



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AMONYAĞA MARUZ BIRAKILAN SAZAN (*CYPRINUS CARPIO*
L. 1758) BALIKLARINDAKİ HİSTOPATOLOJİK ve ERİTROSİT
MORFOLOJİLERİNE GİLABORU (*VİBURNUM OPULUS L.*)
BİTKİ ÖZÜTÜNÜN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hamiyet POLAT

DANIŞMAN

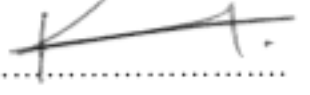
Dr. Öğr. Üyesi Kenan ERDOĞAN

AKSARAY, 2019

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 142307414 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, Hamiyet POLAT tarafından hazırlanan “**AMONYAĞA MARUZ BIRAKILAN SAZAN (*Cyprinus carpio* L. 1758) BALIKLARINDAKİ HİSTOPATOLOJİK ve ERİTROSİT MORFOLOJİLERİNE GİLİBORU (*Viburnum opulus* L.) BİTKİ ÖZÜTÜNÜN ETKİSİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY ÇOKLUĞU ile Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kenan ERDOĞAN

Üniversite Adı: Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu OY BİRLİĞİ ile onaylıyorum.

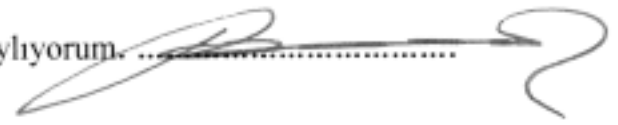
Üye: Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU

Üniversite Adı: Ahi Evran üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu OY BİRLİĞİ ile onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Belda ERKMEN

Üniversite Adı: Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu OY BİRLİĞİ ile onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 07/08/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Hamiyet POLAT

Hamiyet

TEŞEKKÜR

Bu araştırmada beni en iyi şekilde yönlendiren ve her zaman yanımda olan tez danışmanım Sn. Dr. Öğr. Üyesi Kenan ERDOĞAN' a, çalışma boyunca laboratuvar analizleri aşamasını başarılı bir şekilde geçirmemi sağlayan Sn. Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN, Sn. Prof. Dr. Mehmet İlker DOĞRU, Sn. Doç. Dr. Hüseyin POLAT, Sn. Doç. Dr. Belda ERKMEN, Sn. Doç. Dr. Arzu DOĞRU' ya, ayrıca yüksek lisans boyunca her türlü desteğini benden esirgemeyen babam Faruk POLAT, annem Filiz POLAT ve kardeşlerim Zeynep ÖZKAN ve Mustafa ÖZKAN' a, tabi bu süreçte her zaman ve her sıkıntı da yanımda olan Yasemin Avnioğlu, Betül TEKİN ve Özge AYAZ'a teşekkür ederim.

Hamiyet POLAT

AKSARAY, 2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	2
1.1.1 Araştırma konusu kimyasal ve türlere ait genel bilgiler	2
1.1.1.1 Amonyak.....	2
1.1.1.1.1 Amonyağın kimyasal yapısı	2
1.1.1.1.2 Su ortamında amonyak oluşumu.....	3
1.1.1.1.3 Su ortamından amonyağın uzaklaştırılması	4
1.1.1.2 Gilaboru	5
1.1.1.2.1 Tüketime göre kullanım şekilleri	6
1.1.1.3 Sazan balığı (<i>Cyprinus carpio</i>)	7
1.1.2 Araştırma konusu dokulara ait genel bilgiler	9
1.1.2.1 Kan dokusu	9
1.1.2.1.1 Eritrosit	10
1.1.2.1.2 Lökosit	10
1.1.2.1.3 Trombosit.....	10
1.1.2.2 Solungaç.....	11
1.1.2.3 Karaciğer.....	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
2.1 Amonyak ileYapılan Çalışmalar	13
2.2 Gilaboru ile Yapılan Çalışmalar	16
2.3 Sazan Balığı ile Yapılan Çalışmalar	18
2.4 Morfolojik Anomaliler ile İlgili Yapılan Çalışmalar	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1 Materyal.....	23
3.1.1 Araştırma birimi.....	23
3.1.2 Deneyde kullanılan balıklar	23
3.1.3 Etik kurul	24
3.1.4 Deney düzeneği.....	25
3.1.5 Akvaryum sistemi	25
3.1.6 Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler	26
3.1.7 Deneyde kullanılan araç ve gereçler	26
3.2 Yöntem	29
3.2.1 Bitki özütünün hazırlanışı	29
3.2.2 Dozların balıklara uygulaması	31
3.2.2.1 Amonyağın uygulanması	31
3.2.2.2 Gilaboru bitki özütünün uygulanması	31
3.2.2.3 Kan preparatlarının alınması.....	32
3.2.2.4 Doku preparatlarının hazırlanması.....	33
3.2.2.5 Mikroskop inceleme	34
3.2.2.6 Histopotolojik inceleme	34
3.2.2.7 Eritrosit morfolojilerinin incelenmesi.....	34

3.2.3 Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistik analizleri.....	35
3.2.4 Amonyaga maruz kalan balıkların makroskopik incelenmesi	35
4. ARASTIRMA BULGULARI	36
4.1 Histopatolojik Bulgular	36
4.1.1 Karaciğer.....	36
4.1.2 Solungaç.....	46
4.2 Eritrosit Morfolojileri.....	53
4.2.1 Mikronükleus (MN):.....	55
4.2.2 Çentikli nükleus	56
4.2.3 Tomurcuklu nükleus	57
4.2.4 Loblu nükleus:	57
4.2.5 Binükleus	58
4.3 Çekirdek Morfolojileri	58
4.3.1 Ekinosit	58
4.3.2 Hipokromi.....	59
4.3.3 Küremsi.....	59
4.3.4 Orak	60
4.3.5 Fusiform (eliptosit)	60
4.4 Eritrositlerin Hacim Ölçümleri	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	69
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ.....	81

YÜKSEKLİSANS TEZİ

AMONYAĞA MARUZ BIRAKILAN SAZAN (*CYPRINUS CARPIO* L. 1758) BALIKLARINDAKİ HİSTOPATOLOJİK ve ERİTROSİT MORFOLOJİLERİNE GİLABORU (*VIBURNUM OPULUS* L.) BİTKİ ÖZÜTÜNÜN ETKİSİ

Hamiyet POLAT

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kenan ERDOĞAN

ÖZET

Bu çalışmada 4 ve 21 günlük (akut ve kronik) amonyağa maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758) balıklarında meydana gelen histopatolojik ve eritrosit morfolojilerindeki değişimlere gilaboru (*Viburnum opulus* L.) bitki özütünün olumlu veya olumsuz etkileri araştırılmıştır.

Kontrol grubu dışındaki gruplara tek doz amonyak (5ppm) ve 3 farklı doz gilaboru bitki özütü (25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg) ayrı ayrı ve birlikte uygulanmıştır. Uygulama sonucunda karaciğer dokularında hepatositlerde vakuolleşme, hücreler arası mesafede genişleme ve mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Solungaç dokusunda ise; sekonder lamellerde epitel ayrılması, kısalma, birleşme ve uçlarda çomaklaşma gözlenmiştir. Eritrositlerin incelenmesinde hücre morfolojisinde; ekinosit, hipokromi, küremsi, orak ve fusiform değişiklikler gözlenirken çekirdek morfolojilerinde ise; mikronükleus, çentikli, tomurcuklu, loblu ve binükleus değişimleri tespit edilmiştir. Meydana gelen değişikliklerin tümü dikkate alındığında kontrol grubuna göre 4 ve 21 günlük sürelerde gilaboru bitki özütü kullanılan grupta aşırı değişimler gözlenmezken amonyak grubunda doz ve süreye bağlı olarak artan değişimler gözlenmiştir. Amonyakla gilaboru bitki özütünün birlikte kullanıldığı grupta değişimler amonyak grubuna göre azalmış olmakla birlikte kontrol grubuna göre gözlenen değişimlerin fazla olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta; amonyağın meydana getirdiği değişimlerde gilaboru bitki özütünün olumlu etkileri olmakla birlikte en iyi dozunun araştırılması için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Sazan, Amonyak, Gilaboru, Histopatoloji, Eritrosit morfolojisi.

Mayıs, 2019; 81 sayfa

M.Sc. THESIS

**THE EFFECTS OF GILABORU (*VIBURNUM OPULUS* L.) PLANT
EXTRACT ON HISTOPATHOLOGICAL AND ERYTHROCYTE
MORPHOLOGIES IN CARP FISH (*CYPRINUS CARPIO* L. 1758) EXPOSED
TO AMMONIA**

Hamiyet POLAT

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Kenan ERDOĞAN

ABSTRACT

In this study, positive and negative the effects of viburnum opulus (*Viburnum opulus* L.) plant extraction changes in histopathological and erythrocyte morphologies were investigated when carp fish (*Cyprinus carpio* L.1758) were exposed to ammonia for 4 and 21 (acute and cronic) days.

Single dose ammonia (5 ppm) and 3 different doses of *Viburnum opulus* plant extract (25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg) were exposed separately and together to groups outside the control group. As a result of the application, vacuolization of hepatocytes in liver tissues, widening between cells and mononuclear cell infiltration were observed. In gill tissue, epithelial separation, shortening, conjugation and clubbing in the ends were observed in secondary lamellae. In the examination of erythrocytes, echinocyte, hypochromia, spheroid, sickle and fusiform changes were observed in cell morphology, while micronucleus, notches, bud, lobed and binucleus changes were detected in the nucleus morphologies. When all of the changes were taken in to consideration, there were no excessive changes in the group using *Viburnum opulus* plant extract for 4 and 21 days compared to the control group, while increasing changes were observed in the ammonia group depending on the dose and duration. In the group where ammonia and *Viburnum opulus* plant extrat were applied together the changes were decreased compared to the ammonia group, but the changes observed changes were higher than the control group. In conclusion, although there are positive effects of *Viburnum opulus* plant ectract in the changes caused by ammonia, it is concluded that new studies are needed to investigate the best dose.

Keywords: *Cyprinus carpio*, *Viburnum opulus*, Ammonia, Histopathlogy, Erythrocyte morphology.

May, 2019; 81 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Amonyakın kimyasal formülü.....	12
Şekil 1.2.	Gilaboru bitkisi.....	14
Şekil 1.3.	Sazan balığı	17
Şekil 1.4.	Solungaç	19
Şekil 3.1.	Bilimsel ve teknolojik uygulama laboratuvarı	31
Şekil 3.2.	Deneyde kullanılan balıklar	32
Şekil 3.3.	Akvaryum sistemi	34
Şekil 3.4.	Doku takip cihazı	35
Şekil 3.5.	Doku bloklama cihazı.....	36
Şekil 3.6.	Sıcak su banyosu ve ısıtıcı tabla.....	36
Şekil 3.7.	Mikrotom.....	37
Şekil 3.8.	Gilaboru bitki özütünün hazırlanışı.....	38
Şekil 3.9.	Gilaboru bitki özütünün sulandırılması	38
Şekil 3.10.	Gilaboru bitki özütünün gavaj yöntemiyle verilmesi.....	40
Şekil 3.11.	Kuyruk kesimi sonrası kan damlası alınması.....	41
Şekil 3.12.	Araştırma mikroskobu.....	43
Şekil 4.1.	Kontrol grubu 4 gün karaciğer dokusu.....	44
Şekil 4.2.	Kontrol grubu 21 gün karaciğer dokusu.....	45
Şekil 4.3.	Amonyak (5 mg/L) 4 gün karaciğer dokusu	45
Şekil 4.4.	Amonyak (5 mg/L) 21 gün karaciğer dokusu	46
Şekil 4.5.	Gilaboru (25 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu	47
Şekil 4.6.	Gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu	47
Şekil 4.7.	Gilaboru (50 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu	48
Şekil 4.8.	Gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu	48
Şekil 4.9.	Gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu	49
Şekil 4.10.	Gilaboru (100 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu	49
Şekil 4.11.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu.....	50
Şekil 4.12.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu.....	50
Şekil 4.13.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (50 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu.....	51
Şekil 4.14.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu	51
Şekil 4.15.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu.....	52
Şekil 4.16.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (100 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu.....	52
Şekil 4.17.	Kontrol grubu 4 gün solungaç dokusu	54
Şekil 4.18.	Kontrol grubu 21 gün solungaç dokusu	54
Şekil 4.19.	Amonyak (5 mg/L) 4 gün solungaç dokusu.....	55
Şekil 4.20.	Amonyak (5 mg/L) 21 gün solungaç dokusu	55
Şekil 4.21.	Gilaboru (25 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu	56
Şekil 4.22.	Gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu	56
Şekil 4.23.	Gilaboru (50 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu	57
Şekil 4.24.	Gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu	57
Şekil 4.25.	Gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu	58
Şekil 4.26.	Gilaboru (100 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu	58
Şekil 4.27.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu.....	59
Şekil 4.28.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu.....	59
Şekil 4.29.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (50 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu.....	60
Şekil 4.30.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu.....	60
Şekil 4.31.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu.....	61
Şekil 4.32.	Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (100 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu.....	61

Şekil 4.33. Mikronükleus (MN)	63
Şekil 4.34. Çentikli nükleus.....	63
Şekil 4.35. Tomurcuklu nükleus.....	64
Şekil 4.36. Loblu Nükleus	64
Şekil 4.37. Binükleus.....	65
Şekil 4.38. Ekinosit.....	66
Şekil 4.39. Hipokromi	66
Şekil 4.40. Küremsi	67
Şekil 4.41. Orak.....	67
Şekil 4.42. Fusiform	68
Şekil 4.43. Eritrosit ölçümü (a-uzun eksen, b-kısa eksen)	68
Şekil 4.44. Nükleoplazmik indeks hesaplama.....	69



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Deney grupları	24
Çizelge 3.2. Deneyde kullanılan suyun kalite kriterleri.....	30
Çizelge 4.1. Karaciğer dokularında görülen lezyonların gruplara göre dağılımı.....	44
Çizelge 4.2. Solungaç dokularında görülen lezyonların gruplara göre dağılımı	53
Çizelge 4.3. Nükleoplazmik indeks alanı.....	60
Çizelge 4.4. 4 günlük eritrosit morfolojikler.....	61
Çizelge 4.5. 21 günlük eritrosit morfolojikler.....	61
Çizelge 4.6. 4 Günlük eritrosit morfolojiklerin % değerleri	62
Çizelge 4.7. 21 günlük eritrosit morfolojiklerin % değerleri	62
Çizelge 4.8. 4 günlük eritrositlerde görülen nükleus anormallikleri sayılarının anlamlılık bilgileri	64
Çizelge 4.9. 21 günlük eritrositlerde görülen nükleus anormallikleri sayılarının anlamlılık bilgileri	65



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
Aza	Azadirachtin
BH	Büyüme hormonu
BN	Binukleus
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
CFE	Toplam fenolik içeriğin
ÇN	Çentikli nukleus
DMH	Dimetilhidrazin
EAT	Ehrlichascites tümörü
FGJ	Taze gilaboru suyu
G	Gram
g/kg	Gram/ kilogram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GPx	Gluthationeperoksidaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
Hb	Hemoglobin
HCl	Hidroklorik asit
Hct	Hemotokrit
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme fatkörü
IL-1β	İnterlökin-1 beta
IL-6	İnterlökin-6
Kal(SO₄)₂	Potasyumalum
Kg/ m³	Kilogram/ metre küp
KN	Kabarcıklı nukleus
Lc50	Deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon
LN	Loblu nukleus
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MDA	Malondialdehit
Mg	Miligram
Mg/kg	Miligram/ kilogram
Mg/L	Miligram/Litre
Mm	Milimetre
MN	Mikronükleus
NA	Çekirdek anomalileri
NH₃-N	İyonize olmamış amonyak
NH₄Cl	Amonyum klorür
NH₄-N	Amonyum iyonu (iyonize olmuş)
PA	Provanosiyanidinlerin
PGJ	Pastörize gilaboru suyu
Ph	Asitlik ve bazlık derecesi
Ppm	mg çözünen/kg veya litre çözelti
Sc	Subkutan enjeksiyon
SOD	Süperoksit dismutaz
T₃	Triiyodotronin
T₄	Tiroksin

TAN	Toplam amonyak
TN	Tomurcuklu nükleus
TNF-a	Tümör nekroz faktör alfa
TSH	Tiroid uyarıcı (stimule) hormon
TT₃	Toplam triiyodotronin
TT₄	Toplam tiroksin
VO	Viburnum opulus
WBC	Akyuvar
°C	Santigrad derece
µg/L	Mikrogram/ Litre



1. GİRİŞ

Balık eti ve yağı; gelişim geriliği, depresyon, hiperaktivite, dikkat eksikliği ve birçok hastalıkta sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca temel aminoasitler, yağ asitleri (omega3 ve omega6) ve vitamin bakımından da oldukça zengin temel bir besindir. Kırmızı ete göre daha faydalı ve ucuz olan balık etinin tüketimi için avlanmanın yanında kültür balıkçılığı da ülkemizde oldukça yaygındır. Balıklar su içinde yaşadığından, sudaki olumsuz çevresel değişimlerden balık eti ve yağlarında fazlaca etkilenebilmektedir. Amonyak özellikle kültür balıkçılığında balık üretilmesi ve et kalitesi üzerine olumsuz etkileri olan ve hem yemlerle hem de balığın kendi metabolik artıkları sonucunda boşaltım sistemi ile suya karışan toksik bir madde olarak göze çarpmaktadır. Sularda genellikle amonyak, amonyum iyonu (NH_4) şeklinde bulunur. Amonyum iyonize olmamış amonyağa göre daha çok toksik etki gösterir. İyonize olmamış amonyak ise; balıkların solungaç hücrelerinden doğrudan geçebilen tehlikeli azotlu bileşiktir. Bu bileşikler balıklarda üreme kapasitesi kaybına, solunum fonksiyonu bozukluklarına, çeşitli dokularda histopatolojik değişikliklere (gözde ve deride kararma, solungaç epitellerinde hasar, hiperplazi vb.) neden olduğu ve büyümeyi etkilediği bildirilmektedir (Benli vd., 2008; Iqbal vd., 2013).

Alternatif tıp bilimlerinde hastalıkların tedavisinde çeşitli bitkisel ilaçlar kullanılmaktadır. Gilaboru bitkisi de antioksidan, antikanserojen, antibakteriyel vs. etkileri olan ve bu amaçla kullanılan bir bitkidir. Bileşimindeki etken maddeler vücuttaki serbest radikallerin atılmasına yardımcı olur. Ayrıca gilaborunun; yaşlanmayı geciktirici, mutasyonu engelleyici, kanseri durdurucu, kolesterolü düşürücü, idrar yolu iltihaplarının temizlemesi, vücuttaki ödemlerin giderilmesi, kalp-damar ikilisine destek vererek hastalık oluşmasının engellenmesi ve karaciğer hastalıklarına da olumlu etkileri olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (Hanna vd., 2013).

Bu çalışmanın önemi de amonyağın oluşturduğu hasarlara karşı gilaboru bitki özütünün solungaç ve karaciğer dokularındaki değişimlere olumlu etkileri yanında kan hücrelerinden eritrositlerdeki çevresel faktörlere bağlı olarak gözlenen morfolojik değişikliklere olumlu etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu parametrelerdeki olumlu değişimler aynı zamanda balık sağlığı üzerine de olumlu

etkiler oluşturacağı kuşkusuzdur. Balık sağlığı için olumlu olan dozun bulunarak yem rasyonlarına gılaboru bitkisinin eklenmesi kültür balıkçılığında problemlerden biri olan amonyağın hasarını ortadan kaldırması veya azaltması kaçınılmazdır. Bu sayede ülke ekonomisine katkılarının olacağı da göz önünde bulundurulmalıdır.

1.1 Genel Bilgiler

1.1.1 Araştırma konusu kimyasal ve türlere ait genel bilgiler

1.1.1.1 Amonyak

Eski Mısır'da bulunan Amon Tapınaklarını ısıtmak için deve tezeklerinin yakılması sonucu ortaya çıkan kimyasal maddeler, tavanda tuz ve beyaz kristaller şeklinde amonyum klorür biriktirir ve buna da halk tarafından "Amon'un tuzu" denilmektedir. Amonyak su içerisinde iyonize olmuş ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) ve iyonize olmamış ($\text{NH}_3\text{-N}$) şeklinde bulunur. İyonize olup olmaması suyun pH ve sıcaklık düzeyine bağlıdır. Araştırmalara göre; balıklar yaklaşık olarak 100 gr yemden 2,2 gr amonyak oluşturabilmekte ve bunu solungaçlarından dışarı atmaktadırlar (Losordo vd., 1999).

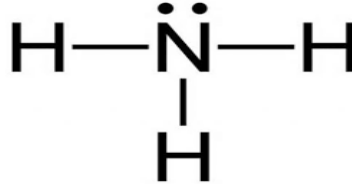
$\text{NH}_4^+\text{-N}$ sudaki canlının hücre zarından geçemez ama $\text{NH}_3\text{-N}$ sudaki canlının hücre zarından geçebilir. Buna bağlı olarak da $\text{NH}_3\text{-N}$ suda yaşayan canlılarda toksik etki oluşturabilir (Arslan ve Kır, 2006, 2007).

Balık retim havuzlarında kullanım dışında kalan yem, amonyak ve karbondioksit miktarını artırır. Biriken amonyak oksijeni azalttığı için su kalitesini de düşürmektedir. Bunun sonucunda da serbest aminoasit seviyesini değiştirdiği, büyüme hızını azalttığı, kan protein konsantrasyonunun seviyesini değiştirdiği, oksijen ihtiyacını ve amonyak atılımını artırdığı ve yüksek ölümlere sebep olduğu bilinmektedir (Losordo vd., 1999; Rosso ve Thurson, 1991).

1.1.1.1.1 Amonyaağın kimyasal yapısı

Basit formülü NH_3 olan amonyak 1 molekül Azot ve 3 molekül Hidrojenden oluşmaktadır. Amonyak; molekül ağırlığı 17,03 gram, kaynama noktası $-33,5\text{ }^\circ\text{C}$, erime noktası ise $-77,7\text{ }^\circ\text{C}$ olan gaz halindeki bir bileşiktir. Suda hızlı çözünür ancak çözünen moleküllerin çok azı suyla tepkimeye girer. Bu sebeple amonyaaağın sulu çözeltisi baz özelliği göstermektedir. Sudaki zeltelerde toplam amonyak

konsantrasyonu iyonlaşmamış amonyak (NH₃) ve iyonlaşmış amonyak (NH₄) toplamıdır (TAN). Sularda NH₃ belirleyicidir ve pH 'ya bağlı olarak artar ve kimyasal formülü (Şekil 1.1) aşağıdaki gibidir.



Şekil 1.1. Amonyağın kimyasal formülü (URL-1).

1.1.1.1.2 Su ortamında amonyak oluşumu

Amonyak, balıkların metabolik atıkları ve yemleme kaynaklı oluşmaktadır. İz miktarlarda oluşan amonyak renksiz ve kokusuzdur bu nedenle amonyağın tespit edilebilmesinin tek yolu düzenli su testlerinin yapılmasıdır. Düşük miktarlardaki amonyak balıklar üzerinde strese ve solungaç hasarlarına neden olmaktadır. Düşük miktarlarda amonyağa uzun süre maruz kalan balıklarda bakteriyel enfeksiyonlar oluşabilir, balıkların büyüme performansları düşebilir ve tesis içerisinde yapılan rutin çalışmalardan daha fazla etkilenebilirler. Suda yüksek dozlarda amonyak bulunması ise; balıklarda ani ve açıklanamayan ölümlere neden olur.

Amonyak miktarında yükselme görüldüğü andan itibaren yükselmenin temel kaynağı olan yemleme hemen kesilmelidir. Su değerleri normalleşene kadar yemleme yapılmamalıdır. Amonyak seviyesinin yükselmesi zaten balıkları strese sokacak ve yem alımını azaltacaktır. Yemleme yapıldığı takdirde fazla yem su parametrelerini bozacaktır. Balık tarafından yenilmeyen yemlerin acilen ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir (Hamzaçebi vd., 2010).

Balıkların diğer canlılara oranla daha fazla dışarıya attıkları amonyak en küçük ve en basit bileşiktir. Amonyak solungaç zarlarından kolayca geçebilir ve fazla enerji harcamadan dışarı atılır. Fazla amonyak atılımı da daha fazla enerji gerektireceği için protein kullanımını artırır. Suya amonyağın bırakılması için ihtiyaç duyulan enerjinin

metabolik faaliyetler için kullanılmasına ve büyümenin azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Doğan ve Erdem, 2008).

Sudaki toksik olan amonyak konsantrasyonu (mg/L veya ppm) TAN ile çarpılarak bulunur. TAN; amonyum ve amonyağın toplamıdır ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) (Brunson vd., 1997).

Amonyak, sudaki canlıların gelişmesini etkileyen en zehirli azotlu bileşiktir. Sularda yenilmeyip kalan yemlerle ve balıkların metabolizma ürünü sonucunda sudaki miktarı artmaktadır (Lawson, 1995).

Balıktaki proteinlerin metabolik yıkılmasında son ürün amonyaktır. Balık, besinleri beslenme sırasında sindirir sonra da solungaç ve dışkılama yoluyla amonyağı dışarı atar. Amonyak %80-90 oranında solungaçlardan atılır (Dostat, 1995).

Balıkların dışarı attığı amonyak miktarı besin miktarıyla doğru orantılıdır. Bundan dolayı besin miktarı artarken aynı zaman da amonyak miktarında da artış gözlenir (Salin ve Williot, 1991).

1.1.1.1.3 Su ortamından amonyağın uzaklaştırılması

Amonyak; göl, akarsu, haliç gibi ortamlarda ötrifikasyon ve nitrifikasyon sonucu ortamdaki oksijen açığının artmasına sebep olur. Sudaki bu olumsuz etkilerinin yanında balıklara toksik etkide bulunması nedeniyle su kalitesinde birinci derece öneme sahip parametrelerden biridir.

Canlıların amonyak maruziyetine karşı dayanıklılığı farklılık gösterir. Örneğin; balıklarda amonyak zehirlenmelerinde yumurta verimi azalır, solunumda artışla birlikte renk solması ve gelişim bozuklukları görülür. Bu durumların oluşmaması için amonyak detaylı bir biyolojik filtrasyon ile temizlenmelidir ve kirlenmenin giderilebilmesi için ön filtre ve dip temizliği çok sık yapılmalıdır (Ceylan, 2015).

Amonyak suda serbest formda olduğunda 0,2 mg/L gibi çok düşük miktarlarda bile olsa bazı balık türlerinin ölümüne sebep olmaktadır. Ayrıca 0,004 mg/L üzerindeki amonyum konsantrasyonlarına maruz kalan balıklarda karaciğer, beyin ve böbrekte hasarlara, solungaçlarda hiperplazi gibi sublethal etkilere sebep olabileceği belirtilmiştir (Machova vd., 1993).

1.1.1.2 Gilaboru

Dünya üzerinde yetişen 138 meyve türünün 75'i Türkiye'de yetiştirilebilmektedir. Bu da ülkemizi tür ve çeşit yönünden zengin kılar. Gilaboru da (*Viburnum opulus L.*) Türkiye'de yetişen meyvelerden biridir (Davis, 1972).

Gilaboru (*Viburnum opulus L.*) Caprifoliaceae ailesindendir. Bu tür kışın yapraklarını döker ve 2 ile 4 m arasında boyu uzayabilir. Gilaborunun meyveleri turşu, yemiş, reçel ve farklı şekillerde tüketilmek üzere değerlendirilir (Bolat ve Özcan, 1995).

Gilaboru; Türkistan, Kuzeybatı Afrika, Avrupa ve Kanada'da yayılım göstermektedir. Daha geniş olarak da Kuzey Afrika ve Avrasya'da dağılım gösterir (Kr'stev ve Mel'nikova, 1988).

Türkiye'de yetiştiriciler gilaboruyu yaygın olarak tercih etmezler. Gilaborunun geleneksel tıpta farklı alanlarda geniş bir kullanımı mevcuttur. Genellikle meyvesi, kabuğu, çiçeği ve sıkılması sonucu elde edilen suyu kullanılmaktadır. Taze gilaboru meyvesinin içeriğinde; %7,81 su içerisinde eriyebilen kuru madde, %6,71 protein, %5,83 indirgen glukoz, %19,86 selüloz ve bunlar ile birlikte 2473,8 mg/kg K⁺ (potasyum), 560 mg/kg askorbik asit, 402,62 mg/kg Na⁺ (sodyum) bulundurur (Baytop, 1963).

Türkiye'de yetişmekte olan bu meyve; Gülabba, Giligili, Gilebolu, Gilaboru ve Gilaboru gibi farklı adlarla anılmaktadır. Bitkisel görünümünden dolayı süs bitkisi olarak kullanıldığı da görülmektedir(Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Gilaboru bitkisi (URL-2).

Alem: Plantae

Şube: Magnoliophyta,

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Dipsacales

Familya: Caprifoliaceae (Hanımeliğiller)

Cins: *Viburnum*

Tür: *Viburnum opulus L.*(Gilaboru).

1.1.1.2.1 Tüketime göre kullanım şekilleri

En basit ve kolay tüketme şekli salamura gibi hazırlandıktan sonra meyvelerinin tek tek alınarak tüketilmesidir. Ayrıca salamura olarak hazırlanan meyvelerin sıkılması sonucu elde edilen suyu da tüketilebilmektedir. Gilaborunun kabuklarında fazlaca vitamin bulunur. Suyu sıkıldıktan sonra kabuklarını atmak yerine kaynatılarak bu vitaminler değerlendirilebilir ve gilaboru şekerli ve şekerli olarak da kullanılabilir.

Gilaboru halk arasında başlıca İç Anadolu bölgesinde birden fazla faydaları için kullanılır. Kayseri, Yozgat, Nevşehir gibi farklı illerde öncelik olarak böbrekler, idrar yolları, safra ve karaciğer için faydalı olduğuna inanılarak kullanılır. Gilaboru halk arasında kullanılırken bilim insanları da gilaboru için araştırmalar yapmaya başlamışlardır. Dünya çapında yapılan çalışmalarla birlikte ülkemizde de gilaborunun çok önemli olduğu görülmüş ve bu sayede deneysel çalışmalarda artmaktadır (URL-2).

