

**TATLISU İSTAKOZLARINDA (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823)
AMONYAĞIN TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Fatih DALOĞULLARI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2012

ANKARA

Fatih DALOĞULLARI tarafından hazırlanan “TATLISU İSTAKOZLARINDA (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) AMONYAĞIN TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ ”adlı bu tezin Yüksek Lisans olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Aylin Sepici DİNÇEL

.....

Tez Danışmanı, Tıp Biyokimya

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Çevre Bilimleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Beril SALMAN AKIN

.....

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, G.Ü

Doç. Dr. Aylin Sepici DİNÇEL

.....

Tıp Biyokimya, G.Ü, Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Mahmut SELVİ

.....

Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, G.Ü

Tarih: 06/12/2012

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Fatih DALOĞULLARI

**TATLISU İSTAKOZLARINDA (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823)
AMONYAĞIN TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Fatih DALOĞULLARI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Aralık 2012

ÖZET

Bu çalışmada ülkemizde yaşayan endemik türlerden olan tatlı su istakozuna (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823) amonyağın toksik etkileri araştırılmıştır. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168 saat) ve iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 60,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde biyokimyasal parametrelerdeki değişimler, toplam hemosit sayıları ve solungaç ve hepatopankreas histolojisi incelenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda total protein haricinde tüm biyokimyasal parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark saptanmıştır. Özellikle sekonder stres parametrelerinden olan glikoz ve laktik asit parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0.05$).

Yapılan histolojik incelemeler sonucunda solungaç dokusunda hiperemi benzeri yapı, hemolemf infiltrasyonu ve melanizasyon saptanmıştır. Hepatopankreas dokusunda ise lumen dejenerasyonu, lumenlerde genişleme ve ödem saptanmıştır. Toplam hemosit sayısı ve hemolemf glukozu crustaceaların sağlık durumunu belirlemede kullanılan parametrelerdendir. Tatlı su istakozlarından alınan hemolemf örneklerinde yapılan toplam hemosit sayımı sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam hemosit sayısında artış görülmüştür. Tatlı

su istakozları (*Astacus leptodactylus*) OECD test yönergelerinde standart test organizmaları olmaları ve beslenme ağındaki kritik pozisyonlarından dolayı elde ettiğimiz bulgular literatüre katkıda bulunabilir niteliktedir.

Bilim Kodu : 903.1.032

Anahtar Kelimeler : Subletal amonyak, tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus*), hepatopankreas, solungaç, biyokimyasal hemolemf parametreleri, toplam hemosit sayısı

Sayfa Adedi : 70

Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Aylin Sepici DİNÇEL

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

(M.Sc. Thesis)

Fatih DALOĞULLARI

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

December 2012

ABSTRACT

In this study, the toxic effects of ammonia on fresh water crayfish were investigated. Four different measuring times (24, 48, 96 and 168 hour) and two different sub-lethal doses of ammonia (12,3 mg/L and 60.25 mg/L) exposed to fresh water crayfish (*Astacus leptodactylus*). Changes in biochemical parameters hemolymph of fresh water crayfish, total hemocyte counts, gill and hepatopancreas histology were examined. As a result of the experiments, all biochemical parameters except total protein were found statistically significant ($p < 0.05$). Glucose and lactic acid which are known as a secondary stress parameters were increased significantly ($p < 0.05$). As a result of the histological examinations on the gill tissues hyperemia, infiltration of hemolymph and melanisation were determined. In the hepatopancreas tissues; degeneration in the lumen, the lumen enlargement and edema were determined. Total number of hemocyte and hemolymph glucose were used to determine the health status of crayfishes. The count of total hemocyte on the hemolymph samples that were taken from fresh water crayfish was compared to the control group. We conclude that, due to the fact that fresh water crayfishes (*Astacus leptodactylus*) are the standard test organisms OECD test guidelines and feeding network, our findings contribute to the literature can be found in critical position.

Science code : 903.1.032

Key words : Sublethal ammonia, fresh-water crayfish (*Astacus leptodactylus*), hepatopankreas, gills, hemolemf biochemical parameters, total number of hemocyte

Page Number : 70

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Aylin Sepici DİNÇEL

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada öncelikle bana bu konuyu veren, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, önerileriyle beni yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Çağlan Karasu BENLİ ve Doç. Dr. Aylin Sepici DİNÇEL'e, çalışmamın deney aşamasında bilgi ve birikimleri ile bana destek olan Gazi Üniversitesi Fen Bilgisi Eğitimi Bölümü öğretim görevlilerinden Prof. Dr. Figen ERKOÇ, Doç. Dr. Mahmut SELVİ, Gazi Üniversitesi Sınıf Öğretmenliği Eğitimi Bölümü öğretim görevlisi Doç. Dr. Rabia SARIKAYA'ya ve Çevre Yüksek Mühendisi Lale GÜNDOĞAN'a, yüksek lisans eğitimimin başlangıcından bu zamana kadar bana her konuda yardım eden Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Beril Salman AKIN'a, eğitim ve kariyer yaşamımda maddi ve manevi her türlü yardımı esirgemeyen, mutluluğun önce aile ile başladığını bana öğreten aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Tatlı Su Istakozunun Biyolojisi.....	5
2.1.1. Tatlısu istakozlarının sistematikteki yeri.....	5
2.1.2. Genel özellikleri.....	5
2.1.3. Coğrafik dağılım.....	8
2.1.4. Yaşam alanları.....	8
2.2. Histopatolojinin Avantaj ve Sınırları.....	9
2.2.1. Histopatolojinin avantajları.....	9
2.2.2. Histopatolojinin sınırları.....	10
3. Amonyak Hakkında Genel Bilgiler.....	11
3.1. Azot Döngüsü.....	11

sayfa

3.2. Akuatik Sistemlerde Azot ve Azotlu Bileşiklerin Önemi.....	17
3.3. Su Ünitelerinde Amonyak Kirliliği.....	19
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
4.1. MATERYAL.....	22
4.1.1. Deney organizması.....	22
4.1.2. Toksik madde materyali	22
4.1.3. Su materyali	22
4.1.4. Araştırmada kullanılan diğer araç ve gereçler.....	22
4.2. YÖNTEM.....	24
4.2.1. Tatlı su istakozlarının adaptasyonu.....	24
4.2.2. Amonyak çözeltisinin hazırlanması.....	24
4.2.3. Deneylerin gerçekleştirilmesi.....	25
4.2.4. Histolojik inceleme için örnekleme	26
4.2.5. Doku takibinin gerçekleştirilmesi	26
4.2.6. Parafin bloklardan doku kesitlerinin alınması	26
4.2.7. Histolojik preparatların incelenmesi.....	27
5. BULGULAR.....	28
5.1. Hemolemf Parametrelerine İlişkin Bulgular.....	28
5.1.1. Hemolemf glukoz değerleri.....	31
5.1.2. Hemolemf total protein değerleri.....	33

sayfa

5.1.3. Hemolemf sodyum değerleri.....	35
5.1.4. Hemolemf potasyum değerleri.....	36
5.1.5. Hemolemf klorür değerleri.....	39
5.1.6. Hemolemf laktik asit değerleri.....	41
5.2. Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular.....	43
5.3. Tatlı Su İstakozu Dokularına İlişkin Bulgular.....	45
5.3.1. Solungaç dokularına ilişkin bulgular.....	45
5.3.2. Hepatopankreas dokularına ilişkin bulgular.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
6.1. Tatlı Su İstakozlarında Hemolemf Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi.....	51
6.1.2. Hemolemf glukoz değerleri.....	51
6.1.3. Hemolemf total protein değerleri.....	52
6.1.4. Hemolemf sodyum değerleri.....	53
6.1.5. Hemolemf potasyum değerleri.....	54
6.1.6. Hemolemf klorür değerleri.....	56
6.1.7. Hemolemf laktik asit değerleri.....	57
6.2. Tatlı Su İstakozlarında Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Değerler.....	58
6.3. Tatlı Su İstakozlarında Dokulara İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi.....	58
6.3.1. Hepatopankreas dokusuna ait bulguların değerlendirilmesi.....	59

sayfa

6.3.2. Solungaç dokusuna ait bulguların değerlendirilmesi.....	59
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	70

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	sayfa
Şekil 3.1. Azot döngüsü	12
Şekil 3.2. Kirlenmiş sularda azot formlarının aerobik şartlarda zamanla olan Değişimi	15
Şekil 5.1. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan glukoz (mg/dL) değerlerine ilişkin bar grafikleri.....	32
Şekil 5.2. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan total protein (g/dL) değerlerine ilişkin değerlerine ilişkin bar grafikleri	34
Şekil 5.3. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan sodyum (mEq/L) değerlerine ilişkin bar grafikleri.	36
Şekil 5.4. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan potasyum (mEq/L) değerlerine ilişkin bar grafikleri	38
Şekil 5.5. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan klorür (mEq/L)değerlerine ilişkin bar grafikler	40
Şekil 5.6. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan laktik asit (mmol/L) değerlerine ilişkin bar grafikleri.....	42
Şekil 5.7. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde yapılan toplam hemosit sayımına ilişkin bar grafikleri.....	44

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	sayfa
Çizelge 3.1. Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde başlıca azot formları.....	18
Çizelge 3.2. Kıtaiçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri.....	19
Çizelge 5.1. 12,3 mg/L doz uygulanan deney gruplarında saptanan biyokimya sonuçları	29
Çizelge 5.2. 61,25 mg/L doz uygulanan deney gruplarında saptanan biyokimya sonuçları	30
Çizelge 5.3. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan glukoz (mg/dL) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri....	31
Çizelge 5.4. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan total protein (g/dL) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.....	33
Çizelge 5.5. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan sodyum (mEq/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.....	35
Çizelge 5.6. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan potasyum (mEq/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.....	37
Çizelge 5.7. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemlerinde saptanan klorür (mEq/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.....	39

Çizelge**sayfa**

Çizelge 5.8. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemflerinde saptanan laktik asit (mmol/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.....	41
Çizelge 5.9. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (<i>Astacus leptodactylus</i>) hemolemflerinde yapılan toplam hemosit sayımına ilişkin ortalama ve standart hata değerleri.....	44

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	sayfa
Resim 4.1. Tatlı su istakozlarının akvaryumlarda görünümü.....	23
Resim 4.2. Mikrotomla kesit alınması.....	27
Resim 5.1. Kontrol grubuna ait solungaç laminası kutikula (siyah ok), epitel hücre (kısa siyah ok) pillar hücre (ince siyah ok) hemolemf boşluğu (beyaz ok).....	46
Resim 5.2. Solungaç dokusunda hiperemi benzeri yapılar.....	47
Resim 5.3. Solungaç dokusunda melanizasyon	48
Resim 5.4. Kontrol grubuna ait hepatopankreasın histolojik görünümü (X40; H&E); hepatopankreas tubulleri (siyah oklar).....	49
Resim 5.5. Hepatopankreasta lumen dejenerasyonu ve lumenlerde genişleme ve ödem.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
$\text{NH}_3\text{-N}$	Amonyak azotu
NH_3	İyonize olmamış amonyak
O_2	Oksijen
Cl^-	Klorür
K	Potasyum
Na	Sodyum
N_2	Azot gazı
CO_2	Karbondioksit
NH_4Cl	Amonyum klorür
NH_3^+N	Nitrat azotu
NO_2^-N	Nitrit azotu
μg	Mikrogram
mg/L	Litrede 1 miligram
pH	H iyonu konsantrasyonunun 10 tabanında (–) logaritması
μs	Mikrosaniye
%	Yüzde konsantrasyon
$^\circ\text{C}$	Celsius

cm	Santimetre
g	Gram
H ⁺	Hidrojen
H ₂ O	Su
L	Litre
mEq	Miliekvalent
mm	Milimolar
NH ₄	İyonize olmuş amonyak (amonyum)

Kısaltmalar

Açıklama

EPA	Environmental protection agency
LC₅₀	Organizmaların %50'sini öldüren konsantrasyon
Org- N	Organik azot
Ort	Ortalama
Ss	Standart sapma
TA	Toplam amonyak
TA-N	Toplam amonyak azotu
WHO	Dünya sağlık örgütü

1.GİRİŞ

Halk arasında kerevit olarak bilinen tatlısu istakozu (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823), ülkemiz iç sularında doğal olarak bulunan ve ekonomik değeri yüksek olan bir su ürünüdür. 1960'lı yıllardan başlayarak bir ihracat ürünü olarak ülkemiz ekonomisinde gittikçe önem kazanmıştır. Ülkemizde yalnızca doğal kaynaklardan avcılık yoluyla elde edilen kerevit üretimi, 1970'li yıllardan itibaren artan ticari değeri ve yurt dışı talepleri doğrultusunda hızla yükselmeye başlamıştır [Acara, 1992].

Kerevitler doğal olarak bulundukları tatlı su alanlarında ekolojik dengenin birer parçası halindedirler. Beslenme özellikleri bakımından omnivor olmakla birlikte su diplerindeki organik parçacıkları da kullanabilirler [Huner, 1994]. Ayrıca, her türlü organik materyalin işlenmesinde oynadıkları önemli rol nedeni ile ekosistemde enerji dengeleri üzerinde etkindirler [Hessen ve ark., 1993; Wallace ve ark., 1997; Zhang ve ark., 2003]. Ayrışmakta olan materyaller üzerinden beslenen, su diplerindeki organik parçacıkların işlenmesi ve mineralizasyonunda, iç su çeşitliliği ve partikül organik madde birikiminde önemli etkileri bulunan bu canlılar için “ekosistem mühendisi” benzetmesi yapılmaktadır [Zhang ve ark, 2004]. Kerevitler ekosistemde oynadıkları bu roller nedeni ile durgun ve akarsu habitatları için anahtar tür olarak görülmektedirler [Hogger, 1988; Momot, 1995; Nyström, 2002]. Ortamdan yok olmaları veya yeni bir ortama sokulmaları sucul ekosistemler üzerinde çok ciddi etkiler doğurabilir [Matthews ve Reynolds 1992; Nyström ve Strand, 1996].

Dünyada tatlısu istakozu üretimi 150 yıldır yapılmaktadır. Ülkemizde ise, ilk kez yaklaşık 1956 – 1957'li yıllarda Marmara Bölgesi'nde yer alan Uluabat (Apolyont) ve Manyas Gölleri'nde avlanılarak dış satışa sunulmuştur. Daha sonraları, dış pazar talebinde sürekli bir artış görülmüştür. Başta Eğridir gölü olmak üzere Çivril, Beyşehir, Akşehir, Eber, Hotamış, Manyas, Apolyont, Işıklı gölleri ve ülkemizdeki diğer göl ve gölet, baraj gölü ve akarsularımızdan temin edilmektedir.

Ancak, bu üründen ihracatımızın % 60'ı Eğridir Gölü'nden yapılmış olması diğer göl, gölet, baraj gölleri ve akarsularımızın tatlısu istakozu populasyonları açısından istenilen düzey bilinmediğinden veya işletme yönünden zorluklarla karşılaşılması olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir [Erençin, 1975; Anonim, 1979; Anonim, 1984].

Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre 1977 yılında 3.885 ton olan kerevit üretimi, 1984 yılında 7.936 tona ulaşmıştır. Ancak 1985 yılında ülkemiz sularında görülen kerevit vebası hastalığından dolayı 1985'te 6244 ton olan kerevit üretimi 1991' de 320 tona düşmüştür [Acara, 1992]. Tatlısu istakozu üretimi 1985 yılında Türkiye iç su ürünleri üretiminin % 17'sini oluşturmuş ve tamamına yakını ihraç edilmiştir (Erençin ve Köksal, 1977a). Türkiye'de kerevit tüketimi çok düşük bir düzeyde olması nedeniyle [Erençin ve Köksal, 1977b], 1970'ten 1986'ya kadar Batı Avrupa'nın *A leptodactylus* gereksiniminin en büyük kısmı Türkiye'den karşılanmıştır [Baran ve ark., 1987; Köksal, 1988; Oray, 1990; Holdich, 1993; Harlıoğlu, 2004].

En yüksek üretime 1984 yılında ulaşılmış olup, 5000 tonu aşan bir ihracat gerçekleştirilmiş. Kerevit, başta Fransa ve İsveç olmak üzere birçok Avrupa ülkesine ihraç edilmiştir [Brinck, 1988; Köksal, 1988].

Günümüz dünyasında canlı ve cansız varlıklar arasındaki dengeli ilişkiler, insanların sebep olduğu olumsuz etkilerden dolayı hızla bozulmaktadır. Bu etkilerin başında; düzensiz ve denetimsiz gelişen endüstri, nüfusun hızla artması ve aşırı tüketim gibi faktörler gelmektedir.

Amonyak su ünitelerinde organik (evsel ve tarımsal atıklar vb.) ya da inorganik kökenli (endüstriyel atıklar, bitki kökenli vb.) olarak bulunabilen bir bileşiktir. Ayrıca balığın azotlu atılım ürünlerinin % 60-80'ini oluşturan amonyak protein katabolizmasının son ürünüdür. Amonyak, pH ve sıcaklık arasındaki dengeye bağlı olarak iki formda bulunur. Bunlar iyonize olmamış (NH_3) ve iyonize olmuş

(amonyum- NH_4^+) amonyak formlarıdır[Svobodova ve ark., 1993]. Organizmaların hücre duvarları amonyum iyonuna karşı geçirgen olmamasına karşın iyonize olmamış amonyak (NH_3), solungaç membranından kolayca geçebilmesi dolayısıyla daha toksiktir[Russo, 1985, Weirich ve ark., 1993] . Amonyağın suda doğal olarak bulunabilmesi ve toksik etkisinin olması sebebiyle balık başta olmak üzere su canlıları üzerinde bir çok çalışmalar yapılmıştır. Balıklar üzerinde amonyak toksisitesinin yarattığı etkilerin saptanması yanında amonyağa etkisi olan pH, O_2 , Na, Ca, sıcaklık ve tuzluluk gibi su kalite parametreleri de dikkate alınarak çalışmalar yapılmıştır. Ancak su ortamında yaşamını sürdüren omurgasız hayvanlarda çalışmalar çok sınırlıdır. Endemik türümüz *Astacus leptodactylus*'larda amonyak toksisitesine ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bazı yengeç türleri üzerinde çalışmalar ile *Pasifastacus leniusculus*'larda akut amonyak toksisitesine ilişkin çalışmaya rastlanmıştır. [Rebelo ve ark., 2000], farklı tuzluluk oranlarında akut amonyak toksisitesini belirleyip 96 saat süresince akut amonyağa maruz kalan kıyı yengeçlerinin (*Chasmagnathus granulata*) hemolemlerine birikimini incelemişlerdir. [Rebelo ve ark., 2000], 96 saat akut amonyağa maruz kalan kıyı yengeçlerinin (*Chasmagnathus granulata*) solungaçlarını histolojik olarak incelemiştir. Sonuç olarak solungaç lamellarında pilaster hücrelerde bozulma, epitelyum nekroz ve hiperplasi kaydedilmiştir. [Romano ve Zeug, 2007] , mavi yüzücü yengeçlerde (*Portunus pelagicus*) solungaç histolojisini incelemişlerdir. 96 saat süresince 5 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ 'a maruz kalan yengeçlerde hemosit infiltrasyonu ve lamellada epitel hücrelerde değişimler gözlenmiştir.

