

T.C  
RİZE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AMONYAK VE NİTRİT'İN MELEK BALIĞI (*Pterophyllum  
scalare*) ÜZERİNE AKUT TOKSİSİTESİ VE ERİTROSİT  
MORFOLOJİSİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Abidin KÜÇÜKAĞTAŞ**

**Tez Danışmanı: Yrd.Doç. Dr. Ramazan SEREZLİ**

**RİZE-2012**

T.C  
RİZE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

AMONYAK VE NİTRİT'İN MELEK BALIĞI (*Pterophyllum  
scalare*) ÜZERİNE AKUT TOKSİSİTESİ VE ERİTROSİT  
MORFOLOJİSİNE ETKİSİ

Abidin KÜÇÜKAĞTAŞ

YÜKSEK LİSANS

Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce  
“Su Ürünleri Yüksek Mühendisi” Ünvanı  
Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 01.11.2011

Tezin Savunma Tarihi : 15.11.2011

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Ramazan SEREZLİ

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Şevki KAYIŞ

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Fatih YILMAZ

Rize 2012



## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince, tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların yürütülmesinde ve sonuçların yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ramazan SEREZLİ'ye, ayrıca laboratuvar uygulamalarında kıymetli katkıları ve her konuda desteklerinden dolayı Arş. Gör. Fatma DELİHASAN SONAY, Arş. Gör. Hazel GÖKBULUT ve Kimyager İsmail AKSU'ya ve istatistik analizlerde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. İlhan YANDI hocama teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca beni bugünlere getirmek için büyük emek sarf eden özverileriyle ve varlıklarıyla en büyük desteğim olan çok değerli annem Nigar Küçükağtaş ve rahmetli babam Sefer Küçükağtaş başta olmak üzere ailemin bütün üyelerine sonsuz teşekkür ederim.

Abidin KÜÇÜKAĞTAŞ

Kasım 2011

## İÇİNDEKİLER

|   | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| ÖNSÖZ .....   | I               |
| İÇİNDEKİLER .....   | II              |
| ÖZET .....  | IV              |
| ABSTRACT .....  | V               |
| SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....   | VI              |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....   | VII             |
| TABLolar DİZİNİ .....   | VIII            |
| 1. GENEL BİLGİLER .....   | 1               |
| 1.1. Giriş .....  | 1               |
| 1.2. Sularda Amonyak Oluşumu ve Sucul Canlılarda Toksik Etkileri .....        | 2               |
| 1.3. Amonyak ve Amonyak Döngüsü .....   | 4               |
| 1.4. Sularda Amonyak Oluşumu.....   | 6               |
| 1.5. Amonyakın Balıklarda Toksik Etkileri .....                               | 8               |
| 1.6. Sularda Nitrit Oluşumu .....   | 10              |
| 1.6.1. Nitritin Balıklarda Toksik Etkileri .....                              | 11              |
| 1.6.2. Nitritin Uzaklaştırılması.....   | 12              |
| 1.7. Melek Balıklarında Amonyak Toksisitesi Üzerine Yapılmış Çalışmalar ..... | 12              |
| 1.7.1. Bazı Balık Türlerinde Amonyak Toksisitesi Çalışmaları .....            | 12              |
| 1.8. Balıklarda Toksik Maddelerin Dokular Üzerine Etkisi .....                | 16              |
| 1.9. Dokularda Oluşan Hasarların Doku Kesiti ile Belirlenmesi .....           | 17              |
| 1.9.3. Balıklarda Solungaç Yapısı .....                                       | 18              |
| 1.10. Melek Balığı ( <i>Pterophyllum scalare</i> ) .....                      | 20              |
| 2. MATERYAL VE METOT .....  | 22              |
| 2.1. Balık .....  | 22              |
| 2.2. Deneme Düzenegi .....  | 22              |
| 2.3. Amonyak ve Nitrit Hazırlanması .....                                     | 23              |
| 2.3.1. Amonyak ve Nitrit Analizi .....  | 24              |
| 2.3.2. Amonyak Tayini (Fenat Metodu) .....                                    | 24              |
| 2.3.3. Nitrit Tayini .....  | 25              |

|   | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|---|------------------------|
| 2.4. LC <sub>50</sub> Değerlerinin Belirlenmesi .....                             | 27                     |
| 2.5. Kan Frotilerinin Boyanması ve Hücre Büyüklüklerinin Belirlenmesi .....       | 27                     |
| 2.6. Kesit Alınması ve Kesitlerin Boyanması .....                                 | 28                     |
| 2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizler .....                   | 28                     |
| 3. BULGULAR .....   | 29                     |
| 3.1. Amonyanın Melek Balıkları Üzerine Etkisi ve LC <sub>50</sub> Değerleri ..... | 29                     |
| 3.2. Nitritin Melek Balıkları Üzerine Etkisi ve LC <sub>50</sub> Değerleri .....  | 30                     |
| 3.3. Eritrosit Ölçümleri .....  | 30                     |
| 3.4. Solungaç Lameli Kesitleri .....  | 34                     |
| 4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....  | 36                     |
| KAYNAKLAR .....   | 39                     |
| ÖZGEÇMİŞ .....  | 45                     |

## ÖZET

Amonyak ve nitrit suda yaşayan canlılar için toksik maddelerdir. Su Ürünleri yetiştiricilerinin birçoğu bu gerçeği göz ardı ettiklerinden, üretimde kayıplarla ve gelişme bozuklukları ile karşı karşıya kalırlar. Bu çalışmada, akvaryum balığı yetiştiricileri için önemli bir tür olan melek balığına (*Pterophyllum scalare*, 1.54±0.3 g) amonyak ve nitritin solungaç üzerindeki toksik ve histopatolojik etkileri araştırılmıştır.

Toksikolojik testlerde amonyak konsantrasyonu 90, 95 ve 100 mg/L, nitrit konsantrasyonu 10, 15, 20 ve 30 mg/L olarak uygulanmıştır. 24, 48, 72 ve 96 saat sonunda balıkların %50'sini (LC<sub>50</sub>) öldüren doz Probit analizi ile belirlenmiştir. Bunun yanı sıra amonyak ve nitritin eritrosit büyüklüğüne, solungaç lameline etkileri incelenmiştir.

Çalışma sonucunda amonyağın melek balıkları için 24, 48, 72, 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri sırası ile 0.99, 0.75, 0.65 ve 0.58 mg/L; nitrit için ise 29.38, 12.30, 7.98 ve 6.28 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Amonyak ve nitritin histopatolojik olarak melek balıklarının solungaç lamellerinde ödem oluşumuna, lamellerden epitelyumların ayrılmasına, lamellerin birbirine yapışmasına, epitel hücrelerde hiperplaziye neden olduğu belirlenmiştir. Yapılan kan sürme froti incelemelerinde oval olan eritrositlerin büyüklüğü (eritrositin ve çekirdeğinin büyüklüğü) uzun ve kısa eksen olarak ölçülmüş ve değerlendirilmiştir. Amonyak veya nitritle maruz bırakılan balıkların eritrosit morfolojilerinin değiştiği, bu değişikliğin kontrol grubundan istatistiksel olarak da farklı olduğu (P<0.05) belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Amonyak, Nitrit, Melek balığı, Histopatoloji, Akut Toksik Test,

*Pterophyllum scalare*

## ABSTRACT

Ammonia and nitrite are toxic materials for aquatic organisms. Many aquaculturists, who ignore this reality, come across with production losses and development disorders. In this study, toxic and gill histopathological effects are investigated to angel fish (*Pterophyllum scalare*, 1.54±0.3 g) which is important species to aquarium fish culturists.

In toxicological tests, ammonia concentrations of 90, 95 and 100 mg/L, and nitrite concentrations of 10, 15, 20 and 30 mg/L were used. Probit analysis were used to determine lethal concentration (LC<sub>50</sub>) for Angel fish which exposed to ammonia and nitrite for 24, 48, 72 and 96 hours. In addition the effect of ammonia and nitrite effects to the red blood cells size and gill filaments were investigated.

As a result of the study, 24, 48, 72 and 96 hours LC<sub>50</sub> values of ammonia for angel fish were determined as 0.99, 0.75, 0.65 and 0.58 mg/L; and nitrite values were calculated as 29.38, 12.30, 7.98 and 6.28 mg/L. respectively

It is determined that ammonia and nitrite causes edema, epithelial lifting, lamellar fusion and hyperplasia in the epithelial histopathologically in angel fish gill lamellae. In the examination of blood smear, red blood cells was determined oval shaped (erythrocytes and its nuclei size), and their sizes were measured and evaluated as long and short axes. It is also determined that erythrocyte morphology, which is exposed to ammonia and nitrite, had changed and this change was different from each other, statistically (P<0.05).

**Key Words:** Ammonia, Nitrite, Angel Fish, Histopathology, Acute Toxicity Test, *Pterophyllum scalare*

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                              |  |
|------------------------------|--|
| %                            | : yüzde konsantrasyon                                    |
| °C                           | : celcius  |
| Ca                           | : kalsiyum   |
| Cl <sup>-</sup>              | : klorür   |
| cm                           | : santimetre   |
| CO <sub>2</sub>              | : karbondioksit  |
| g                            | : gram   |
| H <sup>+</sup>               | : hidrojen   |
| H <sub>2</sub> O             | : su   |
| L                            | : litre  |
| Mg                           | : magnezyum  |
| mg/L                         | : Litrede 1 miligram                                     |
| µg                           | : mikrogram  |
| mM                           | : milimolar  |
| N <sub>2</sub>               | : azot gazı  |
| Na                           | : sodyum   |
| O <sub>2</sub>               | : suda çözülmüş oksijen                                  |
| NH <sub>3</sub>              | : iyonize olmamış amonyak                                |
| NH <sub>3</sub> -N           | : iyonize olmamış amonyak azotu                          |
| NH <sub>4</sub>              | : iyonize olmuş amonyak (amonyum)                        |
| NH <sub>4</sub> Cl           | : amonyumklorür  |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | : nitrat   |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | : Nitrit   |
| NaNO <sub>2</sub>            | : Sodyum Nitrit  |
| OH <sup>-</sup>              | : Hidroksit  |
| pH                           | : H iyonu konsantrasyonunun 10 tabanında ( - ) logaritmi |
| LC <sub>50</sub>             | : Organizmaların %50'sini öldüren konsantrasyon          |
| TAN                          | : Toplam amonyak azotu                                   |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|---|------------------------|
| Şekil 1. Bir Balık Havuzunda Azot Döngüsü .....             | 7                      |
| Şekil 2. pH /Amonyak/Sıcaklık İlişkisi .....                | 9                      |
| Şekil 3. Balıklarda Solungaç Yapısı .....                   | 19                     |
| Şekil 4. Melek Balığı ( <i>Pterophyllum scalare</i> ) ..... | 20                     |
| Şekil 5. Çalışmanın Yürütüldüğü Deney Düzeneği .....        | 22                     |
| Şekil 6. Nitrit Analizinde Kimyasal Reaksiyon .....         | 25                     |
| Şekil 7. Eritrosit Ölçümü .....                             | 28                     |
| Şekil 8. Melek Balığı Eritrosit ve Çekirdekleri .....       | 31                     |
| Şekil 9. Eritrosit Uzun Eksen Uzunluğu .....                | 31                     |
| Şekil 10. Eritrosit Kısa Eksen Uzunluğu .....               | 32                     |
| Şekil 11. Çekirdeğin Uzun Eksen Uzunluğu .....              | 33                     |
| Şekil 12. Çekirdeğin Kısa Eksen Uzunluğu .....              | 34                     |
| Şekil 13. Melek Balıklarında Kontrol Grubu .....            | 35                     |
| Şekil 14. Nitrite Maruz Melek Balıklarında Hiperplazi ..... | 35                     |
| Şekil 15. Amonyğa Maruz Melek Balıklarında Hiperplazi ..... | 35                     |

## TABLULAR DİZİNİ

|   | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Tablo 1. Su Ürünleri Yetiştiricilik Sistemlerinde Başlıca Azot Formları .....             | 4               |
| Tablo 2. Değişik pH ve Sıcaklıklarda Sulu Çözeltilerde Zehirli Amonyak Miktarları...      | 6               |
| Tablo 3. Bazı Balık Türlerinde Amonyakın Zamana Bağlı LC <sub>50</sub> Değerleri .....    | 10              |
| Tablo 4. Bazı Balık Türlerinde Zamana Bağlı Nitrit Azotu LC <sub>50</sub> Değerleri ..... | 12              |
| Tablo 5. Deneyde Kullanılan Stoklardaki Amonyak ve Nitrit Miktarları .....                | 23              |
| Tablo 6. Kalibrasyonun Oluşturulması .....  | 24              |
| Tablo 7. Hazırlanan Standart Nitrit Çözeltileri .....                                     | 26              |
| Tablo 8. Çalışmada Elde Edilen Amonyak LC <sub>50</sub> Değerleri .....                   | 29              |
| Tablo 9. Çalışmada Elde Edilen Amonyak LC <sub>50</sub> Değerleri .....                   | 30              |

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Sularda amonyak genellikle organik kökenli olarak bulunur. Organik maddelerin ve özellikle proteinlerin parçalanması amonyak oluşumuna neden olur. Balık yetiştiriciliğinde amonyağın başlıca kaynağı balık yemi ve sindirim atıklarıdır. Yem, balıklar tarafından alındıktan sonra enerji sağlanması, besleyici maddelerinin ayrılması, için metabolize olur. Bu normal metabolik işlemler sonunda üretilen atıkların başında amonyak yer alır. Eser miktarlardaki amonyak, kokusuz ve renksizdir. Bu nedenle üreticinin amonyağın varlığını belirlemesinin tek yolu, suyun teste tabi tutmasıdır (Emre ve Kürüm, 2007).

Modern balık yetiştiricilik sistemlerinin ekonomik olmasının temel koşulu olan yoğun stoklama sonucu, balıkların amonyak ve nitrit başta olmak üzere yüksek konsantrasyonlarda azotlu atıklara maruz kalma olasılıkları artmaktadır (Tomasso 1994). Azotlu ürünler ise farklı hayvan gruplarında boşaltım, asit-baz dengesi, osmoregülasyon gibi değişik fizyolojik fonksiyonlarda son ürün olarak karşımıza çıkmaktadır (Wright 1995). Buna ilaveten ortalama %25 civarındaki (% 11-36) azotlu ürün, yemlerle ya da organik ve inorganik gübreler gibi diğer besleyicilerle de ortama katılabilmektedir (Hargreaves 1998).

Atmosferden köken alan ve havanın yaklaşık %80'ini oluşturan azot, suda amonyak, amonyum, nitrat, nitrit ve organik azot gibi birçok değişik formda bulunabilir. Bunlar içerisinde amonyak, çözülmüş oksijenden sonra yetiştiriciliği sınırlandıran ikinci en önemli su kalite parametresidir (Lawson 1995). Balığın azotlu boşaltım ürünlerinde %60'dan 80'e kadar bulunabilen amonyak, protein katabolizmasının son ürünüdür (Salin ve Williot 1991).

Sularda, organik (evsel ve tarımsal atıklar vb.) ya da inorganik kökenli (endüstriyel atıklar, bitki kökenli vb) olabilen amonyak, pH ve sıcaklık arasındaki dengeye bağlı olarak iki formda bulunur. Bunlar iyonize olmamış ( $\text{NH}_3$ ) ve iyonize olmuş (amonyum- $\text{NH}_4^+$ ) amonyak formlarıdır (Svobodova ve ark., 1993). Organizmaların hücre duvarları amonyum iyonuna karşı geçirgen olmamasına karşın, iyonize olmamış amonyak ( $\text{NH}_3$ ), solungaç membranından kolayca geçebilmesinden dolayı daha toksiktir (Russo 1985, Weirich ve ark., 1993; Serezli, 2011). Bu nedenle birçok balık türü üzerinde amonyak toksisitesinin neden olduğu etkilerin saptanması yanında, amonyağa etkisi olan pH,  $\text{O}_2$ , Na, Ca, sıcaklık

ve tuzluluk gibi su kalite parametreleri de dikkate alınarak birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğu amonyağın farklı balık türlerinde LC<sub>50</sub> değerinin saptanması (Hasan ve Machintosh 1986; Daud ve ark., 1988; Salin ve Williot 1991; Anonymous 1998), balıkların büyümesi (Wajsbrodt ve ark., 1993; Ruyet ve ark., 1997; Küçük 1999), bazı kan parametreleri (Dabrowska ve Wlasow 1986; Salin ve Williot 1991; Knoph ve Olsen 1994; Knoph ve Thorud 1996; Das ve ark., 2004), hormon düzeyleri (Jeney ve ark., 1992a; 1992b) ve histolojik olarak dokulara etkisinin incelenmesi (Kirk ve Lewis 1993; Wajsbrodt ve ark., 1993; Peyghan ve Takamy 2002) şeklindedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda toksik bir maddenin balık popülasyonları üzerinde oluşturacağı olumsuz durumların erken tespitinin, kan parametreleri ve histopatolojik incelemeler sonucu elde edilebildiği ve toksikolojik çalışmaların tüm dünyada bu yöne kaymış olduğu belirtilmektedir (Svobodova ve ark., 1994; Metcalfe 1998; Wester ve ark., 2004; Miracle ve Ankley, 2005).

