ark. (1992), *A. astacus*'larda %7; Lee ve Lawrence (1997), Ravi ve ark. (1999) *C. tenuimanus*'larda %6,02 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada kontrol yemindeki ham yağ miktarı yaklaşık olarak %7 olarak belirlenmiştir. Araştırmacıların belirttikleri değerler ile bu çalışma sonucu elde edilen ham yağ miktarı arasında uyum görülmektedir.

Maage ve Sveiver (1998), yaptıkları çalışmada atlantik salmonların kontrol yemine ilave ettikleri 25-50 mg kg⁻¹ demir oksitin yaşama oranları üzerine etkilerinin olmadığını saptamışlardır. Benzer şekilde Qiao ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada da kontrol yemine ilave edilen 0, 30, 60, 120, 240 ve 480 mg kg⁻¹ demirin juvenil cobiaların (*Rachycentron canadum*) yaşama oranını önemli derecede etkilemediği tespit edilmiştir. Ancak Sealey ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmada *Edwardsiella ictaluria*'in yemine 0, 20, 60 ve 180 mg kg⁻¹ FeSO₄ ilavesinin balıklarda mortaliteye sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise *A. leptodactylus* türü *A. leptodactylus*'larda yaşama

oranı üzerine yemlere farklı oranlarda ilave edilen demirin etkili olmadığı belirlenmiştir. Veriler arasındaki fark hem tür farklılığı hem de yeme ilave edilen demir miktarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada *A. leptodactylus* 'ların yemine ilave edilen demir miktarının artması ile hepatopankreas ve karapakstaki demir miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede arttı. Demirin bu dokulardaki en yüksek miktarı F4 grubunda tespit edildi. Dokularda demir birikimi ile yemlerdeki demir konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon belirlendi. Debnath ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada *Catla catla*, *Labeo rohita* ve *Cirrhinus mirgala* türlerinde sudaki artan demir miktarı ile karaciğer dokusundaki demir miktarının arttığı belirlenmiştir. Qiao ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada da yemlere ilave edilen demire paralel olarak bir depo organı olan karaciğerde demir miktarının arttığı saptanmıştır. Tunca ve ark. (2013), *A.leptodactylus*'un karapaks ve hepatopankreasındaki Fe ve diğer metal miktarlarının mevsime göre değiştiğini tespit etmişlerdir. Ling ve ark. (2010) ise *Cyprinus carpio* türü balıklarda yaptıkları çalışmada 147,4 mg kg⁻¹ demirin yeterli olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan bu araştırmada da bir depo organı olan hepatopankreasta demir miktarının karapaksa oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol yemine 300 mg kg⁻¹ demir ilavesinin hepatopankreas ve karapaksta ki Fe, Cu ve Zn miktarının arttırdığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada yeme ilave edilen demirin MDA düzeyini azalttığı saptanan bu çalışmada lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyindeki azalma ortamdaki antioksidan özellikteki madde ya da enzimlerin artması ile bağdaştırılabilir. Çünkü antioksidanın MDA oluşumu sırasında uygun çift bağına bir ROO* ilavesi, bu ROO* 'nun temizlenmesindeki ilk adımdır. Bu radikalın oksijene oksidasyonu yoluyla O^{2-*} anyonuyla reaksiyona girerken antioksidan aktivitesi, peroksitlerin (H₂O₂ / O₂²⁻) oluşumunu ve Fenton yoluyla peroksitlerden türetilen HO* gibi diğer reaktif oksijen türlerini önleme kapasitesinde ortaya çıkmaktadır (Fang ve ark., 2002). Bunun yanı sıra bir geçiş metali olarak demir atomu tamamlanmamış d-sub bir hücreye sahiptir. Sudaki demir anyonlara doğru serbest katyon (Fe⁺²) oluşumuna yol açar. Oksijenin varlığında demir ferrik hidroksitin bir çökeltisini vermek için suyun hidroksil radikali (OH⁻) ile tepkimeye girebilir. Demir hafif asidik pH ortamlarında, nötr de ferrik forma çözünmüş oksijen tarafından oksidize edilir. Demirin en yaygın çözünen inorganik formu Fe (OH) ⁺² gözlenmiştir ki ferrik hidroksil (Fe(OH)₃) büyük oranda dayanılabilir pH seviyesi ile akarsulardaki balık popülasyonlarını sınırlandırır ve bentik organizmaların total biyomaslarını azaltır. Demirin yüksek konsantrasyonu (52.90 mg

