



Erythrocyte deformations in *Rutilus rutilus* provided from Porsuk dam lake

Özgür EMİROĞLU^{*1}, Mustafa UYANOĞLU¹, Sercan BAŞKURT¹, Şule SÜLÜN¹, Esengül KÖSE²,
Cem TOKATLI³, Kazım UYSAL⁴, Naime ARSLAN¹, Arzu ÇİÇEK⁵

¹Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Eskişehir, Turkey

²Eskişehir Osmangazi University, Eskişehir Vocational School, Depart. of Environmental Protection and Control, Eskişehir, Turkey

³Trakya University, Ipsala Vocational School, Department of Laboratory Technology, Ipsala / Edirne, Turkey

⁴Dumlupınar University, Enstitute of Science, Department of Biology, Kütahya, Turkey

⁵Anadolu University, Applied Environmental Research Centre, Eskişehir, Turkey

Abstract

Normally cell structures of erythrocytes in fishes are smooth, symmetrical and ellipsoid shaped. However, some significant deformations occur in cell membranes of erythrocytes, as a result of environmental pollutants and the primary reason of these deformations on cell membranes are toxic metals. The aim of this study is to determine the deformations occurring in the erythrocyte cells of *Rutilus Rutilus* (Linnaeus, 1758) provided from Porsuk Dam Lake in April 2011 by frontal blood preparation method. According to data observed, fusiform, spherical and degenerated erythrocytes and also echinosit cell membrane types were observed. It can be clearly understood that, pollution of Porsuk Dam Lake has reached critical levels as much as to cause significant erythrocytes deformations in *R. rutilus*.

Key words: *Rutilus rutilus*, Porsuk Dam Lake, Erythrocytes deformations

----- * -----

Porsuk baraj gölü'ndeki *Rutilus rutilus* türünün kirliliğe bağlı eritrosit şekli deformasyonları

Özet

Balıkların eritrositleri düzgün, simetrik ve elipsoit şekilli hücre yapısındadır. Ancak çevresel kirleticilerin etkileri sonucu eritrosit hücrelerinin elipsoit yapıları ve hücre zarı şekilleri deformasyona uğramaktadır ve balık eritrosit hücrelerinde bu deformasyonlara sebep olan çevresel kirleticilerin başında toksik metaller gelmektedir. Bu çalışmada, Nisan 2011'de Porsuk Baraj Gölü'nden temin edilen *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) (kızılğöz) türünün eritrosit hücrelerinde meydana gelen deformasyonların, hazırlanan frontal kan preparatları ile incelenmesi amaçlanmıştır. Yapılan preparatlarda fusiform şekilli, sferik şekilli, dejenere olmuş eritrositler ile hücre zarının dikensi bir yapı gösterdiği ekinosit (spiküllü) şekilli eritrositler gözlenmiştir. Sonuç olarak Porsuk Baraj Gölü'ndeki kirliliğin, bu ekosistemde son 5 yıldır önemli miktarlarda popülasyon oluşturan *R. rutilus* türünün eritrositlerinde ciddi deformasyonlar oluşturacak seviyelere ulaştığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Rutilus rutilus*, Porsuk Baraj Gölü, Eritrosit deformasyonları

1. Giriş

Artan nüfus yoğunluğuna bağlı olarak çoğalan endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucu oluşan kirleticiler iç sularımızı ve denizlerimizi gün geçtikçe daha fazla kirletmektedir. Bu kirliliğin belirlenmesi ve izlenmesi için son yıllarda birçok çalışma yapılmıştır. Özellikle suya giren toksik metaller hem su kimyası adına hemde sulak alanda yaşayan canlılar adına ciddi riskler oluştururlar. Metallerin oluşturdukları bu riskler suda ve organizmada birikim

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902222393750; Fax.:+9 02222393578; E-mail: emiroglu@ogu.edu.tr

seviyeleriyle ve metalin toksik özelliğiyle yakından ilişkilidir. Sucul ortamlarda ki bu metal kirliliğinden en çok etkilenen organizmaların başında balıklar gelir.

