



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

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TATLI SU ISTAKOZLARINDA (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823)
AKRİLAMİDİN TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman Koray TÜMEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Belda ERKMEN

AKSARAY, 2020

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 orijinalliğini 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.

Osman Koray TÜMEN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimine başvurduğum andan itibaren, sergilemiş olduğu güler yüzlü yaklaşımı ve zarif tavrı sayesinde yabancılığımı yenmemi sağlayan, uzun uğraşlar sonucunda edindiği tecrübesini ve bilgi birikimini ne zaman ihtiyacım olursa olsun benimle ve çevresiyle paylaşmaktan çekinmeyen, hem akademik hem de olağan hayatta sergilemiş olduğu güçlü karakteri sebebiyle kendime örnek aldığım insanlardan birisi olan danışman hocam Sn. Doç. Dr. Belda ERKMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Yüksek lisansta geçirdiğim süre boyunca kendisinden çok şeyler öğrendim ve bundan sonraki süreçte de birçok şey öğrenebileceğime inanıyorum.

Ayrıca tez çalışması kapsamındaki deneyleri gerçekleştirmek üzere laboratuvar kısmında Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Biyokimya ve Çevre Toksikolojisi Laboratuvarı'nın imkânlarından yararlanmamıza önayak olup, yapılan deneyler aşamasında bizlere verdiği destek ve gösterdiği yardımseverlik için Sn. Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL ile onun nezdinde ilgili bütün çalışanlara içten teşekkürler ediyorum.

Son olarak zor geçen bu dönem zarfında beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme, dostlarıma ve tüm iş arkadaşlarıma da canı gönülden şükranlarımı sunuyorum.

Osman Koray TÜMEN
AKSARAY, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Tatlı Su İstakozunun Biyolojisi.....	4
2.1.1 Sistematikteki yeri.....	4
2.1.2 Genel özellikleri.....	4
2.1.3 Coğrafi dağılımı	9
2.1.4 Yaşam ortamları.....	9
2.2 Biyodenyler	10
2.3 Akrilamid	11
2.3.1 Akrilamidin kimyasal yapısı.....	13
2.3.2 Gıdalarda akrilamidin oluşum mekanizmaları.....	14
2.3.3 Akrilamidin toksisitesi	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Tatlı su istakozlarının temini	20
3.1.2 Deney akvaryumları	20
3.1.3 Toksik madde materyali	21
3.1.4 Su materyali	22
3.1.5 Deney ortamı ve adaptasyon süresi.....	22
3.1.6 Araştırmada kullanılan diğer araç, gereç ve kimyasallar	23
3.2 Yöntem.....	23
3.2.1 Tatlı su istakozlarının adaptasyonu.....	23
3.2.2 Deney yöntemi	23
3.2.3 Deneyin gerçekleştirilmesi	24
3.2.4 Histolojik inceleme için örnekleme	24
3.2.5 Doku takibinin gerçekleştirilmesi	24
3.2.6 Doku analizleri.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	26
4.1 Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular.....	26
4.2 Histopatolojik İnceleme Bulguları	27
4.2.1 Kontrol grubu dokularına ilişkin bulgular	27
4.2.1.1 Kontrol grubu solungaç dokusu	27
4.2.1.2 Kontrol grubu hepatopankreas dokusu	29
4.2.2 Akrilamide maruz kalan tatlı su istakozu dokularına ilişkin bulgular	30
4.2.2.1 Solungaç dokularına ilişkin bulgular	30
4.2.2.2 Hepatopankreas dokularına ilişkin bulgular.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	37
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ	48

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TATLI SU İSTAKOZLARINDA (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) AKRİLAMİDİN TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Osman Koray TÜMEN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Belda ERKMEN

ÖZET

Akrilamid, poliakrilamid malzemeleri yapmak için kullanılan, yüksek ısıda protein ile şekerin reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkan bir kimyasaldır. Akrilamid çevrede çok düşük konsantrasyonlarda bulunsan bile, son yıllarda endişe yaratan kimyasal grupları arasında yerini almıştır. Çalışmada, tatlı su istakozu dipte beslenmesi, besin zincirindeki önemi ve OECD gibi uluslararası kuruluşlar tarafından standart test organizması olması yönüyle tercih edilmiştir. Bu çalışmada Türkiye’de geniş bir dağılım gösteren tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus*’un dokularında, çevresel kirlenici olarak yaygın bulunan akrilamidin, subletal düzeylerine (100 ve 200 mg/L) 48 saat ve 7 gün süre maruziyetin toplam hemosit sayıları ile solungaç ve hepatopankreas dokularındaki histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada uygulama grubu tatlı su istakozlarının toplam hemosit sayılarının kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir azalma gösterdiği saptanmıştır ($p < 0.05$). Araştırmada, solungaç ve hepatopankreas dokuları histolojik yöntemlere uygun bir biçimde hazırlanmış ve histopatolojik yönden incelemeleri yapılmıştır. Akrilamidin subletal dozlarına maruz kalan uygulama gruplarında kontrol gruplarına göre bazı histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir. Uygulama grubu solungaç dokularında solungaç lamellerinde deformasyon ve solungaç lamellerinde hipertrofi (genişleme), hepatopankreas dokularında ise, hepatopankreatik dokuda dejenerasyon ve focal tübül epitel hücre nekrozu gibi histopatolojik dejenerasyonlar saptanmıştır. Tespit edilen bu değişiklikler her bir uygulama grubuna ait tatlı su istakoz örneklerinde farklı sıklıklarda olmakla birlikte, hemen hemen bütün örneklerde kaydedilmiştir. Histopatolojik bulgular artan doz ve maruziyet süresine bağlı olarak artış göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Astacus leptodactylus*, Akrilamid, Toplam Hemosit Sayısı, Histopatoloji

Aralık, 2020; 48 sayfa

M.Sc. THESIS

**DETERMINATION OF TOXICITY OF ACRYLAMIDE ON NARROW
CLAWED CRAYFISH (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823)**

Osman Koray TÜMEN

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

Supervisor: Assoc. Dr. Belda ERKMEN

ABSTRACT

Acrylamide is a chemical used to make polyacrylamide materials, resulting from the reaction of protein and sugar at high temperatures. Although acrylamide is found in very low concentrations in the environment, it has become one of the chemical groups of concern in recent years. In the study, freshwater crayfish was chosen as a standard test organism by international organizations such as OECD, and its importance in the food chain. In this study, the crayfish *Astacus leptodactylus*, widely distributed in Turkey, exposed to environmental pollutant of acrylamide at sublethal levels (100 and 200 mg / L) for 48 h and 7 days. Total hemocytes counts and gill and hepatopancreas tissue were investigated histologically after exposed to acrylamide exposed crayfish. The total hemocyte counts of freshwater crayfish in the treatment group showed a statistically significant decrease compared to the control groups ($p < 0.05$). In the study, gill and hepatopancreatic tissues were prepared in accordance with histological methods and examined histopathologically. Some histopathological changes were observed in the exposure groups exposed to sublethal doses of acrylamide compared to the control groups. Histopathological degenerations such as deformation in the gill lamellae and hypertrophy (enlargement) in the gill lamellae in the gill tissues of the exposed group and degeneration in the hepatopancreatic tissue and focal tubule epithelial cell necrosis were detected. Although these changes were at different frequencies in freshwater crayfish samples belonging to each application group, the lesions were recorded in almost all exposed samples. Histopathological findings increased with increasing the dose and exposure time.

Keywords: *Astacus leptodactylus*, Acrylamide, Total Hemocyte Counts, Histopathology

Dec, 2020; 48 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Erkek <i>A. leptodactylus</i> 'un sırttan ve karından görünüşü.....	6
Şekil 2.2. <i>Astacus</i> cinsine ait tatlı su istakozlarının yaşam döngüleri.	8
Şekil 2.3. Akrilamidin glisidamide dönüşümü.....	12
Şekil 2.4. Akrilamidin kimyasal yapısı (C_3H_5NO).....	14
Şekil 2.5. Akrilamid oluşum şeması.	15
Şekil 2.6. Asparajin ve şekerin karbonil grubu ile etkileşmesi sonucu akrilamid oluşumu.	16
Şekil 2.7. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu.....	16
Şekil 3.1. Deney akvaryumları.	20
Şekil 3.2. Akrilamid.....	21
Şekil 3.3. Dozlama.....	21
Şekil 3.4. Cam pipet ile karıştırma	21
Şekil 3.5. Tatlı su istakozlarından hemolemf alınması.	25
Şekil 4.1. Toplam hemosit sayısı.....	26
Şekil 4.2. Tatlı su istakozu solungaç histolojik görünümü (kontrol grubu).....	28
Şekil 4.3. Tatlı su istakozu solungaç histolojik görünümü (kontrol grubu)	28
Şekil 4.4. Tatlı su istakozu hepatopankreas histolojik görünümü (kontrol grubu) ...	29
Şekil 4.5. Tatlı su istakozu hepatopankreas histolojik görünümü (kontrol grubu) ...	30
Şekil 4.6. 48 saat süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaçlarında görülen deformasyon (Ok).....	31
Şekil 4.7. 48 saat süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaçlarında görülen deformasyon (Ok).....	32
Şekil 4.8. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaçlarında görülen deformasyon (Ok).....	32
Şekil 4.9. 7 gün süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaçlarında lamellalarda genişleme (Ok).....	33
Şekil 4.10. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaçlarında lamellalarda genişleme (Ok).....	33
Şekil 4.11. 48 saat süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreasında dejenerasyon (Ok).....	34
Şekil 4.12. 7 gün süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreasında dejenerasyon (Ok).....	35
Şekil 4.13. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreasında dejenerasyon (Ok).....	35
Şekil 4.14. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreasında nekroz (Yıldız).....	36
Şekil 4.15. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreasında nekroz (Yıldız).....	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Astacus leptodactylus</i> 'un sistematikteki yeri.....	4
Çizelge 3.1. Deney öncesi su kalitesi parametrelerine ait ölçüm değerleri.	22
Çizelge 3.2. Deney süresi boyunca su kalitesi parametrelerine ait ölçüm değerleri. .	22
Çizelge 4.1. Tatlı su ıstakozlarında toplam hemosit sayıları.	26
Çizelge 4.2. Tatlı su ıstakoz (<i>Astacus leptodactylus</i>)'larının solungaç dokularında görülen histopatolojik bulgular	31
Çizelge 4.3. Hepatopankreas dokularında histopatolojik bulgular	34



SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	Alanin Aminotransferaz Enzimi
APHA	Amerikan Halk Sağlığı Birliği
AST	Aspartat Aminotransferaz Enzimi
CaCO	Kalsiyum Karbonat
CYP1A	Sitokrom P450 İlaç Metabolize Eden Enzimin İzozimlerinden Biri
CYP2E1	Sitokrom P450 2E1 Enzimi
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EC₅₀	Deney Hayvanlarının Yarisına Etkili Konsantrasyon
EROD	7-etoksiresorufin-O-etilaz (Sitokrom P450 Enzim Sisteminin Üyesi)
EU	Avrupa Birliği
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GSH	Redükte Glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
ISO	Uluslararası Standartlar Teşkilatı
LC₅₀	Deney Hayvanlarının Yarisını Öldüren Konsantrasyon
LDH	Laktat Dehidrogenaz Enzimi
NIOSH	Amerikan Ulusal İş Güvenliği ve Sağlığı Enstitüsü
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UNEP	Birleşmiş Milletler Çevre Programı
U.S. EPA	Amerikan Çevre Koruma Ajansı
Vd.	Ve Diğerleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
°C	Santigrat
µg/L	Mikrogram/litre
cm	Santimetre
g/ml	Gram/Mililitre
g/mol	Gram/Mol
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
ml	Mililitre
mg	Miligram
mg/kg	Miligram/ Kilogram
mg/L	Miligram/ Litre
mm	Milimetre
mm/Hg	Milimetre/ Civa
pH	Asitlik ve Bazlık Derecesi
ppm	Miligram Çözünen/ Kilogram veya Litre Çözelti

1. GİRİŞ

Türkiye’deki sucul ekosistemlerde geniş bir dağılım gösteren ve halk arasında kerevit olarak adlandırılan tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823), ekonomik değeri yüksek bir su ürünü olmasının anlaşılmasıyla beraber 1960’lı yıllardan itibaren önemli bir ihracat ürünü haline gelmiş ve zaman içerisinde kıymetini giderek arttırmıştır. Ülkemizdeki doğal su kaynaklarından sadece avcılık yoluyla elde edilen bu türün; intensif, yarı-intensif ve ekstansif olmak üzere üç farklı yetiştiricilik yöntemiyle üretilmesi mümkündür (Acara, 1992; Köksal 1988).

Tatlı su ıstakozu istihali ülke genelinde, 20’inci yüzyılın ikinci yarısından başlayarak yükselen ticari değeri ve artan yurt dışı talepleri neticesinde hızla ivme kazanmış, en fazla üretime de 1984 yılında ulaşmıştır. Bu dönemde, Fransa ve İsveç gibi birçok Avrupa devletine 5000 tonu aşan bir ihracat gerçekleştirilmiştir (Köksal 1988). Tatlı su ıstakoz üretimi 1985 yılında ülkemiz iç sularında üretilen diğer tüm su ürünlerinin %17’sini oluşturmuştur. Avcılık aracılığıyla elde edilen tüm tatlı su ıstakozlarının neredeyse tamamı ihraç edilmiştir (Erençin ve Köksal, 1977). Fakat etkeninin *Aphanomyces astaci* (Rahe ve Soylu, 1989) olduğu bir mantar hastalığı sebebiyle, o yıllardaki en mühim ihracat ürünlerimizden biri olan tatlı su ıstakozunun nesli yok olmakla karşı karşıya kalmıştır. 1985 senesinde 6244 tona ulaşan tatlı su ıstakozu üretimi 1991 yılına gelindiğinde tatlı su ıstakoz vebasının ölümcül etkisi sonucu 320 tona kadar düşmüştür (Acara, 1992). Günümüzde ise doğal su kaynaklarında yer alan tatlı su ıstakoz stokları kendini yenileyerek mevcudiyetlerini korur vaziyette bulunmaktadır (Harlioğlu, 2004). TÜİK’in (Türkiye İstatistik Kurumu) verilerine göre 2018 yılı içerisinde yurt çapındaki iç sularımızda istihali yapılarak elde edilen tatlı su ıstakoz miktarı da 524 ton, 2019 yılında ise 696 ton olarak açıklanmıştır (URL-1).

Dünya ve ülkemiz genelinde söz konusu tatlı su ıstakoz türüne ait sürdürülen çalışmalar, öncelikli olarak yetiştiricilik imkânlarının geliştirilmesi ve ıstakoz vebası gibi çeşitli hastalıkların araştırılması konularında yoğunlaştırılmıştır.

Oysaki dünyadaki nüfus artışına paralel olarak yaşanan göçler, çarpık kentleşme, doğal habitatların tahribatı, beşeri ve sınai faaliyetlerden kaynaklanan etkenler nedeniyle sahip olduğumuz su alanlarımızın gün geçtikçe daha fazla kirlenmesi, bundan sonraki yapılacak çalışmaların kapsamını genişletmeyi bir zorunluluk haline getirmektedir. Kapsamı genişletilerek gerçekleştirilecek çalışmalar sayesinde, kirliliğe doğrudan veya dolaylı yollardan maruz kalan sucul canlıların hem kendilerinde hem de bağlantılı oldukları ekosistemlerde meydana gelmesi muhtemel olumsuzluklar rahatlıkla tespit edilebilecek ve kirleticilerin zararlı etkileri gün yüzüne çıkartılabilecektir. Bu bağlamda; uluslararası bir kuruluş olan Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) tatlı su ıstakozunu standart test organizması olarak nitelendirmiştir. Böylece tatlı su ıstakozları sucul ekosistemler üzerine etki eden kirleticilerin toksik etkilerini belirlemek amacıyla ekotoksikolojik çalışmalarda tercih sebebi haline gelmiştir.

Beşeri girişimlerin ekosistemler üzerindeki baskısı gün geçtikçe artmakla beraber ortaya çıkardığı yıkıcı etkileri de geri döndürülemez sonuçların oluşmasına sebebiyet verebilmektedir. Çevreye, insana, tarımsal arazilere ve hayvancılık üretim tesislerine çeşitli zararları olan organizmaları engellemek, denetim altında tutmak ya da o organizmaların yarattığı olumsuz etkileri bertaraf etmek maksadıyla pestisit denilen madde veya maddelerden oluşan karışımlar günümüz dünyasında mütemadiyen kullanılagelmiştir.

Hâlihazırda on bir milyon kimyasal ajandan aktif bir şekilde yararlanılmakta olup bu ajanlara her yıl yaklaşık olarak 1000 adet daha yenileri eklenmektedir (Connell, 1999).

Öncelikli olarak yüksek molekül ağırlıklı poliakrilamidlerin üretilme aşamasında kullanılan, yüksek ısıda protein ve şekerin tepkimeye girmesi sonrasında ortaya çıkan, suda çözünürlüğü fazla, beyaz renkli ve kokusuz bir monomer olan akrilamid de yakın geçmişte tanıştığımız ajanlardan yalnızca bir tanesidir.

Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından Grup 2A içinde sınıflandırılan ve insanlar için olası karsinogen madde olarak tanımlandırılan akrilamidin, hayvanlar üzerinde DNA tahribatına ve kromozom sapmalarına sebep olduğu yapılan deneyler ile gözlemlenmiştir (Rice, 2005).

Akrilamidler vasıtasıyla üretilen poliakrilamidlerin takribî %80 - 90'lık kısmı içme suyu ve atık su arıtımında değerlendirilmektedir. Dolayısıyla, poliakrilamidlerin üretimi esnasında oluşan atıkların içme sularında ve yüzey sularında bulunabileceği düşünülmektedir. Akrilamidin toksik etkisine yönelik literatüre kazandırılan çalışmaların çoğu memeliler üzerinde gerçekleştirilmiş olmasına karşın (Exon, 2006), akrilamidin sucul ekosistemler üzerindeki ekotoksikolojik etkileri hususunda ortaya konan sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Bu nedenle yapılan yeni çalışmalar sucul ekosistemlerde akrilamide rastlama ihtimalini göz ardı etmeyecek şekilde sürdürülmektedir.

