



**SODYUM OMADİN’İN TATLISU BİVALVLERİ ÜZERİNDEKİ TOKSİK  
ETKİLERİ**

**Kevser YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AĞUSTOS 2019**

Kevser YILMAZ tarafından hazırlanan “SODYUM OMADİN’İN TATLISU BİVALVLERİ ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM

Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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



**Başkan:** Doç. Dr. Meltem YILMAZ

Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

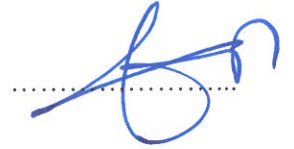
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



**Üye:** Doç. Dr. A. Gamze YÜCEL İŞILDAR

Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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



Tez Savunma Tarihi: 07/08/2019

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

.....  
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Kevser YILMAZ

07/08/2019

SODYUM OMADİN'İN TATLISU BİVALVLERİ ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİ  
(Yüksek Lisans Tezi)

Kevser YILMAZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2019

ÖZET

Biyosidal bir kimyasal madde olan sodyum omadin (sodyum piritiyon, NaOM), ekotoksikoloji araştırmalarında indikatör tür ve model organizma olarak kabul edilen iki farklı Bivalvia (midye) türünde uygulanmıştır. *Dreissena polymorpha* türünde yapılan akut toksisite deneyinde 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri 0,243 µg/L olarak hesaplanmıştır. Akut toksisite bulgularımız, NaOM kimyasalının *D. polymorpha* için çok toksik olduğunu ortaya çıkarmıştır. *Unio mancus* türü üzerinde yapılan subletal testlerde 5 µg/L sodyum omadin dozuna 96 saat süreyle maruz kalan bireylerde total hemosit sayısı, kontrol grubuna göre deney grubunda artmıştır (p<0,05). MDA düzeyleri solungaç dokularında artış göstermiş (p>0,05), sindirim bezinde ise kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır (p<0,05). Deney gruplarındaki GSH seviyeleri de, hem solungaç ve hem de sindirim bezlerinde önemli düzeyde artmıştır (p<0,05). 5 µg/L sodyum omadine maruz kalan *U. mancus* dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Kontrol grubuna ait midyelerin tüm dokuları ile deney grubundaki midyelerin gonadlar (ovaryum ve testisler), kas ve manto dokusunda herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. Sindirim bezinde ise hidropik dejenerasyona, solungaçlarda ise hiperplasiye rastlanmıştır. Sindirim bezi, gonadlar ve solungaçlarda apoptozis belirlenmiştir. Apoptotik hücre sayısının, sindirim bezi ve testis dokularında kontrol grubuna göre çok daha yoğun olduğu saptanmıştır. Solungaç ve ovaryum dokularında ise önemli bir bulguya rastlanmamıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, NaOM maddesinin genotoksik etkiler yaratabileceği belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 20302

Anahtar Kelimeler : Antifouling, biyosit, tatlısu bivalvleri, sodyum omadin (piritiyon)

Sayfa Adedi : 53

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM

## TOXIC EFFECTS OF SODIUM OMADINE ON THE FRESHWATER BIVALVES

(M. Sc. Thesis)

Kevser YILMAZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

August 2019

## ABSTRACT

In this study, the ecotoxicological effects of sodium omadine (sodium pyrrithione, NaOM), which is a biocidal chemical were investigated on two species of freshwater mussels which are considered as the selected indicator species and model organisms. In acute toxicity test on *Dreissena polymorpha*, LC<sub>50</sub> value of 96 hours was calculated as 0,243 µg/L. Our acute toxicity findings revealed that NaOM chemical was very toxic to *Dreissena polymorpha*. Total hemocyte counts were increased in *Unio mancus* who were exposed to 5 µg/L NaOM for 96 hours in sublethal tests ( $p<0,05$ ). MDA levels were increased in gill tissues ( $p>0,05$ ) whereas it were increased significantly in the digestive gland compared to control group ( $p<0,05$ ). GSH levels in the experimental groups were also increased significantly in both gill and digestive glands ( $p<0,05$ ). *U. mancus* tissues exposed to 5 µg/L sodium omadine were examined histopathologically. No histopathologic findings were found in all tissues of mussels of control group and gonads (ovaries and testes), muscles and mantle tissues of mussels in experimental group. Hydropic degeneration was found in the digestive gland and hyperplasia was found in the gills. Apoptosis occurring in the digestive gland, gonads and gills was determined. The number of apoptotic cells in the digestive gland and testis tissues were found to be much more intense than the control group. No significant findings were found in gill and ovarian tissues. According to the results, it was determined that NaOM substance could have genotoxic effects.

Science Code : 20302

Key Words : Antifouling, biosid, freshwater bivalves, sodium omadine (pyrrithione)

Page Number : 53

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Feriha YILDIRIM

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca her türlü desteği ile yanımda olan, değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez ile ilgili her türlü araştırmalarım ve deneylerimde bilgi ve ilgileriyle desteklerini esirgemeyen ve yardımcı olan Prof. Dr. Figen ERKOÇ'a, Prof. Dr. Çağlan GÜNAL'a ve Doç. Dr. Zuhale YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca zorlandığım yerlerde desteklerini ve dostluklarını benden esirgemeyen Gülsüm BATMAZ, Pınar ARSLAN, Elif PAÇAL ve Leila MEHRNIA'ya da teşekkürü borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca beni maddi-manevi tüm güçleriyle her zaman destekleyen sevgili annem, babam ve kardeşime minnetle.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                   | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET .....                                                                        | iv    |
| ABSTRACT.....                                                                     | v     |
| TEŞEKKÜR.....                                                                     | vi    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                 | vii   |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                                         | ix    |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....                                                           | x     |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....                                                          | xi    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                      | xii   |
| 1. GİRİŞ.....                                                                     | 1     |
| 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE LİTERATÜR ÖZETLERİ .....                                  | 3     |
| 2.1. Antifouling Boyalar ve Tarihçesi .....                                       | 3     |
| 2.2. Biyosidaller .....                                                           | 5     |
| 2.3. Sodyum Omadin (NaOM)'in Fiziksel ve Kimyasal Yapısı.....                     | 6     |
| 2.4. Sodyum Omadin'in Canlılar Üzerindeki Etkileri .....                          | 7     |
| 2.5. Biyoindikatör Türlerin Önemi .....                                           | 8     |
| 2.6. <i>D. polymorpha</i> 'nın Taksonomisi ve Biyolojik Özellikleri .....         | 10    |
| 2.7. <i>Unio mancus</i> 'un Taksonomisi ve Biyolojik Özellikleri .....            | 12    |
| 2.8. Biyodeney ve Biyodeneylerde Kullanılan Bazı Kavramlar .....                  | 15    |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM .....                                                       | 19    |
| 3.1. Materyal .....                                                               | 19    |
| 3.1.1. Deneyde kullanılan midye türlerinin temini, taşıma ve saklama koşulları    | 19    |
| 3.1.2. Deney ortamı ve adaptasyon periyodu .....                                  | 20    |
| 3.2. Deney Düzenegi ve Yöntemi .....                                              | 21    |
| 3.2.1. <i>D. polymorpha</i> için akut LC <sub>50</sub> değerlerinin tespiti ..... | 21    |
| 3.2.2. <i>U. mancus</i> ile subletal deney .....                                  | 23    |



**Sayfa**

|                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.3. <i>U. mancus</i> üzerinde histolojik çalışmalar .....                                          | 24        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                                              | <b>31</b> |
| 4.1. Sodyum Omadin'in Tatlısu Zebra Midyesi ( <i>D. polymorpha</i> ) Üzerine Akut Toksik Etkisi ..... | 31        |
| 4.2. Sodyum Omadin'in Tatlısu Midyesi <i>Unio mancus</i> Üzerine Subletal Toksik Etkisi .....         | 31        |
| 4.3. Doku Analizlerinden Elde Edilen MDA Bulguları .....                                              | 31        |
| 4.4. Doku Analizlerinden Elde Edilen GSH Bulguları .....                                              | 32        |
| 4.5. Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular .....                                                   | 34        |
| 4.6. Histolojik Bulgular .....                                                                        | 35        |
| 4.7. TUNEL Assay Kullanılarak Dokularda Genotoksik Hasarın Belirlenmesi .....                         | 39        |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>                                                                     | <b>43</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                                | <b>47</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                                                 | <b>53</b> |

**ÇİZELGELERİN LİSTESİ**

| <b>Çizelge</b>                                                                                                      | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 2.1. Sodyum omadinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....                                                  | 6            |
| Çizelge 2.2. Sodyum omadin uygulaması yapılan bazı balık ve Krustasea türlerinde<br>EPA ekotoksisite bilgileri..... | 7            |
| Çizelge 2.3. Sucul ortamda yaşayan canlılar üzerindeki LC <sub>50</sub> 'ye göre toksisite<br>dereceleri .....      | 17           |
| Çizelge 4.1. Dokulardan elde edilen toplam MDA değerleri .....                                                      | 32           |
| Çizelge 4.2. NaOM'a maruz bırakılan dokulardan elde edilen toplam GSH değerleri..                                   | 33           |
| Çizelge 4.3. <i>Unio mancus</i> türünde toplam hemosit sayısı .....                                                 | 34           |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                                                                                | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Sodyum omadinin kimyasal yapısı.....                                                                                      | 6     |
| Şekil 2.2. Biyoizlemede kullanılan biyobelirteçlerin çeşitleri .....                                                                 | 9     |
| Şekil 4.1. Kontrol ve deney grubunun toplam MDA düzeyi farkları boxplot grafiğinde karşılaştırılması.....                            | 32    |
| Şekil 4.2. NaOM uygulaması yapılan kontrol ve deney grubunun toplam GSH düzeyi farklarının boxplot grafiğinde karşılaştırılması..... | 33    |
| Şekil 4.3. Kontrol ve deney grubu hemosit sayılarının boxplot grafiğinde karşılaştırılması .....                                     | 34    |
| Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait ovaryum dokusu .....                                                                                  | 35    |
| Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait testis dokusu .....                                                                                   | 36    |
| Şekil 4.6. Kontrol grubuna ait kas dokusu (ayak).....                                                                                | 36    |
| Şekil 4.7. Kontrol grubuna ait sindirim bezi dokusu .....                                                                            | 37    |
| Şekil 4.8. NaOM'a maruz kalan ait sindirim kanalı dokusunda dejenerasyon.....                                                        | 37    |
| Şekil 4.9. Kontrol grubuna ait solungaç dokusu .....                                                                                 | 38    |
| Şekil 4.10. NaOM'a maruz kalan ait solungaç dokusunda hiperplasi .....                                                               | 38    |
| Şekil 4.11. Sindirim bezi dokusunun TUNEL assay ile boyanması .....                                                                  | 39    |
| Şekil 4.12. Testis dokusunun TUNEL assay ile boyanması .....                                                                         | 40    |
| Şekil 4.13. Solungaç dokusunun TUNEL assay ile boyanması.....                                                                        | 40    |
| Şekil 4.14. Ovaryum dokusunun TUNEL assay ile boyanması.....                                                                         | 41    |

## RESİMLERİN LİSTESİ

| Resim                                                                                                          | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Resim 2.1. Zebra midyeler.....                                                                                 | 11    |
| Resim 2.2. <i>U. mancus</i> kabuk görüntüsü .....                                                              | 15    |
| Resim 2.3. <i>U. mancus</i> 'un morfolojik yapısı .....                                                        | 15    |
| Resim 3.1. Karasu Çayı (Sinop) .....                                                                           | 20    |
| Resim 3.2. <i>D. polymorpha</i> üyelerinin akvaryumlarda 1 haftalık adaptasyon süreçleri..                     | 20    |
| Resim 3.3. <i>D. polymorpha</i> biyodeney düzeneği .....                                                       | 21    |
| Resim 3.4. Sodyum omadin çözeltisinin hazırlanması .....                                                       | 22    |
| Resim 3.5. <i>Dreissena polymorpha</i> (a) ve <i>Unio mancus</i> (b) bireylerinde “canlılık tespiti” (c) ..... | 22    |
| Resim 3.6. <i>U. mancus</i> biyodeney düzeneği .....                                                           | 23    |
| Resim 3.7. <i>U. mancus</i> bireylerinin fiziksel ölçümleri .....                                              | 24    |
| Resim 3.8. <i>U. mancus</i> 'dan hemolemf sıvısı alınması .....                                                | 24    |
| Resim 3.9. <i>U. mancus</i> 'ların solungaç (a) ve sindirim bezi (b) doku örnekleri .....                      | 25    |
| Resim 3.10. Solungaç ve sindirim bezi TBARS düzeyinin ölçülmesi .....                                          | 28    |
| Resim 3.11. Solungaç ve sindirim bezi glutatyon düzeyinin ölçülmesi .....                                      | 29    |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

| <b>Simgeler</b>        | <b>Açıklamalar</b>                                     |
|------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>cm</b>              | Santimetre                                             |
| <b>g</b>               | Gram                                                   |
| <b>h</b>               | Saat                                                   |
| <b>kg</b>              | Kilogram                                               |
| <b>L</b>               | Litre                                                  |
| <b>µg</b>              | Mikrogram                                              |
| <b>µL</b>              | Mikrolitre                                             |
| <b>mg</b>              | Miligram                                               |
| <b>ml</b>              | Mililitre                                              |
| <b>mm</b>              | Milimetre                                              |
| <b>nM</b>              | Nanomolar                                              |
| <b>ng</b>              | Nanogram                                               |
| <b>Kısaltmalar</b>     | <b>Açıklamalar</b>                                     |
| <b>EPA</b>             | Çevre Koruma Ajansı                                    |
| <b>EU</b>              | Avrupa Birliği                                         |
| <b>DNA</b>             | Deoksiribonükleik asit (kalıtım materyali)             |
| <b>IUCN</b>            | Uluslararası Doğa Koruma Birliği                       |
| <b>LC<sub>50</sub></b> | Deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon     |
| <b>LD<sub>50</sub></b> | Deney hayvanlarının yarısını öldüren doz               |
| <b>NaOM</b>            | Sodyum omadin (sodyum piritiyon)                       |
| <b>OECD</b>            | Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü                  |
| <b>TBARS</b>           | “Terminal deoksinükleotidil transferaz” ile işaretleme |
| <b>THSK</b>            | Türkiye Halk Sağlığı Kurumu                            |
| <b>TUNEL</b>           | DNA kırıklarının “in-situ” tespitini sağlayan yöntem   |

## 1. GİRİŞ

Denizlerdeki canlıların, doğal yapıların ve insan yapımı araç ve gereçlerin (gemi karinaları, su boruları, atık su deşarj boruları, şamandıralar, elektrik kabloları, balıkçılıkta kullanılan ağlar, petrol boru hatları vb.) yüzeylerinde tutunarak gelişen organizmaların oluşturduğu topluluğa “fouling organizmalar” (yüzey kaplayıcı organizmalar) ve bu organizma gelişim sürecine de genel olarak “fouling” (yüzeyin canlı topluluğu ile kaplanması) olayı denir.

Fouling olayı, daha çok algler ve tutunucu hayvanlar tarafından oluşturulur. Bunlar, kendilerini su hareketlerinden ileri gelebilecek etkilere karşı korur ve böylece kütleler halinde birikirler. Foulinge neden olan başlıca organizmalar bakteri ve diyatomlar, yeşil algler, süngerler, knidliler, halkalı deniz solucanları, yumuşakçalar, eklembacaklılardır (Kaçar, 2009). Bu biyolojik yerleşim gemilerde olumsuz etkilere neden olur. Örneğin ağırlık ve manevra kabiliyetini azaltan ağırlık artışının yanı sıra, yakıt tüketimini de %40'a kadar artırarak yüksek sürtünme direnci oluşturur (Amara ve diğerleri, 2018).

Fouling olayının yol açtığı olumsuz etkileri önlemek amacıyla gemi yüzeylerinin su içerisinde kalan yüzeylerine “antifouling” içeren boyalar uygulanır. Amacı foulingin oluşmasını engellemek olan bu sistemler tanımları gereği organizmaları uzaklaştırır, öldürür ya da büyümelerini engeller. Antifouling boyalar bir tür biyosidal üründür. Biyosidal ürün; bir veya birden fazla aktif madde içeren, kullanıma hazır halde satışa sunulmuş, kimyasal ve biyolojik açıdan herhangi bir zararlı organizma üzerinde kontrol edici etki gösteren veya hareketini kısıtlayan, uzaklaştıran, zararsız kılan, yok eden aktif maddeleri ve müstahzarları (kullanıma hazır hale getirilmiş) olarak tanımlanır (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Biyosidal Ürün Yönetmeliği [THSK], 2009).

Antifouling bileşikler, birçok organizmada çeşitli zararlı etkilere neden olur; alg fotosentezi, enerji üretimi, stres yanıtları da olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteler, genotoksik hasar, bağışıklık sistemi baskılanmış protein ekspresyonu, oksidasyonu, sinir iletimini, yüzey kimyasını, biyofilm oluşumunu ve yapışkan üretimini etkiler (Qian ve diğerleri, 2013).

Sodyum omadin (sodyum piritiyon, NaOM) antifouling nitelikli biyosidal bir kimyasal madde (bozunmayı önleyici) olup, yüzey kaplayıcı (fouling) organizmaların birçok yerde

(tekne, su kültürü ekipmanları ve suda kullanılan diğer yapılar üzerinde) yerleşmesini engellemek için ülkemizde kullanılmaktadır.

Su ekosistemlerinde yaşayan bentik omurgasız canlılar (örneğin midyeler), besin zincirinin fitoplanktonik ve zooplanktonik organizmalardan sonraki üçüncü halkasını oluşturmaktadır. Bu nedenle, su ortamlarındaki kirletici maddelerden en çok etkilenen canlılar onlar olmaktadır. Yavaş hareket ettiklerinden ve çoğunlukla ortamda sabit şekilde durduklarından, bu canlıların dokularında kirletici maddeler çok daha fazla birikmekte ve bu durum hassas türlerin ölümlerini arttırmaktadır (Aslan, 2010).

Midyeler denizlerde bol miktarda bulunmaları, metalleri yüksek yoğunluklarda biriktirip, bunları uzun bir süre bünyelerinde tutmaları ve suyu süzerek beslenmelerinden dolayı sularda kirliliği yansıtan biyolojik belirteçlerin başında gelir (Huber, 2010; Başçınar, 2009). Carson ve Darling (1962) ile Öktener (2004)'in araştırmalarına göre de “sudaki organik bileşenleri ve planktonları temizleyerek beslenen midyeler, bunu yaparken bir filtreleme işlemi de gerçekleştirdiklerinden kirliliğin biyolojik izlenmesi için iyi bir biyolojik indikatördürler”. Naimo (1995), yetişkin midyelerde, metal alımının en fazla miktarda solungaçlarda, ardından manto ve böbreklerde olduğunu belirtmiştir.

Bu çalışmadaki amacımız iki farklı Bivalvia (midye) türünde (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771 ve *Unio mancus* Lamarck, 1819) (Van Damme, 2014; Lopes-Lima ve Seddon, 2014) biyosidal bir kimyasal madde olan sodyum omadin (sodyum piritiyon) kimyasalının kısa süreli toksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesidir. Böylece bu biyosidal maddenin, diğer antifouling biyosidal ürünler gibi akuatik ortamlarda yaşayan canlıların dokularında birikip birikmediğini anlayabilmek mümkün olacaktır.

Deney canlısı olarak bu midye türlerinin seçilmesinin nedeni, her ikisinin de laboratuvar ortamına kolay uyumlanan ve güvenle çalışılabilen türler olması, hem de ekotoksikoloji araştırmalarında indikatör tür ve model organizma olarak kabul edilmiş olmalarıdır (Binelli ve diğerleri, 2015; Krupp ve diğerleri, 1987). Yaptığımız çalışmanın sonucunda, bu iki midye üzerinde meydana gelebilecek etkileri yorumlayarak, sucul sistemlerde kullanılan sodyum omadinin uzun vadedeki ekotoksikolojik etkilerini anlayabilmemiz mümkün olacaktır.