## **1.2. Sularda Amonyak Oluşumu ve Sucul Canlılarda Toksik Etkileri**

Amonyak, sularda organik kirliliğin oluşması ve balıkların metabolik atıkları sonucu olarak ortaya çıkar. Kimyasal formülü NH<sub>3</sub> olan bu madde, hidrojen iyonları ile bağ yapabilme özelliği sayesinde, sularda genellikle iyonize (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) olarak bulunur. Amonyakın hidrojen ile iyonize olmuş haline amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) denir. Amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) iyonize olmamış amonyağa (NH<sub>3</sub>) göre çok daha az zehirleyicidir. İyonize olmamış amonyak (NH<sub>3</sub>) ise, vücuttaki protein ve nükleik asit yıkımını içeren biyokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan son üründür (Verbeeten ve ark., 1999) ve balıkların solungaç hücrelerinden doğrudan geçebilen en tehlikeli azotlu bileşiktir.

İntensif balık yetiştiriciliğinde suda amonyak miktarının artması; balığın büyüme ve üremesinde azalmaya (Russo ve Thurston, 1991), serebral enerji metabolizmasında bozukluklara, özellikle solunum fonksiyonu bozukluklarına (Buckley ve ark., 1979; Thurston ve ark., 1986; Wajsbrodt ve ark., 1993), karaciğer, böbrek dokularında zararlara, denge kaybı, koma ve sonunda ölümlere neden olabilmektedir (Twitchen ve Eddy 1994; Redner ve Stickney, 1979).

Biyolojik azot döngüsünün ilk basamağı olan amonyak bazı özel bakteri kolonileri tarafından ve özel şartlarda nitrit ve nitrata dönüştürülür. Nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) tatlı su ekosistemlerinde nitrojen döngüsünü doğal tamamlayıcı bileşenidir (Lewis ve Morris 1986; Philips ve ark., 2002; Jensen 2003). Bu anyon, amonyak ve nitrat arasında

oksidasyon sonucu oluşan ara form olup, organik maddelerin bozunmasından bir ürünüdür (Lewis ve Morris 1986; Stumm ve Morgan 1996).

Suda amonyak, iyonize olmamış amonyak ile iyonize amonyum ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) halinde bulunur ve bunların ikisine birden toplam amonyak denir. Toplam amonyağın etkisi ise azot üzerinden yorumlandığından, verilen değer toplam amonyak içindeki azot miktarıdır ve bu toplam amonyak azotu (TAN) olarak ifade edilir. Alkali sularda ( $\text{pH} > 7$ ) hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) iyonları, sıcaklığa bağlı olarak, daha az toksik olan amonyumdan hidrojen iyonu olarak, toksik olan iyonize olmamış amonyak ( $\text{NH}_3$ ) moleküllerini oluşturur. Asidik sularda ( $\text{pH} < 7$ ) ise serbest hidrojen iyonları  $\text{NH}_3$  ile bağ yaparak amonyumu ( $\text{NH}_4^+$ ) meydana getirir (Serezli, 2011).

İyonize olmamış amonyak ve iyonize amonyak denge halindedir, biri artarken diğeri azalmaktadır. Bu değişim yukarıda da belirtildiği gibi öncelikle pH'nın etkisi altındadır. PH değerinin bir kademe artması (örneğin pH'nın 7'den 8'e çıkması) bile, çok toksik olan iyonize olmamış amonyak ( $\text{NH}_3$ ) miktarının yaklaşık on kat artmasına neden olur. Yapılan bir çalışmada pH'ı 6.5 olan bir balık tankında, 0.7 mg/L TAN değeri, balıklarda ancak ölüme neden olurken, pH'ı 8.5 olan diğer bir tankta ise 0.1 mg/L oranında bir amonyum bile ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra sıcaklıkla birlikte iyonize olmamış amonyak miktarı artmaktadır. Örneğin sıcaklığın  $10^\circ\text{C}$ 'den  $20^\circ\text{C}$ 'ye çıkması, iyonize olmamış amonyak miktarını iki kat artırır. Bunun aksine tuzluluk iyonize olmamış amonyak miktarını azaltan bir etkendir. Oksijen azalması da iyonize olmamış amonyağın etkisini artırır (Thurstone ve Russo, 1981; Howell ve Baynes, 2004; Serezli, 2011).

Her türün amonyağa karşı dayanıklılığı farklıdır. Balıklarda sık solunum ve ani renk solması amonyak zehirlenmesinin işareti olabilir ve az miktarda amonyak balıklarda öldürücü olmasa bile gelişme bozuklukları, yumurta veriminin azalması gibi sorunlara yol açabilir. Bu yüzden yüksek pH'lı tanklarda amonyum çok iyi bir biyolojik filtrasyon ile ya da kimyasal olarak yok edilmelidir. Organik kirliliğin akvaryumdan uzaklaştırılabilmesi için sık sık temizlenebilen mekanik ön filtre ve dip temizliği çok faydalıdır. Ayrıca bitkiler amonyumu besin olarak tüketirler ve böylece amonyak oluşumu engellenmiş olur. Özellikle hızlı çoğalabilen *Lemna minor* gibi yüzey bitkileri çok başarılı amonyum tüketicisidirler. Bu nitrifikasyonu sağlayan floranın olmaması doğal sulardaki nitritin çok miktarda birikmesine neden olabilmektedir (Russo, 1985; Serezli, 2011).

### 1.3. Amonyak ve Amonyak Döngüsü

Azot canlı yapısının temel elementlerinden birisidir ve canlı materyallerin kuru ağırlıklarının %5'ini azot oluşturmaktadır (Horne ve Goldman 1994). Azotun çoğunluğu proteinlerde amino asitler olarak bulunur ve canlıların besininin vazgeçilmez bir bileşenidir. Canlı bünyesinin yanı sıra besin maddelerinde ve ölü organizmalarda bulunan azot, doğada, atmosfer-su sisteminde azot siklusu (çevrimi, döngüsü) denilen bir döngü içinde sürekli bir dolanım halindedir. Bu nedenle azot bileşiklerinin su kirliliği açısından önemli bir kilit rolü vardır. Bunların başında ötrifikasyon, oksijen bilançosunun etkilenmesi ve içme sularındaki toksikolojik sorunlar gelir. Su ortamında bulunan azot bileşiklerini azot, organik azot, iyonize olmamış amonyak (zehirli amonyak), iyonize olmuş amonyak (amonyum), toplam amonyak, nitrit ve nitrat oluşmaktadır (Erkoç ve ark., 2010), (Tablo 1).

Tablo 1.Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde başlıca azot formları (Lawson, 1995)

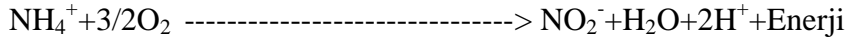
| Form                            | Sembol  | Sucul Ortamdaki Rolü   |
|---------------------------------|---|--|
| Azot                            | N <sub>2</sub>                                | Etkisiz gazdır. Atmosferden su içine ve dışına hareket eder, önemi yoktur.   |
| Organik azot         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

Sulardaki çözünmüş azot; algler ve bakteriler tarafından nitratlara dönüştürülür. Nitratın bir bölümü özümleme yardımıyla bitkisel proteine çevrilir. Bir kısım nitrat ise, nitrat çözücü bakteriler tarafından önce nitrit, sonra da amonyak formuna dönüştürülür. Bitkisel proteinlerin bir bölümü, ölüm sonucunda çürükçül bakteriler aracılığıyla orta ürün denilen büyük parçalara ve oradan da amonyağa dönüştürülür. Bitkisel proteinlerin diğer bölümü ise, bitkisel canlılarla beslenen hayvanların bünyelerinde hayvansal proteine dönüşmektedir. Hayvansal proteinin de, ölüm sonucu, çürükçül bakteriler tarafından önce orta ürüne, sonra da amonyağa çevrilmektedir. Amonyagın bir bölümü, önce oksijenli ortamda *Nitrosomas* bakterileri tarafından nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), ortamda oluşan nitrit daha sonra *Nitrobakter* bakterileri tarafından nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) dönüştürülür (Nitrifikasyon). Amonyagın

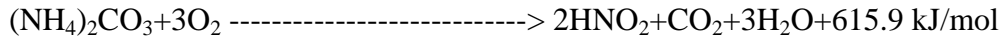
diğer bölümü de, indirgen bakteriler tarafından çözümlenerek sudaki çözülmüş azotu oluşturmaktadır. Çözülmüş azot, nitratlara dönüştürülerek bitki bünyesine katılmaya, başka bir deyişle bitkisel protein oluşturmaya hazır duruma gelmektedir. Bu dolaşım, su içinde kesintisiz bir biçimde devam etmekte ve böylece sistemdeki denge bozulmamaktadır (Göksu 2003).

Azot döngüsü sırasında nitrifikasyon reaksiyonları büyük önem taşır. Nitrifikasyon ototrof iki bakteri türü tarafından gerçekleştirilir. Bunlardan nitrit bakterileri diye isimlendirdiğimiz nitrosomonas grubu bakteriler amonyumu nitrite dönüştürür. *Nitrosomonas* türleri; aerob ve ototrof olup, optimum yaşam koşulları pH 8-9, sıcaklık 25-30°C'dir. *Nitrobacter* türleri; Optimum yaşama koşulları pH 7.6-8.6, sıcaklık 25-28°C arasındadır (Uslu ve Türkman 1987).

*Nitrosomonas*

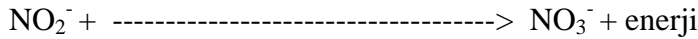


*Nitrosomonas*

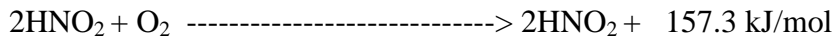


*Nitrosomonas* tipi bakteriler organik karbondan yoksun su ortamlarında yaşarlar. Bu nedenle amonyak oksidasyonu ancak karbonlu madde oksidasyonunun tamamlanmış olduğu ortamlarda gerçekleşir. Nitrat bakterileri diye isimlendirilen *Nitrobacter* grubu ise nitriti nitrata dönüştürür (Wezernak ve Gannon 1967).

*Nitrobacter*



*Nitrobacter*



*Nitrobacter* de *Nitrosomonas* gibi organik karbonun bulunmadığı ortamlarda yaşayabilmektedir. Ayrıca bu bakteriler, amonyum tuzlarının bulunduğu koşullarda yaşayamadığından amonyum azotu nitrite dönüşmeden faaliyete geçmemektedirler. Yukarıdaki reaksiyonlarda görüldüğü gibi amonyumun nitrite yükseltgenmesinde 1g NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N için 3.43 g O<sub>2</sub>, nitritin nitrata yükseltgenmesinde ise 1 g NO<sub>2</sub>-N için 1.4 g O<sub>2</sub> gerekmektedir (Wezernak ve Gannon 1967).

#### 1.4. Sularda Amonyak Oluşumu

Amonyak balıkta proteinlerin bozulmasında en önemli son üründür. Balık beslenme esnasında proteinleri sindirir daha sonra solungaçları ve ortama bıraktığı dışkıyla amonyağı dışarı atar. Balık tarafından dışarı atılan amonyak miktarı havuza ya da kültür sistemine alınan besin miktarıyla orantılıdır. Yani besin miktarı arttıkça dışarı atılan amonyak miktarı da artar. Amonyak aynı zamanda tüketilmemiş besin ya da ölü alg ve su bitkileri gibi organik maddelerin ayrışmasıyla bakteriler aracılığıyla havuza girer (Durborov ve ark., 1997a).

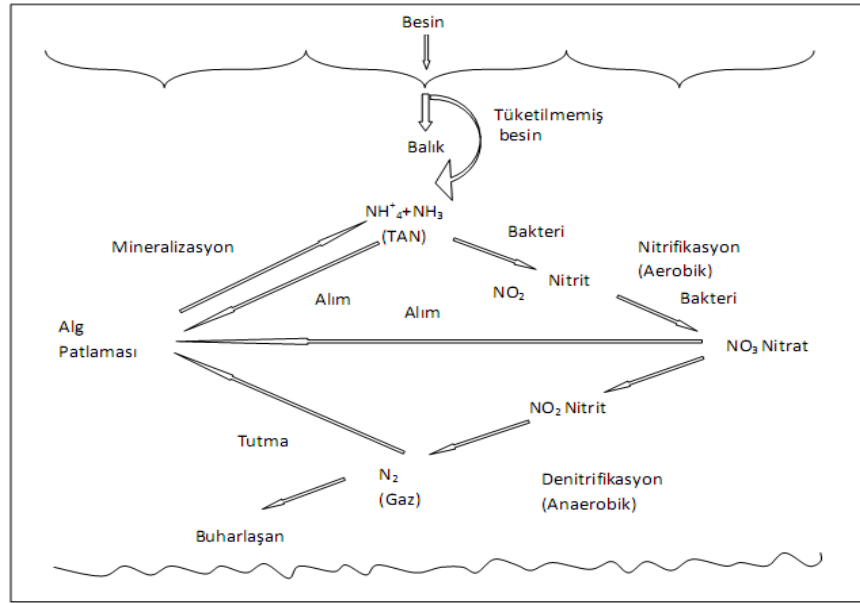
Toplam amonyak azotu (TAN) zehirli (iyonize olmamış) ve zehirli olmayan (iyonize olmuş) amonyaktan ( $\text{NH}_4^+$ ) oluşur. TAN'ın sadece bir kısmı zehirli amonyak olarak ortaya çıkar ve bu zehirli amonyakla zehirli olmayan amonyak arasında bir denge oluşur ( $\text{H}^+ + \text{NH}_3 \leftrightarrow \text{NH}_4^+$ ; Durborov ve ark., 1997a; Serezli, 2011). Zehirli formun içindeki TAN oranı sıcaklığa ve sudaki pH miktarına göre artar. Bir birim pH arttığında, zehirli amonyak miktarı yaklaşık 10 kat artar. Havuzdaki zehirli olan amonyak miktarı su kalite test kitiyle TAN ölçülerek ve daha sonra su sıcaklığına ve pH'a dayanan Tablo 2 üzerindeki zehirli formun içinde yer alan TAN bölümüne bakılarak hesaplanabilir. Bu bölüm su içinde mevcut olan zehirli amonyak konsantrasyonunu (mg/L veya ppm) hesaplayabilmek için TAN ile çarpılır. Örneğin; Su pH'ı 8.6 su sıcaklığı  $30^\circ\text{C}$  ve TAN 3 mg/L ise 0.73 mg/L zehirli amonyak elde etmek için 3 mg/L ile 0.2422 çarpılır (Durborov ve ark., 1997a).

Tablo 2. Değişik pH ve sıcaklıklarda sulu çözeltilerde zehirli amonyak miktarları (Emerson ve ark., 1975)

| SICAKLIK ( $^\circ\text{C}$ ) |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| pH                            | 6     | 8     | 10    | 12    | 14    | 16    | 18    | 20    | 22    | 24    | 26    | 28    | 30    |
| 7.0                           | .0013 | .0016 | .0018 | .0022 | .0025 | .0029 | .0034 | .0039 | .0046 | .0052 | .0060 | .0069 | .0080 |
| 7.2                           | .0021 | .0025 | .0029 | .0034 | .0040 | .0046 | .0054 | .0062 | .0072 | .0083 | .0096 | .0110 | .0126 |
| 7.4                           | .0034 | .0040 | .0046 | .0054 | .0063 | .0073 | .0085 | .0098 | .0114 | .0131 | .0150 | .0173 | .0198 |
| 7.6                           | .0053 | .0063 | .0073 | .0086 | .0100 | .0116 | .0134 | .0155 | .0179 | .0206 | .0236 | .0271 | .0310 |
| 7.8                           | .0084 | .0099 | .0116 | .0135 | .0157 | .0182 | .0211 | .0244 | .0281 | .0322 | .0370 | .0423 | .0482 |
| 8.0                           | .0133 | .0156 | .0182 | .0212 | .0247 | .0286 | .0330 | .0381 | .0438 | .0502 | .0574 | .0654 | .0743 |
| 8.2                           | .0210 | .0245 | .0286 | .0332 | .0385 | .0445 | .0514 | .0590 | .0676 | .0772 | .0880 | .0998 | .1129 |
| 8.4                           | .0328 | .0383 | .0445 | .0517 | .0597 | .0688 | .0790 | .0904 | .1031 | .1171 | .1326 | .1495 | .1678 |
| 8.6                           | .0510 | .0593 | .0688 | .0795 | .0914 | .1048 | .1197 | .1361 | .1541 | .1737 | .1950 | .2178 | .2422 |
| 8.8                           | .0785 | .0909 | .1048 | .1204 | .1376 | .1566 | .1773 | .1998 | .2241 | .2500 | .2774 | .3062 | .3362 |
| 9.0                           | .1190 | .1368 | .1565 | .1782 | .2018 | .2273 | .2546 | .2836 | .3140 | .3456 | .3783 | .4116 | .4453 |
| 9.2                           | .1763 | .2008 | .2273 | .2558 | .2861 | .3180 | .3512 | .3855 | .4204 | .4557 | .4909 | .5258 | .5599 |
| 9.4                           | .2533 | .2847 | .3180 | .3526 | .3884 | .4249 | .4618 | .4985 | .5348 | .5702 | .6045 | .6373 | .6685 |
| 9.6                           | .3496 | .3868 | .4249 | .4633 | .5016 | .5394 | .5762 | .6117 | .6456 | .6777 | .7078 | .7358 | .7617 |
| 9.8                           | .4600 | .5000 | .5394 | .5778 | .6147 | .6499 | .6831 | .7140 | .7428 | .7692 | .7933 | .8153 | .8351 |
| 10.0                          | .5745 | .6131 | .6498 | .6844 | .7166 | .7463 | .7735 | .7983 | .8207 | .8408 | .8588 | .8749 | .8892 |
| 10.2                          | .6815 | .7152 | .7463 | .7746 | .8003 | .8234 | .8441 | .8625 | .8788 | .8933 | .9060 | .9173 | .9271 |



Fitoplanktonlar tarafından sudan alınan amonyak miktarı balıklarla etkileşimde olan amonyak miktarıyla ters orantılı olarak değişir. Sudan amonyak alımını sağlayamayan alg nüfusunun ve havuzdaki alg nüfusunun azalmasından dolayı amonyak miktarı sonbaharda ve kışın azalır. Buna ek olarak, daha düşük su sıcaklığı aerobik bakteriyel aktiviteyi yavaşlatır ve böylece nitrifikasyon sürecindeki bu yavaşlama vasıtasıyla amonyak zararsız nitrite dönüştürülür (Şekil 1). Yavaş yavaş ölen alg yüksek miktardaki amonyak konsantrasyonlarına da yol açabilir. Fakat algin gözden kaybolması ile bağlantılı olan düşük pH mevcut olan zehirli amonyak oranını azaltır (Durborov ve ark., 1997a).