Bu çalışmada ise Türkiye'de geniş bir dağılım gösteren tatlı su ıstakozu *Astacus leptodactylus*'un dokularında, çevresel kirletici olarak yaygın bulunan akrilamidin, subletal düzeylerinin toplam hemosit sayıları ile solungaç ve hepatopankreas dokularındaki histopatolojik etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar sucul ortamlarda akrilamidin yol açtığı toksik etkilerin belirlenmesini sağlayacak ve ayrıca sucul omurgasızlarda yapılacak diğer histopatolojik çalışmalara da katkıda bulunacaktır. Öte yandan çevre ve sağlık alanlarında uygulayıcılar tarafından bu veriler kullanılabilecektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Tatlı Su İstakozunun Biyolojisi

2.1.1 Sistematikteki yeri

A. leptodactylus'un sistematikteki yeri çizelge 2.1'deki gibidir (Smith, 2001).

Çizelge 2.1. *Astacus leptodactylus*'un sistematikteki yeri.

Alem	:Animalia	Hayvanlar
Şube	:Arthropoda	Eklem bacaklılar
Altşube	:Crustacea	Kabuklular
Sınıf	:Malacostracca	Gelişmiş kabuklular
Takım	:Decapoda	Önayaklılar
Familiya	:Astacidae	Tatlı su ıstakozları
Cins	: <i>Astacus</i>	-
Tür	: <i>Astacus leptodactylus</i>	Türk tatlı su ıstakozu

2.1.2 Genel özellikleri

Avrupa'nın en bilinen ve en çok tercih edilen tatlı su ıstakoz türlerinden biri olan *A. leptodactylus*, uzun kısıkaçları sayesinde kolayca tespit edilebildiğinden dolayı "uzun kısıkaçlı" tatlı su ıstakozu olarak isimlendirilir. Bu türe ayrıca Türk tatlı su ıstakozu, Galiçya, bataklık veya göl ıstakozu da denilmektedir (Köksal, 1988).

Ülkemizin muhtelif içsularında yayılım gösteren tatlı su ıstakozunun iki al türünün (*Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 ve *Astacus leptodactylus salinus* Nordman, 1824) bulunduğu ise kimi araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Erençin ve Köksal, 1977; Geldiay ve Kocataş, 1970).

A. leptodactylus'un rengi genel itibariyle yeşildir. Ancak üzerinde kırmızı noktalar ihtiva eden, sarıdan kahverengiye kadar değişebilen renk özelliklerine sahip tatlı su ıstakozları da vardır. Bu nedenle söz konusu türün görünüşü ve rengi; çevreye, yaşadığı ortama göre oldukça farklılık gösterir. Abdomenin ve karapaksın alt kısmı ise kirli beyaz görünümündedir.

Özellikle yaşam alanlarının yapısı *A. leptodactylus*'un rengi üzerinde belirleyici bir etki yaratır. Kumlu ve çakıllı ortamlarda yaşayanların kısıkaçları bal sarısıdır ve üzerleri kahverengi noktalarla bezenmiştir. Dipleri balçıklı derin su kütlelerinde bulunanların ise renkleri daha koyudur. Ayrıca, dar ve uzun kısıkaçlara sahiptirler. Bu tatlı su ıstakozlarının kasları zayıftır ve üzerinde kahverengi nodüller yer almaktadır (Alpbaz, 1993).

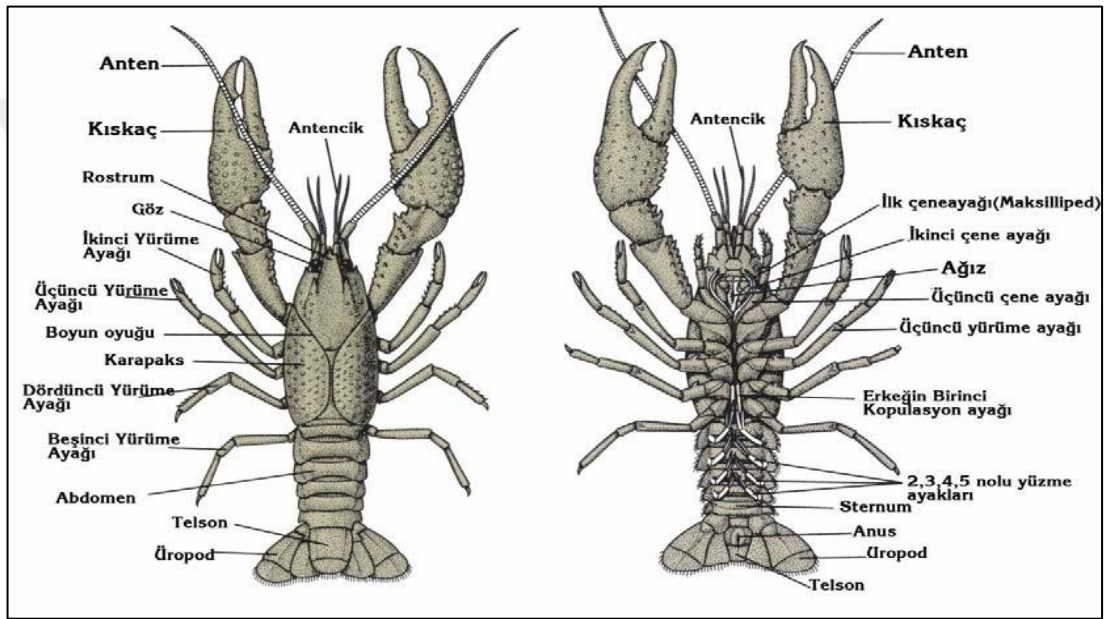
Tatlı su ıstakozlarının vücutları sefalotoraks ve abdomen olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Baş ve gövde tek bir parça halinde birleşir ve sert bir karapaks ile örtülüdür. Karapaks'ın gözler arasından ileriye doğru uzanan çıkıntısına rostrum adı verilir. Tatlı su ıstakozlarında 19 çift uzuv bulunur. Bunlarda ilk 13 çifti ve gözler sefalotoraks'tan, geriye kalan 6 çift ise abdomenden çıkar (Erdem, 1993).

Karapaks geniş veya dar, yumuşak ya da sert olabilmektedir. Aynı zamanda karapaksın yan tarafında sayısı farklılık gösteren dikenler bulunabilir. Rostrum genelde uzundur. Orta karina dikensiz olabileceği gibi diş benzeri dikenlerle de takviye edilmiş olabilir. Karapaks gözlerin ardında bir çift post orbital sırta sahiptir. Bunlar iyi gelişmiş olup ön kısımda sivri bir diken taşımaktadır. Kısıkaç ayağı oldukça incedir ve genellikle erkeklerin kısıkaçı dişilerinkinden daha uzundur. Erkeklerin kısa kısıkaçlara sahip olduğu durumlarda gözlenmiştir. Üreme ayağının ucu sivri ve asimimetrik, ikinci çifti ise iyi gelişmiştir. Karın pleurası dardır ve her zaman bir diken taşır (Bott, 1950; Geldiay ve Kocataş, 1970; Köksal, 1988).

Tatlı su ıstakozlarının su kütlelerinde öne, yana, arkaya doğru hareket etmeye olanak sağlayan ekstremiteleri mevcuttur. Bu ekstremiteler aracılığıyla tırmanma ve herhangi bir cisimden rahatça kaçabilme eylemlerini yapabilirler. Tatlı su ıstakozlarının suyun içerisindeki suyu itme gücünü üçüncü ve dördüncü çift yürüme ayakları büyük ölçüde karşılar. Böylece, tehlikenin olduğu durumlarda arka arka çabukça yüzebilirler. Bu yüzme biçimi, tatlı su ıstakozunun, son derece büyük bir kas ağıyla güçlendirilmiş kuyruğunu hızla döndürmesi neticesinde meydana gelmektedir. Tehlike geçtiği zaman, arka arka daha yavaş bir şekilde yüzer. Yüzme bacaklarının hareket sürecine etkisi ise oldukça azdır. Bu yüzme uzuvlarının erkeklerde daha çok sperm iletimi, dişilerde ise kuluçkaya yatma evresinde katkısı büyüktür.

Kuyruk çevirmede kullanılan kaslar, abdominal bölgenin çoğunluğunu kaplar ve tatlı su ıstakozlarının et ya da yiyecek olarak kullanılan bu bölümü kuyruk döndürme eylemini gerçekleştiren kaslardan oluşur (Holdich, 2002).

Tatlı su ıstakozlarının öne doğru hareketi de aynı şekilde abdomende yatay olarak yayılan dört çift yürüme bacağı sayesinde gerçekleşir. Bu bacaklar adım atarken üst üste gelir, bu sırada her iki yandaki iki ardışık bacak daima vücudu destekler. *Astacus leptodactylus*'un vücut kısımlarının dorsal (sırt) ve ventralden (karın) görünüşü Şekil 2.1'de verilmiştir.

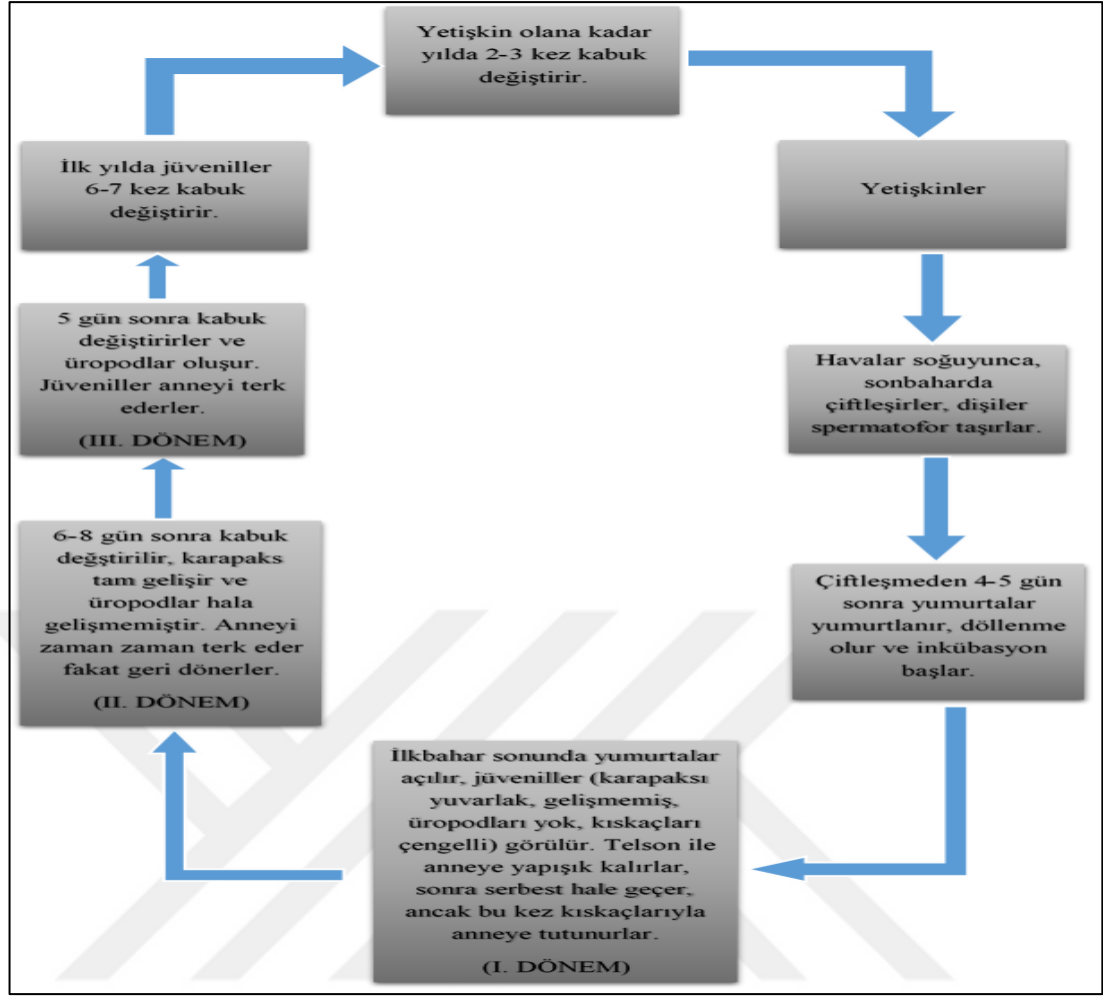


Şekil 2.1. Erkek *A. leptodactylus*'un sırttan ve karından görünüşü (Cilbiz, 2010).

Tatlı su ıstakozları, ekosisteminin tabii bir şekilde parçasıdır. Beslenme alışkanlıkları bakımından omnivor özellikte olmalarına rağmen yaşadıkları su kaynaklarının diplerindeki organik partikülleri tüketip kullanma becerileri de aynı oranda gelişmiştir (Huner, 1994). Bu sayede; tatlı su ıstakozları, organik maddelerin işlenmesinde üstlendikleri önemli rol nedeniyle ekosistemdeki enerji dengesinin korunmasına katkı sunmaktadırlar (Hessen vd., 1993; Wallace vd., 1997; Zhang vd., 2003). Ayrıca, çözülmeekte olan maddeler üzerinden beslenen, su kütlelerinin diplerindeki organik parçacıkların mineralizasyonunu sağlayan ve iç sularda çeşitlilik yaratan bu canlılar için “ekosistem mühendisi” tabiri de kullanılmaktadır (Zhang vd., 2004). Tatlı su ıstakozları aynı zamanda, durgun su ve akarsu habitatları için anahtar tür olarak görülmektedir (Hogger, 1988; Momot, 1995; Nyström, 2002).

Bahse konu canlıların, yeni bir sucul ortama dâhil olmaları ya da bulundukları sucul ortamdan ayrılmaları o ekosistem üzerinde ciddi sonuçlara yol açabilmektedir (Matthews ve Reynolds, 1992; Nyström ve Strand, 1996).

Tatlı su ıstakozlarının gelişim süreçleri; bulundukları su kütlesinin özelliklerine, mevsimsel şartlara ve yaşadıkları ortamdaki gıda maddelerinin yeterli düzeyde olup olmamasına göre değişiklik gösterir. Besin kaynağı kıt olan sulardaki tatlı su ıstakozlarının geç kabuk değiştirdiği ve zayıf kaldığı gözlemlenmiştir. Doğal koşullarda Türk tatlı su ıstakozunun 5 ile 20 yıl arasında yaşadığı rapor edilmiştir (Atay, 1997). Tatlı su ıstakozları ayrı eşeyli ürerler. Astasid tatlı su ıstakozlarda (*A. leptodactylus* gibi) cinsel olgunluğa ulaşma yaşı 2-3 yıldır ve bir tatlı su ıstakozu 8 - 9.5 cm boy ile 3 - 4 yaşına geldiğinde çiftleşme gerçekleşir (Alpbaz, 1993). Çiftleşme Ekim-Aralık aylarında, su sıcaklığı 10 – 11 °C iken meydana gelir. Çiftleşme ile spermilerin yumurtlama esnasında döllenme işleminde kullanılması arasındaki süre ise 6-8 hafta olabilmektedir (Alpbaz, 1993). Kış mevsimi boyunca dişinin abdomeninde tutulan yumurtalar, 5 - 6 ay sonra, Mayıs ile Temmuz ayları arasında açılır ve çıkan larvaların boyu 1 - 1.5 cm civarındadır. *Astacus* cinsine ait tatlı su ıstakozlarının yaşam döngüleri Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. *Astacus* cinsine ait tatlı su ıstakozlarının yaşam döngüleri (Kumlu, 2001).

Tatlı su ıstakozları için pek işlevsel bir organ olan hepatopankreas ise, sefalotoraksda konumlanmış olup üç lobdan meydana gelmektedir. Sindirim esnasında kullanılan proteinaz ve lipaz gibi enzimler bu organdan salınmaktadır. Aynı zamanda birtakım birleşimlerin üretildiği ve aşırı ölçüde alınan besinler ile bazı ağır metal ve kalsiyumun depolandığı yer olması nedeniyle hepatopankreas, tatlı su ıstakozlarının karaciğeri olarak da adlandırılır (Chen, 1998; Holdich ve Reeve, 1988; Vogt, 2002).

Hepatopankreas, kabuklu sucul canlıların hayatlarını sürdürdükleri ortamlardaki fizyolojik şartların tespit edilmesinde anahtar organ görevi gören önemli bir kısımdır. Krustaselerin hepatopankreasında ihtiva eden rutubet ve enerji içeriği ile hepatosomatik indeksi (HSİ), bu canlıların yaşadıkları alanlardaki popülasyon yoğunluğunun, yem kaynaklarının ve su kalitesinin ne durumda olduğuna dair bilgilere ulaşmamızı sağlayan güvenilir indikatörlerdir.

Söz konusu gösterge değerleri beslenme, kabuk değiştirme ve üreme dönemlerine bağlı olarak azalır veya artar (Jussila, 1997a). Abdomenlerinde yumurta taşıdıkları dönemde dişi tatlı su ıstakozlarının hepatopankreaslarında bulunan enerji kaynaklarını harcaması sonucu, hepatosomatik indeksleri, cinsel olgunluğa ulaşmayan tatlı su ıstakozlarına oranla daha düşük seviyededir (Guoda, 1999; Jussila, 1997b).

Hepatopankreastaki rutubet ve enerji içeriği ters orantılıdır. Ortamdaki rekabetin az olması ve besinlerin bol bulunması hepatopankreastaki rutubet içeriğinin düşük olduğuna dair bir işarettir (Jussila, 1997a,b).

