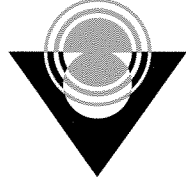


2008/188

TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Çevre, Atmosfer, Yer ve Deniz Bilimleri Araştırma Grubu
Environment, Atmospheric, Earth and Marine Sciences Research Grant Group



2008/188

TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Çevre, Atmosfer, Yer ve Deniz Bilimleri Araştırma Grubu
Environment, Atmospheric, Earth and Marine Sciences Research Grant Group

94209

**GÖLLERDE TUZLULUK VE İNSEKTİSİT MİKTARININ
BİYOBELİRTEÇ OLAN *DAPHNIA* ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİ
BELİRLEYEREK EKOSİSTEM DURUMUNU ÖNGÖREN MODEL VE
İNDİS TASARIMI**

PROJE NO: ÇAYDAG 104Y308

**PROF.DR. MERYEM BEKLİOĞLU YERLİ
PROF.DR. FERİDE SEVERCAN
YRD. DOÇ. DR. FERİHA YILDIRIM
DR. KARSTEN RINKE
DR. CAN OZAN TAN
SARA BANU AKKAŞ
GİZEM BEZİRCİ
ÜLKÜ NİHAN YAZGAN TAVŞANOĞLU**

**ARALIK 2007
ANKARA**

ÖNSÖZ

Çoğunlukla yarı veya tam kurak Akdeniz iklim koşullarının hakim olduğu ülkemizin göllerinin ekolojik yapıları ve biyoçeşitliliğinin belirlenmesinde, iklim ve iklimden en çok etkilenen hidrolojik değişkenlerin rolü çok önemlidir. Hükümetlerarası İklim Değişimi Paneli'nin (IPCC) 2007 raporuna göre, önümüzdeki 30-40 yıl içinde yüzey sularında en fazla azalmanın (>30%) Türkiye'nin de içinde bulunduğu Akdeniz iklim bölgesinde yer alan ülkelerde olması beklenmektedir. Günümüzde, içinde yaşadığımız iklimsel değişimin beklenen etkilerinin, özellikle tarım için aşırı su kullanımıyla beraber şiddetinin artması ve sonuç olarak tatlısu göllerimizin – tamamen kurumaz ise – küçülmesi, hidrolik su bekleme süresinin artması, tuzlanması ve ötrofikleşmesi beklenmektedir. Öte yandan, su ve drenaj olanağı sağlamalarından ötürü sucul ekosistemlerde, tarım alanlarında günümüzde yaygınca kullanılan tarım ilaçlarının kalıntıları tespit edilmektedir. Dolayısıyla, tarım alanlarını çevreleyen su havzalarında yaşayan hedef olmayan organizmaların tehlike altında oldukları açıklanmaktadır. Dahası, pestisitlerin etkilerinin de ötrofikasyonun sonuçlarına benzediği belirtilmektedir. Sonuçta, tatlısu göllerin koruma ile ekolojik değerleri ve biyoçeşitlilikleri azalmaktadır. Bu durum özellikle endemik türleri de tehdit etmektedir. IPCC (2007) tahminleri ve yanlış su kullanımı dikkate alındığında Türkiye'deki göller ve nehirler sahip oldukları biyoçeşitlilikle birlikte geri dönülmez şekilde çok ciddi yok olma tehdidi altındadırlar.

Bu araştırma ile tatlısu ekosistemlerinin kilit türü olan *Daphnia* türlerinin artan su sıcaklığı, tuzlanma, ötrofikasyon ve pestisit yoğunluğunda yaşama oranlarının ve yaşam döngülerinin nasıl etkileneceği derinlemesine ilk defa doğal stres etmeni olan balık avlanma baskısıyla birlikte laboratuvar deneyleriyle ve modellerle araştırılmıştır. *Daphnia* bireylerinde tetiklenen değişimler ise yine ilk defa moleküler düzeyde FTIR spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir. Bu çalışmamızın yöntem ve sonuçları özgün olup tatlısularda yaşayan diğer türlerin akibeti açısından da ışık tutucu olabilir.

Bu projenin sonlandırılması aşamasında, desteklerini esirgemeyen Sevgi Türker Görgülü, Nihal Şimşek Özek ve Özlem Bozkurt'a sınırsız yardımlarından dolayı teşekkür ederiz. Bu projenin gerçekleştirilmesinde gerekli mali desteği sağlayan TÜBİTAK Çevre, Atmosfer, Yer ve Deniz Bilimleri Araştırma Grubu Yürütme Komitesi'ne şükranlarımızı sunarım.



Prof. Dr. Meryem Beklioğlu
Proje Yürütücüsü

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
İçindekiler.....	ii
Çizelge Listesi.....	v
Şekil Listesi.....	vii
Özet.....	xi
Abstract.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Daphnia</i> Dinamiği.....	1
1.1.1 Tatlısu Göllerinde <i>Daphnia</i> 'nın Rolü.....	1
1.1.2 <i>Daphnia</i> 'yı Etkileyen Etmenler.....	2
1.1.2.1 Avcı Baskısının Etkisi.....	2
1.1.2.1.1 Davranışsal Uyarlamalar.....	4
1.1.2.1.2 Morfolojik Uyarlamalar.....	5
1.1.2.1.3 Yaşam Döngüsü Uyarlamaları.....	5
1.1.2.2 Tuzluluğun Etkisi.....	6
1.1.2.2.1 İklim Değişikliği ve Tuzluluk.....	6
1.1.2.2.2 İklim Değişikliği ve Türkiye.....	7
1.1.2.2.3 Tuzluluk ve Zooplakton Türleri.....	8
1.1.2.3 Pestisitlerin Etkisi.....	9
1.1.2.3.1. Pestisitler.....	10
1.1.2.3.2. Türkiye'de Pestisitler.....	10
1.1.2.3.3. Pestisit Toksisitesi.....	11
1.1.2.3.4. Piretroid Toksisitesi.....	12
1.2 Ekotoksikolojik Çalışmalar.....	13
1.3 Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi.....	17
1.3.1 Elektromanyetik Dalga ve Spektroskopi.....	17
1.3.2 Soğurma Spektroskopisi.....	18
1.3.3 Titreşim Spektroskopisi.....	18
1.3.4 Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi.....	18
1.3.5 Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisinin Önemi ve Uygulama Alanları.....	19
2. MATERYAL ve METOD.....	21
2.1 İklim Odası ve Canlı Kültürlerin Oluşturulması.....	21
2.1.1. İklim Odasının Oluşturulması.....	21
2.1.2. Canlı Kültürlerin Oluşturulması.....	21
2.1.2.1. <i>Scenedesmus obliquus</i> Kültürünün Oluşturulması.....	21
2.1.2.2. <i>Daphnia pulex</i> Kültürünün Oluşturulması.....	23

2.1.2.2.1. COMBO Besi Ortamı.....	23
2.1.2.2.2. COMBO Besi Ortamında <i>Daphnia pulex</i> 'in Yetiştirilmesi	24
2.1.2.3. Balık Kültürünün Oluşturulması	24
2.2. Toksikite için Deneysel İşlemler	26
2.2.1 OECD Toksikite Deney Kriterleri	26
2.2.2. Deney Düzenekleri.....	27
2.2.2.1 Tuzluluk Deneyleri	27
2.2.2.1.1 Akut Toksikite Deneyleri	27
i. Doz Belirleme Araştırmaları	27
2.2.2.1.2. Kronik Toksikite Deneyleri	29
i. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi.....	29
ii. Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi.....	29
2.2.2.2. Sipermetrin Deneyleri	31
2.2.2.2.1. Akut Toksikite Deneyleri	31
i. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması	31
2.2.2.2.2. Kronik Toksikite Deneyleri	32
i. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi.....	32
2.2.2.3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk ve Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyleri.....	33
2.2.2.4. Aklimizasyon Çalışmaları.....	34
2.2.2.4.1. Tuzluluk Aklimizasyon Çalışmaları ve Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyleri	34
2.2.2.4.2. Sipermetrin Aklimizasyon Çalışmaları ve Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyleri	36
2.3. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi için Deneysel İşlemler.....	37
2.4. İstatistiksel Analizler	38
2.5. Modelleme	39
2.5.1. Stres Etmenlerinin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi.....	39
2.5.2. Stres Etmenlerinin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi	40
3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	41
3.1. Ekotoksikolojik Deneylerin Bulguları ve Tartışılması.....	41
3.1.1. Tuzluluk Deneyleri	41
3.1.1.1. Akut Toksikite Deneyleri	41
1. Doz Belirleme Ön Araştırması.....	42
2. Doz Belirleme Araştırması	45
3.1.1.2. Kronik Toksikite Deneyleri	49
1. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi	50

2. Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi.....	53
3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi.....	59
3.1.2. Sipermetrin Deneyleri	67
3.1.2.1. Akut Toksikite Deneyleri	68
1. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması	68
3.1.2.2. Kronik Toksikite Deneyleri	71
1. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi	71
2. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi	75
3.2. Spektroskopik Deneylerin Bulguları ve Tartışılması	84
3.2.1. Tuzluluk Deneyleri	86
3.2.2. Sipermetrin Deneyleri	88
3.3. Modelleme Araştırmalarının Bulguları ve Tartışılması.....	93
3.3.1. Stres Etmenlerinin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi.....	93
3.3.1.1. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Etmenlerinin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi	93
3.3.1.2. Özkaynak Dağılımının Modellemesi için Ön Deney.....	99
3.3.1.3. Tuzluluk Stres Etmeninin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi.....	100
3.3.1.4. Sipermetrin Stres Etmeninin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi.....	104
3.3.2. Stres Etmenlerinin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi	105
3.3.2.1. Tuzluluk Stres Etmeninin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi.....	105
3.3.2.2. Sipermetrin Stres Etmeninin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi.....	108
3.4. Sonuçların İrdelenmesi	111
4. KAYNAKÇA	117
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU	143

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2.1. *Scenedesmus obliquus* kültür ortamının hazırlanışı.

Çizelge 3.1.1. Tuzluluk Akut Toksikite Doz Belirleme Ön Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.2. Tuzluluk Akut Toksikite Doz Belirleme Ön Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.3. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.4. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.5. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.6. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.7. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.8. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.9. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.10. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.11. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.12. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.13. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.14. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.15. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.16. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde 0.0 ve 1.0 µg/L dozlarının yaşama oranı verilerinin iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.17. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.18. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.19. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.20. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının iki yönlü ANOVA ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.21. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.22. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin iki yönlü ANOVA ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.1.23. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

Çizelge 3.3.1. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut şekillerinin ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.3.2. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde maksimum vücut uzunluklarının (L_{max}) ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.3.3. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde k sabitlerinin ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.3.4. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde üretilem yumurta sayısının ANOVA testinin sonuçları.

Çizelge 3.3.5. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliğin vücut uzunluğuna oranının ANCOVA testinin sonuçları.

Şekil 3.1.1. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları.

Şekil 3.1.2. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları.

Şekil 3.1.3. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları.

Şekil 3.1.4. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları.

Şekil 3.1.5. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları.

Şekil 3.1.6. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları. Balık sıyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deneyi sonuçları.

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1.1. *Daphnia pulex*. (Çeken G. Bezirci, Limnoloji Laboratuvarı, ODTÜ, 2006)
- Şekil 1.2. Sucul canlıların (*Daphnia* ile simgelenmiş) su-ile-taşınan kimyasal maddelerin nitelediği bilgi ile gerçekleştirdiği etkinlikler (Brönmark ve Hansson, 2000'den uyarılama).
- Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum.
- Şekil 1.4. Elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşimi.
- Şekil 2.1. Laboratuvar ortamındaki *Scenedesmus obliquus* kültürünün yetiştirilme düzeneği.
- Şekil 2.2. COMBO besi ortamının hazırlanışı.
- Şekil 2.3. *Daphnia* bireylerinin nesil takip şeması.
- Şekil 2.4. *D.pulex* için tuzluluk akut toksisite deney şeması.
- Şekil 2.5. *D.pulex* için tuzluluk akut toksisite deney beherleri.
- Şekil 2.6. Eymir ve Mogan göllerinin günümüz ve beklenen tuzluluk seviyeleri.
- Şekil 2.7. *D.pulex* için yüksek sipermetrin etkisini belirleme akut toksisite deney şeması.
- Şekil 2.8. Ön-deneyin ve Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmının zamana bağlı vücut uzunluklarının karşılaştırmalı çizimi.
- Şekil 2.9. *D.pulex* için yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek amacıyla tuzluluk kronik toksisite deney şeması.
- Şekil 2.10. *D.pulex* için yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek amacıyla sipermetrin kronik toksisite deney şeması.
- Şekil 2.11. Dondurularak kurutulmuş *D. magna* fotoğrafı.
- Şekil 3.1.1. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Önceki Deneyi'nin sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.2. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Önceki Deneyi'nin sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.3. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Önceki Deneyi'nin sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.4. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Önceki Deneyi'nin sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.5. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).
- Şekil 3.1.6. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içermeyen koşullarda tuzluluk kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.7. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren koşullarda tuzluluk kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.8. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).

- Şekil 3.1.9.** Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdelerinin A) balık sinyali içermeyen ve B) balık sinyali içeren koşullarda zamana bağlı değişimi.
- Şekil 3.1.10.** Artan tuzluluğun 22 °C ve 25 °C'lerde *Daphnia* üzerindeki etkisi.
- Şekil 3.1.11.** Balık sinyali içermeyen koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.12.** Balık sinyali içeren koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.13.** Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliği/vücut uzunluğu verileri (Ortalama±Std hata)
- Şekil 3.1.14.** Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yumurta sayısı verileri (Ortalama±Std hata).
- Şekil 3.1.15.** Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Yaşı (BÜY) verileri (Ortalama±Std hata).
- Şekil 3.1.16.** Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Boyu (BÜB) verileri (Ortalama±Std hata)
- Şekil 3.1.17.** Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yavru sayısı verileri (Ortalama±Std hata).
- Şekil 3.1.18.** Balık sinyali içermeyen koşullarda yüksek sipermetrin etkisini belirleme deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.
- Şekil 3.1.19.** Balık sinyali içeren koşullarda yüksek sipermetrin etkisini belirleme deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.
- Şekil 3.1.20.** Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).
- Şekil 3.1.21.** Balık sinyali içermeyen koşullarda sipermetrin kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.
- Şekil 3.1.22.** Balık sinyali içeren koşullarda sipermetrin kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.
- Şekil 3.1.23.** Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).
- Şekil 3.1.24.** Balık sinyali içermeyen koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.25.** Balık sinyali içeren koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.
- Şekil 3.1.26.** Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliği/vücut uzunluğu verileri (Ortalama±Std Hata)
- Şekil 3.1.27.** Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yumurta sayısı verileri (Ortalama±Std hata).

Şekil 3.1.28. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Yaşı (BÜY) verileri (Ortalama±Std hata).

Şekil 3.1.29. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Boyu (BÜB) verileri (Ortalama±Std hata)

Şekil 3.1.30. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yavru sayısı verileri (Ortalama±Std hata).

Şekil 3.2.1. *Daphnia* bireylerinin ATR-FTIR tekniği ile elde edilmiş $3800-2750\text{ cm}^{-1}$ (A) ve $1800-650\text{ cm}^{-1}$ (B) dalga sayısı aralıklarındaki spektrumlarına birer örnek.

Şekil 3.2.2. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan tuzluluk konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH_2 Asimetrik/ CH_2 Simetrik, $[(\text{CH}_2 \text{ Asimetrik} + \text{CH}_2 \text{ Simetrik})/\text{Amid 1}]$, $\text{C}=\text{O}$ Ester/Amid 1 ve PO_2^- Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

Şekil 3.2.3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan tuzluluk konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH_2 Asimetrik/ CH_2 Simetrik, $[(\text{CH}_2 \text{ Asimetrik} + \text{CH}_2 \text{ Simetrik})/\text{Amid 1}]$, $\text{C}=\text{O}$ Ester/Amid 1 ve PO_2^- Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

Şekil 3.2.4. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması'nda balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan sipermetrin konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH_2 Asimetrik/ CH_2 Simetrik, $[(\text{CH}_2 \text{ Asimetrik} + \text{CH}_2 \text{ Simetrik})/\text{Amid 1}]$, $\text{C}=\text{O}$ Ester/Amid 1 ve PO_2^- Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

Şekil 3.2.5. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan sipermetrin konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH_2 Asimetrik/ CH_2 Simetrik, $[(\text{CH}_2 \text{ Asimetrik} + \text{CH}_2 \text{ Simetrik})/\text{Amid 1}]$, $\text{C}=\text{O}$ Ester/Amid 1 ve PO_2^- Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

Şekil 3.2.6. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan sipermetrin konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH_2 Asimetrik/ CH_2 Simetrik, $[(\text{CH}_2 \text{ Asimetrik} + \text{CH}_2 \text{ Simetrik})/\text{Amid 1}]$, $\text{C}=\text{O}$ Ester/Amid 1 ve PO_2^- Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

Şekil 3.3.1. *Daphnia pulex* ölçümleri

Şekil 3.3.2 Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut şekillerinin değişik etmenlere bağlı iki çubuk çizimleri.

Şekil 3.3.3. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut uzunluklarının değişik etmenlere bağlı büyüme eğrilerinin çizimleri.

Şekil 3.3.4. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde L_{max} değerinin ve k sabitinin değişik etmenlere bağlı iki çubuk çizimleri

Şekil 3.3.5. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısının vücut uzunluğuna göre değişik etmenlere bağlı büyüme eğrilerinin çizimleri.

Şekil 3.3.6. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde üretilen yumurta sayısının vücut uzunluğuna göre besin miktarına bağlı büyüme eğrisinin çizimi.

Şekil 3.3.7. Ön-deneyin ve Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmının zamana bağlı vücut uzunluklarının karşılaştırmalı çizimi.

Şekil 3.3.8. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranının değişik etmenlere bağlı iki çubuk çizimleri

Şekil 3.3.9. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut uzunluklarına göre somatik büyüme eğrilerinin değişik etmenlere bağlı çizimleri.

Şekil. 3.3.10. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısının vücut uzunluğuna göre değişik etmenlere bağlı büyüme eğrilerinin çizimleri.

Şekil 3.3.11. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut uzunluklarına göre somatik büyüme eğrilerinin değişik etmenlere bağlı çizimleri.

Şekil 3.3.12. Bağımsız değişkenlerin ana (etki > %10) doğrusal olan ve olmayan bileşimlerinin *Daphnia* bireylerinin yaşama oranına etkileri.

Şekil 3.3.13. Doğrusal olmayan aktarım denklemleri.

Şekil 3.3.14. İlk doğrusal olmayan aktarım denkleminin (Tuz %82) balık sinyalinin yokluğu ve varlığındaki aktarım denklemleri.

Şekil 3.3.15. Bağımsız değişkenlerin ana (etki > %10) doğrusal olan ve olmayan bileşimlerinin *Daphnia* bireylerinin yaşama oranına etkileri.

Şekil 3.3.16. Doğrusal olmayan aktarım denklemleri.

ÖZET

Tatlısu göllerinde, Kladosera sınıfına ait zooplankton *Daphnia* türleri besin zincirinin yapısı ve dinamiğinde alg topluluklarının büyümelerini kontrol altında tutmaları ve böylece su berraklığını artırmalarından dolayı kilit tür olarak önem taşımaktadır. Dolayısıyla, göllerdeki biyolojik çeşitliliğin durumu hakkında gölde bulunan *Daphnia* popülasyonlarının durumu doğrudan bilgi sağlamaktadır. Doğal bir stres etmeni olan balık avlanma baskısı altındaki *Daphnia* bireylerinin insan-kaynaklı stres etmenleri olan tuzluluk/insektisit varlığında maruz kaldığı durumların belirlenmesi, klasik toksikolojik bakış açısına yenilikçi ve daha gerçekçi bir ekolojik yaklaşım getirmektedir. Bu doğrultuda, artan tuz/sipermetrin yoğunluğunda ve balık sinyalinin varlığında hem laboratuvar deneyleriyle ve hem de modellerle *Daphnia* bireylerinin yaşama oranlarında ve yaşam döngülerinde değişimler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, *Daphnia*'nın bu koşullar altında gösterdiği moleküler düzeydeki değişimler de, bu alanda ilk defa kullanılan Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) spektroskopi tekniği ile saptanmıştır. Böylece, hem moleküler, hem de ekolojik değişimler birarada değerlendirilmiştir.

On the other hand, the presence of the...

Genel olarak, normal sıcaklıklarda ve optimum besin koşullarında tuzluluk ile beraber balık sinyalinin varlığının *Daphnia* bireylerinin tuzluluğa olan direncini arttırdığı ve bu çoklu etkileşimin antagonistik olabileceği gözlenmiştir. Tuzluluğun olumsuz etkilerinin nedeni ve/veya sonucu olabilecek moleküler değişimlerin, tuzlulukla beraber artan lipid peroksidasyonu (oksidatif stres) ve azalan lipid, karbonhidrat ve protein miktarı olabileceği önerilmektedir. Öte yandan, balık sinyalinin varlığının tuzluluğun neden olduğu değişimleri tersi yönde etkilediği gözlenmiş ve dolayısıyla balık sinyalinin varlığının *D. pulex* bireylerinin tuzluluğa karşı direncini artırdığı sonucu desteklenmiştir.

On the other hand, the presence of the...

Bütün olarak, avlanma baskısının varlığının öldürücü dozlarda ki sipermetrinin *Daphnia* bireylerinin üzerinde ki etkilerini artırdığı ve dolayısıyla bu çoklu etkileşimin sinerjistik olabileceği gözlenmiştir. Ancak, yarı-öldürücü sipermetrin dozlarında balık sinyalinin varlığının sipermetrinin olumsuz etkilerini azalttığı ve dolayısıyla bu çoklu etkileşimin antagonistik olabileceği gözlenmiştir. Sipermetrinin olumsuz etkilerinin nedeni ve/veya sonucu olabilecek moleküler değişimlerin, sipermetrinle beraber artan lipid peroksidasyonu (oksidatif stres) ve azalan lipid, karbonhidrat ve protein miktarı olabileceği önerilmektedir. Balık sinyalinin varlığında lipid peroksidasyonunda gözlenen artış, öldürücü sipermetrin dozları ile beraber balık sinyalinin varlığında gözlenen olumsuz etkileri desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Balık Avlanma Baskısı, Sodyum Klorür, Sipermetrin, Ekotoksikoloji, Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi, Modelleme.

ABSTRACT

In freshwater lakes *Daphnia*, which is a zooplankton from the genus Cladocera, increases water clarity due to its high grazing pressure and water filtration capacity. Hence, the state of the *Daphnia* population in a lake can directly give information about the state of water clarity and biodiversity in the lake. The effect of fish predation pressure as a natural stressor together with the effect of increasing salinity/pesticide as anthropogenic stressors provides a new and more realistic ecological approach to the traditional toxicological approach. In view of this approach, the effects of increasing salinity/pesticide together with the presence of the fish kairomone on the survival and life history traits of *Daphnia* was investigated both in the laboratory and by modelling. Moreover, this research investigated the molecular changes that occurred in *Daphnia* exposed to both predation pressure and salinity/cypermethrin with Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, which was applied in this discipline for the first time. Hence, both ecological and molecular alterations were evaluated together.

In general, at normal temperatures and optimal food conditions, the presence of the fish kairomone was observed to increase the resistance of *Daphnia* to salinity and this multiple interaction is suggested to be antagonistic. The molecular alterations leading to or the result of these negative effects of salinity are possibly increased lipid peroxidation (i.e. oxidative stress) and decreased lipid, carbohydrate and protein quantity. Moreover, the observation that the presence of the fish kairomone reversed the alterations caused by salinity supports the suggestion that the fish kairomone increases the resistance of *Daphnia* to salinity.

On the whole, the presence of the fish kairomone was observed to increase the negative effects of lethal doses of cypermethrin on *Daphnia* and this multiple interaction is suggested to be synergistic. On the other hand, the negative effects of sub-lethal doses of cypermethrin are decreased in the presence of the fish kairomone and this multiple interaction is suggested to be antagonistic. The molecular alterations leading to or the result of these negative effects of cypermethrin are possibly increased lipid peroxidation (i.e. oxidative stress) and decreased lipid, carbohydrate and protein quantity. Moreover, the increase observed in the amount of lipid peroxidation in the presence of the fish kairomone supports the synergistic interaction between lethal doses of cypermethrin and the fish kairomone.

Keywords: Fish Predation Pressure, Sodium Chloride, Cypermethrin, Ecotoxicology, Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy, Modelling.

1. GİRİŞ

1.1 *Daphnia* DİNAMIĞI

1.1.1 Tatlısu Göllerinde *Daphnia*'nın Rolü

Tatlısu göllerinde, Kladosera sınıfına ait zooplankton *Daphnia* (Şekil 1.1), besin zincirinin yapısı ve dinamiği için büyük önem taşımaktadır. Yaygın dağılımları, kolay örneklenebilmeleri, kültür ortamında yaşama oranlarının yüksek olması (eşeysiz üreme, hızlı yaşam devri, kolay yetiştirilebilme) gibi tatbiki nedenlerin yanısıra, sucul ekosistemlerin çok önemli bir kilit türü olmaları dolayısıyla da *Daphnia* önemli bir taksondur (Bernardi ve Peters, 1987; Lass ve Spaak, 2003). *Daphnia* ile dağılım, davranış, genetik, popülasyon biyolojisi, yaşam döngüsü, morfoloji, enerji akışı, rekabet (competition), ekotoksikoloji ve avcı baskısı gibi alanlarda yapılan çalışmaların, bu araştırma alanlarının daha iyi anlaşılmasında büyük katkıları olmuştur (Bernardi ve Peters, 1987; Edmonson, 1987).



Şekil 1.1. *Daphnia pulex*. (Çeken G. Bezirci, Limnoloji Laboratuvarı, ODTÜ, 2006)

Daphnia'nın sucul ekosistemlerin çok önemli bir kilit türü olmalarının sebebi, balıklar için oldukça önemli bir besin kaynağı olmakla beraber (Schriver ve ark., 1995), alglerle beslenmeleri ve alg topluluklarının yapısını etkilemeleridir (Elser ve Goldman, 1991; Sarnelle, 1993). Bu önem, zooplankton türlerinin – su kolonunda bulanıklığa yol açan ve ışık geçirgenliğini azaltan fitoplanktonlar üzerinden otlanarak – alg topluluklarının büyümelerini kontrol altında tutmaları ve böylece su berraklığını artırmalarından kaynaklanmaktadır (Schriver ve ark., 1995; Jeppesen ve ark., 1999; Scheffer, 1999). Söz konusu suyu filtre etme işlevi, küçük vücutlu zooplankton türlerine oranla büyük vücutlu zooplankton türleri, başta *Daphnia* türleri olmak üzere, tarafından daha verimli bir şekilde gerçekleştirilir (Scheffer, 1999). Özellikle *Daphnia* türlerinin yüksek otlama yetisi sonucu artan su berraklığının, uygun ışık ortamını sağlaması sonucu gelişme gösterebilen suiçi bitkileri, pek çok omurgalı ve omurgasız canlıya barınak oluşturur ve böylece yaşama alanı sağlar. Bu nedenle, gelişmiş suiçi bitkilerine sahip sığ göl sulakalanlarının biyolojik çeşitlilikleri ve dolayısıyla ekolojik ve koruma değerleri yüksektir (Moss ve Leah, 1982; Wilcox ve Meeker, 1992; Hanson ve Butler, 1994; Schriver ve ark., 1995; Jeppesen, 1998; Moss, 1998; Jeppesen ve ark., 2002). Kısacası, tatlısu göllerindeki su berraklığının ve neticesi olan biyolojik çeşitliliğin korunmasında, göllerde bulunan *Daphnia* popülasyonlarının rolü büyüktür (Edmondson ve Litt, 1982). Dolayısıyla, *Daphnia* popülasyonunu etkileyecek her etmen aynı zamanda tatlısu göllerinin su berraklığını ve biyolojik çeşitliliğini de etkileyecektir. Diğer bir değişle, tatlısu göllerinin işleyişinde kilit rol oynayan bu cinsin değişen çevre koşullarından ve insan etkisine maruz kalan ekosistemlerden ne şekilde etkilendiği, o

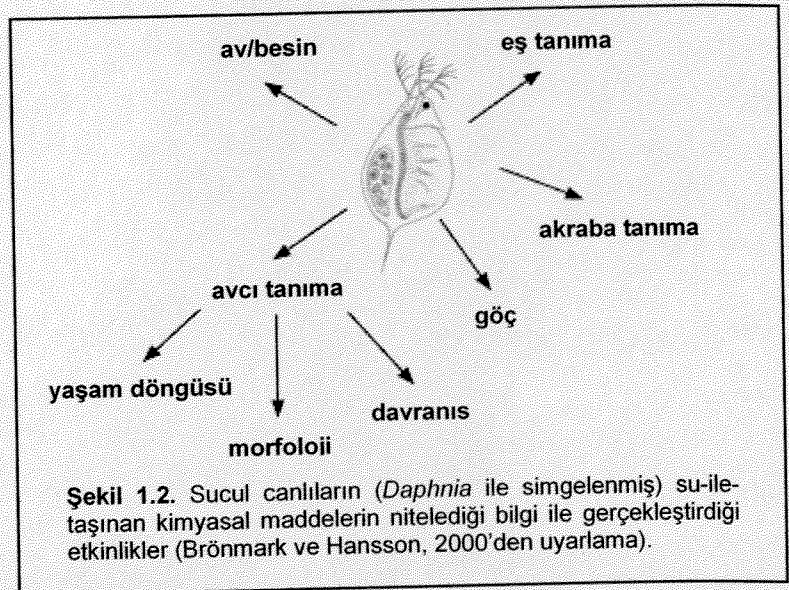
sistemin ileride bulunacağı durum hakkında doğrudan bir tahmin yürütülmesinde yardımcı olabilir. Sonuç olarak, *Daphnia* tatlısu göllerinin ekolojik değerlendirilmesinde biyobelirteç olarak kullanılabilir.

1.1.2 *Daphnia*'yı Etkileyen Etmenler

Daphnia'nın tatlısuların besin ağındaki önemi, birçok araştırmacının ilgisini *Daphnia*'yı etkileyen etmenlere yönelmiştir. Bu ilgi alanı, *Daphnia*'nın beslenmesini, metabolizmasını ve yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını (life history and resource allocation) etkileyen etmenleri değerlendirme yönünde gelişmiştir (Peters ve Bernardi, 1987). Beslenmesini besin miktarı, vücut büyüklüğü, sıcaklık, günlük ritimler, ışık gibi etmenler etkilerken; metabolizmasını ise kalabalık etkisi (crowding effect), genetik farklılıklar, aklimasyon koşulları ve yaşam döngüsündeki koşullar gibi etmenler de etkilemektedir (Lampert, 1987; Peters, 1987). Yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını etkileyen fiziksel ve biyolojik ana etmenler ise su sisteminin hidrolojisi, sıcaklık, besin kaynaklarının miktarı ile kalitesi ve omurgasız ile omurgalı avcılardır (Threlkeld, 1987b).

1.1.2.1 Avcı Baskısının Etkisi

Daphnia'nın özkaynak dağılımını etkileyen ana etmenler arasında omurgasız veya omurgalı avcılardan kaynaklanan baskı vardır. Ancak, *Daphnia* tarafından avcılardan kaçınma davranışlarının nasıl algılandığını anlamak, sucul ekosistemlerde iletişimin nasıl gerçekleştiğini anlamaktan geçer. Öncelikle, suyun zayıf ışık geçirgenliği – özellikle bulanık koşullarda – ve habitatın karışık yapısı nedeniyle sucul organizmalar birbirleri ile görsel olmayan sinyaller aracılığı ile iletişim



Şekil 1.2. Sucul canlıların (*Daphnia* ile simgelenmiş) su-iletaşınan kimyasal maddelerin niteliği ile gerçekleştirdiği etkinlikler (Brönmark ve Hansson, 2000'den uyarlama).

kurmaktadırlar. Görsel sinyaller yerine, sucul ekosistemlerde ki çeşitli taksonlara ait organizmaların diğer organizmalar tarafından salınan düşük yoğunlukta ki kimyasal sinyallere dayalı olarak birçok yaşamsal etkinliklerini gerçekleştirdikleri bilinmektedir (Brönmark ve Hansson, 2000; Burks ve Lodge, 2002). Brönmark ve Hansson'ın (2000) da belirttiği gibi bu "kimyasal iletişim" avcı tanımada, kaynaklara ulaşmada (av/besin), eş bulmada, yön belirlemede ve akraba tanımda büyük önem taşımaktadır.

1.1.2.2 Kimyasal İletişim

Kimyasal iletişim ile ilgili çalışmalar arasında en çok ilgi ve kaynağın tüketici (avcı/otçul) – tüketilen (av/besin) arasındaki kimyasal iletişime aktarıldığı belirtilmiştir (Brönmark ve Hansson, 2000). Bu şekildeki türler-arası iletişimi sağlayan, avlanan türde davranışsal ve/veya fizyolojik tepkilere neden

olarak, varlığından avcıdan ziyade avlananın faydalandığı kimyasal sinyallere "kairomon" adı verilmektedir (Lincoln ve ark., 1982; Dicke ve Sabelis, 1988). Ekolojik etkileri açısından büyük önem taşıyan kairomon maddesinin yapısal tanımlaması, metabolik kökenlerinin, olası alıcıları ile kalıcılıklarının ve değişik sinyallerin önemlerinin belirlenmesine katkıda bulunabilecektir (Dodson ve ark., 1994). Planktivor balıklardan salınan kimyasal sinyallerin fiziksel ve kimyasal yapılarının tanımlanması ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Avcı balık varlığını belirten balık sinyalinin kimyasal doğasını belirlemeye yönelik çalışmalar, balık sinyalinin ana özelliklerini düşük moleküler ağırlıklı (<500 Dalton), eksi yüklü, uçucu olmayan, suda çözülebilen orta derecede lipofilik bir bileşik olma, aşırı pH (0.8<pH<14.0) ve sıcaklık (-20°C'den +120°C'ye) değerlerinde sabit kalabilme, proteinaza dayanıklılık gösterme ve sadece 37°C'de steril olmayan koşullarda bakteriyel biyoyikim sonucu etkinliğini yitirme olarak belirtmiştir (Loose ve ark., 1993; von Elert ve Loose, 1996; Beklioğlu ve ark., 2006a). Ayrıca, balık sinyalinin kökeninin hem balık, hem de balık mucusu-ile-ilişkili-bakteri kökenli olduğu ve planktonik bakteriler tarafından yıkıma uğradığı önerilmiştir (Ringelberg ve van Gool 1998; Beklioğlu ve ark., 2006b). Ayrıca, sıcaklık ve mevsimsel değişimlerin balık sinyali üretimi ve balık sinyaline gösterilen tepkiyi etkileyebileceği de belirtilmiştir (Stibor ve Lampert, 2000; Lass ve Spaak, 2003; Beklioğlu ve ark., 2006a). Bütün olarak ele alındığında, balık sinyalinin kesin yapısı, dayanıklılığı, kökeni ve mevsimsel değişimi tam olarak çözümlenememiştir. Ancak, özellikle son 20 yılda gerçekleştirilen birçok çalışma, laboratuvar ortamında balık bekletilmiş su ile gerçekleştirilen deneylerin avcı baskısının *Daphnia* üzerindeki etkilerini değerlendirmek üzere çok verimli bir yaklaşım olduğunu ve kairomon maddesinin balık sinyalinin varlığını çok elverişli bir şekilde yansıttığını göstermiştir (Brooks ve Dodson, 1965; Vanni, 1987; Brett, 1992; Macháček, 1991; Loose ve ark., 1993; Weber ve Declerck 1997; Boersma ve ark., 1998; Spaak ve ark., 2000; Sakwinska, 2002).

Planktivor balıklar veya omurgasız avcılar tarafından salınan kairomon maddesinin zooplankton türlerince algılanması ve avcı baskısını azaltmak için gerçekleştirdikleri korunma stratejileri, *Daphnia*'nın tatlısu ekosistemlerindeki kilit tür olması açısından irdelendiğinde çok büyük önem taşımaktadır ve sayısız çalışmaya sebep olmuştur (Timms ve Moss, 1984; Hebert ve Grewe, 1985; Dawidowicz ve Loose, 1992; Larsson ve Dodson, 1993; Spaak ve Boersma, 1997; Lass ve Spaak, 2003).

Avcılar – balık veya omurgasız – genellikle vücut-boyuna-seçici (size-selective) olarak beslenir ve avlanma stratejileri açısından farklılık gösterirler (Brooks ve Dodson, 1965). Örneğin, planktivor balıklar görsel olarak avlanır, büyük *Daphnia* bireylerini tercih ederlerken; *Chaoborus* larvaları dokunma hislerini kullanarak avlanır, daha ziyade küçük *Daphnia* bireylerini tercih ederler. Dolayısıyla, görece büyük olmaları sebebiyle *Daphnia* türleri balıklar tarafından daha fazla avlanmaktadır (Brooks ve Dodson, 1965). Vanni (1987) ve Brett (1992) omurgasız bir avcı olan *Chaoborus* (küçük bireylerle beslenir) baskısı altında büyük *Daphnia* bireylerin ortaya çıktığını, balık (büyük bireyler üzerinden beslenir) baskısı altında ise küçük bireylerin ortaya çıktığını göstermiştir. Balıklar görsel olarak beslenip büyük bireyleri seçtiklerinden (Brooks ve Dodson, 1965), *Daphnia* bireyleri avcı varlığında – büyük bireylerin üremelerinin daha verimli olmasına rağmen – daha erken ve küçük boyda

üreme yönünde uyarılama göstererek devamlılıklarını arttıracaklardır (Teschner, 1995; Burns, 2000; Sakwinska, 2002). Örneğin, *Daphnia galeata* üzerinde yapılan çalışmalar balık sinyalinin varlığında bireylerin daha erken ve küçük boyda ürediklerini göstermiştir (Macháček, 1991; Weber ve Declerck 1997; Spaak ve ark., 2000). Reede'nin (1995) değişik kairomon oranlarıyla yaptığı çalışmada ise ilk üreme yaşı ve ilk üreme boyunun artan kairomon miktarıyla birlikte azaldığı ve yumurta sayısının ise önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar doğada görülen boyuta bağlı uyarlamalar ile benzerlik göstermektedir (Reznick ve ark., 1990). Dolayısıyla, balık sinyalinin varlığı ortamda balığın bulunduğu dair güvenilir bir bilgidir ve büyük boydaki bireyler için ortamda artan bir risk olduğunu belirtir ki bu da elde edilen tepkilerin uyarılama sonucu olduğu anlamına gelmektedir (Sakwinska, 2002).

Sonuç olarak, değişik avcılarının avlanma teknikleri birbirinden farklı olup, farklı avcılarının sinyalleri avlanan türlerde farklı korunma stratejilerinin gelişmesine neden olur. Gerçekten de, *Daphnia* cinsi türlerinin avcılarının salgıladığı sinyal aracılığı ile avcılarının varlığını belirleyebildikleri ve böylece, avlanma olasılığını azaltmak amacı ile avcıya-özgü korunma stratejileri sergileyebildikleri gözlenmiştir (Hebert ve Grewe, 1985; Dodson, 1988; Dodson, 1989). Planktivor balık avlanma baskısına karşı, *Daphnia* bireyleri için davranışsal (Dodson, 1988; Dawidowicz ve Loose, 1992), morfolojik (Tollrian, 1994) ve yaşam döngüsü (Stibor, 1992; Reede, 1995) uyarlamalarının barınak (refuge) görevi gördüğü bilinmektedir. Böylece, bir *Daphnia* popülasyonu içinde, birbirinden farklı korunma stratejileri kullanan farklı genotipler birarada (coexist) yaşayabilir ve balık baskısı altında benzer popülasyon büyüme hızları gösterebilirler (Boersma ve ark., 1998).

1.1.2.1.1 Davranışsal Uyarlamalar

Daphnia'nın avcı-kaynaklı ölümlerini azaltmak adına davranışsal korunma stratejileri geliştirdikleri yaygın bir şekilde kabul görmektedir. Öncelikle, sığ göllerde yapılan çok yönlü çalışmalar özellikle *Daphnia* gibi zooplanktonların heterojen bir yatay dağılım gösterdiğini rapor etmiştir. Bunun sebebi, su bitkilerinin büyük vücutlu zooplanktonlar için balık baskısına karşı çok önemli bir barınak sağlamasıdır. Bu yatay dağılım, Günlük Yatay Göç (GYG) olarak adlandırılmakta ve zooplankton bireylerinin gündüz saatlerinde açık suları terkederek bitki yataklarına doğru, gece saatlerinde ise açık sulara doğru hareket etmeleriyle tanımlanmaktadır (Timms ve Moss, 1984; Lauridsen ve Buenk, 1996; Burks et al., 2002). Birçok araştırmacı, balık avlanma baskısı varlığında su bitkilerini barınak olarak kullanan zooplanktonların algler üzerinden otlanmasının su berraklığının korunması açısından önemini vurgulamaktadır (Timms ve Moss, 1984; Irvine ve ark., 1990; Schriver ve ark., 1995; Lauridsen ve ark., 1998; Scheffer, 1999; Burks et al., 2002).

Diğer taraftan, derin sularda – gerek denizlerde, gerekse tatlısularda – *Daphnia* gibi birçok zooplankton türünün günlük olarak dikeysel dağılımlarını değiştirdikleri birçok çalışmada rapor edilmiştir. Bu günlük konum değişimi, Günlük Dikeysel Göç (GDG) olarak adlandırılmakta ve zooplankton bireylerinin şafağın sökmesiyle karanlık, soğuk, oksijen seviyesi az ve besin miktarı düşük derin sulara doğru alçalmaları, akşam karanlığının çökmesiyle de algler üzerinden beslenebilmek

üreme yönünde uyarılama göstererek devamlılıklarını arttıracaklardır (Teschner, 1995; Burns, 2000; Sakwinska, 2002). Örneğin, *Daphnia galeata* üzerinde yapılan çalışmalar balık sinyalinin varlığında bireylerin daha erken ve küçük boyda ürediklerini göstermiştir (Macháček, 1991; Weber ve Declerck 1997; Spaak ve ark., 2000). Reede'in (1995) değişik kairomon oranlarıyla yaptığı çalışmada ise ilk üreme yaşı ve ilk üreme boyunun artan kairomon miktarıyla birlikte azaldığı ve yumurta sayısının ise önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar doğada görülen boyuta bağlı uyarlamalar ile benzerlik göstermektedir (Reznick ve ark., 1990). Dolayısıyla, balık sinyalinin varlığı ortamda balığın bulunduğu dair güvenilir bir bilgidir ve büyük boydaki bireyler için ortamda artan bir risk olduğunu belirtir ki bu da elde edilen tepkilerin uyarılama sonucu olduğu anlamına gelmektedir (Sakwinska, 2002).

Sonuç olarak, değişik avcılarının avlanma teknikleri birbirinden farklı olup, farklı avcılarının sinyalleri avlanan türlerde farklı korunma stratejilerinin gelişmesine neden olur. Gerçekten de, *Daphnia* cinsi türlerinin avcılarının salgıladığı sinyal aracılığı ile avcılarının varlığını belirleyebildikleri ve böylece, avlanma olasılığını azaltmak amacı ile avcıya-özü korunma stratejileri sergileyebildikleri gözlenmiştir (Hebert ve Grewe, 1985; Dodson, 1988; Dodson, 1989). Planktivor balık avlanma baskısına karşı, *Daphnia* bireyleri için davranışsal (Dodson, 1988; Dawidowicz ve Loose, 1992), morfolojik (Tollrian, 1994) ve yaşam döngüsü (Stibor, 1992; Reede, 1995) uyarlamalarının barınak (refuge) görevi gördüğü bilinmektedir. Böylece, bir *Daphnia* popülasyonu içinde, birbirinden farklı korunma stratejileri kullanan farklı genotipler birarada (coexist) yaşayabilir ve balık baskısı altında benzer popülasyon büyüme hızları gösterebilirler (Boersma ve ark., 1998).

1.1.2.1.1 Davranışsal Uyarlamalar

Daphnia'nın avcı-kaynaklı ölümlerini azaltmak adına davranışsal korunma stratejileri geliştirdikleri yaygın bir şekilde kabul görmektedir. Öncelikle, sığ göllerde yapılan çok yönlü çalışmalar özellikle *Daphnia* gibi zooplanktonların heterojen bir yatay dağılım gösterdiğini rapor etmiştir. Bunun sebebi, su bitkilerinin büyük vücutlu zooplanktonlar için balık baskısına karşı çok önemli bir barınak sağlamasıdır. Bu yatay dağılım, Günlük Yatay Göç (GYG) olarak adlandırılmakta ve zooplankton bireylerinin gündüz saatlerinde açık suları terkederek bitki yataklarına doğru, gece saatlerinde ise açık sulara doğru hareket etmeleriyle tanımlanmaktadır (Timms ve Moss, 1984; Lauridsen ve Buenk, 1996; Burks et al., 2002). Birçok araştırmacı, balık avlanma baskısı varlığında su bitkilerini barınak olarak kullanan zooplanktonların algler üzerinden otlanmasının su berraklığının korunması açısından önemini vurgulamaktadır (Timms ve Moss, 1984; Irvine ve ark., 1990; Schriver ve ark., 1995; Lauridsen ve ark., 1998; Scheffer, 1999; Burks et al., 2002).

Diğer taraftan, derin sularda – gerek denizlerde, gerekse tatlısularda – *Daphnia* gibi birçok zooplankton türünün günlük olarak dikeysel dağılımlarını değiştirdikleri birçok çalışmada rapor edilmiştir. Bu günlük konum değişimi, Günlük Dikeysel Göç (GDG) olarak adlandırılmakta ve zooplankton bireylerinin şafağın sökmesiyle karanlık, soğuk, oksijen seviyesi az ve besin miktarı düşük derin sulara doğru alçalmaları, akşam karanlığının çökmesiyle de algler üzerinden beslenebilmek

üzere yüzey sularına doğru yükselmeleri olarak tanımlanmaktadır (Dodson, 1988; Bollens ve Frost, 1991). Görsel olarak avlanan planktivor balıkların büyük *Daphnia* bireylerini tercih ettikleri bilgisi ışığında, ergin *Daphnia* bireylerinin vücut büyüklüğü ile gündüz seçtikleri derinliğin birarada işleyen bir tercih olduğu ve küçük boylu türlerin büyük boylu türlere oranla yüzeye daha yakın yereldikleri gözlenmiştir (De Meester ve Weider, 1999; Beklioğlu ve ark., 2008).

1.1.2.1.2 Morfolojik Uyarlamalar

Daphnia'nın boyunu ve büyüklüğünü değiştirerek yaptığı morfolojik uyarlamalar, belli büyüklükteki türleri seçerek avlayan avcı baskısından kurtulmalarına yardımcı olmaktadır (Dodson, 1974; Krueger ve Dodson, 1981; Dodson, 1989; Tollrian, 1990; Boersma ve ark., 1998; Barry, 2000; Stibor ve Navarra, 2000; Lass ve Spaak, 2003). Morfolojide meydana gelen uyarlamalar av hayvanında, ya kolayca yakalanamamasını ya da yutulamamasını sağlayacak derecede büyümesine veya görsel olarak avlanan avcılar tarafından kolayca farkedilemeyecek kadar küçülmesine yöneliktir. Bu değişimlerin avcıya bağlı olarak değişim gösteren ve avlanma şansını azaltan uyarlamalar olduğu düşünülmektedir (Havel ve Dodson, 1984; Parejko, 1990; Tollrian, 1995). Omurgasızlar tarafından yayılan sinyalin varlığında *Daphnia* boyun dişleri (neckteeth) ve uzatılmış başlık (helmet) geliştirmek (Krueger ve Dodson, 1981; Hebert ve Grewe, 1985; Dodson, 1988; Dodson, 1989), balıklardan yayılan sinyalin varlığında ise vücut boyunun kısalması gibi uyarlamalara başvurdukları gösterilmiştir (Dodson, 1988; Dodson, 1989; Spaak ve Boersma, 1997; Boersma, 1998). Diğer taraftan, başlık, boyun dişleri ve kuyruk dikenini gibi morfolojik uyarlamaların bunu yapan bireyler için bir maliyeti olacaktır (Parejko ve Dodson, 1991). Sonuç olarak, bu morfolojik uyarlamaları yapan canlılar bu maliyetin sonucu olarak yaşam döngüleri açısından (üremelerinde azalma, ilk üreme yaşında uyarlamalar gibi) birtakım başka uyarlamalar daha yapmak durumunda kalacaklardır. Ancak, morfolojik veya yaşam döngüsü olaylarında meydana gelen bu uyarlamaların bir dereceye kadar birbiriyle ilişkili olmadığı da önerilmektedir (Spitze, 1992; Lüning, 1994; de Meester ve Pijanowska, 1996; Boersma ve ark., 1998).

1.1.2.1.3 Yaşam Döngüsü Uyarlamaları

Yaşam döngüsünde özkaynaklar üreme veya üreme-haricindeki gereksinimlere yaşa bağlı olarak en yüksek başarıyı verecek şekilde tahsis edilir (Threlkeld, 1987a). *Daphnia*, beslenme, büyüme ve üreme faaliyetlerinden oluşan bir yaşam döngüsüne sahiptir. Uygun koşullarda iyi beslenmiş bir *Daphnia pulex* bireyinde enerjinin %27'si sindirim, %68'i üreme ve % 5'i de büyüme amacıyla kullanılmaktadır (Richman, 1958). Çevresel etmenlerde görülebilecek değişiklikler (avcı baskısı, sıcaklık değişimi, besin miktarındaki değişim, toksik kirteçilerin varlığı vb.) *Daphnia* bireylerinin enerji bütçelerindeki dağılımların değişmesine yol açabilmekte ve yaşam döngüsünde çok önemli değişimlere neden olabilmektedir.

Daphnia cinsi üyeleri, avcılarının salgıladığı sinyaller karşısında yaşam döngüsü uyarlamaları gösterirler. Birçok çalışma, deneysel olarak balık sinyalinin varlığında ilk üreme yaşında azalma; bir batında üretilen dişi başına düşen yumurtaların sayısında (clutch size) ve eşeyli üreme yumurtalarının üretiminde değişiklikler saptamıştır (Stibor, 1992; Weider ve Pijanowska, 1993; Macháček, 1995; Slusarczyk, 1995; de Meester ve Weider, 1999; Spaak ve ark., 2000). Örneğin, *Daphnia galeata*'nın balık sinyalinin varlığında bireylerin daha erken ve küçük boyda üredikleri gösterilmiştir (Macháček, 1991; Weber ve Declerck 1997; Spaak ve ark., 2000). Dahası, balık sinyalinin varlığında ilk üreme yaşı ve boyunun azalmasının yanısıra, yumurta sayısının da önemli ölçüde arttığı belirtilmektedir (Reede, 1995). Ayrıca, sıcaklık ve besin seviyesi gibi çevresel etmenler de sinyal etkileri ile birlikte *Daphnia*'nın yaşam döngüsü değişkenlerine etki etmektedir. Küresel iklim değişikliği sonucu beklenen sıcaklık artışının, hem yavru, hem de ergin *Daphnia* bireylerini olumsuz etkilemesi beklenmektedir (Folt ve ark., 1999). Sıcaklık artışı enerji dağılımını etkileyerek (Burns, 1969; Geller, 1975) sindirim (Lampert, 1977b) ve solunumda (Kobayashi, 1974; Yurista, 1997) kayıplara yol açmaktadır. *D. middendorffiana* ile yapılan çalışmalar bu türün enerji bütçesi dağılımının sıcaklığa bağlı olduğunu ortaya koymuştur (Yurista, 1999). *D. carinata* üzerinde yapılan bir çalışma göstermiştir ki, artan sıcaklık büyüme hızını arttırarak ve üremeyi öne çekerek etkilemektedir (Hall ve Burns, 2002). Öte yandan, 30°C sıcaklıkta *D. pulex* ve *D. pulicaria* yavru ve erginlerinin hem yaşama oranlarının, hem de üreme yetilerinin şiddetli bir şekilde azaldığı belirtilmektedir (Folt ve ark., 1999). Lampert (1978) ve Müller-Navarra ve Lampert (1996) tarafından yapılan çalışmalar göstermiştir ki, besin koşulları üretkenliği etkilemektedir ve besin miktarıyla üretilen yumurta sayısı arasında bir ilişki mevcuttur. Bu çerçevede, Gliwicz ve Boavida (1996) besin kısıtlanması sonucu *Daphnia*'nın ürettiği yumurta sayısında düşüş yaşandığını göstermiştir. Ayrıca, Cole ve arkadaşları (2002) besin miktarının bir kladoser olan *Ceriodaphnia dubia*'nın hayatta kalma oranını etkilediğini ortaya koymuştur. Deneysel olarak, besin seviyesinin hayvanların avcı sinyalinin varlığına gösterecekleri tepkiyi karmaşıklatabileceği de gösterilmiştir (Hanazato ve ark., 2001; Slusarczyk, 2001; Weber, 2001). Sıcaklık ve besin seviyesinin sinyal ile birlikte *Daphnia*'nın yaşam döngüsü değişkenleri üzerinde güçlü bir etkiye sebep olabileceği önerilmekte (Weetman ve Atkinson, 2002), ancak bu üç etmenin etkileşimi ile ilgili kesin bir delil bulunmamaktadır (Doksaeter ve Vijverberg, 2001).

1.1.2.2 Tuzluluğun Etkisi

1.1.2.2.1 İklim Değişikliği ve Tuzluluk

İklim, yeryüzünün herhangi bir yerinde uzun yıllar boyunca yaşanan veya gözlenen tüm hava koşullarının ortalama durumu olduğundan (Erol, 1993; IPCC, 2001), iklim değişikliği – nedeni ne olursa olsun – küresel ve yerel ölçeklerde önemli etkileri olan, sıcaklık ve buharlaşma gibi meteorolojik değişkenlerde uzun sürede ve yavaş şekilde gelişen değişiklikler şeklinde tanımlanabilir (IPCC, 2001).

İklim değişikliğinin tatlısu ekosistemlerinin hidrolojisini etkileyeceği bilinen bir gerçektir (Nijssen ve ark., 2000; Arnell, 2003). Bölgemiz için önceki yapılan modellerde, küresel ısınma nedeniyle sıcaklıkta 2 °C'lik bir artış, dolayısıyla buharlaşmada da %10'luk bir artış ve bunun sonucunda da yüzey sularının %10 ila 30 arasında azalması beklenmektedir (Arnell, 2003). Ancak yeni yapılan çalışmaların sonuçları, bu artışların daha yüksek seviyede olacağı yönündedir (IPCC, 2007). Yükselen sıcaklıkların doğrudan etkisi ile beraber küresel ısınmanın sucul ekosistemler üzerinde çok büyük etkisinin olması beklenmektedir (Carpenter ve ark., 1992; Mooij ve ark. 2005). Özellikle göller iklim parametrelerindeki değişikliklere oldukça hassastır. Hava sıcaklığı, yağış ve diğer meteorolojik bileşimlerdeki değişiklikler, buharlaşma, su dengesi, göl seviyesi, buzlanma olayları, hidrolojik akımlar, hidrokimyasal ve hidrobiyolojik rejimleri ve bütün göl ekosisteminde doğrudan değişikliklere neden olmaktadır (IPCC, 2001, 2007). Her ne kadar sıcaklığın genel olarak biyoçeşitliliği olumlu etkilediği düşünülse de (Carpenter ve ark., 1992), iklimsel etkilerin birçoğu ötrofikasyonun sonuçlarına benzemektedir (Mooij ve ark., 2005). Ötrofikasyon ise besin ağının üst basamaklarındaki canlıların çeşitliliğinin azalması ve toksik alg patlaması ile oksijen yetersizliği sonucunda gelişen toksik koşulların görülme sıklığının artması anlamına gelmektedir. Sonuç olarak; son zamanlarda, iklim değişikliği sonucu artan tuzluluk tüm kıtalarda ki nehirlerde ve sulakalanlarda ciddi bir çevre sorunu haline gelmiştir (Kefford ve ark., 2004).

1.1.2.2.2 İklim Değişikliği ve Türkiye

Çoğunlukla yarı veya tam kurak Akdeniz iklim koşullarının hakim olduğu ülkemizin göllerinin ekolojik yapıları ve biyoçeşitliliğinin belirlenmesinde, iklim ve iklimden en çok etkilenen hidrolojik değişkenlerin yeri çok önemlidir (Beklioğlu ve ark., 2006; Ulusal Rapor, 2007; Beklioğlu ve Özen, 2008). Akdeniz ikliminin tipik özelliği olarak yaşanan ıslak ve kurak dönemler, göllerin hidrolojilerinde su miktarı, su bekleme süresi ve su seviyesi gibi değişkenleri önemli ölçüde etkilemektedirler. Hükümetlerarası İklim Değişimi Paneli'nin (IPCC) 2007 raporuna göre, önümüzdeki 30-40 yıl içinde yüzey sularında en fazla azalmanın (>30%) Akdeniz iklim bölgesinde yer alan Türkiye ve İspanya'da olması beklenmektedir. Tatlısularda çözünmüş iyon yoğunluğu veya tuzluluk (1 mg L^{-1}) denizlere göre çok düşüktür (36 mg L^{-1}) (Moss, 1998). Fakat iç tuzlusu göllerinde (kıyı lagünleri hariç) bu miktar denizlerdeki yoğunluğa kadar ulaşabilmektedir. Dünyadaki iç tuzlusu gölleri, buharlaşmanın çok yüksek ve yağışların düşük olduğu Kuzey Afrika, Avustralya'nın iç bölgeleri, Orta Amerika, Orta Asya, Anadolu'da Tuz Gölü ve Konya kapalı havzaları gibi kurak bölgelerde yoğunlaşmıştır. İç tuzlusu göllerine yüzey akışlarıyla gelen su, göl ayağından akamadan düz göl aynasında yayılır, buharlaşma nedeniyle kaybolur ve dolayısıyla suda ki iyonların yoğunluğu artar ve zaman içinde tuzlanma olur.

Orta Anadolu'da 10 yılı aşkın süredir izlenen Eymir ve Mogan göllerinde gözlemlenen artan tuzluluk ve – özellikle 2002 yılı itibariyle – su seviyesindeki sürekli düşüş ve su bekleme süresindeki artış her iki gölde de tuz miktarının çok kısa sürede 2 katına çıkmasına neden olmuştur (Beklioğlu ve Özen, 2008). Dört yıl gibi bir sürede gerçekleşen tuzlanmadaki bu artış, su seviyesi kritik seviyenin altına düştüğü için göl ayağından su akışının olmaması sonucu su bekleme süresinin 10 yıla uzamasından

kaynaklanmaktadır. Bu iki göl hakkında ki gözlemler, ülkemizin diğer göllerinde de benzer değişimlerin oluştuğuna işaret etmektedir.

1.1.2.2.3 Tuzluluk ve Zooplakton Türleri

Tatlısu ekosistemlerinde tuz oranının artışı, sulama ve doğal bitki örtüsünün ortadan kalkmasından kaynaklanabileceği gibi (Brock ve ark., 2005), yüzey sularında ki azalma sonucu artan su bekleme süresi ve buharlaşmadan da kaynaklanabilir (Wetzel, 1983; Jeppesen ve ark., 1994; Beklioğlu ve Özen, 2008). Ayrıca, küresel iklim değişikliğine bağlı olarak, akarsu akışlarının, su sıcaklıklarının ve deniz suyu seviyelerinin yükselmesiyle kıyusal göllere gelgit suyu girişinin ve dolayısıyla kıyusal göller ve sulakalanlara tuz girişinin artması beklenmektedir (Hall ve Burns, 2002; Shallenberg ve ark., 2003). Schallenberg ve arkadaşları (2003) sisteme küçük miktarda davetsiz tuz girişinin bile zooplankton topluluğunun yapısı ve zenginliğinde önemli değişikliklere neden olabileceğini göstermiştir.

Tuzluluk, sucul organizmaların ozmoregülasyon faaliyetlerini etkilediğinden önemli bir stres kaynağıdır (Baillieul ve ark., 1996). Ozmoregülasyon sucul canlıların gerçekleştirmek zorunda oldukları en önemli faaliyetlerden biridir (Mantel ve Farmer, 1983; Péqueux, 1995). Tatlısu omurgasız canlıları hiperozmotiktir, canlı hücre-içi tuz yoğunluğu dışarıdaki suyun tuz yoğunluğundan fazladır. Bu durumu dengelemek için dışarıya tuz atmak durumundadırlar ve dolayısıyla su ozmosis ile canlı içine doğru hareket eder. Bu denge bozulduğunda, artan dış tuz yoğunluğu hiperozmotik olan tatlısu omurgasızlarını hipoozmotik hale getirir ve hipoozmotik bir canlı su kaybetmek durumunda kalır. Genel olarak Na^+ ve Cl^- iyonlarının geçişlerinin düzenlenmesiyle ozmotik denge sağlanır. Krustaselerde çoğunlukla Na^+ ve Cl^- iyonlarından kaynaklı stress sonucu iyonik dengenin bozulduğu ve ozmoregülasyon mekanizmasının zarar gördüğü belirlenmiştir (Lignot, 2000; Heugens, 2003). Dolayısıyla, ozmotik denge krustase türleri için biyobelirteç olarak kullanılabilir (Charmantier ve ark., 1989; Lin ve ark., 1991; Young-Lai ve ark., 1991; Mayer ve ark., 1992; Bambang ve ark., 1995a,b; Lignot ve ark., 1997, 1998a.)

Göllerde yapılan çalışmalar, toplam zooplankton, kladoser, rotifer ve kopepod taksonomik zenginliğinin tuzluluğun artışıyla azaldığını göstermiştir (Shallenberg ve ark., 2003; Sarma ve ark., 2006). Dolayısıyla, kıyusal göllerde iklim değişikliğine bağlı gerçekleşecek tuzluluk artışının birçok zooplankton türünün kaybolmasına ve dolayısıyla küresel ısınma sonucu artan tuzlanma sonucu göllerin biyolojik çeşitliliğinin değişmesine neden olabilecektir (Hall ve Burns, 2002, Beklioğlu ve Özen, 2008).

Omurgasızlar, tatlısu hayvanları arasında tuzluluktaki artışa en duyarlı canlılardır ki, bazı türler tuzluluktaki 1‰ oranındaki değişimden bile olumsuz etkilenebilirler (Hart ve ark., 1991). Tatlısularda yaşayan kladoserler çevrelerinde bulunan değişik tuzluluk seviyelerine duyarlıdırlar. (Williams, 1998). Kladoserler zooplankton türlerinin çok önemli bir grubunu oluşturmakla birlikte çoğunlukla tuzluluğun

1g L⁻¹'nin (Hart ve ark., 1991) altında olduğu veya iletkenliğin 500 mS cm⁻¹'den az (Hebert ve ark., 2002) olduğu tatlısu sistemlerinde bulunabilirler.

Tatlısu rotifer ve kladoserleri 5000 mg L⁻¹'den yüksek tuzluluk seviyelerinde hayatta kalma ve üreme açısından başarılı olamamaktadırlar (Blinn ve ark., 2004). En büyük *Daphnia* türü olan *D. magna* bu durumun dışında kalmaktadır. *D. magna* için üreme, popülasyon büyümesi, ve hayatta kalma oranlarının NaCl yoğunluğunun 0.08–6000 mg L⁻¹ aralığında olduğu koşullarda azalma eğiliminde olduğu ve dolayısıyla dayanabildikleri en yüksek tuzluluk seviyesinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Cowgill ve Milazzo, 1990, 1991). Tuzluluk dayanıklılığı, popülasyonlar ve klonlar arasında farklılık gösterebilmektedir (Ortells ve ark., 2005). Her ne kadar belli bir dereceye kadar tuzluluğa dayanıklılık gösterebilseler de, artan tuzluluk oranları *Daphnia* türlerinin yaşama oranını azaltmakta ve üreme ile büyüme oranlarında ise azalışa neden olmaktadır (Hall ve Burns, 2002). Yapılan çalışmalarda değişik *Daphnia* türlerinin LD₅₀ değerleri; *D. magna* için 6.5‰ 48-s LD₅₀ (Meyer ve ark., 1985), ve 1.6‰ 48-s LD₅₀ (Cowgill ve ark., 1985); *D. carinata* için 2.5‰ 96-s LD₅₀, (Hall and Burns, 2002), *D. carinata* için NaCl tuzluluğu kaynaklı elektriksel iletkenlik 4.5 mS/cm 48-s LD₅₀, okyanus tuzu içinse 11 mS/cm 48-s LD₅₀ (Kefford ve ark., 2004b) olarak bulunmuştur. Aynı tür üzerinde farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmesi, kullanılan popülasyonların farklı kökenlere sahip olmalarıyla ilişkilendirilmektedir (Hebert, 1987; Weider ve Hebert, 1987; Mort, 1991; Ortells ve ark., 2005).