## 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE LİTERATÜR ÖZETLERİ

### 2.1. Antifouling Boyalar ve Tarihçesi

Suya batmış nesnelerin dış yüzeylerine yerleşen ve büyüyen organizmalar topluluğunun bu yayılımı bir tür kirlenme olarak görülür ve biofouling (yüzeyin canlı topluluğu ile kaplanması) olarak tanımlanır. Bir yapının su altında kalmasından saatler sonra, yüzeyde mikroorganizmalardan (bakteri ve yosun) oluşan bir yapışkan tabaka gelişir. Bu tabaka, yerleşim için biyokimyasal işaretler sağlayarak çeşitli omurgasız canlıların larvaları dahil olmak üzere makro-organizmaların yerleşimini ve tutunmalarını artırır. Bu tip kirlenme deniz ortamında her yerde bulunur ve denizcilik endüstrisi için büyük bir problemdir (Dafforn, 2011).

Bakteri, larva, makroalg, midye ve diğer omurgasızların yüzeylere tutunmasını ve üremesini önlemek için gemi ve tekne gövdelerine antifouling boyalar uygulanır. Boyalar, belli bir süre boyunca yavaş yavaş salınan ve kirletici organizmalar için toksik olan biyositleri içerir (Boxall ve diğerleri, 2000).

Biofouling, gemilerde hızı düşürür ve böylece yakıt tüketimini ve ardından da emisyonları artırarak olumsuz etkiler oluşturur. Yakıt tüketimindeki artış %40'a ve deniz seferlerindeki toplam maliyet %77'ye kadar artabilir (Yebra ve diğerleri, 2004). Bu nedenle yalnızca yakıt tüketiminin azaltılması ile finansal ve çevresel yarar sağlamak için değil, aynı zamanda gemi gövdelerinde taşınabilecek yerli olmayan (egzotik) türlerin girişinin önlenmesi için de etkili antifouling boya yöntemlerine ihtiyaç vardır. Antifouling boyalar, şu anda kirletici organizmalarla savaşmak için en yaygın kullanılan tekniktir (Egardt ve diğerleri, 2017).

Belli bir ekosistemin doğal faunasında yer almayan, farklı yollarla bir bölgeye dışarıdan gelen yeni türlere "istilacı tür" (egzotik tür) denilmektedir. Bu yollardan biri de fouling olayıdır. İstilacı türler ekolojik, ekonomik ve sağlık açısından olumsuz etkilere neden olur. Bu türler taşındıkları alanlardaki doğal türlerin biyolojik çeşitliliği ve ekolojik dağılımlarını etkileyip azaltır ve yerel türlerin yok olmalarına sebep olur. İstilacı türlerin yeni ekosistemlere yerleşmeleriyle hastalıklar taşınıp yayılır ve besin zinciri yoluyla



insanlara kadar ulaşarak insan sağlığını da olumsuz yönde etkileyebilir (Polat ve diğerleri, 2011).

Biyofouling, tarih boyunca gemi taşımacılığında sorunlara neden olmuş ve bunun etkilerini azaltmak için yoğun çaba sarf edilmiştir. Antik Kartacalar ve Fenikeliler, kirlenmeyi önlemek için gemilerin tabanında zift ve bakır kaplama kullanmışlar ve daha sonra kükürt ve arsenik bileşikleri ile gövdeleri kaplamışlardır. Yunanlılar ve Romalılar da kurşun kaplamalar uygulamıştır. Bakır kaplama on yedinci ve on sekizinci yüzyıllarda yeniden gündeme gelmiş, ancak on sekizinci yüzyılın sonunda galvanik korozyonun neden olduğu problemler nedeniyle onların yerine çelik kaplamalar kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, bütün bunlara rağmen gemilerin dış yüzeylerine canlıların tutunmasını engellemek için daha etkili bir teknolojiye ihtiyaç duyulmaktaydı. Bunu sağlayabilen zehirli boyaların gelişmesi ise on dokuzuncu yüzyılın ortasında mümkün olmuştur. İlk antifouling boyaların piyasaya sürülmesinden bu yana boya teknolojisinde önemli gelişmeler oldu ve daha etkin kaplama arayışı bugün de devam etmektedir. Eski formülasyonlarda boyaların etkinliğini ve yaşam süresini arttırmak amacıyla bakır oksit kullanılırken, onun yerini giderek organik civa, kurşun, arsenik bileşikleri ve DDT gibi daha etkili toksik kimyasallar almıştır. Bu tür bileşiklerin ise ciddi çevresel ve insan sağlığı riskleri oluşturduğu ortaya çıkmaya başlayınca, 1960'lardan itibaren boya endüstrisi tarafından gönüllü olarak geri çekilmişlerdir. Onların yerine günümüzde antifouling boyaların büyük bir çoğunluğunun içine biyositler eklenmekte olup, bu kimyasallar boyalardan yavaşça dışarı süzülerek gövdeye yerleşmeye çalışan organizmaları öldürmektedir (Howell ve Ewans, 2010).

Bunların en fazla kullanılanı kısaca TBT de denilen tribütildindir. Alternatiflerine göre yoğun olarak tercih edilmesinin nedeni çok etkili ve dayanıklı olmasıdır. Ancak TBT'nin de; 1) Sedimentlerde ve organizmalarda yüksek oranda birikmeye, kabuklu organizmaların kabuklarında ise deformasyonlara neden olması, 2) Bazı organizmalarda cinsiyet farklılaşmalarına (imposex) yol açması, 3) Balık ve deniz memelilerinin bağışıklık sistemlerinin bozulmasına neden olması [örneğin, çok düşük konsantrasyonlarının bile istiridye türü olan *Crassostrea gigas*'ta kusurlu kabuk büyümesi (20 ng/l) ve deniz salyangozu olan *Nucella* sp.'de imposeks, dişi üreme organlarında ise erkek özelliklerin gelişmesi (1 ng/l) (Okay, 2004)] gibi etkiler gözlenmiştir. Bu olumsuz özellikleri nedeniyle Tribütildin'in yasal kullanımı 25 m'den daha uzun gemilerle sınırlandırılmış ve 2003 yılında ise tamamen yasaklanmıştır (Yebra ve diğerleri, 2004).

TBT'nin artık çok belirginleşen olumsuz özelliklerine karşı yeni bir kimyasal madde arayışının sonucunda, antifouling niteliğinde olan “sodyum omadin” biyosidal devreye girmiş ve kullanımı giderek artmıştır.

## 2.2. Biyosidaller

Biyosidal ürünler, her ne kadar Avrupa Birliği (EU) mevzuatında (EU, No 528/2012) “insan veya hayvan sağlığına zararlı organizmaların ve doğal veya üretilmiş malzemelere hasar veren organizmaların kontrolü için gerekli ürünler” olarak tanımlanmış olsa da, içerdikleri (intrinsik) özellikler ve bununla ilgili kullanım şekillerinden dolayı insanlara, hayvanlara ve çevreye risk oluşturabilmektedirler. Çünkü “biyosit”ler sadece hedef canlılara değil, besin zinciri yoluyla ekosistemdeki diğer canlılara da zarar verme riski taşımaktadır (Akbaba ve Ötegen, 2017; Hunt ve diğerleri, 1987).

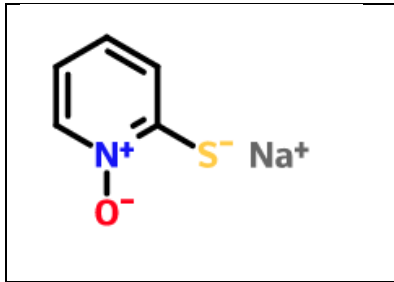
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK)'nun Biyosidal Ürün Yönetmeliği (2009)'ne göre biyosidal ürün; bir veya birden fazla aktif madde içeren, kullanıma hazır halde satışa sunulmuş, kimyasal ve biyolojik açıdan herhangi bir zararlı organizma üzerinde kontrol edici etki gösteren veya hareketini kısıtlayan, uzaklaştıran, yok eden aktif maddeleri ve müstahzarları (kullanıma hazır hale getirilmiş) olarak tanımlanır.

Dünyada bir antifouling olarak giderek daha yaygın kullanılmaya başlanan NaOM biyosidal ülkemizde de tercih edilmeye başlanmış ve adı “Biyosidal Ürünlerin Kullanım Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik” (Sağlık Bakanlığı, 2005)'de yer almıştır. Ardından Biyosidal Yönetmeliği Liste-A'da (ürün tipi tanımlanmış ve biyosidal ürünlerde kullanımına geçici olarak izin verilen mevcut aktif maddeleri gösteren liste) ve bozunmayı önleyici ürünler (tekne, su kültürü ekipmanları ve suda kullanılan diğer yapılar üzerinde yapı bozucu organizmaların, mikrop ve daha yüksek bitki ve hayvan türleri büyümesini ve yerleşmesini kontrol etmek için kullanılan ürünler) listesinde yer alan “model biyosidal” olarak sodyum omadin seçilmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2014).

### 2.3. Sodyum Omadin (NaOM)'in Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Son yıllarda adı giderek daha fazla gündeme gelen “sodyum omadin”, midyeler üzerinde (ekotoksik özellikleri yönüyle) henüz yeterince çalışılmamış bir maddedir. Ara madde olarak kullanılan NaOM; mantar, maya, küf ve bakterilerin üremesini engeller. Boya, sızdırmazlık maddeleri, şampuan, yapışkan ve aerosolde antimikrobik özelliklerin formülasyonunda kullanılır. Amin N-oksitler, katyonik olduklarından şampuan, köpük banyosu ve el sabunu formülasyonları gibi vücut bakım ürünlerindeki aktif bileşenlerdir ve asitli ortamda hafif bir kıvamlandırma görevi görebilirler. Nötr veya zayıf bazik ortamlarda, mükemmel dengeleyici ve viskosite oluşturma sağlayıcısı olarak yer alırlar (İnternet).

Sodium omadinin kimyasal yapısı Şekil 2.1’de gösterildiği gibi olup IUPAC adlandırılması “Sodium (2-pyridylthio)-N-oxide”, CAS Numarası 38811-73-2, moleküler formülü  $C_5H_4NNaOS$  olup, moleküler ağırlığı ise 149,15 g/mol’dür (Çizelge 2.1) (Pubchem, 2019).



Şekil 2.1. Sodyum omadinin kimyasal yapısı (Pubchem, 2019)

Çizelge 2.1. Sodyum omadinin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Pubchem, 2019)

|                       |                                                           |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------|
| IUPAC Adlandırılması: | Sodium (2-pyridylthio)-N-oxide                            |
| CAS Numarası:         | 38811-73-2                                                |
| Moleküler Formülü:    | $C_5H_4NNaOS$                                             |
| Moleküler Ağırlığı:   | 149,15 g/mol                                              |
| Fiziksel Durum:       | Sodyum pyridinethione tuzu halinde                        |
| Çözünürlük:           | Suda, etil alkolde ve organik çözücülerde kolayca çözünür |

## 2.4. Sodyum Omadin'in Canlılar Üzerindeki Etkileri

Bu konuda daha önceden yapılan araştırmalar incelendiğinde, sodyum omadin ile yapılan toksisite çalışmalarının çok sınırlı olduğu, maruziyet yolundan bağımsız olarak, memeli hayvanlarda düşük toksisite oluşturduğu tespit edilmiştir. Arka ekstremitelerin paralizi en tipik intoksikasyon semptomu olmakla beraber, her deney hayvanında bu etki rapor edilmemiştir (Sprecher ve Getsinger, 2000).

Sitotoksitesinin yüksek olmasından dolayı şimdiye kadar sadece düşük konsantrasyonda in vitro genotoksisite testlerinde kullanılabilmektedir. Örneğin PubChem (2019)'e göre sodyum omadine maruz bırakılan bazı balık, krustasea ve kuş türlerinin ekotoksisite verileri EPA tarafından bildirilmiş olup, bu canlıların bilimsel adları, yaşları, deneye tabi tutuldukları süre, doz tipi ve toksisite değerleri Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Sodyum omadin uygulaması yapılan bazı balık ve Krustasea türlerinde EPA ekotoksisite bilgileri (PubChem, 2019)

| Organizma | Yaygın Adı       | Bilimsel Adı                   | Yaşı   | Deney süresi | Doz tipi         | Toksisite | Birim |
|-----------|------------------|--------------------------------|--------|--------------|------------------|-----------|-------|
| Balık     | Bluegill sunfish | <i>Lepomis macrochirus</i>     | Juv    | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 8,1       | ppm   |
| Balık     | Bluegill sunfish | <i>Lepomis macrochirus</i>     | 3,6 g  | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,019     | ppm   |
| Balık     | Bluegill sunfish | <i>Lepomis macrochirus</i>     | 2,0 g  | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 66        | ppm   |
| Balık     | Rainbow trout    | <i>Oncorhynchus mykiss</i>     | Juv    | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,0072    | ppm   |
| Balık     | Rainbow trout    | <i>Oncorhynchus mykiss</i>     | 0,26 g | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,28      | ppm   |
| Balık     | Channel catfish  | <i>Ictalurus punctatus</i>     | 4,4 g  | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,018     | ppm   |
| Balık     | Golden shiner    | <i>Notemigonus crysoleucas</i> | 2,6 g  | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,018     | ppm   |
| Balık     | Brook trout      | <i>Salvelinus fontinalis</i>   | Finglg | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,004     | ppm   |
| Balık     | Fathead minnow   | <i>Pimephales promelas</i>     | 1,3 g  | 96 h         | LC <sub>50</sub> | 0,0028    | ppm   |
| Krustasea | Water flea       | <i>Daphnia magna</i>           | <24 h  | 48 h         | EC <sub>50</sub> | 0,023     | ppm   |
| Kuş       | Mallard duck     | <i>Anas platyrhynchos</i>      | Adult  | 21 D         | LD <sub>50</sub> | 89        | mgk   |
| Kuş       | Mallard duck     | <i>Anas platyrhynchos</i>      | 14 D   | 8 D          | LC <sub>50</sub> | 9119      | ppm   |
| Kuş       | Bobwhite quail   | <i>Colinus virginianus</i>     | Adult  | 21 D         | LD <sub>50</sub> | 200       | mgk   |
| Kuş       | Bobwhite quail   | <i>Colinus virginianus</i>     | 14 D   | 8 D          | LC <sub>50</sub> | 3246      | ppm   |
| Kuş       | Bobwhite quail   | <i>Colinus virginianus</i>     | 26 wk  | 14 D         | LD <sub>50</sub> | 441       | mgk   |

Yukarda verilen tabloya benzer değerler, USEPA (1996, January) ve Arch Chemicals (2010)'ın çalışmalarında da göze çarpmaktadır. Buna göre bu madde gastrointestinal sistemden ve deriden kolayca absorbe olmakta, hızla idrardan metabolitler olarak atılmaktadır. Tatlısu balıklarına toksisitesi yüksek olup, Alabalık ve Mavi Yzgeli Güneş Balığı'nda akut 96-h LC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla <7,3 µg ai/L ve 8100 µg ai/L'dir. Aynı alışmada *Daphnia magna*'ya da çok toksik olduğu bildirilmiştir (48-h: 9,2 µg ai/L).

Bu konuda yapılan nadir çalışmalardan biri de Tural ve diğerleri (2018)'nin *Danio rerio* (Zebra balığı) bireylerini 24, 72 ve 96 saat süresince NaOM'un 1 µg/L ve 5 µg/L'lik dozlarına maruz bırakarak yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda; DNA/RNA oksidatif zararı ve SOD aktivitesi 24 saatlik gruba göre diğer gruplarda istatistiksel olarak önemli şekilde farklı bulunmuş ( $p < 0,05$ ) ve buna bağlı olarak NaOM'un evre kirletici toksik etkisine dikkat çekilmiştir.

Bazı sucul canlılarda toksik etkileri saptanmasına rağmen, yeterli sayıda araştırmaya rastlanmamış olması, sodyum omadinin sucul ekosistemler üzerindeki etkisi konusunda çok daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

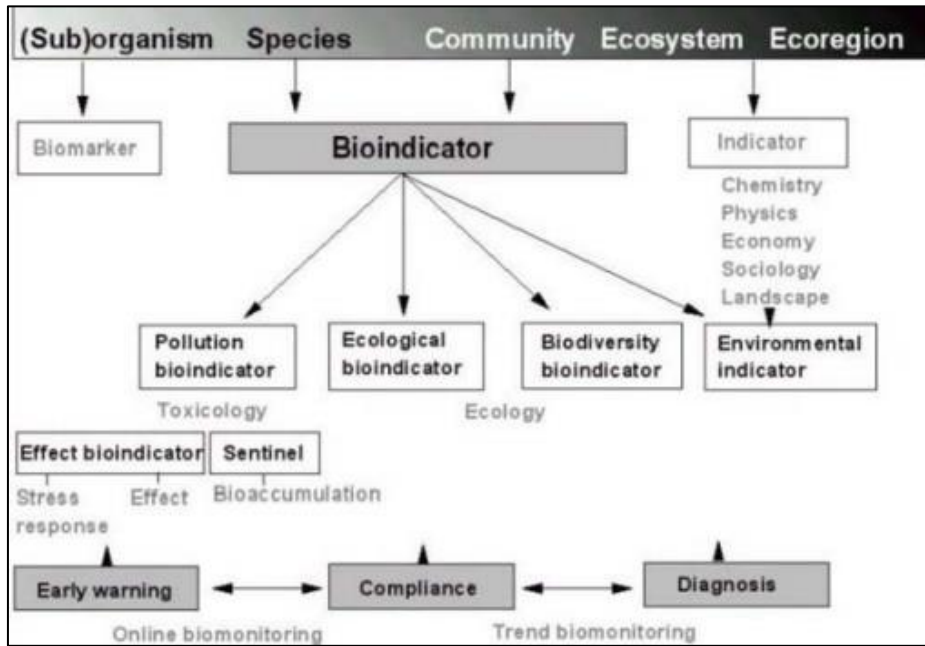
## 2.5. Biyoindikatör Türlerin nemi

Kirliliğin söz konusu olduğu ortamlarda bulunan canlı organizmalar, ekosistemin bozulmasına çeşitli tepkiler verirler. Tepkilerden en belirgin olanları, dağılım özellikleri olarak adlandırılan tür çeşitliliği, tür zenginliği, bolluk ve benzerlik değerleridir. Kirliliğin belirlenmesinde bentik canlıların kullanılması oldukça eski yıllara dayanmaktadır. Bir ortamdaki kirlilik derecesinin belirlenmesi, gerek çevrede gerekse o çevrede bulunan organizmalardaki zararlı kimyasal maddelerin miktarını bulma yoluyla olmaktadır. Bu amaçla, sulardaki ve sedimentlerdeki kimyasal madde miktarları saptanarak suyun veya sedimentin kalitesi hakkında bilgi edinilir. Fakat bu ortamlardaki kimyasal madde miktarları tek başlarına bir şey ifade etmezler. O ortamda bulunan akuatik organizmalardaki kimyasal madde miktarları da önem içermektedir (Başcınar, 2009).

Biyoindikatör türler, çevresel reaksiyonların gözlemlendiği organizmalar ve organizma topluluklarıdır. Bütün ekosistemi etkileyebilen durumlar için ipuçları verirler. Gerhardt (2000)'a göre biyoindikatörler üç durumda kullanışlıdır:

- 1) Eğer belirtilen çevresel faktör ölçülemezse (örneğin; iklim değişikliği gibi geçmişte çevresel faktörlerin yeniden yapılandırıldığı durumlarda) (paleo biyomonitoring),
- 2) Belirtilen çevresel faktörün ölçülmesi zor olduğunda (örneğin; pestisitler ve kalıntıları veya birkaç etkileşimli kimyasal içeren kompleks toksik atıklar),
- 3) Çevre faktörünün ölçülmesinin kolay, ancak yorumlamasının zor olduğu yerlerde (gözlenen değişikliklerin ekolojik önemi olup olmadığının anlaşılamadığı durumlarda)

Biyomonitoring için kullanılan indikatörler; organizma, tür, komünite, ekosistem ve ekorejyon perspektifinde farklı kategorilerde karşımıza çıkabilir. Örneğin (Şekil 2.2’de görüldüğü üzere) kirlenmeyi gösteren biyoindikatörler olduğu gibi, ekolojik biyoindikatörler, biyoçeşitlilik biyoindikatörleri ve çevre indikatörleri de mevcuttur (Gerhardt, 2000).