2.1.3 Coğrafik dağılımı

Astacidae familyasından olan *Astacus leptodactylus*'un her iki alt türüne de Türkiye'deki içsularda rastlamak mümkündür. Bunlardan; *A. leptodactylus leptodactylus* 'un Cori ve Gelemen Çay'ında, Işıklı ve İznik Göl'ünde, Meriç Nehri, Terkos Gölü ve Tunca Nehri'nde; *A. leptodactylus salinus* 'un ise Akşehir, Beyşehir, Eber, Eğridir, Gölcük (Ödemiş) Gölü, Ulubat ile Manyas Gölleri ve Miliç Çayı'nda bulunduğu belirtilmiştir (Erdem, 1993; Erençin ve Köksal, 1977; Geldiay ve Kocataş, 1970; Geldiay ve Geldiay, 1978).

Dünya'da ise *A. leptodactylus leptodactylus*, Doğu Avrupa'da özellikle Rusya, Türkiye ve Türkmenistan'ın neredeyse tüm su kaynaklarında bulunmaktadır. İlavenen; Almanya'nın doğu bölgesi ile Fransa ve Polonya'daki birçok sucul ekosistemde de bu türün yaşadığı kaydedilmiştir (Brodsky, 1974; Bott, 1950).

2.1.4 Yaşam ortamları

Tatlı su ıstakozlarının doğal yaşam ortamları akarsular, nehirler, göl ve göletlerdir. Bunun yanında bataklıkta ve çamurlu sularda da bulunurlar (Anonim, 1984; Geldiay ve Geldiay, 1978; Timur vd., 1993). Avcılardan korunmak için otluk, sazlık, taşlık ya da çakıllı alanları tercih ederler. Özellikle bataklıkta ve çamurlu sularda yer alan tatlı su ıstakozları kuyruklarını kullanıp toprağı kazarak kendilerine derinliği 1 m'ye kadar ulaşan yuvalar açabilir. Kabuklarının gelişiminde önemli rol oynayan kalsiyum elementi açısından zengin, kalkerli ve akıntılı sularda yaşamayı severler. Silisli sularda ise az bulunurlar (Demirsoy, 1982; Erdem, 1993; Geldiay ve Geldiay, 1978).

Tatlı su ıstakozları nötr sularda yaşamaktan hoşlanır. Bulundukları su kütlelerindeki pH değerinin 6.7 – 8.5 aralığında olması tatlı su ıstakozları bakımından idealdir. Tatlı su ıstakozları genellikle 1.5 - 2 m derinlikteki, CaCO₃ sertliğinin 100 – 150 ppm olduğu, tuzluluk oranının %0.06 – 0.10 arasında bulunduğu ve sıcaklığın 10 – 32 °C skalasında yer aldığı sucul alanlarda yaşar (Erdem, 1993).

2.2 Biyodeneyler

Canlı organizmada oluşan veya maruz kalma yolu ile canlı sisteme dâhil olan, kimyasal özellikleri nedeniyle fizyolojik işlevlerde bozulmalara yol açan veya ölüme neden olan maddeler “ZEHİR” olarak tanımlanır (TSE, 1988).

Sucul ekosistemlerde besin zincirinin farklı düzeylerinde yer alan sucul canlılar çevre kirleticiler ile doğrudan veya dolaylı olarak etkileşim halindedirler. Bu durumda öldürücü olmayan subletal konsantrasyonlarda sistemde yer alan bu kimyasalların sucul canlılar üzerinde meydana getirdiği etkileri ortaya koyma amacıyla genellikle alan ve laboratuvar çalışmaları yapılmaktadır. Günümüzde sucul ortama verilen kimyasalların neden olabileceği etkilerin belirlenmesi amacıyla yapılan çevre izleme çalışmaları UNEP’e göre “ standartlaştırılmış yöntemler kullanılarak, belirli bir alanda bir ya da birçok kimyasalın veya biyolojik ögenin belirlenen amaçlar doğrultusunda izlenmesidir” şeklinde tanımlanmıştır. Ayrıca mevcut kimyasal kirlenmenin canlı organizmalar üzerine olumsuz etkilerini konu alan araştırmaların en sık başvurduğu yöntemlerden bir diğeri ise biyodeneylerdir. Biyodeney, bir kimyasalın toksik etki gücü ve miktarının canlı organizmanın bu maddeye karşı verdiği biyolojik tepkilerin ölçülerek belirlendiği kontrollü laboratuvar şartları altında yapılan testtir (APHA, 1975).

Biyodeney ya da toksisite testlerinin temel amacı; herhangi bir toksik maddenin canlı organizmalarda toksisiteye yol açan ve aynı zamanda görünür bir etkiye neden olmayan konsantrasyonlarını belirlemektir. Bu testlerden elde edilen veriler ışığında örneğin, bir su canlısı için maksimum konsantrasyonlar belirlenip tavsiye edilebilir.

Biyodeneyler yüzey sularının kalitelerini değerlendirmek amacıyla da kullanılabilirler. Bu testler su ortamında yer alan kirletic kimyasalları izlemeye ve yapılan analizleri yorumlamaya hizmet eder (Schreck ve Moyle, 1990).

Toksisite testleri arasındaki temel farklılık, doz ve kimyasal maddeye maruz kalma süresidir. Kimyasal maddeye organizmanın verdiği her cevap önemli olup, araştırılmalıdır. Toksik yanıt ölçülebilen kaba bir parametre olabildiği gibi ölüm ile de sonuçlanabilen bir etki de olabilir. Bir patolojik lezyon, biyokimyasal, kimyasal, farmakolojik cevap ve değişik toksik cevabın göstergesi olabilir.

Deney hayvanlarının kimyasal maddelere teması genel olarak akut temas ya da kronik temas şeklinde gerçekleşir. Organizmada meydana gelen olumsuz etkiler kalıcı veya geçici, akut ya da kronik olabilir.

2.3 Akrilamid

Kimyasal bir bileşik olan akrilamid Cristian Maureau tarafından 1893 senesinde Almanya’da keşfedilmiştir (Kısabay vd., 2014). Monomer ve polimer olmak üzere iki şekli bulunan akrilamidin; monomerik formdaki yapısı suda eriyebilen bir tozken, polimerik formdaki yapısı da jelimsi kıvama sahip mühim kullanım alanları bulunan su geçirmez özellikteki bir bileşendir. Akrilamidden, ticari ve kimyasal olarak 1950’li yıllarda yararlanılmaya başlanmış olup, kendisinden, içme ve atık suları arıtarak iyileştirmenin, partikülleri ve diğer katışık maddeleri temizlemenin yanında; boya ve tekstil endüstrilerinde, kâğıt, poliester reçine ve kozmetik ürünlerinin detaylı üretim süreçleri ile laboratuvarlardaki jel kromatografisi ve elektroforez uygulamaları gibi birçok alanda da ziyadesiyle faydalanılmıştır (Friedman, 2003; Kısabay vd., 2014; Tamer ve Karaman, 2006). Akrilamidden toprak stabilizasyonunda dahi yararlanılmaktadır. Bu madde ayrıca tütün dumanının bir bileşenidir (Kelly, 2003).

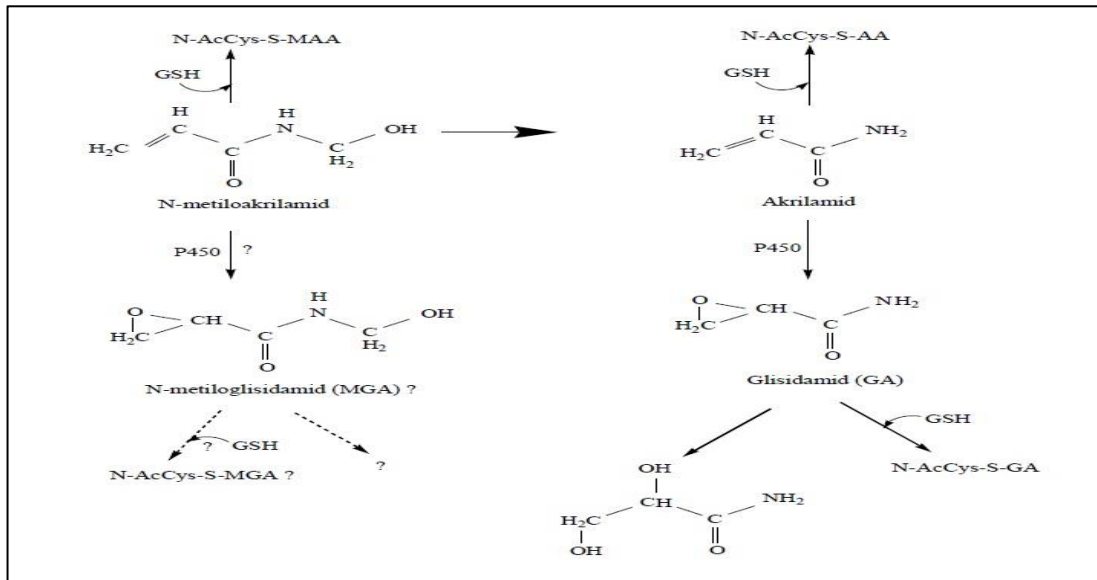
Akrilamidin yüksek sıcaklıklarda hazırlanan gıdalarda ortaya çıktığı bilgisi, İsveç Gıda Kurumu ile Stockholm Üniversitesi’ndeki analistlerin yaptıkları çalışmalara ait sunulan bildirgelerden evvel bilinmezken (Kelly, 2003), konu hakkındaki ilk veriler insanların akrilamidle temasının içme suyu tüketimi veya baraj yapım işleri sırasında olabileceği yönünde olmuştur (Vainio, 2003).

Ancak; 2002 yılında İsveç’de bilim adamları tarafından nişasta açısından zengin ekmek, kahve, patates cipsi, patates kızartması gibi ısıtılmış işlem görmüş pek çok gıda maddesinde akrilamid oluşumuna rastlandığı ve akrilamidin bu sebeple bir proses bulaşı olarak ele alınmaya başlandığı ifade edilmiştir (Friedman, 2003).

Polimerik formdaki akrilamidin aksine, canlılar üzerinde nörotoksik etkileri bulunan monomerik akrilamidin insan vücuduna girişi, ya yüksek sıcaklıklarda pişirilip tüketilen gıda maddeleri aracılığıyla ya da mesleki gereklikleri yerine getirmek amacıyla yapılan iş ve işlemler sırasında meydana gelmektedir. Beslenme eylemi ile alınan akrilamid, gastrointestinal sistemde soğurulup doğrudan dokulara yayılmaktadır. Hal böyleyken, akrilamidin insan sağlığı üzerinde yaratacağı olumsuz etkileri de göz önüne alarak yapılan deneysel çalışmalar ışığında, söz konusu maddeye maruz kalmayı en aza indirgeyecek bazı kısıtlamalar getirmenin, bilim dünyası ile merkezi idareler tarafından hükme bağlandığı ifade edilmektedir.

Dolayısıyla, gıda hazırlama konularıyla ilgili girişimler denetlenerek, insan sağlığını tehlikeye atacak süreçler, ortak akıl yardımıyla belli bir çerçeve içerisinde değerlendirilip gözden geçirilebilecektir (Mariotti vd., 2013).

Epoksid türevi olan ve mukayese edildiği zaman akrilamide oranla DNA ile proteinlere karşı daha belirgin bir etki gösteren glisidamide dönüşmesi, akrilamidin toksisitesini arttıran bir gelişmedir. Akrilamid ve ara ürünü olan glisidamid, glutatyon ile eşlenik olduktan sonra idrarla merkaptürik asit konjugatı olarak atılmaktadır (Zamani vd., 2017). Sitokrom P450 (CYP2E1) enzimleri tarafından glisidamide çevrilen akrilamidin, geçtiği muhtemel metabolik evreler Şekil 2.3'te gösterilmiştir (Paulsson vd., 2005).



Şekil 2.3. Akrilamidin glisidamide dönüşümü (Paulsson vd., 2005).

Akrilamid besinlerde tabii olarak bulunmaz. Yüksek sıcaklıklarla muamele gören gıdalardaki protein ve şekerin reaksiyona girmesi sonucu düşük seviyelerde ortaya çıkıp tüketilmesiyle vücuda alınmaktadır. Bu yolla vücuda alınan akrilamidin insan sağlığını nasıl etkileyeceği konusu tam anlamıyla kavranamazken, gelecekte teşkil edeceği çekincelere dair ihtimaller ciddi kaygılara neden olmaktadır.

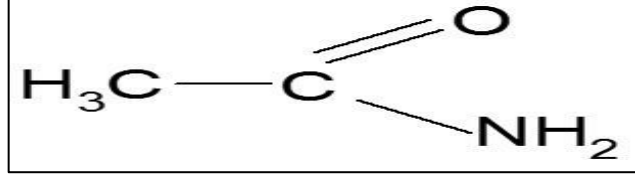
Gıda menşeli akrilamidin beslenme yöntemiyle bünyeye alınması insanlığın ekseriyetini ilgilendiren önemli bir konudur. Bu yüzden; Avrupa Birliği (European Union, EU, 2002), Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA), Amerikan Ulusal İş Güvenliği ve Sağlığı Enstitüsü (National Institute of Occupational Safety and Health, NIOSH, 1976), IARC (1986, 1994) ve WHO (1985) kuruluşları güncelliğini muhafaza eden bu konuyu gündeme getirerek tetkik etmişlerdir. Hatta Amerikan Çevre Koruma Ajansı (U.S. EPA) tarafından birçok faaliyet gerçekleştirilerek akrilamidin toksik ve kanserojenik miktarlarına ilişkin tavsiye niteliğinde sayılacak birtakım sınırlamalar getirilmiştir (Tamer ve Karaman, 2006).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO, 1996) talimatına göre, içme sularında en fazla 0.5 µg/L akrilamidin bulunabileceği bildirilirken, bu oran Avrupa Birliği (EU, 1992) tarafından 0.1 µg/L olarak belirlenmiştir (Cavalli vd., 2004; Claeys vd., 2005).

2.3.1 Akrilamidin kimyasal yapısı

Akrilamid günümüz dünyasında pek çok endüstriyel faaliyette kullanılagelen bir kimyasal bileşiktir. Yapısal özelliğine bakıldığında toz halindeki monomerik akrilamid; etanol, metanol, dimetileter ve asetonunda çözünüp, heptan ve benzende çözünmemektedir (Tamer ve Karaman., 2006). Erime sıcaklığı 84.56 °C, kaynama sıcaklığı ise (25 mm Hg) 125 °C'dir (Keskin, 2007). Yoğunluğu 25 °C'de 1.27 g/ml'dir (Zamani vd., 2017). Akrilamid doymamış çift bağ içeren bir amiddir (Blasiak vd., 2004).

Akrilamid 2-propenoamid, etilen karboksamid, akrilik asit amid, vinil amid, propenoik asit amid olarak da bilinmektedir (Keskin, 2007). Akrilamidin kimyasal yapısı Şekil 2.4’de görülmektedir.



Şekil 2.4. Akrilamidin kimyasal yapısı (C₃H₅NO).

Akrilamidin; üre (CH₄ N₂ O), formaldehit (HCHO), glioksal (C₂H₂O₂), aldehytler (RCHO), aminler (R₂NH) ile tiyoller (RSH) gibi mikro reaktif maddelerle tepkimeye girebilme özelliği vardır (Lingnert, 2002).

2.3.2 Gıdalarda akrilamidin oluşum mekanizmaları

Akrilamide maruz kalmada gıdalar ana kaynaktır. Dikkate alınması gereken öncelikli faktör ise akrilamidin beslenme eylemiyle vücuda alınmasıdır (Riboldi vd., 2014). Akrilamidin hangi sıcaklıklarda oluştuğu tam manasıyla bilinmezken, 120 °C’in yukarısındaki ısılarda pişirme işlemine tabi tutulan karbonhidratça bol gıdaların içeriğinde akrilamide rastlandığı ve ısıl işleme devam edildiği takdirde akrilamid seviyesinin bu gıdalarda giderek arttığı gözlemlenmiştir (Riboldi vd. 2014; Tamer ve Karaman, 2006). Gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde; akrilamid ajanını yüksek dozda ihtiva eden gıda ürünlerinin, kızartılarak tüketilen patates kızartması gibi yiyecekler ile yüksek sıcaklıklarda ısıl işlem görmüş kraker, bisküvi ve cips gibi tahıllı ürünler olduğu bildirilmiştir (Tamer ve Karaman, 2006).

Nüfusun genelinde akrilamidin günlük alım miktarı ise yaklaşık 0.3 - 0.8 mg/kg olarak tahmin edilmektedir. Çocuk ve gençlerde tespit edilen akrilamid alım oranları yetişkin insanlara kıyasla daha fazladır. Zira patates kızartması, mısır gevreği, cips, bisküvi ve çerez tarzı ürünlerin tüketimi yaygın olarak yaşça genç bireyler tarafından yapılmaktadır (Stadler vd., 2002).

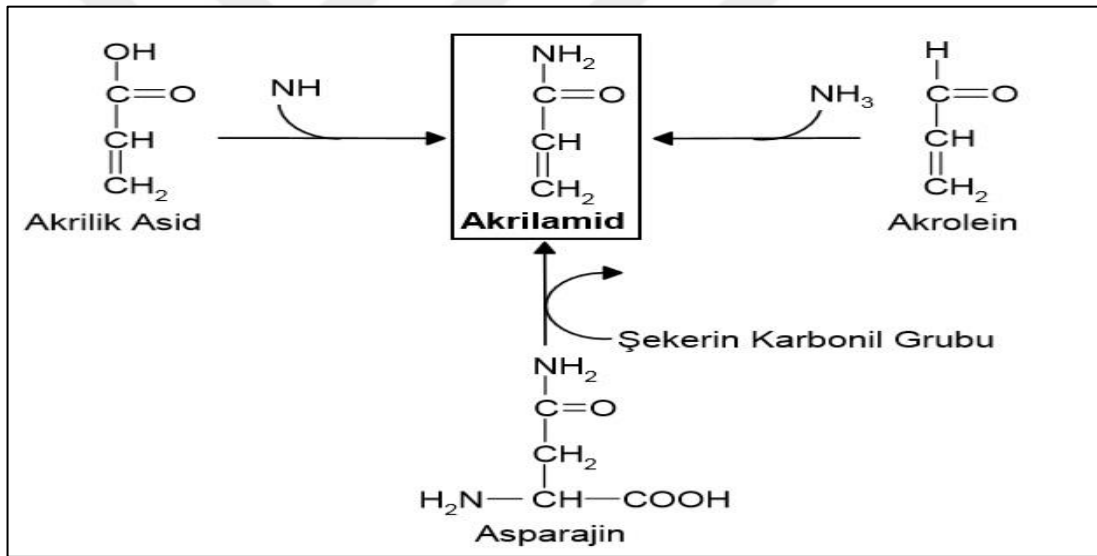
Akrilamid farklı yollar ile meydana gelebilmektedir. Bu yollar;

1- Karbonhidratlar, serbest aminoasitler ve yağların indirgenmesine istinaden çoğalan akrolein veya akrilik asitlerin oluşumu,

2- Laktik asit, malik asit ve sitrik asidi de içine alan başlıca organik asitlerin dehidrasyonu ve dekarboksilasyonu,

3- Patates ve hububat ürün grubunda yüksek miktarda bulunan asparajin aminoasidinin düşük seviyelerdeki şekerlerle tepkimeye girmesi şeklinde özetlenebilir (Tamer ve Karaman, 2006).