Şekil 1. Bir balık havuzunda azot döngüsü (Durborov ve ark., 1997a).

Bir kaç günü aşkın sürede balığı öldürebilme gücüne sahip olan zehirli amonyağın tehlikeli ve kısa süreli düzeyleri yaklaşık 0.6 mg/L'de başlar. 0.06 mg/L kadar düşük zehirli amonyak seviyesine maruz kalma solungaç ve böbrek hasarına, büyümede yavaşlamaya, olası beyin bozukluklarına ve balığın oksijen taşıma kapasitesinin azalmasına yol açabilir (Durborov ve ark., 1997a).

Balıklar çoğunluğu azotlu olmak üzere amonyak ve amonyum iyonlarını solungaç ve dışkı yoluyla ana boşaltım ürünü olarak ortama bırakır. Yüksek çözünürlük ve küçük moleküler boyutu nedeniyle, amonyak son derece hızlı yayılır. Su ile temas halinde olan herhangi bir yüzey üzerinde kayıp olabilir ve böbrek tarafından dışarı atılmasına gerek yoktur. Amonyak inorganik azotun en zehirli şeklidir. Azot metabolizmasının diğer ürünleri (üre ve kreatin) daha küçük miktarlarda üretilir, deri ve solungaçlar vasıtasıyla idrarla dışarı atılabilir. Amonyagın bir kısmı karaciğerde üretilir ve kan vasıtasıyla

solungaçlara taşınır fakat bazıları da aminoasit plazma deaminasyonu tarafından solungaçlarda kendi kendilerine üretilmiş olabilirler. Spotte (1979), amonyak atım mekanizmasını ve eyleme geçirilmiş zehir etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. İyonize olmamış amonyağın en zehirli şekli olan amonyak toksisitesi büyük ölçüde amonyum iyonlarının hidrolizi üzerindeki etkileri yoluyla pH tarafından kontrol edilir. İyonlaşmamış amonyak oranı amonyak ve amonyum iyonlarının konsantrasyonlarını gösteren denklem aşağıda belirtilmiştir (Spotte, 1979).

$$PUIA = \frac{[NH_3]}{([NH_3] + [NH_4^+])}$$

Bu oran büyük ölçüde konsantrasyonlardan elde edilen sabit  $K_a^S$ 'i ve dengeyi etkileyen pH, sıcaklık ve tuzluluk tarafından etkilenir (Spotte, 1979).

$$K_a^S = \frac{[NH_3][H^+]}{[NH_4^+]}$$

pH verilen sıcaklık ve tuzlulukta pH'tan ve bu sabitten hesaplanabilen PUIA üzerinde en büyük etkiye sahiptir (Spotte, 1979).

$$PUIA = \left[1 + \text{antilog}(pK_a^S - pH)\right]^{-1} \quad pK_a^S = -\log K_a^S$$

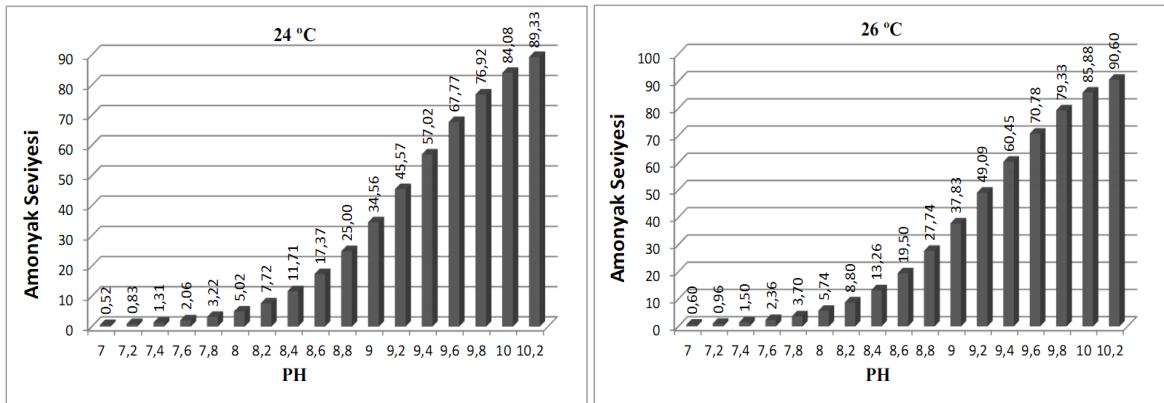
### 1.5. Amonyağın Balıklarda Toksik Etkileri

Amonyağın toksisitesi, onun kimyasal haline bağlıdır. Genellikle  $NH_3$  konsantrasyonu  $NH_4^+$  (amonyum) şeklinde olmalı ve 0.1 ppm'den fazla olmamalıdır. Çözünmüş oksijen ve pH amonyağın toksisitesini etkileyen iki faktördür. Amonyağın sadece iyonize olmayan şekli balıklar için zehirli olduğundan pH önemlidir. İyonize  $NH_3$ , yani  $NH_4^+$  doku bariyerlerini geçemediğinden dış ortamlardan balıkların organizmasına giremez. Bir doku bariyerinin iki tarafındaki iyonlaşmamış  $NH_3$  konsantrasyonu suyun pH'ına bağlıdır. Hücre dışı sıvısı (su) ile hücre içi sıvısı (kan) arasında bir denge yoksa, yani her iki sıvının pH'ı değişirse  $NH_3$  konsantrasyonunda bariyerin her iki tarafında bir kayma olur. Alabalıklar pH=7'de amonyağa daha dayanıklı iken pH 8'e yükseldikçe nispeten daha dayanıklıdır (Mutluay ve Demirak, 1996).

Amonyumun aksine amonyak, balıklar için çok zehirlidir. Amonyum iyonu, su canlıları için önemli bir zehir değildir. Ancak, amonyak çok küçük miktarlarda bile oldukça önemli zehirlenmelere neden olmakta ve balıklarda önemli etkiler yapmaktadır. Özellikle, mukus tabakası başta olmak üzere solungaç ve bağırsaklar etkilenmektedir.

Amonyak zehirlenmesine uğramış balıkların çeşitli organlarında yoğun kanamalar gözlenmektedir. Balıklar, nadiren 1.2 mg/L konsantrasyonun üzerindeki amonyak değerlerine dayanabilmektedirler. Genel olarak, amonyağın 1.0 mg/L konsantrasyon değeri, ergin balıklar için öldürücü etki yapmaktadır. Bu kriter küçük balıklar için 0.6 mg/L, yavru balıklar için de 0.2 mg/L olarak kabul edilmektedir (Göksu, 2003)

Sulardaki amonyak miktarı pH ve sıcaklıkla değişmektedir. Amonyagın su ürünlerine zehir etkisi de azalıp çoğalabilmektedir. Örneğin, amonyağın balıklara olan toksik etkisi tuzluluk, çözülmüş oksijen ve karbondioksit miktarlarındaki artışlar paralelinde, ters orantılı olarak azalmaktadır. Diğer taraftan, pH ve sıcaklıktaki artışlarda, toksik formdaki amonyak oranı ve amonyağın zehir etkisi aynı oranda artmaktadır. Amonyak miktarına pH'nın etkisinin, sıcaklığın etkisinden daha fazla olduğu bildirilmektedir. Sularda pH'nın bir birim artışına karşılık, iyonize olmamış amonyak miktarı 10 kat artmaktadır (Durborow ve ark., 1997a).



Şekil 2. pH /amonyak/sıcaklık ilişkisi (Emerson ve ark., 1975' den uyarlanmıştır)

Amonyagın pH ile olan ilişkisini irdelendiğinde aralarında logaritmik bir ilişki olduğu görülmektedir. Şöyle ki, sudaki amonyak miktarları, pH ile logaritmik olarak azalmakta, örneğin pH 8.5'dan 6.5'a düştüğünde, etkisi 100 kat azalmaktadır (Stickney, 1991). Amonyak, çok düşük miktarlarda bile toksik etki yapmaktadır.

Serbest amonyak, organizmalar için çok tehlikeli bir zehirdir. Kimyasal olarak serbest amonyak, bağlı amonyağın serbest hale geçmesiyle oluşur. Bağlı amonyağın serbest hale geçmesinde, ortamın pH değeri önemli rol oynamaktadır. Şöyle ki, ortamın pH'sı 7 iken, amonyak tamamen serbest hale geçmektedir (Göksu, 2003).

Kronik amonyak toksisite üremeyi zayıflatmaktadır (yumurtlamada gecikmeler ve yumurta canlılığını azaltır). Uzun dönemde (1 hafta-3 ay) 0.002-0.15 gibi düşük amonyak

konsantrasyonlarına maruz kalan genç balıklarda iştah kaybına neden olur ve balıkların büyümesini engelleyebilir (Walstad, 1999).

Balıkların amonyağa duyarlılığı türlere göre değişmektedir. Örneğin; gökkuşağı alabalıklarında letal amonyak konsantrasyonları 0.2-1.1 mg/L daha az hassas kanal kedi balıkları için bu değer 1.8-3.8 mg/L, levreklerde 0.28 mg/L, senegal dil balığında 1.32 mg/L arasında bulunmuştur. Tilapia balıkları ise, 5-11 arasında pH ve 2,4 mg/L amonyak konsantrasyonuna dayanıklılık gösterirler (Ross, 2000).

Tablo 3. Bazı balık türlerinde amonyağın zamana bağlı LC<sub>50</sub> değerleri

| Tür  | Literatür | Zaman (saat) | Miktar (mg/L NH <sub>3</sub> -N) |
|--|-----------|--------------|----------------------------------|
| Kalkan Balığı ( <i>Psetta maxima</i> )           | (1)       | 96           | 2.5                              |
| Levrek Balığı ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )    | (1)       | 96           | 1.7                              |
| Atlantik salmonu ( <i>Salmo salar</i> )          | (2)       | 24           | 0.28                             |
| Kardinal tetra ( <i>Paracheirodon axelrodi</i> ) | (3)       | 96           | 0.44                             |
| Kanal kedi balığı ( <i>Ictalurus punctatus</i> ) | (4)       | 96           | 1.6                              |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i>                       | (5)       | 96           | 0.3-0.6                          |
| <i>Odontesthes argentinensis</i>                 | (6)       | 96           | 0.76-0.96                        |
| <i>Cichlasoma facetum</i>                        | (7)       | 96           | 2.95                             |

- (1) Person-Le Ruyet, (2002)
- (2) Hellawell, (1986)
- (3) Oliveira ve ark., (2008)
- (4) Colt ve Tchobanoglous, (1976)
- (5) Haywood, (1983)
- (6) Ostrensky ve Brugger, (1992)
- (7) Piedras ve ark., (2006)

## 1.6. Sularda Nitrit Oluşumu

Nitrit, balıkların kültür ortamına, yemin sindirilmesinden sonra girer ve yüksek miktarlardaki azot amonyağa dönüştürülür ve amonyak suya dışkı olarak bırakılır. Toplam amonyak azotu (TAN; NH<sub>3</sub> ve NH<sub>4</sub>) daha sonra normal şartlar altında nitrite (NO<sub>2</sub>) dönüştürülür, nitrit ise hızlı bir şekilde doğal olarak oluşan bakteriler tarafından toksik olmayan nitrata (NO<sub>3</sub>) dönüştürülür. Balık tarafından alınmamış yem ve diğer organik matelyalde benzer bir yolla amonyak, nitrit ve nitrata parçalanır (Durborow ve ark., 1997b).

Su yüksek konsantrasyonlarda nitrit içerdiğinde balıklarda "kahverengi kan hastalığı" meydana gelir. Nitrit kan dolaşımına solungaçlar yoluyla girer ve kanın rengini çikolata

kahverengisine dönüştürür. Kanda oksijen taşımakla görevli olan hemoglobinin methemoglobini oluşturmak üzere nitritle birleşir, methemoglobinin ise oksijen taşıma kapasitesi yoktur. Kahverengi kan yeterli miktarda oksijen taşıyamaz ve bu durumdaki balık suda yeterli konsantrasyonda oksijen bulunmasına rağmen, solunum yetersizliğinden ölebilir. Oksijen düzeyleri nispeten yüksek olduğunda bile, kahverengi kan hastalığı olan balıklarda sık sık gözlenen ağız açma davranışı (nefes alma zorluğundan dolayı) bunun göstergesidir (Durborow ve ark., 1997b).

Nitrit problemlerinin kapalı devre ve yoğun kültür sistemlerinde, yetersiz, etkisiz ya da verimli çalışmayan filtrasyon sistemlerinden dolayı görülme olasılığı daha yüksektir. Havuzlardaki yüksek nitrit konsantrasyonları daha sık olarak sonbahar ve ilkbaharda sıcaklık dalgalanmaları meydana geldiğinde, azalan plankton ve/veya bakteriyel aktivite sebebiyle nitrojen döngüsünün durmasıyla sonuçlandığında meydana gelir. Havuzlardaki plankton aktivitesindeki azalma (daha düşük sıcaklıklar, besin azalması, kapalı hava, herbisid uygulamaları, vs) algler tarafından daha az amonyağın asimile edilmesiyle sonuçlanabilir ve böylece nitritleyici bakteri yükünde artışla sonuçlanabilir (Durborow ve ark., 1997b).

Eğer mevcut nitrit düzeyleri yüksek miktarlarda olursa, bakteriler hızlı bir şekilde nitrata dönüştürebilir ve böylece kahverengi kan hastalığı riski oluşur. Su değişim oranları yüksek olan ya da iyi bir filtrasyon sağlanan sistemlerde nitrit nadiren problem teşkil etmesine rağmen, sistemler yıl boyunca izlenmeli ve gerekli durumlarda kahverengi kan hastalığı nedeniyle ciddi ekonomik kayıpların meydana gelmesini önlemek için müdahale edilmelidir (Durborow ve ark., 1997b).

### **1.6.1. Nitritin Balıklarda Toksik Etkileri**

Bazı tür balıklar yüksek nitrit konsantrasyonlarına dirençlidir (büyük ve küçük ağızlı levrek (*Micropterus salmoides*, *Micropterus dolomieu*), mavi solungaç (*Lepomis macrochirus*) ve yeşil güneş balığı (*Lepomis cyanellus*). İzmaritler nitritin solungaçlarına girmesini son derece etkin bir şekilde engelleyebilir. Ancak, yayın balıkları ve tilapialar nitrite oldukça duyarlıdır. Alabalıklar ve diğer soğuksu balıkları ise son derece düşük miktarlardaki nitrite duyarlıdır. Altın balık ve iri başlı küçük balıkların (*Carassius auratus* ve *Pimephales promelas*) yüksek nitritten kaynaklanan kahverengi kan hastalığına olan hassasiyetleri yayın balıkları ve levreklerin hassasiyetleri arasında tekabül etmektedir. Çizgili levrek ve bunun hibridlerinin nitrite duyarlı olduğu görülür fakat diğer türlerle

kıyaslanan nispi duyarlılıkları hakkında çok az şey bilinmektedir (Durborow ve ark., 1997b).

Tablo 4. Bazı balık türlerinde zamana bağlı nitrit azotu LC<sub>50</sub> değerleri

| Tür  | Literatür | Zaman (saat) | Miktar (mg/L NO <sub>2</sub> -N) |
|--|-----------|--------------|----------------------------------|
| Gökkuşığı alabalığı ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) | (1)       | 96           | 0.24                             |
| Kanal kedi balığı ( <i>Ictalurus punctatus</i> )   | (1)       | 96           | 7.1                              |
| Mavi tilapia ( <i>Oreochromis aureus</i> )         | (1)       | 96           | 16                               |
| juvenile cobia ( <i>Rachycentron canadum</i> )     | (2)       | 96           | 210                              |
| Chinook salmon                                     | (3)       | 96           | 248                              |
| Kardinal tetra ( <i>Paracheirodon axelrodi</i> )   | (4)       | 96           | 1.1                              |

(1) Lewis ve ark., (1986).

(2) Saroglia ve ark., (1981).

(3) Crawford ve ark., (1977).

(4) Oliveira ve ark., (2008)

### 1.6.2. Nitritin Uzaklaştırılması

Bu, azota bağlı bir problem olduğu için en bariz koruma önlemi, tüketilen besinle sisteme giren azot miktarını azaltmak ya da minimize etmektir. Bununla birlikte, yoğun ve hızlı gelişim uygulanan modern intensif havuz sistemleri ya da kapalı sistem balık kültürlerinde uzun süre besinin düşük seviyelerde tutulması pek çok üretici tarafından uygulanabilir bir seçenek olarak görülmemektedir. Yüksek nitrit oluşumunu engellenememesine rağmen, nitritin etkileri güvenli ve ekonomik bir şekilde minimize ya da nötralize edilebilir (Durborow ve ark., 1997b).