Şekil 2.2. Biyoizlemede kullanılan biyobelirteçlerin çeşitleri (Gerhardt, 2000)

Biyoiindikatör olarak kullanılan organizmaların büyük bir çoğunluğunu dip sedimentinin içinde ya da üzerinde bulunan ve çok yavaş hareket edebilen bentik canlılar oluşturmaktadır. Belirli bir bölgede dibe bağlı yaşadıklarından çevresel kirliliğe çok daha fazla maruz kalırlar. Çalışmalar bazı bentik organizmaların (örneğin midyelerin) kirlilik belirteci olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (Başçınar, 2009). Sudaki organik

bileşenleri ve planktonları temizleyerek beslenen midyeler, bunu yaparken bir filtreleme işlemi de gerçekleştirdiklerinden kirliliğin biyolojik izlenmesi için iyi bir biyolojik indikatördürler. Çünkü ağır metalleri bünyelerinde uzun süre tutabilir ve biriktirebilirler. Birçok midye türü hem tatlı sularda hem de denizlerde bol miktarda bulunduklarından, kolayca toplanabildiklerinden ve biyotik faktörlerin kontrolünü mümkün kıldıklarından, laboratuvar deneyleri ve ekotoksikolojik çalışmalar için biyoindikatör tür olarak tercih edilmektedirler (Carson ve Darling, 1962; Öktener, 2004).

Bu çalışmada kullandığımız türlerden biri olan *Dreissena polymorpha* (zebra midyesi) yıl boyu kolayca toplanabilmesi, ömür uzunluğunun uygun bir süre olması (3-5 yıl), örneklenmelerinin kolaylığı, yeterince büyük olmaları ve çevresel şartlardaki değişimlere karşı dirençli olmaları, suyu filtreleme özelliklerinin çok gelişmiş olması gibi birçok nedenle biyodeneyle ve biyomonitöring çalışmalar için son derece uygun bir canlıdır. Zebra midyeleri, biyoçeşitlilik açısından sayısal olarak tehdit altında olmadığı gibi, tam aksine (hızlı üreme gücü ve çevresel faktörlerdeki değişimlere karşı hoşgörü sınırlarının yüksek olması nedeniyle) “istilacı tür” olarak nitelendirilmektedirler. Sulardaki %0,5 oranındaki tuza bile dayanabildiğinden, hem tatlı hem de tuzlu sularda bol bulunmakta ve geniş bir yayılım göstermektedirler (Binelli ve diğerleri, 2015).

## **2.6. *D. polymorpha*’nın Taksonomisi ve Biyolojik Özellikleri**

Zebra midye (*Dreissena polymorpha*) türü adından da anlaşılacağı üzere kabuklarının üzerinde siyah-beyaz şeritler taşır (Bobat ve diğerleri, 2001). Bu şeritlerin renkleri koyu ve açık olarak değişebilir (Resim 2.1). *D. polymorpha*’nın taksonomisi aşağıda verilmiştir (GBIF, 2019; ITIS, 2019):

Alem: Animalia

Şube: Mollusca

Sınıf: Bivalvia

Takım: Veneroida

Üst Familya: Dreissenaceae

Familya Dreissenidae (Andrusov, 1897)

Cins: *Dreissena* (Beneden, 1835)

Tür: *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771)



Resim 2.1. Zebra midyeler

Bu canlıların bir başka önemi de ekonomik kayıplara yol açmaları ve istilacı tür olmaları nedeniyle, insanların bu tür ile mücadele konusuna önem vermeleridir (Gaygusuz ve diğerleri, 2007).

*Dreissena*'lar çevresel kirliliğe dirençli olduklarından, hassas türler değildir. Nitekim bu nedenle, IUCN'in Red List Kriterleri'ne göre LC (Least Concern-Düşük Riskli) olarak nitelendirilmekte olup, bu konuda 2013'de güncelleme yapılmıştır (Lopes-Lima ve Seddon, 2014).

Dişi Zebra midyelerinin üreme gücü çok yüksek olup, 40 bin-1 milyon adet yumurta bırakabilirler. Erkek midyeler ise suya bırakılan bu yumurtaların üzerine eşey hücrelerini bırakarak döllerler. En uygun gelişme sıcaklıkları 20-22 °C olan larvalar, 3-5 gün içinde yumurtalardan çıkar ve yaklaşık 1 ay boyunca suda pasif şekilde (suyun hareketine bağlı olarak) yüzerler (planktonik dönem). Bunlardan dişi olanları 1 yıl içinde üremeye hazır hale gelirler. Genç midyeler sert ya da kayalık yüzeylere, sularda bulunan diğer canlılar üzerine ve hatta kendi türünden diğer bireylere tutunurlar. Su alıp veren borucukları vasıtasıyla, günde yaklaşık 1 litre suyu süzerek içindeki alglerle beslenebilir. Boyutları ve ömür uzunlukları, yaşama ortamına göre değişiklik gösterir, ama en fazla 5 cm boyuna kadar çıkar ve 5 yıl kadar yaşarlar. Yaşam kalitelerinde en önemli çevresel faktörler sudaki



çözünmüş oksijen miktarı, sudaki kalsiyum miktarı (optimum) miktar 25-125 ppm, su sıcaklığı (optimum koşullar) 17–25 °C ve pH miktarıdır (Devlet Su İşleri [DSİ], 2012).

Zebra midyesi 7-400 mikron aralığındaki organik ve inorganik parçacıkları süzebilir. Planktonları süzdükleri için suyun berraklığını artırır, berraklık arttıkça, güneş ışığı daha derinlere ulaşabilir, bu da fotosentetik organizmaların daha derinlerde de gelişebilmesine imkân verir.

Ama öte yandan, zooplanktonlarla beslendiklerinden, sayıları çok arttığında besin zincirlerine zarar verebildikleri gibi, ekosistem fonksiyonlarında tahribata da neden olabilirler. Yerel midye türlerine yapışarak bu yumuşakçaların ekolojik görevlerini yerine getirmelerini de engellerler. Motorlara yapışarak çevreye yayılır, aşırı miktarda ürediklerinde ise kanalların ve su borularının tıkanmasına sebep olurlar. Yumuşak yüzeylerde yoğun kolonizasyon balık beslenmesini engelleyebilir ve sert yüzeylerdeki kolonizasyon ise balıkların yumurtlamasını etkiler.

Zebra midye denitrifikasyon oranlarını arttırarak ekosistemdeki azot döngüsü sürecini etkileyebilir. Tatlısu midyeleri (*Unionoida*) en tehlikeli faunal grup olarak Kuzey Amerika'da türlerin %60'ı için tehlike olarak kabul edilmektedir (Altınayar ve diğerleri, 2001).

## **2.7. *Unio mancus*'un Taksonomisi ve Biyolojik Özellikleri**

Bivalvia sınıfındaki Unionoidae familyası kozmopolit bir karakter gösterir ve özellikle Kuzey Amerika'da en büyük çeşitliliğine ulaşır. Yani bu familyaya dahil olan *Unio* cinsi midyeler *D. polymorpha* türü gibi sucul ekosistemlerin makrobentik faunasının yaygın türleridirler. Ancak ekolojik işlevleri bakımından önemli bir farkları vardır; çünkü Unionid midyeler, kirliliğe karşı oldukça hassastırlar. Yani biyoindikatör organizmalardır ve ekolojik çalışmalar yürütebilmek için çok uygun canlılardır. Balık, su samuru, kunduz gibi su canlılarının besinlerini oluşturduklarından besin zincirinde önemli bir rolleri vardır. İnsanlar tarafından da yenilebilirler, bazı hayvanların yetiştiriciliğinde (balık, tavuk, domuz vb.) önemli yer tutarlar, bazı türlerinin kabukları düğme, inci gibi süs eşyalarının yapımında kullanılabilir. Geçmiş çağlardan kalan mollusk fosilleri ise yeryüzünün jeolojik gelişiminin araştırılması açısından çok önemlidir. Diğer bentik türlere göre biyokütleleri

oldukça büyük olan Unionid midyeler, bahsi geçen tüm bu özellikleri nedeniyle, su ekosistemlerinde ekolojik ve ekonomik açıdan çok önemlidir (Van Hassel ve diğerleri, 2007).

*Unio*'lar birçok midye türünün aksine, hassas canlılar olduklarından kirlilik stresine maruz kaldıklarında sucul ekosistemde yok olabilirler. Nitekim, bu hassasiyeti nedeniyle, birçok su ekosisteminde sayıları hızla azaldığından IUCN'in Red List Kriterlerine göre NT (Near Threatened-Tehdite Yakın) olarak nitelendirilmiş olup, bu konuda 2014'de güncelleme yapılmıştır (Lopes-Lima ve Seddon, 2014).

Unionidae (Fleming, 1828) ailesi mensubu tatlısu midyeleri suyu filtre ederek, fitoplankton miktarını önemli ölçüde düşürürler, fosforu su sütunundan uzaklaştırırlar, bu sayede bulundukları ortamdaki su kalitesinin iyileşmesinde etkili olurlar (Güler ve diğerleri, 2017).

Unionid midye larvaları (glochidia), balık solungaçlarında veya yüzgeçlerinde zorunlu parazitler olduğu karmaşık bir yaşam döngüsüne sahiptir. Yumurtlama sırasında, oositler suda süzülen sperm tarafından döllenikleri solungaçlara (marsupium/kese) geçer. Marsupium'da embriyolar olgunlaşmış glochidia olana kadar kuluçkaya yatırılır ve sifonlar vasıtasıyla salınır. Glochidia, uygun bir konakçı balık bulana kadar sadece birkaç gün hayatta kalabilir. Bir kapsülle çevrilen glochidia juvenillere dönüşür, konakçıdan ayrılır ve aşağı düşer ve cinsel olgunluğa yönelik büyüme başlar (Khalloufi ve diğerleri, 2019).

Genel olarak tatlısu midyeleri ayrı eşeyli olmakla beraber çok nadir olarak hermofroditlik görülür. Olgun erkeklerde gonadlar krem-beyaz, dişilerde ise portakal sarısı tonlarındadır. Kabuklar kapalı iken cinsiyet ayrımı yapılamaz. Sperm ve yumurtanın döllenmesi ile glochidia larvası oluşur (Keskinbalta, 2015).

Türkiye'de çeşitli araştırmacılar tarafından *Unio* cinsine ait altı tür (*Unio pictorum*, *Unio hueta*, *Unio terminalis*, *Unio elongatulus*, *Unio tigridis*, *Unio stevenianus*) saptanmıştır (Öktener, 2004).

Bu çalışmamızda kullandığımız diğer tür olan *Unio mancus*, *D. polymorpha*'nın tersine çevresel kirliliğe karşı son derece duyarlı ve hassas bir canlı olup, kirlilik stresine maruz

kaldığında çok hızla zarar gördüğünden, ortamdan kaybolur. Bu hassaslığı onu “biyoindikatör” bir tür haline getirirken; yeterli uzunlukta ömre sahip olması, su sistemlerinde kolayca bulunabilmesi (yaygın olması) ve vücutlarının doku örnekleri alınabilecek büyüklükte olması nedeniyle ekotoksik çalışmalarda aranılan bir denek durumunda görülürler (Van Hassel ve diğerleri, 2007).

*U. mancus*, muhtemelen ilkbahar ve yaz aylarında yumurta üretir. Nehir, göl ve kanallarda kumlu zeminleri ve nispeten durgun su habitatlarını tercih eder. Genellikle ağaç kökleri arasında bulunur. Balıklarda konakçı olabilirler. Bu tür Kuzey Afrika, Güney ve Güneydoğu Akdeniz, Orta Doğu ve Orta Avrupa’da (doğal olarak Türkiye’de de) yayılmıştır (Keskinbalta, 2015).

Türkiye’de Karasu Çayı’nda ve Bektaşğa Göleti’nde rastlanan *U. mancus*’un taksonomisi aşağıda verilmiştir (Musselp, 2019);

Alem: Animalia

Şube: Coelomata

Sınıf: Bivalvia

Altsınıf: Eulamellibranchiata

Takım: Unionoida

Familya: Unionidae

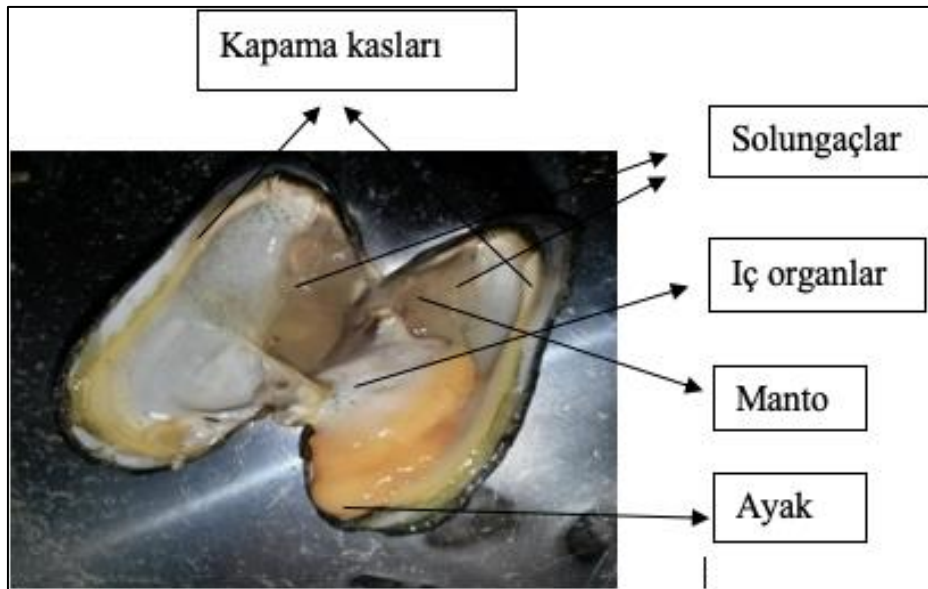
Cins: *Unio* (Philipsson, 1788)

Tür: *Unio mancus* (Lamarck, 1819)

*U. mancus*’lar (Resim 2.2) genelde tatlı sularda littoral bölgenin çamurlu zemini üzerinde yaşarlar. Birbirine elastik bir ligament ile sıkıca bağlı olan kabuklarında ön (anterior), arka (posterior), karın (ventral) ve sırt (dorsal) bölgeleri olup, kabuğun iç kısmındaki manto boşluğu ise sedef ile kaplıdır. Ayak kısmının yanında iki adet solungaç olup anterior kısmında her iki kabukta kapama kasları mevcuttur. İç organlar dorsal kısma tutunmuştur (Resim 2.3).



Resim 2.2. *U. mancus* kabuk görüntüsü



Resim 2.3. *U. mancus*'un morfolojik yapısı

## 2.8. Biyodeney ve Biyodeneylerde Kullanılan Bazı Kavramlar

Canlının organ veya organlarını kimyasal yapıları aracılığıyla etkileyebilen, organizmada meydana gelen ya da dışarıdan organizmaya giren, canlının sağlığında geçici veya kalıcı olumsuz etki yapan maddeler; zehir ya da toksin olarak tanımlanmaktadır (TSE, 1988).

Suya doğal ya da çeşitli yollarla girebilen bu tür kimyasal maddelerin miktarının artması sucul ortamda yaşayan canlı organizmalar için toksik olup çeşitli etkiler doğurabilmektedir (Lloyd, 1992).

Sucul habitatlardaki mevcut kirliliğin ve toksik maddelerin canlılar üzerindeki etkilerini değerlendirebilmek amacıyla gerçekleştirilen deneylerde doğrudan canlıların kendileri kullanılır ve bu deneyler iki şekilde yapılır:

**In vitro:** Canlının yaşadığı ortam koşullarına benzer koşullar (tam kontrollü olarak) laboratuvar ortamına aktararak gerçekleştirilir.

**In situ:** Herhangi bir toksik maddenin sucul sistemler üzerinde yaptığı etkileri anlayabilmek amacıyla, kirlenmiş olduğu düşünülen doğal ortamdan örnek toplanarak incelenir (Tunca, 2015).

Biyodenyelerde doğrudan canlı materyal kullanılmaktadır. Bu deneylerde genellikle toksik maddelerin etkilerinin tespiti yapıldığı için zehir deneyleri olarak da adlandırılırlar (APHA, 1975).

Biyodenyeler deney sürelerine göre genel olarak; kısa süreli (akut) ve uzun süreli (kronik) olmak üzere ikiye ayrılır. Akut toksisite deneylerinde genellikle  $LC_{50}$  değerinin hesaplanmasının nedeni, kirleticilere karşı ölüm öncesi bireysel ve toplu reaksiyonu yani genellikle canlının ölümünü baz almak içindir (Svobodova ve diğerleri, 1993).

**Zehir:** Organizmada şekillenen veya dışarıdan organizmaya giren, kimyasal yapıları dolayısıyla canlının organ veya organlarını etkileyebilen, canlının sağlığında geçici veya sürekli olarak olumsuz etki yapan maddelerdir (TSE, 1988).

**Zehirlilik (Toksisite):** Sularda tabii dengeyi bozan organizmaların hayat sürelerini kısaltan ve/veya ortam şartlarını bozan her türlü yabancı etkidir. Diğer bir deyişle; kirleticilerin organizmalar üzerine zararlı etkisidir (Ünsal, 1996).

**Subletal Doz:** Canlıda doğrudan ölüme neden olan düzeyin altındaki dozdur (TSE, 1988).

**Akut zehirlenme:** Kimyasal maddenin toksik dozuna bir kere veya kısa zaman (24 saat) içinde birçok kere maruz kalma sonucu görülür.

**Kronik zehirlenme:** Uzun süre (3 aydan fazla) akut toksik dozun altında maruz kalma sonucu oluşan kronik zehirlenme kümülatif zehirlerle görülür. Genel olarak bir zehirin

organizmadan atılım hızı, absorpsiyon hızına göre daha yavaş ise, bu toksik madde organizmada birikebilir yani "kümülatif özellik" gösterir (Tunca, 2015).

LD<sub>50</sub> (ortalama öldürücü doz): "deney hayvanlarına belirli koşullarda ve doğrudan uygulanan toksik maddenin, bu hayvan popülasyonunun %50'sini öldüren dozu" olarak tanımlanır.

LC<sub>50</sub> (ortalama öldürücü konsantrasyon): Belirli bir süre (örneğin 24 saat) sonunda, çevrede (su, hava gibi) bulunan kimyasal maddeye maruz kalan deney hayvanlarının %50'sinin ölümüne neden olan konsantrasyondur (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Sucul ortamda yaşayan canlılar üzerindeki LC<sub>50</sub>'ye göre toksisite dereceleri (Tunca, 2015)

| Toksikoloji derecesi | LC <sub>50</sub> (µg/L) |
|----------------------|-------------------------|
| Çok yüksek toksik    | < 100                   |
| Yüksek toksik        | 100-1 000               |
| Orta derecede toksik | 1 000-10 000            |
| Az toksik            | 10 000-100 000          |
| Akut toksik değil    | > 100 000               |

LD<sub>50</sub> tayini: Yukarıda verilen LD<sub>50</sub> tanımı, Ekonomik İşbirliği ve Gelişme Kuruluşu (The Organization For Economic Cooperation and Development: OECD) tarafından daha açık olarak: "Bir maddenin deney hayvanlarının %50'sini öldüreceği beklenen ve istatistiksel olarak tayin edilen tek dozu" şeklinde tanımlanmaktadır (Vural, 2005: 228).

LD<sub>50</sub> ve LC<sub>50</sub> tayininde kullanılan en basit yöntem, grafiksel yöntem olup, etkinin kuantal olduğu (hep veya hiç) düşüncesine dayanmaktadır. Böylece deney grubunda, doza karşı cevap (ölüm) yüzdesi ve normal dağılımdaki kümülatif etki değerlendirilmesi yapılır (Vural, 2005: 229).

