



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**PUZOLANİK ÇİMENTO KAYNAKLI SU KALİTESİ
DEĞİŞİKLİKLERİNİN BAZI SUCUL CANLILARDAKİ TOKSİK
ETKİLERİ
(Doktora Tezi)**

Akif ER

**Danışman
Prof. Dr. Şevki KAYIŞ**

**RİZE
2022**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Ana Bilim Dalında, Prof. Dr. Şevki KAYIŞ danışmanlığında, Akif ER tarafından hazırlanan *Puzolanik Çimento Kaynaklı Su Kalitesi Değişikliklerinin Bazı Sucul Canlılardaki Toksik Etkileri* adlı bu tez çalışması, 27.05.2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Erol ÇAPKIN	
Üye	: Prof. Dr. Şevki KAYIŞ	
Üye	: Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU	
Üye	: Doç Dr. İlhan YANDI	
Üye	: Doç Dr. Ertuğrul TERZİ	

ETİK BEYAN

Su Ürünleri Ana Bilim Dalı Doktora Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Puzolanik Çimento Kaynaklı Su Kalitesi Değişikliklerinin Bazı Sucul Canlılardaki Toksik Etkileri” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

27/05/2022

Akif ER

ÖN SÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak hazırlanan bu çalışmada; beton içeriğinde bulunan puzolanik çimentonun bazı balık türleri ve omurgasız bazı su canlıları üzerindeki olumsuz etkilerini ortaya koymak amacıyla kapsamlı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı, akarsu ve çevresindeki işa edilen baraj, hidroelektrik santralleri, istinat duvarları köprüler ve yol gibi yapıların yapımında kullanılan puzolanik çimentonun sucul çevreye kontaminasyonu halinde oluşabilecek sucul canlılar üzerinde toksik etkisini, balıklarda kan parametreleri ve enzim aktivitelerindeki değişimi, DNA hasarını ve dokularda meydana getirdiği hasarları inceleyerek ortaya koymaktır.

Tezin gerçekleştirilmesi için önerileri ve paylaşımlarıyla yardımını ve desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Şevki KAYIŞ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca tezin gidişatında değerli katkılarda bulunan Tez İzleme Komitesi üyeleri Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU ve Doç. Dr. İlhan YANDI'ya doğal balıkların canlı olarak deneme ünitelerine kadar getirilmesini sağlayan Arş. Gör. Zeynep İPEK'e, *Gammarus komareki*'nin doğadan örneklenmesi için yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Hazel BAYTAŞOĞLU'na, enzim değerlerinin ölçümündeki yardımlarından dolayı Uzman Dr. Bayram ŞEN 'e, çalışmada uygulanan istatistik verilerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Arş. Gör. Mert MİNAZ ve Arş. Gör. Dr. Barış KARSLI'ya, çalışma için gerekli bazı kimyasalların sağlanmasından dolayı Öğrt. Gör. Dr. İsmail AKSU ve doktora öğrencisi Muhammet EMANET'e, balık türlerinin tanımlanması ve fotoğraflanmasında yardım eden Doç. Dr. Cüneyt KAYA ve Doç Dr. Esra BAYÇELEBİ'ye Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezin'de geçirdiğim süre boyunca çalışmalarını aksattığım Yetiştiricilik Bölümü akademik kadrosuna ve tüm çalışanlarına anlayışları dolayısıyla teşekkürlerimi sunarım.

Akif ER

2022 / RİZE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET.....	VI
ABSTRACT.....	VII
KISALTMALAR	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
GİRİŞ.....	1
1.GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. Çimento ve Kullanım Alanı	3
1.2. Toksikoloji.....	5
1.2.1. Toksikolojide Kullanılan Organizmalar	6
1.2.1.1. Gökkuşuğı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , Walbaum, 1792)	6
1.2.1.2. Su Piresi (<i>Daphnia magna</i> , Straus, 1820)	7
1.2.1.3. <i>Gammarus komareki</i> , Schaferna, 1922	8
1.2.1.4. Nil Tilapia Balığı (<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758))	9
1.2.1.5. Eğrez Balığı (<i>Vimba vimba</i> (Linnaeus, 1758))	10
1.2.1.6. İnci Balığı (<i>Alburnus derjugini</i> Berg, 1923).....	10
1.2.2. Toksik Etkinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	11
1.2.2.1. Lethal Konsantrasyon (LC ₅₀).....	11
1.2.2.2. DNA Hasarı (Comet Assay)	12
1.2.2.3. Histopatoloji.....	13

1.2.2.4. Kan Parametreleri.....	13
1.3. Literatür Özeti.....	14
1.4. Tezin Amacı.....	17
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	18
2.1. Materyal.....	18
2.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal	18
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Organizmalar	18
2.2. Metot	19
2.2.1. Su Parametreleri	19
2.2.2. Deneme Ünitesi ve Deney Düzeni.....	19
2.2.3. LC ₅₀ Belirlenmesi	23
2.2.4. DNA Hasarının Belirlenmesi	23
2.2.5. Hematolojik Değerlerin Belirlenmesi	25
2.2.6. Enzim Değerlerinin Belirlenmesi	26
2.2.7. Histopatolojik Çalışmalar.....	26
2.2.8. İstatistiksel Analiz.....	28
3. BULGULAR.....	29
3.1. Su Parametrelerindeki Değişim	29
3.2. Lethal Konsantrasyon (LC ₅₀) Değerlerinin Belirlenmesi ve pH Ölüm İlişkisi	31
3.3. DNA Hasarının Belirlenmesi.....	34
3.4. Kan Parametrelerindeki Değişim	36
3.5. Enzim Aktivitelerindeki Değişim	37
3.6. Histopatolojik Değişim.....	37
3.7. Fizyolojik Değişimin Belirlenmesi	38
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	42
KAYNAKÇA.....	53

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Su Ürünleri Anabilim Dalı

Tez Türü: : Doktora

Danışman : Prof. Dr. Şevki KAYIŞ

Hazırlayan : Akif ER

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 62

ÖZET

PUZOLANİK ÇİMENTO KAYNAKLI SU KALİTESİ DEĞİŞİKLİKLERİNİN BAZI SUCUL CANLILARDAKİ TOKSİK ETKİLERİ

Beton içerisindeki malzemeleri bir arada tutan çimento, en çok kullanılan yapı malzemelerinden biridir. Sucul ekosistem üzerine inşa edilen köprü, istinat duvarı, baraj ve hidroelektrik santralleri gibi yapıların yapımı esnasında kullanılan çimentonun, sucul ekosisteme bulaşısı kaçınılmaz hale gelmektedir. Bu çalışma, betonarme yapılarda en çok kullanılan çimento türü olan puzolanik çimentonun su kalitesine ve bazı sucul canlılar üzerine toksik etkisini belirlemek için yapılmıştır. Çalışmada, puzolanik çimentonun, bazı su kalite parametre değerlerindeki değişim ve balık türleri olarak gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nın yumurtadan porsiyonluk aşamaya kadar farklı evreleri, tilapia (*Oreochromis niloticus*), eğrez (*Vimba vimba*) ve inci balığı (*Alburnus derjugini*), *Gammarus komareki* ve *Daphnia magna* üzerinde toksik etkiler belirlenmiştir. Puzolanik çimentonun sudaki pH, askıda katı madde (AKM), bulanıklık, iletkenlik gibi değerleri artırdığı belirlenmiştir. Gökkuşağı alabalığı için 12 ve 18 °C’de iki farklı sıcaklıklarda yapılan toksisite testlerinde LC₅₀ değerleri sırasıyla 263,8 ve 133,8 mg/L olarak bulunmuştur. Gökkuşağı alabalığı yumurta, alevin ve fry evrelerinde ise LC₅₀ değeri sırasıyla 499, 324,6 ve 361,2 mg/L olarak hesaplanmıştır. Nil tilapia balığı bireylerinde ise bu değer 307 mg/L, doğal türleri temsilen denemelerde kullanılan *A. derjugini* ve *V. vimba* türlerinde ise sırasıyla 160 ve 130,7 mg/L olarak hesaplanmıştır. Sucul ekosistemde bulunan omurgasız canlıları temsil eden *D. magna* ve *G. komareki* bireylerinde ise bu değer sırasıyla 118,3 ve 197,3 mg/L olarak hesaplanmıştır. Denemeler 24 saat sürede statik olarak gerçekleştirilmiştir. Puzolanik çimentonun gökkuşağı alabalığında CRE, ALT, ALP, AST ve LDH enzim değerleri incelendiğinde istatistiki olarak farklı olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$). Kan parametre değerleri incelendiğinde, RBC, MCV, WBC, ve monosit yüzdesi değerlerinde bir farkın olmadığı ($p>0,05$), Hgb, MCH, MCHC ve Lenfosit yüzdesi değerlerinde düşüş ve granülosit yüzdesindeki artışın, kontrol grubuna göre farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Puzolanik çimentonun alabalık solungaçlarında hiperplazi, epitel ayrılma, nekroz, lamellaların birleşmesi gibi histopatolojik bulgulara neden olduğu gözlenmiştir. *D. magna* bireylerinde 75 mg/L konsantrasyonunda puzolanik çimento ile DNA hasarı görülmezken, 150 mg/L konsantrasyonunda puzolanik çimento gökkuşağı alabalığında DNA hasarına neden olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda çimentonun sucul ekosisteme belirlenen konsantrasyonlarda karıştığında, su ve sucul canlılar üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Akuatik Toksikoloji, LC₅₀, pH, Puzolanik Çimento

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Department of Faculty of Fisheries and Aquatic Sciences

Thesis Type : Ph. D

Supervisor : Prof. Dr. Şevki KAYIŞ

Author : Akif ER

Year : 2022

Pages : 62

ABSTRACT

TOXIC EFFECT OF POZZOLANIC CEMENT-INDUCED WATER QUALITY CHANGE ON SOME AQUATIC ORGANISMS

Cement, which holds the materials in concrete together, is one of the most used building materials. The contamination of the aquatic ecosystem by the cement used during the construction of structures such as bridges, retaining walls, dams and hydroelectric power plants built on the aquatic ecosystem becomes inevitable. This study was carried out to determine the toxic effect of pozzolanic cement, which is the most widely used cement type in concrete structures, on some water quality parameters and aquatic organisms. Pozzolanic cement effects were determined on some water quality parameter values and some aquatic organisms (different stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), vimba bream (*Vimba vimba*) and georgian shemaya (*Alburnus derjugini*), *Gammarus komareki* and *Daphnia magna*). It has been determined that pozzolanic cement increases the values such as pH, suspended solids, turbidity and conductivity in water. For rainbow trout, the LC₅₀ values were found to be 263.8 and 133.8 mg/L, in toxicity tests performed at two different temperatures at 12 and 18 °C, respectively. In the egg, alevin and fry stages of rainbow trout, the LC₅₀ values were calculated as 499, 324.6 and 361.2 mg/L, respectively. This value was calculated as 307 mg/L in tilapia, 160 and 130.7 mg/L in natural species *A. derjugini* and *V. vimba*, respectively. This value was calculated as 118.3 and 197.3 mg/L, respectively, for *D. magna* and *G. komareki* individuals, which represent invertebrates in the aquatic ecosystem. Trials were carried out statically in 24 hours. When the CRE, ALT, ALP, AST and LDH enzyme values were examined in rainbow trout, no statistical difference was found ($p>0.05$). When blood parameter values were examined, it was found that there was no difference in the values of RBC, MCV, WBC, and Monocyte percentage ($p>0.05$), the decrease in values such as Hgb, MCH, MCHC and lymphocyte percentage and the increase in granulocyte percentage were different when compared to the control group ($p<0.05$). It has been reported that pozzolanic cement causes histopathological findings such as hyperplasia, epithelial lifting, necrosis, and lamella fusion in the gills of trout. While no DNA damage was observed in the 75 mg/L dose of pozzolanic cement in *D. magna* individuals, DNA damage was observed in rainbow trout with the 150 mg/L dose of pozzolanic cement. As a result of the study, it was revealed that the contamination of the aquatic ecosystem by cement causes negative effects on water and aquatic organisms.

Keywords: Aquatic Toxicology, LC₅₀, pH, Pozzolanic Cement

KISALTMALAR

μg	:	Mikrogram
μl	:	Mikrolitre
AKM	:	Askıda Katı Madde
Al_2O_3	:	Alüminyum Oksit
ALP	:	Alkalen Fosfataz
ALT	:	Alanin Aminotrasferaz
AST	:	Aspartat Aminotransferaz
$^{\circ}\text{C}$	:	Derece Santigrat
CRE	:	Kreatin-Kinaz
EPA	:	Çevre Koruma Ajansı
Fe_2O_3	:	Demir Oksit
HCl	:	Hidroklorik Asit
HCT	:	Hematokrit
HES	:	Hidroelektrik Santrali
HGB	:	Hemoglobin
K	:	Kontrol Grubu
L	:	Litre
LC_{50}	:	Denemedeki Canlıların Yarisını Öldüren Konsantrasyon
LDH	:	Laktat Dehidrogenaz
MCH	:	Akyuvarlar Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Miktarı
MCHC	:	Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	:	Ortalama Eritrosit Hacmi
mg	:	Miligram
NaOH	:	Sodyum Hidroksit
RBC	:	Eritrosit
SiO_2	:	Silisyum Oksit
TDS	:	Toplam Çözünmüş Katı Madde
WBC	:	Beyaz Kan Hücreleri

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çimento türleri ve içerikleri	4
Tablo 2. Akuatik toksisitenin sınıflandırılmasında kullanılan ölçüt aralıkları.....	12
Tablo 3. Puzolanik çimentonun toksik etkisini belirlemek için kullanılan organizmalar ve deneme düzeneği.....	23
Tablo 4. DNA hasarını belirlemede işlem basamakları.	24
Tablo 5. Farklı konsantrasyonlardaki puzolanik çimentonun bazı su parametreleri üzerindeki değişimi.	30
Tablo 6. Puzolanik çimentonun farklı canlılardaki LC ₅₀ değerleri.....	31
Tablo 7. Farklı konsantrasyonlarda puzolanik çimentoya maruz kalmış gökkuşakğı alabalığı bireylerinin bazı kan parametrelerindeki değişim.	36
Tablo 8. Farklı konsantrasyonlarda puzolanik çimentoya maruz kalmış gökkuşakğı alabalığı bireylerinin bazı enzim parametrelerindeki değişim.	37
Tablo 9. Puzolanik çimentonun gökkuşakğı alabalığı bireylerinin solungaçlarındaki etkisinin histopatolojik açıdan değerlendirilmesi.	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Gökkuşığı alabalığının (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) genel görünümü.....	7
Şekil 2.	Su piresinin (<i>Daphnia magna</i>) genel görünümü.....	8
Şekil 3.	<i>Gammarus komareki</i> bireyinin genel görünümü.....	9
Şekil 4.	Nil tilapia balığının (<i>Oreochromis niloticus</i>) genel görünümü.....	10
Şekil 5.	Eğrez Balığının (<i>Vimba vimba</i>) genel görünümü.....	10
Şekil 6.	İnci balığının (<i>Alburnus derjugini</i>) genel görünümü.....	11
Şekil 7.	Standart bir konsantrasyon-tepki eğrisinde NOEC, LOEC ve LC ₅₀ değerlerinin gösterilmesi	12
Şekil 8.	Çalışmada kullanılan puzolanik çimentonun genel görünümü	18
Şekil 9.	Gökkuşığı alabalığının toksisite testlerinin gerçekleştirildiği tanklar	20
Şekil 10.	Doğal balık türlerinin ve nil tilapia balığı bireylerinin toksisite testlerinin gerçekleştirildiği akvaryumlar	21
Şekil 11.	Omurgasız canlıların ve gökkuşığı alabalığı yumurta, alevin ve frylarının toksisite testlerinin gerçekleştirildiği sistem	22
Şekil 12.	DNA hasarını belirlemede kullanılan ölçüm parametreleri	25
Şekil 13.	Kan sayım cihazının genel görünümü.	26
Şekil 14.	Histopatolojik bulguların görüntülenmesi	27
Şekil 15.	Sucul organizmaların puzolanik çimentoya gösterdikleri hassasiyet	32
Şekil 16.	Omurgasız canlılar üzerine uygulanan puzolanik çimentonun konsantrasyonuna bağlı değişen pH ve ölüm oranları.	33
Şekil 17.	Doğal balık türlerine ve nil tilapia balığı bireylerine uygulanan puzolanik çimentonun konsantrasyonuna bağlı değişen pH ve ölüm oranları	33
Şekil 18.	Alabalığın farklı evrelerinde uygulanan puzolanik çimentonun konsantrasyonuna bağlı değişen pH ve ölüm oranları.....	34
Şekil 19.	Puzolanik çimento uygulanan gökkuşığı alabalığı bireylerinde comet assay görüntüsü..	35
Şekil 20.	Puzolanik çimento uygulanan <i>Daphnia magna</i> bireylerinde comet assay görüntüsü.	35
Şekil 21.	Gökkuşığı alabalığı bireylerinde DNA hasarının belirlenmesi	35
Şekil 22.	<i>Daphnia magna</i> bireylerinde DNA hasarının belirlenmesi.	36
Şekil 23.	Puzolanik çimentonun gökkuşığı alabalığı bireylerinin solungaçlarında oluşturduğu histopatolojik değişimler.	38
Şekil 24.	Puzolanik çimentoya maruz kalan <i>Daphnia magna</i> bireyleri;.....	39
Şekil 25.	Puzolanik çimentoya maruz kalan <i>Gammarus komareki</i> bireyleri.	39

Şekil 26. Pozolanik çimento uygulanan gökkuşığı alabalığının görüntüsü.	40
Şekil 27. Pozolanik çimentoya maruz kalan gökkuşığı alabalığı yumurtası.	41
Şekil 28. Pozolanik çimentoya maruz kalan gökkuşığı alabalığı alevinleri..	41



GİRİŞ

Bir ekosistem, içerisinde bulunduğu tüm organizmalardan ve onların etkileşime girdiği fiziksel çevreden oluşur. Bu biyotik ve abiyotik bileşenlerin, besin döngüleri ve enerji akışları yoluyla birbirine bağlanarak ekosistemin devamlılığını sağlama görevleri vardır. Sucul ekosistemi oluşturan ve Dünya'nın %70 ini oluşturan su kaynakları, canlı yaşamının temel kaynağı olmasının yanı sıra, içinde yaşayan organizmalara ev sahipliği yapan en büyük ekosistemdir. Suda yaşayan farklı fitoplankton ve zooplankton türleri, su bitkileri, böcekler, kuşlar, memeliler ve balıklar sucul ekosistemdeki çeşitliliğin önemli bir parçasını oluşturmaktadır (Tsujimoto vd., 2008).

Sucul ekosistemler, fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişiklikler gibi farklı kaynaklı kirleticiler antropojenik etkiler tarafından kirletilmektedir. Ekosistemler, kirliliği nötralize etmek için doğal bir kapasiteye sahiptirler, ancak kirlilik artarak kontrolsüz hale geldiğinde sistemin kendi kendini yenileme kapasitesinin azalmasına veya kaybetmesine neden olur. Sudaki organik, inorganik, radyoaktif ve biyolojik kirleticilerin artışıyla çözülmüş oksijen miktarı azalmakta ve aerobik bakterilerin işlevini yitirmesine neden olmaktadır. Bunun sonucunda suyun kendi kendini temizleme fonksiyonunun büyük ölçüde azalması ya da suyun bu özelliğini tamamen kaybetmesi anlamı ortaya çıkmaktadır (Wilhelm, 2009; Bashir vd., 2020).

Sucul ekosistemlerdeki bozulmalar kendisiyle ilişkili olan çevrenin tamamını olumsuz etkileyerek bazı varlıkların azalmasına ve madde döngülerinin gerçekleşmesinin zorlaşmasına neden olur. Bu sistemlerin kirlenmesi, çevredeki su kaynaklarının, yağışların ve tarımsal verimin azalmasına zemin hazırlamaktadır. Ayrıca sistem içerisindeki canlı organizmaların yaşamlarını, yayılış ve üremelerini etkileyerek ilerleyen süreçlerde canlı çeşitliliği ve sayısında azalmalara neden olmaktadır (Gadzala-Kopciuch vd., 2004).

Su kirliliği, çoğunlukla kimyasal veya mikroorganizmaların bir dere, nehir, göl, yeraltı suları veya okyanus gibi su kitlelerini kirleterek su kalitesini bozduğunda ve bu suyu insanlar veya içinde yaşayan canlı organizmalar için toksik hale getirdiğinde oluşmaktadır. Çevre koruma ajansı (EPA) yüzey suyu kullanımını sınıflara ayırarak mevcut kalitenin bozulmasına izin verilmemesinin gerekliliğini ortaya koymuştur. Yüzey suları; kamu su kaynakları, rekreasyonel amaçlı, ulaşım, sulama ve balık ve

doğal yaşamın sürdürülebilirliği yönünden kullanım yöntemlerine göre gruplandırılmıştır. İnsanoğlu nüfusun ve ihtiyaçların artması sebebiyle gıda, tarım, sanayi, yeni yerleşim yerleri, yol ve enerji gibi birçok alanda yatırımlar yapmak zorunda kalmış ve bu yatırımların çevreye verdiği zararlar kaçınılmaz hale gelmiştir. Bu nedenle, sucul ekosisteme giren bütün kirleticilerin izlenmesi ve sucul ekosistemdeki canlılar üzerindeki olumsuz etkileri belirlenip düzenli bir şekilde takip edilmesi gereklidir (Bashir vd., 2020).

Genellikle pH, sıcaklık, debi, bulanıklık, askıda katı madde, çözünmüş oksijen ve elektriksel iletkenlik gibi su kalite parametreleri sudaki kirlilik seviyelerini belirleyen parametrelerdir (Svobodova vd., 1993). Doğal su sistemleri, aralarında bakteriyel kontaminasyon, petrol kirliliği, organik ve inorganik kontaminasyon da bulunan çok çeşitli kirleticilerle büyük ölçüde kirlenebilir. Organik kirleticiler içinde pestisitler suda yaşayan organizmalar için en tehlikeli olarak kabul edilirken, inorganik kirleticiler içinde ağır metaller en yaygın kirleticiler olarak kabul edilir. Su kirliliği, bitkisel ve hayvansal organizmalar başta olmak üzere bütün canlılar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Sudaki organizmalar arasında balıklar ve omurgasız canlılar su ortamıyla yakından ilişkili en büyük ve en çeşitli gruplardır. Bu nedenle suyun kalitesi bu canlıların sağlığını etkiler ve su ortamındaki kirlilik seviyesinin değişimine doğrudan ve dolaylı olarak büyük bir hassasiyetle yanıt verirler (Borkovic vd., 2008). Bu nedenle sucul canlılar, su kirliliği ve toksik maddelerin etkilerinin belirlenmesinde biyoindikatör olarak kullanılmaktadır (Law, 2013; Alanso vd., 2010).

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Çimento ve Kullanım Alanı

Çimento doğal kalker taşlarının ve kil karışımının yüksek sıcaklıklarda pişirilip öğütülmesiyle elde edilen hidrolik bir bağlayıcı malzemedir (Hewlett, 2001). Çimentoya bağlayıcılık özelliğini CaO ve MgO gibi alkalın özellikteki maddeler ve SiO₂, Al₂O₃ ve Fe₂O₃ gibi hidrolik özellikteki maddeler kazandırır. Çimentoya katılan alkali ve hidrolik özellikteki maddelerin oranı çimentonun niteliğini belirler (Taylor, 1997). Türkiye standartlarına göre CEM I (Portland Çimentosu), CEM II (Portland Kompoze Çimento), CEM III (Yüksek Fırın Cürufu Çimento), CEM IV (Puzolanik Çimento) ve CEM V (Kompoze Çimento) olmak üzere 5 ana grupta sınıflandırılmaktadır ve 23 farklı çimento tipi bulunmaktadır (Tablo 1) (TS EN196-1, 2006).