L⁻¹'e kadar) sudaki görünebilirliği azaltabilir. Ayrıca azalan büyüme ve uzun süren stres ile sonuçlanan yavru ve juvenil devresinde besin algılarının bozulmasına sebep olur (Debnath ve ark., 2012). Sarıkaya ve ark.(2001), *A.leptodactylus*'ların hepatopankreasındaki MDA seviyesinin 5, 10, 20 µg L⁻¹ dozdaki fenitrothion ile azaldığını tespit etmişlerdir. Roméo ve Gnassia-Barelli (1997), *Ruditapes decussatus* 'larda lipid peroksidasyon üzerinde demir gibi ağır metallerin büyük oranda etkili olduklarını bildirmişlerdir. Zhang ve ark. (2016), sazanlar üzerine demirin etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada demirin antioksidan savunma ve MDA üzerinde etkili olduğunu bu konuda daha geniş araştırmaların yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Wang ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada ortamdaki demir miktarının canlıda MDA düzeyi üzerinde etkin olan astaksantin ve yağ asidi seviyesinde önemli bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Araştırma sonucunda *A. leptodactylus* rasyonlarına (Kontrol (K), Deneme 1 (F1), Deneme 2 (F2), Deneme 3 (F3) ve Deneme 4 (F4)) farklı oranlarda demir katılmasının; *A.leptodactylus* 'un yaşama oranı üzerine etkili olmadığı belirlendi. Yapılan analiz sonucunda hepatopankreas dokusunda MDA olarak belirlenen lipid peroksidasyon düzeyini önlemede kontrol rasyonuna 300 mg kg⁻¹ demir ilavesinin yeterli olduğu bulundu. Ayrıca bu çalışmada yemdeki demir miktarının dokulardaki Fe, Cu ve Zn birikimi üzerinde etkili olduğu görüldü.

5. ÖNERİLER

Kültür şartları altında yapılan yetiştiricilikte canlının ihtiyacını karşılayacak rasyon içeriğinin düzenlenmesi oldukça önemlidir. Bu temel yeme katılacak ilave maddelerin miktarı yemin etkinliğinin artırılması için çok önemlidir. Demir bu maddelerden biridir. *A.leptodactylus*'ların ortam şartlarında oluşan oksidatif strese karşı savunma mekanizmasını desteklemek, hepatopankreas ve karapakta Fe, Cu ve Zn depolanma oranının artırılması için rasyonlara 300 mg kg⁻¹ demir ilavesi yeterlidir.



KAYNAKLAR

- Ackefors, H., Castell, J.D., Boston, L.D., Raty P., Svensson, M.,** 1992. Standard experimental diets for crustacean nutrition research. II. growth and survival of juvenile crayfish *Astacus astacus* (Linne) fed diets containing various amounts of protein, carbohydrate and lipid. *Aquaculture*, 104: 341-356.
- Akkuş, İ.,** 1995. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri. 2. Baskı, Mimosza Yayınları, Konya.
- Aksoy, M.,** 2014. Beslenme biyokimyası. 4. Baskı, Hatipoğlu Yayınları, Ankara.
- Aksu, O., Adiguzel, R., Demir, V., Yildirim, N., Danabas, D., Seker, S., Seyhaneyildiz-Can, S., Ates, M.,** 2014. Temporal changes in concentrations of some trace elements in muscle tissue of crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823), from Keban Dam Lake. *Hindawi Publishing Corporation Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2014: Article ID 120401, 4p.
- Alpbaz, A.,** 2005. Su ürünleri yetiştiriciliği. Alp Yayınları, İzmir.
- AOAC,** 1984. Official methods of analysis (14th Ed). Association of Official Analytical Chemists. Inc. Arlington 1141 p.
- Atay, D.,** 1997. Kabuklu su ürünleri ve üretim tekniği. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, 1478, Ankara, 348 s.
- Baker, R. T. M.,** 1997. The effects of dietary α -tocopherol and oxidised lipid on postthaw drip from catfish muscle. *Animal Feed Science Technology*, 65: 35-43.
- 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, Ö., Benzer, F., Erisir, M., Dorucu, M.,** 2009. Oxidant and antioxdan status of tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* esch., 1823) from different stations in the Keban Dam Lake. *Fresenius Environmental Bulletin*, 18(6): 948-954.
- Barım, Ö., Karatepe, M.,** 2010. The effects of pollution on the vitamins a, e, c, β carotene contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 138-142.