İklim değişikliğinin bir diğer etkisi de su sıcaklıklarının artışıdır. Bu da *Daphnia*'nın mevsimsel döngüsünde dalgalanmalara neden olmaktadır. Artan sıcaklıklar, yavru büyüme oranlarının artması ve ilk üreme yaşının azalmasına neden olurken, aynı zamanda ölüm oranında da bir artışla sonuçlanmaktadır (Hall ve Burns, 2002).

Sonuç olarak, *Daphnia* türleri besin ağlarında kilit bir noktada yer almaları sebebiyle önem arz etmektedir. Birçok avcı balığın besinini oluşturmalarının yanı sıra, fitoplanktonlar üzerinden otlanarak fitoplankton popülasyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar (Muylaert ve ark., 2005). Dolayısıyla, iklim değişikliği sonucunda göllerde oluşabilecek yapısal ve biyoçeşitlilikteki değişikliklerin bir göstergesi olarak *Daphnia* türlerini belirteç olarak kullanmak olanaklıdır. Tuzluluğun ve sıcaklığın olası artışının *Daphnia* popülasyonları üzerindeki etkileri, göl ekosistemlerinin yapısal özelliklerinin ve biyoçeşitliliğinin bu artışlardan nasıl etkileneceğini de gösterebilecektir.

1.1.2.3 Pestisitlerin Etkisi

1940'lardan sonra, zirai ürün artırma politikaları nedeniyle, geleneksel yöntemlerin bırakılarak yoğun tarıma geçilmesiyle inorganik gübre ile pestisit kullanımı yaygınlaşmıştır (EEA, 2003). Ancak, toprakta kullanılan pestisitlerin yüzey su akışıyla sucul ortamlara ulaşarak önemli etkilere neden olduğu son yıllarda anlaşılmıştır (Warren ve ark., 2003). İçsu ekosistemleri açısından değerlendirildiğinde

inorganik gübre ve pestisitlerin yüzey ve yeraltı sularına karışması, içme suyu kaynaklarını kirletmesi ve sucul ekosistemlerin biyolojik çeşitliliğini tehlikeye sokması açılarından önem kazanmaktadır. Dolayısıyla, tarım alanlarının sucul ekosistemler ile iç içe bulunması – pestisit uygulama tekniklerinin verimi de göz önünde bulundurulduğunda – uygulanan pestisitlerin bir kısmının hedef olmayan türleri de tehlikeye sokması kaçınılmazdır (Van Wijngaarden ve ark., 2005). Bu nedenlerle, tatlısu sistemlerine yüzey akışlarıyla ulaşan pestisitlerin tatlısu organizmalarına etkileri geniş bir çalışma alanıdır. Sonuç olarak, tarım kökenli pestisitlerin *Daphnia* popülasyonlarını etkileyen çok önemli bir etmen olduğu açıktır. Ama pestisit toksisitesini incelemeye önce, pestisitler hakkında bir ön bilgi edinmek gerekmektedir.

1.1.2.3.1. Pestisitler

Pestisit, zararlı böcek ya da hayvanların gelişimini önlemek, bu zararlıları yok etmek, geri püskürtmek veya azaltmak için tasarlanmış bir madde ya da karışımdır. Pestisit görevini gerçekleştiren kimyasal etkin maddenin kendisidir. Genel olarak pestisitler, bastırdıkları zararlıların türüne göre değerlendirilirler (ör. fungusit, herbisit, insektisit gibi) (EPA, 2007). Ancak, pestisitler ortak kökenlerine veya üretim tekniklerine göre de sınıflandırılabilirler. Organoklorlu pestisitler (DDT, endrin, dieldrin, aldrin, klordan, lindan, endosülfan, ve heptaklor gibi) 1950'lerden 1960'lı yıllara kadar çok yağın bir şekilde kullanılmış, ancak diğer kalıcı organik kirleticiler gibi sağlık ile çevre sorunlarına neden olmaları sebebiyle 1980'lerde üretimleri yasaklanmıştır. Organoklorlu pestisitlerin yerine, onlar kadar kalıcı olmayan organofosforlu pestisitler (parathion, malathion, diazinon, klorprifos, diklorvos gibi) geçmiştir. Ancak 1990'larda, özellikle pamuk endüstrisinde, organofosforlu pestisitlerin yerine de piretroid pestisitler geçmiştir (EPA, 1999). Sentetik olarak üretilen bu piretroidler, çevresel koşullara kimyasal olarak daha dayanıklı olacak şekilde doğal bir insektisit olan pyrethrin'lerden uyarlanmışlardır. Genel olarak kalıcı olmadıkları düşünülse de, sentetik piretroidlerin sucul ekosistemler için son derece toksik oldukları gözlenmiştir.

1.1.2.3.2. Türkiye'de Pestisitler

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Kurumu'nun (FAO of the UN) verilerine göre, Türkiye'de sadece 2001 yılında tüketilen pestisit miktarı 23,000 tondur. Aynı yıl içinde, Türkiye ile karşılaştırıldığında Brezilya ve İtalya 3 kat, Fransa ise 4 kat daha fazla pestisit tüketmiştir. Ancak, Dünya Kaynakları Enstitüsü'ne göre tarım ilaçlarının tüketim yoğunluğu (kg/Ha) sürekli artış göstermektedir. Tarım ve Köyşeri Bakanlığı'na göre, Türkiye'de 1980'lerden bu yana kullanılan pestisit türlerinin büyük çoğunluğunu insektisitler oluşturmaktadır. Türkiye'de 1998 yılı itibarıyla 2000'in üzerinde ruhsatlı zirai ilaç olup, bunlar içerisinde yer alan teknik madde sayısı 243'tür. Dağ ve arkadaşlarının belirttiği üzere, Türkiye'de satışı yapılan pestisitlerin büyük kısmını (1998'de %46) insektisitler, bunlarında %40'ını organofosforlu insektisitler ve %21'ini ise sentetik piretroidler oluşturmaktadır. Organofosforların etkin maddeleri arasında chlorpyrifos, diazinon, dichlorvos, malathion ve parathion methyl yaygınken, sentetik piretroidlerin arasında ise cypermethrin, lambda cyhalothrin ve tralomethrin mevcuttur.

Türkiye'de pestisit tüketiminin çoğunluğu pamuk (%20.4) ve hububat (%19.7) içindir. Özel olarak insektisitler değerlendirildiğinde, %40'ı pamuk tarlalarına uygulanırken, %20'si de meyva alanlarına uygulanmaktadır. Tarım alanlarının genel olarak su kütlelerinin yakınlarına kurulduğu göz önüne alındığında, uygulanan pestisitlerin, gübrenin ve metabolik bileşenlerinin bir kısmının sucul ekosistemlere ulaşması kaçınılmazdır (Van Wijngaarden ve ark., 2005). Ülkemiz sucul ortamlarında da şüphesiz tehlikeli bileşikler bulunmaktadır. Bu konuyla ilgili çalışmalar henüz çok yaygın bir hale gelmemiştir. Bunun nedeni, bu tür kirlenmelerin tespitinin çok hassas bir analitik ölçme altyapısı gerektirmesidir. Yapılan bazı örnek çalışmalar, ülkemiz sularının da kirli olduğuna işaret etmektedir. Örneğin, Bursa bölgesi Ulubat gölünde Barlas ve grubu (2006) tarafından 2002 yılında yapılmış olan bir çalışmada, su ortamında, yönetmelikte verilen bileşiklerden HCB, pp-DDT, pp-DDE, α -, β - ve γ -BHC, Aldrin, Heptachlor epoxide, Endrin, Endosülfan I ve II belirlenmiştir. Çalışmaların sonuçları bu gölün pestisit türleri tarafından kirlendiğini ortaya çıkarmıştır.

Türkiye'de ilaç kullanımı daha çok Akdeniz ve Ege bölgelerinde yoğunlaşmaktadır. Türkiye'de yıllık pestisit tüketiminin % 40'ı Adana, İçel ve Antalya'da, %25'i ise İzmir'de yoğunlaşmaktadır (Dağ ve ark., 2000). Dolayısıyla, Akdeniz ve Ege bölgelerinde bulunan nehir ve sulakalanları yoğun bir şekilde tarım alanları ile ilişki halindedir. Sonuç olarak, Seyhan ile Ceyhan havzalarının, Gediz deltasının ve Küçük ile Büyük Menderes deltalarının sucul kirlilik açısından büyük baskı altında oldukları kabul edilmektedirler. Üstelik, Çukurova-Adana Havzası'nda ki kirlilik seviyelerinin yeteri kadar detaylı bir şekilde incelenmediği savunulmaktadır (Burak ve ark., 1997).

Bütün bu bilgiler doğrultusunda, Adana bölgesinde pamuk zararlılarına karşı kullanılan sentetik piretroid insektisitler belirlenmiş ve sipermetrinin tüketim yoğunluğu açısından başta geldiği belirlenmiştir (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Verileri, 2003). Buna ek olarak, Eylül 2002 ile Ekim 2004 tarihleri arasında Tarım ve Köyişleri Bakanlığınca ruhsatlandırılan zirai mücadele ilaçlarının etkin maddelerinin başında pamuk tarlalarını Lepidoptera sınıfı zararlılarından korumak amacıyla kullanılan sipermetrinin geldiği de gözlenmiştir (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü İstatistikleri, 2004).

1.1.2.3.3. Pestisit Toksikitesi

Pestisitler, hedef olmayan organizmalara dahi son derece zararlı olmalarına rağmen, ekosistemin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Dolayısıyla, pestisitlerin insan, yaban hayat ve ekosistem üzerindeki olumsuz etkileri giderek artan kaygılara sebep olmaktadır. Görece yüksek dozlar tür bazında ölümcül etkilere, düşük dozlar ise bireysel değişimlere (üreme, fizyoloji, morfoloji, davranış, hormonlar, bağışıklık sistemi, avcı algılama vb.) sebep olarak türler-arası etkileşimleri başkalaştırabilir ve dolaylı olarak popülasyon topluluklarında farklılaşmalara neden olabilir (Relyea ve Hoverman, 2006). Diazinon isimli insektisit, bir çayır ekosistemine düşük seviyelerde püskürtülmesine rağmen, bölgede yaşayan küçük kemirgen popülasyonlarının üremesi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu gözlenmiştir (Sheffield ve Lochmiller, 2001). Benzer bir şekilde, İngiltere'nin doğusunda ki atmaca

popülasyonunun yaklaşık 20 yıldan sonra tekrar gelişmesinin organoklorlu pestisit kirliliğinin azalmasından kaynaklandığı savunulmaktadır (Newton ve Wyllie, 1992). Pestisitlerin yaban hayatın yanısıra, fitoplankton, zooplankton gibi sucul organizmalar üzerinde de ekosistem düzeyinde olumsuz etkilerinin olduğu birçok çalışmada gösterilmektedir (Jak, 1997; Woin, 1998; Friberg-Jensen ve ark., 2003; Wendt-Rasch ve ark., 2003; Medina ve ark., 2004; Christensen ve ark., 2005). Örneğin, paleoekolojik bir çalışma, İngiltere'nin Norfolk bölgesinde ki dingin nehirlerin, sıg göllerin ve sulaklanların oluşturduğu bir su ağının (Norfolk Broads) suiçi bitkilerinin baskın olduğu bir koşuldun, fitoplanktonların baskın olduğu bir koşula sapmasının altında yatan sebebin organoklorlu pestisit kirliliğinden olumsuz bir şekilde etkilenen Kladoser, *Daphnia*, popülasyonlarının fitoplanktonlar üzerindeki avlanma baskılarının azalması olduğunu savunmaktadır (Stansfield ve ark., 1989). Hem tatlısu, hem de tuzlu su sistemlerinde pestisitlerin kopepodların ve kladoserlerin ölümüne ve dolayısıyla rotiferlerin artmasına neden olarak zooplankton yoğunluğunu azalttığı ve biyoçeşitliliği olumsuz bir yönde uzun vadeli bir şekilde değiştirdiği gözlenmiştir. Bu sebeple, fitoplankton üzerindeki avlanma baskısının da azalabileceği ve toksik alg patlamalarının gerçekleşebileceği de belirtilmektedir. Sonuç olarak, pestisitlerin etkilerinin ötrofikasyonun sonuçlarına benzediği belirtilmektedir (Hurlbert ve ark., 1972; Jak, 1997; Woin, 1998; Friberg-Jensen ve ark., 2003; Wendt-Rasch ve ark., 2003; Medina ve ark., 2004; Wijngaarden ve ark., 2005).

1.1.2.3.4. Piretroid Toksisitesi

Yaygın bir şekilde insektisit olarak kullanılan sentetik piretroidlerin, toksisitelerinin memeliler ve kuşlar için düşük olması, sudaki çözünürlüklerinin düşük olması ve biyoyıkım hızlarının yüksek olması sebebiyle cömert kullanımları sonucu, hedef olmayan organizmaların maruz kaldıkları toksisite artmaktadır. Piretroidler zararlı etkilerini sinir hücrelerinin içe dönük sodyum kanallarının kapanmalarını geciktirerek gösterirler. Ancak, pestisitlerin serbest radikal üretimini uyararak, lipid peroksidasyonunu tetikleyerek veya toplam antioksidan verimini olumsuz etkileyerek organizmaları oksidatif strese maruz bıraktıkları da belirtilmektedir (Abdollahi ve ark., 2004). Bazı yengeç ve plankton (*Daphnia* ve *Scenedesmus*) türlerinde, piretroid insektisitlerine maruz kalma durumunda artan serbest radikalleri azaltmak amacıyla antioksidan enzim sistemlerinin etkinliklerinin (ör. SOD, GST ve GPx vb.) arttığı belirtilmektedir (Gowland ve ark., 2002; Meems ve ark., 2004; Li ve ark., 2005).

Kladoser ve kopepodların bir piretroid olan sipermetrine rotiferlere kıyasla daha hassas oldukları belirtilmektedir (Giddings ve ark., 2001; Mian ve Mulla, 1992). Vücut büyüklüğünün kirlenici hassasiyeti ile doğru orantılı olabileceği ve dolayısıyla büyük vücutlu kladoserlerin – *Daphnia* gibi – küçük vücutlulara kıyasla birçok kimyasal stres etmenine karşı daha hassas olabileceği vurgulanmaktadır (Gliwicz ve Sieniawaska, 1986; Hanazato, 2001). Pestisite maruz kalmış *Daphnia*'ların yüzme etkinliğinin azaldığı ve filtrasyon oranları ile besin girdilerinde azalma olduğu gözlenmiştir (Gliwicz ve Sieniawaska, 1986; Baird ve ark., 1990; Lauridsen ve ark., 2003; Christensen ve ark., 2005). Muhtemelen azalan yüzme etkinliğinden dolayı azalan beslenme verimi sonucunda, genel metabolik faaliyetler ile büyüme ve üreme için ayrılabilen enerjinin azalabileceği ve dolayısıyla – bazı

çalışmalarda gözlemlenen – karbonhidrat ve glikojen miktarında ki azalmayı açıklayabileceği önerilmektedir (McKee ve Knowles, 1986; Christensen ve ark., 2005). Toksikana maruz kalındığında, *Daphnia* türlerinin azalan besin tüketimi sebebiyle büyümelerinin (ör. vücut uzunluğu ve ağırlığı) ve üremelerinin de (ör. birinci üreme yaşı ile yumurta sayısı ve ağırlığı) azalabileceği belirtilmektedir (Baird ve ark., 1990; Reynaldi ve ark., 2006). Bütün bu tepkilerin (azalan yüzme etkinliği, beslenme verimi vb.) *Daphnia* türlerini avlanmaya karşı daha zayıf yapabileceği ve bütünsel olarak insektisite maruz kalan göl ekosistemlerinde *Daphnia* popülasyonlarının azalışını açıklayabileceği önerilmektedir (Friberg-Jensen ve arkl., 2003; Wendt-Rasch ve ark., 2003).

Birçok çalışmada, piretroidlerin sucul organizmalara aşırı toksik oldukları ve biyokimyasal yapılarını belirgin bir şekilde etkiledikleri belirtilmektedir (Smith ve Stratton, 1986; Haya, 1989; Bradbury ve Coats, 1989). Piretroidlerin yağ dokularında birikme eğilimi doğrultusunda (Bradbury ve Coats, 1989) karaciğer dokusunda ki değişimler ele alındığında, piretroidlerin tatlısu salyangozunda ve çeşitli balıklarda protein ve glikojen miktarında azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir (David ve ark., 2004; Tripathi ve Singh, 2004; Begum, 2005). Balık serumunda yapılan bir çalışmada, toplam protein miktarının yanısıra trigliserit miktarının da azaldığı gözlenmiştir (Borges ve ark., 2007). Protein ve glikojen miktarlarında ki azalışların, her ikisinin de stres durumunda artan enerji ihtiyacını karşılamak üzere kullanılmasından kaynaklandığı önerilmektedir. Ayrıca, protein miktarında ki azalmanın sebebinin hücrelerin yıkımı veya ölümü sonucu protein sentezindeki yetersizlik olabileceği de savunulmaktadır (Bradbury ve ark., 1987). Memeli ve kuşlarda piretroidlerin ana yıkım tepkimelerinden birinin ester hidrolizi olmasına rağmen, balıklarda bu tepkimelerin sonucu oluşan ürünlerin düşük derecede kaydedildiği belirtilmiştir (Bradbury ve Coats, 1989). Dolayısıyla, piretroidleri hidrolize eden enzim sisteminin balıklarda eksikliği, balıkların haasasiyetini açıklamaktadır.

1.1.2. Balıkların beslenmesi ve besin kaynakları

Sonuç olarak, *Daphnia* türleri avcı balıkların besinini oluşturmaları ve fitoplankton popülasyonlarını kontrol altında tutmalarından dolayı besin ağlarında kilit bir noktada yer aldıkları için ve dahası pestisitlere karşı birçok yönden duyarlı oldukları için, pestisitlere maruz kalan sucul ekosistemlerin değerlendirilmesi için erken bir uyarı olarak etkin biyobelirteçler olarak kullanılabilirler (Fossi ve ark., 2001). Dolayısıyla, pestisit maruziyeti üzerineki sonucu olarak göllerde gerçekleşebilecek hem yapısal, hem de biyoçeşitlilik düzeyindeki değişikliklerin bir işaretçisi olarak *Daphnia* popülasyonlarındaki değişimleri belirteç olarak kullanmak mümkündür.

1.2 EKOTOKSİKOLOJİK ÇALIŞMALAR

Ekotoksikolojik çalışmalar, çevreye uygulanan kimyasalların ekosistemi temsil eden bütün parçalar üzerindeki etkilerini inceler (Relyea ve Hoverman, 2006). Kullanılabilir tatlısuların dünya su kaynaklarının sadece %0.003'ünü oluşturduğu ve uygulanan pestisitlerin bitişik su gövdelerine ulaşip hedef olmayan organizmaları – dolaylı olarak popülasyon topluluklarını – da etkilediği göz önüne alındığında, sucul ekotoksikolojinin hem ekosistem, hem de toplum güvenliği açısından önemi ortaya çıkmaktadır (Moss, 1998; Mason, 2002; Warren ve ark., 2003; Padovani ve ark., 2004).

Bu tarz çalışmalar, değişik biyolojik özelliklere sahip organizmalar veya değişik fiziko-kimyasal özelliklere sahip toksik maddeler kullanılıyor olursa bile, kıyaslanabilir test koşulları gerektirmektedir. Bu doğrultuda, bu projede OECD kılavuzları üzerinden uyarlamalar yapılmıştır (OECD, 1998). Bu kılavuza göre, toksisite deneyleri iki şekilde gerçekleştirilebilir. Akut toksisite deneyleri toksik bir maddeye maruz kalıdıktan kısa bir süre sonra etkisini gösteren toksik madde dozlarının kullanıldığı ve canlının hareketliliğinin/ölümünün takip edildiği deney düzenekleridir. Kronik toksisite deneyleri ise toksik bir maddeye uzun bir süre boyunca maruz kalan canlının üremesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için yürütülen deneylerdir (OECD, 1984 ve 1998). Akut toksisite deneyleri için test organizması, bireylerin yaşı ve deney süresi önem teşkil ederken, kronik toksisite deneyleri içinse davranış, metabolik faaliyetler (beslenme, somatik büyüme gibi), popülasyon demografisi ve biyokimyasal ile moleküler değişimler dikkate alınabilir.

Popülasyon topluluklarının yapısını ve organizmaların ekolojik işlevlerini (büyüme ve üreme) popülasyon dayanıklılıklarını (fitness) azaltacak yönde etkileyen çevresel değişimler stres olarak tanımlanmaktadır (Calow, 1989). Yukarıda bahsedilen tek-stres-etmenli toksisite deneylerinin, kirleticilerin popülasyon toplulukları üzerindeki etkileri hakkında öngöründe bulunmak için çok önemli olduğu belirtilmektedir (Relyea ve Hoverman, 2006). Ancak, doğal ortamlarda – geçmişten bugüne – maruz kalınan değişken ve her zaman en uygun olmayan koşullar nedeniyle strese gösterilen tepkilerin farklılık gösterebilecekleri vurgulanmaktadır (Folt ve ark., 1999). Dolayısıyla, kirleticilerin doğal koşullardaki karmaşık etkilerini belirlemek için tek-stres-etmenli toksisite deneylerinin yetersiz kaldığı savunulmaktadır. Örneğin avlanma baskısı, avcı varlığına karşı çok hassas olan kladoser zooplankton türlerinin sucul ortamlarda maruz oldukları en önemli stres etmenlerinden biridir. Fakat şimdiye kadar yapılan toksikoloji araştırmalarının çoğuna bu balık/omurgasız avlanma baskısı dahil edilmemiştir. Bu durum, canlıların sucul ortamda karşılaştığı streslerin sonucunu gerçekçi bir şekilde yansıtmamanın önünde çok büyük bir engeldir. Sonuç olarak, ekotoksikoloji alanında çevresel kirleticilerin değişik çevresel koşullar altında etkilerinin değişebildiği ve bu değişkenliklerin önemi son yıllarda kavranmaya başlanmıştır (Relyea ve Hoverman, 2006). Oysa, çoklu etmenlerin birbirleriyle etkileşimlerinin *Daphnia* popülasyonunu nasıl etkilediğinin araştırılmasının gerekliliği uzun zamandır vurgulanmaktadır (Threlkeld, 1987b). Bu gibi çalışmalar genel olarak etkileşimlerin tekli etkilerden daha zararlı olabileceğini göstermiştir. Bu durumlarda, çoklu etmenlerin etkisi tekli etkilerin daha zararlı olanından daha zararlı, ama tekli etkilerin zararlarının toplamı veya çarpımından daha az zararlı ise antagonistik etkileşim olarak değerlendirilmektedir. Ancak çoklu etmenlerin etkisi tekli etkilerin zararlarının toplamından daha da zararlı ise sinerjistik etkileşim olarak değerlendirilmektedir (Folt ve ark., 1999).

Tuzluluğun farklı etmenlerle çoklu etkileşimleri ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Sıcaklık ve tuzluluk sucul organizmaların enerji dağılımını etkileyen önemli etmenler arasındadır. Ancak tuzluluğun bir diğer doğal stres etmeni ile (ör. sıcaklık) etkileşiminin incelendiği araştırmalar çok sınırlıdır. Hatta tuzluluğun avcı sinyalleri ile etkileşiminin incelenildiğine rastlanılmamıştır. Daha ziyade, tuzluluğun insan kaynaklı stres etmenleriyle (ör. metaller, pestisitler) etkileşimleri çalışılmıştır. *Daphnia carinata* bireylerinin 20

°C'ye artan sıcaklıkla büyümelerinin arttığı ve daha erken erginleştikleri, ancak 0.6 gL⁻¹'ye artan tuzluluğun büyümedeki artışı azalttığı ve daha az bireyin erginleşmesine neden olduğu belirtilmektedir (Hall ve Burns, 2002). Bu sonuçlar, karidesler için önerilen sıcaklık artışıyla üremeye daha çok enerji ayrılabilirdi ancak artan tuzlulukla üremeye ayrılabilen enerjinin azaldığı gözlemini desteklemektedir (Vernberg ve Piyatiratitivorakul, 1998). Metallerin serbest iyonlarının daha toksik olmaları sebebiyle, tuzluluğun metallerin bileşik oluşturma derecesini artırarak biyoerişilebilirliğini ve dolayısıyla toksisitelerini azalttığı düşünülmektedir (Riedel ve ark., 1985; Tsuda ve ark., 1990; Bury ve ark., 1999; Karen ve ark., 1999). Örneğin; kadmiyumun daha toksik olan serbest iyonlarının düşük tuzluluk seviyelerinde daha fazla bulunduğu ve dolayısıyla çeşitli balıklardaki kadmiyum için 96-saat LC₅₀ değerlerinin artan tuzlulukla arttığı belirtilmiştir (Lin ve Dunson, 1993; Shazili, 1995). Diğer taraftan, çeşitli pestisitler için sivrisinek ve karideslerdeki LC₅₀ değerlerinin artan tuzlulukla azaldığı belirtilmektedir. Bunun sebebinin ozmoregülasyon için artan fizyolojik maliyet sonucu azalan popülasyon dayanıklılıkları olabileceği önerilmektedir (Song ve Brown, 1998). Dahası, artan sıcaklıkların *Daphnia magna* için metal ve pestisitleri daha toksik hale getirdiği belirtilmektedir (Persoone ve ark., 1989; Song ve ark., 1997). Dolayısıyla, bazı metallerin krustaselerdeki toksisitelerinin yüksek sıcaklıklarda ve düşük tuzluluklarda daha da yüksek olabileceği önerilmektedir (McLusky ve ark., 1986). Tuzluluğun bir kirleticinin varlığında besin miktarı ile olan etkileşimi [daha ziyade fitoplanktonlar için kirletici – tuzluluk – besin tuzları arasında] ile ilgili çalışmaların azlığı nedeniyle belirgin bir etkileşim belirtilememektedir (Heugens, 2003). Sonuç olarak, tuzluluğun birçok doğal ve insan kaynaklı stres etmenini etkileyebileceği ve dolayısıyla çoklu etkilerin araştırılması esnasında birçok noktaya dikkat edilmesinin gerekliliği açıkça görülmektedir.

Pestisitlerin abiyotik ve biyotik etmenlerle etkileşimleri de son zamanlarda ekotoksikologların dikkatini çekmeye başlamıştır. Sıcaklık, UV ışınları ve pH gibi çeşitli abiyotik etmenler pestisitlerin etkilerini değiştirebilir. İklim değişikliğinin sonucu olarak artması beklenen sıcaklık etmeninin olumsuz etkilerinin (azalan yaşama oranı ve üreme) kirleticilerin varlığında veya düşük besin miktarı koşullarında şiddetlendiğine dikkat çekilmektedir (Folt ve ark., 1999). Diğer bir deyişle, artan sıcaklık ve azalan besin miktarı koşullarında kirleticilerin toksik etkilerinin daha şiddetli olduğu belirtilmektedir (Heugens, 2003). Yüksek sıcaklıklarda artan hassasiyetin sebebi, kirleticilere maruz kalma durumunda metabolik enerjiye ve dolayısıyla oksijene gereksinimin artması ama yüksek sıcaklıklarda oksijenin çözünürlüğünün azalması olabilir (Hanazato, 1991). Abiyotik etmenlerin yanısıra, biyotik etmenler de pestisitlerin etkilerini değiştirebilir. Besin miktarının azlığının insektisitlerin zooplankton popülasyonları üzerindeki olumsuz etkilerini artırdığı gözlenmiştir (Gama-Flores, 2004; Hanazato ve Hirokawa, 2004; Pieters ve ark., 2005). Besin miktarının yanısıra, avcı baskısının da insektisit kaynaklı tepkileri etkileyebileceği belirtilmektedir. Avcı varlığını benzeten avcı sinyalinin varlığında bazı insektisitlerin kurbağa iribaşları ve *Ceriodaphnia* üzerindeki ölümcül etkilerinin belirgin bir şekilde arttığı rapor edilmiştir (Relyea ve Mills, 2001; Maul ve ark., 2005). Insektisitlerin, *Bosmina* ve *Daphnia*'da ki avcıdan korunma amaçlı morfolojik uyarlamaların gelişimini engelleyebildiği de belirtilmektedir (Barry, 2000; Sakamoto ve ark., 2006). Insektisit varlığının davranışsal etkilere sebep olarak av-avcı etkileşimini etkileyebileceği de belirtilmektedir. Avın insektisitlere hassas olduğu koşullarda; bazı

Daphnia, rotifer ve karides türlerinin insektisit kaynaklı olağandışı davranışları (ör. yüzme hızı vb.) görsel olarak avlanan avcılarının daha çok dikkatini çekmekte ve avlanma olasılıklarını artırmaktadır (Farr, 1997; Dodson ve ark., 1995; Preston ve ark., 1999). Ancak, avcının da insektisitlere hassas olduğu durumlarda ise; avcının avlanma veriminin ve dolayısıyla yüksek trofik seviyelere enerji aktarımının azalabileceği belirtilmektedir (Bridges, 1999; Sakamoto ve ark., 2005). Örneğin, *Bosmina* üzerinden avlanan *Leptodora*'nın karbaril insektisitine karşı daha hassas olduğu ve dolayısıyla *Bosmina*'nın karbaril varlığında avlanma baskısı karşısında üstün olabileceği belirtilmektedir (Sakamoto ve ark., 2005). Ancak, *Bosmina* türünün *Leptodora* avlanma baskısı karşısında ürettiği dışa-çıkık morfolojik bir yapıyı, karbaril insektisitinin varlığında üretemediği ve sonuç olarak avlanma baskısına karşı savunmasız kaldığı belirtilmektedir (Sakamoto ve ark., 2006). Bu örnek, çoklu etkilerin araştırılması esnasında dikkat edilmesi gereken hususların çokluğunu ortaya koymaktadır. Bütün bu gözlemler, günümüzde öldürücü (lethal) ve yarı-öldürücü (sub-lethal) pestisit etkilerini ayırt etmede ki yetersizliğimizi vurgulamaktadır.

Sonuç olarak, geleneksel laboratuvar araştırmaları, insan kaynaklı stres etmenlerinin başka stres etmenlerinin varlığında (ör. avlanma baskısı, başka pestisitler vb.) değişen etkilerini öngöremeyebilir. Dolayısıyla, bu tür etkileşimlerin doğasını (birbirlerinin etkilerini artırıcı veya telafi edici olmaları) ve önemini belirlemenin zorunluluğu vurgulanmaktadır (Relyea ve Hoverman, 2006). Çoklu etmenlerin etkileşimlerinin incelendiği çalışmaların çoğu doğal stres etmenlerinin etkileşimlerini (Vanni, 1987; Gilbert, 1996; Burns ve Dodds, 1999; Hall ve Burns, 2002; Weetman ve Atkinson, 2002; Lass ve Spaak, 2003) veya birden fazla insan kaynaklı stres etmeninin etkileşimini araştırmıştır (Borgmann, 1980; Hoagland ve ark., 1993; Meems ve ark., 2004; Barata ve ark., 2006). Ancak, doğal ve insan kaynaklı stres etmenlerinin birbirleriyle etkileşimlerini inceleyen çalışmalar sınırlıdır. Özellikle kladoserler için kirleticilerin ve tuzluluğun sıcaklık, ağır metaller, besin miktarı gibi etmenlerle etkileşimleri araştırılırken (Folt ve ark., 1999; Heugens, 2003; Pieters ve ark., 2005; Barata ve ark., 2006), biyotik kaynaklı avcı sinyalleri ile etkileşimleri hakkındaki araştırmalar sınırlıdır (Hanazato ve Dodson, 1992; Hanazato ve Dodson, 1995; Barry, 2000; Maul ve ark., 2005). Ancak, bu çalışmaların çoğunun omurgasız avlanma baskısını incelediği dikkat çekmektedir. Diğer bir deyişle, balık avlanma baskısının insan kaynaklı bir stres kaynağıyla etkileşiminin araştırıldığına rastlanılmamıştır. Dahası, doğal ortamlarda maruz kalınması kaçınılmaz olan balık avlanma baskısının tuzluluk gibi çok önemli bir stres etmeni ile olan etkileşiminin incelendiğine de rastlanılmamıştır.

Sonuç olarak, araştırmamızda doğal bir stres etmeni olarak balık avlanma baskısını benzeten balık sinyalinin, insan kaynaklı bir diğer stres etmeni (küresel iklim değişikliği sonucu artması beklenen tuzluluk veya tarım kökenli pestisit) ile olan etkileşiminin incelenmesi bu çalışmaya hem ekolojik anlamda, hem de toksikolojik anlamda özgün değer katmaktadır.

1.3 FOURIER DÖNÜŞÜM KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ

1.3.1 Elektromanyetik Dalga ve Spektroskopisi

Elektromanyetik dalga, dalganın ilerleme doğrultusuna ve birbirine dik düzlemlerde olan elektrik ve manyetik alanın salınmasıyla oluşur (Stuart, 1997). Elektromanyetik dalganın enerjisi, frekans ν (Hz) veya dalga boyu λ ile ifade edilir:

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda}$$

Formülde; E: Enerji (kJ / mol)

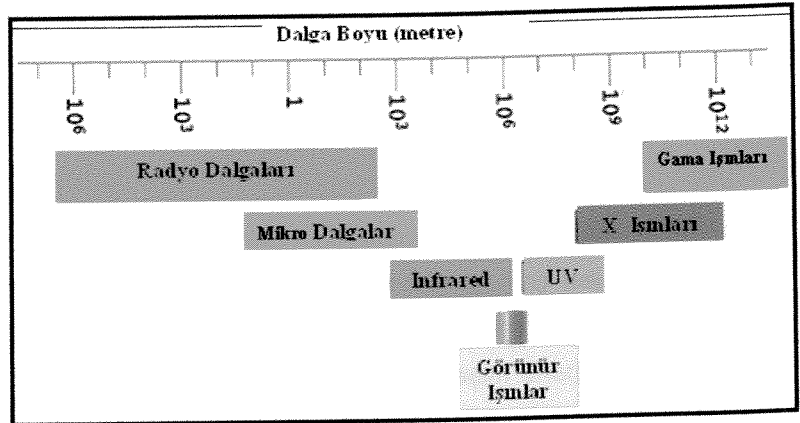
h: Planck sabiti ($h = 6.626 \times 10^{-34}$ Js)

c: Işık Hızı ($c = 3 \times 10^8$ m/s) dir.

ν : Frekans (Belirli bir noktadan birim zamanda geçen dalga sayısı) (s^{-1})

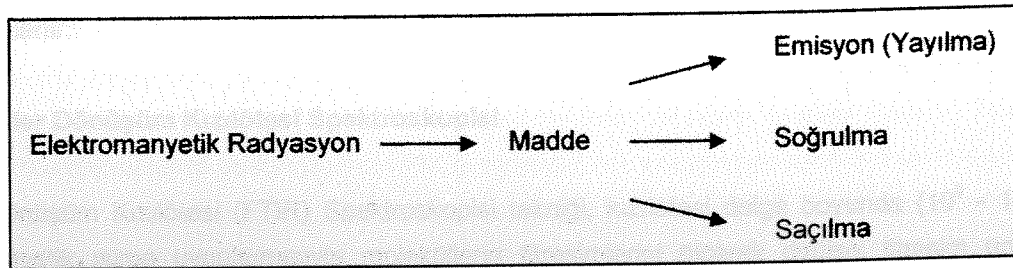
λ : Dalga Boyu (Işımanın ardarda gelen maksimum veya minimum seviyeleri arasındaki uzaklık) (cm)

Elektromanyetik dalga geniş bir spektruma sahiptir. Bu spektrumda X-ışınları, UV/Görünür, Kızılötesi, Radyo dalgaları ve Mikrodalgalar gibi her biri farklı enerji, dalga boyu ve zaman ölçeğine sahip olan dalgalar yer almaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum.

Elektromanyetik radyasyon madde ile üç şekilde etkileşir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşimi.

Spektroskopi, kimyasal etkileri hariç tutarak, elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşimini incelemek olarak tanımlanır. Saçılan, soğrulan veya yayılan enerjinin dalga boyuna bağlı olarak çizdirilmesi ile spektrumlar elde edilir.

1.3.2 Soğurma Spektroskopisi

Soğurma spektroskopisinde, incelenecek olan örnek üzerine değişik dalga boylarında ışınlar gönderilir. Yollanan radyasyonun enerjisi, söz konusu örneğin çeşitli enerji seviyeleri arasındaki farka eşdeğer olduğunda, bu enerji örnek tarafından soğurulacaktır. Bunun sonucunda değişik spektroskopilere ait soğurma bantları elde edilecektir. Kızılötesi spektroskopisi de soğurma spektroskopisi tekniklerinden biridir.

1.3.3 Titreşim Spektroskopisi

Titreşim spektroskopisi, maddenin kızılötesi ışınlarını soğurması veya saçması üzerine dayalı olan bir spektroskopi dalıdır. Homo-nükleer (N_2 , O_2 ve Cl_2 gibi yüksek simetri gösteren) moleküller hariç bütün moleküller kızılötesi ışınlarını soğurur. Optik izomerler dışında hiçbir bileşiğin eşdeğer spektrum vermemesi nedeniyle titreşim spektroskopisi organik bileşiklerin tanınmasında kullanılır. Böylelikle her örneğin genellikle soğurmanın titreşim frekansı ile orantılı olan dalga sayısına (cm^{-1}) karşı çizilen özgün kızılötesi spektrumları elde edilebilir.

Bir maddenin kızılötesi ışığı soğurması moleküldeki titreşim değişimleri ile ortaya çıkar. Bir molekülün yapısındaki farklı bağlar (C=C, C-O, C=O, O-H, N-H), farklı titreşim frekanslarına sahiptir. Bu farklı bağlar, spektrumda soğurma bantları olarak gözlemlenir ve böylece kızılötesi spektroskopisi ile fonksiyonel grup teşhisi yapılabilir.

Moleküller, etkileşime girdikleri kızılötesi dalgaboyundaki enerjiyi soğurduklarından, atomlar arasındaki bağın gerilmesi sonucu atomların birbirlerine yaklaşması veya birbirlerinden uzaklaşması beklenir. Bu esnada, eğer atom sayısı ikiden fazla ise bağlar arasındaki açının derecesi değişir. Molekülün yapısındaki atomlar arasındaki bağ açıları farklı olduğundan, herbirinin titreşim enerjisi de farklıdır. Diğer bir deyişle, bir molekül üzerine düşen kızılötesi ışınların enerjisinin, kendi yapısına bağlı olarak uygun frekansta olanlarını soğurur. Soğurulan, veya örnekten soğurulmadan geçen ışığın analizi, özgün spektrumların oluşumuna neden olur ve böylece örneğin moleküler yapısı hakkında yararlı bilgiler sağlanır.

1.3.4 Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi

Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi tekniği, kızılötesi dalga boyunda ($10^3 - 10^5$ nm) elektromanyetik ışınma uygulamasıyla moleküllerin titreşimlerini ölçerek değişik titreşim gruplarını görüntüleyen ve böylece moleküllerin mikroçevresi hakkında önemli bilgiler veren bir tekniktir.

Fourier dönüşüm tekniği bir interferometre ile modüle edilen ışığın olduğu gibi dedektörde tespiti ve elde edilen "interferogram"ın Fourier tekniğiyle bilinen kızılötesi spektrumuna dönüştürülmesidir. Fourier dönüşümü, kısaca bir fonksiyonun bağımsız değişkenini değiştirerek, karmaşık bir dalganın daha basit dalgalara dönüştürülmesini sağlayan matematiksel bir işlemdir. Bilgisayarların gelişmesiyle

bu işlem kolaylıkla yapılabilir bir hal almış ve böylece FTIR son 10-15 yılda yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve çeşitli avantajlarıyla önem kazanmıştır.

FTIR spektroskopisinden elde edilen bir spektrum, bir bileşiğin yapısını tümüyle aydınlatmaya yeterli olamasa da, bileşikteki bağ türleri, fonksiyonel gruplar ve dolayısı ile sistemde mevcut moleküllerin belirlenmesi; bunların konsantrasyonu, bu moleküllerin yapı ve fonksiyonu hakkında önemli bilgiler verir. Bir bileşiğin titreşim spektrumu o bileşiğe özgüdür ve optik izomerler dışında hiçbir bileşiğin titreşim spektrumu bir başkası ile aynı değildir.

Her bir fonksiyonlu grubun teşhisi o grup için belirgin olan titreşim frekansları ile sağlanır. Bir çok fonksiyonel gruplara ait titreşim frekansları, daha önce hazırlanan tablolardan veya atlaslardan faydalanılarak tanımlanmaya çalışılır.

Genel olarak FTIR spektrumlarında kullanılan değişkenler, bant şiddeti / bantın altında kalan alan, bant konumu (frekans değeri) ve bant genişliğidir. Bant şiddeti ve alanı maddenin konsantrasyonu hakkında bilgi verirken, bant konumu düzen/düzensizlik hakkında, bant genişliği ise dinamik hakkında bilgi verir (Cameron ve Charette, 1981; Cakmak ve ark., 2003; Toyran ve Severcan, 2003).

1.3.5 Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisinin Önemi ve Uygulama Alanları

Fourier Dönüşüm Kızılötesi spektroskopisi tekniği çeşitli bilim dallarında nitel ve nicel bilgiler verebilen bir yöntem olarak yaygınca kullanılmaktadır (Diem, 1993). Biyolojik çalışmalarda ise, biyolojik sistemleri yapılara zarar vermeden moleküler düzeyde inceleyebilmesi nedeniyle FTIR spektroskopisi tekniği daha da önem kazanmaktadır (Boyar ve Severcan, 1997; Melin ve ark., 2000; Severcan ve ark., 2000; Melin ve ark., 2001).

Kızılötesi spektroskopisinin bu derece yaygın bir şekilde kullanılmasının altında yatan nedenler çeşitlidir: (i) NMR gibi diğer araçlara kıyasla daha uzun süredir kullanılıyor olması; (ii) örnek hazırlaması işlemlerinin daha kolay olması; (iii) örneklerin gaz, sıvı ve katı hallerinde hazırlanabiliyor olması; (iv) nitel yorumların yapılabilirliği ve (v) verilerin hızlı bir şekilde elde edilebilmesi, FTIR spektroskopisini önemli bir teknik haline getirmektedir. Bunlara ilaveten Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisinin önemi ise (vi) NMR'a kıyasla FTIR spektrometrelerin fiyatlarının çok daha düşük olması (vii) kullandığı teknoloji aracılığıyla UV-Visible spektrofotometrelerinde görüntülenemeyen çeşitli fonksiyonel grupların incelenmesini sağlaması gibi nedenlerde yatmaktadır (Diem, 1993; Freifelder, 1982).

Kızılötesi spektroskopisinin en büyük dezavantajı, biyolojik sistemlerde kaçınılmaz olarak bulunan su molekülünün incelenmek istenen yapıları kamufle ederek, spektral analizi imkansız hale getirmesidir. Bu nedenle, birçok biyolojik sistem çalışmalarında, incelenecek olan örnek kurutulur. Kurutma işleminin peşisıra, kızılötesi dalgaboyundaki ışığı soğurmuyan (ör. potasyum bromür) bir madde ile

kariştirilip, yüksek basınç altında alkali halid diskler (pelet) haline getirilerek incelenebilir (Forato ve ark., 1998). Bunun dışında, su molekülünden kaynaklı bantlar bilgisayar programı ile örnek spektrumlarından çıkarılarak suyun kamufle edici etkisi yok edilip spektral analiz yapılabilir. Bunlara ilaveten rnekler D₂O içinde hazırlanabilir. ATR-FTIR spektroskopisi ise örnekleri daha yüksek bir sinyal:gürültü oranıyla daha hassas bir Şekilde rnek kalınlığından etkilenmeden değerlendirme olanağı sağlar. Özellikle katı örneklerde hazırlık süreci olmadan ve pelet hazırlanması gerekmeden doğrudan örnekleme imkanı sağladığından, bu çalışmada kurutulmuş *Daphnia* rnekleri doğrudan hiçbir işleme tabi tutulmadan ATR-FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir.

FTIR spektroskopi ayrıca biyolojik çalışmalar açısından lipidlerin diğer biyomoleküllerle etkileşimleri, proteinlerin ikincil yapılarının belirlenmesi, kanser, diyabet gibi patolojik durumların doku düzeyinde tanım ve teşhisi, canlı sistematiği, gıda güvenliği gibi birçok çeşitli alanda kullanıldığı bilinmektedir (Kumosinski ve Farrell, 1993; Mantsch ve Jackson, 1995; Boyar ve Severcan, 1997; Fukuyama ve ark., 1999; Severcan ve ark., 2000; Jung, 2000; Li ve ark., 2002; Ramesh ve ark., 2002; Boyar ve ark., 2004; Toyran ve ark., 2004; Severcan ve ark., 2005; Dogan ve ark., 2006; Toyran ve ark., 2006; Dogan ve ark., 2007; Gorgulu ve ark., 2007). Detaylı bir literatür araştırması, bu tekniğin ekolojik yaklaşımlarla kullanılmasına örnek olacak çalışmaların çok olmadığını, ancak giderek daha fazla ilgi çeken bir alan olduğu izlenimini oluşturmuştur (Giordano ve ark., 2001; Cakmak ve ark., 2003; Gidman ve ark., 2003; Scullion ve ark., 2003; Cakmak ve ark., 2006; Hirschmugl ve ark., 2006).

Sonuç olarak, *Daphnia*'nın balık avlanma baskısını benzeten balık sinyalinin varlığında tuzluluk veya sipermetrine maruz kalması halinde yaşama oranı ve popülasyon dinamiği açısından gösterdiği değişimleri yaratan moleküler düzeydeki değişimlerin tanımlanması amacıyla bu alanda ilk defa kullanılacak olan Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) spektroskopi tekniğinin katkıları bu çalışmaya yenilikçi bir bakış sağlamakta ve dolayısıyla özgün değer katmaktadır.

2. MATERYAL ve METOD

2.1 İKLİM ODASI VE CANLI KÜLTÜRLERİN OLUŞTURULMASI

2.1.1. İklim Odasının Oluşturulması

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü'nde bulunan iki iklim odasında sıcaklık 22 ± 1 °C'de Arçelik 4040S inverter split klima ve Denco Air Conditioning klima ile sağlanmaktadır. İklim odasında gündüz-gece koşulu kültürler için ayrı ayrı özel aydınlatma sistemlerine bağlı zaman ayarlayıcı (timer) ile 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık koşulu sağlanmıştır.

2.1.2. Canlı Kültürlerin Oluşturulması

2.1.2.1. *Scenedesmus obliquus* Kültürünün Oluşturulması

Daphnia kültürleri saf ve canlı *Scenedesmus obliquus* ile beslenmektedir (Saf kültür: Göttingen Üniversitesi, Alg Kültürü Merkezi). *S. obliquus* kültürlerinin hazırlanışı Çizelge 2.1'de gösterilmiştir. Bu kültürler iklim odasındaki bir biyoreaktörde steril koşullarda hava girişi ve çıkışı olan şişelerde yetiştirilmektedir. Katı kültürler, sıvı kültüre 15g/L oranında agar eklenerek hazırlanır. Alg kültürünün aydınlatılması için, Osram marka, fotosentez için gerekli ışığı (PAR) yapan özel lamba ile 2600-2800 lüks ışık kaynağı kullanılmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Laboratuvar ortamında ki *Scenedesmus obliquus* kültürünün yetiştirilme düzeneği.

Çizelge 2.1. *Scenedesmus obliquus* kültür ortamının hazırlanışı.

Proteoz Pepton Kültür Ortamı		
750 mL distile suya, 1.0 g proteoz pepton ve aşağıdaki stok çözeltiler eklenerek dH ₂ O ile 1L'ye tamamlanacaktır.		
mL	Stok Çözeltisi	g/400 mL Dh ₂ O
10	NaNO ₃	10.0
10	CaCl ₂ 2H ₂ O	1.0
10	MgSO ₄ 7H ₂ O	3.0
10	K ₂ HPO ₄	3.0
10	KH ₂ PO ₄	7.0
10	NaCl	1.0

Daphnia bireyleri için gerekli besin miktarı için *S. obliquus* saf kültürünün klorofil-a analizi yapılmaktadır. Klorofil-a analizi için, 10mL saf alg kültürü dH₂O ile 100mL'ye tamamlandıktan sonra GFC Watman filtresinden süzülür. Elde edilen filtre kağıdı yeşil yüzeyi dışa gelecek şekilde katlanarak içinde 10mL saf etil alkol bulunan bir santrifüj tüpüne yerleştirilir. Bu şekilde hazırlanan klorofil-a örneği, soğuk ve karanlık bir ortamda 12 saatlik inkübasyona bırakılır. Bu inkübasyonun sonunda, tüp 4°C'de 4000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj edilir. Oluşan solüsyonun 750nm ve 663nm dalgaboyu değerlerindeki soğurma değeri saf etil alkol blank'ine karşı UV-Visible spektrofotometresinde ölçülür. Aşağıdaki denklemler doğrultusunda gerekli alg miktarı hesaplanabilir:

$$\text{Klorofil-a}(\mu\text{g/L}) = [11.0 \times (A_{663} - A_{750}) \times V_{\text{etil alkol}}] / V_{\text{süzülmüş su}}$$

A_{663} : 663nm dalgaboyu değerindeki soğurma değeri

A_{750} : 750nm dalgaboyu değerindeki soğurma değeri

$V_{\text{etil alkol}}$: Kullanılan etil alkol miktarı (mL)

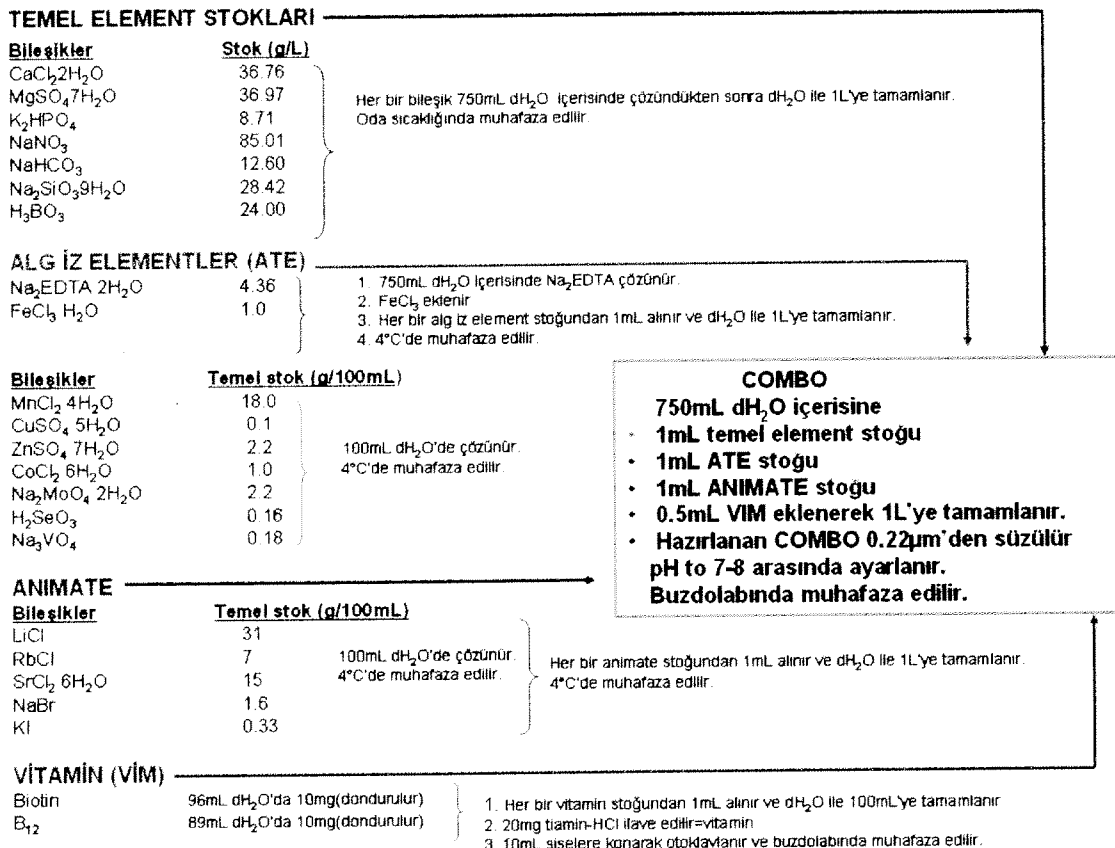
$V_{\text{süzülmüş su}}$: Süzülen suyun miktarı (L)

Klorofil-a yoğunluğu 30mgC / L : 1mg klorofil-a / L değişim faktörü kullanılarak karbon değerine (C) dönüştürülmüştür (Reynolds, 1984). Bu şekilde deneyler için gerekli olan 1mgC/L başlangıç yoğunlukları hesaplanmıştır.

2.1.2.2. *Daphnia pulex* Kültürünün Oluşturulması

2.1.2.2.1. COMBO Besi Ortamı

Bu proje kapsamında deneylerde kullanılacak olan *Daphnia* bireyleri, Kilham ve arkadaşları (1998) tarafından tanımlanan COMBO besi ortamına aktarılmıştır (Şekil 2.2). Bu besi ortamının zooplanktonlar için ideal bir ortam sağladığı literatürde yaygın olarak kabul görmektedir. Tanımlanmış bir besi ortamının kullanılması, deneyler arasındaki uyumluluğu ve göl suyundaki olası kimyasal ve biyolojik kirleticilerin etkilerinden kaçınılmasını sağlamaktadır (Hall ve Burns, 2002).



Şekil 2.2. COMBO besi ortamının hazırlanışı (Kilham ve ark., 1998).

COMBO besi ortamı deiyonize edildikten sonra distile edilmiş (dH₂O) su ile her zaman taze olarak hazırlanmaktadır. Şekil 2.2'de gösterilen miktardaki bileşikler belirtilen dH₂O hacimlerinde çözünmekte ve belirtilen koşullarda muhafaza edilmektedir. Bu stok çözeltilerinden gerekli hacimler alındıktan sonra, dH₂O ile 1L'ye tamamlanmakta, 0.22µm gözenek çaplı filtrelerden süzülmekte, 7.0<pH<8.0 arasına ayarlanmakta ve 4 °C'de muhafaza edilmektedir (Kilham ve ark., 1998).

Toksiste deneyleri sırasında, balık bekletilmemiş-COMBO besi ortamı belirtildiği gibi 0.22µm gözenek çaplı filtrelerden süzüldükten sonra pH 7.50±0.05'e ayarlanmaktadır. Ancak, balık bekletilmiş-COMBO

besi ortamı içerisinde yaklaşık 14 saat balık bekletildikten sonra 0.22µm gözenek çaplı filtrelerden süzülüp pH 7.50±0.05'e ayarlanmaktadır.

2.1.2.2.2. COMBO Besi Ortamında *Daphnia pulex*'in Yetiştirilmesi

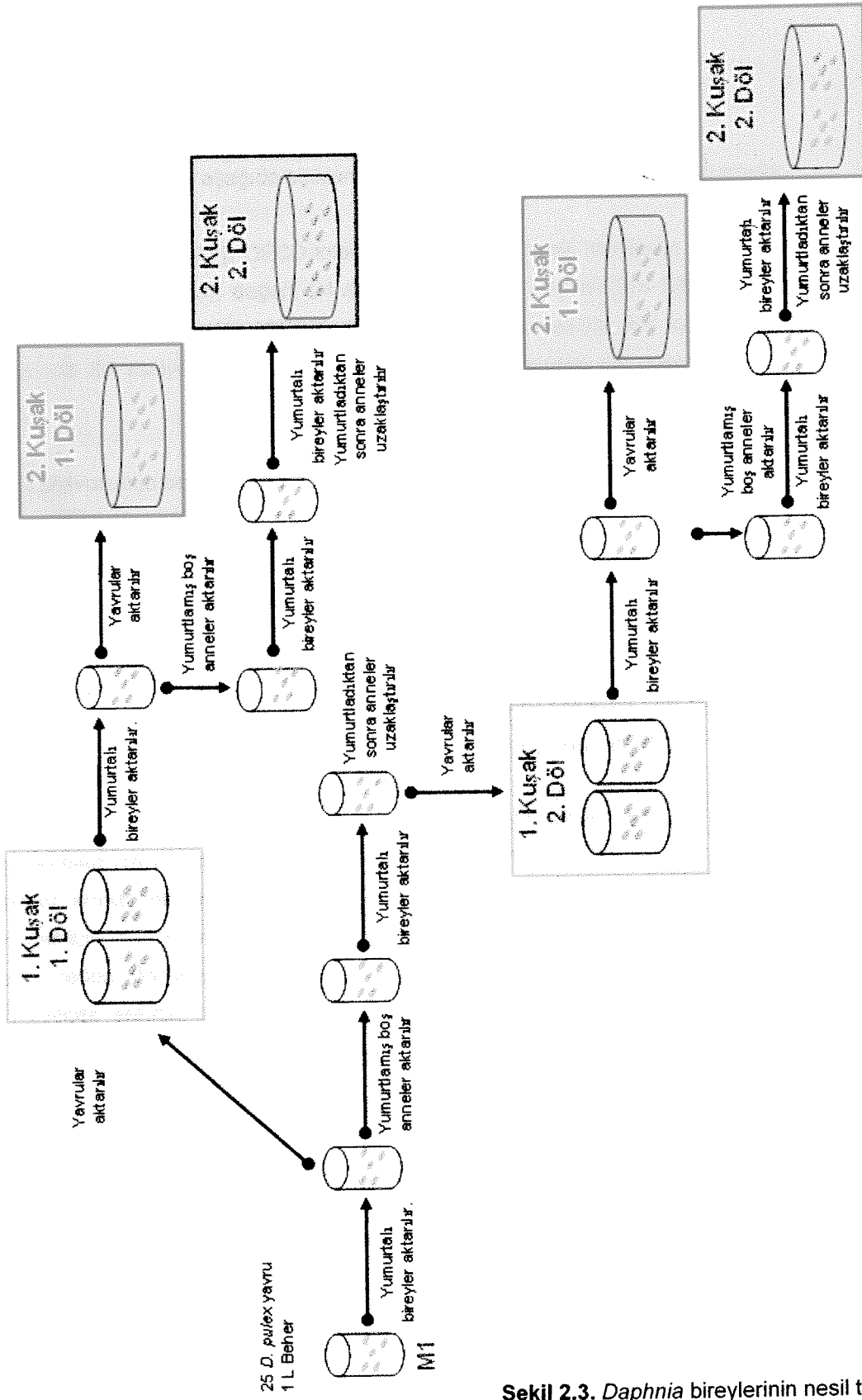
Deneylerde kullanılacak *Daphnia pulex* Eymir Gölü'nden (Ankara, Türkiye) izole edilmiş, havalandırılmış, dinlendirilmiş ve farklı türlerden arındırmak için süzölmüş göl suyunda iklim odasında (22±1 °C; 16 saat aydınlık : 8 saat karanlık) yetiştirilmiştir. Daha sonra *Daphnia pulex* bireylerinin yapılan literatür araştırmaları sonucu deneylerde kullanılmak üzere belirlenen COMBO besi ortamına alıştıırılması çalışmalarına başlanmıştır .

Bireylerin COMBO besi ortamına alıştıırılması 3 ay sürmüştür. Deneylerde kullanılan *D. pulex* bireylerinin aynı genetik yapıya sahip olmaları için, COMBO besi ortamına aktarılan *Daphnia* bireyleri üç nesil boyunca yumurtasız ve yumurtalı ergin bireyler ile yavruların aktarılmasıyla takip edilmiştir (bkz. Şekil 2.3). Ancak Şekil 2.3'de sadece ilk iki neslin takibi gösterilmiştir. Bu nesil takibi sayesinde, deneylerde aynı bireylerden çıkan 2. nesilden sonraki yavrular kullanılmıştır (Doksæter ve Vijverberg, 2001). Böylece, hem atasal etkiden (maternal effect) kurtulmuş, hem de *Daphnia* bireylerinin COMBO besi ortamına alışmaları sağlanmıştır. *Daphnia* kültürlerinin kendi üzerlerinde yarattıkları kalabalık etkisine (crowding effect) maruz kalmaması için 1L COMBO besi ortamında 100 bireyi geçmemelerini sağlayacak şekilde düzenli takipleri ve aktarılma işlemleri yapılmaktadır. Ayrıca, COMBO besi ortamında, bu birey yoğunluğunu etkileyecek miktarda buharlaşma olduğunda, yeni COMBO besi ortamı ile hacim tamamlanmıştır.

2.1.2.3. Balık Kültürünün Oluşturulması

Eymir Gölü'nde yaygın olarak bulunan ve *Daphnia* üzerinde avlanma baskısı yüksek olan gümüş (*Alburnus alburnus*) balıkları 10 mm göz açıklığında 200 m ağ kullanılarak yakalanmıştır. Tutulan 3-5 cm boyundaki balıklar iklim odasında akvaryumlarda yaşatılmıştır. Ezilmiş *Daphnia*'lardan salınan ve böylece aynı türler arası iletişimi sağlayarak (conspecific) avcı baskısının varlığına işaret eden alarm sinyallerinin (Pijanowska, 1997) olmaması için, balıklar suni balık yemi ile beslenmektedir. Gerçekleştirilen deneylerden önce yeni balıklar yakalanıp yukarıda anlatılan şekilde iklim odasında yaşatılmıştır.

Deney hazırlık aşamasında 2 orta boy balık 10L COMBO besi ortamında 14 saat boyunca bekletildikten sonra (Loose ve ark., 1993; Loose ve Dawidowicz, 1994), önce 0.45µm gözenek çaplı filtrelerden süzölmüş, pH değeri 7.50±0.05'e ayarlanıp, sonra 0.22µm gözenek çaplı filtrelerden süzölmektedir. Bu şekilde hazırlanan ortama balık bekletilmiş-COMBO besi ortamı denilmektedir (Kilham ve ark., 1998).



Şekil 2.3. *Daphnia* bireylerinin nesil takip şeması.

2.2. TOKSİSİTE İÇİN DENEYSSEL İŞLEMLER

2.2.1 OECD Toksisite Deney Kriterleri

Akut ve kronik deneyler aşağıda açıklanan OECD deney kriterlerine göre yapılmıştır.

Akut Toksisite Deneyleri: OECD kılavuzuna göre, bir toksik maddenin *Daphnia* üzerindeki medyan lethal doz LD₅₀ (24 saat) değeri, 24 saat maruz kalan *Daphnia*'nın %50sinin ölümüne neden olan yoğunluk olarak ifade edilir (OECD, 1984). Deneyler sırasında, test kabını hafif bir sarsma işlemi sonrasında 30 saniye içerisinde tekrar yüzemeyen bireylerin ölü olduğu kabul edilmiştir (Weider, 1993).

OECD kılavuzunun belirlediği bazı önemli koşullar aşağıdaki gibidir:

- 24 saatten küçük *Daphnia* bireyleri tercih edilmelidir.
- Her bir grupta 20 birey (5 birey x 4 tekrar) kullanılmalıdır.
- Deney süresince *Daphnia*'lar beslenmemelidir.
- Birey başına en az 2mL test solüsyonu gelmelidir.
- Oda sıcaklığı 18-22 °C (±1 °C) arasındaki bir sıcaklığa ayarlanmalıdır.
- Bir çözücü gerektiği takdirde, bütün gruplar aynı miktarda çözücüye maruz kalacak şekilde dengeleme yapılmalı ve ayrıca bir çözücü kontrol grubu hazırlanmalıdır.

