

## Su Kirliliğinin, *Gobius niger* Linn., 1758 (Pisces: Gobiidae)'in Kan Parametreleri Üzerine Etkileri\*

Selma Katalay<sup>1</sup>, Hatice Parlak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muradiye, Manisa, Türkiye.  
<sup>2</sup> Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 35100, Bornova, İzmir, Türkiye.

**Abstract:** *The effects of water pollution on blood parameters of black gobby (Gobius niger Linn, 1758).* In this study, the blood parameters (white blood cells, red blood cells, haemoglobin, mean cell haemoglobin concentration, platelet) of *G. niger* collected from several selected stations of İzmir Bay has been measured. The statistically important differences had been found between the measured white blood cells, haemoglobin, haematocrit, mean cell haemoglobin concentrations of different stations. In the microscopical studies, some histopathological changes due to the environmental conditions have been observed. An increase of immature red blood cells has been observed due to the environmental pollution. Ovoid shape seen in the normal red blood cells have been transformed totally and a marked increase of degenerated red blood cells is obvious. The membranes and ovoid shape of the nuclei seen in the normal red blood cells has been changed fusiform and spheric shape and echinoid view. Dense and compact lymphocytes have been observed instead of small and spheric lymphocytes of the normal lymph.

**Key Words:** Blood parameters, *Gobius niger*, marine pollution

**Özet:** Bu çalışmada, İzmir Körfezi'nin çeşitli yerlerinden seçilmiş istasyonlardan toplanan *G. niger* (kömürücü kaya balıkları)'den alınan kan örneklerinin kan parametreleri (beyaz kan hücreleri (lökosit), kırmızı kan hücreleri (eritrosit), hemoglobin, hematokrit ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu, trombosit) ölçülmüştür. Yapılan mikroskopik çalışmalar sonunda kirliliğin etkisi sonucu bazı histopatolojik değişiklikler ortaya çıkarılmıştır. Kirliliğe bağlı olarak fusiform ve küresel şekilli eritrosit sayısında artış gözlemlenmiştir. Normal kırmızı kan hücrelerinde gözlenen oval şekilli eritrositler tamamen değişime uğramış ve dejenerasyon olmuş eritrosit sayısında artış gözlemlenmiştir. Normal olarak oval şekilli hücre çeperi ile oval ve yassı şekilli nükleuslar değişikliğe uğrayarak fusiform ve küresel şekil almıştır. Hücreler dikensi bir yapı kazanmıştır. Normal beyaz kan hücre yapısında karakteristik olarak gördüğümüz küçük ve sferik şekilli lenfositler yerine anormal, kalın ve yoğun lenfositler gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kan parametreleri, *Gobius niger*, deniz kirliliği.

### Giriş

Klinik kan testleri toksik maddelere maruz kalmış balıklar üzerinde 1950'lerden beri uygulanmaktadır (Shifman ve Arom, 1959). Klinik parametreler, hücresel ve biyokimyasal kan parametreleri (hematoloji), metabolik ve iyon denge işlemlerini kapsar. Bu nedenle subsellüler, sellüler, doku ve organ seviyesindeki değişimler araştırıl-

maktadır. Toksikolojik çalışmalar-da balığın zehirlenme belirtisi göstermeden ve düşük toksik maddeye maruz kalması ile ortaya çıkan gizli ve zararlı etkilerin önceden tahmini ve açıklanması giderek önem kazanmaktadır. Bu yöntemler endüstriyel atık su, ağır metaller, klorlu hidrokarbonlar gibi çeşitli çevresel kirlenmelere maruz kalmış balıklar üzerine subletal etkileri saptamak içinde uygulanmıştır (Larsson ve diğ. 1985).

\* X.Ulusal Su Ürünleri Semp. (22-24 Eylül 1999, Adana) kısmen sözlü tebliğ olarak sunulmuştur.

