



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2012; 26 (2): 61 - 64
http://www.fusabil.org

Gökkuşacağı Alabalığı Yavrularının (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) Diyetlerine Katılan β -Karotenin Doku MDA Düzeyine Etkisi

Gülüzar TUNA KELEŞTEMUR

Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Yetiştiricilik Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışmada, gökkuşacağı alabalığı yavrularının rasyonlarına beta-karoten (β -karoten) katkısının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularında malondialdehit (MDA) oluşum düzeylerine olan etkisi incelendi. Bu amaçla; 0, 30 ve 70 mg/kg β -karoten katkılı rasyonlar hazırlanarak sırasıyla; kontrol, β_{30} ve β_{70} grupları oluşturuldu. Elde edilen analiz sonuçlarına göre β -karoten katkılı rasyonlarla beslenen grupların serum ve kas dokularına ait MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük ($P<0.05$) olduğu, grupların karaciğer ve böbrek dokularına ait MDA düzeyleri arasındaki farkın ise istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşacağı alabalığı, beta-karoten, malondialdehit.

Effects of Dietary Supplementation of β -Carotene on Tissue MDA Level of Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792)

In this study, the effect of beta-carotene (β -carotene) supplement to diets of rainbow trout fry on the levels of *malondialdehyde* (MDA) formation in the serum, muscle, liver and kidney tissues was examined. For this purpose; the control, β_{30} and β_{70} groups were formed by preparing the diets with β -carotene 0, 30 and 70 mg/kg. According to the results obtained from analysis, it was determined that the MDA level in serum and muscle tissue of the groups fed diets with β -carotene were significantly ($P<0.05$) lower than the control group, and the difference between MDA levels of liver and kidney tissues of the groups were not statistically significant.

Key Words: Rainbow trout, beta-carotene, malondialdehyde.

Giriş

Karotenoidler, alabalıklarda büyüme, gelişme, yem alımı, sperm aktifliği, döllenmiş yumurta oranının artması, yavruların yoğun ışık ve düşük oksijenden kaynaklanan stres unsurlarına karşı korunması, embriyonik gelişim boyunca görünen ölümlerin azalması, provitamin A₁ ve A₂'nin balık vücudunda vitamin A'ya dönüştürülmesi gibi önemli fizyolojik görevlerde rol alırlar (1, 2). Balıklarda karotenoid sentezi yapılmamakla beraber, et, deri ve organlardaki karotenoid düzeyi yem ile alınan karotenoid kaynağının bağırsakdaki emilimine ve emilimi etkileyen faktörlere göre (metabolik faaliyetler, boşaltım oranı gibi) değişim gösterir (3, 4). Açık sarı-turuncu renklere sahip, önemli bir karotenoid olan β -karoten, A vitamininin öncül maddesidir (5, 6). Aynı zamanda bir antioksidan olan β -karoten, oksijenin düşük parsiyel basınçlarında serbest peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasında rol oynar (6).

Balık yetiştiriciliğinde olumsuz çevre şartları, stok yoğunluğu, elle yakalama, gürültü, boylama, nakil işlemleri, anestezi uygulamalar, sudaki ani fiziksel ve kimyasal değişimler, hastalıklar gibi faktörler stres oluşumuna neden olarak hücrelerde serbest radikal üretimini artırırlar (7, 8). Serbest radikaller, membran poliansatüre (çoklu doymamış) yağ asitlerinin oksidatif yıkımına (lipit peroksidasyonuna) neden olup, karbonhidrat ve nükleik asitleri deoksidasyona uğratarak oksidatif strese yol açarlar (9, 10). Malondialdehit, hücre zarının yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan lipit peroksidasyonun en önemli göstergesidir. Malondialdehit gibi sitotoksik aldehitler hücrede DNA ve proteinler gibi makro moleküllere zarar vererek hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine (11), hücrede membran bütünlüğünün yok olmasına ve permabilitenin artmasına neden olurlar (9, 12). Antioksidan özelliğe sahip bazı vitaminler (A, E, C vitaminleri, karotenoidler, flavanoidler gibi), serbest radikallerin hasarlarından hücreleri koruyup serbest radikal oluşumunu baskılayarak antioksidan savunmada önemli görevler alırlar (13, 14).

