



## Organik ve İnorganik Selenyum Katkılı Yemlerle Beslenen *Oreochromis niloticus* 'da Antioksidan ve İmmün Sistem Parametrelerinin Araştırılması

Arzu Özlüer-Hunt<sup>1\*</sup>, Ferbal Özkan-Yılmaz<sup>2</sup>, Şanser Delioğlan<sup>3</sup>, Mehmet Berköz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 33160 Yenişehir/Mersin, Türkiye

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, 33160 Yenişehir/Mersin, Türkiye

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi, Silifke Meslek Yüksek Okulu, Su Ürünleri Bölümü, 33940 Silifke/Mersin, Türkiye

<sup>4</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, 65080 Kampus/Van, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

#### Araştırma Makalesi

Geliş 22 Haziran 2017

Kabul 27 Ekim 2017

#### Anahtar Kelimeler:

Selenyum

Tilapia

Antioksidan enzimler

İmmün sistem

Maya

\*Sorumlu Yazar:

E-mail: huntarzu@hotmail.com

### Ö Z E T

Bu çalışmada organik (Sel-Plex®-2000, Alltech, USA) ve inorganik selenyum (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O - Sodyum selenite pentahydrate-FLUCA) ilaveli yem ile beslenen *Oreochromis niloticus*'un karaciğer antioksidan enzim aktiviteleri ve immün sistem parametreleri araştırılmıştır. Ortalama ağırlıkları 12,62 ± 0,11 g olan balıklar, 5 farklı uygulama grubu (Kontrol; Org1,5; Org3,0; İnorg1,5; İnorg3,0) olacak şekilde akvaryumlara yerleştirilmiş ve 75 gün beslenmişlerdir. Deneme süresi sonunda karaciğer katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SDO), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), lizozim (LYZ) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) düzeyi ve kas selenyum seviyeleri belirlenmiştir. Karaciğer antioksidan enzim aktiviteleri ve immün sistem parametreleri Se gruplarında kontrol grubuna oranla artmıştır. Kas dokusu Se düzeyi Se ilaveli tüm gruplarda kontrol ile karşılaştırıldığında göre önemli oranda artmıştır. 3mg/kg organik selenyumla beslenen balıklarda, kas selenyum seviyeleri diğer gruplara oranla daha yüksek bulunmuştur.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science And Technology, 5(12): 1454-1460, 2017

### Investigation of Antioxidant and Immune System Parameters in *Oreochromis niloticus* Fed with Organic and Inorganic Selenium Supplementation Feeds

### ARTICLE INFO

#### Research Article

Received 22 June 2017

Accepted 27 October 2017

#### Keywords:

Selenium

Tilapia

Antioxidant enzymes

Immune system

Yeast

\*Corresponding Author:

E-mail: huntarzu@hotmail.com

### ABSTRACT

In this study, antioxidant enzyme activities and immun system parameters of liver tissue of *Oreochromis niloticus* fed with organic (Sel-Plex®-2000, Alltech, USA) and inorganic selenium (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O - Sodium selenite pentahydrate-FLUCA) supplemented feed were investigated. The fish with average weights of 12.62 ± 0.11 g were placed in aquariums and fed for 75 days in 5 different application groups (Control; Org1.5; Org3.0; Inorg1.5; Inorg3.0). At the end of the trial period, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), lysozyme (LYZ) and myeloperoxidase (MPO) activities and MDA level in the liver tissue and selenium accumulation in the muscle was determined. The antioxidant enzyme activities and immune system parameters in liver were increased in all Se groups compared to control. Se levels in muscle tissues significantly increased in all tested selenium groups when compared to control. In fish fed with 3mg/kg of organic selenium, muscle selenium levels were found to be higher than other groups.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i12.1454-1460.1388>

## Giriş

Su ürünleri yetiştiriciliğinde büyüme ve üretim verimliliğini sağlamak için, yem formülasyonlarının mineral beslenme gereksinimlerini karşılaması önemlidir. Mineraller, normal vücut fonksiyonları için gereken önemli mikro besin maddesidir. Metabolik, endokrin ve bağışıklık sistemleriyle bağlantılı çeşitli enzim aktivitelerini içeren enzimatik sistem içindeki normal katalitik işlemler için bu mikro besin maddelerinin uygun bir miktarı gereklidir (Keen ve ark., 2004; Khan ve ark., 2017).

Selenyum (Se), normal büyüme, gelişme ve antioksidan savunma için gerekli olan mikro besin maddesidir (Fontagne-Dicharry ve ark., 2015). Se, selenoproteinler olarak adlandırılan Se içeren proteinlerin işleyişi için temel olan bir elementtir (Papp ve ark., 2007). Selenoproteinler, antioksidan savunma sistemi, hücre sinyalleri, tiroid hormon metabolizması ve immün yanıtların sürdürülmesi gibi önemli metabolik işlevlere sahiptir (Rayman, 2012). Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), en çok çalışılan ve en iyi karakterize edilen selenoproteinlerden birisidir (Hawkes ve Alkan, 2010; Pacitti ve ark., 2015). Se eksikliği, selenoproteinin işlevini bozabilmekte ve dolayısıyla organizmanın sağlık durumunu etkileyebilmektedir (Rayman, 2012).