Metale maruz kalan balıklarda osmotik ve iyon düzenlenmesi problemleri, enzim aktivitelerinde düzensizlik, lipit metabolizması ve immün sistem sorunları ve kondisyon faktörü düşüşleri gibi çeşitli bozukluklar meydana gelir (Grosell vd., 2002; Bervoets ve Blust, 2003; Chowdhury ve Wood, 2007; Reynders vd., 2008). Balıklarda, özellikle toksik metal kirliliğine bağlı olarak bazı fizyolojik düzensizlikler ve kan parametrelerinde deformasyonlar meydana gelebilir (Çelik, 2006). Bu nedenle hematolojik teknikler kirliticielerin subletal etkilerini belirlemek amacıyla sık başvurulan yöntemlerden biridir (Katalay ve Parlak 2004).

Porsuk Baraj Gölü, Eskişehir ilinin taşkınardan korunması, Eskişehir ve Alpu ovalarının sulanması ve Eskişehir ilinin içme ve kullanma suyu temini amacıyla 1972 yılında Porsuk Çayı üzerinde (39°33–39°40K, 30°05–30°16D) inşa edilmiştir (Şekil 1).

Porsuk Çayı üzerinde inşa edilmiş olan Porsuk Baraj Göleti, endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucu önemli miktarda kirliticiye maruz kalmaktadır. Bu kirliticielerin önemli miktarını da özellikle endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucu ortaya çıkan metaller oluşturmaktadır. Porsuk Çayı'nda ve Porsuk Baraj Gölü'nde çok sayıda belirleme ve izleme çalışması yapılarak sudaki, sedimentteki ve organizmalardaki metal miktarları çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Çiçek ve Koparal, 2001; Muhammetoğlu vd., 2005; Canbek vd., 2007; Uysal, 2011).

Bu çalışmada, Porsuk Baraj Gölü'nde yaşayan *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) (kızılğöz) balığında kirliliğe bağlı olarak eritrosit hücrelerinde meydana gelen yapısal değişiklikler incelenmiştir.

2. Materyal ve yöntem

Nisan 2011 tarihinde 22 mm göz açıklığına sahip galsama ağı yardımıyla yakalanan kızılğöz örneklerinin herbirinden enjektör kullanılarak intrakardiyak kan örnekleri alındı ve temiz lamlar üzerine yayma preparat yapıldı. Oda sıcaklığında ve havada kurutulan kan yaymaları metanol ile tespit edildikten sonra Harris Haematoxylin kullanılarak sitolojik boyama yapıldı. Hazırlanan tüm kan preparatları Olympus CX31 marka ve model ışık mikroskopunda incelendi. Elde edilen bulgular Olympus Camedia marka, C-5060 model compact dijital kamera kullanılarak 4.0.6 versiyon Spot advanced program yardımıyla fotoğraflandırdı.



Şekil 1. Porsuk Çayı ve Porsuk Baraj Gölü
Figure 1. Porsuk Stream and Porsuk Dam Lake

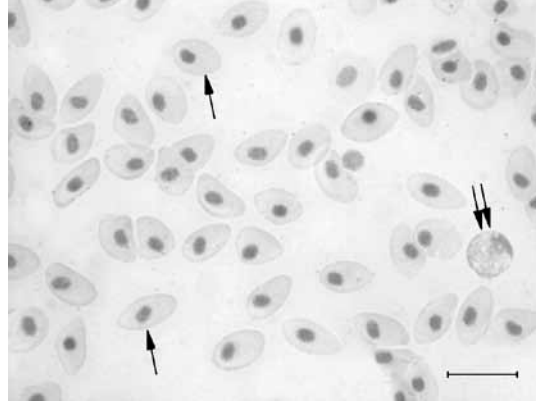
3. Bulgular

Porsuk Baraj Gölü'nde, 2011 yılı ilkbahar mevsiminde tespit edilen bazı fizikokimyasal parametreler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Porsuk Baraj Gölü'nde tespit edilen fizikokimyasal veriler
Table 1. Physicochemical parameters detected in Porsuk Dam Lake

