

FARKLI MİKTARLARDA E VİTAMİNİ İLAVE EDİLMİŞ YEMLERLE BESLENEN ALABALIKLARDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAZI KAN PARAMETRELERİ

Fahrünisa CENGİZ*
Murat BİLGÜVEN****

Cenk AYDIN**

Nurten GALİP***
Kemalettin YAMAN*****

ÖZET

Araştırma üreme döneminde olan 30 adet erkek, 21 adet dişi 3 yaşlı anaç alabalık üzerinde yürütüldü. Erkek ve dişi alabalıklar bir kontrol iki deneme olmak üzere üç gruba ayrıldı. Deneme gruplarındaki alabalıkların yemlerine 100 ve 150 mg/kg düzeyinde E vitamini ilave edildi. Yetmiş gün süreyle bu şekilde beslenen balıklardan solungaç venasından kan örnekleri alındı.

Alınan kan örnekleri hematokrit (PCV), hemoglobin (Hb), alyuvar (RBC), glutatyon (GSH), glikoz ve total protein değerleri yönünden incelendi. Dişilerde deneme gruplarındaki glikoz değerleri sırasıyla 170.71±20.24, 170.00±10.0 mg/dl olarak kontrol grubuna göre (114.2±6.77 mg/dl) P<0.05 düzeyinde yüksek bulundu. Erkeklerde ise deneme II grubundaki glutatyon değeri (90.89±3.31 mg/dl alyuvar), kontrol grubuna göre (124.11±5.99 mg/dl) P<0.01 düzeyinde düşük, hemolobin değeri II. deneme grubunda (9.37 g/100 ml) diğer gruplara göre (12.95±0.99, 13.15±0.9g/100ml) P<0.01 düzeyinde düşük bulundu.

Anahtar Kelimeler: hematokrit, glutatyon, glikoz, protein, alabalık.

* Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
** Araş. Gör. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
*** Yrd. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
**** Arş. Gör.; U.Ü. Ziraat Fak. Zootečni A.B.D., Bursa, Türkiye
***** Prof. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

SUMMARY

Some Blood Parameters in Rainbow Trouts (*Oncorhynchus Mykiss*) Fed With Different Levels of Vitamin E Added Rations

This study was carried out on thirty male and twenty one female (3 years old) parent rainbow trouts. Male and female rainbow trouts were divided into 3 groups; control, treatment I, II. Treatment I and II groups animals were fed with rations added 100, 150 mg/kg Vitamin E respectively. At the end of the experiments (70th day) blood samples were collected from gil veins.

Blood samples were examined for haematocrit (PCV), haemoglobin (Hb), red blood cell (RBC), glutathione (GSH), glucose and total protein values. Mean glucose values of treatment I, and II group animals (female) 170.71 ± 20.24 , 170 ± 10.0 mg/dl, were found to be statistically higher ($P < 0.05$) than that of control group values: 114.2 ± 6.77 mg. In the experimental group II (male) glutathione levels (90.89 ± 3.31 mg/dl) were lower than that of control group values (124.11 ± 5.99 mg/dl) $P < 0.01$; haemoglobin values were also found to be lower (9.37 g/100 ml) than that of other groups (12.95 ± 0.99 , 13.15 ± 0.9 g/100 ml) $P < 0.01$.

Key Words: haematocrit, glutathione, glucose, protein, rainbow trouts.

GİRİŞ

Kan değerlerinin incelenmesi balıkların fizyolojik durumlarının bilinmesinde ve hastalıkların tanısında önemlidir. Bu nedenle kan değerlerinin sınırlarının belirlenmesinde çalışmalar yapılmaktadır. Bir çok araştırıcı belirli hastalıklara bağlı olarak meydana gelen değişikliklerle ilgilenirken, bir kısmı da temel değerler üzerinde çalışmaktadır^{1,2,3}.