Hızla büyüyen nüfusun yeni yerleşim yerleri, altyapı, yol, enerji, tünel ve köprü gibi yapı ihtiyaçlarını karşılayabilmek için çimento kullanımı da doğru oranda artmaktadır. Dünya genelinde 4,1 milyar ton üretilen çimento ülkemizde ise 70 milyon ton civarındadır (Çağatay, 2021). Yapılan inşaatın özelliğine göre kullanılan çimento türü farklılık gösterebilir. Bunlar portland çimentosu, portland kompoze çimentosu, yüksek fırın cürufu çimento, puzolanik çimento ve kompoze çimento olmak üzere 5 ana sınıfa ayrılmaktadır. Ülkemizdeki inşaat sektöründe en çok kullanılan çimento türlerinden biri olan CEM IVB 32,5 puzolanik çimentosu, Portland çimentosu klinkeri ile standartlarda tanımlanmış oranda (%35-55) katkı maddesinin (puzolan), priz düzenleyici alçı taşı ve minör ilave bileşen (kalker) ile birlikte öğütülmesiyle elde edilir (ÇSR, 2020). Puzolanlar kendi hallerinde iken bağlayıcılık özellikleri olmamasına rağmen ince taneli hale getirildiklerinde ve sulu ortamlarda calsiyum hidroksit ile birleştiklerinde bağlayıcılık özelliğini kazanırlar. Puzolan maddeler volkanik kaynaklı kayalardan oluşan volkanik camlar ve volkanik türüflerden elde edilen doğal puzolan maddelerden elde edilirken, termik santral ve çelik üretimi sonucu oluşan uçucu kül, yüksek fırın cürufu ve silis dumanı yapay puzolan sınıfında yer almaktadır. Puzolanik katkılı betonlar, dere ıslah çalışmaları, istinat duvarları, su tankları, köprü, yol, baraj, hafif agrega üretimi enjeksiyon betonları gibi tüm inşaat alanlarında kullanılabilir (Özcan ve Güngör, 2019).

Tablo 1. Çimento türleri ve içerikleri

Sınıf	Genel Çimento Tipleri		% Ana Bileşenler							
			K	S	D	P	Q	V	W	T
CEM I	Portlant Çimentosu	CEM I	95-100							
CEM II	Portlant-Cürufllu Çimento	CEM II/A-S	80-94	6-20						
		CEM II/B-S	65-79	21-35						
	Portlant-Silis Dumanlı Çimento	CEM II/A-D	90-94		6-10					
	PortlantPuzolanlı Çimento	CEM II/A-P	80-94			6-20				
		CEM II/B-P	65-79			21-35				
		CEM II/A-Q	80-94				6-20			
		CEM II/B-Q	65-79				21-35			
		CEM II/A-V	80-94					6-20		
		CEM II/B-V	65-79					21-35		
	Portlant-Uçucu Küllü Çimento	CEM II/A-W	80-94						6-20	
		CEM II/B-W	65-79						21-35	
		CEM II/A-T	80-94							80-94
		CEM II/B-T	65-79							65-79
	PortlantKompoze Çimento ³	CEM II/A-M	80-94				80-94			
		CEM II/B-M	65-79				65-79			
CEM III	Yüksek Fırın Cürufllu Çimento	CEM III/A	35-64	36-65	0-5					
		CEM III/B	20-34		66-80					
		CEM III/C	5-19		81-95					
CEM IV	Puzolanik Çimento ³	CEM IV/A	65-89			11-35				
		CEM IV/B	45-64			36-55				
CEM V	Kompoze Çimento	CEM V/A	40-64		18-30		18-30			
		CEM V/B	20-38		31-50		31-50			

K: Klinker, S: Yüksek fırın cürufu, D: Silis dumanı, P: Doğal puzolan, Q: Doğal kalsine edilmiş puzolan, V: Silisli uçucu kül, W: Kalkerli uçucu kül, T: Pişmiş şist, L: Toplam organik karbon içeriği kütlece %0.50 aşmayan kalker, LL: Toplam organik karbon içeriği kütlece %0.20 aşmayan kalker (herbir çimento türünde %0 ila 5 minör ilave içerebilmektedir.)

1.2. Toksikoloji

Toksikoloji; kelime olarak zehir bilimi anlamına gelmektedir ve fiziksel, kimyasal veya diğer koşullara maruz kalan canlıların zararlı ve olumsuz anlamda etkilenmesini ve bu etkiyi oluşturan maddenin miktarının belirlenmesini inceleyen bilim dalıdır. Bu bilimin amacı canlıyı ve yaşadığı çevreyi zararlı etkilerden korumak, olası riskleri belirlemek ve bilgilendirmek ve zehirlenmelerde yeni tedavi yöntemleri geliştirmek olarak söylenebilir. Toksikoloji bilimi; kimya, biyoloji, tıp, mikrobiyoloji, fizyoloji, farmakoloji, patoloji ve ekoloji gibi bilim dalları ile doğrudan veya dolaylı olarak çalışarak kendi içerisinde alt bilim dallarına ayrılmıştır (Neal ve Doull, 1995). Bu bağlamda ifade edilecek olunursa toksikoloji, Tanımlayıcı Toksikoloji, Klinik Toksikoloji, Çevre Toksikolojisi, Endüstri Toksikoloji, Adli Toksikoloji, Analitik Toksikoloji ve Ekotoksikoloji olmak üzere değişik gruplara ayrılmaktadır.

Akuatik toksikoloji de ekotoksikolojinin bir alt dalı olup kimyasal ya da biyotik olmayan maddelerin suda yaşayan organizmalara karşı toksik etkilerini inceleyen bilim dalıdır. Toksik etki, öldürücü olduğu gibi, canlıların büyüme, gelişme, üreme, fizyolojisi, biyokimyası ve davranış biçimlerinde değişikliklere neden olabilir. Bu bilim dalı sadece canlılar üzerindeki olumsuz etkileri incelemekle kalmaz aynı zamanda alıcı ortamların kirleticilerden ne kadar etkilendiğini de belirlemeye çalışmaktadır (Pritchard, 1993).

Genel olarak toksisite çalışmalarında dünyanın her yerindeki araştırmacıların bulgularını kıyaslama ve kendi değerlerini yorumlama açısından evrensel test metotları geliştirilmiştir. Bunlar, ASTM International (American Society for Testing and Materials), APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry), WRC (Water Research Centre) ve OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) gibi kuruluşların geliştirmiş olduğu test standardizasyonlarıdır.

Toksikolojik çalışmalarda en önemli amaç organizmanın test edildiği maddenin miktarı ile organizma üzerindeki zararlı etkilerin belirlenmesidir. Organizmanın belirli konsantrasyonlarda toksikant maddeye verdiği tepki ile çevreye zararlı olabilecek maddeler hakkında bilgiler edinilmektedir. Her bir yabancı madde canlılar ve çevre üzerinde zararlı olabilir. Ancak düşük konsantrasyonda ölümcül

etkilerini göstermeyebilirler. Bu durumları belirlemek için toksisite testleri yapılmakta ve en yaygın olarak kullanılan testler belli bir periyot sonunda öldürücü (LC₅₀) veya etkili (EC₅₀) olan konsantrasyonu tahmin etmektir (Loomis, 1978).

Sucul organizmaların toksisite deneylerinde kullanılan 4 temel deney sistemi bulunmaktadır. Bu yöntemler statik, resirkülasyon, yenilemeli ve flow deney sistemleridir (Güner, 2018). Toksisite tesleri sürelerinin uzunluğuna göre ise akut, subakut, subkronik, kronik ve özel toksisite testleridir (Saygı, 2003).

1.2.1. Toksikolojide Kullanılan Organizmalar

Sucul sistemlerde yaşayan organizmalar üzerinde yapılan toksisite testlerinde uygun test modelinin yanı sıra, uygun deney organizmasının da seçilmesi gerekmektedir. Deney organizmasının seçilmesinde ekosistemi temsil eden yerli türler tercih edilmelidir. Organizmanın kolay temin edilebilir, benzer büyüklükte, yeterli sayıda ve ekolojik ve ekonomik öneme sahip olması gerekmektedir. Ayrıca, deney şartlarında 1 hafta ile 1 ay arasında yaşayabilmeli, yaşam gereksinimleri bilinmeli ve ona göre deney ortamı oluşturulmalıdır (Güner, 2018).

1.2.1.1. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)

Gökkuşığı alabalığı kuzey Amerika kökenli olmalarına rağmen 1882 yılında Avrupa iç sularına taşınmış ve yetiştiriciliği en fazla yapılan balık türlerinden biridir (Şekil 1). Yaşam ortamı olarak berrak, serin ve oksijence zengin olan suları severler. Ülkemizde doğal olarak dağılımı mevcut değildir. Yetiştiriciliği yapılan bu tür yumurtadan damızlık büyüklüğe kadar yetiştiricilik sistemlerinde bulunmaktadır. Kuluçka sürecinde 8-10 °C sıcaklık, 6,5-7,5 pH ve 9-11 mg/L ÇO 'ye ihtiyaç duyarken yetiştiricilik aşamasında ise <20 °C sıcaklık, 5,5-8,5 pH ve >7 mg/L Çözünmüş Oksijen (ÇO) ne ihtiyaç duyarlar (Lindhorst-Emme, 1990). Ekolojik ve ekonomik öneme sahip, laboratuvar çalışmalarına uyumları yüksek, yetiştiriciliği nispeten kolay ve ekosistemleri iyi temsil eden tür olduğundan dolayı akademik çalışmalarda en çok kullanılan deney hayvanlarından biridir (Rand, 1995).



Şekil 1. Gökkuşuğu alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) genel görünümü.

1.2.1.2. Su Piresi (*Daphnia magna*, Straus, 1820)

Daphnia cinsi, dünya genelinde 100'den fazla tür barındıran planktonik bir organizmadır (Şekil 2). Kaplıcalar gibi aşırı habitatlar dışında, çoğu tatlı su sistemlerinde yaşarlar ve ekstrem yerler hariç bütün tatlı sularda bulunabilirler. Tüm yaş sınıfları iyi yüzücüdür ve çoğunlukla pelajiktir. optimum üreme sıcaklıkları 20 °C'deki sulardır. Yetişkinlerin boyutları 1 mm'den 5 mm'ye kadar değişir. Genellikle suda asılı kalan 1 µm'den 50 µm'ye kadar olan partikülleri tüketirler (Pietrzak vd., 2010).

Su pirelerinde üreme seksüel ve aseksüel olarak gerçekleşmektedir. Ortam şartlarının optimum olması durumunda aseksüel üreme gerçekleşmekte, yaşam ortamında besin, ışık, sıcaklık gibi fiziksel etkilerin bozulduğunda ise ortamda erkek bireyler meydana gelmektedir. Çiftleşme sonucu olumsuz koşullara dirençli yumurtalar oluşur. Ortam koşulları normale döndüğünde de bu yumurtalar partenogenetik yolla üreyen dişiler meydana gelmektedir (La vd., 2014).

D. magna, deneysel organizma olarak kullanıldığında sayısız avantaj sunar. Şeffaflığı, iç anatomik yapılarının mikroskopta gözlemlenmesine izin verirken, döngüsel partenogenez yoluyla üremesi, klonların üretilmesine (eşesiz üreme) veya suşlar arasında geçiş yapılmasına (eşeyli üreme) izin verir. Araştırma alanında, *D. magna*'nın laboratuvarında tutulması kolay kabul edilir. Deneyler için avantajlarından bazıları, hızlı üretim süresi, sınırlı depolama kullanımı, kolay ve ucuz besleme ve bakımdır (Tyagi vd., 2007; Persoone vd., 2009).



Şekil 2. Su piresinin (*Daphnia magna*) genel görünümü.

Ekotoksikolojide, OECD'nin kimyasalların toksisitesinin belirlenmesi amacıyla *D. magna* bireyleri için *Daphnia* sp., Acute Immobilization Testi (Test No. 202) ve *Daphnia magna* Reprodüksiyon Testi (Test No: 211) olmak üzere standart test presedürleri oluşturulmuştur (OECD, 2004). Test No. 202, genç *Daphnia*'nın (neonat) test edilen maddenin değişen konsantrasyonlarına maruz kaldığı ve EC₅₀ nin belirlendiği 48 saatlik bir akut toksisite çalışmasıdır. *D. magna* dışındaki diğer *Daphnia* türleri bazen kullanılabilir, ancak laboratuvarlar çoğunlukla *D. magna*'yı kullanırlar ve bu tür standart olarak kabul edilir.

1.2.1.3. *Gammarus komareki*, Schaferna, 1922

Gammarus, Amphipoda sınıfını 200 den fazla türle temsil eden en büyük cinslerden biridir (Şekil 3). *Gammarus* türlerinin birçoğu 20 °C'lerdeki sularda üreme faaliyetlerini gösterirler. Daha çok Avrupa kökenli olsa da Çin ve Kuzey Amerika'ya kadar geniş dağılım alanına sahiptirler (Väinölä vd., 2008). *Gammarus komareki* ise ülkemizde tüm Karadeniz kıyılarında dağılım göstermektedir (Özbek, 2011; Ekinci ve Miroğlu, 2016). Bu tür genellikle su akım hızının düşük olduğu ve bitkilerin yoğun olduğu habitatlarda yaşamayı tercih ederler. Akarsu içerisindeki yaprak, ağaç gibi ölü bitkilerin oluşturduğu organik atıklarla beslenirler (Karaman ve Pinkster, 1977).



Şekil 3. *Gammarus komareki* bireyinin genel görünümü.

Gammaruslar çok çeşitli kirleticilere karşı iyi bilinen ve en hassas organizmalar olmaları nedeniyle deneysel toksisite testlerinde yaygın olarak kullanılan sucul organizmalardır (Kunz vd., 2010).

1.2.1.4. Nil Tilapia Balığı (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758))

Tilapia balığı Cichlid familyasına üye, sıcak sularda dağılım gösteren iç su balıkları içerisinde sazan balığından sonra en çok yetiştiriciliği yapılan türdür (Şekil 4). Tilapia balıkları genellikle omnivor türlerdir ve optimum su sıcaklığı 20-28 °C'dir ve sıcaklık ve pH toleransları geniş aralıktadır (İzci vd., 2020) Afrikanın kuzeyi ve Levant olarak bilinen bölgede doğal olarak dağılım gösterdiği bilinse de birçok ülkede popülasyon oluşturma şansı bulmuştur (Azevedo-Santos vd., 2011). Bu balık türü çevresel kirleticilere karşı dirençli, laboratuvar şartlarında bakımı kolay olması ve üretiminin hakkında uluslararası bilgi birliğinin olması nedeniyle araştırmacılar tarafından toksisite testleri yapılmak üzere sıklıkla kullanılmaktadır (Firidin, 2017; Tahliluddin and Terzi, 2021).



Şekil 4. Nil tilapia balığının (*Oreochromis niloticus*) genel görünümü.

1.2.1.5. Eğrez Balığı (*Vimba vimba* (Linnaeus, 1758))

Sazangil familyasından olan eğrez balığı (*Vimba vimba*), Orta Avrupa, Karadeniz ve Azak Denizi havzalarında yaygın olarak dağılım göstermektedir (Şekil 5). 30 cm uzunluğuna ulaşabilen bu tür akarsuların alt kısımlarında yaşamayı tercih ederler. Ancak üreme zamanlarında yumurtlamak için akarsuların üst kısımlarına gidebilirler (Kottelat ve Freyhof, 2007). Su sıcaklığı 17-23 °C'lere ulaşan sularda üreme faaliyetleri gösteren bu tür ülkemizde ekonomik öneme sahip olmamasına rağmen yerel halk tarafından tüketilebilmektedir ve ekolojik açıdan oldukça değerli bir türdür (İlhan ve Sarı, 2016). Eğrez balığı ekosistemi temsil ettiğinden ve kirleticilere karşı hassasiyeti olan bir tür olduğundan dolayı toksisite deneylerinde kullanılmaktadır (Chorehi vd., 2013; Subotic vd., 2021).



Şekil 5. Eğrez balığının (*Vimba vimba*) genel görünümü.

1.2.1.6. İnci Balığı (*Alburnus derjugini* Berg, 1923)

Doğu ve Güney Karadeniz'in dere ve nehirlerinin alt kesimlerinde ve göllerde çok sayıda popülasyonu bulunmaktadır. Bu türün nesli yok olma tehdidi altında

olmamasına rağmen, hidroelektrik santrallerinin (HES) yapımı nedeniyle stokların azaldığı bildirilmiştir. Bu balık türü insanlar tarafından tüketim amacıyla tercih edilmese de ekolojik açıdan önemli bir türdür (Şekil 6) (Freyhof, 2014).



Şekil 6. İnci balığının (*Alburnus derjugini*) genel görünümü.

1.2.2. Toksik Etkinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Suda yaşayan organizmalar genellikle solungaç, ağız ve deri yoluyla bünyelerine aldıkları kirletici maddeler nedeniyle hücre, doku ve organlarında fizyolojik, biyolojik veya kimyasal değişikliklere maruz kalabilmektedir. Toksikolojinin ana hedefi bir maddenin canlı üzerindeki öldürücü etkisini belirlemek olsa da, aynı zamanda kan parametrelerindeki değişim, enzim aktivitelerindeki farklılıklar, dokularındaki histopatolojik değişiklikler, DNA hasarı oluşumunun olup olmadığı gibi sorulara cevap verebilmek için diğer bilim dalları toksikoloji bilimi ile ortak çalışma yapmaktadır (Crupkin vd., 2021).

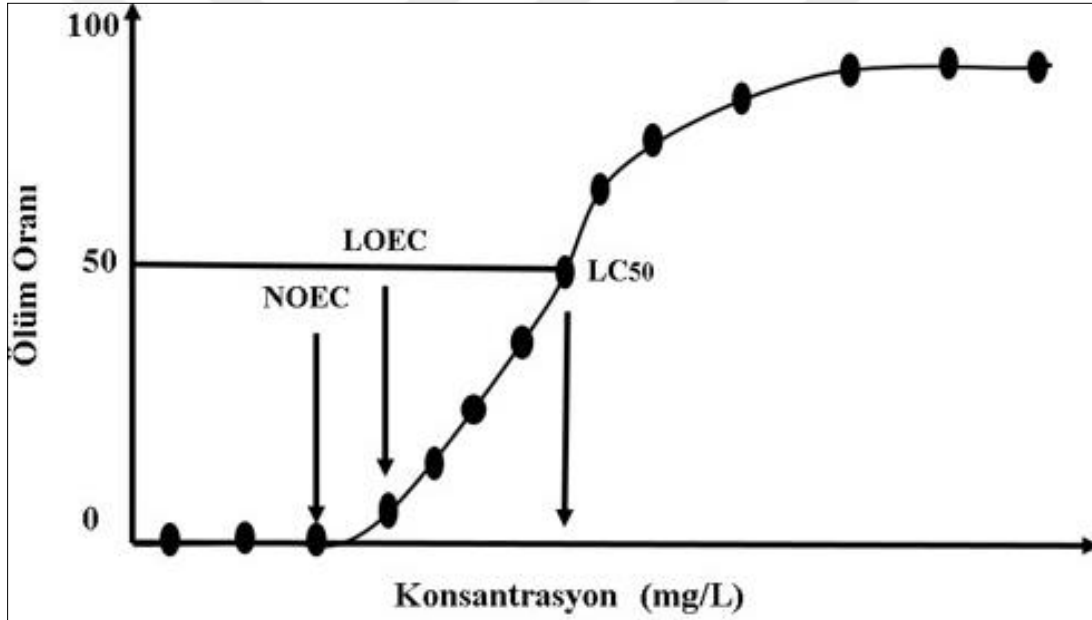
1.2.2.1. Lethal Konsantrasyon (LC₅₀)

Belirli bir zaman periyodunda toksikasyona maruz bırakılan organizmaların %50 sinin öldürdüğü tahmin edilen konsantrasyon olarak tanımlanan LC₅₀ (öldürücü konsantrasyon) daha çok sucul organizmalar için kullanılır. Toksisite deneylerinde en önemli faktör canlının içinde bulunduğu kimyasal madde miktarına göre verdiği tepkileri belirlemektir. Tüm maddeler toksik etki gösterebilir ancak toksik etki gösterdiği konsantrasyonlar canlı türüne ve büyüklüklerine göre farklılıklar gösterebilir. Bu nedenle her bir kirletici maddenin sucul ekosistemi temsil eden canlılar üzerine toksik etkisi belirlenip LC₅₀ konsantrasyonu belirlenir. LC₅₀ değeri hesaplandıktan sonra Tablo 2’de bulunan değerler ile ilişkilendirilerek bir maddenin akut toksik sınıflandırılması yapılır (EPA, 2001)

Tablo 2. Akuatik toksisitenin sınıflandırılmasında kullanılan ölçüt aralıkları

Sınıflandırma	LC ₅₀ (mg/L)
Süper toksik	<0,01
Aşırı toksik	0,01-0,1
Yüksek toksik	0,1-1
Orta toksik	>1-10
Hafif toksik	>10-100
Pratik olarak toksik olmayan	>100-1000
Nispeten zararsız	>1000

Toksisite deneylerinde LC₅₀ değerlerinden başka değerler de hesaplanabilir. Herhangi bir etkinin gözlenmediği en yüksek konsantrasyon (NOEC) ve Etkinin gözlendiği en düşük konsantrasyon (LOEC) gibi değerler hesaplanarak LC₅₀ değeri dışındaki etkileri belirlemek mümkündür (Şekil 7).



Şekil 7. Standart bir konsantrasyon-tepki eğrisinde NOEC, LOEC ve LC₅₀ değerlerinin gösterilmesi

1.2.2.2. DNA Hasarı (Comet Assay)

Çevredeki mevcut toksik madde miktarına her yıl yeni kimyasallar eklenmektedir. Bu durum, ekosistemlerin kirlenmesinin artmasına ve hava, su ve toprak kalitesinin bozulmasına yol açmaktadır. Aşırı tarımsal ve endüstriyel faaliyetler biyoçeşitliliği olumsuz etkiler, belirli bir habitatta türlerin hayatta kalmasını tehdit eder ve insanlar için hastalık riskleri oluşturur. Pestisitler ve ağır metaller gibi bazı kirleticiler, sentinel türler ve/veya hedef olmayan türler için genotoksik olabilir ve

somatik veya germ hücrelerinde zararlı etkilere neden olabilir (Moore vd., 2010; Nickens vd., 2010). Tehlike tahminine ve risk değerlendirmesine yardımcı olan test sistemleri, kimyasalların çevreye salınmasından veya ticari kullanımdan önce genotoksik potansiyelinin yanı sıra kontamine/kirli habitatlardan etkilenen canlıların DNA hasarını değerlendirmek için önemlidir. Comet assay (tek hücreli jel elektroforezi) tahlili, bireysel ökaryotik ve bazı prokaryotik hücrelerde DNA hasarı ve onarımının değerlendirilmesi için basit, hassas ve hızlı bir araç olarak geniş çapta kabul görmüştür ve genetik toksikolojiden insan epidemiyolojisine kadar çeşitli alanlarda giderek daha fazla uygulama bulmuştur (Dhawan ve Anderson, 2009).

1.2.2.3. Histopatoloji

Histoloji, dokulardan alınan örneklerin hücresel ve işlevsel yapılarının incelenmesi için doku kesitlerinin mikroskopik olarak incelenmesini sağlayan biyolojinin alt dalıdır. Histoloji, kapsamlı incelemede kolayca fark edilmeyen hastalık belirtilerini tespit edebilir ve bu nedenle balık sağlığı kontrolünde kullanılan en önemli tekniklerden biridir. Bu teknikte dokular uygun fiksatif ile fikse edilir ve parafine gömülüp bloklanır. Parafinle bloklanan doku uygun kalınlıkta kesilir, parafin preperattan uzaklaştırılır, amaca uygun boyalarla boyanarak incelemeye hazır hale getirilir (Luna, 1968).

Yaşam alanı, beslenme şekli, besin kalitesi, hastalık, uygulanan tedavi yöntemleri ve çevresel faktörler gibi etkenler balıkların dokularında histolojik değişimler meydana getirebilmektedir. Bu histolojik değişimi belirlemek için canlıların karaciğer, böbrek, dalak, solungaç, deri ve bağırsak dokuları balıklarda en çok incelenen hayati organlardır. Akuatik sistemlerde balıklar toksik maddeyi solungaçları yardımıyla vücutlarına almaktadır. Bundan dolayı genellikle en çok etkilenen organ solungaçlar olmaktadır. Solungaçlar bir çok toksik maddelerin canlılar üzerine etkisini belirlemede indikatör organ olarak kullanılmıştır (Marinovic vd., 2021)

1.2.2.4. Kan Parametreleri

Biyokimyasal özellikler balıkların hücresel işleyişi ve metabolik aktivitesindeki değişiklikleri gösteren önemli fizyolojik parametrelerdir. Bu parametrelerdeki değişimler kirleticinin etkilerini ve ekosistemdeki bozulma

mekanizmalarını gösterir (Montanha vd., 2014).