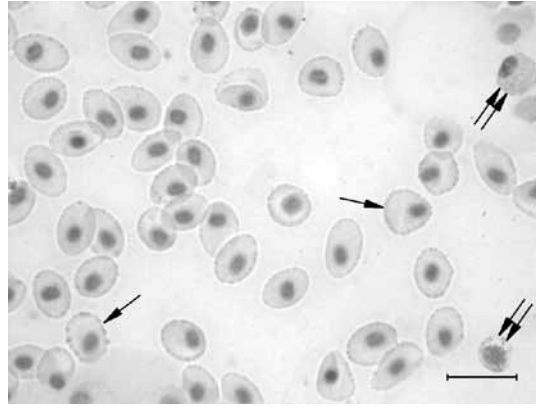
Parametreler	Birim	Değer
Su sıcaklığı	°C	19,528
pH		8,686
Çözünmüş Oksijen	mg O ₂ /L	4,204
Elektriksel İletkenlik	µs/cm	2174
Tuzluluk	‰	0,278

Porsuk Baraj Gölü'nde yaşayan kızılğöz balıklarından alınan kan örnekleri incelendiğinde, kirliliğe bağlı olarak eritrosit hücrelerinde şekilsel deformasyonlar gözlenmiştir. Özellikle bazı bireylerde eritrosit hücre zarı yapısındaki değişiklikler ve ekinositler'in (spiküllü eritrosit) varlığı çekilen fotoğraflarda tespit edilmiştir. İncelenen preparatlarda çok sayıda eritrosit hücrelerinin dış hücre zarlarının dikensi yapı kazanarak deforme olduğu ve ekinosit deneni yapıyı kazandığı görülmüştür. Deformasyona uğramış ve normal şekilli eritrosit hücrelerinin görüntüleri Şekil 2, Şekil 3 ve Şekil 4'te verilmiştir.



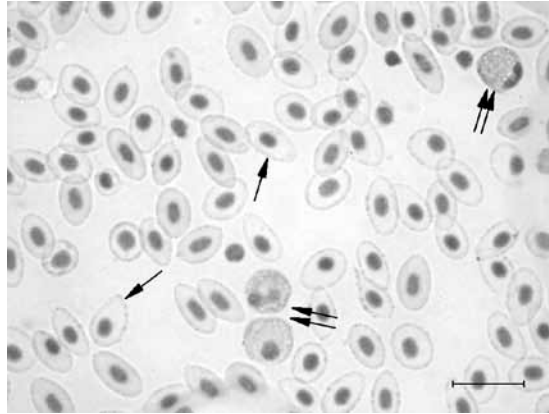
Şekil 2. *R. rutilus* türünün kan örneklerinde hücre çeperi normal görünümlü eritrosit (↗) ve lökositler (↗) (Ölçü çubuğu 10 µm)

Figure 2. Erythrocytes with normal cell walls of blood samples in *R. Rutilus* species (↗) and leukocytes (↗) (Size bar is 10 µm)



Şekil 3. *R. rutilus* türünün kan örneklerinde hücre zar yapısı; değişime uğramış ekinositler (spiküllü eritrosit) (↗) ve normal görünümlü lökositler (↗) (Ölçü çubuğu 10 µm)

Figure 3. Cell membrane structure of blood samples in *R. Rutilus* species; modified echinocytes (↗) and normal appearing leukocytes (↗) (Size bar is 10 µm)



Şekil 4. *R. rutilus* türünün kan örneklerinde hücre zar yapısı; değişime uğramış ekinositler (spiküllü eritrosit) (↗) ve normal görünümlü lökositler (↗) (Ölçü çubuğu 10 µm)

Figure 4. Cell membrane structure of blood samples in *R. Rutilus* species; modified echinocytes (↗) and normal appearing leukocytes (↗) (Size bar is 10 µm)

4. Sonuçlar ve tartışma

Literatür bilgilerine göre ekinosit oluşumuna en çok tesir eden metalin kadmiyum olduğu ve kadmiyumun özellikle tarımsal alanlarda gübre olarak kullanılan fosfat kayası, fosforik asit ve fosforlu gübrelerde bulunduğu

bildirilmiştir (Katalay ve Parlak, 2004). Yapılan preparat incelemeleri sonucu Kızılgöz balığının çok sayıda eritrosit hücrelerinin şekillerinde ciddi deformasyonlar meydana geldiği ve eritrosit hücrelerinin dış hücre zarlarının dikensi yapılar kazanarak ekinosit denen yapıyı kazandığı görülmüştür.