Gilaboru şifalı bir bitkidir. Bu yüzden kabuk ve meyveleri bitkisel tıpta geniş bir alanda kullanılır. Kabukların kaynatılmasıyla hazırlanan çay, dahili olarak yüksek tansiyon, astım, kas krampları, kabakulak, epilepsi nöbetleri, bazı kalp rahatsızlıkları, doğumdan sonra oluşan sancılar, uyku problemleri, menstrüal sancılar, romatizma ve bazı sinir hastalıklarında kullanılır. Harici olarak ise; egzama gibi bazı deri hastalıklarında kullanılır. Gilaboru meyvesinden elde edilen suyun tüketilmesiyle böbreklerde bulunan taş ve kumlar kimyasal olarak erir. Bu sayede de idrar ile ağrısız biçimde atılması sağlanır. Anadolu'da safra kesesi ve karaciğer rahatsızlıkları tedavisinde de kullanılmaktadır. Antikanser etkisi de vardır (Aksoy vd., 2018).

Ayrıca, gilaboru meyvesi böbrek taşı, günümüzde kullanılan lazer tekniğinden farklı olarak kimyasal olarak çözer ve idrarla atılırken ağrı ve sancı hissettirmez. Böbrek taşı tamamen eriyerek kimyasal madde olarak atılmaktadır (Aksoy vd., 2006).

1.1.1.3 Sazan balığı (*Cyprinus carpio*)

Sazan balığı (*Cyprinus carpio* L, 1758), sazangiller (Cyprinidae) familyasındandır. Dünya üzerinde Türkiye'de geniş bir yayılım gösteren tatlı su balığıdır. Türkiye'de iç su üretimi olarak ilk sırada yer alan balıklardandır ve sevilerek tüketilmektedir (Alp vd., 2008).

Büyük pulları olan bir balıktır. Pullar vücudun her iki yanına yayılır. Sırt, göğüs ve karın yüzgeçlerinin etrafına dağılır. Vücudu yüksektir. Yanları yassı, dudakları etli ve gelişmiştir. Sırt yüzgeci kuyruk yüzgecine kadar uzanır ve kuyruk yüzgeci iki çatalıdır, uç kısımları da ovaldir. Yüzgeçlerin ön kısımlarında sert dikenler vardır. Göğüs bölgesindeki yüzgeçler, karın bölgesinin altına doğru yerleşim gösterir ve yüzgeçleri yumuşaktır. Balığın yan tarafları açık sarı, sırt tarafı siyah, kuyruk

bölgesinde bulunan yüzgeçleri ve anal bölgesi turuncudur (Alagöz vd., 2002; Gökoğlu, 2002). Sazanın Asya, Avrupa, Afrika ve Avustralya'da yetiştiriciliği yapılırken Türkiye'de doğal yetiştiriciliği yapılan bir balık türüdür. 'Adi sazan', 'pullu sazan' isimleri kullanılmaktadır (Alikunhi, 1966).

Sazan ılık su balığıdır. Kış döneminde derin yerlerde dinlenmeye çekilir, çok az veya hiç besin almaz. Özellikle zemini çamurlu ve besini bol yerleri tercih ederler. Sazan besinini dipten temin eden omnivor bir türdür. Besinlerini, planktonlar, bitki parçaları, bentik su hayvanları, bitkisel artıklar oluşturur. Türkiye içsularında 27 aileye ait 226 tür ve alttürü olan balık yaşamaktadır. Bu balıkların 170'i tatlısuda yaşar. Bu 170 balığın 108'i Cyprinidae ailesine aittir (Alagöz vd., 2002). Sistematigi aşağıdaki (Şekil 1.3) gibidir.



Şekil 1.3. Sazan balığı (URL-5).

Alem: Animalia

Şube: Chordata

Altşube: Vertebrata

Sınıf: Osteichthyes (kemikli balıklar)

Takım: Cypriniformes (sazangiller)

Aile: Cyprinidae (sazanlar)

Cins: *Cyprinus*

Tür: *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758.

Sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758), diğer balık türlerine göre daha dayanıklıdır. Yetiştiriciliği kolaydır. Ani sıcaklık değişimlerine karşı dayanıklıdır (Künkü, 2018).

Az oksijene ihtiyaç duyarlar. 1°C'nin altında su sıcaklığında dahi yaşayabilirler. Sazan %5 tuzlulukta Korkmaz (2019) ve 5-9 pH aralığında düzenli büyümelerini devam ettirir. Tuzluluk oranı deneysel olarak %12'ye çıkarıldığında da büyümesini devam ettirdiği izlenmiştir (Billard ve Marcel, 1986; Wood ve Ghannudi, 1985).

Sazan Türkiye'nin iç su balık üretiminde önemli bir yer tutar. En çok Ege, Güney Anadolu ve İç Anadolu bölgesinde üretimi yapılmaktadır. Üretiminde özellikle üreme döneminde durgun sular tercih edilir. Sazan Ege bölgesinde 1. yılında 350 gr, 2. yılında 1500 gr'ın üzerinde bir ağırlığa ulaşır ve pazar boyutlarına 2. yılın sonunda ulaşmış olur. Sazanlar bu boyutlara, Avrupa da ancak 4 yıl gibi bir sürede ulaşabilmektedir (Choi vd., 1975). Sazanlar genellikle göller ve durgun nehirlerde su sıcaklığı 18-22°C aralığında iken gruplar halinde yumurtlarlar. Sazan yavruları havuzlarda oluşan fitoplanktonlar ve zooplanktonları ilk besin olarak kullanırlar.

Aynalı sazan, doğal sazanın kültüre alınmış halidir. Aynalı sazanın sırtı daha yüksektir. Tıknaç ve gövdesinin çoğunluğu pulsuzdur. Pulları yuvarlak ve değişik yerlerine yayılmıştır. Suni yetiştiricilik şartlarına daha dayanıklıdır ve Türkiye'de 1970 yılından beri üretimi sağlanmaktadır (Atay ve Çelikkale, 1983).

1.1.2 Araştırma konusu dokulara ait genel bilgiler

1.1.2.1 Kan dokusu

Kan dokusu; kıkırdaklı balıkların leyding organının bulunmasıyla ortaya çıkmıştır. İlerleyen zamanlarda da kan dokusu ve kan hücrelerinin oluşumuna yönelik çalışmalar yapılmıştır (Arnold, 2009). Kan dokusunun hücreleri sabittir ve bundan dolayı diğer hücrelerden ayrılır. Kan dokusu kan hücreleri içinde devamlı hareket halindedir. Kanın en önemli işlevi; organizmanın normal şartlarının devamlılığını sürdürmektir. Memelilerde vücut kütlelerinin %7-8'i kandır. Kanın %40-65'i plazmadır ve %30-55'i de kan hücreleridir. Balıklarda ise; kan omurgalı hacmine göre daha azdır ve 2-7 µl/100 gr aralığındadır (Karataş, 2005). Kanda bulunan plazmanın yapısında kan proteinleri (albümin, lipoproteinler, globülinler, seruloplazmin, fibrinojen, erimiş halde inorganik iyonlar, iyoduroforin), lipoitler,

vitaminler, glikoz, atık maddeler, erimiş gazlar, hormonlar, aminoasitler ve enzimler bulunur. Kan hücreleri ise; eritrosit (alyuvar), lökosit (akyuvar) ve trombositlerdir (kan plaketi-kan pulcuğu) (Demir, 2009; Tanyolaç, 2000).

Balıklarda kan hücreleri oluşumu memelilere göre daha hızlıdır. Memelilerde 8-9 gün sürerken balıklarda 22-24 saat arasındadır (Bonaventura vd., 2005).

Balıklarda olgun kan hücreleri üç gruba ayrılır. Eritrosit, lökosit ve trombositir.

1.1.2.1.1 Eritrosit

Kırmızı kan hücreleridir. Alyuvarlar olarak da bilinirler. Rengini hemoglobinden alırlar. Kandaki hücrelerin %99'dan fazlasını eritrositler oluşturmaktadır. Ömürleri 120 gün kadardır. Memelilerde tipik organelleri ve çekirdekleri yokken daha aşağı yapılı omurgalılarda çekirdeklidirler. Balık kanındaki eritrosit miktarları türlere göre değişmektedirler. Eritrositlerin en önemli görevi; oksijen ve karbondioksit taşımalarıdır. Eritrosit miktarını anlamak için anemi belirlenmelidir (Aktümsek vd., 2002). Balıklarda eritrositler yaşam boyu oluşur ve kan dolaşımındaki eritrositlerde hemoglobin çıkmaya devam etmektedir. Ayrıca, son yapılan çalışmalarda balık eritrositlerinin bağışıklık sisteminde rol oynayan hücreler gibi hareket edebileceği de ortaya çıkarılmıştır (Claver ve Quaglia, 2009; Blazer vd., 2007). Birçok bitki ve bitki ekstratlarının balıkların eritrosit miktarında artışlara sebep olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.

1.1.2.1.2 Lökosit

Beyaz kan hücreleridir, akyuvar olarak da bilinirler. Bağışıklık sisteminde görev alır ve vücudu enfeksiyonlara karşı korurlar. 5 farklı hücresi vardır. Bunlar; bazofil, eozinofil, nötrofil, lenfosit ve monositir.

1.1.2.1.3 Trombosit

Renksizdirler ve kan pulcukları olarak bilinirler. Vücuttaki kanama durumlarında kanın pıhtılaşmasını sağlarlar.

1.1.2.2 Solungaç

Solungaçlar, kemikli balıklarda farenksin altında bulunan 4 çift tam solungaçtan oluşur. Her tam solungacın, solungaç yayının arkasında, iki yarım solungaç bulunur. Balıkların yarım solungaçları primer lamellalardan oluşur. Yay üzerinde tarak şeklindedir. Primer lamellaların ventral ve dorsal yüzeyinde sekonder lamellalara rastlanır. 4 bölümden oluşurlar (Şekil 1.4) (Benli, 2001). Bunlar;

Solungaç kapakları (operculum)

Kemikli balıklarda solungaç üzerinde bulunan parça kemiklerden oluşan hareketli kapaklardır.

Solungaç zarları

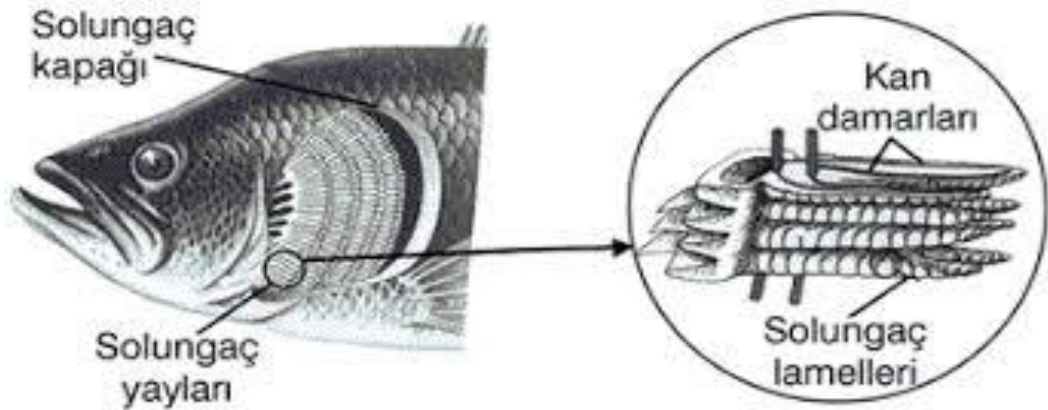
Üst taraftan solungaç kapağına, alt taraftan da boğaz bölgesine bağlanan solungaç ışıını diye adlandırılan kemiksi çubuklarla desteklenen oluşumlardır.

Solungaç dikenleri

Uzunlukları ve sayıları türlere göre değişen, solungaç yaylarının iç kısmına yerleşmiş olan, kıkırdak veya kemikten oluşmuş iğnemsî yapılarıdır.

Solungaç lamelleri

Solungaç yaylarının dış kısmına yerleşmiş şekilde bulunan, üzerinde sayısız kılcal damar barındıran ve kırmızı renkli görülen liflerin oluşturduğu yapılardır (Anonim, 2006).



Şekil 1.4. Solungaç (URL-5).

1.1.2.3 Karaciğer

Kemikli balıkların vücut boşluğunun ön kısmında bulunan karaciğer, kahverengi ve kırmızı renktedir. Mide üzerinde bulunmakta olup iki loba sahiptir. Safra kesesi. karaciğerin içinde gömülüdür. Seröz bir zar ile çevrili olan karaciğer bazı kemikli balıklarda basit ve düzenli bir organdır. Sazan (*Cyprinus sp.*) balığında ise pankreatik doku, toplardamar kolları boyunca karaciğere sarılmış durumda bulunur Balık karaciğerindeki kan akışı, kalpteki kan akışına göre daha yavaş olduğundan toksik maddenin oluşturduğu olumsuz etkilere daha duyarlıdır (Benli, 2001).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Amonyak ile Yapılan Çalışmalar

Hasan ve arkadaşının yaptığı çalışmada; Pullu sazan yavruları üzerinde NH_3 toksitesinin letal etkileri araştırılmıştır. 48 saat, 96 saat ve 168 saatlik LC_{50} değerleri sırası ile 1,76 (1,67–1,85), 1,74 (1,65–1,84) ve 1,64 (1,53–1,76) mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ olarak belirtilmiştir (Hasan ve Machintosh, 1986).

Chun ve arkadaşının yaptığı çalışmada; ortalama ağırlıkları 5,96 gram olan pullu sazanları, 72 saat süre ile farklı pH (6,5-7-7,5 ve 8), farklı NH_3 (10, 20 ve 30 mg/L TAN) ve farklı su sıcaklıklarına (20°C, 25°C ve 30°C) maruz bırakmışlardır. Deney sonrasında böbrekler, karaciğer ve solungaç dokuları histopatolojik yönden incelenmiştir. Amonyak konsantrasyonu, su sıcaklığı ve pH'ı arttırmak böbrek, karaciğer ve solungaçta nekroz ve hipertrofi gibi doku değişikliklere neden olmuştur. pH ve su sıcaklığının yükseltilmesi ile karaciğerde ağır vakuol oluşumu gözlenmiştir. Böbrekte oluşan hasar ise 20°C'de pH düzeyi 8'de 30 mg/L TAN konsantrasyonunda tespit edilmiştir (Chun ve Yang, 1986).

Orban ve arkadaşının yaptığı çalışmada; üç gün boyunca ortalama ağırlıkları 2,4 gram olan sazanların ortam suyuna 125, 375 ve 625 $\mu\text{g/L}$ miktarlarında NH_4Cl eklenerek 20°C'de eşik tolerans düzeyi 125 ve 375 $\mu\text{g/L}$ $\text{NH}_3\text{-N}$ aralığında bulunmuştur. 375 $\mu\text{g/L}$ 'in üzerindeki NH_3 konsantrasyonlarında ve büyümede azalma kaydedilmiştir (Orban ve Tatrai, 1987).

Peygman ve arkadaşının yaptığı çalışmada; Pullu sazan balıklarının, 20-22 °C'de 24 saat LC_{50} değerlerini 12,3 mg/L TAN (4,55mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$) olarak bulmuşlardır. Histopatolojik incelemeler sonucunda solungaçlarda; anevrizma, ödem ve hiperemi, böbrekte; proksimal tübüllerde dejeneratif değişimler, bowman kapsülünde hiperemi, genişleme ve hemoraji, karaciğerde ise; dejenerasyon, hiperemi ve nekrotik lezyonlar yaygın olarak görülmüştür (Peyghan ve Takamy, 2002).

Pakistan'ın Lahore şehrindeki balık üretme çiftliklerinde yetişen Cyprinidae familyasına ait *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) balıklarında NH_3 toksisitesine yönelik Chaudhry ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; LC_{50} ve LC_{100} değerleri bulunmaya çalışılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda suyun pH değerleri de dikkate alınarak NH_3

'ın ortalama değerleri LC_{50} :0,055 mg/l ve LC_{100} :0,078 mg/l olarak bulunmuştur. Çalışma sürecinde birçok yan etki görölmüştür. Larvalarda; çok hızlı hareket, suda dengesiz ve yan yatma şeklinde hareketler gözlenmiştir. Yavru balıkların hareketlerinde artma, vücut yüzeylerinde ve solungaçlarında ki mukus salgısında artma, solungaçlarda hemoraji, göz yuvarlağında ve deride kararma gözlenmiştir. Histopatolojik olarak incelenen solungaçlarda ise; hiperplazi ve sekonder lamellerde birleşme saptanmıştır (Chaudhry vd., 2013).

Benli'nin yaptığı bir çalışmada; Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) ve sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarında NH_3 'ın subletal değerlerinin etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 6 hafta boyunca sazanlardan kontrol, 0,5 mg/L, 1mg/L, 2 mg/L, 5 mg/L ve Tilapialarda kontrol, 1 mg/L, 2 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L subletal NH_3 konsantrasyonlarına maruz bırakılıp yarattığı etkilere bakılmıştır. Sonuç olarak balıkların; karaciğer, solungaç ve böbreklerinde histopatolojik etkileri gözlemlenmiştir. Böbreklerde; kanama, hiperemi, tüböl epitellerde bozukluk, idrar taşı, böbrek iltihabı, solungaçlarda; sekonder lamellalarda füzyon, hiperemi, akciğere giden hava yollarında tıkanma, mukozalarda; kırmızı lekeler, klorit hücre proliferasyonu, karaciğerde ise; pasif hiperemi, yağ birikimlerinde artış, akut hücre şişliği ve albumin gözlemlenmiştir (Benli, 2001).

Hofmann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 4 hafta boyunca 25 mg/L toplam NH_3 'a maruz kalmış genç alabalık (*Salmo gairdneri*) yavrularında öncelikle solunumda aşırı derecede artma, yem alımının düşmesine paralel olarak ağırlık kazancında düşme, deney sonunda ise; solungaç yapısında çok belirgin olmayan fakat önemli sayılabilen proliferasyonlar saptamışlardır (Hofmann vd., 1987).

Catanzaro ve arkadaşlarının Japon balıkları ile yapılan çalışmasında; 40,12 mg/L'ye kadar NH_4Cl 'ye maruz bırakıldığında beyin glutamin düzeyleri ortamın NH_3 seviyesiyle ilişkili bir artış göstermiştir ve Japon balıklarının 40,12 mg/L NH_4Cl ye 24-48 saat maruz kaldığında beyin glutamin düzeylerinin 10 kat arttığı gözlenmiştir (Catanzaro vd., 1974).

Kirk ve arkadaşının yaptığı bir çalışmada; 2 saat süre ile 0,1 mg/L NH_3 maruz bırakılan gökkuşığı alabalığının solungaç lamellerinde deformasyonlar gözlemlenmiştir. Çok sayıda balığın lamel yüzeyinin tamamı, filament ve lamel

epiteli ise; yüzeysel şekilde katlanmıştır. Aynı yoğunlukta 24 saatin bitiminde filament üstünde 2. ya da 3. lamellerde 14 telengiektazi gözlemlenmiştir. 0,5 mg/L NH_3 maruz kalan solungaçların lamellerinde ise; daha çok katlanma ve kıvrılma görülmüştür. 24 saatin sonunda epiteldeki deformasyonlar daha derin çukurlar biçiminde oluştuğu izlenmiştir. Mukus ve klorit hücrelerde şekil değişikliği ve artış gözlenmiştir (Kirk ve Lewis, 1993).

Sibiry mersin (*Acipenser baeri*) balıkları üzerinde yapılan Salin ve arkadaşının yaptığı bu araştırmada; 24 saatlik LC_{50} değerlerinin ağırlığı 60-260 mg larvalarda 1 mg/L, 10-270 gram aralığındaki balıklarda 1,7 mg/L ve ortalama 450 gram olan balıklarda ise; 2,5 mg/L bulunmuştur. Sonuç olarak; solungaç lamellerinde nekrozlar, hiperplazi ve hipertrofi saptanmıştır (Salin ve Wiliot, 1991).

Küçük'ün Mavi tilapia balıkları (*Oreochromis aureus*) üzerine yaptığı bu çalışmada; subletal amonyak toksisitesi histolojik incelemelerde NH_3 'a maruz bırakılmış, solungaç lamellerinde anevrizma, hiperplazi, ve hemoraji, karaciğerlerinde ise; hidropik dejenerasyon gözlenmiştir. Böbrek dokusunda ise; herhangi bir doku hasarı görülmemiştir (Küçük, 1999).

Kimme ve arkadaşının sazan balıklarıyla (*Cyprinus carpio*) yaptığı çalışmada; 0,04-0,08, 0,12-0,27 ve 0,4-0,8 mg/L NH_3 dozlarını kullanmışlardır ve subletal NH_3 'ın davranışlar üzerinde etkileri kamera ile izlenmiştir. Yüksek amonyak düzeyinde balıklar ilk olarak tankın alt kısmında bir süre beklemiş sonra tankın üst kısmına doğru yükselmiştir. 0,4-0,8 mg/L NH_3 aralığında balıklar tanktaki suyun yüzeyinden hava yutmaya başlamışlardır. Ayrıca sudaki amonyak yoğunluğunun artmasıyla beraber balıkların kan glukoz düzeylerinin de arttığı tespit edilmiştir. 72 saat bitiminde en yüksek amonyak konsantrasyonundaki (0,4-0,8 mg/L) balıkların kan glukoz değerlerinin, kontrol balıklarından %64,1 oranında daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Kimme ve Weinstein, 1998).

Benli ve arkadaşının subletal NH_3 konsantrasyonları ile yaptığı çalışmada Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıkları üzerine. 20°C ve 25°C su sıcaklıklarında sırasıyla kontrol, 1-2-5-10 mg/L TAN ve kontrol, 0,5-1-2-5 mg/L TAN konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Altı hafta süren incelemeler sonucunda Nil tilapia balıklarında mutlak büyüme, ağırlık artışı ve kondisyon faktöründe

istatistiksel olarak azalma gösterirken ($p < 0,05$), yem değerlendirme oranlarında artış ($p < 0,05$), özgül büyüme oranındaki azalmada istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($p > 0,05$). Deneylerde amonyağa maruz bırakılan kontrol grubuna kıyaslayem alımında düşüş gözlenirken yaşama oranı %100 olarak belirlenmiştir (Benli ve Köksal, 2005).

2.2 Gilaboru ile Yapılan Çalışmalar

Altun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; VO bitkisinin sulu ekstresinin sıçanlardaki karbon tetraklorür (CCl_4) nedenli hasarlarda karaciğer hücrelerini koruyucu etkisi araştırılmıştır. Alanin amino transferaz (ALT), serum aspartat amino transferaz (AST), alkalın fosfataz (ALP) ve bilirubin konsantrasyonu gibi karaciğer hasarının biyokimyasal düzeylerine bakılmıştır. CCl_4 (0,8 mL/kg i.p. 7 gün) grubunda serum ALT, AST, bilirubin ve ALP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde arttığını gözlemlemiştir. Sıçanlara silibinin (50 mg/kg) + CCl_4 (0,8 mL/kg i.p.) ve VO (100 mg/kg, i.p.) + CCl_4 (0,8 mL/kg i.p.) 7 gün süreyle verildiğinde ve CCl_4 uygulandığındaki artan serum ALT ve AST seviyeleri düşmüştür ancak bu düşüş anlamlı değildir. ALP değerlerinin normal değerlere göre daha yüksek olduğu izlenmiştir. VO karaciğerde apoptozis, balon dejenerasyonu ve sentrilobular nekroz ve silibinin uygulanmış gruba benzer köprüleşme nekrozu göstermiştir. VO'un hipoglisemik hareketlerini ölçmek için glibenklamid referans madde seçilmiştir. Ancak sağlıklı ve diyabetik farelerde hipoglisemik aktivite gözlenmemiştir. Bu çalışmada VO'un sulu ekstratının sıçanlarda karbon tetraklorürle indüklenerek karaciğerdeki toksik etkisine düşük seviyede koruyucu etki gösterdiği ve farelerde ise; herhangi bir hipoglisemik aktivite göstermediği tespit edilmiştir. VO'un LC_{50} değeri 5,447 g/kg saptanmıştır (Altun vd., 2010).

EAT (Ehrlich ascites tümörü) hücresinin periton altına aşılanarak yapılan Aksoy ve arkadaşlarının çalışmasında, aşılardan iki saat sonra başlanarak ayrı gruplara 10 gün boyunca 25 mg, 50 mg ve 100 mg gilaboru ekstraktı 200 μL Dulbeco's phosphate buffered saline (DPBS) içerisinde çözünerek intraperitoneal (i.p.) olarak verilmiştir. Farelerdeki ağırlık artışına bakıldığında en fazla kilo artışının tümör kontrol grubundan gözlenirken doz arttıkça kilo artışının azaldığı gözlemlenmiştir. Karaciğer ve böbrek dokusunun histopatolojik değerlendirmesinde karaciğer dokusunda tümör hücrelerine rastlanmamıştır. Tümör kontrol gruplarının seroza

tabakalarında tümör hücrelerinin tutulumu görülmüştür. Yapılan bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde gilaboru bitkisinin meyvelerinden elde edilen meyve suyu ekstratının tümör gelişimini üzerinde yavaşlatıcı etkisinin de olabileceği söylenebilir (Aksoy vd., 2018).

Altun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; VO (gilaboru) yaprağının su ekstresi farelerde ve sıçanlarda antinosiseptif ve anti-enflamatuar aktiviteler açısından araştırılmıştır. Bu etkileri belirlemek için kuyruk hareketi testi, asetik asit kaynaklı yazma testi ve karragenan kaynaklı sıçan pençe ödemi testi kullanılmıştır. Bulgularında, VO' un farelerde asetik aside bağlı karın gerilmesinde doza bağlı inhibisyona neden olduğunu gösterilmiştir. VO, 100 ve 200 mg/kg' da karın gerilmesini inhibe etmiştir. VO, 100 ve 200 mg/kg dozlarında kuyruk hareket testi ile ölçülen antinosiseptif aktivite göstermiştir. Bununla birlikte, VO bu dozlarda anti-enflamatuar bir etkiye sahip olmadığı, VO' un LC₅₀ 5,447 g/kg olarak belirlenmiştir (Altun vd., 2009).

Çam ve arkadaşının yaptığı çalışmada; iki farklı gilaboru meyvesindeki (Caprifoliaceae familyasına ait VO) organik asitler, toplam fenolik bileşikler ve antioksidan aktivitenin RP-HPLC-UV görünür tespiti ile analiz edilen organik asitler ayrı ayrı tespit edilip ölçülmüştür. Örneklerdeki baskın organik asidin L-malik asit olduğu, her iki meyve suyunun toplam fenolik bileşikleri, yaygın olarak tüketilen bazı meyve suları ve nektarlarından daha yüksek olduğu görülmüştür (Çam ve Hişil, 2007).

Ertekin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, gilaboru (*Viburnum opulus*) meyve suyunun kolon kanseri oluşumu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sekiz haftalık Balb-C erkek farelere 12 hafta boyunca haftada bir kez subkutan 1,2-dimetilhidrazin (DMH) (20 mg/kg vücut ağırlığı) enjeksiyonları yapılmıştır. Kontrol grubuna sadece içme suyu verilirken, diğer gruplardaki farelere 30 hafta boyunca gilaboru suyu verilmiştir. Deney sonrası fareler öldürülerek kolon tümörlerinin histogenezi araştırılmıştır. Deney sonundaki farelerin vücut ağırlıklarının tüm gruplarda benzer olduğunu gözlenmiştir. Kontrol gruplarında tümör lezyonu bulunamamıştır. Diğer gruplarda kolon tümör lezyonları tespit edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, gilaboru suyunun başlangıç aşamasına bağlı olarak tümör lezyonlarındaki azalmanın

görülmesi kolon kanserinin önlenmesinde faydalı olabileceği kanısına varılmıştır (Ertekin vd., 2012).

2.3 Sazan Balığı ile Yapılan Çalışmalar

Korkmaz'ın yaptığı çalışmada; hormonal parametreler değerlendirildiğinde; kontrol grubuna göre serum büyüme hormonu (BH), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), toplam triiyodotropin (TT₃) ve toplam tiroksin (TT₄) düzeylerinde meydana gelen azalma ile tiroksin uyarıcı hormon (TSH), Serbest T₃, Serbest T₄, adrenokortikotropik (ACTH), kortizol, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin 1 beta (IL-1 β) ve interlökin 6 (IL-6) düzeylerinde meydana gelen artışlar hem akut hem de subkronik sürede maruz kalınan doza göre istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür ($p < 0,05$). Her iki doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum, Serbest T₃, ACTH, kortizol, TSH, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür ($p < 0,05$). Ancak süreler arası karşılaştırmada 2,40 ppm doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum serbest T₄ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmasına rağmen ($p < 0,05$) serum TT₃ ve TT₄ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç görülmemiştir ($p > 0,05$). BH ve IGF-1 düzeylerinin süreler arası karşılaştırılmasında ise; istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Hematolojik parametrelerin analizinde bulunan bulgulara göre akyuvar (WBC), granülosit sayısı, Hct, Hb, MCV ve MCH değerleri, sadece AZA 2,40 ppm grubunda istatistiksel olarak azalma görülmüştür. MCHC ve monosit oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). Süreye bağlı karşılaştırmalarda ise; WBC, lenfosit ve granülosit oranları subkronik dönemde ve sadece 2,40 ppm doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı iken hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit değerleri, 2,40 ppm doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Antioksidan parametrelerin değerlendirilmesinde karaciğer ve solungaç dokularında MDA düzeylerindeki artış; SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde ise azalma görülmüştür. Süreye bağlı olarak karaciğer ve solungaç dokularında subkronik dönemde MDA düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı iken SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerindeki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. Solungaç dokusu histopatolojisinde subkronik dönemde sekonder lamelde epitellerde ayrılma, kısalma ve düzleşmenin doza bağlı olarak arttığı görülmüştür. Subkronik dönemde karaciğer histopatolojisinde, sinüzoidal boşlukta mononükleer hücre infiltrasyonu, vakuolar

dejenerasyon ve hidropik dejenerasyon görülmüştür. NeemAzal-T/S organik bir insektisit olan azadirachtin içermesine rağmen, *Cyprinus carpio*'da hormonal parametreler, antioksidan enzim sistemi, hematolojik parametreler, solungaç ve karaciğer histopatolojisi üzerine doz ve süreye bağlı olarak toksikolojik etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Korkmaz, 2018).