Tatlı su istakozlarında subletal nitritin hemolemfın bazı parametreleri üzerine etkisine ilişkin çalışmalarda mevcuttur. [Jensen, 1990] yaptığı çalışmada 7 gün süresince 0.8 nM nitrite maruz kalan *Astacus astacus*'larda hemolemf nitrit miktarı artarken, hemolemf klorür ve sodyum azalmış, potasyum, kalsiyum, magnezyum, bikarbonat ve laktat değerleri değişmemiştir. [Yavuzcan ve Benli ,2004] 48 saat süresince farklı nitrit konsantrasyonuna maruz kalan *Astacus leptodactylus*'larda yaptıkları çalışmada hemolemf nitrit ve glukoz artarken toplam hemosit sayısı azalmıştır.

Toplam hemosit sayısı ve hemolemf glukozu crustaceaların sağlık durumunu belirlemede kullanılan parametrelerdendir. Çevresel stresin crustaceaların bağışıklık durumunu etkilediği ve buna bağlı olarak THS'nın değiştiği bilinmektedir [Le Moullac ve Haffner, 2000]. Diğer taraftan hemolemf glukozunun çevresel stres altında sekonder stres yanıtı olarak değiştiği belirtilmiştir [Yildiz ve Benli, 2004]. Solungaç gaz değişimi amonyak atılımı ve asitbaz dengesinden sorumlu bir organken, yüksek organizasyonlu hayvanlarda karaciğerin analogu olan hepatopankreasta kirleticilere karşı en hassas organdır [Bhavan ve Geraldine, 2000].

Yapılan literatür taraması ışığında ülkemizin doğal sularının tatlı su istakozu türü olan *Astacus leptodactylus*'larda amonyağın etkisine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. . Bu amaçla bu çalışmada tatlı su istakozu üzerinde amonyağın toplam hemosit sayısı, hemolymph parametreleri ve solungaç ve hepatopankreası histolojisi üzerine etkileri incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tatlı Su İstakozunun Biyolojisi

2.1.1. Tatlısu istakozlarının sistematikteki yeri

Regnum	: Animalia	: Hayvanlar
Phylum	: Arthropoda	: Eklem bacaklılar
Classis	: Crustacea	: Kabuklular
Subclasis	: Malacostraca	:Gelişmiş kabuklular
Ordo	: Decapoda	: Ön ayaklılar
Subordo		
Familya	: Reptantia	: Sürünen
Genus		: kabuklular
Species	: Astacidae	: İstakozlar

Subspecies I : *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823

Subspecies II: *Astacus leptodactylus salinus* Nordmann, 1842

Subspecies III : *Astacus leptodactylus eichwaldi* Bott, 1950

Subspecies IV :*Astacus leptodactylus cubanicus* Birstein ve Winogradow,1934

2.1.2. Genel özellikleri

A. leptodactylus, büyük potansiyeli ve yaygın kullanımı nedeniyle Avrupa'nın en popüler tatlısu istakozlarından biridir. Uzun kısıkaçları nedeniyle kolayca tanınır ve

genel olarak “uzun kıskaçlı” kerevit olarak da adlandırılır. Bunun yanı sıra, Türk kereviti, galicia, bataklık yada göl istakozu olarak da bilinir [Köksal, 1988].

Bu türün rengi ve görünüşü oldukça değişkendir. Bulundukları göl veya akarsuyun zemin yapısı gibi birçok faktör renk yapısını etkilemektedir. Renk genel olarak yağ yeşilidir, fakat üzerinde kırmızı noktalar bulunan sarıdan kahverengiye kadar değişebilen özelliktedir. Karapaksın ve abdomenin alt kısmı ise beyazdır.

Kumlu ve çakıllı bölgelerde yaşayanların renkleri, kıskaçlarda kahverengi noktalara bal sarısı renkte olabilmektedir. Balçıklı diplerde yaşayan örneklerin renkleri ise siyah görünümlüdür.

Karapaks geniş, dar ve yumuşak ve yan tarafta sayısı değişken olan dikenlerle kaplı olabilmektedir. Boyun oluğu sert bir dikene sahiptir. Rostrum genelde uzundur. Orta karina gelişmiş yada hafif gelişmiş ve diş benzeri dikenlerle desteklenmiş veya dikensiz olabilmektedir. Karapaks gözlerin ardında bir çift post orbital sırta sahiptir. Bunlar iyi gelişmiş olup, ön kısımda sivri bir diken taşımaktadır. Kıskaç ayağı oldukça incedir ve genellikle erkeklerin kısıkaçı dişilerinkinden daha uzundur. Erkeklerin kısa kıskaçlara sahip olduğu durumlarda gözlenmiştir. Üreme ayağının ucu sivri ve asimetriktir, ikinci çifti iyi gelişmiştir. Karın pleurası dardır ve her zaman bir diken taşır [Bott, 1950; Geldiay ve Kocataş, 1970; Köksal, 1988].

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde bu türün iki alt türünün (*Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 ve *Astacus leptodactylus salinus* Nordman, 1824) bulunduğu bazı araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir [Geldiay ve Kocataş, 1970; Erençin ve Köksal, 1977a].

Türkiye içsularında yayılış gösteren *A. leptodactylus* (Tatlısu istakozu)’un iki alt türü bulunmaktadır. Bunlardan;

1. *Astacus leptodactylus salinus* Nordmann, 1842 alt türünün Eğirdir Gölü, Beyşehir Gölü, Akşehir Gölü, Eber Gölü, Manyas Gölü, Apolyont Gölü, Gölcük (Ödemiş)

Gölü ile Miliç Çayı'nda,

2. *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 alt türünün ise İznik Gölü, Terkos Gölü, Işıklı Gölü ile Tunca Nehri ve Gelemen Çayı'nda bulunduğu bildirilmiştir [Alpbaz, 1993].

Hepatopankreas

Kerevitlerde sefalotoraksda yer alan hepatopankreas üç lobdan (karapaksın ön kısmına doğru çıkıntı oluşturan iki lob ve arkaya doğru uzanan üçüncü lob) oluşur. Sindirim enzimlerinin (proteinaz, lipaz vs.) üretildiği, çeşitli sentezlerin yapıldığı ve fazla miktarda alınan besinlerin, bazı ağır metal ve kalsiyumun depolandığı yerdir. Hepatopankreas çok yönlü bir organdır. Bu organ kerevitlerin karaciğeri olarak isimlendirilir [Holdich ve Reeve, 1988; Conklin, 1995b; Chen, 1998, Vogt, 2002].

Hepatopankreas krustaselerin bulundukları fizyolojik şartların belirlenmesinde anahtar organdır. Krustaselerin hepatosomatik indeksi (HSİ), hepatopankreasdaki nem ve enerji içeriği bu canlıların yaşadığı ortamdaki populasyon yoğunluğunun, yem kaynaklarının ve su kalitesinin göstergesidir. Bu değerler canlının beslenme, kabuk değiştirme ve üreme dönemlerine bağlı olarak değişir [Jussila, 1997a; Lindovis ve ark., 1999]. Dişi kerevitler yumurta taşıdıkları dönemde hepatopankreasın enerji rezervlerini tükettiklerinden cinsel olgunluğa erişmeyen kerevitlere oranla daha düşük hepatosomatik indekse sahiptir [Jussila, 1997b; Guoda, 1999].

Hepatopankreasdaki nem ve enerji içeriği ters orantılıdır. Bu organdaki nem içeriğinin düşük olması ortamdaki besin bolluğu ve besin rekabetinin az olduğunun göstergesidir [Jussila, 1997a,b; Lindovist ve ark., 1999].

[McRae ve Mitchhell 1996], *Cherax destructor* türü kerevitlerde minimum HSİ değerinin %3 olduğunu, üreme için bu değerin %6'dan az olmaması gerektiğini ve

krustaselerin beslenmesinde hepatopankreasın hayati bir organ olduğunu belirtmiştir. [Jussila, 1997 a], *C. tenuimanus* türü kerevitlerin bulunduğu doğal ortamda HSI değerini %4,5-6 olarak belirlemiştir.[Guoda 1999)], ise buna benzer yaptığı bir çalışmada *A. astacus*, *A. leptodactylus* ve *Pacifastacus leniusculus*'un HSI'lerini sırasıyla $4,25 \pm 0,35$, $6,33 \pm 0,84$ ve $3,95 \pm 0,17$ olarak tespit etmiştir. Ayrıca bu çalışmada en yüksek HSI değeri (%6,3) hepatopankreasdaki nem içeriğinin en düşük olduğu kabuk değiştirme döneminden önceki dönemde olan 100 mm'den büyük kerevitlerde belirlemiştir.

2.1.3. Coğrafik dağılımı

A. leptodactylus, Doğu Avrupa'da özellikle Rusya, Türkiye ve Türkmenistan'ın hemen hemen bütün su kütlelerinde en çok bulunan türdür. Ayrıca Polonya, Doğu Almanya ve Fransa'da bulunduğu kaydedilmiştir [Bott, 1950; Brodsky,1974].

Türkiye'deki Dağılımı

Astacus'un Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. *A. leptodactylus* ilk kez [Bott, 1950] tarafından Kayseri, Bursa ve İstanbul'dan alınan örnekler ile tespit edilmiştir. Daha sonraki yıllarda çeşitli su kaynaklarından yapılan örneklemeler, iki alt türün bulunduğunu göstermiştir; *A. leptodactylus leptodactylus*'un İznik, Terkos, Işıklı Gölü, Tunca, Meriç (Maritza) Nehri, Cori ve Gelemen Çay'ında, *A. leptodactylus salinus*'un ise Manyas, Eğridir, Beyşehir, Apolyont, Eber, Akşehir, Gölcük (Ödemiş) Gölü'nde ve Miliç Çayı'nda bulunduğu tespit edilmiştir [Geldiay ve Kocataş, 1970; Erençin ve Köksal 1977a; Geldiay ve Geldiay 1978; Erdem, 1993].

2.1.4. Yaşam alanları

Tatlısu istakozları nehir, göl, gölet gibi su kaynaklarının çoğu kez çakıllı diplerinde, yassı taşların altlarında ve sığ çamurların içerisinde bulunurlar [Geldiay ve

Geldiay, 1978, Anonim, 1984; Timur ve ark., 1993]. Çoğunlukla bataklık alanları tercih eden kerevitler kuyruklarının kazma hareketleriyle toprağı oyarak yuva yaparlar. Bu çukurlar genellikle 15- 20 cm büyüklükte olup yan yana birkaç tane olabilir [Geldiay ve Geldiay, 1978, Demirsoy, 1982, Anonim, 1984]. Tatlısu istakozları kalkerli bölgelerde genellikle akıntılı ve bol kalkerli suları severler. Silisli sularda az bulunurlar [Geldiay ve Geldiay, 1978; Demirsoy, 1982; Erdem, 1993].

2.2. Histopatolojinin Avantaj ve Sınırları

2.2.1. Histopatolojinin avantajları

Her ne kadar biyokimyasal, fizyolojik ve histopatolojik özelliklerin birlikte değerlendirilmesi daha uygunsa da histopatolojik bulgular ani değişimler olmadığı için daha gerçek sonuçları yansıtmaktadır [Hinton ve Lauren, 1990].

Histopatoloji organların değerlendirilmesi ve spesifik hücre lezyon tiplerinin identifikasyonunda diğer yöntemlere göre daha hızlıdır. Yani histopatolojik bulgular subletal stres yapan etkenlere ortalama yanıt olarak belirir ve histoloji özellikle kronik çalışmalarda değişik doku ve organlarda etkinin araştırılmasında en hızlı metottur. Kısaca hiçbir teknik, histopatoloji kadar hızlı bir şekilde hasarın olduğu bir çok bölgeden örnek almaya olanak tanımamaktadır [Hinton ve Lauren, 1990].

Kullanılan örneğin büyüklüğü (larva ya da anaç) ne olursa olsun maddenin etkilediği hedef organ ya da dokularda homojen değişiklikler görülmektedir [Hinton ve Lauren, 1990].

Histopatoloji saha çalışmalarında da en uygun metot olarak karşımıza çıkmaktadır. Doğada kolay yakalanamayan ya da yetiştiriciliği yapılamayan türlerde yapılan çalışmalarda canlının ölüm sonrası incelenmesinden dolayı histolojik analiz biyokimyasal analize göre daha avantajlıdır [Teh ve ark., 1997].

Diğer yöntemlerin aksine, örneklerin histopatolojik olarak hemen incelenmesi gerekmemektedir. Uygun saklama yöntemi (balıklarda Bouin fiksatif ve % 10'luk nötral formalin önerilmektedir.) kullanılarak inceleme daha sonra gerçekleştirip tüm organ sistemleri değerlendirebilmektedir [Teh ve ark., 1997].

Biyokimyasal olarak değerlendirilemeyecek kadar küçük olan örneklerde dahi patoloji kolaylıkla kullanılabilir. Yumurta ve larvaların gözlenmesinde de önemlidir [Hinton ve Lauren, 1990].

2.2.2. Histopatolojinin sınırları

Eğer türün normal histolojik yapısı önceden bilinmiyorsa, histopatolojik deneylerde hata olabilmektedir [Hinton ve Lauren, 1990].

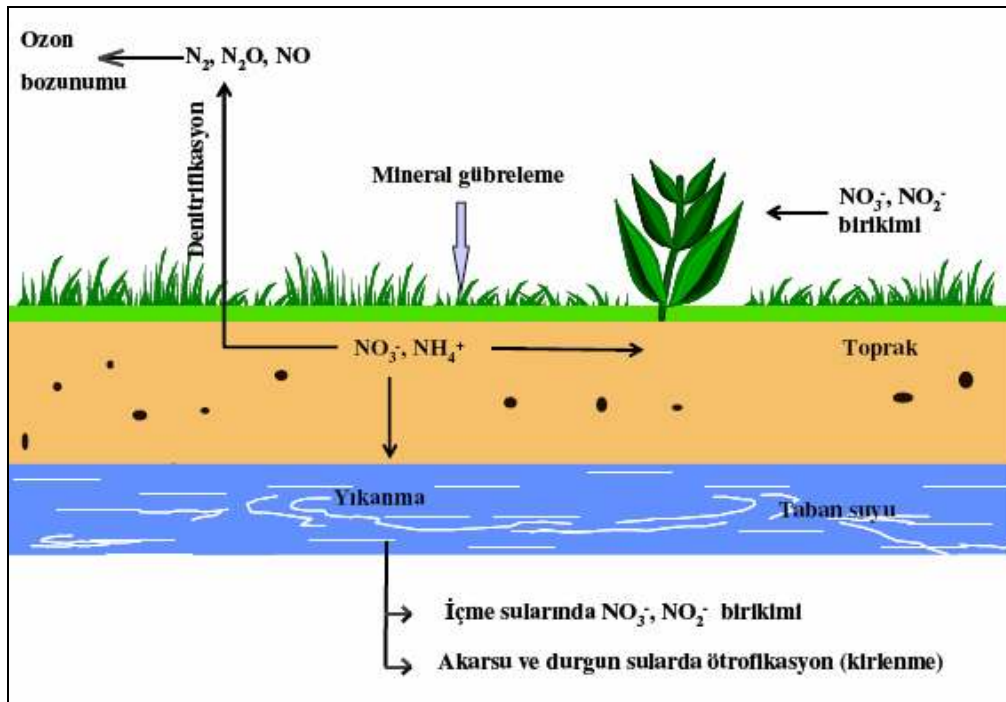
Histopatolojik çalışmanın gerçekleştirilmesinde canlı örneğin öldürülmesi gerekmektedir [Teh ve ark., 1997].

3. AMONYAK HAKKINDA GENEL BİLGİLER

3.1. Azot Döngüsü

Azot canlı yapısının temel elementlerinden birisidir ve canlı materyallerin kuru ağırlıklarının %5'ini oluşturmaktadır. Azotun çoğunluğu proteinlerde aminoasitler olarak bulunur ve canlıların besininin vazgeçilmez bir bileşenini oluşturur [Benli, 2006]. Atmosferde en yüksek oranda (%78) bulunan azot (N_2) canlıların alabileceği formda (NH_4^+ , NO_3^-) değildir. Bitkilerin ana azot kaynağı atmosfer azotunun kullanılabilir formlara geçmesi için üçlü bağının ikili bağa indirgenmesi ve hidrojen ya da oksijenle birleşmesi gerekir. Diğer bir deyişle bitkiler NH_4^+ ve NO_3^- formundaki azotu kullanabilir. Bunun da doğadaki canlılar içinde özellikle toprakta bulunan serbest ve serbest olmayan bakteriler tarafından gerçekleştirildiği bildirilmektedir. Toprakta ve bazı bitki gruplarının köklerindeki yumrularda azot bağlayan bakteriler yaşar. Bu bakteriler, azot gazını amonyağa dönüştürür. Atmosferde bulunan moleküler azotun amonyum formlarına indirgenerek kullanılabilir duruma geçmesine “Azot Fiksasyonu” denir. Biyolojik azot fiksasyonu ise atmosferde bulunan bitkilerce doğrudan kullanılamaz haldeki inorganik, moleküler yapıdaki azotun biyolojik olarak fiske edilmesi ve organik forma çevrilmesidir. Biyolojik azot fiksasyonu, ekili tarımsal alanlarda genellikle düşük düzeydedir. Buna karşılık baklagil bitkilerinin ekildiği alanlar, çayırlar, ormanlar, küçük ölçüde de çeltik için biyolojik azot fiksasyonu oldukça önemli bir azot kaynağıdır. Yumrulardaki bakteriler, besinlerini bitkiden alırken, bunun karşılığında bitkilere gereksinim duydukları azotu sağlar. Fazla amonyak, toprağa salınır ve burada nitrifikasyon bakterileri tarafından önce nitrite, sonra da nitrata dönüştürülür. Nitrat bitkiler tarafından alınır ve protein gibi önemli moleküllerin üretiminde kullanılır. Böylece azot besin zincirine girer. Azot, bitkiler ve hayvanlar atık ürettiklerinde ya da öldüklerinde, ayrışma işlemiyle amonyak formunda tekrar toprağa döner. Toprakta bulunan denitrifikasyon bakterileri de nitrit ya da nitratı tekrar azot gazına dönüştürür. Böylece azot tekrar atmosfere karışır. Bakteriler azot bağlama işlemi için nitrogenaz enzimi kullanırlar. Azotun doğadaki döngüsü oldukça

dinamik olup atmosfer, hidrosfer, toprak ve canlı dokusu gibi çevre bileşenleri arasında hızlı bir etkileşim bulunmaktadır [Yılmaz, 2010]. Azotun genel döngüsü Şekil 3.1’de verilmiştir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; tüm azot bağlama mekanizmaları ile toprağa bağlanan 8 kg azotun ancak 1 kg’ı bitkiler ve hayvanlar tarafından kullanılabilir hale gelmektedir. Öte yandan kimyasal gübre formunda üretilen 20 kg aktif azotun halk sağlığının ve beslenmesinin korunmasında ancak 2 kg’ı harcanmaktadır. Genel olarak bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi ekosisteme giren azot gerek bitkisel üretim amacıyla gerekse beslenme amacıyla kullanılanın çok üzerindedir. Hızla artan dünya nüfusu göz önüne alındığında bu artışa bitkisel üretim anlamında cevap verebilmek için kullanılan geleneksel yöntemler (bilinçsizce yapılan gübreleme, uygulama dozları ve zamanları, sulama yöntemleri) kirlilik tehlikesini arttırmaktadır [Karnez, 2010].



