

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AMONYUM SÜLFAT'IN ULUDAĞ KURBAĞASI (*Rana
macrocnemis*) LARVALARI ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİKOLOJİK,
MORFOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

BÜŞRA KARACA

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. NURHAYAT ÖZDEMİR

TEZ JÜRİLERİ

Prof. Dr. Bilal KUTRUP

Prof. Dr. Bülent VEREP

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2015

Her Hakkı Saklıdır




T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMONYUM SÜLFAT'IN ULUDAĞ KURBAĞASI (*Rana macrocnemis*)
LARVALARI ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİKOLOJİK, MORFOLOJİK VE
HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR danışmanlığında Büşra KARACA tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 27/02/2015 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Ünvanı Adı Soyadı
Başkan	: Prof. Dr. Bilal KUTRUP
Üye	: Prof. Dr. Bülent VEREP
Üye	: Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

İmzası


Prof. Dr. Selami SAŞMAZ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda deneyim ve desteğini esirgemeyen araştırma konumu önererek, çalışmalarım süresince yol gösteren danışmanım Doç.Dr. Nurhayat ÖZDEMİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını gördüğüm Arş. Gör. Tuğba Ergül KALAYCI, Gülşah KÖSEOĞLU ve Sercan GÜRSU'ya, histoloji çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarından dolayı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi öğretim üyeleri; Doç. Dr. Yıldırım KALKAN, Yrd. Doç. Dr. Levent TÜMKAYA ve Uzm. Erva ESMER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın yürütülebilmesi için 2013.102.03.11 no'lu "Amonyum sülfat suni gübresinin *Rana macrocnemis* larvalarının gelişimi üzerindeki morfolojik ve histolojik etkileri" başlıklı proje ile gerekli finansal desteği sağlayan Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine ve ilgilerinden dolayı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümündeki tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Sonsuz sabır ve sevgi ile her zaman yanımda olan ailemin tüm fertlerine minnetlerimi sunarım.

BÜŞRA KARACA

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan **Amonyum sülfat'ın Uludağ Kurbağası (*Rana macrocnemis*) larvaları üzerindeki akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkileri** başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 18/03/2015

BÜŞRA KARACA

Uyarı: *Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

ÖZET

AMONYUM SÜLFAT'IN ULUDAĞ KURBAĞASI (*Rana macrocnemis*) LARVALARI ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİKOLOJİK, MORFOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

BÜŞRA KARACA

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

Bu çalışmada Mayıs 2013 tarihinde Rize-Ovit Dağı mevkiinden (2695 m) toplanan *Rana macrocnemis* (Uludağ kurbağası) türüne ait yumurtalardan elde edilen Gosner 25. evredeki larvalara değişik konsantrasyonlarda (0, 50, 75, 100, 150, 250, 500 mg/L) 4 gün boyunca uygulanan amonyum sülfat tarım gübresinin morfolojik ve histopatolojik etkileri incelenmiştir. Amonyum sülfatın LC₅₀ değeri 436.623 mg/L olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analizler sonucunda boy ve ağırlık bakımından gruplar arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Ayrıca amonyum sülfat tarım gübresinin *Rana macrocnemis* larvalarını davranışsal ve fizyolojik olarak olumsuz yönde etkilediği, konsantrasyon miktarı arttıkça beslenme oranının azaldığı hatta beslenmenin olmadığı, yüzmede yavaşlama, ters yüzme, ölüm, pigment kaybı, ödem birikimi olaylarının arttığı görülmüştür. Ayrıca histopatolojik olarak incelenen mide, karaciğer ve bağırsak kesitlerinde epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, pigmentasyon, nekrosis ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdelerinin konsantrasyon miktarına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak 96 saatlik akut deney sonunda; amonyum sülfat'ın *Rana macrocnemis* larvaları üzerindeki morfolojik, davranışsal, histopatolojik ve akut toksikolojik etkileri ilk defa açığa çıkarılmıştır.

2015, 83 sayfa

Anahtar Kelimeler: Amonyum sülfat, *Rana macrocnemis*, akut etkiler, histopatoloji, gelişim

ABSTRACT

ACUTE TOXICOLOGIC, MORPHOLOGICAL AND HISTOPATOLOGICAL EFFECTS OF AMMONIUM SULPHATE ON THE LARVAL DEVELOPMENT OF ULUDAG FROG (*Rana macrocnemis*)

BÜŞRA KARACA

Recep Tayyip Erdoğan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master Thesis
Supervisor: Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

In this study, morphological and histological effects of applied agricultural fertilizer ammonium sulfate in different concentrations (0, 50, 75, 100, 150, 250, 500 mg / L) on the larvae in stage Gosner 25 obtained from eggs of *Rana macrocnemis* (Uludağ frog) for 4 days collected from Rize-Ovit Dağı on May 2013 were examined. The LC₅₀ value of the ammonium sulfate was calculated as 436 623 mg / L. Significant differences were observed between the groups in terms of height and weight in the statistical analysis. Additionally, it was observed that agricultural fertilizer of ammonium sulfate effects *Rana macrocnemis* larvae behavioral and physiological adversely, the feed rate was decreases by the concentration increases, even where there is no feeding, slow swimming, reverse swimming, death, pigment loss, and increase of edema accumulation. In addition, epithelial degeneration and loss, vacuolization, edema, pigmentation, necrosis and increased connective tissue and the average percentage seen of dilatation was observed during the histopathological examination of the stomach, liver and intestinal sections depending on the amount and concentration of the fertilizer. As a result, at the end of 96-hours acute experiments; the morphological, behavioral, histopathological and acute toxicological effects of the agricultural fertilizer ammonium sulfate on larvae of *Rana macrocnemis* were revealed for the first time.