Kan değerlerindeki değişiklikler genelde diyete ve soya bağlı olmakla birlikte diğer çevresel faktörler de etkilidir^{4,5}. Özellikle ıvegen veya süregen çevre kirliliği etkisinde kalan balıklarda, kan yapımında değişiklikler gözlenmiştir. Örneğin çevre ısı balıklarda ve diğer soğukkanlılarda metabolik aktivitenin düzenlenmesinde önemli bir etkidir. Başlıca etkisi çeşitli metabolik reaksiyonların dengesini sağlayan enzimler üzerinedir. Böylece, ısı hücresel ve moleküler seviyede oluşan metabolik reaksiyonları değiştirebilir. Ekstrasellüler sıvının bileşimi üzerine olan etkisi ile kanda da önemli değişimlere neden olduğu bildirilmektedir^{2,6-10}. Aynı şekilde yaş, cinsiyet, mevsim, balığı yakalama şekli ve seksüel olgunluk da kan parametrelerini etkileyen faktörlerdir^{1-4,10-12}.

Çeşitli hayvanlarda vitamin E eksiklikleri üremede bozukluk, kaslarda dejenerasyon ve hücre membranlarında yapısal veya işlevsel zararlarla kendisini gösterir. Ratlarda embriyonun rezorpsiyonu ve ölümü ile ilgili gebelikler, eritrositlerde hemoliz, erkek ratlarda germinal dokunun kalıcı harabiyeti söz konusudur. Benzer semptomlar fare, hamster ve kobaylarda da görülmüştür. Bir çok hayvan türünde tocopherol eksikliğinin kaslarda distrofiye neden olduğu görülmüş ve hem iskelet hem de kalp kası liflerinde görülen bu bozukluklar Zenker dejenerasyonu olarak isimlendirilmiştir. Bilinmektedir ki E vitaminin başlıca görevi doğal bir antioksidan olmasıdır^{1,13,14}.

Salmonidae familyasının türlerinden biri olan Gökkuşacağı alası (*Salmo gairdnerii*) kültüre elverişli, suni tohumlamayla üretilebilen, hızlı gelişen ve bir yılda pazarlanma olanağına ulaşabilen tipik bir kültür balığıdır. Gökkuşacağı yalnız suni dölleme-kuluçkayla üretilebilir. Yabanda üreme, büyük yumurta kaybı (% 90) nedeniyle, söz konusu değildir. İyi beslenen balıklar iki yaşında genital olgunluğa ulaşırlar^{15,16}. Alabalık yetiştiriciliği küçük ve büyük işletmeler halinde dünyanın her yanında geniş bir uygulama olanağına ulaşmıştır. Bu yetiştiricilikte suyun fizikoşimik nitelikleri, kuluçka çıkarmak, larvaların büyütülmesi, besleme, göletler ve büyütme kanalları önemli konulardır. Hastalıklar ve bunlara karşı korunma da kültür balıkçılığında önem kazanmaktadır. Özellikle son yıllarda doymamış yağ asitleri oranının yüksek, kolesterol oranının düşük olması balık etine olan talebi arttırmıştır.

Biz de çalışmamızda deneme rasyonlarına farklı mитарlarda E vitamini katarak bu rasyonlarla beslenen üreme dönemlerindeki dişi ve erkek alabalıklarda kan değerlerini incelemeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada ağırlıkları 2-3 kg arasında değişen 3 yaşlı anaç Gökkuşacağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmış olup araştırma Bozüyük civarında özel bir işletmede yürütüldü. Dişi ve erkek alabalıklar kontrol, deneme I ve II olmak üzere üç gruba ayrıldı. Dişi alabalıklardan her grupta 7'şer, erkek alabalıklardan ise her grupta 10'ar hayvan bulunmaktadır.

Rasyonların yapısında yem hammaddesi olarak balık unu, soya fasülyesi, razmol, mısır gluteni, et kemik unu, buğday gluteni, pelet bağlayıcı, tuz, vitamin, mineral premixleri ve balık yağı kullanıldı. Araştırmada deneme gruplarının rasyonlarına 100 ve 150 mg/kg E vitamini eklendi. Kullanılan rasyonlar özel bir yem fabrikasında hazırlatıldı.