### 1.7. Melek Balıklarında Amonyak Toksisitesi Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Yapılan literatür taramasında akvaryum balıklarında bazı çalışmaların yapıldığı belirlenmiştir (Oliveira ve ark., 2008; Voslářová ve ark., 2008; Cardoso ve ark., 1996) ancak melek balıkları ile ilgili herhangi bir amonyak ve nitrit toksisitesi ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır.

#### 1.7.1. Bazı Balık Türlerinde Amonyak Toksisitesi Çalışmaları

Speare ve Backman (1988), Kanada Ontario'da gökkuşığı alabalığı çiftliklerinde nisan mayıs aylarında suda amonyağın toksik düzeylere gelmesi (> 0.04 NH<sub>3</sub>-N mg/L) sonucu 48 saat içerisinde 450-500 g'lık 13000 pazarlık balıktan 4000'inin öldüğünü

bildirmiş, patolojik inceleme sonucu solungaç lamellerinde telangiektazi ve böbrekte kongesyona rastlamışlardır.

Kirk ve Lewis (1993), 2 saat süre ile 0.1 mg/L NH<sub>3</sub>'e maruz kalan gökkuşağı alabalığının solungaçlarında lamel deformasyonları belirlemişlerdir. Birçok balığın lamel yüzeyi tamamen, filament ve lamel epiteli ise yüzeysel olarak katlanmıştır. Aynı konsantrasyonda 24 saat sonunda ise filament üzerindeki 2 ya da 3 lamellerde telangiektazi görülmüştür. 0.5 mg/L NH<sub>3</sub>'e maruz kalmış solungaçların lamellerinde daha fazla kıvrılma ve katlanma meydana gelmiştir. 24 saat sonra epiteldeki deformasyonlar daha derin çukurlar şeklinde oluşmuştur. Ayrıca mukus ve klorit hücrelerde artma ile mukus hücrelerinde şekil bozukluğu saptanmıştır.

Vedel ve ark., (1998), gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) 4 gün boyunca 1.8, 5.4 ve 9 mg amonyak ve 13.8 ve 27.6 mg nitrite maruz bırakmışlardır. 9 mg amonyak ve 27.6 mg nitrite maruz kalan grupta plazma NH<sub>3</sub>, sudaki NH<sub>3</sub> artışı ile artmıştır. En yüksek amonyak konsantrasyonuna maruz kalan alabalıklarda ise hematokrit konsantrasyonlarında geçici artış saptanmıştır.

Thurston ve ark., (1981) tarafından yapılan çalışmada 8 gün subletal NH<sub>3</sub> konsantrasyonlarına (0.019-0.037 mg/L) maruz kalan salmon (*Salmo salar*) balıklarında kan glukoz seviyesi % 30 oranında artmıştır (Anonymous 1998).

Ruyet ve ark., (1997) tarafından 14, 23 ve 104 g ağırlıktaki genç kalkan (*Scophthalmus maximus*) yavrularında 4-6 hafta süresince 16.5-17.5°C su sıcaklığında, 7.92-8.03 pH'da ve %80 O<sub>2</sub> doygunluğunda amonyağın etkileri araştırılmıştır. 0.4 mg/L NH<sub>3</sub>-N'na kadar mortalite oluşmazken, 28 günde LC<sub>50</sub> değeri 0.95 mg/L NH<sub>3</sub>-N olarak tahmin edilmiştir. Büyüme 0.8 mg/L NH<sub>3</sub>-N düzeyinde durmuştur. Uyum sağlamış küçük kalkanlarda, 0.4-0.5 mg/L NH<sub>3</sub>-N sınırına kadar büyük bir fizyolojik rahatsızlık gözlenmezken, büyük kalkan balıklarının amonyağa daha duyarlı olduğu saptanmıştır.

Ruyet ve ark., (1998), 40-520 g ortalama ağırlığındaki kalkan (*Scophthalmus maximus*) balıklarını 1.27-4.27 mmol/L arasında NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonlarına maruz bırakmış ve pH'ı 8.15'de sabit tutmuşlardır. 96 saat sonunda plazma TAN düzeyi, sudaki NH<sub>3</sub> konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olarak artarken, plazma Cl, K, Na değerlerinin kontrol grubundaki balıklara göre istatistik olarak değişmediğini saptamışlardır.

Sibirya mersin balıklarında (*Acipenser baeri*) yapılan çalışmada, 24 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri ağırlığı 60 mg olan balıklarda 1 mg/L, 10-270 g arasında olanlarda 1.7 mg/L ve ortalama 450 g olan balıklarda ise 2.5 mg/L olarak saptanmıştır. Bunun yanında serum K+

ve hematokrit konsantrasyonlarının amonyağa bağı olarak önemli ölçüde arttığı belirlenirken, solungaç lamellerinde hiperplazi, hipertrofi ve nekrozlar saptanmıştır (Salin ve Williot, 1991).

Cardoso ve ark., (1996), *Lophosilurus alexandri* larva (10 günlük, 0.02 g) ve alevinlerini (35 günlük, 0.41±0.11 g), 48 saat boyunca sırasıyla 0.99 ve 1.5 mg/L iyonize olmamış amonyak konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır. Deney sonunda larva ve alevinlerin solungaçlarında ışık mikroskobu altında branşiyal dokuda düzensizlik, hücre sel nekroz, mukus hücrelerinde hipertrofi, branşiyal epitelde ayrılma ve kopma, sekonder lamellalarda füzyon, kapilerde şişkinlik, epitel ve pillar hücrelerinde ayrılma; elektron mikroskopta ise mukus üretim artışı, sekonder lamellaların distal kenarlarında katlanma saptanmıştır.

Redner ve Stickney (1979), *Tilapia aureus* türü için 48 saatlik LC<sub>50</sub> değerini 2.40 mg/L NH<sub>3</sub>-N olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, 0.43-0.53 mg/L NH<sub>3</sub>-N'na maruz kalan mavi tilapia (*Tilapia aureus*) balıklarının solungaçlarında kongesyon, hemoraji ve telangiektazi (anevrizma)'ye rastlamışlardır.

Daud ve ark., (1988), Tayvan orijinli ortalama standart boyları 2.13±0.35 cm olan hibrit kırmızı tilapia yavrularında (*O. Mossambicus* x *O. niloticus*) iyonize olmamış amonyağın etkilerini araştırmışlar, 48, 72 ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 6.6, 4.07 ve 2.88 mg/L NH<sub>3</sub>-N olarak saptamışlardır. Eşik letal konsantrasyon ise 0.24 mg/L NH<sub>3</sub>-N olarak kaydedilmiştir. Ayrıca ölüm öncesinde balıkların solungaç filamentlerinde hemoraji saptanmıştır.

Küçük (1999), mavi tilapia (*Oreochromis aureus*) balıkları üzerinde yaptığı subletal amonyak toksisitesi çalışmasında ki histolojik incelemelerde amonyağa maruz kalmış balıkların solungaç lamellalarında hiperplazi, anevrizma ve hemoraji, karaciğerlerinde hidropik dejenerasyon saptanmıştır. Böbrek dokularında ise histopatolojik bir bulguya rastlanmamıştır.

Hasan ve Machintosh (1986), pullu sazan yavrularında amonyak toksisitesinin letal etkileri üzerine çalışmışlar; 48, 96, 168 saatlik LC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 1.76 (1.67– 1.85), 1.74 (1.65–1.84) ve 1.64 (1.53–1.76) mg/L NH<sub>3</sub>-N olarak bildirmişlerdir.

Malik ve ark., (1986), pullu sazan solungaç dokuları üzerinde letal ve subletal amonyağın etkilerini, kontrollü koşullar altında (pH 9, 20°C) 96 saat (250-1340 µg/L NH<sub>3</sub>) ve 28 gün (30-370 µg/L NH<sub>3</sub>) süre ile incelemişlerdir. 96 saat sonunda solungaç epitelinde şişkinlik, solungaç dokularında hücre dışı ödemler, telangiektazi, hipertrofi ve hiperplazi;



28 gün sonunda, 370 µg/L NH<sub>3</sub> konsantrasyonunda ise solungaçlarda hiperemi, telangiektazi ve pillar hücrelerde hasar saptamışlardır.

Yang ve Chun (1986), ortalama 5.96 g pullu sazanları, 72 saat süreyle farklı amonyak (10, 20 ve 30 mg/L TA-N), pH (6.5, 7, 7.5 ve 8) ve su sıcaklıklarına (20°C, 25°C ve 30°C'de) maruz bırakmışlardır. Deney sonrasında solungaç, karaciğer ve böbrekler histopatolojik olarak incelenmiştir. Su sıcaklığı, pH, ve amonyak konsantrasyonunu arttırmak bu üç organda hipertrofi ve nekroz gibi doku değişimlerine neden olmuştur. Su sıcaklığı ve pH'nın artması ile karaciğerde ağır vakuolasyon gözlenirken, böbrek hasarları 20°C'de pH 8'de 30 mg/L TA-N konsantrasyonunda görülmüştür.

Orban ve Tatrai (1987) üç gün süre ile ortalama ağırlıkları 2.4 g olan sazanlarla ortam suyuna 125, 375 ve 625 µg/L miktarlarında NH<sub>4</sub>Cl ilave ederek 20°C'de yaptıkları çalışmada, eşik tolerans limitini (en duyarlı organizmaların etkilenmeden yaşayabileceği konsantrasyon düzeyi) 125 ve 375 µg/L NH<sub>3</sub>-N arasında bulmuşlardır. Yavru havuzlarında 375 µg/L'nin üzerindeki NH<sub>3</sub> konsantrasyonlarında büyümede azalma kaydedilebileceğini bildirmişlerdir.

Weinstein ve Kimmel (1998) genç koi (*Cyprinus carpio*) balıklarında subletal amonyak konsantrasyonlarının davranışlar üzerinde yarattığı etkileri, kamera sisteminde gözlemişlerdir. Bu amaçla 0.04-0.08, 0.12-0.27 ve 0.4-0.8 mg/L NH<sub>3</sub> olmak üzere üç farklı amonyak konsantrasyon aralığı kullanmışlardır. Amonyak konsantrasyonunun artması ile birlikte balıklar önce tankın dibinde bir süre kalmış, daha sonra tankın yüksek kesimine yönelmişlerdir. 0.4-0.8 mg/L NH<sub>3</sub> konsantrasyonu aralığında balıklar su yüzeyinden hava yutmaya çalışmışlardır. Ayrıca sudaki NH<sub>3</sub> artışıyla birlikte balıklarda kan glukoz değerlerinin de arttığı, üçüncü gün sonunda en yüksek NH<sub>3</sub> konsantrasyondaki (0.4-0.8 mg/L) balıkların kan glukoz değerlerinin, kontrol balıklarından % 64.1 fazla olduğu saptanmıştır.

Peyghan ve Takamy (2002) pullu sazan balıklarında, 20-22°C'de 24 saat LC<sub>50</sub> değerlerini 12.3 mg/L TA-N (4.55 mg/L NH<sub>3</sub>-N) olarak saptamışlardır. Yapılan histopatolojik incelemeler sonucu solungaçlarda hiperemi, ödem ve anevrizma; böbrekte tubul ve glomerulide dejeneratif değişiklikler, Bowman kapsülünde genişleme, hiperemi, kongesyon ile hemoraji; karaciğerde hiperemi, dejenerasyon ve bazı nekrotik alanlar en yaygın görülen lezyonlar olarak belirlenmiştir.

Bir Hindistan sazan türü olan mrigal (*Cirrhinus mrigala*) fingerlinglerinde (13.5±1.43 g) yapılan statik akut ve subletal amonyak toksisite çalışmaları sonucunda bazı

hematolojik parametreler incelenmiştir. Akut deneyde 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri TA-N cinsinden 11.8 mg/L, NH<sub>3</sub>-N olarak ise 1.029 mg/L saptanmıştır. 96 saat süreyle yapılan statik subletal deneylerde ise 1, 2, 4, 8, 11.8 ve 16 mg/L TA-N konsantrasyonları kullanılmıştır. Deney sonunda TA-N konsantrasyonlarının artması ile birlikte toplam serum protein değerleri azalmış, kan glukoz değerleri ise artmıştır. Deneyde en yüksek konsantrasyon olan 16 mg/L TA-N'da toplam serum protein değerleri kontrol grubuna göre % 63 oranında azalırken, kan glukoz değerleri ise % 72 oranında artmıştır (Das ve ark., 2004).

Karasu-Benli (2006), subletal amonyak konsantrasyonlarının Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıkları üzerine. 20°C ve 25°C su sıcaklıklarında sırasıyla kontrol, 1, 2, 5, 10 mg/L TA-N ve kontrol, 0.5, 1, 2, 5 mg/L TA-N konsantrasyonlarına maruz bırakmıştır. Altı hafta süren deney sonunda Nil tilapia balıklarında ağırlık kazancı, mutlak büyüme, kondisyon faktörü istatistik olarak azalırken ( $p<0.05$ ), yem değerlendirme oranları artmış ( $p<0.05$ ), spesifik büyüme oranındaki azalma istatistik olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Deneylerde balıkların yaşama oranı % 100 olarak belirlenirken, deneyler boyunca amonyağa maruz kalan Nil tilapia balıklarının kontrol grubuna göre yem alımında azalma gözlenmiştir.

### **1.8. Balıklarda Toksik Maddelerin Dokular Üzerine Etkisi**

Balığın yetiştiricilik ortamında optimal koşullarda büyümesi ve gelişmesini sağlamak için suda kirletici olarak bilinen ve çoğunlukla balıklar için toksik olan maddelerin ya da ortama balık tarafından bırakılan metabolik atıkların (amonyak vb.) ayrıca yem, dezenfeksiyon, profilaktik ve tedavi amaçlı ortama katılacak maddelerin maksimum kabul edilebilir düzeylerinin bilinmesi gerekir. Yani kısacası maksimum kabul edilebilir düzey balık yetiştiriciliğinde su kalitesinin değerlendirilmesinde en temel ihtiyaçtır (Meade, 1985). Bu ihtiyacın giderilmesinde en temel yöntem kuşkusuz kronik toksisite deneyleri yapılarak sonuçların deney maddesinin kalıntısı ve balık dokusundaki histopatolojik bulguların değerlendirilmesidir. Çünkü yabancı maddeye karşı organizmanın ilk yanıtı hedef organ ve dokularda moleküler ve hücresel düzeylerde meydana gelmektedir (Lloyd 1992). Bu yanıt toksik maddeye maruz kalmanın birinci saatinden itibaren saptanabilmektedir (Metcalf, 1998).

Bir biyomarker olarak kullanılabilen histopatoloji, özellikle insanlarda yabancı maddelerin neden olduğu risk derecesini belirlemek amacıyla farelerle yapılan toksikolojik

çalışmalar sonucunda saptanması zorunlu ve kullanışlı bir yöntem olarak belirlenmiştir (Wester ve Canton 1991). Temeli toksik maddeye duyarlılık, hedef organ ve etki mekanizmasının şekline dayanır. Balıklarda yapılan toksikolojik çalışmalarda ise özellikle maddenin subletal konsantrasyonlarını belirlemek açısından histopatoloji önem taşımaktadır. Tüm diğer yöntemlerde olduğu gibi histopatolojinin de avantaj ve sınırları bulunmaktadır. Toksikolojik çalışmalarda en sağlıklı yöntem, organizmada oluşabilecek tüm yanıtların çok yönlü (histopatolojik, hematolojik, biyokimyasal etkileri vb.) olarak değerlendirilmesidir. Ancak tüm bu işlemlerin yapılması zaman ve maliyet gerektirmektedir. Bunun için genellikle en uygun yöntemin seçilmesi çok önemlidir. Hayvan dokularındaki histopatolojik bulgular çevresel stres yapan etkenlere maruz kalmanın öncelikli göstergeleridir (Teh ve ark., 1997).

### **1.9. Dokularda Oluşan Hasarların Doku Kesiti ile Belirlenmesi**

Her ne kadar biyokimyasal, fizyolojik ve histopatolojik özelliklerin birlikte değerlendirilmesi daha uygunsa da histopatolojik bulgular ani değişimler olmadığı için daha gerçek sonuçları yansıtmaktadır (Hinton ve Lauren 1990). Histopatoloji organların değerlendirilmesi ve spesifik hücre lezyon tiplerinin identifikasyonunda diğer yöntemlere göre daha hızlıdır. Yani histopatolojik bulgular subletal stres yapan etkenlere ortalama yanıt olarak belirir ve histoloji özellikle kronik çalışmalarda değişik doku ve organlarda etkinin araştırılmasında en hızlı metottur. Kısaca hiçbir teknik, histopatoloji kadar hızlı bir şekilde hasarın olduğu bir çok bölgeden örnek almaya olanak tanımamaktadır (Hinton ve Lauren 1990).

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

Histopatoloji saha çalışmalarında da en uygun metot olarak karşımıza çıkmaktadır. Doğada kolay yakalanamayan ya da yetiştiriciliği yapılamayan türlerde yapılan çalışmalarda balığın ölüm sonrası incelenmesinden dolayı histolojik analiz biyokimyasal analize göre daha avantajlıdır (Teh ve ark., 1997). Diğer yöntemlerin aksine, örneklerin histopatolojik olarak hemen incelenmesi gerekmemektedir. Uygun saklama yöntemi (balıklarda Bouin fiksatif ve % 10'luk nötral formalin önerilmektedir.) kullanılarak inceleme daha sonra gerçekleştirip tüm organ sistemleri değerlendirebilmektedir (Teh ve ark., 1997).

