

## NAKİL İŞLEMİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI, *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM, 1792) YAVRULARININ MALONDIALDEHİT DÜZEYİNE ETKİSİ

Gülizar TUNA KELEŞTEMUR<sup>1</sup>, Ünzile KELEŞTEMUR<sup>2</sup>, Sibel SELÇUK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, 23119- ELAZIĞ. E-mail: gkelestemur@firat.edu.tr  
<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 23119- ELAZIĞ

### ÖZET

Bu çalışmada, gökkuşığı alabalığı yavrularının kan, kas, karaciğer ve böbrek dokularında malondialdehit (MDA) oluşum düzeyleri üzerine nakil işleminin etkisi araştırılmıştır. Keban Alabalık Ltd. Şirketinden temin edilen yavru gökkuşığı alabalıkları (ortalama ağırlığı: 40,5±0,5 g, ortalama total boyu; 15,4±0,13 cm) Devlet Su İşleri 9. Bölge Keban Barajı Su Ürünleri Şube Müdürlüğü Üretim Tesisine nakil edilmiştir. Nakilden hemen sonra (t-0), 6 saat sonra (t-6) ve 12 saat sonra (t-12) balıklardan alınan kan, kas, karaciğer ve böbrek örneklerinin MDA düzeyleri ölçülmüştür. Nakil işlemi uygulanmamış balıklar kontrol grubu olarak belirlenmiştir. t-0 ve t-6 gruplarının kan MDA düzeyleri, kontrol ve t-12 gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Kontrol grubu kas MDA düzeyinin diğer gruplardan önemli oranda düşük olduğu (p<0,05) belirlenmiş ve en yüksek kas MDA düzeyi t-0 ve t-6 gruplarından elde edilmiştir. Karaciğer dokusunda, t-0 ve t-6 gruplarının MDA düzeyinin, kontrol ve t-12 gruplarına göre daha yüksek olduğu (p<0,05) belirlenmiştir. En düşük MDA düzeyi kontrol grubunun böbrek dokusundan elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gökkuşığı alabalığı, malondialdehit (MDA), nakil

## EFFECT OF TRANSPORTATION ON THE MALONDIALDEHYDE LEVELS OF RAINBOW TROUT FRY, *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM, 1792)

### ABSTRACT

In this study, the effect of transportation on the malondialdehyde (MDA) levels in the blood, muscle, liver and kidney of rainbow trout fries were investigated. The rainbow trout fries obtained from Keban Rainbow trout Ltd. (average weight of 40.5±0.5 g and average length of 15.6±0.13 cm) were transported to the Keban Aquaculture Facilities of General Directorate of State Hydraulic Works. MDA level was measured in blood, muscle, liver and kidney sampled at arrival (t-0), 6 h (t-6) and 12 h (t-12) after transportation. As control, MDA level was determined in un-transported fish. Blood MDA levels of the t-0 and t-6 groups were higher (p<0.05) than those of the control and t-12 groups. Muscle MDA level of the control group was lower (p<0.05) than those of the other groups, and the highest MDA level was determined from the t-0 and t-6 groups. Liver MDA levels of the t-0 and t-6 groups were higher (p<0.05) than those of the control and t-12 groups. The lowest kidney MDA was obtained from the control group.

**Keywords:** Rainbow trout, malondialdehyde (MDA), transportation

### 1. GİRİŞ

Yetiştiricilik sistemlerinde stok yoğunluğu, elle yakalama, gürültü, boylama, nakil işlemleri, anestezi uygulamaları, hastalıklar, sudaki ani fiziksel ve kimyasal değişimler gibi olumsuz faktörler balıklarda stres oluşumuna neden olurlar. Stres oluşumu ile artan ve pek çok hastalığın

patogenezinden sorumlu olan ortaklanmamış bir elektron içeren serbest radikaller, membran poliansattüre (çoklu doymamış yağ asidi) yağ asitlerinin oksidatif yıkımına (lipid peroksidasyonu) neden olup karbonhidrat ve nükleik asitleri okside ederek oksidatif stres oluşumuna yol açarlar [1,2]. Bu radikaller organizmanın normal homeostaz sürecinde meydana gelebildiği gibi çeşitli dış etkenlerle de