Araştırmada 3x15x1 m. boyutlarındaki havuzlar kullanıldı ve 70 gün süreyle balıklar bu havuzlarda beslendi. 70. günde solungaç venasından lityum heparinli tüplere alınan kan örnekleri hematokrit, hemoglobin, alyuvar sayısı, glutatyon, glikoz, total protein değerleri yönünden incelendi.

Hematokrit değerler, mikrohematokrit santrifüjü kullanılarak saptandı. Hemoglobinin değeri Sahli yöntemi ile alyuvar sayısı ise hemositometrik yöntemle belirlendi¹⁷.

Alyuvar glutasyon miktarı Beutler ve arkadaşları¹⁸ tarafından geliştirilen yöntemin modifikasyonu olan bir yöntemle tayin edildi¹⁹.

Glikoz (Biocon 460) ve total protein değerleri (Randox Tp 245) kit kullanılarak spektrofotometrede saptandı.

Araştırma verilerinin istatistiksel analizleri "Kruskall Wallis" analiz yönteminden yararlanılarak in-stat programında yapıldı²⁰.

BULGULAR

Dişi alabalıkların kontrol ve deneme gruplarına ilişkin hematokrit, hemoglobin, alyuvar sayısı, glutasyon, glukoz ve total protein ortalama değerleri (X) ve standart hataları (Sx) Tablo I'de erkek alabalıkların gruplarına ait aynı değerler Tablo II'de verilmiştir.

Tablo: I
Dişi Alabalıklarda Kontrol ve Deneme Gruplarına Ait Hematolojik Değerler (n=7)

	Kontrol X ± Sx	E Vit. 100 X ± Sx	E Vit. 150 X ± Sx	P
PCV %	60.71±2.64	61.20±2.18	58.57±2.38	0.60
Hb g/100 ml	8.57±0.55	9.10±0.38	8.64±0.47	0.25
RBC 10 ⁹ /mm ³	1.879±0.060	1.610±0.098	1.568±0.105	0.07
GSH mg/dl alyuvar	102.32±6.27	101.69±6.03	111.53±3.75	0.16
Glikoz mg/dl	114.2±6.77 ^a	170.71±20.2 ^b	170.00±10.01 ^b	0.01
T. Protein g/dl	6.7±0.40	5.94±0.09	6.79±0.31	0.08

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir (a,b; P < 0.05).

Tablo: II
Erkek Alabalıklarda Kontrol ve Deneme Gruplarına Ait Hematolojik Değerler (n=10)

	Kontrol X ± Sx	E Vit. 100 X ± Sx	E Vit. 150 X ± Sx	P
PCV %	66.40±2.97	70.70±2.62	69.13±1.49	0.86
Hb g/100 ml	12.95±0.99 ^a	13.15±0.90 ^a	9.37±0.35 ^b	0.007
RBC 10 ⁹ /mm ³	1.753±0.108	1.763±0.210	1.874±0.082	0.51
GSH mg/dl alyuvar	124.11±5.99 ^a	97.22±4.91 ^{ab}	90.89±3.31 ^b	0.0006
Glikoz mg/dl	126.81±7.91	170.31±20.76	157.75±14.6	0.08
T. Protein g/dl	5.85±0.20	6.32±0.45	6.33±0.15	0.19

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir. (a,b; P < 0.01)

TARTIŞMA

Bir çok araştırmacı balıklarda kan parametreleri üzerinde çalışarak normal kan değerlerini tespit etmiştir. Normal kan parametreleri ile karşılaştırma yapılarak özellikle kirlilik ve onun etkilerine bağlı oluşan hastalıkların teşhisi yapılabilmektedir¹¹.

