



Araştırma Makalesi /Research Article

Endokrin Bozucu Bisphenol – A'nın Tatlı Su İstakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) Toksik Etkilerinin Belirlenmesi
Determination of The Toxic Effects of Endocrine Disruptors Bisphenol – A on Narrow Clawed Crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823)

Ayça Ayan¹, Gamze Yücel Işıldar², Aysel Çağlan Günel³

¹Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri ABD, Ankara

²Gazi Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Şehir Bölge Planlama Bölümü, Ankara

³Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi ABD, Ankara

Öz

Amaç: Günlük hayatımızda karşılaştığımız çevre sorunlarının birçoğu kullanılan kimyasal ürünlerden kaynaklanmaktadır. Bilim ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte ekolojik sistem tahrip edilmekte, çevreye sürekli olarak yeni kimyasal maddeler karışmaktadır. Çevreye karışan bu kimyasallar, besin ve yaşam döngüsüyle bitkilere, hayvanlara ve insanlara kadar ulaşmaktadır. Yapılan araştırmalarda, canlı bünyesine geçen bazı kimyasal maddelerin endokrin sistem üzerinde olumsuz etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Bu çalışma ile, sucul ekosistemler için indikatör tür olan tatlı su istakozunda (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) Bisphenol-A'nın toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Deneyler ön deney ve asıl deney şeklinde iki aşamalı yapılmıştır. Her bir deneyde farklı bisphenol A konsantrasyonu ve iki kontrol grubu kullanılmıştır. Finney'in probit analiz yöntemi ile LC₅₀ değerleri, U.S. EPA bilgisayar programına göre hesaplanmıştır.

Bulgular: Ana deney esnasında, tatlı su istakozlarında kontrol grubuna göre davranış değişiklikleri görülmüştür. Deneylerde, bisphenol-A'nın 24, 48, 72 ve 96 saatlik akut LC₅₀ değerleri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) 32,94 (20,79–75,28) mg/L; 16,72 (9,00–7,33) mg/L; 12,74 (6,70–24,12) mg/L ve 11,38 (6,04–20,11) mg/L olarak hesaplanmıştır. Deney sırasında tatlı su istakozlarının kontrol gruplarına göre daha agresif oldukları gözlemlenmiştir.

Sonuç: Bisphenol-A'nın sucul ekosistemde hedef olmayan organizmalardan tatlı su istakozları için toksik olduğu görülmüştür. Bisphenol-A'nın tatlı su kaynaklarına karışmaması için tedbirlerin alınması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Endokrin bozucu, Bisphenol-A, BPA, Tatlı Su İstakozu, *Astacus leptodactylus*

Abstract

Objective: Many of the environmental problems that we experience in our daily lives are caused by using chemical products. The development of science and technology destroy the ecological system and they cause the new chemicals constantly mixed into the environment. These chemicals which mix into the environment reach to the plants, animals and humans by nutrition and life cycle. Some chemical substances that have passed to the body have proved to have negative effects on the endocrine system in research conducted. Narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823), indicator species for freshwater ecosystems, was selected for determination of the toxic effects of bisphenol-A in this study.

Materials and methods: Experiments were conducted in two-stage as range finding test and a main test. Different concentrations of bisphenol A and two control groups were used in each experiment. Datas were evaluated using the U.S. E.P.A. LC₅₀ computer program based on Finney's Probit Analysis Method. During the main tests, the behavioral changes of crayfish were observed according to the control group.

Results: According to bioassay results 24, 48, 72 and 96 h LC₅₀ values (95% confidence limits) values for crayfish (*Astacus leptodactylus*) 32.94 (20.79 - 75.28) mg/L; 16.72 (9.00 - 37.33) mg/L; 12.74 (6.70 - 24.12) mg/L and 11.38 (6.04 - 20.11) mg/L respectively. Contrary to control group, crayfish exposed to bisphenol-A were more aggressive.

Conclusion: Bisphenol-A is toxic to the non-target organism crayfish in the aquatic ecosystems. It is necessary to take precautions so that Bisphenol-A does not mix with freshwater resources.