2015, 83 pages

Keywords: Ammonium sulfate, *Rana macrocnemis*, acute effects, histopatological, development

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Amfibiler Hakkında Genel Bilgiler	7
1.3. Çalışılan Türün Sistematik Yeri	10
1.3.1. Morfolojik Karakterleri.....	11
1.3.2. Biyolojik-Ekolojik Özellikleri ve Yayılışı.....	11
1.4. Amonyum Sülfat ile İlgili Bilgiler	12
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. Materyal ve Metot.....	13
2.1.1. Arazi Çalışması.....	13
2.1.2. Su Örneklerinin Elde edilmesi ve Saklanması.....	15
2.1.3. Su Analizlerinin Yapılması.....	15
2.1.4. Alınan Yumurta Örneklerinin Bakımı	16
2.1.5. Larvaların Uygun Gelişim Aşamasına Kadar Büyütülmesi ve Deney İçin Uygun Larva Seçimi	16
2.1.6. Deney Şartları ve Deney Çözeltilisinin Hazırlanması	17
2.1.7. Akut Deneyin Uygulanışı	18
2.1.8. Histolojik Çalışmanın Yapılışı.....	21
2.1.9. İstatiksel Analizler	22
3. BULGULAR.....	23
3.1. Araziden alınan su örneklerinin analiz sonuçları	23
3.2. Akut Toksik Deney	23
3.2.1. 0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	26

3.2.2.	50 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	26
3.2.3.	75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	27
3.2.4.	100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	28
3.2.5.	150 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	28
3.2.6.	250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	29
3.2.7.	500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	30
3.3.	Histopatolojik İncelemeler.....	34
3.3.1.	0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	34
3.3.1.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	34
3.3.1.2.	Midedeki Gözlemler	35
3.3.1.3.	Bağırsaktaki Gözlemler	37
3.3.2.	50 mg/L Konsantrasyon Gözlemleri.....	38
3.3.2.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	38
3.3.2.2.	Midedeki Gözlemler	40
3.3.2.3.	Bağırsaktaki Gözlemler	41
3.3.3.	75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	43
3.3.3.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	43
3.3.3.2.	Midedeki Gözlemler	44
3.3.3.3.	Bağırsaktaki Gözlemler	46
3.3.4.	100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	48
3.3.4.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	48
3.3.4.2.	Midedeki Gözlemler	50
3.3.4.3.	Bağırsaktaki Gözlemler	51
3.3.5.	150 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	53
3.3.5.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	53
3.3.5.2.	Midedeki Gözlemler	55
3.3.5.3.	Bağırsaktaki Gözlemler	57
3.3.6.	250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	59
3.3.6.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	59
3.3.6.2.	Midedeki Gözlemler	61
3.3.6.3.	Bağırsaktaki Gözlemler	63
3.3.7.	500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler	65
3.3.7.1.	Karaciğerdeki Gözlemler	65

3.3.7.2. Midedeki Gözlemler	67
3.3.7.3. Bağırsaktaki Gözlemler	68
4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	71
5. ÖNERİLER.....	76
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Amfibilerin tehdit unsurları.	2
Şekil 2. Omurgalı sınıfları ve bu sınıfların büyük gruplar halinde birleştirilmesi.	8
Şekil 3. Günümüzde yaşayan amfibi gruplarına ilişkin temsili örnekler.	9
Şekil 4. Ergin bir <i>Rana macrocnemis</i> 'in genel görünümü.	11
Şekil 5. <i>Rana macrocnemis</i> 'in Türkiye ve dünyadaki dağılışı alanı	12
Şekil 6. Çalışma yapılan alanın harita üzerinde gösterimi.	14
Şekil 7. Yumurta örneklerinin alındığı ortam.	14
Şekil 8. Su analizlerinin yapıldığı Spektroquant cihazı.	15
Şekil 9. Deneyde kullanılan kaplar ve deney düzeneğinin genel görünümü.	17
Şekil 10. Histopatolojik incelemeerde kullanılan cihazlar.	22
Şekil 11. Kontrol grubundaki normal bireyin görünümü.	26
Şekil 12. 50 mg/L Konsantrasyondaki görünümler.	27
Şekil 13. 75 mg/L Konsantrasyondaki görünümler	27
Şekil 14. 100 mg/L konsantrasyondaki görünümler	28
Şekil 15. 150 mg/L konsantrasyondaki görünümler	29
Şekil 16. 250 mg/L konsantrasyondaki görünümler	30
Şekil 17. 500 mg/L konsantrasyondaki görünümler	31
Şekil 18. Ölen bireyin diğer bireyler tarafından yenilip tahrip edilmesi görünümü.	31
Şekil 19. Konsantrasyonlar arasında beslenme durumu görünümü.	32
Şekil 20. Kruskal-Wallis testine göre boy bakımından analiz sonuçları	32
Şekil 21. Kruskal-Wallis testine göre kilo bakımından analiz sonuçları.	33
Şekil 22. 0 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme	34
Şekil 23. 0 mg/L konsantrasyondaki midede histopatolojik inceleme	36
Şekil 24. 0 mg/L konsantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.	37
Şekil 25. 50 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.	39
Şekil 26. 50 mg/L konsantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.	40
Şekil 27. 50 mg/L konsantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.	42
Şekil 28. 75 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.	43
Şekil 29. 75 mg/L konsantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.	45
Şekil 30. 75 mg/L konsantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.	47
Şekil 31. 100 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.	49