Farklı miktarlarda E vitamini kullanılan bu araştırmada hematokrit değer yönünden deneme grupları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülmemiştir (Tablo I, II). Diyetteki bitkisel ve hayvansal yağların etkisini incelemek üzere yapılan bir araştırmada, soya fasülyesi yağı eklenen diyetle beslenen grupta hematokrit değer ortalama % 42.4, domuz yağı eklenen diyetle beslenenlerde ise % 34.9 olarak bulunmuştur¹. Saprolegnia diclina ile enfekte Gökkuşacağı alabalıklarda hematokrit değer % 45, enfekte olmayan grupta ise % 31 olarak bildirilmiştir⁹. Sağlıklı 73 alabalıkta yapılan çalışmada % 32¹¹, 14 aylık 50 alabalıkta ise % 39.5 olarak bulunmuştur⁴. Bu farklılıkların ırk özelliği, mevsim durumu, gonad gelişimi gibi bir çok faktör tarafından etkilendiği bildirilmektedir^{1-4,10,11}. Yine bu alabalıkların üreme döneminde olmaları nedeniyle metabolik aktivitenin artması ve oksijen açığı gibi nedenler de hematokrit değerleri yükseltmiş olabilir.

Tablo I ve II'de eritrosit değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistik önemde bir fark olmadığı görülmüştür. Kırmızı balıklarda 21.5°C de eritrosit sayısı $1.88 \times 10^6 / \text{mm}^3$ iken, 1°C de $1.49 \times 10^6 / \text{mm}^3$ olarak bildirilmiştir¹⁰. Alabalıklarda (*Salmo trutta*) yapılan diğer bir çalışmada eritrosit sayısı $995.000 / \text{mm}^3$ olarak bulunurken *Salmo trutta* için bildirilen diğer veri $1.180.000 / \text{mm}^3$, *Salmo gairdneri* için $1.370.000 / \text{mm}^3$ tür¹¹. Sağlıklı, yetişkin 23 alabalıkta yapılan bir çalışmada eritrosit sayısı $1.5 \times 10^6 / \text{mm}^3$ olarak bildirilmiştir¹². Hematokrit değerlerde olduğu gibi eritrosit değerleri de biraz yüksek bulunmaktadır.

Tablo I'de görüldüğü gibi dişilerde hemoglobinin değerleri belirgin bir farklılık göstermezken, erkeklerde Deneme II grubunda hemoglobinin değeri 9.37 g/100 ml olarak bulunmuştur. Yine yapılan çalışmalarda alabalıklarda bildirilen hemoglobinin değeri ortalama 7.5 g/100 ml ve 5.2-12.9 g/100 ml sınırlarında değiştiği bildirilmektedir⁴. Sağlıklı 73 alabalıkta (*Salmo trutta*) yapılan çalışmada hemoglobinin değeri 6.83 g/100 ml¹¹, farklı diyetlerin uygulandığı bir çalışmada soya yağı eklenen diyetle beslenenlerde 7.4, domuz yağı eklenen diyetle beslenenlerde 7.5 g/100 ml olarak bulunmuştur¹¹. İnci kefallerinde yapılan bir araştırmada hemoglobinin değeri 7.8 g/100 ml, olarak bildirilmiştir¹². Gökkuşacağı alabalıklarında (*Salmo gairdnerii*) 9.8 g/100 ml, *Salmo trutta abanticus tortonese*'de 7 g/100 ml olarak bildirilmiştir². Hemoglobinin değerlerindeki farklılıklar yaşa, soya, beslenme durumuna bağlı olabildiği gibi değerlerin belirlenmesinde uygulanan metot da önemlidir^{1,3,4,11}.