Kullanılan Se'nin kimyasal formu, organizma üzerindeki etkisi dolayısıyla biyoyararlılığı yönünden farklı olabilmektedir (Pacitti ve ark., 2015). Se'nin inorganik formlarının organik selenyum formlarına kıyasla daha az biyolojik yararlılığı olduğu bilinmektedir. Bu da inorganik Se'nin, selenoprotein sentezi için kullanılmak yerine daha kolay atılabileceği anlamına gelmektedir (Thiry ve ark., 2012). Ayrıca inorganik selenyum bileşikleri, organik formlara kıyasla daha düşük derişimlerde toksik etki göstermektedir (Thiry ve ark., 2012). Buna rağmen, inorganik sodyum selenit ( $\text{Na}_2\text{SeO}_2$ ), besleme çalışmalarında bugüne kadar en fazla çalışılan, Se yem katkı maddesidir. Çözünürlüğü yüksek ve kolay elde edilebilen bir tuzdur. Selenometiyonin (Se-Met), tercih edilen organik selenobleşik olup, besinlerde bulunabilen Se formudur. Se-Met hayvanlar tarafından üretilemez, mantar ve bitkiler gibi organizmalarda sentezlenir, daha sonra gıda zinciri boyunca transfer edilir (Dumont ve ark., 2006). Yetiştiriciliği yapılan hayvanların yemlerinde kullanılması için belirlenen Se derişimleri, ağırlıklı olarak  $\text{Na}_2\text{SeO}_2$  ve Se-Met kullanılarak yapılan araştırmalara dayanmaktadır (Pacitti ve ark., 2015). Farklı türler arasında gereksinim açısından büyük farklılıklar olabildiği ve canlıların fizyolojik durumu etkilenebildiği için uygun miktarın belirlenmesi önemlidir (Pacitti ve ark., 2015).

Son yıllarda özellikle selenyumdan zenginleştirilmiş maya formundaki organik selenyumun kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu preparatlardan biri olan Sel-Plex®(Alltech, USA)'dir. Selenyum mayası (Sel-Maya), selenyumun kimyasal formlarının bir kısmını içeren bir karışımdır. Sel-Plex, yüksek seviyede Se içeren ortamda yetişen bir maya olan *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilmektedir. Yaklaşık olarak %40 selenomethionin, %15 selenosistein ve daha az olarak farklı aminoasitlerle birleşmiş analogları içermektedir (Mahan, 1999). Sel-Plex gibi doğal ve organik Se ilavelerinin kullanılması, su

ürünleri yetiştiriciliğinde, sucul canlıların sağlığını iyileştirmek ve yetiştiricilik çalışmalarının sürdürülebilirliği alanlarında uygun olabilmektedir.

Organizmalarda, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve diğer prooksidanları, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimlerle sürekli etkisizleştiren bir sistem bulunmaktadır. Reaktif oksijen türlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (Keleştemur ve Özdemir, 2011). Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFAs) oksidatif parçalanma sürecidir (Repetto ve ark., 2012). Malondialdehit (MDA) başlıca ve en çok çalışılan bir peroksidasyon ürünüdür. Toksik bir molekül olan MDA, hücrede DNA ve proteinler gibi makro moleküllere zarar vererek hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine, membran bütünlüğünün yok olmasına ve permabilitenin artmasına neden olabilmektedir (Del Rio ve ark., 2005). Balık yetiştiriciliğinde biyotik ve abiyotik stres faktörlerine (hastalıklar, stok yoğunluğu, olumsuz çevresel faktörler, oksijen ve sıcaklık değişimleri, elle yakalama, taşıma) karşı, balığın savunma sistemini güçlendiren antioksidan besin maddelerin araştırılması önemlidir (Sweetman ve ark., 2010).

Balık yetiştiriciliğinde refah düzeyini yükseltmek ve koruyucu tedavi amacıyla, potansiyel bir immün uyarıcı olarak, selenyumca zenginleştirilmiş ürünlerin yemlere dahil edilmesi önerilmektedir (Pacitti ve ark., 2015). Farklı balık türlerinde yeme eklenen selenyumunun antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı (Pacitti ve ark., 2015; Fontagne-Dicharry ve ark., 2015) ve lipid peroksidasyonunu azalttığı (Hunt ve ark., 2011; Molnar ve ark., 2012) önceki çalışmalarda belirtilmiştir.

Bu çalışmada *Oreochromis niloticus* bireyleri, organik (Sel-Plex®-2000, Alltech, USA) ve inorganik selenyum ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -Sodyum selenite pentahydrate-FLUCAN)'un 1,5 ve 3,0 mg/kg ilaveli yemleri ile 75 gün beslenmiştir. Deney periyodu sonunda *O. niloticus*'un kas dokusu Se miktarı ve karaciğer dokusu antioksidan (katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), GSH-Px) enzim aktiviteleri ile doku MDA düzeyi ve immün sistem parametrelerinden olan lizozim (LYZ), ve myeloperoksidaz (MPO) enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