- Bell, B. J. G., Cowey, C. B., Adron J.W., Shanks, A. M.,** 2002. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*, 53: 149-157.
- Bhattacharya, T., Saha, R.K.,** 1991. Water quality of Agartala, final report. Tripura State Pollution Control Board, 24: 43pp.
- BIS,** 1991. Bureau of Indian Standards, Indian standard drinking water specification (BIS 10500:1991).
- Bjørneboe, A., Bjørneboe, G-E Aa., Drevon, C. A.,** 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *J. Nutr.*, 120: 233-242.
- Canpolat, Ö.,** 2007. Keban Baraj Gölü'ndeki kirletici kaynaklarının su kalitesi ve *Capoeta trutta* (heckel, 1843)'nın üreme biyolojisi ve gelişimi üzerindeki etkileri. *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 336s.
- Chen, H-Y.,** 1998. Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*. *Reviews in Fisheries Science*, 6: 79-95.
- Conklin, D.E,** 1995a. Digestive physiology and nutrition. In: *Biology of the Lobster Homarus americanus*, (J. Robert Factor, eds.). *Academic Press*, 441-463.
- Conklin, D.E,** 1995b. Vitamins. In: *Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture.* (L.R. D'Abramo, D.E. Conklin and D.M. Akiyama, eds), 6: 123-149.
- Cuzon, G., Guillaume, J., Cahu, C.,** 1994. Composition, preparation and utilization of feeds for crustacea. *Aquaculture*, 124: 253-267.
- Çetinkaya, O.,** 1995. Balık besleme. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 9, Van, 137 s.
- D'Abramo, L.R.D, Robinson, E.H.,** 1989. Nutrition of crayfish. *Aquatic Science*, 1(4):711-728.
- D'Abramo, L.R.D, Wright, J.S., Wright, K.H., Bordner, C.E., Conklin, D.E.,** 1985. Sterol requirements of cultured juvenile crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Aquaculture*, 49: 245-255.
- D'Abramo, L.R.D., Conklin, D.E.,** 1995. New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridean species of shrimp. In: *World Aquaculture Society*, (C.L. Browdy and J.S. Hopkins, eds.), 95-108.
- Debnath, M., Saha, R.K., Kamilya, D., Saikia, D., Saha, H.,** 2012. Effects of water borne iron on spawn of indian major carps (*Catla catla*(Ham.), *Labeo rohita*(Ham.) and *Cirrhinus mrigala* (Ham.)). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 89: 1170-1174.

- Daloğulları, F.**, 2012. Tatlısu istakozlarında (*astacus leptodactylus* esch. 1823) amonyağın toksik etkilerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 89s.
- EPA**, 1986. Environmental protection agency. Quality criteria for water 1986. Office of Water Regulations Standarts Washington, DC 20460. Water, EPA 440/5-84-001.
- Fang, Y-Z, Yang S, Wu G.**, 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18: 872-879.
- Gerhardt, A.**, 1992. Effects of sub-acute doses of iron (Fe) on *Leptpphlebia marginata* (Insecta: Ephemeroptera). *Freshwater Biology*, 27: 79-84.
- 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, 45-166.
- Gökalp., H.Y., Nas, S., Certel, M.**, 1992. Biyokimya 1- Temel yapılar ve kavramlar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:772, 466s.
- Gözükara, E.M.**, 2001a. Biyokimya. Cilt-1, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- Gözükara, E.M.**, 2001b. Biyokimya. Cilt-2, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- Gözükara, E.M.**, 2011. Biyokimya. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, ISBM:978-975-420-7842, 908s.
- Guoda, M.**, 1999. A comparative study of physiological and biochemical indices of native European and Alien species of crayfish in Lithuania. *Frashwater Crayfish*, 12: 205-220.
- Harhoğlu, M. M.**, 2004. The present situation of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture*, 230: 181-187.
- Harhoğlu, M.M.**, 2000. *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)'un çiftleşme ve yumurtlama davranışı ve stoklama yoğunluğunun çiftleşme ve yumurtlamaya etkisi. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 12(1): 307-312.
- He, H., Lawrence, A. L.**, 1993. Vitamin E requirement of *Penaeus vannemei*. *Aquaculture*, 118: 245-255.
- He, H., Lawrence, L., 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.