Katalay ve Parlak (2004) *Gobius niger* balıklarının kontrollü ortamda 24 gün süreyle 2 mg/L kadmiyum konsantrasyonuna maruz bıraktıklarında kırmızı kan hücrelerinin immatür halde olduklarını ve çok sayıda çeşitli çeper deformasyonları, fusiform şekilli eritrosit, hipokromik anemi ve spiküllü eritrosit oluşumu gözlemişlerdir. Ayrıca fusiform şekilli, çekirdeği merkezi konumda olmayan sferik şekilli, hücre çekirdeği belirsiz dağınık kütle şeklinde ve granüllü yapıda dejenerat eritrosit sayısında artış olduğunu bildirmişlerdir. Kadmiyum dozu artırıldığında (24 gün süreyle 3 mg/L) eritrositlerde parçalanma, fusiform ve orak şekilli parçalı eritrosit sayısında artışlar, hücre çepellerinde yoğun dikensi yapılar ve sitoplazmanın homojen bir dağılım göstermeyip hipokromi gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Köleli ve Kantar (2005) yaptıkları çalışmada, 6 gübre fabrikasından aldıkları toplam 14 gübre numunesinde Cd seviyelerini araştırmışlardır ve 14 numunenin 10'unda Cd'nin 8 mg/kg değerinin üzerinde (Cd için sınır değer) olduğunu tespit etmişlerdir. Fosfatlı gübrelerin ana maddesi olan fosfat kayası Türkiye'ye yurt dışından ithal edilmekte ve hem ithal edilen hem Türkiye'de üretilen bu ham madde bileşiminde olması gerekenden çok daha fazla Cd içeriği yer almaktadır. Tarım arazilerinde bilinçsiz olarak gereğinden fazla miktarda fosfatlı gübre kullanımı sonucu toprak üst yüzeyinde biriken özellikle fosfat kayası bileşikleri yağmurlarla derelere, çaylara, baraj ve göllere taşınmakta ve çalışmanın yapıldığı Porsuk Çayı etrafında da önemli miktarda tarım arazisi bulunmaktadır.

Porsuk Çayı Havzası'nda bu güne kadar yapılan birçok çalışmada havzanın önemli bir kirlilik baskısına maruz kaldığı ortaya konulmuştur (Tokatlı vd. 2011; Tokatlı vd. 2012; Köse vd., 2012; Tokatlı, 2013; Yücel vd., 2010). Çiçek ve Koparal (2001) ve Canbek vd. (2007) tarafından Porsuk Baraj Gölü'nde yapılan çalışmalarda, özellikle suda ki Cd miktarının Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Kıta İçi Su Kaynaklarının Sınıflarına göre IV sınıf ve EPA ya göre müsaade edilen sınırların çok üstünde olduğunu bildirilmiştir. Daha önceki çalışmalarda bildirilen yüksek Cd seviyelerinin, Porsuk Baraj Gölü'nde yaşayan kızılöz balığında fizyolojik ve yapısal değişikliklere sebep olduğu düşünülmektedir.

Emilen kadmiyum organizmada iki aşamalı bir yayılım gösterir. İlk aşamada kan ve özellikle karaciğerde düşük molekül ağırlıklı bir protein olan metallothioneinle fiske edilir. İkinci aşamada toksisiteden yoksun olan metallothionein-kadmiyum kompleksi mobilize olarak kana geçer ve böbrekte alıkonarak yoğunlaşır (Yazkan, 2004). Kadmiyum, metallothionein kompleksleri tarafından tecrit edilir ve bağlanan kadmiyumun hücre içi reseptörlerle etkileşimi kesilmektedir (Kayhan, 2006). Kadmiyum, balıklarda anemik tepki oluşturarak hematokrit ve hemoglobin düzeyleri ile eritrosit sayısında ve serum glukoz düzeyinde önemli düşmeye neden olabilmekte ve su ortamında çok düşük derişimlerde bile balıklarda doku ve omurga bozukluklarına, solunum değişimine ve hatta ölüme bile neden olabilmektedir (Haux ve Larson, 1984; De Smet ve Blust, 2001; Karataş vd, 2005).