## Materyal ve Yöntem

### Deneme Materyali

Araştırmada kullanılan tilapya (*O. niloticus*) yavruları, Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Uygulama Ünitesinden temin edilmiştir. Deneme 75 gün süreyle, Mersin Üniversitesi Silifke Meslek Yüksekokulu Su Ürünleri Uygulama Biriminde yapılmıştır. Balıklar deneme süresine alınmadan önce 500 L kapasiteli fiberglas tanklarda 15 gün adaptasyon amacıyla bekletilmiştir. Adaptasyonun sonunda ortalama canlı ağırlıkları yaklaşık 12 g olan 150 adet balık  $50 \times 100 \times 50$

cm boyutlarında 15 adet deneme akvaryumlarına 10'ar adet olacak şekilde yerleştirilmiştir. Deney sistemi merkezi bir havalandırma ile havalandırılmıştır. Akvaryumlar her gün sifonlanmış ve ayrıca her iki günde bir hava hortumları ve hava taşları iyice temizlenmiştir. Akvaryumlarda kullanılan suyun sıcaklık 24-28°C (ortalama 24°C) ve pH: 7,5-7,8 değerleri deneme boyunca sabit tutulmuştur. Balıkların bulunduğu ortamda gün boyunca 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık rejimi uygulanmıştır. Deneme 75 gün, 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Adaptasyon süresince balıklar, yavru yemi olan ve çapları 2 mm olan ekstrude alabalık pelet yemiyle beslenmişlerdir (BioAqua, Pınar, İZMİR).

#### Yem Materyalinin Hazırlanması

Araştırmada yem katkısı olarak organik Selenyum (Sel-Plex®-2000, Alltech, USA) ve İnorganik Selenyum (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O Sodyum selenit pentahydrate-FLUCA) kullanılmıştır. Deneme diyetlerinde bazal yem olarak BioAqua 2 mm ticari yemi kullanılmıştır. Kullanılan yemin içeriğinde; kuru madde değeri 92,42±0,98, ham protein değeri 42,83±0,32, lipid değeri 15,74±0,67 ve ham kül değeri 10,69±0,29'dur.

Deneme için kullanılan Sel-Plex®, Alltech, USA ve Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> deneme diyetlerine 2 farklı dozda ilave edilmiş ve diğer hammaddeler sabit kalmıştır. Yaptığımız çalışmada toz halindeki Sel-Plex olarak 500'er gramlık yemler nemlendirildikten sonra, yeme 1,5 mg/kg ve 3,0 mg/kg oranlarında su ile karıştırılmıştır. Hamur haline getirilen yemler kıyma makinesinden geçirilerek, pelet yem şekline dönüştürülmüş ve kurumaya bırakılmış olup, kontrol grubu için de Se ilavesi yapılmadan aynı işlemler gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan yemler +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Sonuç itibarıyla 5 farklı diyet hazırlanmıştır. Yemler hazırlandıktan sonra her grup için Selenyum miktarları yeniden ölçülmüştür. Balıklar 75 gün boyunca her grubun toplam canlı ağırlıklarının %3'ü kadar beslenmişlerdir. Günlük yem miktarı ikiye ayrılarak, yemleme sabah ve akşam olmak üzere aynı saatlerde yapılmıştır. Deneme grupları ve yemdeki Selenyum miktarları AOAC (1996), yöntemine göre ölçülmüş ve değerler aşağıda verilmiştir.

#### Deneme Grupları:

Grup1: Kontrol	0,10±0,002 mg/kg
Grup2: 1,5 mg organik Selenyum	1,57±0,004 mg/kg
Grup3: 3 mg organik Selenyum	3,21±0,002 mg/kg
Grup4: 1,5 mg inorganik Selenyum	1,46±0,006 mg/kg
Grup5: 3 mg inorganik Selenyum	3,28±0,001 mg/kg

#### Selenyum Analizi

Balık kas dokusunda bulunan Se miktarının belirlenmesi amacıyla deneme sonunda her bir diyet grubundan alınan 6 balık disekte edilerek kas dokuları örneklenmiştir. Kas dokuları selenyum düzeyi AOAC (1996) yöntemine göre Atomik absorpsiyon spektrometresinde (AA6501, Shimadzu Ltd, Japan) ölçülmüştür.

#### Biyokimyasal Analizler

Deney periyodu sonunda her bir deney grubundan rastgele alınan 6 adet balık, disekte edilerek karaciğer dokusu alınmıştır. Cam tüpe aktarılan doku üzerine 1/10 (w/v) olacak şekilde serum fizyolojik çözeltisi eklenerek

ve buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku 13500 devir/dakika hızda 3 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Daha sonra +4°C ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmış ve elde edilen süpernatantlar -20°C'de saklanılmıştır. Süpernatantlar daha sonra biyokimyasal analizler için kullanılmıştır.

Karaciğer dokusu CAT (EC 1.11.1.6) aktivitesi, Aebi (1974) yöntemine göre belirlenmiştir. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'nin enzimatik bozunumu doğrudan 240 nm'de absorpsiyon azalışı olarak izlenmiş, birim zamandaki absorpsiyon farkı, CAT aktivitesinin bir ölçütü olarak kullanılmıştır. SOD (EC 1.15.1.1) aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilen oksijene bağlı olarak nitroblue tetrazolyum (NBT) redüksiyonunun inhibisyonu ile ölçülmüştür. Bir birim SOD aktivitesi, NBT redüksiyon hızının %50 inhibisyonuna neden olan protein miktarı olarak tanımlanmıştır (Sun ve ark., 1988). Süperoksit anyonu ile mavi formazana indirgeme olayı 560 nm'de belirlenmiştir. GSH-Px (EC 1.11.1.9) aktivitesi belirleme yöntemi Jocely (1970)'e göre yapılmıştır. Bu yöntem, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında indirgenmiş glutatyonun (GSH), GSH-Px tarafından okside glutatyon (GSSG) ve oksitlenen GSSG'nin glutatyon redüktaz enzimi aracılığıyla tekrar GSH'a dönüştürülmesi esasına dayanır. Bu esnada ortamda bulunan indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kullanılır. Kullanılan bu NADPH miktarı absorpsiyondaki azalış şeklinde 340 nm dalga boyunda izlenmiştir. Belirlenen enzim aktiviteleri, U/mg protein şeklinde ifade edilmiştir. Karaciğer dokusu MDA düzeyi Yagi (1998) yöntemine göre yapılmıştır. Lipit peroksidasyon ürünlerinden en stabili olan MDA'nın tiobarbitirik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorpsiyonu, spektrofotometrede 532 nm'de ölçülerek değerlendirilmiştir. Bulunan veriler nmol/mg protein olarak belirtilmiştir.