Key Words: Endocrine disruptors, Bisphenol-A, BPA, Crayfish, *Astacus leptodactylus*

İletişim Adresi /Address for Correspondence:

Aysel Çağlan GÜNAL  <https://orcid.org/0000-0002-9072-543X>

E-mail: caglangunal@gazi.edu.tr

Ayça Ayan  <https://orcid.org/0000-0002-4336-6999>

Gamze Yücel Işıldar  <https://orcid.org/0000-0001-8528-1806>

Geliş Tarihi/Received: 21 Ekim 2020 Kabul Tarihi/Accepted: 30 Kasım 2020 Çevrimiçi Yayın/Published Online: 30 Aralık 2020

GİRİŞ

Endokrin bozucular; canlı yapıya dışarıdan alınan, canlının endokrin işlevlerini ve dengesini bozan, doğal ya da sentetik/yapay maddeler olarak ifade edilmektedir. Endokrin bozucu maddeler, canlı yapısındaki hormonlara *agonist* ve/veya *antagonist etki* yapmaktadır. Bu etkiler şu şekilde açıklanabilir; *agonist etki*, endokrin bozucunun hormonun üretimine veya taşınmasına etki etmesiyle ortaya çıkabilmektedir. *Antagonist etki* ise endokrin bozucunun, hormon reseptörüne bağlanarak hormonun metabolize olmasını ve atılımını değiştirmesi şeklinde görülmektedir. Endokrin bozucu bileşikler iki ana başlık altında toplanabilir, bunlar doğal ve yapay endokrin bozuculardır¹. Doğal endokrin bozucular, yarı ömürlerinin kısa olması sebebiyle canlı yapıdan kolayca atılabilir ve çoğunlukla ciddi yan etkilere sahip olmayan bileşikler olarak ifade edilirler. Fitoöstrojenler, doğal endokrin bozucular arasından gösterilebilir. Yapay endokrin bozucu bileşikler ise endüstriyel alanda ve tarımda fazlaca kullanılan maddelerdir. Bisphenol-A (2,2-bis(4-hidroksifenil) propan) (BPA), dietilstilbesterol (DES), fitalatları, dioksin ve dioksin benzeri bileşikler, poliklorine bifenilleri, DDT ve bazı pestisitleri örnek göstermek mümkündür. Bu kimyasal bileşikler, evsel ile sanayi kaynaklı atıkların sulara karışması sebebiyle, sucul ortama geçiş yapmakta ve buradaki canlılara etki etmektedir^{2,3}. Sucul ortam canlısı olan *Astacus leptodactylus*, Avrupa'da Türk tatlı su istakozu olarak bilinmektedir ve ülkemizin doğal göllerinde ve su kütlelerinde yaşayan tek tatlı su istakozu türü olarak gösterilmektedir. Bu türün intensif, yarı-intensif ve ekstansif yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Ayrıca ülkemizdeki göl ve su kütlelerinin pek çoğunda tespit edilmiş olup, buralardan avcılık yoluyla elde edilmektedir⁴.

Tatlı su istakozları, 1984 yılına kadar en önemli ihraç ürünlerimiz arasında yer almaktaydı. Fakat o dönemde çıkan ve sebebi *Aphanomyces astaci* olan mantar hastalığından ötürü tatlı su istakozlarında toplu ölümler meydana gelmiş ve istakozların nesli tükenmeye yüz tutmuştur⁵. Tatlı su istakozu türü üzerinde ülkemizde ve dünyada yürütülen araştırmalar ve çalışmalar, daha çok yetiştiricilik imkanları ve istakoz vebası öncelikli olmak üzere hastalıkların incelenmesi üzerine yapılmıştır. *Astacus leptodactylus*, ekonomik açıdan değerli olması sebebiyle hem yeni kerevitlerin oluşturulması hem de kerevit vebasından etkilenen

grupların yeniden düzenlenmesi/dengelenmesi amacıyla ülkemizde de birçok tatlı suya bırakılarak yaşam bulmaları hedeflenmiştir. Günümüzde doğal olarak bulunduğu göl ünitelerinde stoklar kendini oldukça yenilemiş durumdadır⁶. Ancak göl sularının tarımsal ve hayvancılık uygulamalarından dolayı kirlenmesi ve kirlilik seviyelerinin artması nedeniyle suda yaşayan canlıların olumsuz olarak etkilenmesi endişe yaratmaktadır. Ekotoksikolojik çalışmalarda tatlı su istakozudoğal suların dip kısmında beslenmesi, besin zincirindeki yeri ve önemi, OECD ve EPA gibi uluslararası kuruluşlar tarafından standart test canlısı olması yönüyle tercih edilmektedir.