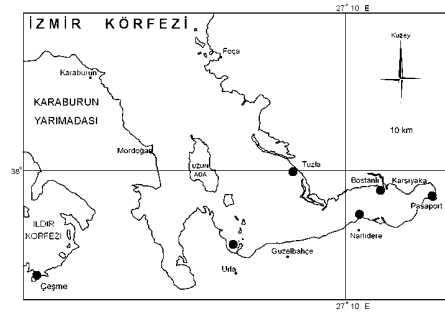
İzmir Körfezi oldukça yoğun evsel ve endüstriyel kirlilik yükü taşımaktadır (Balkaş ve diğ., 1993). Çeşitli önlemler alınmaya çalışılsa bile henüz olumlu sonuçlara ulaşamamıştır. Körfezdeki kirlilik nedeniyle özellikle iç körfez kısmında ekosistem zarar görmüş bir çok canlı türü yaşam alanını terk ederken orta ve dış körfez de aynı tehlike ile karşı karşıya kalmıştır (Kocataş ve diğ., 1997). Sucul ortamdaki kirlilik durumu analitik yöntemler kullanarak belirlenebilmektedir. Ancak, canlıların kirliliğe karşı gösterdiği metabolik, fizyolojik, biyokimyasal vb. tepkiler ölçülerek çeşitli kirlilik düzeyi saptanabilmektedir. Bu çalışmada, körfezin çeşitli yerlerinden toplanmış kaya balıklarının kan parametreleri ölçülerek, ortamın canlı yaşamı için uygun olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır.

### Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan kaya balıkları, *G. niger* tüm Akdeniz’de kirli ortamların indikatör türlerinden birisi olarak kabul edilmektedir (Kaya ve Mater, 1994). Örnekler 1995 Ekim-1997 Ekim arasında mevsimsel olarak Tuzla, Bostanlı, Pasaport, İnciraltı, Urla ve Çeşme sahillerinden el oltası ile ve ıgırıp kullanılarak toplanmıştır (Şekil 1). Araştırma süresince ortalama total boy  $10.3 \pm 1.65$  cm ortalama ağırlık  $13.51 \pm 6.98$  olmak üzere toplam 50 balık incelenmiştir. Balıkların kaudal yüzgeci bistüri yardımıyla kesilerek kaudal venden 0.5 ml hacimindeki kan 75 µl’lik mikrohmatokrit tüplere alınmıştır. Kan parametrelerini belirlemek amacıyla hematolojik analizler Cell DN 1700 coulter counter cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada aşağıda belirtilen kan parametreleri beyaz kan hücreleri (WBC), kırmızı kan hücreleri (RBC), heamoglobin (HGB), hematokrit (HCT), ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hücre hemoglobin konsantras-

yonu (MHC), trombosit (PLT) belirlenmiştir. Ayrıca yayma preparatlar kullanılarak mikroskopik çalışma yapılmıştır. Örneklerin hematolojik analizi yapıldıktan sonra bir damla kan lam üzerine damlatılarak yayma yapılmıştır. Preperatlar 1 saat süre ile kurutulduktan sonra Maygrünwalt tespit maddesi içinde 15dk bekletilmiştir ve distile su ile yıkanmıştır. 1/10 oranında distile su ile seyreltilen Giemsa boyası içinde 20 dakika bekletilerek yıkanan preparatlar kuruduktan sonra ışık mikroskobu ile incelenerek, kan hücrelerinde meydana gelen morfolojik değişimler saptanmıştır (Berkarda ve Eyüpoğlu, 1983).

Elde edilen veriler istasyonlar arasındaki istatistiksel farklılığı ortaya koymak için one-way anova ve multiple range testlerine tabi tutulmuştur.



Şekil 1 İzmir Körfezi’nde örneklerin alındığı istasyonlar.

### Bulgular

İzmir Körfezi’nin çeşitli yerlerinden seçilmiş istasyonlardan toplanan *G. niger* (Kömürücü kaya balıkları)’dan alınan kan örneklerinde yapılan ölçümlerine göre kan parametreleri istasyonlar arasında beyaz kan hücreleri, hemoglobin, hematokrit ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonlarında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 1). Bunun yanı sıra, eritrosit, ortalama hücre hacmi, ortalama hücresel hemoglobin ve trombosit miktarlarında fark görülmemiştir.