Doz-probit ilişkisi: Doz-cevap ilişkisinde doza karşı ölüm "probit birimi" olarak da gösterilebilir. Özellikle probit esasına dayanan doz-cevap eğrisi, aynı LD<sub>50</sub> değerini veren maddelerin, diğer dozlardaki toksisitelerini karşılaştırmada önemlidir.

Bağımlı ya da açıklanan değişkeni evet-hayır, başarılı-başarısız gibi yanıtlardan oluşan, 0 ve 1 olarak kodlanan kategorik modeller, iki uçlu ya da gölge-bağımlı değişkenli modeller olarak adlandırılır. Bu modelleri tahmin etmek için Doğrusal olasılık, Logit ve Probit gibi çeşitli analiz yöntemleri kullanılır.

Probit analizi logistik regresyona alternatif olarak kullanılan bir modeldir. Her iki analizde birbirine oldukça benzerdir ve her iki yöntem ile elde edilen olasılık tahminleri birbirine oldukça yakın değerlerdir. Logistik regresyon analizinde log odd'lar (bahis oranları) kullanılırken probit analizinde kümülatif normal dağılım kullanılır.

SPSS'te probit analizi, özellikle tıp alanında yapılan deneysel çalışmalarda, birimlere uygulanan doz miktarlarına karşı alınan cevaplar (doz-cevap) için düzenlenmiş olmasına rağmen daha geniş amaçlar için de kullanılabilir. Probit analizi, belli bir bağımlı değişken (cevap) oranına ulaşmak için gerekli olan bağımsız değişken etkisinin tahmin edilmesine olanak sağlar (Paçal, 2017).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deneyde kullanılan midye türlerinin temini, taşıma ve saklama koşulları

Çalışmamızda kullanılan iki farklı midye türünün toplama kaynağı, taşıma ve hazırlama koşulları şu şekildedir:

Kullanılan türler: Tatlısu midyesi (*Unio mancus*) (Lamarck, 1819) ve Zebra midye (*Dreissena polymorpha*) (Pallas, 1771) kullanılmıştır.

Zebra midyesinin toplama yeri ve nitelikleri: *D. polymorpha* (Pallas, 1771) bireyleri Kesikköprü Barajı'ndan toplanmıştır. Kesikköprü Barajı, Ankara ili Bala ilçesi, Kesikköprü beldesinde, Ankara'ya yaklaşık 110 km uzaklıkta, Kızılırmak üzerinde yer almaktadır. 39° 23' 43,08'' kuzey enlemi, 33° 25' 15,6'' doğu boylamı arasında olup, alanın yükseltisi 49,10 m'dir. Elektrik enerjisi üretimi ve sulama suyu sağlama amaçlı olarak 1966 yılında işletmeye açılmıştır. Toprak ve kaya gövde dolgu tipine sahiptir. Zebra midyeler Kesikköprü Barajı'ndaki hidroelektrik santralinde borularda kolonize olarak bulunmaktadır.

Tatlısu midyesinin toplama yeri ve nitelikleri: Çalışılan diğer midye türü *Unio mancus* (Lamarck, 1819) bireyleri Sinop ilindeki Karasu Çayı'nda kolay ulaşılabilen kısımlardan el ile daha sığ olan kısımlardan ise kepçe ile toplanmıştır (Resim 3.1). Karasu Çayı, Küre Dağları'nda Gündüzlü Ormanları'ndan doğar. Uzunluğu 80 km olup, Sinop'un 8 km batısından denize dökülür. Örneklerin toplandığı alanın koordinatları; 41° 57' 17,96'' kuzey enlemi, 31° 1' 11,24'' doğu boylamı arasında olup, örneklem alanının yükseltisi 21,3 m'dir.

Taşıma koşulları: Serin ve nemli bir ortam isteyen bu canlılar ışık almayan mavi termoslar içerisinde muhafaza edilerek laboratuvar ortamına getirilmiştir.





Resim 3.1. Karasu Çayı (Sinop)

### 3.1.2. Deney ortamı ve adaptasyon periyodu

Karasu Çayı'ndan ve Kesikköprü Barajı'ndan toplanarak laboratuvara getirilen midyeler burada, tür olarak ayrı ayrı, içlerinde 48 saat havalandırılarak dinlendirilmiş şebeke suyu bulunan akvaryumlar ve cam kaplar içine konulmuştur. Bu ortamda bir hafta bekletilerek laboratuvar şartlarına adapte olmaları sağlanmıştır. Bu süreç boyunca deney kapları güneş gören bir yere konulduğundan, ortamın yeterince ışık alması ve dolayısıyla fitoplanktonların (alglerin) üremesi sağlanmış, böylece midyelerin onlarla doğal olarak beslenmesi mümkün olmuştur (Resim 3.2).



Resim 3.2. *D. polymorpha* üyelerinin akvaryumlarda 1 haftalık adaptasyon süreçleri

### 3.2. Deney Düzenegi ve Yöntemi

#### 3.2.1. *D. polymorpha* için Akut LC<sub>50</sub> değerlerinin tespiti

*D. polymorpha* (Zebra midyesi) ile akut LC<sub>50</sub> (mortalite) değerleri biyodeney yöntemi ile yapılmıştır. Buna göre; 3 L hacimli 6 adet cam kap (5 farklı doz ve 1 kontrol grubu için) kullanılmış, bunların içine Ankara şebeke çeşme suyundan 2 L konularak klorunun uçması için 48 saat dinlendirilmiş ve gerekli havalandırma düzeneği sağlanmıştır (Resim 3.3). Her bir cam kaba konulan zebra midyesi sayısı 20 adettir ve ortalama kabuk uzunlukları  $14,4 \pm 3,6$  mm olarak ölçülmüştür. Deney öncesi cam kaplardaki su parametreleri; sıcaklık 21°C, iletkenlik 204,7 µS/cm, çözünmüş oksijen (DO) 4,25 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Akvaryum suyu kalitesi deney başlangıcında ve bitiminde YSI marka arazi tipi oksijen metre ile her akvaryum için ölçülmüş ve değerler kaydedilmiştir.



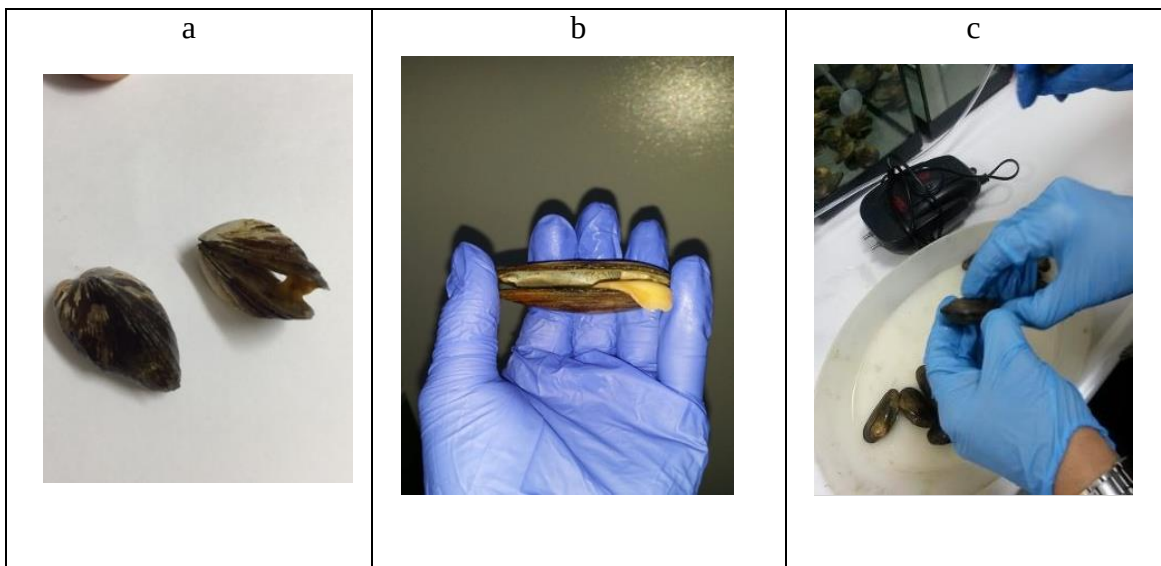
Resim 3.3. *D. polymorpha* biyodeney düzeneği

Biyodeney için sodyum omadin (aq. sol., 40%, Arch Chemicals, Inc., UK) kullanılarak distile su ile dört farklı konsantrasyonda seyreltilmiş stok çözelti hazırlanmıştır. Bu çözelti 0,1, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 µg/L'lik konsantrasyonlarda 7 gün boyunca *D. polymorpha* bireylerine uygulanmıştır (Resim 3.4).



Resim 3.4. Sodyum omadin çözeltisinin hazırlanması

Midyelerin canlı olup olmadıklarını anlayabilmek için kabuklara el ile hafifçe vurularak uyarı verilmiş ve ardından (hayvana zarar gelmemesi için dikkatli davranarak) açılmaya çalışılmıştır. Eğer kabuklar kolayca açılıyor ve öylece kalıyorsa ölü, açılmaya çalışıldığında tekrar kapanıyorsa canlı olarak kabul edilmişlerdir (Resim 3.5). Ölü olanların kabukları ağırlık, uzunluk, yükseklik ve kalınlık olarak ölçülmüş ve bu fiziksel değerler kaydedilmiştir.



Resim 3.5. *Dreissena polymorpha* (a) ve *Unio mancus* (b) bireylerinde “canlılık tespiti” (c)

Biyodeney sistemi OECD (1993) ve ulusal mevzuatta verilen (Resmi Gazete, 1991) standard metodlara göre yapılmıştır. LC<sub>50</sub> (mortalite) sonuçları Finney'in probit analiz yöntemine göre EPA tarafından geliştirilen paket program (EPA Probit Analysis Program Version 1.5, A.B.D.) ile LC<sub>50</sub> %95 güven aralığı hesaplanmıştır.

### 3.2.2. *U. mancus* ile subletal deney

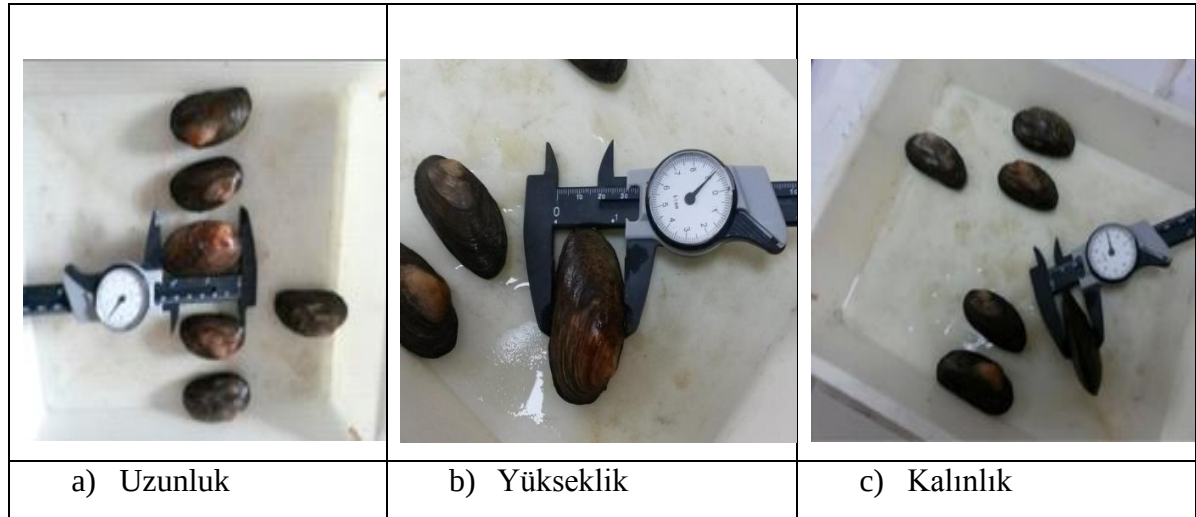
Subletal deneyde *U. mancus* türü kullanılmıştır. Subletal sodyum omadin (sulu çözeltisinden distile su ile hazırlanmıştır) maruziyet deneyinin süresine ve doz aralığına bir ön deney yapılarak, onun sonucuna göre karar verilmiştir. Hacmi 20 litre olan deney akvaryumuna, kloru uçurulmuş 15 litre şebeke suyu ve 15'er adet midye konulmuştur (Resim 3.6). Ardından bu suya 5 µg/L NaOM dozlanmıştır. Bunlara ilave olarak yine içinde aynı miktar havalandırılmış şebeke suyu ve 15 adet midye bulunan 1 adet 20 L'lik akvaryum kontrol grubu olarak hazırlanmıştır. Yapılan dozlama 96 saat boyunca gözlemlenmiştir. Deney öncesi akvaryumdaki su parametreleri; sıcaklık  $19,1 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ , iletkenlik 256,6 µS/cm, pH  $8,16 \pm 0,2$ , çözünmüş oksijen (DO) 6,25 mg/L olarak tespit edilmiştir.



Resim 3.6. *U. mancus* biyodeney düzeneği

Deney süresince (4 gün), her gün akvaryumlara uygulanan sodyum omadin dozlarının etkisini ve midyelerin canlı olup olmadıklarını anlayabilmek için “canlılık tespiti” yapılmıştır. Yani, ölmüş izlenimi veren bireylere dokunmak suretiyle (kabuklarına uyarı verildiğinde ölü olanların açık kalıp, kapanmamaları özelliğine göre) canlı olup olmadıkları kesinleştirilerek, ölü olanlar akvaryumdan uzaklaştırılmış ve fiziksel ölçümleri yapılarak kaydedilmiştir (Resim 3.5).





Resim 3.7. *U. mancus* bireylerinin fiziksel ölçümleri

Deney bitiminde (96 saat sonunda) sağ kalan bütün *U. mancus* bireyleri kâğıt havlu ile kurularak fazla suları alınmıştır. Ardından kabuk ağırlıkları Sartorius TE313S terazi ile, “yükseklik-uzunluk-kalınlık” parametreleri ise kumpas aleti kullanılarak morfometrik ölçümleri tamamlanmıştır (Resim 3.7). İlk 10 örnek biyokimya için ayrılmış, kalan 5 örnek ise histolojik analizler için kullanılmıştır.

### 3.2.3. *U. mancus* üzerinde histolojik çalışmalar

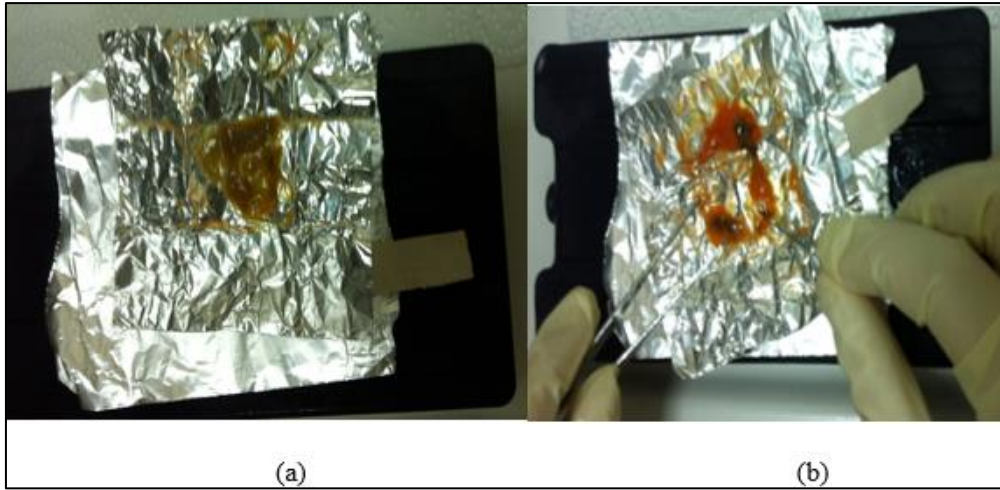
Hemosit sayımı: Tatlısu midyelerinin ilk aşamada umbo kısmına yakın bir kısmından 2,5 ml’lik enjektör kullanılarak Resim 3.8’de görüldüğü üzere hemolenf sıvısı alınmış ve 1:1 oranında %4’lük formaldehitte fikse edilerek sulandırılmış (%4’lük formaldehit; 96 ml distile suya 4 ml formaldehit konularak) ve toplam hemosit sayımı yapılmıştır (THC/ml). Hemolenfde THC/ml hemosit sayımı hemositometrede tüm hücreler sayıldıktan sonra (Dinçel ve diğerleri, 2013) metodunun modifikasyonu ile hesaplanmıştır.



Resim 3.8. *U. mancus*’dan hemolenf sıvısı alınması

Mikronükleus sayımı: Mikronükleus sayımı için, (toplamda 5 adet örneğin hemolemf sıvısı kullanılmıştır) hemolemf 3:1 oranında metanol ve glasiyal asetik asit ile fikse edilerek, periferik yayma preparatlar hazırlanmıştır. Yirmi dakika havada kurutulduktan sonra, mikronükleusları açığa çıkaracak olan Giemsa boyası göz kararı miktarında preparatın üzerine damlatılıp, boyama gerçekleştirilmiş ve tekrar kurumaya bırakılmıştır.

Diseksiyon: Hemolenf alım işleminden sonra, diseksiyon yapılmıştır. Biyokimya için ayrılan doku örneklerinin (solungaç ve sindirim bezleri) biyobelirteçlerini kanıtlamak için alınarak alüminyum folyoya sarılmış, şoklama yöntemi ile sıvı azota konulmuş ve parametre ölçüm işlemleri yapılacağı zamana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda saklanmıştır (Resim 3.9).



Resim 3.9. *U. mancus*'ların solungaç (a) ve sindirim bezi (b) doku örnekleri

Histoloji çalışması: Disekte edilen örneklerde ligament ve ayak kısmı hariç midye dokuları alınmış ve kasetlere yerleştirilip Davidson solüsyonuna (330 ml %95'lik etil alkol, 220 ml formalin, 115 ml glasiyal asetik asit, 335 ml distile su ya da çeşme suyu) konulmuş; 48 saat sonra %70'lik etil alkole aktarılmıştır (Bell ve Lighner, 1988). Dokular daha sonra doku takibinin gerçekleştirilmesi amacıyla plastik kasetlere küçültülerek alınmıştır. Doku takibine kadar plastik kasetlerde %70'lik etil alkol içinde bekletilmiştir.

Doku takibinin gerçekleştirilmesi: Bu süreçte etil alkol içerisinde bekleyen dokuları önce dehidrasyon amaçlı olarak her birinde ikişer saat kalacakları %70, 80, 90, 96 ve absöü etil alkol serilerine maruz bırakılmışlardır. Daha sonra alkolün uzaklaşması ve parlatma işlemi için 2 saat süre ile ksilolden geçirilerek;  $56-58^{\circ}\text{C}$ '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).

Parafin bloklardan doku kesitlerinin alınması: Parafin bloklardan histolojik inceleme yapmak için, rotary Thermo Shandon mikrotom ile 5-6 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır. Daha sonra kesimler 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 ve Schreibman (1997) prosedürlerine göre hematoksilin ve eozin ile boyanmıştır. Hematoksilin ve eosin ile boyanan dokular Kanada balsamı ile yapıştırılarak sabit preparat haline getirilmiştir (Luna, 1968).

Histolojik preparatların incelenmesi: Dokuların incelenmesi, değerlendirilmesi ve görüntülenmesinde histoloji atlası McElwain ve Bullard (2014) ve açık literatürde bulunan araştırma makalelerinden faydalanılmıştır.

Genotoksisite çalışması: Bu çalışma kapsamında ise histolojik preparatlara TUNEL testi uygulanmıştır. Bunun için üreticinin yönergesi takip edilerek (TUNEL apoptosis kit prosedürü) kit ile dokudan genetik hasar tayini yapılmıştır (Kitin teknik özelliği: Millipore marka [CatNo=S7101] “Apop Tag Peroxidase in situ Apoptosis detection Kit”).

