

## Tıbbi Sülük *Hirudo medicinalis* L., 1758 Üzerinde Bakır Sülfatın ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) Akut Toksisitesinin Araştırılması

\*Naim Sağlam, Ayşegül Şahin

Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Balık Hastalıkları ABD, 23119- Elazığ, Türkiye

\*E mail: nsaglam@firat.edu.tr

**Abstract:** *Acute toxicity of copper sulphate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) on medical leech *Hirudo medicinalis* L. 1758.* In this study acute toxicity effect of copper sulphate on medical leech *Hirudo medicinalis* was investigated. For this purpose, 0,025 ppm, 0,05 ppm, 0,1 ppm concentrations of copper sulphate for were applied to leeches as bath for 96 h. 96 h – LD<sub>50</sub> value was observed as 0.0044 ppm. In addition, severe mucous and hemoragie were observed in leeches. Death periods of leeches were also observed for each dosages.

**Key Words:** Leech, *Hirudo medicinalis*, Copper sulphate, Acute Toxicity, Lethal concentrations, lethal times.

**Özet:** Bu çalışmada, bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )'ın Tıbbi sülük *Hirudo medicinalis* üzerindeki akut toksisitesi ve etkisi araştırıldı. Çalışmada 0,1 ppm, 0,05 ppm, 0,025 ppm lik bakır sülfat konsantrasyonları sülüklere 96 saat süreyle banyo şeklinde uygulandı. Sülüklerde aşırı mukus salgısı ve hemorajiler gözlemlendi. Bakır sülfatın 96 saat için LD<sub>50</sub> değeri 0,0044 ppm olarak belirlendi. Ayrıca her doz için sülüklerin ölüm süreleri de tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Sülük, *Hirudo medicinalis*, Bakır sülfat, Akut Toksikite, Letal doz, Letal süre.

### Giriş

Sülükler Annelida içinde yer alan, ektoparazit olan ve kan emerek beslenen canlılardır. Ancak bütün sülükler kan emici değildir. Bazı türler omurgasızları, Annelida'ya ait diğer sınıfların bireylerini, salyangozları ve böcek larvalarını yerler. Kan emenler balık, kurbağa, kaplumbağa, salyangoz ve kabuklu su canlıları ile omurgalı hayvanlarda ve insanlarda ektoparazit olarak yaşar (Barnes, 1974; Çağlar, 1973; Demirsoy, 1982; Geldiay ve Geldiay, 1991; Karol vd, 1982; Kaestner, 1967; Halton, 1989; Sağlam, 2000; Sağlam, 2004; Sağlam ve Sarrieyüpoğlu, 1998).

Sülükler parazit oldukları gibi *H. medicinalis* gibi bazı türlerinin tıbbi kullanımları nedeniyle ekonomik önemleri de bulunmaktadır. Ülkemizde de *H. medicinalis*'in ticareti yapılmakta ve toplanarak yurt dışına ihraç edilmektedir. Şu anda dünyada en önemli sülük ihraç eden ülkelerden birisi Türkiye'dir. Ancak modern tıpta aşırı kullanımı nedeniyle neslinin tükenmesi tehlikesiyle karşı karşıya kalan *H. medicinalis* CITES Sözleşmesiyle koruma altına alınmıştır. Bu sözleşmeyi imzalayan ülkeler *H. medicinalis*'in toplanması ve ihracatı konusunda kotalar koyulmasına karar vermişlerdir (Anonim., 1996; Sağlam, 2000; Sağlam, 2004).

*H. medicinalis*'in popülasyonlarının azalmasında ticari olarak toplanmasının yanında, tarım arazilerinde aşırı kullanılan zirai mücadele ilaçlarının da payı büyüktür. Bakır sülfat en yaygın kullanılan zirai mücadele ilaçlarından birisidir. Bakır sülfat, kültür balıkçılığında fungal ve paraziter hastalıkların tedavisinde, tarım alanlarında bitkileri tahrip eden zararlılarla mücadelede, havuzlarda zararlı otların yok

edilmesinde ve su bitkilerinin büyümesinin kontrol altında tutulmasında sıkça kullanılan kimyasal maddelerden biridir (Arda ve diğ., 2002; Boyd, 1982; Sağlam ve Ural, 2003).