Kan, canlılar üzerindeki toksikolojik etkiyi incelemek için önemli bir profil ortaya koyar. Genellikle stres ve çeşitli çevresel faktörler nedeniyle farklı kan parametreleri değişime uğrayabilir. Kan parametrelerindeki bu değişim toksik maddelerin doğası ile ilişkilendirilebilir.

Kan parametre değerleri üzerine yapılan çalışmalarda daha çok beyaz kan hücreleri (WBC), eritrosit (RBC), hemoglobin (HGB), ortalama eritrosit hacmi (MCV), akyuvarlar başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) gibi parametreler çalışılmış ve bu değerler üzerindeki değişimler yorumlanmıştır (Sahiti vd., 2018; Yajı vd., 2018).

1.3. Literatür Özeti

İnşaat ve yapı malzemeleri sektörünün en temel bileşeni olan çimentonun dünyadaki yıllık tüketimi 5 milyar ton civarındadır ve insanlığın ulaşım, enerji, sulama, barınma gibi ihtiyaçlarının her geçen gün artmasıyla bu tüketim yıldan yıla daha da artmaktadır. Özellikle sucul ekosistem üzerinde inşa edilen HES'ler, barajlar, istinat duvarları, köprüler başta olmak üzere birçok yapı doğal su kaynaklarına çimento bulaşmasını kaçınılmaz kılmaktadır. Hatta sucul sisteme uzak olan beton yapıların bile çimento atıkları yağmur suları ve kanalizasyon sistemleri ile nihai olarak yine sucul ekosistemlere bulaşmaktadır. Bulaşma riski bu kadar yüksek bir kirleticinin, su ve sucul canlılar üzerine olumsuz etkisini araştırma konusu yapmak kaçınılmaz olmaktadır.

Samis (1983), yapmış olduğu çalışmada, Kanada'daki Wakefield Çayı'na karışmış olan çimentonun etkilerini belirlemek için, kontrollü şartlar altında Portland tipi çimentoyu tatlı su ile karıştırılarak 3,6 cm ve 0,48 gr ağırlığındaki gökkuşağı alabalık bireyleri (*Onchorhynchus mykiss*) üzerindeki toksik etkisini araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda 100 mg/L konsantrasyonundaki portland çimentosunun suyun pH değerini 10,5 in üzerine çıkarttığı, farklı konsantrasyonlarda uygulandığında alabalıklar için toksik olduğunu tespit etmiştir. pH değeri 9,7-9,8 olan çimentolu suda 24 saat teste tabi tutulan alabalık bireyleri %60 ının öldüğünü raporlayan Samis (1983), kontrol grubunu oluşturan alabalık bireylerinin ise yaşadıklarını ve normal göründüklerini ifade etmiştir.

Lee ve Hur (2005), çimentonun *Hypomesus olidus* balığında toksik etkilerini ve su kalitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada çimentonun 48, 72 ve 96. saatteki LC₅₀ konsantrasyonu sırasıyla yaklaşık olarak 123, 91 ve 59 mg/L olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca çimentonun, suyun pH, iletkenlik, alkalinite ve sertliğini ciddi şekilde artırdığını rapor etmişlerdir.

Adamu vd. (2008), yapmış oldukları çalışmada, portland çimentosunun, nil tilapia balığı bireylerinde (*Oreochromis niloticus*) toksik etkilerini araştırmış 96 saat sonundaki LC₅₀ değerini 41,21 mg/L olarak bulmuşlardır. Ayrıca çimentonun solungaç ve karaciğer dokuları üzerindeki toksisitesi ve histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Çimentonun bütün konsantrasyonunda solungaçlarda lamella tahribatı, epitel hiperplazi ve epitel hipertrofi gibi değişimler gözlemlenirken, karaciğer dokularında ise hepatik lezyonlar; hepatosit dejenerasyonu, yağ dejenerasyonu, hücre sitoplazmasının vakuolizasyonu ve hepatositlerin hipertrofisi gibi etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Kurtoğlu vd. (2016) yaptıkları çalışmada ise Sibirya mersin balığı (*Acipenser baerii*) ve gökkuşağı alabalığı bireylerinde (*Oncorhynchus mykiss*) çimentonun toksik etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada çimentonun gökkuşağı alabalığı ve Sibirya mersin balığı bireylerinde LC₅₀ değerlerini sırasıyla 440 ve 620 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Çimentodan kaynaklı toksikasyonda özellikle solungaçlarda hiperplazi, lameller fussion ve nekroz gibi ciddi patolojiler rapor edilmiştir. Ayrıca balıklarda yüzmede dengesizlik, su yüzeyinde yüzme ve gözlerde katarakt oluşumu bildirilmiştir.

Adamu vd., (2008), *Oreochromis niloticus* bireylerine 70 gün boyunca sublethal konsantrasyonda verdikleri çimentonun kan parametreleri üzerindeki değişimini incelemiş ve HCT, Hgb, WBC ve RBC oranlarında kontrol grubuna göre istatistiki olarak bir azalma olduğunu bulmuşlardır. Çalışmada ayrıca sudaki karbondioksit, ÇO, alkalinite ve pH değerlerinde kontrol grubuna göre farklılıklar gözlenmiş, sıcaklık açısından herhangi bir farklılık gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

Er vd. (2019), çimento ve çimentoya ilave edilen farklı özellikteki beton katkı maddelerinin gökkuşağı alabalığı bireylerindeki toksik etkilerini araştırmak için bir çalışma tasarlamışlardır. Çalışmada 440 mg/L konsantrasyonundaki çimento balıkların %5 ini, priz hızlandırıcı katılan çimento balıkların %20 sini, akışkanlaştırıcı katılan çimento balıkların %35 ini her iki katkı maddesi katılmış çimentonun ise

balıkların %45 ini öldürdüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca balıkların solungaç, karaciğer, böbrek ve dalak dokuları histopatolojik yönden incelenmiş kontrol grubuna göre ciddi farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

Çimentoda bağlayıcılık sağlayan SiO_2 , Al_2O_3 ve Fe_2O_3 gibi hidrolik özellikteki maddelerin sucul canlılar üzerine toksik etkileri inceleyen birçok çalışma vardır. Boran ve Şaffak (2020), çimento bileşenlerinden biri olan alüminyum oksit nano partikül hale getirilmiş halini 7-9 aylık zebra balığı bireyleri (*Danio rerio*) üzerinde toksik etkisini incelemiştir. Bu çalışmada LC_{50} değerini $130,19 \pm 5,59$ mg/l olarak hesaplamışlardır. Ayrıca kontrol grubuna kıyasla %21,8 oranında daha fazla DNA hasarı olduğunu rapor etmişlerdir. Vidya vd., (2016), çimentonun bir diğer bileşeni olan SiO_2 nanopartikülünün *Oreochromis mossambicus* balığı bireylerinde LC_{50} değerini 12 mg/L olarak hesaplamışlardır. Ayrıca aynı çalışmanın devamında solungaç, karaciğer ve beyin dokuları incelenmiş ciddi miktarda histopatolojik bulgulara rastlamışlardır (Vidya ve Chitra, 2018). Fe_2O_3 nanopartiküllerinin de *Pimephales promelas* balığı bireylerinde toksik etkisi incelenmiş ve LC_{50} değeri 22,5 mg/L olarak bulunmuştur.

Çimentoya bağlayıcılık özelliği kazandıran diğer bir malzeme grubu kalsiyum oksit (CaO) ve magnezyum oksit (MgO) gibi alkali özellikteki maddelerdir. CaO , su ürünlerinde özellikle havuzların dezenfeksiyonunda oldukça yaygın kullanılmasına rağmen sucul canlılar üzerinde oldukça toksik etki gösterdiği bilinmektedir (Rahanandeh ve Rahanandeh, 2020). MgO ise sucul sistemlerde antibakteriyel etki gösteren bir kimyasaldır ve akaryakıt boru hatlarının temizlenmesi, tanklarda çamur oluşumunun engellenmesi ve korozyona karşı kullanılan bir kimyasaldır (Park vd., 2006). Ghobadian vd. (2015), yaptıkları çalışmada zebra balığı larvalarında (*Danio rerio*) MgO nanopartiküllerinin 428 mg/L konsantrasyonunda 96 saat sonunda %50 ölüm gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir.

Çeşitli çimento türleri ile yapılan betonarme yapılardan çimento sızıntısının *D. magna* bireyleri üzerinde toksisitesi belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada, puzolanik katkı çimento ile yapılan beton sızıntısının %100 ölüm gerçekleştirdiğini, öğütülmüş yüksek fırın cürufu ve lős ilave edilmiş puzolanik çimento ile yapılan beton sızıntısının ise ölüme neden olmadığı rapor edilmiştir (Choi vd., 2013)

1.4. Tezin Amacı

Toksikoloji, toksik bir ajan ile biyolojik bir sistem arasındaki etkileşimden kaynaklanan zararlı etkileri, bu etkilerin ortaya çıkışını inceleyen multidisipliner bir bilimdir. Bu bilim kendi alanı içerisinde farklı isimlere sahip birçok alanı kapsamaktadır. Özellikle toksik maddelerin ekosistemlerde yaşayan organizmalar üzerindeki toksik etkilerini inceleyen ekotoksikoloji (veya çevresel toksikoloji) bu alt dallar içerisinde önem arz eden bir alandır (Hoffman vd., 2003). Toksikoloji, belirli maddelere maruz kalmanın güvenli koşullarının uygulanması yoluyla teknolojik ilerlemeye katkıda bulunabilir. Özellikle sucul sistemlerde yapılaşmanın sürdürülebilirliğini geliştirmek için, ekotoksikoloji inşaat sektöründe kullanılacak ürünlerle ilişkili çevresel riskin değerlendirilmesinde önemli bir katkı sağlayabilir. Bu amaçla ürünlerin potansiyel ekotoksitesinin liç testleri, ekotoksite testleri ve kimyasal analizler kullanılarak değerlendirilmesi gerekmektedir (Rodrigues vd., 2020).

Bu tez çalışmasında, betonarme yapıların temel bileşeni olan çimentonun sucul ekosistemde yaşayan organizmalar üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesi ve su kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Çalışmada sucul ekosistemi temsil eden, ekonomik değeri olan gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ve nil tilapia balığı (*Oreochromis niloticus*) ekolojik öneme sahip diğer balık türleri olan eğrez balığı (*Vimba vimba*) ve inci balığı (*Alburnus derjugini*) kullanılmıştır. Ayrıca omurgasız canlılar (*Daphnia magna* ve *Gammarus komareki*) üzerinde puzolanik çimentonun toksik etkileri araştırma konusu olmuştur. Puzolanik çimentonun sucul canlılar üzerindeki toksikasyonunun belirlenmesinde, LC₅₀ değerleri, hematolojik parametreler, enzim aktiviteleri, DNA hasarı ve histopatoloji gibi belirteçler kullanılarak toksikasyonun şiddetinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal

Çalışmada ticari bir işletmeden satın alınan CEM IV/B sınıfında olan puzolanik çimento ürünü (Oyak Çimento) kullanılmıştır (Şekil 8). Puzolan malzemeler kendi başlarına bağlayıcılık özelliği olmayan ancak kalsiyum hidroksit ile sulu ortamda yüksek bağlayıcılık özelliği olan maddelerdir. Puzolan malzemeler içerisinde özellikle silisli maddeler (SiO_2) ön planda yer almaktadır. Sucul sistemlerde daha sık kullanıldığı için bu çalışmada tercih edilmiştir. Kullanılan çimento içeriğinde %45-64 doğal klinker (%30 kil ve %70 kalker) ve %36-55 oranında puzolan maddeler bulunmaktadır. Bu bağlamda denemede kullanılan çimentonun içeriğinde ayrıca SiO_2 , CaO , Al_2O_3 , Fe_2O_3 maddeleri de bulunmaktadır.



Şekil 8. Çalışmada kullanılan puzolanik çimentonun genel görünümü

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Organizmalar

Deneme için sucul omurgasızlardan olan *Gammarus komareki* ve *Daphnia magna* türleri kullanılmıştır. *G. komareki* Türkiye'nin Rize İli İyidere ilçe sınırlarında yer alan İyidere sucul sisteminden 100 mikron göz açıklıklı akvaryum kepçesi

yardımıyla toplanmıştır. *D. magna* ise ticari bir işletmeden temin edilmiştir. *D. magna* kistleri 50 litrelik bir akvaryum içerisinde açılmaya bırakılmış ve açılma sonrasında ticari yem ile beslemeye tabi tutulmuştur. *G. komareki* bireyleri ise deneme öncesinde iki gün havalandırmaya tabi tutulan bir tankta tutulmuş ve adaptasyonları sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan gökkuşağı alabalığı bireyleri (*Oncorhynchus mykiss*) (yumurta, alev, fry ve balık) ve nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi İyidere Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan doğal balık türleri olan eğrez balığı (*Vimba vimba*) ve İnci balığı (*Alburnus derjugini*) ise Kürtün Baraj Gölü'nden (Gümüşhane/Kürtün) kepçe yardımıyla yakalanarak denemenin yapılacağı laboratuvara canlı olarak getirilmiştir. Doğadan yakalanan balıklar deneme başlayana kadar en az 4 hafta süreyle laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmış ve iki günde bir olmak üzere ticari alabalık yemiyle beslenmiştir. Deneme için sağlıklı ve aynı boyda balıklar seçilmeye çalışılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Su Parametreleri

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan puzolanik çimento ve su karışımının sıcaklık, pH, iletkenlik, toplam çözünmüş madde (TDS) ve çözünmüş oksijen(ÇO) parametreleri çok parametrelili su kalite ölçüm cihazı (Hach, HQ40D) ile ölçülmüştür. Sudaki bulanıklık ise WTW, Turb 550 marka cihaz ile ölçülmüştür. Suyun sertliği Eriochrome Black T indikatörü nün EDTA ile titre edilmesiyle ölçülmüştür (APHA 2340 C, 1999). Askıda katı madde (AKM) ise suyun filtre kâğıtlarına süzülüp tartılmasıyla hesaplanmıştır (APHA 2540 D, 1999). Ölçümler çimentonun suya karışma anı ile 24 saat sonraki ölçümü yapılarak kayıt edilmiştir (Omer, 2019).

2.2.2. Deneme Ünitesi ve Deney Düzeni

Tez çalışmasının gerçekleştirilebilmesi amacıyla gökkuşağı alabalığı bireyleri (*Oncorhynchus mykiss*) Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi İyidere Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan 70 litrelik, havalandırma sistemi monte edilmiş tanklarda tutulmuştur. Çimentonun çökmesini engellemek için filtresi çıkarılmış iç filtre motorları fiberglas tanklar içerisine yerleştirilmiştir (Şekil 9).

Balıklar toksisite deneyi başlamadan önce 24 saat süreyle aç bırakılmıştır. Pozolanik çimentonun 24 saat sonundaki toksik etkilerinin araştırılmasında statik deney ünitesi modeli oluşturulmuştur. Pozolanik çimentonun canlılar üzerinde toksik etkilerini belirleyebilmek için ön toksisite testler gerçekleştirildi ve her bir organizma için uygulanacak konsantrasyonlar belirlendi. Pozolanik çimentonun gökkuşığı alabalığı üzerindeki toksisitesini belirlemek için düşük sıcaklıkta (12 °C) 100, 150, 200, 250, 300, 350 ve 400 mg/L konsantrasyonlarda ve yüksek sıcaklıkta 120, 130, 140, 150 ve 160 mg/L konsantrasyonlarda statik deney ortamında çimentoya maruz bırakılmıştır. Ölümün pH kaynaklı olup olmadığını anlamak için yüksek sıcaklıktaki (18 °C) gökkuşığı alabalığı grubu denemelerinde çimento içermeyen suyun pH değeri NaOH ile balıkların %60 ını öldüren çimento grubunun pH seviyesine (pH:10, 32) kadar artırarak ilave bir grup oluşturulmuştur. Ayrıca balıkların hepsini öldüren konsantrasyondaki çimento grubunun pH sı HCl ile kontrol grubu seviyesine indirilerek (pH:6,98), çimentonun pH etkisi olmadan göstereceği toksisitenin belirlenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 9. Gökkuşığı alabalığının toksisite testlerinin gerçekleştirildiği tanklar

Puzolanik çimentonun, nil tilapia balığı, eğrez balığı ve inci balığı bireylerinde toksisitesini belirlemek için balıklar Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Toksikoloji Laboratuvarında 50 litrelik su hacmi olan cam akvaryumlara aktarılmıştır. Gökkuşáğı alabalığı bireylerinde kullanılan havalandırma ve çimentonun homojen dağılmasını sağlayan sistem bu akvaryumlarda da kurulmuştur (Şekil 10).

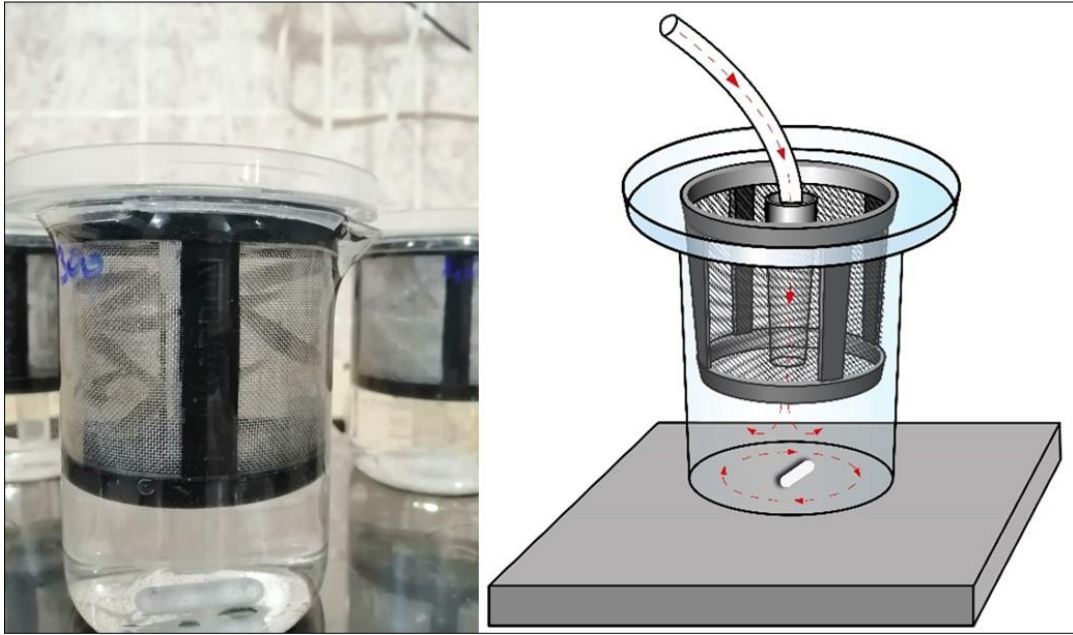
Puzolanik çimentonun nil tilapia bireyleri üzerindeki toksisite testlerini gerçekleştirmek için 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 mg/L konsantrasyonunda, eğrez balığı için 50, 100, 120, 140, 150, 200, 250, 300 ve 350 mg/L konsantrasyonunda ve inci balığı için ise 50, 100, 120, 140, 160, 180, 200 ve 220 mg/L konsantrasyonlarında deneme grupları oluşturulmuştur.



Şekil 10. Doğal balık türlerinin ve nil tilapia balığı bireylerinin toksisite testlerinin gerçekleştirildiğı akvaryumlar

Yumurta, alevin ve fry evrelerindeki gökkuşáğı alabalığı bireylerinde (*Oncorhynchus mykiss*) çimentonun toksisitesini belirlemek için 300 ml lik beher içerisinde kafes benzeri bir yapıyla canlıların askıda kalması sağlanmış ve altına manyetik bar konulmuştur. Bu sistem manyetik karıştırıcı üzerinde çalıştırılmış ve homojen dağılmayan çimentonun karışması sağlanmıştır. Kafesin ortasından bir pipet

geçirilerek içinden hava verilmek suretiyle suda karışan çimentonun kafes içindeki canlılara sürekli temas etmesi sağlanmıştır (Şekil 11). Her bir deneme için 20 şer adet canlı organizma kullanılmıştır ve çalışma 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Yumurta denemeleri için 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 ve 900 mg/L konsantrasyonunda, alevin bireyleri için 160, 200, 240, 280, 320, 360 ve 450 mg/L, frylar için ise 160, 200, 240, 280, 320, 360 ve 400 mg/L konsantrasyonlarında çimento ilave edilen gruplar kullanılmıştır.



Şekil 11. Omurgasız canlıların ve gökkuşağı alabalığı yumurta, alevin ve frylarının toksisite testlerinin gerçekleştirildiği sistem

Çimentonun omurgasız canlılar (*Daphnia magna* ve *Gammarus komareki*) üzerinde toksik etkilerinin araştırılması için 300 ml lik beherler kullanılmıştır. Her bir beher içerisine 10 adet *D. magna* ve *G. komareki* bireyleri yerleştirilmiştir ve deneme öncesinde yemleme durdurulmuştur. *D. magna* bireyleri mikroskopta incelenerek aynı büyüklükte olacak şekilde belirlenmiştir. Deneme için 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 ve 400 mg/L konsantrasyonunda çimento ilave edilen gruplar 3 tekerrür olacak şekilde tasarlanmıştır. *Gammarus komareki* bireylerinde ise 50, 100, 150, 200, 250 ve 300 mg/L konsantrasyonundaki çimento denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca *Gammarus komareki* bireyleri için pH değerine bağlı ölümleri belirleme amacıyla NaOH ilaveli bir diğer deneme grubu da oluşturulmuş ve pH değerinin 9,89 olması sağlanmıştır. *G. komareki* denemesi ise birey sayısındaki yetersizlik nedeniyle 2

tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir. Çimentonun dibe çökmesini engellemek için beher içerisinde bulunan su 50 rpm de manyetik karıştırıcı kullanılarak deneme süresince karıştırılmıştır. Denemede daha önce gerçekleştirilen ve bu tür denemeler için kullanımı tavsiye edilen ASTM hard water medium kullanılmıştır (11,76 gr Kalsiyum klorit, 4,93 gr Magnezyum sülfat, 2,59 gr Sodyum bi karbonat ve 0,23 gr Potasyum klorit/L). Her iki tür için de sadece ASTM medium içeren kontrol grupları da oluşturulmuştur. Deneme başlangıcında çimento ilavesi sonrası grupların pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Denemede 24 saatlik akut toksisite belirlenmeye çalışılmıştır. Deneme başlamadan en az 24 saat öncesi ve deneme süresince canlılara yemleme yapılmamıştır.

2.2.3. LC₅₀ Belirlenmesi

Toksisite testlerine tabi tutulan organizmalar, 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık olacak şekilde foto periyot döngüsü oluşturulmuştur. Balık ve omurgasız canlıların toksisite denemelerinde 10 adet birey kullanılırken, yumurta, alevin ve fry toksisite testlerinde 20 şer adet birey kullanılmıştır. Herbir canlı için uygulanan deneme şartları Tablo 3'te verilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda çimentoya maruz bırakılan test organizmalarındaki 24 saatlik ölüm oranları kaydedilmiştir. Çimentonun yarı öldürücü konsantrasyonu Behreus ve Karber'in (1953) yöntemiyle belirlenmiştir.