Naim ve arkadaşlarının Likopenin pullu sazanlar (*Cyprinus carpio*) üzerine yaptığı çalışmasında 4 ayrı gruptaki bazı hematolojik ve immünolojik parametrelere etkisi belirlenmiştir. Balıklar; kontrol, mısır yağı ve likopen uygulanan grup olarak belirlenmiştir. Likopen balıklara oral olarak 5 ve 10 mg olmak üzere 21 gün boyunca uygulanmıştır. 21 gün sonunda ise kan örnekleri alınarak eritrosit, lökosit ve hematokrit değerlerine, toplam protein hemoglobin düzeyine ve immünoglobulin düzeylerine bakılmıştır. Likopen verilen balıkların hemoglobin düzeyinde istatistiksel olarak herhangi bir artış gözlenmemiştir ($p > 0,05$) ama diğer parametrelerde ise istatistiksel olarak artışlar gözlenmiştir ($p < 0,05$) (Naim vd; 2011).

Palas'ın yaptığı bir çalışmada; Yukarı Sakarya havzasında bulunan beş istasyondan Ekim 1995-1996 tarihleri arasında yaşları '1-2' arasında değişen 80 sazan balığı (*Cyprinus carpio L*) getirilmiştir. Balıkların; karaciğer, böbrek ve solungaçların da meydana gelen yapısal değişiklikler incelenmiştir. Balıkların solungaçları bulundukları ortam ile direkt temasta bulundukları için, sudaki kirleticilerin yol açtığı doku hasarlarını direkt olarak yansıtmaktadırlar. Bundan dolayı incelemelerde en çok solungaçların etkilendiği, sekonder solungaç lamellerinin birbiriyle kaynaştığı ve doğal görüntülerinin bozulduğu saptanmıştır. Solungaç epitelinde görülen diğer histopatolojik bulgular ise mukoz hücrelerinin hipersegresyonu, hiperplazi ve primer lamelin ayrılmasıdır. Karaciğer dokularında da lobüllerin perifer bölgelerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, hipertrofi ve konjesyon görülmüştür. Böbrek dokusunda ise; patolojik lezyonlar, nükleer piknoz, tübül epitel hücrelerinde hipertrofi ve absorpsiyon yüzeyinin tahrip olduğu görülmüştür. Çalışmanın sonucunda ise; 5 istasyon karşılaştırılarak incelenmiştir. Balık dokularında yapılan mikroskopik incelemelerde, solungaçların birincil hedef organ olduğu ve patolojik bulguların sırasıyla karaciğer ve böbreklerde meydana geldiği saptanmıştır (Palas, 1999).

Çoğun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sazan balığının (*Cyprinus carpio L.*) çeşitli dokularında kurşun birikiminin neden olduğu etkiler incelenmiştir. Sazanlar 0,1-0,5-1,0 ve 5.0 mg/L kurşun derişimlerinde 10, 20 ve 30 gün sürelerle bırakılarak kas dokularında solungaç, karaciğer ve böbrekteki metal tutulumları Atomik Absorbsiyon Spektrometrik yöntemle tespit edilmiştir. Sazanda kurşunun en az kaslarda biriktiği, en fazla ise böbrek ve karaciğer dokusunda biriktiği gözlenmiştir. Derişimde oluşan kurşun miktarı arttıkça dokularda oluşan kurşun miktarı da aynı oranda artmıştır (Çoğun ve Ferit, 2008).

Kol'un yaptığı çalışmada, antienflematuar, antidiyabetik yüksek antioksidan ve antikanser etkisi bilinen Kuşburnu (*Rosa canina*) bitkisinin meyve özütlerinin farklı dozda (5-10-20 ppm) ve sürede (4-30 gün) sazan (*Cyprinus carpio L.*) balıklarının hematolojik parametreler ve bazı serum elektrolitleri üzerine olan pozitif ve negatif etkileri araştırılmıştır. Sonucunda ise kontrol grubuna göre akut ve subkronik sürede (4 ve 30) 20 ppm'lik doz grubunda toplam hemoglobin, lenfosit sayısı, lökosit sayısı, eritrosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi, serum, hematokrit, fosfor, sodyum, kalsiyum ve klorür seviyelerinde görülen düşüşler ve 10 ppm'lik doz grubundaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). 5ppm doz grubunda ise; kontrol grubuna göre parametreler bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$). 10 ppm doz grubunda oluşan artmaların istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Bu durumda kuşburnu meyve özütünün içerdiği polifenol grubu bileşiklerden (proantosiyanidinler, kateşin ve izokversitinler) kaynaklandığı düşünülmüştür. Deney sonucuna göre; 10 ppm kuşburnu meyve özütlerinin sazan balıklarında bağışıklığını arttırdığı, hematopoetik organları indüklediği, 20 ppm grubunda ise; bağışıklığını baskıladığı ve kanın oksijen taşıma kapasitesini düşürerek mikrositik anemi oluşturabileceği düşünülmüştür. 30 günlük sürenin 4 günlük süreye oranla kan parametreleri ve serum elektrolitlerini azaltmakla birlikte arttırdığıda istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür ($p < 0,05$). Buna göre, kuşburnu özütlerinin fizyolojik olarak 5 ppm ve 10 ppm dozlarda kullanıldığında balıklar için güvenilir olduğu gözlemlenmiştir (Kol, 2015).

Civelek'in yaptığı çalışmasında; akrilamid'in sazan (*Cyprinus carpio L.*) balıklarının solungaçları üzerine histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Araştırmada iki farklı doz akrilamid (10 ve 50 mg/L) 96 saat boyunca, sazan balıklarına uygulanmıştır. Deney

sonrasında solungaç dokuları histopatolojik yöntemlere uygun bir biçimde hazırlanmıştır. Akrilamidin subletal dozlarına maruz kalan gruplarında kontrol grubuna göre sekonder lamellerde birleşme, ödem oluşumu, kısalıp kalınlaşma, dökülme, kıkırdak doku hasarı, epitel dokuda ayrılma, hiperemi, telengiektazi, hiperplazi ve mukus hücrelerinde artış meydana gelmiştir. Sazan balıklarında görülen bu değişikliklerin en temel nedeni, solungaçların dış ortamla direkt temas halinde olması ve solungaçların ince membranlara ve geniş yüzey alanına sahip olması da bu durumu attırdığı düşünülmüştür (Civelek, 2018).

2.4 Morfolojik Anomaliler ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Önen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; ham petrolün suda çözülebilen kısımlarının *P. sphenops* adlı balık üzerindeki akut maruziyetiyle % 40 (h/h); 24, 48 ve 96 saatte gözlenebilecek genotoksik etkileri araştırılmıştır. Maruz kalan balıkların kan hücrelerinde genotoksik hasarlar oluşmuştur. Oluşan hasarlar *P. sphenops* balığının mikronükleuslu ve çekirdek anomalilerinin çekirdek frekanslarının kontrol gruplarına göre anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Sürenin artmasına bağlı olarak mikronükleus (MN) ve çekirdek anomalilerinde ki çekirdek sayılarında artış olmuştur. Bu sonuçlara göre ham petrole maruz bırakılan balıkların eritrositlerinin üzerinde MN testinin tamamlayıcısı yönünün olmasından dolayı ham petrolün genotoksik etkilerinin incelenmesinde etkili olduğu görülmüştür (Önen ve Üçüncü, 2015).

Berköz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıklarının periferik çekirdeklerinde MN ve çekirdek morfolojilerinin oluşumuna subletal kadmiyumun (Cd) etkileri araştırılmıştır. Balıklar 10 gün boyunca 0,5 mg/L ve 1,0 mg/L Cd maruz kalmıştır. Bu 10 gün boyunca belli günlerde MN ve bazı çekirdek anomalileri içeren çekirdekler sayılarak not edilmiştir. Kontrolde kullanılan ortam derişimi de 4 mg/L cyclophosp hamide içerir. Çalışmada uygulanan 1 mg/L Cd derişiminin MN frekansını önemli oranda artırmış ve 0,5 mg/L Cd derişimine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). En yüksek MN frekansı 4. gününde görülmüştür. 0,5 mg/L ve 1 mg/L Cd derişimli çekirdek anomalilerinin (Loplu, Biloplu ve Çentikli Nükleus) frekanslarını önemli oranda artırmış olup 1,0 mg/L Cd derişiminin 0,5 mg/L göre daha etkili olduğu gözlemlenmiştir ($P < 0,05$). En yüksek çekirdek anomalileri 4. günde görülmüştür. Deney sonucuna göre MN

frekansları ve nükleus anomalileri frekansları derişime ve değişen zamana göre yükselmiş olup 6. günden sonra azalmalar görölmüşür (Berköz vd., 2011).

Yıldız ve arkadaşının yaptığı çalışmada; bazı kirleticilerin teleostlardaki genotoksik etkileri araştırılmışır. Çalışmada elde edilen raporlar neticesinde teleostların eritrosit hücrelerinin kirliliğe hassasiyet gösterdiği ve meydana gelen değişikliklerin söz konusu olan kirleticilerin konsantrasyonlarının artışına paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Fakat bazı kimyasallara herhangi bir hassasiyet göstermedikleride görölmüşür. Sonuçlara göre MN testinin tamamlayıcı yönünden dolayı hem kullanışlı hem de kirleticilerinin genotoksik etkilerinin incelenmesinde etkili olduğu görölmüşür (Önen ve Yıldız, 2016).

Bircan ve arkadaşının yaptığı çalışmada; Çanakkale'nin Kirazlı Köyünden 4 erkek ve 5 dişi, Kalabakbaşi Köyünden 5 erkek 7 dişi olmak üzere *Lissotriton vulgaris* adlı semender örneklerinden hazırlanan kan preparatlarında mikronükleus (MN) ve çekirdek anomalilerine (NA) bakılmışır. Çalışmada binükleus, loblu nükleus (LN), çeltikli nükleus (ÇN), tomurcuklu nükleus (TN), mikrosit ve sitoplazmik vakuol gözlemlenmiştir. İki köy arasında ÇN, LN ve TN anomalilerin de istatistiksel olarak yüksek oranda anlamlı fark görölmüşür. Fakat bu iki köy arasında erkek ve dişiler karşılaştırıldığında önemli istatistiksel fark görölmemiştir. Ayrıca MN oluşumlarına kirazlı köyündeki altın madeninden dolayı genotoksik hasarlar sebep olduğu düşünölmüşür (Bircan ve Cemal, 2018).

Dürgen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; Mersin rehabilitasyon merkezinde tedavi altında bulunan yaralı deniz kaplumbağalarının hematolojik ve biyokimyasal özellikleri araştırılmışır. Hazırlanan kan preparatlarından 3000' er hücre sayılarak tomurcuklu, loplu, çentikli ve binükleusa bakılmışır. Tedavi altında olan kaplumbağalarda toplam nüklear anomali oranının yüksek olduğu görölmüşür. Yapılan biyokimyasal testlerde ise kreatin değerleri normalin üstünde 0,5-0,6 mg/dL arasında olduğu gözlemlenmiştir (Dürgen vd., 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Araştırma birimi

Bu araştırma, Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Bölümü Akvaryum Sistemi Laboratuvarında hazırlanmıştır. Suyla ilgili parametrelerin analizinde Aksaray Üniversitesi araştırma laboratuvarının imkanlarından faydalanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Bilimsel ve teknolojik uygulama ve araştırma merkezi.

3.1.2 Deneyde kullanılan balıklar

Araştırmada kullanılan sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758) balıkları Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikir Su Ürünleri İstasyonunda hibe ile temin edilmiştir. 250 litrelik akvaryumlara konularak 20 gün

boyunca ortama uyumları sağlanmış, bu uyum sũresince pınar pelet yemle beslenmişlerdir. Araştırmada kullanılan sazan balıkları bir yaşından kũçũk, ağırlıkları 50-120 gr arasında uzunlukları ise 14-20 cm arasında olarak belirlenmiştir (şekil 3.2).



şekil 3.2. Deneyde kullanılan balıklar.

3.1.3 Etik kurul

Araştırmanın Etik Kurul onayı Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığından alınmıştır (16.12.2016 tarihi ve 44 sayılı onay yazısı).

3.1.4 Deney düzeneği

Araştırma öncesi 250 L akvaryumlarda minimum düzeyde tutularak her grupta 7'şer balık konularak 20 gün boyunca adaptasyonları sağlanmıştır. Aşağıdaki deney grupları dikkate alındığında her bir grupta 7 balık (N:7adet) olmak üzere akut ve sub-kronik fazda toplam 112 adet sazan balığı kullanılacaktır. Deney grupları çizelge 3.1 deki gibi kurulmuştur.

Çizelge 3.1. Deney grupları.

Akut Faz (4 Gün)	Sub-kronik Faz (21 gün)
1.Grup: Kontrol grubu	1.Grup: Kontrol grubu
2.Grup: Amonyak uygulanacak grup (5 mg/L)	2.Grup: Amonyak uygulanacak grup (5 mg/L)
3.Grup: Bitki ekstratı uygulanacak grup (Gil25 mg/kg)	3.Grup: Bitki ekstratı uygulanacak grup (Gil25 mg/kg)
4.Grup: Bitki ekstratı uygulanacak grup (Gil50 mg/kg)	4.Grup: Bitki ekstratı uygulanacak grup (Gil50 mg/kg)
5.Grup: Bitki ekstratı uygulanacak grup (Gil100 mg/kg)	5.Grup: Bitki ekstratı uygulanacak grup (Gil100 mg/kg)
6.Grup: Amonyak + Gilaboru bitki ekstratı (A+Gil25 mg/kg)	6.Grup: Amonyak + Gilaboru bitki ekstratı (A+Gil25 mg/kg)
7.Grup: Amonyak + Gilaboru bitki ekstratı (A+Gil50 mg/kg)	7.Grup: Amonyak + Gilaboru bitki ekstratı (A+Gil50 mg/kg)
8.Grup: Amonyak + Gilaboru bitki ekstratı (A+Gil100 mg/kg)	8.Grup: Amonyak + Gilaboru bitki ekstratı (A+Gil100 mg/kg)

3.1.5 Akvaryum sistemi

Araştırma da 250 L hacimli akvaryumlar kullanılmıştır. Akvaryumlar araştırma öncesinde sodyum hipoklorid ile temizlenmiştir. Akvaryumların suyu, ilk olarak şebekeden alınarak önce kaba atıkların temizlendiği filtreden, sonra da suyun pH'ı, çözülmüş oksijen ve klor bakımından ayarlandığı filtreden geçirilerek depolanması yapılmıştır. Bu depolanan su pompalar aracılığıyla akvaryumlara boşaltılmıştır. Böylece su 72 saat boyunca akvaryumlarda bekletilip ve hava filtreleri çalıştırılmıştır. Ortama balık alınmadan önce çözülmüş oksijen miktarı 7 ppm ve pH'ı ise; 7,2-7,4 olarak ayarlanmıştır (Şekil3.3).



Şekil 3.3. Akvaryum sistemi.

3.1.6 Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler

Bu çalışmada amonyak, giemsa boya solüsyonu, ksilen, %95-98 teknik etil alkol, %99,8 absöüt etil alkol, glasial asetik asit, hematoksilen (Merck), entellan, HCl, eozin Y, boncuk parafin, potasyumalum $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ kullanılmıştır.

3.1.7 Deneyde kullanılan araç ve gereçler

Deneyssel çalışmalar boyunca etüv, derin dondurucu, santrifüj cihazı, hassas terazi, pH metre, diseksiyon seti, lam, lamel, piset, doku takip kaseti, TP 1020 doku takip cihazı (Leica) (Şekil 3.4), EG 1160 doku bloklama cihazı (Leica) (Şekil 3.5), HI 1220 ısıtıcı tabla (Leica) (Şekil 3.6), sıcak su banyosu (Şekil 3.6), RM 2125RTS

mikrotom (Leica) (Şekil 3.7), DM 4000 BL araştırma mikroskobu (Leica) (Şekil 3.12) kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Doku takip cihazı.



Şekil 3.5. Doku bloklama cihazı.



Şekil 3.6. Sıcak su banyosu ve ısıtıcı tabla.



Şekil 3.7. Mikrotom.

3.2 Yöntem

3.2.1 Bitki özütünün hazırlanışı

Çalışmada kullanılacak bitki özütü için Gilaboru (VO) bitkisi Kayseri ilinden Kasım 2015 yılında toplanmıştır. Toplanan bitkiler derin dondurucuda ve su içerisine konularak turşu kavanozlarında +4°C’de deney başlayana kadar muhafaza edilmiştir. Kullanım sırasında bitkilerin özütü her gün taze olarak sulu ortama karışacak şekilde şekil 3.8 deki gibi etüvde kurutularak cam çubuk yardımıyla ezilmiştir.



Şekil 3.8. Gilaboru bitki özütünün hazırlanışı.



Şekil 3.9. Gilaboru bitki özütünün sulandırılması.

3.2.2 Dozların balıklara uygulaması

3.2.2.1 Amonyakın uygulanması

250 litrelik akvaryum sularına hazırladığımız stok amonyaktan 5 mg/L olacak şekilde 1250 mg amonyak doğrudan karıştırılmıştır.

Çizelge 3.2. Deneyde kullanılan suyun kalite kriterleri.

Su kalite Kriterleri	Deney Grupları					
	Kontrol		Gilaboru 25, 50 ve 100mg/Kg Doz Grupları		Gilaboru 25, 50 ve 100mg/Kg ve Amonyak 5 mg/L Doz Grupları	
	Deney Öncesi	Deney Sonrası	Deney Öncesi	Deney Sonrası	Deney Öncesi	Deney Sonrası
Su Sıcaklığı (°C)	11,5 ±0,1	11,4 ±0,1	11,8 ±0,3	11,7±0,2	11,3±0,2	11,4±0,1
Ph	7,4±0,1	7,5±0,1	7,5±0,2	7,5±0,1	7,5±0,1	7,6±0,2
Çözünmüş O ₂	7,8±0,2	7,4±0,3	7,9±0,2	7,5±0,3	7,4±0,1	7,3±0,2
Çözünmüş Askıda Katı Madde (mg/L)	28,1±1,2	30,6±1,1	29,0±0,7	31,2±6,9	29,5±0,3	30,2±0,7
Sertlik (CaCO ₃) ⁰ dH	150,4±1,1	146,4±1,0	151,1±0,8	147,2±1,1	151,1±0,8	148,7±1,5
Amonyum NH ₄ -N (mg/L)	4,11±0,02	4,15±0,03	4,12±0,02	4,16±0,04	4,12±0,02	4,15±0,02

Deney öncesi ve deney sonrası akvaryum su kalite kriterlerinde (Çizelge 3.2) (sıcaklık, pH, çözünmüş O₂, çözünmüş askıda katı madde, sertlik) meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p > 0,05). Deney gruplarından amonyak uygulanan gruplarda ise ortalama amonyum miktarı 4 mg/L civarındadır. Deneyde balık biyo-hemo-kimyasal parametreleri, antioksidan düzeylerini ve histopatolojik hasarlara neden oluşturabilecek bir su kalite kriteri olmamıştır.

3.2.2.2 Gilaboru bitki özütünün uygulanması

Hazırladığımız bitki özütü 20 dakika boyunca santrifüj ettikten (Şekil 3.9) sonra enjektörle gavaj iğnesi yardımıyla doğrudan balıkların ağız yoluyla mideye verilmiştir (Şekil 3.10).

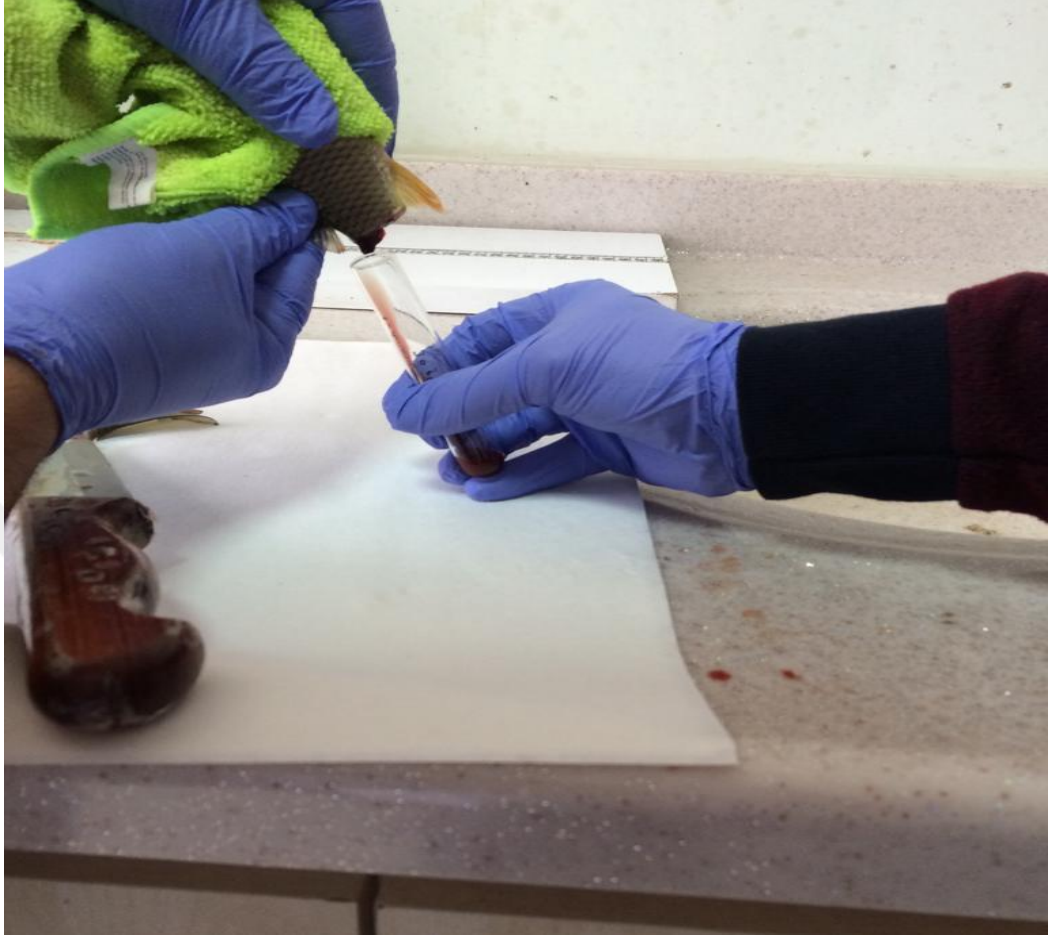


Şekil 3.10. Gilaboru bitki özütünün gavaj yöntemiyle verilmesi.

3.2.2.3 Kan preparatlarının alınması

Amonyaga maruz bırakılan, gilaboru bitki özütü uygulanan ve kontrol grubuna ait balıklarda 4. ve 21. günün sonunda, uygun şartlarda bayıltılarak kuyruk kesimi şekil 3.11 deki gibi yapıp ve her bir balıktan 2 tane preparat yapılmıştır. Sazan balıkların kuyrukları makas veya bistüri ile tek seferde kesilerek, lam üzerine 1 damla kanın akması sağlanmıştır. Bir lamel ile 45° açı ile yayma yapılmıştır. Havada kurutulduktan sonra 2-3 dakika etil alkol ile fiske edilmiştir. Daha sonra %5'lik Giemsa boya solüsyonu ile 20 dakika boyanacak ve boyanın fazlası hafif akan çeşme

suyunda yıkanıp kurutulmuştur. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılıp daimi hale getirilmiştir.



Şekil 3.11. Kuyruk kesimi sonrası kan damlası alınması.

3.2.2.4 Doku preparatlarının hazırlanması

Diseksiyon sonrası alınan solungaç ve karaciğer doku parçaları doku takip kasetleri içerisine konularak etiketlenmiştir. Kasetler en az 24 saat %10'luk formaldehit solüsyonunda fiksasyon için bekletilmiştir. Fiksatiften çıkarılan kasetler 24 saat hafif akan çeşme suyunda yıkanmıştır. Leica TP1020 model doku gömme cihazına konulan kasetler saydamlaştırma, dehidrasyon ve emdirme işlemlerinden sonra cihazdan çıkarılıp Leica EG1160 model doku bloklama cihazı kullanılarak boncuk parafin bloklara gömülerek hazırlanmıştır. Leica RM 2125RTS model döner mikrotomda 5-6 μ kalınlığında kesitler alınarak lama yapıştırılmıştır. Lamlar Harris Hematoksilen-Eozin boyama yöntemine uygun işlemlerle boyandıktan sonra entellan ile kapatılmıştır.

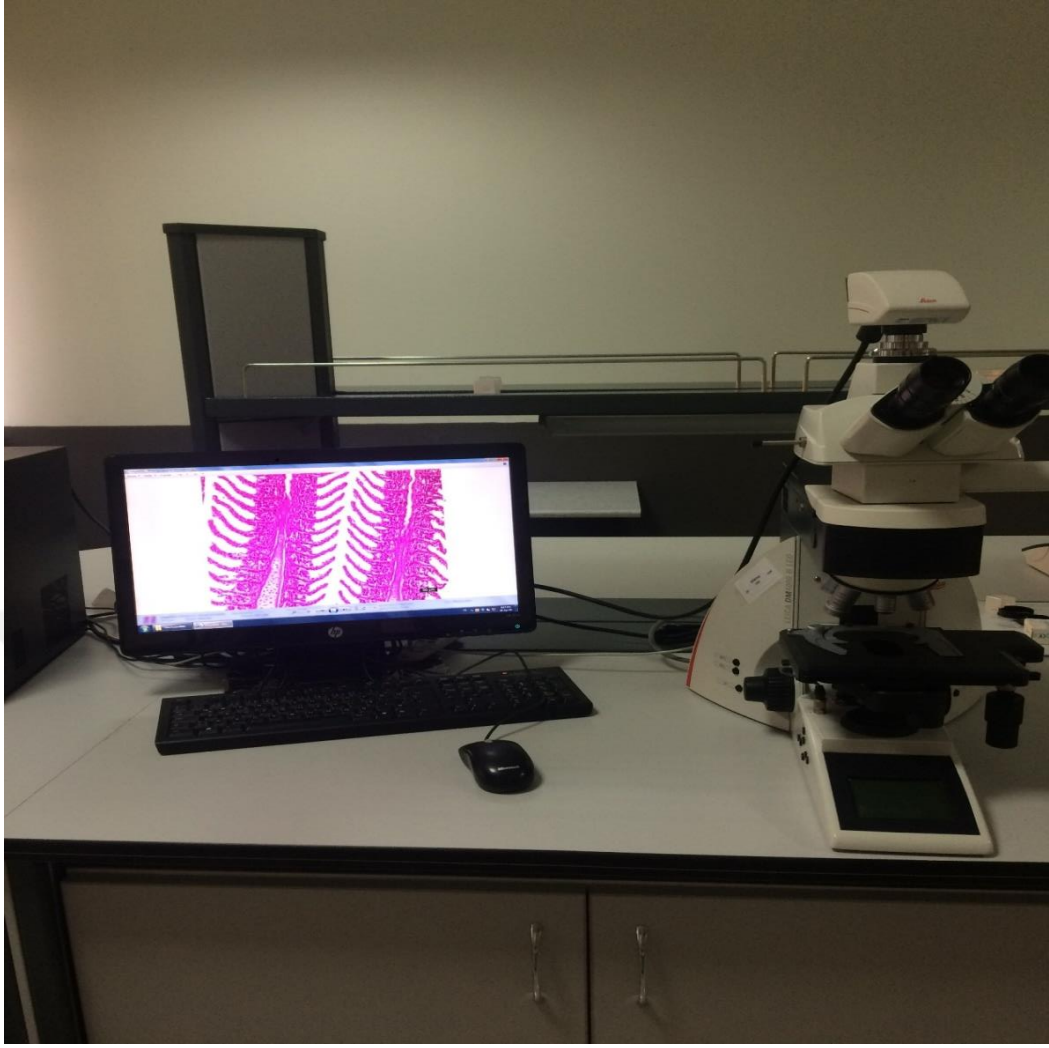
3.2.2.5 Mikroskop inceleme

3.2.2.6 Histopatolojik inceleme

Akut ve subkronik (4-21 gün) fazda ve farklı dozlarda amonyağın (5 ppm) ve gilaboru (VO) bitki özütünün farklı subletal dozlarına (25, 50 ve 100 mg/kg) maruz bırakılan sazan balıklarına (*Cyprinus carpio* L. 1758) ait solungaç ve karaciğer dokuları rutin histolojik işlemlerden geçirildikten sonra Hemotoksilen ve Eosin (H&E) ile boyanmış ve Leica DM4000 model ışık mikroskopunda histopatolojik yönünden incelenmiştir.

3.2.2.7. Eritrosit morfolojilerinin incelenmesi

Tüm grupların kanından hazırlanan preparatlar Leica DM4000 model ışık mikroskopunda, eritrosit görüntüleri incelenerek hem hücre morfolojisindeki hem de hücre çekirdeğinde görülen morfolojik bozuklar tespit edilerek sayımı ve fotoğrafının çekimi yapılmıştır. Ayrıca eritrosit hücre alanı ve çekirdek alanının hesaplanması amacı ile en ve boy uzunluklarının ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Araştırma mikroskobu.