Glutasyon değerleri incelendiğinde erkek alabalıklarda E vitamini ilave edilen gruplar kontrol gruplarına göre daha düşük değerlere sahiptir. Glutasyon pek çok hayvan, bitki ve mikroorganizmada hücrelerin görevlerinin çeşitliliğine göre geniş bir dağılım gösteren ve yarı ömrü 2-15 gün arasında değişen bir tripeptittir. GSH'nın tamamına yakını alyuvarlarda bulunur ve alyuvar duvarını koruyucu bir unsurdur. Serbest radikallerin zararlı etkilerini nler^{21,22}. Erkeklerde kontrol ve deneme grupları arasındaki farklılık hematokrit değerin değişimine bağlanabilir. Hematokrit değer ile glutasyon miktarının ters orantılı olarak değiştiğine ait bildirimler^{23,24} bulgularımızı destekler niteliktedir.

Glikoz değerleri dişilerde deneme gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksektir ($P < 0.05$). İstatistiki önemde olmasa da aynı durum erkek alabalıklarda da görülmektedir. Alabalıklarda yapılan bir çalışmada plazma glikoz seviyelerinin çok geniş sınırlar içinde olduğu bildirilmektedir⁴. Bizim değerlerimiz de yapılan araştırmalarda bildirilen değerlerin bir kısmı ile akişir nitelikteyken, bir kısmıyla oldukça farklıdır. Balıkların reme dönemlerinde olması, olgunluk durumunu saptamak için yapılan kontrollerin stres yaratması¹⁵ glikoz değerlerini etkilemiş olabilir. Deneme gruplarında glikoz değerlerinin yüksek çıkması E vitamininin metabolizmayı hızlandırıcı etkisine de baęlanabilir¹³.

Tablo I ve II incelendiğinde total protein değerleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark görülmemektedir. Total protein değerleri beslenme durumunun bir göstergesi olarak kabul edilir ve dar sınırlar içinde olduğu bildirilmektedir. Sağlıklı elli alabalıkta yapılan bir çalışmada total protein değerlerinin 4.0-6.8 g/100 ml değişim sınırlarında, ortalama 5.0 g/100 ml olduğu grlmektedir⁴. Tatlı su balıklarında evre ısısının serum kimyası üzerine yaptığı etkiyi incelemek üzere yapılan bir araştırmada total protein değerlerinin düşük ısıda önemli derecede yükseldiği bildirilmektedir. En yüksek değerlerin Ocak ve şubat aylarında olduğu (30.90-33.29 g/l) buna rağmen albümin miktarında azalma meydana geldiği grlmřtr⁶. Düşük ısıda total protein değerinin artışı, metabolik aktivitenin yükselmesine bağlı olarak protein sentezinin artmasına bağlanmaktadır^{6,8}. Soğuğa adaptasyonda protein sentezindeki bu artışın soğukkanlılar için bir avantaj olduğu bildirilmektedir⁶⁻⁸. Bizim değerlerimiz de literatür verileriyle yakın bulunmaktadır.

Balıklarda kan değerleri bir çok faktör tarafından etkilenir. Bu faktörler diyet, soy, yaş, cinsiyet, mevsim, yakalama metotları, seksüel olgunluk gibi etkenlerdir. Bunun yanısıra evre kirliliği gibi durumlar da göz önüne alınmalıdır.

Deneme rasyonlarına farklı miktarlarda E vitamini katılarak yapılan bu çalışmada glikoz ve glutasyon değerlerinin kontrol grubuna göre farklı bulunduğu, diğer kan değerlerinde ise önemli bir değişim olmadığı