Şekil 32. 100 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.	50
Şekil 33. 100 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.	52
Şekil 34. 150 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	54
Şekil 35. 150 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.	56
Şekil 36. 150 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	58
Şekil 37. 250 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.	60
Şekil 38. 250 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.	62
Şekil 39. 250 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	64
Şekil 40. 500 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	66
Şekil 41. 500 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.	67
Şekil 42. 500 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	69

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri	16
Tablo 2. Deney öncesi yapılan larvaların boy ve kilo ölçümleri	19
Tablo 3. Su analiz sonuçları.....	23
Tablo 4. Uygulamaya başlamadan önce 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama ağırlıkları.....	24
Tablo 5. Uygulama bittikten sonra 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık boy ortalamaları	24
Tablo 6. 4 gün boyunca gözlemlenen ölü ve anormallikler	26
Tablo 7. Deney sonucundaki LC ₁₀ , LC ₅₀ ve LC ₇₀ değerleri.	25
Tablo 8. Amonyum sülfata maruz kalmış bireylere ait tanımlayıcı boy ve ağırlık değerleri.....	33
Tablo 9. 0 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	35
Tablo 10. 0 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	36
Tablo 11. 0 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	38
Tablo 12. 50 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	39
Tablo 13. 50 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri....	41
Tablo 14. 50 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	42
Tablo 15. 75 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	44
Tablo 16. 75 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri....	45
Tablo 17. 75 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	47
Tablo 18. 100 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	49
Tablo 19. 100 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	51
Tablo 20. 100 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	53
Tablo 21. 150 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	55
Tablo 22. 150 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	57

Tablo 23. 150 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	59
Tablo 24. 250 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	61
Tablo 25. 250 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	62
Tablo 26. 250 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	64
Tablo 27. 500 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	66
Tablo 28. 500 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri	68
Tablo 29. 500 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri	70

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

yy.	Yüzmede yavaşlama
ty.	Ters yüzme
Vol.	Volume
mm	Milimetre
mg	Miligram
L	Litre
g	Gram

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

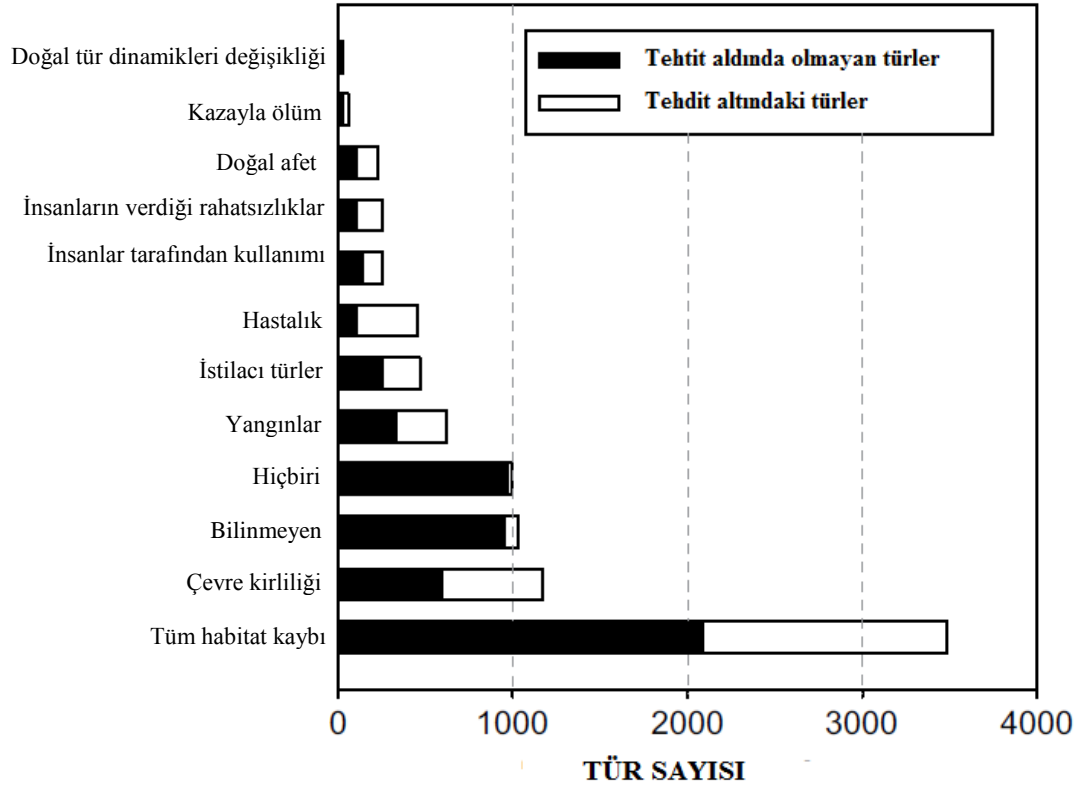
Amfibi populasyonlarında dünya çapında ciddi bir azalış gözlenmiştir. Bu azalmalar son 25 yılda daha dramatik bir hal almıştır ve amfibilerin diğer omurgalı sınıflarından daha fazla tehdit altında olduğu rapor edilmiştir (Beebee ve Griffiths, 2005).