Bu çalışma, hem nesli tehlike altında bulunan hem de ekonomik önemleri yüksek olan sülükler için bakır sülfatın akut toksisitesinin, letal doz ve letal sürelerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

### Materyal ve Yöntem

Çalışmada, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Cip Balık Üretim ve Araştırma Tesisindeki sülük üretim ve yetiştirme havuzlarından sağlanan toplam 40 Sülük (*Hirudo medicinalis*) kullanıldı. Sülükler tesisten su dolu bir bidon içinde canlı olarak Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarına getirildi ve kapaklı özel bir akvaryuma bırakıldı. Sülüklerin bir hafta süre ile akvaryum ortamına adaptasyonları sağlandı. Bakır sülfatın sülüklere uygulanabilmesi için havalandırma sağlanan beşer litrelik toplam dört akvaryum hazırlandı. Bu akvaryumlardan birisi kontrol grubu olmak üzere kloruz çeşme suyu ile diğer üçü ise sırasıyla 0.025 ppm, 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik bakır sülfat solüsyonlarıyla üçer litre dolduruldu. Kontrol gurubuna ve farklı konsantrasyonlardaki bakır sülfat solüsyonlarının her birine ortalama  $7,8 \pm 1,8$  cm boyunda ve  $1,4 \pm 0,2$  gr ağırlığında 10'ar sülük bırakıldı. Bu solüsyonlardaki sülüklerin genel durumları 12., 24., 48., 72., ve 96. saatler sonunda kontrol edilerek ölüm miktarları saptandı ve davranışları takip edildi. Sonuçların değerlendirilmesinde SPSS bilgisayar hazır paket programındaki probit tahmin yöntemi kullanılarak Tıbbi

sülük, *Hirudo medicinalis* için bakır sülfatın letal doz ve süreleri belirlendi.

### Bulgular

Bakır sülfatın 0.025 ppm lik solüsyonuna bırakılan sülüklerde ilk 12 saat içerisinde ölüm görülmedi. Sülüklerde ilk ölüm 24. saatte başladı ve 96. saat sonunda toplam dokuz sülük öldü (Tablo 1). 12. saatten sonra sülüklerde yüzme aktivitelerinde yavaşlama ve vücutlarını kıvrım yaparak akvaryumun yan yüzeylerine tutunma tespit edildi. Zaman ilerledikçe sülüklerin akvaryum tabanında toplandığı ve vücutlarını salarak ölmeye başladıkları gözlemlendi.

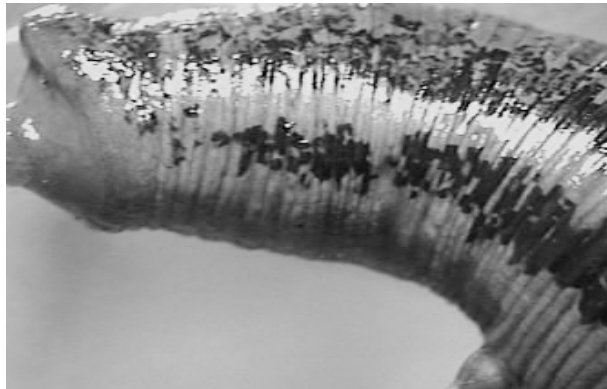
Bakır sülfatın 0,05 ppm lik solüsyonunda sülüklerin 12. saatte ölmeye başladığı ve 96. saatte dokuzunun öldüğü tespit edildi (Tablo 1). Sülüklerde yüzme aktivitelerinin azaldığı, anterior ve posterior çekmenlerde daha yoğun olmakla beraber vücutta mukus salgısının arttığı ve vücudun çeşitli bölgelerinde hemoraji olduğu gözlemlendi (Şekil 1, 2, 3).