oluşabilirler [3,4]. Membran poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonun en önemli göstergesidir [5,6]. Malondialdehit gibi sitotoksik aldehyitler hücrede DNA ve proteinler gibi makro moleküllere zarar vererek hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine neden olurlar [7]. Dokularda lipid peroksidasyon oluşumu ve buna bağlı olarak MDA artışı, hücrede membran bütünlüğünün yok olmasına, permabilitenin artmasına, hücrelere kalsiyum ve sodyum gibi elektrolit geçişlerinin hızlanması sonucu ATP kaybına, DNA hasarına ve hücre ölümleri ile sonuçlanan fizyolojik, metabolik ve işlevsel bozukluklara yol açabilmektedir [8]. Nakil uygulamaları sırasında ve sonrasında balıklarda oluşabilecek stres faktörlerinin, hücrelerde metabolik aksaklıklara, oksidatif defans mekanizması gücünün aşılmasına ve lipid peroksidasyona bağlı MDA artışının durdurulamaması sonucu immun sistem başta olmak üzere birçok doku ve organda fonksiyonel bozukluklara neden olarak toplu balık ölümlerine yol açabileceği dikkate alınmalıdır [6].

Bu çalışmada gökkuşluğu alabalığı yavrularının, nakil öncesi (kontrol), nakilden hemen sonra, nakilden 6 saat sonra ve nakilden 12 saat sonra lipid peroksidasyon oluşumunun belirlenmesi amacıyla kan, kas, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan malondialdehit (MDA) düzeylerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Araştırma Yeri ve Balık Materyali

Araştırma, Devlet Su İşleri 9. Bölge Keban Barajı Su Ürünleri Şube Müdürlüğü Üretim Tesisin' de 14.06.2008 tarihinde yürütülmüştür. Ortalama ağırlığı  $40,5 \pm 0,5$  g ve ortalama total boyu  $15,4 \pm 0,13$  cm olan 90 adet gökkuşluğu alabalığı yavrusu Keban Alabalık Ltd. Şirketinden temin edilmiştir.

### 2.2. Nakil İşlemi

Gökkuşluğu alabalığı yavruları, 2000 litre ( $200 \times 100 \times 100$  cm) su kapasiteli bir tank içine konulmuş, kamyonetle yaklaşık 7 km mesafeli nakil işlemine tabi tutulmuştur. Nakil sırasında balıkların ihtiyaç duyduğu oksijen, oksijen tüpü ile sağlanmıştır. Bir gün önceden yemlenmesi kesilen 90 adet balık oksijen tüpü kullanılarak gerekli oksijenin sağlandığı, sıcaklığı  $8,7$  °C ve pH'sı  $8,4$  olan su ile yaklaşık 30 dakika içerisinde taşınarak nakil edilmiştir. Balık nakli sırasında su/saf oksijen oranının en az  $1/4$  olması gerektiği de dikkate alınmış ve diğer stres faktörlerinin (stok yoğunluğu, hareket kısıtlanması, ortam değişimi ve yakalama gibi) en aza indirgenmesi amacıyla su hacmi kapasitesi yüksek tutulmuştur [9]. Araştırmada balık ölümleri olabileceği düşünülerek 90 adet gökkuşluğu alabalığı nakil edilmiş ancak MDA tayini için kontrol, t-0, t-6, t-12 gruplarının her birinden 10'ar adet olmak üzere toplam 40 adet balıktan kan ve doku örnekleri alınmış, geriye kalan 50 adet balık bu araştırmada kullanılmamıştır. Araştırmada nakil işleminden önce, kontrol grubu olarak nakil işlemi uygulanmayan 10 adet balık anestezi edilmiş, tartım ve ölçüm işlemlerinin ardından kan ve doku örnekleri alınmıştır. Nakil işlemi yapılan kamyonetteki su tankından alınır alınmaz t-0 grubunda bulunan balıkların, anestezi edilerek tartım ve ölçüm işlemlerinin yapılmasının ardından kan ve doku örnekleri alınmıştır. Su sıcaklığı  $8,9 \pm 0,6$  °C, çözülmüş oksijen konsantrasyonu  $7,6 \pm 0,4$  mg/l, pH'sı  $8,2 \pm 0,2$  olan baraj suyu verilen, 2 m uzunluğunda, 40 cm genişliğinde, 40 cm derinliğinde olan iki adet tekneye t-6 ve t-12 gruplarındaki balıklar 10'arlık gruplar halinde yerleştirilmiştir (Şekil 1). Nakilden 6 saat sonra t-6 grubunda bulunan 10 adet balık, nakilden 12 saat sonra t-12 grubunda bulunan 10 adet balık anestezi edilmiş, tartım ve ölçüm işlemlerinin yapılmasının hemen ardından kan ve doku örnekleri alınmıştır.