Bu çalışmada, gökkuşacağı alabalığı yavrularının rasyonlarına β -karoten katkısının dokularda lipit peroksidasyon oluşumu üzerine etkisini belirlemek amacıyla serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularının MDA düzeyleri incelenmiştir.

Geliş Tarihi : 09.12.2011

Kabul Tarihi : 02.02.2012

Yazışma Adresi Correspondence

Gülüzar TUNA
KELEŞTEMUR

Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Yetiştiricilik Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

gkelestemur@firat.edu.tr

Gereç ve Yöntem

Araştırma Yeri ve Balık Materyali: Çalışmada, 40.17±1.13 g ağırlığında ve 14.55±0.78 cm uzunluğunda toplam 63 adet gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanıldı. Araştırma, Devlet Su İşleri 9. Bölge Keban Barajı Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nün kuluçkahane binasında yürütüldü. Araştırmada her grup için 3 tekerrürlü olacak şekilde balıklar, 2 m uzunluğunda, 40 cm genişliğinde ve 40 cm derinliğinde olan 9 adet tekneye yedişerli gruplar halinde yerleştirildi. Araştırmada, sıcaklığı 8.9 °C, pH düzeyi 8.4 ve çözünmüş oksijen konsantrasyonu 7.4 mg/L olan baraj suyu kullanıldı. Balıkların konulduğu teknelerdeki suyun pH'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.

Yem Materyali: Araştırmada, β-karoten katkısız kontrol (K) (Tablo 1), 30 mg/kg β-karoten katkılı β₃₀, ve 70 mg/kg β-karoten katkılı β₇₀ grupları oluşturuldu (Rovimix β-Karoten, %10, DSM, Türkiye).

Balıklar 4 hafta boyunca vücut ağırlıklarının % 3'ü oranında sabah, öğlen ve akşam yemlendi (15).

Tablo 1. Kontrol rasyonunun yapısına giren yem madde bileşimi (%).

Yem Maddeleri	%
Balık Unu	50
Soya Küspesi	23.1
Buğday Unu	19.8
Ayçiçeği Yağı	6
Antioksidan ^a	0.10
Vitamin Karması ^b	0.90
Mineral Karması ^c	0.10

(a) **Butilen Hydroxytoluene (BHT);** 125.000 mg/kg

(b) **Vitamin Karması;** Menadion 3.000 mg/kg, Riboflavin 6.000 mg/kg, Pridoksin 5.000 mg/kg, Kobalamin 15 mg/kg, Askorbik asit 150.000 mg/kg, Niasin 25.000 mg/kg, Biotin 40 mg/kg, Folik asit 1.000 mg/kg, Kolin klorid 300 mg/kg, Kalsiyum D-pantothenat 8.000 mg/kg, Kalsiferol 2.000.000 IU, A vitamini, 10.000.000 IU, E vitamini 100.000 IU.

(c) **Mineral Karması (mg/kg);** Mn 80.000, Fe 35.000, Zn 50.000, Cu 5.000, I 2.000, Co 400, Se 150.

Kan ve Doku Örneklerinin Alınması: Kan ve doku örnekleri alınmadan 12 saat önce balıkların yemleme işlemine son verildi. Balıklar, kuyruk bölgesinden kan

alınması sırasında 15 mg/L dozunda Quinaldin (2 methylchinolin) ile anestezi edildi. Anestezi sonrası balıkların kuyruk kısımları keskin bir bistüri ile tek bir darbeye kesilerek kuyruk venasından akmakta olan kan steril plastik tüplere alınarak (1-1.3 mL) 3500 devir/dakikada 7 dakika santrifüj edildi (16, 17). Ayrılan serum örnekleri ile otopsi yapılarak alınan doku örnekleri MDA düzeylerinin belirlenmesi için analiz süresine kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Kanda ve Dokuda Malondialdehit Tayini: Derin dondurucudan alınan doku (kas: 0.5 g, karaciğer: 0.3 g, böbrek: 0.2 g) örnekleri çözünme işlemi yapıldıktan sonra homojenizatörde iyice karıştırılarak homojenize edildi. Doku örnekleri ile çözünme işlemi yapılan serum örnekleri 0.3 mL'lik tüplere alınıp üzerine 300 mL perklorik asit ve 300 mL saf su ilave edilerek vortex ile karıştırıldı. Karışım 3500 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Bu çözeltiden 20 µL alınıp, 30 mmol KH₂PO₄ ve metanol karışımı olan ve akış hızı 1.5 mL/dakikaya ayarlanan mobil faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (CECIL 1100 series Cambridge England) cihazına enjekte edildi. Cihaz verileri alınarak sonuçlar tespit edildi (18, 19).