Tablo 3. Puzolanik çimentonun toksik etkisini belirlemek için kullanılan organizmalar ve deneme düzeneği

Tür	Ağırlık	t (°C)	Tekerrür	Birey sayısı
<i>D. magna</i>	-	19,8 ± 0,2	3	10
<i>G.komareki</i>	-	19,5 ± 0,3	2	10
<i>O. mykiss</i> (yumurta)	-	10,1 ± 0,3	3	20
<i>O. mykiss</i> (alevin)	-	10,4 ± 1,7	3	20
<i>O. mykiss</i> (fry)	-	11,9 ± 0,8	3	20
<i>O. mykiss</i>	25,1 ± 3,9	12,1 ± 1,5	3	10
<i>O. mykiss</i>	150,6 ± 4,4	18,2 ± 0,4	3	10
<i>O. niloticus</i>	34,8 ± 4,1	22,1	1	10
<i>A. derjugini</i>	7,3 ± 1,1	18,3 ± 0,4	2	10
<i>V. vimba</i>	23,3 ± 3,1	19,6 ± 0,9	2	10

2.2.4. DNA Hasarının Belirlenmesi

Puzolanik çimentonun sucul canlılarda genotoksisitesini belirlemek için gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve su piresinde (*Daphnia magna*) comet

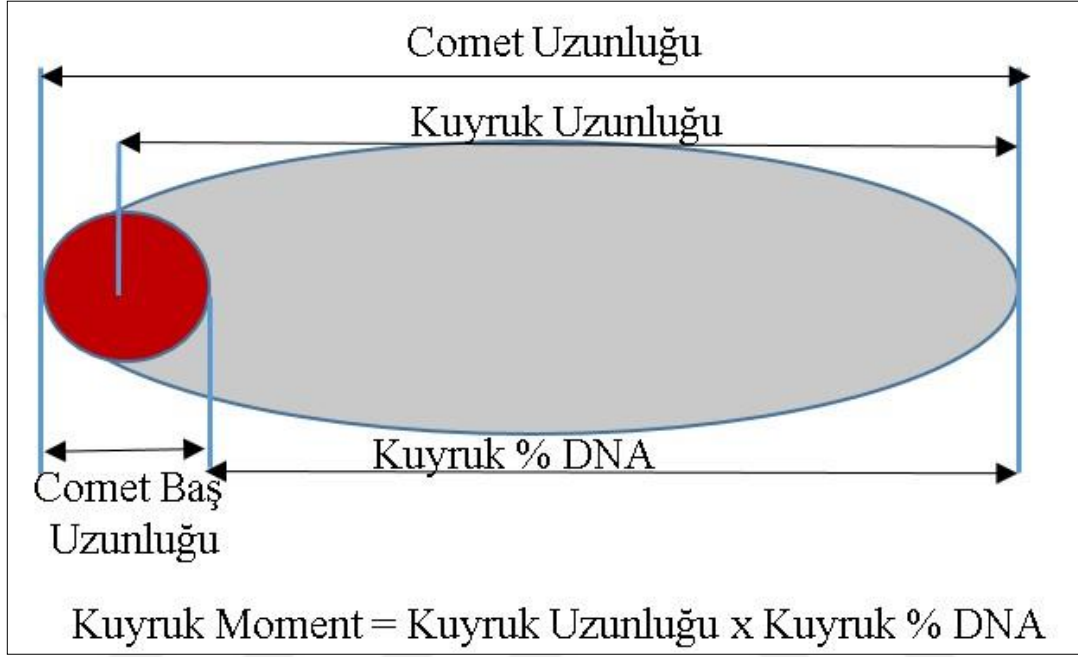
assay analizi yapılmıştır. *Daphnia magna* bireylerinde DNA hasarını belirlemek için 24 saatten daha genç olan toplam 100 neonat bireyi 75 mg/L konsantrasyonundaki çimentoya maruz bırakılmış ve 24 saat sonra DNA hasarını belirlemek için PBS içerisinde homojenize edilmiştir (hücre süspansiyonu). DNA hasarını belirlemek için ortalama 150 gr olan gökkuşağı alabalığı bireylerine 150 mg/L konsantrasyonunda çimento verilmiş ve 24 saat sonunda kaudal venadan alınan kandan DNA hasarı belirlenmeye çalışılmıştır. Alınan 10 µl kan PBS ile karıştırılarak (hücre süspansiyonu) Andrade (2004), Lee vd., (2009) ve Çapkın vd.,(2017) nın comet assay için oluşturdukları protokol uygulanarak yapılmıştır. Her bir deneme için hazırlanan prepatlara Hidrojen peroksit (H₂O₂) ile pozitif kontrol grubu oluşturulmuştur.

Her bir mikroskop lamı %1 lik agaroz jel ile kaplanmıştır (1. Tabaka). 10 µl hücre süspansiyonu ile 75 µl %0,5 lik düşük erime sıcaklığına sahip agaroz ile karıştırılarak 1. tabaka üzerine lamel yardımıyla yayılmıştır (2. Tabaka). +4 °C de soğutulduktan sonra lamel kaldırılıp yerine %5 lik düşük erime sıcaklığına sahip agaroz ile kaplanarak 3. tabaka oluşturulmuştur. Hazırlanan preparat Lysis solution ve Electrophoresis buffer serilerinden geçirildikten sonra Elektroforezde DNA'lar yürütülmüştür. Nötralizasyon işleminden sonra etidyum bromür ile boyanarak incelenmek üzere hazırlanmıştır. Ayrıca her bir deneme için hazırlanan prepatlara H₂O₂ ile yıkanarak pozitif kontrol oluşturulmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. DNA hasarını belirlemede işlem basamakları

Seriler	Serilerin İçerikleri	Maruziyet Süresi	Maruziyet Sıcaklığı
Lizis Solüsyonu	2.5M NaCl, 100mM Na ₂ EDTA, 10mM Tris, 200 mM NaOH, 10% DMSO ve 1% Triton, pH'ı 10	2 saat	+4 °C
Elektroforez Tamponu	300mM NaOH ve 1mM Na ₂ EDTA, pH'ı 13	20 dakika	+4 °C
Elektroforez	300 mAmp, 25V	30 dakika	+4 °C
Nötralizasyon Tamponu	0,4M trizma base pH'ı 7,4	10 dakika	+4 °C
Etidyum Bromür	0,5 µg/ml Etidyum Bromür	10 dakika	+4 °C

Toplamda 100 DNA 510–560 nm bariyer filtreli florasen mikroskop ile 400 x büyütmeyle görüntülenmiştir. Görüntüler Comet Score Pro Automatic Comet Assay Software programıyla olive kuyruk momenti ve Kuyruk %DNA ölçümleri değerlendirilerek kontrol grubu ile istatistiksel olarak kıyaslama yapılmıştır (Şekil 12).



Şekil 12. DNA hasarını belirlemede kullanılan ölçüm parametreleri

2.2.5. Hematolojik Değerlerin Belirlenmesi

Puzolanik çimentonun gökkuşağı alabalığı bireylerindeki hematolojik değişimini belirlemek için ortalama 150,6 gr olan gökkuşağı alabalığı bireyleri 3 farklı konsantrasyona (Kontrol, 100, 150, 200 mg/L) tabi tutulmuştur. Her bir deneme grubundan 10'ar adet balıktan 24 saatin sonunda kaudal venalarından 2,5 ml lik heparinize şırıngalar kullanılarak kan alınmıştır. Balıklardan alınan kan mor kapaklı EDTA'lı tüplere konulmuş ve zaman geçirilmeden Prokan-6800VET marka kan sayım cihazı ile beyaz kan küresi (WBC), eritrosit (RBC), hemoglobin (HGB), ortalama eritrosit hacmi (MCV), akyuvarların başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) gibi parametreler çalışılmıştır (Şekil 13). Çalışma 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 13. Kan sayım cihazının genel görünümü

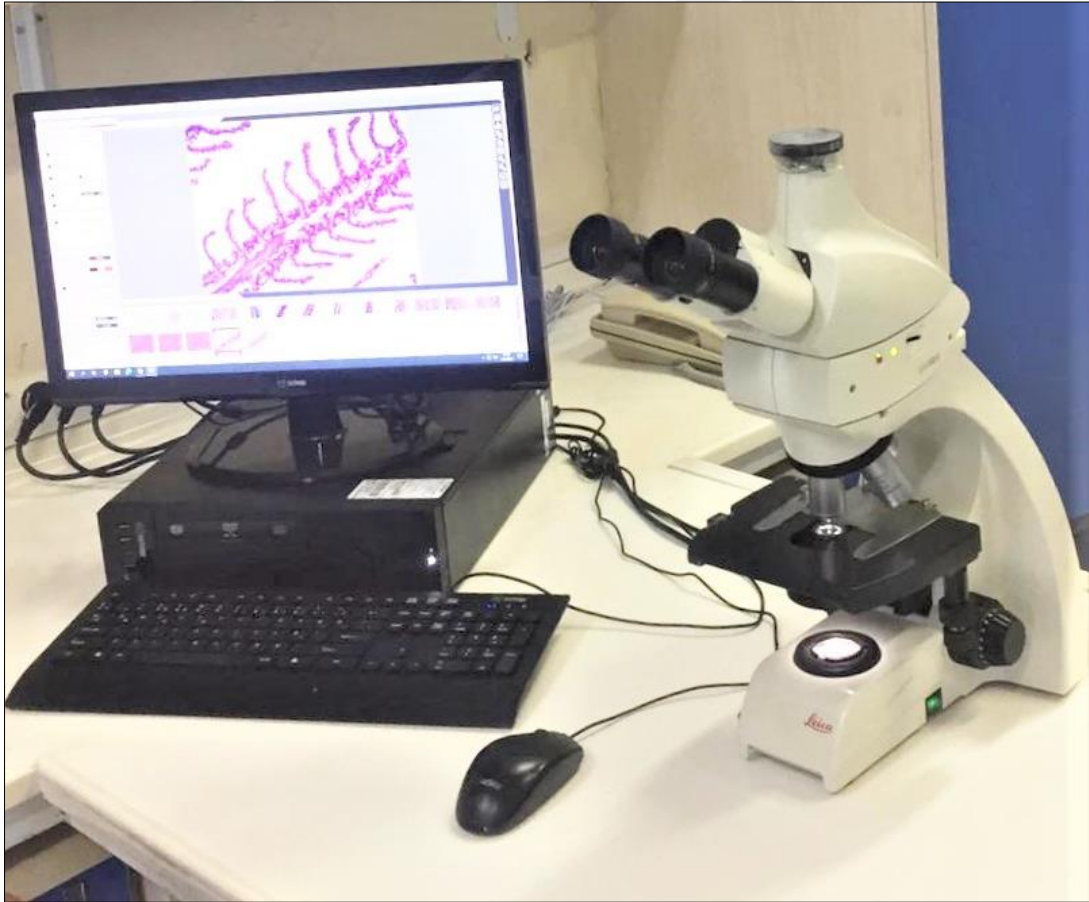
2.2.6. Enzim Değerlerinin Belirlenmesi

Enzim aktivitelerini belirlemek için gökkuşağı alabalığı bireylerine 2 farklı konsantrasyonda puzolanik çimentoya (kontrol, 100, 150 mg/L) maruz bırakılmıştır. Çalışmada 150,6 gr ağırlığında gökkuşağı alabalığı bireyleri kullanılmıştır. Çalışmada her grubu temsilen 10 ar adet balık kullanılmıştır. 24 saatin sonunda balıkların kaudal venalarından 2,5 ml lik heparinize şırınga yardımıyla kan alınmış ve sarı kapaklı kan alma tüpünde 5000 rpm’de 10 dk santrifüj edildikten sonra serum kısmı -80 °C’de stoklanmıştır. Serum örnekleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında, Beckman Coulter (AU5800) cihazıyla kitler kullanılarak AST (Aspartat Aminotransferaz), ALT (Alanin Aminotransferaz) ALP (Alkalen Fosfataz), LDH (Laktat Dehidrogenaz) ve CRE (Kreatinin-Kinaz) enzimlerinin analizleri yapılmıştır.

2.2.7. Histopatolojik Çalışmalar

Puzolanik çimentonun gökkuşağı alabalığı bireylerinin solungaçlarında meydana getirebileceği patolojilerin tespiti amacıyla histolojik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. 12 °C’de 25,1±3,9 gr ortalama ağırlığındaki balıklar, 100, 150, 200 ve 250 mg/L konsantrasyonlarda çimentoya maruz bırakılmıştır. Balıkların solungaç dokularındaki histolojik değişimler kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Balıklar denemenin başlangıcından 24 saat sonra benzokain ile bayıltılıp karın kısımları kesilerek bütün olarak %10’luk nötral buffer

formaline alınmışlardır. 24-48 saat sonra örnekler %50'lik etil alkole aktarılmışlardır. Balıkların solungaçlarında bulunan en dıştaki solungaç yayı yanlış değerlendirmeye sebebiyet vereceğinden çıkarılarak diğer solungaç dokuları kesilerek 24 saat akan suya tabii tutulmuşlardır. Daha sonra %80 den %100 e kadar alkol serileri ve ksilenden geçirilmiş ve sıvı parafin içerisinde 65°C'de bir gece bekletilen dokular parafin ile bloklanmışlardır. 0,5 µm kalınlığında mikrotom yardımıyla kesilen dokular lam üzerine yapıştırılmış ve 65 °C'de bir gece bekletilerek parafinin uzaklaşması sağlanmış, ardından ksilen ve alkol serilerinden geçirilerek hematoksilin ve eozin ile boyanmış tekrardan ksilen serilerinden geçirilmiştir. Boyanan doku kesitleri daha sonra preparatlar dokunun inceleme sırasında tahribatını engellemek amacıyla sentetik reçine yapısında olan entellan ile kaplanmıştır (Luna, 1968). Hazırlanan doku prepratları Leica ICC 50 model kameralı mikroskop yardımıyla görüntülenmiş ve bulgular kaydedilmiştir (Şekil 14).



Şekil 14. Histopatolojik bulguların görüntülenmesi

2.2.8. İstatistiksel Analiz

Puzolanik çimentonun sucul canlılarda 24 saat sonundaki etkilerini belirlemek için kan, enzim ve DNA hasarlarının gibi veriler toplanılmış ve bu veriler IBM SPSS Statistics 25 software programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. Puzolanik çimentonun sucul canlılarda 24 saatteki LC₅₀ değeri %95 güven aralığında probit analiz kullanılarak hesaplanmıştır. Data setlerindeki normal dağılım Shapiro-Wilk testi ile analiz edilmiştir. Normal dağılım gözlenen veriler için parametrik istatistiksel analizler uygulanmıştır. Bu kapsamda DNA hasarı, kan parametrelerindeki değişim ve enzim değerleri One-way ANOVA ile analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar ise varyansların homojenliğine bağlı olarak Tukey veya Tamhane T2 Post-Hoc testi ile belirlenmiştir.

3. BULGULAR

Puzolanik çimentonun sucul canlılar üzerinde toksik etkilerini belirlenmesi amacıyla omurgasız canlılar (*Daphnia magna* ve *Gammarus komareki*) ve ekonomik ve ekolojik değere sahip balık türleri (*Oncorhynchus mykiss*, *Vimba vimba*, *Alburnus derjugini*, *Oreochromis niloticus*) kullanılmıştır. Bu kapsamda puzolanik çimentonun sucul organizmalar üzerindeki LC₅₀ değeri, DNA hasarı, kan parametrelerindeki değişimi, bazı enzim aktivitelerinde değişim olup olmayacağı belirlenmeye çalışılmıştır. Puzolanik çimentonun su kalitesine etkisini belirlenebilmesi amacıyla farklı konsantrasyonlardaki puzolanik çimentonun suya karıştığında pH, sıcaklık, TDS, ÇO, bulanıklılık, AKM, sertlik ve iletkenlik gibi parametreler üzerine nasıl bir etki gösterdiği belirlenmiştir.

3.1. Su Parametrelerindeki Değişim

Puzolanik çimentonun su kalite parametrelerindeki değişimi belirlemek amacıyla, 100, 200, 300, 400 ve 500 mg/L konsantrasyonlarda ilave edilen suların pH, sıcaklık, ÇO, iletkenlik, TDS, sertlik, bulanıklılık, AKM ve turbidite gibi değerleri ölçülmüştür. Çimento ilave edilen gruplarda pH değerinin konsantrasyon artışına paralel şekilde bir artış gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,01$). Bununla birlikte 24 saat sonunda pH değerlerinde yaklaşık 1 değerlik bir düşüş tespit edilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda suya ilave edilen puzolanik çimentonun sudaki bulanıklılık ve AKM değerleri ilk karışma anında konsantrasyon artışına bağlı artış göstermiştir. Çimento malzemesi suda dibe çökme ve birbirine bağlanma özelliğinden dolayı kullanılan özel düzenek ile bu durum aşılmaya çalışılmış ve sudaki bulanıklılık ve AKM değerlerinde 24 saatin sonunda istatistiksel olarak fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Puzolanik çimentonun suya karışan bütün konsantrasyonlarında sıcaklık, ÇO ve sertlik değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). Farklı konsantrasyonlardan oluşan gruplardaki su parametre değerleri Tablo 5’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 5. Farklı konsantrasyonlardaki puzolanik çimentonun bazı su parametreleri üzerindeki değişimi

Su parametreleri		Kontrol	100mg/L	200mg/L	300mg/L	400mg / L	500mg/L
pH	0.saat	7,56±0,09 ^{Aa}	9,31±0,09 ^{Ab}	10,2±0,08 ^{Ac}	10,4±0,04 ^{Ad}	10,5±0,02 ^{Ae}	10,7±0,03 ^{Af}
	24.saat*	7,97±0,13 ^{Ba}	8,28±0,05 ^{Bb}	9,08±0,02 ^{Bc}	9,26±0,04 ^{Bd}	9,48±0,12 ^{Be}	9,67±0,05 ^{Bf}
	24.saat**	7,91±0,05 ^{Ba}	8,26±0,05 ^{Bb}	8,97±0,03 ^{Cc}	9,23±0,33 ^{Bd}	9,49±0,13 ^{Be}	9,65±0,13 ^{Bf}
t (°C)	0.saat	19±0,10	18,96±0,15	19,1±0,15	19,0±0,11	19,0±0,05	19,1±0,1
	24.saat*	19,2±0,10	19,16±0,05	19,2±0,1	19,2±0,05	19,2±0,15	19,2±0,1
	24.saat**	19,1±0,15	19,06±0,15	19,1±0,2	19,1±0,1	19,2±0,11	19,2±0,05
Çözünmüş Oksijen(mg/L)	0.saat	8,53±0,09	8,56±0,04	8,54±0,02	8,56±0,03	8,51±0,13	8,52±0,11
	24.saat	8,66±0,11	8,52±0,04	8,53±0,08	8,57±0,04	8,53±0,05	8,56±0,03
	24.saat**	8,61±0,05	8,54±0,06	8,56±0,05	8,58±0,03	8,59±0,07	8,59±0,03
İletkenlik (mS/cm)	0.saat	88,6±4,6 ^a	132,6±5,7 ^{Ab}	214,0±8,6 ^c	240,6±13 ^d	268,0±6,3 ^e	361,3±8,9 ^f
	24.saat*	91,6±1,7 ^a	122,6±7,3 ^{ABb}	197,3±7,9 ^c	225,3±7,8 ^d	264,3±4,1 ^e	357,6±9,5 ^f
	24.saat**	87,0±5,3 ^a	113,0±4,6 ^{Bb}	195,3±13 ^c	220,8±7,1 ^d	256,1±6,6 ^e	348,3±6,6 ^f
TDS (mg/L)	0.saat	42,1±2,7 ^a	63,0±3,3 ^b	101,7±5 ^c	114,3±6,1 ^d	127,1±5,3 ^e	171,5±5 ^f
	24.saat*	43,6±0,9 ^a	58,3±4,3 ^b	93,30±4 ^c	105,2±3,2 ^d	125,4±6,3 ^e	169,9±5,7 ^f
	24.saat**	42,4±2,5 ^a	60,9±2,8 ^b	94,50±4,6 ^c	107,5±5,7 ^d	119,5±7,9 ^d	166,1±9,6 ^f
Bulanıklılık. (NTU)	0.saat	3,21±0,4 ^a	75,51±7,3 ^{Ab}	135,2±6,3 ^{Ac}	276,7±9,3 ^{Ad}	391,3±7,8 ^{Ae}	430,2±19,6 ^{Af}
	24.saat	3,11±0,13 ^a	74,53±7,1 ^{Ab}	123,5±7,1 ^{Ac}	268,9±16 ^{Ad}	376,2±14 ^{Ae}	415,6±8,8 ^{Af}
	24.saat**	3,14±0,08 ^a	4,65±0,46 ^{Bb}	8,26±0,51 ^{Bc}	10,23±0,5 ^{Bd}	12,3±0,68 ^{Be}	13,43±0,47 ^{Bf}
AKM(mg/L)	0.saat	12,0±2 ^a	92,0±7 ^{Ab}	187,0±3 ^{Ac}	293,0±7,1 ^{Ad}	387,0±8,7 ^{Ae}	474±11 ^{Af}
	24.saat*	12,0±1,5 ^a	81,5±5,5 ^{Ab}	173,5±2,5 ^{Bc}	279,5±8,0 ^{Ad}	373,3±5,0 ^{Ae}	463±8,1 ^{Af}
	24.saat**	12,2±2 ^a	16,7±1,5 ^{Bb}	20,70±2,1 ^{Cc}	24,30±1,5 ^{Bd}	28,30±2,5 ^{Be}	31,6±3,5 ^{Bf}
Toplam Sertlik (CaCO ₃)	0.saat	124,5±3,8	125,2±6,9	122,5±5,1	123,3±5,8	121,2±4,3	121,3±2,9
	24.saat*	121,7±4,6	123,3±3,9	122,8±2,1	123,1±4,3	123,6±3,3	123,5±4,5
	24.saat**	123,1±2,2	120,6±3,4	124,7±1,5	119,9±4,1	120,2±4,1	124,1±3,7

*puzolanik çimento ilavesi sonrası düzenek ile 24 saat boyunca karıştırılan grup

** puzolanik çimento ilavesi sonrası karıştırılmayan grup

Büyük Harf: Zamana bağlı istatistiksel farklılıklar

Küçük Harf: Artan konsantrasyona bağlı istatistiksel farklılıklar

3.2. Lethal Konsantrasyon (LC₅₀) Değerlerinin Belirlenmesi ve pH Ölüm İlişkisi

Puzolanik çimentonun sucul organizmalardaki 24 saatin sonundaki LC₅₀ değerini belirlemek için farklı konsantrasyonlarda çimento uygulaması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda omurgasız canlı grubundaki *D. magna* türünde LC₅₀ değeri 24 saatte 118,57 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu değer *G. komareki* bireyleri için ise 197,24 mg/L olarak hesaplanmıştır. Balık türlerinde ise gökkuşağı alabalığı bireylerinde 12 ve 18 °C deki iki farklı sıcaklıkta sırasıyla 133,8 ve 263,8 mg/L, nil tilapia balığında 307 mg/L, inci balığında 160 mg/L ve eğrez balığında ise 130,7 mg/L olarak bulunmuştur. Gökkuşağı alabalığı yumurta, alevin ve frylarında LC₅₀ değerleri sırasıyla 499, 324,6 ve 361,2 mg/L olarak hesaplanmıştır. Puzolanik çimentonun denemede kullanılan organizmalar için LC₅₀ değerleri ayrıntılı olarak Tablo 6’da verilmiştir.

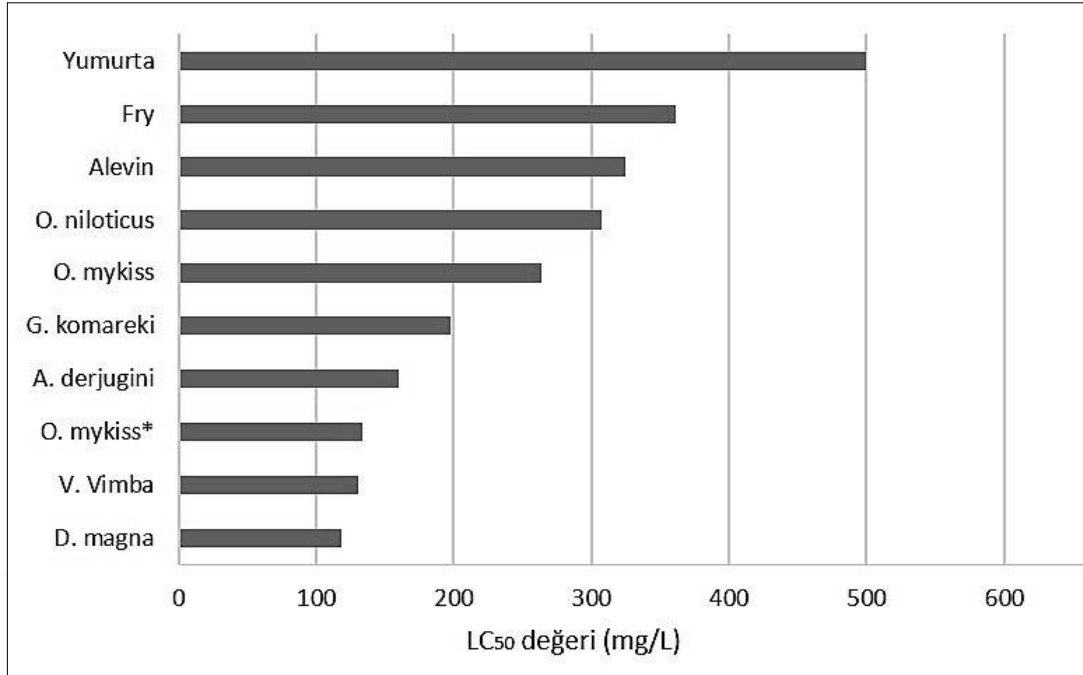
Deneme sonunda puzolanik çimentoya en dayanıklı canlının gökkuşağı alabalığı yumurtası olduğu, en hassas olan türün ise *D. magna* bireylerinin olduğu gözlenmiştir (Şekil 15).