Yapılan literatür araştırmalarında, bisphenol-A'nın sucul canlılar üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Ülkemiz tatlı su istakozu olan *Astacus leptodactylus*'a BPA'nın akut toksik etkisine ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada BPA'nın akut toksik etkisi belirlenmiş ve davranışlarına etkisi gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürde ilk defa bu maddenin bu organizmada toksik etkisinin incelendiği çalışma olması nedeniyle özgün değere sahiptir. Sucul ekosistem açısından incelendiğinde düşük konsantrasyonlarının bile olumsuz etkiler yaratabileceği bu çalışma ile kanıtlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Tatlı su istakozlarının temini

Türkiye sularındaki tek tatlı su istakozu olan *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) intermoult döneminde ve avcılık döneminde Hirfanlı Barajı'ndan avlayan balıkçılardan temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan tatlı su istakozlarının ortalama boyu 11,57±0,52 cm ve ağırlıkları 34,48±2,90 g'dır.

Deney akvaryumları

Deneylerde 15 litre hacimli 7 adet akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlar sabit ısıda 21±1°C'de tutulmuş ve havalandırma düzeneği yardımıyla sürekli havalandırılmıştır. Düzeneklerde çözünmüş oksijen değeri 6,14±0,05 mg/L olarak ölçülmüştür.

Bisphenol-A materyali ve hazırlanması

Deneylerde toksik madde materyali olarak Teknik Bisphenol-A (Sigma Aldrich, CAS 80-05-7, %99+) kullanılmıştır. Çalışmalarda formülasyon yerine teknik materyal tercih edilmesinin nedeni formülasyonlarda terkinin çoğunu aktif madde haricinde stabilizatörler, sinerjistler vb. maddelerin oluşturmasıdır. Katı formdaki bisphenol-A

tartıldıktan sonra, volumetrik cam balon jodede belirli hacimde analitik saflıkta aseton ile tamamlanıp stok çözelti elde edilmiştir. Stok çözeltinin belirli hacimlerinin cam kaplarda aseton ile sulandırılması yöntemiyle diğer uygulama dozları elde edilmiştir. Stok ve doz çözeltileri, deneylerde kullanılacak zamana kadar +4°C sıcaklıkta tutulmuştur. Kullanım öncesinde ortam sıcaklığına getirilen çözeltiler, dozlama yapılarak deney akvaryumlarına uygulanmıştır. Akvaryumlara BPA ile dozlama yapılması sırasında otomatik pipetler kullanılmıştır

Deney ortamı ve adaptasyon süresi

Avcılık sezonunda avlanan balıkçılardan temin edilen tatlı su istakozlarının strofor kutularda nemli bezlere sarılıp su içinde deney ortamına getirilmesi sağlanmıştır. İstakozlar, deneye başlanmadan önce bir ay boyunca akvaryumda adaptasyon dönemine tabi tutulmuşlardır. Bu süre zarfında tatlı su istakozları günlük olarak taze balıklarla beslenmiş ve akvaryumları sürekli olarak havalandırılmıştır. Termostatlı ısıtıcılar vasıtasıyla akvaryumların içindeki su sıcaklıkları sabit tutulmuştur. Akvaryumlardaki suyun pH, iletkenlik, çözünmüş oksijen gibi parametreleri 2 günde bir ölçülmüştür⁷. Deneylerin tümü ZSF (zehirlilik seyreltme faktörü) tayin metoduna göre yapılmıştır. Bu metoda ilave olarak APHA, ISO, FAO ve TSE'nin metotlarından da yararlanılmıştır^{7,8,9}. Akut toksik etkileri ve toksik konsantrasyonları saptamak amacıyla ön deneyler yapılmıştır. Deneylerde, yarı statik biyodene yöntemini kullanılmıştır⁷.