Şekil 3.1. Azot döngüsü [İşler, 2009]

Azot ve su kirliliği

Azotlu gübreler toprağa karıştırıldığında üç temel kimyasal olay gerçekleşmektedir;

- $\text{NH}_4\text{-N}$ 'un nitrifikasyonu
- $\text{NO}_3\text{-N}$ 'un denitrifikasyonu
- NH_3 şeklinde buharlaşma

Özellikle havalandırması iyi olan topraklarda NH_4^+ 2-6 hafta içerisinde NO_3^- 'a okside olmaktadır [Yılmaz, 2010]. Azotlu gübreler toprakta çok hareketli gübreler oldukları için fazla yağışlarla ve sulama suyu ile yıkanarak veya gaz halinde uçmak suretiyle kayıplara uğrayabilirler [Gedikoğlu ve ark., 1996]. İdeal koşullarda toprağa atılan azotun %50-70'inin bitkiler tarafından kullanıldığı, %2-20'sinin buharlaşma yoluyla kaybedildiği, %15-25'inin killi toprakta bulunan organikler ile birleştiği ve geri kalan %2-10'luk kısmının yüzey ve yeraltı sularına karıştığı söylenmektedir. Ancak toprakta biriken nitratin suya geçişini etkileyen pek çok faktör bulunması nedeniyle, bu değerler değişebilmektedir. Nitratin suya geçişini etkileyen faktörler; toprağın yapısı, bitkilerin azot gereksinimi, sıcaklık, yağmur, gübre kullanım miktarı, toprağın su içeriği vb. olarak sıralanmaktadır [Can ve Kali, 2008].

1960'lı yıllardan sonraki dönemde tarımsal faaliyetlerde kullanılan inorganik gübrelerden kaynaklı sulardaki nitrat kirlenmeleri azot içeren gübrelerin yoğun olarak kullanılması neticesinde artmıştır. Tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan en büyük kirlenme de birçok yüzey ve yeraltı sularında sık sık görülen, çözünabilirlik özelliğinden dolayı kolayca yer değiştirebilen ve kalıcı özellikte olan nitrat kirlenmeleridir. Nitrat kaynaklı kirlenmelerin temel olarak dört ana kaynağı vardır.

- 1- Tarımsal faaliyetlerde kullanılan azot kaynaklı gübreler
- 2- Çorak alanlarda doğal olarak meydana gelen azot bağlanması
- 3- Topraktaki organik maddenin nitratin olmadığında bozulması
- 4- İnsan ve hayvan atıkları neticesinde oluşan bozulmalardır.

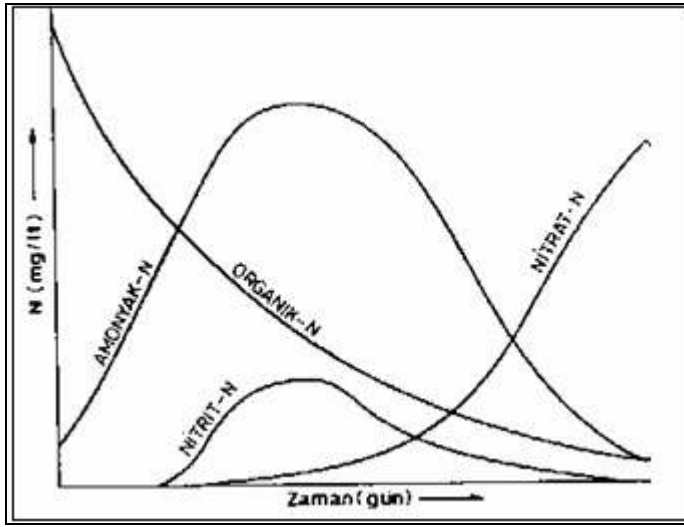
Geniş alanlara yayılabilen kirleticiler arasında nitrat, çevrenin kirlenmesinde önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Yer altı sularındaki kirlenmede ise ilk olarak

nitrat kirlenmeleri gelmektedir. Toprağın ve yüzeydeki suların kirlenmesinin yanında yeraltı sularının nitrattan dolayı kirlenmesi de ciddi çevresel bir kirlenmeye yol açmaktadır [Olhan ve Ataseven, 2009].

Su ortamında bulunan azot bileşiklerini azot, organik azot, iyonize olmamış amonyak, amonyum, toplam amonyak, nitrit ve nitrat oluşturmaktadır. Balıklar ve diğer su hayvanları için nitratin toksite sınırı 3-13 g/l, nitritin 20- 30 mg/L'dir. Daha yüksek değerler balık ve diğer canlılarda olumsuz etkilere yol açmaktadır. Amonyak, keskin kokulu, renksiz bir gaz olup, suda yaşayan canlılar üzerinde zehir etkisi yapmaktadır. Amonyak çoğu sularda biyolojik aktif bir bileşiktir ve azot içeren organik maddenin biyolojik olarak ayrışması sonucu meydana gelmektedir. Suda çözündüğünde amonyağın bir kısmı su ile reaksiyona girer ve amonyum iyonları oluşur. Amonyum iyonu ise amonyak kadar toksik bir etkiye sahip değildir. Sudaki serbest NH_3 , balıklarda merkezi sinir sistemi ile kan dolaşımını olumsuz yönde etkilemektedir. 0,2-2 mg/L arasındaki NH_3 konsantrasyonlarının balıklar için zararlı olduğu bildirilmiştir [www.duzce.cevreorman.gov.tr].

İçme ve kullanma sularıyla, yüzeysel suların ve kirlenmiş su kütlelerinin içerdiği organik ve inorganik azotlu bileşiklerin ölçümü birçok bakımdan önem taşır. İçme suyunda NH_3 tespit edilmesi fekal bir kirlenmeye işaret eder. Kirlenmiş sularda azot bileşiklerinin ilerleyen zaman içindeki değişimi Şekil 3.1.'de verilmiştir.

Şekilden de anlaşılacağı gibi amonyak azotu zaman içinde azalmaya başlamakta ve buna karşılık nitrit ve sonra nitrat artmaya başlamaktadır. Buna göre, genel olarak, organik azot ve amonyak kirlenmenin yeni, nitrit ve nitrat ise kirlenmenin eski olduğunu ifade etmektedir [Samsunlu, 2005].



Şekil 3.2. Kirlenmiş sularda azot formlarının aerobik şartlarda zamanla olan değişimi [Samsunlu, 2005]

Nitrat, nitrit ve amonyağın biyolojik önemi uzun yıllardan beri bilindiğinden su ortamındaki konsantrasyonları ve gösterdikleri değişimler birçok araştırmacı için inceleme konusu olmuştur. Bu araştırmacılara göre azot iyonlarının su ortamındaki konsantrasyonları mevsimlere bağlı olarak değişimler gösterir. Genellikle kış aylarında birincil üreticilerin yoğun olmadığı zamanlarda bol olarak bulunur. Derinlerdeki nitrat miktarı yüzeye göre daha çoktur. Tabakalaşmanın bozulmasıyla dipteki dikey karışımlarla yüzey sularında nitrat tekrar artar. Kış aylarında azot minerali yüzeyde ve derinlerde dominant olup, $100 \mu\text{g/L}$ yi geçtiği saptanmıştır. İlkbahar aylarında ise azot konsantrasyonunda ani bir düşme görülür. Zira bu periyotta gelişen fitoplankton amonyağı absorbe eder. Yaz aylarında ise çok sıcak yüzey tabakalarında hemen hemen ortadan kalkar. Sonbaharda ise düzenli artış görülür [Fındık ve ark., 2001].

Azot bileşikler su kirliliği açısından çeşitli etkilere sahiptir. Bunların başlıcaları; oksijen bilançosunun etkilenmesi, ötrofikasyon, ve içme sularındaki toksik etkilerdir.

Oksijen bilançosunun etkilenmesi: Sulara karışan organik azot ve diğer azot kaynaklarının, biyolojik süreçler ile nitrata dönüşmeleri esnasında önemli düzeylerde

oksijen tüketmektedir. Örneğin 1 mg/l amonyak azotu nitrata dönüştüğünde, 3,87 mg/1 oksijen tüketmektedir [www.duzce.cevreorman.gov.tr].

Ötrofikasyon: Bu besin elementleri, bulundukları sularda birincil üretimi hızlandırmakta, böylece ötrofikasyona neden olmaktadır. Ötrofikasyon olayı, göl ve nehirlerle bitki, hayvan ve mikroorganizma gelişmesinin çoğalmasdır. Sürekli bir ötrofikasyon olayı sonucu sularda oksijen noksanlığı ortaya çıkar. Böylece ortamda anaerobik mikroorganizmaların miktarı ve dolayısıyla toksik bileşikler fazlalaşır. Buna karşılık yağmur suyunda dahi belli konsantrasyonlarda azot olduğu düşünüldüğünde, ötrofikasyona temelde fosfor fazlalığının yol açtığı söylenebilir [www.duzce.cevreorman.gov.tr].

Toksik Etki: İçme suyunun sağlıklı bir şekilde temini açısından özellikle azot bileşiklerinin önemi büyüktür. Yüzeysel sulardan temin edilen içme sularında amonyum konsantrasyonunun yüksek olması halinde birçok güçlkle karşılaşmaktadır. İçme suyunun temini amacıyla kullanılacak olan yüzeysel sularda amonyum konsantrasyonun 0,2-1,5 mg/L arasında olması istenmektedir. İçme sularında nitrat konsantrasyonları 4,5 mg/L düzeyini aştığında sağlık problemleri çıkmaktadır [www.duzce.cevreorman.gov.tr].

Nitrat, nitrit ve diğer bazı bileşiklerin, insan ve hayvanlarda sindirim sistemlerinde nitrozaminlere dönüşerek kanserojen etkilerde bulunduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmektedir [Yılmaz, 2010]. Nitratin toksik karakteri üzerinde çalışan araştırmacıardan Zaldivar (1976), birim alanda kullanılan azot miktarları ile, mide kanserinin neden olduğu ölüm vakaları arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirtmiştir [Atılgan ve ark., 2007].

NO_3^- iyonunun sularda fazla miktarda bulunmasının, bu suyu içen toplumlarda bebekler arasında “Mavi Hastalık” (methemoglobinemia) adı verilen kalp ve dolaşım bozukluğuna neden olduğu öne sürülmektedir. Altı aydan küçük bebeklerde mide asitleri oluşturmaktadır [Samsunlu, 2005].

Genel olarak yoğun tarım yapılmayan alanlardaki sularda göreceli olarak daha düşük, tarımsal faaliyetlerin yoğun olduğu alanlarda ise, daha yüksek nitrat düzeyleri yaşanmaktadır. Tarım alanları dışında, yüzey ya da yeraltı sularında tipik olarak 0-10 mg/L düzeyinde nitrat saptanmaktadır. Ülkemizde geçerli olan “Sular – İnsani Tüketim Amaçlı Sular” standardında (TS 266), nitrat için müsaade edilebilir maksimum değer 50 mg/L olarak tanımlanmaktadır. Avrupa Birliği 50 mg/L’lik bir üst sınır getirirken, EPA (US Environmental Protection Agency) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 10 mg/L nitrat (45 mg/L nitrat) üst sınır olarak tanımlanmaktadır [Can ve Kali, 2008].

3.2. Akuatik Sistemlerde Azot ve Azotlu Bileşiklerin Önemi

Azot canlı yapısının temel elementlerinden birisidir ve canlı materyallerin kuru ağırlıklarının % 5’ini oluşturmaktadır [Horne ve Goldman 1994].

Azotun çoğunluğu proteinlerde amino asitler olarak bulunur [Svobodova ve ark., 1993] ve canlıların besininin vazgeçilmez bir bileşenini oluşturur [Anonim, 1999]. Modern balık yetiştiricilik sistemlerinin ekonomik olmasının bir gerekliliği olarak yoğun stoklamanın yapılması, azotlu ürünlerin suda bulunma olasılıklarını arttırmaktadır [Tomasso, 1994]. Bilindiği gibi su ürünleri yetiştiriciliğinde O₂ miktarının balık yetiştiriciliği için yeterli olduğu durumlarda bile azotlu bileşikler sınırlayıcı ikinci faktördür [Lawson, 1995].

Azotlu ürünler farklı hayvan gruplarında boşaltım, asit-baz dengesi, osmoregülasyon ve yüzme yeteneği gibi değişik fizyolojik fonksiyonlarda son ürün olarak görülmektedir [Wright, 1995]. Buna ek olarak ortalama % 25 civarında azotlu ürün yemlerle (% 11-36) ya da diğer besleyicilerle (organik ve inorganik gübreler) de ortama katılabilmektedir. Bu şekillerde ortama katılabilen azot atıkları birikerek havuzların asimilasyon kapasitesinin üstüne çıkar. Su kalitesinin bozulmasına neden olan bu olay aynı zamanda sucul organizmalar için toksik etki yapmaktadır [Hargreaves, 1998].

Canlı bünyesinin yanı sıra besin maddelerinde ve ölü organizmalarda bulunan azot, doğada, atmosfer-su sisteminde azot çevrimi dediğimiz bir döngü içinde sürekli bir dolanım halindedir. Bu nedenle azot bileşiklerinin su kirliliği açısından önemli bir kilit rolü vardır. Bunların başında ötrofikasyon, O₂ bilançosunun etkilenmesi ve içme sularındaki toksikolojik sorunlar gelir [Uslu ve Türkman, 1987].

Su ortamında bulunan azot bileşiklerini azot, organik azot, iyonize olmamış amonyak, amonyum, toplam amonyak, nitrit ve nitrat oluşturmaktadır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde başlıca azot formları [Lawson 1995]

Form	Sembol	Sucul ortamdaki rolü
Azot	N ₂	Etkisiz gazdır. Atmosferden su içine ve dışına hareket eder, önemi yoktur.
Organik azot	Org-N	Serbest amonyağın parçalanmasıyla oluşur.
İyonize olmamış amonyak	NH ₃	Sucul hayvanlar için oldukça toksiktir. Yüksek pH düzeylerinde daha çok ortaya çıkmaktadır.
İyonize olmuş amonyak (Amonyum)	NH ₄ ⁺	Çok yüksek konsantrasyonları dışında toksik değildir. Düşük pH düzeylerinde daha çok ortaya çıkmaktadır.
Toplam amonyak	NH ₃ +NH ₄ ⁺	İyonize ve iyonize olmamış amonyağın toplamıdır. Çoğunlukla amonyak testlerinde toplam amonyak azotu olarak ölçüm yapılır. Nitrifikasyon bakterileri ile nitrite dönüşür.
Nitrit	NO ₂ ⁻	Sucul hayvanlar için toksiktir ve nitrifikasyon bakterileri ile nitrata dönüşür.
Nitrat	NO ₃ ⁻	Çok yüksek konsantrasyonları dışında toksik değildir. Su bitkileri tarafından kullanılabilir.

Akuatik ortamda amonyak ve nitrit en toksik azotlu bileşiklerdir [Lawson 1995]. Nitritten farklı primer olarak balık tarafından üretilmesi dolayısıyla, amonyağın ve oluşturduğu toksisitenin bilinmesi çok önemlidir.

Sucul ortamlarda azot ve azotlu birleşikler belirli düzeylere kadar toksik etki yapmamaktadır. Çizelge 3.2. de çevre ve orman bakanlığınca azotlu birleşikler için belirlenen su kalite kriterleri verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri
[http://www.ormansu.gov.tr]

SU KALİTE PARAMETRELERİ	SU KALİTE SINIFLARI			
	I	II	III	IV
Amonyum azotu ($\text{mg NH}_4^{4+}\text{-N/L}$)	0.2	1	2	2
Nitrit azotu ($\text{mg NO}_2^{-}\text{-N/L}$)	0.002	0.01	0.05	> 0.05
Nitrat azotu ($\text{mg NO}_3^{-}\text{-N/L}$)	5	10	20	> 20

Buna ek olarak aynı kriterlerde amonyak konsantrasyonlarının $0.02 \text{ mg NH}_3\text{-N/L}$ 'yi geçmemesi gerektiği bildirilmiştir. [http://www.ormansu.gov.tr]

3.3. Su Ünitelerinde Amonyak Kirliliği

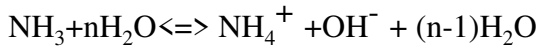
Organik Orjinli

- Akuatik organizmaların ekstraksiyonu (özellikle intensif balık ve midye yetiştiriciliğinde) [Svobodova ve ark., 1993].
- Organik maddenin parçalanması : Bilhassa organik gübre ya da amonyak bazlı inorganik gübrelerle (amonyum sülfatlı gibi) havuzların gübrenmesi ya da yem artıklarının toplanmaması sonrasında ortaya çıkar [Svobodova *et al.*, 1993].
- Denitrifikasyon : Azotlu bileşikler oksijeni bol sularda (oksijenle karışmış sularda) nitrite ve zararsız olan nitrata dönüşür (nitrifikasyon olayı). Oksijensiz sularda ise nitrat nitrite oradan da amonyağa dönüşür (Denitrifikasyon). Bu nedenle, oksijen azlığı havuz sistemlerinde amonyağın oluşumuna neden olabilmektedir [Svobodova ve ark., 1993].
- Evsel ve endüstriyel atıklar [Svobodova ve ark., 1993].
- Plankton patlamaları sonucunda görülen ölüm : Havuz sistemlerinde yüksek düzeydeki amonyak, planktonların ölümü ile genel olarak ilişkilidir. Amonyak toksisitesi salinitenin artırılması ile ayrıca yüksek çözünmüş O_2 ve CO_2 konsantrasyonlarında düşer [Anonymous, 1991].

İnorganik Orjinli

- a) Endüstriyel atıklar
- b) Bitki kökenli olarak bulunabilmektedir [Weirich ve ark., 1993].

Suda amonyak, pH ve sıcaklık arasındaki dengeye bağlı olarak iki formda bulunur. Bu formlar iyonize olmamış (NH_3) ve iyonize olmuş (NH_4^+ -amonyum) amonyak formlarıdır. Bu iki formun toplamı ise toplam amonyak olarak adlandırılmaktadır ve sudaki formülü;



şekilde gösterilebilir [Svobodova ve ark., 1993].

Organizmaların hücre duvarları amonyum iyonuna karşı geçirgen olmamasına karşın, iyonize olmamış amonyak solungaç membranından kolayca geçebilmesi dolayısıyla daha toksiktir. Ayrıca normal koşullar altında su-doku ara yüzeyi arasında asit-baz dengesi vardır. Eğer bu denge değişirse, iyonize olmamış amonyak eklenerek pH bu bölgede düşer. Bu iyonize olmamış amonyağın sudan solungaç epiteline ve kana; kandan da dokulara nasıl geçtiğini açıklamaktadır. Amonyağın meydana getirdiği ölüme kadar varan olumsuz etkilerden korunmak için, gerek doğal sularda gerekse kültür koşullarında, su içerisindeki toplam amonyağın iyonize olmamış formunun (NH_3) miktarını bilmek önemlidir. [Svobodova ve ark., 1993] Ayrıca solunum ile birlikte solungaçlardaki pH'nın miktarı ve böylece amonyağın oransal konsantrasyonu değişebilir. Amonyağın amonyum iyonuna oranı pH'da her birim artışla 10 kat, 0-30°C artışla her 10°C'de yaklaşık 2 kat artar [Erickson 1985]. Değişik pH ve sıcaklık değerlerinde sudaki amonyak formu çizelgelerden yararlanılarak tahmin edebileceği gibi, formüllerle de saptanabilir.