Şekil 1. Araştırmada kullanılan teknelerin görünümü

Balıkların canlı ağırlık tartımı için 0,01 g hassasiyetli dijital terazi, total boyları için 1 mm taksimatlı ölçüm tahtası kullanılmıştır. Araştırmanın yürütüldüğü tesis suyunun sıcaklığı, pH'sı ve oksijen doygunluk miktarları 'YSI' marka oksijen metre kullanılarak belirlenmiştir.

### 2.3. Kan ve Doku örneklerinin Alınması

Balıklar, kuyruk bölgesinden kan alınması sırasında Quinaldin (25 mg/l) ile anestezi edilmiştir. Anestezi sonrası ağırlık ve uzunluk ölçümlerinin yapılmasının ardında balıkların kuyruk kısımları keskin bir bistüri ile tek bir darbeye kesilerek kuyruk venasından akmakta olan kan steril plastik tüplere alınarak (1-1,5 ml) 3500 devir/dak' da 7 dakika santirfüj edilmiştir. Doku örnekleri ise kan alım işleminin tamamlanmasından hemen sonra otopsi yapılarak alınmıştır. Serum ve doku örnekleri, MDA analiz süresine kadar -20°C' de muhafaza edilmiştir [10, 11].

### 2.4. Kanda ve Dokuda Malondialdehit (MDA) Tayini

Derin dondurucudan alınan doku (kas: 0,5 g, böbrek: 0,3 g karaciğer: 0,2 g böbrek) örnekleri çözünme işlemi yapıldıktan sonra homojenizatör ile iyice karıştırılarak homojenize edilmiştir. Doku örnekleri ile çözünme işlemi

yapılan serum örnekleri 0,3 ml'lik tüplere alınarak üzerine 300 ml perklorik asit ve 300 ml saf su ilave edilerek vortex ile karıştırılmıştır. Karışım 3500 devirde 5 dakika santirfüj edilmiştir. Bu çözeltilerden 20 µl alınıp, 30 mmol KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve metanol karışımı olan ve akış hızı 1.5 ml/dk' ya ayarlanan mobil faz HPLC (CECIL 1100 series Cambridge England) cihazına enjekte edilmiştir. Cihaz verileri alınarak sonuçlar tespit edilmiştir [12, 13].

### 2.5. İstatistiksel Analiz

İncelenen parametrelerin ortalama, standart sapma değerleri ve gruplar arası farklılık One Way Anova Testi ile gruplar arası önemlilik dereceleri çoklu karşılaştırmalı Duncan Testi ile SPSS®11.0 paket programı kullanılarak belirlenmiştir.

## 3. BULGULAR

Nakil işlemi uygulanmamış kontrol, nakilden hemen sonra (t-0), nakilden 6 saat sonra (t-6) ve nakilden 12 saat sonra (t-12) araştırma gruplarındaki gökkuşluğu alabalığı yavrularının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularının MDA değerleri Tablo 1' de verilmiştir.