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 Kruskal Wallis testi uygulandı.

Bulgular

Araştırma gruplarının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularına ait MDA düzeyleri belirlenerek Tablo 2' de verildi.

İstatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grubu serum ve kas MDA düzeylerinin diğer gruplardan istatistiksel olarak önemli oranda yüksek olduğu (P<0.05), karaciğer ve böbrek dokularının MDA düzeyleri arasındaki istatistiksel farkın ise tüm gruplarda önemsiz (P>0.05) olduğu tespit edildi. Serum MDA düzeyi, kontrol grubunda 2.35±0.12 nmol/mL iken β₃₀ grubunda 1.54±0.09 nmol/mL, β₇₀ grubunda 1.19±0.07 nmol/mL olarak belirlendi. Kas dokusu MDA düzeyi, kontrol grubunda 2.77±0.08 nmol/mg iken β₃₀ ve β₇₀ gruplarında sırasıyla; 1.33±0.03 nmol/mg ve 1.39±0.06 nmol/mg olarak tespit edildi.

Tablo 2. Araştırma gruplarının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularına ait MDA düzeyleri.

MDA Düzeyleri	Kontrol	β ₃₀	β ₇₀	P
Serum (nmol/mL)	2.35±0.12 ^a	1.54±0.09 ^b	1.19±0.07 ^b	*
Kas (nmol/mg)	2.77±0.08 ^a	1.33±0.03 ^b	1.39±0.06 ^b	*
Karaciğer (nmol/mg)	2.32±0.12	2.25±0.16	2.57±0.21	-
Böbrek (nmol/mg)	0.37±0.01	0.45±0.02	0.32±0.01	-
n	7	7	7	

-:P> 0.05, *: P<0.05.

^{a,b}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur.

n: Her grup için doku örneği alınan balık sayısı.

Tartışma

Lipid peroksidasyonu, tüm biyomoleküller için oldukça zararlı bir zincir reaksiyonudur. Membrandaki yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girip peroksidasyon ürünlerinin oluşumuna neden olur. Lipid peroksidasyon ürünleri direkt olarak membran yapısında geri dönüşümsüz hasar verirken, indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verirler. Böylece doku hasarını yayarak birçok hastalığa sebep olurlar (20, 21). Lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA oluşumu, membran komponentlerine geri dönüşümsüz hasarlar vererek deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi gibi membran özelliğinin bozulmasına yol açar. Dokularda lipid peroksidasyon düzeyi değişim göstermekle beraber en yüksek oluşumun karaciğer olmak üzere bunu beyin, kalp ve böbrek dokularının izlediği ve bu oluşumlar üzerinde artan yaş ve azalan antioksidan mekanizmanın etkili olduğu bildirilmiştir (11, 21). Balık yetiştiriciliğinde olası stres faktörlerine karşı yemlere bağışıklık sistemini güçlendirici ve koruyucu katkı maddelerinin ilave edilmesine yönelik çalışmalar sektöre önemli katkılar sağlamaktadır (22, 23).

Bu çalışmada, rasyonlara 30 ve 70 mg/kg düzeylerinde ilave edilen β -karotenin gökkuşığı alabalığı yavrularının serumunda ve kas dokusunda MDA oluşumunu baskıladığı belirlenmiştir. Ancak β -karoten ilavesinin karaciğer ve böbrek dokusunda MDA düzeyini etkilemediği ve tüm grupların karaciğer ve böbrek dokusu MDA değerlerinin birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Çoban ve Keleştemur (24), 70 mg/kg β -karoten içeren rasyonla beslenen gökkuşığı alabalığı filetolarının 2 aylık muhafaza süresince, β -karoten içermeyen rasyonla beslenen balık filetolarına göre MDA düzeyinin önemli oranda baskılandığını tespit etmişlerdir. Küçükbaş ve ark. (25), gökkuşığı alabalığının bazı dokularında MDA düzeyine etkisini belirlemek amacıyla rasyonlara yem katkı maddesi olarak 0, 30 ve 60 mg/kg oranlarında çinko pikolinat ilave ederek serum MDA düzeylerini sırasıyla; 1.55, 1.12 ve 0.92 nmol/mL, karaciğer MDA düzeyini sırasıyla; 3.80, 3.30, 2.94, kas MDA düzeyini sırasıyla; 2.60, 2.15 ve 1.63 olarak tespit etmişlerdir.