**Tablo 1.** İzmir Körfezi'ndeki seçilmiş istasyonlardan toplanan *G.niger* (Kömürcü kayabalığı) örneklerinin kan parametreleri ölçümleri (\* istatistiksel olarak farklı olanlar)

Parametreler	WBC X10 <sup>3</sup> /µL	RBC X10 <sup>6</sup> /µL	Hemoglobin g/dL	Hematokrit %V	MCV FL	MCH Pg	PLT X10 <sup>6</sup> /µL
Tuzla	49.23±5.29*	1.98±1.04	4.29±0.32*	11.07±1.06*	112.78±5.30	44.22±5.30	42.25±7.31
Bostanlı	71.30±6.98	1.33±0.22	5.92±0.68	16.58±2.77	124.72±9.56	44.54±3.21	44.18±18.20
Pasaport	69.40±6.36	1.28±0.11	6.10±0.44	15.88±1.33	125.97±771	39.98±0.58	76.67±14.08
İnciraltı	92.97±7.03*	1.36±0.14	5.20±0.70	18.70±3.23	136.53±111.7	38.17±1.39	47.00±7.51
Urla	78.28±6.35*	1.15±0.08	4.70±0.30	14.38±1.30	125.48±6.11	40.74±0.93	63.82±13.76
Çeşme	99.30±0.70*	1.78±0.15	7.93±0.48	21.00±4.04*	116.8±15.74	45.17±4.23	62.88±1.7
Fcal (5.36)	04.116 P<0.0047	0.481	3.704 P<0.0083	3.16 P<0.0181	0.482	2.473 P<0.050	2.45

Tuzla istasyonundan elde edilen lökosit sayımlarının İnciraltı, Urla ve Çeşme istasyonlarındaki balıkların lökosit değerlerinden düşük olduğu görülmüştür (p<0.0047).

Hemoglobin ölçümleri sonucunda Tuzla'dan toplanan balıkların hemoglobin ve hematokrit değerleri diğerlerine göre düşük, buna karşılık Çeşme istasyonlarından elde edilen hemoglobin ve hematokrit konsantrasyonları ise oldukça yüksek bulunmuştur (sırasıyla p<0.0083 ve p<0.0081).

Mikroskopik çalışmalar sonucunda bazı histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir. Bostanlı, Tuzla ve Pasaport istasyonundan alınan kan örneklerinde eritrosit ve hücre çekirdeği fusiform ve mekik şeklini almıştır. Hücre çeperi de dikensi bir yapı kazanmıştır (Şekil 1 ve 3). İnciraltı ve Pasaport istasyonlarından toplanan balıklarda küçük eritrosit sayısında artış gözlenmiştir. Urla, Çeşme, Tuzla istasyonlarından toplanmış kaya balıklarının periferik kan preparatlarında hipokromi (renk kaybı) gözlenmektedir.

### Tartışma ve Sonuç

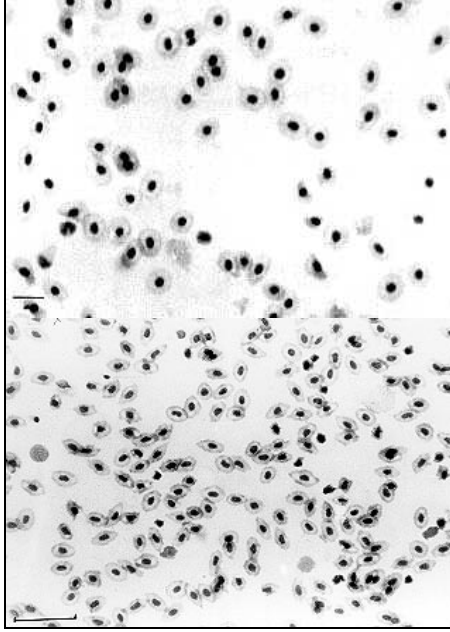
Balıklarda fizyolojik fonksiyonlar ve biyokimyasal proseslerin normal kompozisyonları hakkında bilgiler giderek çoğalmaktadır. Birçok türün kan ve diğer dokuları hakkında normal değerler artan bir şekilde araştırılmaktadır (Larsson ve diğ. 1976., Miller ve diğ. 1983). Ancak yapılan detaylı literatür