Akrolein ve akrilik asit ile etkileşime giren asparajin aminoasidinin oluşturduğu akrilamidin mekanizması Şekil 2.5'te gösterilmiştir (Lingnert vd., 2002).



Şekil 2.5. Akrilamid oluşum şeması (Lingnert vd., 2002).

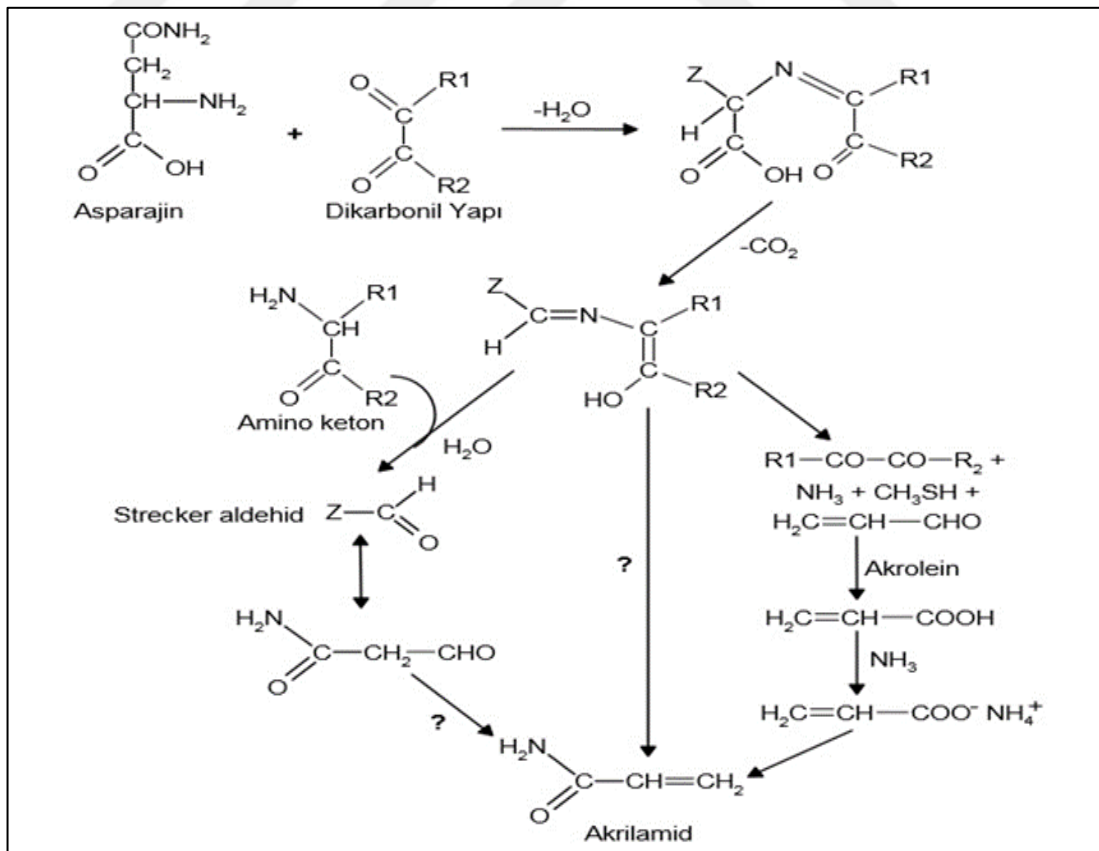
Akrolein (2-propenal, CH₂=CH-CHO) üç karbonlu aldehittir ve akrilamidin yapısını (CH₂=CH-C(O)-NH₂) andırmaktadır. Bu nedenle akrolein, akrilamidin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Temel kimyasal dönüşümler ile akrolein, akrilamide evrilebilir, fakat akrilamidin oluşmasını sağlayan seçeneklere bakıldığında akrolein gerekli değildir. Örneğin, proteinler ya da aminoasitlerin hidrolizi ile dekarboksilasyonu gibi dönüşümler de akrilamid oluşumu ile sonlanabilir (Lingnert vd., 2002).

Proteinlerin yapı taşı sayılan aminoasitlerden biri olan asparajinin, akrilamid teşekkülündeki kilit rolü Şekil 2.6’da görülmektedir (Biederman ve Grob, 2003).



Şekil 2.6. Asparajin ve şekerin karbonil grubu ile etkileşmesi sonucu akrilamid oluşumu (Biederman ve Grob, 2003).

Maillard reaksiyonlarında akrilamid meydana gelebilsin diye tepkimeye giren aminoasidin asparajin olması gerekmektedir. Karbohidrat ve protein içerikli gıdaların yüksek sıcaklıkta işlem görmesi sonucu oluşan bu bileşik gıdalarda renk, lezzet ve aromanın oluşumuna katkı sağlar (Karagöz, 2009; Ötles vd., 2004). Maillard reaksiyonu Şekil 2.7’de verilmiştir (Stadler vd., 2002).



Şekil 2.7. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu (Stadler vd., 2002).

2.3.3 Akrilamidin toksisitesi

Başta plastik üretimi olmak üzere birçok endüstriyel alanda kullanılan akrilamidin yarattığı toksisite hususunda pek çok ayrıntılı inceleme gerçekleştirilmiştir. Ancak yapılan bu incelemeler çoğunlukla deney hayvanları üstünde tatbik edilmiş olup, akrilamide maruz bırakılan bireylerin üreme sistemlerinde arızaların olduğu ve deneye tabi tutulan deneklerin bünyelerinde genotoksisite, karsinojenite, nörotoksisite gibi hasara yol açan çeşitli zehirlenme tiplerinin görüldüğü tespit edilmiştir. Akrilamidin insanlar için yarattığı etkinin de nörotoksisiteye sebep olduğu gösterilmiştir (Zamani vd., 2017).

İcra ettikleri meslekleri nedeniyle akrilamidle karşı karşıya gelmek zorunda kalan İsveç ve Çin gibi ülkelerdeki kimi insanlarda sinir hasarının bir sonucu olan periferik nöropati geliştiği bildirilmiştir (Mehri vd., 2014; Pedreschi vd., 2013). Akrilamidin insanlardaki toksikokinetiği ise 2.4 ile 7.0 saat arasında yarı ömürlü olarak saptanmıştır (Besaratnia ve Pfeifer, 2007). İnsanlar için akrilamidin üreme sistemi üzerindeki etkileri ile teratojenik ve mutajenik etkileri konusunda hala kesin bir yargıya da varılamamıştır. Lakin alımı gerçekleşen akrilamidin vücut tarafından hızlıca absorbe edilip dokulara aksettiği gözlemlenmiş olmakla beraber, anne sütünde dahi bulunabileceği, hatta plasenta yardımıyla anneden çocuğa bile sirayet edebileceği belirtilmiştir (Tamer ve Karaman, 2006).

Avrupa Komisyon devletlerinde yıllık akrilamid üretiminin 80.000 – 100.000 ton arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bu üretilen miktarın yaklaşık 280 kg'nın da günlük olarak akarsu, göl, gölet, deniz veya yeraltı suları gibi muhtelif alıcı ortamlara, bilerek ya da bilmeyerek, deşarjının gerçekleştiği düşünülmektedir. Ciddi orandaki akrilamid salınımının ekosistemler üzerinde neden olacağı değişiklikleri ve bu bağlamda akrilamidin olası zararlı etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla standart biyodeneysel yöntemleri kullanılarak, tatlı sularda bulunan canlılar da incelenmiş olup alglerin akrilamide karşı oldukça duyarlı oldukları gözlemlenmiştir. *Daphnia magna* (Su piresi) ile *Lemna minor* (Su mercimeği) gibi ana deney materyali olmayan organizmalar üzerindeki akrilamid toksisitenin ise seyrek olduğu bildirilmiştir. Yapılan incelemede *Daphnia magna*'nın immobilizasyon EC₅₀ değeri 100 mg/L olarak hesaplanmıştır (Zovko vd., 2015).

Bir başka deneyde akrilamidin balık modeli üzerindeki etkileri subletal LC₅₀ değerleri kullanarak incelenmiştir. Şebeke suyunun kontrol amaçlı kullanıldığı söz konusu çalışmada, erişkin *Carassius auratus* (Japon balığı) 96 saat süreyle 50 – 200 mg/L dozlarındaki etken maddeye maruz bırakılmıştır. Sonuçta en toksik dozun 200 mg/L olduğu görülmüş ve LC₅₀ değerinin de 119.5 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Verilen dozun miktarına bağlı olarak da DNA halka yapısındaki tahribatın ve eritrosit düzeylerindeki sapmaların fazlaştığı, karaciğerdeki sitokrom P4501A (CYP1A) ile glutatyon s-transferaz (GST) etkinliğinin ise yükseldiği anlaşılmıştır (Larguinho vd., 2013).

Larguinho vd. (2014) deniz çift kabuklularından *Mytillus galloprovincialis* (Kara midye) üzerinde akrilamidin kronik maruziyenin metabolik ve histopatolojik açıdan ne gibi değişikliklere yol açabileceği konusunda farklı bir çalışma daha gerçekleştirmiştir. Yapılan çalışmada LC₅₀ değeri 96 saat süre sonunda takribi 400 mg/L olarak saptanmıştır. Kara midyesi, su kaynaklı kronik akrilamid konsantrasyonlarına (1 - 10 mg / L) uzun süre maruz kalarak cevap vermiş, gözle görülür bir şekilde lipid peroksidasyonu ile EROD ve GST etkinliklerinde kayda değer bir artış gözlemlenmiştir. Yine de toplam antioksidan kapasitesi aşılmamış ve bununla birlikte asetilkolin esteraz (AChE) aktivitesi ile nörotoksik etki gösterecek belirtiler ise tespit edilememiş, ayrıca sindirim bezlerinde ve solungaçlarda önemli bir histolojik zararın ortaya çıkmadığı kaydedilmiştir. Fakat dişi kara midyelerinin gonadlarında ağır nekroz ve oosit atrezisi görülmüştür.

Yerlikaya vd. (2012) ise erkek ve dişi sıçanlar üzerinde 90 gün boyunca akrilamid tatbikinde bulunmuşlardır. Günlük olarak farklı iki doz (2 mg - 5 mg) halinde uygulanan akrilamidin, her iki cinsiyet grubundaki sıçanlarda serum AST, ALT ile LDH seviyelerini ve trigliserid düzeylerini arttırdığı görülmüştür. Düşük doz akrilamide maruz bırakılan sıçanlara nispeten yüksek doz akrilamid verilen sıçanlarda tek hücre nekrozu, yağlanma ve nükleer polimorfizm gibi karaciğer hasarının bir göstergesi olan patolojik belirtilerin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Ancak hayvanlar üzerinde uygulanan düşük doz akrilamidin bile genotoksik ve karsinojen benzeri etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Bu nedenle düşük doz akrilamidin canlı bünyesinde arz edeceği tehlikeler göz ardı edilmemelidir.

Zira düşük dozlardaki akrilamidin farelerin tiroid ile böbrek üstü bezlerinde ve cinsel organlarında tümörlerin meydana gelmesinde etkisinin olduğu bilinmektedir (Sharp, 2003).

Sağlıklı bir sucul ekosistemden söz edebilmek için alıcı ortamlara karışan birçok kimyasal ajanın mahiyetinin ve niceliğinin bilinmesi son derece elzemdir. Böylece sucul ekosistemlerde bulunan canlıların yaşadıkları alanlara farklı kaynaklardan salınan farklı dozlardaki kimyasallara karşı canlı türlerinin nasıl tepkiler verecekleri ve söz konusu canlıların yaşam döngülerinin nasıl değişeceği konuları açıklığa kavuşturulabilir. Örneğin; deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon, yani öldürücü doz denilen LC_{50} değeri türler arasında farklılık gösterebilmekle birlikte, aynı tür içerisinde bulunan boyutları birbirinden farklı canlılar için de değişiklik arz edebilmektedir. Shanker ve Seth (1986); Hindistan, Bangladeş, Pakistan, Nepal, Sri Lanka, Tayland, Myanmar ile Butan gibi pek çok Asya ülkesindeki tatlı sularda geniş bir yayılım gösteren ve yayın balığının bir türü olan *Heteropneustes fossilis* üzerinde akrilamidin toksik etkilerini araştırmak amacıyla bilimsel bir çalışma yürütmüşlerdir. Gerçekleştirilen çalışmada hedef canlıda tatbik edilen 24 ve 48 saatlik akrilamid maruziyetinin LC_{50} değerleri sırasıyla 104 ve 86 mg olarak tespit edilmiştir. Akrilamid maruziyetinin 15 mg olduğu bölümde ise canlı üzerinde kayda değer hiçbir etki gözlenmemiştir. Akrilamidin 24 saatlik LC_{50} değeri için balıklardaki ortaya çıkan belirtiler kuyruk hareketlerinin yitmesi ve yüzgeçlerin çökmesi şeklinde vuku bulmuştur. Aynı süre zarfında LC_{50} değerinin yüzde yirmi beşlik kısmındaki bulgular tam anlamıyla belirginlik göstermemişken, yine aynı süre içerisinde bu konsantrasyona maruz bırakılan balıklardaki glutatyon (GSH) ve glutatyon-s-transferaz (GST) seviyelerinde net bir düşüşün meydana geldiği söylenebilmektedir.

Yukarıda bahsedildiği gibi farklı türlerdeki canlıların üzerinde akrilamidin muhtemel zararlı etkileri konusunda çeşitli çalışmalar yapılagelmiştir. Günümüzde de bu tarz çalışmaların sürdürülmesine hâlihazırda devam edilmektedir. Bu araştırmada ise çevresel kirletici olarak yaygın bulunan akrilamidin iki farklı dozu kullanılarak tatlı su ıstakozu üzerinde oluşacak subletal etkinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Tatlı su ıstakozlarının temini

13/8/2020 tarihli ve 31221 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan 5/1 Numaralı Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığını Düzenleyen Tebliğ’in (Tebliğ No: 2020/20) 42. maddesinin birinci fıkrasına göre tatlı su ıstakozu avcılığı ülkemizdeki bütün iç sularda 1 Kasım ile 30 Haziran arasında yasaklanarak bir nizamla bağlanmıştır. Aynı tebliğin 37. maddesinde ise avlanabilir asgari tatlı su ıstakoz boyu 10 cm olarak belirtilmiştir. Bu nedenle araştırmada kullanılacak tatlı su ıstakozları (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823) av yasağı dönemi dışında kalan sürede ve avlanabilir asgari boy sınırına uyacak biçimde avcılık yoluyla balıkçılardan temin edilmiştir. Elde edilen deney materyallerinin (n=60) ortalama boyları 10.75 ± 0.93 cm ve ağırlıkları 38.49 ± 1.25 g olarak kaydedilmiştir.

3.1.2 Deney akvaryumları

Deneylerde 20 L hacimli toplam 7 adet akvaryumdan faydalanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deney akvaryumları.

3.1.3 Toksik madde materyali

Deneyde 79-06-1 CAS numaralı ve molekül ağırlığı 71.08 g/mol^{-1} olan ticari akrilamid (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır (Şekil 3.2). Stok akrilamid çözeltisi ve sulandırmalarla elde edilen doz çözeltileri distile su içinde hazırlanmıştır.



Şekil 3.2. Akrilamid.

İçlerinde 10 L hacimde su bulunan akvaryumlara akrilamid ile dozlama otomatik pipet ile yapılmış cam baget ile karıştırılmıştır (Şekil 3.3; Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Dozlama.



Şekil.3.4. Cam pipet ile karıştırma.

3.1.4 Su materyali

Su kaynağı olarak şehrin ana şebekesinden yararlanılmış olup, gerekli miktardaki su, sodyum hipoklorit ile temizlenen akvaryumlara aktarılmadan önce kaba atıkların temizlenmesi maksadıyla filtreden geçirilmiştir. Ön filtreden geçen su daha sonra ikinci bir filtre düzeneğinden geçirilerek çözünmüş oksijen, klor ve pH açısından uygun duruma getirilmiş ve depolanan su pompalar yardımıyla deney akvaryumlarına nakledilmiştir. Su parametrelerinin tahliline yönelik işlemlerin gerçekleştirilmesinde Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Biyokimya ve Çevre Toksikolojisi Laboratuvarı'nın imkânlarından istifade edilerek hem deney öncesi hem de deney süresi boyunca su kalitesi parametrelerine dair yapılan ölçümlere ait değerler sırasıyla Çizelge 3.1 ile Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Deney öncesi su kalitesi parametrelerine ait ölçüm değerleri.

Su Kalitesi Parametreleri	Ölçüm Değeri
Sıcaklık (°C)	21.05 ± 1.15 °C
pH	7.2 ± 0.9
Çözünmüş Oksijen (O ₂) (mg/L)	5.19 ± 0.05 mg/L
Elektriksel iletkenlik (EC) (µS/cm)	241 ± 0.05

Çizelge 3.2. Deney süresi boyunca su kalitesi parametrelerine ait ölçüm değerleri.

