

Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Yavrularının Kan Vitamin C ve Malondialdehit Düzeylerine Karanlık Periyodun Etkisi

Gülüzar TUNA KELEŞTEMUR^{1,*}, Işıl YILDIRIM²

¹Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, 23119- ELAZI

²Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 23119- ELAZIĞ

Özet

Bu çalışmada, gökkuşığı alabalığı yavrularının kan vitamin C ve malondialdehit (MDA) düzeyine karanlık periyodun etkisi araştırıldı. Bir hafta süreyle karanlık periyot uygulanan araştırma grubu ile doğal fotoperiyot uygulanan kontrol grubunun kan serumdaki vitamin C ve MDA düzeyleri belirlenerek istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Çalışmanın sonucu olarak, grupların kan serumu vitamin C düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$), ancak karanlık periyot uygulanan grubun, kan serum MDA düzeylerinin doğal periyot uygulanan kontrol grubu kan serum MDA düzeylerine göre istatistiksel olarak önemli oranda arttığı ($p<0,05$) belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı alabalığı, karanlık periyot, kan, malondialdehit (MDA), vitamin C

Effect of Dark Period on the Blood Vitamin C and Malondialdehyde Levels of the Juvenil Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792)

Abstract

In this study, the blood of juvenil rainbow trout of vitamin C and malondialdehyde (MDA) levels were investigated in the period of darkness. With a week to apply for the dark period of the apply for investigated group and the natural period control group in blood serum levels of vitamin C and MDA were determined and compared statistically. Of the study as a result, groups of serum vitamin C levels, the difference between a statistically not significant ($p>0.05$) but a week long period of darkness, serum MDA

* Gülüzar TUNA KELEŞTEMUR, gkelestemur@firat.edu.tr

levels than the control group statistically significant increased ($p<0.05$) were determined.

Keywords: Rainbow trout, dark period, blood, malondialdehyde, vitamin C

1. Giriş

Birçok hayvansal organizmada olduğu gibi, balıklarda da fotoperiyodun algılanması, ışığın çeşitli reseptörler aracılığıyla alınıp beyine iletilmesiyle olmaktadır. Işığın, balıklarda ön beyinin talamus bölgesinde yer alan ve bol kan damarına sahip epifiz bezi ile gözüün retina tabakasının üzerinde bulunan fotoreseptör hücreleri aracılığıyla algılandığı belirlenmiştir [1]. Işığa ait bilgilerin algılanması, bazı biyolojik ve endokrinolojik aktivitelere yön vermektedir. Biyolojik döngüsel değişimler ile fizyolojik aktiviteler, fotoperiyot ile içsel biyolojik saate bağlı olarak değişim gösterir. Fotoperiyot, canlının yem alması, yemden yararlanması, yumurtlaması, nöral, endokrin, gonadal, uyarımlar gibi canlının tüm metabolizmal faaliyetleri için önemlidir. Doğal fotoperiyot, enlem, gün, ay ve mevsime bağlı olarak düzenli değişim gösterip canlının çevreye adaptasyonu sağlayarak homeostazisi düzenler. Ancak doğal fotoperiyot düzeninin bozulması tüm canlılarda olduğu gibi balıklarda da, stres oluşturarak çeşitli metabolizmal aksaklıklara neden olup homeostazisin bozulmasına ve tekrar kurulamaması ölümlerle sonuçlanabilmektedir [2,3]. Stres oluşumu ile artan pek çok hastalığın patogenezinin sorumlu olan ve ortaklanmamış bir elektron içeren serbest radikaller, dokulara saldırarak fonkiyonlarının aksamasına ve hatta durmasına neden olurlar [4,5]. Serbest radikaller, membran poliansatüre (çoklu doymamış yağ asidi) yağ asitlerinin oksidatif yıkımına (lipit peroksidasyonu) neden olup, karbonhidrat ve nükleik asitleri okside ederek oksidatif stres oluşumuna yol açarlar [6].

Malondialdehit (MDA), hücre zarının yapısında bulunan çoklu poliansature yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan lipit peroksidasyonun en önemli göstergesidir [7,8]. Malondialdehit gibi sitotoksik aldehitler hücrede DNA ve proteinler gibi makro moleküllere zarar vererek hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine [9], hücrede membran bütünlüğünün yok olmasına ve permabilitenin artmasına neden olmaktadır [10,11]. Antioksidan özelliğe sahip bazı vitaminler, serbest radikallerin hasarlarından hücreleri koruyarak ve serbest radikal oluşumlarını önleyerek antioksidan savunmada önemli görevler alırlar. En önemli antioksidan vitaminler E, A ve C (askorbik asit) vitaminleridir. Askorbik asit olarak da isimlendirilen C vitamini, adrenal hormonların karaciğerde yıkılmalarını önleyerek bu hormonların etkilerinde devamlı olmalarını sağlar. Adrenaller de, C vitamininin artması kortikosteroidlerin sentez ve salınımını önlemekle beraber, kandaki C vitamini artışı immün sistemini kortikosteroidlerin baskısından koruyarak strese adaptasyonun sağlanmasında önemli rol oynamaktadır [6].