Tablo 6. Puzolanik çimentonun farklı canlılardaki LC₅₀ değerleri

Canlı Grupları	LC ₅₀ (mg/L)	Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (yumurta)	499,067	453,466	552,518
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (alevin)	324,664	271,164	397,246
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (fry)	361,266	343,579	386,729
<i>Oncorhynchus mykiss</i> *	263,856	245,706	287,17
<i>Oncorhynchus mykiss</i> **	133,864	127,058	139,471
<i>Oreochromis niloticus</i>	307,014	-	-
<i>Vimba vimba</i>	130,768	121,745	139,259
<i>Alburnus derugini</i>	160,016	140,791	181,082
<i>Daphnia. magna</i>	118,339	99,051	136,73
<i>Gammarus komareki</i>	197,391	171,601	229,446

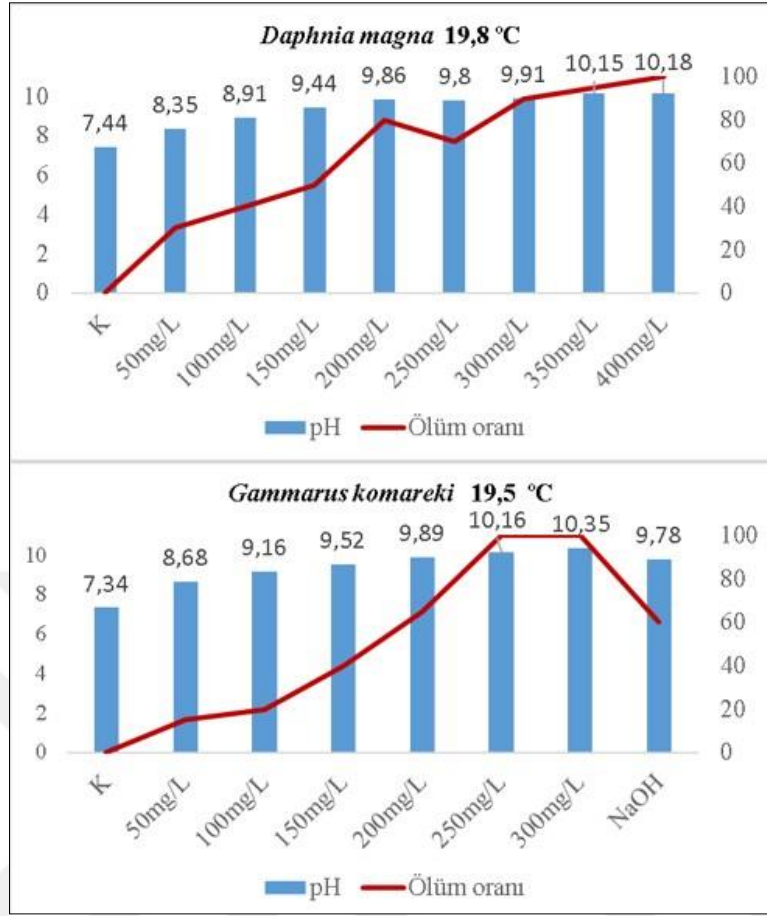
(*) Deneme su sıcaklığı 12,1 °C, (**) Deneme su sıcaklığı (18 °C)

Herbir denemede pH ölçümü yapılmış ve denemede kullanılan organizmaların ölümü ile pH değerleri arasındaki ilişki değerlendirilmeye çalışılmıştır. Çimentonun düşük sıcaklıkta gökkuşağı alabalığı bireylerinin tamamını öldürdüğü pH değeri 10,38 iken, yüksek sıcaklıkta ise bu değer 10,32 olarak ölçülmüştür. Düşük sıcaklıktaki gökkuşağı alabalığı grubu bu pH değerine 300 mg/L konsantrasyonundaki çimento ile ulaşırken yüksek sıcaklıktaki deneme grubunda bu pH değerine 140 mg/L konsantrasyonunda ulaşmıştır.

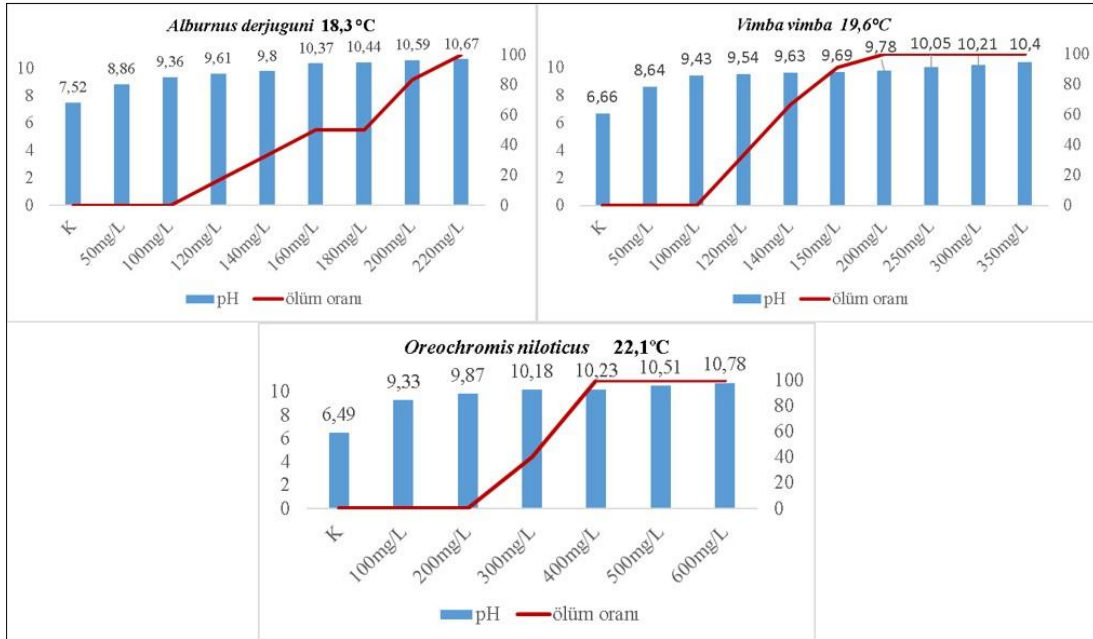


Şekil 15. Sucul organizmaların puzolanik çimentoya gösterdikleri hassasiyet (LC₅₀ değerleri) (*) deneme su sıcaklığı (18°C)

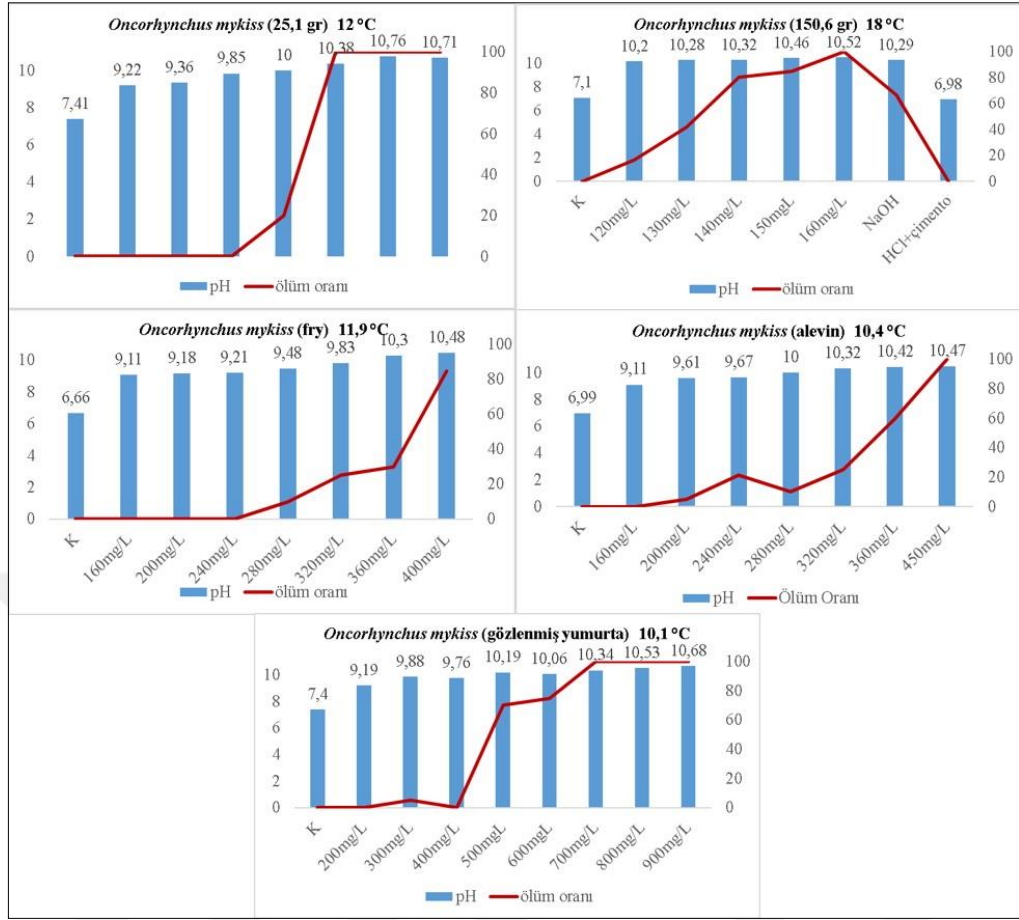
Gammarus komareki bireylerinin NaOH grubundaki (pH 9,89) ölüm oranı %60 olarak gözlenmiştir. Bu değerin 200 mg/L konsantrasyonundaki ve pH değeri 9,78 olan gruptaki ölümler ile aynı paralellikte olduğu gözlemlenmiştir. Omurgasız su canlılarının pH ile ölüm ilişkisi ayrıntılı olarak Şekil 16'da verilmiştir. 140 mg/L konsantrasyonunda uygulanan çimento grubundaki ölüm oranı ile NaOH ile aynı 140mg/L konsantrasyonunda uygulanan çimento grubu ile benzer pH seviyesine getirilen deneme gruplarındaki ölüm oranlarının benzer çıktığı gözlemlenmiştir. Gökkuşığı alabalığı denemelerinde balıkların hepsini öldüren 200 mg/L konsantrasyonundaki çimento bir akvaryuma konulmuş ve suyun pH sı 10,61'e yükselmiştir. Devamında akvaryum suyunun pH si HCl ile 6,98 değerine ayarlanmış ve balıklar çimento ve HCl karışımı bulunan deneme tankına konulmuştur. 24 saat gerçekleşen bu denemede hiçbir ölüm gerçekleşmemiştir. Çimento uygulanan tüm canlı gruplarının ve gökkuşığı alabalığı yaşam evrelerinin konsantrasyona bağlı pH değerleri ve ölüm oranları Şekil 17 ve 18'de verilmiştir.



Şekil 16. Omurgasız canlılar üzerine uygulanan puzolanik çimentonun konsantrasyonuna bağlı değişen pH ve ölüm oranları



Şekil 17. Doğal balık türlerine ve nil tilapia balığı bireylerine uygulanan puzolanik çimentonun konsantrasyonuna bağlı değişen pH ve ölüm oranları

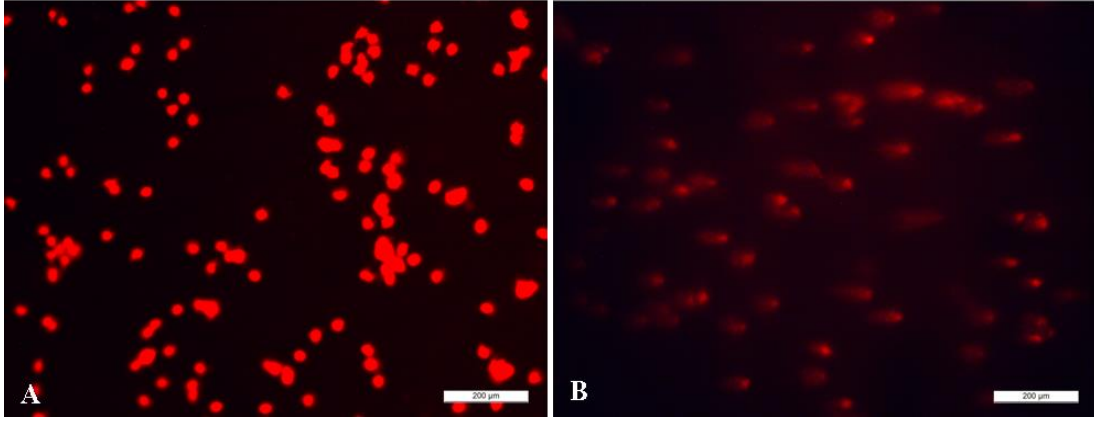


Şekil 18. Alabalığın farklı evrelerinde uygulanan puzolanik çimentonun konsantrasyonuna bağlı değişen pH ve ölüm oranları

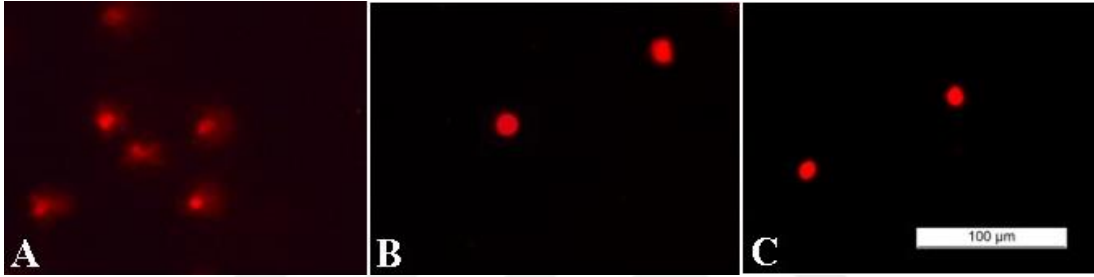
Puzolanik çimentonun 18-22 °C’lerdeki uygulanan denemelerde canlıların duyarlılık seviyeri farklılık göstermiştir. G. komareki bireyleri en dirençli olan organizmalar iken en hassas olan tür ise *D. magna* bireyleri olduğu görülmüştür. Puzolanik çimentonun etkilediği diğer organizmalar ise dayanıklılık durumuna göre sırasıyla, *A. derjugini*, *O. mykiss* ve *V. vimba* bireyleridir.

3.3. DNA Hasarının Belirlenmesi

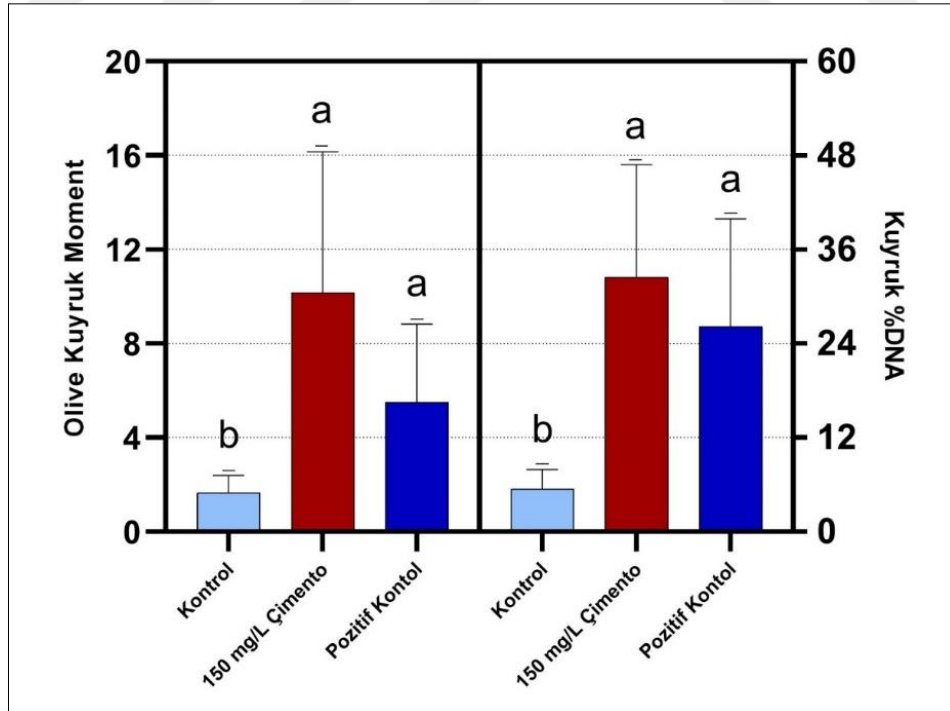
Bu tez çalışmasında puzolanik çimentonun DNA hasarı oluşturup oluşturmadığını belirlemek için gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve omurgasız canlıları temsilen ise su piresi (*D. magna*) bireylerine Comet Assay testi yapılmıştır (Şekil 19, 20). Gökkuşağı alabalık denemesinde olive kuyruk momenti ve kuyruk %DNA değerlerinde kontrol grubuna göre farklılıklar gözlemlenirken ($p < 0,01$) (Şekil 21), *Daphnia magna* bireylerinde ise olive kuyruk momenti ve Kuyruk %DNA değerlerinde kontrol grubuna göre farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,01$) (Şekil 22).



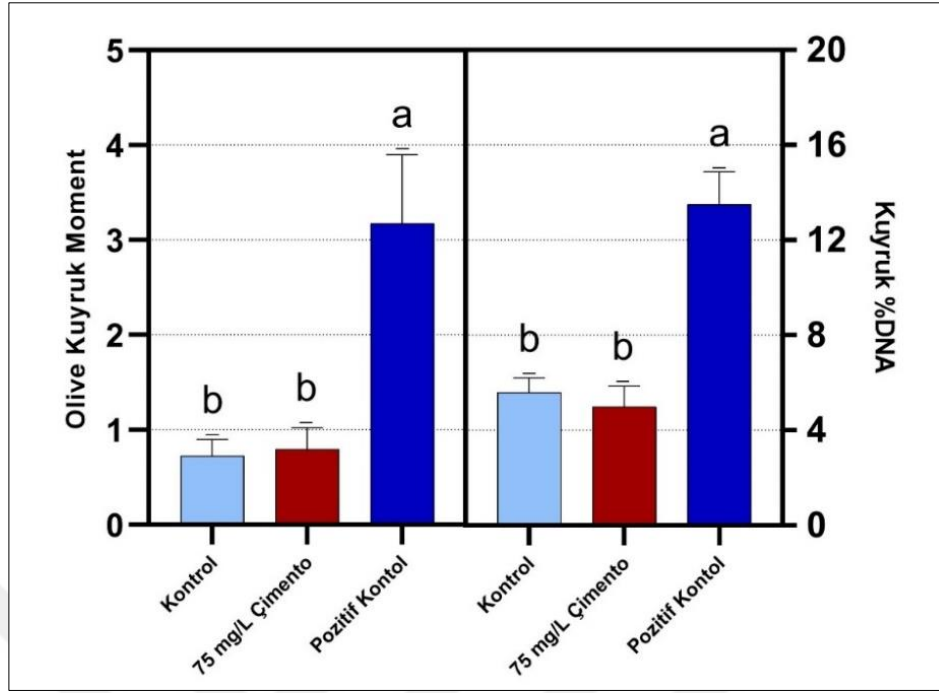
Şekil 19. Puzolanik çimento uygulanan gökkuşağı alabalığı bireylerinde comet assay görüntüsü. (A) Kontrol, (B) Deney grubu.



Şekil 20. Puzolanik çimento uygulanan *daphnia magna* bireylerinde comet assay görüntüsü. (A) Pozitif Kontrol, (B) Kontrol(C) Deney grubu.



Şekil 21. Gökkuşağı alabalığı bireylerinde DNA hasarının belirlenmesi



Şekil 22. *Daphnia magna* bireylerinde DNA hasarının belirlenmesi.

3.4. Kan Parametrelerindeki Değişim

Puzolanik çimentonun gökkuşağı alabalığı bireylerinde toksik etkilerini belirlemek için üç farklı konsantrasyona tabi tutulan balıklardan 24 saat sonunda kan örnekleri alınmış ve otomatik kan sayım cihazı ile ölçümler yapılmıştır. Hgb, MCH, MCHC ve Lymphocyte % değerlerinde kontrol grubuna kıyasla azalışlar görülmüştür ($p < 0,05$). *Granülosit* % sinde ise 200 mg/L konsantrasyonundaki deneme grubu diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p < 0,01$). Kan parametrelerindeki istatistiksel farklar Tablo 7’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 7. Farklı konsantrasyonlarda puzolanik çimentoya maruz kalmış gökkuşağı alabalığı bireylerinin bazı kan parametrelerindeki değişim

Hematolojik parametreler	Kontrol	100mg/L	150mg/L	200mg/L	p	F
RBC($10^6/\mu\text{l}$)	1,45±0,15	1,4±0,16	1,47±0,22	1,4±0,08	0,857	0,255
Hgb (g/dL)	16,64±1,78 ^a	15,09±1,8 ^{ab}	14,89±2,34 ^{ab}	13±0,79 ^b	0,045	3,807
MCV(fL)	164,87±7,58	169,69±5,69	165±6,1	161,1±0,3	0,192	1,712
MCH(pg)	107,65±6,8 ^a	107,32±3,79 ^a	101,22±3,09 ^b	92,8±1,42 ^c	0,002	9,796
MCHC(g/dL)	65,54±3,60 ^a	63,42±3,38 ^a	61,51±1,46 ^a	57,7±0,96 ^b	0,003	6,319
WBC($10^3/\mu\text{l}$)	44,82±4,7	41,47±4,46	41,67±4,48	42,90±4,86	0,902	0,455
<i>Granülosit</i> (%)	3,10±0,34 ^a	2,96±0,2 ^a	3,14±0,41 ^a	5,73±1,27 ^b	0,001	26,55
Lymphocyte (%)	92,61±0,98 ^a	92,80±0,58 ^a	92,32±1,27 ^a	89,36±2,4 ^b	0,002	6,742
Monocyte (%)	4,2±0,51	4,3±0,46	4,54±0,89	4,9±1,14	0,877	0,467

3.5. Enzim Aktivitelerindeki Değişim

100 ve 150 mg/L konsantrasyonlarda puzolanik çimento ile oluşturulan deney grupları ve kontrol gruplarındaki canlıların AST (Aspartat Aminotransferaz), ALT (Alanin Aminotransferaz) ALP (Alkalen Fosfataz), LDH (Laktat Dehidrogenaz) ve CRE (Kreatinin) enzimlerinin değerleri kıyaslanmıştır. CRE ve LDH enzimlerinde çimentonun konsantrasyon artışına paralel olarak artış gözlemlenirken, AST enziminde doğru orantılı düşüş gözlenmiştir. Ancak bu değerler istatistiki olarak birbirinden farklı bulunmamıştır. Deneme gruplarının ve kontrol grubunun arasındaki anlamlı farklılıklar/benzerlikler Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Farklı konsantrasyonlarda puzolanik çimentoya maruz kalmış gökkuşağı alabalığı bireylerinin bazı enzim parametrelerindeki değişim

Enzim parametreleri	Kontrol	100mg/L	150mg/L	p	F
CRE(U/L)	0,1±0,07	0,13±0,06	0,2±0,06	0,199	1,988
ALT(U/L)	20,25±14,7	14±7,62	18,5±7,78	0,357	0,711
ALP(U/L)	27,75±7,54	20,75±3,86	24±18,38	0,713	0,519
AST(U/L)	501±161,64	438,75±126,3	402±89,1	0,502	0,623
LDH(U/L)	455±136,79	465,25±72,15	548,5±108,19	0,942	0,429