Sülüklerin 0.1 ppm lik bakır sülfat solüsyonunda 12 saatte ikisinin 72. saatte ise tamamının öldüğü belirlendi (Tablo 1). Sülüklerin 5-6. saatlerde yüzme aktivitelerini kaybetmeye başladığı, yoğun bir mukus salgıladığı, tabanda hareketsizce durdukları ve vücudun çeşitli bölgelerinde hemoraji olduğu saptandı (Şekil 1, 2, 3).

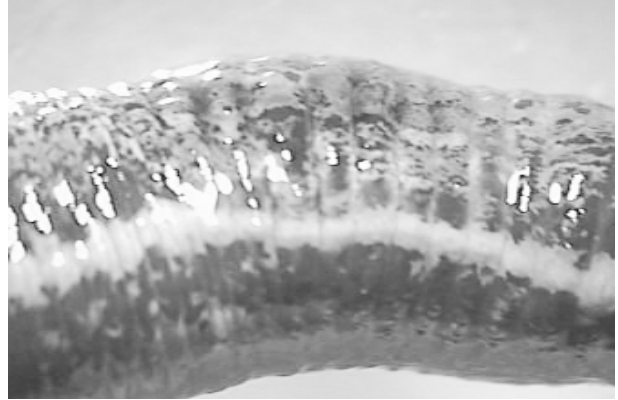
**Tablo 1.** Bakır sülfatın 0.025 ppm, 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik solüsyonlarında süreye bağlı olarak ölen *Hirudo medicinalis* sayısı.

Bakır sülfat solusyonları (ppm)	Süre (saat)				
	12	24	48	72	96
0.025	-	1	3	5	9
0.05	1	4	6	9	9
0.1	2	5	7	10	-
Kontrol	-	-	-	-	-

Bakır sülfatın *Hirudo medicinalis* için letal doz değerleri Tablo 2'de verildi. Bakır sülfatın 12 saat için LD<sub>50</sub> değeri 0.2093 ppm, 24 saat için 0.0878 ppm, 48 saat için 0.0444 ppm, 72 saat için 0.0261 ppm ve 96 saat için ise 0.0044 ppm olarak tespit edildi.



**Şekil 1.** Bakır sülfatın 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik solüsyonlarında bulunan *Hirudo medicinalis*'in anterior çekmen ve genital organında oluşan hemorajinin görünüşü.



**Şekil 2.** Bakır sülfatın 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik solüsyonlarında bulunan *Hirudo medicinalis*'in dorsal yüzeyindeki hemorajinin görünüşü.



**Şekil 3.** Bakır sülfatın 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik solüsyonlarında bulunan *Hirudo medicinalis*'in posterior çekmeni üzerindeki hemorajinin görünüşü.

Bakır sülfatın 0.025 ppm, 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik solüsyonlarında *Hirudo medicinalis*'in letal süreleri Tablo 3'de verildi. Bakır sülfatın 0.025 ppm'lik solüsyonu için LT<sub>50</sub> değeri 60 s 10dk, 0.05 ppm için 34s 3 dk ve 0.1 ppm için ise 24 s 15 dk olarak belirlendi.

**Tablo2.** Bakır sülfatın *Hirudo medicinalis* için 12, 24, 48, 72 ve 96 saatlerdeki Letal dozları.

Letal Dozlar	Süreler (saat)				
	12	24	48	72	96
LD <sub>10</sub>	0.0614	0.0199	0.0081	0.0115	0.0006
LD <sub>20</sub>	0.0936	0.0331	0.0146	0.0153	0.0012
LD <sub>30</sub>	0.1268	0.0478	0.0222	0.0187	0.0019
LD <sub>40</sub>	0.1643	0.0655	0.0318	0.0222	0.0030
LD <sub>50</sub>	0.2093	0.0878	0.0444	0.0261	0.0044
LD <sub>60</sub>	0.2667	0.1177	0.0620	0.0306	0.0064
LD <sub>70</sub>	0.3456	0.1610	0.0887	0.0364	0.0097
LD <sub>80</sub>	0.4680	0.2323	0.1348	0.0445	0.0157
LD <sub>90</sub>	0.7863	0.3864	0.2410	0.0588	0.0307