Deneyin gerçekleştirilmesi

Çalışmalarda kimyasal maddenin kullanılmadığı iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Deneyler sırasında su kalitesi parametrelerinden; pH, iletkenlik, sıcaklık ve çözünmüş oksijen değerleri ölçülmüştür.

a) Ön Deney: 24 saat süreli ön deneylerde 1, 1/10, 1/100, 1/1000 gibi geniş konsantrasyon aralıkları kullanılarak ana deneyin konsantrasyonlarını saptamada baz alınabilecek değerler tespit edilmiştir. %100 ölüm görülen en düşük konsantrasyon ve %0 ölüm görülen (ölüm görülmeyen) en yüksek konsantrasyon aralığı belirlenmiştir.

b) Ana Deney: 96 saatte statik yöntem kullanılacak bu deneyde, ön deney sonucu elde edilen verilerin ışığı altında geometrik seri hesaplanmıştır. Deneyin yapıldığı şekil ve şartlarla birlikte yürütülen iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Birinci kontrol grubuna kullanılan maksimum aseton miktarı

eklenmiş, ikinci kontrol grubu hiçbir kimyasal madde katılmamıştır. Deneyde %95'lik güven sınırının belirlenmesinde her konsantrasyon üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Deney sonuçlarının değerlendirilmesi

Deney sonuçları EPA Probit Analiz Yöntemiyle değerlendirilmiştir. LC₅₀ ve %95 güven sınırında tespiti için bilgisayar programından yararlanılmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada, tatlı su istakozlarına (*Astacus leptodactylus*) bisphenol-A'nın akut toksik etkisi (LC₅₀ değeri) belirlenerek tatlı su istakozlarında meydana gelen davranış değişiklikleri gözlenmiş ve değerlendirilmiştir. Deneyler neticesinde kontrol gruplarındaki tatlı su istakozlarında ölüm görülmemiş olup, bisphenol-A tatlı su istakozlarına oldukça toksik etki göstermiştir. Bu tez çalışmasında, *A. leptodactylus*'larda bisphenol-A'nın 24, 48, 72 ve 96 saatlik akut toksik etkileri tespit edilmiş ve tatlı su istakozlarındaki davranış değişiklikleri gözlenmiştir.

24 saatlik BPA'ya ilişkin akut toksisite bulguları:

Yapılan deneyler sonucunda BPA'nın 24 saatlik akut LC₅₀ değeri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) 32,94 mg/L (20,79 – 75,28 mg/L) olarak saptanmıştır. Çizelge 1'de 24 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 1. 24 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve % 95'lik güven sınırlar

Nokta	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven Sınırları
LC 1.00	7,69	0,38 – 14,25
LC 5.00	11,78	1,48 – 19,16
LC 10.00	14,78	3,01 – 22,90
LC 15.00	17,23	4,77 – 26,27
LC 50.00	32,94	20,79 – 75,28
LC 85.00	62,96	38,66 – 504,76
LC 90.00	73,38	43,16 – 821,23
LC 95.00	92,09	50,40 – 1703,14
LC 99.00	140,98	66,42 – 6789,77

48 saatlik BPA'ya ilişkin akut toksisite bulguları

Yapılan deneyler sonucunda bisphenol-A'nın 48 saatlik LC₅₀ değeri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) 16,72 mg/L (9,00 – 37,33 mg/L) olarak saptanmıştır. Çizelge 2'de 48 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 2. 48 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları

Nokta	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven Sınırları
LC 1.00	1,51	0,02 – 4,05
LC 5.00	3,06	0,16 – 6,47
LC 10.00	4,45	0,45 – 8,45
LC 15.00	5,74	0,87 – 10,27
LC 50.00	16,72	9,00 – 37,33
LC 85.00	48,70	25,59 – 491,20
LC 90.00	62,72	30,69 – 964,81
LC 95.00	91,23	39,67 – 2656,42
LC 99.00	184,23	62,87 – 18133,19

72 saatlik BPA'ya ilişkin akut toksisite bulguları

Bisphenol-A'nın 72 saatlik LC₅₀ değeri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) 12,74 mg/L (6,70 – 24,12 mg/L) olarak saptanmıştır. Çizelge 3'te 72 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 3. 72 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve % 95'lik güven sınırları