Yetiştiricilik sistemlerinde açıklanamayan ölümlerin büyük bir kısmı iyonize

olmamış amonyak düzeyinin yükselmesine bağlanmaktadır. [Speare ve Backman, 1988].

NH_3 toksisitesi aynı zamanda sudaki çözünmüş O_2 miktarının yanı sıra pH'nın etkisiyle serbest CO_2 miktarına veya bikarbonat alkalinitesine de bağlı olabilir. Solungaç yüzeyindeki CO_2 'in difüzyonu sudaki pH'yı düşürür, böylece iyonize olmamış amonyak miktarının oranı düşer. pH'nın sudaki düşüş miktarı su içindeki CO_2 miktarına bağlıdır. Tuzlu sularda toplam amonyağın % dengesi saliniteden de etkilenmektedir [Benli, 2006]

4. MATERİYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

4.1.1. Deney organizması

Deney materyali olan tatlı su istakozları (*Astacus leptodactylus* Escholtz, 1823) Hirfanlı baraj gölünden avcılık yoluyla temin edilmiştir. Kullanılan tatlı su istakozları (n=63) $10,66 \pm 0,75$ cm boy ve $28,17 \pm 4,59$ g ağırlığındadır.

4.1.2. Toksik madde materyali

Deneylerde amonyak kaynağı olarak NH_4Cl (amonyum klorür) kullanılmıştır [Anonymous 1998]. İki farklı subletal konsantrasyon belirlenerek tatlı su istakozları dozlanmıştır.

4.1.3. Su materyali

Deneyde en az 48 saat dinlendirilmiş ve daha sonra havalandırılarak kloru giderilmiş olan şehir suyu kullanılmıştır. Suyu ilişkin parametrelerin analizinde Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarından yararlanılmıştır. Ortalama su sıcaklığı $24 \pm 1^\circ\text{C}$; pH=7,77; elektrik iletkenliği 318,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$;, çözülmüş oksijen miktarı 5,8 mg/L ve amonyak miktarı 0,001 mg/L olarak ölçülmüştür.

4.1.4. Araştırmada kullanılan diğer araç ve gereçler

a) Teraziler: Kimyasal madde tartılmasında 0.001 g'a, tatlı su istakozlarının tartılmasında ise 0.01 g'a duyarlı teraziler kullanılmıştır.

- b) Multiparametre su ölçer (oksijen, pH, sıcaklık, EC): Biyodeneyleler süresince deney ortamlarındaki suyun çözünmüş oksijen, pH, sıcaklık ve elektrik iletkenliğini ölçmede YSI Proplus model su ölçüm cihazı kullanılmıştır.
- c) Histolojik preparat hazırlama cihazları: Doku kesitlerinin hazırlanmasında proje kapsamında temin edilen Thermo Shandon rotary mikrotom, su banyosu ve bloklamada parafin dispencer cihazı kullanılmıştır.
- d) Mikroskop: Doku kesitlerinin incelenmesinde ve görüntülenmesinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı imkanlarından yararlanılmıştır.
- e) Biyokimya analizleri: Roche Modüler P800 analizör (Roche Diagnostics GmbH Corp.) ve kitleri ile yapıldı.



Resim 4.1. Tatlı su istakozlarının akvaryumlarda görünümü

4.2. Yöntem

4.2.1. Tatlı su istakozlarının adaptasyonu

Tatlı su istakozları deney öncesinde bir ay süresince deney ortamına alıştırma amacıyla adaptasyon periyoduna tabi tutulmuşlardır (Şekil 3.1). Bu dönemde öncelikle tatlı su istakozları için 100 L'lik akvaryum düzenekleri hazırlanmıştır. Deneylerde, klorun giderilmesi amacıyla 48 saat dinlendirilmiş ve havalandırılmış çeşme suyu kullanılmıştır. Balıkçılardan canlı olarak temin edilen tatlı su istakozları içerisinde su olan polisitrin köpüklerde deney ortamına getirilmişlerdir. Suyun uygun ısıyı ayarlanınca tatlı su istakozları, akvaryumlara rastgele olarak yerleştirilmiş, kanibalizm ve kavga önlemek için suyun içersine polietilen plastik borular yerleştirilmiştir. Su sıcaklığı termostatl ısıtıcılarla sabit tutulmuş, hava motorları yardımıyla sürekli havalanma sağlanmıştır. Suyun oksijen, pH, iletkenlik ve sıcaklığı bu dönemde 2 günde bir ölçülmüştür. Tatlı su istakozlarının günlük olarak taze balıkla *ad libitum* olarak beslemeleri yapılmış, beslenme sonrasında yem ve metabolizma atıklarının uzaklaştırılması amacıyla akvaryumlar sifonlama yapılarak temizlenmiş ve temiz su ilavesi yapılmıştır.

4.2.2. Amonyak çözeltisinin hazırlanması

Stok çözelti, katı haldeki amonyum klorürün tartılarak distile suda çözülmesi ile elde edilmiştir. Deneyde kullanılan amonyak subletal konsantrasyonları Benli ve ark (2005) tarafından tatlı su istakozları için saptadıkları 96 saatlik LC₅₀ değerinin (122,55 (100,61-139,86) mg/L) yaklaşık 1/10'u ve 1/2'si olarak belirlenmiştir. Deneylerde sırasıyla 12,3 ve 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonları kullanılmıştır. Stok ve doz çözeltileri kullanılana kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

4.2.3. Deneylerin gerçekleştirilmesi

Deneylerde, zehirlilik seyrelme faktörü (ZSF) tayin metodu, APHA, OECD, FAO ve TSE'nin metotlarından da yararlanılmıştır (Anonymous, 1975, Reish ve Oshida, 1987, Anonim, 1989; 1990; 1991). Çözelti, ortam sıcaklığına getirilerek deney düzeneğine verilmiştir. Denemelerde, yarı statik yöntemi kullanılmış, 48 saatlik periyodlar içinde deney ortamı yenilenmiştir.

Tatlı su istakozları bir hafta süresince 12,3 ve 61,25 mg/L amonyağa maruz bırakılmışlardır. 24, 48, 96 ve 168. saatler sonunda 7 şer tatlı su istakozundan örnekleme yapılmıştır. Deney süresince sadece bir tane kontrol grubu kullanılmıştır.

Tatlı su istakozundan hemolemf alınması

Hemolemf, 2,5 ml'lik enjektör kullanılarak tatlı su istakozlarının ikinci yürüme bacağına kaidesinden alınmıştır. Hemolemf örnekleri önce santrifüj edilerek daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda saklanmıştır [Yavuzcan ve Benli, 2004].

Toplam hemosit sayısının belirlenmesi

Hemolemf, 2,5 ml'lik enjektör kullanılarak tatlı su istakozlarının ikinci yürüme bacağına kaidesinden alınmıştır. Toplam hemosit sayısı hemositometre kullanılarak Yavuzcan ve Benli (2004)'ye göre yapılmıştır.

Hemolemf Analizleri

Hemolemf biyokimyasal analizlerinden glukoz (mg/dL), total protein (g/dL), sodyum (mEq/L), potasyum (mEq/L), klorür (mEq/L) ve laktik asit (mmol/L) analizleri Roche Modüler P800 analizör (Roche Diagnostics GmbH Corp.) ve kitleri kullanılarak yapıldı. Glukoz test prensibi; glukoz oksidaz metodudur.

4.2.4. Histolojik inceleme için örnekleme

Deneyler sonunda, buz anestezi uygulaması yardımıyla öldürülen tüm tatlı su istakozlarının diseksiyonu yapılmıştır. Diseksiyon sonucu alınan doku örnekleri, Davidson tespit sıvısına (330 mL- % 95'lik etil alkol; 220 mL- formalin; 115 mL glasiyal asetik asit; 335 mL distile su) alınmıştır [Bell ve Lighner, 1988]. 24 saat süresince bu solüsyonda bırakılan tatlı su istakozu dokuları daha sonra % 70 lik etil alkole aktarılmışlardır. Dokular daha sonra doku takibinin gerçekleştirilmesi amacıyla plastik kasetlere küçültülerek alınmıştır. Doku takibine kadar plastik kasetlerde % 70'lik etil alkol içinde bekletilmişlerdir.

4.2.5. Doku takibinin gerçekleştirilmesi

Tatlı su istakozlarının % 70'lik etil alkol içerisinde bekleyen dokuları önce dehidrasyon amaçlı olarak her birinde ikişer saat kalacakları %70, 80, 90, 96 ve absölü etil alkol serilerine maruz bırakılmışlardır. Daha sonra alkolün uzaklaşması ve parlatma işlemi için 2 saat süre ile ksilolden geçirilerek; 56-58°C'de ksilollü parafin ve parafinde ikişer saat bekletilip gömülmüşlerdir. Gömmek için özel kalıplar içerisine sıvı parafin doldurularak doku parçaları yerleştirilmiştir. Parafin bloklar kesim öncesinde buzdolabında saklanmıştır [Luna, 1968].

4.2.6. Parafin bloklardan doku kesitlerinin alınması

Parafin bloklardan histolojik inceleme için, rotary Thermo Shandon mikrotom ile 5-6 mikron kalınlığında kesitlerin alınmıştır. Daha sonra kesitler ısıtılmış su banyosunda lam üzerine yerleştirilmiştir. Lamalar 50-60°C'ye ayarlanmış etüvde 1 gece kurutularak parafinli kesitlerin lama iyice yapışması sağlanmıştır. Lamalar daha sonra Presnell and Schreibman, (1997) prosedürlerine göre Hematoksilen ve Eozinle boyanmıştır. Hematoksilen ve Eozin ile boyanan dokular kanada balsamı ile yapıştırılarak sabit preparat haline getirilmiştir [Luna, 1968].

4.2.7. Histolojik preparatların incelenmesi

Dokuların incelenmesi, değerlendirilmesi ve görüntülenmesinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalının imkanlarından yararlanılmıştır. Tatlı su istakozuna ilişkin mevcut bir histoloji atlası bulunmadığından değerlendirmede karides histoloji atlası (Bell ve Lightner, 1988) ve açık literatürde bulunan araştırma makalelerinden faydalanılmıştır.



Resim 4.2. Mikrotomla kesit alınması

İstatistiksel Analiz

Deney sonrasında elde edilen biyokimyasal sonuçlar için dozlar ve ölçüm zamanları arasındaki farkın anlamlı ($p < 0,05$) yada anlamsız ($p > 0,05$) olduğunu anlamak için SPSS programı kullanılarak non-Parametrik Mann Whitney U testi uygulanmıştır.

5. BULGULAR

5.1. Hemolemf Parametrelerine İlişkin Bulgular

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı doza (12,3 mg/L ve 60,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan biyokimya sonuçlarına ait ortalama ve standart sapma değerleri kontrol grubu ile beraber Çizelge 5.1. ve Çizelge 5.2. de gösterilmiştir.

Deney sırasında toplam 7 istakozdan oluşan sadece bir tane kontrol grubu kullanılmıştır.

Çizelge 5.1. 12,3 mg/L doz uygulanan deney gruplarında saptanan biyokimya sonuçları

Saat	Glukoz (mg/dL) Ort±Ss	Total Protein (g/dL) Ort±Ss	Sodyum (mEq/L) Ort±Ss	Potasyum (mEq/L) Ort±Ss	Klorür (mEq/L) Ort±Ss	Laktik Asit (mmol/L) Ort±Ss
24	4,14± 2,11	2,1±0,46	168,57±19,34	3,72±0,39	175,42±23,22	0,28±0,15
48	10,95±5,75	2,34±0,68	183,78±11,58	4,56±0,34	193,92±14,15	0,69±0,49
96	13,57±1,92	2,19±0,59	162,57±61,89	4,56±0,76	165,83±69,58	0,99±0,85
168	7,33±5,57	2,97±1,20	185,33±25,81	4,77±0,66	195,16±30,66	1,28±0,67
Kontrol	3,57±1,90	2,46±0,59	186,57±9,34	4,16±0,68	196,85±6,76	0,24±0,09

Çizelge 5.2. 61,25 mg/L doz uygulanan deney gruplarında saptanan biyokimya sonuçları

Saat	Glukoz(mg/dL) Ort±Ss	Total Protein (g/dL) Ort±Ss	Sodyum(mEq/L) Ort±Ss	Potasyum(mEq/L) Ort±Ss	Klorür (mEq/L) Ort±Ss	Laktik Asit (mmol/L) Ort±Ss
24	8,66±8,06	2,21±0,46	156,5±69,01	4,39±0,41	165,5±73,34	0,46±0,43
48	17,42±6,37	2,14±0,79	204±13,07	5,49±0,32	225±15,03	0,78±0,56
96	16,4±9,44	2,86±0,75	181,85±51,89	4,58±0,94	201,42±44,55	1,04±1,41
168	10,9±6,74	2,62±0,92	192,33±9,73	5,25±1,03	206,3±12,33	0,96±0,35
Kontrol	3,57±1,90	2,46±0,59	186,57±9,34	4,16±0,68	196,85±6,76	0,24±0,09

5.1.1. Hemolemf glukoz değerleri

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan glukoz (mg/dL) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 5.3. bar grafikler Şekil 5.1. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.3. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan glukoz (mg/dL) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.

Saat	Hemolemf Glukoz Değerleri (mg/dL)		
	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 mg/L n=7	Kontrol n=7
24	4,14± 2,11 ^{jk}	8,66±8,06	3,57 ±1,90
48	10,95±5,75 ^{ag}	17,42±6,37 ^{dm}	
96	13,57±1,92 ^{bh}	16,4±9,44 ^e	
168	7,33±5,57 ^c	10,9±6,74 ^f	

^a $p=0,008$ Kontrol grubu ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^b $p=0,004$ Kontrol grubu ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^c $p=0,007$ Kontrol grubu ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^d $p=0,002$ Kontrol grubu ile 48. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^e $p=0,014$ Kontrol grubu ile 96. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^f $p=0,006$ Kontrol grubu ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

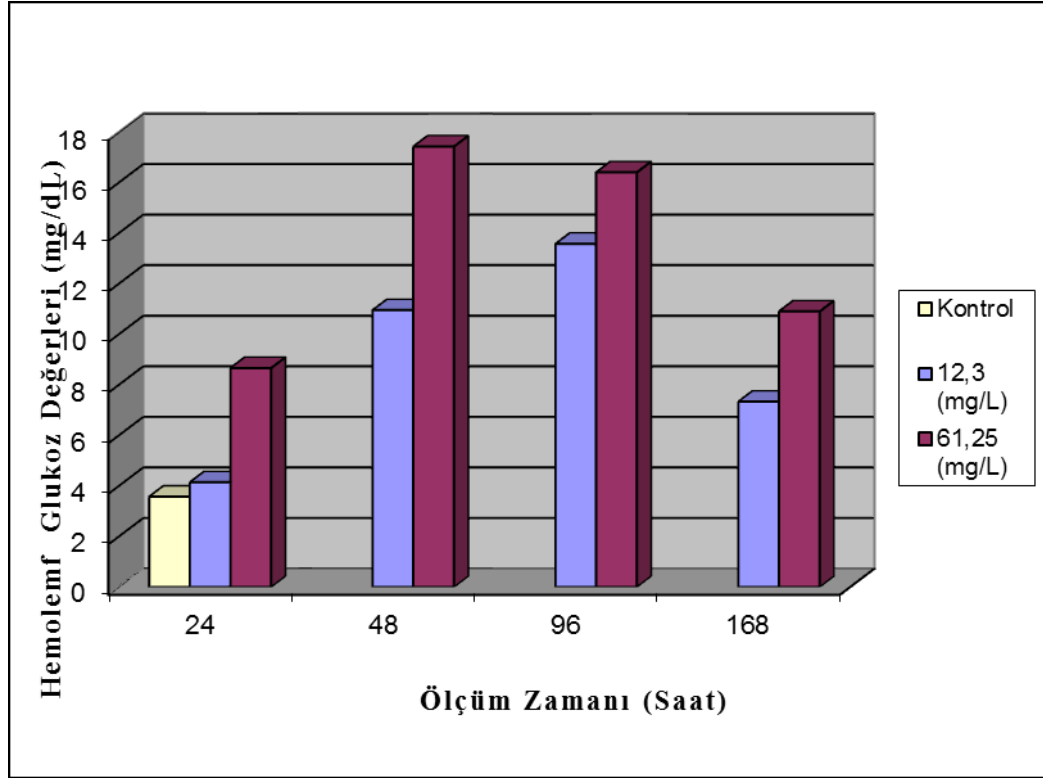
^g $p=0,021$ 48. saat 12,3 mg/L doz ile 24. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^h $p=0,004$ 96. saat 12,3 mg/L doz ile 24. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^j $p=0,002$ 24 saat 12,3 mg/L doz ile 48. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^k $p=0,012$ 24 saat 12,3 mg/L doz ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^m $p=0,015$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması



Şekil 5.1. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan glukoz (mg/dL) değerlerine ilişkin bar grafikleri

Çizelge 5.3. ve Şekil 5.1. de görüldüğü gibi farklı ölçüm süreleri ile (24, 48, 96 ve 168. saat) iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) 96 saate kadar hemolemf glukoz değerlerinde paralel bir artış saptanmıştır.

Ayrıca 12,3 mg/L ve 61,25 mg/L uygulanan dozlarda farklı ölçüm saatlerinde hemolemf glukoz değerleri kontrol gruplarına göre artmıştır.

Uygulanan istatistiksel analiz testi (Mann Whitney U) sonuçlarına göre 12,3 mg/L subletal amonyak dozu uygulanan 24 saatlik ölçüm grupları ile aynı doz uygulanan 48 ve 96 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 48 ve 168 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

12,3 mg/L subletal amonyak dozu uygulanan 168 saatlik ölçüm grupları ile 61,25 mg/L uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

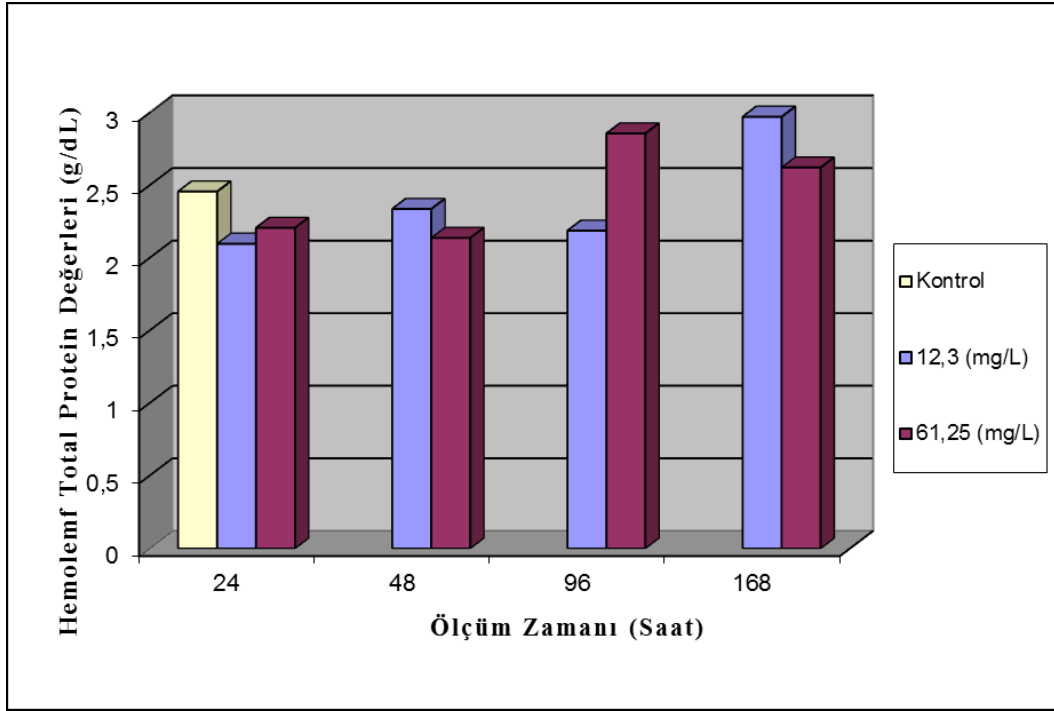
12,3 mg/L subletal amonyak dozu uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ile kontrol gurupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

5.1.2. Hemolemf total protein değerleri

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan Total Protein değerlerine ilişkin (g/dL) ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 5.4. bar grafikler Şekil 5.2. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.4. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan total protein (g/dL) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.