Balıklarda ki metal kirliliğini iki farklı yönden incelemek gerekir. İlki balık sağlığı açısından; organizma da biriken metaller balığın metabolizmasını bozabilir, üreme faaliyetlerini azaltabilir hatta fazla birikmesi sonucu balığın ölümüne yol açabilir. İkincisi insan sağlığı açısından; özellikle insan gıdası olarak kullanılan balıklarda biriken metaller besin yolu ile insana geçer ve metabolizma için çeşitli olumsuz durumların oluşmasına sebep olabilir. Normal şartlarda Porsuk Baraj Gölü'ne dökülen Sobran deresinde görülen Kızılgöz balığı, 2000'li yılların başına kadar Porsuk Baraj Gölü'nde oldukça sınırlı populasyon yoğunluğuna sahipken, barajın su kalitesinde ki değişimler ve istilacı bir tür olan *Carassius gibelio* türünün bölgede yoğun populasyon oluşturmasından sonra Porsuk Baraj Gölü'nde ciddi miktarda av gücüne, dolayısıyla populasyon yoğunluğuna ulaşmıştır. Porsuk Baraj Gölü'ndeki bu kirlilik hem ekolojik dengeyi hemde insan sağlığını ciddi anlamda tehdit etmektedir.

Porsuk Baraj Gölü'nde yaşayan kızılöz balıklarının kan preparatları incelendiğinde özellikle eritrosit hücrelerinin çepelerinde deformasyonlar meydana geldiği ve çok sayıda ekinosit oluşumu gözlenmiştir. Bölgede daha önce yapılmış çalışmalar ve mevcut çalışmada yapılan eritrosit preparatları, kızılöz balığının Porsuk Baraj Gölü'nde ciddi miktarda Cd kirliliğine maruz kaldığını göstermektedir. Eritrosit çeper yapısı bozulan balıklarda solungaçlardan dokulara oksijen taşınım kapasitesi düşmekte ve bu durum kızılöz balığının oksijen toleransını düşürüp, türün bölgedeki populasyonunu tehlike altına sokmaktadır.

Sonuç olarak, denetim olmadan ihraç edilen ham madde ve bu ham maddeden elde edilen fosfatlı gübrelerin fazla kullanımı Porsuk Baraj Gölü'ndeki ekolojik hayatı tehdit edecek seviyeye gelmiştir. Bu sorunun çözümü için tarım arazilerinin toprak analizi yapıldıktan sonra gübrelenmesi yöntemlerinin acilen gerekli miktara çekilmesi hem insan hemde ekosistem sağlığı açısından çok büyük önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- Bervoets, L., Blust, R., 2003. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. *Environ. Pollut.* 126,9–19.
- Canbek, M., Demir, T. A., Uyanoğlu, M., Bayramoğlu, G., Emiroğlu, Ö., Koyuncu, O. 2007. Preliminary Assessment of Heavy Metals in Water and Some Cyprinidae species from the Porsuk River, Turkey. *Journal of Applied Biological Sciences* 1 (3): 91-95.