Dokuda biyokimyasal analizler: Lipit peroksidasyonu düzeyi sindirim bezi ve solungaç dokularında tiyobarbütrik asit (TBA) reaktif madde oluşumu yöntemi ile çalışılmıştır (Casini ve diğerleri, 1986; Kurtel 1992). Doku örnekleri homojenizatör ile soğuk trikloroasetik asit (TCA) (100 mg doku + 900 µl %10'luk TCA) içinde buzlu ortamda homojenize edilmiştir. Santrifügasyondan sonra süpernatanttan 250 µl alınarak analiz edilmiş ve lipid peroksidasyon düzeyi  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  katsayısı kullanılarak “malondialdehit (MDA) eşdeğeri” olarak ifade edilmiştir.

Aynı dokularda redükte glutatyon (GSH) tayininde modifiye Ellman yöntemi kullanılmıştır (Aykaç 1985; Ellman 1959). Süpernatanın 100 µl'si, 400 µl 0.3 M  $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve 50 µl ditiyobisnitrobenzoat (DTNB) (0,4 mg/ml %1'lik sodyum sitrat) çözeltisi eklenerek karıştırılmış, örnekler oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletildikten sonra

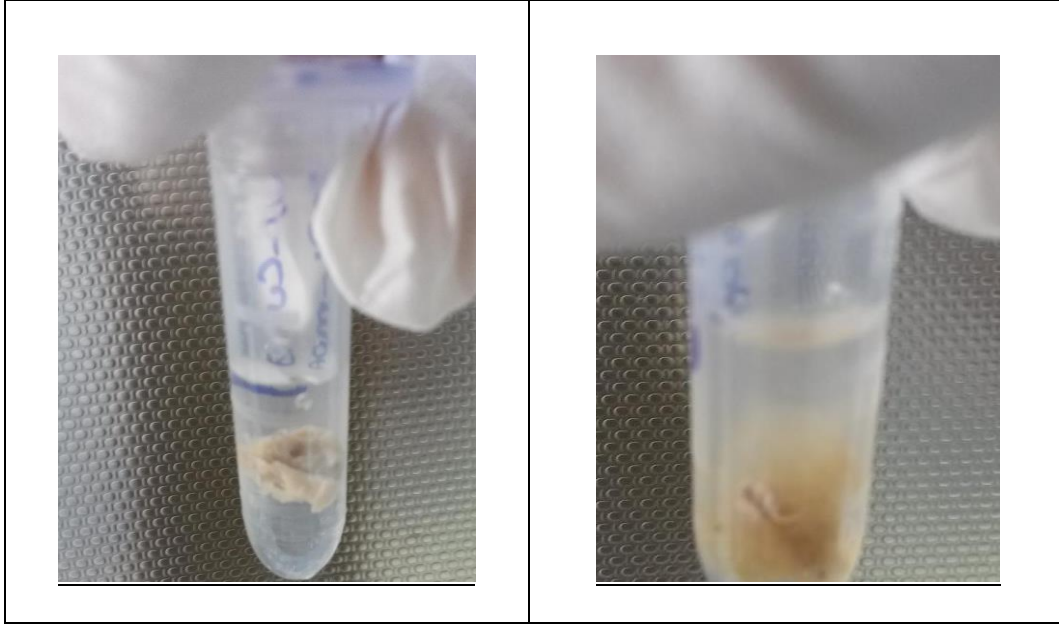
spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorbans ölçülmüş ve glutatyon düzeyleri  $13,600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

Dokuda yağ oksidasyonunun ölçüldüğü en yaygın metot TBA yöntemidir. Bu yöntem malondialdehit (MDA) içeriğini belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. TBA yönteminin prensibi MDA ve tiyobarbiturik asitin (TBA) reaksiyona girerek kırmızı renkli pigment oluşturmastır. Oluşan kırmızı-pembemsi renkteki pigment spektrofotometrede 532-535 nm'de ölçülmektedir. TBARS yöntemi ile sadece ikincil bir reaksiyon ürünü olan MDA ölçülmez çünkü aynı zamanda diğer bazı bileşenlerde TBA ile reaksiyona girebilmektedir. TBA ile reaksiyona giren ama MDA olmayan bileşiklere TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) denir (Fernandez ve diğerleri, 1997).

Solungaç ve sindirim bezi TBARS (Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi) ölçümü için aşağıdaki akış uygulanmıştır (Resim 3.10) (Casini ve diğerleri, 1986; Kurtel, 1992):

- Tiyobarbiturik asit (TBA) reaktif madde oluşumu yöntemi ile solungaç ve sindirim bezi dokusunda lipid peroksidasyon düzeyinin ölçümü (Casini ve diğerleri, 1986; Kurtel, 1992)
- Homojenizatör ile soğuk trikloroasetik asit içinde (buzlu ortamda) doku örneklerinin homojenize edilmesi (900  $\mu\text{L}$  %10'luk TCA + 100 mg doku)
- Örneklerin santrifüj edilmesi (15 dakika süreyle 4000 rpm'de ve süpernatant alınarak 4000 rpm'de 8 dakika)
- Örnekten 250  $\mu\text{L}$  alınarak üzerine 10  $\mu\text{L}$  %1'lik bütil hidroksitoluen (BHT) ve 250  $\mu\text{L}$  %0,67'lik tiobarbiturik asit (TBA) eklenmesi
- Kaynarsu banyosunda (100 °C) örneklerin 15 dakika bekletilmesi
- Örneklerin soğutularak 4000 rpm'de santrifüj edilmesi
- Örneklerden süpernatant alınarak her bir örneğin absorbanısı 532 nm'de tayin edilmesi
- Solungaç ve sindirim bezi dokusu lipid peroksidasyon düzeyi  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M/cm}$  ekstinksiyon katsayısı kullanılarak malondialdehit (MDA) eşdeğeri olarak ifade edilmesi





Resim 3.10. Solungaç ve sindirim bezi TBARS düzeyinin ölçülmesi

Solungaç ve sindirim bezi glutatyon (GSH) düzeyinin ölçülmesi için yapılan deneylerin akış sırası ise şu şekildedir (Resim 11) (Aykaç, 1985 ve Ellman, 1959):

- Solungaç ve sindirim bezi dokusunda glutatyon (GSH) tayininin yapılması (Modifiye Ellman yöntemi kullanılarak)
- Lipid peroksidasyonunda anlatıldığı şekilde solungaç ve sindirim bezi dokuları homojenize edilmesi
- Santrifüj işlemi
- 100  $\mu$ L süpernatant, 400  $\mu$ L 0,3 M  $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve 50  $\mu$ L ditiyobisnitrobenzoat (DTNB) (0,4 mg/ml %1'lik sodyum sitrat) çözeltisi ile karıştırılması
- Örneklerin oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübasyona bırakılma işlemi
- UV- GB spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorbans ölçümü ve glutatyon düzeyleri 13,600 M/cm ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanması



Resim 3.11. Solungaç ve sindirim bezi glutatyon düzeyinin ölçülmesi

Doku analizlerinde kullanılan aletler ve kimyasallar genel olarak aşağıda verilmiştir:

Kullanılan aletler:

- Homojenizatör MICCRA D-1 Mikro
- Hassas terazi SARTORIUS
- Santrifüj HETTICH Micro 200 R Soğutmalı
- Spektrofotometre BLOKIT EL X 800 Bioelisa Reader
- Spektrofotometre BIOCHROM Libra S22 UV/VIS
- Molecular Devices VERSAmax tunable microplate reader
- Vortex HEIDOLPH
- Benmari Isıticılı Su Banyosu
- Derin dondurucu DAIHAN
- pH-metre JENWAY
- Magnetik karıştırıcı Isıticılı HEIDOLPH
- Kar makinesi ELECTROLUX
- Otomatik pipet

Kullanılan kimyasal maddeler:

- Trikloraasetik asit (TCA)
- Etil alkol (Merck)
- 5,5' ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)
- Tiyobarbitürik asit (TBA)
- Bütil hidroksitoluen (BHT)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , sodyum sitrat (Sigma)

İstatiki analiz:

MDA ve GSH tayini sonuçları gruplar arası farkın tespiti için önce normal dağılım ve varyansların homojenliği testlerinden geçirilmiş, şartları sağlayan veriler parametrik t-testi ve tek yönlü ANOVA ile; sağlamayanlar ise bunların non-parametrik muadilleri olan Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis H testleri ile analiz edilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sodyum Omadin'in Tatlısu Zebra Midyesi (*D. polymorpha*) Üzerine Akut Toksik Etkisi

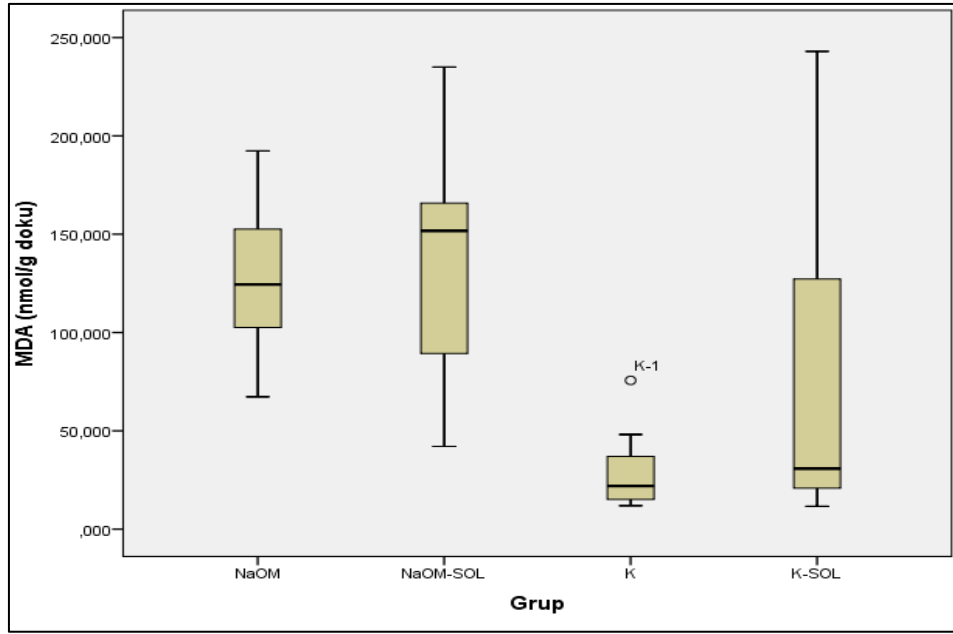
Zebra midyesinde (*D. polymorpha*) akut toksisite deneyi sonucunda sodyum omadinin statik biyodeneş sisteminde 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri 0,243 µg/L (243 ng/L) olarak hesaplanmıştır (%95 güven aralığı=0,735-0,016). Kontrol grubunda (n=15) 96 saat 1 adet ölü midye bulunmuştur. Akut toksisite bulguları bize maddemizin indikatör tür zebra midyesi için çok toksik olduğunu göstermiştir. Organlarının çok küçük olması nedeniyle, dokuları doğru sonuç verecek şekilde almak mümkün olmadığından, bu tür üzerinde subletal deney yapılmamıştır.

### 4.2. Sodyum Omadin'in Tatlısu Midyesi *Unio mancus* Üzerine Subletal Toksik Etkisi

*Unio mancus* türüne NaOM 5 µg/L konsantrasyonda uygulanmıştır. Deney süresi olan 96 saat sonunda hemolemf hücre sayımı, genotoksisite, biyokimya ölçümleri yapılmıştır. Genotoksisite belirlenmesinde kullanılan mikronükleus yönteminde her preparattan en az 1000 hücre sayılması gerekmektedir. Ancak deney grubumuzda mikroskopik analizler istatistik değerlendirme yapacak düzeyde hücre bulunamadığını gösterdiğinden mikronükleus testi sonuçları elde edilememiştir.

### 4.3. Doku Analizlerinden Elde Edilen MDA Bulguları

Subletal sodyum omadine 96 saat süresince maruz kalan tatlı su midyesi *Unio mancus*'un sindirim bezi ve solungaç dokularındaki malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir. Doksan altı saat boyunca sodyum omadine maruz kalmış solungaç dokularındaki MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli fark göstermemesine rağmen, kontrol grubuna göre artış saptanmıştır (p>0,05). Sindirim bezi MDA düzeyleri ise kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır (p<0,05) (Şekil 4.1) (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Kontrol ve deney grubunun toplam MDA düzeyi farkları boxplot grafiğinde karşılaştırılması (“NaOM”: Deney grubu, “K”: Kontrol grubu)

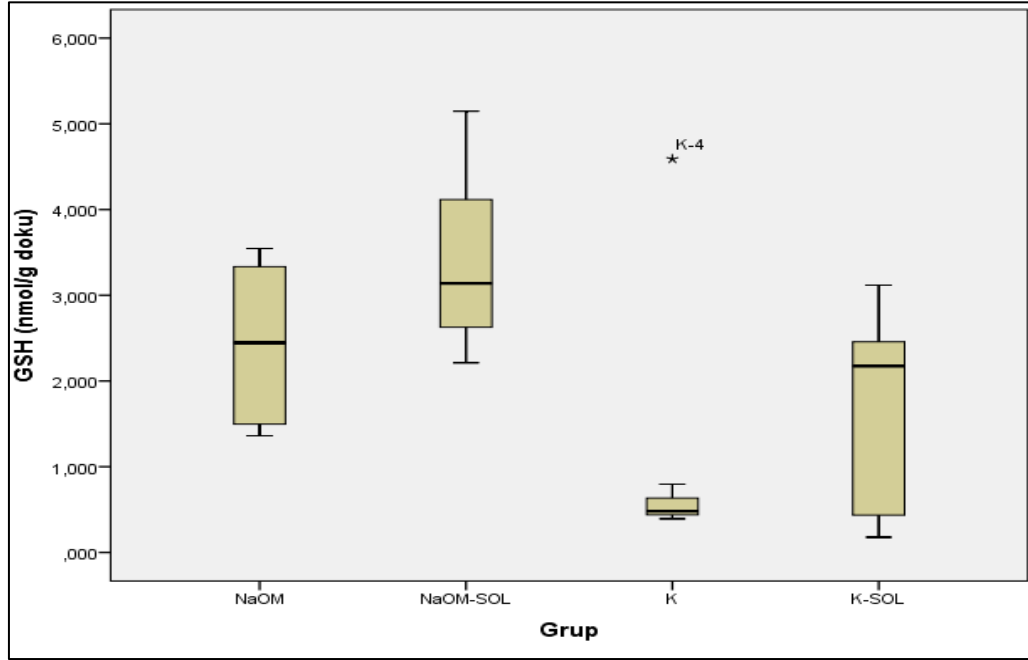
Çizelge 4.1. Dokulardan elde edilen toplam MDA değerleri (NaOM: Sindirim bezi deney grubu, K: Sindirim bezi kontrol grubu, NaOM-sol: Solungaç dokusu deney grubu, K-sol: Solungaç dokusu kontrol grubu)

| Grup<br>MDA (nmol/g doku) | Ortalama $\pm$ SD  | Güven aralığı<br>(%95) |
|---------------------------|--------------------|------------------------|
| NaOM                      | 126,60 $\pm$ 14,61 | 92,90 $\pm$ 160,30     |
| K                         | 28,37 $\pm$ 6,37   | 13,94 $\pm$ 42,80      |
| NaOM-sol                  | 140,77 $\pm$ 17,86 | 100,35 $\pm$ 181,19    |
| K-sol                     | 74,16 $\pm$ 26,91  | 13,28 $\pm$ 135,04     |

#### 4.4. Doku Analizlerinden Elde Edilen GSH Bulguları

Doksan altı saat süresince subletal sodyum omadine maruz kalan tatlı su midyesi *U. mancus*’un sindirim bezi ve solungaç dokularındaki glutatyon (GSH) düzeyleri belirlenmiştir. Doksan altı saat boyunca sodyum omadine maruz kalmış solungaç dokularındaki ortalama glutatyon (GSH) düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır ( $p < 0,05$ ). Benzer şekilde, sindirim bezi glutatyon (GSH)

düzeyleri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.2) (Çizelge 4.2).



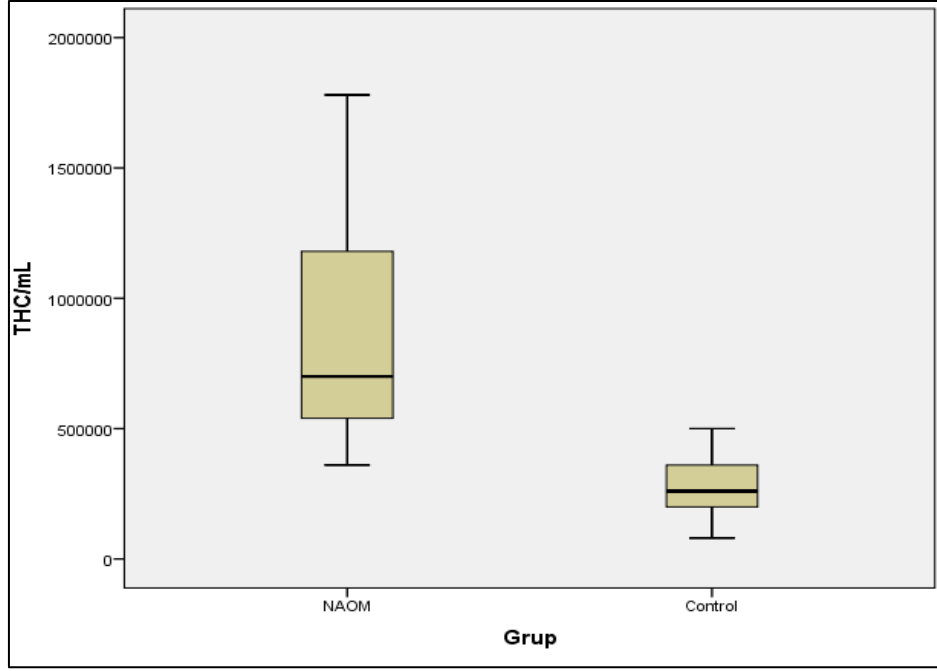
Şekil 4.2. NaOM uygulaması yapılan kontrol ve deney grubunun toplam GSH düzeyi farklarının boxplot grafiğinde karşılaştırılması (NaOM: Deney grubu, K: Kontrol grubu)

Çizelge 4.2. NaOM'a maruz bırakılan dokulardan elde edilen toplam GSH değerleri (NaOM: Sindirim bezi deney grubu, K: Sindirim bezi kontrol grubu, NaOM-sol: Solungaç dokusu deney grubu, K-sol: Solungaç dokusu kontrol grubu)

| Grup GSH (nmol/g doku) | Ortalama $\pm$ SD | Güven aralığı (%95) |
|------------------------|-------------------|---------------------|
| NaOM                   | 2,44 $\pm$ 0,28   | 1,78 $\pm$ 3,10     |
| K                      | 0,92 $\pm$ 0,40   | 0,00 $\pm$ 1,84     |
| NaOM-sol               | 3,44 $\pm$ 0,34   | 2,65 $\pm$ 4,23     |
| K-sol                  | 1,66 $\pm$ 0,37   | 0,79 $\pm$ 2,53     |

#### 4.5. Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular

Doksan altı saat süresince subletal (5 µg/L) sodyum omadine maruz kalan tatlı su midyesi *U. mancus*'un kontrol ve deney grubunda ortalama toplam hemosit sayıları THC/ml sırasıyla:  $279333 \pm 20330$ ;  $853600 \pm 80222$ 'dir. Kontrol ve deney grubu ortalama hemosit sayıları arasında istatistiksel önem düzeyinde artmıştır ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.3) (Çizelge 4.3).