3.2.3 Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistik analizleri

Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler öncelikle Microsoft Excel programında kaydedildikten sonra SPSS programıyla istatistiksel analizleri yapılmıştır. Karşılaştırılan örnekler arasında fark veya farklılıklar olup olmadığı %95 güven aralığında t testi ile hesaplanmıştır ve buna bağlı olarak toksik dozlar SPSS programında Dukan's modeli ile belirlenmiştir

3.2.4 Amonyaga maruz kalan balıkların makroskopik incelenmesi

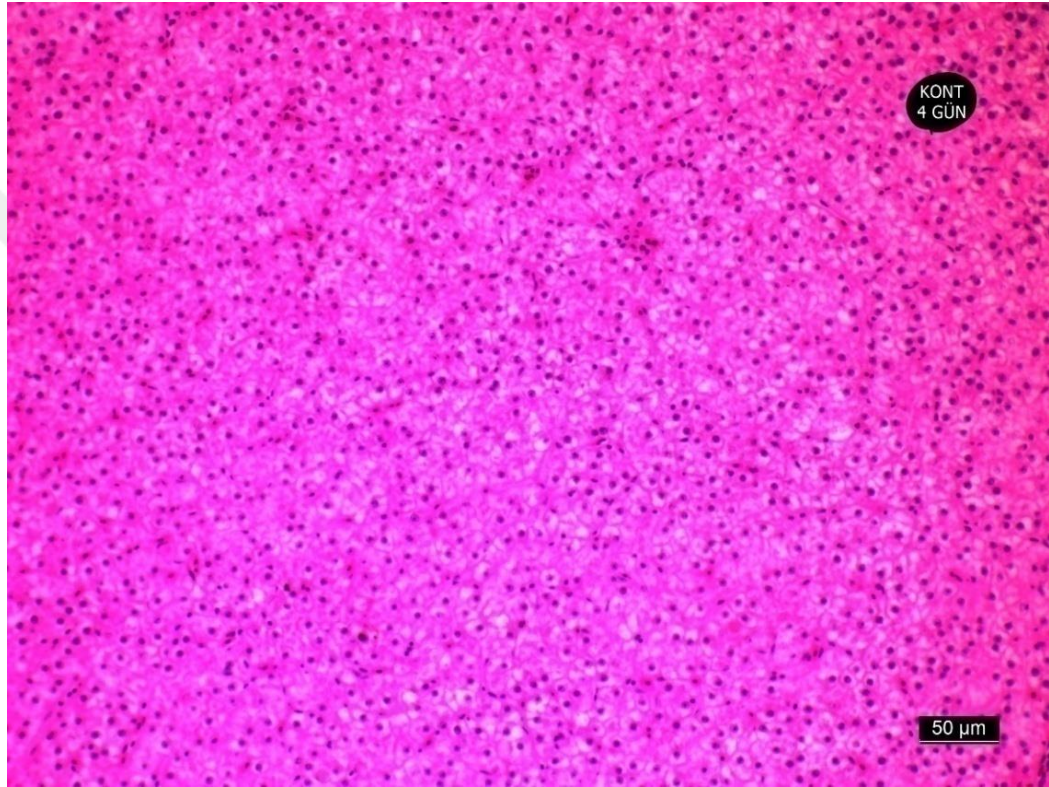
Balıklar 4 ve 21 gün olmak üzere tek doz amonyağa (5 ppm) maruz bırakılmıştır. Deney süresince ölüm görülmemiş, balıkların makroskopik incelemede sağlıklı olduğu görülmüştür.

4. ARAşTIRMA BULGULARI

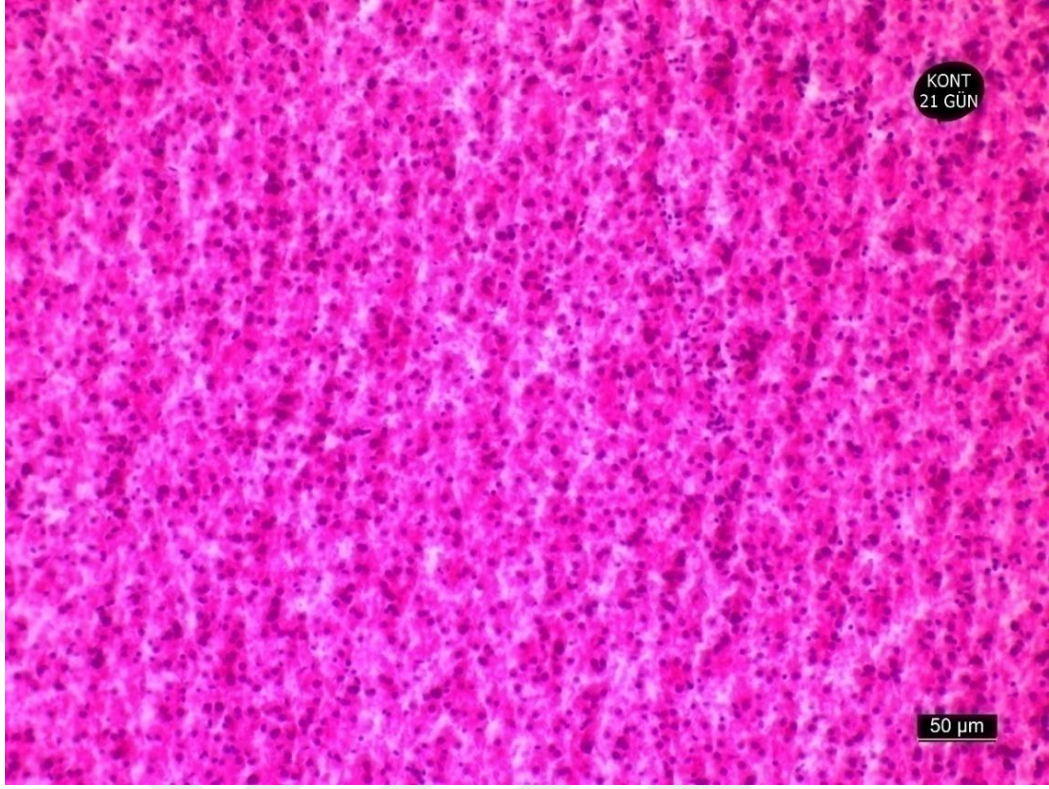
4.1 Histopatolojik Bulgular

4.1.1 Karaciğer

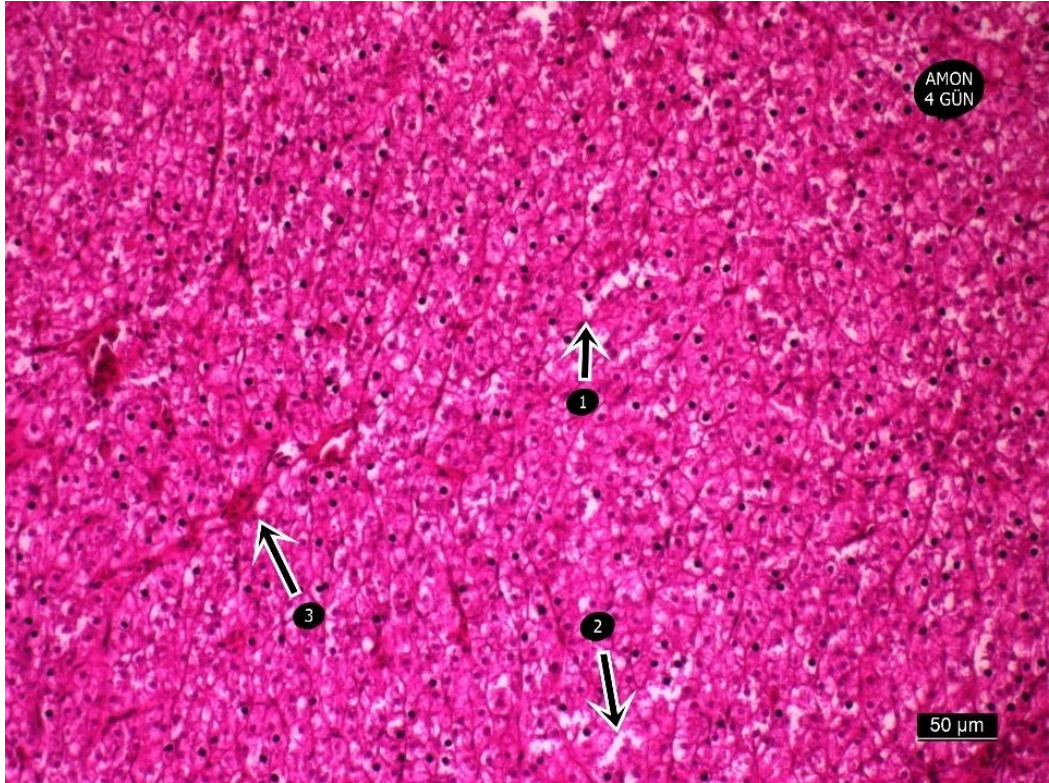
Karaciğer dokusunda gözlenen histolojik bulgular (şekil 4.1'den şekil 4.16'ya kadar) aşağıdaki gibidir ve  izelge 4.1 de histopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir.



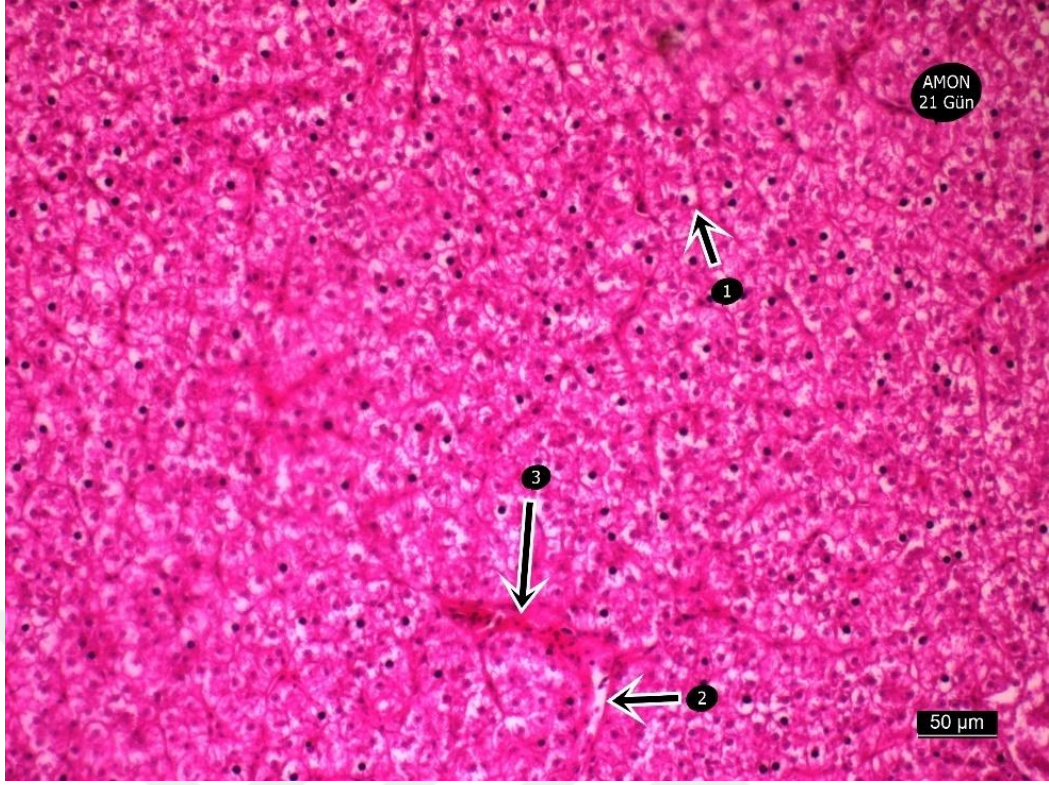
şekil 4.1. Kontrol grubu 4 gün karaciğer dokusu HE X200.



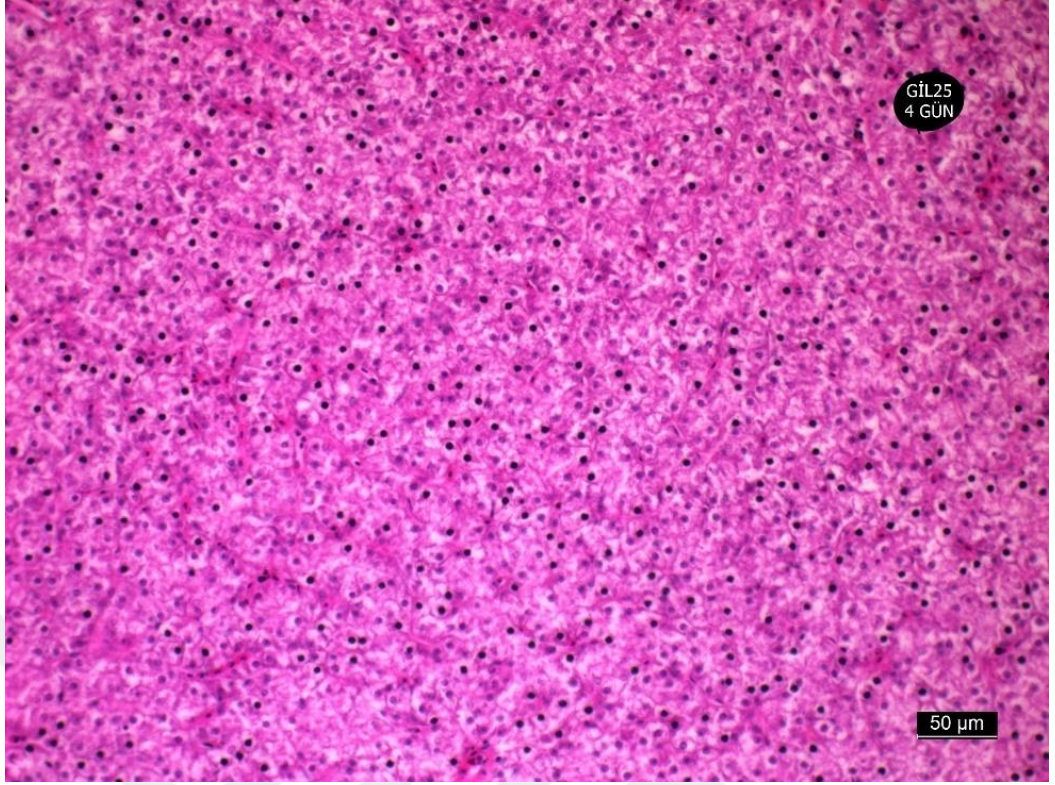
Şekil 4.2. Kontrol grubu 21 gün karaciğer dokusu HE X200.



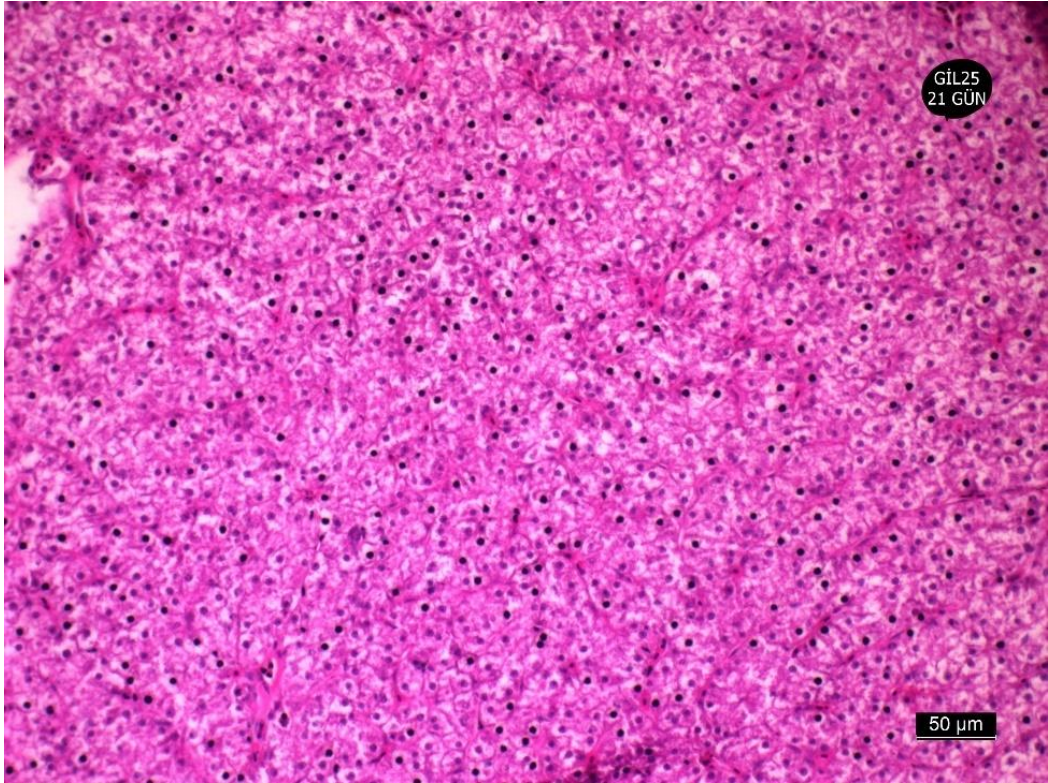
Şekil 4.3. Amonyak (5 mg/L) 4 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon, 3-mononükleer hücre infiltrasyonu) HE X200.



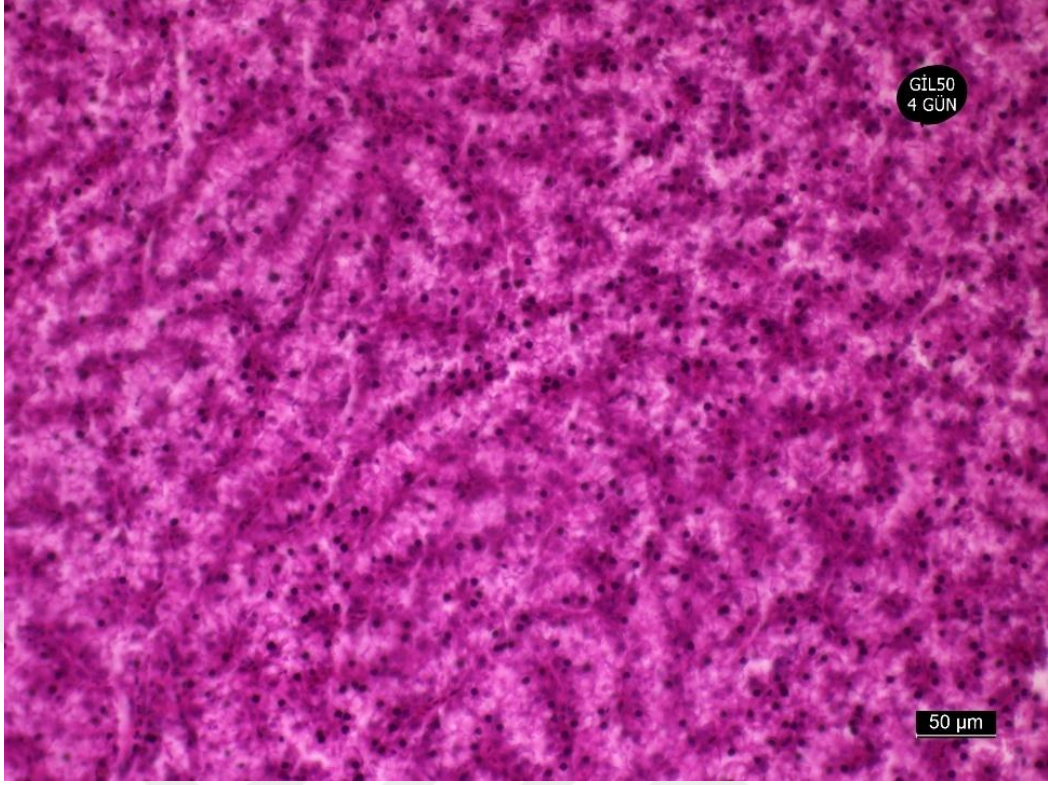
Şekil 4.4. Amonyak (5 mg/L) 21 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon, 3-mononükleer hücre infiltrasyonu) HE X200.



Şekil 4.5. Gilaboru (25 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu HE X200.



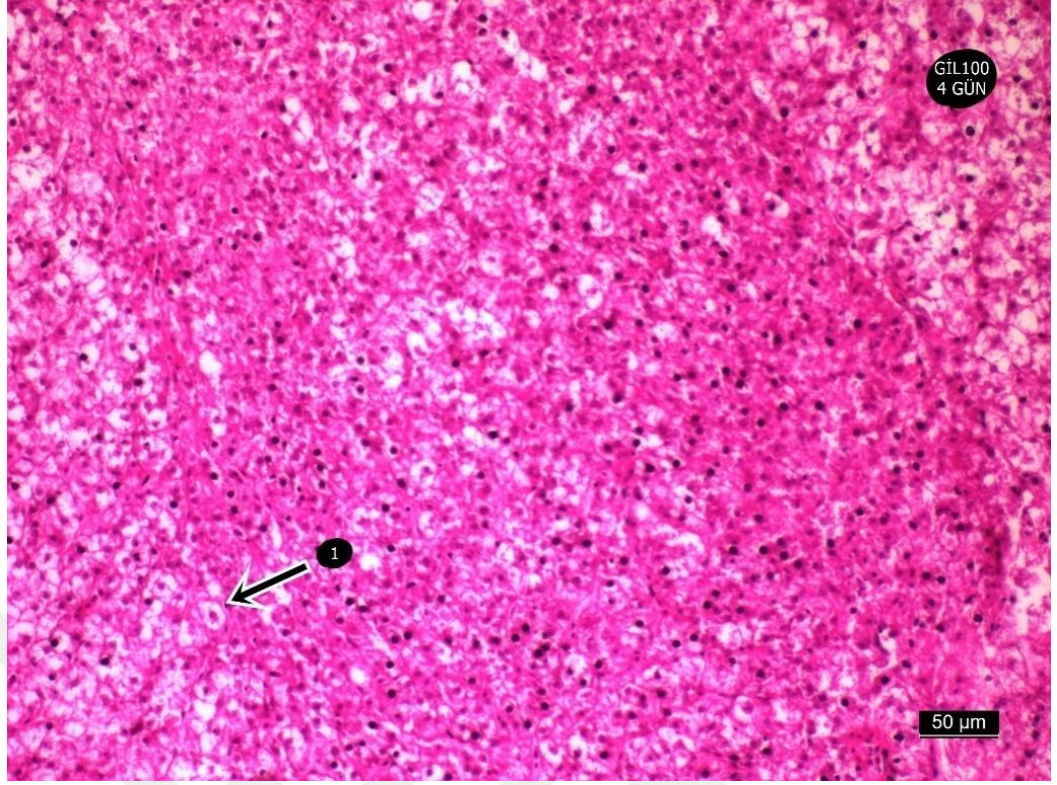
Şekil 4.6. Gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu HE X200.



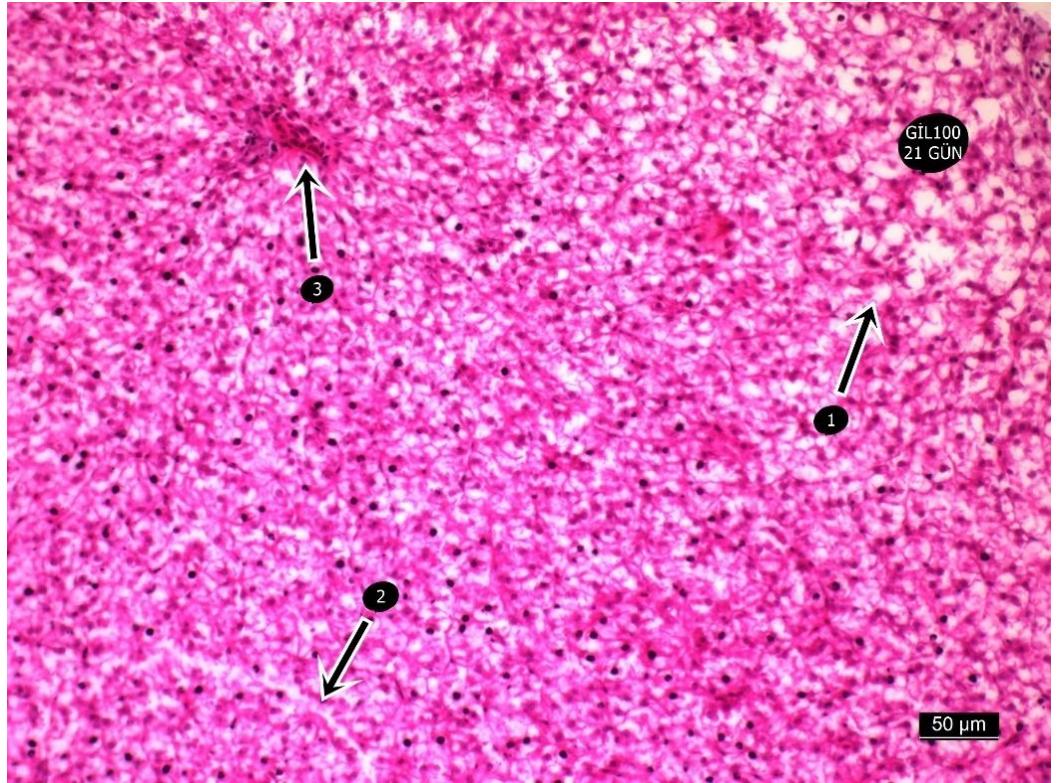
Şekil 4.7. Gilaboru (50 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu HE X200.



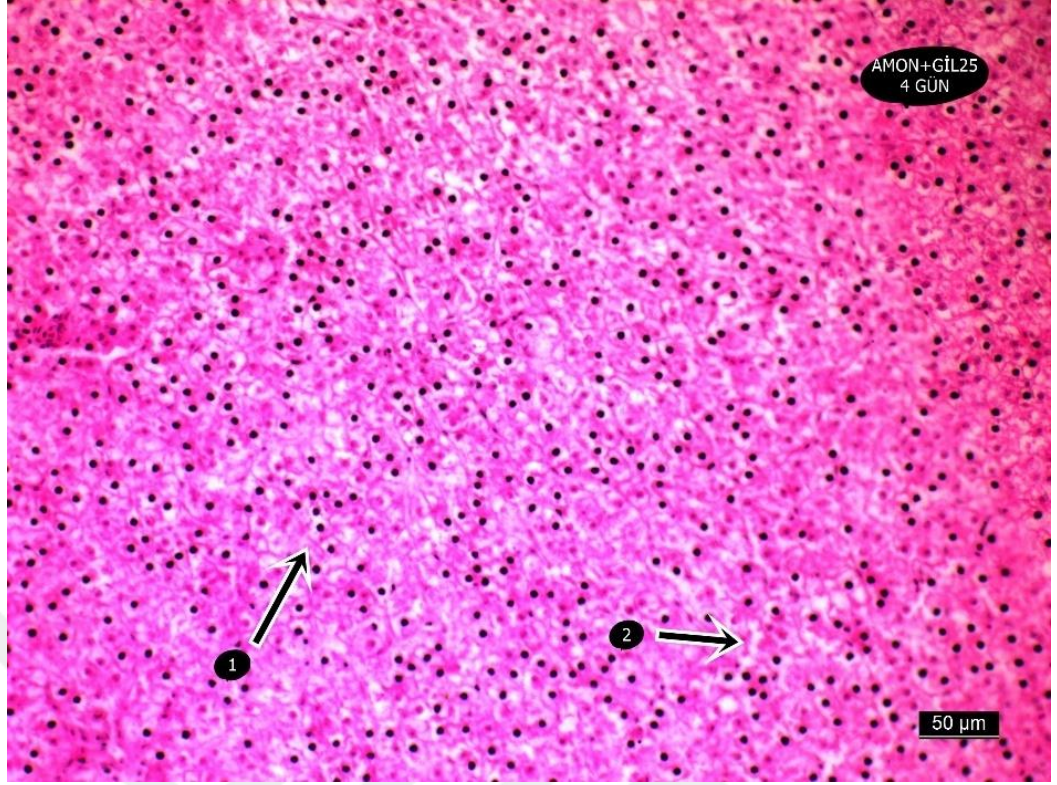
Şekil 4.8. Gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu HE X200.



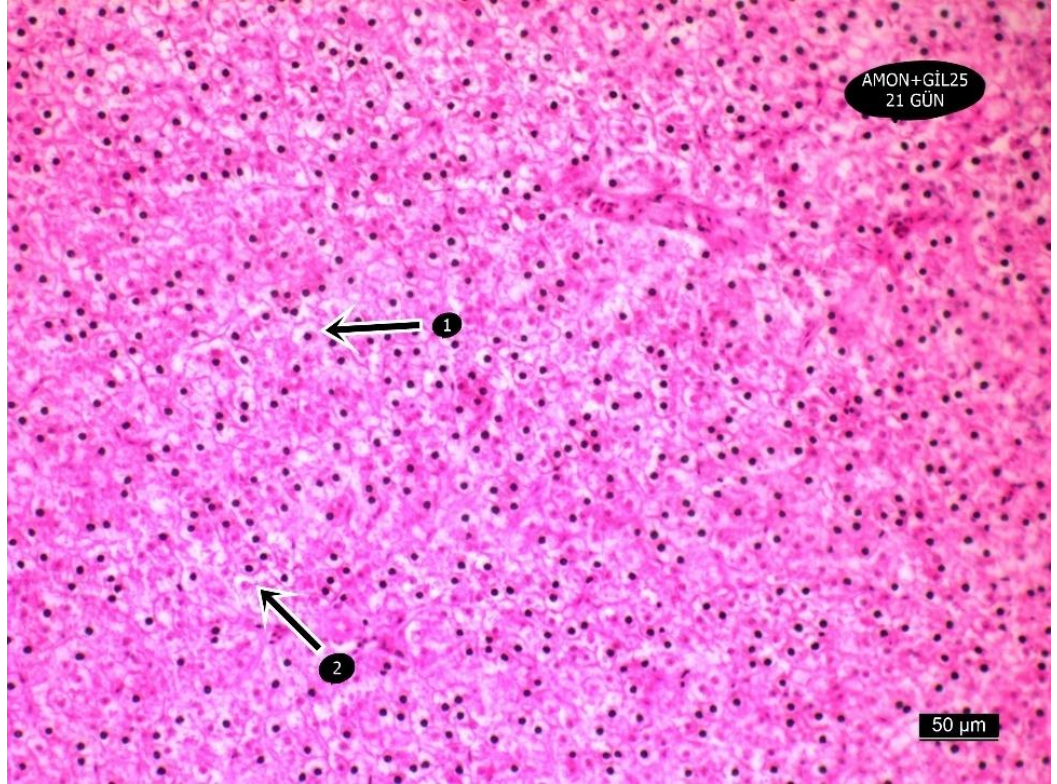
Şekil 4.9. Gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme) HE X200.



Şekil 4.10. Gilaboru (100 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon, 3-mononükleer hücre infiltrasyonu) HE X200.