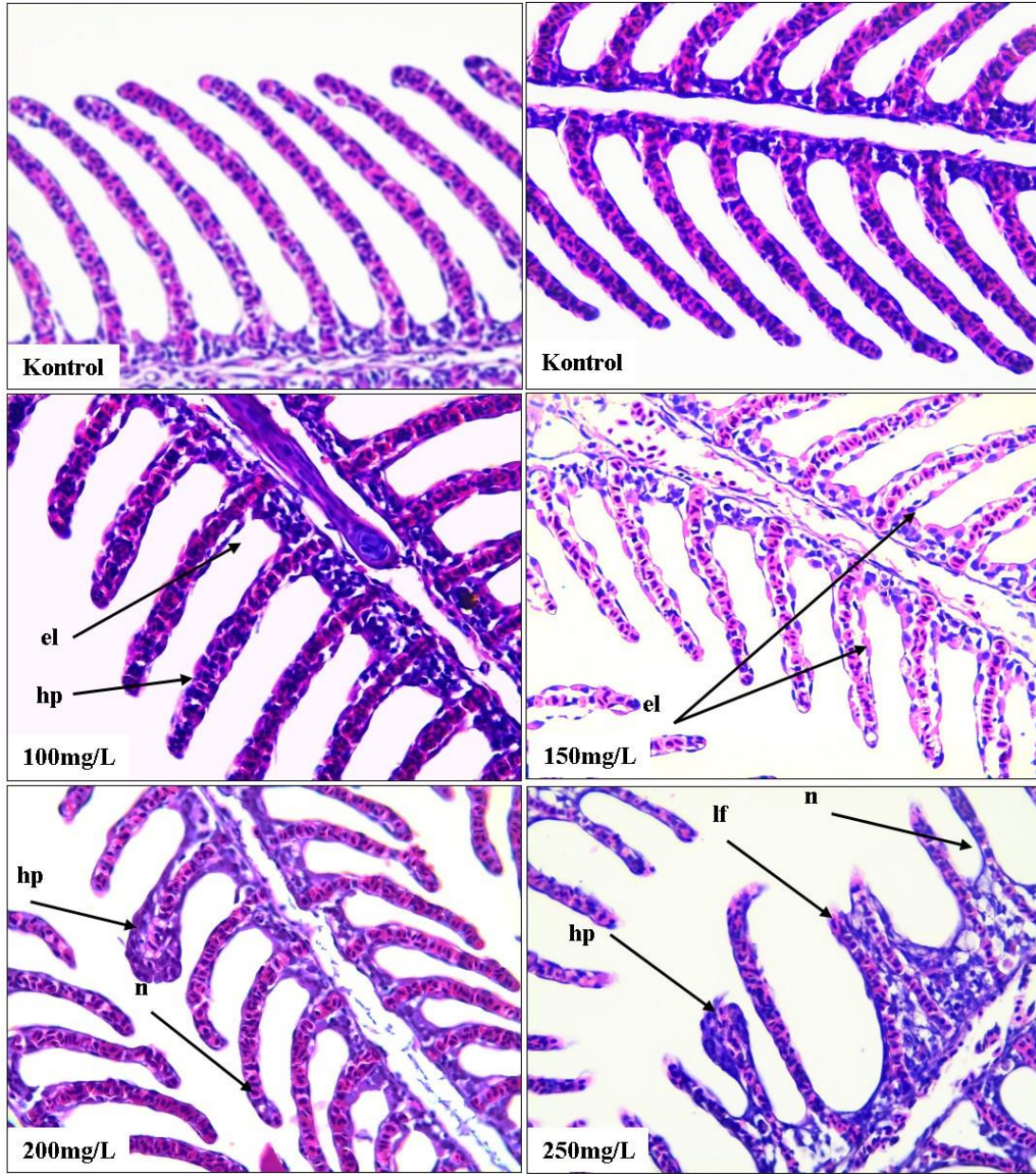
3.6. Histopatolojik Değişim

Farklı konsantrasyonlarda çimento uygulanan gökkuşağı alabalığı bireylerinin solungaç dokularındaki histopatolojik değişim belirlenmeye çalışılmıştır. Bu inceleme sonucunda balıkların solungaç dokularındaki epitel ayrılma, lamellerin birleşmesi, hiperplazi, nekroz gibi histopatolojik bulgular tespit edilmiştir (Şekil 23). Puzolanik çimentonun farklı konsantrasyonlara bağlı oluşturduğu histopatolojik bulguların şiddeti kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 3. Puzolanik çimentonun gökkuşağı alabalığı bireylerinin solungaçlarındaki etkisinin histopatolojik açıdan değerlendirilmesi

Histopatolojik Etkiler	Kontrol	100mg/L	150mg/L	200mg/L	250mg/L
Hiperplazi	-	+	+	++	+++
Epitel Ayrılma	-	+	++	++	++
Lamellerin Birleşmesi	-	-	+	+	+++
Nekroz	-	+	+	+	++

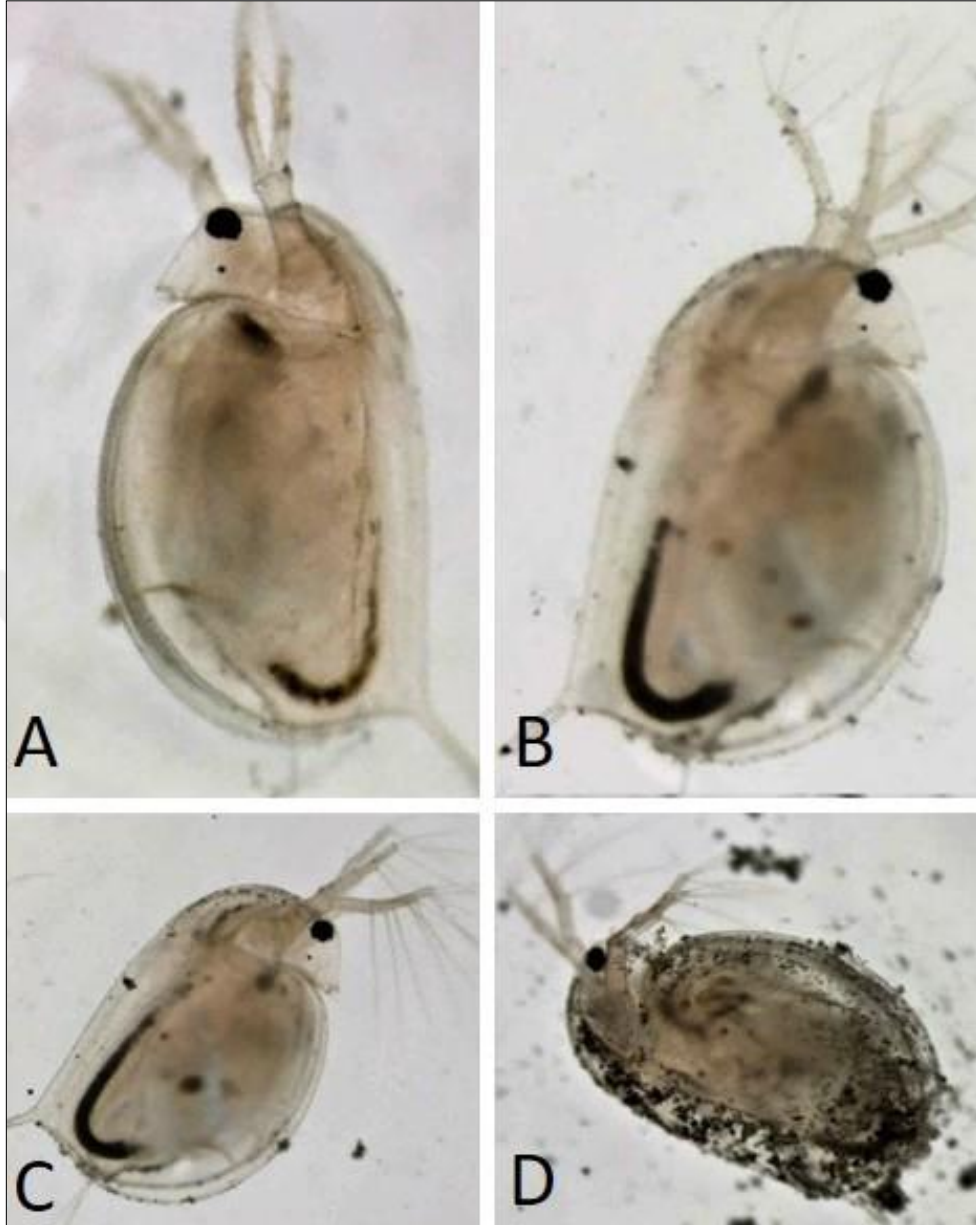
Histopatolojik bulgunun görülme şiddetine göre; (-) yok, (+) az, (++) orta, (+++) yoğun



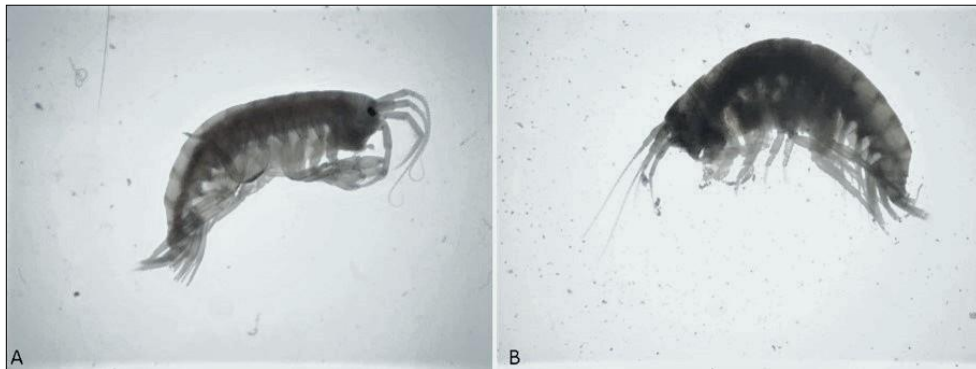
Şekil 23. Puzolanik çimentonun gökkuşuğu alabalığı bireylerinin solungaçlarında oluşturduğu histopatolojik değişimler El(epitel ayrılma), hp (Hiperplazi), lf (lamellerin birleşmesi), n (nekroz)

3.7. Fizyolojik Değişimin Belirlenmesi

Puzolanik çimentonun omurgasız canlılar üzerinde etkileri incelenmiş, *D. magna* bireylerinin çimento kaynaklı parçacıkları ağız yolu ile alarak bağırsak ve vucut boşluğu içerisinde biriktirdiği belirlenmiştir. (Şekil 24). Ancak *Gammarus komareki* bireyleri üzerinde ise bu tür bir birikime rastlanmamıştır (Şekil 25).



Şekil 24. puzolanik çimentoya maruz kalan *Daphnia magna* bireyleri A: Kontrol, B: 50mg/L, C: 150mg/L and D: 200mg/L



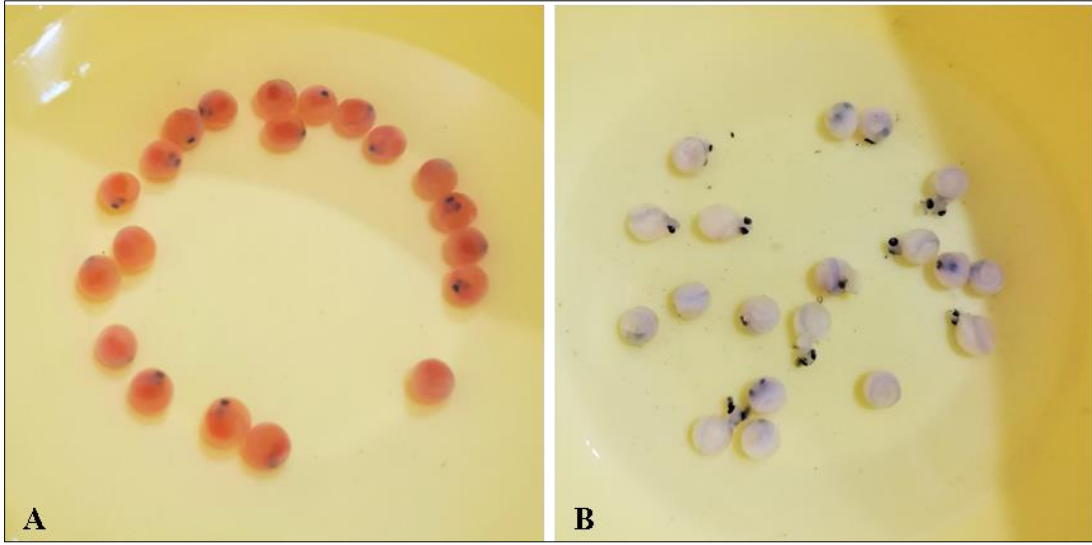
Şekil 25. Puzolanik çimentoya maruz kalan *Gammarus komareki* bireyleri A: Kontrol, B: 200 mg/L

Balıklarda yapılan denemelerde ise gökkuşığı alabalığının kontrol grubunda su kolonunda yüzme gözlemlenirken çimento gruplarında ise dipte toplanmalar gözlenmiştir. Tilapia, inci ve eğrez balığında ise kontrol grubunda dipte yüzme, çimento uygulanan gruplarda ise suyun orta kısmında ve üstünde yüzme gözlemlenmiştir. Bütün balıkların gözlerinde 200 mg/L ve üzeri konsantrasyonlarda katarakt oluşumuna ve yüzgeçlerinde erimelere rastlanılmıştır (Şekil 26). Çimento uygulanan balıklarda konsantrasyon arttıkça yüzgeç erimelerinde doğru orantılı şekilde artış olduğu saptanmıştır.

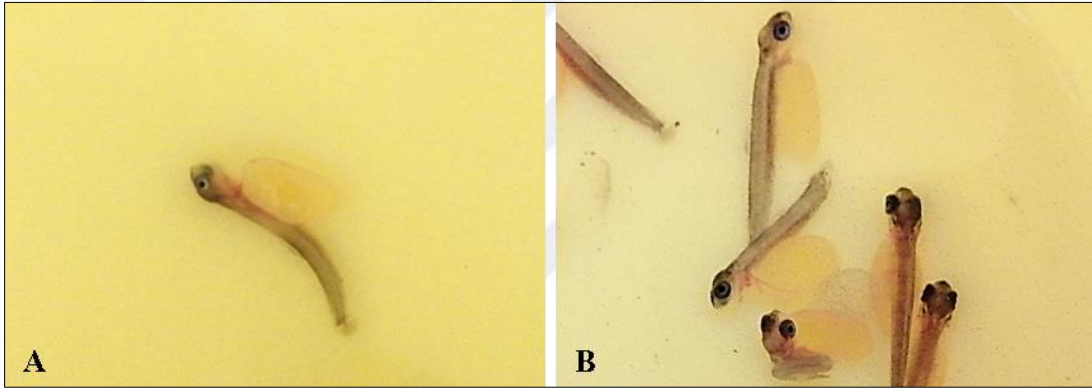


Şekil 26. Puzolanik çimento uygulanan gökkuşığı alabalığının görüntüsü A) Kontrol; B) 200mg/L çimento

Gökkuşığı alabalığı yumurtalarında yapılan çimento denemesinde, bireylerin yumurtadan alev safhasına daha erken geçtikleri saptanmış ve gözlerinde doku kayıpları tespit edilmiştir (Şekil 27). Alevin aşamasında ise özellikle balıkların gözlerinde siyahlaşma meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 28).



Şekil 27. Puzolanik çimentoya maruz kalan gökkuşağı alabalığı yumurtası A) Kontrol; B) Deneme Grubu



Şekil 28. Puzolanik çimentoya maruz kalan gökkuşağı alabalığı alevinleri A) Kontrol; B) Deneme Grubu

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çimento betonarme yapılarda kullanılan en temel yapı taşıdır ve sucul sistemler üzerine inşa edilen istinat duvarı, köprüler, dere ıslah çalışmaları, sulama kanalları, HES'ler ve barajlar gibi yapıların oluşturulmasında sucul ekosisteme girdisi kaçınılmaz bir olgudur. Tarımsal faaliyetlerin artırılması ve enerji ihtiyacının giderilmesi gibi birçok alandaki gelişmeler insan refahına katkıda bulunsa da çoğu araştırmacı ekosistemdeki canlıların beslenme, üreme ve göç gibi yaşamsal ihtiyaçlarının bu faaliyetler sonucunda kısıtlandığı gerçeğine odaklanmıştır (Herdman, 1995; Kocabaş vd., 2013). Bu konularda sayısız araştırma literatüre kazandırılrsa da, betonarme yapıların temel bileşeni olan çimentonun sucul canlılar üzerine doğrudan etkisi genelde göz ardı edilmiş yeteri kadar araştırmalara konu olmamıştır. Betonarme yapıların sucul ekosistemde kalıcı etkileri olduğu gibi (sucul sistemin doğal yapı ve dengesini etkileyecek değişimler) inşaat esnasında meydana gelen kontaminasyon, çok kısa sürede ekosistemde yer alan canlılara olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Özellikle çimentonun durgun sularda pH seviyelerini yükselttiği ve bu etkinin ancak 24 saat sonunda normale geldiği araştırmalar sonucu ortaya konulmuştur (Law vd., 2013). Zira su kalite denemelerinde pH değerlerinin ilk kontaminasyonda yüksek seyrettiği ilk 24 saat sonunda canlıların yaşamı için gereken pH seviyelerine yakınlığı belirlenmiştir.

Sucul ekosistemin sağlığını takip etmek için ÇO, sıcaklık, pH, sertlik, iletkenlik, AKM ve bulanıklılık gibi su kalite parametrelerinin takibi yapılmaktadır. Çimento ile daha önce yapılan bir çalışmada, çimento kontaminasyonunun suyun pH, iletkenlik, alkalinite ve sertlik gibi değerlerinde artışa neden olduğunu ortaya koyulmuştur (Lee ve Hur, 2005). Bahsi geçen bu çalışmada pH, iletkenlik, AKM ve bulanıklılık değerlerinde konsantrasyon artışına bağlı yükselişler rapor edilmiştir. Denemenin sonunda pH, AKM, ve bulanıklılık gibi değerlerde doğal bir düşüş gözlenmiştir. Balıklar için temel olan bu su kalite değerleri içerisinde gökkuşağı alabalığı ve sazan balığı için AKM miktarının maksimum 25 mg/L olabileceği bildirilmiştir (Bulut vd., 2012). Bu tez çalışmasındaki denemelerde AKM miktarları literatür değerinden yüksek çıkmasına rağmen 24 saat sonunda ölümlerin AKM ye bağlı ölümler olmadığı anlaşılmıştır. Sudaki AKM miktarının artışının balıkların solungaçlarında tıkanmalara, yavru ve yumurtalarda ölümlere varan ciddi zararlar

verebileceği bildirilse de (Alabaster ve Lloyd, 1980) mevcut çalışma bu bilginin sınırlarının yeniden gözden geçirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu yüzden özellikle çimento bağlamında AKM miktarının sucul canlılar üzerine etkilerini belirlemek için daha uzun süreli çalışmalar yapılmalıdır.

Sucul ekosistemde pH hayati bir öneme sahiptir ve sudaki kimyasalların çözünürlüklerini ve toksisitelerini etkileyebilir. Suda yaşayan canlıların çoğu 6,5-9 pH aralığında yaşasa da bu aralığın dışında yaşayan organizmaların varlığı da mevcut olabilir. Ancak bu değerlerin dışında pH'nın büyüme ve üreme üzerinde olumsuz etki gösterdiği bilinmektedir (EPA, 2012). Suyun pH değerlerini, kontamine olan farklı maddeler ve bir takım süreçler etkilese de çimentonun suya kontamine olduğu anda pH artışı oluşturduğu daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Lee ve Hur, 2005; Er vd., 2019). Gerçekleştirilen bu çalışma ile puzalonik çimentonun farklı konsantrasyonda suya ileve edilişi ile pH değerlerinin nasıl değiştiği ve 24 saat süre sonunda değerlerin hangi seviyeye geldiği belirlenmiştir. Bu bilgi, gerek doğada ve gerekse yetiştiricilik ünitelerinde kontaminasyon sürecinin yönetilmesine katkı sağlayacak niteliktedir. Ancak günümüzdeki yaygın düşünce, çimento kaynaklı kontaminasyon vakalarında suyun özelliklerinden ziyade, balıkların örneklenmesi ile kayıpların tespitlerinin yapılması şeklindedir. Ayrıca su numunelerinin hangi süre içerisinde temin edilmesi ile ilgili eksiklik bulunmaktadır.

Sucul canlıların çimentodan etkilenebileceği ilk olarak Samis (1983) tarafından yapılan bir çalışmada ele alınmış ve bu çalışmada ortalama 3,6 gr olan gökkuşağı alabalığı bireylerine verilen 100 mg/L konsantrasyonundaki portland çimentonun 24 saatin sonunda %60 oranında ölüm meydana getirdiğini rapor etmiştir. Adamu vd. (2008), tilapia balığında (7,2 g) portland çimentosunun toksik etkilerinin belirlenmesi için yapmış oldukları bir çalışmada LC₅₀ değerini 41,21 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında bu değer aynı balık türü için 307 mg/L olarak bulunmuştur. Aynı türü kapsayan iki çalışma arasındaki bu büyük farkın çimento türünden ya da denemede kullanılan balık büyüklüğünün (34,8 g) farkından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Kurtoğlu vd. (2016), çimento ile yaptıkları bir diğer çalışmada ise, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için 96 saatlik LC₅₀ değerini 440 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada gökkuşağı alabalığı bireylerinde 24 saat sonundaki LC₅₀ değeri sıcaklığa göre farklılık göstermiştir. Bu

değer 12 °C’de 263,8 mg/L olarak bulunurken 18 °C’de 133,8 mg/L olarak belirlenmiştir. Mevcut çalışmada ise 12 °C’de gökkuşağı alabalığı yumurta, alevin ve frylarında ise bu değerler sırasıyla 499 mg/L, 324,6 mg/L ve 361 mg/L olarak bulunmuştur. Bu değerler ışığında literatür bilgilerine benzer şekilde, su sıcaklığının çimentoya maruz kalan balıklar üzerinde toksisiteyi artırıcı etki gösterdiği, bunula birlikte aynı sıcaklıkta farklı evrelerde çimentoya maruz kalan canlıların farklı dayanıklılığa sahip olabileceği ortaya konulmuştur.

Toksisite testleri canlılarda herhangi bir maddeye bağlı olarak ölüm oluşumu, yapı ve fonksiyon değişiklikleri gibi etkilerin belirlenmesi ve yorumlanması amacıyla gerçekleştirilmektedir (Loomis, 1978). Sucul canlılar için bu testlerin uygulanmasında özellikle su sıcaklık değerleri ve pH, toksisiteyi etkileyen önemli faktörler olarak oldukça önem arz etmektedir (Altınok vd., 2006). Sunulan bu çalışmada deneme suyunun sıcaklık değerleri *Daphnia magna* ve *Gammarus komareki* türleri için sırasıyla 19,8±0,2 ve 19,5±0,3 °C olarak kaydedilmiştir. Denemede kullanılan *D. magna* türü için su sıcaklık değerinin 6 ay süresince 12-16 °C olduğu ortamlarda metabolik aktivitenin artma eğiliminde olduğu, stres semptomlarının ise yine 6 ay süre sonunda 18-20 °C aralıklarında olduğu rapor edilmiştir (Khan ve Khan, 2008). *Gammarus* türleri için ise genel olarak optimum sıcaklık aralıklarının 15-20 °C aralıklarında olduğu ifade edilmektedir (Sutcliffe vd., 2006). Deneme başlangıcında suyun pH değeri 7,33 ve 7,34 değerlerinde kaydedilmiştir. Bu değerler denemede kullanılan her iki tür içinde çevresel su kalite parametreleri içerisinde pH açısından optimum değerlere yakındır. Bu çalışmada *D. magna* ve *G. komareki* bireyleri belirtilen sıcaklık aralıklarında çok kısa süreli deneme şartlarında tutulmuştur. Gökkuşağı alabalığı döllenmiş yumurtaları için en uygun su sıcaklığı 7 ile 12 °C arasındayken fry aşamasına kadar su sıcaklığı 14 °C yi bulabilir. Yetişkin bireyler için ise 20 °C nin altında olması gerektiği rapor edilmiştir (Brown ve Gratzek, 1980). Bu çalışmada yumurta, fry, alevin ve porsiyonluk olarak adlandırılan farklı evrelerdeki balıklar sırasıyla 9,7, 11,7, 12,4 ve 18 °C sıcaklıklarda denemeye tabi tutulmuştur. Doğal tür olan *Alburnus derjugini* ve *Vimba vimba* ise doğal ortamındaki sıcaklıklara adapte edilerek çimentonun toksisitesi belirlenmeye çalışılmıştır. Balık denemelerinde suyun pH sı 6,98 olarak ölçülmüştür. Bütün deneme süresince su sıcaklıkları ve pH türler için uygun sıcaklık ve pH aralıkları olduğundan bu değerlerin çalışmada

hedeflenen çimento toksisitesini belirleme amacına olumsuz etkisinin olmayacağı ifade edilebilir.