**Tablo 1.** Araştırma gruplarının serum ve kas, karaciğer, böbrek dokularına ait malondialdehit (MDA) değerleri.

Gruplar	Serum (nmol/ml)	Kas (nmol/mg)	Karaciğer (nmol/mg)	Böbrek (nmol/mg)	N
Kontrol	8,7±0,11 <sup>b</sup>	2,46±0,33 <sup>c</sup>	1,65±0,32 <sup>b</sup>	0,22±0,14 <sup>b</sup>	10
t-0	11,1±0,24 <sup>a</sup>	5,73±0,52 <sup>a</sup>	4,12±0,56 <sup>a</sup>	3,48±0,28 <sup>a</sup>	10
t-6	10,8±0,13 <sup>a</sup>	6,26±0,37 <sup>a</sup>	4,07±0,21 <sup>a</sup>	3,36±0,34 <sup>a</sup>	10
t-12	9,2±0,34 <sup>b</sup>	4,57±0,11 <sup>b</sup>	2,13±0,35 <sup>b</sup>	2,95±0,17 <sup>a</sup>	10
p	*	*	*	*	-

<sup>a-b</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur.

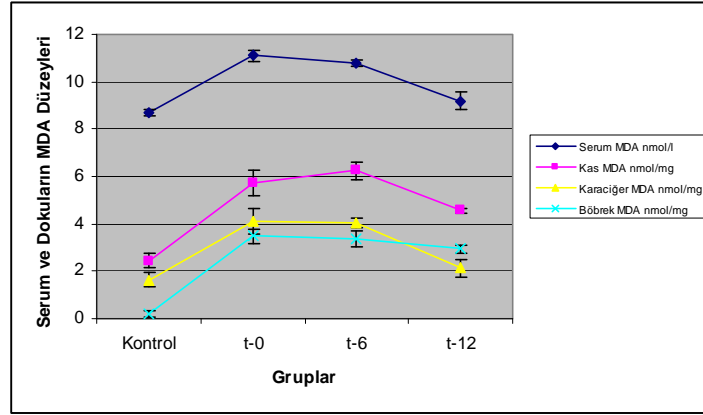
\*: p<0,05. N: Araştırma gruplarında kullanılan balık sayısı

Tablo 1 incelendiğinde; nakil uygulanmamış (K), nakilden hemen sonra (t-0), nakilden 6 saat sonra (t-6) ve 12 saat (t-12) sonra balıkların MDA seviyelerinin sırasıyla; 8,7±0,11, 11,1±0,24, 10,8±0,13, 9,2±0,34 nmol/ml olduğu tespit edildi. Malondialdehit düzeylerinin, t-0 ve t-6 gruplarında, kontrol ve t-12 gruplarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Balıkların kas MDA düzeylerinin, t-0 ve t-6 gruplarında sırasıyla 5,73±0,52 ve 6,26±0,37 nmol/mg değerlerine ulaştığı, kontrol ve t-12 gruplarında bu değerlerin sırasıyla; 2,46±0,33 ve 4,57±0,11 nmol/mg değerlerinde olduğu belirlenmiştir. Kas MDA seviyesinin t-0 ve t-6 gruplarında diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli oranda yüksek

olduğu (p>0,05) belirlenmiştir. Karaciğer dokusunda t-0 ve t-6 gruplarında MDA seviyelerinin artarak sırasıyla; 4,12±0,56 ve 4,07±0,21 nmol/mg değerlerine ulaştığı, t-12 grubunda (2,13±0,35 nmol/mg) azalarak kontrol grubu (1,65±0,32 nmol/mg) seviyesine yaklaştığı gözlenmiştir. Karaciğer MDA değerlerinin, t-0 ve t-6 grupları ile kontrol ve t-12 grupları arasındaki farkın p<0,05 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Balıkların böbrek MDA düzeylerinin t-0, t-6 ve t-12 gruplarında (sırasıyla; 3,48±0,28, 3,36±0,34, 2,95±0,17 nmol/mg) kontrol grubuna göre (0,22±0,14 nmol/mg) istatistiksel olarak önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

Nakil işlemi uygulanmamış kontrol grubu, nakil işleminden hemen sonra t-0 grubu ve nakil işlemi takiben 6 saat sonunda t-6 grubu ve nakil işlemi takiben 12 saat sonunda

t-12 gruplarındaki balıkların serum ve kas, karaciğer, böbrek dokularındaki MDA değerlerine ait sonuçlar Şekil 2' deki grafikte verilmiştir.