LYZ (EC 3.2.1.17) aktivitesi, Ellis (1990)'da belirtilen yöntemine göre ölçülmüştür. Bu deneyde kullanılan substrat *Micrococcus lysodeikticus* süspansiyonudur. Spektrofotometrede 530 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. MPO (EC 1.11.2.2) aktivitesi, o-dianisidin ve hidrojen peroksit kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Krueger ve ark, 1990). Oksidasyon ajanı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında MPO, o-dianisidin'in oksidasyonunu katalize eder ve kahverengi renkli bir ürünü okside o-dianisidin verir. Numunelerin emiciliği 460 nm dalga boyundaki spektrofotometri ile ölçülmüştür.

Dokuların protein düzeyleri Lowry ve ark. (1951)'in belirlemiş olduğu yöntemine göre analiz edilmiştir. Bu yöntemine göre alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşmakta, bu kompleks fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini redüklemekte ve koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein derişimi ile doğru orantılı olup, oluşan renk, 750 nm'de absorpsiyon değerleri belirlenmiştir.

#### İstatistiksel Analizler

Deneme sonunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 24 Windows paket programı kullanılmıştır. One Way-Anova (Tek Yönlü Varyans Analizi) uygulanmış ve ortalamalar arasındaki fark Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile P<0,05 önem düzeyinde değerlendirilmiştir.

## Bulgular

Deneme periyodu sonunda balıkların kas dokusu Se düzeyleri Şekil 1.'de sunulmuştur. Kontrol grubu Se düzeyi 0,94 µg/g iken organik ve inorganik Se ilaveli yemlerle beslenen balıkların kas dokuları düzeyleri önemli oranda artmıştır (P<0,05). Bu artış, Org1,5 ve Org3,0 gruplarında sırasıyla 17,12 ve 18,83 µg/g olarak belirlenmiştir.

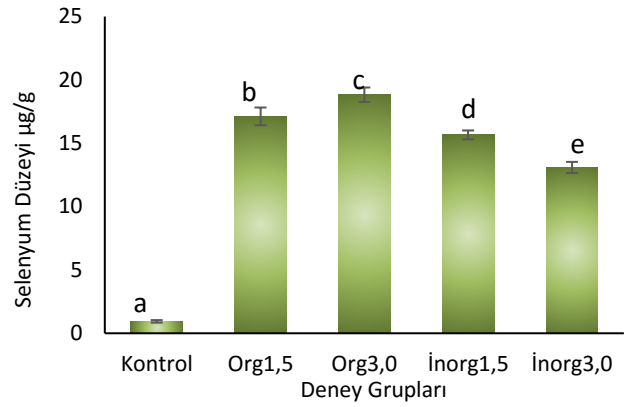
Karaciğer dokusu CAT, SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri Şekil 2'de verilmiştir. CAT aktivitesi kontrole oranla önemli düzeyde (P<0,05) artmıştır (Şekil 2A). Org3,0 grupta bu artış %55 oranındadır. Doku SOD aktivitesi bakımından Se ilave edilen gruplar ile kontrol grubu arasında istatistiksel yönden önemli bir fark bulunmamıştır (P>0,05) (Şekil 2B). GSH-Px aktivitesinde, kontrol grubuna oranla Se ilaveli gruplarda önemli farklar saptanmıştır (P<0,05) (Şekil 2C). Org 1,5 ile İnorg1,5 ve İnorg3,0 gruplarında benzer artışlar olurken, en yüksek artış Org3,0'de izlenmiştir. Kontrole göre bu artışlar %25 (Org1,5), %43 (Org3,0), %22 (İnorg1,5), %20 (İnorg3,0) oranlarında bulunmuştur.

Karaciğer dokusu MDA düzeyi Se ilaveli yemlerle beslenen gruplarda kontrole göre önemli oranda azalmıştır (P<0,05). Kontrol grup ile karşılaştırıldığında bu azalma oranları %22 (Org1,5), %40 (Org3,0), %20 (İnorg1,5), %28 (İnorg3,0) şeklinde bulunmuştur.