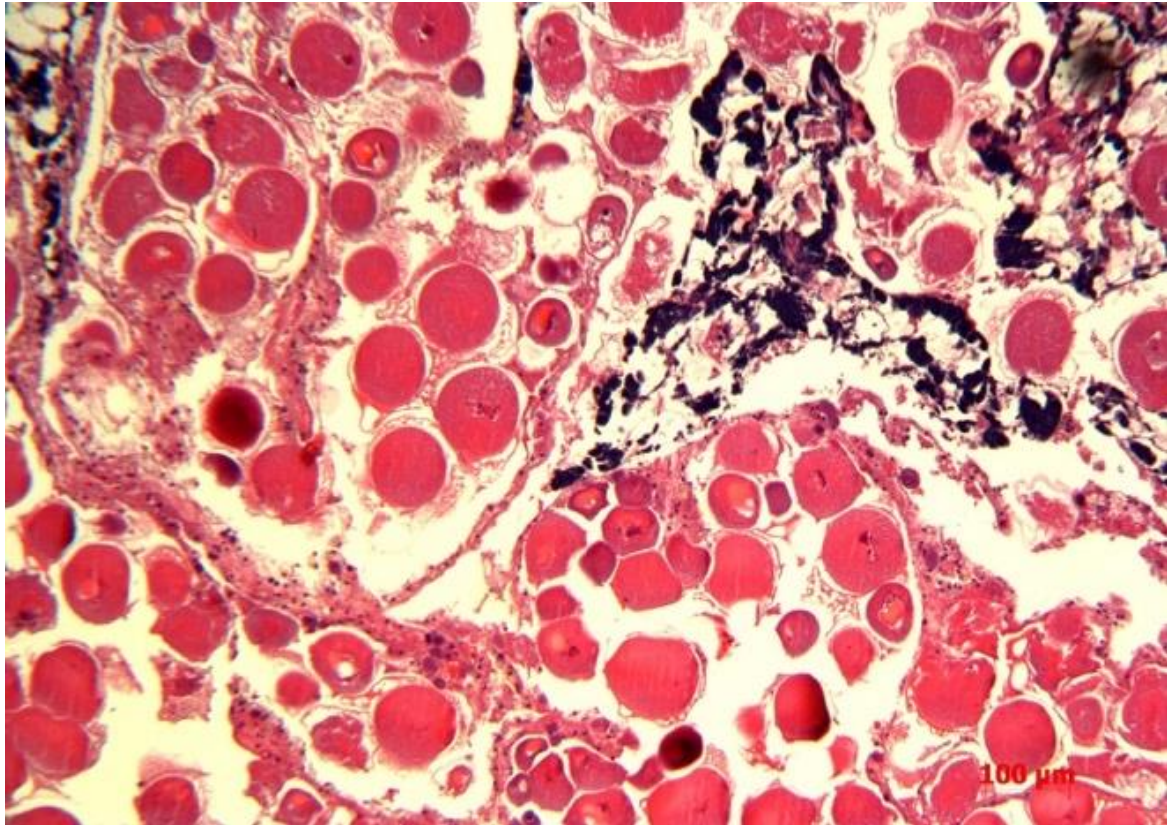
Şekil 4.3. Kontrol ve deney grubu hemosit sayılarının boxplot grafiğinde karşılaştırılması (NaOM: Deney grubu, Control: Kontrol grubu)

Çizelge 4.3. *Unio mancus* türünde toplam hemosit sayısı (NaOM: Deney grubu, Control: Kontrol grubu)

| Grup    | Ortalama $\pm$ SD         | Güven aralığı (%95)       |
|---------|---------------------------|---------------------------|
| NaOM    | $853600,00 \pm 80222,358$ | $688029,19 \pm 101917,81$ |
| Kontrol | $279333,33 \pm 20330,224$ | $237753,36 \pm 320913,31$ |

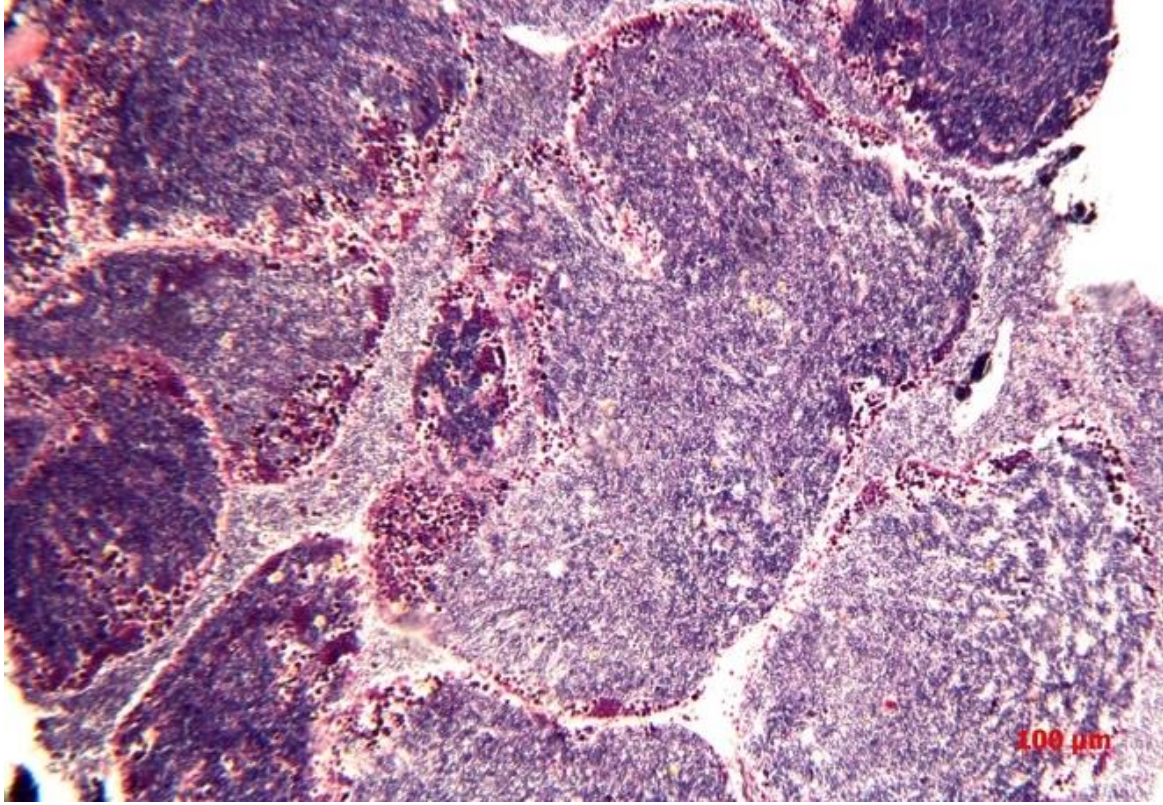
#### 4.6. Histolojik Bulgular

Çalışmada, 5 µg/L sodyum omadine (NaOM) maruz kalan tatlı su midyelerinin dokuları alınarak (önce hemotoksilen ve eosin ile boyandıktan sonra), histopatolojik olarak incelenmiştir. Işık mikroskopunda yapılan inceleme sonucunda kontrol grubuna ait midyelerin tüm dokuları ile NaOM'a maruz kalan midyelerin gonadlar (ovaryum ve testisler), kas ve manto dokusunda herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır (Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6). Ancak (kontrol grubuna göre) sindirim bezinde ise hidropik dejenerasyona (Şekil 4.7 ve 4.8) ve solungaçlarda ise hiperplasiye (Şekil 4.9 ve 4.10) rastlanmıştır.

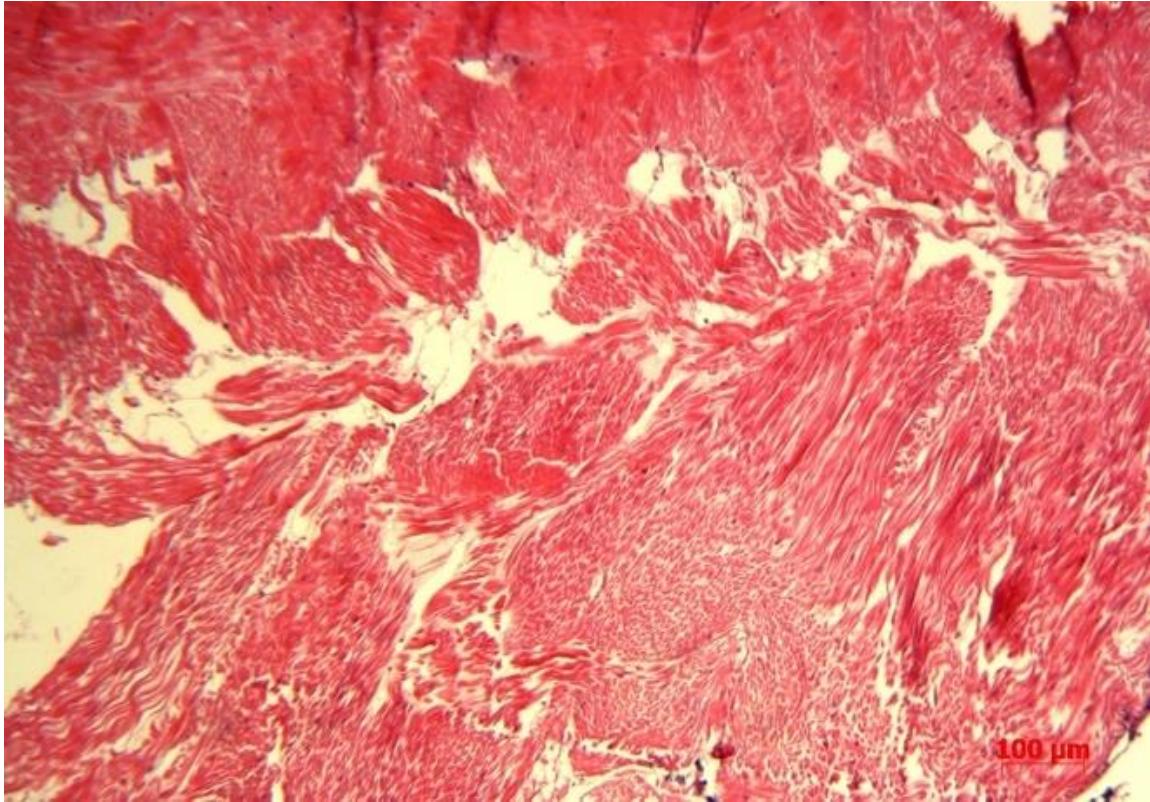


Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait ovaryum dokusu



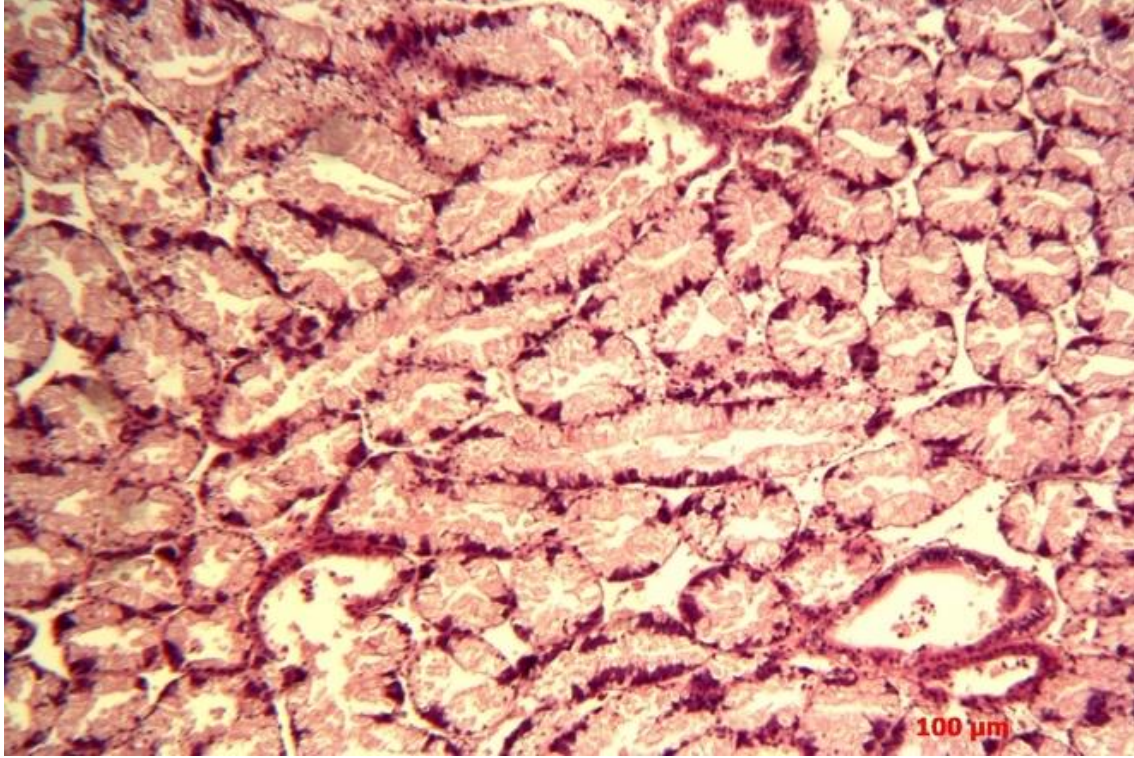


Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait testis dokusu

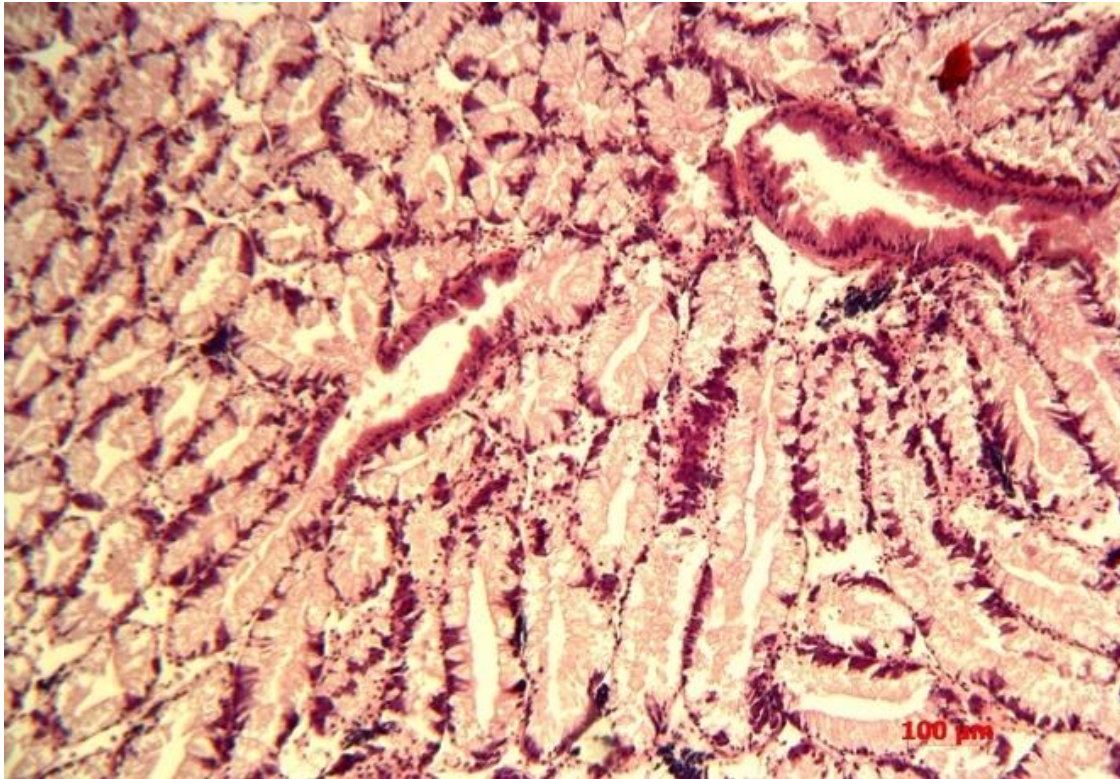


Şekil 4.6. Kontrol grubuna ait kas dokusu (ayak)