Şekil 2. Araştırma gruplarının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularına ait malondialdehit (MDA) değerleri.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, nakil uygulanmamış balıkların nakilden hemen sonra (t-0), nakilden 6 saat sonra (t-6) kan, ve kas, karaciğer, böbrek dokularına ait MDA değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve nakilden 12 saat sonra balıkların MDA seviyelerinin serum ve karaciğerde kontrol grubu değerlerine döndüğü, ancak böbrek ve kas dokusunda kontrol değerlerinden önemli ( $p<0,05$ ) düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Olsen ve ark. [14], gökkuşuğu alabalıklarına yakalama ile stres oluşturarak yaptıkları bir çalışmada, balıkların serum MDA düzeylerinin stres başladığı anda  $10,2\pm 0,42$  nmol/ml olduğu, 4 saat sonra  $11,3\pm 0,71$  mmol/ml değerine ulaştığı, 48 saat sonra ise düşerek  $9,03\pm 0,64$  nmol/ml değerine döndüğünü tespit etmişlerdir. Olsen ve ark. [14], gökkuşuğu alabalıklarına açlık stresi uygulayarak yaptıkları bir çalışmada, 0, 4 ve 48. saatler sonunda kan MDA düzeylerini 11-12 nmol/ml olduğunu, kontrol grubunun kan MDA düzeylerinin ise aynı saatler sonunda bu değerlerden daha düşük seviyelerde (9-10 nmol/ml) olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar bağırsak MDA düzeylerinin 0. ve 4. saatler sonunda kontrol grubunun MDA düzeyinin, açlık stresi oluşturulan grubun kan MDA düzeyine göre daha yüksek olduğunu ancak 48. saat sonunda stres oluşturulan grubun kan MDA düzeyinin kontrol grubuna göre önemli oranda artmış olduğunu saptamışlardır. Olsen ve ark., [14] elde ettiği stres oluşumu ile kan MDA değerindeki artışın, bu çalışmada nakil işlemi ile oluşan stres sonucu kan ve bazı dokulardaki MDA değerlerindeki artışa paralel olduğu görülmektedir.

Ritola ve ark. [7], strese maruz kalan alabalıklara ozonlama uygulayarak serum MDA değerinin, stresin başladığı anda ve 6 saat sonraki süre sonunda sırasıyla,  $8,2\pm 1,4$  nmol/l ve  $12,4\pm 2,2$  nmol/l olduğunu, kontrol grubunda ise bu değer  $7,9$  nmol/l olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise nakilden sonra (t-0) serum MDA değerinin diğer gruplara göre artmış olduğunu ve Ritola ve ark. [7] stres başladığı anda belirledikleri MDA değerinden daha yüksek olduğunu tespit edilmiştir. Bunun sebebinin, araştırmacıların uyguladıkları ozonlamanın, kan hücrelerinin oksijen taşıma kapasitesini artırması ve dolayısıyla serbest radikal ve çeşitli toksin birikimlerini giderici özelliklerinin olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Morales ve ark. [15], signarite (*Dentex dentex*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, karaciğer MDA düzeyinin kontrol grubunda 5-4 nmol/ml değer aralığı içerisinde olduğunu ancak açlık stresi oluşturulan grupta bu değer artarak 15 nmol/ml seviyesine yükseldiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacıların balıklarda meydana getirdikleri stres unsuru ile karaciğerde oluşan MDA değerindeki artışın, bu çalışmada nakil işlemi ile oluşturulan stres sonucunda kanda ve dokularda elde edilen MDA değerindeki artışın uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada nakil işlemi ile gökkuşuğu alabalığı yavrularında strese bağlı serum MDA düzeyinin artmasıyla kan ve dokularda lipid peroksidasyon oluşumunun başladığı tespit edilmiştir. Nakil işlemi, yavru gökkuşuğu alabalığının sofralık büyüklüğe gelene kadar büyüme evrelerini, yem alımını, ürünün kalitesini, hastalık ve enfeksiyonlara dayanımını etkilediği göz önünde bulundurularak oluşacak stresin önlenmesi amacıyla gerekli