- Holdich, D. M., Reeve, I. D.,** 1988. Functional morphology and anatomy. in: freshwater crayfish: biology. Management and Exploitation (Holdich D. M. and Lowery, R. Eds). Chapman and Hall, London, 11-51.
- Huner, J.V., Meyers, S.P., Avault, J.W.,** 1975. Response and growth of freshwater crayfish to an extruded water-stable diet. *Freshwater Crayfish*, 2: 149-157.
- Jover, M., Fernandez-Carmona, J., Rio, M.C.D., Soler, M.,** 1999. Effect of feeding cooked extruded diets, containing different levels of protein, lipid and carbohydrate on growth of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture*, 178: 127-137.
- Jussila, J.,** 1997a. Carapace mineralization and hepatopancreatic indices in natural and cultured populations of marron (*Cherax tenuimanus*) in Western Australia. *Marine and Freshwater Research*, 48(1): 67-72
- Jussila, J.,** 1997b. Physiological responses of Astacid and Parastacid crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture. University of Kuopio, Australia, 140 p.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamhoğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M.,** 2006. Biyokimya. 3. Baskı, Nobel Yayınları, Ankara.
- Kılınç, K.,** 1985. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi*, 10: 60-89.
- Kinter, M.,** 1995. Analytical technologies for lipid oxidation products analysis. *Journal of Chromatography B., Review*, 671, 223-236.
- Köksal, G.,** 1988. *Astacus leptodactylus* in Europe. In: Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation, (Holdich D. M. and Lowery, R., eds.). Chapman and Hall, London, 365-400 pp.
- Kumlu, M.,** 1998. Karides, istakoz ve midye yetiştiriciliği. Çukurova Üniv. Su Ürün. Fak., Ders Kitabı No: 6, 340 s.
- Lee, P.G., Lawrence, A.L.,** 1997. Digestibility. In: Crustacean Nutrition. *Advances in World Aquaculture*, (L.R. D'Abramo, D.E. Conklin and D.M. Akiyama eds.), 6: 194-237.
- Ling, J., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W.-D., Hu, K., Li, S.-H.,** 2010. Effect of dietary iron levels on growth, body composition intestinal enzyme activities of juvenile jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition*, 16: 616-624.

- Lowery, R.S.**, 1988. Growth, Moulting and Reproduction. In: Freshwater crayfish: Biology, Management and Exploitation (Holdich D. M. and Lowery, R. Eds). Chapman and Hall, London, 83-113pp.
- Lushchak, V.**, 2012. Oxidative stress-environmental induction and dietary antioxidants. *Agricultural and Biological Sciences*, ISBN 978-953-51-0553-4, Published: May 2: 2012 Under CC BY 3.0 License.
- Maage, A., Sveier, H.**, 1998. Addition of dietary iron(III) oxide does not increase iron status of growing Atlantic salmon. *Aquaculture International*, 6: 249-252.
- Macpherson, A.**, 1994. Selenium, vitamin E and biological oxidation,. In Recent Advances in Animal Nutrition (Edited by Cole D.S. Oxford and Garniworth P.), Butterworth and Heiremann, 3-30 pp.
- Mazlum, Y., Yılmaz, E.**, 2012. Kerevitlerin biyolojisi ve yetiştiriciliği. *Mustafa Kemal Üniversitesi Yayınları*: 34, Hatay, 120s.
- Murray, R.K., Mayes, P.A. Granner, D.K., Rodwell, V.W.**, 1993. Harper'ın biyokimyası. Barış Kitabevi, İstanbul, 913s.
- New, M.B.**, 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture*, 9: 101-144.
- Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E.**, 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13: 57-149.
- Peuran, S., Vuorinen, P.J., Vuorinen, M., Hollender, A.**, 1994. The effects on iron, humic acids and low pH on the gills and physiology of brown trout (*Salmo trutta*). *Ann. Zool. Fennici*, 31: 389-396.
- Placer, A.Z., Linda, L.C., Johnson, B.**, 1996. Estimation of product of lipid peroxidation (malondialdehyde) in biochemical system. *Anal. Biochem.*, 16: 359-364.
- Qiao, Y.-G., Tan, B.-P., Mai, K.-S., Ai, Q.-H., Zhang, W.-B., Xu, W.**, 2013. Evaluation of iron methionine and iron sulphate as dietary iron sources for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition*, 19: 721-730.
- Ravi, F., Brenton, K., Louis, E.**, 1999. Effect of a diet supplemented with cod liver oil and sunflower oil on growth, survival and condition indices of juvenile *Cherax tenuimanus* (Smith). *Freshwater Crayfish*, 12: 478-493.
- Reynolds, J.R.**, 2002. Growth and reproduction. In: Biology of freshwater crayfish (Holdich D.M., eds.). *Iowa State University Press*, 153-191.