	Total Protein (g/dL)		
Saat	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 (mg/L) n=7	Kontrol n=7
24	2,1±0,46	2,21±0,46	2,46±0,59
48	2,34±0,68	2,14±0,79	
96	2,19±0,59	2,86±0,75	
168	2,97±1,20	2,62±0,92	



Şekil 5.2. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde saptanan total protein (g/dL) değerlerine ilişkin bar grafikleri

Çizelge 5.4. ve Şekil 5.2. de görüldüğü gibi farklı ölçüm süreleri ile (24, 48, 96 ve 168 .saat) iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) uygulanan dozlar ve ölçüm zamanları arasında ve dozlar ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p < 0,05$) saptanmamıştır.

Uygulanan non-parametrik istatistiksel analiz testi (Mann Whitney U) sonuçlarına göre hiçbir grup arasındaki istatistiksel fark anlamlı ($p < 0,05$) bulunmamıştır.

5.1.3. Hemolemf sodyum değerleri

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan Sodyum değerlerine ilişkin (mEq/L) ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 5.5. bar grafikler Şekil 5.3. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.5 Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan sodyum (mEq/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.

	Sodyum (mEq/L)		
Saat	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 (mg/L) n=7	Kontrol n=7
24	168,57±19,34 ^f	156,5±69,01	186,57±9,34
48	183,78±11,58	204±13,07 ^{abcde}	
96	162,57±61,89	181,85±51,89	
168	185,33±25,81	192,33±9,73	

^a $p=0,015$ Kontrol grubu ile 48.saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

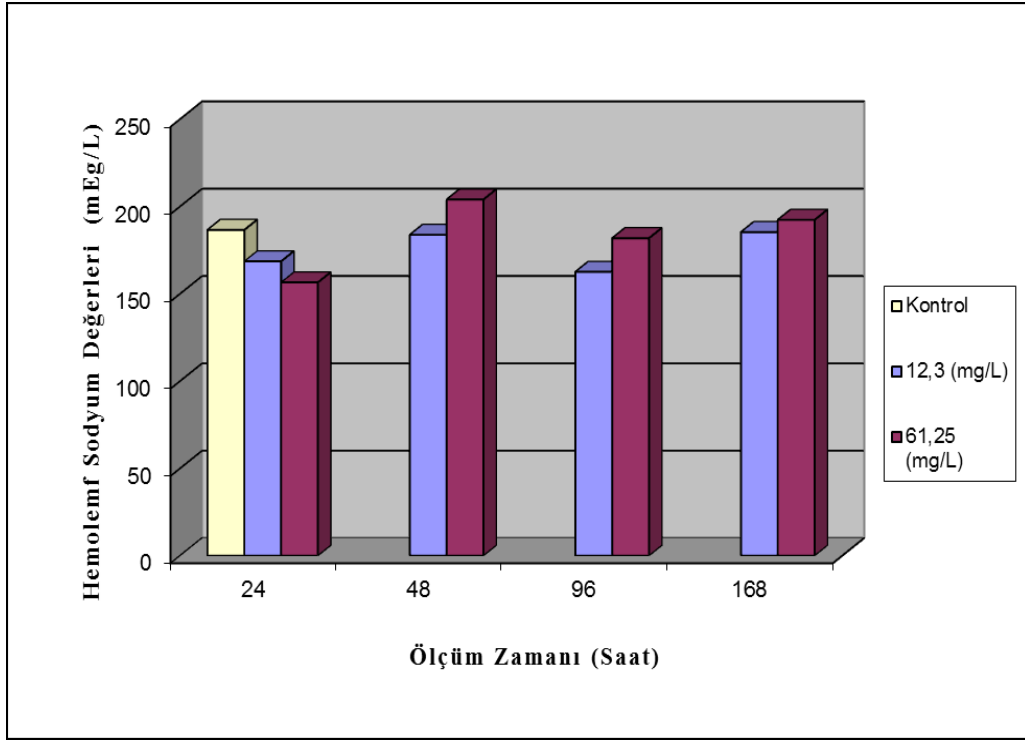
^b $p=0,012$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^c $p=0,004$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^d $p=0,038$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^e $p=0,038$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^f $p=0,015$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması



Şekil 5.3. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan sodyum (mEq/L) değerlerine ilişkin bar grafikleri

Uygulanan non-parametrik istatistiksel analiz testi (Mann Whitney U) sonuçlarına göre 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile 12,3 mg/L doz uygulanan 24, 48 ve 96 saatlik ölçüm grupları ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) fark bulunmuştur.

Buna ek olarak 12,3 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile 61,25 mg/L doz uygulanan 168 saatlik ölçüm grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) fark bulunmuştur.

5.1.4. Hemolemf potasyum değerleri

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan Potasyum değerlerine ilişkin (mEq/L)

ortalama ve standart sapma değerleri izelge 5.6. bar grafikler Şekil 5.4. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.6. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan potasyum (mEq/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.

	Potasyum (mEq/L)		
Saat	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 (mg/L) n=7	Kontrol n=7
24	3,72±0,39 ^{h j k m}	4,39±0,41 ⁿ	4,16±0,68
48	4,56±0,34	5,49±0,32 ^{a c d e f g}	
96	4,56±0,76	4,58±0,94	
168	4,77±0,66	5,25±1,03 ^b	

^a $p=0,003$ Kontrol grubu ile 48. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^b $p=0,032$ Kontrol grubu ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^c $p=0,014$ 48: saat 61,25 mg/L doz ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^d $p=0,004$ 48: saat 61,25 mg/L doz ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^e $p=0,002$ 48: saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^f $p=0,012$ 48: saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^g $p=0,011$ 48: saat 61,25 mg/L doz ile 96. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

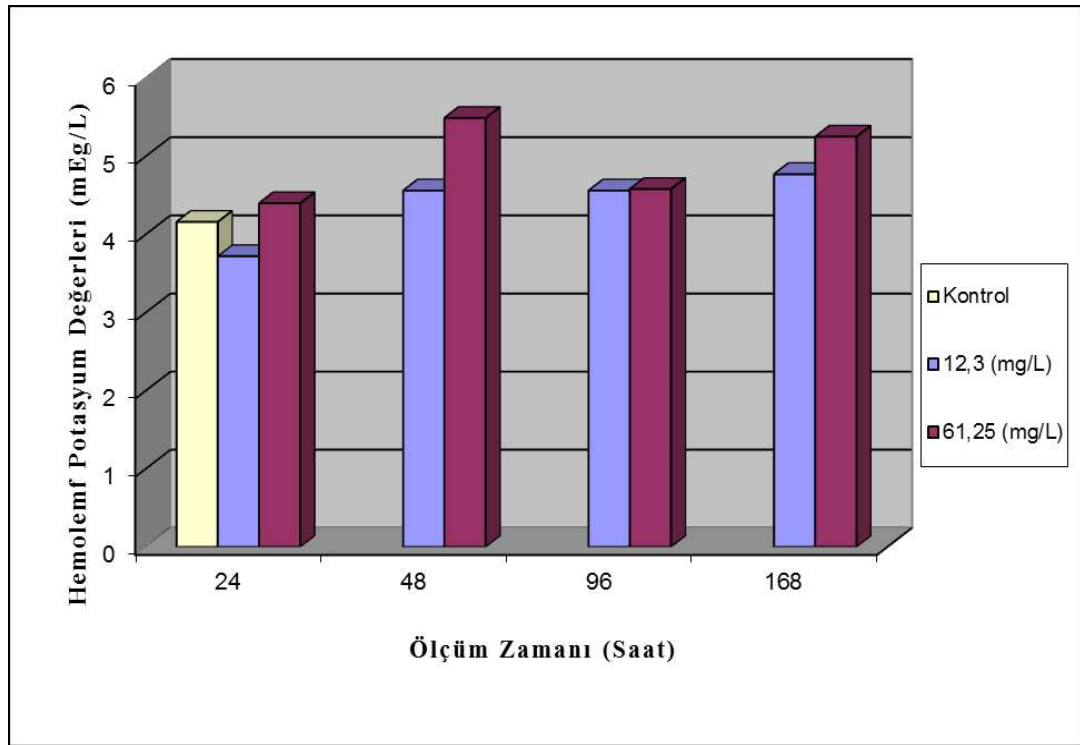
^h $p=0,019$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 24. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^j $p=0,003$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^k $p=0,004$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^m $p=0,005$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

ⁿ $p=0,045$ 24. saat 61,25 mg/L doz ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması



Şekil 5.4. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde saptanan potasyum (mEq/L) değerlerine ilişkin bar grafikler

Uygulanan non-parametrik istatistiksel analiz testi (Mann Whitney U) sonuçlarına göre 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile yine 61,25 mg/L doz uygulanan 24 ve 96 saatlik ölçüm grupları, 12,3 mg/L doz uygulanan 24, 48 ve 96 saatlik ölçüm grupları ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

12,3 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile yine 12,3 mg/L doz uygulanan 48 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 24 ve 168 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 168 saatlik ölçüm grubu ile yine 61,25 mg/L doz uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

5.1.5. Hemolemf klorür değerleri

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan klorür değerlerine ilişkin (mg/L) ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 5.7. bar grafikler Şekil 5.5. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.7. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan klorür (mEq/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.

	Klorür (mEq/L)		
Saat	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 (mg/L) n=7	Kontrol n=7
24	175,42±23,22	165,5±73,34	196,85±6,76
48	193,92±14,15	225±15,03 ^{abcdef}	
96	165,83±69,58	201,42±44,55	
168	195,16±30,66	206,3±12,33 ^{gh}	

^a $p=0,007$ Kontrol grubu ile 48. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^b $p=0,003$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^c $p=0,010$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

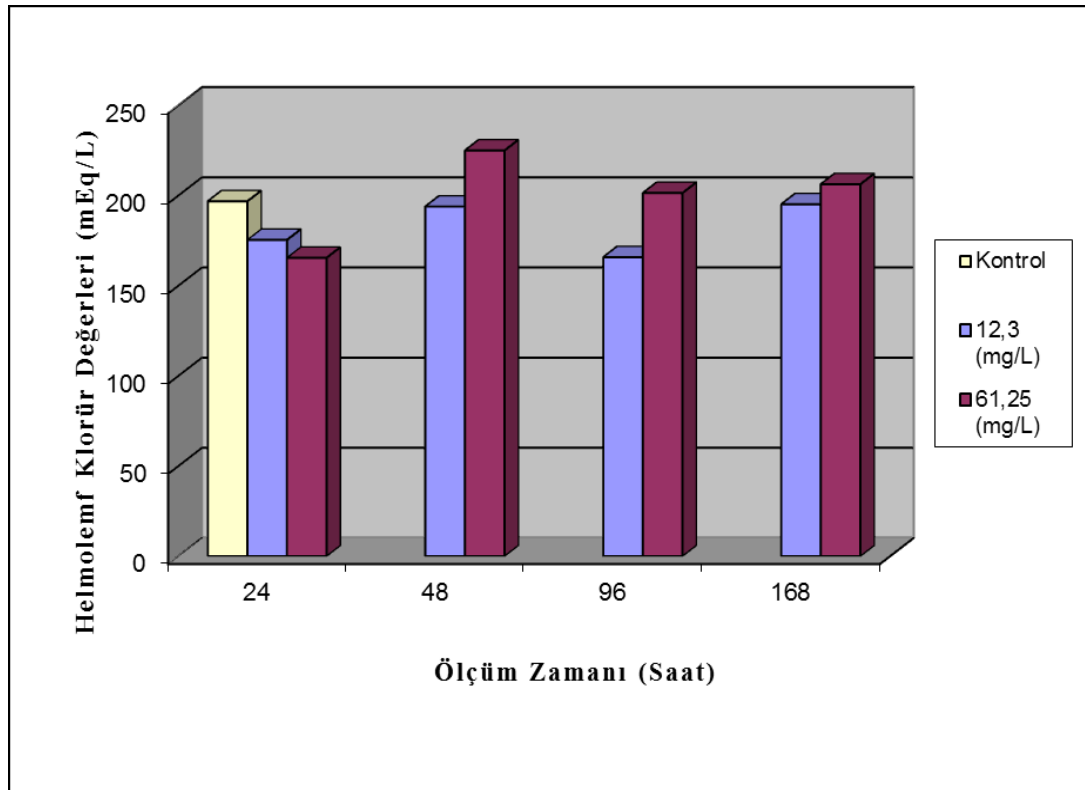
^d $p=0,007$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^e $p=0,032$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^f $p=0,007$ 48. saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^g $p=0,010$ 168. saat 61,25 mg/L doz ile 24. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^h $p=0,028$ 168. saat 61,25 mg/L doz ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması



Şekil 5.5. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde saptanan klorür (mEq/L) değerlerine ilişkin bar grafikleri

Uygulanan non-parametrik istatistiksel analiz testi (Mann Whitney U) sonuçlarına göre 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile yine 61,25 mg/L doz uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu, 12,3 mg/L doz uygulanan 24,48,96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 168 saatlik ölçüm grubu ile 12,3 mg/L doz uygulanan 24 ve 96 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

5.1.6. Hemolemf laktik asit değerleri

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan laktik asit değerlerine ilişkin (mmol/L) ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 5.8. bar grafikler Şekil 5.6. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.8. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde saptanan laktik asit (mmol/L) değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri.

	Laktik Asit (mmol/L)		
Saat	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 (mg/L) n=7	Kontrol n=7
24	0,28±0,15 ^{ghjkmn}	0,46±0,43 ^{pr}	0,24±0,09
48	0,69±0,49 ^a	0,78±0,56 ^d	
96	0,99±0,85 ^b	1,04±1,41 ^e	
168	1,28±0,67 ^c	0,96±0,35 ^f	

^a $p=0,006$ Kontrol grubu ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^b $p=0,013$ Kontrol grubu ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^c $p=0,017$ Kontrol grubu ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^d $p=0,023$ Kontrol grubu ile 48. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^e $p=0,001$ Kontrol grubu ile 96. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^f $p=0,002$ Kontrol grubu ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^g $p=0,012$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 48. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^h $p=0,018$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 96. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

^j $p=0,013$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması

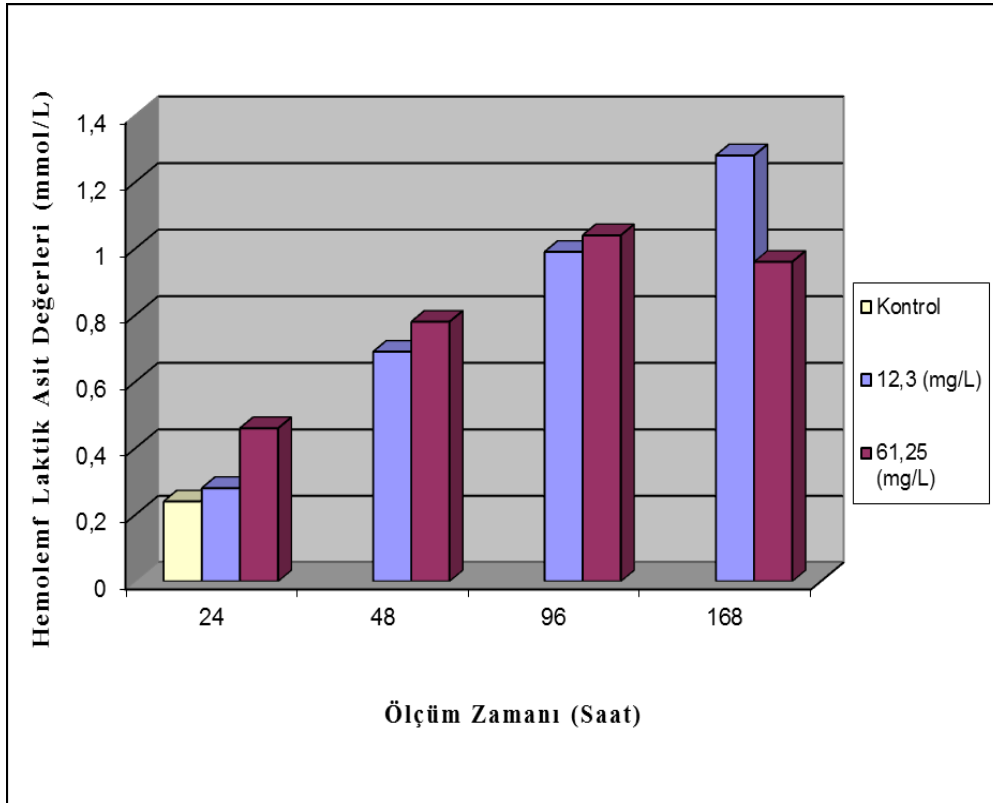
^k $p=0,039$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 48. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^m $p=0,002$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 96. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

ⁿ $p=0,004$ 24. saat 12,3 mg/L doz ile 168. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^p $p=0,027$ 24. saat 61,25 mg/L doz ile 96. saat 61,25 mg/L dozun karşılaştırılması

^r $p=0,042$ 24. saat 61,25 mg/L doz ile 168. saat 12,3 mg/L dozun karşılaştırılması



Şekil 5.6. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde saptanan laktik asit (mmol/L) değerlerine ilişkin bar grafikleri

Çizelge 5.8 ve Şekil 5.6. de görüldüğü gibi farklı ölçüm süreleri ile(24, 48, 96 ve 168 saat) iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarında(*Astacus leptodactylus*) 168 saate kadar hemolemf laktik asit değerlerinde paralel bir artış saptanmıştır.

Ayrıca 12,3 mg/L ve 61,25 mg/L uygulanan dozlarda farklı ölçüm saatlerinde hemolemf laktik asit değerleri kontrol gruplarına göre artmıştır.