Su Kalitesi Parametreleri	Ölçüm Değeri	
	48. saat	7 gün
Sıcaklık (°C)	21.5 ± 0.9 °C	20.5 ± 0.7 °C
pH	7.3 ± 0.7	7.2 ± 1.2
Çözünmüş Oksijen (O ₂) (mg/L)	5.9 ± 0.05 mg/L	6.1 ± 0.05 mg/L
Elektriksel iletkenlik (EC) (µS/cm)	211 ± 0.05	230 ± 0.07

3.1.5 Deney ortamı ve adaptasyon süresi

Mevzuat hükümleri çerçevesinde balıkçılar tarafından doğal ortamından avlanılarak temin edilen tatlı su istakozları içinde buz aküleri bulunan strafor kutular yardımıyla deneyin gerçekleştirileceği laboratuvara sorunsuz bir şekilde getirilmiştir. Bir ay uyum sürecine tabi tutulan canlı materyal devamlı havalandırılan akvaryumlarda günlük olarak beslenerek gözetim altında tutulmuştur.

3.1.6 Araştırmada kullanılan diğer araç, gereç ve kimyasallar

Deneyde; sıcaklık, iletkenlik, çözünmüş oksijen ve pH ölçümü yapabilen YSI multiparametre su ölçer, örneklerin tartımını yapmak için gerekli olan hassas terazi, doku incelemesinde yararlanılan mikroskop ile histolojik preparat hazırlamak için laboratuvar bünyesinde hazır bulunan Thermo Shandon Rotary marka mikrotom, su banyosu ile parafin dispencer cihazları kullanılmıştır. Bu çalışmada ksilen, %95 - 98 etil alkol, %99.8 absolüt alkol, glasiyal asetik asit (Sigma Aldrich), hematoksilen (Merck), Entellan, HCl, eozin (J.T. Barker), potasyumalum $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Tatlı su ıstakozlarının adaptasyonu

Tatlı su ıstakozları avlandıkları su kaynağından laboratuvara getirilip uygun su materyalinin içinde bulunduğu akvaryum düzeneklerine gelişigüzel yerleştirilmiştir. Ayrıca, kanibalizmi ve canlıların birbirlerine zarar vermelerini önlemek amacıyla akvaryumlara polietilen plastik borular konulmuştur. Tatlı su ıstakozları deneye başlamadan önce yeni ortamlarında bir ay boyunca uyum sürecinde kalmış ve günlük olarak düzenli bir şekilde taze balıkla beslenmiştir. Beslenme faaliyeti ile canlıların sindiriminden arta kalan atıkların kirlettiği su, atıklarla birlikte, sifonlama usulüyle akvaryum zemininden uzaklaştırılmıştır. Sifonlama sonrası su seviyesinin azaldığı akvaryumlara ise dinlendirilerek klordan arındırılan temiz su ikamesi yapılmıştır. Suyun sıcaklığı ayarlanabilir ısıtıcılar tarafından sabit tutulmuş, merkezi havalandırma sistemi sayesinde de suda sürekli hava akışı sağlanmıştır. Sıcaklık, pH, suda çözülmüş oksijen gibi su kalitesini etkileyen parametreler bir aylık uyum süreci boyunca iki günde bir ölçülüp kayıt altına alınmıştır (APHA, 1975).

3.2.2 Deney Yöntemi

Deneyler “*Zehirlilik Seyreltme Faktörü*” denilen ZSF tayin metoduna göre gerçekleştirilmiş olup APHA, FAO, ISO ve TSE’nin metotlarından da faydalanılmıştır (Anonymous, 1989; APHA, 1975; Reish ve Oshida, 1987). Yarı statik biyodene yöntemini uygulanan deneylerde ortam 48 saatlik dönemler içinde yenilenmiştir (APHA, 1975).

3.2.3 Deneyin gerçekleştirilmesi

Bu çalışmada, tatlı su ıstakozlarının dokularında çevresel kirletici olarak yaygın bulunan akrilamidin subletal düzeylerinin toplam hemosit sayıları ile solungaç ve hepatopankreas dokularına olan histopatolojik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu sebeple tatlı su ıstakozları deneylerde 100 ve 200 mg/L akrilamide 48 saat ve 7 gün süresince maruz bırakılmışlardır. Deneyin başlama tarihinden önceki dört gün içinde tatlı su ıstakozlarında görülen ölüm oranının %5'den fazla olmamasına dikkat edilmiştir. İstakozlar rastgele olmak üzere Kontrol (C1, Grup 1), deney grupları Grup 2 (100 mg/L) ve Grup 3 (200 mg/L) olarak tasnif edilmiştir. Dozlamadan 48 saat önce ve deney süresince tatlı su ıstakozları yemlenmemiştir. Ayrıca deneyler esnasında su kalitesi parametrelerinden; çözünmüş oksijen, pH, iletkenlik ve sıcaklık ölçülmüştür.

3.2.4 Histolojik inceleme için örnekleme

Tatlı su ıstakozlarından örnek alınabilmesi için buz anestezisi uygulanmış ve dokular diseksiyon usulüyle çıkartılmıştır. Elde edilen doku örnekleri Davidson tespit sıvısına alınarak 24 saat bu solüsyonda bırakılmıştır. Tüm doku örnekleri daha sonra %70'lik etil alkole aktarılacak için tespit sıvısından çıkarılmış ve doku takibi aşamasına kadar küçültülüp plastik kasetlere konularak %70'lik etil alkol içerisinde bekletilmiştir.

3.2.5 Doku takibinin gerçekleştirilmesi

Tatlı su ıstakozlarına ait çıkartılan dokular suyun uzaklaştırılması amacıyla bir dizi absolü etil alkol serisine maruz bırakılarak her bir dizide ikişer saat süreyle kalacak şekilde muameleye tabi tutulmuşlardır. Bir sonraki aşamada ise dokuları şeffalandırmak, maruz bırakıldıkları absolü etil alkol serisinden kurtarmak için 56 – 58 °C'deki ksilolden yararlanılmış olup, incelenecek doku parçaları daha sonra hususi kalıplar içerisinde sıvı parafin doldurularak gömülmüşlerdir.

Doku parçaları ile bütünleşen sıvı parafin, bloklar halinde kesime kadar soğutucuda muhafaza edilmiştir (Luna, 1968). Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 5 – 6 mikron kalınlığında kesitler elde edilerek ısıtılmış su banyosunda lam üzerine konulmuştur.

Parafinli kesitlerin lama daha iyi yapışmasını sağlamak için örnekler 50 – 60 °C sıcaklığa ayarlanmış etüvde bir gece bekletilmişlerdir. Son olarak Hematoksilen ve Eosinle boyanan lamalar kanada balsamı ile tutturularak tek bir preparat haline dönüştürülmüşlerdir.

3.2.6 Doku analizleri

Hemolemf, 2.5 ml'lik enjektör kullanılarak tatlı su ıstakozlarının ikinci yürüme bacağına kaidesinden alınmıştır. Hemolemf örnekleri önce santrifüj edilerek daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda saklanmıştır. Toplam hemosit sayısı hemositometre kullanılarak Yavuzcan ve Benli (2004)'ye göre yapılmıştır.

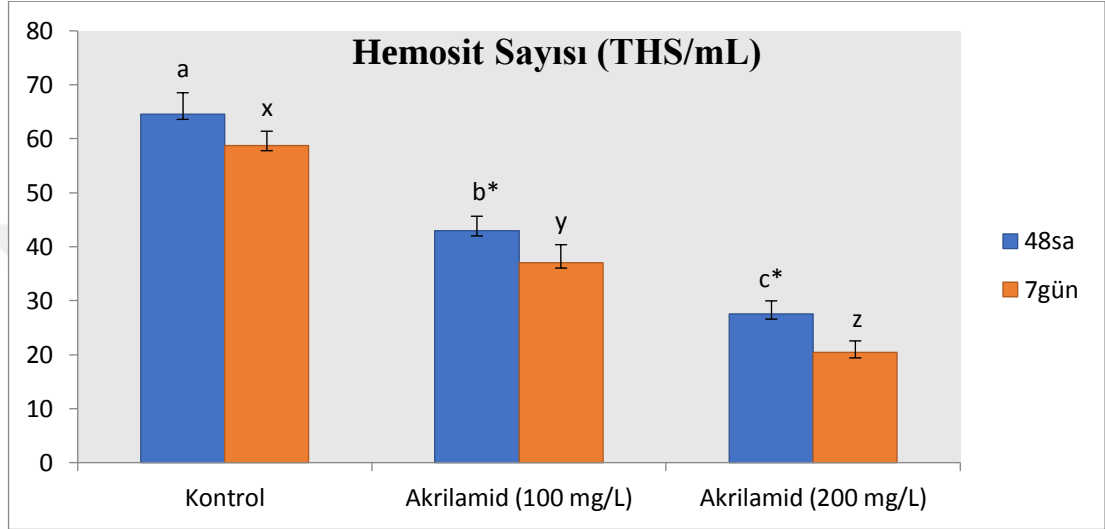


Şekil 3.5. Tatlı su ıstakozundan hemolemf alınması.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular

48 saat ve 7 gün süre ile iki farklı subletal akrilamid konsantrasyonuna (100 ve 200 mg/L) maruz kalan tatlı su ıstakozlarının toplam hemosit sayısına ilişkin değerler Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Toplam hemosit sayısı.

Şekildeki [a, b, c] kısaltmaları 48 saatlik uygulama grupları arasındaki istatistiksel farkı, [x, y, z] kısaltmaları ise 7 günlük uygulama grupları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0.05$). * 48 saat ve 7 gün uygulama süreleri arasında önemli istatistiksel fark vardır ($p < 0.05$).

Çizelge 4.1. Tatlı su ıstakozlarında toplam hemosit sayıları.

Grup	*48 saat	*7 gün
Kontrol	64.6 ± 3.94 ^a	58.8 ± 2.61 ^x
Akrilamid (100 mg/L)	43.0 ± 2.66 ^{b*}	37.0 ± 3.32 ^y
Akrilamid (200 mg/L)	27.6 ± 2.37 ^{c*}	20.04 ± 2.15 ^z

Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1 incelendiğinde kontrol grupları arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Toplam hemosit sayılarının tüm uygulama gruplarında akrilamide maruziyet sonucunda kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir azalmanın olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

Ayrıca 48 saat ve 7 gün uygulama süreleri arasında da önemli istatistiksel fark tespit edilmiş olup, 7 günlük akrilamid uygulama grubunda yer alan tatlı su ıstakozlarının hemosit sayıları 48 saatlik uygulama grubundakilere göre önemli bir düşüş göstermiştir ($p < 0.05$).

4.2 Histopatolojik İnceleme Bulguları

4.2.1 Kontrol grubu dokularına ilişkin bulgular

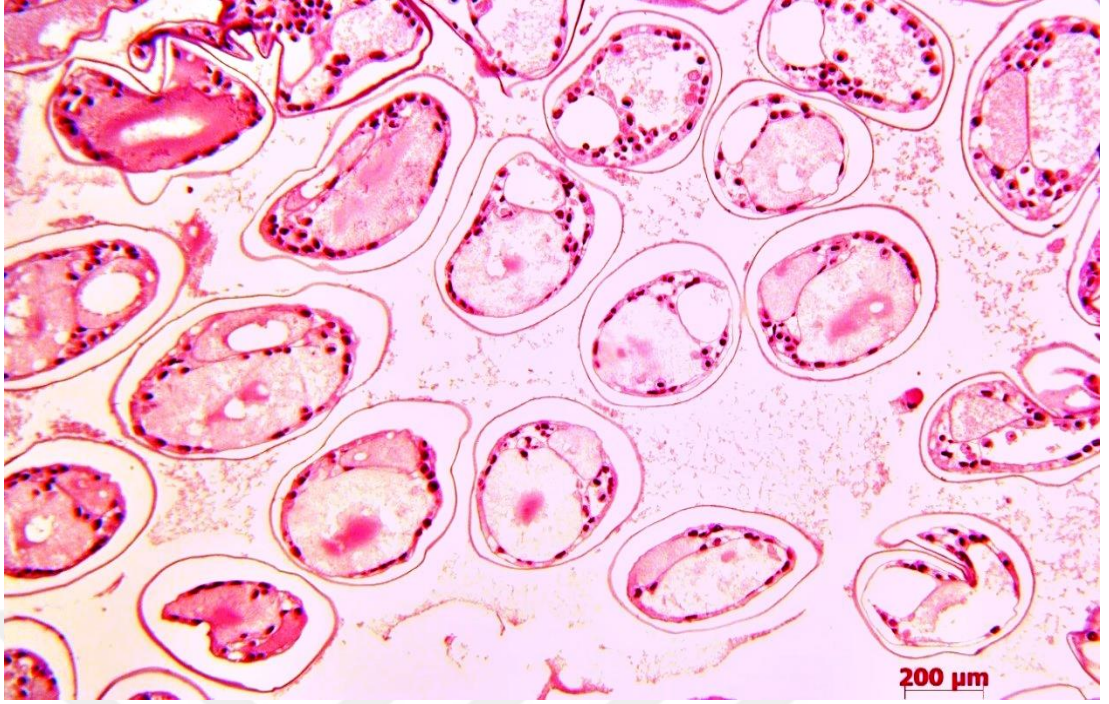
Kontrol grubu tatlı su ıstakozu dokularında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır.

4.2.1.1 Kontrol grubu solungaç dokusu

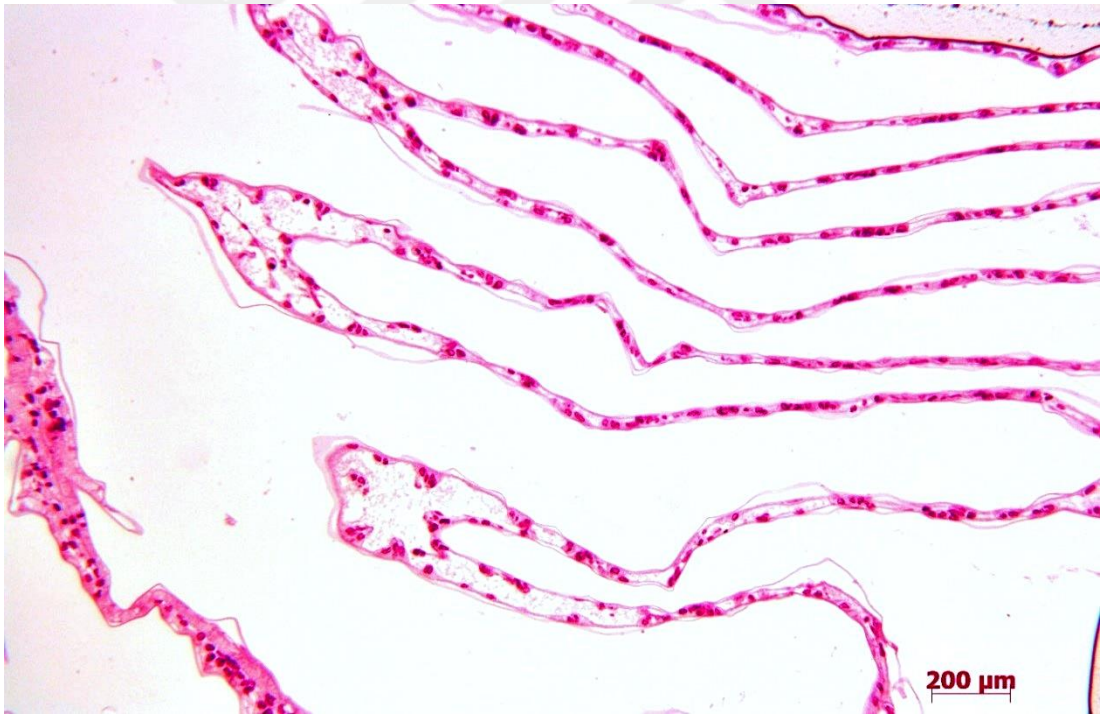
Tatlı su ıstakozunda tüylü solungaçlar; ikinci, üçüncü maksilipedlerin ve ilk dört yürüme bacağına bazal segmentlerinden çıkarlar. İkinci ve üçüncü solungaç sıraları dış sıranın altına bağlanmıştır. Bunlar solungaç odacığında (karapaksın altında her iki tarafta) her zaman su içindedir. Her solungaç kök merkezine yaklaşık 30°'lik açı ile bağlanmış parmak benzeri filamentlerden oluşur. Silindirik kök hücre, affarent ve efferent damarlar ve çok sayıda tubuler filamentten oluşur. Tubuler filamentler affarent ve efferent damar içerir ve bir septumla ayrılarak filamente bağlanır.

Ancak hemolemf lateral olarak affarentten efferent damara boşluk (lacuna) boyunca akabilmektedir (Dunel- Erb vd., 1997).

Araştırmada kontrol grubuna ait tatlı su ıstakozlarının solungaç dokusunun histolojik görüntüsü Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te görülmektedir.



Şekil 4.2. Tatlı su ıstakozu solungaç histolojik görünümü (kontrol grubu).