Özellikle insanların yoğun olarak yaşadığı yerlerde amfibiler çeşitli tehditler altındadır (Collins ve Storfer, 2003; Beebee ve Griffiths, 2005; Gürkan ve Hayretdağ, 2009). Bunlar arasında fungal ve bakteriyel salgın hastalıklar, kuraklık, sıcaklık değişiklikleri, habitat tahribi ve parçalanması, egzotik türler, ağır metaller, asit yağmurları ve iklim değişimi bulunmaktadır (Barinaga, 1990; Dunson vd., 1992; Howe vd., 1998; Adams, 1999; Hayes vd., 2002; Langan, 2003). Doğal yaşam alanlarının, tarım uygulamaları gibi antropojenik etkiler sonucu birçok yönden kirlenmiş olması muhtemeldir (Johansson vd., 2006). Bu faaliyetler sırasında kullanılan birçok kimyasal maddenin de sucul ortamlarda olumsuz etkileri bulunmaktadır (Garcia-Munoz vd., 2009; Gürkan ve Hayretdağ, 2009).

Diğer sucul omurgalılar ile karşılaştırıldığında, amfibiler tarım alanları etrafında sığ, durgun ve geçici göletlerde ürediklerinden dolayı daha büyük risk altındadırlar. Amfibilerin embriyonik ve larval dönemleri sucul ortamlarda geçtiği için kimyasal kirleticilere karşı son derece hassastırlar (Rowe vd., 2003). Üstelik hayatları boyunca sucul ve karasal ortamlarda yaşadıkları için ve derileri de son derece hassas ve geçirgen olduğundan çevresel değişikliklerin etkilerini anlamak için yapılan çalışmalarda oldukça iyi birer biyo-belirleyicilerdir (Wyman, 1990; Lips, 1998).

Daha önceki çalışmalarda, tarımsal uygulamalar sırasında kullanılan bazı pestisit ve kimyasal gübrelerin amfibi popülasyonlarında azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Van Dam vd., 1998; Marco ve Blaustein, 1999; Davidson vd., 2001; Sparling vd., 2001; Davidson, 2004; Ezemonye ve Ieche, 2007; Sayım, 2007; Sparling ve Fellers, 2007; Bernabo vd., 2008; Kang vd., 2008; Gürkan ve Hayretdağ, 2009).

Pestisit formundaki kimyasallar ve gübreler eskiye oranla günümüzde çok fazla kullanılmakta ve önemli bir kirletici olarak karşımıza çıkmaktadır. IUCN Red List'deki (2008) nesli tükenmekte olan türlere tehdit olarak ilk iki sırada, habitat kaybı ve çevre kirliliği gösterilmektedir (Mann vd., 2009) (Şekil 1).



Şekil 1. Amfibilerin tehdit unsurları (Mann vd., 2009).

Kimyasal gübreler başta olmak üzere gübre kullanımının suların kirlenmesi üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle nitratlı gübreler, genel olarak da azotlu gübrelerin yoğun kullanımı sonucu yeraltı ve yerüstü sularının nitrat içeriği artmaktadır (Hatipoğlu vd., 1996). Bu şekilde bulaşan nitrat doğada uzun yıllar canlılar üzerinde olumsuz etkisini sürdürür. Nitrat içeriği yüksek mera bitkilerini yiyen hayvanların, sebze ve meyveleri yiyen insanların sağlıklarında önemli olumsuz etkileşimler ortaya çıkar. Göl ve denizlerimizde balıkların giderek azaldığına, akarsu ve derelerde kurbağa seslerinin kesildiğine sıkça tanık olunmaktadır. Bu olgunun bir önemli nedeni de tarım topraklarına gereğinden çok fazla miktarlarda uygulanan kimyasal gübrelerdir.

Amfibi popülasyonları hakkındaki araştırmalar, popülasyon azalmasıyla tarımsal bölgeye yakınlık arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Bishop vd., 1999; Joly vd.,

2001; Davidson, 2004). Pestisit ve gübre gibi tarımsal kimyasalların kullanımı çeşit, kombinasyon ve miktar bakımından çeşitlilik gösterir (Mann vd., 2009). Çoğu sucul ekosistemler gübre kullanımı sonucu azot kirliliğine maruz kalırlar. Azot; kanalizasyon atıklarından, sanayi atıklarından, kentsel yüzeysel akış, atmosferik çökeltme ve tarımsal uygulamalardaki azot bazlı gübrelerden dolayı ekosisteme girer (Camargo ve Ward, 1992; Carpenter vd., 1998; Rouse vd., 1999). Yağmurla birlikte azot inorganik nitrojenik bileşiklere dönüşür ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, NO_2^- , NO_3^-). Örneğin; Kuzey Amerika'nın göllerinden toplanan 8545 su örneğinin %19.8'inde nitrat (NO_3^-) konsantrasyonunun amfibilerde öldürücü olmayan etkilere yol açan doz miktarını aştığı gözlenmiştir (Rouse vd., 1999).

Bu konularda amfibilerle ilgili yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Sulara karışan amonyum konsantrasyonlarının amfibi larvalarında çeşitli anormalliklere sebep olduğu, aktivite kaybına yol açtığı belirlenmiştir. Düşük konsantrasyonlarına uzun vadeli maruz kalındığında büyümeyi engellediği, ayrıca yüksek konsantrasyonlarına kısa vadeli maruz kalındığında da büyümeyi engellediği ortaya konmuştur (Hecnar, 1995; Xu ve Oldham, 1997; Schuytema ve Nebeker, 1999a ve 1999b; Marco vd., 1999; Griffis-Kyle ve Ritchie, 2007; Burgett vd., 2007; Karaoğlu vd., 2010). Suni gübreler diğer kimyasallarla birlikte kullanıldıklarında, olumsuz etkilerinin sinerjistik biçimde arttığı da yapılan çalışmalarla (Carey vd., 1999; Hatch ve Blaustein, 2000 ve 2003; De Solla vd., 2002; Karaoğlu, 2011) saptanmıştır.