Uygulanan non-parametrik istatistiksel analiz testi (Mann Whitney U) sonuçlarına

göre 12,3 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile yine 12,3 mg/L doz uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile yine 61,25 mg/L doz uygulanan 96 saatlik ölçüm grubu ve 12,3 mg/L doz uygulanan 168 saatlik ölçüm grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

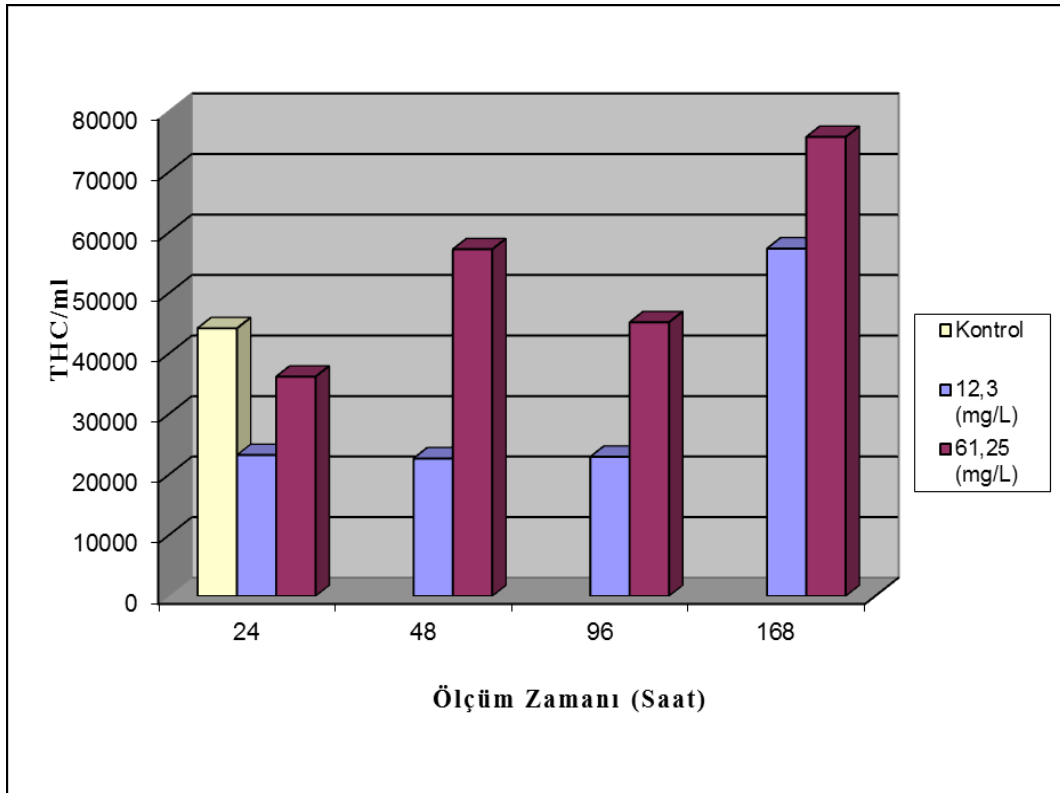
12,3 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 48, 96 ve 168 ölçüm grupları ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

5.2. Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde yapılan toplam hemosit sayımı ortalama ve standart hata değerleri Çizelge 5.9. bar grafik Şekil 5.7. de gösterilmiştir.

Çizelge 5.9. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde yapılan toplam hemosit sayımına ilişkin ortalama ve standart hata değerleri.

	THC/ml		
Saat/Doz	Doz 12,3 (mg/L) n=7	Doz 61,25 (mg/L) n=7	Kontrol n=7
24	23303,57±16,94	36250±26,04	44250±24,79
48	22734,37±14,67	57302,63±27,94	
96	23000±14,95	45238,09±23,21	
168	57421,87±26,48	75865,38±42,69	



Şekil 5.7. Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde yapılan toplam hemosit sayımına ilişkin bar grafikleri

Çizelge 5.9. ve Şekil 5.7. de görüldüğü gibi farklı ölçüm süreleri ile(24, 48, 96 ve 168 saat) iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozların (*Astacus leptodactylus*) hemolemflerinde yapılan toplam hemosit sayımı sonuçlarında 12,3 mg/L uygulanan dozda 24, 48 ve 96 saatlik ölçümlerde kontrol gruplarına göre düşüş, 168 saatlik ölçüm gruplarında ise artış saptanmıştır. 61,25 mg/L uygulanan dozda ise 48 ve 168 saatlik ölçüm gruplarında bir artış saptanmıştır.

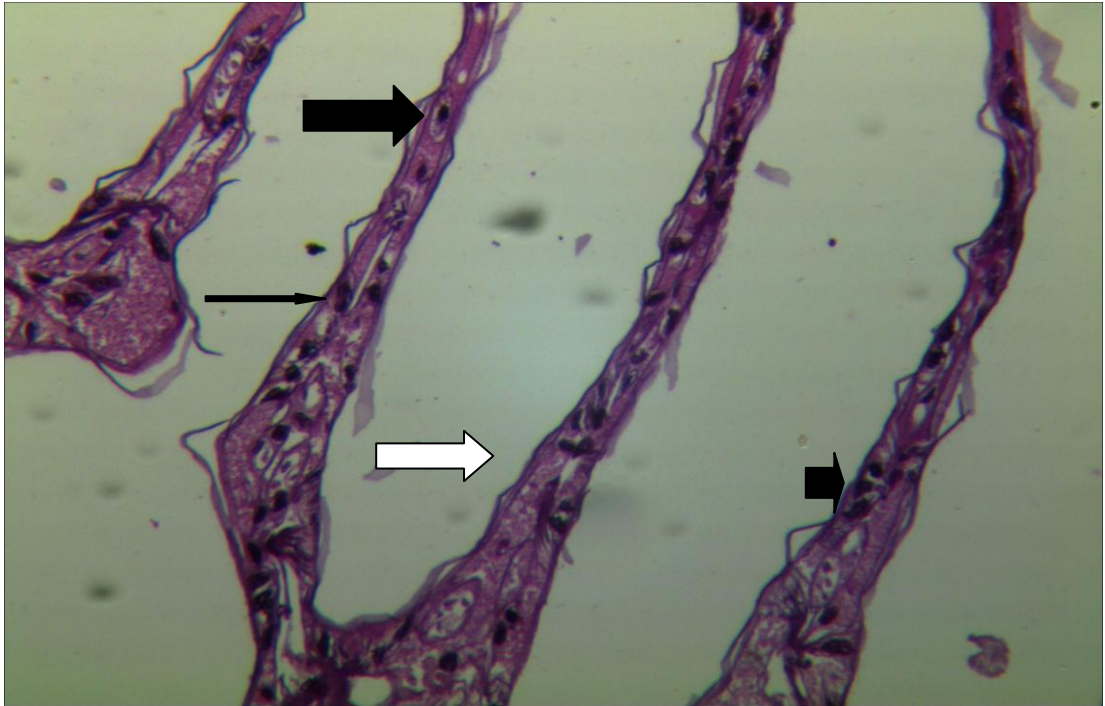
5.3. Tatlı Su İstakozu Dokularına İlişkin Bulgular

5.3.1. Solungaç dokularına ilişkin bulgular

Kontrol gruplarındaki tatlı su istakozu solungaç dokularında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır.

Kontrol grubu solungaç dokusu

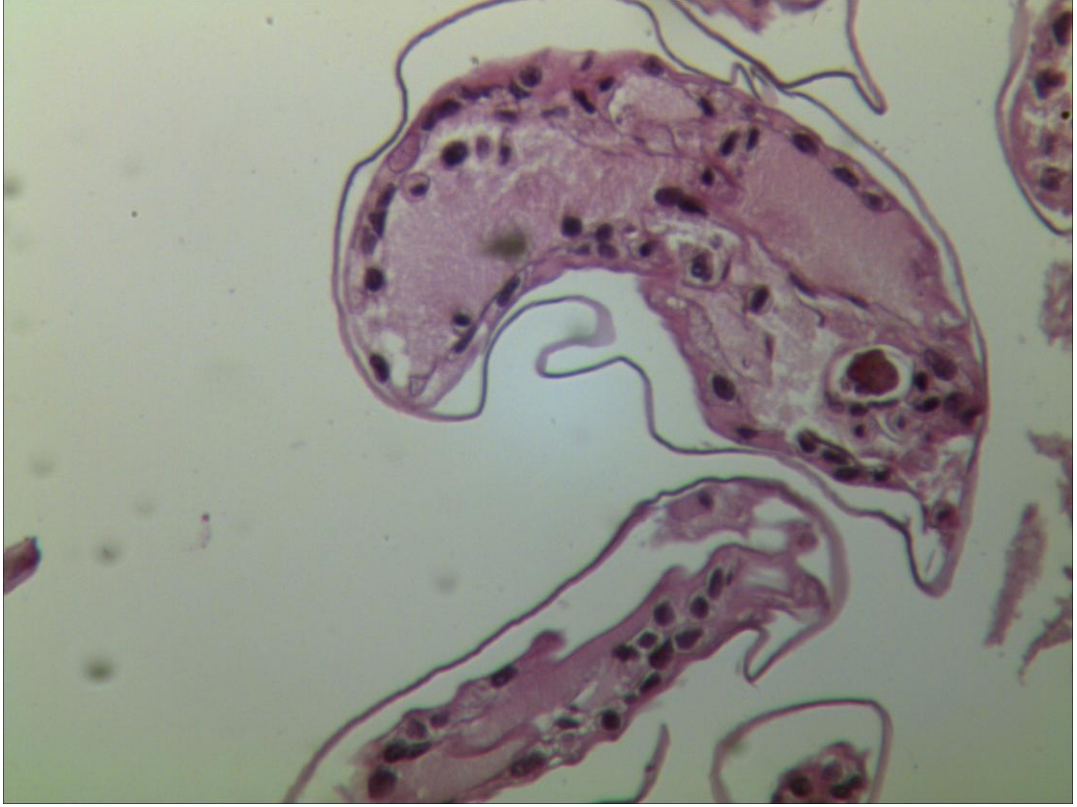
Tatlı su istakozunda solungaçların branşiyal odacığının içinde sephalotoraksın her iki yanında yerleşik olarak bulunur. Trichobranchiate kerevit solungacı altı podobranş, onbir athrobranş ve her odacıkta bir tane pleurobranş bulunur. Tüylü solungaçlar, ikinci ve üçüncü maksilipedlerin ve ilk dört yürüme bacağıının bazal segmentinden çıkmaktadırlar. Silindirik kök hücre, affarent ve efferent damarlar ve çok sayıda tubuler filamentten oluşur.



Resim 5.1. Kontrol grubuna ait solungaç laminası kutikula (siyah ok) , epitel hücre (kısa siyah ok) pillar hücre (ince siyah ok) hemolemf boşluğu (beyaz ok)

Amonyaga maruz kalan istakozların solungaç dokularına ilişkin bulgular

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) yapılan histolojik inceleme sonucunda solungaçlar dokuları histolojik olarak incelenmiştir. 12,3 mg/L ye maruz kalan tatlı su istakozlarının 24 ve 48. saatte ve 61,25 mg/L maruz kalanlarda ise 24. saatte solungaç dokularında histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. 12,3 mg/L ye maruz kalan tatlı su istakozlarının 96 ve 168. saatte ve 61,25 mg/L maruz kalanlarda ise 48, 96 ve 168 saatlerde yapılan incelemelerde solungaç dokularında hiperemi benzeri yapı (Resim 5.3.), hemolemf infiltrasyonu ve melanizasyon (Resim 5.4.) saptanmıştır.



Resim 5.3. Solungaç dokusunda hiperemi benzeri yapılar



Resim 5.4. Solungaç dokusunda melanizasyon

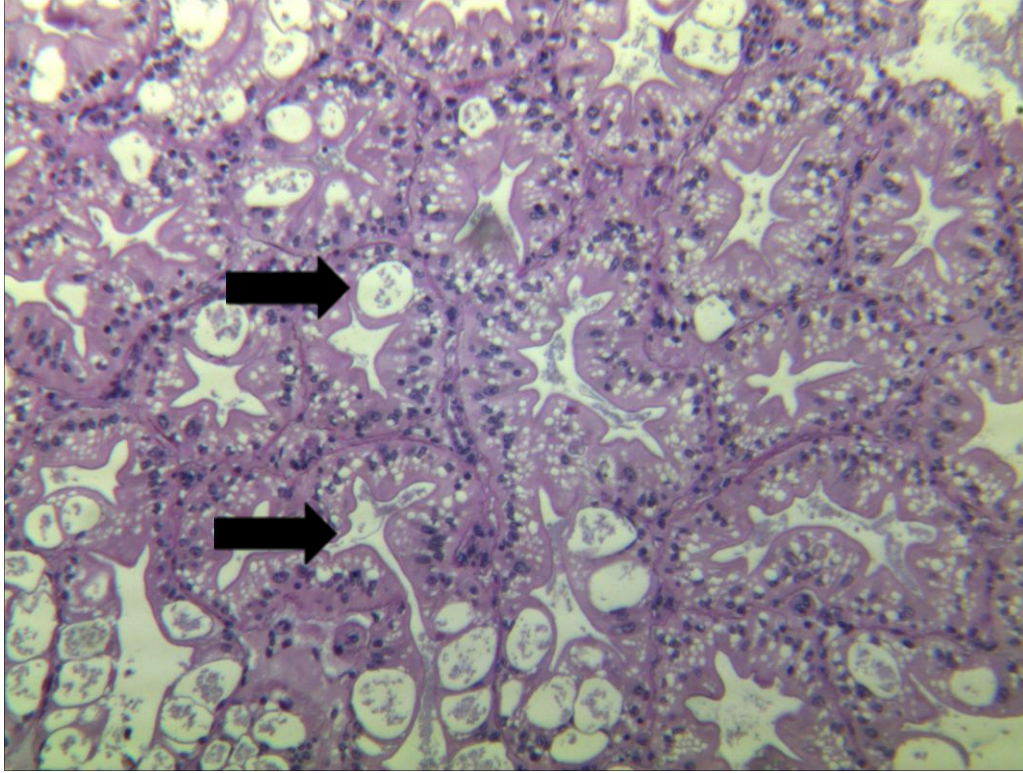
5.3.2. Hepatopankreas dokularına ilişkin bulgular

Kontrol gruplarındaki tatlı su istakozu hepatopankreas dokularında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır.

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 oluşur. 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

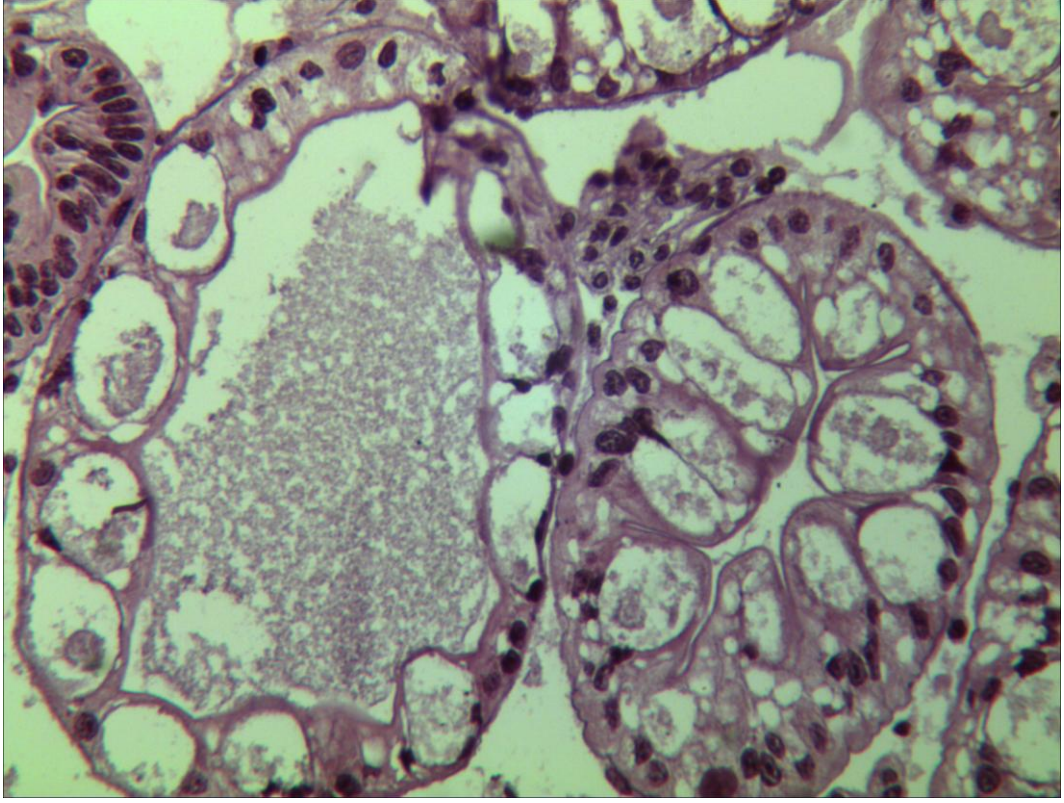
lumene karışıkları yüzeydeki hücreler mikronükleus fırça kenarlarla kaplıdır. Tubuller arası hemal sinüs vardır.



Resim 5.2. Kontrol grubuna ait hepatopankreasın histolojik görünümü (X40; H&E); Hepatopankreas tubulleri (siyak oklar)

Amonyaga maruz kalan istakozların hepatopankreas dokularına ilişkin bulgular

Dört farklı ölçüm zamanında (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) yapılan histolojik inceleme sonucunda hepatopankreas dokuları histolojik olarak incelenmiştir. Her iki konsantrasyonda da 24. saatte herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. 48. saatten itibaren yapılan histolojik inceleme sonucunda hepatopankreasta lumen dejenerasyonu, lumenlerde genişleme (Resim 5.5.) ve ödem saptanmıştır. Lezyonlar 12,3 mg/L konsantrasyonda daha fokal bir çizelge izlemiştir.



Resim 5.5. Hepatopankreasta lumen dejenerasyonu ve lumenlerde genişleme ve ödem

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Tatlı Su İstakozlarında Hemolemf Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

6.1.1. Hemolemf glukoz değerleri

Bu çalışmada amonyağa maruz kalan (*Astacus leptodactylus*) cinsi tatlı su istakozlarının hemolemf glukoz değerleri, her iki subletal amonyak dozunda da (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) 24 saatlik ölçüm grupları haricinde tüm ölçüm grupları, (48, 96 ve 168 saat) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada 24 saatlik ölçüm grubu haricinde amonyağa maruz kalan dozlar ve ölçüm gruplarında hemolemf glukoz değerlerinde istatistiki olarak önemli düzeyde artış saptanmıştır.

Bu bulgulara benzer olarak, Benli (2006), yaptığı çalışmada 4 farklı subletal amonyak konsantrasyonlarına (1, 2, 5 ve 10 mg/L) maruz bıraktığı Nil tilapia balıklarında plazma glukoz değerlerinin 1 mg/L TA-N (toplam amonyak azotu) haricindeki amonyak konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre arttığını saptamıştır ($p < 0.05$).

Knoph ve Thorud (1996), yaptıkları çalışmada 2-3 gün süre ile 225 µg/L NH₃- N'na maruz kalan Atlantik salmonlarında plazma glukoz değerlerinin arttığını bildirmişlerdir.

Weinstein ve Kimmel (1998), çalışmalarında üç gün süre ile 0.8 mg/L amonyak konsantrasyonlarına maruz kalan sazan balıklarında % 61.4 oranında ve Das ve ark., (2004) ise 96 saat boyunca 16 mg/L TA-N'na maruz kalan mrigal balıklarında amonyak konsantrasyonundaki artış ile kan glukoz değerlerinin % 72 oranında arttığını saptamışlardır.