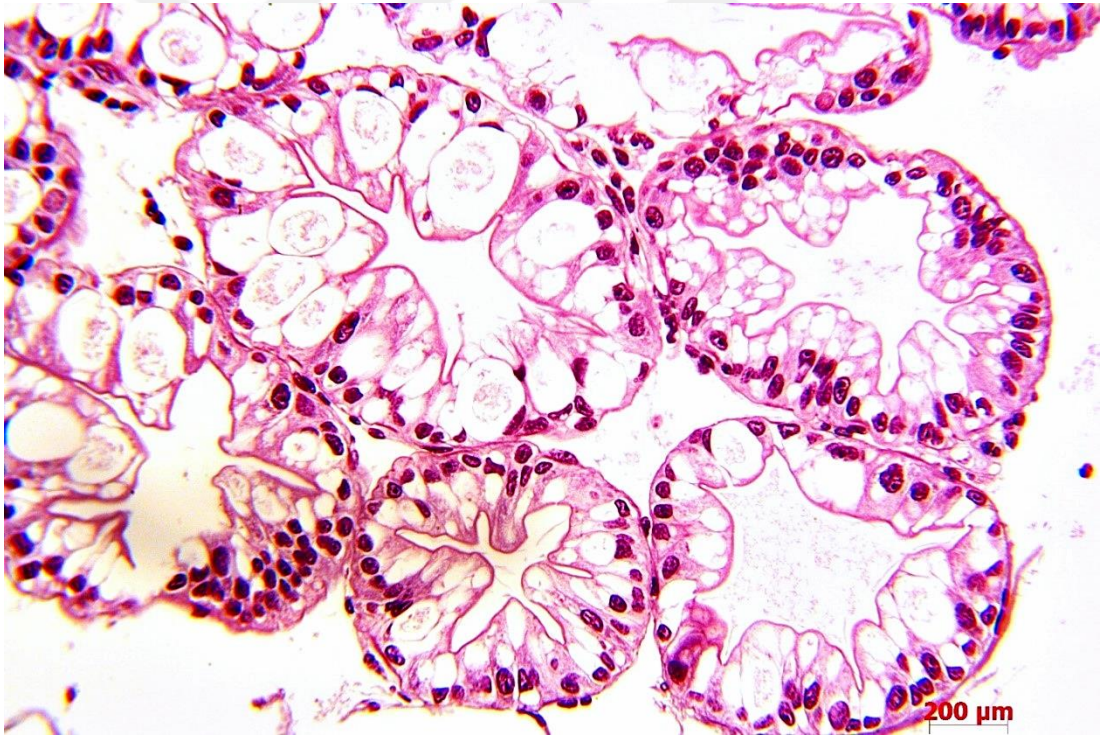


Şekil 4.3. Tatlı su ıstakozu solungaç histolojik görünümü (kontrol grubu).

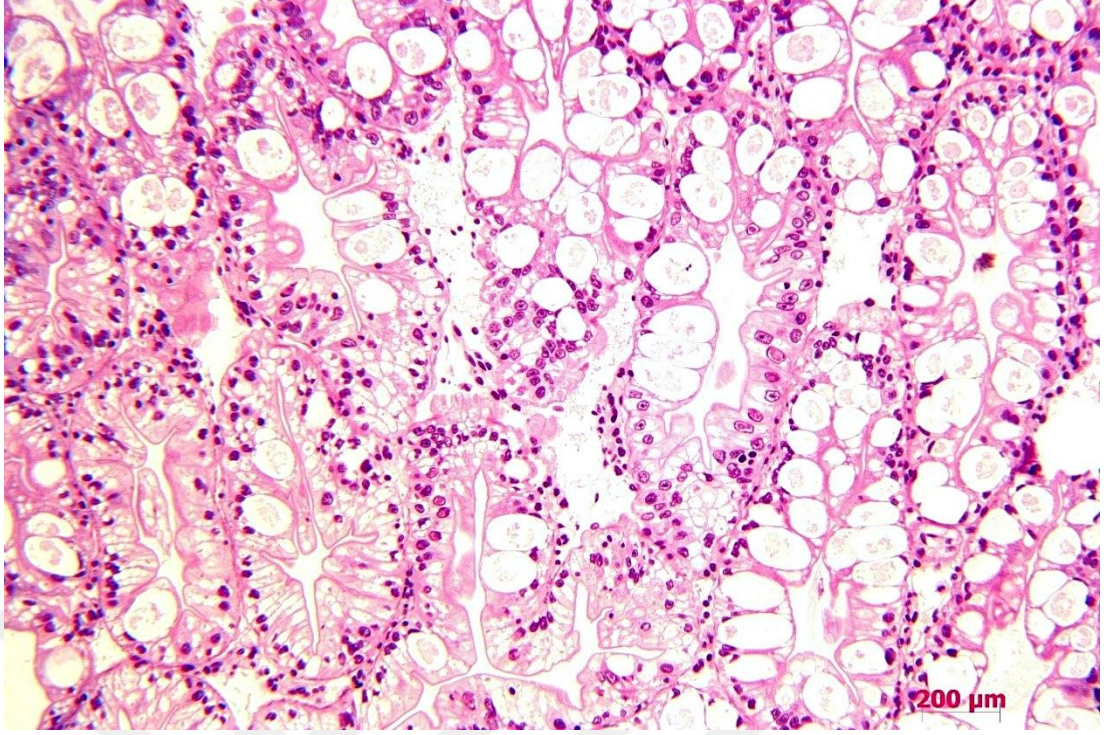
4.2.1.2 Kontrol grubu hepatopankreas dokusu

Hepatopankreas adını alan karaciğer iyi organize olmuş salgısal tubuler yapıdadır. Tubulun lumeni yıldız benzeri yapı sergiler ve tubuller 4 farklı epitelyum hücreden teşekkül eder. Tubulun sonunda bulunan ve mitotik yapıdaki farklılaşmamış hücreler “E (embriyonik hücreler) hücre”; büyük miktarda endoplasmik retikulum ve yağ damlası içeren distal bölgenin önünde yer alan hücreler “R (young-restzellen) hücre”; vakuolsüz koyu boyanan “F (fibrillenzellen) hücreler”; büyük apikal salgı granülleri şeklinde tubulun orta ve proksimalinde yer alan hücreler “B (blastzellen) hücreler olarak adlandırılmaktadır. Yıldız şekilli lumen granüler materyal içerir ve lumene karışıkları yüzeydeki hücreler mikronükleus fırça kenarlarla kaplıdır (Benli, 2010).

Kontrol grubuna ait tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusunun histolojik görüntüsü Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’te görülmektedir.



Şekil 4.4. Tatlı su istakozu hepatopankreas histolojik görünümü (kontrol grubu).



Şekil 4.5. Tatlı su ıstakozu hepatopankreas histolojik görünümü (kontrol grubu).

4.2.2 Akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozu dokularına ilişkin bulgular

48 saat ve 7 gün boyunca akrilamid'in 100 mg/L ve 200 mg/L olmak üzere 2 farklı subletal dozuna maruz kalan tatlı su ıstakoz (*Astacus leptodactylus*)'larının solungaç ve hepatopankreas dokuları incelenmiştir.

Yapılan deney sonucunda subletal akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç ve hepatopankreas dokularında histopatolojik bulgulara rastlanmıştır.

4.2.2.1 Solungaç dokularına ilişkin bulgular

48 saat ve 7 gün boyunca akrilamid'in 2 farklı subletal dozuna maruz kalan tatlı su ıstakoz (*Astacus leptodactylus*)'larının solungaç dokularında görülen histopatolojik bulgular Çizelge 4.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.2. Tatlısu ıstakoz (*Astacus leptodactylus*)'larının solungaç dokularında görülen histopatolojik bulgular.

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	Kontrol	48 saat 100 mg/L Akrilamid	48 saat 200 mg/L Akrilamid	7 gün 100 mg/L Akrilamid	7 gün 200 mg/L Akrilamid
- Solungaç lamellerinde deformasyon	-	+	++	++	+++
- Solungaç lamellerinde genişleme (hipertrofi)	-	+	+	++	++

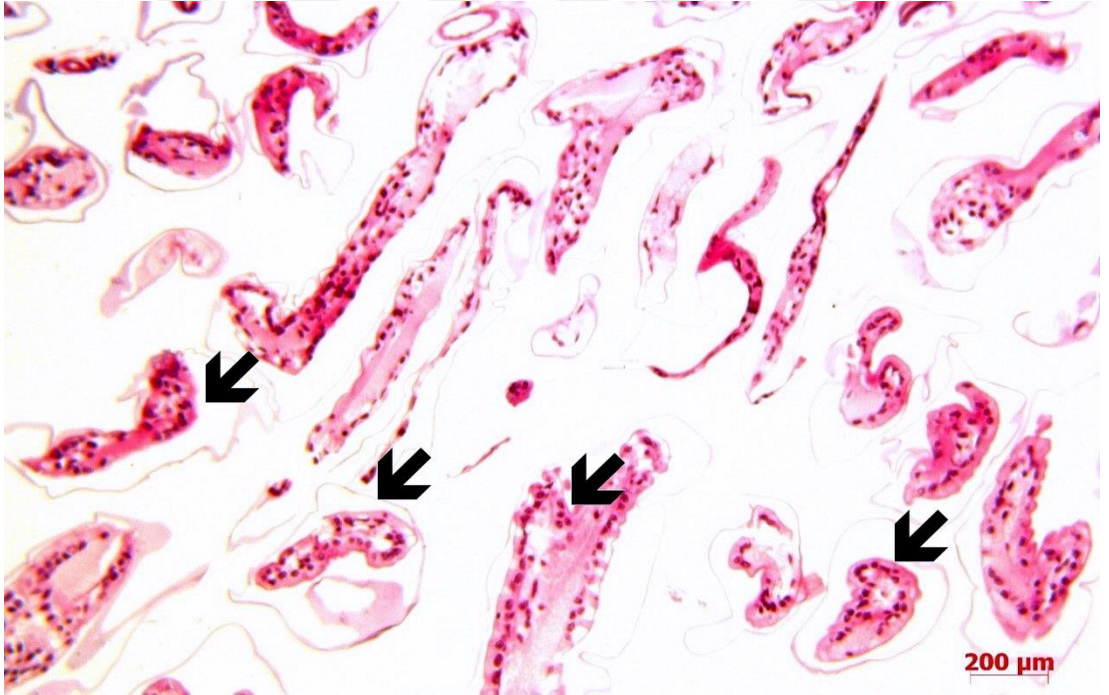
Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi kontrol grubu tatlı su ıstakozlarının solungaç dokularında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. Ancak uygulama grubu tatlı su ıstakozlarının solungaç dokuları kontrol grubu ile karşılaştırılmış, solungaç lamellerinde deformasyon ve solungaç lamellerinde hipertrofi (genişleme) gibi histopatolojik değişiklikler saptanmıştır (Şekil 4.6; Şekil 4.7; Şekil 4.8; Şekil 4.9; Şekil 4.10). Tespit edilen bu değişiklikler her bir uygulama grubuna ait tatlısu ıstakoz örneklerinde farklı sıklıklarda olmakla birlikte, hemen hemen bütün örneklerde kaydedilmiştir. Histopatolojik bulgular artan doz ve maruziyet süresine bağlı olarak artış göstermiştir.



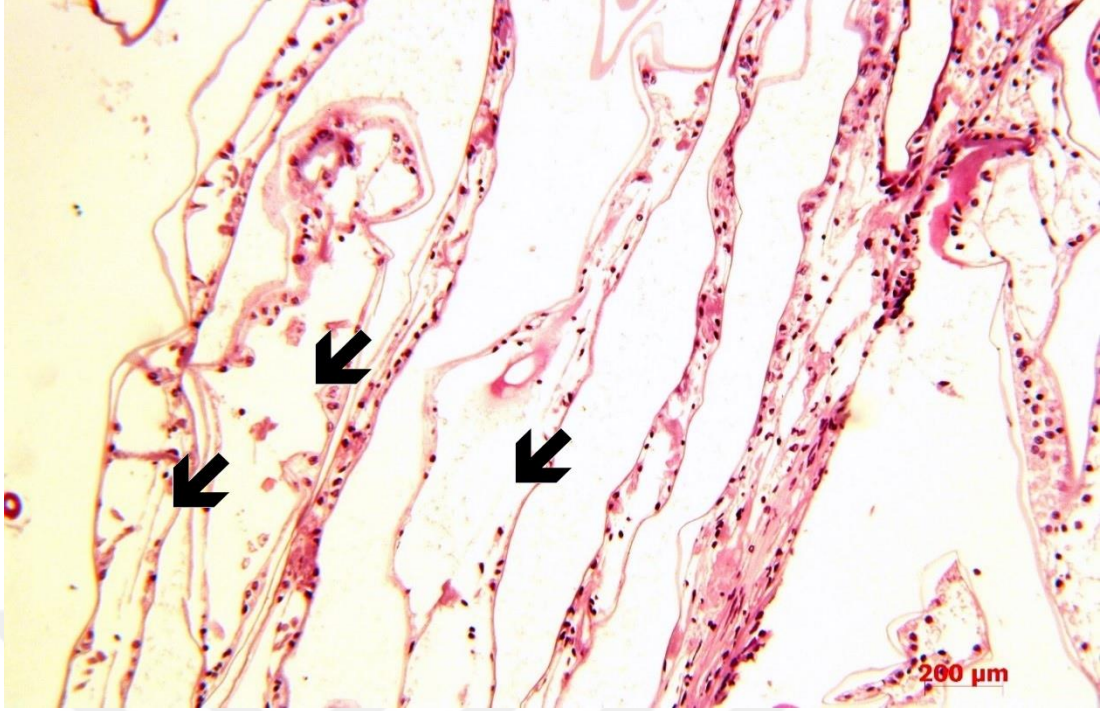
Şekil 4.6. 48 saat süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaçlarında görülen deformasyon (Ok) (H&E).



Şekil 4.7. 48 saat süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaçlarında görülen deformasyon (Ok) (H&E).



Şekil 4.8. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaçlarında görülen deformasyon (Ok) (H&E).



Şekil 4.9. 7 gün süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaçlarında lamellalarda genişleme (Ok) (H&E).



Şekil 4.10. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaçlarında lamellalarda genişleme (Ok) (H&E).

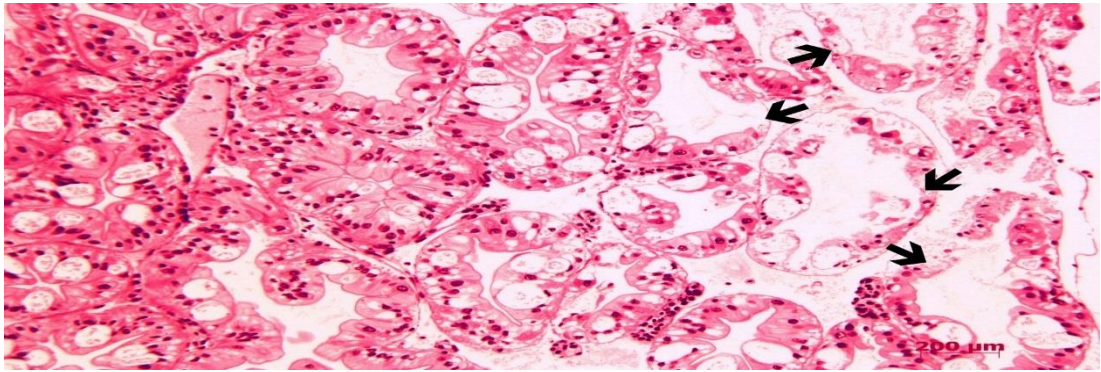
4.2.2.2 Hepatopankreas dokularına ilişkin bulgular

48 saat ve 7 gün boyunca akrilamid'in 2 farklı subletal dozuna maruz kalan tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hepatopankreas dokularında görülen histopatolojik bulgular Çizelge 4.3'te gösterilmektedir.

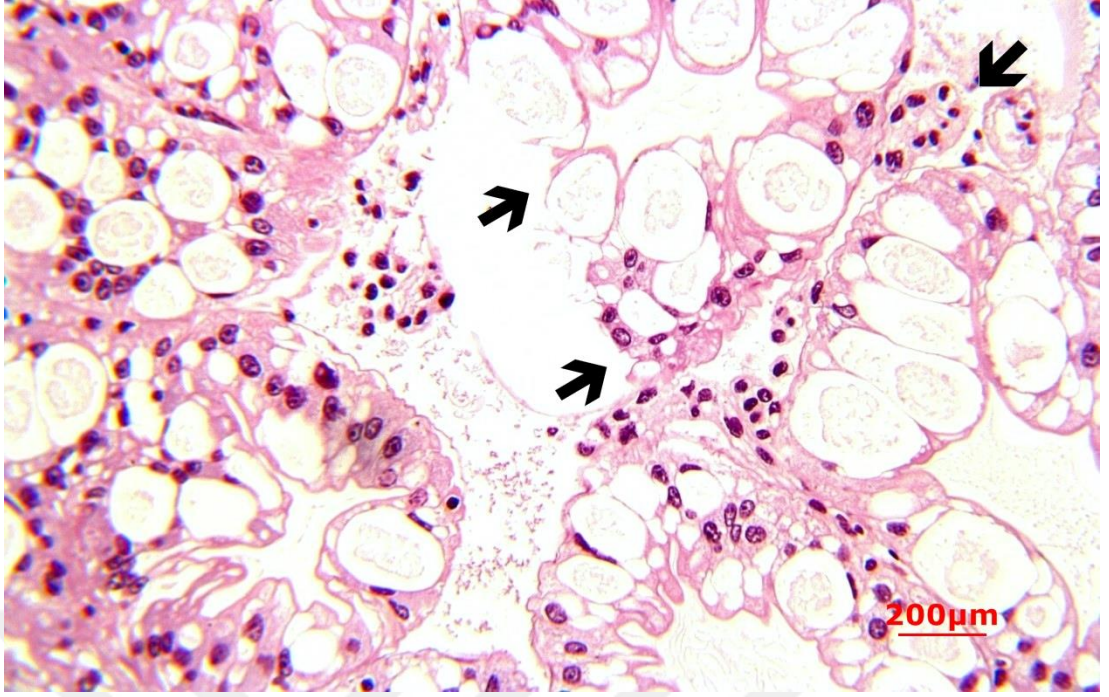
Çizelge 4.3. Hepatopankreas dokularında histopatolojik bulgular.