Nokta	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven Sınırları
LC 1.00	1,37	0,03 – 3,53
LC 5.00	2,64	0,18 – 5,47
LC 10.00	3,74	0,43 – 7,00
LC 15.00	4,73	0,78 – 8,35
LC 50.00	12,74	6,70 – 24,12
LC 85.00	34,35	19,49 – 204,74
LC 90.00	43,43	23,26 – 366,29
LC 95.00	61,48	29,78 – 880,44
LC 99.00	117,98	46,15 – 4676,03

96 saatlik BPA'ya ilişkin akut toksisite bulguları

Bisphenol-A'nın 96 saatlik LC₅₀ değeri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) 11,38 mg/L (6,04 – 20,11 mg/L) olarak saptanmıştır. Çizelge 4.'te 96 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 3. 96 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve % 95'lik güven sınırları

Nokta	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven Sınırları
LC 1.00	1,51	0,04 – 3,63
LC 5.00	2,73	0,22 – 5,40
LC 10.00	3,74	0,49 – 6,75
LC 15.00	4,63	0,84 – 7,92
LC 50.00	11,38	6,04 – 20,11
LC 85.00	27,96	16,73 – 132,90
LC 90.00	34,59	19,71 – 224,27
LC 95.00	47,40	24,75 – 494,67
LC 99.00	85,58	36,95 – 2238,19

TARTIŞMA

Bu çalışmada Bisphenol-A'nın tatlı su istakozlarındaki (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri ve akut deneyler süresince toksik maddenin tatlı su istakozları üzerinde meydana getirdiği davranışlar gözlenmiştir. Deneylerde, Bisphenol-A'nın 24, 48, 72 ve 96 saatlik akut LC₅₀ değerleri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) 32,94 (20,79 – 75,28) mg/L; 16,72 (9,00 – 37,33) mg/L; 12,74 (6,70 – 24,12) mg/L ve 11,38 (6,04 – 20,11) mg/L olarak hesaplanmıştır. Yapılan literatür taraması ışığında, Bisphenol-A'nın *Astacus leptodactylus* türüne ilişkin toksik etkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Aynı şekilde Astacidae familyasına ait diğer türlerde ve diğer tatlı su istakozu türlerinde de Bisphenol-A'nın toksik etkisinin değerlendirildiği bir araştırma bulunamamıştır.

Deniz ve tatlı su algleri, su pireleri ve balık türleri gibi sucul canlılarda BPA için LC₅₀ değerleri 1000-20000 µg/L arasında değiştiği saptanmıştır^{10,11}. Bu sonuçlar deney organizmamızda mg düzeyde toksik bulduğumuz bulgularımızla benzerlikler taşımaktadır. *Astacus leptodactylus* üzerine akut toksik etkisine ilişkin başka kimyasal maddeler ile ilgili yapılan çalışmalara örnek olarak, karbamatlı pestisitlerden

karbarilin tatlı su istakozları (*Astacus leptodactylus*) üzerindeki 24, 48, 72 ve 96 saat sonunda %95' lik güven sınırında LC50 değerleri sırasıyla 0,44 mg/L (0,39-0,63 mg/L), 0,34 mg/L (0,28-0,40 mg/L), 0,28 mg/L (0,21-0,34 mg/L), 0,24 mg/L (0,18-0,29 mg/L) olarak belirlemiştir¹². Diğer bir çalışmada ise; dichlorophenoxyacetic acid'e 96 saat süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) LC50 değerini 32,6 mg/L olarak saptamışlardır¹³. Farklı tür ve farklı maddeler Yapılan çalışmada farklı boylarda bulunan *Procambarus clarkii* 'lerde 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC50 değerlerini sırasıyla 0,44; 0,85; 1,30 ve 0,81 µg/L olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada permetrinin toksisitesinin *Procambarus clarkii*'nin cinsiyetlerine göre farklılık göstermediği de tespit edilmiştir¹⁴. Elde edilen LC50 değerlerinin yapılan çalışmalara göre farklılık göstermesinin sebebi tatlı su istakozlarının farklı madde ve dozlarına maruz bırakılmasından kaynaklanmış olabileceğidir. *Daphnia*larda, 21 gün sürelik kronik üreme testinde NOEC (Hiçbir etkinin görülmediği

konsantrasyon) değeri 3160 µg/L olarak saptanmıştır¹⁵. Zebra balığı larvalarında 96 saatlik LC50 8,04 mg/L olarak saptanmıştır¹⁶.