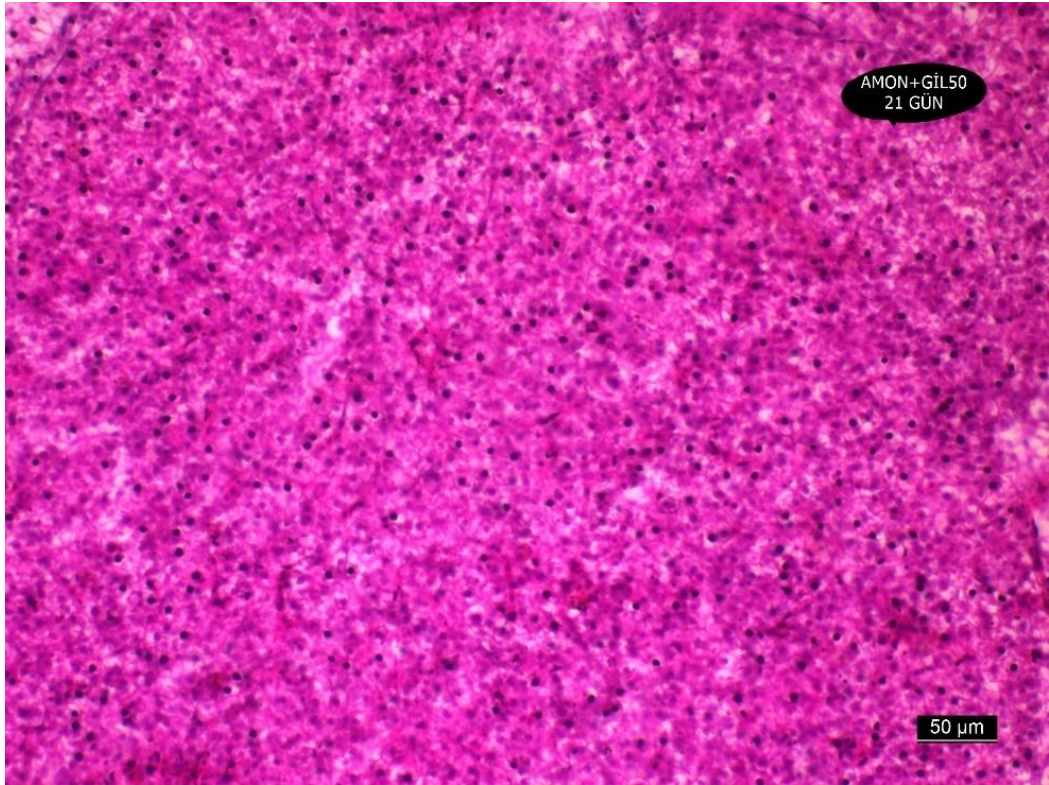
Şekil 4.11. Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/kg) 4 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon) HE X200.



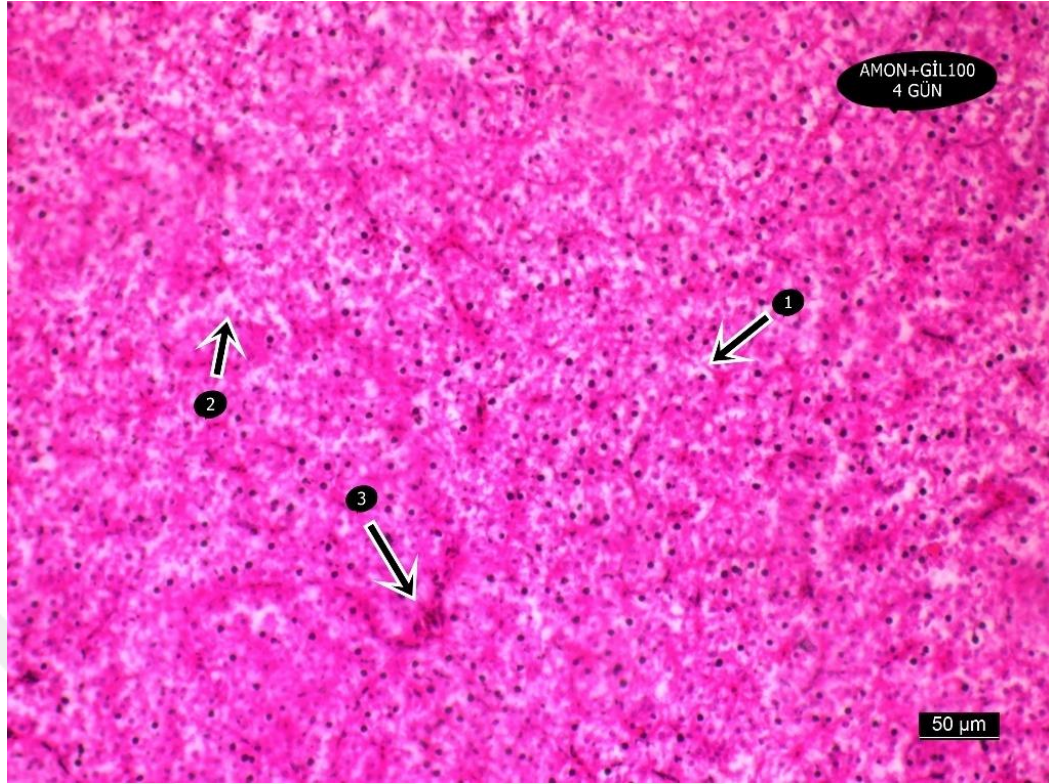
Şekil 4.12. Amonyak (5 mg/L)+Gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon) HE X200.



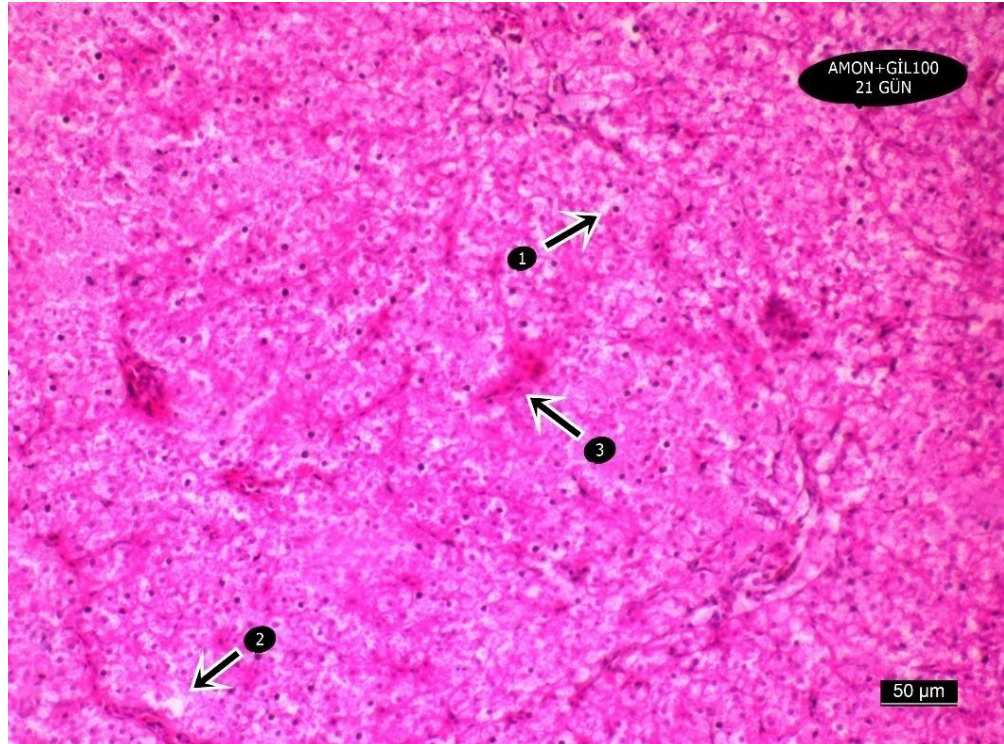
Şekil 4.13. Amonyak (5 mg/l)+gilaboru (50 mg/kg) 4 gün karaciğer dokusu HE X200.



Şekil 4.14. Amonyak (5 mg/L)+Gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün karaciğer dokusu HE X200.



Şekil 4.15. Amonyak (5 mg/L)+Gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon, 3-mononükleer hücre infiltrasyonu) HE X200.



Şekil 4.16. Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (100 mg/kg) 21 gün karaciğer dokusu (1-hepatositlerde vakuolleşme, 2-hepatoselüler dejenerasyon, 3-mononükleer hücre infiltrasyonu) HE X200.

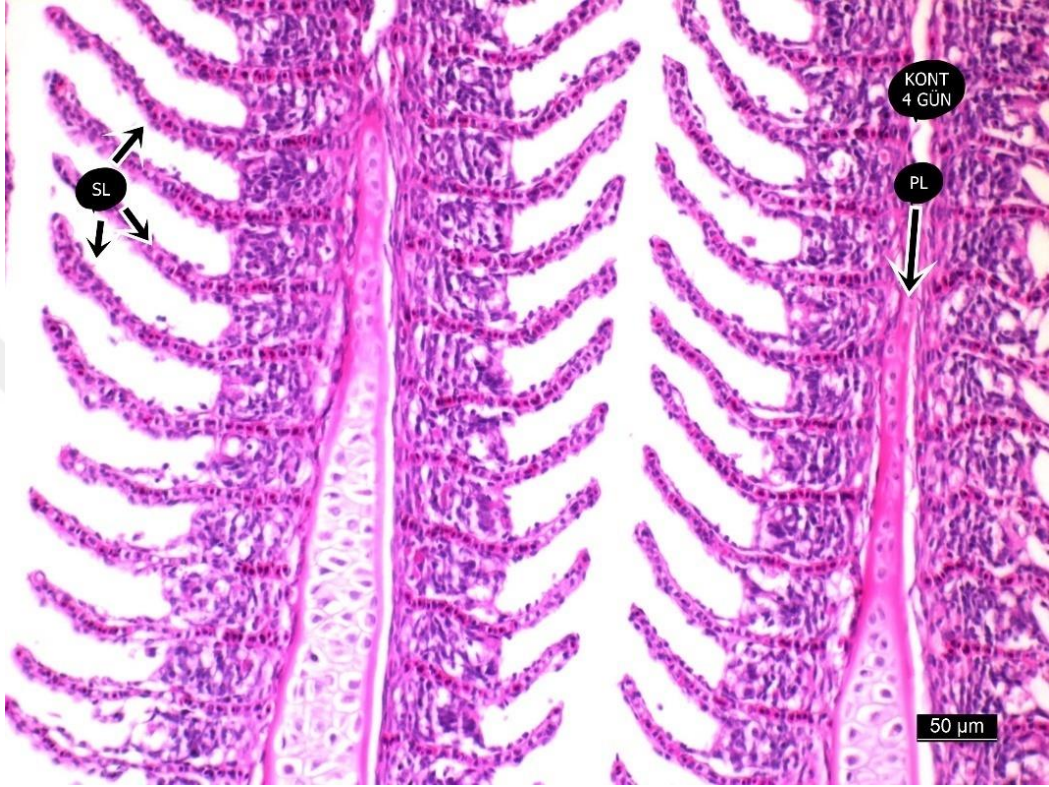
Çizelge 4.1. Karaciğer dokularında görül görülen lezyonların gruplara göre dağılımı. (+histopatolojik değişiklik tespit edilmiştir.) (AMON=Amonyak, GİL25=Gilaboru 25 mg/Kg, GİL50=Gilaboru 50 mg/ Kg, GİL100=Gilaboru 100 mg/ Kg).

Karaciğer dokusunda gözlenen histopatolojik lezyonlar	Kont		Amon		GİL25		GİL50		GİL100		AMON+ GİL25		AMON+ GİL50		AMON+ GİL100	
	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün
1.Hepatositlerde vakuolleşme	-	-	+	++	-	+	-	+	-	+	+	++	+	++	+	++
2.Hepatoselüler dejenerasyon	-	-	+	++	-	+	-	+	-	+	+	++	+	++	+	++
3.Mononükleer hücre infiltrasyonu	-	-	+	++	-	+	-	+	-	+	+	++	+	++	+	++

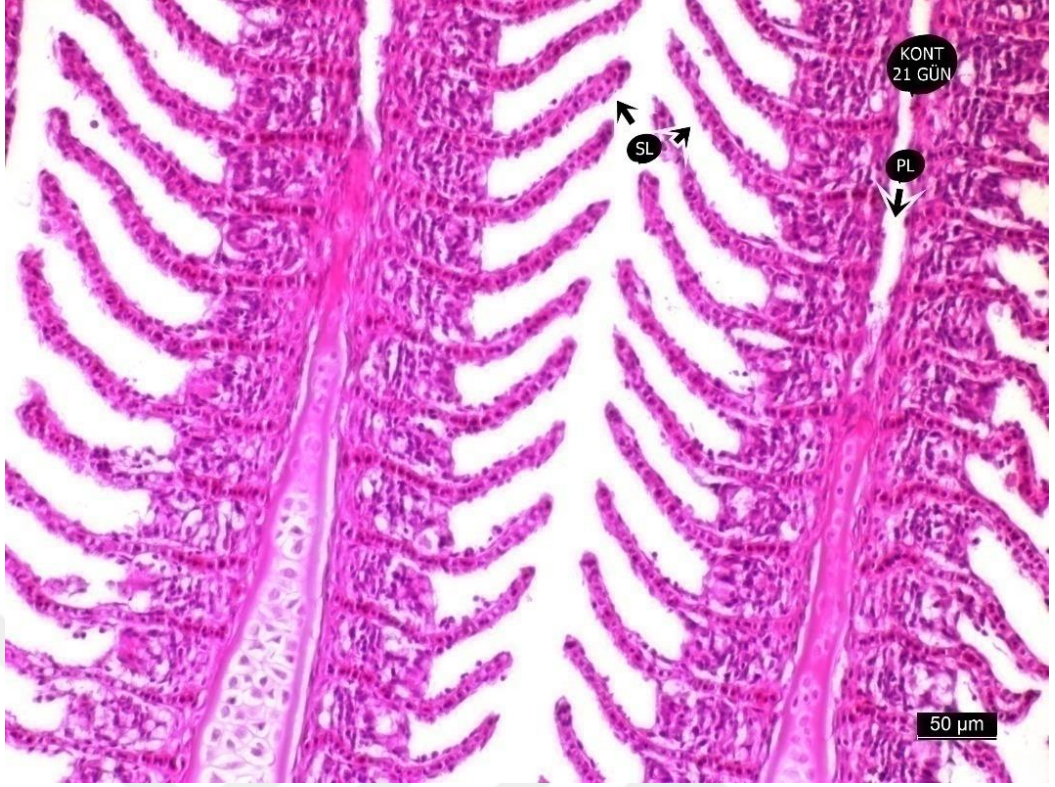
Kontrol grubu karaciğer dokuları incelendiğinde, hepatosit hücrelerinin düzensizliği ve sinüzoidlerin normal yapıda olduğu gözlenmiştir. Gilaboru bitki özütlerinin kullanıldığı gruplardaki görünümünde normal iken amonyak grubunda hepatositlerde vakuolleşme, hepatoselüler dejenerasyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Amonyakla birlikte gilaboru bitki özütünün kullanıldığı gruplarda amonyağın hasarını azaltmakla birlikte aynı histopatolojik değişimlerin görüldüğü tespit edilmiştir.

4.1.2 Solungaç

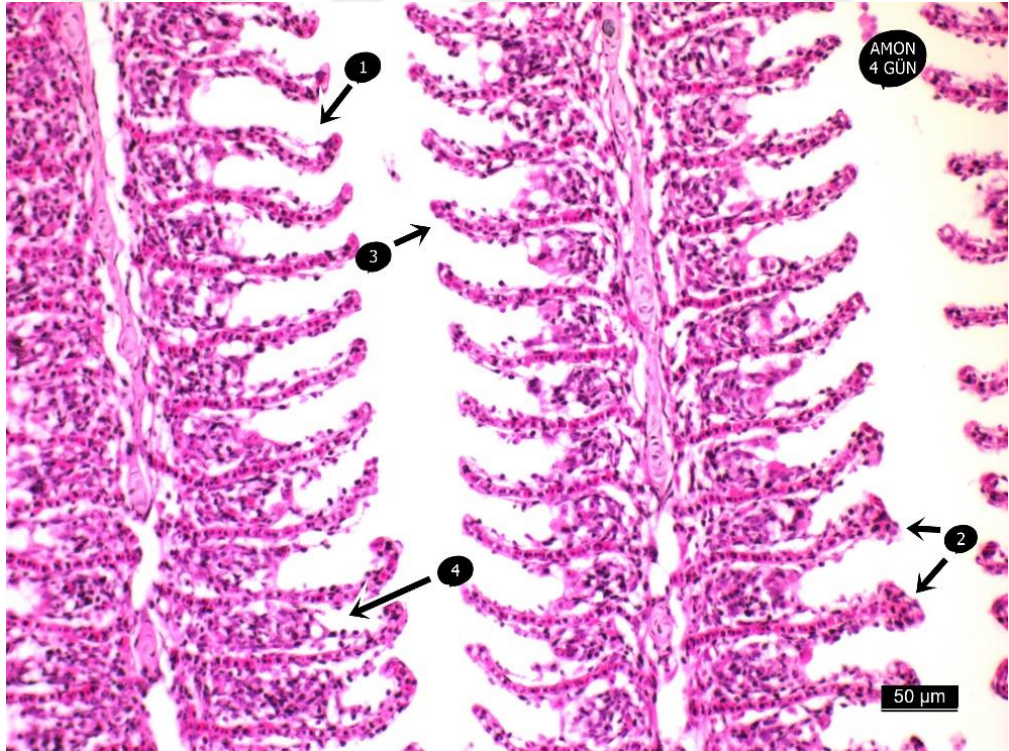
Solungaç dokusunda gözlenen histolojik bulgular (Şekil 4.17'den Şekil 4.32'ye kadar) aşağıdaki gibidir ve Çizelge 4.2 de histopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir.



Şekil 4.17. Kontrol grubu 4 gün solungaç dokusu.



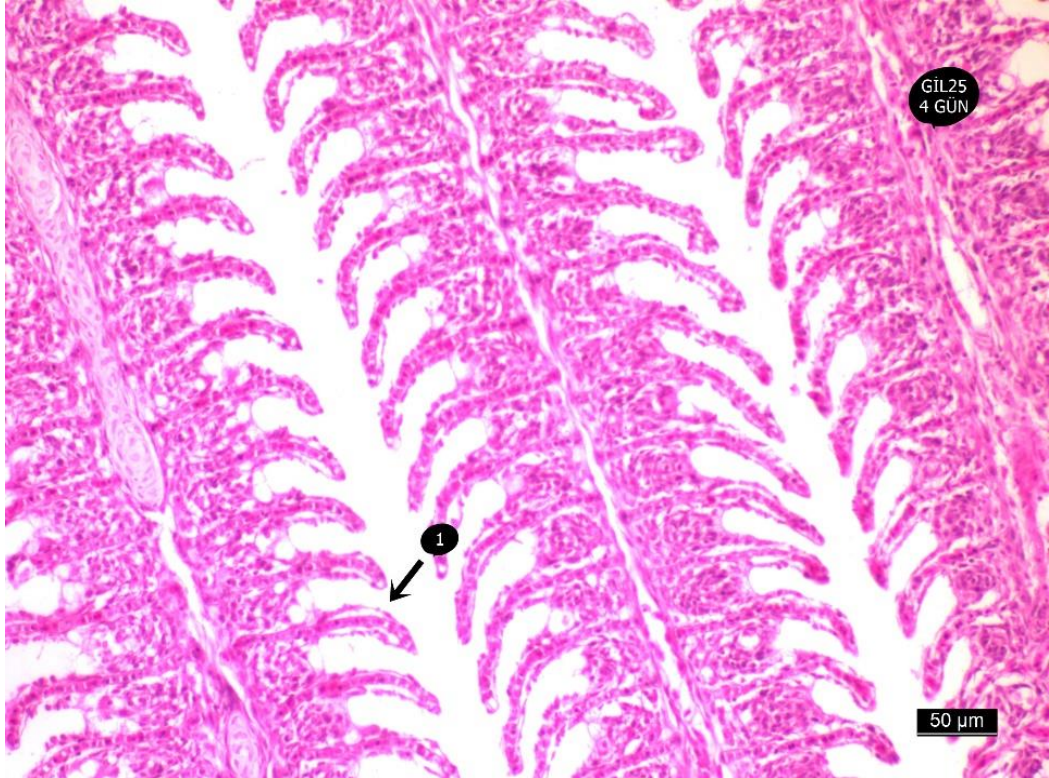
Şekil 4.18. Kontrol grubu 21 gün solungaç dokusu (pl-primer lamel, sl-sekonder lamel) HE X200.



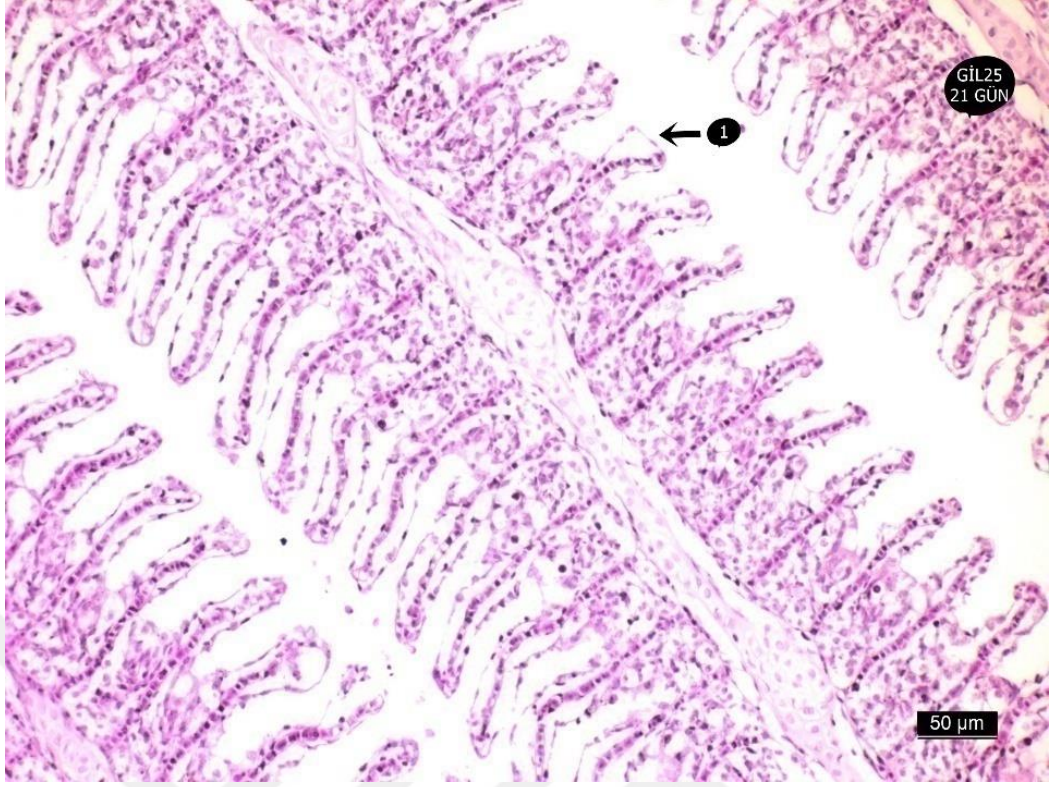
Şekil 4.19. Amonyak (5 mg/L) 4 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısalma, 4- sekonder lamellerde birleşme) HE X200.



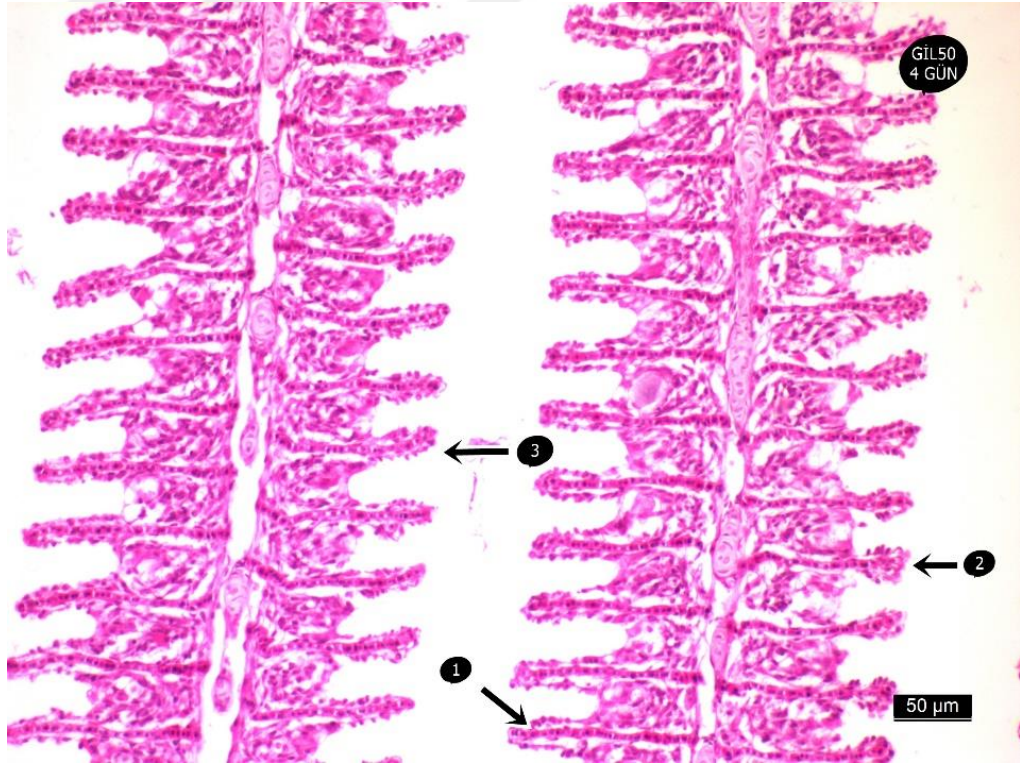
Şekil 4.20. Amonyak (5 mg/L) 21 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısalma, 4- sekonder lamellerde birleşme) HE X200.



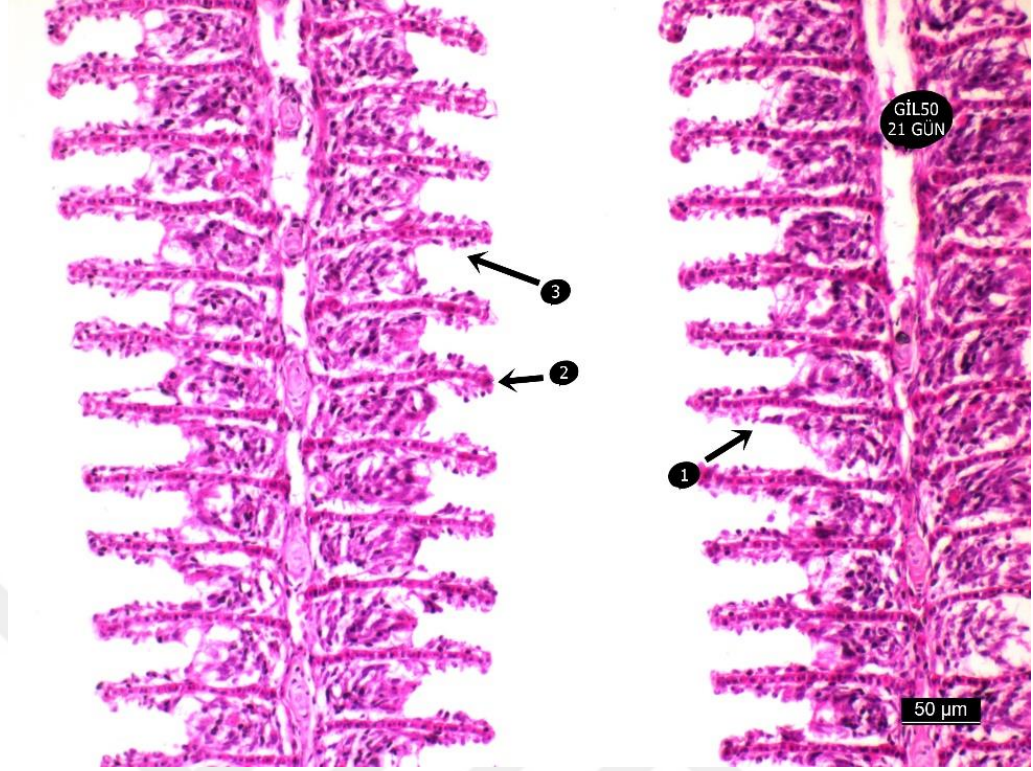
Şekil 4.21. Gilaboru (25 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması) HE X200.



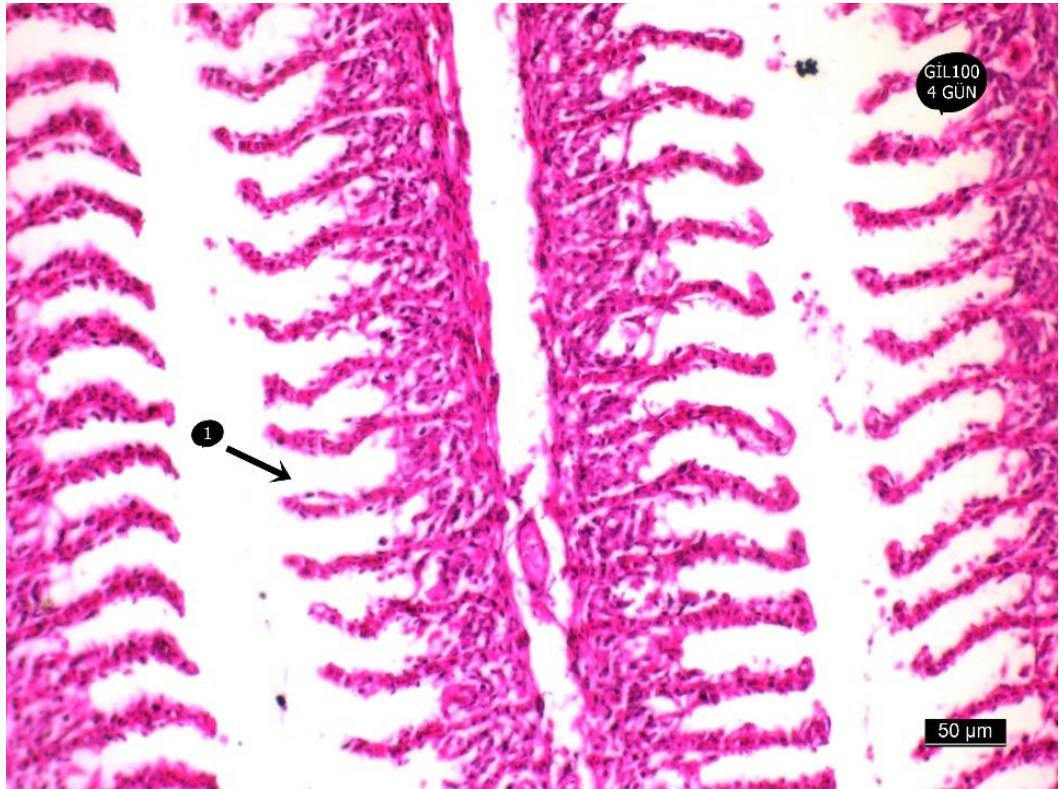
Şekil 4.22. Gilaboru (25 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması) HE X200.