Hecnar (1995)'ın *Bufo americanus*, *Pseudacris triseriata*, *Rana pipiens* ve *Rana clamitans* larvalarına amonyum nitrat gübresinin akut ve kronik etkilerini değerlendirdiği çalışmasında, akut testte ölümün türden türe değiştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca iki farklı *B. americanus* popülasyonunun kirliliğe maruz bölgeden alınanında 4 günlük LC_{50} değeri 39,3 mg/L olarak belirlenirken, temiz bölgeden alınanında 13,6 mg/L olarak belirlenmiştir. Bunların dışında bu 6 türe ait larvalarda beslenmede azalma, yüzmede yavaşlama ve dengesizlik, dokunmaya karşı verilen tepkilerde gecikme, felç, gövdede çıkıntılarının oluşması, pigment kaybı, ödemlerin gelişmesi, kuyrukta kıvrılma gibi anormallikler, ağırlıkta önemli düzeyde azalış ve aktivite kaybı tespit edilmiştir. 100 günlük kronik deneyde ise *Pseudacris triseriata* ve *Rana pipiens*'in 10 mg/L uygulama

grubundaki hayatta kalma oranında önemli düzeyde azalış ortaya çıkarken, *R. clamitans*'ın hayatta kalma oranının etkilenmediği belirlenmiştir.

Schuytema ve Nebeker'in (1999a) *Pseudacris regilla* ve *Xenopus laevis* larvalarına 4'er ve 10'ar gün amonyum nitrat, amonyum klor, amonyum sülfat ve sodyum nitrat uygulanarak gerçekleştirilen çalışmasında; *P. regilla* için amonyum nitrat ve amonyum sülfata ait 10 günlük LC₅₀ değerleri sırasıyla 55,2 ve 89,7 mg/L olarak tespit edilmiştir. *X. laevis* larvaları için ise üç amonyum bileşiğinin 10 günlük LC₅₀ değerleri; 45-64 mg/L arasında değişmekteydi. Sodyum nitratın 10 günlük LC₅₀ değerleri ise *P. regilla* larvaları için 266 mg/L, *X. laevis* larvaları için 1236 mg/L olarak belirlenmiştir. Ağırlık veya boy artışında önemli düzeyde azalışa sebep olan en düşük amonyum konsantrasyonu *P. regilla* larvaları için 24,6 mg/L, en düşük nitrat konsantrasyonu için ise 30 mg/L olarak tespit edilirken *X. laevis* larvaları için ağırlık veya boy artışında önemli düzeyde azalışa sebep olan en düşük amonyum konsantrasyonu 99,5 mg/L, en düşük nitrat konsantrasyonu ise 126 mg/L olarak belirlenmiştir.

Gürkan ve Hayretdağ (2009), yaptıkları çalışmada bakır sülfatın *Bufo viridis* larvaları üzerindeki akut toksikolojik etkilerini morfolojik ve histolojik olarak incelemişlerdir. Gosner 21. evredeki *B. viridis* iribaşları farklı konsantrasyonlarda (0,01, 0,05 ve 0,1 mg/L) bakır sülfata 120 saat süreyle maruz bırakılmışlardır. Bakır sülfatın LC₅₀ değeri 0,058 mg/L olarak hesaplanmıştır. Morfolojik ölçümler, bakır sülfatın larval gelişim ve büyümede gerilemeye neden olduğunu göstermiştir. Histolojik kesitlerin, özellikle baş bölgesinden geçen enine kesitlerinde ödem gözlenmiştir ($\geq 0,01$ mg/L CuSO₄). Bununla birlikte karaciğerde hepatoselüler dejenerasyon, mide ve bağırsak epitel hücrelerinde hasar, somit taslaklarında deformasyon ve anomaliler gözlenmiştir ($\geq 0,01$ mg/L CuSO₄). 0,05 ve 0,1 mg/L CuSO₄ uygulamasının yapıldığı gruplardaki larvalarda, uyarılara daha az tepki verme, denge kaybı ve yüzme mesafesinin kısaldığı gözlenmiştir.

Lawrence ve Isimo (2010) ise yaptıkları çalışmada, *Bufo regularis* türüne ait yetişkin bireyleri, Endosülfan ve Diazinon pestisitlerinin 0,25, 0,50, 0,75 ve 1 mg/L konsantrasyonlarına 96 saat boyunca maruz bırakmışlardır. Kontrol grubu ile diğer

gruplar arasında ortalama ölüm oranı bakımından fark olduğu ($p < 0,05$) ve Diazinonun ($LC_{50} = 0,44$ mg/L), Endosülfandan ($LC_{50} = 0,73$ mg/L) daha toksik olduğu gösterilmiştir. Endosülfan ve Diazinon için güvenli konsantrasyonlar sırasıyla 0,07 ve 0,04 mg/L olarak elde edilmiştir. Aynı zaman da pestisitlerin doza bağımlı olarak biçimsel ve davranışsal anormalliklere sebep olduğu ve daha belirgin zehirlenme belirtilerinin Diazinonun yüksek konsantrasyonlarında olduğu gözlenmiştir.