çalışması sonucu deney canlısı olan *G. niger* türü balığın normal kan değerleri hakkında bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın, bundan sonra konu ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

Çeşitli çevresel kirleticilere maruz kalan balıklarda subletal toksik etkileri belirleyebilmek için yapılan laboratuvar çalışmalarında klinik programlar uygulanmıştır. Holmberg ve diğ. (1972), Haux ve Larsson (1982) klorlu hidrokarbonlar, Larsson (1975), Larsson ve Haux (1982) ağır metaller, Larsson ve diğ. (1981), Lehtinen ve diğ. (1984) ise endüstriyel atık suların etkilerini araştırmışlardır. Bu laboratuvar çalışmalarından, düşük muamele dozlarında biyokimyasal ve hematolojik metotların olumsuz fizyolojik etkileri ortaya koymak için kullanılabilir yararlı metodular olduğu saptanmıştır.

Konu ile ilgili literatürlerde, test edilmiş fizyolojik değişikliklerin en önemli indikatörleri olarak eritrosit ve lenfositler gösterilmektedir (Larsson ve diğ. 1985). Laboratuvar çalışmalarından elde edilen sonuçlar arazi çalışmalarında da klinik kan parametrelerinin ölçülmesi ile balıkların doğal populasyonlarının sağlığı hakkında bilgiler elde edilebileceğini göstermektedir. Çalışmamız sırasında tüm istasyonlardan toplanan balıkların ortalama eritrosit sayılarının birbirinden farklı olmadığı görülmüştür. Ancak kırmızı kan hücreleri ile ilgili diğer parametreler olan ortalama hemoglobin ve

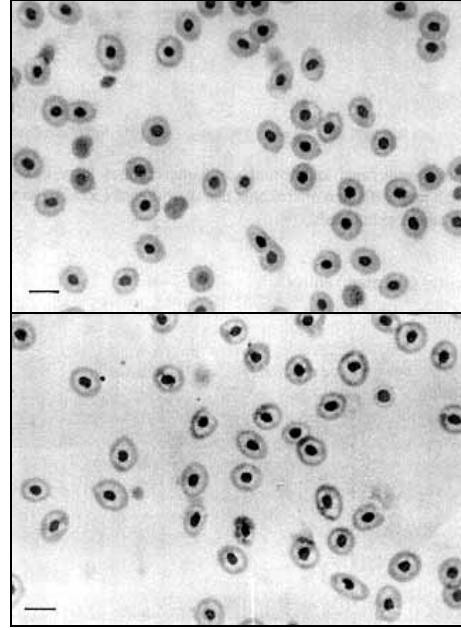
ortalama hücresel hemoglobin miktarlarının Çeşme istasyonunda diğerlerine göre daha yüksek olduğu Körfez içinde kalan İnciraltı ve Pasaport örneklerinde daha az hücresel hemoglobine rastlandığı görülmüştür.