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

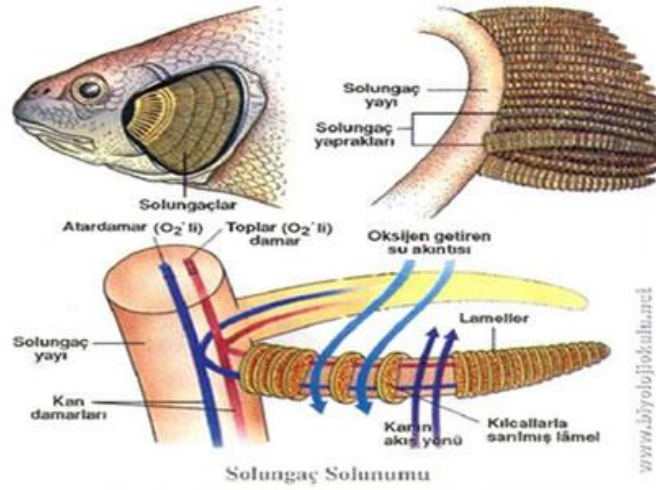
Eğer türün normal histolojik yapısı önceden bilinmiyorsa, histopatolojik deneylerde hata olabilmektedir (Hinton ve Lauren 1990). Histopatolojik çalışmanın gerçekleştirilmesinde canlı örneğin öldürülmesi gerekmektedir (Teh ve ark., 1997). Bilindiği gibi balıklarda kimyasal kontaminantlara maruz kalma sonucunda değişik organlarda lezyonlar oluşmaktadır. Nekropsi sonucunda çoğunlukla tüm organlar incelenmektedir. Ancak histopatolojik çalışmalarda su ortamıyla ilişkisi dolayısıyla solungaç, karaciğer, böbrek ve deri kirliliğin etkisini saptamada kullanılan en uygun hedef organlardır. Bu organlar akvatik kirlilik için primer indikatörlerdir. Özellikle solungaçlar, bilindiği gibi su kalitesinin aynası olarak görülmektedir. Deri de solungaçlarla birlikte mevcut (potansiyel) maddelerle doğrudan temasın gerçekleştiği yüzeylerdir. Karaciğer metabolizmada kilit rol oynarken, böbrek ise balığın iç ortamı ile su-tuz dengesinin stabilizasyonu, atılımı ve ksenobiotik (organizmaya yabancı maddeler) metabolizma için önemlidir (Hibiya, 1982; Bernet ve ark., 1999).

### **1.9.3. Balıklarda Solungaç Yapısı**

Solungaçlar, teleostlarda tipik olarak farenksin altında bulunan 4 çift holobranştan ibarettir. Her holobranşın, branşiyal yay ya da solungaç yayının posterior kenarında, iki hemibrans bulunur. Taze bir balık hemibransı yakından incelendiğinde primer lamella adı verilen bir dizi uzun kalın filamentten oluşur. Yay üzerinde tarak dişleri görünümündedir. Primer lamellanın yüzey alanı, dorsal ve ventral yüzeyinde düzgün yarım ay benzeri (semi lunar) sekonder lamella olarak adlandırılan oluşumlar bulunmaktadır. Her primer lamella üzerinde dorsal ve ventral sıralar halinde sekonder lamellalar düzenlenmiştir, böylece bitişik filamentin lamella sıraları boşlukları tamamlamaktadır (Roberts, 2001). Solungaç lamellasının yüzeyi basit skuamoz epitel hücrelerden ve yüzey boyunca paralel olan pillar hücrelerce ayrılmış birçok kapillerle kaplanmıştır. Pillar hücreler, kapillerlerden endotel hücrelerle ayrılır (Hibiya, 1982). Gaz değişimi sekonder lamella yüzeyinde meydana gelir. 9-10 µm aralıklarla dizilmiş pillar hücrelerle ayrılan bir kalın katman, destekleyici zarf gibi epitel hücrelerden oluşur. Pillar hücreler, amiplerde bulunan kontraktil (bükülebilir) protein benzeri sütunlar içerir. Kan, ventral aortadan doğrudan olarak yüksek basınçla gelirse, kontraktil elemanlar normal şartlar altında bu yüzeyleri genişleterek dayanmasına

hizmet eder. Ayrıca pillar hücrelerin daralması bükülebilmesi, gaz değişim yüzeylerinde kan akış oranının kontrolünde kullanılır. Pillar hücreler 0.5-4 µm arasındadır (Roberts, 2001).

Sekonder lamellanın bazı kısımlarında ve bazal epitelinde mukus hücreleri vardır. Klorit hücreler sekonder lamellanın tabanında yer alır. Genellikle deniz balıklarında, tatlısu balıklarına oranla daha fazladır. Sekonder lamellalar parazit, fiziksel ya da kimyasal etkenler tarafından çabuk etkilenir ve patolojik bulgular çok kısa bir sürede oluşur (Hibiya, 1982).



Şekil 3. Balıklarda solungaç yapısı

### 1.10. Melek Balığı (*P. scalare*)

Sistemattikteki Yeri:

Familya : Cichlidae

Alt familya : Cichlasomatinae

Genus : Pterophyllum

Tür : *Pterophyllum scalare*



Şekil 4. Melek Balığı (*P. scalare*)

Melek balıkları (*Pterophyllum scalare*) Amozon kökenli balıklar olup son derece zarif ve asil görünüşlü olmasından dolayı akvaryumların kraliçesi olarak betimlenmektedir. Melek balıkları (*Pterophyllum scalare*) hem bakımının diğer çiklit türlerine göre kolay olması hem de değişik vücut yapıları ve çeşitli renkleri olması nedeniyle çok tercih edilen bir türdür. Akvaryumlarda üretiminin de kolaylıkla gerçekleşmesi ve kısa aralıklarla çok sayıda yavru vermesi melek balıklarını hemen tüm akvaryum severin zorlanmadan satın alabilmesini sağlamaktadır. Genel yapı itibari ile uyumlu bir tür olması, çok özel su koşulları gerektirmemesi ve karma akvaryumlarda da rahatlıkla yaşatılabilmesi, melek balıklarını aranan bir balık yapmaktadır.

Melek balıkları ortalama 8-10 cm gövde boyuna ulaşırlar, ancak Tül kuyruk melek balıklarının burundan kuyruk sonuna kadar uzunluğu 30 cm'yi bulabilmektedir ayrıca melek balıkları 25 cm yüksekliğine ulaşmaktadır. Melek balığının yaşam süreleri 15 yıldan fazla olabilmektedir. (Url-1)

Melek balıkları Yavru iken aşırı hareketli ve meraklıyken erişkin boylara geldiklerinde daha sakin ve sabit hareket ederler. Yine ilk aylarında bir arada yüzen melekler, zamanla erişkin boylara ulaştıkça yanlarından diğer melekleri kovarlar. Uygun şartlar altında melek balıklarının gelişimlerini tamamlamaları 14 ile 18 ay arasındadır. Vücut gelişimlerini tamamlamadan, 10-12. aylarında eşleşebilir ve üreyebilirler. Esas olarak bu balıklara dıştan bakarak cinsiyetlerini ayırmak oldukça zordur. Ancak çift tuttuklarında cinsiyetleri ayırt edilebilmektedir. Erkek melek balıkları dişilere göre biraz daha büyük olurlar ve eğer varsa akvaryumdaki diğer meleklerle, özellikle de diğer erkek meleklerle, karşı saldırgan olabilirler.

Melek balığı (*P. scalare*) etçil bir balık olduğundan ağırlıklı olarak hayvansal yem ve canlı yemlerin her çeşidi verilebilir. Amazon kökenli oldukları için yumuşak ve düşük pH (6.5-7.0) değerlerine sahip sulara bakılmalıdır. Ancak melek balıkları çok farklı su koşullarında da sağlıklı olarak yetiştirilebilmektedirler. aylık %10-20 oranında su değişimi balıkların sağlıklı gelişimlerini ve hızlı büyümelerini destekler. Akvaryum ısısı 24-28 °C arasında olacak şekilde kış aylarında ısıtıcı kullanılmalıdır. Özetle melek balığı görünüşü kadar nazlı bir balık değildir. (Url-1)

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Balık

Bu çalışma, Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Ünitesi'nde yürütülmüştür. Deneylede ortalama standart boyları  $3.2\pm 0.03$  cm (2.2-4.1 cm), ortalama ağırlıkları  $1.54\pm 0.03$  g (0.83-2.55 g) olan toplam 500 adet melek balığı (*Pterophyllum scalare*) kullanılmıştır. Deneylede kullanılan melek balıkları (*P. scalare*) Su Ürünleri Fakültesi akvaryum ünitesinde üretilmiştir. Üretimde 6 çift melek balığı kullanılmıştır. Elde edilen yavrulardan sağlıklı, vücut yapısı düzgün ve aynı boy balıklar seçilmiş, 3-4 aylık yavrular denemede kullanılmıştır.

### 2.2. Deneme Düzenegi

Denemede 25 L kapasiteli cam akvaryumlar kullanılmıştır. Akvaryumlara 15 cm su seviyesi olacak şekilde su doldurulmuş ve böylece 15 L hacimde çalışma yürütülmüştür. Denemede şebeke suyu kullanılmış olup, bu su en az 48 saat dinlendirilmiştir. Denemeler  $24.5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  su sıcaklığında yürütülmüş, sıcaklığı sabit tutmak için akvaryum odası ısıtılmıştır. Su değişimlerinde deneme suyu ile değişim yapılan suyun sıcaklıkları birbiri ile aynı olması sağlanmıştır. Deneme 3 tekerrür olarak ve kontrol grubu ile yapılmıştır. Denemeden önce ayrılacak balıklar 2 gün süre ile aç bırakıldıktan sonra sayılan balıklar rastlantısal olarak akvaryumlara yerleştirilmişlerdir. Her akvaryuma 7-8 mg/L olacak şekilde merkezi havalandırmadan sağlanan hava ile ve hava taşı kullanılarak havalandırma yapılmıştır.



Şekil 5. Çalışmanın yürütüldüğü deney düzenegi



Deneme düzeneğine alınan balıklar 24 saat sonra amonyak ve nitrit uygulamasına maruz bırakılarak çalışma yürütülmüştür. Su değişim %50 statik olacak şekilde OECD 203 nolu yayında belirtildiği gibi yapılmıştır. Deneme gruplarına uygulanan tüm uygulamalar kontrol grubu için de uygulanmıştır. Denemenin başlaması ile birlikte 3'er saatlik sürelerde gözlemler yapılmış ve ölen balıklar ortamdaki hemen uzaklaştırılmıştır. Ortamdan uzaklaştırılan balıklar boy ve ağırlıkları alınarak kan ve doku örneklemeleri için kullanılmışlardır. Doku örneklemelerinde formaldehit ve alkolde fiske edilmişlerdir. Kan örnekleri ise kuyruk kesimi ile yapılmış ve kan örneği lam üzerine alınarak froti hazırlanmıştır. Çalışmada her balık bir kere kullanılmıştır.

Deneyde en az 48 saat dinlendirilmiş ve daha sonra havalandırılarak kloru giderilmiş şehir suyu kullanılmıştır. Suyu ilişkin parametrelerin analizinde Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinin su kimyası laboratuvar olanaklarından yararlanılmıştır. Deney suyu deney başlangıcında ve günlük olarak deney süresince analiz edilmiştir. Su sıcaklığı, pH, çözülmüş oksijen ve toplam amonyak azotu değerleri deney süresince her gün ölçülmüştür. Toplam amonyak azotu miktarlarının ölçümü, Nesslerizasyon metodu kullanılarak (APHA, 1995) 640 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Shimatzu UV-1201V) yapılmıştır. Tüm deney tanklarındaki pH düzeyleri NaCO<sub>3</sub> ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılarak sabit tutulmuştur (Weirich ve ark., 1993).

### 2.3. Amonyak ve Nitrit Hazırlanması

Çalışmada amonyum kaynağı olarak amonyum klorür (NH<sub>4</sub>Cl) ve nitrit kaynağı olarak ise sodyum nitrit (NaNO<sub>2</sub>) kullanılarak her bir grup için 120 litrelik stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoklardan alınan miktarlar denemede kullanılmıştır. Bazı denemelerde pratikliğin sağlanması açısından NH<sub>4</sub>Cl ve NaNO<sub>2</sub> tartılarak çözüldürülmüş ve direkt olarak kullanılmıştır. Her ilaveden sonra suyun pH, amonyak ve nitrit değerleri analiz edilerek doğruluğu kontrol edilmiştir.

Tablo 5. Deneyde kullanılan stoklardaki amonyak ve nitrit miktarları

| Gruplar       | Sodyum Nitrit (NaNO <sub>2</sub> ) |         |         |         | Amonyum Klorür (NH <sub>4</sub> Cl) |         |          |
|---------------|------------------------------------|---------|---------|---------|-------------------------------------|---------|----------|
|               | 10 mg/L                            | 15 mg/L | 20 mg/L | 30 mg/L | 90 mg/L                             | 95 mg/L | 100 mg/L |
| Stok(litre)   | 120                                | 120     | 120     | 120     | 120                                 | 120     | 120      |
| Tartılan (gr) | 5.914                              | 8.872   | 11.829  | 17.743  | 41.270                              | 43.563  | 45.856   |

### 2.3.1. Amonyak ve Nitrit Analizi

Amonyak ve nitrit analizlerinde 2 yöntem kullanılmıştır. 1- Spektrofotometrik yöntem, 2- Kit ile ölçüm. Bu yöntemlerden öncelikle daha güvenilir olduğu bilinen spektrofotometrik yöntem (fenat yöntemi) kullanılmıştır. Kit yöntemi ise hızlı ve pratik yapılabilmesi nedeni ile tercih edilmektedir. Bu analizlerin yapılışı aşağıda belirtilmiştir.

### 2.3.2. Amonyak Tayini (Fenat Metodu)

**Fenol Çözeltisi:** 10 g fenol %95'lik etil alkol ile 100 ml ye tamamlanır.

**Sodyum Nitropurusit:** 0.5 g sodyum nitropurusit 100 ml ye saf su ile tamamlanır ve çözelti koyu renkli amber şişesinde 1 ay kadar saklanabilir.

**Alkalin Sitrat:** Çözeltisi: 200 g trisodyum sitrat ve 10 g sodyum hidroksit saf su ile 1000 ml ye tamamlanır.

**Sodyum Hipoklorit:** Çamaşır suyu

**Oksitleme Çözeltisi:** 100 ml Alkalin sitrat çözeltisi ve 25 ml çamaşır suyu karıştırılır.

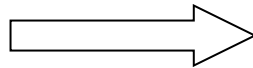
**Stok Amonyak:** 3.819 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saf su ile 1000 ml ye tamamlanır (1 ml= 1 mg N= 1.22 mg  $\text{NH}_3$ ). Stoktan 10 ml alındıktan sonra, 1000 ml ye tamamlanmıştır (1 ml=10  $\mu\text{g}$  N).

Tablo 6. Kalibrasyonun oluşturulması:

| Eklenen miktar | Konsantrasyon ( $\mu\text{g/l}$ ) |
|----------------|-----------------------------------|
| Kör Örnek      | 0                                 |
| 0.1 ml         | 40                                |
| 0.2 ml         | 100                               |
| 0.5 ml         | 200                               |
| 1 ml           | 400                               |
| 2 ml           | 800                               |
| 4 ml           | 1600                              |

Analiz edilecek örnekten 25 ml alınır.

Örneğe ve standartlara 1 ml fenol çözeltisi, 1ml sodyum nitropurusit, 2.5 ml oksitleme çözeltisi eklenir.



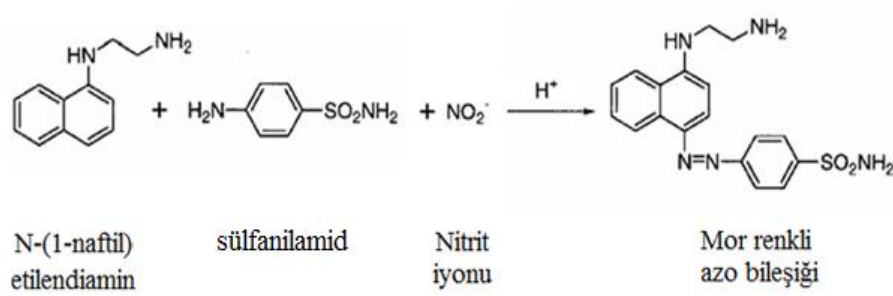
1 saat karanlıkta beklenir ve daha sonra spektrofotometrede 640 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülür.

### 2.3.3. Nitrit Tayini

Nitrit azotuna 1mg/L den büyük konsantrasyonlar da rastlanılmaz. Bu nedenle nitrit azotu tayini için hassas metotlara başvurulur. Bu metotlar;

1. Kolorimetrik Metot
2. İyon Kromatografisi Metodu

Bu metotlardan kolorimetrik metot hem ucuz ve hemde düşük konsantrasyonlar için daha uygundur. Bu yöntem nitrit iyonunun ( $\text{NO}_2^-$ ), asidik ortamda primer aromatik amin olan sülfanilamid ve N-(1-naftil)etilendiamin dihidroklorid ile mor renkli güçlü bir azo bileşiği oluşturma esasına dayanır.



Şekil 6. Nitrit analizinde kimyasal reaksiyon

Bu yöntemin duyarlılığı 0,001-2 mg/l dir. Serbest klor,  $\text{NCl}_3$  (azot üç klorür),  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Ag}^{+2}$  iyonları ortamda bulunduğunda  $\text{NO}_2^-$  ile girişim yaparlar. Ayrıca numunede bulunan askıda katı maddeler 0.45  $\mu\text{m}$  çaplı filtreden geçirilerek giderilmelidir. Nitritin, amonyak ya da nitrate bakteriyel dönüşümünü önlemek için örnek alındığı anda ya da filtrelenerek dondurulduktan sonra analiz yapılmalıdır.