- Chowdhury, M.J., Wood, C.M., 2007. Renal function in the freshwater rainbow trout after dietary cadmium acclimation and waterborne cadmium challenge. *Comp. Biochem. Physiol.* 145C, 321–332.
- Çiçek, A., Koparal, S. 2001. Porsuk Baraj Gölü'nde Yaşayan *Cyprinus carpio* ve *Barbus plebejus*'da Kurşun, Krom ve Kadmiyum Seviyeleri, *Ekoloji Çevre Dergisi*, Cilt: 10 Sayı: 39, 3 – 6
- Çelik, E. Ş., 2006. Balıkların Kan Parametreleri Üzerine Ağır Metallerin Etkisi. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/1): 49-55
- De Smet, H. B., De Wachler, R., Lobinski, R., Blust, R., 2001. Dynamics of (Cd-Zn)-Metallothionein in gills, liver and kidney of Common carp (*Cyprinus carpio*) during Cd exposure. *Aquatic Toxicol.* 52: 269-281.
- Grosell, M., Nielsen, C., Bianchini, A., 2002. Sodium turnover rate determines sensitivity to acute copper and silver exposure in freshwater animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 133C, 287–303.
- Haux, C., Larsson, A., 1984. Long-term Sublethal Physiological Effects on Rainbow Trout *Salmo gairdneri*, during Exposure to Cadmium and after Subsequent Recovery. *Aquat.Toxicol.*, 5, 129-142.
- Karataş, S., Erdem, C., Cicik, B., 2005. Kadmiyumun *Cyprinus carpio* (L.1758)'da Serum Aspartat Aminotransferaz, Alanin Aminotransferaz ve Serum Glukoz Düzeyi Üzerine Etkileri. *Ekoloji*, 14(55), 18-23.
- Katalay, S., Parlak, H., 2004. The Effects of Pollution on Haematological Parameters of Black Goby (*Gobius niger* L., 1758) in Foça and Aliğa bays E.Ü. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*.
- Katalay, S., Parlak, H., 2004. Kadmiyum'un *Gobius niger* L., 1758 (Pisces: Gobiidae)'in Eritrosit Yapısı Üzerine Etkileri, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, Cilt/Volume 21, Sayı/Issue (1-2): 99 – 102.
- Kayhan, F. E., 2006. Su Ürünlerinde Kadmiyumun Biyobirikimi ve Toksisitesi, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* Cilt/Volume 23, Sayı/Issue (1-2): 215–220
- Köleli, N., Kantar, Ç., 2005. Fosfat Kayası, Fosforik Asit ve Fosforlu Gübrelerdeki Toksik Ağır Metal (Cd, Pb, Ni, As) Konsantrasyonu, *Ekoloji* 14, 55, 1-5.
- Köse, E., Uysal, K., Tokatlı, C., Çiçek, A., Emiroğlu, Ö., Arslan, N., 2012. Assessment of boron in water, sediment and fish tissues of Porsuk Stream, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology* vol. 44 (5): 1446-1449.
- Muhammetoglu, A., Muhammetoglu, H., Oktas, S., Özgökçen, L., Soyupak, S., 2005. Impact Assessment of Different Management Scenarios on Water Quality of Porsuk River and Dam System – Turkey, *Water Resources Management* (2005) 19: 199–210.
- Reynders, H., Bervoets, L., Gelders, M., De Coen, W. M., Blust, R., 2008. Accumulation and effects of metals in caged carp and resident roach along a metal pollution gradient. *Sci. Total Environ.* 391, 82–95.
- Tokatlı, C., 2013. Evaluation of water quality by using trophic diatom index: exaple of Porsuk Dam Lake. *Journal of Applied Biological Sciences* 7 (1): 1-4.
- Tokatlı, C., Köse, E., Arslan, N., Çiçek, A., Uysal, K., 2011. Porsuk Baraj Gölü epipelik diyatome frustullerinde makro ve mikro element konsantrasyonları. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4 (2): 1-6.
- Tokatlı, C., Köse, E., Çiçek, A., Arslan, N., Emiroğlu, Ö., 2012. Evaluation of water quality and the determination of trace elements on biotic and abiotic components of felent stream (Sakarya River Basin/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 5/2: 73-80.
- Uysal, K., 2011. Heavy Metal in Edible Portions (Muscle and Skin) and Other Organs (Gill, Liver and Intestine) of Selected Freshwater Fish Species. *International Journal of Food Properties*, 14:280–286.
- Yazkan, M., Özdemir, F., Gölükçü, M., 2004. Cu, Zn, Pb and Cd contents in some molluscs and crustacea caught in the Gulf of Antalya. (in Turkish). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 28:95-100.
- Yücel, E., Edirnelioğlu, E., Soydam, S., Çelik, S., Çolak, G. 2010. *Myriophyllum spicatum* (Spiked water-milfoil) as a biomonitor of heavy metal pollution in Porsuk Stream/Turkey. *Biological Diversity and Conservation (BioDiCon)*, Volume 3/2, 133-144.

(Received for publication April 07 2012; The date of publication 01 April 2013)