Bu çalışmada, gökkuşuğu alabalığı yavrularına 1 hafta karanlık periyot ve doğal fotoperiyot uygulamasının, kan vitamin C ve MDA düzeylerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Deneysel çalışmalar

2.1. Araştırma yeri ve balık materyali

Araştırmada, ortalama ağırlığı $34,7 \pm 1,2$ g ve ortalama uzunluğu $14,7 \pm 0,17$ cm olan toplam 14 adet gökkuşacağı alabalığı kullanıldı. Araştırma, Devlet Su İşleri 9. Bölge Keban Barajı Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nün kuluçkahane binasında yürütüldü. Balıklar, 2 m uzunluğunda, 40 cm genişliğinde ve 40 cm derinliğinde olan 4 adet tekneye 5'erli gruplar halinde yerleştirildi. Doğal fotoperiyot uygulanan 2 adet teknede kontrol grubu (K) ile üzeri ışık geçirmeyecek şekilde straforla kapatılarak 1 hafta süreyle karanlık periyot uygulaması yapılan 2 adet deneme (D) grubu oluşturuldu. Balıklar bir hafta boyunca, Pınar Yem Sanayi ve Pazarlama A.Ş. tarafından üretilen % 47 protein ve % 8 yağ içerikli alabalık yemi ile ağırlıklarının % 3'ü oranında sabah, öğlen ve akşam olmak üzere günde 3 öğün beslendi. Balıkların konulduğu teknelerdeki suyun pH'ı sı portatif Checker Marka pH metre ile, suyun çözünmüş oksijen miktarları ve sıcaklığı ise portatif YSI 55 Model 51/12 oksijen metre kullanılarak belirlendi. Balıkların canlı ağırlık tartımı için 0,01 g hassasiyetli dijital terazi, total boyları için 1 mm taksimatlı ölçüm tahtası kullanıldı. Bir hafta süreyle karanlık periyot uygulanan grup ile doğal fotoperiyot uygulanan kontrol grubunun kan serumdaki vitamin C ve MDA düzeyleri belirlenerek istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

2.2. Kan örneklerinin alınması

Her iki gruptan 7 adet balık olmak üzere toplam 14 adet balık kuyruk bölgesinden kan alınması sırasında Quinaldin (18 mg/l) ile anestezi edildi. Anestezi sonrası balıkların kuyruk kısımları keskin bir bistüri ile tek bir darbeye kesilerek kuyruk venasından akmakta olan kan (1-1,5) steril plastik tüplere alınıp 3500 devir/dak' da 5 dakika santirfuj edilerek serumları ayrıldı. Serumların MDA düzeylerinin belirlenmesi için alınan serumlar analiz süresine kadar -20°C ' de saklandı [12].

2.3. Serumda malondialdehit (MDA) ve vitamin C tayini

Derin dondurucudan alınana serum örnekleri çözünme işlemi yapıldıktan sonra 0,3 ml serum örmeği üzerine 300 ml perklorik asit ve 300 ml saf su ilave edilerek vortex ile karıştırıldı. Karışım 3500 devirde 5 dakika santirfuj edildi. Bu çözeltiden 20 µl alınıp, 30 mmol KH_2PO_4 ve metanol karışımı olan ve akış hızı 1.5 ml/dk' ya ayarlanan mobil faz HPLC (CECIL 1100 series Cambridge England) cihazına enjekte edildi. Cihaz verileri alınarak sonuçlar tespit edildi [13].

2.5. İstatistiksel analiz

İncelenen parametrelere ait verilerin ortalama ve standart sapmaları, SPSS®11.0 paket programı kullanılarak hesaplandı. Gruplar arası farklılığın tespit edilmesi amacıyla One Way Anova Testi, gruplar arası önemlilik derecelerinin belirlenmesi amacıyla çoklu karşılaştırmalı Duncan Testi uygulandı.

3. Bulgular

Kontrol (K) ve karanlık periyot (KP) uygulanan gruplarındaki gökkuşacağı alabalığı yavrularının serum vitamin C ve MDA değerleri Tablo 1' de verildi.