tedbirlerin alınması gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği için oldukça önemlidir. Nakil işlemi bittiği anda, serum MDA değerinin yüksek olduğu ve nakil işleminden 6 saat sonra MDA değerinin düşmediği, ancak nakilden 12 saat sonra düşerek kontrol grubu değerine yaklaştığı belirlenmiştir. Çalışmada, nakilden sonra, 24 saat, 30 saat ve 48 saat gibi devam eden süreler sonunda MDA değerlerinin takip edilmesi halinde, stres ile artan MDA değerinin tamamen kontrol değerine dönerek kısa mesafeli nakil işlemi ile oluşan stres unsurunun ortadan kalkmış olacağı düşünülmektedir.

### KAYNAKLAR

- [1] Conta F.S., Stress and the welfare of cultured fish. applied Animal, Behaviour Science, 86, 205-223, 2004.
- [2] Prunet P., Cairns T.M., Winberg S., Potinger G.T., Functional genomics of stress responses, Fisheries Science, 16, 157-166, 2008.
- [3] Wang J., Yuan X., Jin Z., Tian Y., Song H., Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract, Food Chemistry, 27, 88-95, 2007.
- [4] Bray T.M., Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress, Nutrition, 16, 7/8, 578-581, 2000.
- [5] Iwama K. G., Stress in fish, Fish Biology Fisheries, 8(1), 35-56, 2004.
- [6] Moraes G., Metabolic responses in adaptation to stress in fish, International Congress on the Biology of Fish, Brazil, 47, 2004.
- [7] Ritola O., Peters L.D., Livingstone D.R., Seppa P.L., Effects of in vitro exposure to ozone and hyperoxia on superoxide dismutase, catalase, glutathione and lipid peroxidation in red blood cells and plasma, Aquaculture Research, 33, 165-175, 2002.
- [8] Tarin J.J., Brings J., Cano A., Serbest radikalleri antioksidanlar ve infertilite ile klinik ilişkiler, Human Reproduction, 13(9), 2371-2376, 1998.
- [9] Lim L.C., Dhert F., Sorgeloos P., Recent development and improvements in ornamental fish packaging systems for air transport, Aquaculture Research, 34: 923-935, 2003.
- [10] Atamanalp M., Bayır A., Bir dezenfektanın (malahit yeşili) subletal dozlarının gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkileri, Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 23(3), 177-187, 2003.
- [11] Karaarslan G, Kabak T, Çakır B, Kubilay A, Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın iç organ, kan serumu ve döllenmiş yumurtalarında lizozim aktivitesi, <http://www.akuademi.net./USG/UA-SG2007/B/603.pdf>.
- [12] Karataş F, Karatepe M, Baysar A., Determination of free malondialdehyde in human serum high performance liquid chromatography, Anal Biochemistry, 3(11), 76-79, 2002.
- [13] Karatepe, M., Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV, LC-GC North America, 22 (4), 362-365, 2004.
- [14] Olsen R.O., Sundell T.K., Mayhew T.M., Myklebusta R., Ringo E.A., Acute stress intestinal function of rainbow trout, Aquaculture, 250, 480-495, 2005.
- [15] Morales E.A, Jimenez A, Hidalgo C.M, Abellan E, Cardenete G., Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver, Comparative Biochemistry and Physiology. 139, 153-161, 2004.