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	Kontrol	48 saat 100 mg/L Akrilamid	48 saat 200 mg/L Akrilamid	7 gün 100 mg/L Akrilamid	7 gün 200 mg/L Akrilamid
-Hepatopankreatik dokuda dejenerasyon	-	++	++	+++	+++
Focal tubul epitel hücre nekrozu	-	+	+	++	++

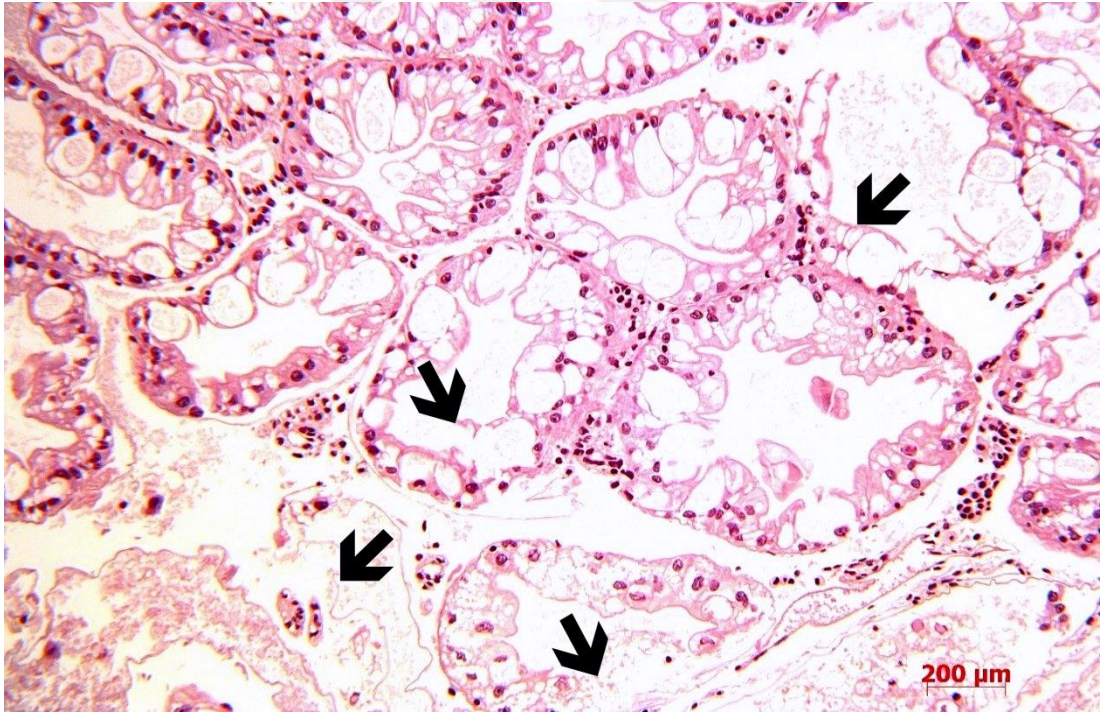
Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi kontrol grubu tatlı su ıstakozlarının solungaç dokularında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. Ancak uygulama grubu tatlı su ıstakozlarının hepatopankreas dokuları kontrol grubu ile karşılaştırılmış, hepatopankreatik dokuda dejenerasyon ve focal tübül epitel hücre nekrozu gibi histopatolojik dejenerasyonlar saptanmıştır (Şekil 4.11; Şekil 4.12; Şekil 4.13; Şekil 4.14; Şekil 4.15). Tespit edilen bu değişiklikler her bir uygulama grubuna ait tatlı su ıstakoz örneklerinde farklı sıklıklarda olmakla birlikte, hemen hemen bütün örneklerde kaydedilmiştir. Histopatolojik bulgular artan doz ve maruziyet süresine bağlı olarak artış göstermiştir.



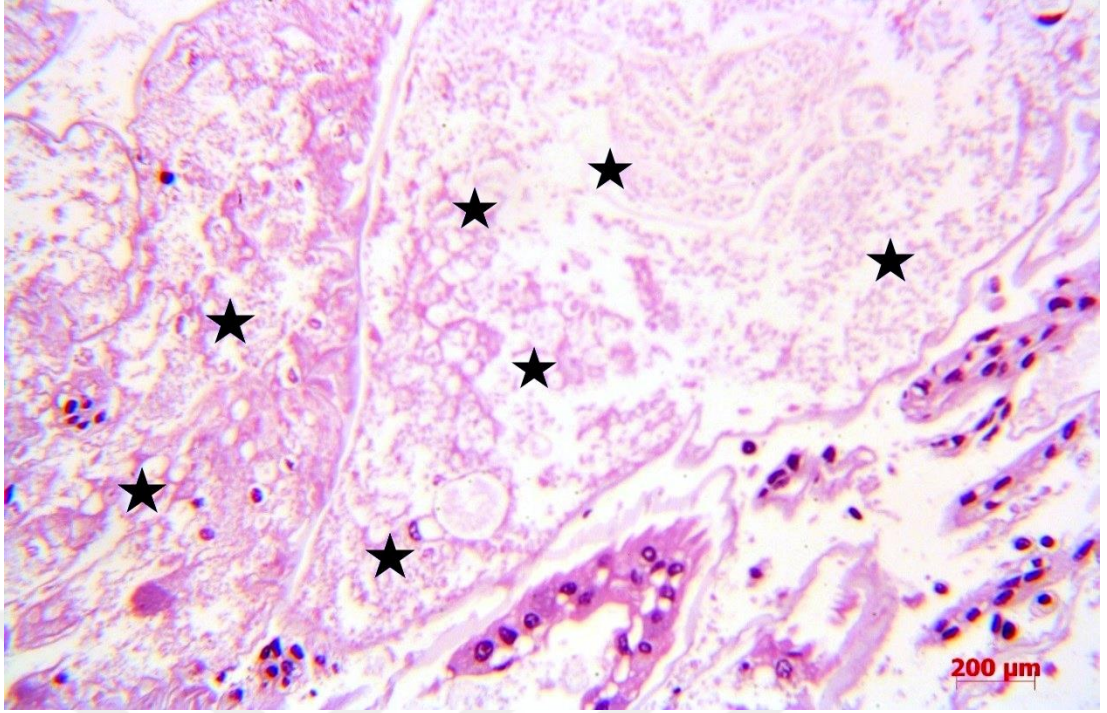
Şekil 4.11. 48 saat süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hepatopankreasında dejenerasyon (Ok) (H&E).



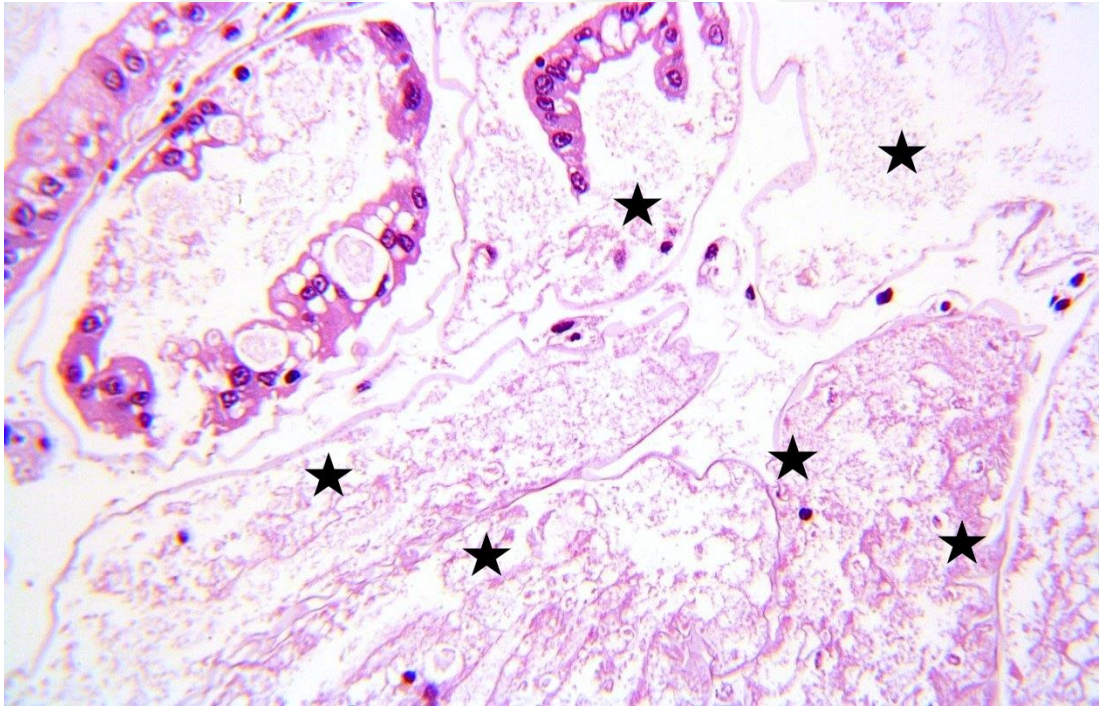
Şekil 4.12. 7 gün süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hepatopankreasında dejenerasyon (Ok) (H&E).



Şekil 4.13. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hepatopankreasında dejenerasyon (Ok) (H&E).



Şekil 4.14. 7 gün süre ile 100 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hepatopankreasında nekroz (Yıldız) (H&E).



Şekil 4.15. 7 gün süre ile 200 mg/L akrilamide maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hepatopankreasında nekroz (Yıldız) (H&E).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Sucul ortam, endüstriyel tesisler ve yerleşim birimlerinden kaynaklanan birçok toksik kimyasalın deşarjı ile kirlenmektedir. Meydana gelen bu kirlenme ise sistem içinde yaşamlarını idame ettiren tüm sucul canlılar için yıkıcı etkilere neden olmaktadır. Doğal sulara ulaşan bu kimyasalların öldürücü olmayan subletal konsantrasyonları ile laboratuvarında kontrollü şartlar altında yapılan biyodeneyle, sucul organizmalar üzerine kirleticilerin etkilerinin belirlenmesi bakımından çok önemli veriler sağlamaktadır. Toksik kimyasalların doğal sistemlerde genellikle subletal düzeylerde bulunmaları ve ölüme yol açmamaları, bu kimyasalların canlı sistemler üzerine olumsuz etkilerinin olmadığını göstermez. Aksine subletal maruziyetin etkileri hücre, doku, organ ve organ sistemleri gibi farklı biyolojik organizasyon düzeylerinde gelişerek, söz konusu canlının ortama adaptasyon yeteneğinde azalmaya ve hastalıklara neden olmaktadır. Dolayısıyla balıklar başta olmak üzere sucul model organizmalalarla yapılan toksisite deneylerinde özellikle subletal dozlara dair etkilerin değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Hayvan dokularında oluşan histopatolojik değişiklikler çevresel stresörlere maruz kalmanın öncelikli biyogöstergeleri olarak kullanılabilirler. Histolojik analizler çok duyarlı parametreler olarak bilinir ve hedef organlarda hücresel değişimlerin belirlenmesinde gereklidir. Histopatolojik semptomlarda ani değişimler yaşanmadığı için elde edilen veriler gerçeği yansıtmaktadır. Ancak; biyokimyasal, fizyolojik ve histopatolojik hususların bir arada değerlendirilmesi de yerinde bir yaklaşımdır (Hinton ve Lauren, 1990). Son yıllarda yapılan çalışmalarda herhangi bir toksik maddenin sucul canlılar üzerinde yaratabileceği olumsuz durumların en erken tespitinin kan parametreleri ve histopatolojik incelemeler sonucu elde edilebildiği ve toksikolojik çalışmaların tüm dünyada bu yöne yönelmiş olduğu da belirtilmektedir.

Genellikle olumsuz yönde gelişen çevresel değişimler “çevresel stres” olarak tanımlanır ve kabukluların (*Crustacea*) bağışıklık sisteminde önemli değişiklikleri indükler (Le Moullac ve Haffner, 2000). Bağışıklık sisteminin önemli parametrelerinden biri olan hemosit sayısı strese maruziyet indikatörü olarak kabul edilir ve bu parametre çevresel şartların doğal ritimsel döngüleri ile kimyasal ve fizikokimyasal stresle bağlantılı olarak spesifik olmayan bir şekilde değişimler gösterir (Jussila vd., 1998; Le Moullac ve Haffner, 2000).

Bu çalışmada iki farklı konsantrasyonda (100 ve 200 mg/L) akrilamide 48 ve 7 gün süreyle maruz kalan tatlı su ıstakozlarının toplam hemosit sayıları sayılarak kontrol gruplarına göre farklılıkları incelenmiştir. Tüm uygulama gruplarında toplam hemosit sayıları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir azalmanın olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Ayrıca, 7 günlük akrilamid uygulama grubunda yer alan tatlı su ıstakozlarının hemosit sayıları 48 saatlik uygulama grubundakilere göre önemli bir düşüş göstermiştir ($p < 0.05$). Ksenobiyotik ve stresörler tarafından hemosit hareketliliğinin inhibisyonu hemosit sayısındaki azalmayı açıklamaktadır (Jussila vd., 1997). Çalışma bulgularına benzer şekilde hemosit sayısında azalma, farklı toksikant ve stres faktörlerine maruz kalmış diğer birçok Crustacea türünde rapor edilmiştir (Smith ve Johnston, 1992; Jussila vd., 1997; Jussila vd., 1998; Le Maullac ve Haffner, 2000; Yavuzcan ve Benli, 2004). Benli (2004) tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus*) ile yapmış olduğu çalışmada etofenprox'un 2 farklı subletal dozuna 96 saat süre ile maruziyet sonrasında toplam hemosit sayısında önemli bir düşüş bildirmiştir. Smith ve Johnston (1992), PCB 15'e maruz kalan *Crangon crangon*'larda fenoloksidaz aktivitelerinde ve hemosit sayılarında önemli düşüşler olduğunu tespit etmişlerdir. 58 ve 116 mg/L kadmiyuma 96 saat süre ile maruz kalan tatlı su yengeçlerinde (*Sinopotaman henanense*) hemosit sayılarında düşme saptanmıştır (Qin vd., 2012). Düşük hemosit sayısı birçok enfektif hastalığa duyarlılığı artırmakta ve canlının savunma sisteminin zayıflamasına neden olmaktadır. Hemosit sayısındaki azalma, akrilamide maruziyet sonucunda gelişen stresin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Akuatik organizmalarda solungaçlar, iyonik değişim ve osmoregülasyonun düzenlenmesi, solunum gazlarının taşınmasındaki önemli rolleri nedeniyle hayati organlardır. Solungaçlar aynı zamanda sudaki mevcut kirletici maddeler için ilk bariyer olarak görev yaparlar (Mallat, 1985; Negro vd., 2012). Bu tez çalışmasında 48 saat ve 7 gün boyunca akrilamid'in 2 farklı subletal dozuna maruz kalan tatlı su ıstakoz (*Astacus leptodactylus*)'larının solungaç dokularında hiperemi, bronşitis, hemositik konjesyon ve hipertrofi gibi birçok histopatolojik değişiklik saptanmıştır. Tespit edilen histopatolojik değişikliklerin büyük bir çoğunluğu farklı maruziyet şartları altındaki farklı Crustacea türlerinde de bildirilmiştir. 0.15 mg/L kroma maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç dokularında epitel hücre disorganizasyonu ve lamellerde kapsül oluşumu saptanmıştır (Bollinger vd., 1997).

Yine başka bir çalışmada 1.5 µg/L fenitrothiona maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç dokularının %5'inde branchitis, %13'ünde kapsül oluşumu benzeri yapı, %7.5'unda hemositik kongesyon, %62.5'unda hiperemi benzeri yapı, % 80'inde afferent ve efferent kanalda dolgunluk saptanmıştır (Benli, 2010). Chang vd. (2006) karideslerle yapmış oldukları çalışmada 0.4 mg/L trichlorfon'a 24 saat süre ile maruziyetin solungaç lamellerinde nekroz, hiperplazi, fuzyon ve mukus sekresyonunda artış gibi yapısal değişikliklere neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Yüksek organizmalarda analogu karaciğer olan hepatopankreas, hassas bir organdır ve pestisit ve diğer su kaynaklı kirleticilere karşı bozulma eğilimde olduğu bildirilmiştir. Hepatopankreas tubuler yapıya sahiptir ve tubüllerde 4 farklı tip epitel hücreden oluşmaktadır. Bundan dolayı, pestisit gibi zararlı kimyasal maddelere maruz kalmak tübül ve epitel hücrelerinin yapısında değişiklikler yaratması olasıdır (Bhavan ve Geraldine, 2000; Sousa ve Petriella, 2007). Yapılan bu tez çalışmasında 48 saat ve 7 gün boyunca akrilamid'in 2 farklı subletal dozuna maruz kalan tatlı su ıstakoz (*Astacus leptodactylus*)'larının hepatopankreas dokularında hiperemi, branşitis, hemositik konjesyon ve hipertrofi gibi birçok histopatolojik değişiklik saptanmıştır. Tespit edilen histopatolojik değişikliklerin büyük bir çoğunluğu farklı kimyasal ve maruziyet şartları altındaki farklı Crustacea türlerinde de bildirilmiştir. Bu çalışmadaki histopatolojik bulgulara benzer şekilde, Bhavan ve Geraldine (2000) 32 mg/L endosülfana maruziyetin karideslerin hepatopankreas tübüllerinde nekroza ve hemosolik açıklıkta hemosit akümülyasyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Sousa ve Petriella (2007) kirlenmenin çok yoğun olduğu sularda yaşayan *Palaemonetes argentinus*'un hepatopankreas dokusunda intertübüler hemosit infiltrasyonu, tübüllerde katlanmış bazal lamina gibi önemli histopatolojik değişimler gözlemlemişlerdir. Espericueta vd. (2008) 1 hafta süresince 3.512, 1.756, 0.877 mg/L bakıra maruz kalan *L.vannamei*'lerde tubuler yapının bozulduğu, atrofi ve fokal nekroz saptamışlardır. Wu vd. (2008) 7 gün 0.1 - 0.2 mg/L Cd'a maruz kalan beyaz karideslerin (*L. vannamei*) hepatopankreaslarının tubul lumeninin yıldız şekli bozulduğu, tubuler epitelyum hücrelerdeki morfolojik bozukluklardan dolayı basal laminada kalınlaşma olduğu, 0.4 mg/L Cd'a maruz kalan karideslerin 14. gün sonunda tubuler epitelyum hücreleri yüksek oranda vakuollaşmış ve aynı düzeyde koptuğunu bildirmişlerdir.