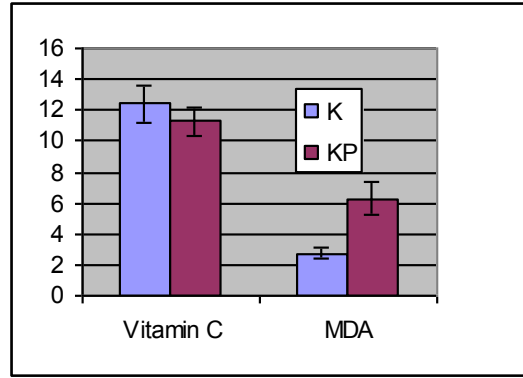
Tablo 1. Araştırma gruplarının serum vitamin C ve malondialdehit (MDA) değerleri.

Parametreler	K	KP	p
Vitamin C mg/l	12,43±1,23	11,26±0,91	-
MDA nmol/ml	2,74±0,34 ^b	6,26±1,08 ^a	*

^{a-b} Farklı harflerle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur. *: p<0,05

Tablo 1 incelendiğinde; K grubunun serum vitamin C ve MDA değerleri sırasıyla; 12,43±1,23 mg/l; 2,74±0,34 nmol/ml, KP grubunun serum vitamin C ve MDA değerleri sırasıyla; 11,26±0,9 mg/l; 6,26±1,08 nmol/ml olduğu tespit edildi. Grupların serum vitamin C değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı (p>0,05), KP grubundaki balıkların serum MDA değerlerinin, K grubu serum MDA değerlerine göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olduğu belirlendi (p<0,05).

Kontrol ve karanlık periyot uygulanan grupların vitamin C ve MDA değerleri Şekil 1'deki grafikte görülmektedir.



Şekil 1. Kontrol (K) ve karanlık periyot (KP) uygulanan balıkların vitamin C ve MDA değerleri.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, doğal periyot uygulanan (kontrol grubu) grubun serum vitamin C değerleri; 12,43±1,23 mg/l olduğu, karanlık periyot uygulaması ile stres oluşturulan (KP) grubun kan serumu vitamin C değerinin ise 11,26±0,9 mg/l olduğu tespit edildi. Doğal periyot uygulanan grubun kan serum MDA değerlerinin 2,74±0,34 nmol/ml olduğu, ancak karanlık periyot uygulanan grubun kan serumu MDA değerlerinin artarak 6,23±1,08 değerine ulaştığı belirlendi. [14], gökkuşuğu alabalıklarına yakalama ile stres oluşturarak yapılan bir çalışmada balıkların serum MDA düzeylerinin stresten önce 10,2±0,42 nmol/ml olduğunu, 4 saat sonra 11,3±0,71 mmol/ml değerine ulaştığını tespit edilmiştir. Strese maruz kalan alabalıklara ozonlama uygulamasından sonra ve 6 saat süre sonunda serum MDA değerini sırasıyla, 8,2±1,4 nmol/l ve 12,4±2,2 nmol/l olduğunu, stres uygulanmamış kontrol grubunda bu değeri 7,9 nmol/l olarak tespit edilmiştir [9]. Bu çalışmada elde edilen MDA artışına ait sonuçların, araştırmacıların stres sonucu elde ettikleri MDA değerlerine ait sonuçlarla uyumlu olduğu gözlemlendi.

C vitamini balıkların büyüme gelişme yara iyileşmesi, üreme dahil olmak üzere birçok fizyolojik fonksiyonda ve organizmada antioksidan sistemde önemli rol oynar [15]. Özellikle yetiştiricilik koşullarında balıklar için kaçınılmaz olan stres faktörlerine karşı yemlere katılarak immun sistemi oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı balığı koruyup güçlendiren önemli bir antioksidan vitamindir. C vitamininin doku ve organlardaki birikimleri yemlere katılma düzeylerine bağlı olarak değişim göstermektedir. Yapılan çeşitli araştırmalarla, üreme dönemi, mevsim değişimleri, büyüme evreleri, stres gibi durumlara bağlı olarak balıklarda C vitamin ihtiyacının değişim gösterdiği belirlenmiştir [16]. Bu araştırmada gökkuşacağı alabalığı yavrularına 1 hafta karanlık periyot uygulamasının kan C vitamin düzeyini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilemediği ancak karanlık periyot uygulamasının, matematiksel olarak kontrol grubu vitamin C düzeyine göre daha düşük olduğu belirlendi (K grubu değerleri; $12,43 \pm 1,23$ mg/l; KP grubu değeri; $11,26 \pm 0,9$ mg/l).