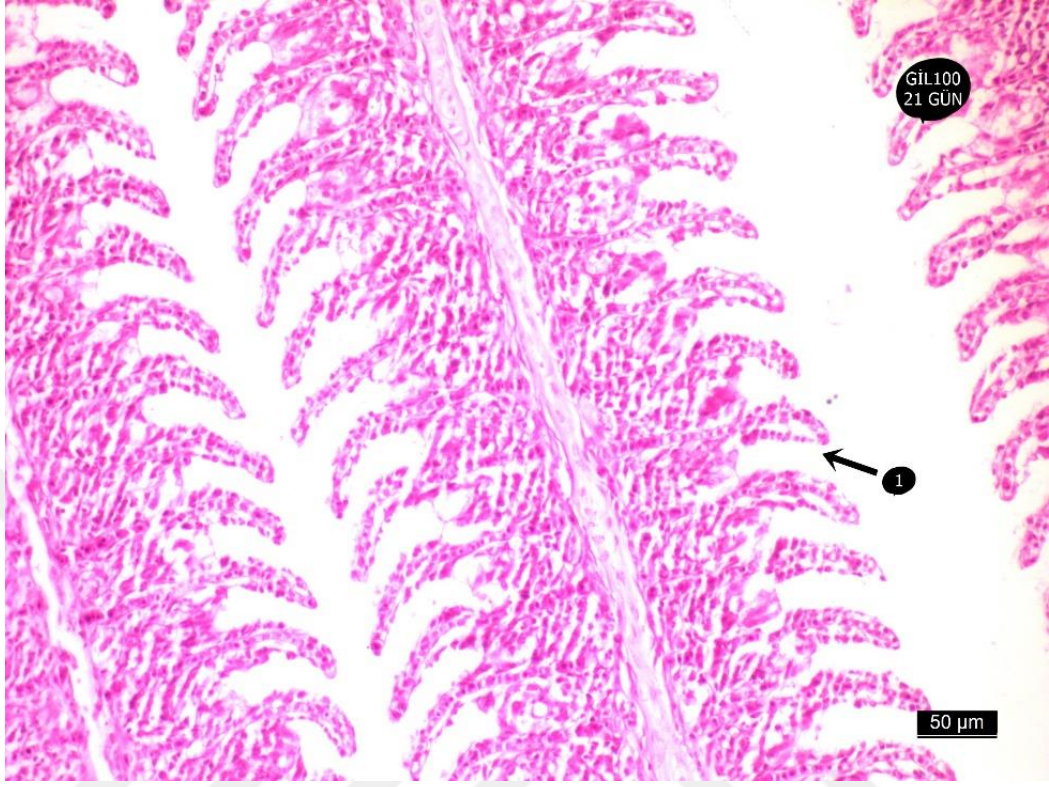
Şekil 4.23. Gilaboru (50 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısalma) HE X200.



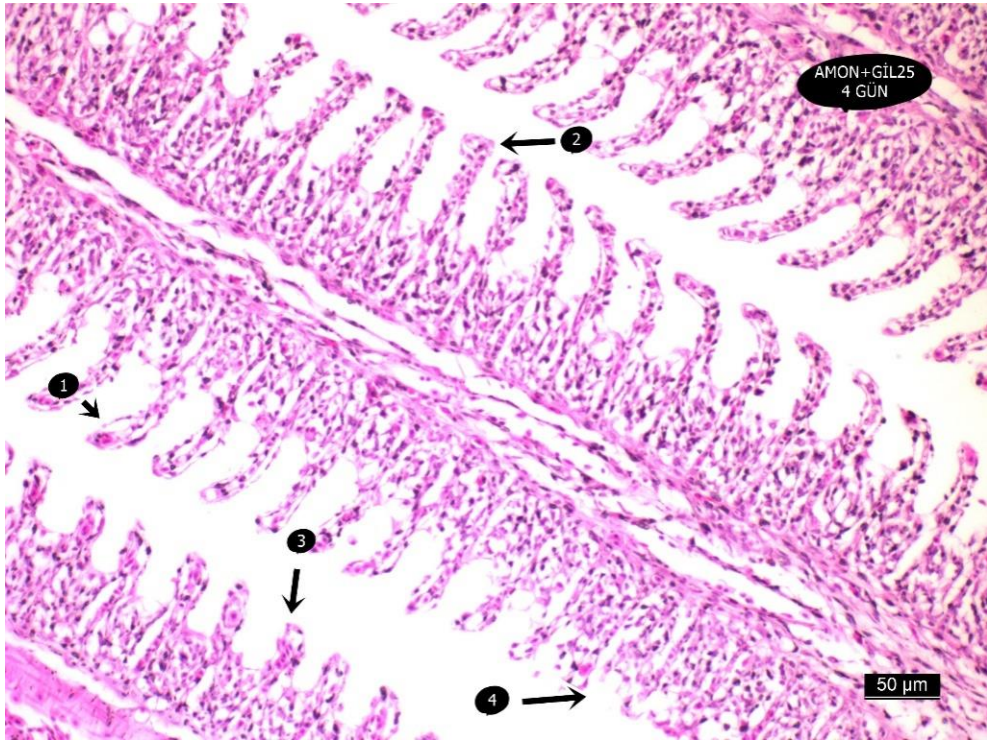
Şekil 4.24. Gilaboru (50 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısalma) HE X200.



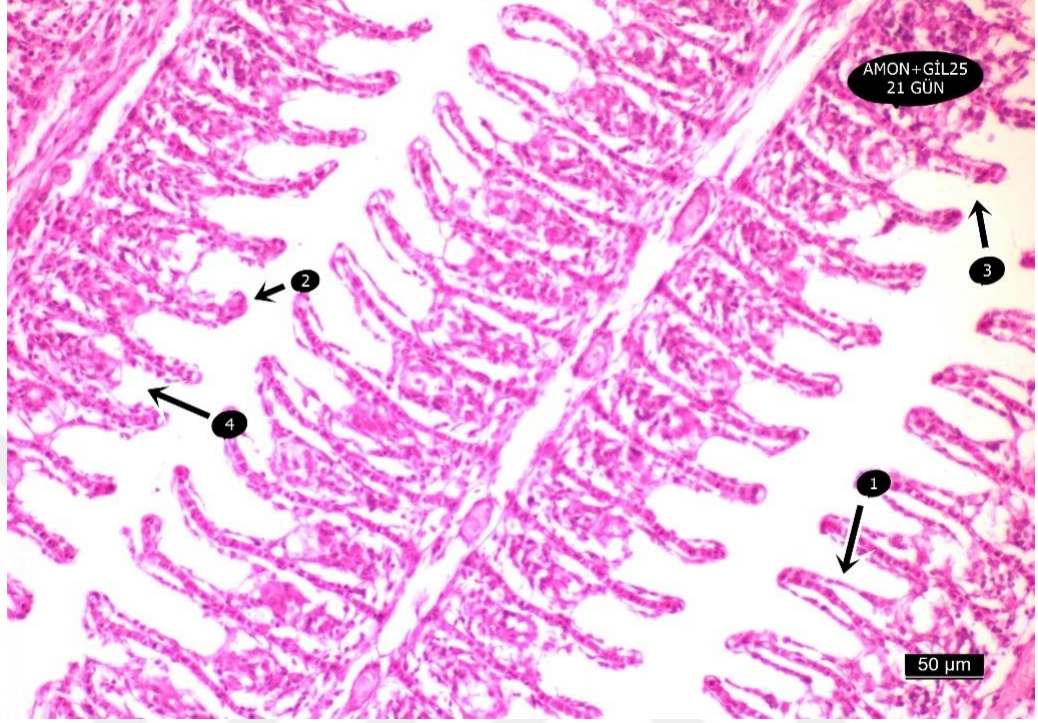
Şekil 4.25. Gilaboru (100 mg/Kg) 4 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması) HE X200.



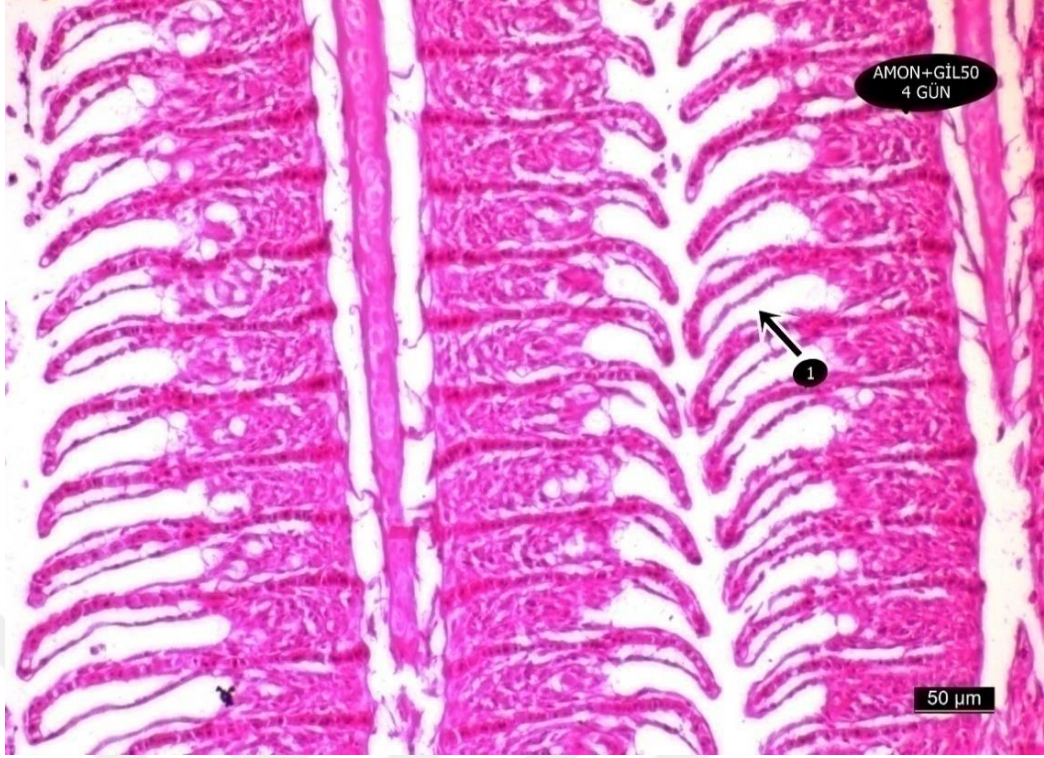
Şekil 4.26. Gilaboru (100 mg/Kg) 21 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması) HE X200.



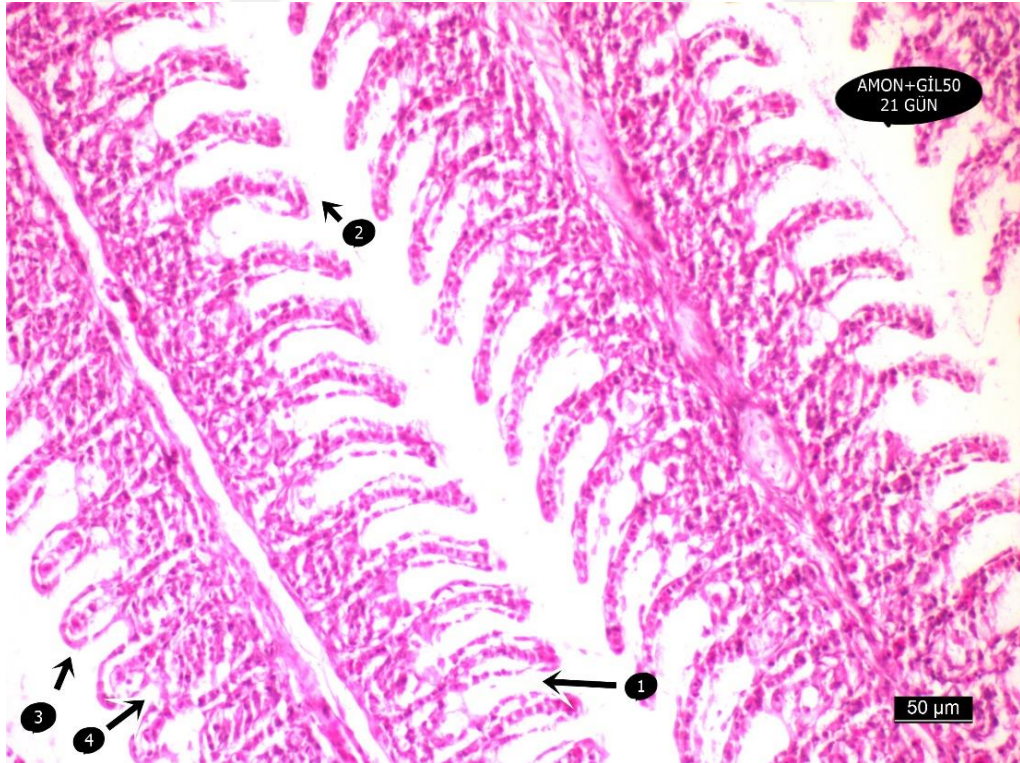
Şekil 4.27. Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/kg) 4 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısıalma, 4-sekonder lamellerde birleşme) HE X200.



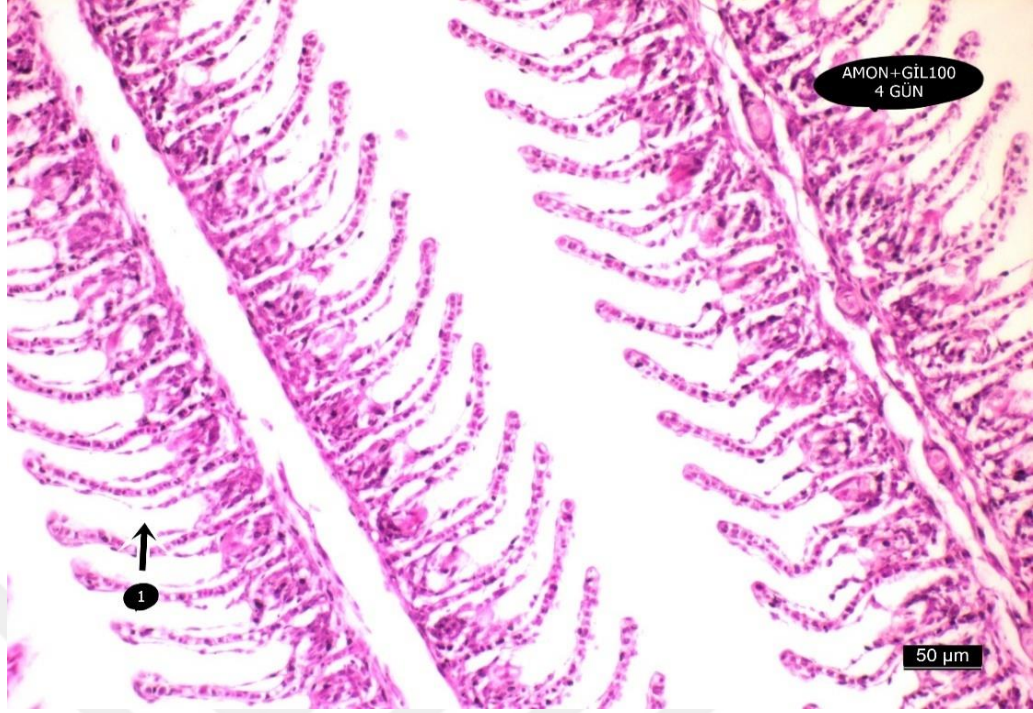
Şekil 4.28. Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (25 mg/kg) 21 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısıalma, 4-sekonder lamellerde birleşme) HE X200.



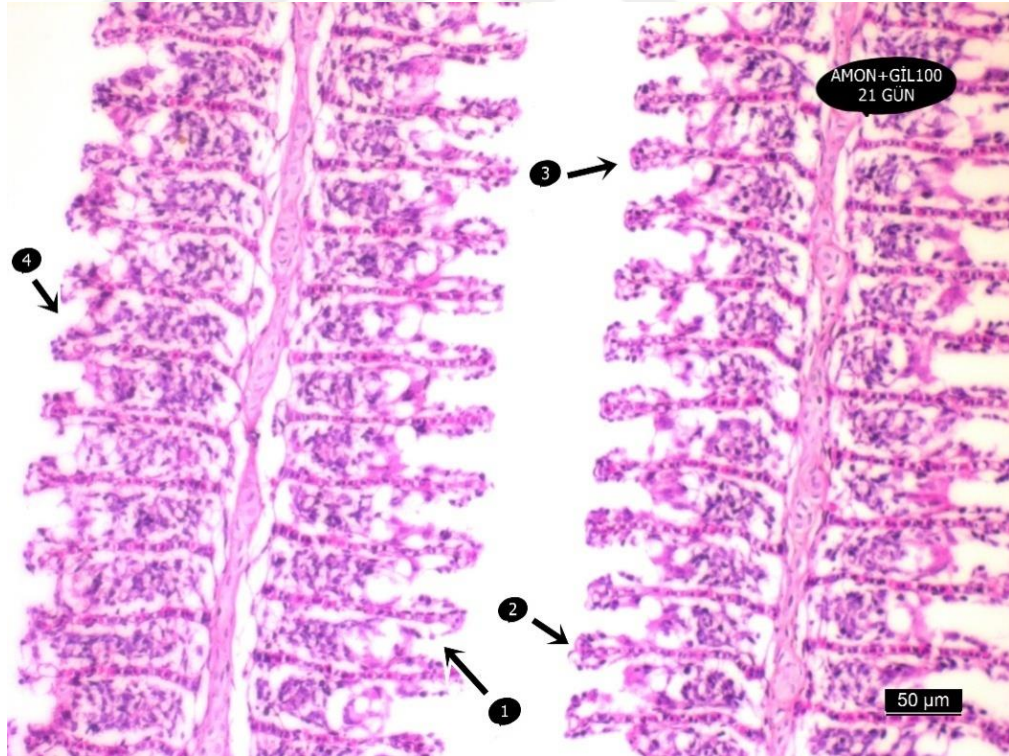
Şekil 4.29. Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (50 mg/kg) 4 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması) HE X200.



Şekil 4.30. Amonyak (5 mg/L)+gilaboru (50 mg/kg) 21 gün solungaç dokusu (1-sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-sekonder lamellerde kısalma, 4-sekonder lamellerde birleşme) HE X200.



Şekil 4.31. Amonyak (5 mg/L)+Gilaboru (100 mg/Kg) 4 Gün Solungaç Dokusu (1-Sekonder lamellerde epitel ayrılması) HE X200.



Şekil 4.32. Amonyak (5 mg/L)+Gilaboru (100 mg/Kg) 21 Gün Solungaç Dokusu (1-Sekonder lamellerde epitel ayrılması, 2-Sekonder lamel ucunda çomaklaşma, 3-Sekonder lamellerde kısalma, 4-Sekonder lamellerde birleşme) HE X200.

Çizelge 4.2. Solungaç dokularında görülen görülen lezyonların gruplara göre dağılımı. (+ histopatolojik değişiklik tespit edilmiştir.) (AMON= Amonyak, GİL25= Gilaboru 25 mg/Kg, GİL50= Gilaboru 50 mg/ Kg, GİL100= Gilaboru 100 mg/ Kg).

Solungaç dokusunda gözlenen histopatolojik lezyonlar	Kont		Amon		GİL25		GİL50		GİL100		AMON+ Gİl25		AMON+ Gİl50		AMON + Gİl100	
	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün
1. Sekonder lamellerde epitel ayrılması	-	-	+	++ +	-	-	-	-	-	-	+	++	+	++	+	++
2. Sekonder lamel ucunda çomaklaşma	-	-	+	++ +	-	-	-	-	-	-	+	++	+	++	+	++
3. Sekonder lamellerde kısalma	-	-	+	++ +	-	-	-	-	-	-	+	++	+	++	+	++
4. Sekonder lamellerde birleşme	-	-	+	++ +	-	-	-	-	-	-	+	++	+	++	+	++

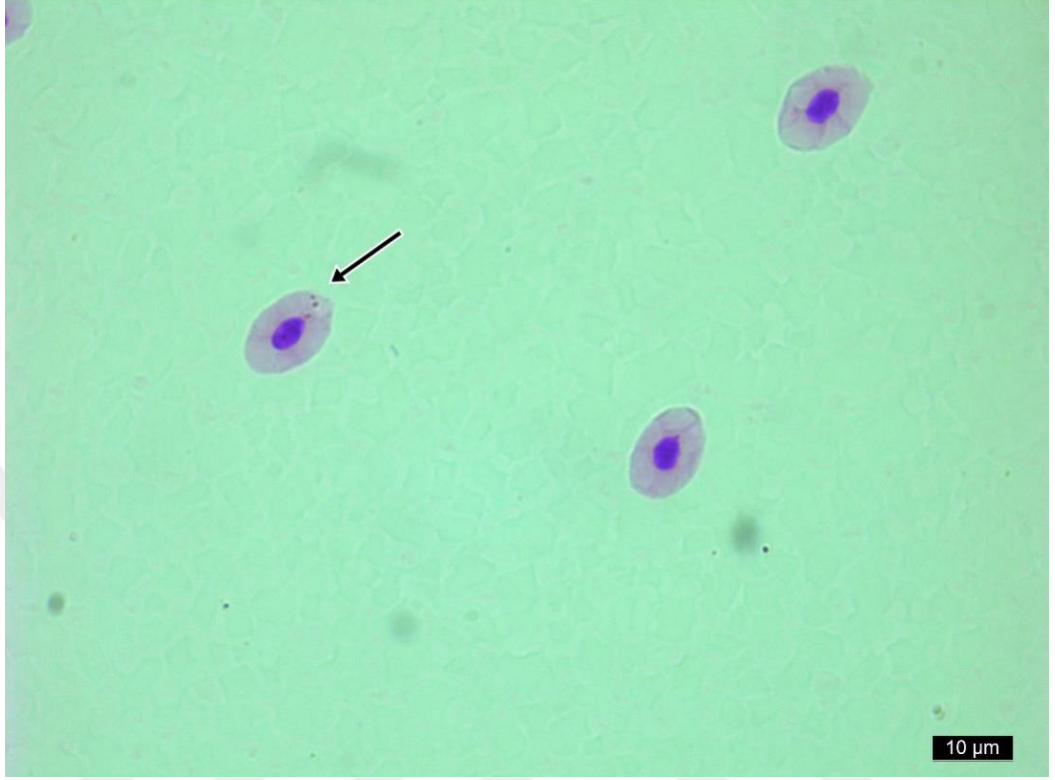
Kontrol grubu solungaç dokuları incelendiğinde, primer ve sekonder lamellerin normal yapıda olduğu gözlenmiştir. Gilaboru bitki özütlerinin kullanıldığı gruplardaki görünümünde normal iken amonyak grubunda sekonder lamellerde epitel ayrılması, uçlarında çomaklaşma, kısalma ve birleşme gözlenmiştir. Amonyakla birlikte gilaboru bitki özütünün kullanıldığı gruplarda amonyağın hasarını azaltmakla birlikte aynı histopatolojik değişimlerin görüldüğü tespit edilmiştir.

4.2 Eritrosit Morfolojileri

4.2.1 Mikronükleus (MN)

Hücrenin mitoz bölünmesiyle oluşan sitoplazma içinde ana çekirdek ile birlikte izlenen ikinci bir küçük çekirdek yapısına verilen isimdir. MN genellikle DNA hasarlarından oluşur (Fenech, 2010). MN sayısında gözlenen artışa vücut hücrelerindeki genomik kararsızlık ve çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu kromozom düzensizlikleri neden olur. MN genellikle hücre içinde genotoksik

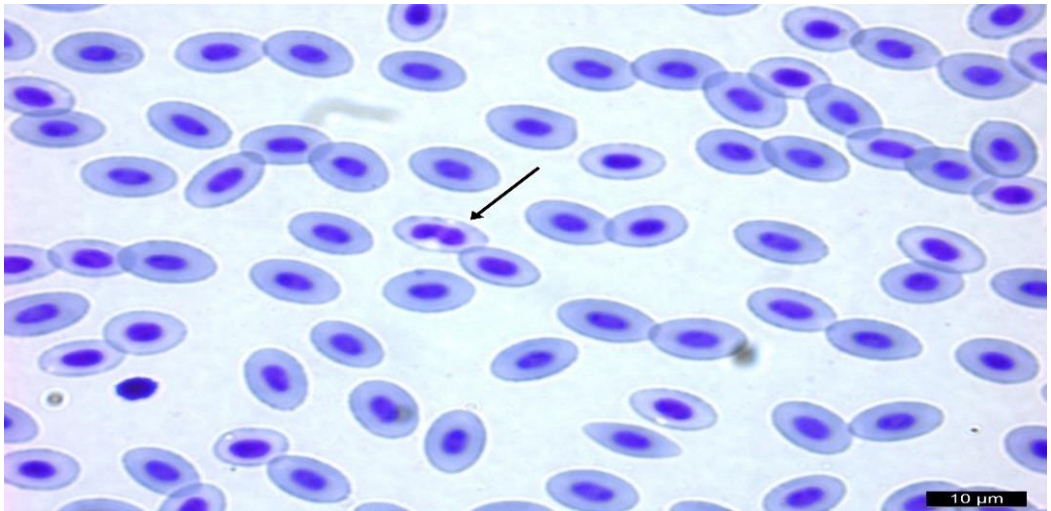
maddelerin etkisiyle bir veya daha fazla görülebilirler (Şekil 4.33) (Atlı ve Şekeroğlu, 2011).



Şekil 4.33. Mikronükleus (MN) (Oklar).

4.2.2 Çentikli nükleus

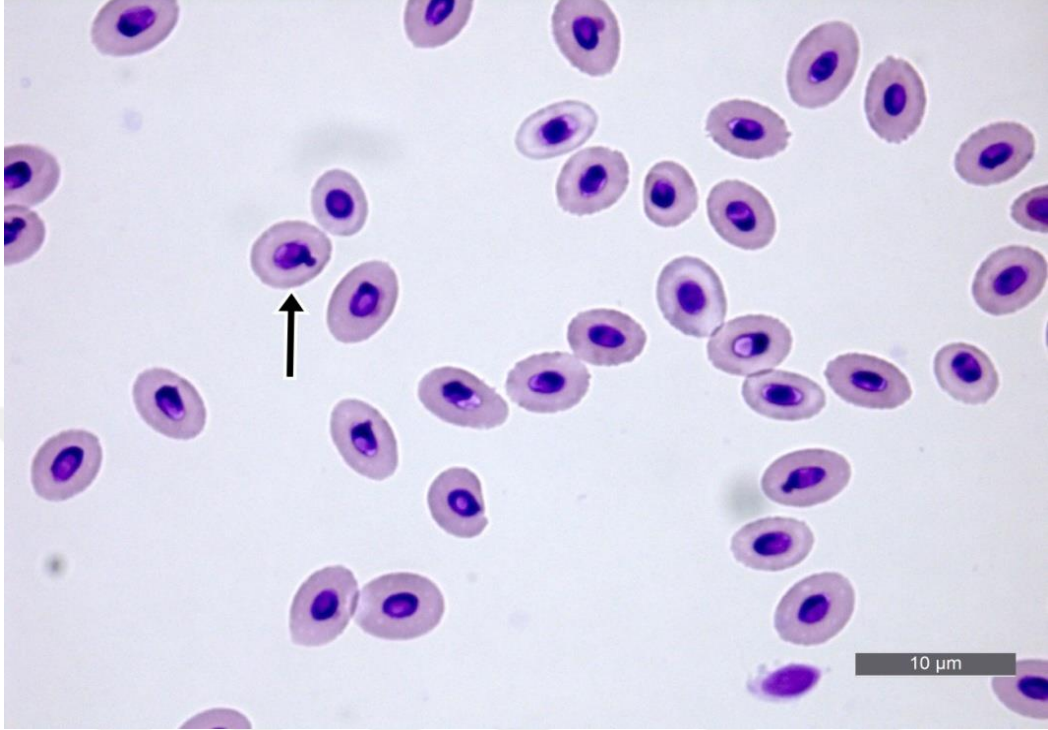
Çekirdek zarında çekirdek içerisine doğru oluşum sağlayan içinde kromatin bulunmayan girintilere sahip çekirdek yapısıdır (Şekil 3.34).



Şekil 4.34. Çentikli nükleus (Oklar).

4.2.3 Tomurcuklu nükleus

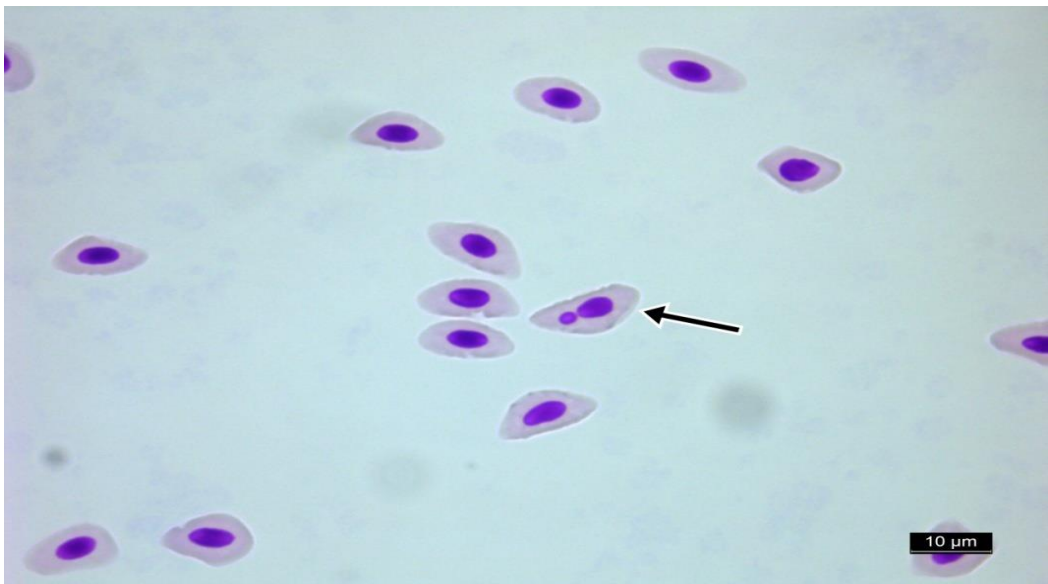
Çekirdek zarından dışarı çıkıntı yapar. Kromatin içerir ve küçük tomurcuklanmaları vardır (Şekil 3.35).