#### **Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler:**

- 540 nm'de kullanıma uygun 1 cm ışık yolu sağlayabilen uv spektrofotometre.
- 100 ml'lik ve 1000 ml'lik balon jojeler.
- 50 ml'lik beher.
- 50 ml'lik mezür.
- 1 ml, 5 ml ve 10 ml'lik cam pipetler.

#### **Kullanılan Kimyasal Maddeler:**

- Nitrit içermeyen distile su.
- Renk geliştirici: 800 ml distile su içerisine 100 ml % 85'lik fosforik asit ve 10 g sülfanilamid eklenir. Sülfanilamid tamamıyla çözüldükten sonra 1 g N-(1-naftil)etilendiamin dihidroklorid eklenir. Çözülünceye kadar karıştırılır ve 1 litreye

tamamlanır. Çözelti buzdolabında, koyu renkli bir şişede saklandığı takdirde 1 ay boyunca kararlılığını korur.

- Stok nitrit çözeltisi: 1.232 g.  $\text{NaNO}_2$  (etüvde  $105^\circ\text{C}$  de 1 saat kurutulmuş) distile suda çözülür ve 1000 ml'ye tamamlanır. 1 ml  $\text{CHCl}_3$  (kloroform) eklenerek saklanabilir.
- Ara stok nitrit çözeltisi: Stok nitrit çözeltisinden 10 ml alınıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır (1 ml=2.5 mg N).

### **Denevin Yapılışı:**

- 1) Standart çözeltinin hazırlanması: Ara stok çözeltisinden tablodaki miktarlar alınıp son hacim 100 ml'ye tamamlanarak standart çözeltiler hazırlanır.

Tablo 7. Hazırlanan standart nitrit çözeltileri

| Ara stok çözeltisi (ml) | Son hacim (ml) | Konsantrasyon (1 ml'sinde $\mu\text{g N.}$ ) | Absorbans |
|-------------------------|----------------|--|-----------|
| 5                       | 100            | 125  |           |
| 10                      | 100            | 250  |           |
| 15                      | 100            | 375  |           |
| 20                      | 100            | 500  |           |
| 25                      | 100            | 625  |           |
| 30                      | 100            | 750  |           |
| 35                      | 100            | 875  |           |
| 40                      | 100            | 1000   |           |
| 45                      | 100            | 1125   |           |
| 50                      | 100            | 1250   |           |

Bu standart çözeltilerden 25 ml alınarak üzerine renk geliştirici maddeden 1ml ilave edilir ve 15 dakika ile 2 saat arasında beklenerek mor rengin oluşmasından sonra 540nm'de absorbansları ölçülerek kaydedilir. Absorbansa-Konsantrasyon değerleriyle kalibrasyon grafiği oluşturulur.

**2) Numunenin ölçümü:** 25 ml su örneği alınarak üzerine renk geliştirici maddeden 1ml ilave edilir ve 15 dakika ile 2 saat arasında beklenir mor rengin oluşmasından sonra 540nm'de absorbansı okunarak kalibrasyon grafiğindeki eğri denkleminde hesaplanır. Eğer numune derişik ise seyreltilerek aynı işlemler uygulanır ve seyreltme faktörü de dikkate alınarak eğri denkleminde hesap yapılır.

#### **2.4. LC<sub>50</sub> Değerlerinin Belirlenmesi**

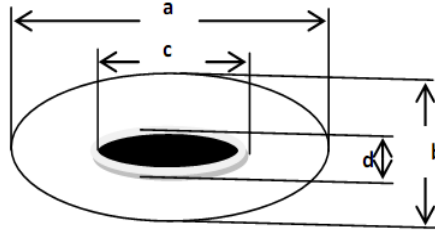
LC<sub>50</sub> değerleri SPSS programı içindeki PROBIT analizi ile hesaplanmıştır. Hesaplamalar 24, 48, 72 ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerleri olarak belirlenmiştir. Amonyak değerleri toplam amonyum azotu olarak belirlenmiş ve pH ve sıcaklığa bağlı iyonize olmamış amonyak (NH<sub>3</sub>) değerleri belirtilmiştir. Denemelerde kullanılacak dozlar ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Buna göre amonyak için 90, 95, 100 mg/L; nitrit için ise 10, 15, 20, 30 mg/L dozlarda denemeler yapılmıştır. Yarı statik olarak yürütülen çalışmada her yenileme sonrası nitrit ve amonyak değerleri ile pH, oksijen ve sıcaklık takip edilmiştir.

#### **2.5. Kan Frotilerinin Boyanması ve Hücre Büyüklüklerinin Belirlenmesi**

Kan örnekleri kuyruk kesimi yapılarak alınmıştır. Her balık için 3'er preparat hazırlanmıştır. Frotiler havada kurutulularak tespit edilmişlerdir. Kan örneklerinin boyanmasında May-Grunwalt Giemsa boyama yöntemi (Url-2) kullanılmış olup, yöntem aşağıda belirtilmiştir.

Balığın kuyruk kısmının kesilmesiyle akan kandan 1'er damla lam üzerine alınarak 3 sürme frotileri hazırlandı. Kan frotileri kuruduktan sonra 3 dakika süreyle metanol ile tespit edildi. Preparatlar pens ile tutulup saf su ile yıkandı. May Grünwalt boyasından pipetle alınarak preparatların üzerini tamamen kaplayacak şekilde damlatıldı (May Grünwold boyası direk kullanıldı). 5 dakika beklendi, ardından saf su ile yıkandı. Seyreltilerek kullanılan Giemsa boyası pipetle preparatın üzerini örtecek şekilde damlatıldı (1 birim Giemsa, 4 birim KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> /Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi). 20 dakika beklendi. Saf su ile yıkandıktan sonra kurutuldu. Boyanan frotileri üzerine orta kısma gelecek şekilde 1 damla Entellan damlatıldı. Üzerine ince lam kapatılarak birleştirildi. Böylece preparatlar incelemek için uygun hale getirilmiş oldu. Hazır olan örnekler mikroskopla x100 büyütmede immersiyon objektifi ile incelenerek eritrositlerin fotoğrafları çekilmiştir. İncelemede Leica DM 750 marka mikroskop ve ICC50 kamera kullanılmıştır. Her bir preparattan on adet fotoğraf çekilmiş, tekrarlanan görüntüler, net olmayan, sayılamayan, fazla yoğun eritrositli olanlar veya seyrek olanlar elenmiştir. Fotoğraflanan eritrositlerden net görünen, diğer eritrositlerle çakışmayan, boyutları net olarak ölçülebilen en az 10 adet eritrosit seçilerek her birinden 4'er ölçüm alınmıştır. Ölçümler Protokol K'ya (Url-3) göre yürütülmüştür. Bu ölçümler: a- Eritrositin uzun eksen uzunluğu, b- Eritrositin kısa eksen uzunluğu, c- Çekirdeğin uzun eksen uzunluğu, d- Çekirdeğin kısa eksen uzunluğudur (Şekil 7). Bu

ölçüm sonuçları kaydedilerek Excel Bilgisayar Programına geçirilmiş ve değerlendirilmesi ve istatistik analizleri yapılmıştır.



Şekil 7. Eritrosit ölçümü (a- Eritrosit uzun eksen, b- Eritrosit kısa eksen, c- Nükleus uzun eksen, d- Nükleus kısa eksen)

Yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanan preparatlar ICC kamera ile fotoğraflanıp arşivlenmiştir. Çekilen fotoğraflar üzerinden eritrositler Lasez 2.0 programı ile mikrometrik olarak ölçülmüştür. Bu amaç için mikrometrik lam üzerinden doğrulama yapılmıştır.

## 2.6. Kesit Alınması ve Kesitlerin Boyanması

Çalışmada solungaç kesitleri alınmıştır. Bunun için kontrol grubu, yüksek miktarda amonyak ve nitrit dozları uygulanan grup balıklarından ölmek üzere olanlar örneklenmiştir. Alınan örnekler %4'lük Nötral Bafer formalinde 1 gün bekletildikten sonra %70 alkol ile fiske edilmiştir. Fikse edilen örneklerin solungaçları dikkatlice alınarak parafin içine gömülmüşlerdir. Ardından mikrotom yardımı ile 5 mikron kalınlıkta kesitler alınarak Hemotoxilen-Eozin ile boyanmış (Luna, 1968) ve mikroskop altında incelenmiştir.

## 2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizler

Elde edilen ölçümler önce Microsoft Excel programında düzenlenmiş, ardından Sigma Plot programıyla istatistiki değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Böylece türler arasında fark olup olmadığı %95 güven aralığında istatistiki olarak ortaya konulmuştur.

### 3. BULGULAR

Denemelerde kullanılan dinlendirilmiş musluk suyunun; sertliği  $40\pm 2.0$  mg/L ( $\text{CaCO}_3$  olarak), alkalinitesi  $23.2\pm 1.8$  mg/L ( $\text{CaCO}_3$  olarak), sıcaklığı  $24.5\pm 0.5$ , oksijeni  $7.1\pm 0.4$  mg/L, nitrat  $<0.5$  mg/L, nitrit, amonyak, karbondioksit 0 mg/L olarak belirlenmiştir.

#### 3.1. Amonyakın Melek Balıkları Üzerine Etkisi ve $\text{LC}_{50}$ Değerleri

Yapılan denemeler süresince kontrol gurubunda ölüm gerçekleşmemiştir. Amonyaka maruz bırakılan balıkların büyük bir bölümünde, kontrol gurubuna göre önce yutkunma tarzı solunum ve devamında ise daha yüksek hızda soluma gözlemlenmiştir. Çalışma başlangıcında kısa süreli yüzmeler ve olduğu yerde beklemeler daha fazla gözlemlenirken, ilerleyen süreç içerisinde denge kaybına bağlı olarak dengesiz (eratik) yüzmeler ve ara sıra aniden yukarıya doğru yüzme çabası ve yan yatarak yüzme davranışları gözlemlenmiştir. Aynı akvaryumdaki balıklardan bir kısmı tabanda yüzerken, diğer balıkların su yüzeyine yakın kısımda yüzdüğu ve sonrasında yüzeye yakın olan balıkların tabana yakın olan balıklardan daha önce öldüğu gözlemlenmiştir. Deneyin başından sonuna kadar kontrol grubu yemleme hareketine tepki vererek su yüzeyine doğru yüzme yaptığı gözlemlenirken, diğer guruplarda buna benzer davranışlar gözlemlenmemiştir.

Deney sonunda canlı kalan balıkların temiz suya alındıktan bir süre sonra normalleşme gösterdikleri ve yem almaya başladıkları da gözlemlenmiştir. Su sıcaklığı  $24.5^\circ\text{C}$  de pH 7.00-7.50 aralığında sabit tutulmuştur. 24, 48, 72 ve 96 saatlik  $\text{LC}_{50}$  değerleri sırasıyla 0.986, 0.751, 0.654 ve 0.576 mg/L  $\text{NH}_3\text{-N}$  olarak hesaplanmış ve Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Çalışmada elde edilen amonyak  $\text{LC}_{50}$  değerleri

| pH            | $\text{NH}_3\text{-N}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |                        |                        |                        |
|---------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|
|               | $\text{LC}_{50}$ 24                           | $\text{LC}_{50}$ 48    | $\text{LC}_{50}$ 72    | $\text{LC}_{50}$ 96    |
| 7.2 $\pm$ 0.3 | 0.986<br>(0.783-1.613)                        | 0.751<br>(0.594-0.769) | 0.654<br>(0.539-0.802) | 0.576<br>(0.288-0.639) |

### 3.2. Nitritin Melek Balıkları Üzerine Etkisi ve LC<sub>50</sub> Değerleri

Yapılan denemeler süresince kontrol gurubunda ölüm gerçekleşmemiştir. Nitrite maruz bırakılan balıkların büyük bir bölümünde, kontrol gurubuna göre önce yutkunma tarzı solunum ve devamında ise daha yüksek hızda soluma gözlemlenirken, amonyak grubuna göre ise aynı yönde benzerlik göstermiştir. Çalışma başlangıcında kısa süreli yüzmeler ve olduğu yerde beklemeler daha fazla gözlemlenirken, ilerleyen süreç içerisinde denge kaybına bağlı olarak dengesiz (eratik) yüzmeler ve ara sıra aniden yukarıya doğru yüzme çabası ve yan yatarak yüzme davranışları amonyak grubuna göre daha uzun süreli devam ettiği gözlemlenmiştir. Aynı akvaryumdaki balıklardan bir kısmı tabanda yüzerken diğer balıkların su yüzeyine yakın kısımda yüzdüğü ve sonrasında yüzeye yakın olan balıkların tabana yakın olan balıklardan daha önce öldüğü gözlemlenmiştir. Deney başlangıcındaki ilk ölümler, amonyak grubuna göre daha sonra gerçekleşmiştir. Deneyin başından sonuna kadar kontrol grubu yemleme hareketine tepki vererek su yüzeyine doğru yüzme yaptığı gözlemlenirken, nitrite maruz bırakılan guruplarda ise buna benzer davranışlar gözlemlenmemiştir.

Deneme sonunda canlı kalan balıklar temiz suya alınmış, bir süre sonra normalleşme gösterdikleri ve yem almaya başladıkları da gözlemlenmiştir. Deneme dışında temiz suya alınan balıklarda ölüm olmamıştır. Su sıcaklığı 24.5°C de pH 7.00-7.50 aralığında sabit tutulmuştur. 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 29.375, 12.291, 7.982 ve 6.282 mg/L NO<sub>2</sub>-N olarak hesaplanmış ve Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Çalışmada elde edilen nitrit LC<sub>50</sub> değerleri

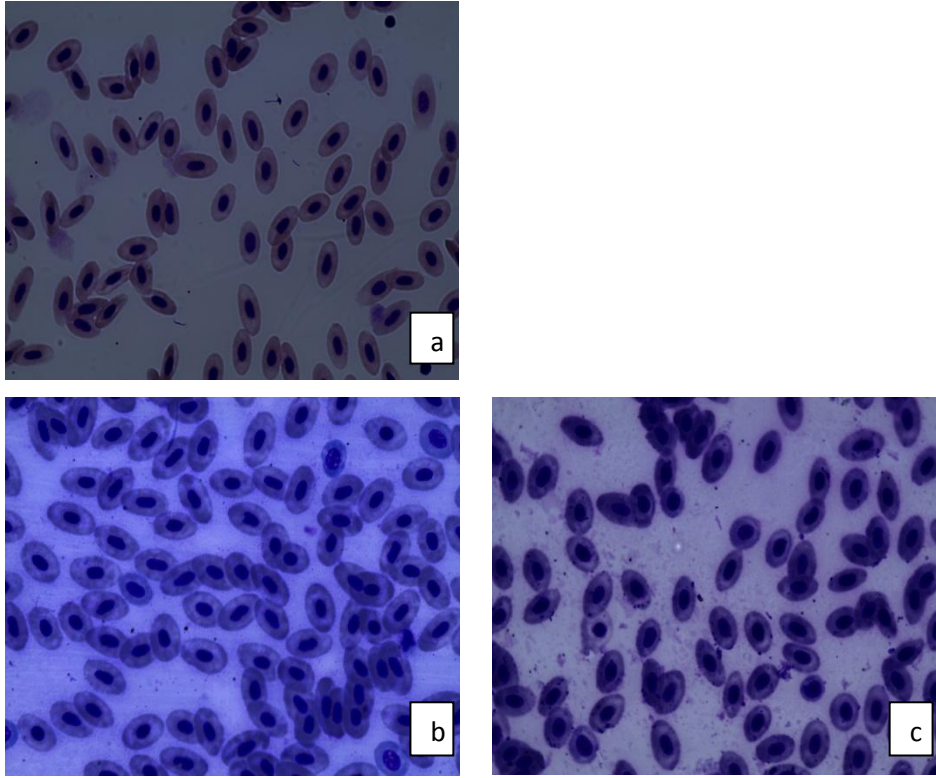
| pH      | NO <sub>2</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> ) |                          |                         |                        |
|---------|--|--------------------------|-------------------------|------------------------|
|         | LC <sub>50</sub> 24                      | LC <sub>50</sub> 48      | LC <sub>50</sub> 72     | LC <sub>50</sub> 96    |
| 7.2±0.3 | 29.375<br>(23.852-44.509)                | 12.291<br>(6.693-16.639) | 7.982<br>(3.329-11.026) | 6.282<br>(1.926-8.879) |

### 3.3. Eritrosit Ölçümleri

Yapılan çalışmada, nitrit ve amonyağın eritrositler üzerine etkisi olup olmadığını ortaya koymak amacıyla nispeten yüksek dozlar denenmiştir. Eritrositlerin boyanması ve ölçümünde kullanılacak balıkların kanı yeni öldüğü bilinen veya ölmek üzere olan balıklardan 3 sürme froti olarak örneklemiştir. Yapılan ölçümlerde (ortalama±SH)

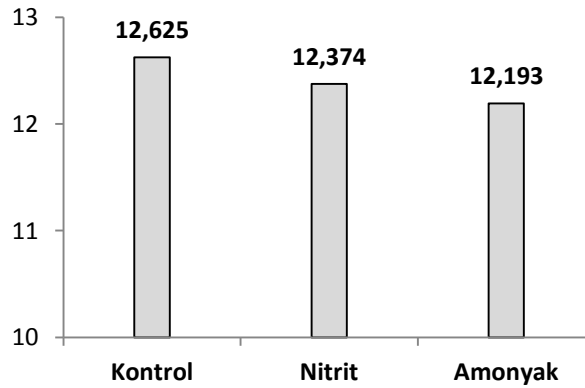


eritrositler ve çekirdekleri, uzun ve kısa eksenleri mikrometrik olarak ölçülmüştür (Şekil 8).