### Tartışma ve Sonuç

Tıbbi sülük *Hirudo medicinalis*'e bakır sülfatın akut toksisitesinin ortaya çıkarılmaya çalışıldığı bu çalışmada bakır

sülfatın konsantrasyonu arttıkça sülüklerin daha çabuk öldükleri görülmüştür. Bu sonuç tüm toksik maddelerle yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla aynıdır.

**Tablo 3.** Bakır sülfatın 0.025 ppm, 0.05 ppm ve 0.1 ppm'lik solusyonlarında *Hirudo medicinalis*'in letal süreleri.

Letal Süreler:	Bakır sülfat solusyonları (ppm)		
	0.025	0.05	0.1
LT <sub>10</sub>	28 s 37 dk	11 s 7 dk	9 s 10 dk
LT <sub>20</sub>	36 s 56 dk	16 s 20 dk	12 s 48 dk
LT <sub>30</sub>	44 s 23 dk	21 s 33 dk	16 s 17 dk
LT <sub>40</sub>	51 s 57 dk	27 s 18 dk	20 s 1 dk
LT <sub>50</sub>	60 s 10 dk	34 s 3 dk	24 s 15 dk
LT <sub>60</sub>	69 s 41 dk	42 s 29 dk	29 s 24 dk
LT <sub>70</sub>	81 s 32 dk	53 s 50 dk	36 s 8 dk
LT <sub>80</sub>	97 s 59 dk	71 s 2 dk	45 s 58 dk
LT <sub>90</sub>	126 s 27 dk	104 s 18 dk	64 s 13 dk

Sülükler için bakır sülfatın LD<sub>50</sub> değerinin 96. saatte 0.2 ppm, oligoketler için ise 0.4 ppm olduğu belirlenirken (URL1), bu çalışmada *Hirudo medicinalis* için LD<sub>50</sub> değeri (0.0044 ppm) çok düşük belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre, bakır sülfatın *Hirudo medicinalis* için oldukça toksik olabileceği ortaya çıkmıştır.

Gara ve diğ., (2004), bakır sülfatın Tıbbi sülük, *Hirudo medicinalis* ve tatlı su oligoketlerinden *Lumbriculus variegatus*'a etkisi üzerine yapmış oldukları bir çalışmada 24 saat için LD<sub>50</sub> değerini 0.0718 ppm olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise benzer süre için LD<sub>50</sub> değeri (0.0878 ppm) Gara ve diğ. (2004)'nin bildirdiği miktarla yakın olmasına rağmen biraz yüksek tespit edilmiştir

Su ürünleri yönetmeliğine göre bakır sülfatın alıcı su ortamındaki değeri ise 0.15 ppm olarak kabul edilmiştir (Sağlam, 2003). Oysa yapılan bu çalışmada yönetmeliğe göre belirlenmiş olan kabul edilebilir değerin 12 saatte *H. medicinalis*'in yaklaşık %40'ını, 24 saatte %70'ini, 48 saatte %80'ini ve 72 saatte ise %100'ünü öldürebileceğini göstermektedir (Tablo 2). Yine çalışmada kullanılmış olan 0.1 ppm'lik bakır sülfatın *H. medicinalis*'in %50'sini 24 saat 15 dakikada, %90'nını ise 64 saat 13 dakikada öldürdüğünü ortaya koymuştur (Tablo 3). Bu sonuçlar nesli tehlike altında bulunan ve CITES sözleşmesi ile koruma altına alınmış olan *H. medicinalis* için, Su Ürünleri Yönetmeliğinde belirlenmiş olan kabul edilebilir değerin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Bakır sülfat tarımda ve su ürünlerinde her ne amaçla kullanılırsa kullanılsın çok dikkatli davranılmalıdır. Bakır