Kronik Toksisite Deneyleri: OECD kılavuzuna göre, bir toksik maddenin *Daphnia magna*'nın üreme parametreleri (reproductive output) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için gerçekleştirilen 21 günlük deneyler kronik toksisite deneyleri olarak adlandırılır (OECD, 1984). Bu uzun vadeli bilgi veren deneyler için, kullanılan toksik maddenin akut toksisite deney sonuçları gerekmektedir. En az beş toksik madde dozunun kullanılması gereken bu deneylerde, dozların artışı 3.2'lik bir faktörü geçmeyecek şekilde geometrik bir artış göstermelidir. Belirlenen en yüksek yoğunluğun 1g/L'yi geçmemesi ve en düşük yoğunluğun ise hiçbir etki göstermeyecek bir doz olması gerekmektedir. En yüksek yoğunluk belirlenen EC₅₀ (24 saat) değeri civarında ve en düşük yoğunluk ise 1/100 EC₅₀ (24 saat) değeri civarında olacak şekilde seçilebilir. Deneyler sırasında, bireylerin ölü kabul edilme süreci akut toksisite deneyleri ile aynıdır.

OECD kılavuzunun belirlediği bazı önemli koşullar aşağıdaki gibidir:

- Kontrol grubunda *Daphnia*'ların %20sinden fazlasının ölmemiş olması gerekmektedir.
- 24 saatten küçük *Daphnia* bireyleri tercih edilmelidir.
- Her bir grupta 10 birey (1 birey x 10 tekrar) kullanılmalıdır.
- Deney süresince *Daphnia*'lar 0.1-0.2mgC/*Daphnia*/gün oranında beslenmelidir.
- Birey başına 50-100mL test solüsyonu gelmelidir.
- Oda sıcaklığı 18-22 °C (±1 °C) arasındaki bir sıcaklığa ayarlanmalıdır.

- Bir çözücü gerektiği takdirde, bütün gruplar aynı miktarda çözücüye maruz kalacak şekilde dengeleme yapılmalı ve ayrıca bir çözücü kontrol grubu hazırlanmalıdır. Her bir bireyin maruz kaldığı çözücü yoğunluğu 0.1 mL/L'yi aşmamalıdır.
- Test solüsyonlarının yenilenme süreci test maddesinin dayanıklılığına göre karar verilmelidir. Bu yenileme süreci en az haftada 3 kere veya en fazla 3 günde bir olmalıdır.
- Test solüsyonları değiştirildiğinde, ikinci bir test kabı serisi hazırlanmalı ve bireyler uygun bir pipetle temiz kaplara aktarılmalıdır. Bu *Daphnia* aktarımı esnasında, aktarılan eski solüsyon miktarı en aza indirgenmelidir.

2.2.2. Deney Düzenekleri

2.2.2.1 Tuzluluk Deneyleri

COMBO besi ortamı içerisinde üç nesil boyunca takip edilen *Daphnia pulex* bireyleri ile tuzluluk akut ve kronik toksisite deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneyler sıcaklık ve ışık kontrollü (22 ± 1 °C, 16 saat aydınlık : 8 saat karanlık) iklim odasında gerçekleştirilmiştir.

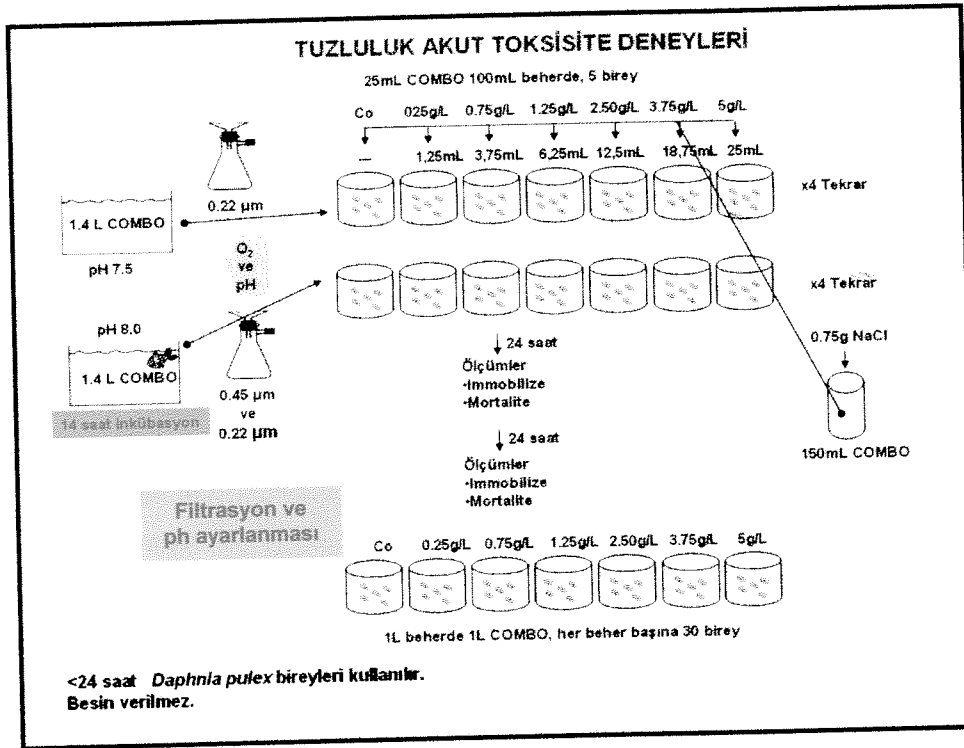
Saf NaCl ve okyanus tuzlarının tatlısu omurgasızları üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında, benzerlik taşıdıkları belirtilmiştir (Kefford ve ark., 2004). Dahası, çeşitli iyonlardan kaynaklı yüksek tuz koşulları altında yaşayan rotifer gibi omurgasızların, benzer NaCl düzeylerine de dayanabildikleri gözlenmiştir (Sarma ve ark., 2005). Sonuç olarak, bu çalışmada da NaCl tuzluluğu kullanılması kararlaştırılmıştır.

2.2.2.1.1 Akut Toksikite Deneyleri

i. Doz Belirleme Araştırmaları

Doz Belirleme Ön Araştırması: Balık bekletilmemiş ve balık bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 ve 10.0 g/L oranlarında NaCl solüsyonları hazırlanmıştır. Bu test solüsyonlarına 48 saatten küçük *D. pulex* bireyleri (5 birey x 4 tekrar, her biri 25mL içeren beherlerde) yerleştirilmiş ve 48 saatlik yaşama oranları ortalama 2 saatte bir takip edilmiştir. Deney süresince *D. pulex* bireyleri beslenmemiştir. Bu deney düzeneği *D. pulex* kültür türünün NaCl tuzluluğuna karşı olan dayanıklılığının üst sınırının belirlenmesi için tasarlanmıştır .

Doz Belirleme Araştırması: Balık bekletilmemiş ve balık bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0, 0.25, 0.75, 1.25, 2.50, 3.75 ve 5.00g/L oranlarında NaCl solüsyonları hazırlanmıştır. Bu test solüsyonlarına 48 saatten küçük *D. pulex* bireyleri (5 birey x 4 tekrar, her biri 25mL içeren beherlerde) yerleştirilmiş ve 48 saatlik yaşama oranları ortalama 2 saatte bir takip edilmiştir (Şekil 2.4). Deney süresince *D. pulex* bireyleri beslenmemiştir (Şekil 2.5). Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi araştırmaları için muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.4. *D. pulex* için tuzluluk akut toksisite deney şeması.



Şekil 2.5. *D. pulex* için tuzluluk akut toksisite deney beherleri.

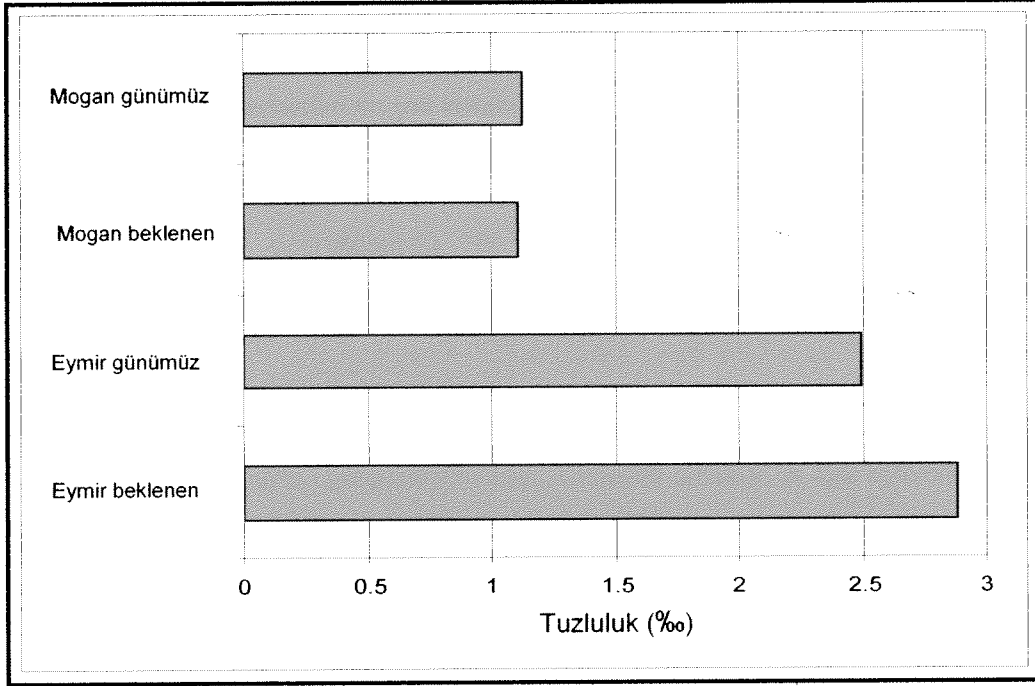
2.2.2.1.2. Kronik Toksikite Deneyleri

i. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi

Akut toksisite deneyinin sonuçları kullanılarak, kronik toksisite deneyi için balık bekletilmemiş ve bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0.05 , 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 ve 1.50 mg Cl/L oranlarında NaCl solüsyonları hazırlanmıştır. Bu test solüsyonlarına 48 saatten küçük *D. pulex* bireyleri (1 birey x 10 tekrar, her biri 40 mL içeren beherlerde) yerleştirilmiş ve 21 gün boyunca yaşama oranları takip edilmiştir. Deney süresince *D. pulex*'lere besin olarak başlangıç yoğunluğu 1 mg C/L/gün olacak şekilde *S. obliquus* türü saf alg kültürü verilmiştir. Her 3 günde bir test solüsyonları yenilenmiştir. Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi araştırmaları için muhafaza edilmiştir. Deney sonunda test organizmaları dondurularak kurutulmuş ve 4000-650 cm^{-1} dalgasayısı aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte 250 interferogramın ortalaması alınarak FTIR spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir

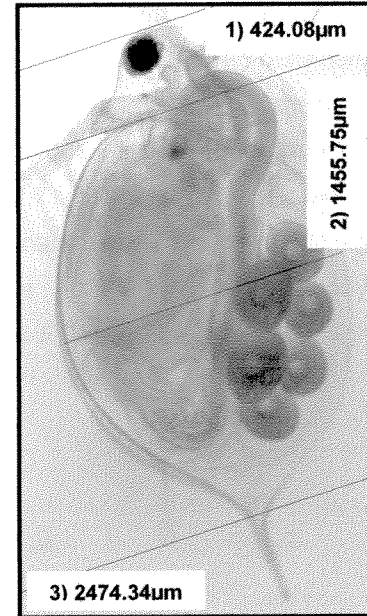
ii. Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi

Küresel ısınmanın beklenen etkileri arasında sıcaklık ve tuzluluk artışı ve tatlısu ekosistemlerinde besin zincirinin bozulması vardır. Bu beklentiler ışığında, bazı genel varsayımlara dayanarak, Ankara civarında bulunan ve 10 yıldır ODTÜ Biyoloji Bölümü Limnoloji Laboratuvarı tarafından (Dr. Meryem BEKLOĞLU) izlenen Mogan ve Eymir göllerinin küresel ısınma sonucu maruz kalabileceği tuzluluk artışı hakkında öngörü modelleme araştırması Dr. Olivier KLEPPER ile işbirliği içinde yapılmıştır. Şekil 2.6'da de görüldüğü üzere, her iki gölde de tuzluluğun en az iki katına çıkacağı, ancak Mogan gölünden Eymir gölüne akan girdide ki tuz miktarının artmış olması nedeniyle Eymir gölündeki tuzluluk artışının Mogan gölüne kıyasla daha fazla olacağı düşünülmektedir. Bu öngörüler doğrultusunda, "Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi" tasarlanmıştır.



Şekil 2.6. Eymir ve Mogan göllerinin günümüz ve beklenen tuzluluk seviyeleri (Dr. O. Klepper, Basılmamış veri).

İki farklı sıcaklık değerine (22 °C ve 25 °C) ayarlanmış olan 2 iklim odasında, balık bekletilmemiş ve bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0, 0.10, 0.40 ve 1.5 mg Cl / L oranlarında NaCl solüsyonları hazırlanmıştır. Bu test solüsyonlarına 48 saatten küçük *D. pulex* bireyleri (1 birey x 10 tekrar, 40mL/birey) yerleştirilmiş ve 21 gün boyunca hayatta kalma oranları ve morfolojik parametreleri takip edilmiştir. Deney süresince *D. pulex*'lere başlangıç yoğunluğu 0.075 (düşük besin) veya 0.400 mg C/L (asgari besin) olacak şekilde *S. obliquus* türü saf alg kültürü temin edilmiştir. Her 3 günde bir test solüsyonları yenilenmiş ve bu sırada fotoğraf çekimi gerçekleştirilmiştir (yanda gösterildiği gibi). Elde edilen fotoğraflardan istenilen vücut ölçüsü ölçülebilmekte ve yumurta üretimi verileri (ilk yumurtanın gözlemlendiği yaş ve bu yaşın karşılık geldiği vücut ölçüsü vb.) elde edilebilmektedir. Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi çalışmaları için muhafaza edilmiştir.



Daphnia pulex ölçümleri:
 1) Kafa uzunluğu
 2) Vücut genişliği
 3) Vücut uzunluğu

2.2.2.2. Sipermetrin Deneyleri

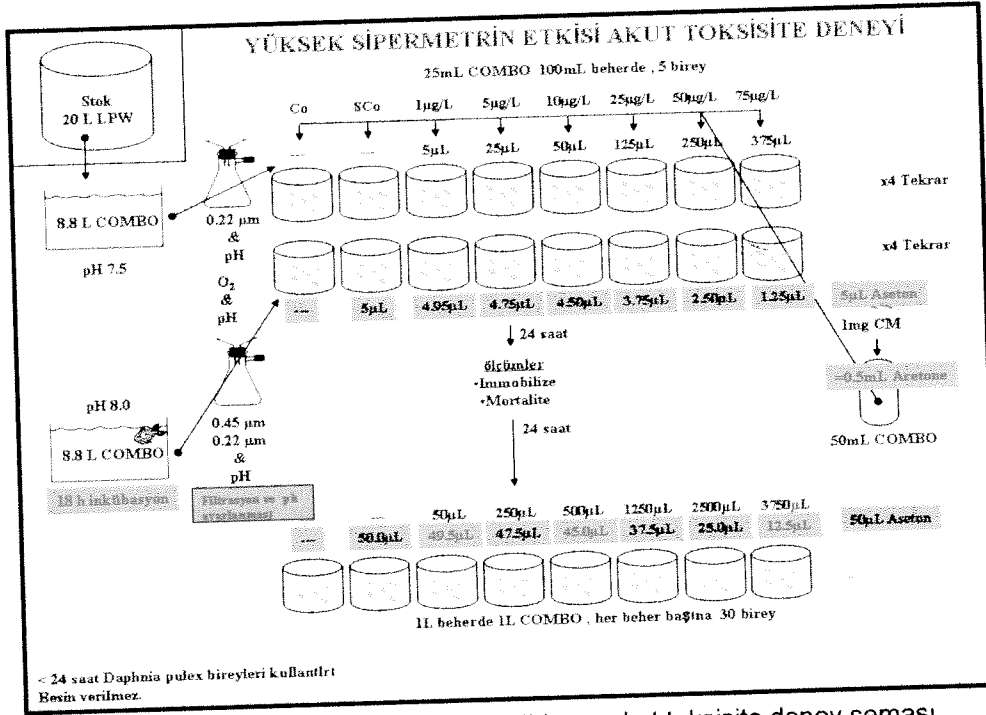
Türkiye'de zirai mücadele ilaçlarının en çok kullanıldığı illerimizin başında gelen Adana bölgesinde, en çok insektisit uygulamasının pamuk zararlılarına karşı olduğu ve pamuk tarlalarını Lepidoptera sınıfı zararlılarından korumak amacıyla güncel pestisitler olan sentetik piretroidler arasında en sıklıkla sipermetrinin kullanılması doğrultusunda, bu çalışmada sipermetrinin etkilerinin çalışılması kararlaştırılmıştır (Dağ ve ark., 2000; Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü İstatistikleri, 2004).

COMBO besi ortamı içerisinde üç nesil boyunca takip edilen *Daphnia pulex* bireyleri ile sipermetrin akut ve kronik toksisite deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneyler sıcaklık ve ışık kontrollü (23 ± 1 °C, 16 saat aydınlık:8 saat karanlık) iklim odasında gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.2.1. Akut Toksikite Deneyleri

i. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması

Balık bekletilmemiş ve balık bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0.0, 1.0, 5.0, 10.0, 25.0 50.0 ve 75.0 µg/L oranlarında sipermetrin içeren solüsyonlar ve aseton kontrol solüsyonu hazırlanmıştır. Bu test solüsyonlarına 48 saatten küçük *D. pulex* bireyleri (5 birey x 4 tekrar, her biri 25mL içeren beherlerde) yerleştirilmiş ve 48 saatlik yaşama oranları ortalama 2 saatte bir takip edilmiştir. Deney süresince *D. pulex* bireyleri beslenmemiştir. Bu deney düzeneği *D. pulex* kültür türünün sipermetrine karşı olan dayanıklılığının üst sınırının belirlenmesi için tasarlanmıştır (Şekil 2.7). Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi araştırmaları için muhafaza edilmiştir. Deney sonunda test organizmaları dondurularak kurutulmuş ve 4000-650 cm^{-1} dalgasayısı aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte 250 interferogramın ortalaması alınarak FTIR spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir



Şekil 2.7. *D.pulex* için yüksek sipermetrin etkisini belirleme akut toksisite deney şeması.

2.2.2.2. Kronik Toksikite Deneyleri

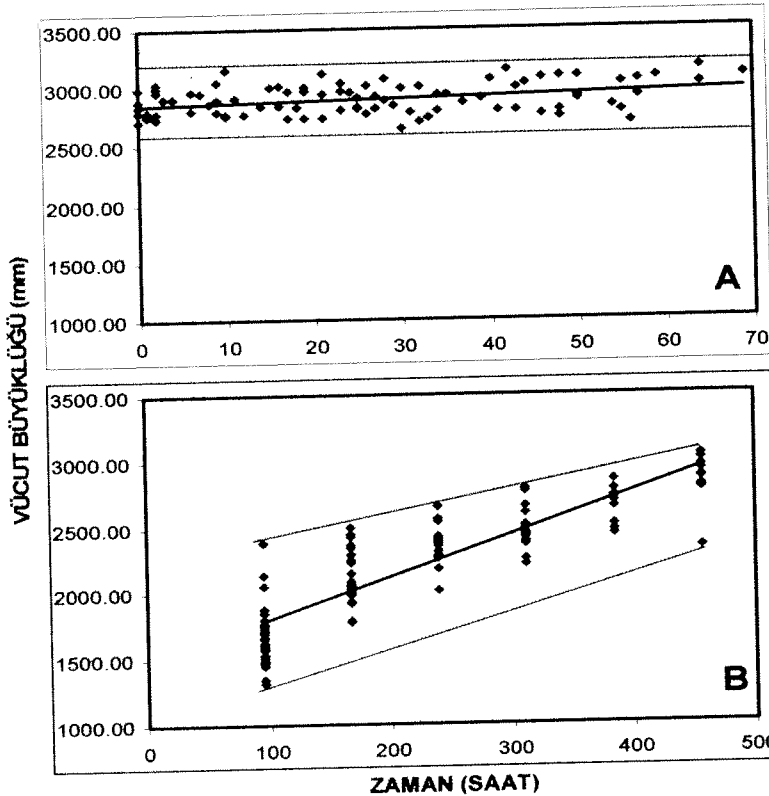
i. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi

Sipermetrin stok solüsyonu için 1mg sipermetrin 500mL saf aseton içerisinde çözünmüş ve COMBO besisi ortamı ile 50mL'ye tamamlanmıştır. Akut toksisite deneyinin sonuçları doğrultusunda, balık bekletilmemiş ve balık bekletilmiş COMBO besisi ortamı ile 0.00, 0.04, 0.10, 0.30, 0.90, 1.80, ve 3.60 µg/L oranlarında sipermetrin solüsyonları ve aseton kontrol solüsyonu hazırlanmıştır. Ancak, her solüsyondaki aseton miktarlarının eşit olması için gerekli dengeleme yapılmıştır. Bu test solüsyonlarına 24-72 saat arasındaki *D. pulex* bireyleri (1 birey x 7 tekrar, 40mL/birey) yerleştirilmiş ve 15 gün boyunca yaşama oranları takip edilmiştir. Deney süresince *D.pulex*'lere başlangıç yoğunluğu 1mgC/L/gün olacak şekilde *S. obliquus* türü saf alg kültürü temin edilmiştir. Her 3 günde bir test solüsyonları yenilenmiştir. Deney esnasında doğan yavruların da aynı test koşullarındaki yaşama oranları takip edilmiştir. Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi çalışmaları için muhafaza edilmiştir. Deney sonunda test organizmaları dondurularak kurutulmuş ve 4000-650 cm⁻¹ dalgasayısı aralığında 4 cm⁻¹ çözünürlükte 250 interferogramın ortalaması alınarak FTIR spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir.

2.2.2.3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk ve Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyleri

Daha önceki kronik deneyler OECD kılavuzunda verilen talimata göre gerçekleştirilmiştir. Deneylerde *Daphnia* bireylerinin yaşama oranlarının belirlenmesi ve FTIR verisi elde etme aşamaları başarıyla gerçekleştirilmiştir. Fakat bu şekilde planlanan deneylerin *Daphnia* bireylerinin yaşam döngüsü (vücut şekli, somatik büyüme ve yumurta üretimi) verilerini elde etmekte yetersiz kaldığı çeşitli denemelerden sonra gözlemlenmiştir.

Şekil 2.8'de de rahatlıkla gözlenebileceği gibi, yaşam döngüsü verilerini elde etmekte kullanılan fotoğraf çekimleri 3 günde bir yapıldığında, veriler arasındaki sapma armaktadır. Zaman aralığı azaltıldığında verilerdeki sapma da azalmaktadır. Yapılan bir ön deneyde bu aralık başlangıçta 2600-3200mm aralığında iken, Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmında (3 günde fotoğraf çekimi) başlangıçta 1200-2400mm aralığındadır. Sonuçta, daha sık ölçüm alındığında verilerin aralığının daraldığı ve böylece bilgi kaybının en düşük seviyeye indiği görülmüştür. Bu bilgilerin ışığında yaşam döngüsü verilerinin elde edilebilmesi amacıyla yeni bir deney düzeneği hazırlanmıştır.



Şekil 2.8. Ön-deneyin ve Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmının zamana bağlı vücut uzunluklarının karşılaştırmalı çizimi. A) Ön-deney, B) Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmı. A ve B arasındaki zaman aralığının farkına dikkat edilmelidir.

2.2.2.4. Aklimizasyon Çalışmaları

Aklimizasyon zaman içinde gelişen fizyolojik bir uyumdur (Vijverberg, 1989). Zooplanktonların sıcaklık, besin ve tuz koşullarına aklimizasyonu birçok araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir (Munro, 1974; Hart ve McLaren, 1978; Vijverberg, 1989; Arner, 1993; Baillieul ve ark., 1996; Martinez ve ark., 2007). Zooplankton kültürlerinin uygulanan koşullara bütünüyle aklimize olmaları zooplankton türleri arasında farklılık göstermektedir (Vijverberg, 1989). Aklimizasyon çalışmalarında atasal etkinin yok edilmesi amacıyla zooplanktonların aklimize edilecekleri koşullarda en az iki nesil beklmeleri ve deneylerde bu zaman diliminden sonra elde edilen yavruların kullanılmaları birçok araştırmacı tarafından önerilmektedir (Hrbacek, 1977; Goulden ve ark., 1982; Vijverberg, 1989; Arner, 1993; Baillieul ve ark., 1996; Martinez ve ark., 2007).

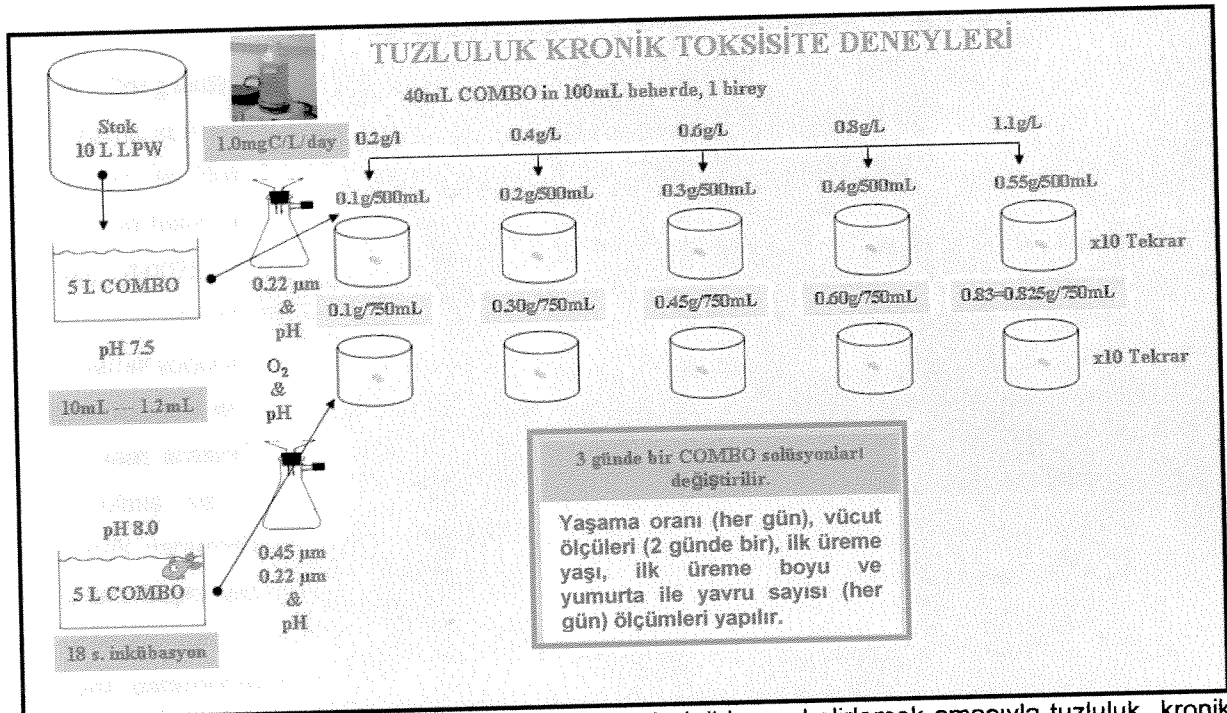
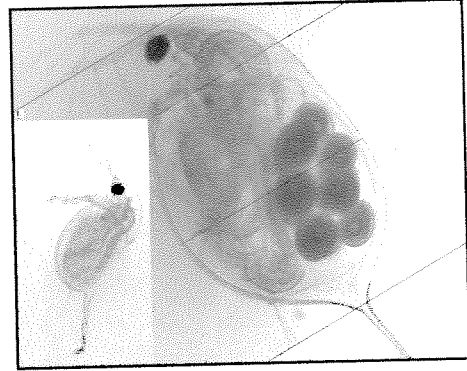
2.2.2.4.1. Tuzluluk Aklimizasyon Çalışmaları ve Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyleri

Tuzluluk Aklimizasyon Çalışmaları: Yukarıda belirtildiği gibi önce COMBO besi ortamına alıştıran *Daphnia pulex* bireyleri yaşam döngüsünde özkaynak dağılımı belirleme deneyi öncesi belirlenen değişik tuz yoğunluklarına (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.1 g/L) aklimize edilmiştir. Aklimizasyon çalışmaları şu şekilde gerçekleştirilmiştir:

COMBO besi ortamına alıştıran bireylerin bir kısmı (yavruların kullanılmasına özen gösterilmiştir) önce birinci ana doz olan 0.2 g/L tuz içeren COMBO besi ortamına konulmuştur. Bu yoğunlukta en az iki hafta (Vijverberg, 1989; Arner, 1993; Baillieul ve ark., 1996; Martinez ve ark., 2007) bekletilen bireylerin bir kısmı 0.2 g/L tuz içeren COMBO besi ortamında bırakılmış, bir kısmı ise ara doz olarak belirlenen 0.3 g/L tuz içeren COMBO besi ortamına aktarılmıştır. 0.3 g/L tuz içeren COMBO besi ortamında en az iki hafta bekletilen bireylerin tamamı alınarak ana dozlardan ikincisi olan 0.4 g/L tuz içeren COMBO besi ortamına aktarılmıştır. Bu işlem izlenerek bireylerin 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.0 g Cl/L ara dozlarıyla, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.1 g Cl/L ana dozlarına aklimizasyonu sağlanmıştır. Aklimizasyon çalışmaları, sıcaklık ve ışık kontrollü (22 ± 1 °C, 16 saat aydınlık:8 saat karanlık) iklim odasında gerçekleştirilmiştir. Aklimizasyon süreci sırasında *Daphnia pulex* bireyleri düzenli olarak *Scenedemus obliquus* kültürüyle beslenmiştir.

Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi:

Akut toksisite deneyinin sonuçları kullanılarak, kronik toksisite deneyi için balık bekletilmemiş ve bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.2 g Cl/L oranlarında NaCl solüsyonları hazırlanmıştır. Bu test solüsyonlarına 48-72 saatten küçük ve aklimizasyon çalışmaları sonucu değişik tuzluluk yoğunluklarına (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.1 g/L) aklimize edilmiş *D. pulex* bireyleri (1 birey x 10 tekrar, her biri 40 mL içeren beherlerde) yerleştirilmiş ve 21 gün boyunca yaşama oranları ve morfolojik parametreleri takip edilmiştir. Deney süresince *D. pulex*'lere başlangıç yoğunluğu 1 mg C/L/gün olacak şekilde *S. obliquus* türü saf alg kültürü temin edilmiştir. Yaşam döngüsü parametreleri elde etmek için yapılan fotoğraf çekimi 2 günde bir uygulanmıştır. Her 3 günde bir test solüsyonları yenilenmiştir (Şekil 2.9). Öte yandan, 2 günde bir çekilen fotoğraflardan (yanda gösterildiği gibi) vücut uzunluğu ve genişliği, ilk yumurtanın üretildiği yaş, bu yaştan karşılık geldiği vücut uzunluğu, tüm deney boyunca üretilen yumurta sayısı verileri saptanmıştır. Son olarak yavru sayısı da, hergün gerçekleştirilen yaşama oranı takibi sırasında belirlenmiştir. Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi çalışmaları için muhafaza edilmiştir. Deney sonunda test organizmaları dondurularak kurutulmuş ve 4000-650 cm⁻¹ dalgasayısı aralığında 4 cm⁻¹ çözünürlükte 250 interferogramın ortalaması alınarak FTIR spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir.



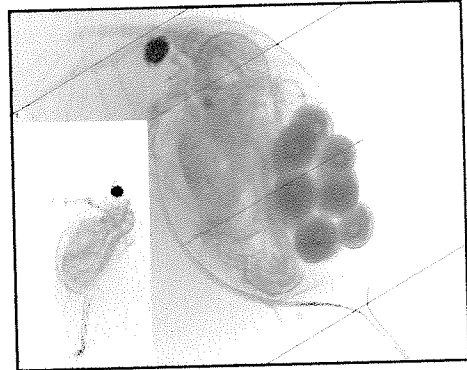
Şekil 2.9. *D. pulex* için yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek amacıyla tuzluluk kronik toksisite deney şeması.

2.2.2.4.2. Sipermetrin Aklimizasyon Çalışmaları ve Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyleri

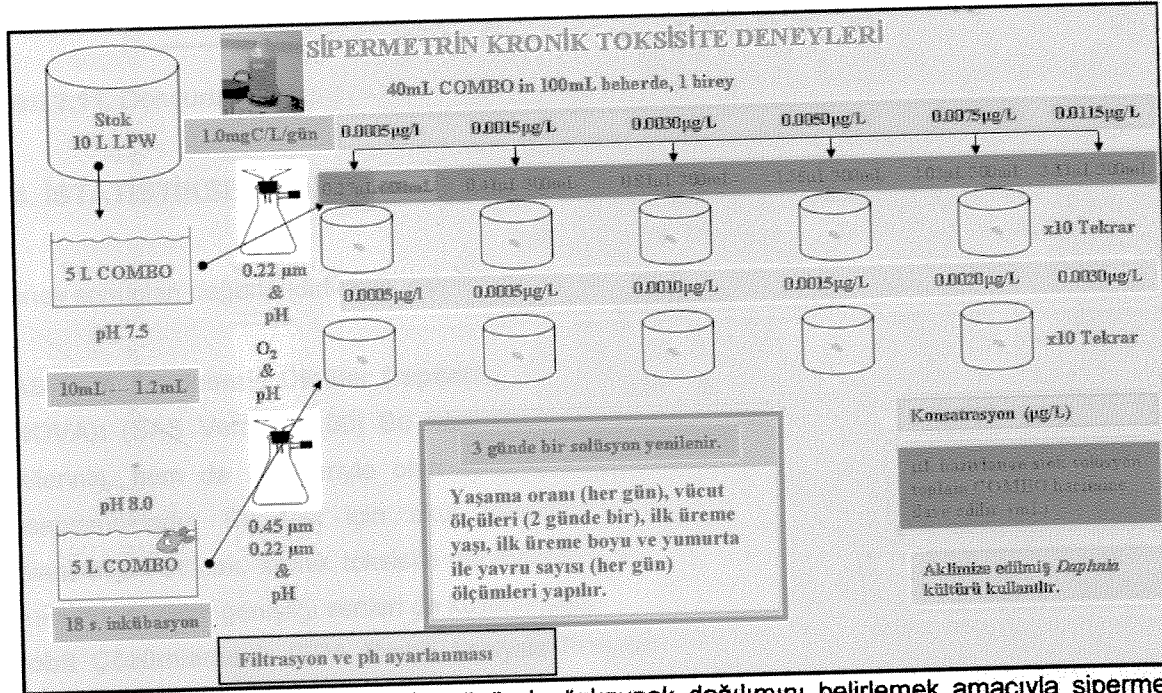
Sipermetrin Aklimizasyon Çalışmaları: Daha önce de belirtildiği gibi önce COMBO besi ortamına alıştırılan *D. pulex* bireyleri yaşam döngüsünde özkaynak dağılımı deneyi öncesi belirlenen değişik sipermetrin yoğunluklarına (0.0005, 0.0010, 0.0015, 0.0020, 0.0030 µg/L) aklimize edilmiştir. Aklimizasyon çalışmaları şu şekilde gerçekleştirilmiştir:

COMBO besi ortamına alıştırılan bireylerin bir kısmı (yavruların kullanılmasına özen gösterilmiştir) önce birinci ana doz olan 0.0005 µg/L sipermetrin içeren COMBO besi ortamına konulmuştur. Bu yoğunlukta en az iki hafta (Vijverberg, 1989; Arner, 1993; Baillieul ve ark., 1996; Martinez ve ark., 2007) bekletilen bireylerin bir kısmı 0.0005 µg/L sipermetrin içeren COMBO besi ortamında bırakılmış, bir kısmı ise diğer ana doz olarak belirlenen 0.0010 µg/L sipermetrin içeren COMBO besi ortamına aktarılmıştır. 0.0010 µg/L sipermetrin içeren COMBO besi ortamında en az iki hafta bekletilen bireylerin bir kısmı 0.0010 µg/L sipermetrin içeren COMBO besi ortamında bırakılmış, bir kısmı ise diğer ana doz olarak belirlenen 0.0015 µg/L sipermetrin içeren COMBO besi ortamına aktarılmıştır. Bu işlem izlenerek bireylerin 0.0005, 0.0010, 0.0015, 0.0020, 0.0030 µg/L sipermetrin dozlarına aklimizasyonu sağlanmıştır. Aklimizasyon çalışmaları, sıcaklık ve ışık kontrollü (22±1 °C, 16 saat aydınlık:8 saat karanlık) iklim odasında gerçekleştirilmiştir. Aklimizasyon süreci sırasında *Daphnia pulex* bireyleri düzenli olarak *Scenedemus obliquus* kültürüyle beslenmiştir.

Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi: Sipermetrin stok solüsyonu için 1mg sipermetrin 500mL saf aseton içerisinde çözünmüş ve COMBO besi ortamı ile 50mL'ye tamamlanmıştır Akut toksisite deneyinin sonuçları kullanılarak, kronik toksisite deneyi için balık bekletilmemiş ve bekletilmiş COMBO besi ortamı ile 0.00, 0.0005, 0.0015, 0.0030, 0.0050, 0.0075, 0.0115 ve 0.0150 µg/L oranlarında sipermetrin solüsyonları hazırlanmıştır. Sipermetrin aseton içerisinde çözündüğü halde, belirlenen dozlarda hazırlanan test çözeltilerinde ki son aseton yoğunluğu, OECD tarafından önerilen en yüksek solvent yoğunluğunun (≤ 0.1 mL/L) çok altında olduğundan solvent kontrol uygulaması eklenmemiştir (OECD, 1998). Bu test solüsyonlarına 24-72 saat arasındaki *D. pulex* bireyleri (1 birey x 10 tekrar, her biri 40 mL içeren beherlerde) yerleştirilmiş ve 19 gün boyunca yaşama oranları ve morfolojik parametreleri takip edilmiştir. Deney süresince *D. pulex*'lere başlangıç yoğunluğu 1 mg C/L/gün olacak şekilde *S. obliquus* türü saf alg kültürü temin edilmiştir. Yaşam döngüsü parametreleri elde etmek için yapılan fotoğraf çekimi 2 günde bir uygulanmıştır. Her 3 günde bir test solüsyonları yenilenmiştir (Şekil 2.10). Öte yandan, 2 günde bir çekilen fotoğraflardan (yanda gösterildiği gibi) vücut uzunluğu ve genişliği, ilk yumurtanın üretildiği yaş, bu yaşın karşılık geldiği vücut uzunluğu, tüm deney boyunca



üretilen yumurta sayısı verileri saptanmıştır. Son olarak yavru sayısı da, hergün gerçekleştirilen yaşama oranı takibi sırasında belirlenmiştir. Deney boyunca ölen test organizmaları -4 °C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi çalışmaları için muhafaza edilmiştir. Deney sonunda test organizmaları dondurularak kurutulmuş ve 4000-650 cm⁻¹ dalgasayısı aralığında 4 cm⁻¹ çözünürlükte 250 interferogramın ortalaması alınarak FTIR spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir.

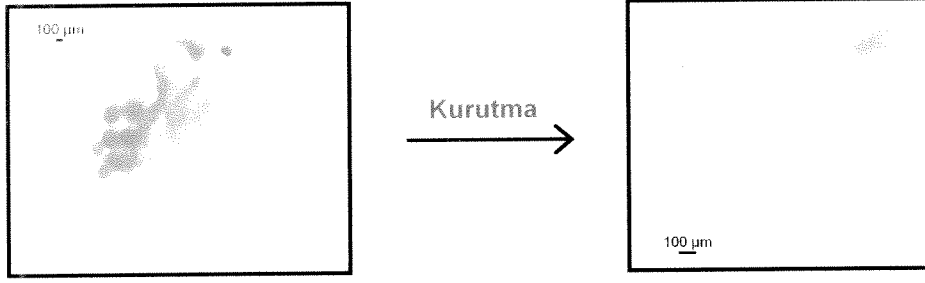


Şekil 2.10. *D.pulex* için yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek amacıyla sipermetrin kronik toksisite deney şeması.

2.3. FOURIER DÖNÜŞÜM KIZILÖTESİ (FTIR) SPEKTROSKOPİSİ İÇİN DENEYSEL İŞLEMLER

FTIR spektroskopisi, biyolojik çalışmalarda biyolojik sistemleri yapılaraya zarar vermeden moleküler düzeyde inceleyebilmesi nedeniyle değer kazanmaktadır *Daphnia* ile bu tekniğin hiç kullanılmamış olması nedeniyle yöntemin geliştirilmesi ilk defa proje ekibi tarafından gerçekleştirilmektedir. FTIR spektroskopik çalışmaları için deneyde kullanılan *Daphnia* bireylerinden daha fazla birey gerektiğinden, deney düzeneklerine toplu tekrarlar eklenmiştir.

***Daphnia pulex* Örneklerinin Hazırlanması ve Çekimleri:** Deney boyunca ölen test organizmaları -4°C'de dondurulmuş ve FTIR spektroskopisi çalışmaları için muhafaza edilmiştir. Deney sonunda test organizmaları dondurularak kurutulmuş (Şekil 4) ve potasyum bromür (KBr) ile karıştırılarak disk haline getirilmiştir. Bu diskler, 4000-450 cm⁻¹ dalgasayısı aralığında 4cm⁻¹ çözünürlükte 50 interferogramın ortalaması alınarak FTIR spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Dondurularak kurutulmuş *D. magna* fotoğrafı.

2.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Deney sonuçları değerlendirilirken, çeşitli istatistiksel yaklaşımlar kullanılmıştır. Bunlar, sırasıyla;

SAS-GLM Yinelenmiş Ölçüler (repeated measures) Tasarımına göre İki Yönlü ANOVA (2-Way ANOVA): (SAS Version 9.00) Bu istatistiksel test, deneylerde kullanılan uygulamaların hem tekil etkilerinin, hem de birbirleriyle olan etkileşimlerinin zamana bağlı olarak istatistiksel anlamlarını hesaplamaktadır. Bu test için akut toksisite deneylerinde "yaşama oranı (survival)" verileri kullanılmıştır. Ancak, kronik toksisite deneylerinde yaşama oranı verilerinin yanı sıra, vücut ile kafa uzunluğu ve vücut genişliği verileri de kullanılmıştır.

Probit Çözümlemesi: (EPA Probit Analysis Program Version 1.5) Bu çözümleme, akut toksisite deneylerinde kullanılan dozlara göre LD (öldürücü doz) değerlerinin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda, Probit çözümlemesine göre belirlenen LD₅₀ (popülasyonun %50'sinin ölümüne neden olan doz) değerleri doğrultusunda kronik toksisite deneylerinin dozları belirlenmiştir. Verilerin el verdiği durumlarda, LD₅₀ hem 24, hem de 48 saat için hesaplanmıştır.

Dunnett'in İkili Çoklu Karşılaştırma t-testi (Dunnett's Pairwise Multiple Comparison t-test): (SPSS 13.0 for Windows) İstatistiksel gücü yüksek olduğu için ikili karşılaştırmalarda Dunnett'in t-testi kullanılmıştır. Bireylerin hayatta kalma verilerinin farklılığından ötürü, bu verileri standartlaştırmak için bireylerin yaşam süresi deney süresine orantılandırılmıştır. Akut toksisite deneylerinde sadece yaşama oranı (Hayatta kalma süresi/Deney süresi) verileri kullanılmıştır. Ancak, kronik toksisite deneylerinde yaşama oranının (Hayatta kalma süresi /Deney süresi) yanı sıra, vücut ile kafa uzunluğu ve vücut genişliği ve yumurta sayısı, ilk üreme boyu, ilk üreme yaşı ve yavru sayısı verileri de kullanılmıştır.

2.5. MODELLEME

2.5.1. Stres Etmenlerinin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi

Bu modelleme çalışmaları esnasında, proje döneminde sunulan yaşam döngüsünde özkaynak dağılımı belirlemek için tuzluluk/sipermetrin kronik toksisite deneylerinin verileri kullanılmıştır. Zooplankton popülasyon dinamiği modelleme çalışmaları için, deneylerden elde edilen veriler içerisinde üç ana etmen üzerinde yoğunlaşmıştır:

- i) Vücut Şekli
- ii) Somatik Büyüme (İlk üreme yaşı, ilk üreme boyu, maksimum vücut uzunluğu)
- iii) Yumurta Üretimi

Bu şekilde, birçok stress etmeninin *Daphnia* bireylerinin yaşam döngüleri ve *Daphnia* popülasyonlarının dinamikleri üzerine etkileri belirlenebilir. Bu şekilde oluşturulan modeller, değişik etmenlerin *Daphnia* bireylerinin enerjilerini büyümeye ve/veya üremeye ne derece paylaştıklarını nasıl etkilediğini gözlemlemek için kullanılabilir. Bu şekilde oluşturulan modeller, değişik etmenlerin *Daphnia* bireylerinin enerjilerini büyümeye ve/veya üremeye ne derece paylaştıklarını nasıl etkilediğini gözlemlemek için kullanılabilir.

i) Vücut Şekli: Tuzluluk ve sipermetrin kronik toksisite deneyi sırasında, 2 günde bir yaşayan bireylerin fotoğrafı çekilmiştir. Bu fotoğraflardan istenilen her tür vücut ölçümü yapılabilmektedir. Bu doğrultuda, modelleme çalışmaları için vücut uzunluğu ve vücut genişliği ölçümleri yapılmıştır. Vücut şekli için bir gösterge olarak vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranı hesaplanmıştır. Deneylerde kullanılan uygulamaların vücut şekli üzerine etkilerinin istatistiksel anlamını hesaplamak üzere ANOVA istatistiksel testi uygulanmıştır.

ii) Somatik Büyüme: *Daphnia*'nın büyüme eğrilerini modelleyebilmek için von Bertalanffy büyüme denklemi (von Bertalanffy, 1957) kullanılmıştır (Rinke ve Petzoldt, 2003; Rinke ve Vijverberg, 2005). Bu denklem, *Daphnia* gibi değişken büyüme gösteren organizmaların somatik büyümelerini modellemek üzere yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Denklem şu şekilde gösterilmektedir:

$$L(t) = L_{\max} - (L_{\max} - L_0) \cdot \exp(-kt)$$

L(t): t zamanındaki vücut uzunluğu
L_{max}: Maksimum vücut uzunluğu
L₀: t=0'daki vücut uzunluğu [yavru (neonate) uzunluğu]
k: von Bertalanffy sabiti [başlangıç eğim için şekil değişkeni (shape parameter for initial slope)]

iii) Yumurta Üretimi: *Daphnia* ile ilgili birçok yaşam döngüsü çalışmasından da bilindiği üzere, üretilen yumurta sayısının (clutch size) vücut uzunluğu ile doğru orantılı olduğu kabul edilmiştir (Hall, 1964; Rinke ve Petzoldt, 2003). Deneylerde kullanılan uygulamaların üretilen yumurta sayısı üzerine etkilerinin istatistiksel anlamını hesaplamak üzere ANOVA istatistiksel testi uygulanmıştır.

Projemizdeki bu modelleme çalışması Dr. Karsten RINKE (Almanya Constance Üniversitesi Limnoloji Enstitüsü) tarafından yapılmıştır.

2.5.2. Stres Etmenlerinin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi

Bu modelleme çalışmaları esnasında, proje döneminde sunulan bütün tuzluluk/sipermetrin akut ve kronik toksisite deneylerinin verileri kullanılmıştır. Stres etmenlerinin yaşama oranına etkilerinin dağılımı modellemesi çalışmaları için, deneylerde elde edilen *Daphnia* yaşama oranı verileri kullanılmıştır. Değişik stres etmenlerinin *Daphnia* yaşama oranı üzerindeki etkilerinin yüzde dağılımı ve etkileşimleri ile ilgili bu modelin geliştirilmesi, Projection Pursuit Regression (PPR) tekniği üzerine kurulmuştur. Bu modelleme tekniği sayesinde, hem alışlagelmiş doğrusal modeller kadar veya modellerden daha hassas olan doğrusal olmayan modellerden faydalanılmakta, hem de girdi (input) ve çıktı (output) değişkenler arasındaki doğrusal olmadığı için belirgin olmayan ilişkilerin ortaya çıkarılması sağlanmaktadır (Friedman ve Tukey, 1974). Bu modelleme çalışmalarında, bireylerin yaşama oranı (0/1 ikili) bağımlı (dependent) sonuç olarak değerlendirilirken; balık sinyalinin varlığı veya yokluğu (0/1 ikili), tuz dozu (g Cl/L) ve zaman (saat) bağımsız değişkenler olarak değerlendirilmiştir. Projemizdeki bu modelleme çalışması Dr. Can Ozan TAN (A.B.D. Harvard Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Bölümü Kalp ve Damar Hastalıkları Araştırma Laboratuvarı) tarafından yapılmıştır.

3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

3.1 EKOTOKSİKOLOJİK DENEYLERİN BULGULARI VE TARTIŞILMASI

3.1.1. Tuzluluk Deneyleri

Akdeniz ikliminin tipik özelliği olarak yaşanan ıslak ve kurak dönemler, göllerin hidrolojilerinde, su miktarı, su bekleme süresi ve su seviyesi gibi değişkenleri önemli ölçüde etkilemektedirler. Hükümetlerarası İklim Değişimi Paneli'nin (IPCC) 2007 raporuna göre, önümüzdeki 30-40 yıl içinde yüzey sularında en fazla azalmanın (>30%) Akdeniz iklim bölgesinde yer alan Türkiye ve İspanya'da olması beklenmektedir. Sonuç olarak, küresel iklim değişikliklerine karşı göllerde oluşan tepkilerin yöresel farklılıklar göstermesi ve dolayısıyla Akdeniz yöresindeki göllerde – Avrupa'nın ılıman göllerine kıyasla – tuzlanmanın çok daha önemli bir tepki olması beklenmektedir (Beklioğlu ve ark., 2001; Coops ve ark., 2003; Beklioğlu ve ark., 2007). Dahası, Orta Anadolu'da 10 yılı aşkın süredir izlenen Eymir ve Mogan göllerinde ki su seviyesindeki sürekli düşüş ve su bekleme süresindeki artış sonucu her iki gölde de tuz miktarı dört yıl gibi kısa bir sürede 2 katına çıkmıştır (Beklioğlu ve Özen, 2008). Ortaya çıkması beklenen bu sonuçlar göz önüne alınarak tuzluluk deneyleri tasarlanmıştır.

3.1.1.1. Akut Toksikite Deneyleri

Akut toksisite deneylerinin genel amacı, kimyasal bir maddeye bir kere şiddetli bir şekilde maruz bırakılmanın sonucunda ortaya çıkabilecek etkileri belirleyerek, o kimyasal maddenin olası toksisitesini öğrenmek ve böylece maddeyi değerlendirebilmektir (Mason, 2002). Toksikite çalışmalarında, değişik biyolojik özelliklere sahip organizmalar veya değişik fiziko-kimyasal özelliklere sahip zararlı maddeler kullanılıyor olursa bile, kullanılan maddelerin ve test koşullarının uluslararası düzeyde olması gerekmektedir. Bu doğrultuda, bu çalışmada OECD kılavuzları esas alınmıştır (OECD, 1998). En yaygın kullanılan akut toksisite testi, ölüm oranının belirlendiği testtir. Akut toksisite testi uygulayan araştırmaların çok büyük bir kısmı medyan letal doz (LD₅₀) verisini dikkate almaktadır (Meyer ve ark., 1985; Cowgill ve ark., 1985; Hall and Burns, 2002; Kefford ve ark., 2004; Sarma ve Nandini, 2006).

Kurak Anadolu havzasında bulunan Eymir ve Mogan göllerinin tuzluluk seviyelerinin iklim koşullarına karşı çok hassas oldukları bilinmektedir (Beklioğlu ve ark., 2001; Beklioğlu ve ark., 2007). Bu nedenle, Eymir Gölü'nden izole edilen ve laboratuvar koşullarında nesillerce yetiştirilerek diğer olası genetik etkilerden arındırılmış (Bkz. Materyal ve Metod) *Daphnia pulex* türünün NaCl tuzluluğuna karşı olan dayanıklılığı balık avlanma baskısı yokluğunda ve varlığında araştırılmıştır.

1. Doz Belirleme Ön Araştırması

Eymir Gölü'nden alınmış olan *D. pulex* laboratuvar kültür türünün NaCl tuzluluğuna karşı olan dayanıklılığının üst sınırının belirlenmesi için, ilk aşamada geniş aralıklı yüksek NaCl dozları (0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 ve 10.0 g Cl/L) ile bir akut toksisite doz belirleme ön deneyi yapılmıştır (Şekil 3.1.1.-3.1.2.).

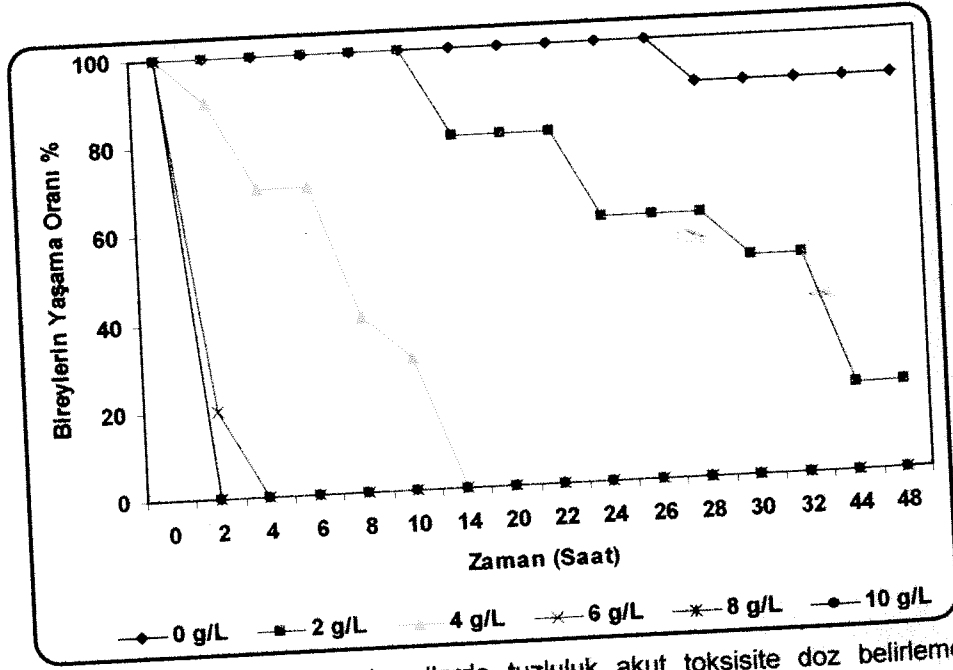
Bu akut toksisite deneyi bir ön araştırma niteliği taşıdığından bir sonraki deneyin dozlarının belirlenmesi açısından çok önemlidir. Ancak, kullanılan tuzluluk dozlarına maruz bırakılan *D. pulex* bireylerinin yaşama oranlarının düşük olması sebebiyle, elde edilen veriler LD₅₀ hesaplamasında kullanılan Probit analizine (EPA Probit Analysis Program Version 1.5) uygun değildir.

Elde edilen veriler ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA (SAS, Version 9.00) testine göre balık sinyali, tuzluluk ve zaman hem ayrı ayrı, hem de etkileşimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı etkiler göstermiştir (Çiz. 3.1.1.). Artan tuz yoğunluğunda *D. pulex* bireylerinin yaşama oranları azalırken balık sinyalinin varlığında en düşük tuz yoğunluğuna (2g/L) karşı dayanıklılıkları artmıştır. Balık sinyalinin varlığı düşük tuz yoğunluğunda *D. pulex* bireylerinin yaşama oranlarına olumlu etkide bulunmuştur (Şekil 3.1.1.-3.1.2.).

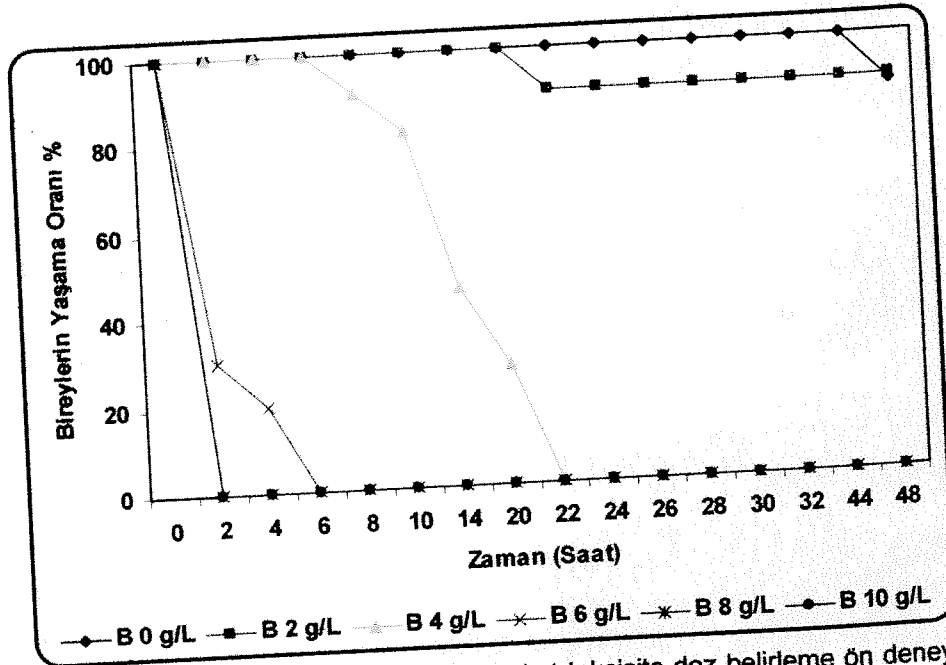
Çizelge 3.1.1. Tuzluluk Akut Toksikite Doz Belirleme Ön Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
ETKİ	Balık	0.0002***
	Tuz	<.0001***
	Zaman	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Tuz	0.0007***
	Zaman* Balık	0.0580
	Zaman*Tuz	<.0001***
	Zaman*Balık*Tuz	<.0001***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.1. Balık sinyali içermeyen koşullarda tuzluluk akut toksisite doz belirleme ön deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.



Şekil 3.1.2. Balık sinyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite doz belirleme ön deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.

Yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin peşisıra, hangi dozların istatistiksel farklılıklara neden olduğunun belirlenmesi amacıyla Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testi yapılmaktadır. Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testi sonuçlarına göre (Çiz. 3.1.2.) balık sinyali içermeyen koşullarda bütün tuzluluk dozları *D. pulex* yaşama oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmasına neden olmuştur. Ancak, balık sinyali içeren koşullarda 2 g/L haricindeki bütün tuzluluk dozları *D. pulex* yaşama oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmasına neden

olmuştur. Balık sinyali içeren koşullarda 0 ve 2 g/L tuzluluk dozlarına maruz kalan bireylerin yaşama oranlarının birbirlerinden istatistiksel olarak farklılık göstermemeleri, balık sinyaline 2 g/L tuzluluk ile beraber maruz kalan bireylerin tuza karşı daha dirençli olabileceklerine işaret etmektedir. Düşük tuzluluk dozlarında, balık sinyalinin varlığında yaşam oranında görülen bu olumlu etki doğrultusunda, balık sinyalinin *Daphnia*'nın tuzluluğa olan direncini arttırdığı yorumu yapılabilir.

Çizelge 3.1.2. Tuzluluk Akut Toksikite Doz Belirleme Ön Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

UYGULAMA	Balıksız 0 g/L	Balıklı 0 g/L
2 g/L	.000***↓	0.492
4 g/L	.000***↓	.000***↓
6 g/L	.000***↓	.000***↓
8 g/L	.000***↓	.000***↓
10 g/L	.000***↓	.000***↓

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Sonuç olarak, Eymir Gölü'nden alınmış olan *D. pulex* türünün 4 g/L'den yüksek tuzluluk koşulları altında yaşayamadıkları ortaya çıkmıştır. Bu sonuç, Sarma ve arkadaşlarının (2006) Meksika tatlısu sistemlerinden toplanmış *D. pulex* türünün 4 g/L NaCl tuzluluk koşulları altında en fazla 3 gün dayandığına dair gözlemleri ile örtüşmektedir. Ayrıca, Meksika'nın tatlısu kladoserlerinin 5 g/L'nin üzerindeki tuzluluk koşulları altında yaşama ve üreme özelliklerini sürdürmedikleri de belirtilmektedir (Sarma ve ark., 2006). Kıyı tuzlu su lagünlerinde bulunan *D. magna*'nın yüksek tuz yoğunluklarına dayanıklılığı bilinmektedir (Lagerspetz, 1955; Ranta, 1979; Bengtsson, 1986). Fakat *D. magna* kladoserler arasında belki de tuza en dayanıklı türdür. *Daphnia magna*'nın NaCl tuzluluğu varlığında ölümüne neden olan 24-saat LC₅₀ değerinin 6.5 g/L'ye bile çıkabildiği, 48-saat LC₅₀ değerinin ise 4.5-5.5 g/L arasında olabileceği belirtilmektedir (Cowgill, 1987; Mount ve ark., 1997; U.S. EPA, 2007). Ancak, daha küçük bir tür olan *Ceriodaphnia dubia*'nın NaCl tuzluluğu varlığında ölümüne neden olan 24-saat LC₅₀ değerinin 3.4 g/L civarında, 48-saat LC₅₀ değerinin ise 2.0-2.5 g/L arasında olabileceği belirtilmektedir (Cowgill ve Milazzo, 1991; Mount ve ark., 1997). *Daphnia pulex*'in ise NaCl tuzluluğu varlığında hareketsiz hale gelmesine neden olan 24-saat LC₅₀ değerinin 3.0 g/L civarında olabileceği belirtilmektedir (Lilius ve ark., 1995). Bu deneyin gözlemleri ile örtüşen bu sonuçlar doğrultusunda, gerçekleştirilecek olan bir sonraki akut toksisite deneyinin en yüksek NaCl tuzluluk dozunun 5 g/L olması kararlaştırılmıştır.