Şekil 4.35. Tomurcuklu nükleus (Oklar).

4.2.4 Loblu nükleus

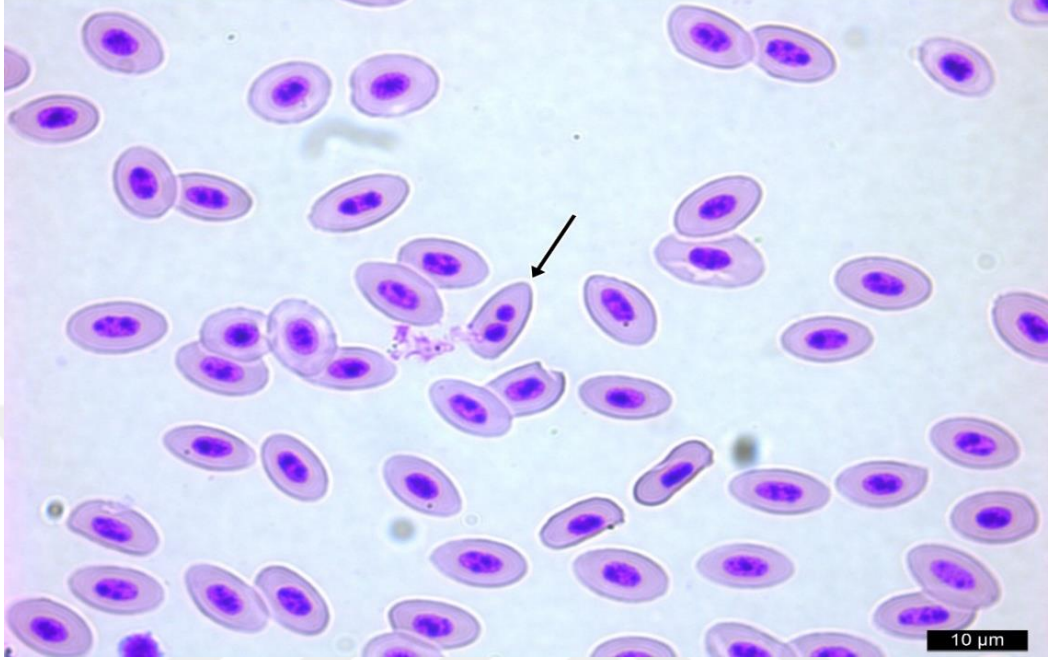
Büyük ve çok sayıda lob barındıran çekirdek yapısıdır (Şekil 3.36).



Şekil 4.36. Loblu nükleus (Oklar).

4.2.5 Binükleus

Bir hücre içerisinde iki tane nükleus bulunması durumudur (Şekil 3.37) (Arslan, 2011).

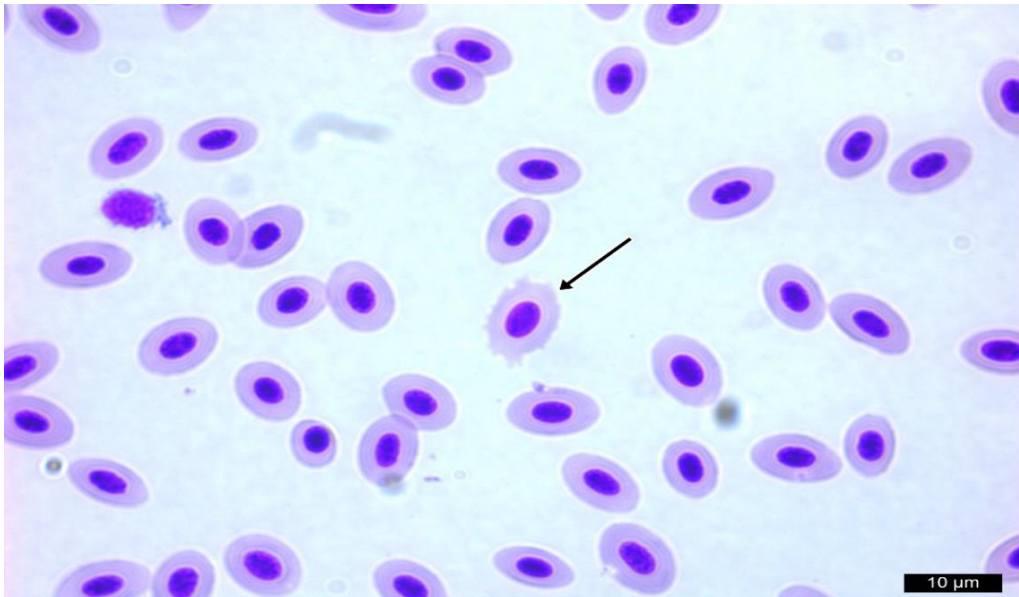


Şekil 4.37. Binükleus (Oklar).

4.3 Çekirdek morfolojileri

4.3.1 Ekinosit

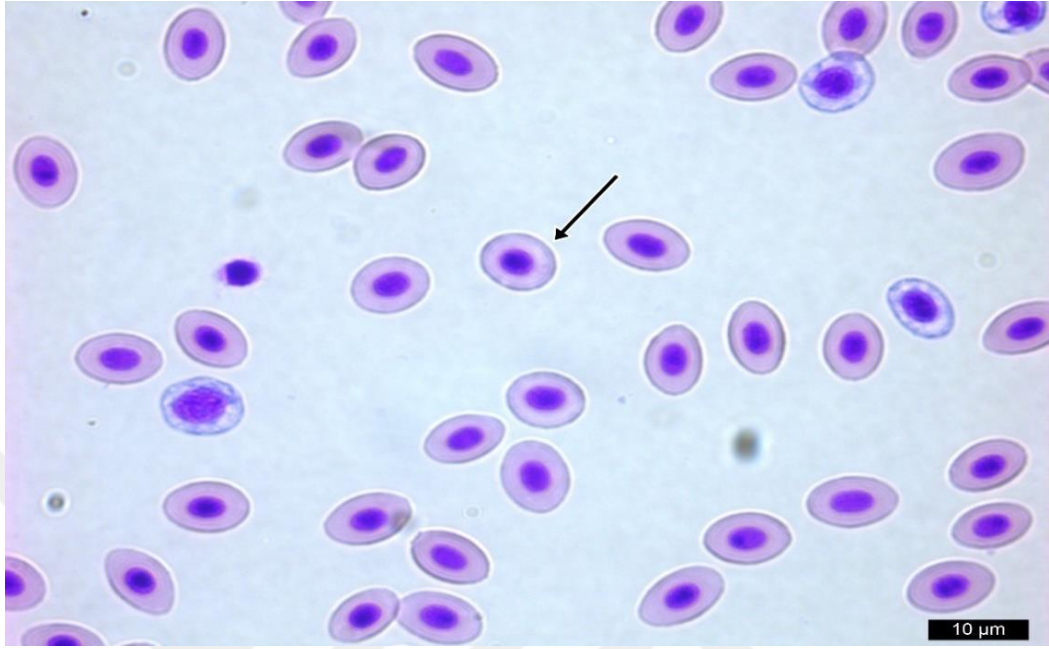
Hücre zarında meydana gelen aynı çap ve uzunluktaki çıkıntılarla oluşur (Şekil 3.38).



Şekil 4.38. Ekinosit (Oklar).

4.3.2 Hipokromi

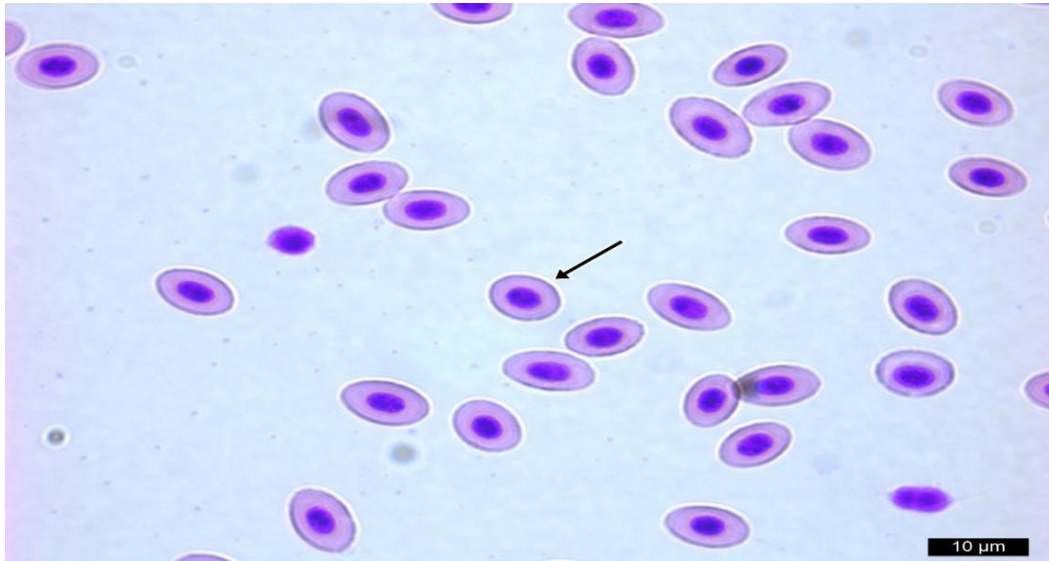
Eritrositlerin hemoglobin miktarının azalması sonucu hücre sitoplazmasının orta kısmında görülen soluk renkli alanın artmasıyla oluşur (Şekil 3.39).



Şekil 4.39. Hipokromi.

4.3.3 Küremsi

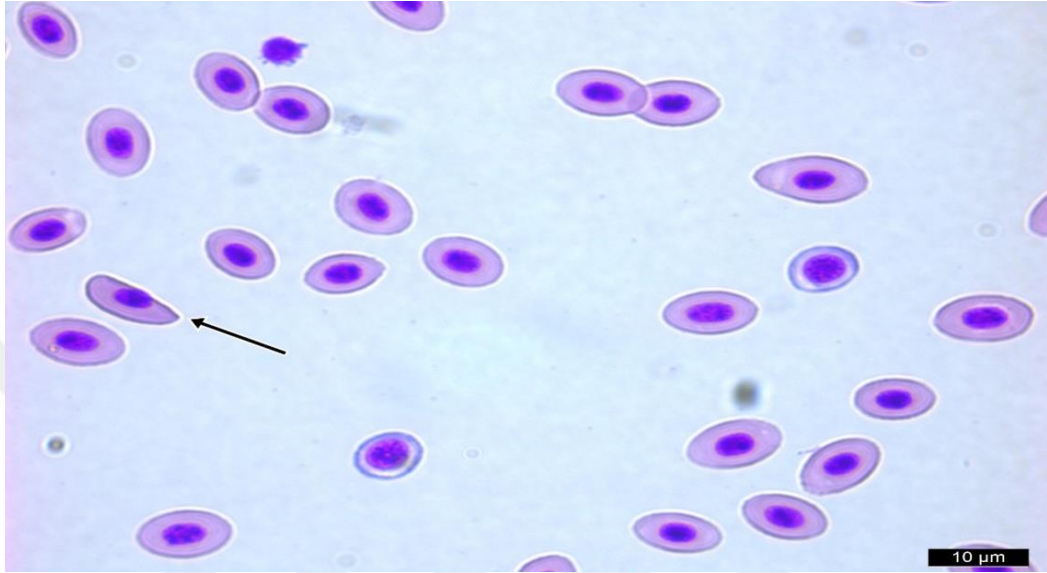
Normal çekirdek çapına göre küçük, daha yuvarlak ve ortasındaki solukluğun kaybolduğu alyuvarlardır(Şekil 4.40) (Arslan, 2011).



Şekil 4.40. Küremsi.

4.3.4 Orak

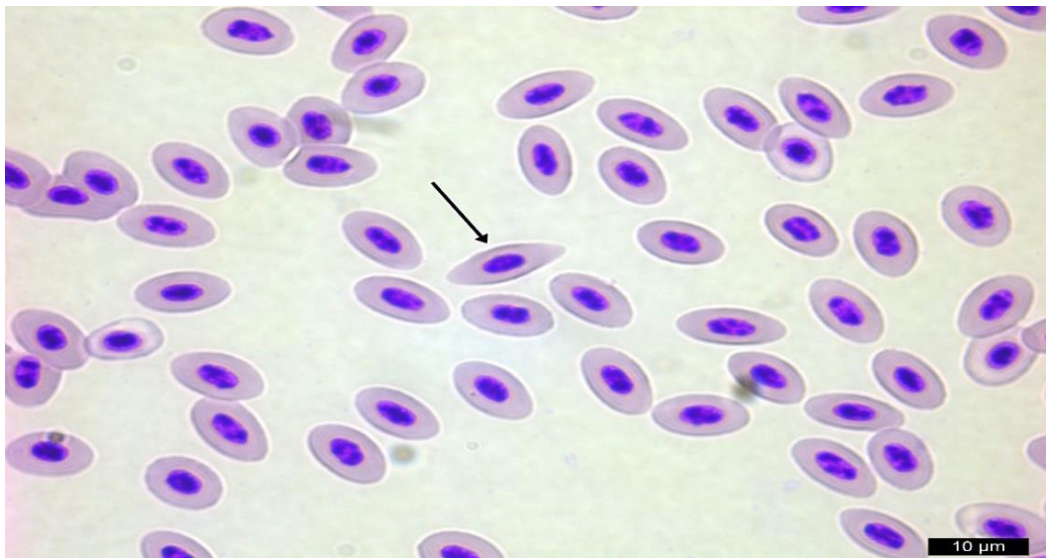
Hemoglobinde bulunan beta zincirindeki 6. aminoasitin glutamin yerine valin aminoasitinin bağlanmasıyla oluşan hemoglobin S'nin yer almasıyla hücrenin orak şeklini almasıdır Şekil 4.41) (URL-3).



Şekil 4.41. Orak (Oklar).

4.3.5 Fusiform (eliptosit)

Eritrositlerin hemoglobinlerinin oksijensiz ortamda eliptosit şeklini almasıdır. Eliptositlerin uçları hafif yuvarlaktır (Şekil 4.42) (URL-4).



Şekil 4.42. Fusiform (Oklar).

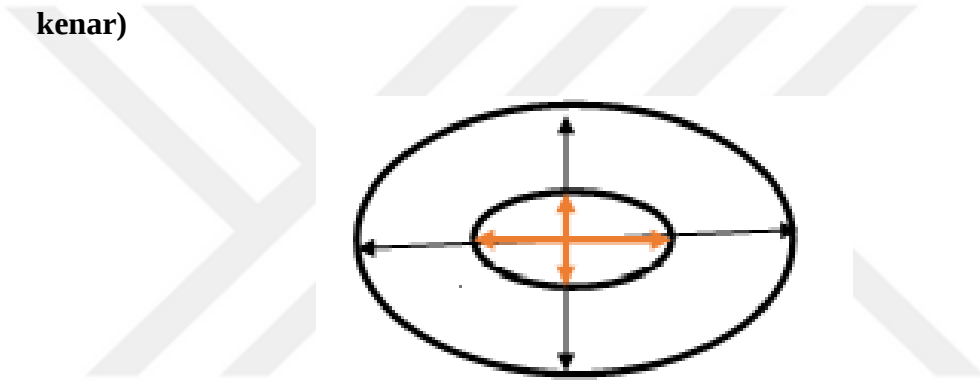
4.4 Eritrositlerin hacim ölçümleri

Hazırlanan preparatlardan eritrositlerin en ve boyları mikroskopta ölçülerek (Şekil 4.43) eritrosit alan hesaplaması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

Eritrosit alanı: $\pi \times *U.K./2 \times *K.K./2 \mu m^2$ (*U.K.= Uzun kenar, *K.K.= Kısa kenar)

Hazırlanan preparatlardan eritrosit çekirdeklerinin en ve boyları mikroskopta ölçülerek eritrosit çekirdek alan hesaplaması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır ve Çizelge 4.3 deki gibi nükleoplazmik indeks alanı bulunduğundan sonra Şekil 4.44 de hesaplaması yapılmıştır.

Çekirdek alanı: $\pi \times U.K./2 \times K.K./2 \mu m^2$ (*U.K. =Uzun kenar, *K.K= Kısa kenar)



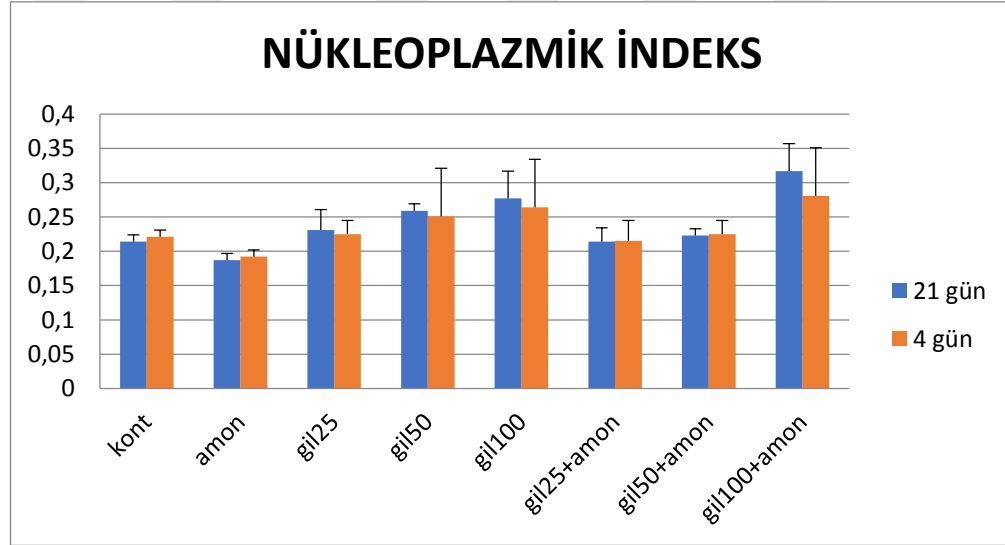
Şekil 4.43. Eritrosit ölçümü (siyah oklar hücre alanını, renkli oklar çekirdek alanını hesaplamak için kullanılan kısa ve uzun kenarları göstermektedir).

Çizelge 4.3. Nükleoplazmik indeks alanı.

	AKUT	SUPKRONİK
Kontrol	0,221± 0,01 ^e	0,214 ± 0,01 ^e
Amonyak	0,192 ± 0,01 ^f	0,187 ± 0,01 ^f
Gilaboru25	0,225 ± 0,02 ^d	0,231 ± 0,03 ^d
Gilaboru 50	0,251 ± 0,07 ^c	0,259 ± 0,01 ^c
Gilaboru 100	0,264 ± 0,07 ^b	0,277± 0,04 ^{b*}
Amonyak+ gilaboru 25	0,215± 0,03 ^e	0,214 ± 0,02 ^e
Amonyak+ gilaboru 50	0,225 ± 0,02 ^e	0,223± 0,01 ^e
Amonyak+ gilaboru 100	0,281 ± 0,07 ^a	0,317± 0,04 ^{a*}

[a, b, c, d, e, f]: Her sütun da farklı harfle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05).

* Süreler arası istatistiksel farkı gösterir (p < 0,05).



Şekil 4.44. Nükleoplazmik indeks hesaplama.

NP=Nükleus alanı/Çekirdek alanı- Nükleus alanı (James vd., 1953).

Çizelge 4.4. 4 günlük eritrosit morfolojikler.

4.GÜN		Çekirdekte görülen morfolojik değişiklikler						Hücre yapısında görülen morfolojik değişiklikler			
Deney grupları	H.Sayısı	MN	BN	Loblu	Çentikli	Kabarcıklı	Fusiform	Orak	Küresimsi	Ekinosit	Hipokromi
Kontrol	10000	0	0	2	1	1	1	0	0	2	1
Gil25	10000	0	2	5	2	1	0	0	0	0	0
Gil50	10000	2	2	4	2	0	4	1	0	2	0
Gil100	10000	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
A+Gil25	10000	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0
A+Gil50	10000	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
A+Gil100	10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Amonyak	10000	0	3	3	0	1	4	0	0	2	0

Çizelge 4.5. 21 günlük eritrosit morfolojikler.

21 GÜN		Çekirdekte görülen morfolojik değişiklikler						Hücre yapısında görülen morfolojik değişiklikler			
Deney grupları	H.Sayısı	MN	BN	Loblu	Çentikli	Kabarcıklı	Fusiform	Orak	Küresimsi	Ekinosit	Hipokromi
Kontrol	10000	0	0	2	0	1	1	0	1	2	1
Gil25	10000	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Gil50	10000	0	1	1	0	2	0	0	0	1	0
Gil100	10000	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
A+Gil25	10000	0	1	0	1	0	3	1	0	0	0
A+Gil50	10000	1	0	0	1	1	2	1	3	3	0
A+Gil100	10000	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
Amonyak	10000	0	0	0	2	0	1	1	0	1	0

Çizelge 4.6. 4 Günlük eritrosit morfolojikler % değerleri.

4. GÜN		Çekirdekte görülen morfolojik değişiklikler						Hücre yapısında görülen morfolojik değişiklikler			
Deney grupları	H.Sayısı	MN	BN	Loblu	Çentikli	Kabarekli	Fusiform	Orak	Küresimsi	Ekinosit	Hipokromi
Kontrol	10000	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,02	0,01
Gil25	10000	0,00	0,02	0,05	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gil50	10000	0,02	0,02	0,04	0,02	0,00	0,04	0,01	0,00	0,02	0,00
Gil100	10000	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
A+Gil25	10000	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
A+Gil50	10000	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
A+Gil100	10000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Amonyak	10000	0,00	0,03	0,03	0,00	0,01	0,04	0,00	0,00	0,02	0,00

Çizelge 4.7. 21 günlük eritrosit morfololojikler % değerleri.

21 GÜN		Çekirdekte görülen morfolojik değişiklikler						Hücre yapısında görülen morfolojik değişiklikler			
Deney grupları	H.Sayısı	MN	BN	Loblu	Çentikli	Kabarekli	Fusiform	Orak	Küresimsi	Ekinosit	Hipokromi
Kontrol	10000	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01
Gil25	10000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Gil50	10000	0,00	0,01	0,01	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Gil100	10000	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00
A+Gil25	10000	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00
A+Gil50	10000	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,03	0,00
A+Gil100	10000	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01
Amonyak	10000	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00

Çizelge 4.4' dan Çizelge 4.7 deki verilere göre, 4 ve 21 günde bulunan toplam 16 farklı gruptaki preparatlarda, hücreler içerisinde tespit edilen nükleus anormallik türlerine ait hücredeki sayıları verilmiştir. Bu verilere göre 4 günlük olan kontrol grubu ve 7 farklı deney grubunda toplam 10000 hücre sayılmıştır. 4 günlük olan preparatlardan sayılan 10000 eritrosit içerisinde kontrol grubuna ait MN, BN ve orak hücreye rastlanmazken, LB 1, ÇN 1, KT 1, Fusiform 1, Ekinosit 2 ve Hipokromi 1

adet bulunmuştur. Gil25 dozu uygulanan grupta MN, Fusiform, Orak, Küremsi, Hipokromi bulunmazken BN 2, LN 5, ÇN 2 ve KN 1 adet bulunmuştur. Gil50 dozu uygulanan grupta KN, Küremsi ve Hipokromiye rastlanmazken MN 2, BN 2, LN 4, ÇN 2; Fusiform 4, Orak 1 ve Ekinosit 2 adet bulunmuştur. Gil100 doz uygulanan grupta LN 1 ve 1 adet Fusiform bulunmuştur. MN, BN, KB, ÇN, Orak, Küremsi, Ekinosit ve Hipokromiye rastlanılmamıştır. Amonyak+gil25 dozu uygulanan grupta LN 2, ÇN 1 ve Fusiform 1 adet bulunurken diğer anomalilere rastlanılmamıştır. Amonyak+gil50 dozu uygulanan grupta LN 1 ve Fusiform 1 adet görülürken diğer anomalilere rastlanılmamıştır. Amonyak+gil100 dozu uygulanan grupta da sadece Hipokromi görülmüştür. Son olarakda amonyak 5 mg uygulanan grupta ise; BN 3, LN 3, KB 1, Fusiform 4 ve Ekinosit 2 adet bulunurken diğer anomalilere yine rastlanılmamıştır.

21 günlük olan preparatlardan sayılan 10000 eritrosit içinde kontrol grubuna ait MN, BN, Çentik ve orak hücreye rastlanmazken, LB 2, KT 1, Fusiform, Ekinosit 2, Küremsi 1 ve Hipokromi 1 adet bulunmuştur. Gil25 dozu uygulanan grupta sadece fusiform 1 adet bulunmuştur. Gil50 dozu uygulanan grupta BN 1, KN 2, LN 1, Ekinosit 1 adet bulunup MN, Çentikli, Fusiform, Orak, Küremsi ve Hipokromiye rastlanılmamıştır. Gil 100 doz uygulanan grupta da sadece Fusiform 1 ve Ekinosit 1 adet bulunmuştur. Amonyak+gil25 dozu uygulanan grupta BN 1, ÇN 1, Fusiform 3 ve Orak 1 adet bulunurken diğer anomalilere rastlanılmamıştır. Amonyak+gil50 dozu uygulanan grupta MN 1, Çentikli 1, KN 1, Fusiform 2, Orak 1, Küremsi 3 ve Ekinosit 3 adet görülürken diğer anomalilere rastlanılmamıştır. Amonyak+gil100 dozu uygulanan grupta da BN, ÇN, Orak ve Küremsiye rastlanmazken diğer anomalilere rastlanılmıştır. Son olarak da amonyak 5 mg uygulanan grupta ise; ÇN 2, Fusiform 1, Orak 1 ve Ekinosit 1 adet bulunurken diğer anomalilere yine rastlanılmamıştır. Bu veriler dikkate alındığında akvaryum ortamına verilen amonyak ve gilaboru bitki özütünün her dozunda kontrole göre birçok anomalilerde artış gözlenmiştir.

Çizelge 4.8. 4 günlük eritrositlerde görülen nükleus anormallikleri sayılarının anlamlılık bilgileri.

Deney Grupları	Çekirdekte görülen morfolojik değişiklikler							Hücre yapısında görülen morfolojik değişiklikler			
	H.Sayı	MN	BN	Loblu	Çentikli	Kabarcıklı	Fusiform	Orak	Küresel	Ekinosit	Hipokromi
Kontrol	10000	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,02	0,01
Gil25	10000	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
Gil50	10000	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Gil100	10000	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
A+Gil25	10000	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
A+Gil50	10000	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
A+Gil100	10000	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05
Amonyak	10000	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05

Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayılarının anlamlılık düzeyleri incelendiğinde (Çizelge 4.8.); 8 farklı grupta incelenen eritrositlerde tespit edilen anormalliklerin sayıları karşılaştırıldığında MN değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa sahip olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Sekiz farklı grupta bulunan eritrositlerden BN sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile Gil100, A+Gil25, A+Gil50, A+Gil100 mg/kg doz verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Sekiz farklı grupta bulunan eritrositlerden LN sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında A+Gil25 mg/kg doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Çentikli hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında A+Gil25 mg/kg doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p < 0,05$). Kabarcıklı hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil25 ve amonyak doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Fusiform hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil100, A+Gil25, A+Gil50 mg/kg doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir

farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Orak hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil25, Gil100, A+Gil25, A+Gil50, A+Gil100 mg/kg ve amonyak doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Küremsi hücre sayıları tüm doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ekinosit hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil50 ve amonyak doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Hipokromi hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında A+Gil100 doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.9. 21 günlük eritrositlerde görülen nükleus anormallikleri sayılarının anlamlılık bilgileri.

Deney Grupları	Çekirdekte görülen morfolojik değişiklikler							Hücre yapısında görülen morfolojik değişiklikler			
	H.Sayısı	MN	BN	Loblu	Çentikli	Kabarekli	Fusiform	Orak	Küremsi	Ekinosit	Hipokromi
Kontrol	10000	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01
Gil25	10000	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Gil50	10000	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Gil100	10000	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
A+Gil25	10000	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
A+Gil50	10000	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
A+Gil100	10000	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$
Amonyak	10000	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Eritrositlerin nükleuslarında tespit edilen anormallik sayılarının anlamlılık düzeyleri incelendiğinde (Çizelge 4.9.); 8 farklı grupta incelenen eritrositlerde tespit edilen anormalliklerin sayıları karşılaştırıldığında MN değerlerinin A+Gil50 mg/kg doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa sahip olduğu tespit edilmişken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$). Sekiz farklı grupta bulunan eritrositlerden BN sahip eritrosit sayıları

arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında kontrol grubu ile Gil50, A+Gil25 mg/kg doz verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p > 0,05$). Sekiz farklı grupta bulunan eritrositlerden LN sahip eritrosit sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında tüm doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p < 0,05$). Çentikli hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında A+Gil25, A+Gil50 mg/kg ve amonyak doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kabarcıklı hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil25, Gil50, Gil100, A+Gil25 mg/kg ve amonyak doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Fusiform hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil50, A+Gil25, A+Gil50 mg/kg doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Orak hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında A+Gil25, A+Gil50 mg/kg ve amonyak doz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Küremsi hücre sayıları tüm doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Ekinosit hücre sayıları tüm doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Hipokromi hücre sayıları arasındaki anlamlılık düzeylerine bakıldığında Gil25, Gil50, Gil100, A+Gil25, A+Gil50 mg/kg doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p < 0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Su ürünleri dünyadaki en hızlı büyümekte olan gıda üreten sektördür. Dünya çapında insanlar, hayvan proteinlerinin %25'ini balık ve kabuklu deniz hayvanlarından elde etmektedirler. En modern su ürünleri yetiştirme operasyonlarının ekonomisi, balıkların yüksek yoğunlukta kültürlenmesini gerektirir (Benli ve Köksal, 2005). Balıkları etkileyen tüm su kalitesi parametrelerinden, amonyak oksijenden sonra en önemlisidir (Waston, 1996). Amonyak, balıkların azotlu atılımının %60 ila %80' ini temsil eden balıkların temel azotlu atık ürünüdür (Handy ve Poxton, 1993; Salin ve Williot, 1991). Ayrıca, üre ve aminlerin yanında solungaçlar tarafından atılan ana azotlu atık materyaldir ve protein katabolizmasının bir son ürünüdür (De Croux vd., 2004). Yoğun yetiştirme koşulları altında ve özellikle atık bırakıldığında, amonyak konsantrasyonları balıkların hayatta kalmasını ve büyümesini sınırlayan seviyelere ulaşabilir (Haywood, 1983). Amonyak büyümede azalmaya hatta ölüme neden olabilir (Meade, 1985; Salin ve Williot, 1991). Toksik seviyelere kadar ulaşan amonyak seviyesi, balığın yemden enerji alamamasına ve komaya girerek ölümüne neden olur (Hargreaves ve Tucker, 2004). Amonyak, solungaçlardan kan dolaşımına oksijen transferini engelleme eğilimindedir. Acil ve uzun süreli solungaç hasarına neden olabilir (Amajuoyi ve Joel, 2010). Ayrıca balık, kabuklular ve yumuşakçalardaki serebral enerji metabolizmasının bozulmasına, solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve tiroid hasarına neden olabilir (Smart, 1978). Bunlara ilaveten olumsuz koşulların etkileri balıklar üzerinde fizyolojik ve metabolik stres değişimleri şeklinde rapor edilmiştir (Barry, 1993; Barton ve Iwama, 1991; Bonga, 1997; Gamperl vd., 1994; Iwama vd., 1998; Pickering ve Pottinger, 1995). Bu bulguların içinde stres göstergelerinden en sık kullanılanı glikokortikosteroid düzeyleri üzerinedir. Bunun nedeni ise hem olumsuz çevre koşullarının canlılar üzerinde oluşturabileceği etkinin ilk göstergesi hem de kortizol verilerinin çok kolaylıkla ölçülebilir ve ticari olarak kolay temin edilen kitlerle belirlenebilmesidir (Leatherland vd.,1994).