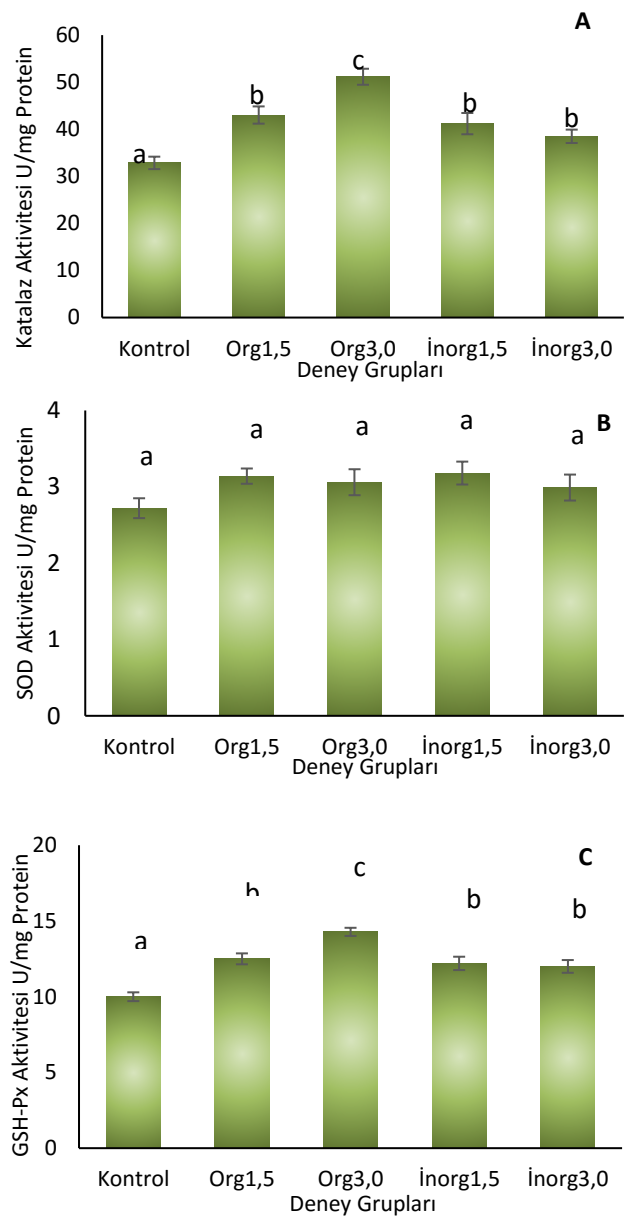
İmmün sistem parametreleri olarak kullanılan LYZ ve MPO aktiviteleri Şekil 4'de sunulmuştur. Her iki enzim üzerinde, 3 mg/kg organik Se ilaveli yem, kontrole oranla önemli artışlar göstermiştir. Org3,0 grubunda bu artış oranları LYZ için %36, MPO için %20 şeklinde bulunmuştur.

## Tartışma

Balık filetosundaki Se'nin biyoakümülyasyonu, tüketici üzerindeki potansiyel etkisi nedeniyle son derece önemlidir. Se-Maya ile zenginleştirilmiş balık diyeti, özellikle bu elementin eksikliğini gidermek için Se zenginleştirilmiş gıdaların tüketilmesi yönünden olumlu bir alternatif oluşturabilir (Patrici ve ark., 2015). Yapılan çalışmada Se ilaveli yemlerle beslenen balıkların kas dokusu Se düzeyi, kontrole oranla artmıştır. Organik selenyum kaynaklı yem gruplarında, kas Se düzeyi inorganik selenyum gruplarına göre daha yüksek saptanmıştır. Rider ve ark. (2010) yaptığı bir çalışmada *Oncorhynchus mykiss*'in tüm dokularında Se miktarını, Se-Maya'nın selenite göre önemli derecede yükselttiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada Se-Mayanın sindirilebilirliğinin selenite göre daha iyi olduğunu bulmuşlardır (Rider ve ark., 2010). Benzer şekilde *Salmo salar*'da, Se-Met'in selenite göre daha iyi sindirebilir olduğu ve kas dokusunda Se düzeyini yükselttiği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Bell ve Cowey, 1989; Lorentzen ve ark. 1994). Kas Se düzeyi ile deneme yemlerinin Se derişimleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Fotadar ve Munilkumar, 2016). Se-Maya ilavesindeki biyoyararlılık, kas dokusu Se düzeyinin artmasında etkin rol oynamaktadır (Pacitti ve ark., 2015).



Şekil 1 Farklı Se kaynakları ilave edilen yem ile beslenen *O. niloticus*'un kas dokusu selenyum düzeyleri (µg/g). Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

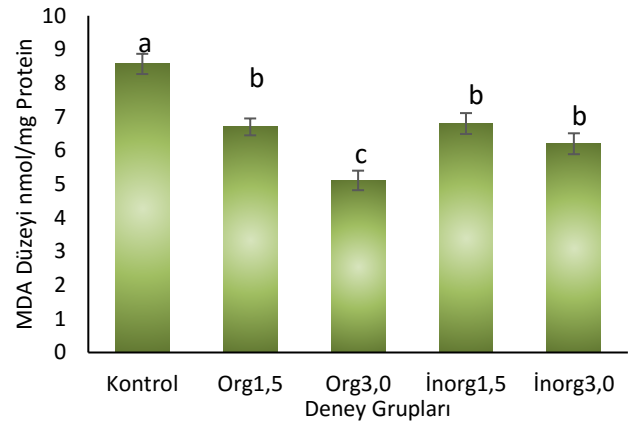


Şekil 2 Farklı Se kaynakları ilave edilen yem ile beslenen *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT (A), SOD (B) ve GSH-Px (C) enzim aktiviteleri. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