3.1.3. Tuz Belirleme Araştırması

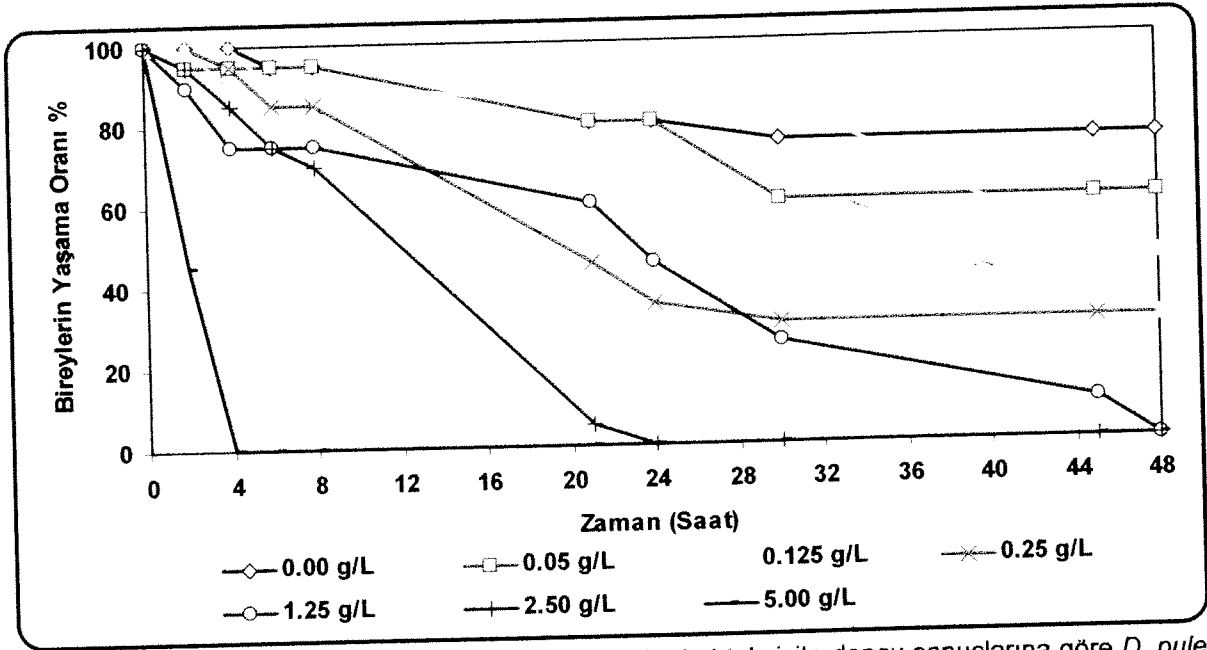
Farklı kurak Akdeniz iklim kuşağının etkisinde olan, Eymir Gölü'nden alınmış olan *D. pulex* türünün NaCl tuzluluğuna karşı olan dayanıklılığının belirlenmesi için, dar aralıklı orta seviyeli NaCl dozları (0.00, 0.05, 0.125, 0.25, 0.50, 1.25, 2.50 ve 5.00 g Cl/L) ile bir akut toksisite deneyi daha yapılmıştır (Şekil 3.1.3.-3.1.4.). Deneysel hatalardan dolayı 0.50 g/L dozu balık sinyali olmayan uygulamada kullanılamamıştır.

Elde edilen veriler ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testine göre balık sinyali, tuzluluk ve zaman hem ayrı ayrı, hem de etkileşimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı etkiler göstermiştir (Çiz. 3.1.3.). Akut toksisite deneyinde farklı tuz yoğunluklarına maruz kalan *Daphnia pulex* bireylerinin yaşama oranlarının, balık etkisinin olmadığı ve olduğu koşullar kıyaslandığında, balık etkisinin yaşam oranlarını yükselttiği gözlenmiştir (Şekil 3.1.3.-3.1.4.). Bu sonuç bir önceki deney sonuçlarıyla tutarlılık göstermektedir.

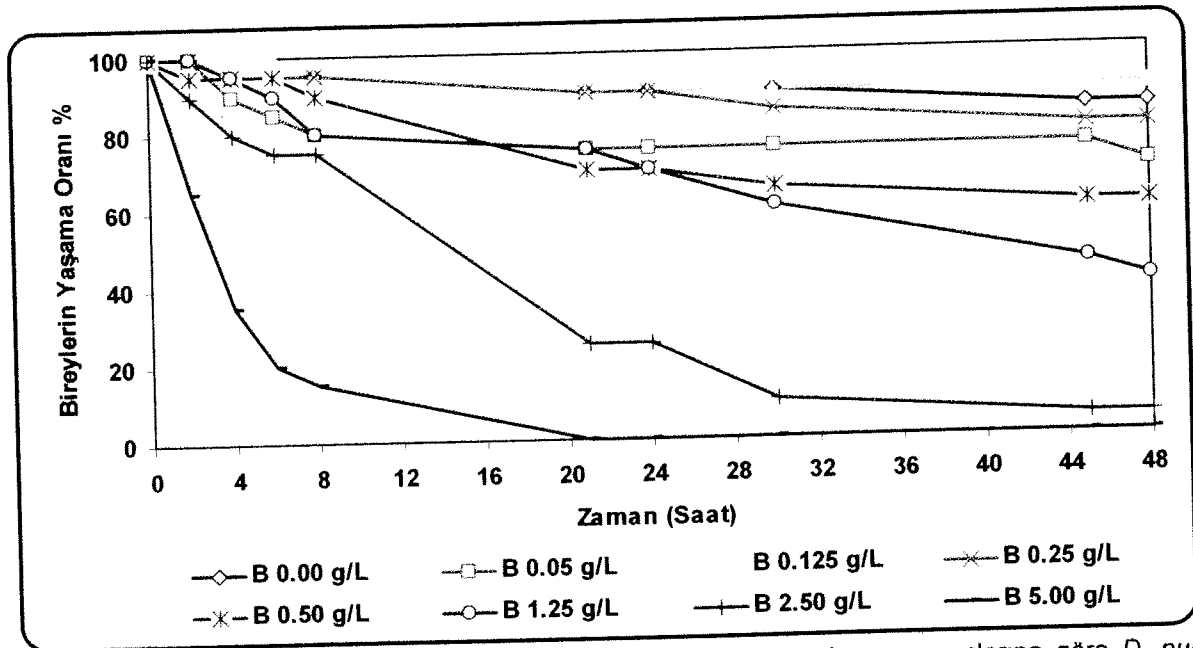
Çizelge 3.1.3. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
ETKİ	Balık	<.0001***
	Tuz	<.0001***
	Zaman	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Tuz	0.0599
	Zaman*Balık	<.0001***
	Zaman*Tuz	<.0001***
	Zaman*Balık*Tuz	<.0001***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.3. Balık sinyali içermeyen koşullarda tuzluluk akut toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.



Şekil 3.1.4. Balık sinyali içeren koşullarda tuzluluk akut toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.

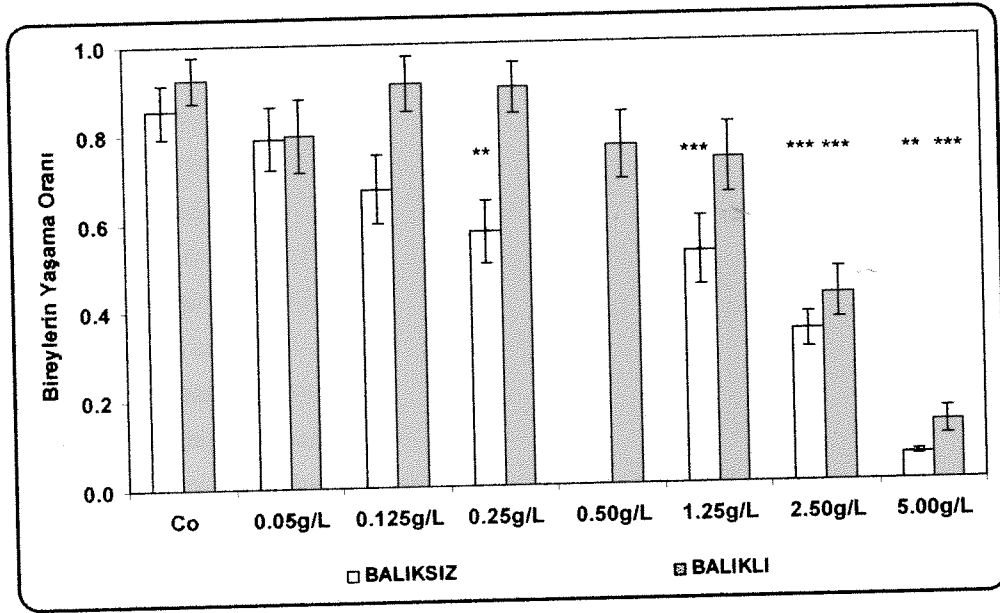
Hangi tuz dozlarının istatistiksel farklılıklara neden olduğunun belirlenmesi amacıyla yapılan Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testi sonuçlarına göre (Çiz. 3.1.4), balık sinyalinin hem içermeyen, hem de içeren koşullarda 0.05 ve 0.125 g/L NaCl dozları *D. pulex* yaşama oranlarının kontrol grubu ile benzer sonuçlar göstermesine sebep olmuştur (Şekil 3.1.5). Balık sinyali içermeyen koşullarda 0.25 g/L dozundan itibaren yaşama oranları kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Ancak, balık sinyali içeren koşullarda 2.5 g/L dozundan itibaren yaşama oranları kontrol

grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Dolayısıyla, balık sinyali içeren koşullarda 0.05-1.25 g/L tuzluluk dozlarına maruz kalan bireylerin yaşama oranlarının kontrol grubundan istatistiksel farklılık göstermemeleri, bir önceki deneyde de belirtildiği gibi, <2.00 g Cl/L tuzluluğa balık sinyali ile beraber maruz kalan *D. pulex* bireylerinin tuza karşı daha dayanıklı olabilecekleri gözlemini desteklemektedir. Tatlısu ekosistemlerinde bulunan canlılar arasındaki kilit türlerin duyarlı oldukları çevresel etmenlerden herhangi birinin değişmesi durumunda ekosistem bazında değişimler olabilmesi olasıdır. Bu etmenler arasında yer alan tuzluluk da tatlısu canlıları için önemli bir çevresel faktördür ve dolayısıyla ozmoregülasyonun mekanizması metabolik açıdan bu canlılar için önem teşkil etmektedir (Lignot ve ark. 2000; Jeppesen ve ark., 2007). Sucul organizmalarda ozmoregülasyon için kullanılan mekanizmalar (ör. aktif taşıma vb.) ile kirleticilere maruz kalındığında gösterilen tepkilerdeki (ör. antioksidatif enzimler vb.) (Abdollahi ve ark., 2004) farklılık, tuzluluk ile balık sinyalinin etkileşiminin – kirleticili ve avcı sinyalinin etkileşimine kıyasla – değişik sonuçlar gösterebileceğine işaret etmektedir. Bu durum, *D. pulex* bireylerinin balık sinyalinin varlığında tuza karşı daha dirençli olmalarını açıklayabilir.

Çizelge 3.1.4. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

UYGULAMA	Balıksız 0.00 g/L	Balıklı 0.00 g/L
0.05 g/L	.972	.561
0.125 g/L	.210	1.000
0.25 g/L	.009**↓	1.000
0.50 g/L	-	.348
1.25 g/L	.001***↓	.174
2.50 g/L	.000***↓	.000***↓
5.00 g/L	.000**↓	.000***↓

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.5. Tuzluluk Akut Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).

Probit çözümlemesine göre balık sinyali içermeyen ve içeren koşullarda tuzluluğun neden olduğu LD₅₀ değerleri aşağıda belirtildiği gibi elde edilmiştir.

Balık sinyali içermeyen uygulamada:	24-s LD ₅₀ : 0.401 g/L	48-s LD ₅₀ : 0.159 g/L
Balık sinyali içeren uygulamada:	24-s LD ₅₀ : 1.962 g/L	48-s LD ₅₀ : 1.007 g/L

Mohammed ve Agard (2007) tarafından yapılan literatür çalışmasında çeşitli kladoserlerin tuzluluk için LD₅₀ değerleri aşağıdaki şekilde sıralanmıştır (LD₅₀ süreçlerinin ve belirtildiği takdirde sıcaklık derecesinin farklılığına dikkat ediniz). Literatürde balık sinyali ile yapılan bir tuzluluk toksisite araştırmasına rastlanılmamıştır.

<i>D. magna</i>	6.5 g/L	48-s LD ₅₀	(Meyer ve ark., 1985)
<i>D. magna</i>	4.5 g/L	48-s LD ₅₀	(Cowgill ve ark., 1985)
<i>D. pulex</i>	3.0 g/L	24-s LD ₅₀	(Lilius ve ark., 1995)
<i>D. carinata</i> (10°C)	1.4 g/L	96-s LD ₅₀	(Hall ve Burns, 2002)
<i>D. carinata</i> (20°C)	1.1 g/L	96-s LD ₅₀	(Hall ve Burns, 2002)
<i>M. macleayi</i>	1.5 g/L	48-s LD ₅₀	(Mohammed ve Agard, 2007)
<i>C. rigaudii</i>	1.6 g/L	48-s LD ₅₀	(Mohammed ve Agard, 2007)
<i>D. brachyurum</i>	<1 g/L	48-s LD ₅₀	(Mohammed ve Agard, 2007)

Yukarıdaki değerler doğrultusunda, *D. pulex* türünün (belirtilen 24-s LD₅₀ değerinin 48-s LD₅₀ için daha düşük olacağı beklentisiyle) tuzluluğa karşı *D. magna* türünden daha hassas olduğu ve tropik koşullarda varolan kladoserlere (Hall ve Burns, 2002; Mohammed ve Agard, 2007) benzer bir

duyarlılık gösterebileceği önerilmektedir. Dahası, belirtilen bu değerler balık sinyalinin varlığının olası etkilerini göz önünde tutmamaktadır. Balık sinyalinin varlığının olası etkilerini göz önünde tutan bu deneyin sonuçlarına göre balık sinyali içeren koşullarda – balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla – NaCl tuzluluğu için *D. pulex* bireylerinin hem 24-saat, hem de 48-saat LD₅₀ değerleri daha yüksektir. Dolayısıyla, balık sinyaline maruz kalan bireylerin tuza karşı daha dirençli olabilecekleri sonucu kuvvetlenmektedir. İkinci bir stres etmeninin birinci stres etmeninin olumsuz etkilerini azaltması halinde, bu çoklu etkileşimin antagonistik olduğu ve *azalan stres (daha az şiddetli olma) etkisi* yaptığı belirtilmektedir (Folt ve ark., 1999). Bu durumun çok sık rastlanan bir gözlem olmamasına rağmen, bazı durumlarda bazı elementlerin (kalsiyum ve bakır gibi) diğer bazı zararlı elementlerin (kurşun, çinko ve alüminyum gibi) olumsuz etkilerini daha az zararlı hale getirdiği rapor edilmiştir (Mason, 2002). Öte yandan, Eymir Gölü'nden toplanan *D. pulex* kültürleri, bu gölde artan tuzluluk ve balık biyokütlesi koşullarında yaşamaktadır. Bu durum *Daphnia* bireylerinin balık avlanma baskısı karşısında daha fazla direnç göstermesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Fakat literatürde, balık avlanma bakışı ile tuzluluğun birarada incelendiği toksikoloji deneylerinin bulunmaması, bulgularımızın bir genelleme ya da özel bir durum olup olmadığı konusunda değerlendirme yapmayı engellemektedir. Ancak, ozmoregülasyon ve kirleticilere karşı korunmak için kullanılan mekanizmalar arasındaki farklılığın, gözlenen antagonistik etkileşimin sebebi olabileceği düşünülmektedir.

3.1.1.2. Kronik Toksikite Deneyleri

Kronik testlerin amacı, bir canlının zararlı bir maddeye uzun bir süre boyunca devamlı maruz kalması sonucu görülebilen tepkileri gözlemlemektir (Mason, 2002). Zararlı maddelerin kladoserler üzerindeki etkilerinin kronik değerlendirmeleri, temel olarak demografik ve popülasyon ile topluluk seviyesindeki tepkilerini belirlemek amaçlıdır (Hall ve Burns, 2002; Gama-Flores ve ark., 2004; Sarma ve Nandini, 2006). Yapılan literatür taramasında tuzluluğun kladoser türleri üzerinde genel olarak tekli etkisinin, ama başka stres etmenleriyle (sıcaklık, metal gibi) birçok sucul organizma üzerindeki çoklu etkileşimlerinin incelendiği görülmüştür (McLusky ve ark., 1986; Shazili, 1995; Hall ve Burns, 2002; Kefford ve ark., 2004; Sarma ve ark., 2006; Martinez ve ark., 2007).

LC₅₀ değerleri sublethal etkileri tanımlayabilmek adına faydalı değerler olduklarından ötürü, kronik toksisite deneylerinin dozlarını belirleyebilmek için, akut toksisite verilerinden faydalanılmaktadır (Mason, 2002; Gama-Flores ve ark., 2004). Gerçekleştirilen akut toksisite deneylerinde, *D. pulex*'in NaCl tuzluluğuna maruz bırakıldığında, 24-s LD₅₀ değerlerinin balık sinyalinin varlığına bağlı olarak 0.4-2.0 g Cl/L aralığında olduğu belirlenmiştir. OECD kılavuzunda, kronik toksisite deneyleri için kullanılacak en yüksek dozun belirlenen 24-s LD₅₀ değeri civarında ve en düşük dozun ise 24-s LD₅₀ değerinin 1/100'ü civarında olacak şekilde seçilebileceği belirtilmektedir (OECD, 1984). Dolayısıyla, elde edilen akut toksisite deney verilerine bağlı kalarak, 3 farklı amaç için gerçekleştirilen kronik toksisite deneylerinde kullanılan dozlar aşağıda verilmektedir.

1. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde

0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 ve 1.50 g/L

2. Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde

0.00, 0.10, 0.40 ve 1.5 g/L

3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ise

0.20 , 0.40, 0.60, 0.80 ve 1.20 g/L

NaCl tuzluluk seviyelerinin kullanımı kararlaştırılmıştır.

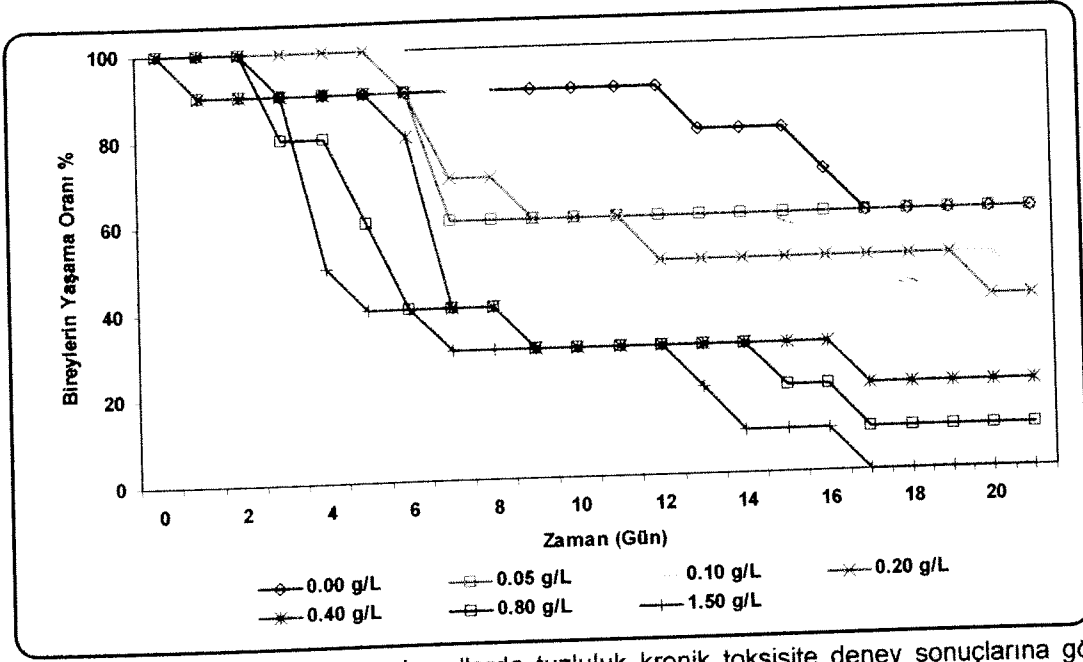
1. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi

D. pulex türünün balık sinyali içermeyen ve içeren koşullarda NaCl tuzluluğuna maruz kaldığında yaşama oranının uzun dönemde nasıl etkilendiğini belirlemek için, dar aralıklı düşük seviyeli NaCl dozları (0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 ve 1.50 g Cl/L) ile bir kronik toksisite deneyi yapılmıştır. Elde edilen veriler ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımıyla iki yönlü ANOVA testine göre balık sinyalinin varlığı istatistiksel olarak anlamlı farklılıklara neden olmamakta, ancak tuzluluk ve zaman hem ayrı ayrı, hem de etkileşimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı etkiler göstermektedirler (Çiz. 3.1.5). Ancak, balık sinyali, tuzluluk ve zamanın üçlü etkileşimlerinin de anlamlı olduğu gözlenmiştir.

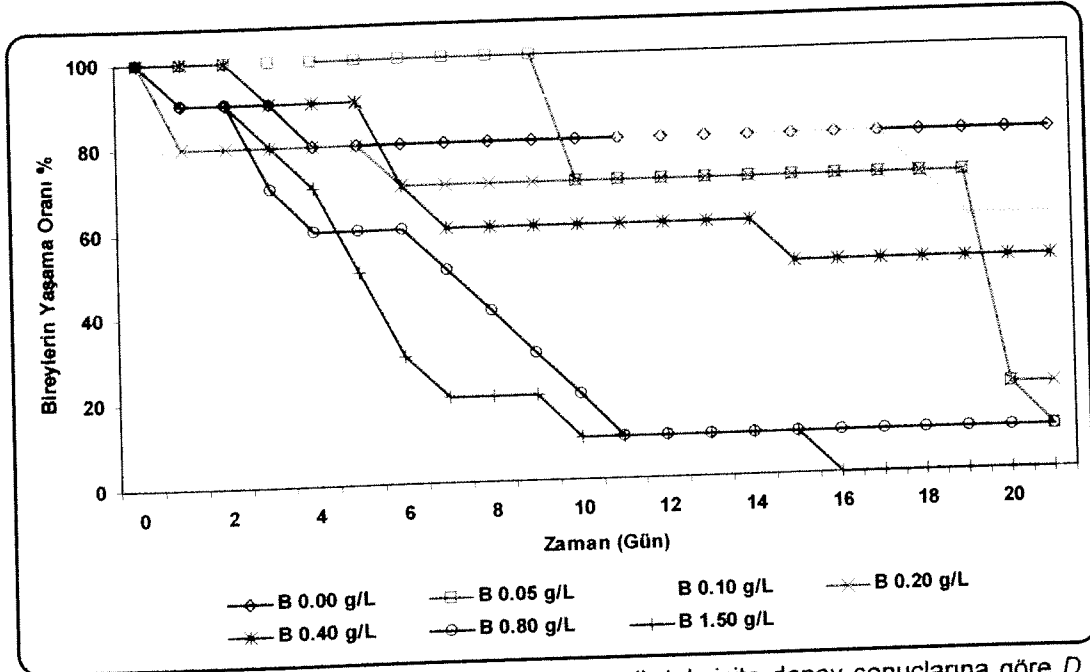
Çizelge 3.1.5. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
ETKİ	Balık	0.8796
	Tuz	<.0001***
	Zaman	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Tuz	0.7710
	Zaman*Balık	0.4236
	Zaman*Tuz	<.0001***
	Zaman*Balık*Tuz	<.0001***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.6. Balık sinyali içermeyen koşullarda tuzluluk kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.



Şekil 3.1.7. Balık sinyali içeren koşullarda tuzluluk kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.

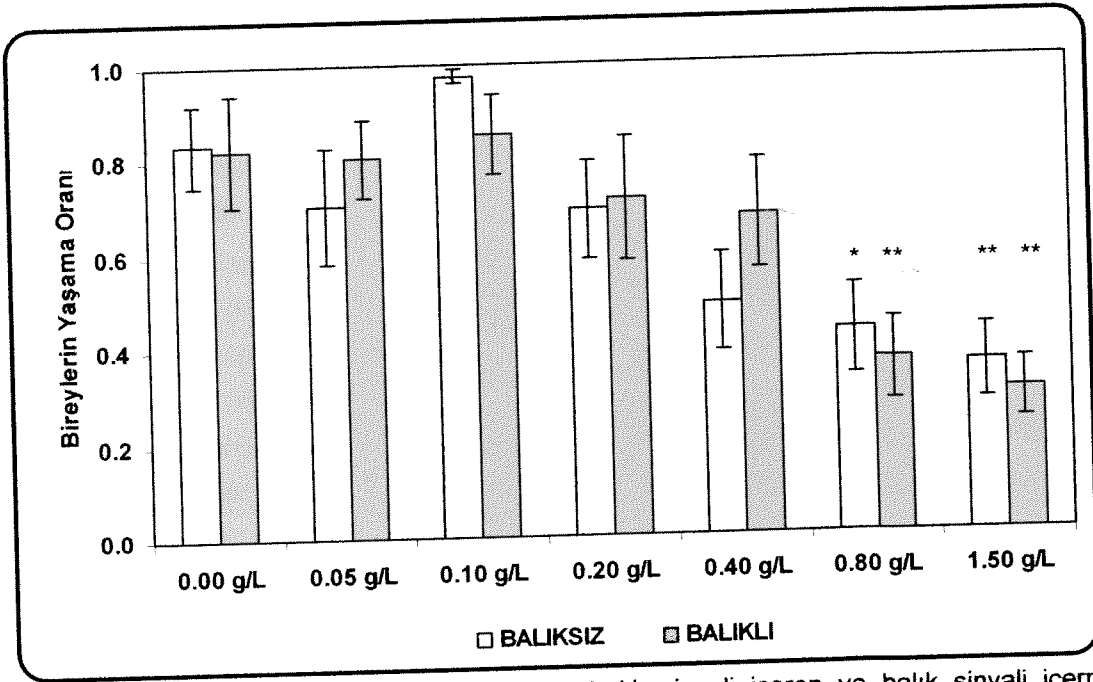
Şekillerden de görüleceği üzere, bireylerin yaşama oranı yüzdeleri tuz yoğunluğu ile doğru orantılı olarak azalmıştır (Şekil 3.1.6.-3.1.7.). Tuzluluğa gösterilen dayanıklılığın, popülasyonlar ve klonlar arasında farklılık gösterebildiği belirtilmektedir (Ortells ve ark., 2005). Her ne kadar belli bir dereceye kadar artan tuzluluğa karşı dayanıklılık gösterbilseler de, artan tuzluluk oranları *Daphnia* türlerinin yaşama oranını azaltmakta, üreme ve büyüme oranlarında ise azalışa neden olmaktadır (Hall ve Burns, 2002). Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testi sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama

oranları hem balık sinyali içermeyen, hem de balık sinyali içeren koşullarda 0.80 ve 1.50 g NaCl/L dozlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir (Çiz. 3.1.6 ve Şekil 3.1.8). Bu sonuçlar, LD₅₀ değeri civarındaki tuzluluk yoğunluklarının *Daphnia* yaşama oranını olumsuz etkilediği sonucunu desteklemektedir. Doz aralığı 0.05-0.20 g/L olan uygulamalar, kontrol grubu (balık sinyali içermeyen) ile benzer etki göstermiştir. Ancak, 0.40 g/L tuzluluk dozunda balık sinyali içermeyen koşullarda yaşama oranı anlamlı bir şekilde azalırken, balık sinyali içeren koşullarda kontrol grubundan farklılık göstermemektedir. Fakat, sadece balık sinyaline maruz bırakılan *Daphnia* bireylerinin yaşam döngüsü değişkenlerinde değişiklikler (ilk üreme yaşı ile boyunun azalması ve yumurta sayısının artması) olmaktadır (Dodson, 1989; Machacék, 1991, 1993; Stibor, 1992; Weider ve Pijanowska, 1993; Reede, 1995). Bu uyarlamaları, *Daphnia* bireylerinin avlanma baskısı karşısında devamlılıklarını sürdürürebilmek için gerçekleştirdikleri bilinmektedir (Teschner, 1995; Burns, 2000; Sakwinska, 2002). Sonuç olarak, bu deneyden elde edilen sonuçlar da önceki deneylerde gözlemlenen, balık sinyalinin varlığında *D. pulex* bireylerinin tuzluluğa karşı daha dirençli olabilecekleri gözlemini desteklemektedir. Ancak, daha önce de belirtildiği gibi, literatürde günümüze kadar balık sinyali ile beraber tuzluluk stres etmeninin *Daphnia* türleri üzerinde etkileri konusunda araştırmaya rastlanılmadığı için, bulgularımız bu araştırma alanı için ilk olma özelliği taşımaktadır. Dahası, farklı *Daphnia* türleri ile gerçekleştirilecek balık sinyali ile farklı bir stres etmeninin etkileşimini inceleyecek benzer araştırmalar, bizim bulgularımıza göre gelişen antagonistik etkinin test edilebilmesini sağlayacaktır.

Çizelge 3.1.6. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

UYGULAMA	Balıksız 0.00 g/L	Balıklı 0.00 g/L
0.05 g/L	.829	1.000
0.10 g/L	.761	1.000
0.20 g/L	.759	.931
0.40 g/L	.051↓	.791
0.80 g/L	.015*↓	.010**↓
1.50 g/L	.003**↓	.002**↓

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.8. Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).

2. Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi

Güney Avrupa'daki göllerin kuruma riskinin artması veya içsullardaki düşük su seviyesinin daha da azalması ve tuzlanma; artan buharlaşma ve artan sulama suyu ihtiyacı yüzünden çok daha yaygın bir sorun haline gelecektir (Beklioğlu ve ark., 2001; Zalidis ve ark., 2002, Beklioğlu ve ark., 2007). Daha yüksek sıcaklıklar, Kuzey ile Güneydoğu Avrupa'da ve yüksek rakımlarda bulunan göl ve nehirlerde buzların daha erken erimesine neden olacaktır. Bu yüksek sıcaklıklar, kurumaya maruz kalmayan sucul ekosistemlerde büyüme mevsimlerinin uzaması, dolayısıyla fitoplankton patlaması ve toksik siyanobakterlerin ortaya çıkması riskini arttıracaktır (Livingstone, 2000; Straile ve ark., 2003). İçsuların da, anahtar türü olan *Daphnia*, yükselen su sıcaklığı ve artan tuzlanma ile ötrofikasyon sonucu ortaya çıkan siyanobakter patlamaları yüzünden kullanılabilir besin miktarının zayıflaması gibi problemlerle karşılaşacaktır. Buna ek olarak, ötrofik koşullarda artan planktivör balık biyokütlesi nedeniyle *Daphnia*'nın maruz kalacağı balık avlanma baskısı da artacaktır.

Bu öngörüler doğrultusunda, balık sinyalinin hem yokluğunda, hem de varlığında ki koşulları içeren şekilde "Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi" tasarlanmıştır. Eymir Gölü'nden alınmış olan *D. pulex* türünün;

- iki sıcaklık değerine (Normal Sıcaklık: 22 ± 1 °C ve Yüksek Sıcaklık: 25 ± 1 °C),
- iki besin miktarına (Düşük Besin: 0.075 mg C/L/Gün ve Asgari Besin: 0.400 mg C/L/Gün),
- balık sinyali içermeyen ve içeren koşullara,
- dört ayrı NaCl tuzluluğu dozuna (0.00 (kontrol), 0.10, 0.40 ve 1.50 g Cl/L)

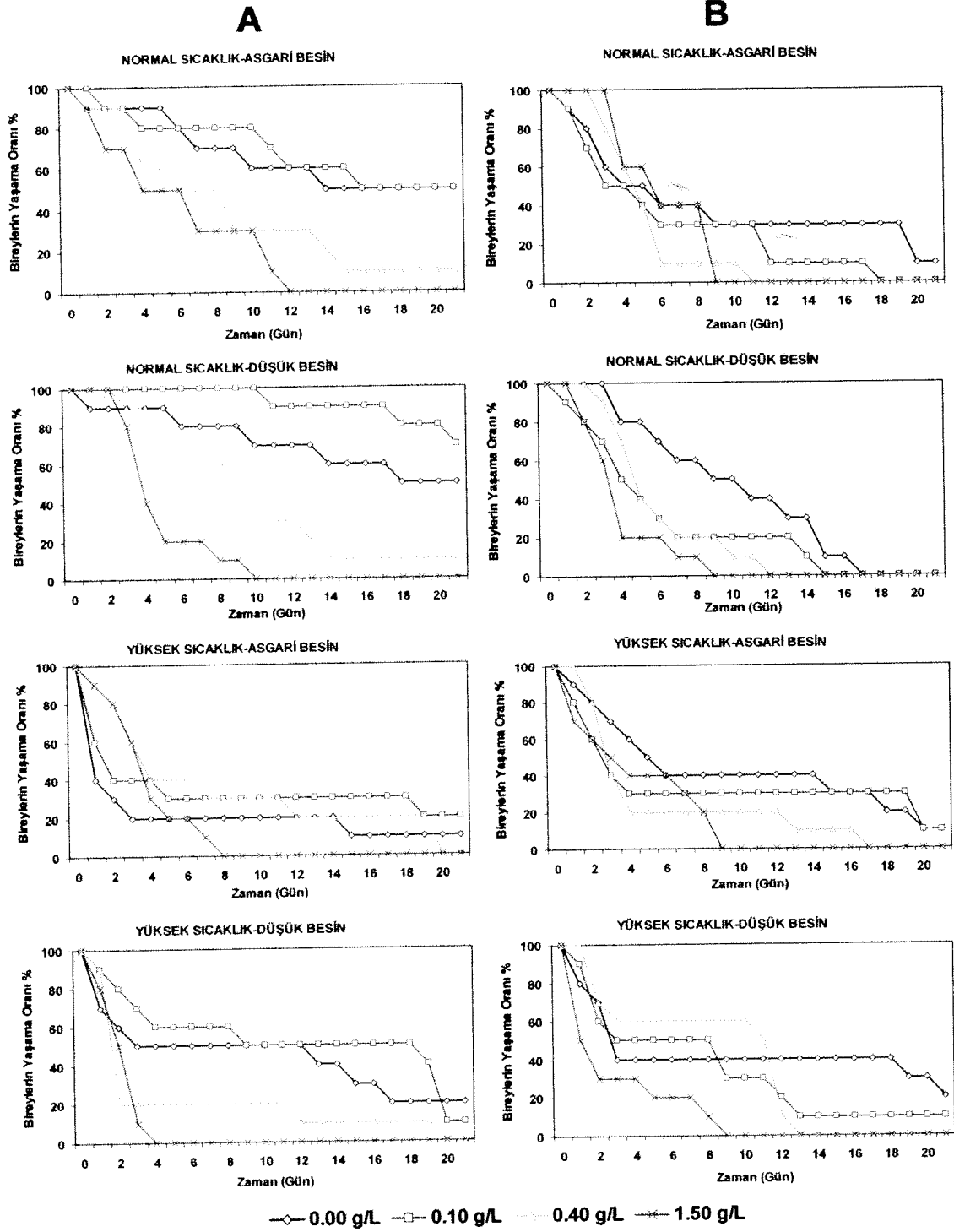
maruz kaldığında yaşama oranının nasıl etkilendiğini belirlemek için bir kronik toksisite deneyi yapılmıştır (Şekil 3.1.9.). Eymir Gölü'nden izole edilen *D. pulex* bireyleri, laboratuvar koşullarında nesillerce 22 ± 1 °C'de yetiştirilmiştir. Bu nedenle, deneyin tasarlanması aşamasında normal sıcaklık değeri 22 ± 1 °C olarak belirlenmiştir. Hükümetlerarası İklim Değişimi Paneli'nin (IPCC) 2007 raporuna göre, önümüzdeki 30-40 yıl içinde küresel iklim değişiklikleri nedeniyle sıcaklıkta yaklaşık 3 °C'lik bir artış beklenmektedir. Dolayısıyla, bu deneyin yüksek sıcaklık değeri 25 ± 1 °C olarak belirlenmiştir. Deney koşullarında *D. pulex* bireyelerine 1 mg C/L/Gün besin temin edilmesi yaygın bir uygulamadır (Folt ve ark. 1999). Ancak, beklenen iklim değişiklikleri sonucu ötrofik tuzlu içsulara gerçekleşmesi beklenen siyanobakter patlaması sonucu *Daphnia* popülasyonları için besin koşullarının zayıflayacağı öngörülmektedir. Bu öngörüler doğrultusunda, deneyin besin değerlerinin tasarlanması aşamasında, *Daphnia* için gerekli olan optimum besin miktarı yerine (1.000 mg C/L/Gün), asgari bir besin miktarı seçilmiştir (0.400 mg C/L/Gün) (Vijverberg, 1989). Sınırlayıcı besin miktarı ise 0.075 mg C/L/Gün olarak belirlenmiştir (Lampert, 1987). Lampert (1987) *Daphnia* bireyelerinde 0.1 mg C/L/Gün besin miktarının açlığı tetiklediğini belirtmiştir. Bu nedenle bizim kullandığımız 0.075 mg C/L/Gün besin miktarı kesinlikle açlık koşulları yaratmıştır.

Elde edilen yaşama oranı verileri ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımına göre ANOVA testine göre besin haricindeki bütün etmenler istatistiksel olarak anlamlı tekli etkiler göstermiştir (Çiz. 3.1.7.). Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testi sonuçları, her uygulama koşulunun kendi içinde ki kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucu elde edilmiştir (Çiz. 3.1.8.).

Çizelge 3.1.7. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
TEKLI ETKİLER	Balık	0.0003***
	Tuz	<.0001***
	Sıcaklık	0.0002***
	Besin	0.3004
	Zaman	<.0001***
İKİLİ ETKİLEŞİMLER	Balık*Tuz	0.0032**
	Balık*Sıcaklık	<.0001***
	Balık*Besin	0.3536
	Tuz*Sıcaklık	0.4389
	Tuz*Besin	0.2065
	Sıcaklık*Besin	0.9497
	Zaman*Balık	<.0001***
	Zaman*Tuz	<.0001***
	Zaman*Sıcaklık	<.0001***
	Zaman*Besin	0.6164
ÜÇLÜ ETKİLEŞİMLER	Zaman*Balık*Tuz	0.0005***
	Zaman*Balık*Sıcaklık	<.0001***
	Zaman*Balık*Besin	0.2934
	Zaman*Tuz*Sıcaklık	0.1268
	Zaman*Tuz*Besin	<.0001***
	Zaman*Sıcaklık*Besin	0.1475

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.9. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdelerinin A) balık sinyali içermeyen ve B) balık sinyali içeren koşullarda zamana bağlı değişimi.

Çizelge 3.1.8. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

0.00 g/L								
DÜŞÜK SICAKLIK					YÜKSEK SICAKLIK			
UYGULAMA	Yüksek Besin		Düşük Besin		Yüksek Besin		Düşük Besin	
	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı
0.10 g/L	.991	.585	.146	.061	.713	.877	.782	.788
0.40 g/L	.155	.304	.052	.061	.671	.386	.296	.942
1.50 g/L	.022*↓	.585	.000***↓	.003**↓	.995	.187	.072↓	.063↓

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Hem laboratuvar koşullarında, hem de gerçekleştirilen bütün deneylerde *D. pulex* bireyleri için optimum sıcaklık olarak 22 ± 1 °C kullanılmıştır. Dolayısıyla, bu deneyin normal sıcaklık verileri ile yaşama oranı belirlemek için tuzluluk kronik toksisite deneyinin örtüşen dozlarının (0.00, 0.10, 0.40 ve 1.50 g Cl/L) verileri kıyaslanabilmektedir. Böylece, bu deneylerin 0.00, 0.10, 0.40 ve 1.50 g Cl/L tuzluluk dozları, (i) normal sıcaklıkta düşük besin (0.075 mg C/L/Gün), (ii) normal sıcaklıkta asgari besin (0.400 mg C/L/Gün) ve (iii) normal sıcaklıkta optimum besin (1.000 mg C/L/Gün) kıyaslaması yapmak üzere kullanılabilir. Bu kıyaslama sonucu, normal sıcaklıklarda optimum besin koşullarında 0.40 g/L tuzluluk dozunda balık sinyalinin varlığında *D. pulex* bireylerinin yaşam oranları artmıştır (Şekil 3.1.6.-3.1.7., Çiz. 3.1.6.). Normal sıcaklıklarda bütün tuzluluk dozlarında asgari ve düşük besin koşullarında balık sinyalinin varlığı yaşama oranını azaltmıştır. Bunun nedeninin besin miktarının asgari veya düşük olması olduğu öngörülmektedir. Yapılan bir deneysel araştırmada yüksek sıcaklık, düşük besin miktarı ve balık sinyalinin varlığının *Daphnia* yaşam döngüsü üzerine etkilerinin sinerjistik olduğu sonucuna varılmıştır (Weetman ve Atkinson, 2002). Bu çalışmanın sonuçları, bu sıcaklık ve besin etkisi ile beraber tuzluluk kronik toksisite deneyinde ki tuzluluk dozlarında asgari ve düşük besin koşullarında balık sinyalinin varlığıyla yaşama oranının azaldığı bulgusu ile örtüşmektedir. Bu gözlem, düşük besin koşullarında, balık avcı baskısının ve artan tuzluluğun çoklu etkileşimlerinin sinerjistik olduğu anlamını taşıyabilir. Fakat artan sıcaklıkla birlikte balık sinyalinin, tuzluluk dozlarının ve besin koşullarının yaşam oranına olan etkileri ortadan kalkmıştır. Folt ve arkadaşlarının (1999) da belirttiği gibi yüksek sıcaklık yaşama oranını belirleyen en önemli etki haline gelmiştir .

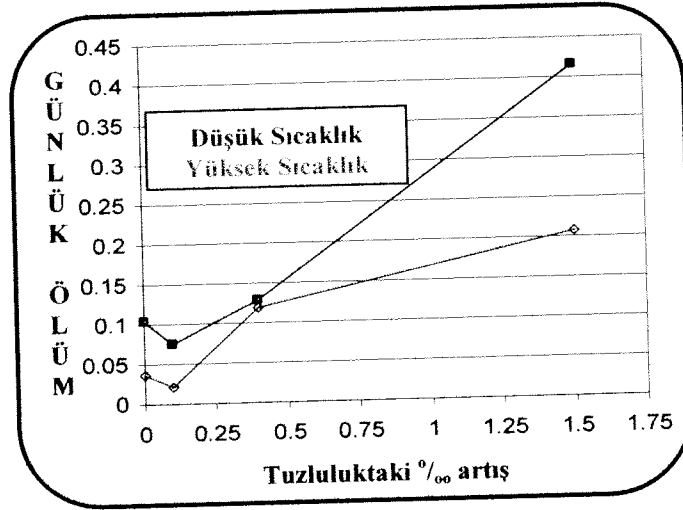
Bütün bu sonuçlar birarada incelendiğinde, normal sıcaklıklarda, balık sinyalinin varlığından ve besin miktarından bağımsız olarak, yaşama oranının 1.5 g/L tuzluluk ile anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür (Çiz. 3.1.8.). *D. pulex* bireylerinin yüksek sıcaklıklarda ki yaşama oranlarının ise, balık sinyalinin varlığından, besin miktarından ve tuzluluk dozlarından bağımsız olarak, çok azaldığı gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı normal sıcaklıklarda ve düşük tuzluluk dozlarında balık sinyalinin varlığından olumsuz etkilenirken, yüksek sıcaklıklarda tuzluluk dozlarından

ve balık sinyalinin varlığından bağımsız olarak olumsuz etkilenmektedir. Sıcaklık artışı *Daphnia* bireylerinin enerji dağılımını etkileyerek (Burns, 1969; Geller, 1975) sindirim (Lampert, 1977b) ve solunumda (Kobayashi, 1974; Yurista, 1997) kayıplara yol açmakla birlikte üreme için– özellikle yumurta üretimi için – harcanan enerjiyi artırır ve metabolizmayı hızlandırır (Flik ve Ringelberg, 1993). Dolayısıyla yaşam için harcanan enerjinin azalmasına sebep olarak yaşama oranını azaltabilir (Burns, 1969; Geller, 1975; Hall ve Burns, 2002). Yüksek sıcaklıkta *D. pulex* ve *D. pulicaria* yavru ve erginlerinin hem yaşama oranlarının, hem de üreme yetilerinin şiddetli bir şekilde azaldığı belirtilmektedir (Folt ve ark., 1999). Ayrıca artan sıcaklığın tuzluluğa olan dayanıklılığı da düşürmesi sonucu ölüm oranının arttığı belirtilmektedir (Hall ve Burns, 2002). Bu deneyde ki yüksek sıcaklıklarda yaşama oranının belirgin bir şekilde azaldığı gözlemi, bu sonuçları desteklemektedir (Burns, 1969; Geller, 1975; Folt ve ark., 1999; Hall ve Burns, 2002). Ayrıca yüksek sıcaklıklarda omurgasız avcı baskısı altında *Daphnia*'nın yaşama oranında azalma görüldüğü belirtilmektedir (Hanazato, 1991). Bu sonuçlardan yola çıkılarak, yapılan bu deneyde yüksek sıcaklıkların *Daphnia* üzerinde hem tek başına, hem de balık sinyalinin varlığında, tuzluluk stresine oranla daha fazla olumsuz etki gösterdiği ve yaşama oranını belirgin bir şekilde azalttığı düşünülmektedir.

Yapılan literatür araştırmaları sonucu tuzluluk, sıcaklık, avcı baskısı ve besin miktarının hem ayrı ayrı hemde ikili/üçlü etkileşimler halinde *Daphnia* üzerindeki etkilerinin incelendiği gözlemlenmiştir. Fakat bu etmenlerin bir arada incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu açıdan, gerçekleştirilmiş olan “Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk-Balık Avlanma Baskısı Kronik Toksikite Deneyi” çoklu stres etmenlerinin *Daphnia* üzerindeki etkisini görmek bakımından yapılan özgün bir araştırmadır .

Bu deneyde yüksek sıcaklık değeri olarak kullanılan 25 °C, yaz aylarında ülkemizin birçok bölgesinde ki (İğneada-Kırklareli, Ankara, Adapazarı ve Bolu illerindeki göller) değişik göllerin sıcaklığına karşılık gelmektedir. Hatta, bazı göllerde Temmuz-Ağustos aylarında ki su sıcaklıkları 28-29 °C olarak kaydedilmiştir (M. Beklioğlu, basılmamış veri). Bölgemiz için iklim değişiminin etkileri konusundaki beklentiler, hava ve su sıcaklıklarındaki artışların buharlaşmayı artırarak tuzlanmayı da artırması yönündedir. Dolayısıyla, artan buharlaşma ve artan sulama ihtiyacını karşılamak için yükselen su tüketimi yüzünden tuzlanma daha yaygın bir olgu haline gelecektir (Zalidis ve ark., 2002). Bu tuzlanmanın sonucu olarak biyoçeşitliliğinin azalması beklenmektedir (Amsinck ve ark., 2005). Yapılan bu deneyin yüksek sıcaklık ve tuzluluk koşullarında *Daphnia* türlerinin ölüm oranının arttığı gözlemi, Hall ve Burns'ün (2002) *D. carinata* türü üzerinde gerçekleştirdiği çalışmayla örtüşmekte ve artan sıcaklık kaynaklı tuzlanma sonucu biyoçeşitliliğinin azalacağı varsayımını desteklemektedir.

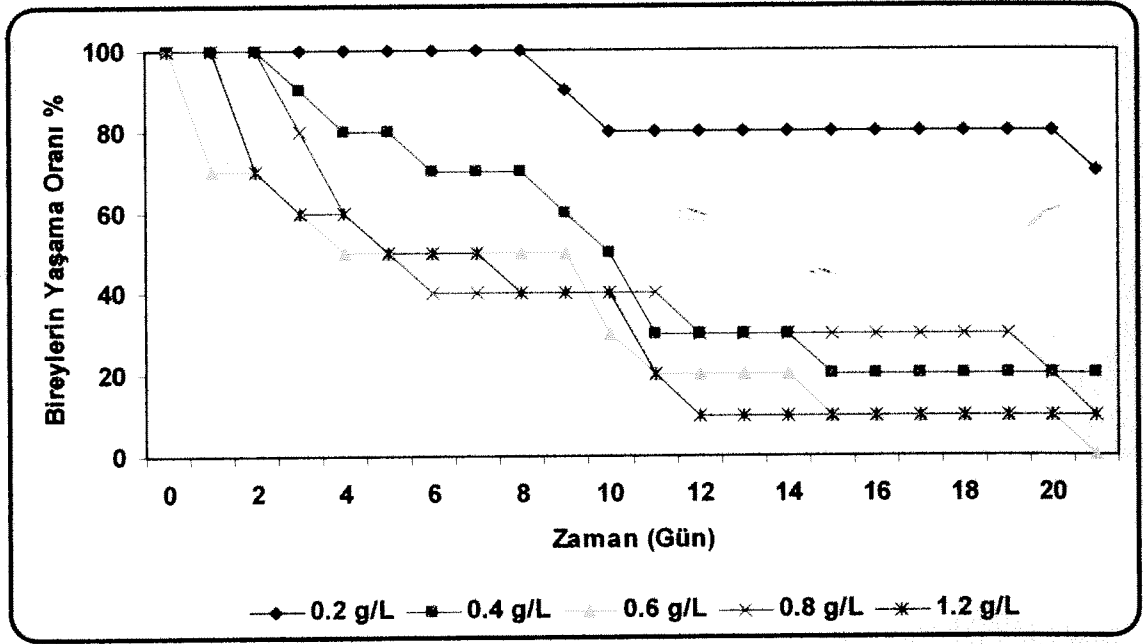
Bu veriler şematik olarak değerlendirildiğinde (Şekil 3.1.10.), tuzlulukta görülen düşük bir artışın (0.1 ‰) hayatta kalma oranı üzerinde olumlu bir etki gösterdiği, ancak yüksek bir artışın ise (>0.4 ‰) ölüm oranını belirgin bir biçimde artırdığı sonuçlarına varılmaktadır. Ek olarak, bu etkinin yüksek sıcaklıklarda daha da belirginleştiği ve sıcaklığın 3 °C artması durumunda %88 ölüm oranı ile karşılaşabileceği gözlemlenmiştir.



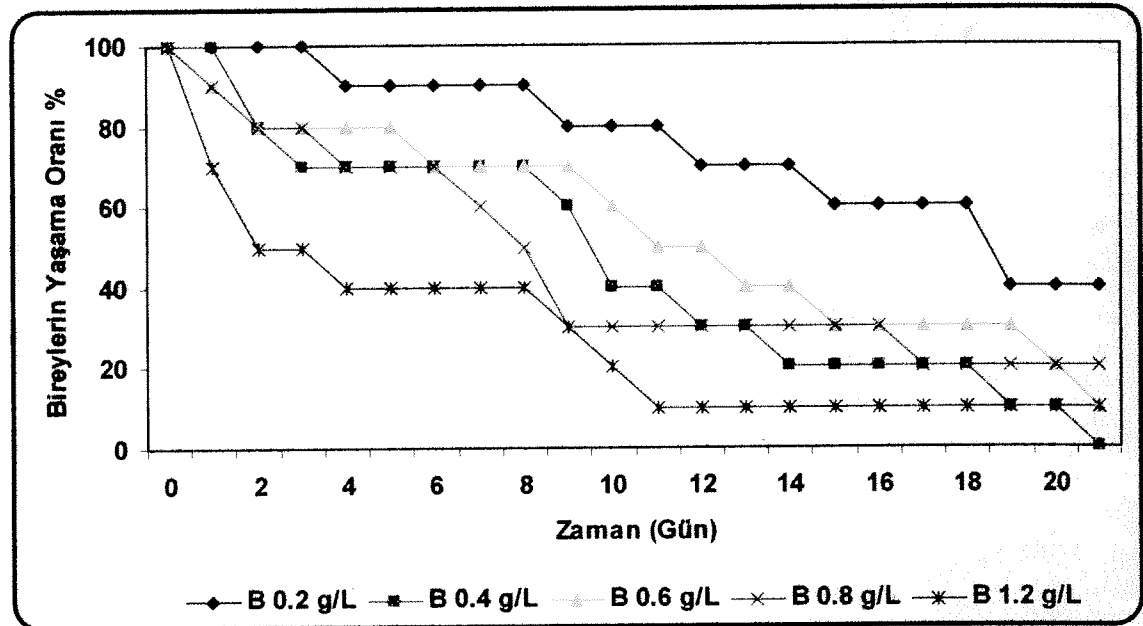
Şekil 3.1.10. Artan tuzluluğun 22 °C ve 25 °C'lerde *Daphnia* üzerindeki etkisi.

3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi

Daphnia, beslenme, büyüme ve üreme etkinliklerinden oluşan bir yaşam döngüsüne sahiptir. Optimum koşullarda iyi beslenmiş bir *Daphnia pulex* bireyinde özkaynak enerjinin %27'si sindirim, %68'i üreme ve % 5'i de büyüme amacıyla kullanılmaktadır (Richman, 1958;). Çevresel etmenlerde görülebilecek değişiklikler (avcı baskısı, sıcaklık değişimi, besin azlığı vs.) *Daphnia* bireylerinin enerji dağılımlarının değişmesine yol açabilmektedir. *Daphnia*'nın yaşam döngüsünü etkileyen stres etmenlerinden birisi de artan tuzluluktur. Yüksek tuzluluk dozlarının *Daphnia*'yı olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Ancak, *Daphnia*'nın yaşam döngüsünü devam ettirebilmesi için belirli miktarda tuza ihtiyacı vardır. Hem kültürlerin yetiştirilmesi sırasında ki ve deneysel gözlemler, hem de 22 °C'de tuz yoğunluğunda görülen düşük bir artışın yaşama oranı üzerinde olumlu bir etki gösterdiğine dair deneysel gözlemlerimiz (Şekil 3.1.10.) sebebiyle, *D. pulex* ilk aşamada 0.20 g Cl/L tuzluluk dozuna aklimize edilmiştir. Her bir doz için en az 2 nesil boyunca (Vijverberg, 1989; Arner, 1993; Baillieul ve ark. 1996; Martinez ve ark., 2007), deneysel gözlemler sonucu belirlenen dört ilave NaCl tuzluluk dozuna (0.40, 0.60, 0.80 ve 1.20 g Cl/L) daha aklimize edilen *D. pulex*, bu dozlarda ve balık sinyali içermeyen/içeren koşullarda yaşam döngüsünde özkaynak dağılımının nasıl etkilendiğini belirlemek için, bir kronik toksisite deneyi yapılmıştır (Şekil 3.1.11.-3.1.12.). Şekillerden de görüleceği üzere bireylerin yaşama oranı yüzdeleri tuz yoğunluğu artışı ile azalmaktadır.



Şekil 3.1.11. Balık sinyali içermeyen koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.



Şekil 3.1.12. Balık sinyali içeren koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.

Elde edilen vücut uzunluğu ile vücut genişliği verileri ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımı kullanan iki yönlü ANOVA testine göre zaman etkisinin her iki parametreyi de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilediği gözlenmiştir (Çiz. 3.1.9.). Vücut uzunluğunun zaman*tuz ve zaman*balık etkileşimlerinden, vücut genişliğinin ise bütün etki ve etkileşimlerden anlamlı bir şekilde etkilendiği gözlenmiştir.

Çizelge 3.1.9. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	VÜCUT UZUNLUĞU	VÜCUT GENİŞLİĞİ
ETKİ	Balık	0.7292	<.0001***
	Tuz	0.0787	<.0001***
	Zaman	<.0001***	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Tuz	0.5045	<.0001***
	Zaman*Balık	0.0018**	<.0001***
	Zaman*Tuz	<.0001***	<.0001***
	Zaman*Balık*Tuz	0.6569	<.0001***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Elde edilen vücut genişliği/vücut uzunluğu oranı ile gerçekleştirilen iki yönlü ANOVA testinin sonuçları ile Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları Çizelge 3.1.10.-3.1.11'de gösterilmektedir. Bu oranın şematik gösterimi ise Şekil 3.1.13.'de verilmektedir.

Çizelge 3.1.10. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

UYGULAMA	VÜCUT GENİŞLİĞİ/UZUNLUĞU
Balık	0.048*
Tuz	0.000***
Balık*Tuz	0.293

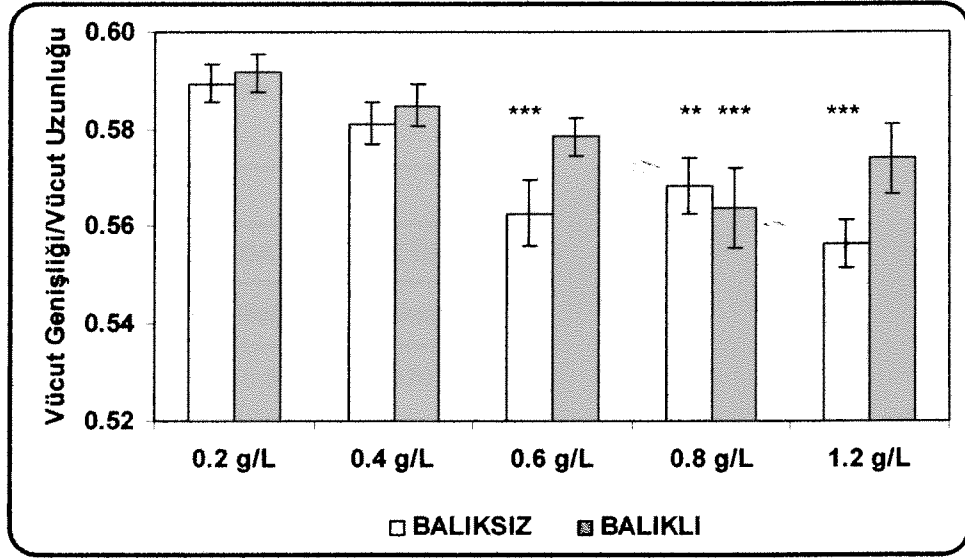
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Çizelge 3.1.11. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

0.20 g/L		
VÜCUT GENİŞLİĞİ/UZUNLUĞU		
UYGULAMA	Balıksız	Balıklı
0.40 g/L	0.514	0.751
0.60 g/L	0.001***↓	0.182
0.80 g/L	0.006**↓	0.001***↓
1.20 g/L	0.000***↓	0.120

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Vücut genişliği/vücut uzunluğu oranının balık sinyalinin varlığından ve tuzluluk dozlarından anlamlı bir şekilde etkilendiği gözlenmektedir (Çiz. 3.1.10). Çizelge 3.1.11 ve Şekil 3.1.13.'den bu oranın artan tuzlulukla azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir. Ayrıca, balık sinyalinin varlığında, balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla, bu oranın arttığı da gözlemlenmektedir (Şekil 3.1.13.). Tatlısu omurgasız canlılarının hiperozmotik olmaları sebebiyle, hücre-içi tuz yoğunlukları çevredeki tuz yoğunluğundan daha fazladır (Lignot ve ark., 2000). Bu durumu dengelemek için dışarıya tuz atıp, ozmosis ile canlı içine doğru su alırlar. Deney ortamında artan çevresel tuzluluk ile bu denge bozulmuş ve canlılar hipoozmotik hale gelmiştir. Hipoozmotik canlı su kaybetmek durumunda kalır. Sonuç olarak, *Daphnia*'nın vücut genişliği/vücut uzunluğu oranındaki azalma, hipoozmotik ortam koşulları sonucu gösterdiği su kaybetme yönündeki ozmoregülasyon tepkisinden kaynaklanıyor olabilir. Bu uyarılama, yüzey alanını azaltarak, yüzey alanı/hacim oranını küçülterek canlının daha da fazla su kaybetmesini önlemede önemli olabilir.



Şekil 3.1.13. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliği/vücut uzunluğu verileri (Ortalama±Std hata) (y-ekseni 0.00'dan başlamamaktadır).

Elde edilen yumurta sayısı, ilk üreme yaşı, ilk üreme boyu ve yavru sayısı verileri ile gerçekleştirilen iki yönlü ANOVA testinin sonuçları ile Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları Çizelge 3.1.12.-3.1.13'de gösterilmektedir. Bu oranların şematik gösterimleri ise Şekil 3.1.14.-3.1.15.-3.1.16.-3.1.17'de verilmektedir.

Çizelge 3.1.12. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

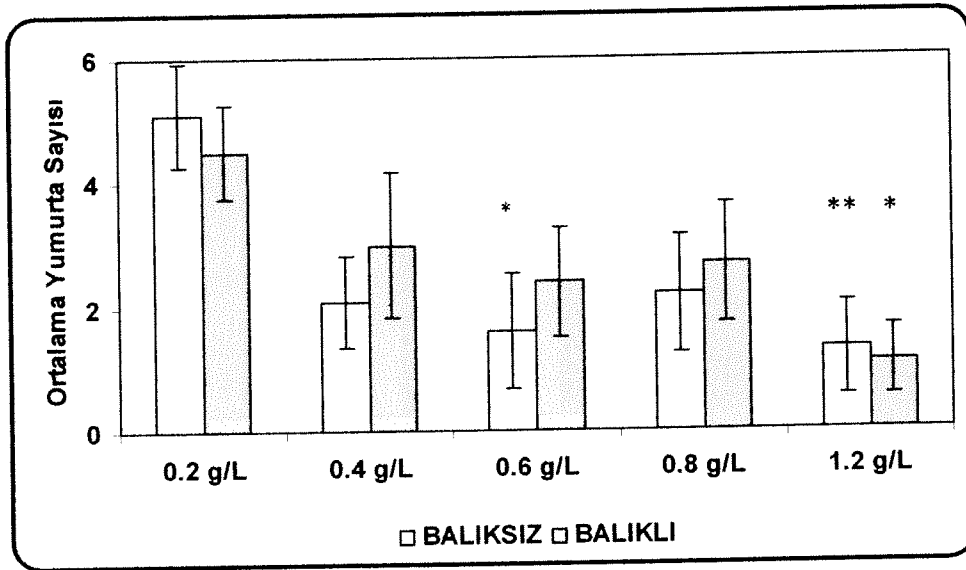
UYGULAMA	YUMURTA SAYISI	İLK ÜREME YAŞI	İLK ÜREME BOYU	YAVRU SAYISI
Balık	0.612	0.397	0.012*	0.635
Tuz	0.002**	0.752	0.217	0.451
Balık*Tuz	0.889	0.926	0.289	0.554

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

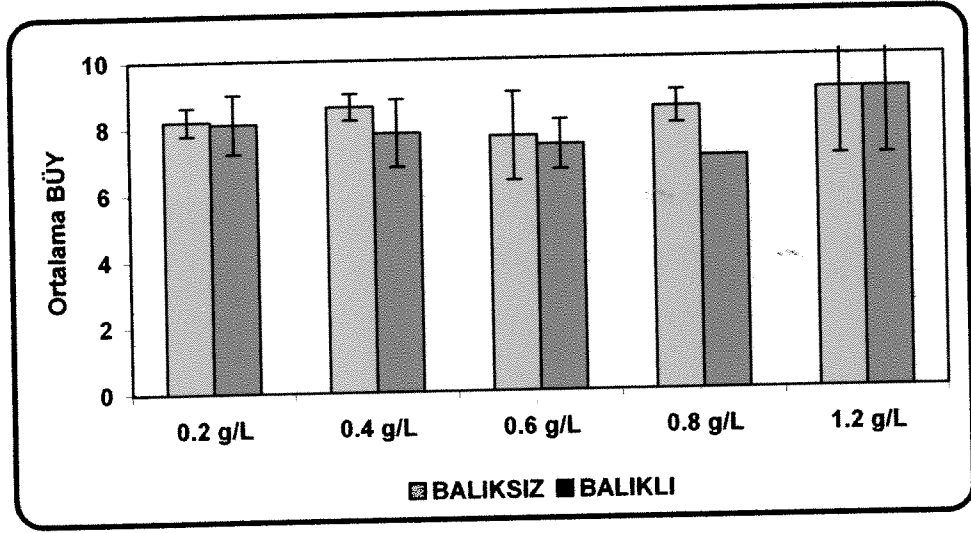
Çizelge 3.1.13. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

0.20 g/L								
YUMURTA SAYISI		İLK ÜREME YAŞI		İLK ÜREME BOYU		YAVRU SAYISI		
UYGULAMA	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı
0.40 g/L	0.052	0.583	0.976	0.998	0.402	0.999	0.130	0.999
0.60 g/L	0.018*↓	0.293	0.965	0.957	0.761	0.359	0.892	0.985
0.80 g/L	0.063↓	0.425	0.994	0.860	0.032*↑	0.950	0.967	1.000
1.20 g/L	0.009**↓	0.034*↓	0.921	0.132	0.514	0.481	0.533	0.842

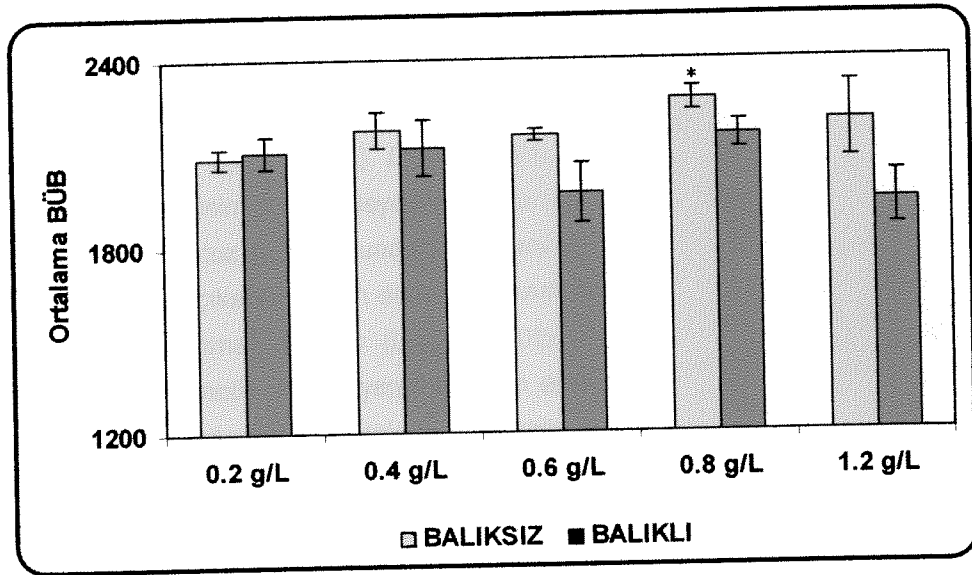
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



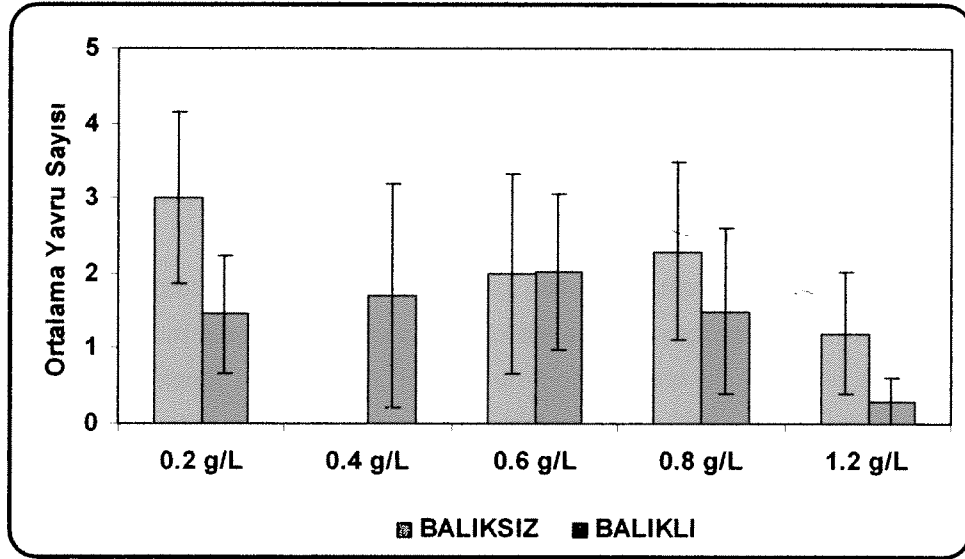
Şekil 3.1.14. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yumurta sayısı verileri (Ortalama±Std hata).