Ayrıca Dinçel ve ark., (2012), tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) ile yaptıkları çalışmada hemolemf biyokimyasal parametrelerin referans aralığını belirlemişlerdir. Glukoz için analiz edilen ortalama ve standart sapma değerleri; (4.8 ± 2.8 mg/dL) olarak tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada görüldüğü gibi saptanan referans glukoz değerleri ile karşılaştırıldığında subletal amonyak dozlarına maruz bırakılan istakozlarda hemolemf glukoz değerlerinde önemli derecede artış olduğu görülmüştür.

Literatür taraması sonucu tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın plazma glukoz değerlerine etkisine ilişkin bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle bu çalışmada tatlı su istakozları için plazma glukozuna ilişkin elde edilen bulgular literatüre katkıda bulunabilir niteliktedir.

6.1.2. Hemolemf total protein değerleri

Bu çalışmada amonyağa maruz kalan (*Astacus leptodactylus*) cinsi tatlı su istakozlarının hemolemf total protein değerleri ile dozlar, kontrol ve ölçüm grupları arasında istatistiksel olarak hiçbir anlamlı fark ($p < 0,05$) bulunmamıştır.

Benli (2006), yaptığı çalışmada 4 farklı subletal amonyak konsantrasyonlarına (1, 2, 5 ve 10 mg/L) maruz bıraktığı Nil tilapia balıklarında 20°C’de deney başlangıcından 24 saat sonra ve deney sonunda subletal amonyak konsantrasyonlarına (TA-N) maruz kalan balıklarda toplam plazma proteini değerleri kontrole göre düşmüştür. 25°C’de ise deney başlangıcından 24 saat sonra yapılan ölçümlerde amonyağa maruz kalan balıklarda toplam plazma protein değerleri kontrol grubuna göre değişken şekilde artarken, deney sonunda ise tümünde kontrol grubuna göre düşmüştür.

Ayrıca Dinçel ve ark., (2012), tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz 1832) ile yaptıkları çalışmada hemolemf biyokimyasal parametrelerin referans aralığının belirlemişlerdir. Total protein için analiz edilen ortalama ve standart sapma değerleri (2.578 ± 1.005 g/dL) olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmada görüleceği

gibi saptanan referans total protein değerleri ile subletal amonyak dozlarına maruz bırakılan istakozlarda hemolemf total protein değerleri arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır.

Literatür taraması sonucu tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın toplam plazma protein değerlerine etkisine ilişkin bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle bu çalışmada tatlı su istakozları için toplam plazma proteinine ilişkin elde edilen bulgular literatüre katkıda bulunabilir niteliktedir.

6.1.3. Hemolemf sodyum değerleri

Bu çalışmada amonyağa maruz kalan (*Astacus leptodactylus*) cinsi tatlı su istakozlarının 61,25 mg/L doz uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile aynı doz uygulanan 24 saatlik ölçüm grupları ve 12,3 mg/L doz uygulanan 24, 48 ve 96 saatlik ölçüm grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) fark bulunmuştur.

Ayrıca sadece 61.25 mg/L doz uygulanan 48 saatlik ölçüm grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı artışı ($p < 0,05$) saptanmıştır.

Elde edilen verilerde özellikle 61,25 mg/L doz uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile diğer doz, kontrol ve ölçüm grupları arasında fark bulunması metabolik biyokimyasal tepkilerin özellikle 48 saatte açığı çıktığına dikkat çekmektedir.

Tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın hemolemf sodyum değerlerine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bu çalışmaya benzer olarak Jensen (1990), yaptığı çalışmada *Astacus astacus* cinsi istakozlar 7 gün boyunca 0.08 mM çevresel nitrite maruz bırakıldıktan sonra hemolemf sodyum oranında az miktarda düşüş olduğunu gözlemlemiştir.

Ayrıca Ruyet ve ark., (1997), 4-6 hafta süresince 0.8 mg/L NH₃-N'na maruz kalan kalkan balıklarında (*S.maximus*), Hrubec ve ark., (1997), 6 hafta süre ile 0.15 mg/L NH₃'e maruz kalan hibrit çizgili levrek (*Morone chrysops* ♀ x *M. saxatilis* ♂)'lerde

plazma Na değerlerinin azaldığını saptamışlardır. Knoph ve Olsen (1994), ise 2 ve 5 hafta süre ile 81 ve 100 µg/L NH₃-N'na maruz kalan Atlantik salmonlarında, (*S. salar*), Ruyet ve ark., (1998), 96 saat süreyle 1.27-4.27 mmol/L amonyak konsantrasyonlarına maruz kalan kalkan balıklarında, Foss ve ark., (2004), ise 96 gün 0.06 mg/L NH₃-N'una maruz kalan genç Atlantik morina (*G. morhua*)'larında plazma Na değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Dinçel ve ark., (2012), tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus* Eschscholtz ile yaptıkları çalışmada hemolemf biyokimyasal parametrelerin referans aralığının belirlemişlerdir. Sodyum için analiz edilen ortalama ve standart sapma değerleri; (190.3 ± 15.1 mequiv/L) olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda elde edilen sodyum değerleri ile subletal amonyak dozlarına maruz bırakılan istakozlarda saptanan sodyum değerleri arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür.

6.1.4. Hemolemf potasyum değerleri

Bu çalışmada amonyağa maruz kalan (*Astacus leptodactylus*) cinsi tatlı su istakozlarının hemolemf potasyum değerleri, 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile yine 61,25 mg/L doz uygulanan 24 ve 96 saatlik ölçüm grupları, 12,3 mg/L doz uygulanan 24, 48 ve 96 saatlik ölçüm grupları ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

12,3 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile yine 12,3 mg/L doz uygulanan 48 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 24 ve 168 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmada elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48 ve 168 saatlik ölçüm grupları istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir artış saptanmıştır.

Tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın hemolemf potasyum değerlerine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bu çalışmaya benzer olarak Jensen (1990), yaptığı çalışmada *Astacus astacus* cinsi istakozlar 7 gün boyunca 0.08 mM çevresel nitrite maruz bırakıldıktan sonra hemolemf potasyum değerlerinde değişme olmadığını belirtmiştir.

Ayrıca Ruyet ve ark., (1997), 4-6 hafta süresince 0.8 mg/L NH₃-N'na maruz kalan kalkan balıklarında, Ruyet ve ark., (2003), 84 gün süre ile 0.73 ve 0.88 mg/L NH₃-N'na maruz kalan kalkan balıklarında (*S. maximus*), Salin ve Williot (1991), 24 saat süre ile 1.7 mg/L amonyağa maruz kalan Sibiry Mersin (*A. baeri*)'lerinde, Foss ve ark., (2004), ise 96 gün 0.06 mg/L NH₃-N'na maruz genç Atlantik morina (*G. morhua*)'larında plazma K değerlerinin arttığını saptamışlardır. Ruyet ve ark., (1998), 96 saat süreyle 1.27-4.27 mmol/L amonyak konsantrasyonlarına maruz kalan kalkan balıklarında, Knoph ve Thorud (1996), 14-15 gün süre ile 22 µg/L NH₃-N'na maruz kalan Atlantik salmonlarında plazma K değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Dinçel ve ark., (2012), tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus* Eschscholtz ile yaptıkları çalışmada hemolemf biyokimyasal parametrelerin referans aralığının belirlemişlerdir. Potasyum için analiz edilen ortalama ve standart sapma değerleri; (4.795 ± 1.057 mequiv/L) olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmada saptanan referans potasyum değerleri ile çalışmamızda saptanan potasyum değerleri arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür.

Yapılan literatür araştırması sonucunda tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın potasyum düzeyine etkilerine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada tatlı su istakozları için plazma potasyum değerine ilişkin elde edilen bulgular literatüre katkıda bulunabilir niteliktedir.

6.1.5. Hemolemf klorür değerleri

Bu çalışmada amonyağa maruz kalan (*Astacus leptodactylus*) cinsi tatlı su istakozlarının hemolemf klörür değerleri, 61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile aynı doz uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu, 12,3 mg/L doz uygulanan 24,48,96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 168 saatlik ölçüm grubu ile 12,3 mg/L doz uygulanan 24 ve 96 saatlik ölçüm grupları arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

Ancak elde edilen bulgularda da görüldüğü gibi 61.25 mg/L doz uygulanan 48 saatlik ölçüm grubu hariç dozlar ve ölçüm grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış ya da azalma görülmemiştir.

Elde edilen verilerde özellikle 61,25 mg/L doz uygulanan 48 saatlik ölçüm grupları ile diğer doz, kontrol ve ölçüm grupları arasında fark bulunması metabolik biyokimyasal tepkilerin özellikle 48 saatte açığa çıktığına dikkat çekmektedir.

Tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın hemolemf potasyum değerlerine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bu çalışmaya benzer olarak Jensen (1990), yaptığı çalışmada çalışmada *Astacus astacus* cinsi istakozlar 7 gün boyunca 0.08 mM çevresel nitrite maruz bırakıldıktan sonra hemolemf klorür iyonu değerlerinde düşüş olduğunu belirtmiştir.

Ayrıca çalışmamızda elde edilen bulgulara benzer olarak Knoph ve Thorud (1996), 2-3 gün süre ile 225 µg/L NH₃-N'na; Knoph ve Olsen (1994), ise 2 ve 5 hafta süre ile 81 ve 100 µg/L NH₃-N'na maruz kalan Atlantik salmonlarında plazma Cl değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Yapılan literatür araştırması sonucunda tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın klörür düzeyine etkilerine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada tatlı su istakozları için plazma klorür değerine ilişkin elde edilen bulgular literatüre katkıda bulunabilir niteliktedir.

6.1.6. Hemolemf laktik asit değerleri

Bu çalışmada amonyağa maruz kalan (*Astacus leptodactylus*) cinsi tatlı su istakozlarının hemolemf laktik asit değerleri, 12,3 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile yine 12,3 mg/L doz uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları ve 61,25 mg/L doz uygulanan 48, 96 ve 168 saatlik ölçüm grupları arasında arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

61,25 mg/L subletal amonyak konsantrasyonu uygulanan 24 saatlik ölçüm grubu ile yine 61,25 mg/L doz uygulanan 96 saatlik ölçüm grubu ve 12,3 mg/L doz uygulanan 168 saatlik ölçüm grubu arasındaki istatistiksel farkın anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmada her iki dozun 24 saatlik ölçüm grubu haricinde tüm doz ve ölçüm grupları ile kontrol grubu arasında olan fark istatistik olarak önemli düzeyde artmıştır. ($p < 0,05$)

Literatür taraması sonucu tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) amonyağın hemolemf laktik asit düzeyine etkilerine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle *Astacus leptodactylus* cinsi tatlı su istakozları için hemolemf laktik asit artışına ilişkin elde ettiğimiz bulgular literatüre katkıda bulunabilir niteliktedir.

6.2. Tatlı Su İstakozlarında Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Değerler

Bu çalışmada, farklı ölçüm süreleri (24, 48, 96 ve 168. saat) ve iki farklı subletal amonyak dozuna (12,3 mg/L ve 61,25 mg/L) maruz kalan tatlı su istakozların (*Astacus leptodactylus*) hemolemlerinde yapılan toplam hemosit sayımı sonuçlarında 12,3 mg/L uygulanan dozda 24, 48 ve 96 saatlik ölçümlerde kontrol gruplarına göre düşüş, 168 saatlik ölçüm gruplarında ise artış saptanmıştır. 61,25 mg/L uygulanan dozda ise 48 ve 168 saatlik ölçüm gruplarında bir artış saptanmıştır.

Bu çalışmaya benzer olarak, Yavuzcan ve Benli (2004), yaptıkları çalışmada 48 saat süresince farklı nitrit konsantrasyonuna maruz kalan *Astacus leptodactylus*'larda yaptıkları çalışmada hemolemf nitrit ve glukoz artarken toplam hemosit sayısı azaldığını bildirmişlerdir.

6.3. Tatlı Su İstakozlarında Dokulara İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Sucul organizmalarda kirleticilerin toksik etkilerin değerlendirilmesinde letal konsantrasyonun (LC₅₀ değerinin) belirlenmesi en klasik ve yaygın bir yöntemdir. Toksik maddelere sucul organizmaların duyarlılığı birçok faktörden etkilenmekte ve dokularda farklı biyokimyasal, fizyolojik ve histolojik değişimlerle incelenebilmektedir [Bhavan ve Geraldine, 2000; Chang ve ark., 2006]. Histopatoloji özellikle insanlarda yabancı maddelerin yarattığı risk derecesini belirlemek amacıyla farelerde yapılan toksikoloji çalışmalarında saptanması zorunlu ve kullanışlı bir metottur [Wester ve Canton, 1991]. Temeli toksik maddeye duyarlılık, hedef organ ve etki mekanizmasının şekline dayanmaktadır. Balıklar başta olmak üzere su canlılarında yapılan toksikoloji çalışmalarda da özellikle subletal dozlara ait etkilerin değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. Hayvan dokularındaki histopatolojik değişiklikler çevresel stresörlere maruz kalmanın öncelikli göstergeleridir [Teh ve ark., 1997].

6.3.1. Hepatopankreas dokusuna ait bulguların değerlendirilmesi

Yüksek organizmalarda analogu karaciğer olan hepatopankreas, hassas bir organdır ve su kaynaklı kirleticilere karşı bozulma eğiliminde olduğu bildirilmiştir. Hepatopankreas tubuler yapıya sahiptir ve tubullerde 4 farklı tip epitel hücreden oluşmaktadır. Bundan dolayı, sudaki kimyasal maddelere maruz kalmak tubul ve epitel hücrelerin yapısında değişiklikler yaratması olasıdır [Bhavan ve Geraldine, 2000]. Bu çalışmada hepatopankreasta lumen dejenerasyonu, lumenlerde genişleme ve ödem saptanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular omurgasızlarda toksik madde maruziyetinde hepatopankreas histolojisinin incelendiği araştırmalarla benzerlikler göstermektedir. Espericueta ve ark., (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 ve ark., (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. Bollinger ve ark., (2007), 0.15 mg/L maruz kalan, potasyum dikromata 4 ve 7 hafta süresince maruz kalan kırmızı bataklık kerevitinde (*P.clarkii*), hepatopankreas tubullerinde bozulma ve dejenerasyon saptamışlardır.

6.3.2. Solungaç dokusuna ait bulguların değerlendirilmesi

Sucul organizmalarda, solungaç solunum gaz transferi ozmotik ve iyonik dengenin ayarlanmasında önemli rol oynayan hayati bir organdır. Toksik maddeler solungaç doku hasarına, oksijen tüketiminin düşmesi ve osmoregülasyon fonksiyonun bozulmasıyla neden olabilir. Bu çalışmada solungaç dokularında hiperemi benzeri yapı, hemolemf infiltrasyonu ve melanizasyon saptanmıştır. Çalışmada elde edilen bulgular literatürde omurgasızlarda yapılan diğer çalışmalarla benzerlikler göstermektedir.

Romano ve Zeng (2007), yaptıkları çalışmada 96 saat süreyle akut amonyağa maruz kalan farklı yaşam evrelerindeki mavi yengeç (*Portunus pelagicus*)’lerde solungaçlarda 5 mg/L’de epitelial değişiklikleri, lokal hemolemf infiltrasyonları, 10 mg/L’de lokalize hemolemf birikimi; 60 mg/L yoğun hemosit infiltrasyonu tespit etmişlerdir. Espericueta ve ark., (2008), ise 1 hafta süresince 3.512, 1.756, 0.877 mg/L bakıra maruz kalan *L.vannamei*’lerin solungaç dokusunda yüksek derecede melanizasyona, 3 ve 6 hafta sonunda ise sekonder lamellerde nekroz ve atrofiye rastlamışlardır. Endosulfana maruz kalan tatlı su karideslerin (*M.malcolmsoni*) solungaç dokusunda 10.6 ng/L’de hemosölik boşlukta hemositik infiltrasyon, solungaç lamellasının şişmesi, epitel kalkması ve füzyon, 16 ng/l’de füzyon, 32 ng/L’de ise proliferasyon saptanmıştır [Bhavan ve Geraldine, 2000].

Sonuç ve Öneriler;

Amonyaga maruz bıraktığımız tatlı su istakozlarında saptanan biyokimyasal bulgulardan özellikle glikoz ve laktik asit parametrelerinde 24 saatlik ölçümler sonrasında artış saptanmıştır. Glikoz ve laktik asit sekonder stres parametresi olduğundan bu parametrelerdeki doğrudan artışın amonyakla oluşturulan ortamdan kaynaklanan stresle ilişkili olacağı düşünülmüştür. Diğer taraftan hemolemf glukozunun çevresel stres altında sekonder stres yanıtı olarak değiştiği de bilinmektedir [Yıldız ve Benli, 2004].

Toplam hemosit sayısı (THS) ve hemolemf glukozu crustaceaların sağlık durumunu belirlemede kullanılan parametrelerdendir. Çevresel stresin crustaceaların bağışıklık durumunu etkilediği ve buna bağlı olarak THS’nın değiştiği bilinmektedir [Le Moullac ve Haffner, 2000]. Bu çalışmada saptanan toplam hemosit sayısındaki artış amonyak maruziyeti sonrasında canlının sağlık durumunu etkilediği göstermektedir.

Her ne kadar biyokimyasal, fizyolojik ve histopatolojik özelliklerin birlikte değerlendirilmesi uygunsa da, histopatolojik bulguların değişimleri mikroskopik olarak görüntüleyebilmesi sonuçların güvenilirliğini arttırmaktadır [Hinton and Lauren, 1990]. Histopatolojik bulgular subletal stres yapan etkenlere ortalama yanıt

olarak belirir ve histoloji özellikle kronik çalışmalarda değişik doku ve organlarda etkinin araştırılmasında en hızlı metottur. Çalışmamızda subletal amonyak dozunun tatlı su istakozlarının solungaç ve hepatopankreas dokularına olan etkileri açıkça görülmüştür.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular ışığında günümüz dünyasında çeşitli etkenler sebebi ile bozulan azot döngüsünün bir sonucu olarak sucul ortamlarda artan amonyak konsantrasyonları letal dozlardan büyük ölçüde düşük olmasına rağmen tatlı su istakozları üzerinde histolojik ve biyokimyasal değişikliklere sebep olduğu saptanmıştır.

Amonyağın düşük konsantrasyonlarında dahi biyokimyasal parametreleri ve solungaç ve hepatopankreas dokularını etkilediği görülmüş ve sucul ekosisteme bu maddenin düşük düzeyde kontaminasyonundan bile korunulması gerektiği sonucu ortaya çıkmıştır.

Çalışma sonucunda, ülkemiz tatlı su istakozu türü *Astacus leptodactylus* için bu konuda yapılabilecek gelecekteki çalışmalara temel sağlayacak veriler elde edildi. Ülkemiz endemik türünün ekotoksikoloji çalışmalarında model organizma olarak kullanılabileceği saptanmıştır.