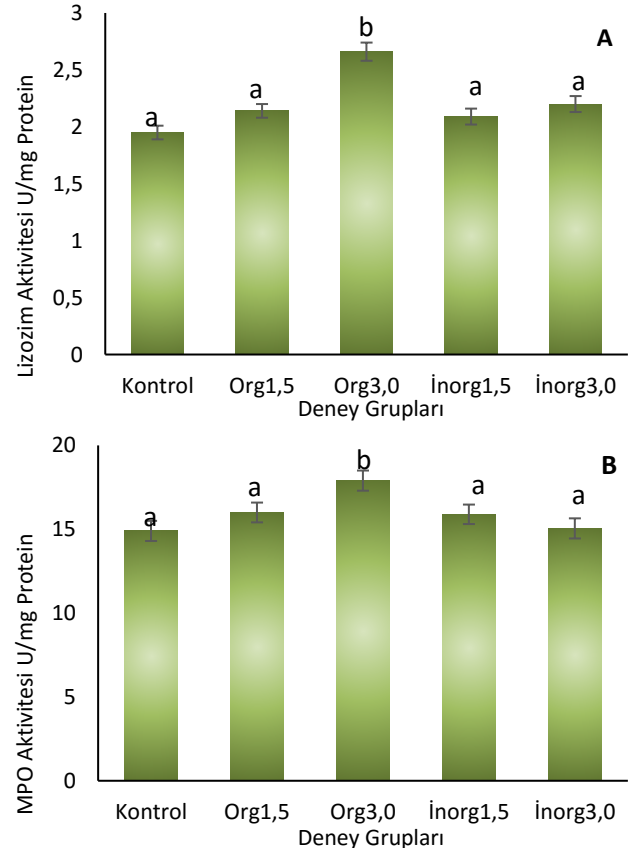
Normal fizyoloji sırasında ROS üretimi ile ROS'un uzaklaştırılması arasında bir denge vardır ve dengenin bozulması, oksidatif strese neden olur. CAT, SOD ve GSH-Px, antioksidan savunma sisteminin önemli enzimleridir (Li ve ark., 2015). SOD, süperoksit radikallerini katalize ederek O<sub>2</sub> ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) üretir. CAT ve GSH-Px, su ve O<sub>2</sub> oluşturmak ve serbest radikalleri kontrol etmek için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi katalize ederler (Li ve ark., 2015). MDA, tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler (TBARS) olarak da bilinir ve lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür. Bu çalışmada Se ilaveli gruplarda, karaciğer CAT ve GSH-Px aktiviteleri kontrole oranla artmış, MDA düzeyi ise önemli oranda azalmıştır. *Carassius auratus gibelio* (Zhou ve ark., 2009), *Rachycentron canadum* L. (Liu ve ark., 2010), *Seriola lalandi* (Le ve ark., 2014) ve *O. mykiss* (Fontagne-Dicharry ve ark., 2015) ile yapılan çalışmalarda, Se katkılı yemlerin antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir. Bir selenoprotein olan GSH-Px'in önemli bir bileşeni olan Se, antioksidan savunma sistemini aktive etmede önemlidir (Pacitti, 2015). Selenoproteinler tüm dokularda reaktif oksijen türlerini (ROS) ve redoks durumunu düzenlemede önemli rol oynarlar (Hoffmann ve Berry, 2008). Selenyumun antioksidan etkilerinin, potansiyel olarak zararlı lipid hidroperoksitleri ve hidrojen peroksiti uzaklaştıran GSH-Px vasıtasıyla aracılık ettiği düşünülmektedir (Arthur ve ark., 2003). Çalışmamızda 3 mg/kg Organik Se ilavesinin, antioksidan sistemin oksidatif strese karşı güçlendirilmesinde daha etkili olduğu bulunmuştur. Organik Se'nin *Cyprinus carpio* (Jovanovic ve diğerleri, 1997) ve *Ictalurus punctatus* (Wang and Lovell, 1997) karaciğer GSH-Px aktivitesini arttırmada inorganik Se'den daha etkili olduğu rapor edilmiştir. Genel olarak, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, Se organik formlarının biyoyararlılığının inorganik formların (sodyum selenit) biyoyararlılığından daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (Rider ve ark., 2010; Pacitti ve ark., 2015). Besinsel Se miktarı ve dolayısıyla Se alım miktarındaki artış, dokulardaki GSH-Px aktivitesini yükseltme eğilimindedir (Rider ve ark., 2009). Lipid peroksidasyonu, doymamış lipidlerin peroksidatif kaybında doğal olaydır ve dolayısıyla lipid bozulması ve membranın bozulması ile sonuçlanır. MDA, dokulardaki oksijen serbest radikalleri tarafından indüklenen lipid oksidasyon reaksiyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerin metabolik ürünlerindedir. MDA içeriği oksidatif stresin değerlendirilmesinde önemli bir indekstir. GSH-Px'in yükselmiş aktivitesi dokuyu peroksidasyondan korur ve doku MDA içeriğini düşük seviyede tutar. Karaciğer dokusunda MDA içeriğinin azalması, GSH-Px aktivitesinde görülen artışa bağlanabilir (Li ve ark., 2015).