**Şekil 1.** İnciraltı (A) ve Pasaport (B) kıyusal bölgeden toplanan *G. niger* balıklarının periferel kan preparatlarının mikroskopik görünüşü (x252 ve Bar aralığı 10 µm'ye karşılık gelmektedir.) e: Birbirine yapışmış ve küresel şekilli eritrositler, d: dejenere olmuş eritrositler. f: dejenere olmuş fusiform şekilli eritrositler

Diğer kan parametreleri olan lökosit sayısı ve hematokrit ölçümleri de; en yüksek Çeşme, daha sonra İnciraltı, Pasaport ve en az Tuzla istasyonundaki balıklarda saptanmıştır. Larsson ve diğ (1984) ve Hardig ve diğ (1988) çevresel stres yaratan faktörler etkisi ile lökosit miktarında önemli azalmalar olduğunu göstermişlerdir. Bu şekilde balıkların bağışıklık sistemlerinin zayıfladığını vurgulamaktadır. Ayrıca aynı araştırmacılara göre çevresel stresin

hematokrit miktarında da azalmalara neden olduğunu belirtmektedirler. Mikroskopik çalışmalarda lökosit bozuklukları kalın ve yoğun lenfositler olarak görülmektedir (Şekil 2A).

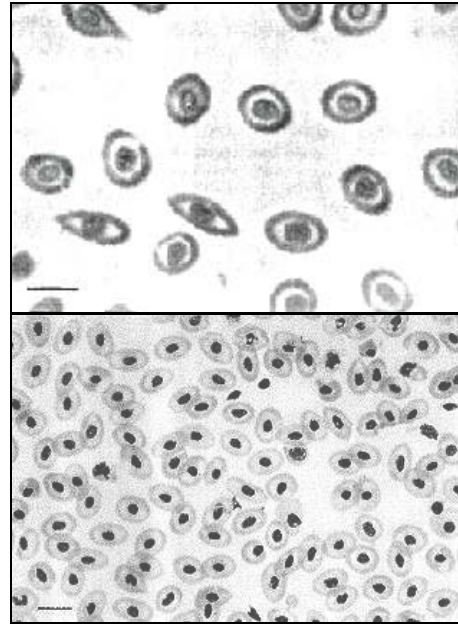


**Şekil 2.** Urla (A), Çeşme (B) kıyusal bölgeden toplanan *G. niger* balıklarının periferel kan preparatlarının mikroskopik görünüşü (x252 ve Bar aralığı 10µm'ye karşılık gelmektedir.) e: hipokromi gözlenen eritrositler l. yoğun lenfositler

Hardig ve diğ. (1988) kağıt fabrikası atık suyu içinde tutulan *Myxsocephalus qadricornis* türü demersal balığın hemoglobin miktarında azalma olduğunu saptandığı çalışması bulgularımızı desteklemektedir. Canlıda stres yaratan çevresel parametrelerden sıcaklık, tuzluluk, kirlilik gibi abiyotik faktörler yanısıra üreme dönemi açlık v.b biyotik faktörler de bu parametrelerde değişiklikler meydana getirebilmektedir. Bu nedenle elde edilen bu verilerin kirlilikten mi yoksa sözü edilen çevresel faktörlerin etkisi ile mi ortaya çıktığını

kesin olarak saptamak zordur. Böylece, çevresel kirliliğin etkisi periferel kan dokusu prepatlarının histolojik gözlemleri ile daha belirgin olarak ortaya koyulabilmektedir. Çeşitli kirlilik tiplerine maruz kalan balıkların kırmızı kan hücrelerinde yapısal bozulmalar oluşabilmektedir. Kağıt endüstrisinin atık sularına maruz bırakılan *Puntinus conchoni* türü balıkların eritrosit sayısında azalmaların yanı sıra mikroskopik gözlemler yapılarak immatür eritrosit oluşumları saptamışlardır. Toksik maddelerin doğrudan veya dolaylı olarak eritrositlerin membran yapılarını, iyon geçirgenliğini ve hücre metabolizmasını bozduğu ortaya koyulmuştur (Nikinmaa, 1992). Çeşitli toksik maddelere maruz bırakılan balıkların eritrositlerinin ekinosit (spiküllü eritrosit) adı verilen dikenli yapıda membrana sahip oldukları ve oval yapılarını kaybederek fusiform veya küresel hal alabildiği gibi sitoplazma içinde de vakuollü veya parçalı çekirdek yada mikronüklei gibi bozukluklar görülebilmektedir (Gill ve Pant, 1985). Bu sözü edilen değişiklikler çok çeşitli evsel ve endüstriyel kirlilik yükü altındaki İzmir Körfezi'nin çeşitli yerlerinden alınan örneklerde de değişik yoğunluklarda gözlenmiştir (Şekil 1-3). Bostanlı, Pasaport, İnciraltı istasyonlarından toplanan balıkların eritrositlerinde çeşitli çeper deformasyonları ve mekik şekilli eritrositlerin kirlilik sonucu ortaya çıktığı açıkça görülmektedir. İnciraltı istasyonundan toplanan balıklarda ise küçük eritrositler, küresel şekilli ve yapışık eritrositler de dikkati çekmektedir (Şekil 1A). Pasaport istasyonundaki kaya balıklarının periferel kan prepatlarında eritrosit şekil bozuklukları belirgin olarak görülmekte ve daha çok dejenere olmuş fusiform ve spiküllü şekiller ayırt edilmektedir (Şekil 1B). En bozuk eritrosit şekillerine Bostanlı istasyonunda rastlanmaktadır. Bu istasyondaki