Balıklar, su ortamındaki değişikliklere karşı büyük bir hassasiyetle tepki gösterdiği için biyoindikatör tür olarak hizmet eder ve su kirliliğinin izlenmesinde önemli bir role sahiptir (Chen vd., 2010). Yaygın çevresel kirlenmeler teleost balıklar da dahil olmak üzere hayvanlarda endokrin sistem fonksiyonuna müdahale ettiği kabul edilmektedir (Affonso vd., 2008; Hontela, 2005).

Dispacales (Rubilas) takımının Caprifoliaceae (hanımeli) familyasından olan VO (gilaboru) bitkisinin gövdesi, meyvesi ile kabuğu farmokolojide çok sayıda kullanım alanına sahiptir. Gilaboru Türkiye’de Kayseri başta olmak üzere Sivas, Tokat, Bursa, Sakarya illerinde doğal olarak yetişmektedir (Baytop, 1963; Davis, 1972; Divrikli vd., 2002).

Gilaboru; antioksidan, antikanserojen ve antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Antioksidanlar vücutta serbest radikalleri bağlayarak sağlığa zarar verebilecek çok sayıda etkiyi durdurmaktadır (Cesoniene vd., 2013; Jurikova vd., 2010). Gilaboru çekirdekleri 15 farklı aminoasit içerir. Ayrıca gilaboru çekirdekleri serbest yağ ve yağ asidi yönünden de zengin olduğu raporlarla belirtilmiştir (Denisenko vd., 2004). Gilaboru suyu böbrekte oluşan taş ve kumları kimyasal olarak eritici özelliğine sahip olduğu bilinmektedir. Gilaborunun gövde ve kabuklarından elde edilen sıvı; sindirim rahatsızlıkları, yüksek tansiyon, hafif astım, sindirim problemleri Ulger (2012), kalp rahatsızlıkları, epilepsi nöbetleri, kas krampları, kabakulak, menstrüel sancılar, doğum sonrası sancıları, uyku problemleri, romatizma ve bazı sinir rahatsızlıklarında dâhili olarak, harici olarak da egzama gibi bazı cilt problemlerinde kullanılmaktadır (C`esoniene ve Viskelis, 2010; Crisan, 2013). Alternatif tıpta safra kesesi ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde de gilaborudan faydalanılmaktadır. Gilaboru meyvesi, meyve suyu ve nektar olarak da kullanılır (Çam ve Hişil, 2007).

Bizim çalışmamızda Çizelge. 4.1. (Karaciğer tüm sonuç) incelendiğinde kontrol grubu karaciğer dokularında, hepatosit hücrelerinin düzlenişi ve sinüzoidlerin normal yapıda olduğu gözlenmiştir. Gilaboru bitki özütlerinin kullanıldığı gruplardaki görünümde normal iken amonyak grubunda hepatositlerde vakuolleşme, hepatoselüler dejenerasyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Amonyakla birlikte gilaboru bitki özütünün kullanıldığı gruplarda amonyağın hasarını azaltmakla birlikte aynı histopatolojik değişimlerin görüldüğü tespit edilmiştir. Çizelge. 4.2. (solungaç tüm sonuç) incelendiğinde; kontrol grubu solungaç dokularında, primer ve sekonder lamellerin normal yapıda olduğu gözlenmiştir. Gilaboru bitki özütlerinin kullanıldığı gruplardaki görünümde normal iken amonyak grubunda sekonder lamellerde epitel ayrılması, uçlarında çomaklaşma, kısalma ve birleşme gözlenmiştir. Amonyakla birlikte gilaboru bitki özütünün

kullanıldığı gruplarda amonyağın hasarını azaltmakla birlikte aynı histopatolojik değişimlerin görüldüğü tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3 ve Şekil 4.44 incelendiğinde kontrol grubuna göre bütün doz gruplarında nükleoplazmik indeksde meydana gelen azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ancak gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde Gil25+Amon ve Gil50+Amon grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Doz grupları süreler bakımından karşılaştırıldığında, sadece Gil100 ve Gil100+Amon doz gruplarındaki değişimler istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

NH₃'a maruz kalan solungaçlarda, NH₃ fonksiyonlarının solungaçlara daha fazla girmesini önleyen yaygın bir koruyucu fenomen olduğu düşünülmektedir. Sonuçta; mukusun solungaçlara aşırı salgısı solunum fonksiyonlarını olumsuz etkilemekte ve oksijensiz kalmaya bağlı olarak balığın ölümüne neden olmaktadır (Overstreet ve Solangi, 1982). Literatürde amonyağa maruz kalan balık türlerinin çeşitli dokularında (karaciğer, solungaç, dalak) histopatolojik değişimlerin olduğu farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Qin, 2017; Wang, 2017). Amonyak hasarına bağlı olarak hücre hasarı oluşunca; hücre sitoplazma hacminde bir artış gözlenmiştir. Sitoplazma hacmindeki artış hem hücrede hipertrofiye sebep olmuştur hem de nükleoplazmik indeks oranında bir düşüşe sebep olmuştur. Gilaboru bitki özütü amonyağın bu olumsuz etkilerini bir nebze azaltmış olmasına rağmen tamamen kontrol grubuna eşdeğer bir duruma getirmeyişi farklı dozların kullanılarak en uygun dozun bulunması gerektiği kanısını uyandırmıştır. Naslunda (2007)'nin yapmış olduğu çalışmada yaygın bir şekilde kullanılan non-steroidal anti-inflammatuar ilaç olan diflofenacin balıklarda böbrek dokularında renal hematopoietik hiperplazi gelişimine yol açtığını göstermişlerdir (Naslunda, 2007). Tabassum (2016) 'ya göre bir herbisit olan pendimethaline maruz kalan balıklarda böbrek dokusunda doza bağlı olarak nekroz, hücresel hipertrofi ve granuler sitoplazma oluşumunun gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (Tabassum, 2016). Kültür balıkçığında parazitik hastalıkların balıklara olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada araştırmacılar barsak kurdu parazitinin barsak dokusunda submukozada nekroz ve barsak tıkanıklığı olduğunu rapor etmişlerdir (Santos, 2017; Tabassum, 2016).

Literatürde bizim çalışmamız ile karşılaştırma yapılabilecek bir çalışma olmamakla beraber benzer toksikolojik veya parazitolojik defektler sonucu oluşan histopatolojiler ile çalışma bulgularımızda görülen amonyağa maruz kalmış sazan balıklarının karaciğer dokularında görülen: hepatositlerde vakuolleşme, hepatositlerde hipertrofi, hepatoselüler dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, yağlanma, peteşi ve konjesyon (kanama) ile solungaç dokularında; sekonder lamellerde epitel ayrılması, kısalma, birleşme, düzleşme, uçlarda çomaklaşma gibi histopatolojik bulgulara yukarıdaki çalışmalarda görülen bazı bulgularla benzerlik göstermiştir.

Takamy'in yaptığı çalışmada LC_{50} değerlerini 12,3 mg/L olarak bulunmuş ve dokuların histopatolojik yönden incelenmesinde solungaçlarda anevrizma, ödem ve hiperemi, karaciğerde ise dejenerasyon, hiperemi, ve nekrotik lezyonlar yaygın olarak görülmüştür. Bizim yaptığımız çalışmada da bazı benzer bulgular bulunmakla birlikte uygulanan dozun düşük olmasından dolayı nekrotik lezyonlara rastlanmamıştır (Takamy, 2002).

Amonyanın etkisinin sazanlardaki etkisinin araştırıldığı Chaudhry (2013) tarafından yapılan çalışmada gözlenen histopatolojik değişiklikler bizim yaptığımız çalışmada da paralellik göstermiştir. Solungaçlarda gözlenen hiperplazi ve sekonder lamellerde birleşme bizim yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Bu çalışma ve benzer çalışmalar kıyaslandığında amonyak dozuna bağlı meydana gelen değişimler paralellik göstermektedir. Amonyak ile birlikte gilaboru bitki özütünün birlikte uygulandığı gruplarda gerek eritrosit morfolojilerindeki gerekse karaciğer ve solungaç dokularındaki amonyak uygulamasında görülen değişimlerin gilaboru bitki özütünün birlikte kullanılması ile azaldığı tespit edilmiştir. Ancak bu olumlu değişimler olmasına rağmen uygulanan farklı dozların üçünde de kontrol grubuna çok yakın benzerlik görülememiştir. Amonyanın hasarına karşı gilaboru bitki özütünün terapötik etkilerinin olduğu ancak farklı doz uygulamalarının sonucunda en uygun dozun belirlenmesinde yeni çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Acar, A.İ., Alizadeh, H.H.A., Öztürk, R. ve Sönmez, N., 2007. Some physical properties of gilaburu seed, Tarım Bilimleri Dergisi, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 13, 3, 308-311.
- Affonso, E.G.M.A., Akifumi-Ono, R.R.E., Carvalho, C.S.M., Marcon, J.L., Menezes, G.C., Nunes, E.S.S., Oliveira, S.R. ve Souza, R.T.Y.B., 2008. European eel (*Anguilla anguilla* L.) metallothionein, endocrine, metabolic and genotoxic responses to copper exposure. Ecotoxicology and environmental safety, 70,1, 20-26.
- Aksoy, A., Ceylan, D., Ertekin, T., Karatoprak, H.Ü., Nisari, M., Şeker, G. ve Yay, A.H., 2018. The effect of gilaburu juice on experimentally induced ehrlich ascites tumor in mice, 14, 314-320.
- Aksoy, A., Özkan G. ve Sagdic, O., 2006. Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (gilaburu, *Viburnum opulus* L.) fruit extract.
- Aktümsek, A., Hasbenli, A. ve Üstüner, T., 2002. Contribution to subfamily clitellariinae (Diptera, Stratiomyidae) fauna of Turkey, 4 ,1, 19-24.
- Alagöz, S., Ergüden, D. ve Gökçe, G., 2002. Seyhan baraj gölü balıkçılık sorunları ve çözüm yolları, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi.
- Alikunhi, K., 1966. Synopsis of biological data on common carp, *C. carpio* L. 1758 FAO, World Symposium On Warm-water Pond Fish Culture.
- Alp, A., Ceylan, M., Uysal, R., Yağcı, M.A., Yağcı, A. ve Yeğen, V., 2008. Işıklı gölü'ndeki (Çivril-Denizli) sazan popülasyonu (*Cyprinus carpio* L., 1758)'nun büyüme özellikleri. 25, 4, 337-341.
- Altun, M.L., Bayram, İ., Nurettin, C.N., Özbek, H., Saltan, Ç.G. ve Sever, Y.B., 2010. Hepatoprotective and hypoglycemic activities of viburnum opulus, 7, 1, 35-48.
- Altun, M.L., Özbek, H., Saltan, Ç.G. ve Sever, Y.B., 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of Viburnum opulus, 7, 47, 653-658.
- Amajuoyi, C.S. ve Joel, O., 2010. Determination of the concentration of ammonia that could have lethal effect on fish pond, ARPN J, Engineering Applied Scienc, 1-4.
- Anonim, 2006. Megep (mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi) denizcilik, balıklar, Ankara.
- Arnold, J.E., 2009. Hematology of fish: WBC and RBC cell morphology, proceeding of the ACVP/ASVCP concurrent annual meetings monterey, California, USA.

- Arslan, P., 2011. Çamaşır suyu ve bulaşık deterjanının Lepistes (Peter's 1859) balıkları üzerindeki genotoksik etkilerinin mikronükleus testi kullanılarak araştırılması, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Makufebed, 4
- Arslan, T. ve Kır, M., 2006-2007. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) yavrularında ağırlık ve akut amonyak toksisitesi ilişkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi. 2-3, 1-2, 50-55.
- Atay, D. ve Çelikkale, D., 1983. Sazan üretim tekniği, San matbaası, 185.
- Atlı, Z. ve Şekeroğlu, V., 2011. Genotoksit hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.
- Barry, L., 1993. Validation of a microtitre plate elisa for measuring cortisol in fish and comparison of stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and lake trout (*Salvelinus namaycush*), Aquaculture, 11.
- Barton, B. ve Iwama, G., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effect of corticosteroids, Annual Review of Fish Disease, 1, 3-26.
- Baytop, T., 1963. Türkiye'nin tıbbi ve zehirli bitkileri, İ.Ü. Yayınları, No:1039, Tıp Fak., 59, 400.
- Benli, A.Ç. ve Köksal, G., 2005. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings, Turk J. Vet., Anim. Sci., 29, 339-344.
- Benli, A.Ç., 2001. Subletal amonyak konsantrasyonlarının tilapia (*Oreochromis niloticus*) ve sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında büyüme ve kan parametreleri ile dokulara etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Su ürünleri fakültesi, Ankara.
- Benli, A.Ç., Köksal, G. ve Özkul, A., 2008. Sublethal ammonia exposure of Nil tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology, Chemosphere, 72, 1355–1358.
- Berkoz, M., Gündüz, S.G., Hunt, A.Ö. ve Yılmaz, F.Ö., 2011. Nil tilapya (*Oreochromis niloticus*)'sı periferik eritrositlerinde mikronükleus ve diğer nükleus anomalilerinin oluşumu üzerine subletal kadmiyum derişimlerinin etkileri, 35, 4, 585-592.
- Berkoz, M., Gündüz, G., Özkan, F.S. ve Özlüer, A.H., 2011. Nil tilapya (*Oreochromis niloticus*)'sı periferik eritrositlerinde mikronükleus ve diğer nükleus anomalilerinin oluşumu üzerine subletal kadmiyum derişimlerinin etkileri, 35, 4, 585-592.

- Billard, R. ve Marcel, J., 1986. Wold wide status of carp culture, In: Aquaculture of cyprinids, 21-34.
- Bircan, T., ve Cemal, V., 2018. Çanakkale civarından toplanan *Lissotriton vulgaris* (Linnaeus, 1758) (Amphibia: Urodela) örneklerinde mikronukleus analizi ve nuklear anomaliler, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4, 2, 88-102.
- Blazer, V., Macconell, E., Morrison, J., Mumford, S. ve Smith, C., 2007. Fish histology and histopathology, USFWS-NCTC.
- Bolat, S., ve Özcan, M., 1995. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesinin morfolojik, fenolojik ve pomolojik özellikleri ile kimyasal bileşimi, Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ç.Ü. Ziraat Fak. Yay., 772, Adana.
- Bonaventura, J., Goddette, G., Govoni, J., Jenkins, T.E. ve West, M.A, 2005. The ontogeny of haematopoiesis in the marine teleost *Leiostomus xanthurus* and a comparison of the site of initial haematopoiesis with *Opsanus tau*, Journal of Fish Biology, 67-69.
- Bonga, S., 1997. The stress response in fish. Physiological reviews, 77, 3, 591-625.
- Boutilier, R.G., Gamperl, A.K. ve Mathalakath, M.V., 1994. Experimental control of stress hormone levels in fishes: techniques and applications, Rev. Fish Biol. Fish, 4, 215-255.
- Brunson, M., David, W., Durborow, M., Martin, D. ve Robert, M., 1997. Ammonia in fish ponds, SRAC Publication, No. 463.
- C`esoniene, L. ve Viskelis, P., 2010. Biochemical and agro-biological diversity of *Viburnum opulus* genotypes, Central European Journal of Biology, 6, 864-871.
- Catanzaro, R., Coletti, A., Levi, G. ve Morisi, G., 1974. Free amino acids in fish brain: normal levels and changes upon exposure to high ammonia concentrations in vivo and upon incubation of brain slices, Comp. Biochem, Physiol, 49, 623-636.
- Cesoniene, L., Dauboros, R., Kraujalytė, V., Puklskos, A. ve Venskutonis, P.R., 2013. Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) genotypes, Food chemistry, 14, 4, 3695-3702.
- Ceylan, O., 2015. İyonize olmamış amonyak azotunun (NH₃-N) Yunus Çiklit (*Cyrtocara moorii*) balıkları üzerine akut toksik etkileri, Yüksek Lisans Tezi , İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Chartois, H., Desbruyeres, E., Dostat, A., Huelvan, C., Metailler, R., Servais, F. ve Tetu, N., 1995. Nitrogenous Excretion in Juvenile Turbot *Scophthalmus maximus* (L.), Under Controlled Conditions, Aquaculture Research, 26, 639-650.

- Chaudhry, J.A., Iqbal, Z. ve Ijaz, N., 2013. Ammonia toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) (Cypriniformes, Cyprinidae) fingerlings from fish hatchery Lahore, Pakistan, European Journal Of Veterinary Medicine, 3, 143-153.
- Chen, L.H., Srivastava, A.K., Srivastava, S.K. ve Yung, J.L., 2010. Acute toxicity and behavioural responses of *Heteropneustes fossilis* to an organophosphate insecticide, dimethoate. International Journal of Pharmacological and Biological Sciences, 1, 4, 359-363.
- Choi, J.Y., Kim, I-B. ve Jo, J.Y., 1975. Rearing experiment of common carp in brackish water, Bull. Korean Fish, 8, 181-184.
- Chun, H.C. ve Yang, S.K., 1986. Histopathological Study of Acute Toxicity of Ammonia on Common Carp *Cyprinus carpio*, 19, 3, 249-256.
- Civelek, H., 2018. Akrilamid'in sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) solungaçları üzerine histopatolojik etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Claver, J. ve Quaglia, A., 2009. Comparative morphology, development and function of blood cells in nonmammalian vertebrates, Journal of Exotic Pet Medicine, 18, 87-89.
- Crisan, M., 2013. New nanomaterials for the improvement of psoriatic lesions, Journal of Materials Chemistry, 1, 25, 3152-3158.
- Çam, M. ve Hişil, Y., 2007. Comparison of chemical characteristics of fresh and pasteurised juice of gilaburu (*Viburnum opulus* L.).
- Çınar, K., Eren, Ü. ve Şenol, N., 2009. Sazan (*Cyprinus carpio*) balığı gastrointestinal kanal mukozasındaki CCK8, gastrin 1, VIP, sekretin, somatostatin-14, bombesin ve histamin peptidlerinin lokalizasyonu, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, Journal of fisheries ve aquatic sciences, 26, 1, 11-17.
- Çoğun, H.Y. ve Kargın, F. 2008. *Cyprinus Carpio*'da solungaç, kas, karaciğer ve böbrek dokularında kurşun birikimi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 17, 2.
- Davis, P., 1972. In book: Flora of Turkey and the east agean Islands, Vol. 11, 92-94.
- De Croux, P., Julieta, M. ve Loteste, J., 2004. Lethal effects of elevated pH and ammonia on juveniles of neotropical fish *Colosoma macropomum* (Pisces, Caracidae), Journal of Environmental Biology, 25, 1, 7-10.
- Demir, N., 2009. İhtiyoloji, Nobel Yayın, 4. Baskı, Ankara.
- Denisenko, O.N., Karimova, A.R., Yunusov, M.S., Yunusova, S.G. ve Tsyrlina, E.M., 2004. Change on storage of biological activity of *Viburnum opulus* seed components, Chemistry of Natural Compounds, 40, 5, 423-426.

- Divrikli, U., Soylak, M. ve Saraçoğlu, E., 2002. Chemical analysis of fruit juice of European cranberrybush (*Viburnum opulus*) from Kayseri-Turkey, Asian Journal Chemistry, 14, 135-138.
- Doğan, G. ve Erdem, M., 2008. Balıklarda protein mekanizması, 2, 19, 30-40.
- Dürgen, A., Ergen, S., Ergene, M., Erkek, M., Kaya, Ş., Köken, S., Önder, H., Özbaba, O. ve Uçar, A.H., 2012. Mersin rehabilitasyon merkezinde tedavi altında bulunan yaralı deniz kaplumbağalarının hematolojik ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi, Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi, 3, 2, 34-40.
- Dzhura, O.R., Gzhegotsky, M.R., Lutsyk, D.A., Terletska, O.I., Yaschanko, A.M. ve Zayachkivska, O.R., 2016. Influence of *Viburnum opulus* proanthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage, 57, 5.
- El-Maedawy, S.A., Girgis, S.M., Hanna, M.I. ve Kenawy, A.M., 2013. Sublethal effects of acute ammonia exposure on *Oreochromis niloticus*, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Giza, Egypt, 64, 5, 592-603.
- Ertekin, T., Karaca, Ö.E. ve Ulger, H., 2012. Influence of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon cancer.
- Fenech, M., 2010. The lymphocyte cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in radiation biodosimetry, In Health Physics, In book: 98, 234-243.
- Forsyth, R.B., Iwama, G.K., Thomas, P.T. ve Viljanan, M.M., 1998. Heat shock protein expression in fish, Reviews on Fish Biology, 8, 35-56.
- Ghannudi, S. ve Wood, C., 1985. Study of a shallow carp (*Cyprinus carpio* L.) pond and its relevance to Inland fish farming in Libyan, 44, 125-131.
- Gökoğlu, N.A., 2002. Su ürünleri işleme teknolojisi, Su Vakfı Yayınları, İstanbul.
- Hamzaçebi, S., Serezli, R. ve Uğural, B., 2010. Kapalı devre yetiştiricilik sistemlerinde amonyak Yönetimi, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 35620, İzmir .
- Handy, R. ve Poxton, M.G., 1993. Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish, Fish Biol., 3, 204-241.
- Hargreaves, J.A., 2004. Managing ammonia in fish ponds, SRAC Publication, 1-7.
- Hasan, M. ve Machintosh, R., 1986. Acute toxicity of ammonia to common carp, 54, 97-107.
- Haywood, G., 1983. Ammonia toxicity in teleost fish: A review. Con. Tech. Rep. Fish, Aquat., 1177, 1-35.

- Hofmann, P., Lang, T. ve Peters, G., 1987. Experimental investigations on the toxicity of ammonia: Effects of ventilation frequency, growth, epidermal mucous cells and gill structure of rainbow trout *Salmo gairdneri*, Dis. Aquat. Org., 3, 159-165.
- Hontela, A., 2005. Adrenal toxicology: environmental pollutants and the HPI axis, Biochemistry and molecular biology of fishes, 6, 331-363.
- Jurikova, T., Reznicek, V., Rop, O. ve Valsikova, M., 2010. Antioxidant properties of European cranberrybush fruit (*Viburnum opulus* var. Ed.), Molecules, 15, 4467-4477.
- Kalyoncu, E.Ö., 2007. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.)'nın yeşil çelikle çoğaltma uygulamasının araştırılması, Ziraat Fakültesi, 21, 43, 46-52.
- Karataş, M., 2005. Balık biyolojisi araştırma yöntemleri, Nobel Yayın, 1. Basım, Ankara.
- Kimme, I. ve Weinstein, D., 1998. Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio* L.) to ammonia stres, Aquaculture, 165, 81-93.
- Kirk, J. ve Lewis, R., 1993. An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy, 14, 577-585.
- Kol, A., 2015. Kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitki özütü uygulamasının sazan (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) balıklarında hematolojik parametreler ve bazı serum mineral düzeyleri üzerine etkisi, Yüksek lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Korkmaz, N., 2018. Azdirachtin pestisitinin sazan balığı (*Cyprinus carpio* L. 1758)'nda hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik etkileri, Doktora Tezi, Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Korkmaz, Ş., 2019. Sazan yetiştiriciliği, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara.
- Kr'stev, M. ve Mel'nikova, M., 1988. Charecteristics of propagation of guelder rose, Byullten', Glano-go, Botanicheskogo, Sada, 151, 31-35.
- Küçük, S., 1999. The effect of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish and tilapia, Mississippi State University, Mississippi, 194,163-181.
- Künkü, A.D., 2018. Ağ kafeslerde alabalık ve sazan yetiştirme tesisi proje tanıtım dosyası, Sistem Mühendislik DAN. İNŞ. NAK. TUR. MAD. ORM. İTH. İHR. SAN. ve TİC. LTD. ŞTİ. Aydın/Çine.
- Lawson, T.B., 1995. Fundamentals of aquacultural engineering, Kluwer Academic Puclishers, Boston.

- Leatherland, J.F., Moon, T.W., Reddy, P.K., ve Vijayan, M.M., 1994. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486, *General Comparative Endocrinology*, 96, 75-64.
- Lloyd, R., Svobodova, Z., Machova, J. ve Vykusova, B., 1993. Water quality and fish health, EIFAC Technical, Rome, 54, 59-61.
- Losordo, E., Masser, M.P., Rakocy, J. ve Thomas, M., 1999. Recirculating aquaculture tank production systems, Publication No.452.
- Meade, J., 1985. Allowable ammonia for fish culture, *Progression in Fish Culture*,
- Naim, E., Sağlam, F., Yorar, M. ve Sakin, E., 2011. Likopenin pullu sazan balıkları üzerinde (*Cyprinus carpio* L., 1758) bazı hematolojik ve immünolojik parametrelere etkisi, *Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 23, 2, 95-98.
- Naslunda, J., 2007. Diclofenac affects kidney histology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low µg/L concentrations *Johanna Aquatic Toxicology*, 189, 87-96.
- Orban, L. ve Tatnai, I., 1987. The effects of various ambient ammonia concentrations on the nitrogen metabolism of carp fry (*Cyprinus carpio* L.), 86, 3, 449-452.
- Overstreet, A. ve Solangi, M., 1982. Histopathological changes in two estuarine fishes, *Menidia beryllina* (Cope) and *Trinectes maculatus* (Bloch and Schneider) exposed to crude oil and its water-soluble fractions, *Journal of Fish Diseases*, 5, 13-35.
- Önen, Ö. ve Üçüncü, S.İ., 2015. Ham petrolün suda çözünebilir kısımlarının *Poecilia sphenops*’ta meydana getirdiği genotoksik etkileri, *Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8, 2, 34-43.
- Önen, Ö. ve Yıldız, Y., 2016. Bazı kirleticilerin teleostlar üzerindeki genotoksik etkileri, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 91, 1, 63-74.
- Palas, N., 1999. Yukarı Sakarya Havzasında yaşayan sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L., 1758) solungaç, karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik olarak incelenmesi, *Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, TÜBİTAK*, 2, 277-284 .
- Peyghan, G. ve Takamy, R., 2002. Histopathological, serum enzyme, cholesterol and urea changes in experimental acute toxicity of ammonia in common carp *Cyprinus carpio* and use of natural zeolite for prevention, *Aquaculture, International*, 10, 317-325.
- Pickering, A. ve Pottinger, T., 1995. Biochemical effects of stress, In Hochachka, P.W. and Mommsen, T.P., eds. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, Vol. 5, *Environmental and Ecological Biochemistry*, Elsevier, Amsterdam, 349-379.

- Qin, C., 2017. Effect of ammonia-N on histology on expression of immunoglobulin M and component C₃ in the spleen and head kidney of *Pelteobagrus vachellii* Aquaculture reports, 8, 16-20.
- Reagan, J.W., Seideman, I.L. ve Saracusa, Y., 1953. The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix, in cancer, 6, 2, 224-235.
- Russo, R.C. ve Thurson, R.V., 1991. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes, International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 4, 2, 186-190.
- Salin, D. ve Williot, P., 1991. Acute toxicity of ammonia to siberian sturgeon (*Acipenser baeri*), In book, 153-167.
- Santos, M., 2017. Parasitic fauna and histopathology of farmed freshwater ornamental fish in Brazil, Aquaculture 470, 103-109.
- Smart, G., 1978. Investigations on the toxic mechanisms of ammonia to fish gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations, Journal of Fish Biology, 12, 93-104.
- Tabassum, H., 2016. Short term exposure of pendimethalin induces biochemical and histological perturbations in liver, kidney and gill of freshwater fish. Ecological Indicators, 63, 29-36.
- Tanyolaç, J. T., 2000. Genel Zooloji, Hatipoğlu Yayınevi, 6. Basım, Ankara.
- Wang, H., 2017. Effects of high ammonia concentrations on three cyprinide fish: Acute and whole-ecosystem chronic tests, Science of the total environment, 598, 900-909.
- Waston, F. R., 1996. Ammonia, UF/ UFAS, 1-6.
- URL-1<<http://www.nkfu.com/amonyak-nedir-ozellikleri-nelerdir/>> Erişim tarihi: 21.03.2019.
- URL-2<<https://www.gilaburu.com.tr/sayfa/gilaburu-nedir-faydalari-nelerdir>> 21.04.2019).
- URL-3<<http://www.nkfu.com/amonyak-nedir-ozellikleri-nelerdir/>> 21.03.2019.
- URL-4<<https://www.gilaburu.com.tr/sayfa/gilaburu-nedir-faydalari-nelerdir>> 21.04.2019.
- URL-5<<https://www.pusulagazetesi.com.tr/ciftlik-sonra-sazan-bank-95933>> 21.04.2019.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :Hamiyet POLAT

Adres : Şekerpınar mahallesi, 675 nolu sokak, no:8/2, Sarıkaya/YOZGAT

E-posta adresi : hamiyetpolat6@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, 2010-2014

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, 2014-2019