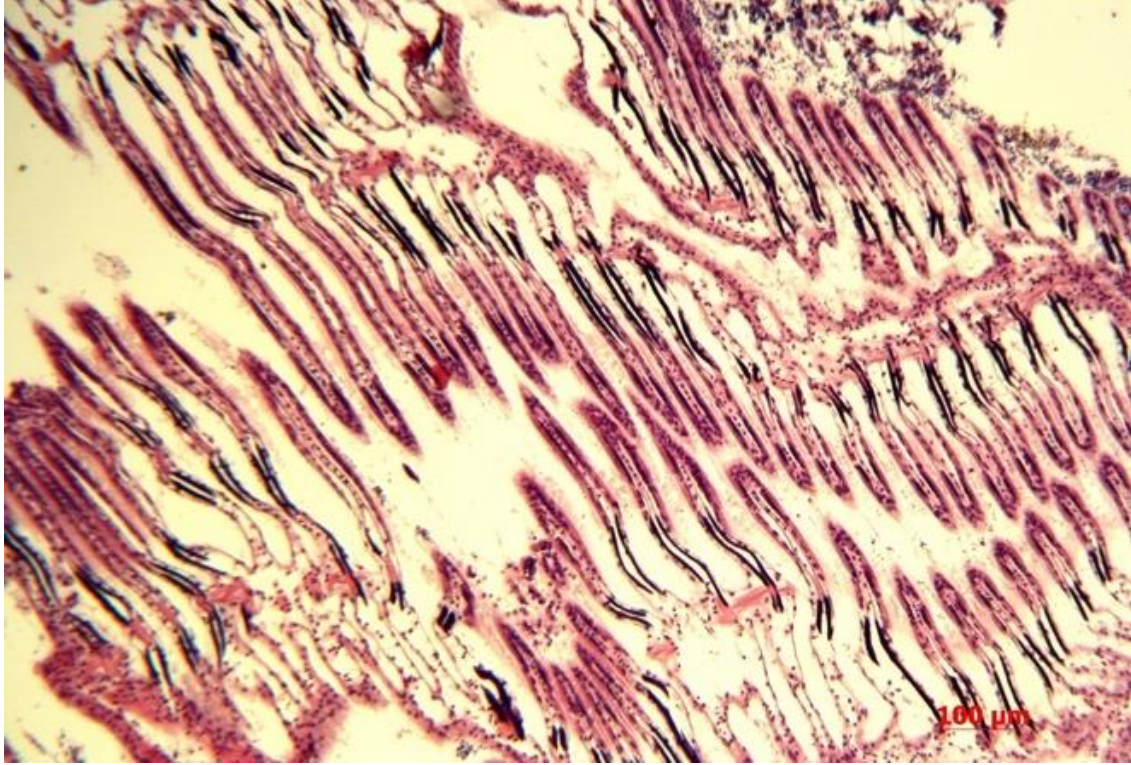


Şekil 4.7. Kontrol grubuna ait sindirim bezi dokusu

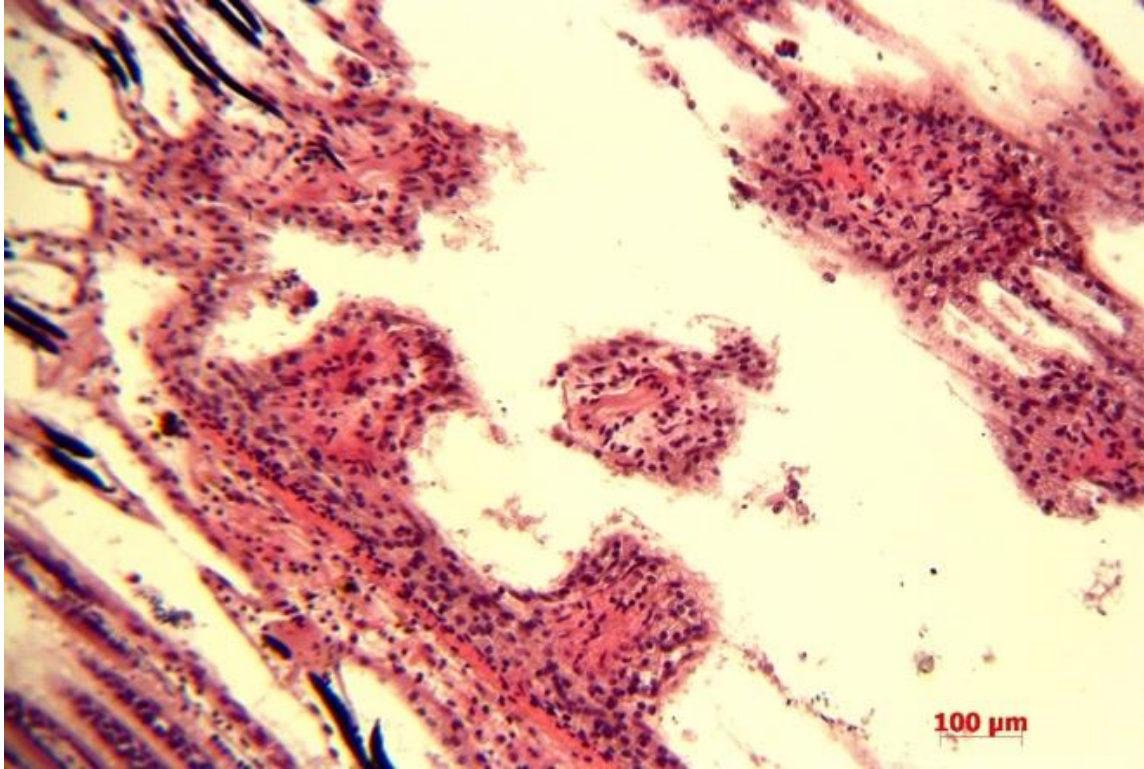


Şekil 4.8. NaOM'a maruz kalan ait sindirim kanalı dokusunda dejenerasyon





Şekil 4.9. Kontrol grubuna ait solungaç dokusu



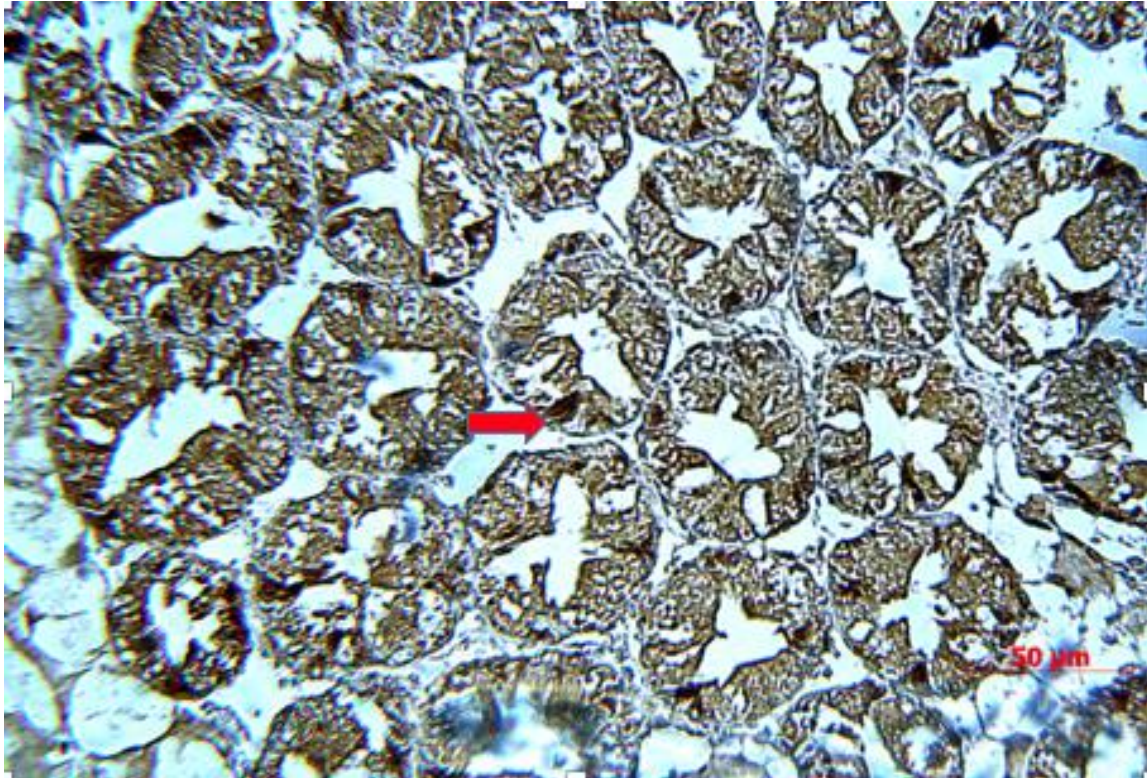
Şekil 4.10. NaOM'a maruz kalan ait solungaç dokusunda hiperplasi



#### 4.7. TUNEL Assay Kullanılarak Dokularda Genotoksik Hasarın Belirlenmesi

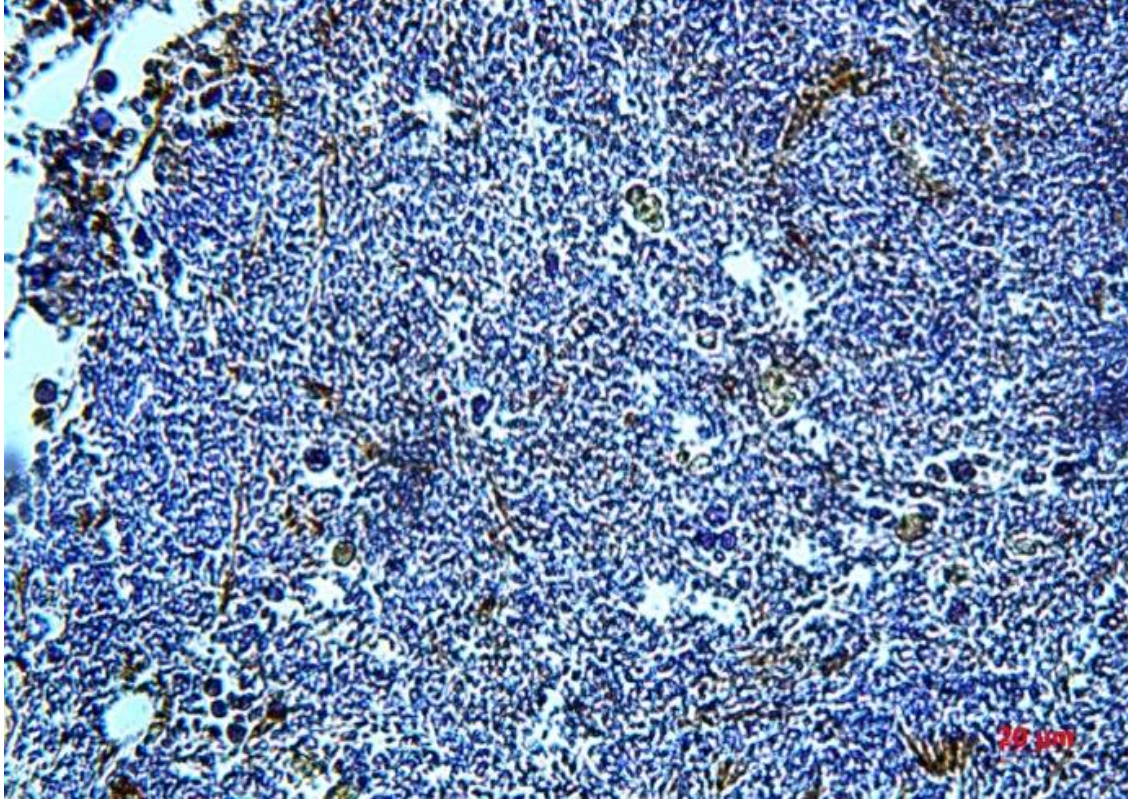
Sindirim bezi, gonadlar ve solungaçlarda meydana gelen apoptozisin (genetik programlı hücre ölümü) belirlenmesi amacıyla TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated UTP nick end labeling) boyaması yapılmıştır.

Yapılan mikroskopik inceleme sonucunda sindirim bezi ve testis dokularında kontrol grubuna göre yoğun apoptotik hücre olduğu saptanmıştır (Şekil 4.11 ve 4.12). Solungaç ve ovaryum dokularında ise önemli bir bulguya rastlanmamıştır (Şekil 4.13 ve 4.14). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda sodyum omadin maddesinin genotoksik etki yaratabileceği belirlenmiştir.

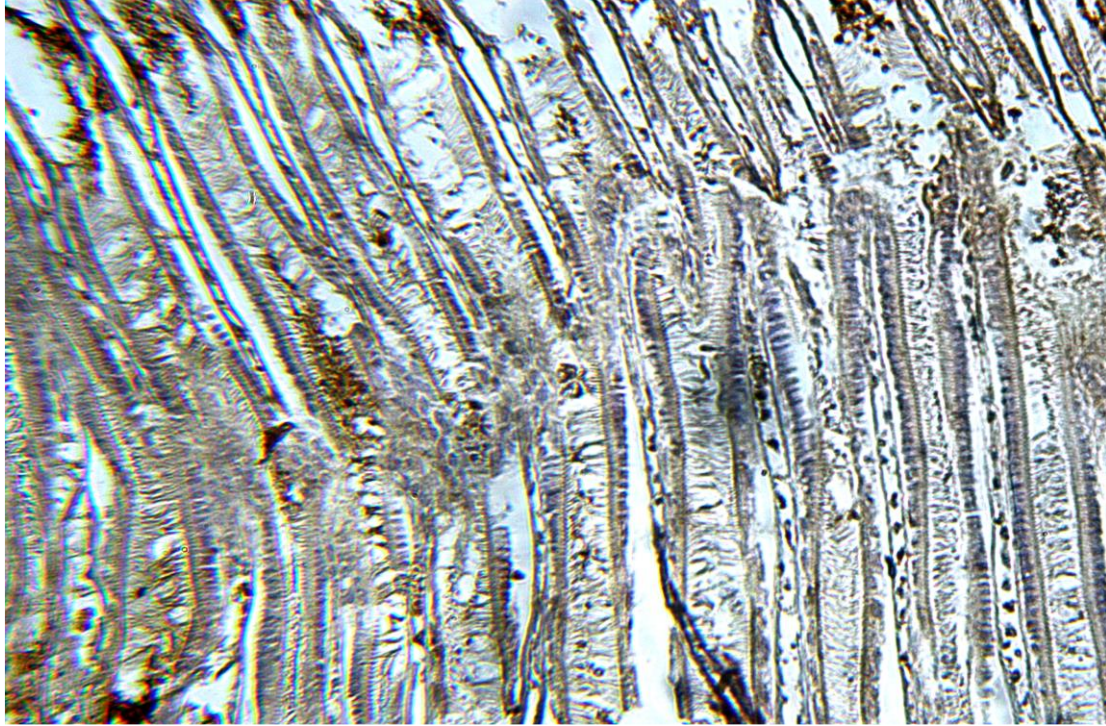


Şekil 4.11. Sindirim bezi dokusunun TUNEL assay ile boyanması (apoptotik hücre: ok)



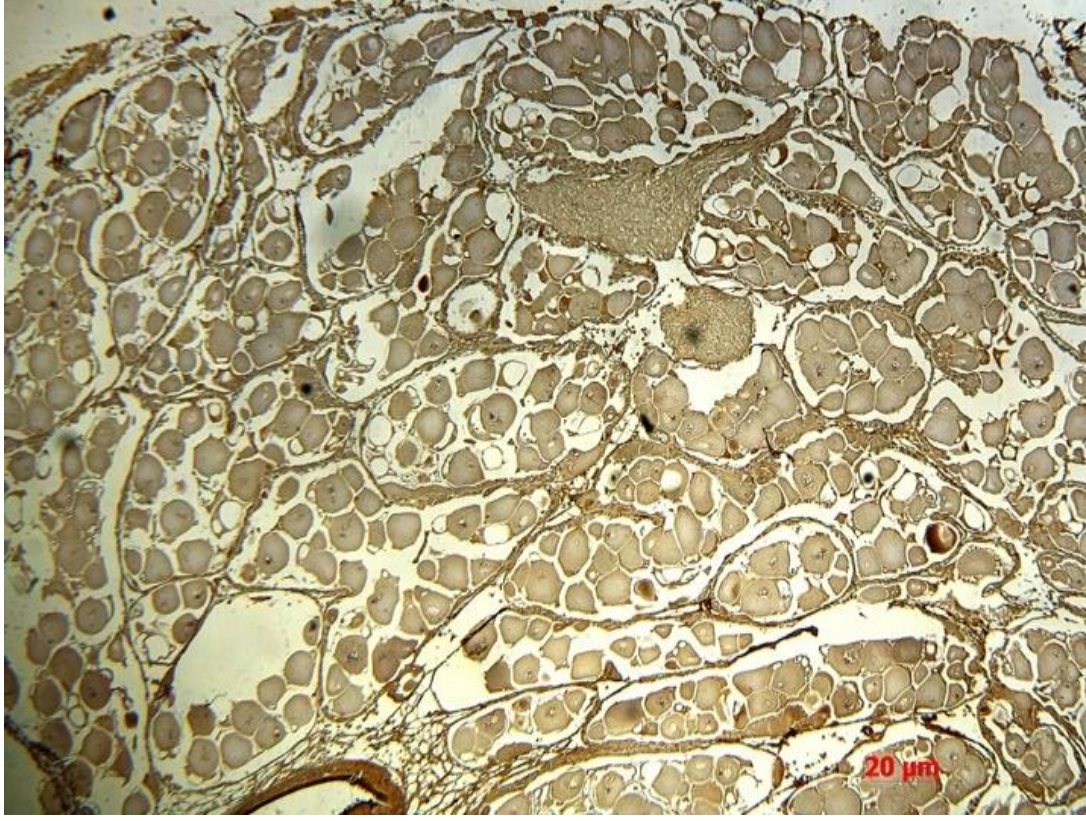


Şekil 4.12. Testis dokusunun TUNEL assay ile boyanması (apoptotik hücre: ok)



Şekil 4.13. Solungaç dokusunun TUNEL assay ile boyanması





Şekil 4.14. Ovaryum dokusunun TUNEL assay ile boyanması



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sodyum omadinin *D. polymorpha* üzerindeki akut etkisini belirleyebilmek için, 96 saatlik akut LC<sub>50</sub> değeri ve *U. mancus* üzerindeki subletal etkisi incelenmiştir. Subletal etkiye maruz kalan *U. mancus* türünün total hemosit (omurgasızlarda kan hücrelerinin genel adı) sayısı ile solungaç ve sindirim bezi dokularındaki MDA ve GSH değerlerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgularla, omurgalı ve memeli hayvanlarla çalışmanın etik olarak sınırlı olduğu günümüzde alternatif olarak omurgasız türlerin yaygınlaşması ve bu türler üzerinde kaynak değerlerin belirlenmesi amacıyla bilgi alt yapısı oluşturulmuş, bentik canlı türleri olan midyelerin ekotoksikolojik çalışmalarında model organizma olarak kullanılabilirliği araştırılmış, doku lipid peroksidasyon düzeyi belirlenmiş, glutatyon tayin miktarı yapılarak literatüre katkı sağlanmıştır. Akut toksisite bulgularımız, sodyum omadin kimyasalının indikatör bir tür olan zebra midyesi için çok toksik olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Doku analizinden elde edilen MDA bulgularının sonuçlarına göre, sodyum omadine maruz kalmış solungaç dokularındaki MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli fark göstermemesine rağmen, kontrol grubuna göre artış saptanmıştır ( $p>0,05$ ). Sindirim bezi MDA düzeyleri ise kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır ( $p<0,05$ ).

Sodyum omadine 96 saat maruz kalmış solungaç dokularındaki ortalama glutatyon (GSH) düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış ( $p<0,05$ ) olmasının yanısıra, sindirim bezi glutatyon (GSH) düzeyleri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır ( $p<0,05$ ).

Toplam hemosit sayısına ilişkin bulgularımız göstermiştir ki 96 saat süresince subletal (5 µg/L) sodyum omadine maruz kalan tatlı su midyesi *U. mancus*'un kontrol ve deney grubunda ortalama toplam hemosit sayıları istatistiksel önem düzeyinde artma göstermiştir ( $p<0,05$ ).

Histolojik bulgulara bakıldığında; ışık mikroskobunda yapılan incelemeler sonucunda hem kontrol grubuna ait midyelerin tüm dokularında, hem de NaOM'a maruz kalan midyelerin gonadlarında (ovaryum ve testisler), kas ve manto dokusunda herhangi bir histopatolojik



bulguya rastlanmamıştır. Ancak (kontrol grubuna göre) sindirim bezinde hidropik dejenerasyona, solungaçlarda ise hiperplasiye rastlanmıştır.

TUNEL Assay kullanılarak bazı dokularda (sindirim bezi, gonadlar ve solungaçlarda) genotoksik hasarın (apoptozisin) belirlenmesi amacıyla yapılan TUNEL boyaması ve mikroskopik incelemeler sonucunda; sindirim bezi ve testis dokularında kontrol grubuna göre daha yoğun apoptotik hücre olduğu saptanmıştır. Solungaç ve ovaryum dokularında ise önemli bir bulguya rastlanmamıştır. Bu sonuçlar sodyum omadin maddesinin genotoksik etki yaratabileceği üzerine kuşkuları netleştirmiştir.

Çalışmalarımızda kullandığımız *D. polymorpha* ve *Unio mancus* midyelerinin yaşam yerinin tatlı sular olduğunu düşünürsek ve bu sonuçları tatlısu ekosistemlerindeki kirliliğin tehlikeli boyutlara ulaştığı günümüz dünyasına bakarak değerlendirirsek; bu hassas ekosistemlerdeki canlı türlerinin kimyasal kirletici maddelere duyarlılığı çalışmamız ile daha da belirginleşmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada sodyum omadinin *Unio mancus*'un solungaç ve hemolenf dokularına olan hasar sebebiyeti açıktır. Yapılan literatür taramalarında günümüze kadar sodyum omadin ile sucul ekosistemlerde yarattığı olumsuz etkilere ilişkin bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak sodyum omadin (sodyum piritiyon) gibi antifoluling biyosit niteliğinde olan çinko piritiyon (ZnPT) ve bakır piritiyon (CuPT) gibi kimyasallar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına baktığımızda NaOM'un potansiyel toksik etkisi üzerine çalışılması gerektiği daha da belirginleşmektedir. Örneğin Çinko piritiyon, 1991 yılında denizel kirliliğin önlenmesinde TBT'nin yerini almak üzere geliştirilen yükseltici bir biyosit (Maraldo ve Dahllöf, 2004) olup, antifouling özellikleri nedeniyle de kullanım alanları NaOM'unakilere çok benzerdir (Nogueira ve diğerleri, 2018). Ancak yapılan araştırmalar, Çinko piritiyonun suda yaşayan organizmalarda (balık ve denizkestanesi) çok düşük konsantrasyonlarda teratojenik ve genel toksik etkiler yarattığını göstermektedir (Doose ve diğerleri, 2004). Bao ve diğerleri (2008)'ne göre çinko piritiyon su bitkileri ve hayvanları için yüksek derecede toksiktir, ancak çevre açısından nötr olduğu varsayılabilir; çünkü daha az toksik bileşiklere kolayca foto-degrade olabilmektedir. Fakat Bellas ve diğerleri (2005) çinko piritiyonun toksisitesinin sadece azaldığını, doğrudan güneş ışığına maruz kaldıktan sonra kaybolmadığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada Bellas ve diğerleri (2005) denizkestanesi ve midye için ZnPT'nin çok yüksek toksisiteye sahip olduğunu

belirlemişler ve ZnPT'nin sucul canlıların erken gelişim evrelerine çok toksik olduğunu bildirmişlerdir.

Daha sonraki yıllarda, Onduka ve diğerleri (2010) tarafından yapılan çalışmada, çinko piritiyonun dört tür deniz algi (*Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis tetrathele*, *Chaetoceros calcitrans*, *Skeletonema costatum*, bir deniz krustase türü (*Tigriopus japonicus*) ve denizel bir balık türü (*Pagrus major*) üzerindeki akut toksisiteyi değerlendirilmiş ve çinko piritiyonun çalışılan türlere çok toksik olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmaya göre çinko piritiyona maruz bırakılan sucul türlerde 24 saatlik EC<sub>50</sub> değeri *T. japonicus* krustase türünde 280 µg/L; 72 saatlik EC<sub>50</sub> değerleri *C. calcitrans* alg türünde 4,5 µg/L; *D. tertiolecta* alg türünde 8 µg/L; *T. tetrathele* alg türünde 19 µg/L; *S. costatum* alg türünde 1,6 µg/L; 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerini *P. major* balık türünde 98,2 µg/L olarak bulmuştur.