Benli (2010) yapmış olduğu çalışmada, 0.025 µg/L cyfluthrine maruz kalan tatlı su ıstakozlarında %47.5’unda melanizasyon, %35’inde tubul epitel hücre nekrozu, %55’inde tubul lumeninde genişleme, % 5’inde hepatopankreasta interstisyel bölgede hemolemf infiltrasyonu, %5’inde tubulde epitel hücre dökülmesi saptamıştır (Benli, 2010).

Bu çalışmada, Türkiye’de geniş bir dağılım gösteren ve dipte beslenmesi, besin zincirindeki önemi ve OECD gibi uluslararası kuruluşlar tarafından standart test organizması olması yönüyle tercih edilen tatlı su ıstakozu *Astacus leptodactylus* dokularında çevresel kirletici olarak yaygın bulunan akrilamid’in subletal düzeylerinin toplam hemosit sayıları ve solungaç ve hepatopankreas dokularına histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Daha detaylı araştırmalarla hem etki mekanizmasına yönelik hem de besin zincirinde yer alan diğer canlılara toksik etkilerinin belirlenebileceği çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Acara, A., 1992. Su ürünleri ekonomisi üretim, miktar ve fiyat değişimleri 1985-1991, DPT İktisadi Planlama Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Alpbaz, A. G., 1993. Kabuklu ve eklem bacaklılar yetiştiriciliği, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:26, Bornova, İzmir, 550.
- Anonim, 1984. Tatlısu ıstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823), Eğridir Su Ürünleri Y. O., Akdeniz Üniversitesi, Isparta Mühendislik Fakültesi, Isparta, 7.
- Anonymous, 1989. Biological indicators and their use in the measurement of the condition of the environment, Gesamp Reports and Studies, USA, 55, 1-56.
- APHA 14, 1975. Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association, Washington, USA.
- Atay, D., 1997. Kabuklu su ürünleri üretim tekniği, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 1478, Ders Kitabı No:441, 348.
- Benli, A. Ç. K., 2010. Organofosforlu insektisitlerden fenitrothion ile sentetik piretroitlerden cyfluthrin'in subletal konsantrasyonlarının tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) dokularına etkileri, Proje No: 109T572, TÜBİTAK
- Besaratinia, A. ve Pfeifer, G. P., 2007. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity. Carcinogenesis, 28, 3, 519- 528.
- Bhavan, P. S. ve Geraldine, P., 2000. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan, Aquatic Toxicology, 50, 331-339.
- Biederman, M. ve Grob, K., 2003. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware, Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 94, 406-422.
- Blasiak, J., Gloc, E., Wozniak, K. ve Czechowska, A., 2004. Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes, Chemico-Biological Interactions, 149, 137-149.
- Bollinger, J. E., Bundy, K., Anderson, M. B., Millet, L., Preslan, J. E., Jolibois, L., Chen, H. L. ve George, W. J., 1997. Bioaccumulation of chromium in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*), Journal of Hazardous Materials, 54, 1-13.
- Bott, R., 1950, Die flusskrebe eropas (Dekapoda, Astacidae), Abh. Senckenberg. Naturf. Ges., 493.

- Brodsky, S. Y., 1974. Crayfish (Crustaceae, Astacidae) from the Soviet Union. Communication 2. Distribution of *Astacus leptodactylus*, Ukrainian Res. Inst. Fish., 4, 51-94.
- Cavalli, S., Polesello, S. ve Saccani, G., 2004. Determination of acrylamide in drinking water by large-volume direct injection and ionexclusion chromatography–mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1039, 155-159.
- Chang, C. C., Lee, P. P., Hsu, J. P., Yeh, S. P. ve Cheng, W., 2006. Survival and biochemical, physiological, and histopathological responses of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to short-term trichlorfon exposure. Aquaculture 253, 653–666.
- Chen, H-Y., 1998. Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*, Reviews in Fisheries Science, 6, 1-2, 79-95.
- Cilbiz, M., 2010. Farklı kalsiyum içerkli yemlerle beslemenin, tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823)'nun büyüme, yaşama oranı ve kabuk değişimi üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, SDÜ., Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K. ve Hendrickx, M. E., 2005. Quantifying the formation of carcinogens during food processing:acrylamide, Trends In Food Science & Technology, 16, 181-193.
- Connell, D. W., 1999. Introduction to ecotoxicology, Third Edition, John Wiley and Sons incorporated, UK, 1-19.
- Demirsoy, A., 1982. Yaşamın temel kuralları (Omurgasızlar), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Cilt No:2, Ankara, 886.
- Dunel-Erb, S., Barradas C. ve Lignon, J., 1997. Morphological evidence for the existence of two distinct types of mitochondrial-rich cells in the gill of the crayfish *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, Acta Zoologica, 78, 195–203.
- Erdem, M., 1993. Eğirdir Gölü kerevitlerinden (*Astacus leptodactylus salinus*, Nordman, 1842) yapay olarak elde edilen yavruların yaşama oranlarının tespiti üzerine bir araştırma, SDÜ., Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- Erençin, Z. ve Köksal, G., 1977. On the crayfish, *Astacus leptodactylus*, in Anatolia freshwater crayfish, Veteriner Fakültesi Dergisi, 3, Türkiye, 187-192.
- Espericueta, M. G. F., Langoria, R. C., Gallerdo, G. J. B., Lopez, J. I. O., Rosates, S. M. A., Osuna, F. P. ve Voltolina, D., 2008. Histological changes and survival of *Litopenaeus vannemei* juveniles with different copper concentrations, Aquaculture, 278, 97-100.
- Exon, J. H., 2006. A review of the toxicology of acrylamide, Journal of Toxicology Environmental Health, Part B, 9, 5, 397-412.

- Friedman, M., 2003. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4504-4526.
- Geldiay, R. ve Kocataş, A., 1970. Türkiye *Astacus* (Decapoda) populasyonlarının dağılışı ve taksonomik tespiti, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Raporlar Serisi, No: 94, İzmir, 3- 7.
- Geldiay, R. ve Geldiay, S., 1978. Genel Zooloji, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No: 67, İzmir, 453.
- Guoda, M., 1999. Comparative study of physiological and biochemical indices of native European and Alien species of crayfish in Lithuania, *Freshwater Crayfish*, 12, 205-220.
- Harloğlu, M. M., 2004. The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey, *Aquaculture*, 230, 181–187.
- Hessen, D. O., Kristiansen, G. ve Skurdal, J., 1993. Nutrient release from crayfish and its potential impact on primary production in lakes, freshwater crayfish, University of Southwestern Louisiana, 9, USA, 311-317.
- Hinton, D. E. ve Lauren D. J., 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes, *American Fisheries Society Symposium*, 8, USA, 51-65.
- Hogger, J. B., 1988. Ecology, population biology and behaviour, pp.114-144, in: Holdich, D. M. ve Lowery, R. S. (Editor), *Freshwater Crayfish Biology, Management and Exploitation*, Chapman & Hall, London, UK.
- Holdich, D. M., 2002. *Biology of freshwater crayfish*, Blackwell Science, ISBN 51 0-632-05431-X, Nottingham, UK, 702.
- Holdich, D. M. ve Reeve, I. D., 1988. Functional morphology and anatomy, pp.11-51, in: Holdich D. M. ve Lowery R. (Editor), *Freshwater Crayfish Biology, Management and Exploitation*, Chapman and Hall, London, UK.
- Huner, J. V., 1994. *Freshwater crayfish aquaculture in North America, Europe, and Australia: Families Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae*, Food Products Press, New York, USA, 312.
- Jussila, J., 1997a. Carapace mineralization and hepatopancreatic indices in natural and cultured populations of marron (*Cherax tenuimanus*) in Western Australia, *Marine and Freshwater Research*, 48, 67-72.
- Jussila, J., 1977b. Physiological responses of Astacid and Parastacid crayfishes (Crustacea:Decapoda) to conditions of intensive culture, University of Kuopio, Australia, 140.

- Jussila, J., Jago, J., Tsvetnenko, E., Dunstan, B. ve Evans, L. H., 1997. Total and differential hemocyte counts in western rock lobsters (*Panulirus cygnus* George) under postharvest stress, *Marine and Freshwater Research*, 48, 863–867.
- Jussila, J., Paganini, M., Mansfield, S. ve Evans, L. H., 1998. On physiological responses, plasma glucose, total hemocyte counts and dehydration of Marron *Cherax tenuimanus* (Smith) to handling and transportation under simulated conditions, *Proceedings of The 12th International Symposium on Freshwater Crayfish 12*, Augsburg, Germany.
- Karagöz, A., 2009. Akrilamid ve gıdalarda bulunuşu, *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 8, 2, 187-192.
- Kelly, C., 2003. Acrylamide-hot off the frying pan, *Nutrition Bulletin*, 28, 1, 5-6.
- Keskin, Z., 2007. Akrilamidin kanda $Na^+ -K^+$ ATPaz enzim aktivitesi ve glutatyon, hemoglobin, albümin düzeylerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, ÇÜ., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kısabay, A., Korkmaz, T., Çakıroğlu, E. ve Selçuki, D., 2014. Kısa süreli akrilamid maruziyeti sonucu gelişmiş toksik polinöropati olgusu, *Causapedia*, 3, 701, 6.
- Köksal, G., 1988. *Astacus leptodactylus* in Europe, *Freshwater Crayfish Biology, Management and Exploitation*, Chapter 14, London, 365-400.
- Kumlu, M., 2001. Karides, ıstakoz ve midye yetiştiriciliği, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Ders Kitabı No: 6, Adana, 305.
- Larguinho, M., Costa, P. M., Sousa, G., Costa, M. H., Diniz, M. S. ve Baptista, P. V., 2013. Histopathological findings on *Carassius auratus* hepatopancreas upon exposure to acrylamide: correlation with genotoxicity and metabolic alterations, *Journal of Applied Toxicology*, 1-10.
- Larguinho, M., Cordeiro, A., Diniz, M. S., Costa, P. M. ve Baptista, P. V., 2014. Metabolic and histopathological alterations in the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* induced by chronic exposure to acrylamide, *Environmental Research*, 135, 55-62.
- Le Moullac, G. ve Haffner, P., 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture*, 191, 121–131.
- Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M. ve Aman, P., 2002. Acrylamide in food: mechanism of formation and influencing factors during heating of foods, *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46, 4, 159-172.
- Luna, L. G., 1968. *Manual of histological staining methods of the armed forces Institute of Pathology*, Third Edition, McGraw-Hill Book Company, New York, USA.

- Mallatt, J., 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42, 630-648 .
- Mariotti, M., Granby, K., Rozowski, J. ve Pedreschi, F., 2013. Furan: a critical heat induced dietary contaminant, *Food & Function*, 15.
- Matthews, M. ve Reynolds, J. D., 1992. Ecological impact of crayfish plague in Ireland, *Hydrobiologia*, 234, Dublin, 1-6.
- Mehri, S., Karami, H. V., Hassani, F. V. ve Hosseinzade, H., 2014. Chrysin reduced acrylamide-induced neurotoxicity in bot in vitro and in vivo assessments, *Iranian Biomedical Journal*, 18, 2, 101-106.
- Momot, W. T., 1995. Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems, *Reviews in Fisheries Science*, 3, 1, 33-63.
- Negro, L. E., Montagna, M. ve Collins, P., 2012. Freshwater Decapods and Pesticides: An Unavoidable Relation in the Modern World, In *Pesticides in the Modern World - Risks and Benefits* Edited by Margarita Stoytcheva, 560.
- Nyström, P., 2002. Biology of freshwater crayfish, pp.192-235, in: Holdich, D. M. (Editor), *Biology of Freshwater Crayfish*, Blackwell Scientific, Oxford, UK.
- Nyström, P. ve Strand. J. A., 1996. Grazing by a native and an exotic crayfish on aquatic macrophytes, *Freshwater Biology*, 36, 673-682.
- Ötles, S., 2004. Gıdalarda akrilamid: akrilamid oluşumu ve sağlığa etkisi, *Toksikoloji Dergisi*, 2, 3, 3-15.
- Paulsson, B., Grawe, S. ve Törnqvist, M., 2002. Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or *N*-methylolacrylamide treatment, *Mutation Research*, 516, 101-111.
- Pedreschi, F., Mariotti, M. S. ve Granby, K., 2013. Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment, *Society of Chemical Industry*, 94, 9-20.
- Qin, Q., Qin, S., Wang, L. ve Lei, W., 2012. Immune responses and ultrastructural changes of hemocytes in freshwater crab *Sinopotamon henanense* exposed to elevated cadmium, *Aquatic Toxicology*, 106-107, 140-146.
- Rahe, R. ve Soylu E., 1989. Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkish crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*), *Journal of Invertebrate Pathology*, 54, 10-15.
- Reish, D. L. ve Oshida, P. S., 1987. Manual of Methods in Aquatic Environment Research, Part 10. Short - Term Static Bioassays. *FAO Fish Technical Paper*, 247, 17-33.

- Riboldi, B. P., Vinhas, A. M. ve Moreira, J. D., 2014. Risks of dietary acrylamide exposure: a systematic review, *Food Chemistry*, 157, 310-322.
- Rice, J. M., 2005. The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research* 580, 3–20.
- Schreck, C. B. ve Moyle, P. M., 1990. *Methods for fish biology*, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.
- Shanker, R. ve Seth, K. P., 1986. Toxic effects of acrylamide in a freshwater fish, *Heteropneustes fossilis*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 37, 274-280.
- Sharp, D., 2003. Acrylamide in food, *The Lancet*, 361, 361-362.
- Smith, D. G., 2001. *Pennak's freshwater invertebrates of the United States: Porifera crustacea*, Fourth Edition, John Wiley and Sons incorporated, New York, USA, 585-608.
- Smith V. J. ve Johnston P. A., 1992. Differential haemotoxic effect of PCB congeners in the common shrimp, *crangon crangon*, *Comparative Biochemistry Physiology*, 101C, 641–649.
- Sousa, L. G. ve Petriella, A. M., 2007. Functional morphology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): Influence of environmental pollution, *Revista de Biología Tropical*, 55, 79–86.
- Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, H. A., Robert, M. C. ve Riediker, S., 2002. Food chemistry: acrylamide from maillard reaction products, *Nature*, 419, 449-450.
- Tamer, C. E. ve Karaman, B., 2006. Gıdalarda akrilamid oluşumu ve insan sağlığı üzerine etkileri, *Türkiye 8. Gıda Kongresi, Bursa, Bildiriler Kitabı*, 195-199.
- T.C. Resmi Gazete, 5/1 Numaralı ticari amaçlı su ürünleri avcılığını düzenleyen tebliğ. (31221), 22.8.2020, 69.
- Teh, S. J., Adams, S. M. ve Hinton, D. E., 1997. Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress, *Aquatic Toxicology*, 37, USA, 51-70.
- Timur, M., Timur, G. ve Sarmaşık, A., 1993. Eğirdir gölü su ürünlerinin biyolojik sorunları ve çözüm yolları, *Batı Akdeniz Bölgesi I. Tarım Kongresi, Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Antalya*, 171-179.
- TSE 5676, 1988. Su kirliliği kontrolü, metot ve kuralları, zehirlilik denemeleri. *Türk Standartları Enstitüsü, Ankara*.
- Vainio, 2003. Acrylamide in heat-processed foods – a carcinogen looking for human cancer, *European Journal of Epidemiology*, 18, 1105-1106.

- Vogt, G., 2002. Functional anatomy, pp.53-150, in: Holdich, D. M. (Editor), Biology of Freshwater Crayfish, Iowa State University Press, Des Moines, USA.
- Wallace, J. B., Eggert, S. L., Meyer, J. L. ve Webster, J. R., 1997. Multiple trophic levels of a forest stream linked to terrestrial litter inputs, Science, 277, 102-104.
- Wu, J. P., Chen, H. C. ve Huang, D. J., 2009. Histopathological alterations in gills of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) after acute exposure to cadmium and zinc, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 82, 90-95.
- Yavuzcan, H. Y. ve Benli, A. Ç. K., 2004. Nitrite toxicity to crayfish, *Astacus leptodactylus*, the effects of sublethal nitrite exposure on hemolymph nitrite, total hemocyte counts, and hemolymph glucose, Ecotoxicology and Environmental Safety, 59, 3, 370-375.
- Yerlikaya, F. H., Toker, A., Yener, Y. ve Toy, H., 2012. Uzun süre akrilamid verilen sıçanlarda karaciğer fonksiyon testlerinin ve karaciğer histopatolojisinin değerlendirilmesi, Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 10, 3, 77-84.
- Zamani, E., Shokrzadeh, M., Fallah, M. ve Shaki, F., 2017. A review of acrylamide toxicity and its mechanism, Pharmaceutical and Biomedical Research, 3, 1, 1-7.
- Zhang, Y., Negishi, J. N., Richardson, J. S. ve Kolodziejczyk, R., 2003. Impact of marinederived nutrients on stream ecosystem functioning, Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 270, 2117-2123.
- Zhang, Y., Rihardson, J. S. ve Negihi, J. N., 2004. Detritus processing, ecosystem engineering and benthic diversity: a test of predator-omnivore interference, Ecology Journal of Animal, 73, 756-76.
- Zovko, M., Cifrek, V. Z., Cvetković, Z., Bosnir, J. ve Sikic, S., 2015. Assesment of acrylamide toxicity using a battery of standardised bioassays, Arh. Hig. Rada. Toxicol., 66, 315-321.
- URL-1<<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr>>, Erişim Tarihi: 16.04.2020.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Osman Koray TÜMEN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Mustafa Kemal Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, 2005-2010

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı,
2017-2020

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Tarım ve Orman Bakanlığı / Aksaray İl Tarım ve Orman Müdürlüğü 2015-2019
2. Tarım ve Orman Bakanlığı / Burdur İl Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü
2019 -

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- 1.
- 2.

Kongrelerde Sunulan Makaleler

- 1.
- 2.