eritrositlerde ileri derecede çeper bozuklukları, mekik şekilli ve spiküllü yapı bozuklukları dikkati çekmektedir (Şekil 3A). Bostanlı istasyonuna ait su ve sedimentin ileri derecede toksik olduğu Boyacıoğlu ve Parlak (2000), Oral ve diğ. (2001) tarafından ortaya koyulmuştur. Bu bulgular da verilerimizi desteklemektedir.



**Şekil 3.** Bostanlı (A), Tuzla(B) kıyısız bölgeden toplanan *G. niger* balıklarının periferel kan prepatlarının mikroskopik görünüşü (x252 ve Bar aralığı 10 µm'ye karşılık gelmektedir.) e: fusiform şekil ve çeper bozukluğu olan eritrositler E: ileri hipokromi gözlenen eritrositler.

Histolojik prepatların incelenmesi sonucu iç ve orta körfeze ait istasyonlardan Pasaport, Bostanlı ve İnciraltı istasyonlarındaki eritrositlerin yapısal bozukluklarının kirlilik nedeniyle ortaya çıktığı anlaşılmaktadır. Buna karşılık, dış körfezde yer alan istasyonlardan olan Urla, Tuzla ve Çeşme'de, çeşitli kan parametrelerinde değişiklikler gözlenmiş ancak histolojik

bozukluk fazla görülmemiştir. Kan parametrelerindeki bu değişikliklerin kirlilik yanı sıra başka birçok ekolojik faktöre de bağlı olması yorum yapmamızı güçleştirmektedir.

Bu nedenle, deniz kirliliği çalışmalarında özellikle kırmızı kan hücrelerinin mikroskopik yöntemle incelenmesi potansiyel olarak yararlı veriler elde edilmesini sağlayacaktır.