Şekil 3.1.15. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Yaşı (BÜY) verileri (Ortalama±Std hata).



Şekil 3.1.16. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Boyu (BÜB) verileri (Ortalama±Std hata) (y-ekseni 0.00'dan başlamamaktadır).



Şekil 3.1.17. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yavru sayısı verileri (Ortalama±Std hata).

Yumurta sayısı verileri incelendiğinde tuzluluk dozunun önemli bir etken olduğu (Çiz. 3.1.12.), tuzluluk arttıkça ortalama yumurta sayısının azaldığı gözlenmektedir. Ayrıca balık sinyali varlığında yumurta sayısı artma eğilimindedir (Çiz. 3.1.13.). *D. pulex* bireyleri için uygun vücut büyüklüğü sağlandıktan sonra, sahip olunan enerjinin $\frac{3}{4}$ 'ü üremeye - yumurta üretimine - ayrılır (Richman, 1958; Baillieul ve ark., 1996). Ancak artan tuz yoğunluğunda hiperozmotik uyarlamalar gösteren *Daphnia* bireylerinin hipoozmotik stresle başa çıkabilmek için daha fazla enerji harcamaları gerekir, özellikle aktif taşıma ile dışarıdan içeriye tuz alınması gerekir (Lignot, 2000). Fakat bu duruma belli bir noktaya kadar dayanılabileceğinden, ozmotik stresin yarattığı artan enerji tüketiminin, üreme için ayrılabilen enerji miktarının azalmasına neden olması çok muhtemeldir. Sonuç olarak, yüksek tuz yoğunluklarında yumurta üretme eğiliminin azaldığı ve balık sinyali içeren koşullarda – balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla – yumurta sayısında artış gözlenmiştir. Bu sonuç balık sinyalinin varlığında yumurta sayısında artış olduğu sonucunu desteklemektedir (Reede, 1995).

Balıklar görsel olarak beslenip büyük bireyleri seçtiklerinden (Brooks ve Dodson, 1965), *Daphnia* bireylerinin avcı balık varlığında erken ve küçük boyda üreme davranışı göstermeleri üremedeki başarılarını arttıracaktır (Macháček 1991; Weber and Declerck 1997; Spaak et al. 2000). Bu doğrultuda, Reede'in (1995) balık sinyali ile yaptığı çalışmada ilk üreme yaşı ve ilk üreme boyunun artan sinyal miktarı ile azaldığı, yumurta sayısının ise önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek için gerçekleştirilen bu deneyin sonuçlarına göre, ortalama ilk üreme yaşının tuzluluktan belirgin bir şekilde etkilenmediği, ancak balık sinyalinin varlığında genel olarak azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir (Çiz. 3.1.12-3.1.13.) (Şekil 3.1.15.). Ortalama ilk üreme boyunun da tuzluluktan belirgin bir şekilde etkilenmediği, ancak balık sinyalinin varlığında genel olarak azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir (Çiz. 3.1.9.) (Şekil 3.1.16.). Bu gözlemler balık sinyalinin varlığında bireylerin daha erken ve daha küçük boylarda üremeye başladığı

varsayımını desteklemektedir (Macháček 1991; Reede 1995; Weber ve Declerck, 1997; Spaak ve ark., 2000; Sakwinska, 2002). Bu sonuçlar doğada görülen boyuta bağlı uyarlamalar ile benzerlik göstermektedir (Reznick ve ark., 1990).

3.1.2. Sipermetrin Deneyleri

Van Wijngaarden ve grubunun (2005) değerlendirdiği gibi, su ve drenaj olanağı sağlamalarından ötürü sucul ekosistemler, tarım alanları ile çoğu zaman bütünlük bir yapı sergilerler. Ürün koruma amaçlı günümüz pestisit uygulama teknikleri ile, uygulanan insektisitlerin bir kısmının sucul ekosistemlere girmesi kaçınılmazdır. Birçok çalışma, çeşitli su kütlelerinde birçok toksikantın kalıntılarını tespit etmiştir. Örneğin ülkemizde, Bursa bölgesi Ulubat gölünde Barlas ve grubu (2006) tarafından 2002 yılında yapılmış olan bir çalışmada, su ortamında, yönetmelikte verilen bileşiklerden HCB, pp-DDT, pp-DDE, α -, β - ve γ -BHC, Aldrin, Heptachlor epoxide, Endrin, Endosülfan I ve II belirlenmiştir. Çalışmaların sonuçları bu gölün pestisit türleri tarafından kirlendiğini ortaya çıkarmıştır. Dolayısıyla, tarım alanlarını çevreleyen su havzalarında yaşayan hedef olmayan organizmaların, hedef organizmalarla benzer toksikant reseptörlerine sahip olmaları durumunda tehlike altında oldukları açıklanmaktadır (Van Wijngaarden ve ark., 2005). Sucul ekosistemlerin tarım ilaçları tarafından gördüğü hasar genellikle tek tür ve tek toksikant içeren laboratuvar çalışmaları ile değerlendirilmektedir (Cairns, 1983). Dolayısıyla, geleneksel laboratuvar araştırmaları, pestisitlerin doğal ortamlardaki çevresel koşullarla olabilecek karmaşık etkileşimlerini öngöremeyebilir. Avlanma baskısının varlığında zooplankton türlerinin pestisitlere karşı daha hassas oldukları çeşitli çalışmalar tarafından belirtilmektedir (Hanazato ve Dodson, 1992; Hanazato ve Dodson, 1995; Barry, 2000; Maul ve ark., 2005; Sakamoto ve ark., 2006). Endosülfanın *Daphnia*'da, karbarilin ise *Bosmina*'da ki omurgasız avcıdan korunma amaçlı ürettiği dışa-çıkık morfolojik bir yapının gelişimini engelleyebildiği ve sonuç olarak avlanma baskısına karşı savunmasız hale getirebildiği belirtilmektedir (Barry, 2000; Sakamoto ve ark., 2006). Morfojinin yanısıra, yaşam döngüsünde özkaynak dağılımının da etkilenebileceği; *Chaoborus* avcı baskısı ile beraber karbaril insektisitinin *Daphnia* büyüme hızını azaltarak ilk üreme yaşını geciktirebileceği, ilk üreme boyunu küçültbileceği ve yumurta sayısını azaltabileceği yönünde sinerjistik bir etkileşim gösterebilecekleri önerilmektedir (Hanazato ve Dodson, 1992; Dodson ve Hanazato, 1995). Öte yandan, yapılan çalışmalarda balık avlanma baskısını benzeten balık sinyalinin varlığında pestisitlerin *Daphnia* üzerindeki etkileri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. *Ceriodaphnia*'nın malathion karşı olan 48-s LD₅₀ değerinin balık sinyalinin varlığında belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir (Maul ve ark., 2005). Ancak, buna benzer çalışmaya ne tuzluluk için, ne de sipermetrin için rastlanılmamıştır.

3.1.2.1. Akut Toksikite Deneyleri

1. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması

Birçok çalışmada, piretroidlerin sucul organizmalara aşırı toksik oldukları ve biyokimyasal yapılarını belirgin bir şekilde etkiledikleri belirtilmektedir (Smith ve Stratton, 1986; Haya, 1989; Bradbury ve Coats, 1989). Ancak, *Daphnia* üzerindeki olası yapısal değişimlerin avcı balık sinyalinin varlığında nasıl etkilendiği bilinmemektedir. Dolayısıyla, *D. pulex* türünün balık sinyalinin yokluğunda ve varlığında yüksek sipermetrin dozlarına maruz kaldığında gösterdiği yaşama oranı ve moleküler değişimleri incelemek üzere, geniş aralıklı yüksek sipermetrin dozları (0.0, 1.0, 5.0, 10.0, 25.0 50.0 ve 75.0 µg/L) ile bir akut toksisite deneyi yapılmıştır. Sipermetrin aseton içerisinde çözündüğü için, solvent kontrol uygulaması da eklenmiştir.

Elde edilen veriler ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testine göre sipermetrinin, sipermetrinin balık ile etkileşiminin ve bu etkilerin de zaman ile etkileşimlerinin yaşama oranı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilerinin olduğu gözlenmektedir (Çiz. 3.1.14.).

Çizelge 3.1.14. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
ETKİ	Balık	0.3636
	Sipermetrin	<.0001***
	Zaman	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Sipermetrin	0.0448*
	Zaman*Balık	0.3795
	Zaman*Sipermetrin	<.0001***
	Zaman*Balık*Sipermetrin	<.0001***

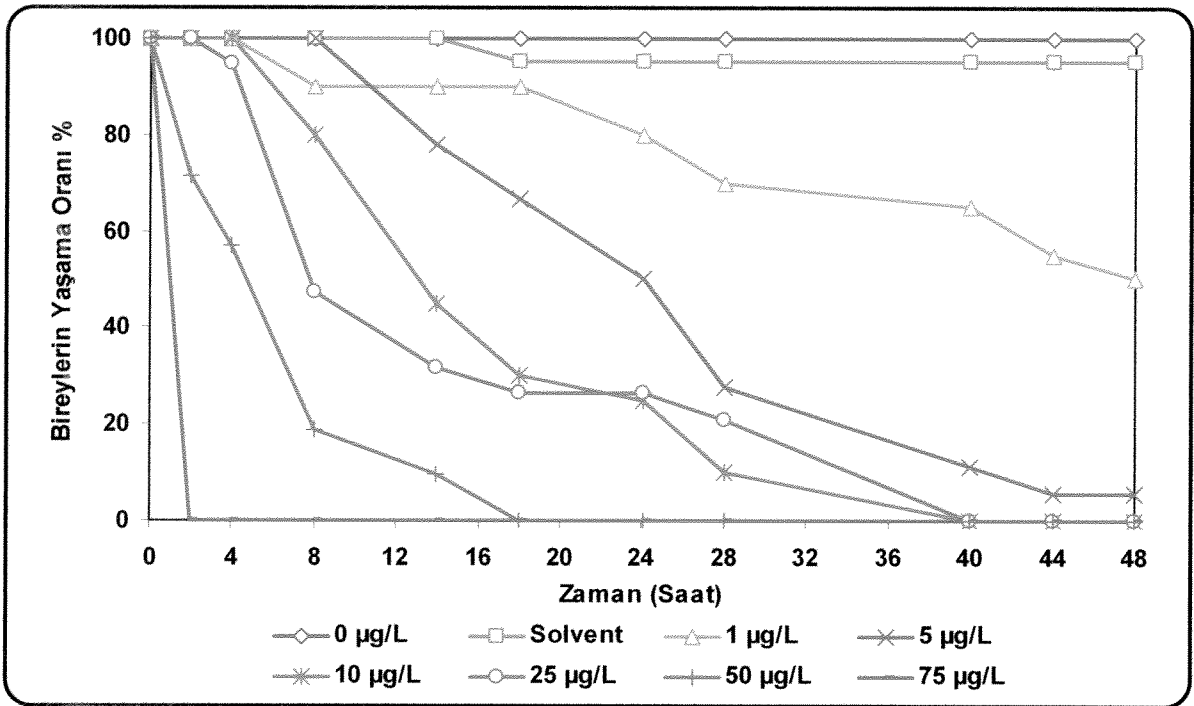
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Yaşama oranı verileri ile gerçekleştirilen Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testi sonuçlarına göre, hem balık sinyali içermeyen, hem de içeren koşullarda kullanılan solvent miktarı *Daphnia* bireylerinin yaşama oranını etkilemeyecek düzeydedir (Çiz. 3.1.15.). Balık sinyali içermeyen ve içeren koşullarda bütün sipermetrin dozları *D. pulex* yaşama oranlarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Bu azalma Şekil X19, X20 ve X21'de de belirgin bir şekilde görülmektedir. Yüksek dozlarda (5-75 µg/L) olası balık etkisi sipermetrin tarafından maskelenmektedir.

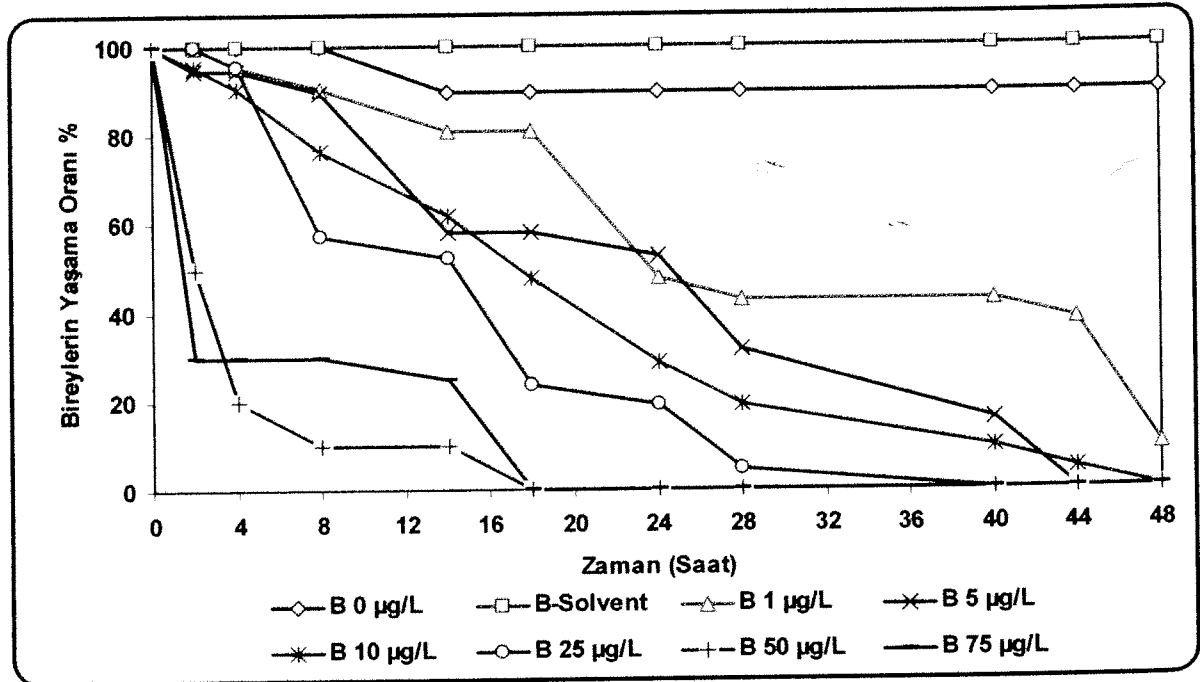
Çizelge 3.1.15. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

UYGULAMA	Balıksız 0 µg/L	Balıklı 0 µg/L
Solvent	.995	~.810
1 µg/L	.008**↓	.001***↓
5 µg/L	.000***↓	.000***↓
10 µg/L	.000***↓	.000***↓
25 µg/L	.000***↓	.000***↓
50 µg/L	.000***↓	.000***↓
75 µg/L	.000***↓	.000***↓

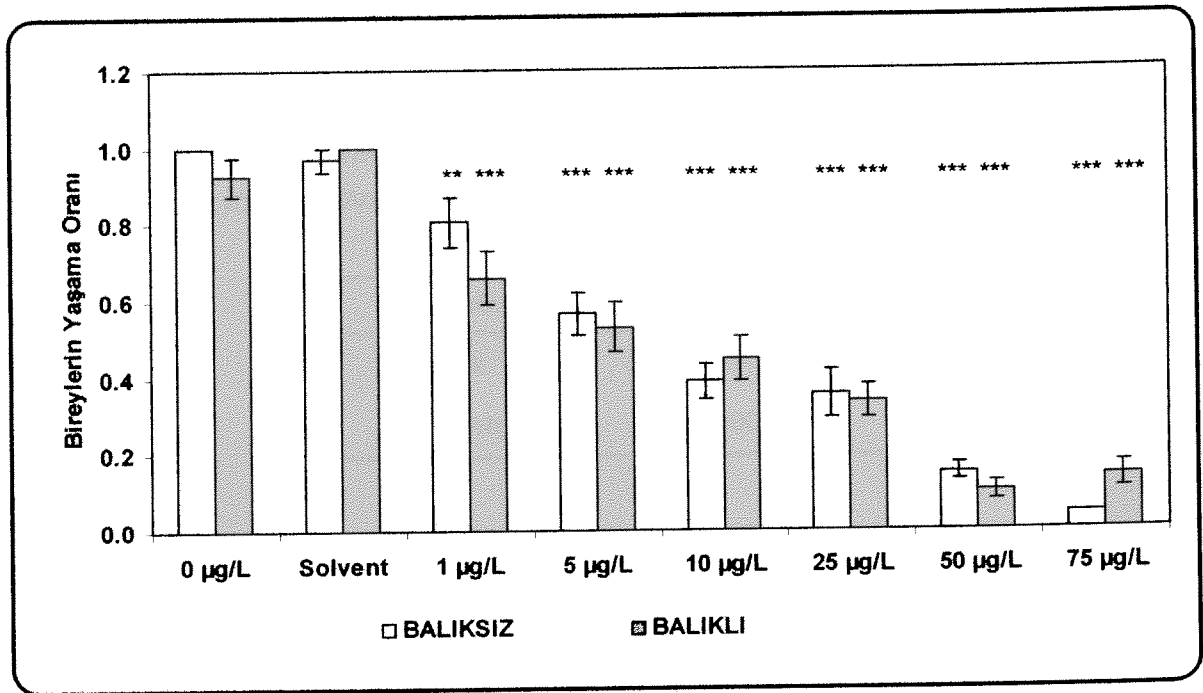
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.18. Balık sinyali içermeyen koşullarda yüksek sipermetrin etkisini belirleme deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.



Şekil 3.1.19. Balık sinyali içeren koşullarda yüksek sipermetrin etkisini belirleme deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.



Şekil 3.1.20. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).

Daphnia magna'nın sipermetrine maruz kalma durumunda hareketsiz hale gelmesine veya ölümüne neden olan 24-saat LC₅₀ değerinin 0.5-5.0 µg/L arasında, 48-saat LC₅₀ değerinin ise 0.3-2.1 µg/L arasında olabileceği belirtilmektedir (Stephenson, 1982; Lakota ve ark., 1989; Ruparelia ve ark., 1995;

U.S. EPA, 2007). Başka bir kladosera türü olan *Ceriodaphnia dubia*'nın sipermetrine maruz kalma durumunda ölümüne neden olan 96-saat LC₅₀ değerinin 0.9 µg/L civarında olabileceği belirtilmektedir (Liu ve ark., 2004). Proje kapsamında yapılan akut deney sonuçlarına göre balık sinyalinin yokluğunda (Şekil 3.1.18.) 24 saatin sonunda 1.0-5.0 µg/L sipermetrin dozlarında ve 48 saatin sonunda 1.0 µg/L sipermetrin dozunda bireylerin en az yarısının halen yaşıyor olması, Liu ve grubunun (2004) sonuçlarını desteklemektedir. Ancak bu değerler balık sinyalinin varlığının etkilerini göz önüne almamaktadır. Bu deneyin sonuçları balık sinyalinin varlığında – balık sinyalinin yokluğuna kıyasla – 1.0 µg/L sipermetrin dozunda 24 saatin sonunda bireylerin ölüm oranının arttığını ve 48 saatin sonunda neredeyse bütün popülasyonun öldüğünü göstermektedir (Şekil 3.1.18.-3.1.19.). Dolayısıyla, Şekil 3.1.20.'de de görüldüğü üzere, 1.0 µg/L sipermetrinin varlığında balık sinyali içeren koşullarda yaşama oranı balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla azalmaktadır. Çizelge 3.1.14.'de görülen balık*sipermetrin etkileşiminin anlamlı olması ile, Çizelge 3.1.16.'de görülen (Balık sinyalinin yokluğunda ve varlığında 0.0 ve 1.0 µg/L sipermetrin dozlarının etkileşimlerinin iki yönlü ANOVA testi sonuçları) hem balık, hem de sipermetrin etkilerinin anlamlı olmaları gözlemleri, 1.0 µg/L sipermetrin ile beraber varolan balık sinyalinin ölüm oranını artırdığı gözlemi desteklemektedir. Balık sinyalinin varlığında pestisitlerin *Daphnia* üzerindeki etkileri hakkındaki bilgilerin sınırlı olmasına rağmen, *Ceriodaphnia dubia*'nın çeşitli malathion dozlarının varlığında 48-saat boyunca gösterdiği yaşama oranının balık sinyalinin varlığında belirgin bir şekilde azaldığı gözlemi bu çalışmayı desteklemektedir (Maul ve ark., 2005). Benzer bir şekilde kurbağa iribaşlarının da avcı sinyalinin varlığında karbamat ve organofosforlu pestisitlere karşı daha hassas oldukları rapor edilmiştir (Relyea ve Mills, 2001; Relyea, 2004).

Çizelge 3.1.16. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Deneyi'nde 0.0 ve 1.0 µg/L dozlarının yaşama oranı verilerinin iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
Balık	0.049*
Sipermetrin	0.000***

3.1.2.2. Kronik Toksikite Deneyleri

1. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi

Sucul ekosistemlerde, hedef olmayan organizmaların pestisitlere diğer çevresel etmenlerle eşzamanlı olarak maruz kaldıkları gerçeği doğrultusunda, tek toksikantlı araştırmalar bu ekosistem canlılarının gerçek tepkilerini yansıtmaktan uzak kalmaktadır (Cairns, 1986). Sucul ekosistemlerde olası avcılarının varlığına (ör. balık, omurgasız vb.) işaret eden sinyaller, organizmaların pestisitlerden nasıl etkileneceğini belirleyecek önemli etmenlerdendir (Hanazato ve Dodson, 1992; Relyea ve Mills, 2001;

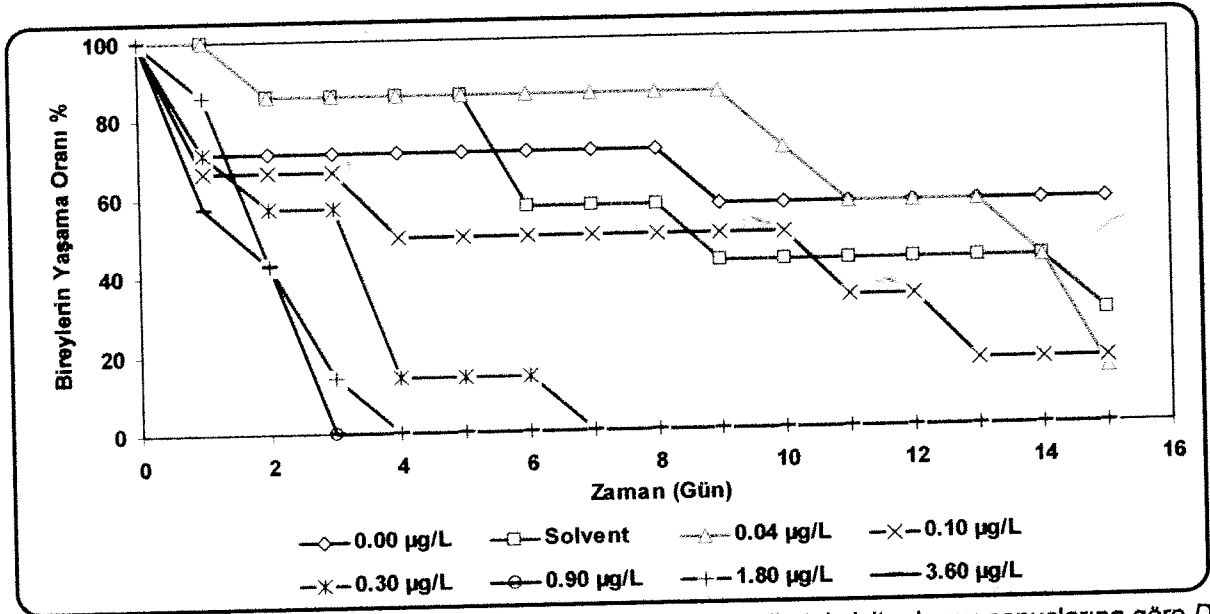
Relyea, 2004). *Daphnia magna*'nın sipermetrin için 24-saat LC₅₀ değerinin 0.5-5.0 µg/L arasında olabileceği belirtilmektedir (Stephenson, 1982; U.S. EPA, 2007). *Daphnia magna* ve *Daphnia pulex* türlerinin birçok toksikanta karşı akut toksisite değerleri karşılaştırıldığında, genel hassasiyetlerinin farklılık göstermedikleri belirtilmektedir (Lilius ve ark., 1995). Sonuç olarak, bu doğrultuda belirlenen dar aralıklı orta seviyeli sipermetrin dozları (0.00, 0.04, 0.10, 0.30, 0.90, 1.80 ve 3.60 µg/L) ile *D. pulex* türünün balık sinyalinin yokluğunda ve varlığında ki yaşama oranlarının belirlenmesi için bir kronik toksisite deneyi yapılmıştır. Sipermetrin aseton içerisinde çözündüğü için, solvent kontrol uygulaması da eklenmiştir.

Elde edilen veriler ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testine göre balık, sipermetrin ve zaman etkileri ayrı ayrı istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verirken, sadece zaman*sipermetrin etkileşiminde anlamlı bir sonuç elde edilmiştir (Çiz. 3.1.17.).

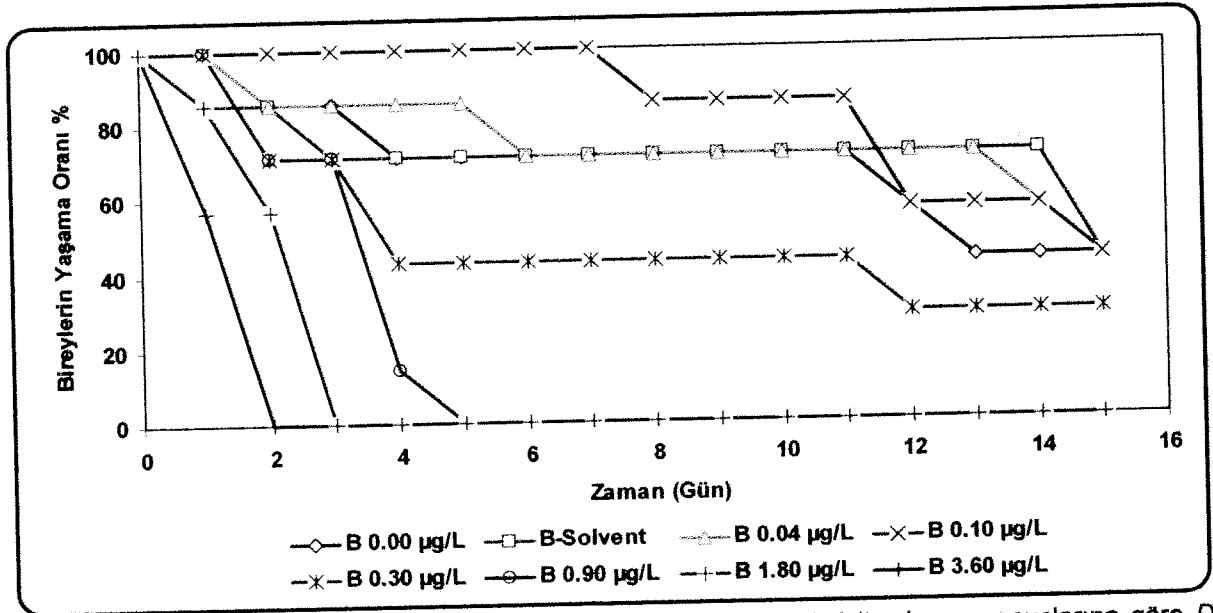
Çizelge 3.1.17. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	İstatistiksel Anlam
ETKİ	Balık	0.0495*
	Sipermetrin	<.0001***
	Zaman	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Sipermetrin	0.5429
	Zaman*Balık	0.5784
	Zaman*Sipermetrin	<.0001***
	Zaman*Balık*Sipermetrin	<.1622

*** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05



Şekil 3.1.21. Balık sinyali içermeyen koşullarda sipermetrin kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.



Şekil 3.1.22. Balık sinyali içeren koşullarda sipermetrin kronik toksisite deney sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin hayatta kalma yüzdeleri.

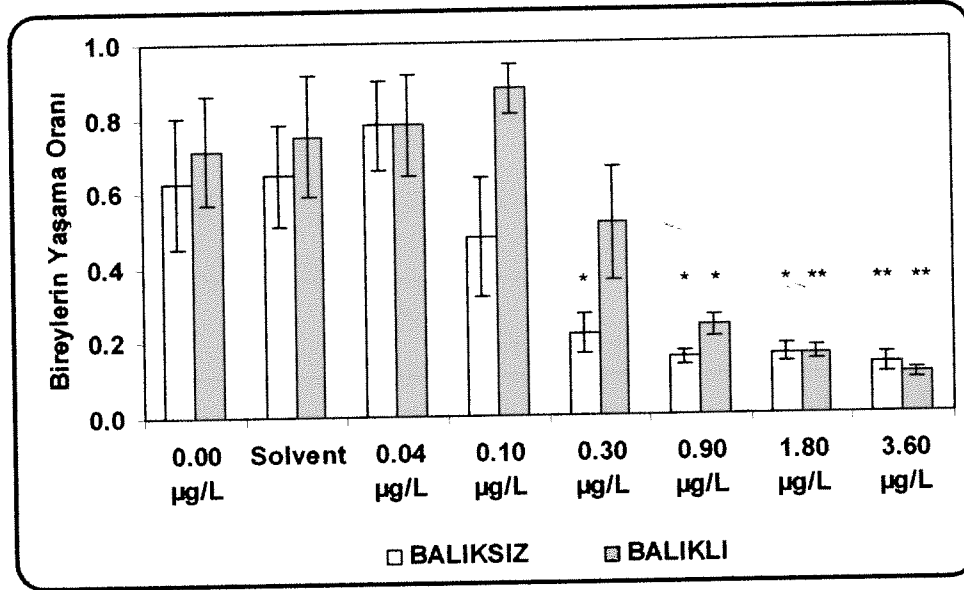
Şekil 3.1.21, 3.1.22. ve 3.1.23.'den ve Çizelge 3.1.18.'den görüleceği üzere, balık sinyali içermeyen ve içeren koşullarda 0.90 µg/L sipermetrin dozundan itibaren yaşama oranı belirgin bir şekilde azalmaktadır. Ancak, 0.04-0.90 µg/L sipermetrin dozları arasında sipermetrin artışının yaşama oranını azalttığı, balık sinyalinin ise – balık sinyalinin yokluğuna kıyasla – yaşama oranını yükseltme yönünde etkilediği gözlenmektedir. Sonuç olarak, sipermetrin dozunun ≥ 1.0 µg/L (yüksek sipermetrin etkisi araştırmasındaki dozlar dahil) olması halinde sipermetrin ve balık sinyali arasındaki etkileşimin sipermetrinin balık sinyalinin varlığına üstünlüğü yönünde olduğu gözlenmektedir. Bu durum çoklu etkileşimlerin etkisinin daha zararlı veya baskın olan tekli stres etmeninin etkisine eşit olması olarak

tanımlanan *basit karşılaştırmalı* (simple comparative) etki modeline benzemektedir (Bruland ve ark., 1991). Diğer taraftan, 0.04-0.90 µg/L sipermetrin dozlarında balık sinyalinin varlığının sipermetrinin olumsuz etkilerini azalttığı gözlenmiştir. Basit karşılaştırmalı modele göre, çoklu etkileşimlerin etkisinin daha zararlı olan tekli stres etmeninin etkisinden daha az olması halinde çoklu etkileşimin *azalan stres (daha az şiddetli olma) etkisi* gösterdiği – sık rastlanan bir durum olmamakla beraber – belirtilmektedir (Folt ve ark., 1999). Ancak, Folt ve arkadaşlarının (1999) gerçekleştirdiği bir çalışmada yüksek kirletici (10 mg/L SDS) – düşük sıcaklık (20 °C) – optimum besin (1.2 mg C L⁻¹) ile yüksek kirletici (10 mg/L SDS) – düşük sıcaklık (20 °C) – düşük besin (0.1 mg C L⁻¹) iki/üç-stres etmenli etkileşimlerinde gözüken üreme yetisinin yüksek kirletici (10 mg/L SDS) – optimum sıcaklık (25 °C) – optimum besin (1.2 mg C L⁻¹) tek-stres etmenli etkileşiminde gözüken üreme yetisinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, orta düzeydeki sipermetrin dozlarında balık sinyalinin varlığının sipermetrinin olumsuz etkilerini daha az şiddetli hale getirme etkisi olabileceği ve bazı durumlarda stres etmenlerinin etkileşimlerinin genel stres koşullarını hafifletici etkileri olabileceği önerilmektedir.

Çizelge 3.1.18. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yaşama oranı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

UYGULAMA	Balıksız 0.00 µg/L	Balıklı 0.00 µg/L
Solvent	1.000	1.000
0.04 µg/L	.843	.998
0.10 µg/L	.870	.826
0.30 µg/L	.045*↓	.656
0.90 µg/L	.014*↓	.019*↓
1.80 µg/L	.017*↓	.005**↓
3.60 µg/L	.010**↓	.002**↓

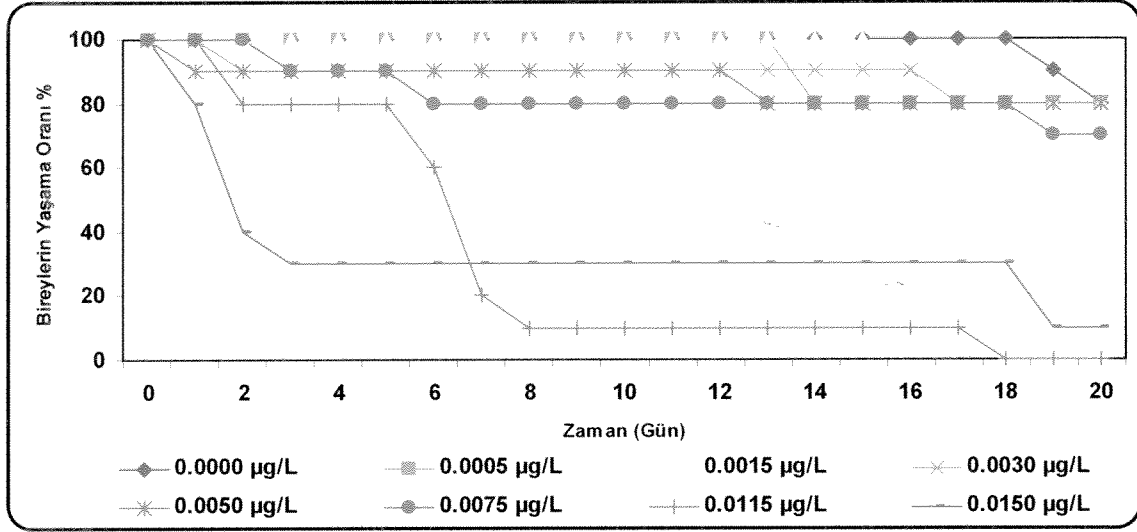
*** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05



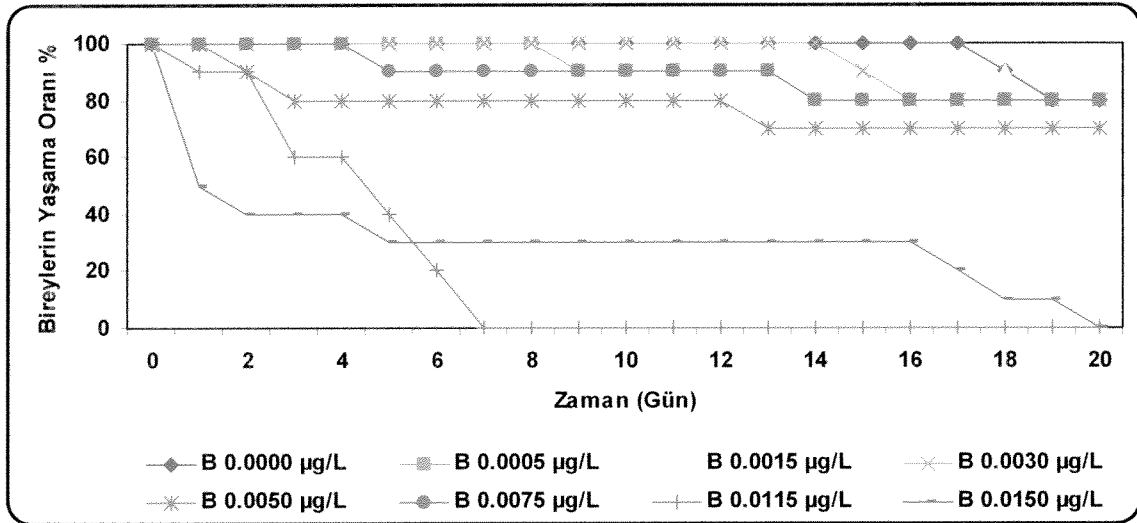
Şekil 3.1.23. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyali içeren ve balık sinyali içermeyen durumlarda bireylerin yaşama oranı verileri (Ortalama±Std hata).

2. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi

Yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek için, *D. pulex* bireyleri, her bir doz için en az 2 nesil boyunca (Vijverberg, 1989; Arner, 1993; Baillieul ve ark., 1996; Martinez ve ark., 2007), U.S. EPA'nın 2006 raporuna göre belirlenen 5 sipermetrin dozuna (0.0005, 0.0010, 0.0015, 0.0020 ve 0.0030 µg/L) aklimize edilmiştir. Daha sonra, dar aralıklı düşük seviyeli sipermetrin dozlarında (0.0005, 0.0015, 0.0030, 0.0050, 0.0075, 0.0115 ve 0.0150 µg/L) ve balık sinyali içermeyen/içeren koşullarda yaşam döngüsünde özkaynak dağılımının nasıl etkilendiğini belirlemek için bir kronik toksisite deneyi yapılmıştır (Şekil 3.1.24.-3.1.25.). Sipermetrin aseton içerisinde çözündüğü halde, belirlenen dozlarda hazırlanan test çözeltilerinde ki son aseton yoğunluğu, OECD tarafından önerilen en yüksek solvent yoğunluğunun (≤ 0.1 mL/L) çok altında olduğundan solvent kontrol uygulaması eklenmemiştir (OECD, 1998).



Şekil 3.1.24. Balık sinyali içermeyen koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.



Şekil 3.1.25. Balık sinyali içeren koşullarda Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deney'i sonuçlarına göre *D. pulex* bireylerinin yaşama oranı yüzdeleri.

Elde edilen vücut uzunluğu ile vücut genişliği verileri ile gerçekleştirilen yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testine göre sipermetrin ve zaman etkilerinin her iki parametreyi de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilediği gözlenmiştir (Çiz. 3.1.19.).

Çizelge 3.1.19. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri verilerinin yinelenmiş ölçüler tasarımına göre iki yönlü ANOVA testinin sonuçları.

	UYGULAMA	VÜCUT UZUNLUĞU	VÜCUT GENİŞLİĞİ
ETKİ	Balık	0.3856	0.2135
	Sipermetrin	0.0030**	0.0003***
	Zaman	<.0001***	<.0001***
ETKİLEŞİM	Balık*Sipermetrin	0.7344	0.7381
	Zaman*Balık	0.8496	0.3012
	Zaman*Sipermetrin	0.0822	<.0001***
	Zaman*Balık*Sipermetrin	0.8130	0.3099

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Elde edilen vücut genişliği/vücut uzunluğu oranı ile gerçekleştirilen iki yönlü ANOVA testinin sonuçları ile Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları Çizelge 3.1.20.-3.1.21.'de gösterilmektedir. Bu oranın şematik gösterimi ise Şekil 3.1.26.'da verilmektedir.

Çizelge 3.1.20. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının iki yönlü ANOVA ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

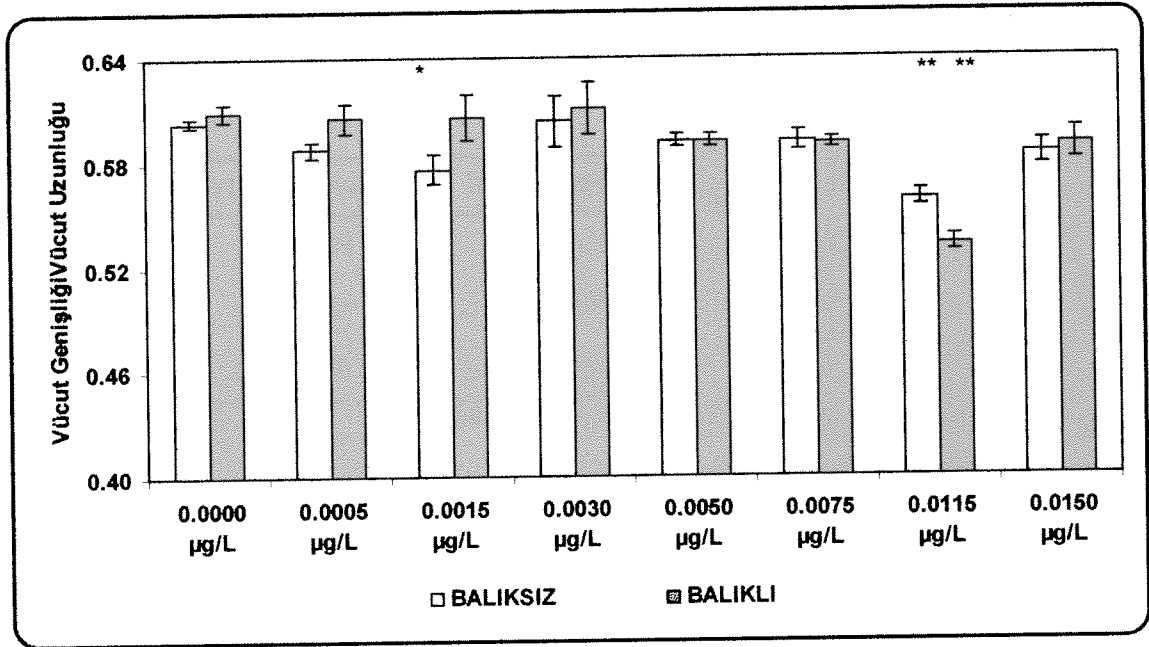
UYGULAMA	VÜCUT GENİŞLİĞİ/UZUNLUĞU
Balık	0.340
Sipermetrin	.000**

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Çizelge 3.1.21. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut ölçüleri oranının Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

0.0000 µg/L		
VÜCUT GENİŞLİĞİ/UZUNLUĞU		
UYGULAMA	Balıksız	Balıklı
0.0005 µg/L	.501	1.000
0.0015 µg/L	.043*↓	1.000
0.0030 µg/L	1.000	1.000
0.0050 µg/L	.855	.732
0.0075 µg/L	.851	.646
0.0115 µg/L	.009**↓	.002**↓
0.0150 µg/L	.689	.850

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.1.26. Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliği/vücut uzunluğu verileri (Ortalama±Std Hata) (y-ekseni 0.00'dan başlamamaktadır).

Bütün veriler birarada incelendiğinde, balık sinyali içermeyen ve içeren koşullarda 0.0005-0.0075 µg/L sipermetrin dozlarının *D. pulex* bireylerinin vücut genişliği/vücut uzunluğu oranını azalma yönünde etkilediği gözlenmektedir (Çiz. 3.1.21., Şekil 3.1.26). Bu azalmanın, pestisite maruz kalmış *Daphnia*'ların azalan beslenme verimi sonucunda, büyümeye ayrılabilen özkaynak enerjisinin azalabileceği sonucu ile örtüşmektedir. (Gliwicz ve Sieniawaśka, 1986; McKee ve Knowles, 1986; Baird ve ark., 1990; Lauridsen ve ark., 2003; Christensen ve ark., 2005). Ancak, hem balık sinyali içermeyen, hem de içeren koşullarda 0.0115-0.0150 µg/L dozlarında sipermetrinin bu oranları azaltma yönündeki etkileri aynı dozlarda yaşama oranlarının da düşük olmasından kaynaklanmaktadır ki bu gözlem geri kalan verileri de etkilemektedir. Balık sinyalinin varlığının vücut genişliği/vücut uzunluğu oranını istatistiksel olarak belirgin olmayan bir şekilde arttırdığı gözlenmektedir (Çiz. 3.1.20., Şekil 3.1.26.).

Elde edilen yumurta sayısı, ilk üreme yaşı, ilk üreme boyu ve yavru sayısı verileri ile gerçekleştirilen iki yönlü ANOVA testinin sonuçları ile Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları Çizelge 3.1.22.-3.1.23.'de gösterilmektedir. Bu oranların şematik gösterimleri ise Şekil 3.1.27.-3.1.28.-3.1.29.-3.1.30'da verilmektedir.

Çizelge 3.1.22. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin iki yönlü ANOVA ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

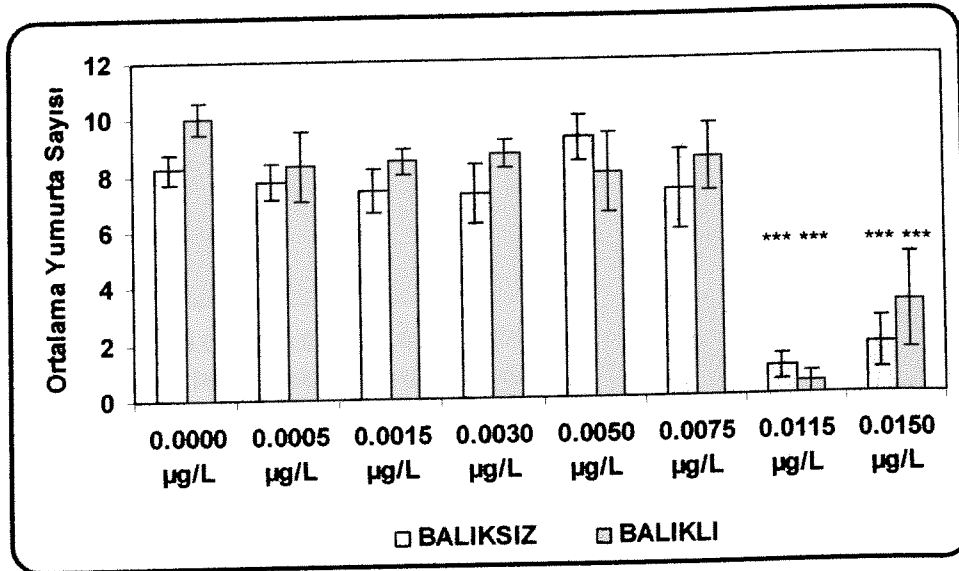
UYGULAMA	YUMURTA SAYISI	İLK ÜREME YAŞI	İLK ÜREME BOYU	YAVRU SAYISI
Balık	0.171	0.004**	0.064	0.002**
Sipermetrin	.000**	0.000***	.337	0.034*
Balık*Sipermetrin	.759	0.370	0.235	0.107

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

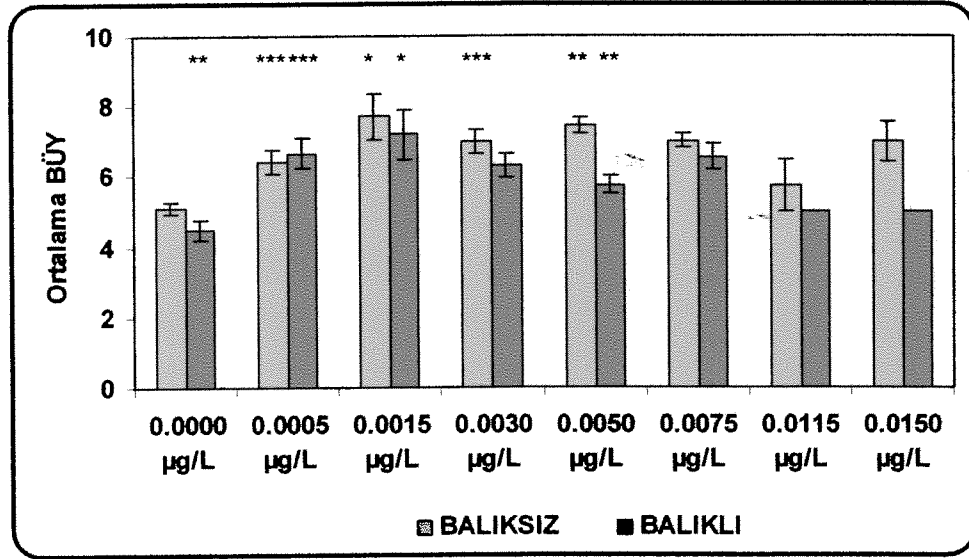
Çizelge 3.1.23. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısı, ilk üreme yaşı ile boyu ve yavru sayısı verilerinin Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testinin sonuçları.

0.0000 µg/L								
UYGULAMA	YUMURTA SAYISI		İLK ÜREME YAŞI		İLK ÜREME BOYU		YAVRU SAYISI	
	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı	Balıksız	Balıklı
0.0005 µg/L	.999	.748	.086↑	.004***↑	.729	.136	.062	.566
0.0015 µg/L	.976	.815	.000***↑	.000***↑	1.000	.997	.111	.644
0.0030 µg/L	.948	.905	.005*↑	.017*↑	1.000	.503	.999	.018*
0.0050 µg/L	.939	.590	.000***↑	.207	.544	.701	.644	.835
0.0075 µg/L	.965	.825	.007***↑	.006***↑	.990	.351	.105	.727
0.0115 µg/L	.000***↓	.000***↓	.906	-	.826	-	.000***↓	.000***↓
0.0150 µg/L	.000***↓	.000***↓	.090↑	.984	.995	1.000	.070↓	.090↓

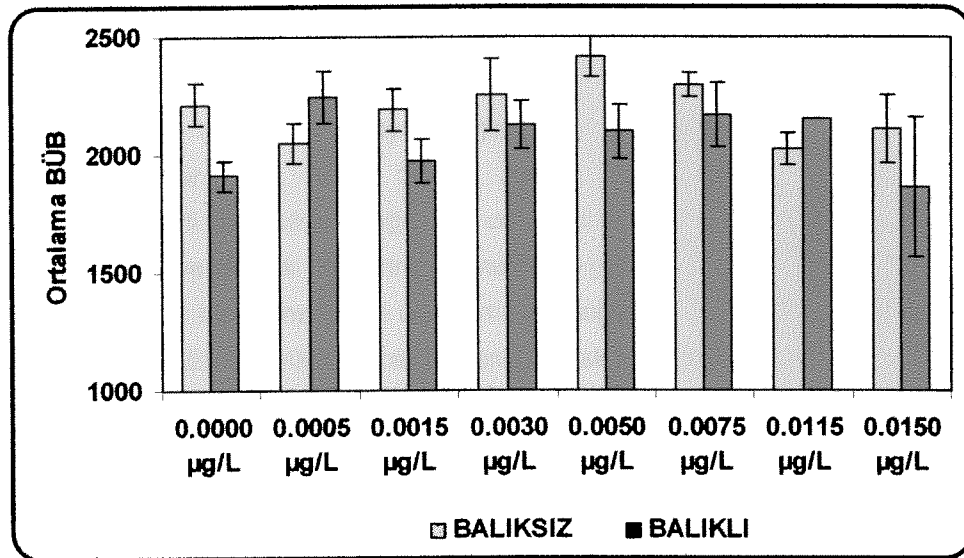
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



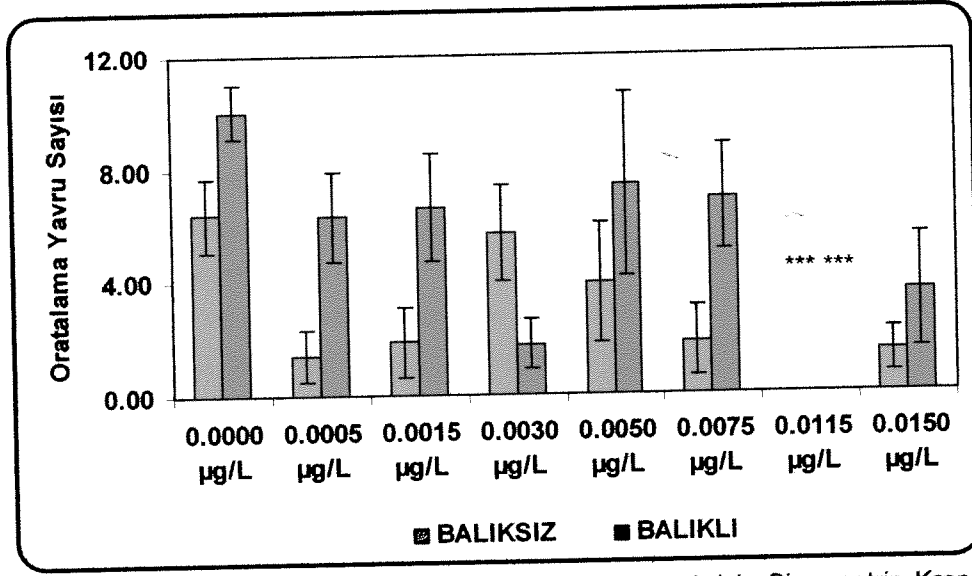
Şekil 3.1.27. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yumurta sayısı verileri (Ortalama±Std hata).



Şekil 3.1.28. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Yaşı (BÜY) verileri (Ortalama±Std hata).



Şekil 3.1.29. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama Birinci Üreme Boyu (BÜB) verileri (Ortalama±Std hata) (y-ekseni 0.00'dan başlamamaktadır).



Şekil 3.1.30. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde ortalama yavru sayısı verileri (Ortalama±Std hata).

Sipermetrinin tekrar kayıt edilmesi için çıkarılan uygunluk raporunda, tatlısu omurgasızları (su piresi) için en düşük LC₅₀ toksisite değerinin 0.0036 µg/L etkin bileşen olduğu belirtilmektedir (U.S. EPA, 2006). Bu sonuçların, tatlısu omurgasızlarının diğer tatlısu organizmalarına kıyasla sipermetrine karşı belirgin bir şekilde daha hassas ve dolayısıyla çok daha fazla akut risk (ölüm) altında olduklarını gösterdiği belirtilmektedir (U.S. EPA, 2006). Ancak, tatlısu omurgasızları için kronik risk belirleyebilmek için yeterli veri bulunmadığından, onun yerine koyabilmek için nehir ağızı/deniz suyu omurgasızlarının akut ve kronik verilerine dayanarak yapılan bir hesaplama göre, NOAEC (gözlemlenebilir herhangi bir olumsuz etki oluşturmayan yoğunluk) değeri 0.00059 µg/L etkin bileşen olarak türetilmiştir (U.S. EPA, 2006). Ancak, avlanma baskısının organizmaların pestisitlerden nasıl etkileneceğini belirleyen önemli bir etmen olduğu unutulmamalıdır (Hanazato ve Dodson, 1992; Relyea ve Mills, 2001; Relyea, 2004). Bu deneyde kullanılan sipermetrin dozları bu doğrultuda belirlenmiştir.

Sipermetrinin etkileri incelendiğinde, üreme değişkenlerini etkileyen önemli bir etken olduğu (Çiz. 3.1.22-3.1.23.) ve artan dozla beraber balık sinyalinin hem yokluğunda, hem de varlığında ortalama yumurta sayısını azalttığı gözlenmektedir (Şekil 3.1.27.). Ek olarak, balık sinyalinin hem içermeyen, hem de içeren koşullarda, bütün dozlarda 0.000 µg/L dozuna kıyasla yumurta üretiminin ilk başladığı yaş yükselmiş (Şekil 3.1.28), dolayısıyla sipermetrin *D. pulex* bireylerinin üreyebilir olgunluğa gelmelerini geciktirmiştir. Dahası, balık sinyalinin yokluğunda ve/veya varlığında sipermetrine bağlı ilk üreme yaşının yükselmesi ve üretilebilen yumurta sayısının azalması, artan dozla azalan yavru sayısı gözlemini açıklamaktadır (Şekil 3.1.30). Literatürde balık sinyalinin çeşitli *Daphnia* türleri üzerinde üreme yaşını azaltma ve yumurta sayısını artırma etkisi çok yaygın olarak deneysel ve gözlemsel olarak kaydedilmiştir (Machacék, 1991, 1993; Stibor, 1992; Weider ve Pijanowska, 1993; Reede, 1995). Bizim sonuçlarımızda bu durumla çok uyumludur. Şöyleki; balık sinyalinin sipermetrin ile

etkileşimi incelendiğinde ise, sipermetrinle artan ilk üreme yaşının balık sinyalinin varlığında azaldığı, ve sipermetrinle azalan yumurta ve yavru sayılarının balık sinyalinin varlığında arttığı gözlenmektedir (Şekil 3.1.27.-3.1.28.-3.1.30). Ayrıca, balık sinyalinin varlığında ilk üreme yaşının yanısıra, ilk üreme boyunun da azaldığı gözlenmektedir (Şekil 3.1.29.). Bu gözlemler, balık sinyalinin varlığında – aynı sipermetrin dozunu içeren ama balık sinyali içermeyen uygulamaya kıyasla – bireylerin daha erken ve daha küçük boylarda üremeye başladığı varsayımını desteklemektedir. Karbaril, fenvalerate, lindan, methomil gibi birçok kirleticinin *Daphnia*'larda büyüme hızını azaltarak, ilk üreme yaşını geciktirdiği, ilk üreme boyunu küçülttüğü ve sonuç olarak yumurta sayısını azalttığı önerilmektedir (Hanazato, 2001; Kashian ve Dodson, 2002; Antunes ve ark., 2004; Pieters ve ark., 2005; Reynaldi ve ark., 2006; Pereira ve Gonçalves, 2007). Bu çalışmada ki *Daphnia pulex* üzerindeki sipermetrin-kaynaklı benzer etkiler, pestisite maruz kalmış *Daphnia*'ların yüzme etkinliklerinin ve dolayısıyla filtrasyon oranlarının azalması nedeniyle azalan beslenme verimi sonucunda, büyüme ve üreme için ayrılabilen özkaynak enerjisinin azalabileceği sonucu ile örtüşmektedir. (Gliwicz ve Sieniawaska, 1986; McKee ve Knowles, 1986; Baird ve ark., 1990; Lauridsen ve ark., 2003; Christensen ve ark., 2005). Genel olarak, kirleticilerin avlanma baskısı ile etkileşimini inceleyen çalışmalar, *Daphnia* üzerindeki omurgasız (*Chaoborus*) avlanma baskısı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda, *Daphnia* türlerinin omurgasız avlanma baskısı karşısında gösterdikleri üreme ile ilgili uyarlamalar, kirleticilerin neden olduğu değişimlerle benzerlik göstermektedir. Yani, her iki stres etmeninin de büyüme hızını azaltarak ilk üreme yaşını geciktirebileceği, ilk üreme boyunu küçültebileceği ve yumurta sayısını azaltabileceği önerilmektedir. Bu benzer tepkiler, *Chaoborus* avcı baskısının insektisit ile beraber sinerjistik bir etkileşim göstermesine neden olabileceği savunulmaktadır (Hanazato ve Dodson, 1992; Dodson ve Hanazato, 1995). Ancak bu çalışmada balık sinyalinin varlığında – aynı sipermetrin dozunu içeren ama balık sinyali içermeyen uygulamaya kıyasla – görülen ilk üreme yaşının azalması, ilk üreme boyunun küçülmesi ve yumurta ile yavru sayılarının artması, birçok çalışma tarafından belirtilen çeşitli *Daphnia* türlerinin avcı balık varlığında daha erken ve küçük boyda üreme ve yumurta sayısının artması yönünde uyarılama göstererek devamlılıklarını sağladıkları gözlemini desteklemektedir (Macháček, 1991; Reede, 1995; Teschner, 1995; Weber ve Declerck 1997; Burns, 2000; Spaak ve ark., 2000; Sakwinska, 2002). Sonuç olarak, balık avcı baskısının etkileri ile kirleticilerin etkileri zıtlık göstermektedir. Bu çalışmada sipermetrinin etkisini balık avlanma baskısının daha az şiddetli hale getirme yönünde etkileyebileceği önerilmektedir. Balık sinyalinin bu deneyde sipermetrin-kaynaklı üremedeki olumsuz etkilerini hafifletmesi, önceki deneyde belirtilen sipermetrin-kaynaklı yaşama oranındaki azalmayı artırması yönündeki etkisine benzerlik göstermektedir. Diğer bir deyişle, basit karşılaştırmalı etki modeline göre balık sinyali insektisit etkisi üzerine azalan stres (antagonist) etkisi gösteriyor olabilir (Folt ve ark., 1999).