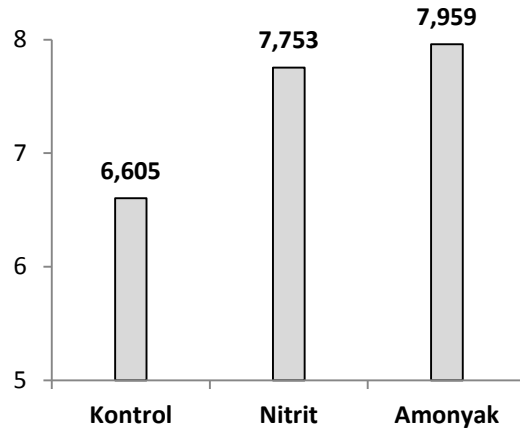
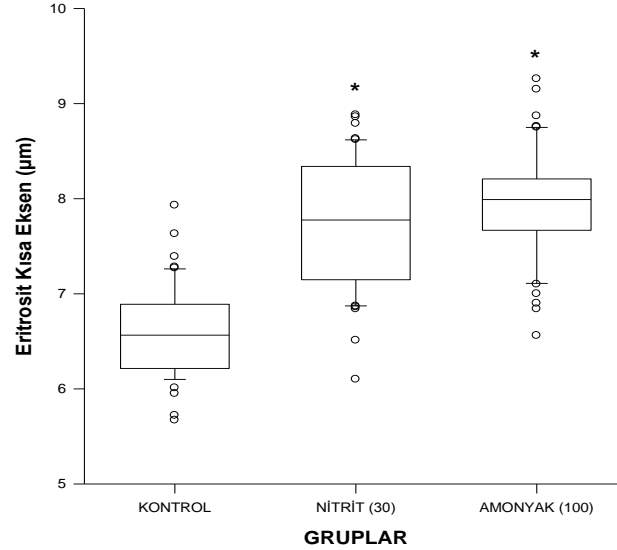
Şekil 8. Melek balığı eritrosit ve çekirdekleri (x100) (a) Kontrol grubu, (b) Amonyaka maruz eritrosit ve çekirdeklerde yuvarlaklaşma, (c) Nitrite maruz eritrosit ve çekirdeklerde yuvarlaklaşma

Eritrositler uzun eksenlerine bakılarak karşılaştırıldığında verilerin homojen dağılım ve eş varyans gösterdiği, One Way Anova testine göre farklılığın olmadığı görülmüştür. Eritrosit büyüklükleri kontrol grubunda  $12.625 \pm 0.131$ , nitrit grubunda  $12.374 \pm 0.151$  ve amonyak grubunda  $12.193 \pm 0.126$   $\mu\text{m}$  olduğu belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ).



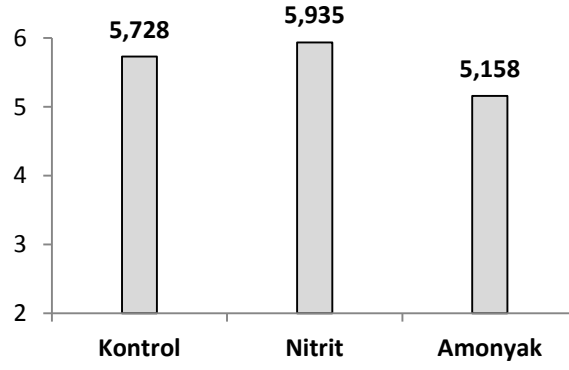
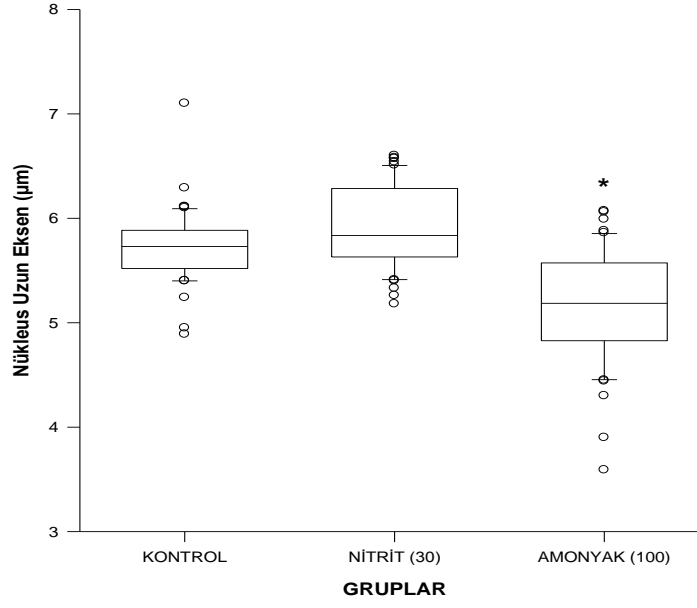
Şekil 9. Eritrosit uzun eksen uzunluğu (µm)

Eritrositlerin kısa eksen uzunlukları ise kontrol, nitrit ve amonyak grubu için  $6.605 \pm 0.067$ ,  $7.753 \pm 0.097$ ,  $7.959 \pm 0.081$   $\mu\text{m}$  olduğu ölçülmüştür. İstatistiki analizlerde verilerin normal dağılım gösterdiği, eş varyans göstermediği ve Kruskal-Wallis Tukey testine göre aralarında farklılıkların olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).



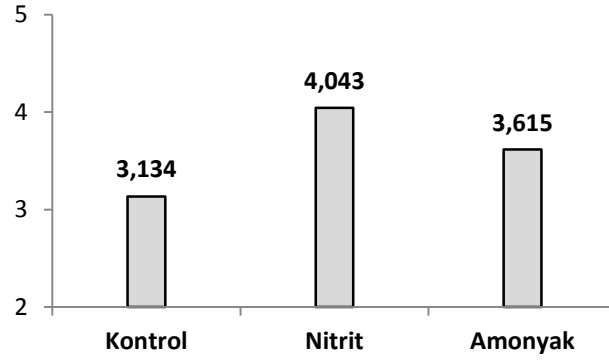
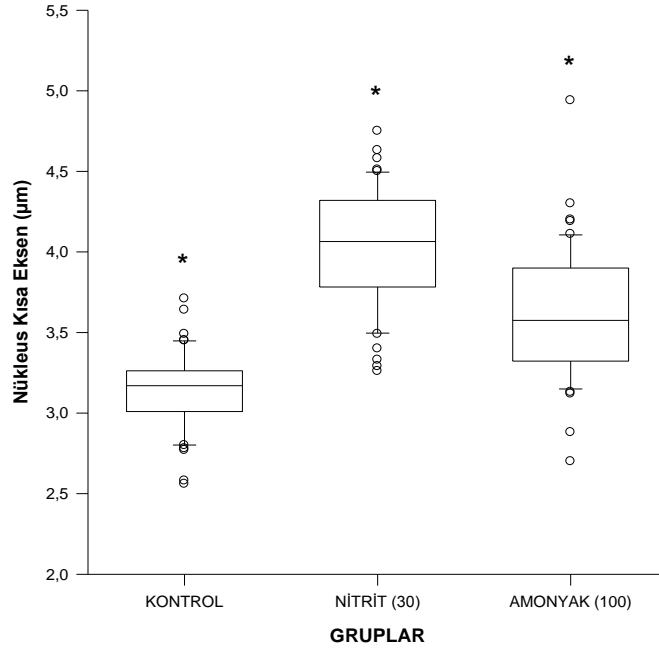
Şekil 10. Eritrosit kısa eksen uzunluğu ( $\mu\text{m}$ )

Eritrosit nükleuslarının uzun eksen ölçümleri değerlendirildiğinde kontrol, nitrit ve amonyak grupları değerlerinin sırası ile;  $5.728 \pm 0.048$ ,  $5.935 \pm 0.054$  ve  $5.158 \pm 0.077$   $\mu\text{m}$  olduğu belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda verilerin normal dağılım gösterdiği fakat eş varyans göstermediği Kruskal-Wallis Tukey testine göre aralarında farklılıkların önemli olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).



Şekil 11. Çekirdeğin uzun eksen uzunluğu (µm)

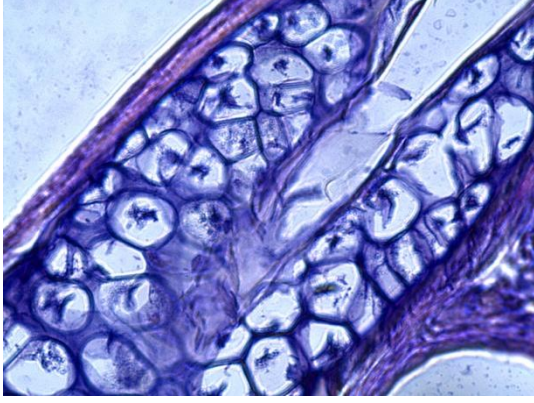
Eritrosit nükleuslarının kısa eksen ölçümlerinin değerlendirildiğinde ise kontrol, nitrit ve amonyak gruplarının değerlerinin sırası ile  $3.134 \pm 0.034$ ,  $4.043 \pm 0.053$  ve  $3.615 \pm 0.057$  µm olduğu belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda verilerin normal dağılım gösterdiği fakat eş varyans göstermediği Kruskal-Wallis Tukey testine göre aralarında farklılıkların önemli ve hepsinin birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).



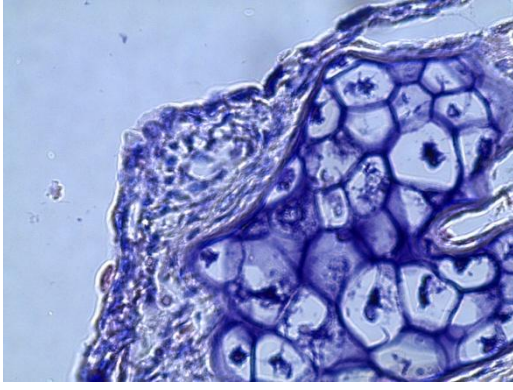
Şekil 12. Çekirdeğin kısa eksen uzunluğu (µm)

### 3.4. Solungaç Lameli Kesitleri

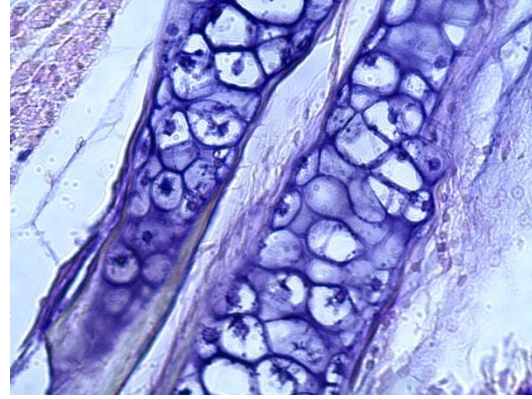
Uygulanan amonyak ve nitritin solungaç lamelleri üzerine etkisini ortaya koyabilmek amacı ile amonyak ve nitrite maruz kalan ve ölmek üzere olan balıklardan solungaç örnekleri alınmış ve kesit almak üzere fikse edilerek saklanmıştır. Alınan kesitler mikroskop altında incelenmiştir. Solungaç lamellerindeki hücrelerde şişkinlik (hiperplazi) olduğu belirlenmiştir (Şekil 14-15).



Şekil 13. Melek balıklarında Kontrol grubu (x100)



Şekil 14. Nitrite maruz Melek balıklarında hiperplazi (x100)



Şekil 15. Amonyaga maruz Melek balıklarında hiperplazi (x100)

Bunun yanı sıra yapılan mikroskop incelemelerinde amonyak ve nitritin solungaç lamellerinde ödem oluşumuna, lamellerden epitelyumların ayrılmasına, lamellerin birbirine yapışmasına neden olduğu da gözlemlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanoğlu varoluşundan bu yana suda yaşayan canlılara karşı ilgi duymuş ve su canlılarını çođu zaman yiyecek kaynağı olarak görmüş, kimi zaman ise hobi ve sűs amaçlı olarak bunlardan yararlanmıştır. Günümüzde insanların su canlılarına olan ilgisi artmış ve su ürünleri devasa bir sektör olarak dünyada en hızlı büyüyen sektör olma ünvanını eline almıştır.

Su canlılarının kontrollű olarak üretimi veya muhafazası, su ürünleri yetiştiriciliği kapsamında incelenmektedir. Su canlıların belirli bir ortamda tutulması beraberinde birtakım sorunlar da getirmektedir. Tüm canlılarda olduğu gibi su ürünleri canlıları da yaşadığı ve dışarıdan besin aldığı sürece ortama birtakım atıklar bırakır. Özellikle de protein kaynaklı olarak beslenen su canlıları besin olarak aldıkları protein ve besin maddelerini kullanarak gelişimini sağlarken, bir yandan en önemli atığını teşkil eden amonyağı bulunduğu ortama bırakırlar. Bu ortam su değişimi olmayan veya az olan kapalı alanlar olduğunda amonyak bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Akvaryum sektörü su ürünleri yetiştiriciliğinin bir koludur ve insanların ilgisini çeken ve sektör haline gelen yetiştiriciliğin bir alt faaliyet alanıdır. Akvaryum ortamları genellikle durgun suları olan ve suları filtre edilerek kullanılan kapalı sistemlerdir. Bu sistemlerde en önemli sorun yem atıkları, canlıların metabolik faaliyetleri sonucu oluşan atıklar, canlıların ölüp çürümeleri gibi faaliyetler sonucu oluşan azotlu bileşikler olup, bunlar içerisinde en tehlikelisi amonyaktır. Amonyakın balıklar üzerine olumsuz etkilerinin bilinmesinin ardından bu konu ile ilgili birçok çalışma ve veri ortaya konulmuştur. Bilinen en önemli nokta ise amonyağın toksik etkisinin pH, tuzluluk ve sıcaklık ile ilişkili olduğu ve toksisiteyi oluşturan maddenin toplam amonyum içinde bulunan çözünmemiş formunun yani  $NH_3$  ün olduğudur. Nitrit ise sucul canlıları etkileyen başka bir bileşik olup, sucul canlılarda akut ve kronik etkileri vardır. Amonyak şartlar oluştuğunda nitrite dönüşüm yapmaktadır (Serezli, 2011).

Birçok çalışmada akut amonyak ve nitritin etkileri pH 7-7.5 aralığında, 24, 36, 48 ve 96 saatlik uygulamalar için ortaya konulmuş (Hellowell, 1986; Oliveira ve ark., 2008; Crawford ve ark., 1977; Saroglia ve ark., 1981; Zhang ve ark., 2011). Bazı çalışmalarda ise kronik etkiler incelenmiş, büyüme ve üreme üzerine etkiler incelenmiştir (Thurston ve ark., 1981; Russo ve Thurston, 1991; Orban ve Tatrai, 1987; Twitchen ve Eddy, 1994; Redner

ve Stickney, 1979). Ancak toksik etkilerin belirlenmesinde en önemli veri olan toksik doz canlı türü, su sıcaklığı, oksijen, su kriterleri, canlılığın büyüklüğü gibi birçok faktörün etkisi altındadır.

Amonyak denemeleri oldukça sorunlu yürütülen çalışmalardandır. Çünkü her balık farklı zamanlarda tepki verebilmektedir. Amonyak çalışmalarında değerlendirme yapılırken dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, amonyağın ifade edilme şeklidir. Amonyak etkisinin ortaya konulmasında pH, sıcaklık ve toplam amonyağın bilinmesi ile iyonize ve iyonize olmamış amonyak hesaplanarak, iyonize olmamış amonyak belirtilir. Amonyak toksisitesinde toplam amonyak değeri yüksek bulursa da pH düşük (6.5-7.0) ise iyonize olmamış amonyak oluşumu az olacağından, canlılarda ölüm olmayabilir. Bu nedenle de amonyağın etkisini azaltmak için pH'ın düşürülmesi ve tuzluluğun artırılması bir çözüm olarak kullanılabilir.

Yapılan amonyak denemelerinde 1 mg/L iyonize olmamış amonyağın 24 saat içinde balıkların %50'si öldürdüğü belirlenmiştir. 0.5 mg/L iyonize olmamış amonyak değerleri ise 96 saat sürede balıkların yarısını öldürmektedir. Zhang ve ark., 2011 4 farklı büyüklükte (0.034, 0.296, 3.52, 32.96 g) sarı kedibalığında (*Pelteobagrus fulvidraco*) 23°C, pH 7.42 de yaptığı çalışmada 96 saatteki toplam amonyak azotu LC50 değerlerini 24.96, 35.85, 47.44 ve 68.79 mg L<sup>-1</sup>, iyonize olmamış amonyum azotu değeri olarak da 0.34, 0.49, 0.65 ve 0.94 mg L<sup>-1</sup> olduğunu belirlemiştir. Zhang ve ark., 2011'in bulguları bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir. Genel olarak birçok tür 1 mg/L değerinin altında iyonize olmamış amonyağa maruz kaldığında ölümler görülmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi amonyak statik (durgun) ortamlarda miktarı sürekli artan bir maddedir. Tüketim olmadığı ve sürekli amonyak salınımı olan ortamda miktarı artar. Etkisi ise iyonize olamamış amonyağa bağlıdır ki bu maddenin oluşumu ve etkisi belirtildiği üzere pH, sıcaklık, tuzluluk ve suyun sertliği ile bağlantılıdır. Bu bilgi akvaryumlarda veya su giriş çıkışı olmayan sistemlerde nedensiz balık ölümlerinin bir açıklaması olabilir.