Kaynaklar

- White DA, Ørnsrud R, Davies SJ. Determination of carotenoid and vitamin A concentrations in everted salmonid intestine following exposure to solutions of carotenoid in vitro. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2003; Part A (136): 683-692.
- Wang Y, Chien Y, Pan, R. Effect of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of Characins, *Hypssobrycon callistus*. *Aquaculture* 2006; 261: 641-648.
- Filho DW. Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria. *Frontiers in Bioscience* 2007; 12: 1229-1237.
- Collins CM, Leventis N, Leventis CS. Relative reactivity of vitamin A versus a mixture of β -carotene geometric isomers with electrochemically generated superoxide and hydroperoxyl radicals. *Electrochimica Acta* 2001; 47: 567-576.
- Redge R, McGarvey DJ, Truscott TG. The carotenoids as anti-oxidants. *Animal of Photochemistry and Photobiology* 1997; 41: 189-200.
- Palozzo P, Serini S, Nicuolo FD, Piccini E, Calviello G. Prooxidant effect of β -carotene in cultured cells. *Molecular Aspects of Medicine* 2003; 24: 353-362.
- Ashley JP. Fish Welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science* 2006; 123: 1-37.
- Conte FS. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science* 2004; 86: 205-223.
- Barry H. Free radicals and antioxidants. *Nutrition* 1994; 52: 253-265.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872-879.

11. Winston GW, Giulio RT. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* 1991; 19: 137-161.
12. Bell BJG, Cowey CB, Adron JW, Shanks AM. 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* 1985; 53: 149-157.
13. Bray TM. Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. *Nutrition*, 2000; 16(7/8): 578-581.
14. Hu CJ, Chen MS, Pan HC, Huang HC. Effect of dietary vitamin A or β -carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. Aureus*. *Aquaculture* 2005; 4: 233-245.
15. Kiriş GA, Dikel S. Fiber tank ve beton havuza yerleştirilmiş ađ kafeslerdeki gökkuşığı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) besi performansları ve karkas kompozisyonları. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 2002; 19(3-4): 371-380.
16. Şahan A, Kurutaş E, Dikel S. Liver antioxidant systems and lipid peroxidation in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) adopted to fresh water. *Turk J Vet Animal Sci* 2003; 27: 1261-1267.
17. Atamanalp M, Bayır A. Bir dezenfektanın (Malahit Yeşili) subletal dozlarının gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkileri. *Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi* 2003; 23(3): 177-187.
18. Karatepe M. Diabetik hastaların kan serumunda antioksidan vitaminlerin düzeylerinin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile tayini. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 1997.
19. Karatepe M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. *LC-GC North America* 2004; 22 (4): 362-365.
20. Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and its function in membranes. *Progress in lipid Research* 1999; 38: 309-336.
21. Rikans LE, Hornbrook KR. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochemical Acta* 1997; 1362:116-127.
22. Benzie F. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003; Part A, 136: 113-126.
23. Kashif SM, Zaidi R, Banu N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta* 2003; 340: 229-233.
24. Çoban OE, Keleştemur GT. Farklı oranlardaki sentetik β -karotenin alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) filetolarında kas karotenoid stabilitesi ve lipid peroksidasyon düzeyine etkileri. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2011; 25 (1): 17-21.
25. Kucukbay Z, Yazlak H, Şahin N, et al. Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2006; 257: 465-469.
26. Talas ZS, Orun İ, Ozdemir I, et al. Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd^{+2} , Cr^{+3}) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiol and Biochem* 2008; 34: 217-222.