SONUÇ

Araştırma sonuçları literatürde ilk defa BPA'nın tatlı su istakozunda (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) toksik etkisinin incelendiği bir çalışma olması nedeniyle özgün değere sahiptir. Sucul ekosistem açısından incelendiğinde bisphenol-A'nın düşük konsantrasyonlarının bile olumsuz etkiler yaratabileceği gözlenmiştir. Sucul ekosistemlerde endokrin bozucu BPA'nın etkilerinin incelendiği daha kapsamlı çalışmaların yapılması faydalı olacaktır.

Etik Onay:-

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Finansal Destek: Yok

Ethical Approval:-

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Support: None

KAYNAKLAR

1. EPA, (1997). Special Report on Endocrine Disruption, Fact Sheet, USE. EPA, Washington, D.C.,.
2. Goldman, J. M., Laws, S. C., Balchak, S. K., Cooper, R. L. and Kavlock, R. J. (2000). Endocrine disrupting chemicals: prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid activity in the female rat. A focus on the EDSTAC recommendations. *Critical Reviews in Toxicology*, 30(2), 135-196. doi: 10.1080/10408440091159185.
3. Stoker, T. E., Parks, L. G., Gray, L. E. and Cooper, R. L. (2000). Endocrine-disrupting chemicals: prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC recommendations. *Critical Reviews in Toxicology*, 30(2), 197-252. doi: 10.1080/10408440091159194
4. Köksal, G. (1988). *A. leptodactylus* in Europe. In: *Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation* (ed. by D.M. Holdich & R.S. Lowery). London: Croom Helm Press, 365-400. DOI 10.18864/ijufas.3975
5. Rahe, R. and Soylu E. (1989). Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkish crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 54, 10-15. [http://doi.org/10.1016/0022-2011\(89\)90132-8](http://doi.org/10.1016/0022-2011(89)90132-8)
6. Harlioğlu, M. M. (2004). The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture*, 230(1-4), 181-187. doi:10.1016/S0044-8486(03)00429-0
7. A. PHA, (1975). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington: APHA, 14.
8. Anonim, (1989). Su kalitesi- Tatlı su balığına ani öldürücü zehir tesiri olan maddelerin tayini- Kısım 2- Yarı statik metot. TSE. TS 6021. Ankara.
9. Reish, D.L. and Oshida, P.S. (1987). *Manual of methods in aquatic environment research*. Part 10. Short-term static bioassays. FAO Fish Technical Paper, 247, 17-33.
10. Staples, C. A., Dorn, P. B., Klecka, G.M., Oblock, S.T. and Haris, L.R. (1998) A review of the environmental fate, effects and exposures of

bisphenol A. *Chemosphere*, 36, 2149-2173. doi: 10.1016/s0045-6535(97)10133-3

11. Staples, C. A., Woodburn, K., Caspers, N., Hall, A. T., and Klecka, G. M. (2002). A Weight of Evidence Approach to the Aquatic Hazard Assessment of Bisphenol A. *Human and Ecological Risk Assessment*, vol 8, 1083-1105. doi:10.1080/1080-700291905837
12. Kubilay, B. (2013). Karbamatlı pestisitlerden Carbaryl'in Talı su İstakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) Akut Toksik Etkisinin Belirlenmesi, Y. Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-52.
13. Benli, ACK., Sarıkaya, R., Dinçel, A. S., Selvi, M., Şahin, D. Erkoç, F. (2007). Investigation of acute toxicity of (2,4-dichlorophenoxy)acetic acid (2,4-D) herbicide on crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88 (3), 296-299.
14. Jarboe, H. H. and Romaine R. P. (1991). Acute toxicity of permethrin to four size classes of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and observations of post-exposure effects. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20, 337-342. <https://doi.org/10.1007/BF01064399>
15. Caspers, N. (1998). No Estrogenic Effects of Bisphenol A in *Daphnia magna* Straus. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 143-148. <https://doi.org/10.1007/s001289900741>
16. Chan, W. K. and Chan, K. M. (2012). Disruption of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in zebrafish embryo-larvae following waterborne exposure to BDE-47, TBBPA and BPA. *Aquat Toxicol.*, 108,106-111. doi: 10.1016/j.aquatox.2011.10.013.