Daphnia magna birçok kimyasalın toksik etkilerini belirlemede kullanılan yaygın bir canlı türüdür. Bu toksik denemeleri etkileyen abiyotik ve biyotik faktörler bulunmaktadır (Jonczyk ve Gilron, 2005). Bu faktörlerin dışında *Daphnia* türlerinin toksisite testlerinde metodolojik olarak değerlendirme noktaları farklılık arz etmektedir. Uluslararası ISO ve OECD gibi kuruluşlar, "hareketsizlik" kriterini dikkate almaktadır. Buna karşın bir çok otorite ise genellikle akut LC₅₀ değerini dikkate almaktadır (Persoone ve Janssen, 1993; Persoone vd., 2009). Bu bağlamda bakıldığında *D. magna* türü için birçok kimyasalın LC₅₀ değerleri rapor edilmiştir. Farklı endüstriyel atıkların ve arıtılmamış hastane atıklarının *D. magna* türü için LC₅₀ değerlerinin belirlendiği bir çalışmada, hastane atıklarının LC₅₀ değeri 50,3±8,0 mg/L, oto araç parçaları üreten bir tesisin atıklarının LC₅₀ değeri 68,0±6,7 mg/L ve ilaç sanayi atıklarının LC₅₀ değeri ise 72,0±12,2 mg/L olarak rapor edilmiştir (Villegas vd, 1997). Yine tarımsal üretimde sıklıkla kullanılan farklı insektisitlerin *D. magna* için LC₅₀ değerinin 0,53 ile 37 µg/L arasında değiştiği ifade edilmiştir (Matsumoto vd., 2009). Çok daha toksik etki oluşturabilen kadmiyum ve arsenik ile yapılan denemelerde ise LC₅₀ değeri sırasıyla, 44 µg/L ve 509 µg/L olarak hesaplanmıştır (Fikirdeşici vd., 2012). Sunulan bu çalışmada ise *D. magna* için çimento uygulamasında 24 saat sonundaki LC₅₀ değeri 118,57 mg/L olarak kaydedilmiştir. Bu değer görüldüğü üzere yukarıda bahsi geçen birçok kirleticiden daha yüksektir. Bu durum çimentonun kimyasal kompozisyonundan değil, özellikle yüksek pH seviyesiyle alakalı olabilir. Nitekim, Rodrigues vd., (2020) geri dönüşümlü beton agregalarının *D. magna* bireyleri üzerinde ekotoksikolojik potansiyelini araştırdıkları bir çalışmada, EC₅₀ (median-effective concentration) değerinin azalmasını pH seviyesinin artışıyla ilgili olduğunu, dolayısıyla pH artışının canlı üzerinde toksik etki oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında *D. magna* bireyleri için özellikle 9 ve üzeri pH seviyelerinin toksik olduğu belirlenmiştir.

Gammarus bireyleri sucul sistemlerde yaygın ve çok miktarda bulunmaları, besin zincirinde önemli rol oynamaları nedenleriyle birçok toksik denemede, farklı toksik maddelerle karşı hassasiyeti ile yapılan çalışmalarda ön plana çıkmaktadır. Özellikle *Gammarus pulex* bu çalışmalara konu olan türler içerisinde yer almaktadır

(Barnard ve Barnard 1983). Bir çalışmada, antiparazitik bir ajan olan ivermektin ve bir ağır metal olan kadmiyum maddelerinin *G. pulex* ve *G. fossarum* bireyleri üzerinde toksik etkileri araştırılmış, ivermektin için LC₅₀ değerleri sırasıyla 3 ve 5 µ/L seviyelerinde belirlenmiştir. Bu değerler kadmiyum için ise yine sırasıyla, 8 ve 1 mg/L seviyelerinde rapor edilmiştir (Alonso vd., 2010). Bir diğer çalışmada, bazı insektisitlerin (endosülfan, malathionin) *Gammarus palustris* türü üzerinde akut toksisitesi çalışılmış ve endosulfan için 96 saatteki LC₅₀ değeri 0,43 µg/L, malathion için ise 96 saatteki LC₅₀ değeri 4,65 µg/L olarak ifade edilmiştir (Leight and Van Dolah, 2009). Sunulan bu çalışmada, *Gammarus komareki* bireyleri için ilk kez bir çimento toksisite denemesi gerçekleştirilmiş ve 24 saatteki LC₅₀ değeri 197,24 mg/L olarak belirlenmiştir. Farklı tür ve cinslerin aynı maddelere göstereceği toksik cevap hassasiyetleri doğal olarak farklıdır. Bu çalışmaya konu olan *D. magna* ve *G. komareki* türlerinin çimento toksisitesine karşı hassasiyetleri de farklı olmuştur. *G. komareki* bireylerinin *D. magna* bireyelerine göre bu toksik etkiye daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

Gökkuşağı alabalığı ekonomik olarak değerli bir soğuk su balığı türüdür ve laboratuvar çalışmalarına uyumları yüksek, yetiştiriciliği nispeten kolay ve ekosistemleri iyi temsil eden tür olduğundan dolayı toksisite testleri yapılmak için oldukça uygun bir canlı türüdür. Bu kapsamda birçok araştırmacı bu tür üzerine yoğunlaşmış ve birçok kimyasalın toksisitesinin karşılaştırılmasına olanak sağlamıştır. pH seviyelerinin düşük seyrettiği durumlarda alabalık juvenillerinde ciddi fiziksel değişimler ve ölümler meydana geldiği bilinmektedir (Maoxiao vd., 2018). Yüksek pH (>10) seviyeleri ise bütün alabalık türleri için ölümcül olarak kabul edilen bir değerdir (Alabaster ve Lloyd, 1980). Kurtoğlu vd., (2016), yaptığı çalışmada 500 mg/L konsantrasyonundaki çimentonun pH yı 10,5 seviyelerine çıkardığını ve 10 °C deki gökkuşağı alabalığı bireyelerinin 96 saat sonunda yarımısını öldüren konsantrasyonun 440 mg/L olduğunu bildirmiştir. Daha sonraki çalışmalarda 440 mg/L konsantrasyonunda çimento baz alınarak beton katkı maddelerinden priz hızlandırıcı ve akışkanlaştırıcı eklenen alabalık gruplarında ise ölüm oranının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Er vd., 2019). Yapılan bu çalışmada 24 saatte gökkuşağı alabalığı bireyelerinin yarımısını öldüren puzolanik çimentonun letal konsantrasyonu 263,8 mg/L olarak bulunmuştur. Bunun nedeni bir önceki çalışmada

çimentonun suya sürekli ve homojen olarak karışmama özelliğinin olması ile açıklanabilir. Zira sunulan bu çalışmada özel bir düzenele suda çimentonun sürekli homojen dağılması sağlanmıştır.

Cıva (II) Klorür'ün gökkuşağı alabalığı bireylerinde toksik etkilerinin incelenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada 12 ve 17 °C'deki iki farklı sıcaklıkta toksik etki belirlenmeye çalışılmıştır. Yüksek sıcaklıktaki grupta balıkların kimyasal maddeye daha duyarlı oldukları rapor edilmiştir (Terzi ve Verep, 2012). 12,1 °C'deki Gökkuşağı alabalığı bireylerinin yarısını öldüren puzolanik çimentonun letal konsantrasyonu 263,8 mg/L, 18 °C'de gerçekleştirilen denemede ise 133,8 mg/L olarak rapor edilmiştir. Puzolanik çimentonun toksisitesinin belirlenmeye çalışıldığı bu çalışmada da sıcaklık artışına bağlı olarak öldürücü konsantrasyonunun azaldığı görülmüştür.

Atlantik salmon yumurtalarında yapılan bir çalışmada farklı pH seviyelerinin yumurtalar üzerindeki öldürücü etkileri incelenmiştir (Foldvik vd., 2022). Bahsi geçen çalışmada 2,78 değerindeki pH'nın, 18 saatin sonunda yumurtaların %98'ini öldürdüğü 12,23 pH'ya sahip denemede ise 15 dakikada bütün yumurtaların öldüğü rapor edilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında ise gökkuşağı alabalığı yumurtalarına uygulanan 800 mg/L konsantrasyonundaki çimentonun suyun pH'sını 10,34'e çıkarttığı ve 24 saat sonunda yumurtalarda %100 kayba neden olduğu bulunmuştur. Alevin ve fry aşamalarında ise ölümlerin daha yüksek ve kısa zamanda olduğu belirlenmiştir. Bu durum yumurtaların kabukları içinde embriyonun fiziksel ve kimyasal etkilerden korunduğu bilgisiyle açıklanabilir (Finn, 2007).

Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında puzolanik çimentonun sucul canlılarda ölümlere neden olduğu ortaya konulmuştur. Bu ölümlerin çimento toksisitesi ve pH ilişkisi bağlamında irdelenmesi amacıyla *Gammarus komareki* bireyleri üzerinde NaOH denemesi dizayn edilmiştir. Uygulanan 200 mg/L konsantrasyonundaki çimento, suyun pH değerini 9,86 çıkarmış ve %60 ölüm oranına neden olmuştur. NaOH ile 9,89'e çıkarılan pH grubunda ise aynı oranda ölüm gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar çimentonun toksik etki mekanizmasının pH değişimi ile açıklanabilmesine olanak sağlamıştır.

Taze dökülen beton suyu sızıntısının sucul canlılar üzerinde ölümcül bir etkiye sahip olduğu araştırmacılar tarafından ortaya konulmuş bu ölümlerin nedeninin beton

içeriğinin sucul ortamın pH sını artırması olarak rapor edilmiştir. Aynı çalışmada beton suyu pH sını azaltan lős (bir çeşit toprak) beton katkı maddesi eklenerek sızıntı suyunun pH sını normal çimento grubuna göre düşürdüğü ve ölüm oranının azaldığını bildirmişlerdir (Choi vd., 2013). Yapılan bu tez çalışmasında %100 ölüm gerçekleştiren çimento konsantrasyonuna maruz bırakılan gökkuşağı alabalığı bireyleri, deneme öncesi HCl ilave edilmiş ve pH seviyesi 6,98'e düşülmüştür. Oluşturulan bu deneme grubunda 24 saatin sonunda herhangi bir ölüme rastlanılmaması ölümlerin pH kaynaklı olabileceğini desteklemektedir.

Balıklardaki hematolojik çalışmalar birçok hastalığın teşhisinde olduğu kadar kandaki hasarın boyutunun araştırılmasında da faydalıdır. Bu parametreler, çeşitli balıklarda meydana gelen sağlık durumunu, fizyolojik ve patolojik değişiklikleri, yani balık vücudundaki metabolik bozulmaları incelemek için etkili ve anlaşılır bir belirteç görevi görür. Böylece hematolojik parametreler doğal olarak çevresel toksikoloji, besin eksiklikleri ve kronik stres alanında su ürünleri yetiştiriciliği sistemleri ve su kalitesinin kontrol edilmesi gibi spesifik olmayan biyolojik belirteçler olarak kullanılırlar (Witeska vd., 2022). Balıkların rutin hematolojik değerlendirmesi, kırmızı kan hücresi sayısı (RBC), hematokrit (Hct), hemoglobin konsantrasyonu (Hgb), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), eritrosit indeksleri—ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH), ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ve toplam beyaz kan hücresi sayısı (WBC) gibi önemli kan parametreleri takip edilerek yapılmaktadır (Fazio, 2019). Kanın, çevre ve organizma iç işleyişi arasında önemli bir bağlantı görevi gördüğü ve kirliliğin balıkların kan profilini değiştirdiği bildirilmiştir. Hematolojik parametrelerdeki değişim, toksik maddelerin Hgb sentezinden sorumlu enzim sistemi üzerindeki inhibitör etkisine bağlı olabilir (Pamila vd., 1991). Genel bir senaryo, kirlilik nedeniyle balıklarda Hgb, RBC ve Hct değerlerinin düştüğünü göstermektedir. Çünkü bu kirleticiler Hgb ve Hct değerlerini etkileyen balıklardaki RBC'lere zarar verir (Javed ve Usmani, 2012). Ayrıca bazı toksik maddelerin MCHC oranında azalmaya neden olduğu farklı araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Reddy ve Bashamoiden, 1989; Aziz vd., 1993). Bir çalışmada çimentonun sublethal konsantrasyonu tilapia balığında 70 gün boyunca uygulanmış PCV, Hgb, RBC ve WBC değerlerinde düşüş olduğu saptanmıştır (Adamu vd., 2008). Sunulan bu çalışmada çimento uygulaması

sonucunda kontrol grubuna göre Hgb, MCH, MCHC gibi kan değerlerinde istatistiki bir fark görülme de düşüş yaşanmıştır. Bunun sonucunda çimentonun gökkuşağı alabalığı üzerinde olumsuz etki gösterdiği söylenebilir. Monositler dokulara göç edebilen ve daha sonra makrofaj haline gelebilen kan hücreleridir. Bu özelliğinden dolayı monositler inflamatuvar yanıt ve diğer dejeneratif süreçlerde yabancı maddelerin ve hücrel atıkları absorbe etme yetenekleri nedeniyle bağışıklık sisteminin en önemli kan hücreleri olarak kabul edilirler (Clauss vd., 2008). Çimentoya maruz bırakılan gökkuşağı alabalığı bireylerinin kanında, konsantrasyon artışına paralel olarak monosit artışı gerçekleşmiştir. Bunun sonucunda çimentonun gökkuşağı alabalığı bireyleri üzerinde olumsuz etki gösterdiği söylenebilir.

Balıkların sağlık durumu, kanlarındaki AST, ALT, ALP LDH ve CRE enzim seviyelerindeki değişikliklerin izlenmesiyle de gösterilebilir. Bu enzimlerin stresi izlemek ve hatta çevre kirliliğinin balıklar üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanımı birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Li vd., 2010a). CRE, kreatinin dönüşümünü katalize eder ve çevresel stresin bir plazma belirteci olarak fosfokreatin ve adenosin difosfat (ADP) oluşturmak için adenosin trifosfat (ATP) tüketir (Li vd., 2010b). ALT'nin kana artan salınımı, hepatosit zarlarının bütünlüğüne verilen hasarın göstergesidir ve yüksek AST aktiviteleri, ağır hepatitin bir sonucu olarak mitokondriyal bozulmadan kaynaklanmaktadır (Qiu vd, 2009). LDH, bir kimyasalın toksisitesini değerlendirmek için potansiyel bir belirteç olarak tanınan tetramerik bir enzimdir. ALP enziminin yüksekliği kemik, karaciğer ve diğer hastalıkların varlığı hakkında tespitte bulunabilmeye yardımcı bir serum analitidir (Epstein vd., 1986). Yapılan bu çalışmada çimentonun toksisitesini belirlemede enzim aktiviteleri incelenmiş, CRE ve LDH enzimlerinde artış, AST enziminde ise konsantrasyon artışıyla birlikte istatistiki olarak farklı olmasada düşüş görülmüştür.

Histopatoloji, bir organizmanın hücrelerinin ve dokularının mikroskopik incelemesini ve histolojik anormalliklerin yarı nicel olarak belirlenmesini içerir. Balıkları etkileyen farklı abiyotik ve biyotik faktörlerin etkileri, histolojik çalışmalarda kapsamlı bir şekilde birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Teunen vd., 2021; Yandı vd., 2017). Balıklarda solungaç histolojisi, bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan hastalıkların tanımlanması olarak kullanılır. Bu yaklaşım aynı zamanda son yıllarda kirliliğin belirlenmesi için bir biyobelirteç ve çevresel izlemede bir araç olarak

kullanılmıştır (Gjessing vd., 2017). Balıklar düşük veya yüksek su pH sınır etkisine karşı bir savunma olarak deri ve solungaçlarındaki mukus miktarında artışlar sergileme eğilimindedir. pH daki aşırılık özellikle balıkların solungaçlarında deformasyonlara ve hemarajilere neden olmaktadır (Svobodova vd., 1993). Daha önce çimentonun histopatolojik yönden etkilerini belirlemek için bir çalışma yapılmış bu çalışmada solungaç dokularında hiperplazi ve doku kayıpları gibi bulgulara raslanılmıştır (Er vd., 2019). Mevcut çalışmada ise literatürdeki araştırmalara benzer şekilde hiperplazi, epitel lifting, lameller füzyon ve nekroz gibi patolojik bulgulara rastlanmıştır. Balık solungaçlarında oluşan patolojik bulguların osmeragülasyonun bozulmasına ve bundan dolayı hemodilisyona bağlı kan değerlerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Ogueji vd., 2019). Yapılan bu çalışmada solungaç dokularındaki histopatolojik bozulmaların kan parametrelerindeki bazı farklılıkların meydana gelmesini açıklayabilir.

Comet analizi veya alkali tek hücreli jel elektroforezi (SCGE), tek tek hücrelerde neden olunan DNA hasarının miktarını ölçerek genotoksisiteyi değerlendirmek için kullanılan çok basit, hızlı ve hassas bir tekniktir. Balık, istiridyeler, kabuklu deniz ürünleri ve midyelerde DNA hasarını tespit ederek sucul canlıların sağlığını değerlendirmede ve çevresel izleme için önemli bir araç olarak kullanılır (Andrade vd., 2004; Belpaeme vd., 2004). Birçok araştırmacı ağır metal kirliliğinin, pestisit gibi tarımsal kirliliğin ve çeşitli sanayi atıklarının sucul canlılar üzerinde genotoksisite çalışmalarını yapmış ve canlılar üzerinde oluşturduğu DNA hasarının şiddetini belirlemiştir (Elgendy, 2017; Xu vd., 2020; Grover vd., 2003; Boran ve Şaffak, 2020). Yapılan bu çalışmada omurgasız su canlısı olan *Daphnia magna* bireylerinde çimento kaynaklı DNA hasarı oluşmamışken gökkuşağı alabalığı bireylerinde ise DNA hasarı oluşmuştur. Bunun nedeni olarak birçok *Daphnia* türünün 6,5 ile 9,5 arasındaki pH aralığında yaşadığının biliniyor olması olabilir (Peters ve De Bernardi 1987). Uygulanan çimento konsantrasyonunun *Daphnia* bireylerinin yaşayabileceği pH değerlerini aşmadığı şeklinde yorumlanabilir. Gökkuşağı alabalığı bireylerinde ise oluşan DNA hasarı, uygun olmayan pH aralıklarına ulaşılması nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca, alabalıklar omurgasız canlılara göre daha kompleks ve farklı bir fizyolojiye sahiptir. Temiz ve bol oksijen ihtiyacı olan bu türlerde omurgasız canlılara göre daha fazla etkileşim olması doğal karşılanabilir.

Bu çalışma puzolanik çimentonun su parametrelerinde meydana getirdiği değişiklikleri ve bazı sucul canlılar üzerindeki toksik etkiyi belirlemek için gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, çimentonun sudaki pH, iletkenlik, TDS, AKM ve bulanıklılık gibi özelliklerini nasıl değiştirdiği incelenmiştir. Ayrıca puzolanik çimentonun sucul canlılar üzerinde toksik etkisini belirlemek amacıyla, hematoloji, histoloji, kan biyokimyası ve DNA hasarı gibi parametreler çalışılarak detaylı bir bilgi ortaya konulmuştur.

Çalışmada puzolanik çimentonun su kalite parametrelerini olumsuz yönde değiştirdiği ve sucul canlılarda ciddi patolojik bulgulara ve kayıplara neden olduğunu ortaya konulmuştur. Çimentonun suya kontamine olduğunda çevreye ve sucul canlılara verdiği zararı engellemek neredeyse imkânsız hale gelmektedir. Bu nedenle çimento kaynaklı kirleticilerin sucul ekosisteme girişini engellemek en güvenilir yöntemdir. Sunulan bu tez çalışmasının sonuçları değerlendirildiğinde aşağıdaki öneriler yapılabilir.

1. Sucul ekosistemi çimento ve çimento içeriği yüksek maddelerce kontamine edebilecek tüm yapı, işletme ve faaliyetlerin kontrol altına alınması ve bu tür yapılaşmalarda güvenlik tedbirlerinin artırılması gerekmektedir.

2. Sucul sistemlerde, çimento içeriği yüksek, taze ve kontaminasyon riski olan ürünler yerine, monte edilebilir bloklar ile çalışılması sağlanmalıdır. Zira su ve sucul canlılar üzerinde oluşabilecek zararlı etkiler özellikle düşük debili alanlarda oldukça büyük risk teşkil etmektedir.

3. Herhangi bir sucul sistemin çimento kaynaklı kontaminasyonunda, yasal süreçlerin işletilmesi adına, sadece omurgalı canlıların delil olarak örneklenmesi yerine, anlık su kalite değerleri, omurgasız canlılar ve kontaminasyon sonrası hayatta kalan balıkların da örneklenmesi sağlanmalıdır. Zira bu örneklerde, hangi kriterlerin ne derecede değişebileceği ve DNA hasarı gibi belirteçler kontaminasyonu ifade edebilecek sonuçlar olarak değerlendirilebilir.

4. Bu çalışmada, sucul sistemin önemli elemanlarından fitoplanktonlar yer almamaktadır. Gelecek çalışmalarda bu canlı gruplarının da çimento kontaminasyonuna karşı verdiği cevaplar ortaya konulabilir.

5. Yapılan denemelerde suya karışan puzolanik çimentonun suyun pH sınırını artırdığı ve sonucunda sucul canlıların ölümlerine neden olduğu rapor edilmiştir.

Çimentonun suyla karıştığında pH seviyesinin artışı engelleyecek çeşitli ilave maddeler ile rasyonlanarak nötralize edilmesi, su ve sucul canlılar için çevre dostu yapı malzemeleri olarak kullanımını sağlayabilir.



KAYNAKÇA

- Adamu, K., Audu, B.S. ve Audu, L.O., (2008). Toxicity and histopathological effects of portland cement powder in solution on the structure of the gill and liver tissues of the nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: a microscopic Study. *Tropical Freshwater Biology*, 17(1): 25-36. <https://doi.org/10.4314/tfb.v17i1.20915>.
- Alabaster, J. S. ve Lloyd, R. (1980) Water quality criteria for freshwater fish. European Inland Fisheries Advisory Commission Report (FAO). Buttersworth, London-Boston. 297 pp.
- Alonso, A., De Lange H ve Peeters, E.T.H.M. (2010). Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods *Gammarus pulex* and *G. Fossarum*. *Ecotoxicology* 19:133–140 <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0398-y>.
- Altinok, I., Capkin, E., Karahan, S. ve Boran, M. (2006). Effects of water quality and fish size on toxicity of methiocarba, carbamate pesticide, to rainbow trout, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22: 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.11.002>.
- Andrade, V.M; de Freitas, T.R.O. ve Silva, J. (2004). Comet assay using mullet (*Mugil* sp.) and sea catfish (*Netuma* sp.) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 560:57-67. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.02.006>.
- APHA, (1999) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington DC.
- Azevedo-Santos, V. M., Rigolin-Sá, O.ve Pelicice, F.M. (2011). "Growing, losing or introducing Cage aquaculture as a vector for the introduction of non-native fish in Furnas Reservoir, Minas Gerais, Brazil". *Neotropical Ichthyology*, 9 (4): 915-919. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011000400024>.
- Aziz, F., Amin, M., ve Shakoory A.R. (1993). Toxic effects of cadmium chloride on the haematology of fish, *Tilapia mossambica*. *Proceedings of Pakistan Congress of Zoology*, 13, 141-154.
- Barnard, J.L. ve Barnard, C.M. (1983). Freshwater Amphipoda of the World, I. Evolutionary patterns and II. Handbook and bibliography. Hayfield Associates, Mt. Vernon, Virginia.
- Bashir, I, Lone, F.A., Bhat, R.A., Mir, S.A., Dar, Z.A. and Dar, S.A. (2020). Concerns and Threats of Contamination on Aquatic Ecosystems. *Bioremediation and Biotechnology*;1-26. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35691-0_1.
- Behreus, A.S. ve Karber, L. (1953). Determination of LC₅₀. *Archives of Experimental Pathology and Pharmacology*, 28, 177.