Lizozim (muramidaz, EC 3.2.1.17) doğuştan gelen bağışıklık sisteminin en önemli humoral faktörlerinden biridir. Bakteriyel enfeksiyonlara karşı balıkların savunma sisteminde önemli rol oynar (Saurabh ve Sahoo, 2008). Myeloperoksidaz (MPO), nötrofillerde bulunan antibakteriyel bir enzimdir (Castro ve ark., 2008). Se, primer olarak selenoproteinler aracılığıyla etkisini bağışıklık sistemi üzerinde göstermektedir (Arthur ve ark., 2003). Se, ihtiva eden proteinlerden olan GSH-Px'ler nötrofilleri, mikroorganizmaları öldürmek için nötrofiller tarafından üretilen süperoksit türevi bileşiklerden korurlar (Arthur ve

ark., 2003). Se, selenoproteinlere dahil edilmesi yoluyla biyolojik etkiler yapan güçlü bir besleyici antioksidandır. Selenoproteinlerin hemen hemen tüm dokularda reaktif oksijen türlerini (ROS) ve redoks durumunu düzenlemede oynadığı önemli roller göz önüne alındığında, Se'nin bağışıklık sistemindeki enzim aktivitelerini arttırması olasıdır (Hoffmann ve Berry, 2008). Bununla birlikte Se ilavesinin B-lenfositlerinin üretimini iyileştirdiği (Lee ve ark., 2009; Choi ve ark., 2013), bunun ise balıkların lizozim aktivitesinin artışında önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Khan ve ark., 2016; 2017).



Şekil 3 Farklı Se kaynakları ilave edilen yem ile beslenen *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.



Şekil 4 Farklı Se kaynakları ilave edilen yem ile beslenen *O. niloticus*'un karaciğer dokusu LYZ (A), MPO (B) enzim aktiviteleri. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.



Son zamanlarda yetiştiriciliği yapılan türlerin gelişimini hızlandırmak ve ürün kalitesini artırmak için, antibiyotik yerine, doğal ve insan sağlığına zarar vermeyen, alternatif yem katkı materyallerinin kullanımına ilgi artmıştır. Bu ürünlerin, doku ve hayvansal ürünlerde kalıntı bırakmaması, sindirim kanalındaki ekosisteme zarar vermemesi ve bunların yanı sıra performansı artırıcı etkiye sahip olmaları gibi özelliklerinden dolayı farklı türlerin yetiştiricilik alanında kullanımı üzerinde önemle durulmaktadır (Parlat ve ark., 2002).

Yapılan çalışmaların sonuçları, farklı türdeki balıklarda Selenyum kullanımının etkisinin farklı olabileceğini, aynı türün farklı aşamalarında dahi farklı sonuçlar ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Aynı zamanda bu farklılığın nedeninin Selenyumun kaynağına, dozuna ve yetiştiricilik periyodunun süresine bağlı olabileceği de belirtilmiştir. Çalışmamızda 3 mg/kg Organik Se ilavesinin, antioksidan sistemin oksidatif strese karşı güçlendirilmesinde ve immun sistem üzerinde daha etkili olduğu saptanmıştır. Sel-Plex gibi doğal ve organik Se ilavelerinin kullanılmasının, balık sağlığını iyileştirmek anlamında daha uygun olduğu bulunmuştur. Hem hayvan sağlığı alanında hem de verim arttırmaya yönelik uygulamalarda bu tür ürünlerin kullanımıyla ilgili olarak daha çok araştırma yapılarak, etkilerinin belirlenmesi ve kullanım alanlarının yaygınlaşması halinde yetiştiricilik sektörüne büyük katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından desteklenen MEÜ. BAP-FBEY(ŞD)-2011-2-YL no'lu projenin bir bölümüdür.

## Kaynaklar

- Aebi H. 1974. Catalase. In: Bergmayer HU (ed) Methods of enzymatic analysis. Academic Press, NewYork, pp 671-684, Aquaculture 295: 282-291.
- AOAC. 1996. Official Methods of Analyses of the Association of Official Analytical Chemists. Assoc. Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Arthur JR, McKenzie RC, Beckett GJ. 2003. Selenium in the immune system. J Nutr., 133: 1457-1459.
- Bell GJ, Cowey CB. 1989. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocysteine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 81: 61-68.
- Castro R, Piazzon MC, Noya M, Leiro JM, Lamas J. 2008. Isolation and molecular cloning of a fish myeloperoxidase. Mol. Immunol. 45: 428-437.
- Choi YJ, Kim NN, Shin HS, Park MS, Kil GS, Choi CY. 2013. Effects of waterborne selenium exposure on the antioxidant and immunological activity in the goldfish (*Carassius auratus*). Mol. Cell. Toxicol., 9: 365-373.
- Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis., 15: 316-328.
- Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R. 2006. Selenium speciation from food source to metabolites: A critical review. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 385: 1304-1323.
- Ellis AE. 1990. Lysozyme assays. In Techniques in Fish Immunology (ed. By J.S. Stolen, T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Robertson and W.B. van Muiswinkel). SOS Publications, Fair Haven, NJ, USA. 101-103.