#### Kaynakça

- Balkas, T., Yetis, Chung, U., 1993. The Integration of environmental consideration into coastal zone management İzmir bay, Turkey. OECD Documents, 87-108.
- Berkarda, B., Eyüpoğlu, H., 1983. Giemsa boyama tekniği hematoloji laboratuvar yöntemleri. Cerrahpaşa Tıp fak. İç Hastalıkları Onkoloji Birimi. 78-80.
- Boyacıoğlu, M., Parlak, H., 2000. İzmir Körfezi'ne akan derelerin mutajenitesi. I.Ulusal Deniz Bilimleri Konferansı. 30 Mayıs-2 Haziran 2000, Ankara. Bildiri Özetleri Kitapçığı, 29.
- Gill, S. T., Pant, C. J., (1985). Mercury-induced blood anomalies in the freshwater teleost *Barbus conchoniuc* Ham. Water, Air and Soil Poll 24 (1985) 165-171
- Haux, C., Larsson, Å., (1982). Influence of inorganic lead on the biochemical blood composition in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Ecotoxicol. Environ.Saf.6,28-34.
- Härdig, J., Andersson, T., Bengtsson, B-E., Förlin, L., Larsson, Å., (1988). Long-term effects of kraft mill effluents on red and white blood cell status, ion balance. And vertebral structure in fish. Ecotoxicol. Environ. Saf, 15, 96-106
- Holmberg, B., Jensen, S., Larsson, Å., Lewander, K., Olsson, M., (1972). Metabolic effects of technical pentachlorophenol (PCP) on the eel *Anguilla anguilla* L. Comp. Biochem. Physiol B 43, 171-183
- Kaya, M., Mater, S., 1994. İzmir Körfezi'ne dökülen liman içi çamurun eski ve yeni dökü sahası bentik balıkları faunasına olası etkilerinin araştırılması. E.Ü Fen Fak.. Dergisi Seri B (16/1):367-374.
- Kocataş, A., Ergen, Z., Katağan, T., Önen, M., Çınar, M. E., Öztürk, B., Doğan, A., 1997. The effects of the pollution on the distribution of benthos in the bay of İzmir. Marine Research in the İzmir Bay. September 17-19 Workshop Abstract , 90.
- Larsson, Å., (1975). Some biochemical effects of cadmium on fish..In.Sublethal effects of toxic chemicals on aquatic animals. Eds.J.H.Koeman and J.J.T.W.A Strik. Elsevier Publ. 3-13.
- Larsson, Å., Johansson-Sjöbeck,M.-L., Fänge, R., (1976). Comparative study of some haematological and biomedical blood parameters in fishes from the Skagerrak. J.Fish Biol. 9,425-440
- Larsson, Å., Bengtsoon, B.E., Haux, C., (1981). Disturbed ion balance in flounder *Platichthys flesus* L. Exposed to sublethal levels of cadmium. Aquat.Toxicol. 1,19-35
- Larsson, Å., Haux, C., (1982). Altered carbohydrate metabolism in fish exposed to sublethal levels of cadmium. J.Environ.Biol 3, 71-81.
- Larsson, Å., Haux, C., Sjöbeck, M. L., Lithner, G., (1984). Physiological effects of an additional stressor on fish exposed to a simulated heavy-metal containing effluent from sulfide ore smeltery. Ecotoxicol. Environ Saf, 8, 118-128.
- Larsson, Å., Haux, C., Sjöbeck, M. L., 1985. Fish physiology and metal pollution: results and experiences from laboratory and field studies. Ecotoxicol. Environ Saf, 9: 250-281.
- Lehtinen, K. J., Larsson, Å. Klingstedt, G. (1984) Physiological disturbance in rainbow trout *Salmo gairdneri* (R.), exposed at two temperatures to effluents from a titanium dioxide industry. Aquat. Toxicol 5, 155-156
- Lochmiller, R. L., Weichman, J. D., Zale, A. V., (1989). Hematological assesment of temperature and oxygen stress in a reservoir population of Striped Bass (*Morone saxsatis*) Com. Biochem. Physiol A 93 535-541
- Miller, W. R., Hendricks. A. C., Cairns, J. Jr., (1983). Normal ranges for diagnostically important hematological characteristics of

- rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canad. J. Fish. Aquat. Sci. 40, 420-425
- Nikinmaa, M., 1992. How does environmental pollution effect red cell function in fish? Aquatic Toxicology, 22: 227-238.
- Oral, R., Parlak. H., Boyacıoğlu. M., Çakal. Ö., 2001 İzmir iç körfeze dökülen dere sedimentlerinin deniz kestanesi embriyo testi ile toksisitenin belirlenmesi. XI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 4-6 Eylül 2001 Hatay. Bildiri ve Poster Özetleri, 40
- Shiffman, R. H., Arom, P. H., 1959. Measurement of some "physiological parameters in rainbow trout (*Salmo gairdneri* ). Can. J. Zool. 37, 25-37.