gözenmiştir. Çalışmamızda erkek ve dişiler kendi aralarında değerlendirilmiş, cinsiyet karşılaştırılması yapılmamıştır. Kültür alabalıklarında saptadığımız bu değerlerin literatüre katkıda bulunacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. GREEN, D.H.S.; SELIVONCHICK, D.P.: Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 89, 165-182 (1990).
2. HALEY, P.J.; WEISER, M.G.: Erythrocyte volume distribution in rainbow trout. *Am. J. Vet. Res*, Vol 46, No. 10, October (1985).
3. KOCABATMAZ, M.; EKİNGEN, G.: Preliminary investigations on some hematological norms in five freshwater fish species. *Fırat Üniv. Vet. Fak. Derg.* Cilt: IV Sayı: 1-2 (1977).
4. McCARTHY, D.H.; STEVENSON, J.P.; ROBERTS, M.S.: Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J.Fish Biol.* 5, 1-8 (1973).
5. HILLE, S.: The effect of environmental and endogenous factors on blood constituents of rainbow trout (*Salmo Gairdneri*)- I. food content of stomach and intestine. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 77 A. No 2, 311-314 (1984).
6. FİDAN, S.; QADRI, M.Y.; SİDDİGİ, M.: Influence of environmental conditions on the ovarian cycle and serum chemistry of *Cyprinus carpio* in the Dal lake, Kashmir (India). *Freshwater Biology*. 20, 61-67 (1988).
7. DAS A.B.; PROSSER, C.L.: Biochemical changes in tissues of Goldfish acclimated to high and low temperatures. I. Protein Synthesis. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 21. 449-467 (1967).
8. PARVATHESWARARAO, V.: Some mechanisms underlying thermal acclimation in a freshwater fish, *Etroplus maculatus* (Teleostei). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 21, 619-626 (1967).
9. DİLER, Ö.; DİLER, A.: Deneysel olarak *Saprolegnia diclina* ile enfekte Gökkuşluğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) bazı hematolojik incelemeler. *Tr. J. Veterinary and Animal Sciences*. 20, 443-447 (1996).
10. CATLETT, R.H.; MILLICH, D.R.: Intracellular and extracellular osmoregulation of temperatuvar acclimated Goldfish *Carassius auratus* L. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 55 A, pp 261-269 (1976).
11. BLAXHALL, H.C.; DAISLEY, K.W.: Routine haematological methods for use with fish blood *J. Fish Biol.* 5, 771-781 (1973).
12. ÇINAR, A.; BAYIROĞLU, F.; KILIÇALP, D.: Van gölü inci kefalinin (*Chalcalburnus Tarichi*, Palas 1811) kan parametreleri. *Vet. Bil. Derg.* 12, 2:65-68 (1996).

13. SWENSON, M.J.: Duke's Physiology of Domestic Animals. 10. Ed. Comstock, Cornell University Press. Ithaca, New York (1990).
14. DRAPER, H.H.; CSALLANY, A.S.: A simplified hemolysis test for vitamin E deficiency. J. Nutrition, 98: 390-394 (1969).
15. ERENÇİN, Z.: Kùltür Balıkçılığı. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları: 330. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara (1977).
16. EKİNGEN, G.: Su ürünleri ve balıkçılık. Fırat Üniv. Vet. Fak. Yayınları: 32. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara (1983).
17. KONUK, T.: Pratik Fizyoloji I. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, no: 314 Ankara (1975).
18. BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M.. Improved method for determination of blood glutathione. Jour. Lab. Clin. Med., 61: 882-888 (1963).
19. TIETZ, N.W.: Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Comp. Philadelphia, 1508-1510 (1996).
20. SÜMBÜLOĞLÜ, K.; SÜMBÜLOĞLÜ, V.: Biyoistatistik 6. Baskı, Özdemir Yayıncılık, Ankara, 70-148 (1995).
21. KURATA, M.; SUSUKİ, M.: Antioxidant systems and erythrocyte life span in mammals. Comp. Bioch. Phys. B.: Comp. Bioch, 106 (3), 477-487 (1983).
22. TUCKER, E.M.: Genetic variation sheep red blood cell, Genet. Review, 46: 341-386 (1971).
23. TIETZ, N.W.: Textbook of Clinical Chemistry, Sounders Comp., Philadelphia, 614-619 (1996).
24. PATTERSON, T.B.; SHRODE, R.R.; KUNKEL, H.O.; LEIGHTON, R.E., PUPEL, I.W.: Variations in certain blood components of Holstein and Jersey cows and their relationship to daily range in rectal temperature and milk mutterfat production, Auburn University Press, Auburn, 1263-1274, (1960).

Yazının Geliş Tarihi: 01.02.1999