sülfatın su ürünleri yönetmeliğinde belirtilen alıcı su ortamları için kabul edilebilir değerin çok altındaki miktarları dahi *H. medicinalis* için oldukça tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle doğal ortamdaki sülüklerin korunabilmesi ve onların nesillerinin devam ettirilebilmesi için bakır sülfat kullanımında çok dikkatli davranmak gereklidir. Kullanılan bakır sülfat solusyonlarının gelişi güzel sulara dökülmemesi, tarım arazilerinden yüzey akışıyla sulara girişinin engellenmesi ve tarımda kullanım sırasında ilaçlama aletlerinin dere ve göl sularında yıkanmaması gerekir.

## Kaynakça

- Arda, M., S. Seçer, M. Sarıyüpeoğlu. 2002. Balık Hastalıkları. Medisan Yayınları Serisi, No: 56, Ankara, 142s.
- Anonim. 1996a. Nesli Tehlike Altında olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslar arası Ticaretine İlişkin Sözleşme. 20 Haziran 1996 tarih ve 22672 Sayılı Resmi Gazete. Ankara, 16-115s.
- Barnes, R.D. 1987. Invertebrate Zoology, WB.Saunders Compony. Philadelphia, Washington, pp. 233-316
- Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York, 318 pp.
- Çağlar, M. 1973. Omurgasız Hayvanlar. İstanbul Üniv.Yayınlarından Sayı: 1803, Fen Fak. Sayı:115, 1. Kısım. 2. Baskı, Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 419 s.
- Demirsoy, A. 1982. Yaşamın Temel Kuralları/Omurgasızlar, Meteksan A.Ş. Ankara, 139-158 s.
- Geldiay, R., S. Geldiay. 1991. Genel Zooloji. Ege Üniv. Basımevi. İzmir, 453s.
- Gara, B., K. Bohannon., M. Teague, B. Smeaton. 2004. Copper- induced Changes in Locomotor Behaviors and Neuronal Physiology of the Freshwater Oligochaete, *Lumbriculus variegatus*. Aquatic Toxicology 69: 50-66.
- Halton, C.M. 1989.Those Amazing Leeches. Dillon Press. Minneapolis, Minnesota, 120 p.
- Keasner, A. 1967. Invertebrate Zoology, Volume 1., Interscience Publishers, A Division of John Wiley And Sons. New York, London, Sdney, 597 p.
- Karol, A., C. Ayvalı, T. Güven. Z. Suludere. 1982. Zooloji, Modern matematik ve Fen Kitapları 129. Milli eğitim Basımevi, İstanbul, 618s.
- Sağlam, N. ve M. Sarıyüpeoğlu. 1998. Tatlısu Sülüğü (*Nepheleopsis obscura*)'nın Biyolojisi, Morfolojisi, Bazı Kimyasak Maddelerle Kontrolü ve Alabalığa (*Oncorhynchus mykiss*) Olan Etkisi. F. Ü. Fen ve Müh. Bilimleri Dergisi, 10,2, 105-123. (Doktora Tezinden Özetlenmiştir).
- Sağlam, N. 2000. Sülük Biyolojisi ve Yetiştirme Teknikleri.Ticari Balık Türlerinin Biyolojisi ve Yetiştirme Teknikleri Hizmet İçi Eğitim Semineri 1-5 Mayıs. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı, Tarımsal üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri Daire Başkanlığı, Ankara. 51-56.
- Sağlam, N. 2003. Su Ürünleri Mevzuatı. Üniversite Yayınevi, Elazığ, 281 s.
- Sağlam, N. 2004.Tatlı Su ve Deniz Sülükleri Tanı Anahtarı. Fırat Üniversitesi Basım Evi. 38 s.
- Sağlam, N. M. Ural. 2003.Değişik Yoğunluktaki Bakır Sülfat Solusyonunda Bırakılan Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Makroskobik ve Mikroskobik İncelemeler. F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi,15 (1), 89-97.
- URL1, www.pesticideinfo.org/Detail Poisoning