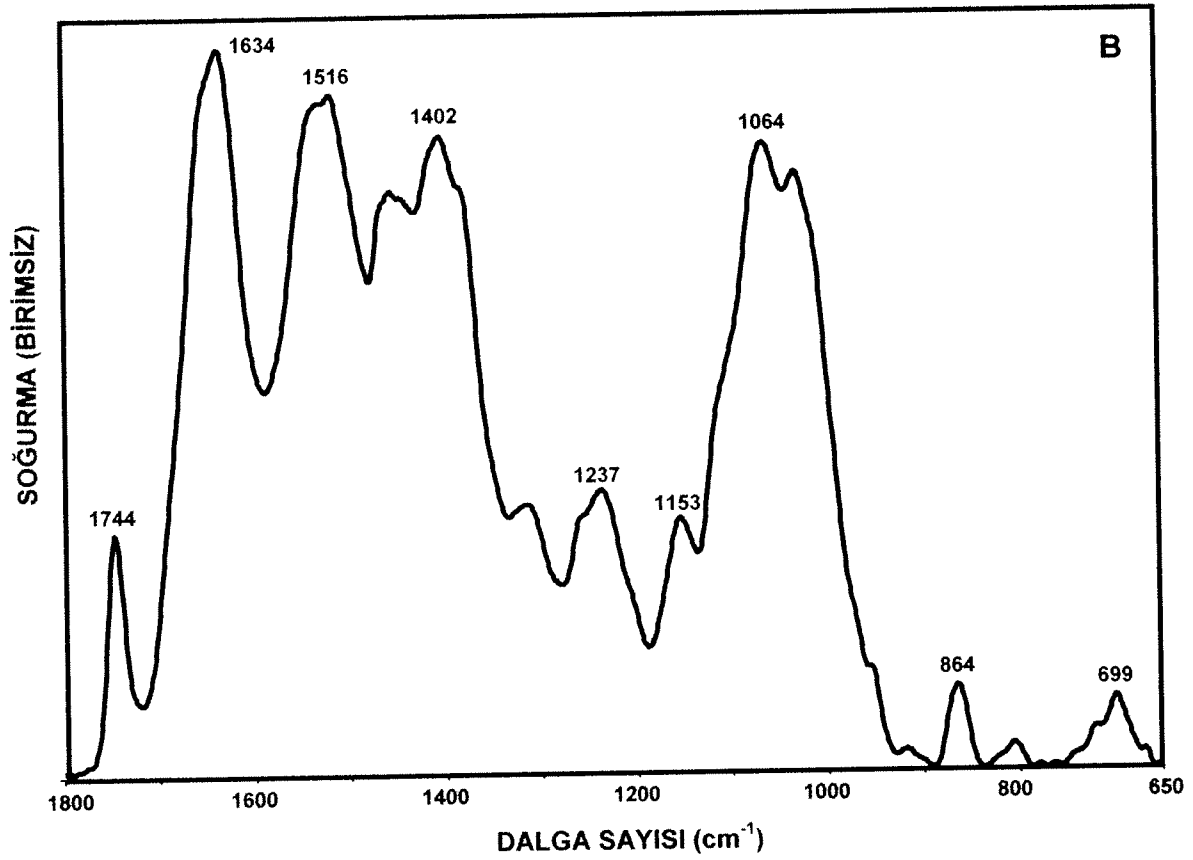
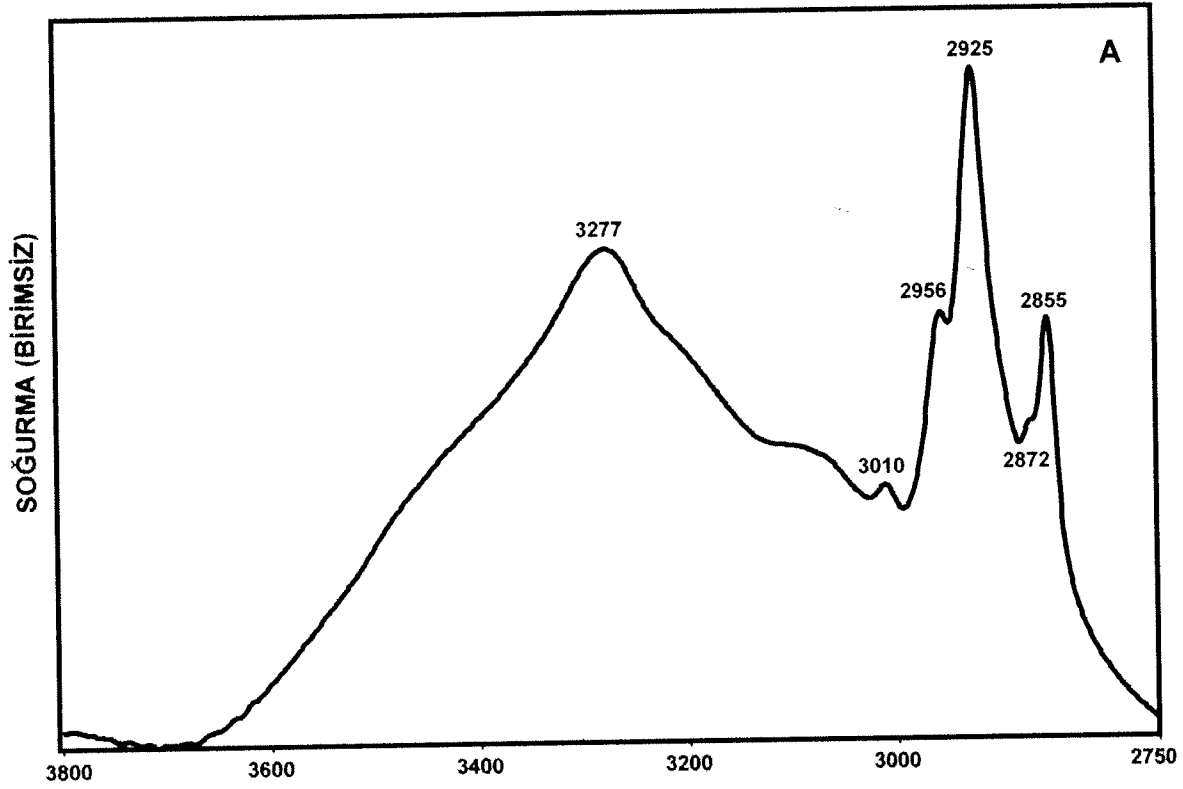
3.2. SPEKTROSKOPİK DENEYLERİN BULGULARI VE TARTIŞILMASI

Toksisite deneylerinden sonra kurutulan *Daphnia* bireylerinin ATR-FTIR tekniği ile elde edilmiş 3800 - 650 cm^{-1} bölgesindeki spektrumlarına bir örnek Şekil 3.2.1'de gösterilmektedir. Şekilden görüleceği üzere spektrum pek çok bant içermektedir. Bir moleküldeki herhangi bir bağ veya bağ grubu kızıl ötesi spektrumlarında karakteristik soğurma bantları oluşturur. Dolayısıyla, her bir bant belirli bir bağ ya da bağ grubuna atfedilebilir (Diem, 1993).

3050 - 2800 cm^{-1} bölgesinde, genel olarak lipidlerden kaynaklanan olefinik, metilen (CH_2) ve metil (CH_3) gruplarının simetrik ve asimetrik gerilme titreşimlerinin bantları görülür (Watts, 1986; Takahashi ve ark., 1991; Melin ve ark., 2000; Cakmak ve ark., 2003; Severcan ve ark., 2005). Çalışılan sistemde, bahsi geçen aralıkta sırasıyla olefinik ($\sim 3010 \text{ cm}^{-1}$), CH_3 asimetrik ($\sim 2956 \text{ cm}^{-1}$), CH_2 asimetrik ($\sim 2925 \text{ cm}^{-1}$), CH_3 simetrik ($\sim 2872 \text{ cm}^{-1}$) ve CH_2 simetrik ($\sim 2855 \text{ cm}^{-1}$) gerilme titreşimlerinin bantlarının alanları incelenmiştir. Olefinik bandı ($=\text{CH}$) doymamış lipidler hakkında bilgi vermektedir. CH_2 simetrik ve CH_2 ve CH_3 asimetrik bantları daha ziyade lipidlerden, CH_3 simetrik bandı ise daha ziyade proteinlerden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla, CH_2 asimetrik bandının alanının CH_2 simetrik bandının alanına olan oranı lipid miktarı için bir gösterge olarak kullanılabilir.

Parmakizi bölgesi olarak da bilinen 1800 - 650 cm^{-1} aralığında ise çeşitli lipid, protein, polisakkarit ve nükleik asit bantları görülür (Rigas ve ark., 1990; Wong ve ark., 1991; Jackson ve ark., 1998; Haris ve Severcan, 1999; Lyman ve ark., 2001; Cakmak ve ark., 2006; Dogan ve ark., 2007). Çalışılan sistemde, bahsi geçen aralıkta sırasıyla C=O Ester ($\sim 1744 \text{ cm}^{-1}$), Amid 1 ($\sim 1634 \text{ cm}^{-1}$), PO_2^- asimetrik ($\sim 1237 \text{ cm}^{-1}$) ve CO-O-C asimetrik ($\sim 1153 \text{ cm}^{-1}$) gerilme titreşimlerinin bantlarının alanları incelenmiştir. Ester bandı (C=O) trigliserit ve kolesterol esterleri, Amid 1 bandı (başlıca C=O gerilme) ise proteinler hakkında bilgi vermektedir. Dolayısıyla, ester bandının alanının amid 1 bandının alanına olan oranı lipid:protein oranı hakkında bilgi edinmek üzere kullanılmaktadır. Ayrıca CH_2 gerilme titreşimlerinin bant alanlarının toplamının (CH_2 asimetrik + CH_2 simetrik) Amid I bandının alanına oranı da lipid:protein oranını elde etmek üzere kullanılır. PO_2^- antisimetrik bandı daha ziyade nükleik asitler hakkında bilgi verirken, CO-O-C asimetrik bandı ise glikojen grupları hakkında bilgi vermektedir.

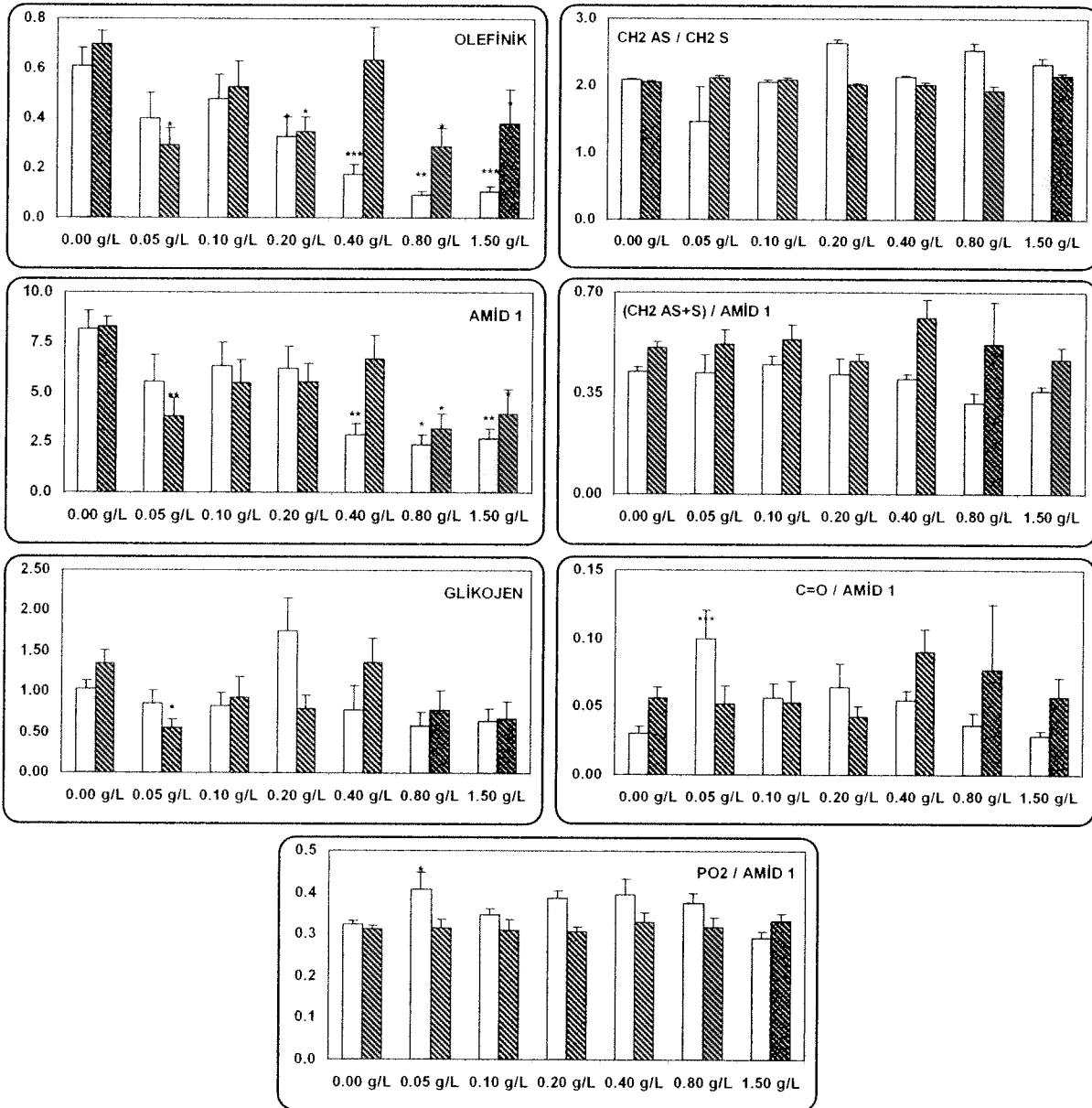
Sinyal şiddetinin artması, sinyalin karşılık geldiği grubun konsantrasyonunun artması; sinyal şiddetinin azalması da o grubun konsantrasyonunun azalması anlamına gelmektedir (Casal ve Mantsch, 1984; Cakmak ve ark., 2003; Gorgulu ve ark., 2007). Eğrinin altında kalan alanın da, bant şiddeti gibi madde konsantrasyonundaki değişikliklere doğru orantılı olarak karşılık geldiği bilinmektedir. Bant şiddeti ve altında kalan alan sonuçlarının birbirleriyle tutmasından dolayı bu çalışmada sadece bant alanı sonuçları sunulmuştur (Lyman ve Murray-Wijelath, 1999; Kačuráková ve Wilson, 2001; Cakmak ve ark., 2006; Toyran ve ark., 2006; Dogan ve ark., 2007; Gorgulu ve ark., 2007).



Şekil 3.2.1. *Daphnia* bireylerinin ATR-FTIR tekniği ile elde edilmiş 3800-2750 cm^{-1} (A) ve 1800-650 cm^{-1} (B) dalga sayısı aralıklarındaki spektrumlarına birer örnek.

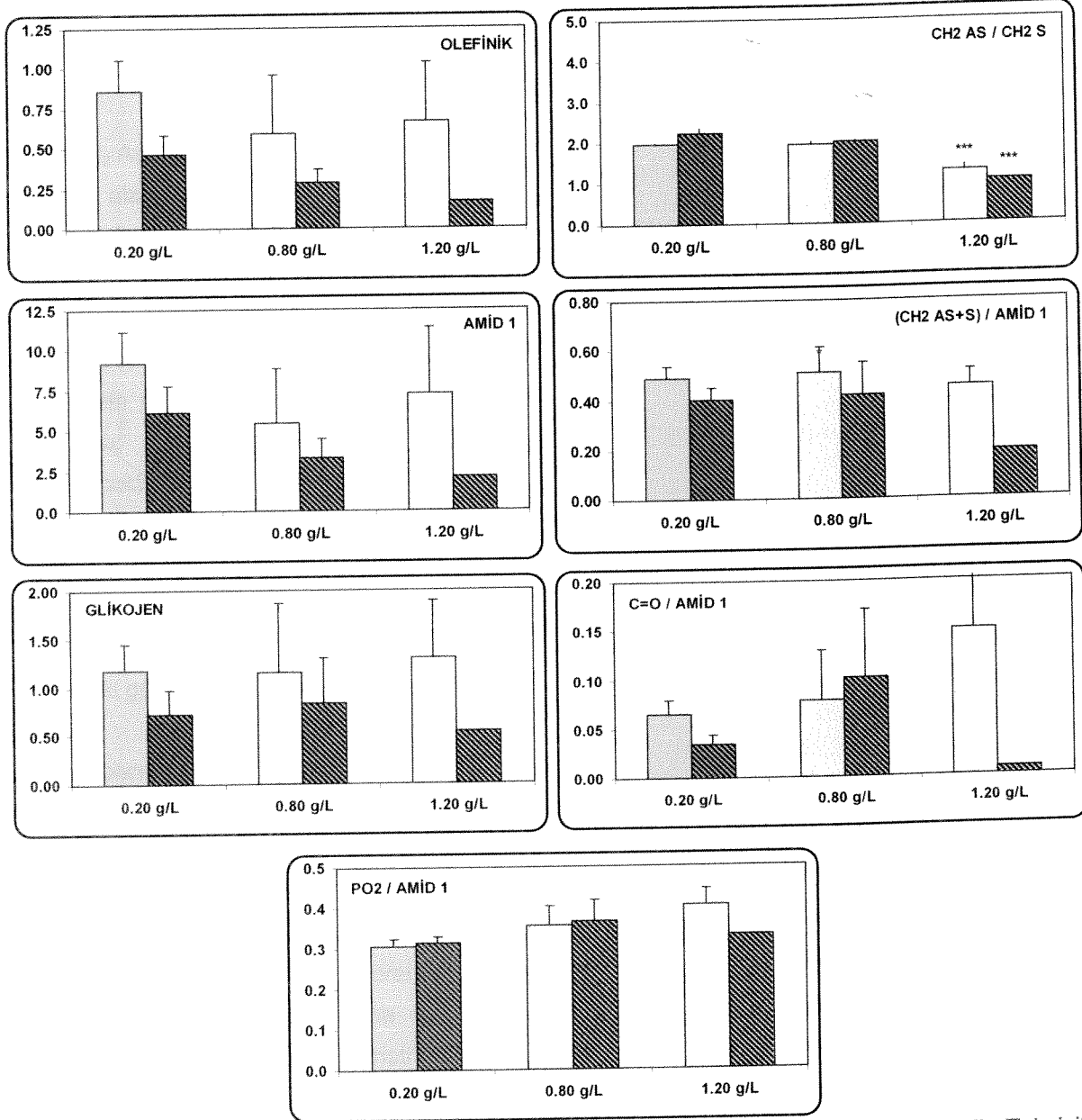
3.2.1. Tuzluluk Deneyleri

FTIR spektrumlarında görülen olefinik, amid 1 ve glikojen bantlarının alanları, CH₂ asimetrik bandının alanının CH₂ simetrik bandının alanına oranı, CH₂ asimetrik ve simetrik bantlarının alanlarının toplamının Amid I bandının alanına oranına göre belirlenen lipid:protein oranı, C=O ester bandının alanının amid 1 bandının alanına oranına göre belirlenen lipid:protein oranı ve PO₂⁻ asimetrik bandının alanının amid 1 bandının alanına oranına göre belirlenen nükleik asit:protein oranı değerlerinin şematik gösterimi, Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi ve Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi için sırasıyla Şekil 3.2.2 ve 3.2.3'de gösterilmektedir.



Şekil 3.2.2. Yaşama Oranı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan tuzluluk konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik, [(CH₂ Asimetrik + CH₂

Simetrik)/Amid 1], C=O Ester/Amid 1 ve PO₂⁻ Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (***P* < 0.001, ***P* < 0.01, **P* < 0.05).



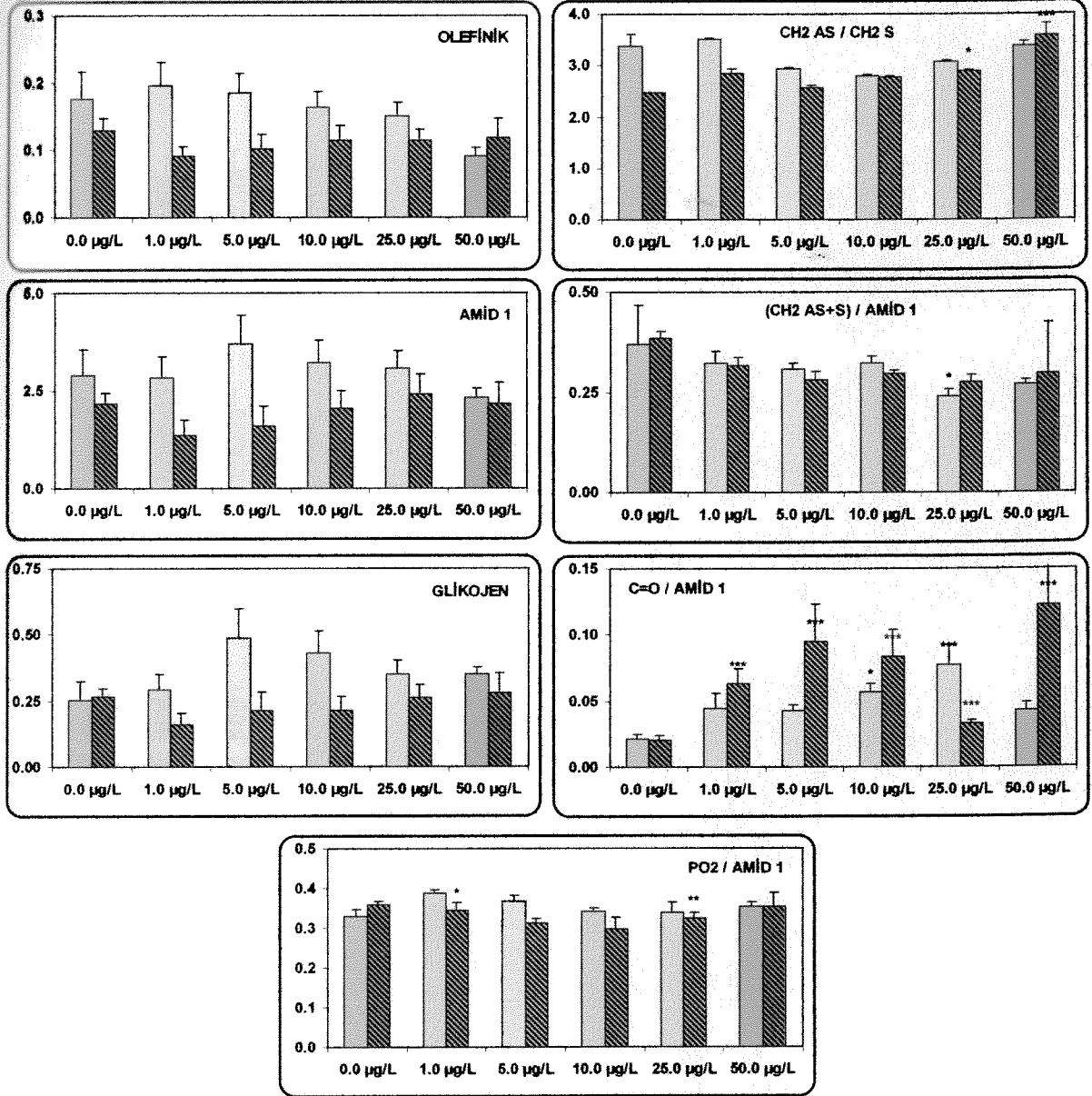
Şekil 3.2.3. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan tuzluluk konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik, [(CH₂ Asimetrik + CH₂ Simetrik)/Amid 1], C=O Ester/Amid 1 ve PO₂⁻ Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (***P* < 0.001, ***P* < 0.01, **P* < 0.05).

Bütün sonuçlar birarada irdelendiğinde, *Daphnia* bireylerinde balık sinyalinin yokluğunda olefinik bandının alanının tuzluluk varlığında azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir. Olefinik bandı lipid moleküllerinin asil zincirlerinin doymamışlığı hakkında bilgi edinmek üzere kullanılabilir (Takahashi ve ark., 1991, Liu ve ark., 2002; Severcan ve ark., 2005). Dolayısıyla, tuzluluk ile beraber bu bandın alanında gözlemlenen azalmanın lipid peroksidasyonunun artmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Sills ve ark., 1994; Kinder ve ark., 1997).

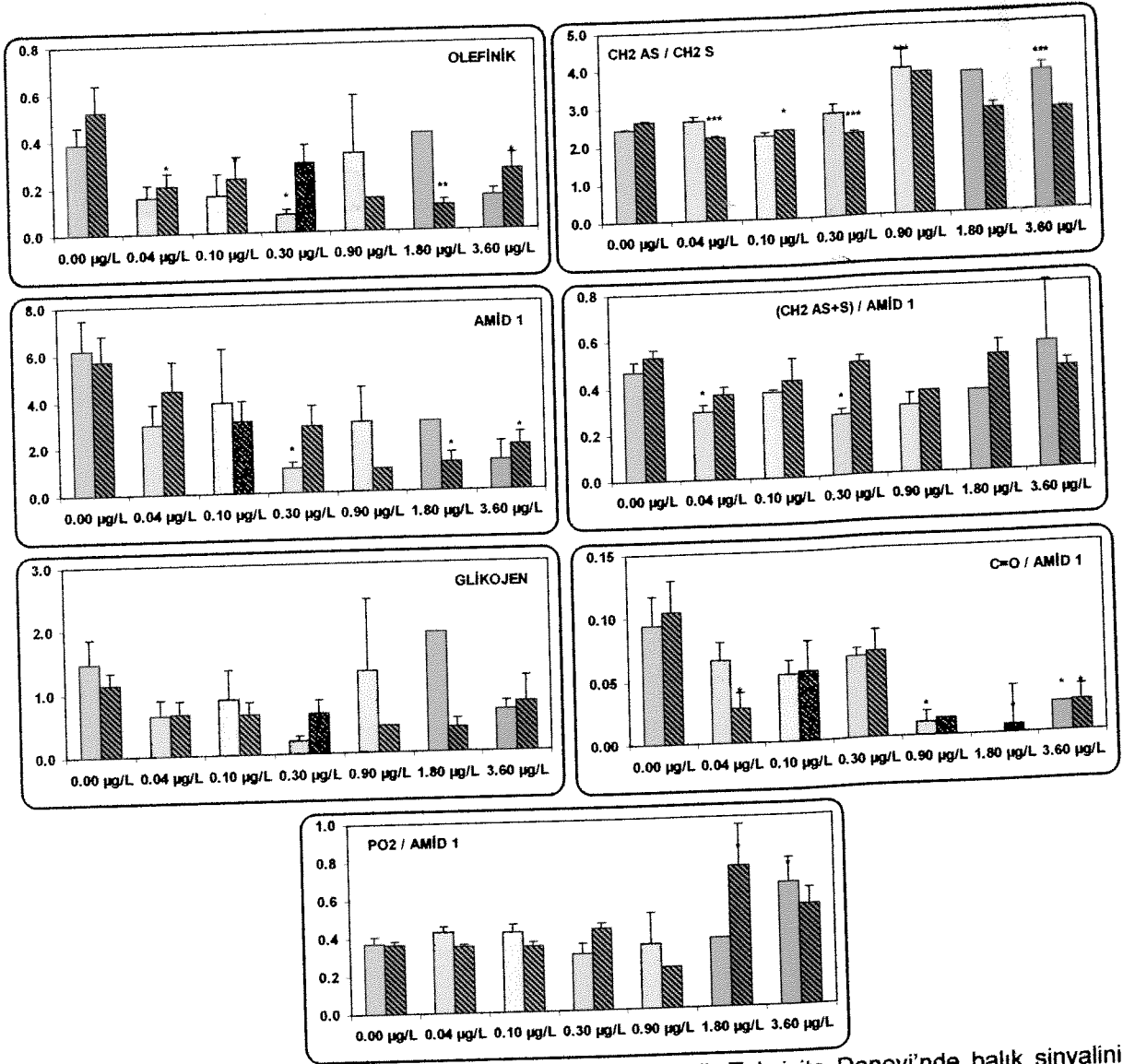
Lipid (CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik), protein (amid 1) ve karbonhidrat (glikojen) gruplarına karşılık gelen bantların alanlarının da tuzlulukla beraber azalma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Stres altında ki organizmaların artan enerji ihtiyaçlarını karşılayabilmek için lipidlerin yanısıra, karbonhidrat ve protein tüketimine başvurdukları bilindiğinden, bu sonuç artan tuzluluğun önemli bir stres etmeni olduğunu ve ozmoregülasyon için artan fizyolojik maliyetin enerji bütçesi açısından yük teşkil ettiğini göstermektedir (Arasta e ark., 1996; Song ve Brown, 1998; Lignot ve ark., 2000). Dahası, tuzlulukla beraber lipid:protein oranlarında ([CH₂ Asimetrik + CH₂ Simetrik]/Amid 1 ve C=O Ester/Amid 1) gözlenen azalışların, benzer bir şekilde enerji ihtiyacını karşılama eğiliminden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, tuzlulukla beraber artan protein tüketimi sonucu nükleik asit:protein oranının arttığı önerilmektedir (Mourant ve ark., 2003). Balık sinyalinin varlığının, yüksek tuzluluk dozlarında (özellikle 0.40 g/L), azalan olefinik, protein, glikojen ve lipid:protein alanlarını arttırdığı ve artan nükleik asit:protein oranını azalttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, toksisite deneylerinde gözlenen balık avlanma baskısını benzeten balık sinyalinin varlığının *D. pulex* bireylerinin tuzluluğa karşı direncini artırması yönündeki gözlemler ile örtüşmektedir.

3.2.2. Sipermetrin Deneyleri

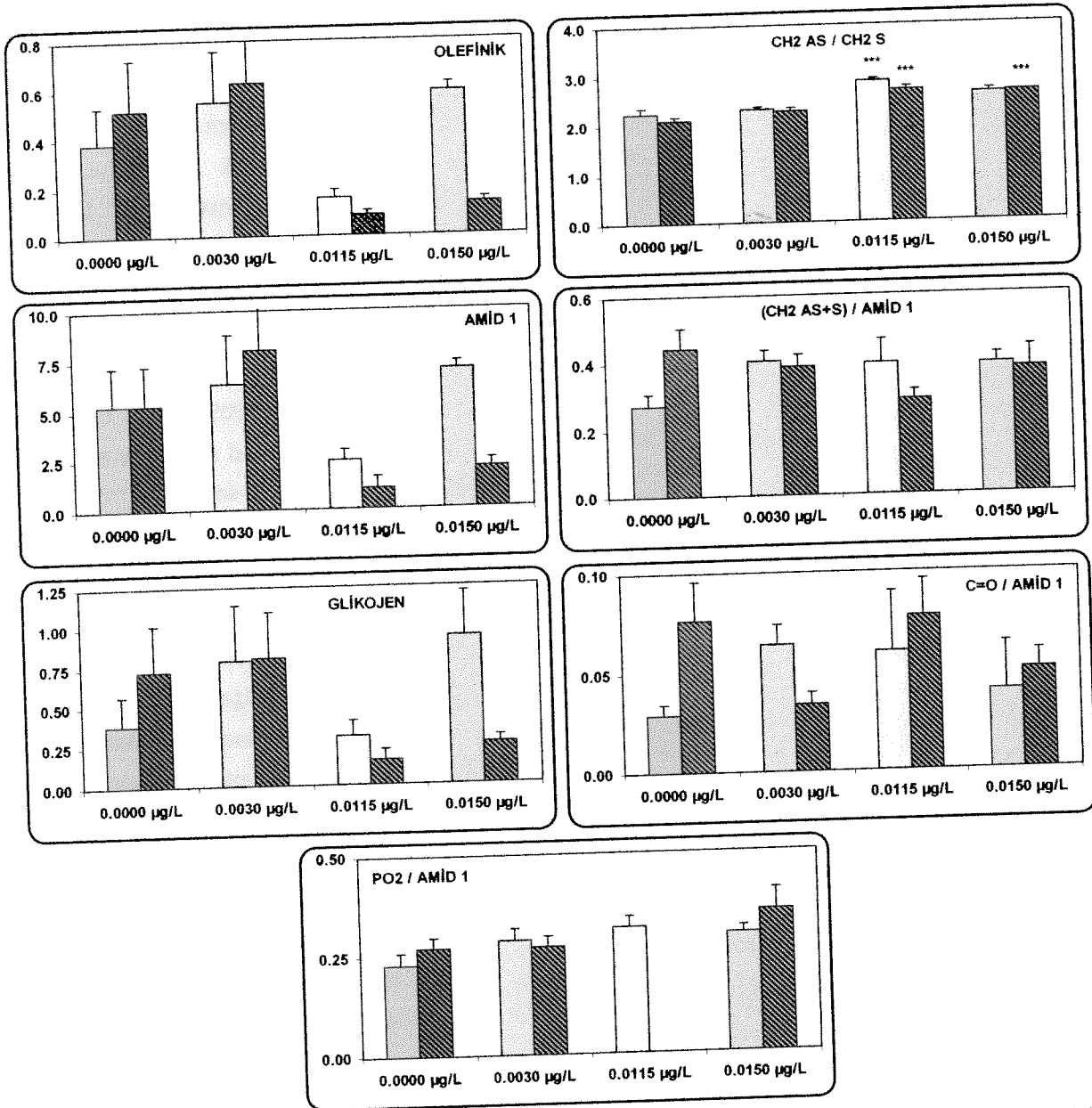
FTIR spektrumlarında görülen olefinik, amid 1 ve glikojen bantlarının alanları, CH₂ asimetrik bandının alanının CH₂ simetrik bandının alanına oranı, CH₂ asimetrik ve simetrik bantlarının alanlarının toplamının Amid I bandının alanına oranına göre belirlenen lipid:protein oranı, C=O ester bandının alanının amid 1 bandının alanına oranına göre belirlenen lipid:protein oranı ve PO₂⁻ asimetrik bandının alanının amid 1 bandının alanına oranına göre belirlenen nükleik asit:protein oranı değerlerinin şematik gösterimi, Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması, Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi ve Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi için sırasıyla Şekil 3.2.4, 3.2.5 ve 3.2.6'da gösterilmektedir.



Şekil 3.2.4. Yüksek Sipermetrin Etkisini Belirleme Araştırması'nda balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan sipermetrin konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik, [(CH₂ Asimetrik + CH₂ Simetrik)/Amid 1], C=O Ester/Amid 1 ve PO₂⁻ Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (***) $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).



Şekil 3.2.5. Yaşama Oranı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan sipermetrin konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik, [(CH₂ Asimetrik + CH₂ Simetrik)/Amid 1], C=O Ester/Amid 1 ve PO₂⁻ Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (***) $P < 0.001$, **) $P < 0.01$, *) $P < 0.05$.



Şekil 3.2.6. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımını Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde balık sinyalinin yokluğunda (boş çubuk) ve varlığında (çizgili çubuk) artan sipermetrin konsantrasyonlarında FTIR spektrumlarında görülen Olefinik, Amid 1, Glikojen, CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik, [(CH₂ Asimetrik + CH₂ Simetrik)/Amid 1], C=O Ester/Amid 1 ve PO₂⁻ Asimetrik/Amid 1 bant alanlarının ve/veya bant alan oranlarının değişimi (Ortalama±Std hata). İstatistiksel anlam, Dunnett'in ikili çoklu karşılaştırma t-testine göre belirlenmiştir (***) $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

Bütün sonuçlar birarada irdelendiğinde, *Daphnia* bireylerinde balık sinyalinin hem yokluğunda, hem de varlığında olefinik bandının alanının sipermetrin varlığında azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir. Olefinik bandı lipid moleküllerinin asil zincirlerinin doymamışlığı hakkında bilgi verir (Takahashi ve ark., 1991, Liu ve ark., 2002; Severcan ve ark., 2005). Dolayısıyla, sipermetrin varlığında bu bandın alanında gözlemlenen azalmanın lipid peroksidasyonunun artmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Sills ve ark., 1994; Kinder ve ark., 1997). Bu gözlem, birçok pestisitlerin organizmaları oksidatif strese maruz bıraktığı gözlemi ile desteklenmektedir (Abdollahi ve ark., 2004). Dahası, birçok sucul organizmada piretroid insektisitlerine maruz kalma durumunda serbest radikallerin arttığı ve bu artışı dengelemek üzere antioksidan enzim sistemlerinin etkinliklerinin de arttığı belirtilmektedir (Gowland ve ark., 2002; Meems ve ark., 2004; Li ve ark., 2005). Yüksek sipermetrin dozlarında, balık sinyalinin varlığının bu bandın alanının azalmasına sebep olduğu gözlenmektedir (2-yönlü ANOVA; $p < 0.001^{***}$). Diğer bir deyişle, balık sinyalinin varlığı oksidatif strese neden oluyor olabilir. Bu gözlem, avcı sinyalinin varlığında pestisitlerin etkisinin daha fazla oluşunu açıklıyor olabilir. (Hanazato ve Dodson, 1992; Dodson ve Hanazato, 1995; Relyea ve Mills, 2001; Relyea, 2004; Maul ve ark., 2005).

Protein ve karbonhidrat hakkında bilgi veren amid 1 ve glikojen bantlarının alanlarının sipermetrin varlığında azalma eğilimi gösterdiği gözlenmektedir. Bu sonuç, birçok çalışma tarafından çeşitli sucul organizmalarda sipermetrin maruziyeti durumunda gözlenen protein, karbonhidrat ve glikojen miktarlarındaki azalmayı desteklemektedir (David ve ark., 2004; Tripathi ve Singh, 2004; Begum, 2005; Christensen ve ark., 2005; Borges ve ark., 2007). Bu durumun, pestisite maruz kalma durumunda azalan besin tüketimi – dolayısıyla azalan enerji girişi – ve stres koşullarında artan enerji ihtiyacının dengelenebilmesi için protein ve karbonhidrat yıkımının artmasından ve hücrelerin yıkımı/ölümü sonucu protein sentezinin yetersiz kalmasından kaynaklanabileceği önerilmektedir (Gliwicz ve Sieniawaska, 1986; Bradbury ve ark., 1987; Baird ve ark., 1990; Lauridsen ve ark., 2003; Christensen ve ark., 2005). Dahası, yüksek sipermetrin dozlarına maruz kalma durumunda (akut) lipid:protein oranında (C=O Ester/Amid 1) gözlenen artışların daha ziyade protein miktarında gözlemlenen azalıştan ve lipid miktarında gözlemlenen artıştan (CH₂ Asimetrik/CH₂ Simetrik) kaynaklanabileceği önerilmektedir. Ancak, orta seviyeli sipermetrin dozlarına maruz kalma durumunda (kronik) bu oranın azalma eğilimi gösterdiği gözlenmektedir (Şekil 3.2.5). Bu durumun, uzun süre boyunca sipermetrine maruz kalma durumunda lipid yıkımının (ör. doymamış lipid bağlarının) daha da şiddetli olmasından kaynaklanabileceği önerilmektedir. Ayrıca, uzun süre boyunca sipermetrine (1.80-3.60 µg/L) maruz kalma durumunda protein yıkımının artması sonucu nükleik asit:protein oranının arttığı düşünülmektedir (Mourant ve ark., 2003).

3.3. MODELLEME ARAŞTIRMALARININ BULGULARI VE TARTIŞILMASI

3.3.1. Stres Etmenlerinin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi

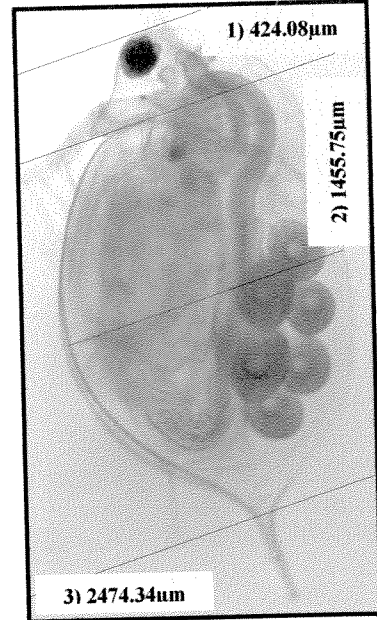
Stres etmenlerinin *Daphnia*'nın yaşam döngüsündeki özkaynak dağılımı üzerindeki etkilerini ilgili bir model geliştirilmesi için, zooplankton popülasyon dinamiği modellenmesi konusunda uzman olan Almanya Constance Üniversitesi Limnoloji Enstitüsü'nde araştırmacı olarak çalışan Dr. Karsten RINKE ile ortak çalışma yapılmıştır.

Bu modelleme çalışmaları esnasında, sıcaklık ve besin etkisi ile beraber tuzluluk kronik toksisite deneyinden elde edilen bilgi ışığında geliştirilen ve bu deneylerde kullanılmak üzere çeşitli tuzluluk/sipermetrin dozlarına aklimize edilen *D. pulex* kültürleri ile gerçekleştirilen yaşam döngüsünde özkaynak dağılımı belirlemek için tuzluluk/sipermetrin kronik toksisite deneylerinin verileri kullanılmıştır.

3.3.1.1. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Etmenlerinin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi

Bu modelleme çalışmaları esnasında "Yaşama Oranı Belirlemek için Sıcaklık ve Besin Etkisi ile Beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi" verileri kullanılmıştır.

i) Vücut Şekli: Sıcaklık ve besin etkisi ile beraber tuzluluk kronik toksisite deneyi sırasında üç günde bir çekilen fotoğraflardan vücut uzunluğu ve vücut genişliği ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.3.1). Vücut şekli için bir gösterge olarak vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranı kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan uygulamaların vücut şekli üzerine etkilerinin istatistiksel anlamını hesaplamak üzere ANOVA istatistiksel testi uygulanmıştır. Çizelge 3.3.1 ve Şekil 3.3.2'den de görüldüğü gibi, bütün uygulamalar bireylerin vücut şeklinde istatistiksel olarak anlamlı değişimlere sebep olmuştur.

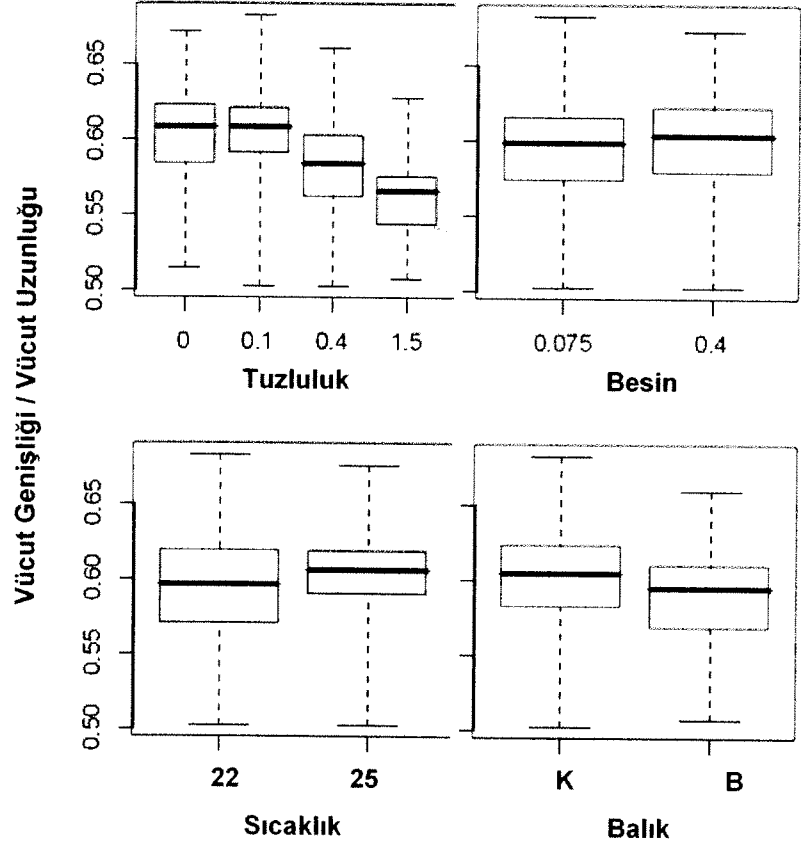


Şekil 3.3.1. *Daphnia pulex*

ölçümler:

- 1) Kafa uzunluğu
- 2) Vücut genişliği
- 3) Vücut uzunluğu

Şekil 3.3.2 Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut şekillerinin değişik etmenlere bağlı iki çubuk çizimleri.



Çizelge 3.3.1. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut şekillerinin ANOVA testinin sonuçları.

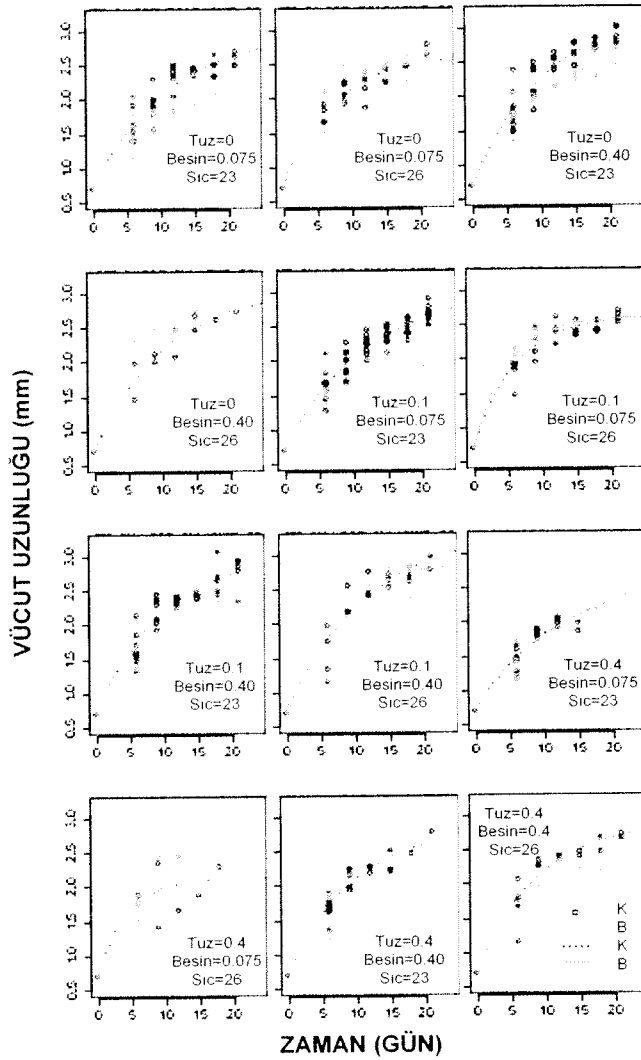
UYGULAMA	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	İstatistiksel Anlam Pr(>F)
Tuz	1	0.06620	0.06620	75.0093	< 2.2e-16*
Sıcaklık	1	0.00416	0.00416	4.7142	0.0303540*
Besin	1	0.00969	0.00969	10.9760	0.0009854***
Balık	1	0.02478	0.02478	28.0744	1.709e-07***
Artıklar	535	0.47200	0.00088		

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

ii) **Somatik Büyüme:** *Daphnia*'nın büyüme eğrilerini modelleyebilmek için von Bertalanffy büyüme denklemi (von Bertalanffy, 1957) kullanılmıştır (Rinke ve Petzoldt, 2003; Rinke ve Vijverberg, 2005). Bu denklem, *Daphnia* gibi değişken büyüme gösteren organizmaların somatik büyümelerini modellemek üzere yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Denklem şu şekilde gösterilmektedir:

$$L(t) = L_{\max} - (L_{\max} - L_0) \cdot \exp(-kt)$$

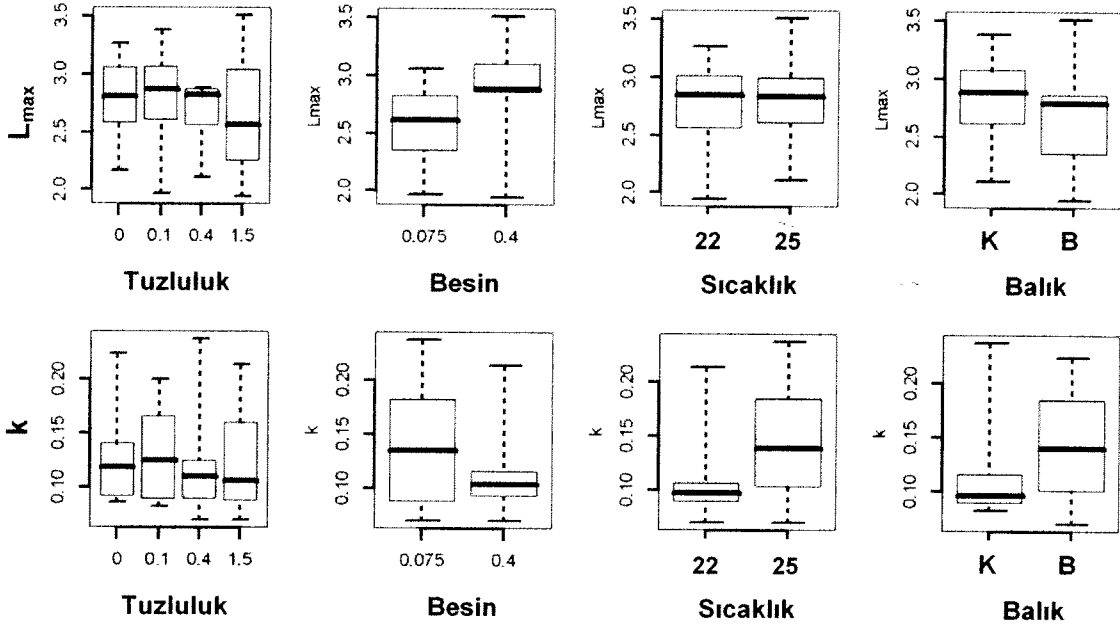
L(t): t zamanındaki vücut uzunluğu
 L_{\max} : Maksimum vücut uzunluğu
 L_0 : t=0'daki vücut uzunluğu [yavru (neonate) uzunluğu]
k: von Bertalanffy sabiti [başlangıç eğim için şekil değişkeni (shape parameter for initial slope)]



Şekil 3.3.3. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut uzunluklarının değişik etmenlere bağlı büyüme eğrilerinin çizimleri.

Bu von Bertalanffy denklemi, bir doğrusal olmayan en küçük kareler algoritması ile deneysel verilere [L(t)] uygun hale (fitting) getirilmiştir. Bu şekilde, L_{\max} ve k değerleri belirlenebilmiştir. L_0 0.7mm'ye sabitlenmiştir. Yeterli verinin varolduğu uygulama bileşimlerinin optimize edilmiş büyüme eğrileri Şekil 3.3.3'da gösterilmektedir.

Bu değişimler, büyüme değişkenlerinin iki çubuk çizisi (box-and-whisker plot) olarak Şekil 3.3.4'de görülmektedir. Deneylerde kullanılan uygulamaların somatik büyüme üzerine etkilerinin istatistiksel anlamını hesaplamak üzere ANOVA istatistiksel testi uygulanmıştır. Deneysel uygulamaların maksimum vücut uzunluğu (L_{\max}) üzerindeki etkilerinin istatistiksel anlamları Çizelge 3.3.2'de, k sabiti üzerindeki etkilerinin istatistiksel anlamları ise Çizelge 3.3.3'de verilmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı tek değişim, besin değerinin L_{\max} üzerindeki olumlu etkisidir. Balık sinyalinin ve tuzluluğun etkilerinin görünmemesinin sebebi, verilerdeki aralıkların geniş olmasıdır. Bu değişkenlik fotoğraf çekimlerinin 3 günde bir yapılmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 3.3.4. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde L_{max} değerinin ve k sabitinin değişik etmenlere bağlı iki çubuk çizimleri (K: Kontrol, B: Balık).

Çizelge 3.3.2. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde maksimum vücut uzunluklarının (L_{max}) ANOVA testinin sonuçları.

UYGULAMA	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	İstatistiksel Anlam Pr(>F)
Tuz	1	0.04685	0.04685	0.3617	0.55431
Sıcaklık	1	0.10343	0.10343	0.7986	0.38215
Besin	1	0.93391	0.93391	7.2106	0.01423*
Balık	1	0.21575	0.21575	1.6658	0.21154
Artıklar	20	2.59037	0.12952		

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Çizelge 3.3.3. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde k sabitlerinin ANOVA testinin sonuçları.

UYGULAMA	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	İstatistiksel Anlam Pr(>F)
Tuz	1	0.000002	0.000002	0.0011	0.97414
Sıcaklık	1	0.005205	0.005205	2.5377	0.12684
Besin	1	0.008213	0.008213	4.0046	0.05913
Balık	1	0.003803	0.003803	1.8542	0.18844
Artıklar	20	0.041018	0.002051		

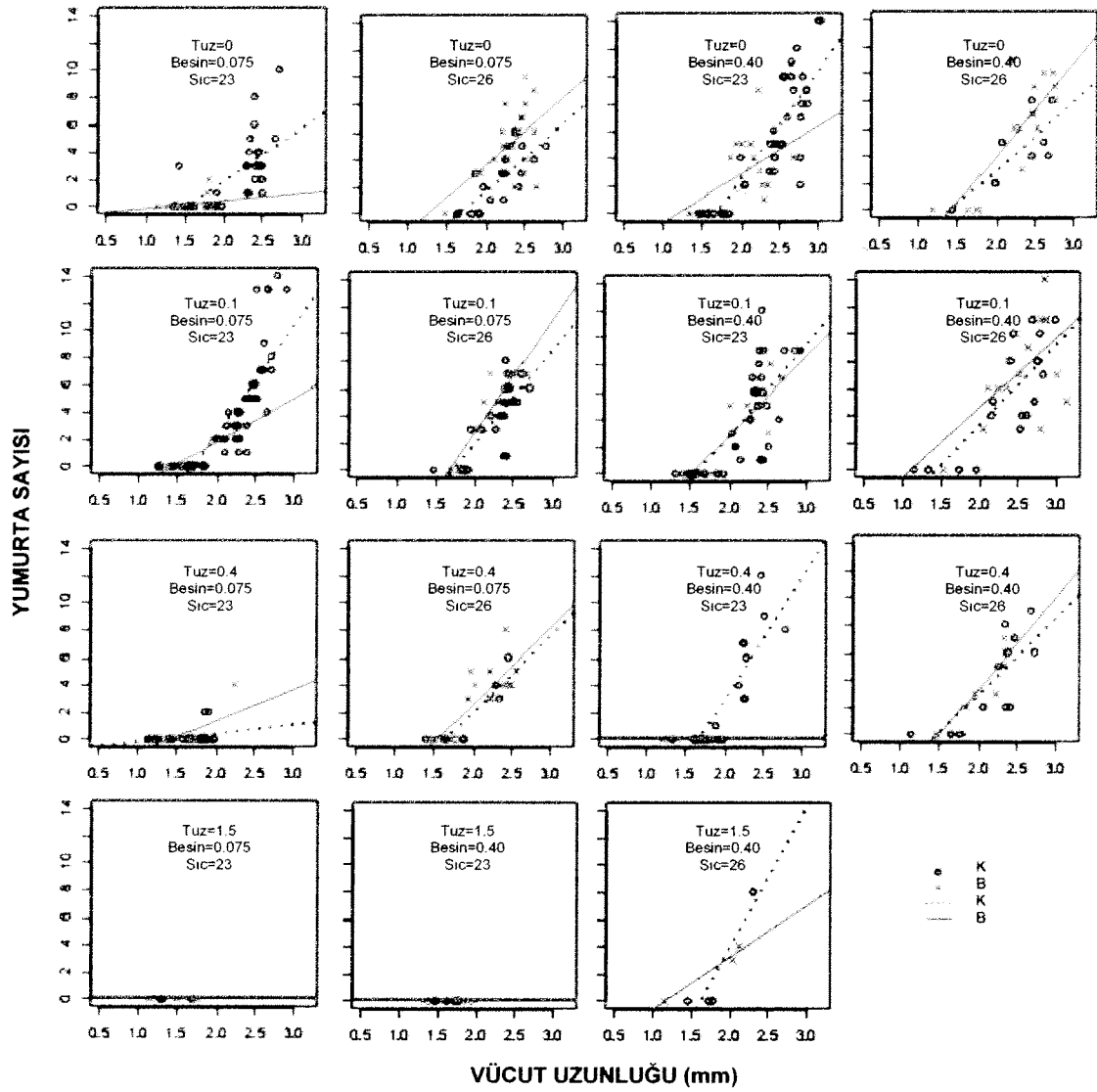
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

iii) **Yumurta Üretimi:** Sıcaklık ve besin etkisi ile beraber tuzluluk kronik toksisite deneyi sırasında, üç günde bir test solusyonlarının değişimi esnasında yaşayan bireylerin fotoğrafı çekilmektedir. Bu fotoğraflardan üretilen yumurta sayısının tayini rahatlıkla yapılabilmektedir (bkz. Şekil 3.3.1). *Daphnia* ile ilgili birçok yaşam döngüsü çalışmasından da bilindiği üzere, üretilen yumurta sayısının (clutch size) vücut uzunluğu ile doğru orantılı olduğu kabul edilmiştir (Hall, 1964, Rinke ve Petzoldt 2003). Bu doğrultuda yumurta sayısı - vücut uzunluğu ilişkileri belirlenmiş ve Şekil 3.3.5.'de yeterli verinin var olduğu uygulama bileşimlerinin optimize edilmiş büyüme eğrileri gösterilmiştir. Bu gösterimi belirginleştirmek için, yumurta içermeyen 2mm'den büyük vücut uzunluğa sahip bireylerin verileri çıkartılmıştır. Deneylerde kullanılan uygulamaların üretilen yumurta sayısı üzerine etkilerinin istatistiksel anlamını hesaplamak üzere ANOVA istatistiksel testi uygulanmıştır. Çizelge 3.3.4 ve Şekil 3.3.5'dan de görüldüğü gibi, vücut uzunluğu ile üretilen yumurta sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir etkileşim söz konusudur. Beklenildiği üzere, vücut uzunluğu üretilen yumurta sayısı hakkında çok belirgin bir öngörü sağlamaktadır. Bu gözlem, başta kabul edilen doğru orantının gerçekçi bir varsayım olduğunu da desteklemektedir. Ek olarak, besin değerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde üretilen yumurta sayısı üzerinde olumlu etki yaptığı da görülmüştür (Şekil 3.3.6).

Çizelge 3.3.4. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde üretilen yumurta sayısının ANOVA testinin sonuçları.

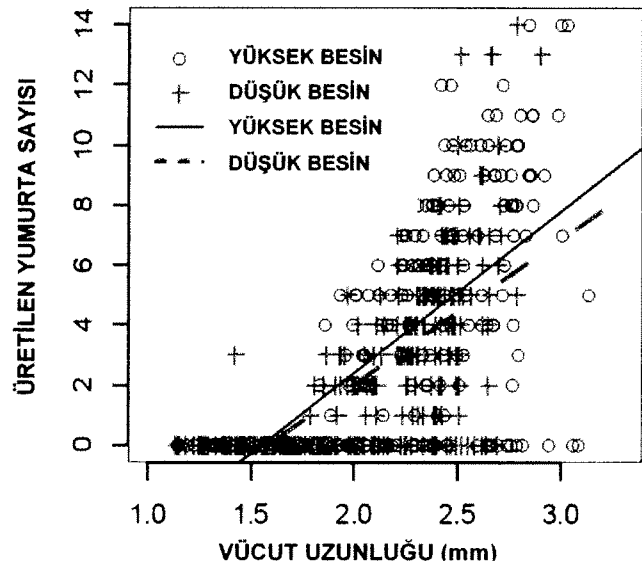
UYGULAMA	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	İstatistiksel Anlam Pr(>F)
Vücut Uzunluğu	1	2822.4	2822.4	2822.4	< 2e-16***
Tuz	1	0.4	0.4	0.0610	0.80509
Sıcaklık	1	8.9	8.9	1.3547	0.24497
Besin	1	27.9	27.9	4.2496	0.03974*
Balık	1	3.8	3.8	0.5761	0.44817
Artıklar	534	3507.2	6.6		

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$



Şekil 3.3.5. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısının vücut uzunluğuna göre değişik etmenlere bağlı büyüme eğrilerinin çizimleri.

Şekil 3.3.6. Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde üretilen yumurta sayısının vücut uzunluğuna göre besin miktarına bağlı büyüme eğrisinin çizimi.



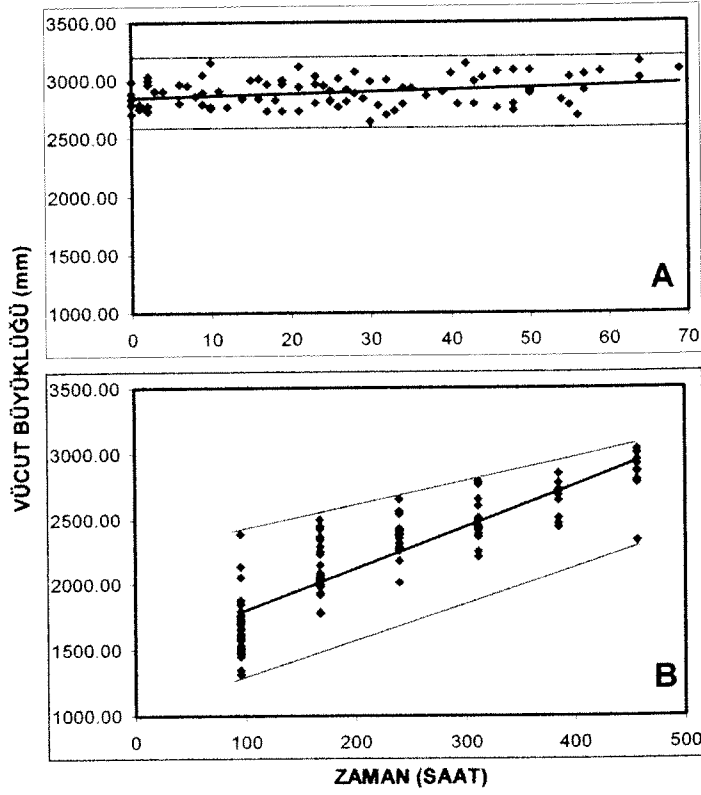
Sonuç olarak, genel olarak besin değerinin istatistiksel olarak anlamlı değişimlere sebep olduğu gözlenmiştir. Tuzluluğun, sıcaklığın ve özellikle balık sinyalinin etkilerinin görünmemesinin sebebi, vücut uzunluklarının ve yumurta sayılarının belirlendiği fotoğrafların çekimleri arasındaki zaman aralığının verilerde de geniş bir aralığa neden olmasıdır.

3.3.1.2. Özkaynak Dağılımının Modellemesi için Ön Deney

Yukarıda gözlemlenen sonuçlar doğrultusunda yapılan yorumun geçerliliğini gözlemleyebilmek üzere, gelecek çalışmalarımıza örnek teşkil etmesi amacıyla az sayıda bireyle (n=10) bir ön-deney yapılmıştır. Bu deney normal sıcaklık olan 22 °C'ye ayarlanmış bir iklim odasında, balık bekletilmemiş COMBO besi ortamı ile gerçekleştirilmiştir. Deneyin amacı, zamana bağlı somatik büyümeyi gözlemleyebilmek için fotoğraf çekimleri arasındaki optimum zaman aralığını belirlemek olduğundan, tuzluluk ve balık etkisi incelenmemiştir. Deney başlangıcından önce, mikroskop yardımıyla yavru vermek üzere olan 10 adet *Daphnia* bireyi seçilmiştir ve 40mL/birey olacak şekilde COMBO besi ortamına yerleştirilmiştir. Bu bireylerin yavru verip vermediği saatte bir kontrol edilmiştir. Bireyin yavru verdiği gözlemlendiği saatten itibaren (t=0), düzenli olarak saatte bir bireyin fotoğraf çekimine başlanmıştır. Fotoğraf çekimi bireyin bir sonraki yavru neslini (clutch) serbest bırakmasına kadar devam ettirilmiştir. Bu süreç ortalama 55 saat sürmüştür. Bu deney süresince *D. pulex*'ler optimum besin değeri olan 1.0 mg C/L konsantrasyonda olacak şekilde *S. obliquus* türü saf alg kültürü ile beslenmiştir. Çekilen fotoğraflarda vücut uzunluğu ölçümleri yapılmıştır (bkz. Şekil 3.3.1). Bu ön-deneyin sıcaklık ve besin koşulları, Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmına denk gelmektedir. Bu nedenle, her iki deneyin zamana bağlı vücut uzunluğu verileri karşılaştırılmıştır (Şekil 3.3.7).

Şekilden de rahatlıkla gözlenebileceği gibi, fotoğraf çekimleri arasındaki zaman aralığı azaltıldığında verilerdeki sapma da azalmaktadır. Ön deneyde, bu aralık başlangıçta 2600-3200 mm aralığında iken, Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmında (3 günde fotoğraf çekimi) başlangıçta 1200-2400 mm aralığındadır. Sonuçta, daha sık ölçüm alındığında verilerin aralığının daraldığı ve böylece bilgi kaybının en düşük seviyeye indiği görülmüştür.