- Roméo, M., Gnassia-Barelli, M.,** 1997. Effect of heavy metals on lipid peroxidation in the mediterranean clam *Ruditapes decussatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 118C (1): 33-37.
- Sarıkaya, R., Sepici-Dinçel, A., Karasu-Benli, A.Ç., Selvi, M., Erkoç, F.,** 2011. The acute toxicity of fenitrothion on Narrow-Clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) in association with biomarkers of lipid peroxidation. *J. Biochem. Molecular Toxicology*, 25 (3): 169-174.
- Sealey, W.M., Lim, C., Klesius, P.H.,** 1997. Influence of the dietary level of iron from iron methionine and iron sulfate on immune response and resistance of channel catfish to *Edwardsiella ictaluria*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28: 142-149.
- Shiau, S-Y.,** 1998. Nutrient requirements of penaid shrimps. *Aquaculture*, 164: 77-93.
- Skurdal, J., Taugbol, T.** 2002. *Astacus*. In: *Biology of Freshwater Crayfish*, Holdich, D.M. (Ed.), Blackwell Science Ltd., UK, 467-510.
- Suprunovich, A.W., Kadriuk, R.P., Petkevich, T.A.,Stepaniuk, I.A., Lisovskaya, W.L., Antsupova, L.V.,** 1983. Biochemical characteristics of the dniester long-clawed crayfish of astacidae family. *Freshwater Crayfish*, 5: 490-533.
- Tan, R.K.H., 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.
- Tunca, E., Üçüncü, E., Kurtuluş, B., Ozkan, A.D., Atasagun, S.,** 2013. Accumulation trends of metals and a metalloid in the freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* from Lake Yenicağa (Turkey). *Chemistry and Ecology*, 29 (8): 754-769.
- URL 1.,** 2013. <http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=3143>.
- URL 2.,** 2017. <http://www.atillaalpbaz.com/?o=3&y=139> .
- URL 3.,** 2017. <http://esuf.sdu.edu.tr/tr/genel/kerevitlerin-biyolojisi-2915s.html> .
- Velasco, M., Lawrence, A.L., Castille, F.L.,** 1999. Effect of variations in daily feeding frequency and ration size on growth of shrimp, *Litopenaeus vannemei* (Boone), in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*, 179:141-148.
- Vogt, G.,** 2002. Functional anatomy. In: *Biology of Freshwater Crayfish*, (Holdich, D.M., eds.), Iowa State University Press, 53-150.
- Vonk, H., J.,** 1960. Digestion and metabolism. In: *The Physiology of Crustacea*, (Edited by Talbot H., Waterman), Department of Zoology, Yale University, London, 1:291-316.

- Wang, X., Quinn P. J.,** 1999. Vitamin E and it's function in membranes. *Progress in Lipid Research*, 38: 309-336.
- Wang, Y., Liu, Z., Qion, S.,** 2013. Effects of iron on fatty acid and astaxanthin accumulation in mixotrophic *Chromochloris zofingiensis*. *Biotechnol Lett*, 35: 351-357.
- Winston, G. W., Giulio, R. T. D.,** 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19: 137-161.A.
- Zhang, L., Feng, L., Jiang, W.-D., Liu, Y., Jiang, J., Li, S.-H., Tang, L., Kuang, S.-Y., 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.

ÖZGEÇMİŞ

25.06.1990 tarihinde Batman’da doğdum. İlkokulu Mehmet Akif İlk Öğretim Okulu ve Şehit Öğretmenler İlk Öğretim Okulu’nda, liseyi Yahya Kemal Beyatlı Lisesi’nde okudum. 2009 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği’nde lisans eğitimime başladım ve 2014 yılında mezun oldum. 2014 yılında Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım.