Karaoğlu (2011) ise *Pelodytes caucasicus* (Kafkas kurbağası) larvalarına amonyum nitratın doğada rastlanması mümkün düşük konsantrasyonlarını (0, 5, 10, 15, 20, 25 mg/L) kronik olarak 70 gün, yüksek konsantrasyonlarını ise (0, 50, 75, 100, 150, 250, 500 mg/L) akut olarak 15 gün uygulamıştır. Ayrıca deneylerde nitrat kirliliği açısından iki farklı habitattan elde edilen iki farklı populasyon kullanılarak kirli ve temiz bölgelerden alınan bu populasyonların amonyum nitrate karşı oluşturduğu tepkilerde farklılık olup olmadığı da test edilmiştir. Sonuçlar neticesinde amonyum nitrat gübresinin hem kronik hem de akut düzeyde Kafkas kurbağası larvalarına ait iki populasyonda da büyümeyi engellediği, davranışsal ve fiziksel çeşitli anormalliklere ve ölümlere yol açtığı belirlenmiştir. Fakat ölüm ve anormallik olaylarının her ikisinin de temiz bölge populasyonunda kirli bölge populasyonuna kıyasla önemli düzeyde fazla ve erken başladığı belirlenmiştir. Ayrıca temiz bölge populasyonunun LC_{50} değeri 170 mg/L, kirli bölge populasyonunun LC_{50} değeri ise 204 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu veriler sonucunda kirli bölge populasyonunda amonyum nitrate karşı direnci arttıran bir adaptasyon geliştiği kanısına varılmıştır.

Paunescu vd. (2012)'e göre, *Pelophylax ridibundus* türüne ait erişkin bireylerin kullandığı çalışmaları, (1) 6,5‰ tuz solüsyonuna bırakılmış kontrol grubu, (2) bireylerin vücut ağırlığına oranla Talstar 10EC'ye maruz bırakılmış (0,5 mg bifenthrin/g) gruplarından oluşmuştur. 3 hafta boyunca 2 günde bir toksik madde (Talstar 10EC) enjeksiyon ile periton içine enjekte edilmiştir. Deney bitiminde karaciğer ve böbrek çıkarılarak histopatolojik olarak incelenmiş ve kontrol grubunun karaciğer ve böbrek dokularında hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. Talstar 10 EC'ye maruz kalan grubun ise karaciğer dokusunda; parankimde küçülme, pigment farklılaşması, eritrositlerin hemolizi, kılcal damar genişlemesi ve sitoplazmada lipit birikimi gözlenmiş olup böbrek

dokusunda; pronefrik tübülde vakuolizasyon, kılcak damar ve bowman kapsülünün genişlemesi, nekrozis ve tübüllerde fibrozis görülmüştür.

Çakıcı (2013) *Pelophylax bedriage* türüne ait yetişkin bireyleri 96 saat boyunca karbarile maruz bıraktıktan sonra sindirim sistemindeki histopatolojik değişiklikleri incelemiştir. Yetişkin kurbağalar 0,05, 0,1 ve 0,2 mg/g konsantrasyonlarda ağız yoluyla beslenmeye maruz bırakılmıştır. Histopatolojik değişiklikler orta (0,1 mg/g) ve yüksek (0,2 mg/g) doz gruplarında düşük (0,05 mg/g) doz grubundan daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Özofagus hücrelerinde vakuolizasyon, hücresel şişme, nükleer pinoz, karyolizis ve nekroz; yemek borusu bezi antrofisi ve özofagus bezinin çevresinde inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu; mide bezlerinde şişlik, hücresel nekroz, sıkışık epitel hücre tabakası ve kanama; bağırsak içinde epitel hücre tabakasında düzensizlik, iltihaplanma ve nekroz ayrılması orta ve yüksek dozlarda gözlenmiştir. Sonuç olarak karbaril *P. bedriage* türünde sindirim sistemi ile ilgili olumsuz etkilere yol açtığı gözlenmiştir.

Bridges ve Semlitsch (2000) Karbanil adlı kimyasal maddenin hem *Rana* türlerinin farklı popülasyonlardaki etkisini incelemiştir. LC değerlerinin hem popülasyon hem türler arasında farklılık olduğunu bulmuşlardır.

Gürkan ve diğerleri (2014), *Pseudepidalea variabilis* larvalarını 1, 5, 10, 25 ve 50 µg/L kadmiyum klorüre maruz bırakarak 96 saat yürütülen deney sonucunda ölüm oranının artan konsantrasyonlara paralel olarak arttığını tespit etmişlerdir. 4 günlük LC₁₀, LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri sırasıyla 26,98, 35,35 ve 46,31 µg/L olarak belirlenmiştir. Ölü larvalar seçilip alınırken sağ kalan larvaların morfolojik ve histopatolojik incelemeleri yapılmıştır. Probit analizi değerlendirilmesinde başlangıçta yapılan ölçümler ile deney bitiminde yapılan ölçümler arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Histopatolojik inceleme sonuçlarında ise; solungaç katmanlarının birleşmesi ve deformasyonu, pronefrik tübüllerin yapısında deformasyon, karaciğerde deformasyon, kanama ve vakuolizasyon gözlenmiştir.