- Belpaeme, K., Delbeke, K., Zhu, L. ve Kirsch-Volders, M. (2004). Cytogenetic studies of PCB77 on brown trout (*Salmo trutta fario*) using the micronucleus test and the alkaline comet assay. *Mutagenesis*, 5, 485–492. <https://doi.org/10.1093/mutage/11.5.485>.
- Boran, H. ve Şaffak, S. (2020). Transcriptome alterations and genotoxic influences in zebrafish larvae after exposure to dissolved aluminum and aluminum oxide nanoparticles. *Toxicology mechanisms and methods*, 30(7), 546–554. <https://doi.org/10.1080/15376516.2020.1786759>.
- Borkovic, S.S., Pavlovic, S.Z., Kovacevic, T.B., Štajn, A.Š., Petrović, V.M. ve Saičić, Z.S. (2008). Antioxidant defence enzyme activities in hepatopancreas, gills and muscle of spiny cheek crayfish (*Orconectes limosus*) from the River Danube. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147 (1), 122-128.
- Brown, E.E. ve Gratzek, J.B. (1980). *Fish Farming Handbook*. Avi Publising Company, Inc. 391 p. Westport, Connecticut.
- Bulut, C., Akçimen, U., Küçükkara, R., Savaşer, S.A., Uysal, K., Köse, E. ve Tokatlı C. (2012). Alabalık Üretimi Yapılan Akpınar Deresi (Denizli) Su Kalitesinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 2(2), 61-68.
- Çapkın, E., Özçelep, T., Kayış, Ş. ve Altınok, İ. (2017). Antimicrobial agents, triclosan, chloroxylenol, methylisothiazolinone and borax, used in cleaning had genotoxic and histopathologic effects on rainbow trout. *Chemosphere*, 182, 720-729. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.093>.
- Choi, J.; B., S.; Shin, T.; Ahn, K. ve Woo, S. (2013). Evaluation of *Daphnia magna* for the ecotoxicity assessment of alkali leachate from concrete. *International Journal of Industrial Entomology*, 26, 41–46. <https://doi.org/10.7852/ijie.2013.26.1.041>.
- Chorehi, M.M., Farsani, H.G., Hossaini S.A., Niazle, E.H.N., Vajargah, M.F. ve Hedayati, A. (2013). Acute toxicity of Diazinon to the Caspian vimba, *Vimba vimba persa* (Cypriniformes: Cyprinidae). *International Journal of Aquatic Biology*, 1(6), 254-257.
- Clauss, T.M., Dove, A.D.M. ve Arnold, J.E. (2008). “Hematologic Disorder of Fish.” *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 11: 445-462. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>.
- Crupkin, A.C., Fulvi, A.B., Iturburu, F.G., Medici, S., Mendieta, J., Panzeri, A.M., ve Menone, M.L. (2021). Evaluation of hematological parameters, oxidative stress and DNA damage in the cichlid *Australoheros facetus* exposed to the fungicide azoxystrobin. *Ecotoxicology and environmental safety*, 207, 111286. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111286>.

- Çağatay, B. (2021). Türkiye’de Çimento Sektörüne İlişkin Gelecek Tahminleri; Küresel Ticaret Ve Makroekonomik Değişkenler Işığında Yeni Politikalar. *Dumlupınar Üniversitesi İİBF Dergisi*, (8), 95-115.
- ÇSR, (2021). T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Sanayi ve Verimlilik Genel MüdürlüğüSektörel Raporlar ve Analizler Serisi Çimento Sektörü Raporu, (2020). Erişim Adresi: <https://www.sanayi.gov.tr/plan-program-raporlar-ve-yayinlar/sektor-raporlari/mu0102011404> (21.04.2022).
- Gülay, D. (2021). Comparison of the Financial Performance of Turkish Cement Firms with Fuzzy SWARA-COPRASMAUT Methods. *Gaziantep University Journal of Social Sciences*, 20(4) 1875-1892. <https://doi.org/10.21547/jss.917029>.
- Dhawan, A. ve Anderson, D. (2009). The Comet Assay in Toxicology. The Royal Society of Chemistry, Issues in Toxicology No 5, ISBN: 978-0-85404-199-2.
- Ekinci, M. ve Miroğlu, A. (2016). Ordu ili (Türkiye) tatlısu Gammaridea (Crustacea, Amphipoda) faunası üzerine araştırma. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2): 158 -169.
- Elgendy, M.Y., Abumourad, I.K., Ali, S.E.M., W.S.E.D., Ibrahim, T.B.E.D.ve Abbas, W.T. (2017). Health status and genotoxic effects of metal pollution in *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from polluted aquatic habitats. *International Journal of Zoological Research*, 13: 54-63. <https://doi.org/10.3923/ijzr.2017.54.63>.
- EPA, (2001). Parameters of Water Quality: Interpretation and Standards. Environmental Protection Agency, Wexford.
- EPA, (2012). Channel Processes: Bedload Transport. In Water: Science & Technology.
- Epstein, E., Kiechle, F.L., Artiss, J.D. ve Zak, B. (1986). The clinical use of alkaline phosphatase enzymes. *Clinics in Laboratory Medicine*,6:491–505. [https://doi.org/10.1016/S0272-2712\(18\)30795-9](https://doi.org/10.1016/S0272-2712(18)30795-9).
- Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500:237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>.
- Fikirdeşici, Ş., Altındağ, A. ve Özdemir, E. (2012). Investigation of acute toxicity of cadmium-arsenic mixtures to *Daphnia magna* with toxic unit’s approach, *Turkish Journal of Zoology*, 36(4): 543-550.
- Finn, R.N. (2007). The physiology and toxicology of salmonid eggs and larvae in relation to water quality criteria. *Aquatic Toxicology*, 81(4), 337–354 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.12.021>.
- Firidin, G. (2017). Effects of mercury on some enzymes in the gill and muscle tissues of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(2): 133-137. <https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.2.03>.

- Foldvik, A., Holthe, E., Bremset, G. ve Solem, Ø. (2022). Effects of Episodic Exposure to High-pH Water on Survival of Atlantic Salmon Eggs and Juveniles: Results from Laboratory and Field Studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, <https://doi.org/10.1002/etc.5282>.
- Freyhof, J. (2014). *Alburnus derjugini*. *The IUCN Red List of Threatened Species*: e.T19018463A19222773. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T19018463A19222773.en>.
- Gadzala-Kopciuch, R., Berecka, B., Bartoszewicz, J. ve Buszewski, B. (2004). Some Considerations About Bioindicators in Environmental Monitoring. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(5): 453-462.
- Ghobadian, M., Nabiuni, M., Parivar, K., Fathi, M. ve Pazooki, J. (2015). Toxic effects of magnesium oxide nanoparticles on early developmental and larval stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122: 260-267. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.08.009>.
- Gjessing, M.C., Steinum, T., Olsen, A.B., Lie, K.I., Tavnornpanich, S., Colquhoun, D.J. ve Gjevre, A.G. (2017). Histopathological investigation of complex gill disease in sea farmed Atlantic salmon. *PLoS One*, 14(10):e0222926. 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222926>.
- Grover, P., Danadevi, K., Mahboob, M., Rozati, R., Saleha, B. ve Rahman, M. F. (2003). Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the comet assay. *Mutagenesis*, 18, 201–205. <https://doi.org/10.1093/mutage/18.2.201>.
- Güner, U. (2018). Selection of Experimental Aquatic Animals, Advantages and Disadvantages. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 8(3): 93-100. <https://doi.org/10.21597/jist.458599>.
- Herdman, R.C. (1995). Fish Passage Technologies: Protection at Hydropower Facilities, OTA- ENV-64, Washington.
- Hewlett, P.C. (2001). *Lea's chemistry of cement and concrete* (4th ed.). Oxford: Butterworth-Heinemann. p. 8. ISBN 0-340-56589-6.
- Hoffman D.J., Rattner B.A., Burton G.A.Jr. ve Cairns J.Jr. (2003). *Handbook of Ecotoxicology*, 2nd ed. (Boca Raton, FL: Lewis Publishers, CRC Press). <https://doi.org/10.1201/9781420032505>.
- İlhan, A. ve Sarı, H.M. (2016). Marmara Gölü'ndeki (Manisa) *Vimba vimba* (Eğrez) populasyonunun bazı biyolojik özellikleri. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2(2):59-65. <https://doi.org/10.17216/LimnoFish-5000178467>.
- İzci, B., Selek, M. ve Berber, S. (2020). Akuaponik Sistemde Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus*) ve Nane (*Mentha piperita*) Yetiştiriciliği. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(1), 30-36.

- Javed, M. ve Usmani, N. (2012). Toxic effects of heavy metals (Cu, Ni, Fe Co, Mn, Cr, Zn) to the haematology of *Mastacembelus armatus* thriving in Harduaganj Reservoir, Aligarh, India. *Global Journal of Medical Research*.12:59–64.
- Jonczyk E. ve Gilron G. (2005). Acute and chronic toxicity testing with *Daphnia* sp. In: Blaise C. and Férard J.-F. (eds.), Small-scale Toxicity Testing for freshwater Environments, *Kluwer Academic/Plenum Publishers*, 337–394. https://doi.org/10.1007/1-4020-3120-3_11.
- Karaman, GS. ve Pinkster, S. (1977). Freshwater Gammarus species from europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea-Amphipoda). Part I. *Gammarus pulex*-group and related species. *Bijdragen Tot De Dierkunde*, 47(1), 97 pp. <https://doi.org/10.1163/26660644-04701001>.
- Khan, M.A.Q., M. ve Khan, A. (2008). Effect of temperature on waterflea *Daphnia magna* (Crustacea:Cladocera). *Nature Precedings*, <https://doi.org/10.1038/npre.2008.1909.1>.
- Kocabaş, M., Başçınar, N., Kutluyer, F. ve Aksu, Ö. (2013). HES’ler ve Balıklar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (1): 128-131.
- Kottelat, M. ve Freyhof, J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin. 646 pp.
- Kunz, P.Y., Kienle, C. ve Gerhardt, A. (2010). *Gammarus* spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 205:1-76. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1.
- Kurtoğlu, İ.Z., Kayış, Ş., Ak, K., Gençoğlu, S., Düzgün, A., Ulutaş, G. ve Er, A. (2016). Histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sturgeon (*Acipenser baerii*) exposed to sublethal concentrations of cement, *FreseniusEnvironmental Bulletin*, 25: 2998-3002.
- La, G.H., Choi, J.Y., Chang, K.H., Jang, M.H., Joo, G.J.ve Kim, H.W. (2014). Mating Behavior of *Daphnia*: Impacts of Predation Risk, Food Quantity, and Reproductive Phase of Females. *PLoS ONE*, 9(8): e104545. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104545>.
- Law, D.W., Setunge, S., Adamson R. ve Dutton, L. (2013). Effect of leaching from freshly cast concrete on pH. *Magazine of Concrete Research*, 65(15), 889–897. <http://dx.doi.org/10.1680/mac.12.00169>.
- Lee, Y.L. ve Hur J.W. (2005). Acute Toxicity of Cement on Mortality of Pond Smelt (*Hypomesus olidus*). *Korean Journal of Environmental Biology*, 23(1), 89-92.
- Lee, S.W., Kim, S.M. ve Choi, J. (2009) Genotoxicity and ecotoxicity assays using the freshwater crustacean *Daphnia magna* and the larva of the aquatic midge *Chironomus riparius* to screen the ecological risks of nanoparticle exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28 (2009) 86–91.

<https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.03.001>.

- Leight, A.K., ve Van Dolah, R.F. (2009). Acute toxicity of the insecticides endosulfan, chlorpyrifos, and malathion to the epibenthic estuarine amphipod *Gammarus palustris* (Bousfield). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 5, 958–964. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180521>.
- Li Z.H., Velisek J., Zlabek V., Grabic R., Machova J., Kolarova J. ve Randak T. (2010a). Hepatic antioxidant status and hematological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after chronic exposure to carbamazepine. *Chemico-Biological Interactions*, 183, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.09.009>
- Li Z.H., Zlabek V., Velisek J., Grabic R., Machova J., Kolarova J. ve Randak T. (2010b). Antioxidant responses and plasma biochemical characteristics in the freshwater rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after acute exposure to the fungicide propiconazole. *Czech Journal of Animal Science*, 56 (2): 61–69. <https://doi.org/10.17221/35/2010-CJAS>.
- Lindhorst-Emme, W. (1990). *Forellenzucht*. Verlag Paul Parey. 157 s. Hamburg und Berlin.
- Loeb, S.L. (1994). *Biological Monitoring of Aquatic Systems*. CRC Press. ISBN 0-87371-910-7.
- Loomis, T.A. (1978). *Essentials of Toxicology*, 3rd edition, Philadelphia, Lea and Febiger, pp.157-232.
- Luna, L.G. (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Blakiston Division, New York, ABD, McGraw-Hill Co., 3rd edition, 258pp.
- Marinovic, Z., Miljanovic, B., Urbanyi, B. ve Lujic, J. (2021). Gill Histopathology as a Biomarker for Discriminating Seasonal Variations in Water Quality. *Applied Sciences*, 11(20):9504. <https://doi.org/10.3390/app11209504>.
- Matsumoto, Ken-ichi, Hosokawa, M., Kuroda, K. ve Endo, G. (2009). Toxicity of agricultural chemicals in *Daphnia magna*, *Osaka City Medical Journal*, 55(2):89-97.
- Maoxiao, P., Bo, Y., Xiaojun, L., Donghong, N., Tianyi, L., Zhiguo, D. ve Jiale, L. (2018). Effects of Alkalinity and pH on Survival, Growth, and Enzyme Activities in Juveniles of the Razor Clam, *Sinonovacula constricta*. *Frontiers in physiology*, 9, 552. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00552>.
- Montanha, F.P., Fredianelli, A.C., Wagner, R., Sacco, S.R., Rocha, D.C.D. ve Pimpão, C.T. (2014). Clinical, biochemical and haemathological effects in *Rhamdia quelen* exposed to cypermethrin. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*, 66 (3). <https://doi.org/10.1590/1678-41625934>.

- Moore, P.D., Yedjou, C.G. ve Tchounwou, P.B. (2010). Malathion-induced oxidative stress, cytotoxicity and genotoxicity in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Environmental Toxicology*, 25, 221-226.
- Neal, R.A. ve Doull, J. (1995). The Discipline of Toxicology. *Toxicological Sciences*, 24, (2), 151–153. <https://doi.org/10.1093/toxsci/24.2.151>.
- Nickens, K.P., Petierno, S.R. ve Ceryac, S. (2010). Chromium genotoxicity: a double-edged sword. *Chemico-Biological Interactions*, 188, 276-288.
- OECD, (2004). *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test, OECD Guideline for the testing of chemicals, Guideline 202.
- Omer, N. H. , (2019). 'Water Quality Parameters', in K. Summers (ed.), Water Quality - Science, Assessments and Policy, IntechOpen, London. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89657>.
- Ogueji, E.O., Nwani, C.D., Mbah, C.E. ve Nweke, F.N. (2019). Acute hematological toxicity of ivermectin to juvenile *Clarias gariepinus*. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 101(3-6), 300-314. <https://doi.org/10.1080/02772248.2019.1691554>.
- Özbek, M. (2011). An overview of the Gammarus Fabricus (Gammaridae: Amphipoda) species of Turkey, with an updated checklist. *Zoology in the Middle East*, 53: 71–78. <https://doi.org/10.1080/09397140.2011.10648863>.
- Özcan, U. ve Güngör, S. (2019). Sürdürülebilir Bir Yöntem/Betonda Puzolan Kullanımı. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (15), 176-182.
- Qiu T., Xie P., Guo L. ve Zhang D. (2009): Plasma biochemical responses of the planktivorous filter-feeding silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) to prolonged toxic cyanobacterial blooms in natural waters. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27, 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.12.001>.
- Pamila, D., Subbaiyan, P.A. ve Ramaswamy, M. (1991). Toxic effect of chromium, and cobalt on *Sarotherodon mossambicus* (peters). *Indian Journal of Environmental Health*, 33: 218-224.
- Park, J.Y., Lee, Y.J., Jun, K.W., Baeg, J.O. ve Yim, D.J. (2006). Chemical synthesis and characterization of highly oil dispersed MgO nanoparticles. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 12(6): 882-887.
- Persoone, G. ve Janssen, C. R. (1993). Fresh water invertebrate toxicity tests. In: Hand book of ecotoxicology. Ed. by P. Calow. Blackwell Sci. Pub. Newyork, 1, 51-53. <https://doi.org/10.1002/9781444313512.ch4>.
- Persoone, G., Baudo, R., Cotman, M., Blaise, C., Thompson, K.Cl., Moreira-Santos, M., Vollat, B., Törökne, A. ve Han, T. (2009). Review on the acute *Daphnia magna* toxicity test – Evaluation of the sensitivity and the precision of assays

- performed with organisms from laboratory *cultures* or hatched from dormant eggs. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 393, 01. <https://doi.org/10.1051/kmae/2009012>.
- Peters, R.H. ve De Bernardi, R. (1987). *Daphnia*. Consiglio nazionale delle recherches. Istituto italiano di, idrobiologia, Verbania Pallanza.
- Pietrzak, B., Bednarska, A. ve Grzesiuk, M. (2010). Longevity of *Daphnia magna* males and females. *Hydrobiologia*, 643:71–75. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0138-6>.
- Pritchard, J.B. (1993). Aquatic toxicology: past, present, and prospects. *Environmental health perspectives*, 100, 249–257. <https://doi.org/10.1289/ehp.93100249>.
- Rahanandeh, M. ve Rahanandeh, M. (2020). Practical effect of calcium oxide and sodium chloride on the control and treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* in Gold fish (*Carassius auratus*) farms. *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 6(1): 44-53. <https://doi.org/10.29252/ijaah.6.1.44>.
- Rand, G.M. (1995). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Second Edition, ISBN 1-56032-090-7.
- Reddy, P.M. ve Bashamohideen, M.D. (1989). Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 17 (1): 101-107. <https://doi.org/10.1002/aheh.19890170116>.
- Rodrigues, P., Silvestre, J.D., Flores-Colen, I., Viegas, C.A., Ahmed H.H., Kurda, R. ve de Brito, J. (2020). Evaluation of the Ecotoxicological Potential of Fly Ash and Recycled Concrete Aggregates Use in Concrete, *Applied Sciences*, 10(1):351 <https://doi.org/10.3390/app10010351>.
- Sahiti, H., Bislimi, K., Dalo, E. ve Murati, K. (2018). Effect of water quality in hematological and biochemical parameters in blood of common carp (*Cyprinus carpio*) in two lakes of Kosovo. *NEsciences*, 3(3): 323-332. <https://doi.org/10.28978/nesciences.468987>.
- Samis, S. (1983). Toxicity of portland cement to salmonid fish, Report, D. Mcleay & Associates Ltd. West Vancouver, B.C. V7t J.88., Water Quality Unit Habit at Management Division Fisheries and Oceans Canada.
- Saygi, Ş. (2003). Deneysel Toksikolojide Toksikite Testleri ve Test Sonuçlarının Önemi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 45(3):291-298.
- Subotić, S., Višnjić-Jeftić, Ž., Bojović, S., Đikanović, S., Krpo-Četković, J. ve Lenhaedt, M. (2021). Seasonal variations of macro-, micro-, and toxic elements in tissues of vimba bream (*Vimba vimba*) from the Danube River near Belgrade, Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15073-0>.

- Sutcliffe, D.W., Carrick, T.R. ve Willoughby, L.G. (2006). Effects of diet, body size, age and temperature on growth rates in the amphipod *Gammarus pulex*. *Freshwater Biology*, 11(2):183–214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1981.tb01252.x>.
- Svobodova, Z., Lloyd, R. ve Vykusova, J.M.B. (1993). Water quality and fish health. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Tahiluddin, A.B. ve Terzi, E. (2021). A Review of Reported Bacterial Diseases and Antibiotic Use in Tilapia Culture in the Philippines. *Acta Natura et Scientia*, 2(2), 141-147. <https://doi.org/10.29329/actanatsci.2021.350.08>.
- Taylor, H.F.W. (1997). *Cement Chemistry*. Thomas Telford Publishing, 2nd edition, ISBN: 0 7277 2592 0, 469p. <https://doi.org/10.1680/cc.25929>.
- T.C. Resmi Gazete, (2015). Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. 29327 Mükerrer, 15.04.2015.
- Terzi, E. ve Verep, B. (2012). Effects of water hardness and temperature on the acute toxicity of mercuric chloride on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Industrial Health*, 28(6), 499–504. <https://doi.org/10.1177/0748233711416943>.
- Teunen, L., Jonge, M.D., Malarvannan, G., Covaci, A., Belpaire, C., Focant, J.F., Blust, R. ve Bervoets, L. (2021). Effect of abiotic factors and environmental concentrations on the bioaccumulation of persistent organic and inorganic compounds to freshwater fish and mussels. *Science of The Total Environment*, 799,149448. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149448>.
- Tsujimoto, M., Kajikawa, Y., Tomita, J. ve Matsumoto, Y. (2008). A review of the ecosystem concept — Towards coherent ecosystem design, *Technological Forecasting and Social Change*, Volume 136, 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2017.06.032>.
- Tyagi, V.K., Chopra, A.K., Durgapal, N.C. ve Kumar, A. (2007). Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of Toxicity and Treatment efficacy of Municipal Sewage Treatment Plant. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.*, 11 (1) 61 – 67. <https://doi.org/10.4314/jasem.v11i1.46835>.
- Väinölä, R., Witt, J.D.S., Grabowski, M., Bradbury, J.H., Jazdzewski, K. ve Sket, B. (2008). Global diversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 241–255. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9020-6>.
- Vidya, P.V. Asifa, K.P. ve Chitra, K.C. (2016). Effect of silica-nanoparticles (SiO₂-NPS) on oxygen consumption in freshwater fish, *Oreochromis mossambicus* (PETERS, 1852). *Journal of Global Biosciences*, 5(1): 3611-3614.
- Vidya, P.V. ve Chitra, K.C. (2018). Sublethal effects of silicon dioxide nanoparticles on the structure of gill, liver and brain tissues in the fish, *Oreochromis*

mossambicus (Peters, 1852). *International Journal of Applied Research*, 4(4): 228-232.

Villegas, A., Navarro M., Rodríguez Santiago, F., Ruiz Pérez, R., Rodríguez Torres, T., Dieck Abularach, J. ve Reyes, L. (1997). Determination of LC₅₀ from *Daphnia magna* in treated industrial waste waters and non-treated hospital effluents. *Environment International*, 23, 4, 535-540. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(97\)00059-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(97)00059-7).

Wilhelm, F.M. (2009). Pollution of Aquatic Ecosystems I. En G. E. Likens (Ed.), *Encyclopedia of Inland Waters* (pp. 110-119). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012370626-3.00222-2>.

Witeska, M., Kondera, E., Luggowska, K. ve Bojarski, B. (2022). Hematological methods in fish – Not only for beginners. *Aquaculture*, 547, 737498. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>.

Xu, C., Fan, Y., Zhang, X., Kong, W., Miao, W. ve Li, Q. X. (2020). DNA damage in liver cells of the tilapia fish *Oreochromis mossambicus* larva induced by the insecticide cyantraniliprole at sublethal doses during chronic exposure. *Chemosphere*, 238, 124586. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124586>.

Yandı, İ., Kayış, Ş. ve Er, A. (2017). Histopathological Effects of Etiological and Non-Etiological Agents in Some Fish Gills. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(1a), 995-1000.

Yaji, A., Iheanacho, S. ve Egueji, E. (2018). Sublethal Exposure and Toxicity Effect of Propanil on Hematology and Serum Biochemistry in *Oreochromis niloticus* in a Static Bioassay. *Gazi University Journal of Science*, 31(4): 1048-1062.