Nitrit denemeleri daha sorunsuz yürütülen çalışmalardan olduğu görülmüştür. 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri 6.3 mg/L olarak belirlenmiş olup, 29.4 mg/L nitrit değeri balıkların %50'sini 24 saat içerisinde öldürebilmektedir. Yapılan çalışmalarda suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre farklı sonuçların bulunduğu görülmektedir. Gökkuşuğu alabalığı üzerindeki çalışmalarda 0.49 ile 28 mg/L nitrit azotunun 24 saat içinde ölüme neden olduğu bildirilmektedir (Russo ve ark., 1974; Russo ve Thurston, 1977; Thurston ve ark., 1981). Zhang ve ark., 2011 dört farklı büyüklükte (0.034, 0.296, 3.52, 32.96 g) sarı

kedibalıgında (*Pelteobagrus fulvidraco*) 23°C, pH 7.58 de yaptığı çalışmada 96 saatteki nitrit azotu LC<sub>50</sub> değerlerini 69.06, 97.23, 133.61 ve 196.05 mg L<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Sıcak su balıkları üzerinde yapılan çalışmalarda ise 7 ile 182 mg/L nitrit azotunun balıkların %50'sini 24-96 saat içinde öldürdüğü, farklı türlerde ortaya konulmuştur (Lewis ve Morris, 1986). Bu bulgular çalışmalarımızda ortaya koyduğumuz sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada eritrosit morfolojisi incelenmiştir. Amonyak ve nitrit denemeleri sonucu ölmek üzere olan balıklarından alınan kan örneklerinin boyanıp, mikrometrik olarak ölçülmesi ve değerlerin istatistiki olarak analizi sonucunda, eritrositlerin uzun eksen büyüklüklerinin değişmediği ancak kısa eksen ve çekirdek büyüklüğünün etkilendiği ortaya konulmuştur. Yine solungaç lamellerindeki değişim gözlemlenmiş daha önce yapılmış çalışmalara benzer şekilde değişimler olduğu görölmüştür (Altınok ve ark., 2006).

Göröldüğü üzere amonyak ve nitritin akut toksik etkileri balık türü, büyüklüğü, suyun yapısı gibi durumlara göre değişiklik arz etmektedir. Genel olarak akvaryum balıkları üzerinde amonyak ve nitrit toksisitesinin etkisini ortadan kaldırmak veya azaltmak amacıyla yapılabilecek uygulamalar: su değişimi, suyun zoolit ile muamelesi, tatlı sularda pH'ın düşürölmesi, nitrit bakterilerinin eklenmesi, stok yoğunluğunun azaltılması, tuz eklenmesi, yemlenmenin azaltılması ve iyi bir biyolojik filtrenin kullanılmasıdır.

Akvaryum balıkları üzerinde de amonyak ve nitrit toksisitesinin ortaya konulması oldukça önemlidir. Birçok balık üreticisi ve akvaryum meraklısı çoğu zaman anlamsız balık ölümleri ile karşılaşmaktadır. Aslında bu ölümlerin veya oluşan hastalıkların temelinde su kalitesinin bozulması önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle bu tarz çalışmaların yapılması, sonuçlarının ortaya konulması oldukça önemlidir. Amonyak ve nitritin hastalıkları tetikleme ve tedavide rolünün yanı sıra immun sistemdeki etkilerinin de çalışılması yetiştiricilerin sorunlarının çözümüne yardımcı olacaktır.



## KAYNAKLAR

Altınok, I., Çapkın, E., Karahan, S., Boran, M. 2006. Effects of water quality and fish size on toxicity of methiocarb, acarbamate pesticide, to rainbow trout. Environmental Toxicology Pharmacology, 22, 20-26.

Anonymous. 1998. Update of ambient water quality criteria for ammonia. EPA. 822-R-98-008.1-148 USA.

APHA (American Public Health Association). 1995. American water works association and water environment federation. Standard methods for the examination. of water and wastewater. 19th edition. APHA, Washington. D.C.

Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., Wahli, T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. J. Fish Dis., 22, 25-33.

Buckley, J.A., Whitmore, C.M., Liming, B.D. 1979. Effects of prolonged exposure to ammonia on the blood and liver glycogen of Coho salmon (*Oncorhynchus Kisutch*). Comp., Biochem., Physiol., 63 C, 297-303.

Cardoso, E.L., Garcia, H.C., Ferrira, R.M.A., Poli, C.R. 1996. Morphological changes in the gills of *Lophiosilurus alexandri* exposed to un-ionized ammonia. J. Fish Biol., 49, 778-787

Colt, J., Tchobanoglous, G. 1976. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture. 8, 209-224.

Crawford, R.E., Allen, G.H. 1977 Seawater inhibition of nitrite toxicity to chinook salmon. Transactions of the American Fisheries Society, 106, 106-109.

Dabrowska H., Wlasow, T. 1986. Sublethal effects of ammonia on certain biochemical and haematological indicators in common carp (*Cyprinus carpio L.*). Comp. Biochem. Physiol., Vol., 83c, No. 1 Pp.179-184.

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

Daud, S.K., Hasbollah, D., Law, A.T. 1988. Effects of unionized ammonia on red tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus hybrid*) The second international symposium on tilapia in aquaculture. Bangkok. Thailand, 15, 411-413.

Demir, N. 1992. İhtiyoloji. İstanbul üniversitesi fen fakültesi basımevi, 391 s., İstanbul.

Durborow, R.M., Crosby, D.M., Brunson, M.W. 1997a. Ammonia in fish ponds. Southern regional aquaculture center publication. pp. 463.

Durborow, R.M., Crosby, D.M., Brunson, M.W. 1997b. Nitrite in fish ponds. Southern regional aquaculture center publication, pp. 462.

Emerson, K., Lund, R.E., Thurston, R.V., Russo R.C. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature. J. Fish. Res. Board Can. 32, 2379-2383.

Emre, Y., Kürüm, V. 2007. Havuzlarda balık yetiştiriciliği. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği (Y. Emre, V. Kürüm eds). İstanbul, Pak Ajans, 47 s.

Erkoç, F., Benli, Ç.K., Uzel, N. 2010. Biyokimya laboratuvarı, G.Ü. Eğitim fakültesi, Ankara.

Ferguson, H.W. 1989. Systemic pathology of fish. A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts. 263 p., Iowa State University Press Iowa, USA.

Göksu, M.Z.L. 2003. Su Kirliliği, Adana, 61-70 s.

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

Hasan, M.R., Machintosh, D.J. 1986. Acute toxicity of ammonia to common carp fry. Aquaculture. 54, 97-107.

Haywood, G.P. 1983. Ammonia toxicity in teleost fish: a review. Can. Tech. Rep., Fish. Aquat. Sci., 1177, 1-35.

Hellawell, J.M. 1986. Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. Elsevier, London, 546 p.

Hibiya, T. 1982. An atlas of fish histology. Normal and pathological features, Kodansha, Tokyo, Japan, 147 p.

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

Horne, A.J., Goldman, C.R. 1994. Limnology. McGrawHill, USA. 576 p.

Howell, B., Baynes, S. 2004. Abiotic factors. *In: Culture of cold-water marine fish.* (Moksness, E., E. Kjørsvik and Y. Olsen eds.). Blackwell Publishing, 7-27.

Jeney, Z., Nemcsok, J., Jeney, G., Olah, J. 1992. Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common carp (*Cyprinus carpio* L.) II. Effect of ammonia on blood plasma transaminases (GOT, GPT), GIDH enzyme activity and atp value. Aquaculture, 104, 149-156.

Jensen, F.B. 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comp. Biochem. Physiol, 135A, 9-24.

Karasu-Benli, A.Ç. 2006. Sublethal amonyak konsantrasyonlarının tilapia (*Oreochromis niloticus*) ve sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında büyüme ve kan parametreleri ile dokulara etkisi. Doktora Tezi, A.Ü., FBE, Ankara.

Kirk, R.S. Lewis, J.W. 1993. An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy. Environmental Technology. 14, 577-585.

Knoph, M.B., Olsen, Y.A. 1994. Subacute toxicity of ammonia to atlantic salmon (*Salmo salar L.*) in seawater: Effects on eater and salt balance, plasma cortisol and plasma ammonia levels. Aquatic Toxicology, 30 (4), 295-310.

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

Kucuk, S. 1999. The Effect of diel un ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel cat fish and tilapia. Mississippi state university, Mississippi, 1-59.

Lawson, T.B. 1995. Fundamentals of aquacultural engineering. chapman-hall, An international thomson publishing company, USA. pp 28-33

Lewis, W.M., Morris, D.P. 1986. Toxicity of nitrite to fish: a review. Trans Am. Fish. Soc., 115, 183–195.

Lloyd, R. 1992. Pollution and freshwater fish, 176 p.,Oxford, U.K.

Losordo, T.M., Masser, M.R., Rakocy, J. 1998. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: An Overview of Critical Considerations. Southern Regional Aquaculture Center. Publication No. 451. 6 pp.

Luna, L.G. 1968. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., New York, N.Y.

Malik, E.Z., Gyore, K., Olah, J. 1986. Effect of ammonia on gill tissues of common carp (*Cyprinus carpio L.*). Aquacultura Hungarica, 5, 97-105.

Meade, J.W. 1985. Allowable ammonia for fish culture. The Progressive Fish Culturists, 47 (3), 135-145.

Metcalf, C.D. 1998. Toxicopathic responses to organic compounds. In Fish diseases and disorders Vol 2, Non-infectious disorders. (J. F. Leatherland, P. T. K. Woo, Eds.) CABI publishing. Wallingford, UK. 386 p.

Miracle, A.L., Ankley, G.T. 2005. Ecotoxicogenomics: linkages between exposure and effects in assessing risks of aquatic contaminants to fish. Repro. Toxicol., 19, 321-326.

Mutluay, H., Demirak, A., 1996. Su Kimyası, İstanbul. 81-82 s.

OECD. 1992. OECD guidelines for the testing of chemicals, *Section 2: Effects on Biotic Systems* Test No. 203: Acute Toxicity for Fish, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.

Oliveira, S.R., Souza, R.T.Y.B., Nunes, E.S.S., Carvalho, C.S.M., Menezes, G.C., Marcon, J.L., Akifumi-Ono, R.R.E., Affonso, E.G. 2008. Tolerance to temperature, pH, ammonia and nitrite in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, an Amazonian ornamental fish. Acta Amazomica, 38,773–779.

Orban, L., Tatrai, I. 1987. The effects of various ambient ammonia concentrations on the nitrogen metabolism of carp fry (*Cyprinus carpio* L.). Comp. Biochem. Physiol., 86A(3), 449-452.

Ostrensky, A., Brugger, A.M. 1992. Studies on the viability of silverside *Odontesthes argentinensis* cultivations: acute toxicity of ammonia. J. Braz. Assoc. Advancem. Sci., 44, 413-414.

Person-Le Ruyet, J. 2002. Turbot (*Scophthalmus maximus*) Grow-out in Europe : Practices, results and prospects. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2, 29-39.

Peyghan, R., Takamy, G.A. 2002. Histopathological, serum enzyme, cholesterol and urea changes in experimental acute toxicity of ammonia in common carp *Cyprinus carpio* and use of natural zeolite for prevention. Aquaculture International, 10, 317-325.

Philips, S., Laanbroek, H.J., Verstraete, W. 2002. Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. Rev. Environ. Sci. Biotechnol., 1, 115-141.

Piedras, S.R.N., Oliveira, J.L.R., Moraes, P.R.R., Bager, A. 2006. Acute toxicity of un-ionized ammonia and nitrite in *Cichlasoma facetum* (Jenyns, 1842) fingerlings. Ciênc. Agrotec., 30, 1008-1012.

Pillay, T.V.R., Kutty, M.N. 2005. Aquaculture, principles and practices, 2<sup>nd</sup> edition. Blackwell publishing ltd, Oxford, UK., 630 p.

Redner, B.D., Stickney, R.R., 1979. Acclimation to ammonia by tilapia aurea. Transactions of The American Fisheries Society, 108, 383-388.

Roberts, R.J. 2001. Fish Pathology. 3<sup>rd</sup> edition. 467 p., WB Saunders, London.

Ross, L.G. 2000. Environmental physiology and energetics. In, Tilapias: biology and exploitation, (M.C.M. Beveridge and B. J.McAndrew, eds.). Kluwer publishing. Dordrecht, The Netherlands, 505p.

Russo, R.C. 1985. Ammonia, nitrite and nitrate. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology, (G.M. Rand, S.R. Petrocelli, eds). Washington DC: Hemisphere. pp 455-471.

Russo, R.C., Smith, C.E., Thurston, R.V. 1974. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of the Fisheries research Board of Canada, 31, 1653-1655.

Russo, R.C., Thurston, R.V. 1977. The acute toxicity of nitrite to fishes. In: Recent Advances in Fish Toxicology (R.A. Tubb ed), pp. 118-131. USEPA Ecosystems Research Series EPA-600/3-77-085, Washington, D.C., USA.

Russo, R.C., Thurston, R.V. 1991. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes. In: Aquaculture and water quality (Brune, D. E. and Tomasso, J. R., eds). Baton Rouge: World Aquaculture Society, 58-89 p.

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

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

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

Saroglia, M.G., Scarano, G., Tibaldi, E. (1981) Acute toxicity of nitrite to sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and european eel (*Anguilla anguilla*). Journal of the World Mariculture Society, 12, 121-126.

Serezli, R. 2011. Sularda amonyak ve sucul canlılarda toksik etkileri. Yunus Araştırma Bülteni, 3, 5-7.

Speare, D., Backman, S. 1988 Ammonia and nitrite waterborne toxicity of commercial rainbow trout. Can. Vet. J., 29, 666.

Spotte, S. 1979. Seawater aquariums. Wiley, New York, Chichester, Brisbane, Toronto.

Stickney, R.R. 1991. Culture of salmonid fishes, CRC press, Inc., Florida, pp 50-51.

Stumm, W., Morgan J.J. 1996. Aquatic chemistry. 3rd ed. New York: John Wiley and Sons., 1024 p.

Svobodova, Z., Lloyd, R., Machova, J. 1993. Ammonia. water quality and fish health. EIFAC Technical Paper, 54, 11-16.

Svobodova, Z., Vykusova, B., Machova, J. 1994. The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fishes. Chapter 4, p. 39-52, FAO, USA.

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

Thurston, R.V., Chakoumakos, C., Russo, R.C. 1981. Effect of fluctuating exposures on the acute toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cutthroat trout (*S. clarki*). Water Research, 15, 911-917.

Thurston, R.V., Russo, R. C. 1981. Ammonia toxicity to fishes, effect of pH on the toxicity of the un-ionized ammonia species. Am. Chem. Soc., 15, 7, 837-840.

Thurston, R.V., Russo, R.C., Meyn, E.L., Kajdel, R.K. 1986. Chronic toxicity of ammonia to fathead minnows. Trans. Am. Fish. Soc., 115, 196 - 207.

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

Twitchen, D., Eddy, F.B. 1995. Sublethal effects of ammonia on freshwater fish. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fishes. Chapter, 12, 211-229, FAO, USA.

Url-1. [http://www.akvaryumculuk.biz/pterophyllum\\_scalare.html](http://www.akvaryumculuk.biz/pterophyllum_scalare.html) (Erişim 22.06.2011 15:30)

Url-2. <http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastaliklari/files/dersler/435.pdf>. (Erişim 15.01.2011, 14:00)

Url-3. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/b63/00800917.pdf> (Erişim 17.01.2011, 16:15)

Uslu, O., Türkman, A. 1987. Su kirliliği ve kontrolü, T.C. Başbakanlık Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi.

Vedel, N.E., Korsgaard, B., Jensen, F.B. 1998. Isolated and combined exposure to ammonia and nitrite in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on electrolyte status and brain glutamine/glutamate concentrations. Aquatic Toxicology, 41, 325-342.

Verbeeten, B.E., Carter, C.G., Purser, G.J. 1999. The combined effect of feeding time and ration on growth performance and nitrogen metabolism of greenback flounder. J. Fish Biol., 55, 1328-1343.

Voslářová, E., Pištěková, V., Svobodová, Z., Bedáňová, I. 2008: Nitrite toxicity to *Danio rerio*: Effects of sub chronic exposure on fish growth. Acta Vet Brno. 77, 455–460

Wajsbrodt, N., Gasith, A., Diamant, A., Popper, D.M. 1993. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) and related histopathological effects. J. Fish Biol., 42, 321-328.

Walstad, D.L. 1999. Ecology of the planted aquarium, USA. 20 s.

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

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

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

Wester, P.W., Van der Ven, L.T.M., Vos, J.G. 2004. Comparative toxicological pathology in mammals and fish: some examples with endocrine disrupters. Toxicology, 205, 27-32.

Wezernak, C.T., Gannon, J.J. 1967. Oxygen-nitrogen relationships in autotrophic nitrification, applied microbiology. American society for microbiology, 1211-1215.

Wright, R. 1995. Nitrogen excretion three and production, many physiological roles. Journal of Experimental Biology, 198, 273-281.

Yang, H.C., Chun, S.K. 1986. Histopathological study of acute toxicity of ammonia on common carp, (*Cyprinus carpio*). Bulletin of Korean Fish Society, 19,(3), 249-256.

Zhang, L., Xiong, D.M., Li, B., Zhao, Z.G., Fang, W., Yang, K., Fan, Q.X. 2011. Toxicity of ammonia and nitrite to yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Journal of Applied Ichthyology, 28, 82-86.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1981 yılında Erzurum ili İspir ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir'in Foça ilçesinde tamamladı. 1998 yılında K.T.Ü Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi'nde başladığı lisans eğitiminden, 2002 yılında mezun oldu. 2008 yılında Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2010 yılında askerlik görevini tamamladı.