Çalışmada seçilen amonyak, ülkemiz ve dünya sularında kontaminasyonun artması ile beraber azot döngüsünde oluşan bozulmalar sonucunda görülebilen bir maddedir. Bununla birlikte çevrenin korunması ve potansiyel insan sağlığı etkileri yönleri de göz önüne alındığında sucul ortamlarda azot döngüsünü etkileyebilecek faktörlerin en aza indirilmesi ve sucul ortam kirleticilerinin sulara karışmaması için gerekli önlemlerin alınması adına gerekli tedbirlerin alınmasını önermekteyim.

KAYNAKLAR

- Acara, A.,1992 “Su Ürünleri Ekonomisi Üretim, Miktar ve Fiyat Değişimleri 1985-1991”. **DPT İktisadi Planlama Genel Müd.**, Ankara, 203 (1992).
- Alpbaz, A., “Kabuklu ve Eklem Bacaklıları Yetiştiriciliği.” **Ege Üniv. Su Ürün. Fak. Yayınlar.**, 26, 170-184 (1993).
- Anonymous, “Medrap II Mediterranean regional aquaculture project basic level training course on disease, diagnosis and prevention for aquatic species.” **Network Steering Committee Second Session** November, Bodrum, Turkey. 17-30 (1991).
- Anonymous, “Standard methods for the examination of water and wastewater” 14th edition Washington **APHA**, USA 1134 (1975).
- Anonim, “Kerevit”. **Isparta Su Ürünleri Bölge Müdürlüğü Eğitici Bülten.**, Isparta, Seri No:1 (1975).
- Anonim, “Tatlısu istakozu (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823).” **Eğirdir Su Ürünleri Y. O., Akdeniz Üniv. Isparta Müh. Fak.** Isparta. 7 (1984).
- Anonim, “Su kalitesi- Tatlı su balığına ani öldürücü zehir tesiri olan maddelerin tayini- Kısım 2- Yarı-statik metot.” **TSE**. TS 6021. Ankara. (1989)
- Anonim, “Türkiye’nin Çevre Sorunları 99”, **Türkiye Çevre Vakfı**. 464 ., Ankara, Yayın No:131 (1999).
- Atılğan A., Coşkan A., Saltuk B., Erkan M., “Antalya yöresindeki seralarda kimyasal ve organik gübre kullanım düzeyleri ve olası çevre etkileri” **Ekoloji Dergisi**, 15:62, 37-47 (2007)
- Aydın, H., ve Çağıltay, F., “Farklı İnkübatörlerin Tatlısu İstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823) Yumurtalarının Çıkış Oranı Üzerine Etkileri” **Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi**, 2(3); 12-16 (2006).
- Baran, İ., Timur, M., Oray, İ. K., Timur, G., Rahe, R., Soylu, E., “Investigation on a Disease Causing Serious Mortality on Crayfish (*Astacus leptodactylus*) Populations in Turkey”, **European Aquaculture Society in Sweden**, 6-7 (1987).
- Bhavan, P.S., and. Geraldine, P., “Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan”, **Aquat. Toxicol.** 50 . 331–339 (2000).

Benli, A.C.K., “Subletal amonyak konsantrasyonlarının Tilapia (*Oreochromis niloticus*) ve Sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında büyüme ve kan parametreleri ile dokulara etkisi”, Doktora Tezi *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* 170-195 (2006).

Benli, A.C.K., Şahin D., Memmi B.K., Dinçel A.S., Karbarile maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) antioksidan enzim düzeyleri *Türk Biyokimya Dergisi*, 37 (2) ; 162–166 (2012).

Bott, R., 1950, “Die Flusskrebe Eropas (Dekapoda, Astacidae).” *Abh. Senckenberg. Naturf. Ges.*, 493, 36 (1950)

Bott, R.,” Die Flusskrebe Eropas (Dekapoda, Astacidae)”, *Abh. Senckenberg. Naturf. Ges.*, 493, 36 (1950).

Brodsky, S. Y., “Crayfish (Crustaceae, Astacidae) from the Soviet Union. Communication 2. Distribution of *Astacus leptodactylus*.” *Ukrainian Res. Inst. Fish.*, 4, 51-9 (1974).

Can, B.Z.K., Kali, N., “Erzurum yöresinde içme sularında nitrat, nitrit kirlenme düzeyleri”, *DSİ Teknik Bülteni*, 1012(0726): 9 (2008).

Chen, H-Y., “Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*.” *Rewievs in Fisheries Science*, 6:79-95 (1998).

Conklin, D.E., “Vitamins. In: Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture.” *World Aquaculture Society* 6:123-149 (b1995).

Cuzon, G., Guillaume, J., Cahu, C., “Composition, preparation and utilization of feeds for crustacea.” *Aquaculture*, 124:253-267 (1994).

Das, P. D., Ayyappan, S., Jena, J. K. and Das, B. K., “Acute toxicity of ammonia and its sublethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton)”, *Aquaculture Res.*, 35, 134-143 (2004).

Demirsoy, A., “Yaşamın Temel Kuralları (Omurgasızlar)”, *Hacettepe Üniv. Yay.*, Ankara, 2; 886 (1982).

Erdem, M., “Eğridir Gölü Kerevitlerinden (*Astacus leptodactylus salinus* Nordman, 1842) Yapay Olarak Elde Edilen Yavruların Yaşama Oranlarının Tespiti Üzerine Bir Çalışma” Yüksek Lisans Tezi *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enst.*, 76 (1993).

Erençin, Z., “Tatlısu İstakozu-Kerevit Üretimi, Bunun Türkiye Ekonomisindeki Önemi Üzerinde Rapor”, *Fırat Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 2 (1975).

Erençin, Z., Köksal, G., “On The Crayfish, *Astacus leptodactylus*, in Anatolia Freshwater Crayfish” *Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3, 187- 192 (1977a).

Erençin, Z., Köksal, G., “Studies on the Freshwater Crayfish (*Astacus leptodactylus*) in Anatolia.” *Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24, 262-8 (1977b).

Erickson, R. J., “An evaluation of mathematical models for the effects of pH and temperature on ammonia toxicity”, *Water Research*, 19, 1047-1058 (1985).

Espericueta, M.F., Rosales S.A., Velázquez A.N., López I.O., Osuna F.P., Olvera R.L., Voltolina, D., “Histological effects of a combination of heavy metals on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles”, *Aquatic Toxicology* 152–157, (2008)

FAO, “*Cambarus* sp. Production, Import, Export and Values (US\$) Asia, Turkey.” **Years Boks Fishery Statistics..**(2003).

Fındık, Ö., Toklu, B., Göksu, M.Z.L., “Azot ve fosforun sulardaki dağılışı özellikleri”, Tarımsal Çevre ve Su Kirliliği, *Tarım ve Köyışleri Bak.Kor.Kont.Gn.Md.*, Ankara, 14-15 (2001).

Foss, A., Siikavuopio, S. I., Saether, B. S. and Evensen, T. H., “Effects of chronic ammonia exposure on growth in juvenile Atlantic cod”, *Aquaculture*, 237, 179-189 (2004).

Gabrielian, B., Hovhannisian, R., “Introduction of *Pontastacus leptodactylus* (= *Astacus leptodactylus*) into Lake Sevan and Its Role in the Reservoir’s Ecosystem” *Freshwater Crayfish*, 12 (1998).

Geldiay, R., Geldiay, S., “Genel Zooloji”, *Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi*, No. 67, Bornova-İzmir, 453 (1978).

Geldiay, R., Kocataş, A.,” Türkiye *Astacus* (Dekapoda) populasyonlarının Dağılışı ve Taksonomik Tespiti”, *E. Ü. Fen Fak. İlmi Raporlar Serisi* No: 94, 3- 7 (1970).

Goddard, J.S., “Food and Feeding. In: Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation (Holdich D. M. and Lowery, R. Eds)”, *Chapman and Hall*, London, 45-166 (1988).

Guoda, M., “Comparative study of physiological and biochemical indices of native European and Alien species of crayfish in Lithuania”, *Frashwater Crayfish*, 12:205 220 (1999).

Hajra, A., Ghosh, A. and Mandal, S.K., “Biochemical studies on the determination of optimum dietary protein to energy ratio for tiger prawn, *Penaeus monodon* (Fab.), juveniles”, *Aquaculture*, 71:71-79 (1988).

Huner, J.V., "Freshwater crayfish aquaculture in North America, Europe, and Australia: Families Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae" **Food Products Press**, New York, USA, 312 (1994).

Hargreaves, J.A., "Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds", **Aquaculture**, 166, 181-212 (1998).

Harlioğlu, M.M., "The Present Situation of Freshwater Crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey" **Aquaculture** 230 181-187 (2004).

Harlioğlu, M.M., Harlioğlu, A.G., "Eğirdir, İznik Gölleri ve Hirfanlı Baraj Gölünden avlanan tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)' un morфометrik analizleri ile et verimlerinin karşılaştırılması", **Fırat Üniv Fen ve Müh Bilim Derg**, 17 (2): 412-423 (2005).

Hessen, D.O., Kristiansen G., Skurdal J., "Nutrient release from crayfish and its potential impact on primary production in lakes, freshwater crayfish", **University of Southwestern Louisiana**. USA 9: 311-317 (1993).

Hinton, D. E. and Lauren D. J., "Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes", **American Fisheries Society Symposium** 8, 51-65 (1990).

Hogger, J.B., "Ecology, population biology and behaviour, freshwater crayfish: Biology, management and exploitation (Eds. Holdich, D.M.; Lowery, R.S.)", **Chapman & Hall**, London, 114-144 (1988).

Holdich, D. M., "A Review of astaciculture: Freshwater Crayfish Farming", **Aquatic Living Resources**, 6, 307-317 (1993).

Holdich, D. M., Reeve, I. D., "Functional Morphology and Anatomy. In: freshwater crayfish Biology, Management and Exploitation (Holdich D. M. and Lowery, R. Eds)", **Chapman and Hall**, London, 11-51 (1988).

Hrubec, T. C. Robertson, J. L. and Smith, S. A., "Effects of ammonia and nitrate concentrations on hematologic and serum biochemical profiles of hybrid striped bass (*Morone chrysops* *Morone saxatilis*)", **Am. J Vet. Res.** 58 (2); 131-135 (1997).

Jensen, F.B., "Sublethal physiological changes in freshwater crayfish, *Astacus astacus*, exposed to nitrite: haemolymph and muscle tissue electrolyte status and haemolymph acid-base balance and gas transport", **Aquatic Toxicology**, 18 51-60 (1990).

İnternet: "Su Kirliliği", <http://düzce.cevreorman.gov.tr> (2010).

İnternet:"Su Kirliliği Yönetmeliği", <http://www.ormansu.gov.tr> (2012).

İşler, E., “Farklı aşılama yöntemleri ile bakteri (*Bradyrhizobium Japonicum*) aşılmasının soyada azot fiksasyonuna ve tane verimine etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, **Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta, 16 (2009).

Jussila, J., “Carapace mineralization and hepatopancreatic indices in natural and cultured populations of marron (*Cherax tenuimanus*) in Western Australia”, **Marine and Freshwater Research**, 48(1):67-72 (1997a).

Jussila, J., “Physiological responses of Astacid and Parastacid crayfishes (Crustacea:Decapoda) to conditions of intensive culture”, **Universty of Kuopio**, Austraalia, 140 (1997b).

Karnez, E., “Aşağı Seyhan Ovasında buğday ve mısır üretim alanlarında azot bütçesine ilişkin girdi ve çıktıların irdelenmesi”, Doktora Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, 1-2 (2010).

Köksal, G., “*Astacus leptodactylus* in Europe.” **Freshwater Crayfish Biology, Management and Exploitation**, Chapter 14, 365-479 (1988)

Kır, İ. ve Tuncay, Y., “Kovada Gölü’nde Yaşayan İstakozlarda (*Astacus leptodactylus*) bazı Ağır Metallerin Birikiminin İncelenmesi” **SDU Journal of Science (E-Journal)**, 5 (2): 179-186 (2010).

Knoph, M. B. and Olsen, Y. A., “Subacute toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Seawater: Effects on water and salt balance, plasma cortisol and plasma ammonia levels” **Aquat.Toxicol.** 30(4), 295-310 (1994).

Knoph, M. B. and Thorud, “K. Toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater- effects on plasma osmolality, ion, ammonia, urea and glucose levels and hematological parameters.”, **Comp. Biochem. Physiol. A**, 113 (4); 375-381 (1996).

Lawson, T. B., “Fundamentals of aquacultural engineering”, **Chapman-Hall, An International Thomson Publishing Company**, USA 355 (1995).

Le, Moullac, G., Haffner, P., “Environmental factors affecting immune responses in Crustacea”, **Aquaculture** 191, 121–131 (2000).

Luna, L. G., “Manual of histological staining methods of the armed forces Institute of Pathology”, **McGraw-Hill Book Company. Third Edition**. USA 258 (1968).

Nyström, P., Strand J.A., “Grazing by a native and an exotic crayfish on aquatic macrophytes”, **Freshwater Biology**, 36: 673-682 (1996).

Nyström, P., “Biology of Freshwater Crayfish (Ed. Holdich, D.M.)”, **Blackwell Scientific**, Oxford, 192-235 (2002).

Olhan, E., Ataseven, Y., "Türkiye’de içme suyu havza alanlarında tarımsal faaliyetlerden kaynaklanabilecek kirliliği önleme ile ilgili yasal düzenlemeler", **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6(2): 162-163-164 (2009).

Matthews, M., Reynolds, J.D., "Ecological impact of crayfish plague in Ireland", **Hydrobiologia**, 234: 1-6 (1992).

Momot, W.T., "Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems", **Reviews in Fisheries Science**, 3: 33-6 (1995).

Rebelo, M. F., Santos, E.A., Monserrat, J.M., "Ammonia exposure of *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Decapoda) Dana, 1851: accumulation in haemolymph and effects on osmoregulation". **Comp. Biochem. Physiol.**, (122): 429-435. (1999).

Rebelo, M. F., Rodriguez, E. M., Santos, E. A., Ansaldo, M., Histopathological changes in the gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Decapoda) following exposure to acute exposure to ammonia." **Comp. Biochem. Physiol.**, (125) 157-164 (2000).

Reish, D.L., Oshida, P.S., "Manual of methods in aquatic environment Research", **Part 10. Short -Term Static Bioassays. FAO Fish Tech. Pap.** 247, 17- 33 (1987).

Romano, N., Zeng, C., "Ontogenetic changes in tolerance to acute ammonia exposure and associated histological gill alterations during early juvenile development of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*", **Aquaculture** 266 246–254 (2007).

Russo, R.C., "Ammonia, Nitrite And Nitrate", **Fundamentals Of Aquatic Toxicology**. 455-472, New York (1984).

Ruyet, J. P., Galland, R., Rovx, A. L. and Chartois, H., "Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)", **Aquaculture**, 154, 155-171 (1997).

Ruyet, J. P., Boeuf, G., Infante, J. Z., Helgason, S. and Roux, A., "Short-term physiological changes in turbot and seabream juveniles exposed to exogenous ammonia", **Comp. Biocem. Physiol. A.**, 119 (2), 511-518 (1998).

Ruyet, J. P., Lamers, A., Roux, A., Severe, A., Boeuf, G. and Mayer-Gostan, N., "Long term ammonia exposure of turbot: effects of plasma parameters", **J. Fish Biol.**, 62, 879-894 (2003).

Salin, D. and Williot, P., "Acute toxicity of ammonia to Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) .P. Williot", (Ed.) **Acipenser, Cemagref Publ.** 153-167 (1991).

Speare, D., Backman, S., "Ammonia and nitrite waterborne toxicity of commercial Rainbow Trout". **Can. Vet. J.** , 29, 666 (1985).

Samsunlu, A., “Çevre Mühendisliği Kimyası”, *İstanbul Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü*, İstanbul, 120-303-304 (2005).

Suprunovich, A.W., Kadriuk, R.P., Petkevich, T.A.,Stepaniuk, I.A., Lisovskaya, W.L. and Antsupova, L.V., “Biochemical Characteristics of the Dniester Long-Clawed Crayfish of Astacidae Family”. *Freshwater Crayfish* 5:490-533 (1983).

Svobodova, Z., Lloyd, R., Machova, J., Ammonia. “Water quality and fish health”, *EIFAC Technical Paper*, 54;11-16. (1993)

Teh, S. J., Adams, S. M., Hinton, D. E. “Histopathological biomarkers in freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress”, *Aquatic Toxicology*, 37, 51-70 (1997).

Timur, M., Timur, G., Sarmaşık, A., Kubilay, “Eğirdir Gölü Su Ürünlerinin Biyolojik Sorunları ve Çözüm Yolları”, *Batı Akdeniz Bölgesi I. Tarım Kongresi, Akdeniz Üniv. Ziraat Fak.*, Antalya, 171-179 (1993).

Tomasso, J. R., “Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals”, *Rev. Fish Sci*, 2(4), 291-314 (1994).

Vogt, G., “Functional anatomy. In: Biology of Freshwater Crayfish, (Holdich, D.M., eds.)”, *Iowa State University Press*, 53-150 (2002).

Vonk, H., J., “Digestion and metabolism. In: The Physiology of Crustacea, (Edited by Talbot H., Waterman)”, *Department of Zoology, Yale University*, London, 1:291-316. (1960)

Uslu, O., Türkman, A., “Su Kirliliği ve Kontrolü.” *Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü yayımları* İzmir, 364 (1991).

Wallace JB, Eggert SL, Meyer JL, Webster JR (1997) “Multiple trophic levels of a forest stream linked to terrestrial litter inputs”, *Science*, 277: 102-104 (1987).

Weirich, C. R., Tomasso, J. R., Smith, T. I. J., “Toxicity of ammonia and nitrite to sunshine bass in selected environments”. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5, 64-72 (1993).

Weinstein, D. I. and Kimmel, E., “Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio* L.) to ammonia stress”, *Aquaculture*, 165, 81-93 (1998).

Wester, P. W. and Canton, J. H., “The usefulness of histopathology in aquatic toxicology studies”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100C, 115-117 (1991).

Yılmaz, D., “Yeşil gübrelemenin kültür bitkilerinde mineral azot girdisi tasarrufu ve çevre açısından önemi”, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri*

Enstitüsü, Adana, 1-4-6-7-20-22-23-64 (2010).

Yildiz , H.Y., Benli, A.C.K., “Nitrite toxicity to crayfish, *Astacus leptodactylus*, the effects of sublethal nitrite exposure on hemolymph nitrite, total hemocyte counts and hemolymph glucose”, *Ecotox. Environ. Safety* 59 370–375 (2004).

Zhang, Y., Negishi, J.N., Richardson, J.S., Kolodziejczyk, R., “Impact of marinederived nutrients on stream ecosystem functioning”, *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 270: 2117-2123 (2003).

Zhang, Y., Rihardson, J.S., Negihi, J.N., “Detritus processing, ecosystem engineering and benthic diversity: a test of predator-omnivore interference”, *Ecology Journal of Animal*, 73: 756-76. (2004).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DALOĞULLARI, Fatih

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 17.07.1987 İstanbul

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0 (312) 212 05 93

e-mail : fdalogullari@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Dumlupınar Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Fenerbahçe Lisesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2008-2009	Davut Akidil İlköğretim	Okulu Öğretmen
2009-2010	By Organizasyon	Organizasyon sorumlusu
2010-2011	Segovia Gençlik Evi	Organizasyon sorumlusu

Yabancı Dil

İngilizce,Rusça

Hobiler

Tiyatro, sinema, basketbol