- Fontagne-Dicharry S, Godin S, Liu H, Prabhu PAJ, Bouyssiere B, Bueno M, Tacon P, Medale F, Kaushik SJ. 2015. Influence of the forms and levels of dietary selenium on antioxidant status and oxidative stress-related parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Br. J. Nutr., 113: 1876-1887.
- Fotadar R, Munilkumar S. 2016. Effects of organic selenium supplementation on growth, glutathione peroxidase activity and histopathology in juvenile barramundi (*Lates calcarifer* Bloch 1970) fed high lupin meal-based diets. Aquaculture, 457: 15-23.
- Hawkes WC, Alkan Z. 2010. Regulation of redox signaling by selenoproteins. Biol Trace Elem Res., 134: 235-251.
- Hoffmann PR, Berry MJ. 2008. The influence of selenium on immune responses. Mol. Nutr. Food Res., 52: 1273-1280.
- Hunt AO, Berkoz M, Ozkan F, Yalin S, Ercen Z, Erdogan E, Gunduz SG. 2011. Effects of organic selenium on growth, muscle composition, and antioxidant system in rainbow trout. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 63(562): 10 pp.
- Jocely PC. 1970. The enzymic oxidation of glutathione in rat liver homogenates. Biochem J., 117: 947-949.
- Jovanovic A, Grubor-Lajsic G, Djukic N, Gardinovacki G, Matic A, Spasic M, Pritsos CA. 1997. The effect of selenium on antioxidant system in erythrocytes and liver of the carp (*Cyprinus carpio* L.), Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37(5): 443-448.
- Keen CL, Uriu-Adams JY, Emsimsa JL, Gershwin ME. 2004. Trace elements/minerals and immunity M.E. Gershwin, P. Nestel, C.L. Keen, N.J. Totowa (Eds.), Handbook of Nutrition and Immunity, Humana Press. pp. 117-140.
- Keleştemur GT, Özdemir Y. 2011. Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif Stres. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 4(1): 69-73.
- Khan KU, Zuberi A, Nazir S, Ullah I, Jamil Z, Sarwar H. 2017. Synergistic effects of dietary nano selenium and vitamin C on growth, feeding, and physiological parameters of mahseer fish (*Tor putitora*) Aquaculture Reports, 5: 70-75.
- Khan KU, Zuberi A, Nazir S, Fernandes JBK, Jamil Z, Sarwar H. 2016. Effects of dietary selenium nanoparticles on physiological and biochemical aspects of juvenile *Tor putitora*, Turk. J. Zool., 40: 704-712.
- Krueger AJ, Yang JJ, Roy TA, Robbins DJ, Mackerer CR. 1990. An automated myeloperoxidase assay. Clin Chem., 36: 158.
- Lee JH, Kim YC, Park SL, Bai SC. 2009. Evaluation of the optimum dietary selenium (Se) level to improve immune responses in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). J. Korean Fish. Soci., 42: 26-33.
- Le KT, Fotadar R, Partridge G. 2014. Selenium and vitamin E interaction in the nutrition of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*): physiological and immune responses. Aquac Nutr., 20: 303-313.
- Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao LX, Wong CW, Feng YB. 2015. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. Int. J. Mol. Sci., 16, 26087-26124.
- Liu K, Wang XJ, Ai Q, Mai K, Zhang W. 2010. Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. Aquaculture Research, 41: 594-601.
- Lorentzen M, Maage A, Julshamn K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 121: 359-367.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with Folin Phenol reagent. J Biol Chem., 193: 265-275.
- Mahan DC, Cline TR, Richert B. 1999. Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed growing finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. J Anim Sci., 77: 2172-2179.

- Molnar T, Biro, J, Balogh K., Mezes M, Hancz C. 2012. Improving the nutritional value of Nile tilapia fillet by dietary selenium supplementation. Israel J. Aquacult.-Bamidgeh, 64: 6pp.
- Pacitti D, Lawan MM, Sweetman J, Martin SAM, Feldmann J, Secombes CJ. 2015. Selenium supplementation in fish: A combined chemical and biomolecular study to understand Sel-Plex assimilation and impact on selenoproteome expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PLoS One, 10(5): e0127041.
- Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. 2007. From selenium to selenoproteins: Synthesis, identity, and their role in human health. Antioxidants and Redox Signaling, 9: 775-806.
- Rayman MP. 2012. Selenium and human health. The Lancet, 379: 1256-1268.
- Parlat SS, Yıldız AÖ, Yazgan O, Bahtiyarca Y. 2002. Effects of inclusion of prebiotic or antibiotic to the diets containing low protein on fattening performance of japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) S.Ü. Ziraat Fak. Dergisi, 16 (30): 38-42.
- Repetto M, Semprine J, Boveris A. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. In: Lipid peroxidation, (Ed. by Catala, A.). New Delhi, Intech, pp 1-28.
- Rider SA, Davies SJ, Jha AN, Clough R, Sweetman, JW. 2010. Bioavailability of co-supplemented organic and inorganic zinc and selenium sources in a white fishmeal-based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94: 99-110.
- Rider SA, Davies SJ, Jha AN, Fisher AA, Knight J, Sweetman JW. 2009. Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications on selenium status and health responses. Aquaculture, 295: 282-291.
- Saurabh S, Sahoo PH. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system Aquaculture Research, 39: 223-239.
- Sun Y, Oberley LW, Ying L. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem., 34: 497-500.
- Sweetman JW, Torrecillas S, Dimitroglou A, Rider S, Davies SJ, Izquierdo MS. 2010. Enhancing the natural defences and barrier protection of aquaculture species. Aquaculture Research, 41: 345-355.
- Thiry C, Ruttens A, De Temmerman L, Schneider Y, Pussemier L. 2012. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. Food Chem., 130(4): 767-784.
- Wang C, Lovell RT. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 152: 223-234.
- Yagi K. 1998. Simple procedure for specific enzyme of lipid hydroperoxides in serum or plasma. Methods Mol Biol, 108: 107-110.
- Zhou X, Wang Y, Gu Q, Li W. 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquaculture, 291: 78-81.