Karadeniz Bölgesi'nde çay tarımı yapılan yörede uzun yıllardan beri yoğun bir şekilde kullanılan amonyum sülfat gübresi, bu yörede topraklarının asitleşmesinde

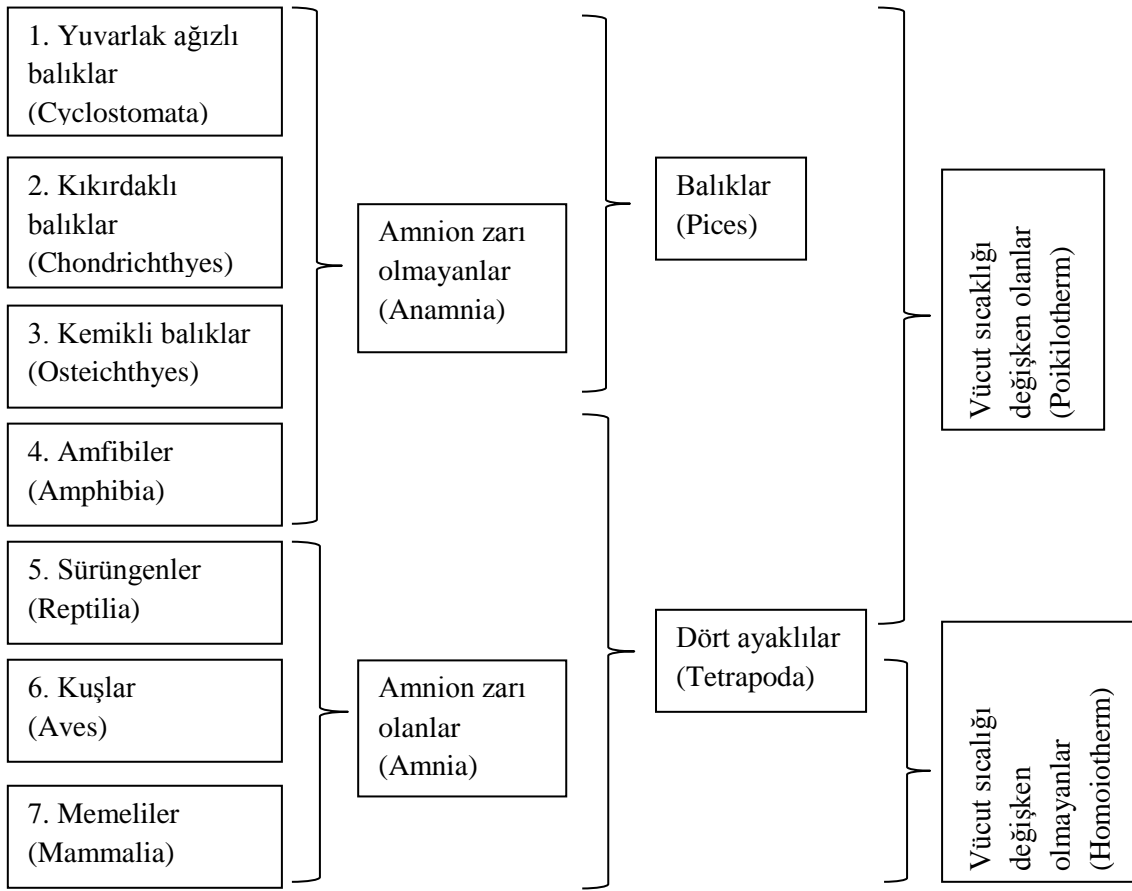
önemli rol oynamıştır. Asidik koşullarda nitrifikasyon olayı çok düşük düzeyde gerçekleşse de amonyum sülfat toprakta nitrate yükseltgenmektedir (Kacar, 1992). Bu çalışmanın amacı da *Rana macrocnemis* larvaları üzerinde çay tarımında kullanılan amonyum sülfat suni gübresinin 96 saat boyunca 0, 50, 75, 100, 150, 250 ve 500 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakılarak akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkilerinin araştırılmasıdır.

1.2. Amfibiler Hakkında Genel Bilgiler

Amfibiler; hem suda hem de karada yaşadıklarından iki yaşamlılar anlamına gelen Amphibia (Yunanca, Amphi=iki; Bios=yaşam) adı verilmiştir (Kuru, 2001). Gerek morfolojik gerekse fizyolojik bakımından Balıklar ile Sürüngenler arasında yer alırlar (Şekil 2). Embriyolarının amniyon zarı içermemesi açısından balıklara, dört ayaklarının bulunması açısından da kara omurgalılarına benzerler. Amfibilerin habitatındaki değişiklikler, sucul ve otçul bir larvadan karasal ve etçil bir ergine dönüşümü içerir. Bununla beraber, bazı kara kurbağaları hayatlarının çoğunu karada geçirirken diğer bazı amfibiler hayatları boyunca suda kalır. Genel olarak yumurtalar suda geliştiği gibi, larva evresinde suda geçer; ergin evrede karaya çıkanların çoğu üreme zamanında suya gider (Özeti ve Yılmaz, 1994; Demirsoy, 2005).

Vücutları tamamen çıplaktır: pul, tüy, kıl gibi deri türevleri bulunmaz. Yalnız Apoda (Bacaksız Kurbağalar)'da deri içinde küçük pullar bulunur. Derileri bol bez içerir. Bazı bezlerin saldıği mucus maddesi deriyi ıslak ve kaygan tutar. Zehir salgılayan bezler de vardır. Soğukkanlı (poikilotherm) hayvanlardır. Kalpleri iki kulakçık (atrium) ve bir karıncık (ventrikulus) olmak üzere üç gözlüdür. Alyuvarları oval ve nukleusludur.