Gökkuşacağı alabalığı yavrularında, karanlık periyot ile oluşan stres faktörünün etkisiyle, hücrelerde meydana gelebilecek metabolik bozukluklar sonucunda oluşan lipid peroksidasyona bağlı MDA artışının durdurulamaması sonucu, balığın immun sistemi başta olmak üzere birçok doku ve organda fonksiyonel bozukluklar oluşarak ölümler meydana gelebilmektedir. Bu çalışmada bir hafta süren karanlık periyot uygulaması ile gökkuşacağı alabalığı yavrularının strese bağlı olarak kan serum MDA düzeyinin, doğal fotoperiyot uygulanan balıkların kan serum MDA düzeylerine göre önemli düzeyde artmış olması, kanda lipit peroksidasyon oluşumunun başladığını göstermektedir. Balıklarda karanlık periyodun oluşturduğu strese bağlı olarak kanda MDA artışı aynı zamanda diğer doku ve organlarda MDA artışının da kaçınılmaz olduğunun bir göstergesidir. Bu durumun yavru gökkuşacağı alabalığının sofralık büyüklüğe gelene kadar büyüme evrelerini, yem alımını, hastalık ve enfeksiyonlara dayanımını olumsuz olarak etkileyip ürün kalitesini bozduğu dikkate alınarak yeterli aydınlatma sağlanması için gerekli tedbirler alınmalıdır. Ayrıca, balıkların vitamin C değerlerinin 1 hafta karanlık periyot uygulaması ile önemli oranda değişmediği ancak uygulamanın 3, 4, 5 hafta gibi daha uzun süreli devam ettirilmesi halinde kan vitamin C düzeyinin kontrol grubuna göre önemli oranda azalabileceği kanaatine varıldı. Çalışmanın bu konu ile ilgili yapılacak olan daha ayrıntılı çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- [1].Cerqueira, R.V., Chatain, B., Lavens, P., Jaspers, E. and Ollevier, F., Photoperiodic effects on the growth and feeding rhythm of European seabass, *Dicentrarchus labrax*, larvae in intensive rearing, **Aquaculture Soc.**, 15:304–306. (1999)
- [2].Fuchs, J., Influence de la photoperiode sur la croissance et la survie de la larve et du juvenile de sole (*Solea solea*) en elevage. **Aquaculture**, 15: 63-74, (1978).
- [3].Boeuf G., and Bail P. Y., Does light have an influence on fish growth? **Aquaculture**, 177: 129-152, (1999).
- [4].Conte, F.S., Stress and the welfare of cultured fish, **Applied Animal Behaviour Science**, 86: 205-223, (2004).
- [5].Wang, J., Yuan, X., Jin, Z., Tian, Y. and Song, H., Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract, **Food Chemistry**, 27: 88-95, (2007).
- [6].Bray, T.M., Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. **Nutrition**, 16-7/8: 578-581, (2000).

- [7].Iwama, K. G., Stress in fish, **Fish Biol. Fisheries**, 8-1: 35-56, (2004).
- [8].Moraes G., Metabolical responses in adaptation to stress in fish, **International Congress on the Biology of Fish**, Brazil, 47, (2004).
- [9].Ritola, O. and Peters, L.D., Livingstone, D.R., Seppa, P.L., Effects of in vitro exposure to ozone and and hyperoxia on superoxide dismutaze, catalase, glutathione and lipid peroxidation in red blood cells and plasma, **Aquaculture Research**, 33: 165-175, (2002).
- [10]. Tarin, J.J., Brings, J. and Cano, A., Serbest radikalleri antioksidanlar ve infertilite ile klinik ilişkiler, **Hum. Reprod.**, 13(9): 2371-2376, (1998).
- [11]. Prunet, P., Cairns, T.M., Winberg S. and Potinger G.T., Functional genomies of stress responses, **Fisheries Science**, 16(S1): 157-166, (2008).
- [12]. Atamanalp, M. ve Bayır, A., Bir dezenfektanın (malahit yeşili) subletal dozlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkileri, **Gazi Ü. Eğitim Fak. Derg.**, 23-3: 177-187, (2003).
- [13]. Karataş F, Karatepe M ve Baysar A., Determination of free malondialdehyde in human serum high performance liquid chromatography, **Anal. Biochem**; 311:76-79, (2002).
- [14]. Olsen, R.O., Sundell, T.K., Mayhew, T.M., Myklebusta, R. and Ringo,E.A., Acut stres intestinal function of rainbow trout, **Aquaculture**, 250: 480-495, (2005).
- [15]. Lygren, B., Hamre K. and Waagbø R., Effects of dietary pro- and antioxidants on some protective mechanisms and health parameters in Atlantic salmon, **Journal of Aquatic Animal Health**, 11: 211-221, (1999).
- [16]. Verlhac, V. and Gabaudan J. Influence of vitamin C on the immune system of salmonids, **Aquaculture and Fisheries Management**, 25; 21-36, (1994).