Nogueira ve diğerleri (2018)'nin yılında yaptığı çalışmada *Corbicula fluminea* istilacı midye türünde çinko piritiyonun akut toksisitesi değerlendirilmiş ve 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri 2,17 mg/L bulunmuştur. Çalışma sonucunda oksidatif stres biyobelirteçlerine önemli etkisi olduğunu bulmuşlardır.

Bakır piritiyon üzerine yapılan çalışmalarda da benzer şekilde sudaki omurgasız hayvanlar için çok toksik olduğu üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin; tatlısu yeşil alginde (*Selenastrum capricornutum*) algistatik olduğu (büyümeyi engellediği halde öldürmediği) tespit edilmiştir (120 saatlik EC<sub>50</sub> 35 µg/L ve 120 saatlik NOEC büyümesi ise 18 µg/L). *Daphnia magna*'da yapılan çalışmada 48 saatlik NOEC değeri 7,9 µg/L olarak saptanırken, 48 saatlik EC<sub>50</sub> 22 µg/L olarak bildirilmiştir. Bakır piritiyon kullanılarak deniz doğusu istirideri (*Crassostrea virginica*) için 96 saatlik EC<sub>50</sub> 11 µg/L olarak hesaplanmış ve 96 saatlik NOEC büyümesi 6,9 µg/L olarak hesaplanmıştır. Bakır piritiyon bileşiği tatlısu balığı *Pimephales promelas* için 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerinin 4,3 µg/L, NOEC subletal değerinin ise 2,8 µg/L olduğu tespit edilmiş olup, çok toksik olarak kabul edilmiştir (Advisory Committee on Pesticides [ACP], 2005: xvi ).

Mochida ve diğerleri (2006) tarafından yapılan çalışmaya göre antifouling bileşikler olan CuPT ve ZnPT'nin *Pagrus majör* ve *Heptacarpus futilirostris* üzerinde toksisitesi incelenmiştir. 96. saat LC<sub>50</sub> değeri CuPT ve ZnPT için kırmızı çipurada sırasıyla 9,3 ve

98,2 g/L, karides için 2,5 ve 120 g/L olduğu gözlemlenmiştir. Histolojik gözlemlerde solungaçlarda ikincil lamellerde hipoksi oluşması ölüme neden olduğu düşünülmüştür.

Bao ve diğerleri (2012) yaygın olarak kullanılan iki antifouling yükseltici biyositin (bakır piritiyonun ve çinko piritiyonun) akut ve subletal toksisitelerini deniz amfipod *Elasmopus rapax* türünde araştırmıştır. CuPT ve ZnPT için 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 11,5 ve 21,5 µg/L hesaplanmış ve *E. rapax* türü için çok toksik bulunmuştur.

Deney sonuçlarımıza göre, tatlısu bivalvleri üzerinde toksik etkiler gösteren sodyum omadin kimyasalı üzerine bilim dünyasında yeterli çalışma olmaması bir boşluğu göstermektedir. Bu nedenle üzerinde çok çalışma yapılmamış olan bu kimyasal madde ile ilgili daha detaylı çalışmalar yapılmasına, özellikle de sucul canlılar ve ekosistem üzerine etkilerinin çok daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır. Her iki midye türüyle ilgili daha önce bu formatta bir çalışmaya rastlanmamış olması nedeniyle bulgularımız oldukça önemlidir ve bu konuda gelecekte yapılacak araştırmalara ışık tutacaktır. Ekosistem sağlığını etkileyen bir kimyasal madde ile çalışıldığından, çalışma sonuçları pratik olarak kullanılabilecek (Biyosidal Yönetmeliği'nde kullanılabilecek, bu tip kimyasalların günlük hayatta kullanımını sınırlandırabilecek) niteliktedir.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz genotoksik ve histolojik bulgular, midye grubu canlılarda yapılacak bu tip çalışmalara zemin hazırlamıştır. Çalışma konusu ve içeriği hem uygulamalı hem de teorik çalışmalarla zengin bir bilimsel altyapı taşımaktadır. Farklı disiplinleri (biyoloji, toksikoloji, histoloji) bir araya getiren multidisipliner bir çalışma örneği olarak da önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

- Advisory Committee on Pesticides. (2005). Food and Environment Protection Act 1985, Part III. (No: 223). Copper pyrithione as a new active ingredient in Professional antifouling products. *Safety for People and The Environment*, 30(4), 9-17.
- Akbaba, M. ve Ötegen, V.R. (2017). Biyosidal Uygulayıcılarında İş Sağlığı ve Güvenliği. *Türkiye Klinikleri J Public Health-Special Topics*, 3(3), 105-110.
- Altınayar, G., Ertem, B. ve Aydoğan, F. (2001). Hidroelektrik Santraller ve Su arıtma Tesislerinde Sorun Yaratın Zebra Midye (*Dreissena polymorpha*) (Pallas, 1771)'in Yaşamı ve Savaşımı. *DSİ Teknik Bülteni*, 98, 33-39.
- Amara, I., Miled, W., Slama, R.B. and Ladhari, N. (2018). Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment. A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 57, 115–130.
- APHA (1975). Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, APHA, 14.
- Arch Chemicals. (2010). Material safety data sheet (MSDS) Arch UK Biocides. 1272/2008/EC version number 5, 4-7.
- Aslan. E. (2010). *İzmir Körfezindeki Kara Midyelerinin (Mytilus galloprovincialis) ve Bazı Balık Türlerinin Farklı Organ ve Dokularındaki <sup>210</sup>Po Konsantrasyonu ile Lipid Peroksidasyonunu (LPO), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve Prolin Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2.
- Aykaç, G., Uysal M., Yalçın A. S., Koçak-Toker N., Sivas A. ve Öz H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase, and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36, 71-76.
- Bao, V. W. W., Leung, K. M. Y., Kwok, K. W. H., Zhang, A. Q. and Lui, G. C. S. (2008). Synergistic toxic effects of zinc pyrithione and copper to three marine species: Implications on setting appropriate water quality criteria. *Marine Pollution Bulletin*, 57, 616–623.
- Bao, V. W. W., Yeung, J. W. Y. and Leung, K. M. Y. (2012). Acute and Sub-lethal Toxicities of Two Common Pyrithione Antifouling Biocides to the Marine Amphipod *Elasmopus rapax*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 4(3), 194-202.
- Bell, T. A. and Lightner, D. V. (1988). *A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology*. Special Publication of The World Aquaculture Society, USA, 115.
- Bellas, J., Granmo, A. and Beiras, R. (2005). Embryotoxicity of the antifouling biocide zinc pyrithione to sea urchin (*Paracentrotus lividus*) and mussel (*Mytilus edulis*). *Marine Pollution Bulletin*, 50, 1382–1385.

- Binelli, A., Torre, D. C., Magni, S. and Parolini, M. (2014). Does zebra mussel (*Dreissena Polymorpha*) represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review. *Environmental pollution*, 196, 386-403.
- Bobat, A., Hengirmen O. M. and Zaplethal W. (2001). Tatlısu Ekosisteminde Teknik, Ekonomik ve Ekolojik bir Zararlı: Zebra Midye. *Kırsal Çevre Yıllığı*, 112-127.
- Boxall, A.B.A., Comber, S.D., Conrad, A.U., Howcroft, J., Zaman, N., (2000). Inputs, Monitoring and Fate Modelling of Antifouling Biocides in UK Estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 40(11), 898-905.
- Carson, R. and Darling, L. (1962). *Silent Spring* Riverside Press. Cho, S., Choi, Y. S. Luu, H. M. Guo, J. (2012). Determination of total leachable bisphenol A from polysulfone membranes based on multiple consecutive extractions. *Talanta*, 101, 537-540.
- Casini, A. F., Ferrali M., Pompella A., Maellaro E. and Comborti M. (1986). Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene intoxicated mice. *Am J Pathol*, 123, 520-531.
- Dafforn, K. A., Lewis, J. A. and Johnston, E. L. (2011). Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 453-465.
- Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü (2012). *Zebra midye ile mücadelede filtrasyon ve boya denemeleri sonuç raporu*. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, DSİ, AR-GE Proje No: 2011/1, 1-3.
- Dinçel, S. A., Alparslan, N. Z., Karasu Benli, A. Ç., Selvi, M., Sarıkaya, R., Özkul, İ. A. ve Erkoç, F. (2013). Hemolymph biochemical parameters reference intervals and total hemocyte counts of narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Ecological Indicators*, 24, 305-309.
- Doose, C. A., Ranke, J., Stock, F., Bottin-Weber, U. and Jastorff, B. (2004). Structure-activity relationships of pyrrhionones – IPC-81 toxicity tests with the antifouling biocide zinc pyrrhionone and structural analogs. *Green Chemistry*, 6, 259-266.
- Egardt, J., Nilsson, P. and Dahllöf, I. (2017). Sediments indicate the continued use of banned antifouling compounds. *Marine Pollution Bulletin*, 125, 282-288.
- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70-77.
- EU (2012). Avrupa Birliği Veri Koruması Genel Regülasyonu (General Data Protection Regulation) COM (EU, No 528/2012) 0011 – C7-0025/2012 – 2012/0011(COD).
- Fernandez, J., Alvarez, J.A. ve Lopez J.A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59, 345-353.
- Gaygusuz, Ö., Gaygusuz, G. Ç., Tarkan, A.S., Acıpinar, H. ve Türer, Z. (2017). Preference of Zebra mussel, *dreissena polymorpha* in the diet and effect on growth of gobiid: a comparative study between two different ecosystems. *Ekoloji*, 17, 1-6.

- Güler, M., Çoban, D. and Kırım, B. (2017). *Unio terminalis* (Bivalvia: Unionidae)' in üreme biyolojisi üzerine gözlemler. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3): 303-309. doi:10.12714/egejfas.2017.34.3.09
- Howell, D. J. and Evans, S. M. (2010). *Antifouling Materials*. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, 203-210. doi: 10.1016/B978-012374473-9.00764-5
- Huber, M. (2010). *Compendium of Bivalves. A Full-color Guide to 3,300 of the World's Marine Bivalves. A Status on Bivalvia after 250 Years of Research*. ConchBooks, 23. ISBN 978-3-939767-28-2.
- Hunt, H.W., Coleman, D.C., Ingham, E. R., Ingham, R. E., Elliott, E. T., Moore, J. C., Rose, S. L., Reid, C. P. P. and Morley, C. R. (1987), The detrital food web in a shortgrass prairie. *Biology and Fertility of Soils*, 3(1–2), 57–68.
- İnternet: URL: <http://www.acarchemicals.com/sayfalar.asp?LanguageID=1&cid=3&id=8&id2=6229>, Son Erişim Tarihi: 12.07.2019.
- İnternet: Başçınar, S. N., (2009). Bentik canlılar ve biyoindikatör tür. *Sümae Yunus Araştırma Bülteni*, 9(1), Mart. URL: [http://www.aquast.org/uploads/pdf\\_232.pdf](http://www.aquast.org/uploads/pdf_232.pdf), Son Erişim Tarihi: 12.07.2019.
- İnternet: GBIF (2019). Global Biodiversity Information Facility. *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771). URL: <https://www.gbif.org/species/2287072>, Son Erişim Tarihi: 12.07.2019.
- İnternet: Gerhardt, A. (2000). Bioindicator Species and Their Use in Biomonitoring. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Environmental Monitoring*, I, 1. URL: <https://www.eolss.net/Sample-Chapters/C09/E6-38A-01-07.pdf>, Son Erişim Tarihi: 12.07.2019.
- İnternet: ITIS-Integrated Taxonomic Information System (2019). *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771). URL: <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>, Son Erişim Tarihi: 27.07.2019.
- İnternet: Khalloufi, N., Bejaoui, M. and Aissaoui, C. (2019). Growth, reproductive traits and habitat patterns of *Unio ravoisieri* (Mollusca: Bivalvia) from Ichkeul Lake tributaries (Northern Tunisia). *Biologia*. URL: <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00213-2>, Son Erişim Tarihi: 10.06.2019.
- İnternet: Lopes-Lima, M. and Seddon, M. B. 2014. *Unio mancus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2014:e.T22737A42466471. URL: <https://www.iucnredlist.org/species/22737/%2042466471#taxonomy>, Son Erişim Tarihi: 28.07.2019.
- İnternet: PubChem (2019). *Sodium omadine Ecological Information*. EPA Ecotoxicity, Pesticide Ecotoxicity Data From EPA. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-Omadine#section=Ecological-Information>, Son Erişim Tarihi: 02.07.2019.



- İnternet: Van Damme, D. (2014). *Dreissena polymorpha*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2014:e.T155495A42428801. URL: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-3.RLTS.T155495A42428801.en>, Son Erişim Tarihi: 02.07.2019.
- Kaçar, A. (2009). *Anti-fouling Boyaların Denizdeki Bakteriyal Biyofilm Gelişimi Üzerine Etkisi*, Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 1-21.
- Keskinbalta, M. A. (2015). *Sinop İli Karasu Çayı'nda Bulunan Tatlı Su Midyelerinin (Unio pictorum, Linnaeus 1758) Bazı Biyometrik ve Biyokimyasal Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sinop, 12.
- Krupp, F., W. Schneider and R. Kinzelbach (1987), Proceedings of the Symposium on the Fauna and Zoogeography of the Middle East. *Beihefte Zum Tübinger Atlas Des Vorderen Orients*, Wiesbaden.
- Kurtel, H., Granger D. N., Tso P. and Grisham M.B. (1992). Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress. *American Journal of Physiology*, 263, G573-G578.
- Lloyd, R. (1992). *Pollution and freshwater fish*. U.K., 1-176.
- Luna, L. G. (1968). *Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Third Edition. McGraw-Hill Book Company. USA, 258.
- Maraldo, K., Dahllöf, I. (2004). Indirect estimation of degradation time for zinc pyrithione and copper pyrithione in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, 48, 894–901.
- McElwain, A. and S. A. Bullard (2014). Histological Atlas of Freshwater mussels (Bivalvia, Unionidae): *Villosa nebulosa* (Ambleminae: Lampsilin), *Fusconaria cerina* (Ambleminae: Pleurobemini) and *Strophitus canasauensis* (Unioninae: Anodontini). *Malacologia*, 57(1), 99-239.
- Mochida, K., Ito K., Harino, H., Kakuno, A. and Fujii, K. (2006). Acute toxicity of pyrithione antifouling biocides and joint toxicity with copper to red sea bream (*Pagrus major*) and toy shrimp (*Heptacarpus futilirostris*). *Environmental Toxicity and Chemistry*, 25(11), 3058-3064.
- MUSSELp (2019). The freshwater mussels (Unionoida) of the world (and the other less consequential bivalves). The MUSSEL Project.
- Naimo, T. J. (1995). A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels. *Ecotoxicology*, 4, 341-362, doi: 10.1007/BF00118870.
- Nogueira, A. F., Pereira, J. L., Antunes, S. C., Gonçalves, F. J. M. and Nunes, B. (2018). Effects of zinc pyrithione on biochemical parameters of the freshwater Asian clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology*, 204, 100–106.
- OECD (1993). Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). *OECD guidelines for testing of chemicals*, Paris.

- Okay, O. S. (2004). *Antifouling içeren gemi boyalarının uluslararası kurallar çerçevesinde kirletici etkilerinin incelenmesi*. Gemi Mühendisliği ve Sanayimiz Sempozyumu, İstanbul, 24-25 Aralık.
- Onduka, T., Mocdiha, K., Harino, H., Ito, K., Kakuno, A. and Fujii, K. (2010). Toxicity of Metal Pyrithione Photodegradation Products to Marine Organisms with Indirect Evidence for Their Presence in Seawater. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 991–997.
- Öktener, A. (2004). Sinop ve Bafra’da bazı tatlı sulardaki mollusca türleri üzerine bir ön araştırmaya, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 17(2), 21-30.
- Paçal, E. (2017). *Bakır Piritiyon’un Tatlı Su Bivalvi Üzerindeki Ekotoksikolojik Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 29-30.
- Polat N., Zengin M. ve Gümüş, A. (2011). İstilacı Balık Türleri ve Hayat Stratejileri. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 2, 1/ 4, 63-86.
- Presnell, J. K., Schreibman, M. P. and Humason, G. L. (1997). *Humason’s Animal Tissue Techniques*. Baltimore: Fifth Edition. *The John Hopkins University Press*.
- Qian, Y. P., Chen, L. and Xu, Y. (2013). Mini review: Molecular mechanisms of antifouling compounds. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, 29(4), 381- 400.
- Sağlık Bakanlığı (2005). Biyosidal Ürünlerin Kullanım Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik. *Resmi Gazete*, Tarih: 27.01.2005, Sayı: 25709.
- Sağlık Bakanlığı (2014). Biyosidal Ürünlerin Kullanım Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. *Resmi Gazete*, Tarih: 19 Nisan 2014, Sayı: 28977.
- Sprecher, S., L. and Getsinger, K., D. (2000). *Zebra Mussel Chemical Control Guide Environmental Laboratory*. U.S. Army Engineer Research and Development Center, MS 39180- 6199 pp. 116.
- Svobodova, Z., Lloyd, R. and Machova, J. (1993). Ammonia “Water quality and Fish Health”. *Eifac Technical*, 54, 11-16.
- THSK (2009). Biyosidal Ürünler Yönetmeliği. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Çevre Sağlığı Daire Başkanlığı, *Resmi Gazete*, Tarih: 31.12.2009, Sayı: 27449.
- TSE (1988). *Su kirliliği kontrolü, metod ve kuralları, zehirlilik denemeleri*. Ankara: TSE Yayınları, 5676.
- Tunca, S. K. (2015). *Permetrin’in Tatlı Su İstakozlarında (Astacus leptodactylus Esch. 1823) Toksik Etkilerinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 16-31.
- Tural, R., Yilmaz, I., Gunal, A. C., Sepici Dincel, A. (2018). *The genotoxic and antioxidant effects of environmental pollutant sodium omadine on zebra fish (Danio rerio)*. 43rd FEBS Congress, P-14, Prague, July 7-12.

- USEPA (1996, January). *Office of Prevention, Pesticides And Toxic Substances (7508W), "Registration Eligibility Decision (RED), Sodium Omadine"*, EPA 738-R-95-031.
- Ünsal, M. (1996). *Kirlilik deneyleri, yöntemler ve sonuçların değerlendirilmesi*. Erdemli, Mersin, ODTÜ Deniz Bilimleri Enstitüsü, 77-79, 120-142.
- Van Hassel, J. H. and Farris, L. J. (2007). A review of the use of Unionid mussels as biological indicators of ecosystem health. *Freshwater Bivalve Ecotoxicology*, 19-50.
- Vural, N. (2005). *Toksikoloji*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 228-229.
- Yebara, D.M., Kiil, S., Dam-Johansen, K. (2004). Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, 50, 75–104.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YILMAZ, Kevser  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 01.09.1992, Polatlı  
 Medeni hali : Bekâr  
 e-mail : yilmaz.kevser92@gmail.com



### Eğitim

| Derece        | Eğitim Birimi                           | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|-----------------------------------------|------------------|
| Yüksek lisans | Gazi Üniversitesi / Çevre Bilimleri ABD | Devam Ediyor     |
| Lisans        | Ondokuz Mayıs Üni. / Çevre Mühendisliği | 2014             |
| Lise          | İncirli Anadolu Lisesi                  | 2010             |

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

Yıldırım, F., Yılmaz, K., Uyar, Z. ve Erkoç, F. (2016). *Sodium omadine'in Dreissena polymorpha (Zebra midyesi) üzerindeki akut toksisitesinin araştırılması*, 2. Uluslararası Adli Toksikoloji Kongresi, 26-30 Mayıs 2016, Ankara, 16.

Yıldırım, F., Mehrnia, L., Arslan, P., Yılmaz, K., Karasu Benli, A.Ç. ve Erkoç, F. (2016). *Tatlısu midyelerinin (Unio mancus) toplam hemosit sayıları üzerine Bisfenol A (BPA)'nın etkisinin belirlenmesi*, 2. Uluslararası Adli Toksikoloji Kongresi, 26-30 Mayıs 2016, Ankara, 50.

### Hobiler:

Kitap okuma, müzik dinleme





*GAZİ GELECEKTİR..*