Bu gözlemler sonucunda, önceki deneylerin planlanmasında kullanılan OECD kılavuzunun *Daphnia* bireylerinin yaşama oranının belirlenmesi ve FTIR verisi elde edilmesi konularında yeterli olduğu, fakat *Daphnia* bireylerinin yaşam döngüsü (vücut şekli, somatik büyüme ve yumurta üretimi) verilerinin elde edilmesi konusunda yetersiz kaldığı anlaşılmıştır. Bu doğrultuda, özkaynak dağılımını belirlemek üzere yapılacak olan kronik tuzluluk ve sipermetrin deneylerinde kullanılan bireylerin fotoğraflarının iki günde bir çekilmesinin daha uygun olacağı kararlaştırılmıştır. Bu şekilde yapılacak olan fotoğraf çekimleriyle, daha başarılı yaşam döngüsü verileri elde edilmesi sağlanacaktır. Elde edilecek bu yeni veriler ile, başarı ile oluşturulmuş olan enerji dağılımı modellemesi aracılığıyla daha güvenilir yorumlara ulaşılabileceği önerilmektedir.



Şekil 3.3.7. Ön-deneyin ve Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmının zamana bağlı vücut uzunluklarının karşılaştırmalı çizimi.

A) Ön-deney,

B) Sıcaklık ve Besin Etkisi ile beraber Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nin normal sıcaklık ve asgari besin kısmı.

A ve B arasındaki zaman aralığının farkına dikkat edilmelidir.

3.3.1.3. Tuzluluk Stres Etmeninin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi

i) **Vücut Şekli ve Somatik Büyüme:** Bu deney 24-72 saat arasındaki *D. pulex* bireyleri ile kurulmuştur. Bu nedenle deneyde kullanılan bireyler 2 günlük bir süreç içinde doğup daha sonra deney için kullanılmaya başlanmışlardır. Dolayısıyla, ilk boy ölçümünün yapıldığı birinci günün sonunda bireylerin boyları 0.9-1.4 mm arasında değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenliği gidermek için, bireylerin yaşlarının düzeltilmesi gerekmektedir. Bu sıkıntının aşılması için von Bertalanffy büyüme denklemi kullanılmıştır (von Bertalanffy, 1957). Bu denklem *Daphnia* gibi değişken büyüme gösteren canlıların somatik büyümelerini modellemek üzere yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Rinke ve Petzoldt, 2003, Rinke ve Vijverberg 2005).

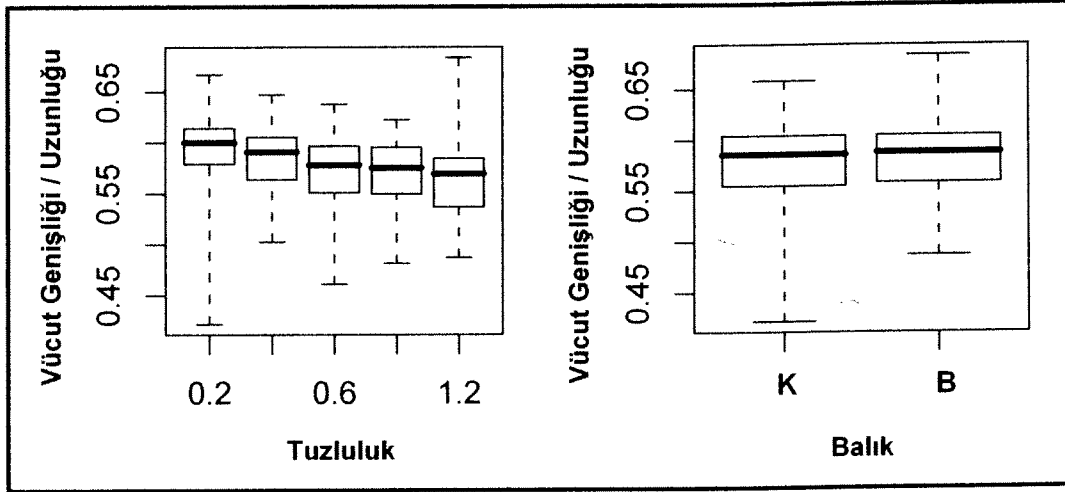
von Bertalanffy büyüme denklemi şu şekilde gösterilmektedir:

$$L(a) = L_{\max} - (L_{\max} - L_0) \cdot e^{-k \cdot a}$$

L(a): a zamanındaki vücut uzunluğu
L_{max}: Maksimum vücut uzunluğu
L₀: t=0'daki vücut uzunluğu [yavru (neonate) uzunluğu]
k: von Bertalanffy sabiti [başlangıç eğim için şekil değişkeni
(shape parameter for initial slope)]

Bu von Bertalanffy denklemi, bir doğrusal olmayan en küçük kareler algoritması ile deneysel verilere [L(t)] uygun hale (fitting) getirilmiştir. Kısacası, önce von Bertalanffy denkleminin ham veriye uyarlanmasıyla, k ve L_{max} değerleri elde edilmiştir. Bu işlem her türlü tuzluluk (5 doz) ve balık sinyali (içermeyen veya içeren) bileşimi için uygulanmıştır. Bu değerlendirmelerden yola çıkarak, yeni doğan bireylerin boyu ortalama 0.815 mm (L₀) olarak belirlenmiştir. Böylece elde edilen L₀, L_{max}, k değerleri ve ilk ölçümdeki vücut uzunluğu (L_a) değeri ile von Bertalanffy denkleminde bireylerin teorik yaşı hesaplanmıştır. Elde edilen bu teorik yaş, veri setindeki yaş değişkenliğini düzeltmek için kullanılmıştır. Diğer bir deyişle, her bir bireyin zamana karşı vücut uzunluğu artışı x yönünde ötelenmiş ve böylece yeni doğan bireylerin boyları büyüme eğrisinde 0 yaşına denk getirilmiştir.

Yaşam döngüsünde özkaynak dağılımı belirlemek için tuzluluk kronik toksisite deneyi sırasında, 2 günde bir yaşayan bireylerin fotoğrafı çekilmiştir. Bu fotoğraflardan istenilen her tür vücut ölçümü yapılabildiğinden (Şekil 3.3.1), bu modelleme çalışmaları için vücut uzunluğu ve vücut genişliği ölçümleri yapılmış ve vücut şekli için bir gösterge olarak vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranı hesaplanmıştır. Deneylerde kullanılan uygulamaların vücut şekli üzerine etkilerinin istatistiksel anlamını hesaplamak üzere ANOVA istatistiksel testi uygulanmıştır. Çizelge 3.3.5 ve Şekil 3.3.8'den görüldüğü üzere, *Daphnia*'nın vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranı artan tuzlulukla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Bu sonuç, deney bulgularını desteklemektedir. Bu durum, deney ortamında artan çevresel tuzluluk ile hipoozmotik hale gelen canlıların su kaybetme yönündeki ozmoregülasyon tepkisinden kaynaklanıyor olabilir (Lignot ve ark. 2000). Deney bulgularında balık sinyalinin varlığında, balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla, bu oranın arttığı da gözlemlenmiştir. Ancak ANCOVA sonuçlarına göre bu artışın istatistiksel anlamı yüksek değildir (Çiz. 3.3.5 ve Şekil 3.3.8).



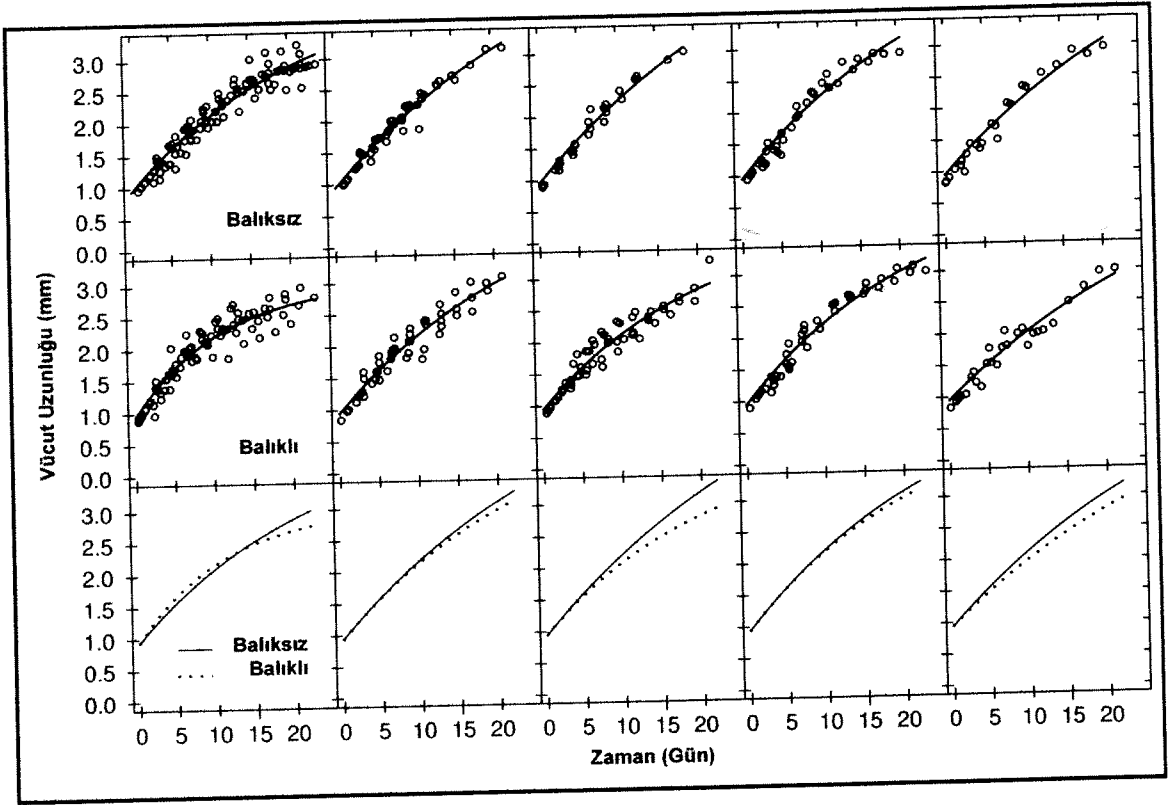
Şekil 3.3.8. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranının değişik etmenlere bağlı iki çubuk çizimleri (K: Kontrol, B: Balık).

Çizelge 3.3.5. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut genişliğinin vücut uzunluğuna oranının ANCOVA testinin sonuçları.

UYGULAMA	Serbestlik Derecesi	F Değeri	İstatistiksel Anlam
Tuz	1	35.63	< 0.001***
Balık	1	3.66	0.056

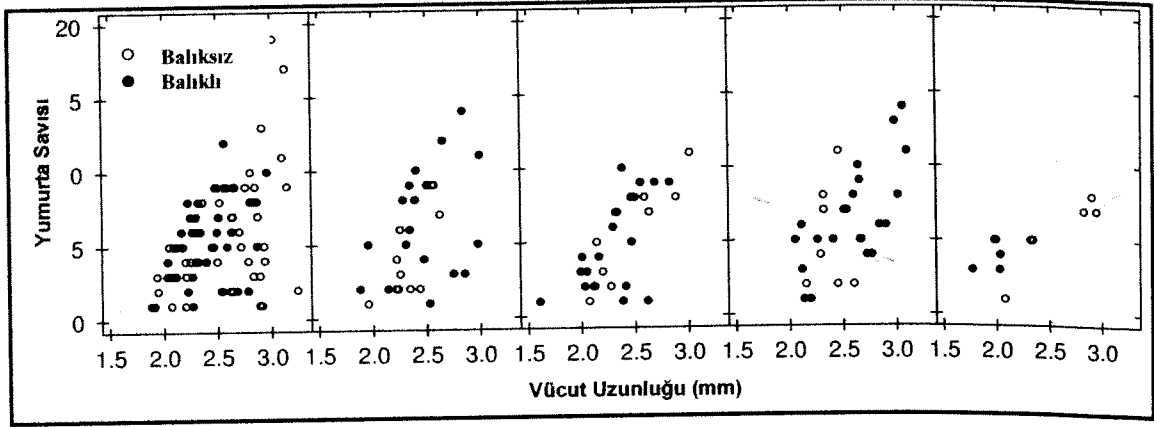
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

Düzeltilen veri seti kullanılarak uyarlanan büyüme eğrileri Şekil 3.3.9'da gösterilmektedir. Sonuçlar von Bertalanffy büyüme denkleminde uygunluk göstermiştir. Vücut uzunluğunda tuzluluk eğimine göre bir eğilim gözlenmemiştir. Ancak, bütün tuzluluk dozlarında – balık avlanma baskısı karşısında beklenildiği üzere – balık sinyali içeren koşullarda bireylerin vücut uzunluklarının balık içermeyen koşullardaki bireylere kıyasla daha küçük olduğu gözlenmiştir. Bu azalma vücut genişliğinin vücut uzunluğuna olan oranında balık sinyalinin varlığında, balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla, gözlenen artışı doğrulamaktadır.



Şekil 3.3.9. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut uzunluklarına göre somatik büyüme eğrilerinin değişik etmenlere bağlı çizimleri. Üst pano: Balık içermeyen, Orta pano: Balık içeren, Alt pano: Balık içermeyen ve içeren koşulların karşılaştırılması, Soldan Sağa: Artan tuzluluk dozu. Her nokta bir ölçümü temsil etmektedir.

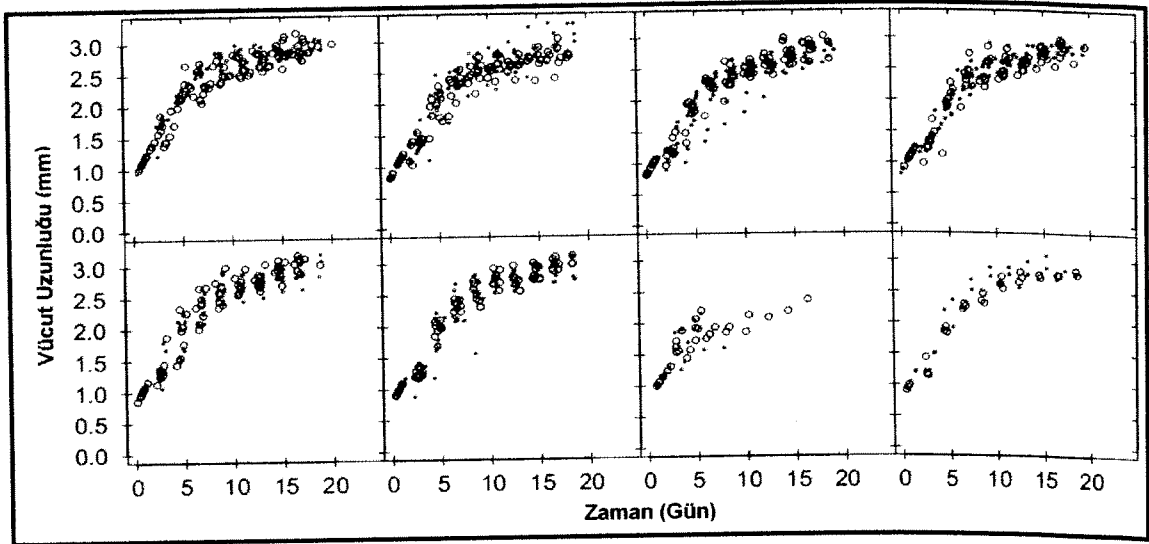
ii) Yumurta Üretimi: İki günde bir test solüsyonlarının değişimi esnasında yaşayan bireylerin çekilen fotoğraflarından üretilen yumurta sayısının tayini rahatlıkla yapılabilir (Şekil 3.3.1). *Daphnia* ile ilgili birçok yaşam döngüsü çalışmasından da bilindiği üzere, üretilen yumurta sayısının (clutch size) vücut uzunluğu ile doğru orantılı olduğu kabul edilmiştir (Hall, 1964, Rinke ve Petzoldt 2003). Bu doğrultuda yumurta sayısı - vücut uzunluğu ilişkileri belirlenmiştir (Şekil 3.3.10). Beklenildiği üzere, vücut uzunluğu üretilecek olan yumurta sayısı hakkında belirgin bir öngörü sağlamaktadır. Diğer bir deyişle, beklendiği gibi bireylerin vücut büyüklüğü arttıkça yumurta sayısında da artış gözlemlenmiştir. İki üç dozda (0.2-0.6 g/L) balık sinyali içeren koşullarda yumurta sayısının balık içermeyen koşullardaki yumurta sayısına oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar bireylerin balık avlanma baskısı altında azalan somatik büyümeleri ile örtüşmekte ve bireylerin enerji kullarımlarını somatik büyüme yerine üremeye aktardıklarını göstermektedir. Ancak en yüksek iki tuzluluk dozunda (0.8-1.2 g/L) yaşama oranı düşük olduğundan belirgin bir eğilim gözlenmemiştir.



Şekil 3.3.10. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Tuzluluk Kronik Toksikite Deneyi'nde yumurta sayısının vücut uzunluğuna göre değişik etmenlere bağlı büyüme eğrilerinin çizimleri. Soldan Sağa: Artan tuzluluk dozu.

3.3.1.4. Sipermetrin Stres Etmeninin Özkaynak Dağılımına Etkilerinin Modellenmesi

Sipermetrin stres etmeninin özkaynak dağılımına etkilerinin modellenmesi esnasında, tuzluluk modellemesine benzer bir şekilde veri seti düzeltilmiş ve von Bertalanffy büyüme denkleminde göre belirlenen büyüme eğrileri Şekil 3.3.11'de gösterilmektedir. Sonuçlar von Bertalanffy büyüme denkleminde uygunluk göstermiştir. Ancak vücut uzunluğunda sipermetrin eğimine göre ve/veya balık sinyaline bağlı bir eğilim gözlenmemiştir. Diğer etkiler istatistiksel olarak önemli sonuçlar vermediği için, sadece vücut uzunluğu verileri sunulmuştur.



Şekil 3.3.9. Yaşam Döngüsünde Özkaynak Dağılımı Belirlemek için Sipermetrin Kronik Toksikite Deneyi'nde vücut uzunluklarına göre somatik büyüme eğrilerinin değişik etmenlere bağlı çizimleri. Siyah daire: Balık içermeyen, Kırmızı daire: Balık sinyali içeren, Soldan Sağa: Artan sipermetrin dozu. Her nokta bir ölçümü temsil etmektedir.

3.3.2. Stres Etmenlerinin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi

Stres etmenlerinin *Daphnia*'nın yaşama oranı üzerindeki etkilerinin yüzde dağılımı ile ilgili bir model geliştirilmesi için, doğrusal olmayan modeller konusunda uzman olan A.B.D. Harvard Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Bölümü Kalp ve Damar Hastalıkları Araştırma Laboratuvarı'nda araştırmacı olarak çalışan Dr. Can Ozan TAN ile ortak çalışma yapılmıştır.

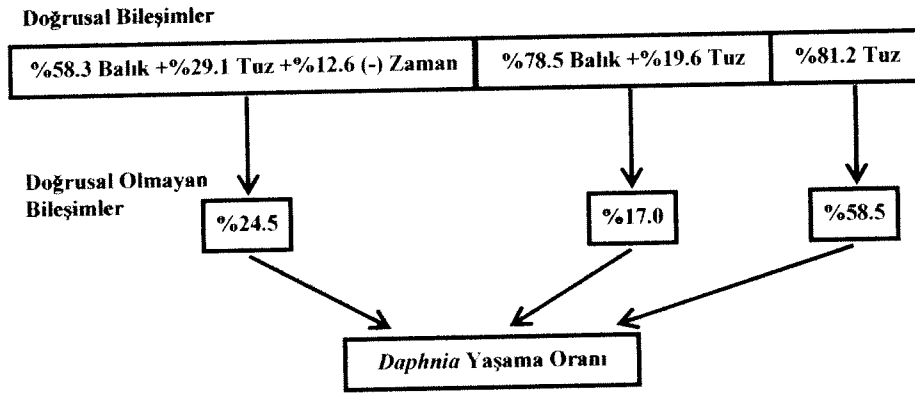
Bu modelleme çalışmaları esnasında, proje döneminde sunulan bütün tuzluluk akut ve kronik toksisite deneylerinin verileri kullanılmıştır. Bu deneyler ile ilgili yöntemsel bilgiler daha önceki bölümlerde detaylı bir şekilde açıklanmıştır. Stres etmenlerinin yaşama oranına etkilerinin dağılımı modellemesi çalışmaları için, deneylerde elde edilen *Daphnia* yaşama oranı verileri kullanılmıştır. Değişik stres etmenlerinin *Daphnia* yaşama oranı üzerindeki etkilerinin yüzde dağılımı ve etkileşimleri ile ilgili bu modelin geliştirilmesi, Öngörü Destekli Regresyon (Projection Pursuit Regression: PPR) tekniği üzerine kurulmuştur (Kruskal, 1969, 1972). Bu modelleme tekniği sayesinde, hem alışlagelmiş doğrusal modeller kadar veya modellerden daha hassas olan doğrusal olmayan modellerden faydalanılmakta, hem de girdi (input) ve çıktı (output) değişkenler arasındaki doğrusal olmadığı için belirgin olmayan ilişkilerin ortaya çıkarılması sağlanmaktadır. Öngörü Destekli Regresyon (Friedman ve Tukey, 1974), alışlagelmiş doğrusal aktarım denklemlerini (transfer function) girdi ve çıktılar arasında birden fazla aktarım denklemi olacak bir şekile dönüştürür. Herbir aktarım denklemi, en uygun veri uyumu (data-fit) yaklaşımları ile belirlenen doğrusal olmayan modellerden geçirilir. Bu şekilde herbir doğrusal olmayan aktarım denkleminde elde edilen çıktılar toplanır ve bunların esas veri ile olan uyumları belirlenir.

3.3.2.1. Tuzluluk Stres Etmeninin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi

Bu modelleme çalışmasında, bireylerin yaşama oranı (0/1 ikili) bağımlı (dependent) sonuç olarak değerlendirilirken; balık sinyalinin varlığı veya yokluğu (0/1 ikili), tuz dozu (g Cl/L) ve zaman (saat) bağımsız değişkenler olarak değerlendirilmiştir. Bu üç etmen ile ilgili veriler, üç adet doğrusal olmayan aktarım denklemi oluşturulmasında kullanılmıştır. Üçten daha fazla aktarım denkleminin kullanımı, modelin öngörü gücünü artırmamasının yanısıra, gereksiz bir karmaşıklığa sebebiyet vermektedir. Bu modelin elde edilen verilere uygun hale getirilmesi (fitting) tuzluluk-balık etkilerinin incelendiği bütün akut ve kronik toksisite deneylerinin yaşama oranı verileri ile gerçekleştirilmiştir (c-index = 0.810 ± 0.004). Modelin bu araştırma aşamasının (training step) başarısı, sadece modelin karmaşık verilere uygunluğu hakkında öngörü sağlamaktadır. Dolayısıyla, yaşama oranı belirlemek için sıcaklık-besin etkisi ile beraber tuzluluk kronik toksisite deneyinin normal sıcaklık – asgari besin kısmının ve yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek için tuzluluk kronik toksisite deneyinin tamamının bütün yaşama oranı verilerini bağımsız birer test olarak kullanarak, modelin onaylama aşaması (validation step) gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık-besin etkisi ile beraber tuzluluk kronik toksisite deneyinin c-index değeri 0.631 ± 0.015; yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek için tuzluluk kronik toksisite

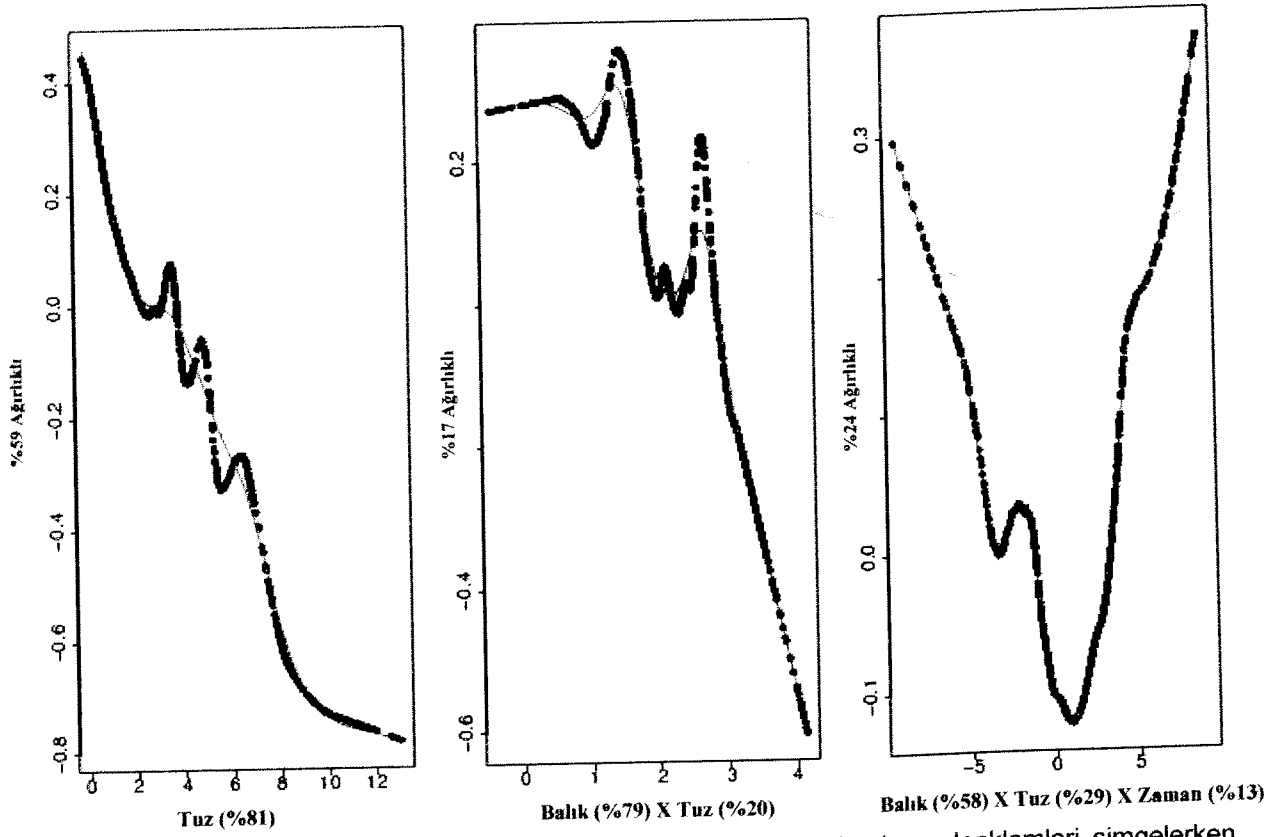
deneyinin c-index değeri ise 0.645 ± 0.013 olarak belirlenmiştir. Üç c-index değeri de (>0.5) modelin sonuçlarının raslantı sonucu olmadığını göstermektedir .

Model, *Daphnia* bireylerinin yaşama oranı üzerine bağımsız değişkenlerden oluşan üç ana (etkisi %10'un üzerinde olan) doğrusal bileşim ve/veya bu bileşimlerin doğrusal olmayan etkileşim belirlemiştir. Şekil 3.3.12'den görüldüğü gibi, tuzluluk etmeni bu modellemede hem üç aktarım denkleminin tek ortak değişkeni, hem de yaşama oranını en yüksek oranda (%58.5) etkileyen aktarım denklemine en belirgin katkıyı yapan bağımsız değişken olduğu (%81.2) için *Daphnia* yaşama oranını etkileyen en önemli stres etmenidir.



Şekil 3.3.12. Bağımsız değişkenlerin ana (etki > %10) doğrusal olan ve olmayan bileşimlerinin *Daphnia* bireylerinin yaşama oranına etkileri.

Şekil 3.3.13'de model tarafından belirlenen doğrusal olmayan aktarım denklemleri verilmiştir. Bu şekilde x-ekseni etkisi %10'un üzerinde olan doğrusal bileşimleri gösterirken, y-ekseni ise aktarım denkleminin değerini göstermektedir. Bu eksen, aktarım denklemlerinin neticede *Daphnia* yaşama oranını belirleyen doğrusal olmayan bileşimlerin toplamının yüzde katkılarına göre normalize edilmiştir. Bu nedenle, y-ekseni değerleri doğrusal bileşimlerin yaşama olasılığı üzerindeki göreceli etkileri olarak değerlendirilebilir.

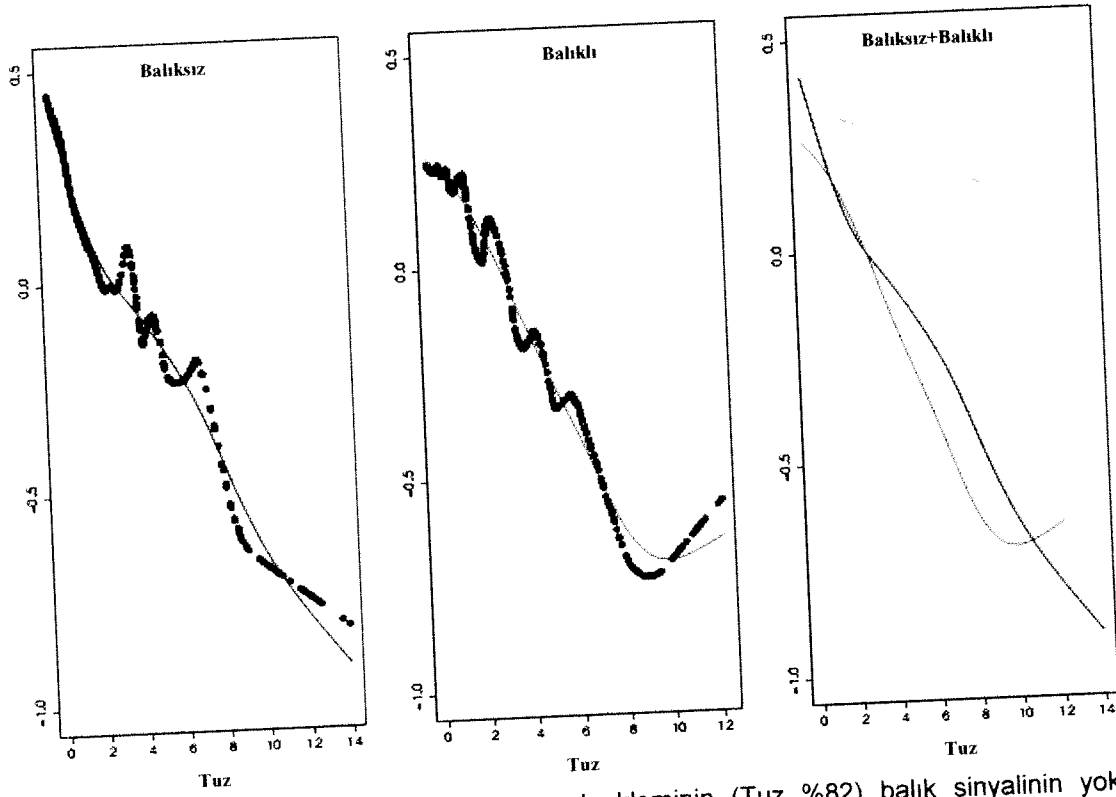


Şekil 3.3.13. Doğrusal olmayan aktarım denklemleri. Siyah daireler ham denklemleri simgelerken, kırmızı çizgiler ise düzgünleştirilmiştir (spline-smoothing). y-ekseni doğrusal aktarım denklemlerinin bütün doğrusal olmayan bileşime olan % katkılarına göre normalize edilmiş ve bu şekilde olasılık haline dönüştürülmüştür.

Genel olarak, balık sinyalinin etkisi tuz ile etkileşimi sonucunda ortaya çıkmaktadır (Şekil 3.3.12). Ancak, bu Balık X Tuz etkileşiminde bir eşik noktası (~1.7) olduğu gözlenmektedir (Şekil 3.3.13). Bu eşik değeri geçildiği takdirde, yaşama oranı belirgin bir şekilde azalmaktadır. Balık sinyalinin varlığı ve yokluğunda tuz yoğunluğunun *Daphnia* yaşama oranını nasıl etkilediğine bakılınca (Şekil 3.3.14), balık sinyalinin varlığının olumsuz bir etkisinin olduğu gözlenmektedir. Ancak, balık sinyalinin varlığının belli bir tuz eşik değerinin üzerine çıkılana kadar *Daphnia* bireylerinin yaşama olasılığının az da olsa artmasına sebep olduğu da gözlenmektedir. Sonuç olarak, tuz yoğunluğunun balık sinyalinin varlığından bağımsız bir şekilde önemli bir etmen olduğu, ancak balık sinyalinin varlığının özellikle belli bir tuz eşik değerinin üzerine çıkılınca *Daphnia* bireylerinin yaşama olasılığını azaltma yönünde etkilediği söylenebilir. Bu durum, normal sıcaklıklarda optimum besin koşullarında özellikle 0.40 g/L tuzluluk dozunda balık sinyalinin varlığında *D. pulex* bireylerinin yaşam oranlarının artması, ancak normal sıcaklıklarda asgari ve düşük besin koşullarında balık sinyalinin varlığının yaşama oranını azaltması gözlemlerinden kaynaklanıyor olabilir.

Zaman değişkeni incelendiğinde etkisinin az ama tuz ve balık etkilerine göre ters yönde olduğu söylenebilir. Bu gözlem, deneylerin başlangıcında küçük olan bireylerin daha hassas olması, ama bireyler büyüdükçe hassasiyetlerinin azalması ve dolayısıyla yaşama olasılıklarının daha yüksek

olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu sonuç, ergin krustaselerin yavrulara kıyasla tuzluluk stres etmenine daha dayanıklı oldukları gözlemini desteklemektedir (Péqueux, 1995).



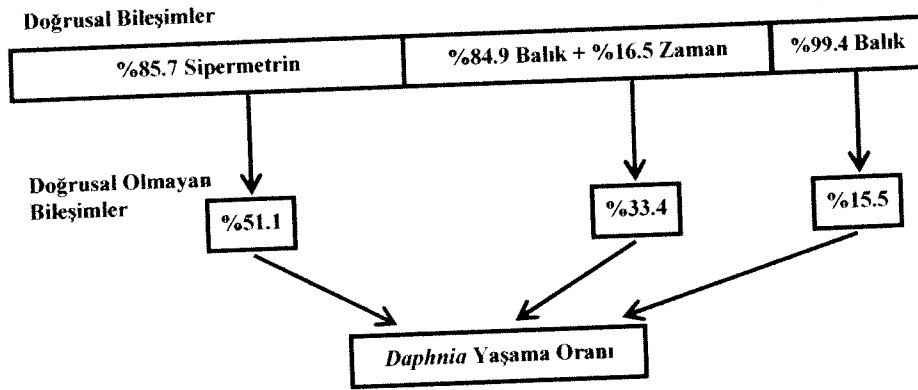
Şekil 3.3.14. İlk doğrusal olmayan aktarım denkleminin (Tuz %82) balık sinyalinin yokluğu ve varlığındaki aktarım denklemleri. Siyah daireler ham denklemleri simgelerken, mavi (balık sinyali yok) ve kırmızı (balık sinyali var) çizgiler ise düzgünleştirilmiştir. Üçüncü panelde düzgünleştirilmiş eğriler üstüste oturtulmuştur.

3.3.2.2. Sipermetrin Stres Etmeninin Yaşama Oranına Etkilerinin Modellenmesi

Bu modelleme çalışmasında, bireylerin yaşama oranı (0/1 ikili) bağımlı (dependent) sonuç olarak değerlendirilirken; balık sinyalinin varlığı veya yokluğu (0/1 ikili), sipermetrin dozu ($\mu\text{g/L}$) ve zaman (saat) bağımsız değişkenler olarak değerlendirilmiştir. Bu üç etmen ile ilgili veriler, üç adet doğrusal olmayan aktarım denklemi oluşturulmasında kullanılmıştır. Bu modelin elde edilen verilere uygun hale getirilmesi (fitting) sipermetrin-balık etkilerinin incelendiği bütün akut ve kronik toksisite deneylerinin yaşama oranı verileri ile gerçekleştirilmiştir. Ancak doz aralığının geniş olması sebebiyle, bütün veriler biraraya getirilmiş, yarısı alıştırma aşamasında ($c\text{-index} = 0.831 \pm 0.006$), diğer yarısı da onaylama aşamasında ($c\text{-index} = 0.836 \pm 0.006$) kullanılmıştır. Her iki $c\text{-index}$ değeri de (>0.5) modelin sonuçlarının raslantı sonucu olmadığını göstermektedir.

Model, *Daphnia* bireylerinin yaşama oranı üzerine bağımsız değişkenlerden oluşan üç ana (etkisi %10'un üzerinde olan) doğrusal bileşim ve/veya bu bileşimlerin doğrusal olmayan etkileşim belirlemiştir. Şekil 3.3.15'den görüldüğü gibi, sipermetrin etmeni bu modellemede yaşama oranını en

yüksek oranda (%51.1) etkileyen aktarım denklemine en belirgin katkısı yapan bağımsız değişken olduğu (%85.7) için *Daphnia* yaşama oranını etkileyen en önemli stres etmenidir. Balık etmeni ise yaşama oranını etkileyen geri kalan iki ana aktarım denklemine en belirgin katkısı yapan (%84.9 ve %99.4) bağımsız değişkendir. Sonuç olarak, *Daphnia* yaşama oranını etkileyen en önemli stres etmeni sipermetrin iken, balık sinyalinin varlığı da önemlidir.

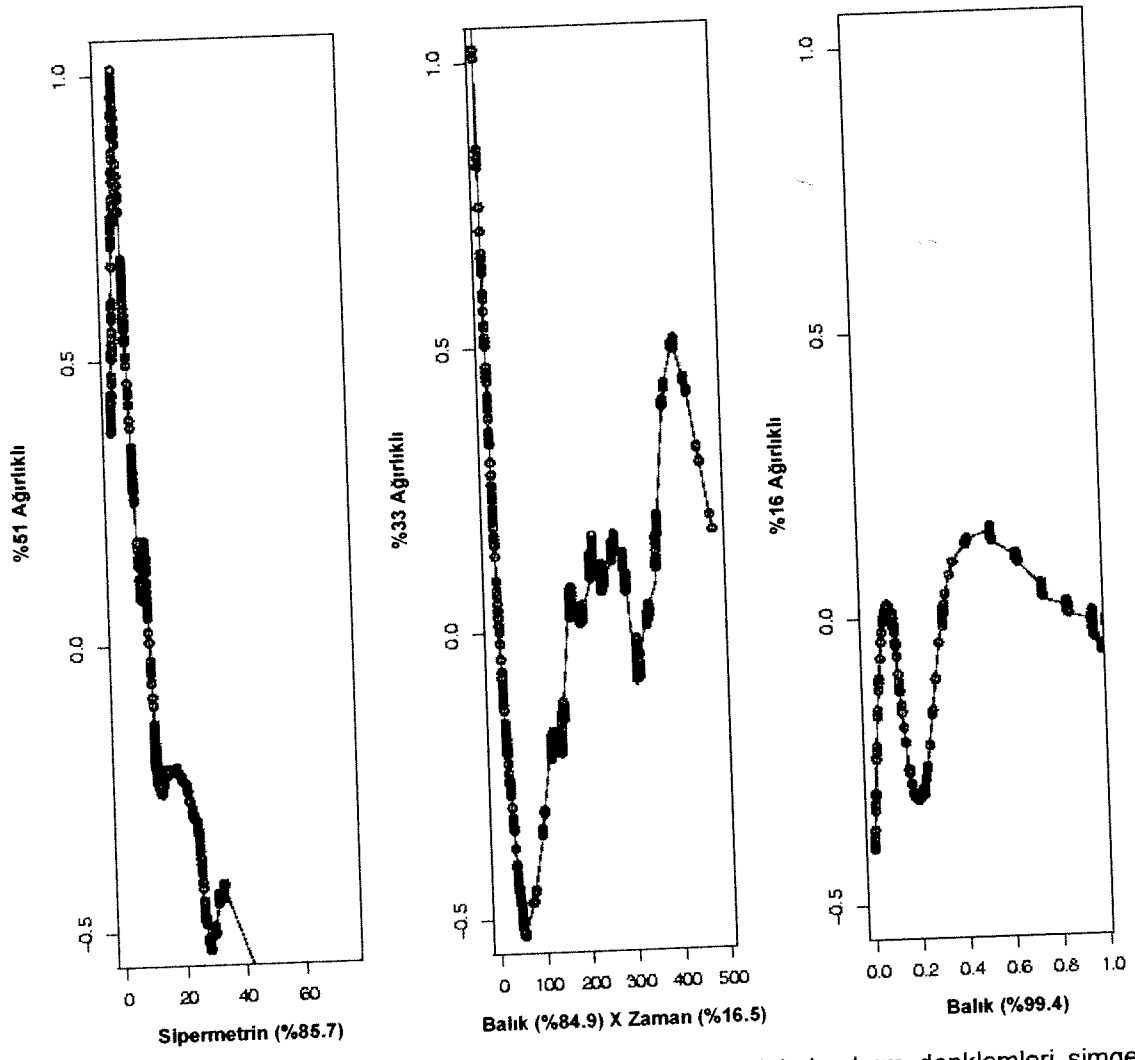


Şekil 3.3.15. Bağımsız değişkenlerin ana (etki > %10) doğrusal olan ve olmayan bileşimlerinin *Daphnia* bireylerinin yaşama oranına etkileri.

Şekil 3.3.16'de model tarafından belirlenen doğrusal olmayan aktarım denklemleri verilmiştir. Bu şekilde x-ekseni etkisi %10'un üzerinde olan doğrusal bileşimleri gösterirken, y-ekseni ise aktarım denkleminin değerini göstermektedir. Bu eksen, aktarım denklemlerinin neticede *Daphnia* yaşama oranını belirleyen doğrusal olmayan bileşimlerin toplamının yüzde katkılarına göre normalize edilmiştir. Bu nedenle, y-ekseni değerleri doğrusal bileşimlerin yaşama olasılığı üzerindeki göreceli etkileri olarak değerlendirilebilir.

Genel olarak, sipermetrin etmeni yaşama oranını olumsuz yönde etkileyen en önemli etmenddir. Ancak balık etmeni ise yaşama oranını etkileyen geri kalan iki ana aktarım denklemine en belirgin katkısı yapan (%84.9 ve %99.4) bağımsız değişkendir. Sonuç olarak, *Daphnia* yaşama oranını etkileyen en önemli stres etmeni sipermetrin iken, balık sinyalinin varlığı da önemlidir.

Ancak, balık etkisinin zaman ile olan etkileşiminin yaşama oranı üzerinde ki etkisinin de önemli olduğu gözlenmektedir (Şekil 3.3.16). Belli bir eşik değerine kadar balık sinyalinin varlığının olumsuz etkilerinin olduğu, ancak bu eşik değeri geçildiği takdirde balık sinyalinin varlığının yaşama oranına etkisinin olumlu yönde olduğu gözlenmektedir. Bu durum, balık sinyalinin kısa vadede gözlenen olumsuz etkisinin yüksek sipermetrin dozlu akut toksisite deneyinde gözlenen olumsuz etkisi ile, ancak uzun vadede gözlenen olumlu etkisinin düşük sipermetrin dozlarında (0.0-0.9 µg/L) gerçekleştirilen kronik toksisite deneylerinde ki (yaşama oranı ve yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını belirlemek için sipermetrin kronik toksisite deneyleri) olumlu etkileri ile örtüşmektedir.



Şekil 3.3.16. Doğrusal olmayan aktarım denklemleri. Siyah daireler ham denklemleri simgelerken, kırmızı çizgiler ise düzgünleştirilmiştir (spline-smoothing). y-ekseni doğrusal aktarım denklemlerinin bütün doğrusal olmayan bileşime olan % katkılarına göre normalize edilmiş ve bu şekilde olasılık haline dönüştürülmüştür.

3.4. SONUÇLARIN İRDELENMESİ

Tatlısu göllerinde, Kladosera sınıfına ait zooplankton *Daphnia* türleri besin zincirinin yapısı ve dinamiğinde alg topluluklarının büyümelerini kontrol altında tutmaları ve böylece su berraklığını arttırmalarından dolayı kilit tür olarak önem taşımaktadır.

Hükümetlerarası İklim Değişimi Paneli'nin (IPCC) 2007 raporuna göre, önümüzdeki 30-40 yıl içinde yüzey sularında en fazla azalmanın (>30%) Türkiye'nin de içinde bulunduğu Akdeniz iklim bölgesinde yeralan ülkelerde olması beklenmektedir. Dahası, sıcaklıkta ortalama 3 °C'lik bir artış öngörülmektedir. Günümüzde, içinde yaşadığımız iklimsel değişimin beklenen etkilerinin, özellikle tarım için aşırı su kullanımıyla beraber şiddetinin artması ve sonuç olarak tatlısu göllerimizin – tamamen kurumaz ise – küçülmesi, hidrolik su bekleme süresinin artması, tuzlanması ve ötrofikleşmesi beklenmektedir. Öte yandan, su ve drenaj olanağı sağlamalarından ötürü sucul ekosistemlerde, tarım alanlarında günümüzde yaygınca kullanılan tarım ilaçlarının kalıntıları tespit edilmektedir. Dolayısıyla, tarım alanlarını çevreleyen su havzalarında yaşayan hedef olmayan organizmaların tehlike altında oldukları açıklanmaktadır. Dahası, pestisitlerin etkilerinin de ötrofikasyonun sonuçlarına benzediği belirtilmektedir. Sonuçta, tatlısu göllerin koruma ile ekolojik değerleri ve biyoçeşitlilikleri azalmaktadır. Bu durum özellikle endemik türleri de tehdit etmektedir.

Bu araştırma ile tatlısu ekosistemlerinin kilit türü olan *Daphnia* türlerinin, artan su sıcaklığı, tuzlanma, ötrofikasyon ve pestisit yoğunluğu koşullarında, yaşama oranlarının ve yaşam döngüsü değişkenlerinin nasıl etkileneceği derinlemesine – ilk defa doğal stres etmeni olan balık avlanma baskısıyla birlikte – laboratuvar deneyleriyle ve modellerle incelenmiştir. *Daphnia* bireylerinde tetiklenen moleküler değişimler ise yine ilk defa moleküler düzeyde ATR-FTIR spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir.

Tuzluluk etkisinin belirlendiği deneyler:

Genel amacı, kimyasal bir maddeye bir kere şiddetli bir şekilde maruz bırakılmanın sonucunda ortaya çıkabilecek etkileri belirleyerek, o kimyasal maddenin olası toksisitesini öğrenmek ve böylece maddeyi değerlendirebilmek olan akut toksisite deneylerinde, tuzluluk ile beraber balık sinyali içermeyen koşullarda bütün tuzluluk dozları *D. pulex* yaşama oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmasına neden olmuştur. Balık sinyali içeren koşullarda < 2 g/L tuzluluk dozlarına maruz kalan bireylerin yaşama oranlarının artması, balık sinyaline tuzluluk ile beraber maruz kalan bireylerin tuza karşı daha dirençli olabileceklerine işaret etmektedir. Düşük tuzluluk dozlarında, balık sinyalinin varlığında yaşam oranında görülen bu olumlu etki doğrultusunda, balık sinyalinin *Daphnia*'nın tuzluluğa olan direncini arttırdığı yorumu yapılabilir.

Balık sinyali içeren koşullarda – balık sinyali içermeyen koşullara kıyasla – NaCl tuzluluğu için *D. pulex* bireylerinin hem 24-saat, hem de 48-saat LD₅₀ değerleri daha yüksektir. Dolayısıyla, balık sinyaline

maruz kalan bireylerin tuza karşı daha dirençli olabilecekleri sonucu kuvvetlenmektedir. İkinci bir stres etmeninin birinci stres etmeninin olumsuz etkilerini azaltması halinde, bu çoklu etkileşimin antagonistik olduğu ve *azalan stres (daha az şiddetli olma) etkisi* yaptığı göz önüne alınınca, balık sinyalinin artan tuz yoğunluğunun etkisi üzerinde antogonistik bir etki yaptığı söylenebilir.

Kronik toksisite deneyleri, *Daphnia pulex*'in tuzluluğa uzun süre boyunca devamlı maruz kalması sonucu gözlemlenebilen yaşama oranı, demografik ve popülasyon seviyesindeki tepkilerini belirlemek amaçlarını kapsar. Kronik tuzluluk toksisitesi deneylerinden elde edilen sonuçlar, akut toksisite sonuçlarıyla uyum içinde olup, artan tuz yoğunluğunda *Daphnia* yaşam oranının düşmesi, ancak balık sinyalinin varlığında *D. pulex* bireylerinin düşük yoğunluktaki tuzluluğa karşı daha dirençli olması yönündedir. Diğer bir deyişle, uzun dönemli maruz kalma (kronik) durumlarında balık sinyalinin varlığı tuzluluk yoğunluğu ile antogonistik ilişki içindedir.

Küresel ısınma içsularında anahtar tür olan *Daphnia*'nın artan su sıcaklığı ve tuzlanma ile ötrofikasyon sonucu ortaya çıkan siyanobakter patlamaları yüzünden kullanılabilir besin miktarının zayıflaması gibi problemlerle karşılaşması beklenmektedir. Bu koşullar altında, *Daphnia* yaşam oranının nasıl değiştiği çok değişkenli (sıcaklık, besin miktarı, balık avlanma baskısı, değişen tuz yoğunluğu) kronik bir deneyle araştırılmıştır. Normal sıcaklıklarda bütün tuzluluk dozlarında besin miktarı asgari ve düşük iken balık sinyalinin varlığı yaşama oranını azaltmıştır. Bu sonuç, düşük besin koşullarında, balık avcı baskısının ve artan tuzluluğun çoklu etkileşimlerinin sinerjistik olduğu anlamını taşıyabilir. Fakat artan sıcaklıkla birlikte balık sinyalinin, tuzluluk dozlarının ve besin koşullarının yaşam oranına olan etkileri ortadan kalkmıştır ve yüksek sıcaklık yaşama oranını belirleyen en önemli etki haline gelmiştir. Ayrıca artan sıcaklığın tuzluluğa olan dayanıklılığı da düşürmesi sonucu ölüm oranının arttığı belirtilmektedir. Dolayısıyla, tuzlulukta görülen düşük bir artışın (0.1 ‰) yaşama oranı üzerinde olumlu bir etki gösterdiği, ancak yüksek bir artışın ise (>0.4 ‰) ölüm oranını belirgin bir biçimde arttırdığı sonuçlarına varılmaktadır. Ek olarak, bu etkinin yüksek sıcaklıklarda daha da belirginleştiği ve sıcaklığın 3 °C artması durumunda %88 ölüm oranı ile karşılaşabileceği gözlemlenmiştir.

Yaşama oranının modellemesi, tuzluluğun *Daphnia* yaşama oranını etkileyen en önemli stres etmeni olduğunu, ayrıca balık sinyalinin varlığının belli bir tuz eşik değerinin (~1.7'lik bir Balık X Tuz etkileşimi) üzerine çıkılana kadar *Daphnia* bireylerinin yaşama olasılığının artmasına sebep olduğunu göstermektedir.

Yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını artan tuz yoğunluğunda ve balık sinyalinin varlığında belirlemek üzere yapılan kronik toksisite deneyleri sonucu *Daphnia* bireylerinde morfolojik değişimlerle birlikte yaşam döngüsü değişkenlerinde değişimler kaydedilmiştir. Tatlısu omurgasız canlıları hiperozmotiktir, canlı hücre-içi tuz yoğunluğu dışarıdaki suyun tuz yoğunluğundan fazladır. Vücut genişliği/vücut uzunluğu oranının balık sinyalinin varlığından ve tuzluluk dozlarından anlamlı bir şekilde etkilendiği gözlenmektedir *Daphnia*'nın vücut genişliği/vücut uzunluğu oranındaki azalma, hipoozmotik ortam koşulları sonucu gösterdiği su kaybetme yönündeki ozmoregülasyon tepkisinden

kaynaklanıyor olabilir. Bu uyarılama, yüzey alanını azaltarak, yüzey alanı/hacim oranını küçülterek canlının daha da fazla su kaybetmesini önlemede önemli olabilir. Tuzluluk arttıkça ortalama yumurta sayısının azaldığı gözlenmektedir. Ayrıca balık sinyali varlığında yumurta sayısı artma eğilimindedir. İlk üreme yaşının tuzluluktan belirgin bir şekilde etkilenmediği, ancak balık sinyalinin varlığında genel olarak azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir. Ortalama ilk üreme boyunun da tuzluluktan belirgin bir şekilde etkilenmediği, ancak balık sinyalinin varlığında genel olarak azalma eğiliminde olduğu gözlenmektedir. Model sonuçlarında, benzer şekilde artan tuzluluk dozlarından vücut genişliği/vücut uzunluğu oranının azalma yönünde ve yumurta üretiminin de azalma yönünde etkilendiği gözlenmiştir. Bu durum da tatlısu canlıları için ozmoregülasyonun önemini göstermektedir. Dahası, balık sinyalinin varlığında somatik büyümenin azaldığı ve bireylerin enerji kullanımlarını somatik büyüme yerine üremeye aktardıkları öngörülmektedir.

Bütün bu değişimlerin moleküler olarak, tuzluluk ile beraber strese giren *Daphnia* bireylerinde gözlemlenen değişimlerin lipid peroksidasyonunun artmasından kaynaklanıyor olabilir. Dolayısıyla, artan tuzluluk oksidatif strese neden oluyor olabilir. Dahası, *Daphnia* bireylerinde tuzlulukla beraber gözlenen lipid, karbonhidrat ve protein miktarındaki azalma, stres altında ki organizmaların artan enerji ihtiyaçlarını karşılayabilmek için lipidlerin yanısıra, karbonhidrat ve protein tüketimine başvurduklarını desteklemektedir. Diğer bir deyişle, ozmoregülasyon için artan fizyolojik maliyet enerji bütçesi açısından yük teşkil etmektedir. Bu durum, pestisite maruz kalma durumunda besin tüketiminin azalmasından da kaynaklanıyor olabilir. Öte yandan, balık sinyalinin varlığının azalan lipid, protein ve glikojen miktarlarını arttırdığı ve artan lipid peroksidasyonunu azalttığı gözlenmiştir. Dolayısıyla, spektroskopik verilerdeki değişimler de, balık sinyalinin varlığının *D. pulex* bireylerinin tuzluluğa karşı direncini artırdığı sonucuyla örtüşmektedir.

Sipermetrin etkisinin belirlendiği deneyler:

Sipermetrin akut toksisite deneylerinde, 1.0 µg/L sipermetrin ile beraber varolan balık sinyalinin ölüm oranını artırdığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç, lethal dozlarda avlanma baskısının varlığının pestisitlerin *Daphnia* üzerinde ki etkilerini artırdığı gözlemi desteklemektedir. Öte yandan, sipermetrin dozunun ≥ 1.0 µg/L olması halinde sipermetrin ve balık sinyali arasındaki etkileşimin sipermetrinin balık sinyalinin varlığına üstünlüğü yönünde olduğu gözlenmektedir. Bu durum çoklu etkileşimlerin etkisinin daha zararlı veya baskın olan tekli stres etmeninin etkisine eşit olması olarak tanımlanan *basit karşılaştırmalı* (simple comparative) etki modeline benzemektedir. Diğer taraftan, 0.04-0.90 µg/L sipermetrin dozlarında balık sinyalinin varlığının sipermetrinin olumsuz etkilerini azalttığı gözlenmiştir. Basit karşılaştırmalı modele göre, çoklu etkileşimlerin etkisinin daha zararlı olan tekli stres etmeninin etkisinden daha az olması halinde çoklu etkileşimin *azalan stres (daha az şiddetli olma) etkisi* gösterdiği – sık rastlanan bir durum olmamakla beraber – belirtilmektedir. Sipermetrinin zararlı etkisi, *Daphnia*'ların sipermetrin bulunan ortamda yüzme etkinliğinin azalmasından ve filtrasyon oranları ile besin girdilerinde azalma olmasından kaynaklanıyor olabilir. Azalan yüzme etkinliğinden dolayı azalan

beslenme verimi sonucunda, genel metabolik faaliyetler ile büyüme ve üreme için ayrılabilen enerjinin azalması yaşama oranındaki azalmaya neden oluyor olabilir.

Yaşam döngüsünde özkaynak dağılımını artan sipermetrin yoğunluğunda ve balık sinyalinin varlığında belirlemek üzere yapılan kronik toksisite deneyleri sonucu *Daphnia* bireylerinde morfolojik değişimlerle birlikte yaşam döngüsü değişkenlerinde değişimler kaydedilmiştir. Sipermetrin dozlarının *D. pulex* bireylerinin vücut genişliği/vücut uzunluğu oranını azalma yönünde etkilediği gözlenmektedir. Bu azalmanın, pestisite maruz kalmış *Daphnia*'ların azalan beslenme verimi sonucunda, büyümeye ayrılabilen özkaynak enerjisinin azalabileceği sonucu ile örtüşmektedir. Artan dozla beraber balık sinyalinin hem yokluğunda, hem de varlığında ortalama yumurta sayısının azaldığı gözlenmektedir. Dahası , sipermetrin *D. pulex* bireylerinin üreyebilir olgunluğa gelmelerini geciktirmiştir. Balık sinyalinin sipermetrin ile etkileşimi incelendiğinde ise, sipermetrinle artan ilk üreme yaşının balık sinyalinin varlığında azaldığı ve sipermetrinle azalan yumurta ve yavru sayılarının balık sinyalinin varlığında arttığı gözlenmektedir. Ayrıca, balık sinyalinin varlığında ilk üreme yaşının yanısıra, ilk üreme boyunun da azaldığı gözlenmektedir. Bu gözlemler, balık sinyalinin varlığında – aynı sipermetrin dozunu içeren ama balık sinyali içermeyen uygulamaya kıyasla – bireylerin daha erken ve daha küçük boylarda üremeye başladığı varsayımını desteklemektedir.

Bu çalışmada sipermetrinin etkisini balık avlanma baskısının daha az şiddetli hale getirme yönünde etkileyebileceği önerilmektedir. Balık sinyalinin bu deneyde sipermetrin-kaynaklı üremedeki olumsuz etkilerini hafifletmesi, önceki deneyde belirtilen sipermetrin-kaynaklı yaşama oranındaki azalmayı artırması yönündeki etkisine benzerlik göstermektedir. Diğer bir deyişle, basit karşılaştırmalı etki modeline göre balık sinyali insektisit etkisi üzerine azalan stres (antagonist) etkisi gösteriyor olabilir. Yaşama oranının modellenmesi sonuçlarına göre de, sipermetrin etmeni yaşama oranını olumsuz yönde etkileyen en önemli etmendir. Ancak, balık etmeninin de önemi vurgulanmaktadır. Hatta, öldürücü dozlara kısa süreli (akut) olarak maruz kalma durumunda balık sinyalinin varlığının olumsuz etkilerinin olduğu, ancak yarı- öldürücü dozlara uzun süreli (kronik) olarak maruz kalma durumunda balık sinyalinin varlığının yaşama oranına etkisinin olumlu yönde olduğu belirtilmektedir.

Bütün bu değişimlerin moleküler olarak, sipermetrin varlığında strese giren *Daphnia* bireylerinde gözlemlenen değişimlerin lipid peroksidasyonunun artmasından ve dolayısıyla sipermetrinin oksidatif strese neden olmasından kaynaklanıyor olabilir. Hatta, balık sinyalinin varlığında lipid peroksidasyonunda gözlenen artış, öldürücü dozlara kısa süreli (akut) olarak maruz kalma durumunda balık sinyalinin varlığında gözlenen olumsuz etkileri desteklemektedir. Öte yandan, sipermetrin maruziyeti durumunda gözlenen protein ve karbonhidrat miktarlarındaki azalma artan enerji ihtiyaçlarını karşılayabilmek için lipid, karbonhidrat ve protein tüketimine başvurmalarına neden olabilir. Bu durum, pestisite maruz kalma durumunda besin tüketiminin azalmasından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak, araştırmamızda doğal bir stres etmeni olarak balık avlanma baskısını benzeten balık sinyalinin, insan kaynaklı bir diğer stres etmeni (küresel iklim değişikliği sonucu artması beklenen tuzluluk veya tarım kökenli pestisit) ile olan etkileşimleri ve moleküler düzeyde ki değişimler incelenmiştir. Dolayısıyla, bu gibi özgün ekotoksikolojik deneyleri değişik kladoser gruplarıyla ve/veya birçok zooplanton türü birarada olacak şekilde değişik sıcaklık, besin ve avlanma baskısı koşullarında gerçekleştirmenin ve böylece tatlısulara yaşayan türlerin çeşitliliğini değerlendirmenin önemi vurgulanmaktadır.

Yapılan deneyler sonucunda elde edilen sonuçları aşağıdaki gibi özetleyebilir ve sunulan grafikte ki gibi bir kavramsal modele indirgeyebiliriz:

Daphnia pulex'in tuzluluk ve balık avlanma baskısı stres etmenlerine maruz kaldığında gösterdiği tepkiler incelendiğinde ;

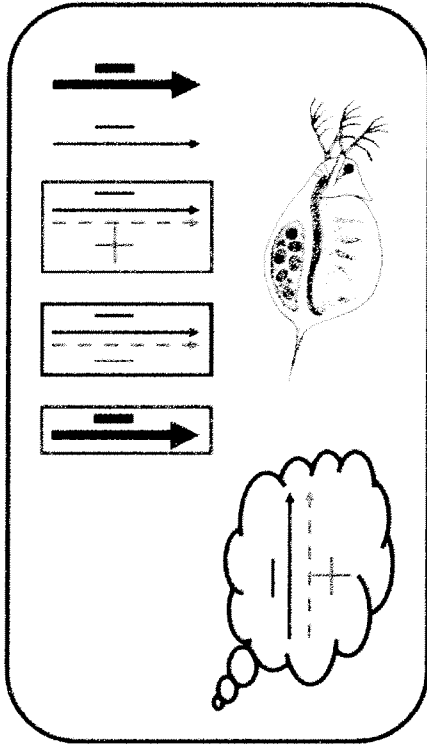
- Tuzluluk ile beraber balık sinyalinin varlığının *Daphnia* bireylerinin tuzluluğa olan direncini arttırdığı ve bu çoklu etkileşimin antagonistik olabileceği,
- Küresel ısınma sonucu olacak olası bir sıcaklık artışının (+3 °C) yaşama oranını azaltan en önemli değişken olarak ortaya çıktığı,
- FTIR spektroskopisi sonuçlarına göre artan tuzluluğun moleküler olarak oksidatif strese ve lipid, karbonhidrat ve protein miktarlarında azalmaya yol açtığı,
- Modelleme çalışmaları sonuçlarına göre, artan tuzluluk dozlarında vücut genişliği/vücut uzunluğu oranının azaldığı ve yumurta üretiminin de arttığı gözlenmiştir.

Daphnia pulex 'in sipermetrin ve balık avlanma baskısı stres etmenlerine maruz kaldığında gösterdiği tepkiler incelendiğinde ;

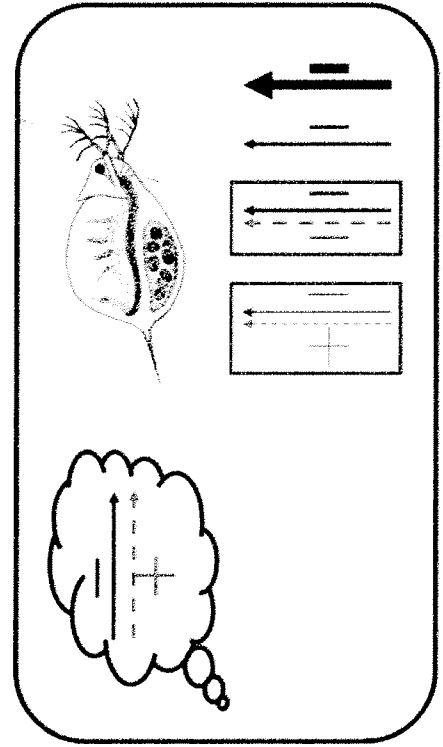
- Sipermetrin ile beraber balık sinyalinin varlığının öldürücü dozlarda etkileşimin sinerjistik olabileceği, ancak yarı-öldürücü dozlarda ise etkileşimin antagonistik olabileceği,
- FTIR spektroskopisi sonuçlarına göre artan sipermetrinin moleküler olarak oksidatif strese ve lipid, karbonhidrat ve protein miktarlarında azalmaya yol açtığı,
- Modelleme çalışmaları sonuçlarına göre, hem sipermetrinin, hem de balık sinyalinin yaşama oranını etkileyen önemli etmenler olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, küresel ısınma sonucu sucul ortamlarda artması muhtemel olan tuzlanma ve pestisit yoğunluğunun doğal stres etmenlerinin varlığında tatlısu ekosistemlerinin karakteristik kilit canlısı olan *Daphnia* türlerinin üzerinde moleküler düzeyde yaptığı değişimlerle yaşama oranını düşürerek yok olmasına neden olacaktır. Benzer durum diğer tatlısu türleri içinde ihtimal dahilindedir.

NaCl



CM



ANTAGONİSTİK: - +

SİNERJİSTİK: --

BALIK SİNYALİ: TURUNCU
KESİK ÇİZGİ

TUZ: MAVİ DÜZ ÇİZGİ

SİPERMETRİN (CM): YEŞİL
ÇİZGİ

ÇİZGİ KALINLIĞI
YOGUNLUK İLE DOĞRU
ORANTILIDIR.

NORMAL SICAKLIK-
OPTİMUM BESİN: PEMBE

NORMAL SICAKLIK-
DÜŞÜK/ASGARİ BESİN:
KOYU YEŞİL

YÜKSEK SICAKLIK:
KIRMIZI

FTİR VERİSİ: MOR BULUT,
OLEFİNİK/LİPİD/PROTEİN/
KARBONHİDRAT MİKTARI

4. KAYNAKÇA

Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., ve Rezaie, A., Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* 10 (6): RA141-147, (2004).

Amsinck, S.L., E. Jeppesen ve F. Landkildehus, Reconstruction of past changes in zooplankton community structure and planktivorous fish densities from sedimentary subfossils - a study in a coastal lake subjected to major fish kill incidents during the past century. *Arch. Hydrobiol.* 162: 000-000, (2005).

Antunes S.C., Castro B.B., Gonçalves F., Effect of food level on the acute and chronic responses of daphnids to lindane, *Environmental Pollution*, 127, 367–375, (2004).

Arnell, N.W. Relative effects of multi-decadal climatic variability and changes in the mean and variability of climate due to global warming: future streamflows in Britain. *Journal of Hydrology*, 270 (3-4), 195-213, (2003).

Arner M., Koivisto S. Effects of salinity on metabolism and life history characteristics of *Daphnia magna* – *Hydrobiologia*, 259: 69–77, (1993).

Baillieul M., De Wachter B. ve Blust R. Effect of salinity on the swimming velocity of the water flea *Daphnia magna*. *Physiological Zoology*, 71: 703-707, (1998).

Baillieul, F., Fritig, B., and Kauffmann, S. Occurrence among *Phytophthora* species of a glycoprotein eliciting a hypersensitive response in tobacco and its relationships with elicitors. *Mol. Plant- Microbe Interact.* 9:214-216, (1996).

Baird, D. J., Barber, I., Calow, P., Clonal Variation in General Responses of *Daphnia magna* Straus to Toxic Stress. I. Chronic Life-History Effects, *Functional Ecology*, *New Horizons in Ecotoxicology* 4 (1990) 399-407

Bambang, Y., Charmantier, G., Trilles, J.-P., Effect of cadmium on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Mar. Biol.*, 123, 443-450, (1995a).

Bambang, Y., Thuet, P., Charmantier-Daures, M., Trilles, J.-P., Charmantier, G.. Effect of copper on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea, Decapoda). *Aquatic Toxicol.* 33, 125-139, (1995b).

Barata, C., Baird, D J., Medina, M., Albalat, A., Soares, A.M.V.M., Determining the ecotoxicological mode of action of toxic chemicals in meiobenthic marine organisms: stage-specific short tests with *Tisbe battagliai*, *Marine Ecology-progress Series* 230:183-194, (2002).

- Barata, C., Baird, D.J., Nogueira, A.J.A., Soares, A.M.V.M., Riva, M.C., Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus. Implications for multi-substance risks assessment *Aquatic Toxicology* 78: 1–14, (2006).
- Barata, C., Medina, M., Telfer, T., Baird, D. J., Determining Demographic Effects of Cypermethrin in the Marine Copepod *Acartia tonsa*: Stage-Specific Short Tests Versus Life-Table Tests, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43: 373–378, (2002).
- Barlas N., Ismet C. Ok ve Nuray Akbulut, The Contamination levels of organochlorine pesticides in water and sediment samples in Uluabat lake, Turkey, *Environmental Monitoring and Assessment*, 118: 383-391, (2006).
- Barry J., Pieters, B. J., Jager, T., Michiel, H., Kraak, S., Admiraal, W., Modeling responses of *Daphnia magna* to pesticide pulse exposure under varying food conditions: intrinsic versus apparent sensitivity, *Ecotoxicology*, 15: 601–608, (2006).
- Barry, M. J., Effects of endosulfan on *Chaoborus*-induced life-history shifts and morphological defenses in *Daphnia pulex*, *Journal of Plankton Research* 22:1705–1718, (2000).
- Barry, M.J., The effects of a pesticide on inducible phenotypic plasticity in *Daphnia*, *Environmental Pollution*, 104: 217–224, (1999).
- Begum, G., In vivo biochemical changes in liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82 (2005) 185–196.
- Beklioglu M., Telli M., ve Gozen A. Fish and mucus-dwelling bacteria interact to produce a kairomone that induces diel vertical migration in *Daphnia*. *Freshwater Biology*, 51, 2200–2206, (2006b).
- Beklioğlu, M. ve Tan C.O. Drought complicated restoration of a Mediterranean shallow lake by biomanipulation. *Archive für Hydrobiologie*, (2007).
- Beklioglu, M., Altınayar, G. ve Tan, C.O. "Water level control over submerged macrophyte development in five shallow lakes of Mediterranean Turkey". *Archive fur Hydrobiology*, 166: 535-556, (2006).
- Beklioglu, M., Cetin A.G., Zorlu, P. ve Ay-Zog, D., Role of planktonic bacteria in biodegradation of fish-exuded kairomone in laboratory bioassays of diel vertical migration, *Arch. Hydrobiol.*, 165: 89-104, (2006a).
- Beklioğlu, M., Romo, S, Kagalou, I Quintana, X ve Bécares E. State of the Art in the Functioning of Shallow Mediterranean Lakes: Workshop Conclusions. *Hydrobiologia*, 584: 317-326, (2007).

Bengtsson L. ve Enell M., Chemical analysis. In: Berglund BE (ed) Handbook of holocene paleoecology and palaeohydrology. Wiley, NY, pp 423–451, (1986).

Blinn D.W, Halse S.A, Pinder A.M, Shiel R.R, McRae J.M. Diatom and micro-invertebrate communities and environmental determinations in the western Australian wheatbelt: a response to salinization. *Hydrobiologia* 528: 229–248, (2004).

Boersma, M., Spaak, P. ve De Meester, L. Predator-mediated plasticity in morphology, life history, and behavior of *Daphnia*: The uncoupling of responses. - *American Naturalist* 152: 237-248, (1998).

Bollens S.M. ve Frost B.W. Ovigerity, selective predation, and variable diel vertical migration in *Euchaeta elongate* (Copepoda: Calanoida). *Oecologia* 87:155–161, (1991).

Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Zanini, R., Amaral, Jurinitz, F., Wassermann, G.F., Changes in hematological and serum biochemical values in jundia *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin, *Chemosphere* 69 (2007) 920–926.

Boyar, H. and Severcan, F., 1997. Oestrogen-phospholipid membrane interactions: an FTIR study. *J. Molecular Structure*, 408/409, 269-272.

Boyar, H., Zorlu, F., Mut, M. and Severcan, F., 2004. The effects of chronic hypoperfusion on rat cranial bone mineral and organic matrix: a Fourier transform infrared spectroscopy study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **379** (3) 433-438.

Bradbury, S.P. and Coats, J.R., Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 108, 133–177, (1989).

Bradbury, S.P., Makim, J.R., Coats, J.R. Physiological responses of rainbow trout *Salmo gairdneri* to acute fenvalerate intoxication. *Pestic. Biochem. Physiol.* 27, 275–285 (1987).

Brett M. T., Martin L. ve Kawecki, T.J. An experimental test of the egg-ratio method: estimated versus observed death rates *Freshwater Biology* 28 (2), 237–248, (1992).

Brett, M.T. Chaoborus and fish-mediated influences on *Daphnia longispina* population structure, dynamics, and life-history strategies. *Oecologia* 89:69–77, (1992).

Bridges, C.M., Predator-prey interactions between two amphibian species: effects of insecticide exposure. *Aquatic Ecology*, 33: 205-211, (1999).

Brock, T.C.M., Roijackers, R.M.M., Rollon, R., Bransen, F., Van der Heyden, L. Effects of nutrient loading and insecticide application on the ecology of *Elodea*-dominated freshwater microcosm. 11. Responses of macrophytes, periphyton and macroinvertebrate grazers. *Arch. Hydrobiol.* 134, 53–74 (1995).

Brönmark, C. and L. A. Hansson. Chemical communication in aquatic systems: an introduction. *Oikos* 88:103–111, (2000).

Brooks J.L. and. Dodson S. I. Predation, Body Size, and Composition of Plankton *Science* 1 October: Vol. 150. no. 3692, pp. 28 – 35, (1965).

Bruland, K. W., J. R. Donat, D. A. Hutchins. 1991. Inter-active influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. *Limnol. Oceanogr.* 36: 1555-1577.

Buckler, D.R., Mayer, F.L., Ellersieck, M.R., ve Asfaw, A. Acute toxicity extrapolation with fish and aquatic invertebrates. *Archive of Environment Contamination and Toxicology*, 49(4), 546–558, (2005).

Burak, S., Duranyıldız, I., ve Yetiş, U., 1997. Ulusal Çevre Eylem Planı: Su Kaynaklarının Yönetimi. DPT, Ankara.

Burks, R.L., D.M. Lodge, E. Jeppesen ve T.L. Lauridsen. Diel horizontal migration of zooplankton: costs and benefits of inhabiting the littoral. *Freshwat. Biol.*, 47: 343- 365, (2002).

Burns C.W. ve Dodds A. Food limitation, predation and allelopathy in a population of *Daphnia carinata* *Hydrobiologia* 400: 41–53, (1999).

Burns, C. W. Relation between filtering rate, temperature and body size in four species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* 14:693-700, (1969).

Burns, C.W. Effects of crowding and different food levels on growth and reproductive investment of *Daphnia*. *Oecologia* 101: 234–244, (1995).

Burns, C.W., The relationship between body size of filter-feeding Cladocera and the maximum size of particles ingested. *Limnol. Oceanogr.* 13, 675–678, (1968).

Bury N.R., Galvez F., Wood C.M. Effects of chloride, calcium, and dissolved organic carbon on silver toxicity: Comparison between rainbow trout and fathead minnows. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 56-62, (1999).

Cairns Jr., J., Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard? *Hydrobiologia* 100, 47-57, (1983).

Cairns Jr., J., The myth of the most sensitive species. *BioScience* 36, 670-672, (1986).

Cakmak, G., Togan, I., Severcan F., (2006). "17 β -Estradiol induced compositional, structural and functional changes in rainbow trout liver, revealed by FT-IR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol". *Aquatic Toxicology*, 77: 53–63.

- Cakmak, G., Togan, I., Uğuz, C. and Severcan, F., 2003. FT-IR spectroscopic analysis of rainbow trout liver exposed to nonylphenol. *Appl. Spectrosc.* **57**, 835–841.
- Calow P. Proximate and ultimate responses to stress in biological systems, *Biol. J. Limn. Soc.* **37**, 173-181, (1989).
- Cameron P.G., Charette G.M., Automation of Fourier transform infrared of temperature-induced phenomena *Applied Spectroscopy*, **35**, 224, (1981).
- Carpenter, S.R., C.E. Kraft, R. Wright, X. He, P.A. Soranno, and J.R. Hodgson. Resilience and resistance of a lake phosphorus cycle before and after food web manipulation. *American Naturalist* **140**: 781-798. (1992).
- Carsten J. Loose. Lack of Endogenous Rhythmicity in *Daphnia* Diel Vertical Migration *Limnology and Oceanography*, Vol. **38**, No. 8 pp. 1837-1841, (Dec., 1993).
- Charmantler, G., Bouaricha, N., Charmantler-Daures, M., Thuet, P., Trilles, J.-P. Salinity tolerance and osmoregulatory capacity as indicator of the physiological state of penaeid shrimps. *Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ.* **10**: 65-66 (1989).
- Christensen, B. T., Lauridsen, T. L., Ravn, H.W., Bayley, M., A comparison of feeding efficiency and swimming ability of *Daphnia magna* exposed to cypermethrin, *Aquatic Toxicology* **73** (2005) 210–220.
- Coats, J. R., Mechanisms of Toxic Action and Structure-Activity Relationships for Organochlorine and Synthetic Pyrethroid Insecticides, *Environmental Health Perspectives*, **87** (1990) 255-262.
- Cold, A., Forbes, V. E., Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex* *Aquatic Toxicology* **67** (2004) 287–299.
- Cole, J.J., Carpenter, S.R., Kitchell, J.F., and Pace, M.L. Pathways of organic carbon utilization in small lakes: results from a whole-lake ¹³C addition and coupled model. *Limnol. Oceanogr.* **47**: 1664–1675 (2002).
- Coops, H., Meryem Beklioglu, M., Crisman, L., The role of water-level fluctuations in shallow lake ecosystems – workshop conclusions *Hydrobiologia* **506–509** (2003) 23–27.
- Cowgill J.M., Critical analysis of factors affecting the sensitivity of zooplankton and the reproducibility of toxicity test results, *Water Res.* **21**: 1453–1462, (1987).
- Cowgill, U.M. and D.P. Milazzo. The Sensitivity of Two Cladocerans to Water Quality Variables: Alkalinity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **21**(2): 224-232. (1991).

- Cowgill, U.M., Emmel, H.W., ve Takahashi, I.T. Inorganic chemical composition of trout food pellets and alfalfa used to sustain *Daphnia magna* Straus. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*, 34: 890–896, (1985).
- Cowgill, U.M., Milazzo, D.P. The sensitivity of two cladocerans to water quality variables, salinity and hardness. *Arch. Hydrobiol.* 120, 185–196, (1990).
- Dağ, S., Aykaç, T., Gündüz, A., Kantarcı, M., and Şişman, N., 2000. Türkiyede tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. *Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi*, 2, 933, Ankara.
- David, M., Mushigeri, S.B., Shivakumar, R., Philip, G.H. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles, *Chemosphere* 56 (2004) 347–352.
- Dawidowicz, P. and C.J. Loose. Cost of swimming by *Daphnia* during diel vertical migration. *Limnol. Oceanogr.* 37: 665-669, (1992a).
- Dawidowicz, P. and C.J. Loose. Metabolic costs during predator-induced diel vertical migration of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 37: 1589-1595, (1992b).
- de Bernardi R. ve Peters R.H. Why *Daphnia*? In: Peters, R.H., De Bernardi, R. (Eds.), *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dottore Marco de Marchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza*, (1987).
- De Meester L. ve Lj Weider. Depth-selection behavior, fish kairomones, and the life histories of *Daphnia hyalina x galeata* hybrid clones. *Limnology and Oceanography* 44: 1248-1258, (1999).
- Dicke, M. ve Sabelis, M.W. How plants obtain predatory mites as bodyguards. *Neth. J. Zool.*, 38, 148–165, (1988).
- Diem M., *Introduction to modern vibrational spectroscopy*, ed: John Wiley ve Sons, (1993) USA.
- Dodson S I, Frey D.G. Cladocera and other branchiopoda. In: Thorp JH, Covich AP (eds) *Ecology and classification of North American Freshwater invertebrates*. Academic Press, London, pp 850–914, (2001).
- Dodson S.I. ve Hanazato, T. Commentary on effects of anthropogenic and natural organic-chemicals on development, swimming behavior, and reproduction of *Daphnia*, a key member of aquatic ecosystems. *Environmental Health Perspectives*. 103: 7-11, (1995).
- Dodson, S I. The ecological role of chemical stimuli for the zooplankton: Predator avoidance behavior in *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 33: 143 1-1439, (1988).
- Dodson, S.I. Predator-induced reaction norms. *BioScience* 39: 447-452, (1989b).

Dodson, S.I. The ecological role of chemical stimuli for zooplankton: Predator-induced morphology in *Daphnia*. *Oecologia* 78: 361-367, (1989a).

Dodson, S.I., 1974. Adaptive change in plankton morphology in response to size-selection predation: a new hypothesis for cyclomorphosis. *Limnol. Oceanogr.* **19**, 721-729.

Dodson, S.I., 1988. The ecological role of chemical stimuli for the zooplankton: Predator-avoidance behaviour in *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* **33**, 1431-1439.

Dodson, S.I., Crowl, T.A., Peckarsky, B. L., Kats, I. B., Covich, A.P., ve Culp, I.M. 1994. Non-visual communication in freshwater benthos: An overview. *J. North Am. Benthol. Soc.* 13: 268–282.

Dogan A., Ergen K., Budak F., Sevecan F., (2007). "Evaluation of disseminated candidiasis on an experimental animal model: A Fourier transform infrared study". *Applied Spectroscopy*, 61 (2): 199-203

Doksaeter, A. ve Vijverberg, J. The effects of food and temperature regimes on life-history responses to fish kairomones in *Daphnia hyalina x galeata*. *Hydrobiologia* 442: 207-214 (2001).

Donna R Kashiana, D.R., Dodson, S.I., Effects of common-use pesticides on developmental and reproductive processes in *Daphnia*, *Toxicology and Industrial Health* 18 (2002) 225-235.

Edmondson, W. T. and Litt, A. H. 1982. *Daphnia* in Lake Washington. *Limnol. Oceanogr.* 27: 272–293.

Edmondson W.T. *Daphnia* in experimental ecology: Notes on historical perspectives. In: Peters, R.H., De Bernardi, R. (Eds.), *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dottore Marco de Marchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza.* (1987).

EEA, 2003

Elser, J.J. and Goldman, C.R., 1990. Zooplankton effects on phytoplankton in lakes of contrasting trophic status. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 64-90.

EPA 1999. Sediment toxicity and fate of synthetic pyrethroids. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.

EPA Probit Analysis Program Version 1.5; EPA: <http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm>

EPA, 2007; EPA: <http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm>

Erol, O. Genel klimatoloji, Gazi Büro Kitabevi, 4. Baskı, Ankara, 399s. (1993).

Farr J.A. Impairment of antipredator behavior in *Palaemonetes pugio* by exposure to sublethal doses of parathion. *Trans. American Fish Soc.* 106, 287-290 (1997).

Flik, B. J. G., J. Ringelberg. Influence of food availability on the initiation of diel vertical migration (DVM) in Lake Maarsseveen. *Ergeb. Limnol.* 39: 57-65 (1993).

Folt, C. L. ve Goldman, C. R. Allelopathy between zooplankton: a mechanism for interference competition. *Science* 213: 1133-1135 (1981).

Folt, C. L., Chen, C. Y., Moore, M. V. et al. Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnol. Oceanogr.* 44: 864-877 (1999).

Freifelder D., *Physical biochemistry: Applications of biochemistry and molecular biology*, Freeman W. H. and Company, USA, 494-536 (1982).

Friberg-Jensen, U., Wendt-Rasch, L. Woin, P. and Christoffersen, K. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquatic Toxicology.* 63: 357-371 (2003).

Friedman, J. H. ve Tukey, J. W. A projection pursuit algorithm for exploratory data analysis. *IEEETrans.Comp.*, C23: 881-890 (1974).

Fukuyama, Y., Yoshida, S., Yanagisawa, S. and Shimizu, M. A study on the differences between oral squamous cell carcinomas and normal oral mucosas measured by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biospectroscopy*, 5, 117-126 (1999).

Gama-Flores J. L., Sarma S.S.S. Nandini S. Acute and chronic toxicity of the pesticide methyl parathion to the rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera) at different algal (*Chlorella vulgaris*) food densities. *Aquatic Ecology* Volume 38, Number 1, 27-36 (2004).

Geller, W. Die Nahrungsaufnahme von *Daphnia pulex* in Abhängigkeit von der Futterkonzentration, der Temperatur, der Körpergröße und dem Hungerzustand der Tiere. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 48, p. 47-107 (1975).

Geoff K. Frampton, G. K., van den Brink, P.J., Collembola and macroarthropod community responses to carbamate, organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides: Direct and indirect effects, *Environmental Pollution* 147 (2007) 14-25.

Giddings, J.M., Solomon, K.R. and Maund, S.J., 2001. Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: II. Aquatic mesocosm and field studies. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 20 (3) 660-668.

- Gidman, E., Goodacre, R., Emmett, B., Smith, A.R. and Gwynn-Jones, D., 2003. Investigating plant-plant interference by metabolic fingerprinting. *Phytochemistry*, 63 (6) 705-710.
- Gliwicz, Z.M. and Sieniawska, A., 1986. Filtering activity of *Daphnia* in low concentrations of a pesticide. *Limnology and Oceanography*. 31, 1132-1137.
- Gliwicz, Z.M. ve Boavida, M.J. Clutch size and body size at first reproduction in *Daphnia pulicaria* different levels of food and predation. *J. Plankton Res.* 1 8(6): 863-880 (1996).
- Gorgulu S.T., Dogan M., Severcan F.,(2007). "The characterization and differentiation of higher plants by Fourier transform infrared spectroscopy". *Applied Spectroscopy*, 61 (3):300-308.
- Goulden, C. E., R. M. Comotto, J. A. Henderickson, JR., L. L. Henry, K. L. Johnson.. Procedures and recommendations for the culture and use of *Daphnia* in bioassay studies, p. 148- 169. In *Aquatic toxicology and hazard assessment. 5th Conf. Am. Sot. Testing Mater. ASTM STP 766.* (1982)
- Gowland, B., Webster, L., Fryer, R., Davies, I., Moffat, C., Stagg, R., Uptake and effects of the cypermethrin-containing sea lice treatment Excis1 in the marine mussel, *Mytilus edulis*, *Environmental Pollution* 120 (2002) 805–811.
- Gowland, Ben T. G., Colin F. Moffat, C. F., Stagga, R. M., Houlihanb, D. F., Daviesa, I. M., Cypermethrin induces glutathione S-transferase activity in the shore crab, *Carcinus maenas* *Marine Environmental Research* 54 (2002) 169–177.
- Hall C. ve Burns C W. Mortality and growth responses of *Daphnia carinata* to increases in temperature and salinity *Freshwater Biology* 47: 451±458, (2002).
- Hall, D. An experimental approach to the dynamics of a natural population of *Daphnia galeata mendotae*. *Ecology*, 45: 94-112, (1964).
- Hanazato T. ve Dodson S.I. (1995) Synergistic effects of low oxygen concentration, predator kairomone, and a pesticide on the cladoceran *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography*, 40, 700–709.
- Hanazato T. ve Yoshimoto F. Fish-induced life-history shifts in the cladocerans *Daphnia* and *Simocephalus*: are they positive or negative responses? – *Journal of Plankton Research*, 23 (9): 945-951, (2001).
- Hanazato, T. (1991) Effects of repeated application of carbaryl on zooplankton communities in experimental ponds with or without the predator *Chaoborus*, *Environmental Pollution*, 74: 309-324.
- Hanazato, T. Life history responses of two *Daphnia* species of different sizes against a fish kairomone. *Jpn. J. Limnol.*, 56, 27–32 (1995).

Hanazato, T. ve Dodson, S.I. 1992. Complex effects of a kairomone of Chaoborus and an insecticide on *Daphnia pulex*. *Journal of Plankton Research*, 14 (12): 1743-1755.

Hanazato, T. ve Dodson, S.I., Complex effects of a kairomone of Chaoborus and an insecticide on *Daphnia pulex*, *Journal of plankton research* 14 (1992) 1743-1755.

Hanazato, T. ve Hirokawa, H. (2004). Changes in vulnerability of *Daphnia* to an insecticide application depending on the population phase. *Freshw. Biol.*, 49, 402–409.

Hanazato, T., Anthropogenic chemicals (insecticides) disturb natural organic chemical communication in the plankton community, *Environmental Pollution* 105 137–142 (1999).

Hanazato, T., Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological Perspective, *Environmental Pollution* 112 (2001) 1–10.

Hanazato, T., Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities, *Environmental Pollution* 101 (1998) 361–373.

Hanazato, T., 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental Pollution*. 112, 1-10.

Hanson MA, ve Butler MG, (1994) Responses to food-web manipulation in shallow waterflowl lake. *Hydrobiology*, 280: 457-466.

Haris P.I., Severcan F., FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media, *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 7, 207-221, (1999).

Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., McMahon, A., Meredith, C., Swadling, K. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. *Hydrobiologia* 210, 105–144, (1991).

Hart, R.C. ve McLaren, I. A. Temperature acclimation and other influences on embryonic duration in the copepod *Pseudocalanus* sp *Journal of marine biology*, 45: 1, (1978).

Hastie, T., Tibshirani, R., ve Friedman, J. *The elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference and Prediction*. Springer, New York. (2001)

Havel, J.E., Dodson, S.I., 1984. Chaoborus predation on typical and spined morphs of *Daphnia pulex*: behavioral observation. *Limnology and Oceanography* 29, 487–494.

Haya, K., Toxicity of pyrethroid insecticides to fish., *Environ. Toxicol. Chem.*, 8: 381-391, (1989).

Hebert P.D.N. Genotypic characteristics of the Cladocera. *Hydrobiologia*, 145, 183±193. (1987).

- Hebert, P.D.N. and Grewe, P.M., 1985. Chaoborus induced shifts in the morphology of *Daphnia ambigua*. *Limnol. Oceanogr.*, 30, 1291-1296.
- Hebert, P.D.N. and P.M. Grewe. Chaoborus-induced shifts in the morphology of *Daphnia ambigua*. *Limnol. Oceanogr.* 30: 1291-1297, (1985).
- Hebert, P.D.N., Remigio, E.A., Colbourne, J.K., Taylor, D.J., Wilson, C.C.. Accelerated molecular evolution in halophilic crustaceans. *Evolution* 56, 909–926, (2002).
- Helgen, J. C. Feeding rate inhibition in crowded *Daphnia pulex*. *Hydrobiologia* 154: 113–119 Irvine K, Bales MT, Stansfield JH, Snook D (1990) Trophic relations in Hickling Broad - a shallow and brackish eutrophic lake. *Verh int Verein theor angew Limnol* 24: 576-579, (1987).
- Heugens E. Predicting effects of multiple stressors on Aquatic Biota December 17 ISBN 90-76894-40-X pp 167 (2003).
- Hrbajek, J.. Competition and predation in relation to species composition of freshwater zooplankton, mainly Cladocera, p. 305-353. In J. Cairns [ed.], *Aquatic microbial communities*. Garland. (1977)
- IPCC Assessment Report. <http://www.ipcc.ch/> (2001, 2007).
- Irvine, K., B. Moss ve J. Stansfield, 1990. The potential of artificial refugia for maintaining a community of large-bodied Cladocera against fish predation in a shallow eutrophic lake. *Hydrobiologia*, 200–201: 379–390.
- Jak, R., 1997. Toxicant-induced changes in zooplankton communities and consequences for phytoplankton development. Ph.D Thesis, Vrije Universitat, Den Helder, The Netherlands.
- Jeppesen E, Søndergaard M, Christoffersen K, Theil-Nielsen J., ve Jurgens K. (2002) Cascading trophic interactions in the littoral zone: an enclosure experiment in shallow Lake Stigsholm, Denmark. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 153 (4): 533-555.
- Jeppesen E, Søndergaard M, Pedersen AR, Jürgens K, Strzelczak A, Lauridsen TL, Johansson LS. 2007. Salinity induced regime shift in shallow brackish lagoons. *Ecosystems* 10.
- Jeppesen E. , Søndergaard Ma., Søndergaard Mo. , Christoffersen K., *Macrophytes in Lakes*, pp. 233–239. Springer Verlag, New York, (1998).
- Jeppesen, E., Jensen, P.J., Søndergaard, M., Lauridsen, T.L., 1999. Trophic dynamics in turbid and clearwater lakes with special emphasis on the role of zooplankton for water clarity. *Hydrobiologia* 408/409, 217–231.

Jeppesen, E., Søndergaard, M., Kanstrup, E., Petersen, B., Henriksen, R.B., Hammershøj, M., Mortensen, E., Jensen, J.P., Have, A. Does the impact of nutrients on the biological structure and function of brackish and freshwater lakes differ? *Hydrobiologia* 275-276: 15-30.(1994).

Joana Luísa Pereira ve J. L., Goncalves, F., Effects of food availability on the acute and chronic toxicity of the insecticide methomyl to *Daphnia* spp. *Science of the Total Environment* 386 (2007) 9–20.

John Vernberg, F. J., Piyatiratitivorakul, S., Effects of Salinity and Temperature on the Bioenergetics of Adult Stages of the Grass Shrimp (*Palaemonetes pugio* Holthuis) from the North Inlet Estuary, *Estuaries*, 21 (1998) 176-193.

José Luis Gama-Flores, J. L., Sarma, S.S.S., ve Nandini, S. Acute and chronic toxicity of the pesticide methyl parathion to the rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera) at different algal (*Chlorella vulgaris*) food densities, *Aquatic Ecology*, 38, (2004) 27–36.

JRC, 2005

Jung, C., 2000. Insight in protein structure and protein-ligand recognition by Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Mol. Recognit.*, 13, 325–351.

Karen D.J., Ownby D.R., Forsythe B.L., Bills T.P., La Point T.W., Cobb G.B., Klaine S.J. Influence of water quality on silver toxicity to rainbow trout, fathead minnows, and water fleas. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 63-70, (1999).

Kate J Willis, K.J., Ling, N., Toxicity of the aquaculture pesticide cypermethrin to planktonic marine copepods, *Aquaculture Research*, 35 (2004) 263-270.

Kefford, B. J., P. J. Papas, L. Metzeling, and D. Nugegoda Do laboratory salinity tolerances of freshwater animals correspond with their field salinity? *Environmental Pollution* 129: 355–362. (2004)

Kilham S.S., Kreeger D.A., Lynn S.G., Goulden C.E. ve Herrera L. COMBO: a defined freshwater culture medium for algae and zooplankton. *Hydrobiologia*, 377: 147±159. (1998).

Kinder R., Ziegler C., Wessels J.M., (1997). "γ-Irradiation and UV-C light-induced lipid peroxidation: A Fourier transform-infrared absorption spectroscopic study". *International. Journal of Radiation Biology*, 71(5):561-571.

Kobayashi, H.A. Growth cycle and related vertical distribution of the thecostomus pteropod *piratella* ("Limacina") *helicina* in the central Arctic Ocean. *Marine Biology* 26295-301. (1974).

Kruskal, J. B. Linear transformation of multivariate data to reveal clustering. 1: 179–191. Seminar Press, London. (1972)

- Kruskal, J.B. Toward a practical method which helps uncover the structure of a set of observations by finding the line transformation which optimizes a new "index of condensation" sy. 427–440. R. C. Milton ve J.A. Nelder (ed), *Statistical Computation*. Academic Press, New York., (1969).
- Kumosinski, T.F. and Farrell, H.M.Jr., 1993. Determination of the secondary structure of proteins by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Trends in Food Science ve Technology*, 4, 169-175.
- Lagerspetz K. Physiological studies on the brackish water tolerance of some species of *Daphnia*. *Arch Soc Vanamo Suppl* 9:138–143 (1955).
- Lakota, S., A. Raszka, T. Utracki, and Z. Chmiel, 1989
- Lammens (2005): The impact of climate change on lakes in the Netherlands: a review. *Aquatic Ecology* 39(4): 381-400
- Lampert, W. Release of dissolved organic carbon by grazing zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 23: 831-834 (1978).
- Lampert, W. Studies on the carbon balance of *Daphnia pulex* de Geer as related to environmental conditions. III. Production and production efficiency – *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 48: 336–360 (1977b).
- Lampert, W. Studies on the carbon balance of *Daphnia pulex* de Geer as related to Macháček, J. Indirect effect of planktivorous fish on the growth and reproduction of *Daphnia galeata*. *Hydrobiologia* 225: 193-197, (1991).
- Lampert, W.,. Feeding and nutrition in *Daphnia*. In: Peters, R.H., De Bernardi, R. (Eds.), *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dottore Marco de Marchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza.* (1987)
- Lass, S. ve Spaak, P. Temperature effects on chemical signalling in a predator– prey system. *Freshwater Biology*, 48: 669-677, (2003).
- Lauridsen T.L., Jeppesen E., Søndergaard M. ve Lodge D. Horizontal migration of zooplankton: predator-mediated use of macrophyte habitat. In: *The Structuring Role of Submerged* (Eds E).
- Lauridsen, T. L., ve Buenk. I. Diel changes in the horizontal distribution of zooplankton in the littoral zone of two shallow eutrophic lakes. *Arch. Hydrobiol.* 137: 161–176, (1996).
- Li, T., Talvenheimo, J., Zeni, L., Rosenfeld, R., Stearns, G. And Arakawa, T., 2002. Changes in protein conformation and dynamics upon complex formation of brain-derived neurotrophic factor and its receptor: Investigation by isotope-edited Fourier transform IR spectroscopy. *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 67, 10–19.

Liess, M., Pieters, B.J., Duquesne, S., Long-term signal of population disturbance after pulse exposure to an insecticide: Rapid recovery of abundance, persistent alteration of structure *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (2006) 1326-1331.

Lignot, J. H., Charmantier, G., Cochard, J.-C., Effect of an organophosphorus insecticide, fenitrothion, on survival, osmoregulation, and acetylcholinesterase activity in different life stages of two penaeid shrimps: *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *J. Shellfish Research* 17, 1251-1258 (1998a).

Lignot, J.H., Charmantier, G., Trilles, J.-P. Effects of an organophosphorus insecticide, fenitrothion, on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimps *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Mar. Biol.*, 128, 307-316 (1997).

Lignot, J.H., Spanings-Pierrot, C., Charmantier, G., Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191, 209-245. (2000)

Lilius H., Sandbacka M. , Isomaa B. The use of freshly isolated gill epithelial cells in toxicity testing *Toxicology in Vitro*, Volume 9, Issue 3, June, Pages 299-305 (1995).

Lin H.C. ve Dunson W.A. The effect of salinity on the acute toxicity of cadmium to the tropical, etuarine, hermaphroditic fish, *Rivulus marmoratus*: A comparison of Cd, Cu, and Zn tolerance with *Fundulus heteroclitus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 25, 41-47, (1993).

Lin, H.-P., Charmantier, G., Trilles, J.-P. Ammonia toxicity to different developmental stages of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda) and ~ tesf facts on osmoregulation .*C. r. Acad. Sci., Paris* 312(II1). 99-105 (1991).

Lincoln D, . E. T. S. Newton P, . R. Ehrlich , K. S. Williams. Coevolution of the checkerspot butterfly *Euphydryas chalcedona* and its larval food plant *Diplacus aurantiacus*: larval response to protein and leaf resin. *Oecologia (Berl.)*, 52:216-223 (1982)

Liu, W., J.J. Gan, S. Lee, and I. Werner, 2004

Loose, C. J. *Daphnia* diel vertical migration behavior: Response to vertebrate predator abundance. *Ergeb. Limnol.* 39: 29-36, (1993).

Loose, C.J., E. von Elert, and P. Dawidowicz. Chemically-induced diel vertical migration in *Daphnia*: a new bioassay for kairomones exuded by fish. *Arch. Hydrobiol.* 126: 329-337, (1993).

Lutnicka, H., Bogacka, T., Wolska, L., Degradation Of Pyrethroids In An Aquatic Ecosystem Model, *Wat. Res.* Vol. 33, No. 16, pp. 3441–3446, 1999.

Lyman D.J., and Murray-Wijelath J., (1999). "Vascular graft healing: I.FTIR analysis of a implant model for studying the healing of a vascular graft". *Journal of Biomedical Materials Research (Appl. Biomater.)*, 48:172-186.

Lynch. M. The life history consequences of resource depression in *Daphnia pulex*. *Ecology* 70:746-256 (1989).

Macháček, J. Comparison of the response of *Daphnia galeata* and *Daphnia obtusa* to fish-produced chemical substance. *Limnol. Oceanogr.*, 38, 1544–1550. (1993).

Macháček, J. Indirect effect of planktivorous fish on the growth and reproduction of *Daphnia galeata*. *Hydrobiologia* 225: 193-197, (1991).

Macháček, J.. Inducibility of life history changes by fish kairomone in various developmental stages of *Daphnia*. *J. Plankton Res.* 17: 1513–1520 (1995).

Mantel L.H., Farmer L.L. Osmotic and ionic regulation. In: Mantel LH (ed) *The biology of Crustacea*, Vol 5. Internal anatomy and physiological regulation. Academic Press, New York, p 53-161 (1983).

Martinez-Jeronimo F. ve Martinez-Jeronimo L. Chronic effect of NaCl salinity on a freshwater strain of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera): A demographic study (*Ecotoxicology and Environmental Safety* 67 411–416, (2007).

Mason, C.F., 2002. *Biology of freshwater pollution*. 4th Ed. Harlow, England: Pearson Education Limited.

Matias Medina, M., Barata, C., Telfer, T., Bairdb, D.J., Effects of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58 (2004) 236–245.

Matveev, V. An investigation of allelopathic effects of *Daphnia*. *Freshwat. Biol.* 29: 99–105, (1993).

Maul, J. D., Farris, J. L., Lydy, M. J., Interaction of chemical cues from fish tissues and organophosphorous pesticides on *Ceriodaphnia dubia* survival, *Environmental Pollution*, 12: 1-8, (2005).

Mayer, F.L., ve Ellersieck, M.R. *Manual of acute toxicity: Interpretation and database for 410 chemicals and 66 species of freshwater organisms*. Washington DC: US Fish and Wild Life Service, (1986).

Mayer, F.L., Versteeg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., McCume, O.C., Rattner, B.A.,. Physiological and nonspecific biomarkers. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Bergman,

H.L. (Eds.), *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. SETAC Special Publications Series. Lewis Publishers, Boca Raton. (1992)

McLusky D.S., Bryant V., Campbell R. The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 24, 481-520, (1986).

Medina, M., Barata, C., Telfer, T. and Baird, B.J., 2004. Effects of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 58, 236–245.

Meems, N., Steinberg, C.E.W., Wiegand, C., Direct and interacting toxicological effects on the waterflea (*Daphnia magna*) by natural organic matter, synthetic humic substances and cypermethrin, *The Science of the Total Environment* 319 (2004) 123–136.

Melin A., Perromat A., and Deleris G., (2000). "Pharmacologic Application of Fourier Transform IR Spectroscopy: In vivo Toxicity of Carbon tetrachloride on rat liver". *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 57:160-168.

Meyer, J.S., Sanchez, D.A., Brookman, J.A., McWhorter, D.B., ve Bergman, H.L. Chemistry and aquatic toxicity of raw oil shale leachates from Piceance Basin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 4, 559–572. (1985).

Michael J. Vanni Effects of Nutrients and Zooplankton Size on the Structure of a Phytoplankton Community *Ecology*, Vol. 68, No. 3, pp. 624-635, (Jun., 1987).

Mohammad Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A., Pesticides and oxidative stress: a review, *Med Sci Monit*, 10(6), RA141-147, 2004.

Mohammed A. ve Agard J. Comparative salinity tolerance of three indigenous tropical freshwater cladoceran species; *Moinodaphnia macleayi*, *Ceriodaphnia rigaudii* and *Diaphanosoma brachyurum* *Environ Monit Assess* 127:307–313, (2007).

Moss, B. *Ecology of Freshwaters: Man and Medium, Past to Future*. 3rd edition. - Blackwell Science, Oxford (1998)

Mount, D.R., Gulley, D.D., Hockett, J.R., Garrison, T.D., ve Evans, J.M. Statistical models to predict the toxicity of major ions to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas* (flathead minnows). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 2009–2019. (1997).

Mourant J. R., Yamada Y. R., Carpenter S., Dominique L. R., Freyer J. P. (2003). "FTIR Spectroscopy demonstrates biochemical differences in mammalian cell cultures at different growth stages". *Biophysical Journal*, 85(3):1938-47.

- Müller-Navarra ve Lampert W. Seasonal patterns of food limitation in *Daphnia galeata*—separating food quantity and food quality effects. *J. Plankton Res.* 18: 1137–1157 (1996).
- Munro, I.G. The effect of temperature on the development of egg, naupliar and copepodite stages of two species of copepods, *Cyclops vicinus* Uljianin and *Eudiaptomus gracilis* Sars. *Oecologia*, 16: 335-367. (1974).
- Muyllaert K., Tackx M., Vyverman W. Phytoplankton growth rates in the freshwater tidal reaches of the Schelde estuary (Belgium) estimated using a simple light-limited primary production model. *Hydrobiologia* 540:127–140 (2005).
- Nijssen, B. N., Schnur, R., and Lettenmaier, D. P. "Global retrospective estimation of soil moisture using the VIC land surface model, 1980-1993." *J. Clim* (2000).
- OECD. *Daphnia* sp., acute immobilisation test and reproduction test. Part I - 24h EC50 acute immobilisation test. Organization of Economic Co-operation and Development, Paris, France, 1984.
- OECD. OECD guideline for testing chemicals 211. *Daphnia magna* reproduction test. Organization of Economic Co-operation and Development, Paris, France, 1998.
- Ortells, R., Reusch, T.B.H., Lampert, W. Salinity tolerance in *Daphnia magna*: characteristics of genotypes hatching from mixed sediments. *Oecologia*, 143: 509-516. (2005).
- Özen A., Karapınar B., Küçük I. Jeppesen E., Beklioğlu M., A Drought controlled total phosphorus and dissolved inorganic nitrogen mass balances in a system of two Mediterranean Shallow Lakes (2008).
- Padovani, L., Capri, E. and Trevisan, M. Landscape-level approach to assess aquatic exposure via spray drift for pesticides: A case study in a Mediterranean area. *Environmental Science and Technology*. 38 (12) 3239-3246 (2004).
- Parejko K., Dodson S.I., The evolutionary ecology of an antipredator reaction norm: *Daphnia pulex* and *Chaoborus americanus*, *Evolution*, 45, 1665-1674, (1991).
- Parejko K., Mochlonyx predation on typical and spined juvenile *Daphnia*, *Freshwat. Biol.*, 25, 211-217, (1990).
- Pequeux A. Osmotic regulation in crustaceans. *J Crustac Biol* 15:1-60 (1995).
- Personne G., Van de Vel A., Van Steertegem m., De Nayer B. Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates influence experimental conditions. *Aquat. Toxicol.* 14, 149-166, (1989).
- Peters R.H. Metabolism in *Daphnia*. In: Peters, R.H., De Bernardi, R. (Eds.), *Daphnia*. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dottore Marco de Marchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza. (1987)

Pieters B.J., Paschke A., Reynaldi S., Kraak M.H.S., Admiraal W., Liess, M., Influence of food limitation on the effects of fenvalerate pulse exposure on the life history and population growth rate of *Daphnia magna*, *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (2005) 2254-2259.

Pieters, B.J., Liess, M., Population developmental stage determines the recovery potential of *Daphnia magna* populations after fenvalerate application, *Environmental Science ve Technology* 40 (2006) 6157-6162.

Pijanowska, J., 1997. Alarm signals in *Daphnia*. *Oecologia* 112: 12–16.

Pijanowska, J., Weider, L.J., Lampert, W. Predator-mediated genotypic shifts in a prey population: experimental evidence. *Oecologia* 90:40-42 (1993).

Preston, B. L., G. Cecchine ve T. W. Snell. Effects of pentachlorophenol on predator avoidance behavior of the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Aquat. Toxicol.* 44, 201–212, (1999).

Ranta, E.. Population biology of *Darwinula stevensoni* (Crustacea, Ostracoda) in an oligotrophic lake. *Annales Zoologici Fennici* 16:28-35. (1979)

Reede T. Life history shifts in response to different levels of fish kairomones in *Daphnia*. *J. Plankton Res.* 17, 1661–1667, (1995).

Reichwaldt E.S. , Wolf, I.D. ve Stibor, H. Effects of a fluctuating temperature regime experienced by *Daphnia* during diel vertical migration on *Daphnia* life history parameters *Hydrobiologia* 543: 199–205, (2005).

Relyea R., ve Hoverman J., Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems, *Ecology Letters*, 9 (2006) 1157–1171.

Reregistration Eligibility Decision for Cypermethrin List B Case No. 2130, June 14, 2006.

Reynaldi S., Duquesne S., Jung K. ve Liess M., Linking feeding activity and maturation of *Daphnia magna* following short-term exposure to fenvalerate, *Environmental Toxicology and Chemistry* 25(7): 1826-1830, (2006).

Reznick, DN ve ark., Experimentally induced life history evolution in a natural population. *Nature* 346: 357-359, (1990).

Richman, S. The transformation of energy by *Daphnia pulex*. *Ecol. Monogr.* 28: 273-291 (1958).

Rick A. ve Relyea, R. A., The effects of pesticides, pH, and predatory stress on amphibians under mesocosm conditions, *Ecotoxicology* 15 (2006) 503–511.

- Riedel G.F. Influence of salinity and sulfate on the toxicity of chromium (VI) to the estuarine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Aquat. Toxicol.* 7, 191-204, (1985).
- Ringelberg, J. and Gool, E.V. On the combined analysis of proximate and ultimate aspects in diel vertical migration (dvm) research. *Hydrobiologia.* ,491, 85-90, (2003).
- Ringelberg, J. ve Van Gool, E. (1998): Do bacteria, not fish, produce fish kairomone? – *J. Plankton Res.* 20: 1847–1852.
- Rinke, K. ve Petzoldt, T. Modelling the effects of temperature and food on individual growth and reproduction of *Daphnia* and their consequences on the population level. *Limnologica*, 33: 293-304. (2003)
- Rinke, K. ve Vijverberg, J. A model approach to evaluate the effect of temperature and food concentration on individual life-history and population dynamics of *Daphnia*. *Ecological Modelling*, 186: 326-344. (2005)
- Ruparelia, S.G., Y. Verma, M.C. Hargan, K. Venkaiah, and P.K. Kulkarni, 1995
- Saha, S., Anilava Kaviraj, A., Acute Toxicity of Synthetic Pyrethroid Cypermethrin o Freshwater Catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch), *International Journal of Toxicology*, 22 (2003) 325–328.
- Sakamoto, M., K. Chang, Hanazato, T. Differential Sensitivity of a Predacious Cladoceran (*Leptodora*) and Its Prey (the Cladoceran *Bosmina*) to the Insecticide Carbaryl: Results of Acute Toxicity Tests, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75 (2005) 28–33.
- Sakamoto, M., K. Chang, Hanazato, T. Inhibition of development of anti-predator morphology in the small cladoceran *Bosmina* by an insecticide: impact of an anthropogenic chemical on prey–predator interactions, *Freshwater Biology* 51, (2006) 1974–1983.
- Sakwinska, O. Response to fish kairomone in *Daphnia galeata* life history traits relies on shift to earlier instar at maturation. *Oecologia* 131, 409–417, (2002).
- Sarma S. S. S., Nandini S., Jesu' s Morales-Ventura, Israel Delgado-Martí'nez, Leticia Gonzá'lez-Valverde. Effects of NaCl salinity on the population dynamics of freshwater zooplankton (rotifers and cladocerans *Aquat Ecol*, 40:349–360, (2006).
- Sarma S.S.S., ve Nandini S. Comparative life table demography and population growth of *Brachionus macracanthus* Daday, 1905 and *Platylas quadricornis* Ehrenberg, 1832 (Rotifera, Brachionidae) in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. *Acta Hydrochim Hydrobiol* 30:128–140, (2002).

SAS, Version 9.00

- Schallenberg, M., Hall, C.J., ve Burns, C.W. Consequences of climate-induced salinity increases on zooplankton abundance and diversity in coastal lakes. *Marine Ecology Progress Series*, 251, 181–189, (2003).
- Scheffer M. The effect of aquatic vegetation on turbidity; how important are the filter feeders? *Hydrobiologia* 408/409:307–316, (1999).
- Schriver P., Bøgstrand J., Jeppesen E. ve Søndergaard M. Impact of submerged macrophytes on fishzooplankton– phytoplankton interactions: large-scale enclosure experiments in a shallow eutrophic lake. *Freshwater Biology*, 33, 255–270, (1995).
- Schulz, K.L., ve Yurista, P.M. Implications of an invertebrate predator's (*Bythotrephes cederstroemi*) atypical effects on a pelagic zooplankton community. *Hydrobiologia*, 380: 179– 193 (1999).
- Schuytema GS, Nebeker AV, Cairns MA A comparison of recirculating, static, and elutriate aquatic sediment bioassay procedures. *Bull Environ Contam Toxicol* 56:742–749 (1996)
- Scullion J., Elliott G.N., Huang W.E., Goodacre R., Worgan H., Darby R., Bailey M.J., Gwynn-Jones D., Griffith G.W., Winson M.K., Williams P.A., Clegg C., Draper J. Use of earthworm casts to validate FT-IR spectroscopy as a 'sentinel' technology for high-throughput monitoring of global changes in microbial ecology, *Pedobiologia*, 47, 5-6, 440–446, (2003).
- Seitz A. Are there allelopathic interactions in zooplankton? Laboratory experiments with *Daphnia*. *Oecologia* 62: 94–96, (1984).
- Severcan F., Görgülü G., Görgülü S.T., Güray T. Rapid monitoring of diabetes-induced lipid peroxidation by Fourier transform infrared spectroscopy: Evidence from rat liver microsomal membranes, *Analytical Biochemistry*, basıma kabul edildi, (2005).
- Severcan F., Toyran N., Kaptan N., Turan B. Fourier transform infrared study of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region, *Talanta*, 53, 55-59, (2000).
- Shazili N.A.M. Effects of salinity and pre-exposure on acute cadmium toxicity to seabass. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54, 22-28, (1995).
- Sills, R.H., Moore, D.J. and Mendelsohn, R., (1994). "Erythrocyte peroxidation: quantitation by fourier transform infrared spectroscopy". *Analytical Biochemistry* 218: 118-123.
- Ślusarczyk, M. Food threshold for diapause in *Daphnia* under the threat of fish predation. *Ecology*, 82: 1089-1096 (2001).
- Ślusarczyk, M. Predator-induced diapause in *Daphnia*. *Ecology*, 76: 1008-1013 (1995).

- Song M.Y., Brown J.J. Osmotic effects as a factor modifying insecticide toxicity on *Aedes* and *Artemia*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 41, 195-202, (1998).
- Song M.Y., Stark J.D., Brown J.J. Comparative toxicity of four insecticides, including imidacloprid and tebufenozide, to four aquatic arthropods. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 2494-2500, (1997).
- Spaak, P. and Boersma, M. Tail spine length in the *Daphnia galeata* complex: Costs and benefits of induction by fish. - *Aquatic Ecology* 31: 89-98, (1997).
- Spaak, P. Predator-induced life-history changes and the coexistence of five taxa in a *Daphnia* species complex *Oikos* Volume 89 Issue 1 Page 164-174, (2000).
- Spaak, P., Vanoverbeke, J. and Boersma, M. Predator induced life history changes and the coexistence of five taxa in a *Daphnia* species complex. - *Oikos* 89: 164-174, (2000).
- Stansfield, J. H., Perrow, M. R., Tench, L. D. et al. 1997. Submerged macrophytes as refuge for grazing Cladocera against fish predation: observations on seasonal changes in relation to macrophyte cover and predation pressure. *Hydrobiologia* 342:343: 229-240.
- Stibor H., Lampert W. Components of additive variance in life-history traits of *Daphnia hyalina*: seasonal differences in the response to predator signals, *Oikos*, 88, 129-138 (2000a).
- Stibor H., Navarra D.M., Constraints on the plasticity of *Daphnia magna* influenced by fish kairomones, *Ecology*, 14, 455-459, (2000b).
- Stibor, H. 1992. Predator induced life-history shifts in a fresh-water cladoceran. - *Oecologia* 92: 162-165.
- Stibor, H. Predator induced life-history shifts in a freshwater cladoceran. *Oecologia* 92:162-165 (1992).
- Straile D, Livingstone DM, Weyhenmeyer GA, George DG The response of freshwater ecosystems to climate variability associated with the North Atlantic Oscillation. In: Hurrell JW, Kushnir Y, Ottersen G, Visbeck M (eds) *The North Atlantic Oscillation: climatic significance and environmental impact*. p 263-279 (2003)
- Stuart B. *Biological applications of infrared spectroscopy*, ed: John Wiley ve Sons, England, (1997).
- Stuart H. Hurlbert, S. H., Mulla, S., Willson, H. R., Effects of an Organophosphorus Insecticide on the Phytoplankton, Zooplankton and Insect Populations of Fresh-Water Ponds *ecological Monographs*, 42 (1972) 269-299.
- Takahashi, H., French, S. M., and Wong, P. T. T., (1991). "Alterations in hepatic lipids and proteins by Chronic ethanol Intake: A high pressure fourier transform Infrared spectroscopic study

on alcoholic liver disease in the rat alcohol". *Alcohol Clinical Experimental. Research.*, 15(2): 219-223.

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü İstatistikleri, 2004

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Verileri, 2003

Taylor B.E., Gabriel W. To Grow or Not to Grow: Optimal Resource Allocation for *Daphnia* The *American Naturalist*, Vol. 139, No. 2, pp. 248-266, (Feb., 1992).

Taylor, B.E. Effects of food limitation on growth and reproduction of *Daphnia*. *Archiv fur Hydrobiologie Beih*, 21, 285-296. (1985).

Teschner M. Effects of salinity on the life history and fitness of *Daphnia magna*: variability within and between populations. *Hydrobiologia*, 307, 33±41, (1995).

Threlkeld S.T. *Daphnia* life history strategies and resource allocation patterns. In: Peters, R.H., De Bernardi, R. (Eds.), *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dottore Marco de Marchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza.* (1987a)

Threlkeld S.T. *Daphnia* population fluctuations: Patterns and mechanisms. In: Peters, R.H., De Bernardi, R. (Eds.), *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dottore Marco de Marchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza.* (1987b)

Timms, R.M. ve Moss, B. Prevention of growth of potentially dense phytoplankton populations by zooplankton grazing, in the presence of zooplanktivorous fish, in a shallow wetland system. *Limnol. Oceanogr.* 29: 472-486, (1984).

Tollrian R., Predator-induced helmet formation in *Daphnia cucullata* (Sars.), *Arch. Hydrobiol.*, 119, 191-196, (1990).

Tollrian R., Predator-induced morphological defenses: Costs, life-history shifts, and maternal effects in *Daphnia pulex*, *Ecology*, 76, 1691-1705, (1995a).

Tollrian, R. Fish-kaironmone induced morphological changes in *Daphnia lumholtzi*. *Arch. Hydrobiol.* 130: 69-75, (1994).

Toyran N., Severcan F., Competitive effect of vitamin D₂ and Ca²⁺ on phospholipid model membranes: An FTIR study, *Chemistry and Physics of Lipids*, 123, 165-176, (2003).

Toyran N., Zorlu F., Dönmez G., Öge K., Severcan F. Chronic hypoperfusion alters the content and structure of proteins and lipids of rat brain homogenates: a Fourier transform infrared spectroscopy study (Publication Accepted by *European Biophysics Journal*) (2004).

Toyran, N., Lasch, P., Naumann, D., Turan, B., Severcan, F., (2006). "Early alterations in myocardia and vessels of the diabetic rat heart: an FTIR microspectroscopic study", *Biochemical Journal.*, 397(3):427-36.

Tripathi, P.K., Singh, A., Toxic effects of cypermethrin and alphasmethrin on reproduction and oxidative metabolism of the freshwater snail, *Lymnaea acuminata* *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58 (2004) 227–235.

Tsuda T., Aoki S., Kojima S., Harada H. Differences between freshwater and seawater-acclimated guppies in the accumulation and excretion of tri-n-butyltin chloride and triphenyltin chloride. *Water Res.* 24, 1373-1376, (1990).

U.S. EPA, 2007, <http://www.epa.gov>

Ulusal rapor, 2007;

Ursula Friberg-Jensen, U., Wendt-Rasch, L., Woin, P., Christoffersen, K., Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels, *Aquatic Toxicology* 63 (2003) 357-371.

Van Wijngaarden, R.P.A., Brock, T.C.M. and Van Den Brink, P.J., 2005. Threshold Levels for Effects of Insecticides in Freshwater Ecosystems: A Review. *Ecotoxicology*. **14**, 355–380.

Vanni M. Effects of nutrients and zooplankton size on the structure of a phytoplankton community. *Ecology*. 68:624-635, (1987).

Vernberg ve Piyatiratitivorakul, 1998

Vijverberg, J Culture techniques for studies on the growth, development and reproduction of copepods and cladocerans under laboratory and in situ conditions: A review. *Freshwater biology*. Oxford [Freshwat. Biol.]. Vol. 21, no. 3, pp. 317-373, (1989).

Von Bertalanffy, L. Quantitative laws in metabolism and growth. *Quarterly Review of Biology*, 32: 217-231 (1957).

Von Elert, E., and C. J. Loose. Predator-induced diel vertical migration in *Daphnia*—enrichment and preliminary chemical characterization of a kairomone exuded by fish. *J. Chem. Ecol.* 22: 885–895, (1996).

Wallace RL, Snell TW Phylum Rotifera. In: Thorp JH, Covich AP (eds) *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Academic Press, 2nd edn. New York, pp 195–254, (2001).

- Ward RJ, McCrohan CR, White KN, Influence of aqueous aluminium on the immune system of the freshwater crayfish *Pacifasticus leniusculus*. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands) **77**(2): 222-8. (2006).
- Weber, A. and Declerck S.. Phenotypic plasticity of *Daphnia* life history traits in response to predator kairomones: genetic variability and evolutionary potential. *Hydrobiologia* 360: 89-99, (1997).
- Weber, A. Interactions between predator kairomone and food level complicate the ecological interpretation of *Daphnia* laboratory results. *J. Plankt. Res.* 23: 41-46 (2001).
- Weetman, D. ve Atkinson, D. Antipredator reaction norms for life history traits in *Daphnia pulex*: dependence on temperature and food. *Oikos* 98: 299–307 (2002).
- Weider, L. J. and Pijanowska, J. Plasticity of *Daphnia* life history in response to chemical cues from predators. *Oikos*, 67, 385–392 (1993).
- Weider, L.J. and Pijanowska, J., 1993. Plasticity of *Daphnia* life histories in response to chemical cues from predators, *Oikos*, **67**, 385-392.
- Wendt-Rasch, L., Friberg-Jensen, U., Woin, P., Christoffersen, K., Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. II Direct and indirect effects on the species composition, *Aquatic Toxicology* 63 (2003) 373-389.
- Wetzel, R. G. *Limnology*. 2nd edition. -Saunders College Publishing, New York, pp. 1-767 (1983).
- Wieder L. J. , Hebert P. D. N. Ecological and physiological differentiation among low-arctic clones of *Daphnia pulex*. *Ecology*. 68: 188-198 (1987).
- Wijngaarden, R.P.A.Van., Brock, C. M., Van den brink, P.J., Threshold Levels for Effects of Insecticides in Freshwater Ecosystems: A Review, *Ecotoxicology*, 14, 355–380, 2005.
- Williams D.D. *The ecology of temporary waters*. Croom Helm/Timber Press, London, Sidney/Portland, Ore. (1987).
- Williams W.D. Salinity as a determinant of the structure of biological communities in salt lakes. *Hydrobiologia* 381:191–201, (1998).
- Woin, P., Short- and Long-Term Effects of the Pyrethroid Insecticide Fenvalerate on an Invertebrate Pond Community, *Ecotoxicology And Environmental Safety* 41, 137—156 (1998) *Environmental Research*, Section B
- Xiong Li, X., Ping, X., Xiumei, S., Zhenbin, W., Liqiangb, W., Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60 (2005) 188–192.

Young-Lai, W W., Charmantier-Daures, M . Charmantier, G. Effect of ammonia on survival and osmoregulation in different life stages of the lobster *Homarus americanus*. *Mar Biol.* 110. 293-300 (1991).

Yurista, P.M. *Bythotrephes cederstroemi* diapausing egg distribution and abundance in Lake Michigan and the environmental cues for breaking diapause. *J. Gt. Lakes Res.* 23: 202–209 (1997).

Zalidis, G., Stamatiadis, S., Takavakoglou, V., Eskridge, K., Misopolinos, N. Impacts of agricultural practices on soil and water quality in the Mediterranean region and proposed assessment methodology. *Agric. Ecosys. Environ.*, 88: 137-146. (2002).

PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Kodu: ÇAYDAG-104Y308
Proje Başlığı: Göllerde Tuzluluk ve İnsektisit Miktarının Biyobelirteç olan <i>Daphnia</i> Üzerindeki Etkilerini Belirleyerek Ekosistem Durumunu Öngören Model ve İndis-Tasarımı
Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Meryem BEKLİOĞLU YERLİ (ODTÜ, Biyoloji Böl.) Yardımcı Araştırmacılar: Prof.Dr. Feride SEVERCAN (ODTÜ, Biyoloji Böl.) Yrd.Doç.Dr. Feriha YILDIRIM* (Gazi Üniv. Sağlık Hizmetleri M.Y.O.) Dr. Karsten RINKE (Almanya, Constance Üniversitesi, Limnoloji Enstitüsü) Dr. Can Ozan TAN (A.B.D. Harvard Tıp Fak. Fiziksel Tıp-Rehab. Böl. Kalp-Damar Hast. Araş. Lab.) Sara Banu AKKAŞ (ODTÜ, Biyoloji Böl.) Gizem BEZİRCİ (ODTÜ, Biyoloji Böl.) Ülkü Nihan YAZGAN TAVŞANOĞLU (ODTÜ, Biyoloji Böl.) *Projenin son bir yılında aktif olarak katkıda bulunmuştur.
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, İnönü Bulvarı, 06531, ANKARA
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: -
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01/07/2005 – 01/10/2007
Öz: Bu araştırma ile tatlısu ekosistemlerinin kilit türü olan <i>Daphnia</i> türlerinin ilk defa doğal bir stres etmeni olan balık avlanma baskısıyla birlikte artan tuzluluk ve pestisit yoğunluklarında yaşama oranlarının ve yaşam döngülerinin nasıl etkilendiği derinlemesine laboratuvar deneyleriyle ve modellerle araştırılmıştır. <i>Daphnia</i> bireylerinde tetiklenen değişimler ise yine ilk defa moleküler düzeyde FTIR spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir.
Anahtar Kelimeler: <i>Daphnia</i> , Balık Avlanma Baskısı, Ekotoksikoloji, Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi, Modelleme.
Projeden Yapılan Yayınlar: Bezirci, G., Akkaş, S.B., Yıldırım, F., Beklioğlu, M. "Effects of salinity and Fish predation on <i>Daphnia pulex</i> life history traits" 5th Symposium for European Freshwater Sciences (SEFS5), Palermo, İtalya, Temmuz 8-13, 2007 (Poster). Bezirci, G., Akkaş, S.B., Yıldırım, F., Beklioğlu, M., Severcan, F. "Impact of salinity and fish predation pressure on <i>Daphnia pulex</i> survival at the organismal and molecular level" (Yazım Aşamasında). Akkaş, S.B., Bezirci, G., Yıldırım, F., Beklioğlu, M., Severcan, F. "Impact of cypermethrin and fish predation pressure on the survival of <i>Daphnia pulex</i> at organismal and molecular levels" (Yazım Aşamasında).
Bilim Dalı: ÇAYDAG Doçentlik B. Dalı Kodu: Hidrobiyoloji:1.060 Biyofizik: 1.018