Amfibilerde; solungaç solunumu (larvada), akciğer solunumu (erginde), deri solunumu ve ağız içi-yutak boşluğu solunumu (ergin ve larva formlarda) olmak üzere 4 tip solunum görülür. Balıklarda su içindeki titreşimleri almaya yarayan özel duyu organı sadece amfibi larvalarında ve tamamen sucul amfibilerde bulunur. İşitme duyusu genelde Anura'lar da daha iyi gelişmiş durumdadır. Çünkü Urodela'larda orta kulak bulunmaz

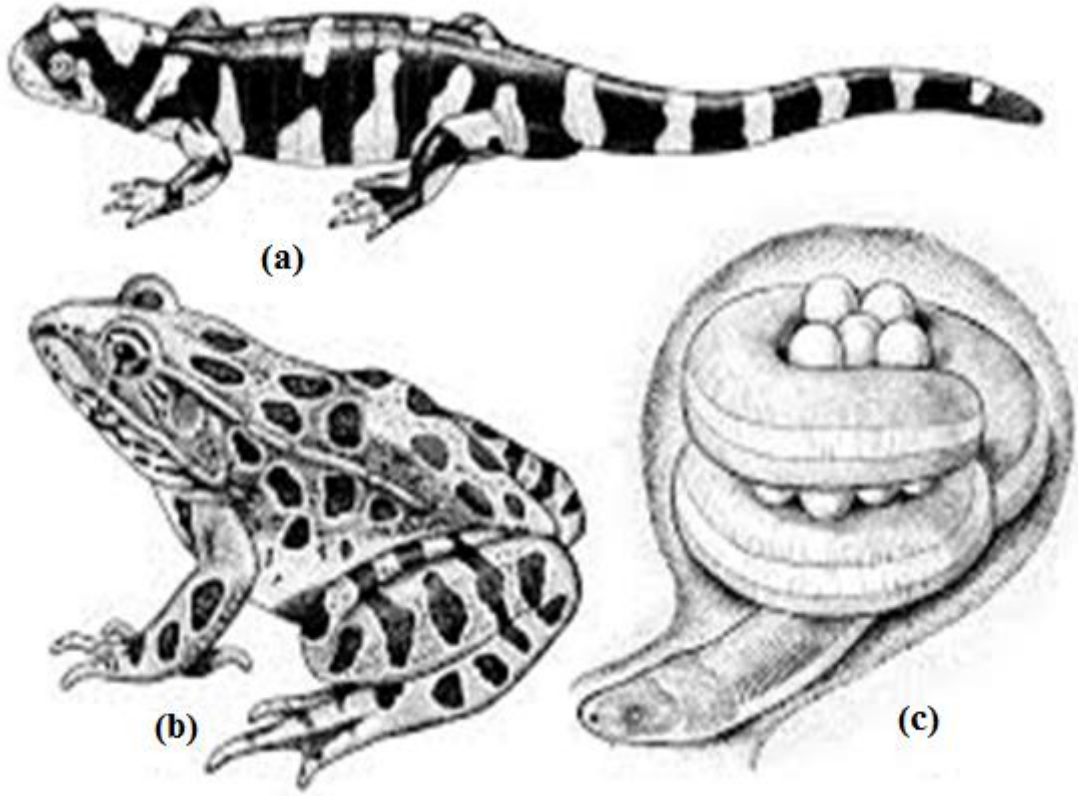


Şekil 2. Omurgalı sınıfları ve bu sınıfların daha büyük gruplar halinde birleştirilmesi (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Erginleri böcek, solucan salyangoz gibi canlılarla beslenirken larvaları gruba göre değişiklik gösterir. Kuyruklu kurbağa larvaları etçilken kuyruksuz kurbağa larvaları ilk dönemleri otçul, daha gelişmiş olanları etçildir. Renkleri kuyruksuz kurbağalarda bulunduğu ortama uyum sağlayacak yapıdayken, kuyruklu kurbağalarda oldukça canlıdır (Özeti ve Yılmaz, 1994; Demirsoy, 2005; Budak ve Göçmen, 2008).

Gelişmiş amfibiler 3 takıma ayrılırlar. Bunlar;

- 1) Apoda (Gymnophiona, Coecilia= Bacaksız Kurbağalar)
- 2) Urodela (Caudata, Gradientia= Kuyruklu Kurbağalar)
- 3) Anura (Salientia= Kuyruksuz Kurbağalar) (Şekil 3)



Şekil 3. Günümüzde yaşayan amfibi gruplarına ilişkin temsili örnekler. (a): Bir kuyruklu kurbağa; (b): Bir kuyuksuz kurbağa; (c): Bir bacaksız kurbağa (Budak vd., 2002).

Bacaksız kurbağalar (Apoda), sıcak ülkede yaşarlar. Bacakları bulunmayan bu hayvanlar, dış görünüşleri bakımından yılan veya solucana benzerler. Genel olarak derileri dış taraftan halkalara ayrılmıştır. Birçoğunun derilerinin içinde, dermis orjinli, kalker içeren pullar bulunur. Yer altında yaşadıklarından dolayı, gözleri az çok körelmiş durumdadır. Kuyruk kısımları çok kısa veya hiç yoktur. Bugün yaşayan bacaksız kurbağalar 34 cins içinde 165 kadar türdür.

Kuyruklu kurbağaların yayılış alanı dünyanın yalnız kuzey yarım küresidir. Dış görünüşleri kertenkeleye benzer. Fakat derilerinin çıplak oluşuyla kolay ayırt edilirler. Ön bacaklar ile arka bacaklar eşit uzunluktadır. Bazı üyelerde arka bacaklar bulunmaz. Erkeklerinde çiftleşme organı bulunmamakla beraber döllenme içtedir. Gelişmeleri metamorfozudur, fakat larva ile ergin arasında çok büyük farklar bulunmaz. Dış görünüş bakımından larvada göze çarpan özellik, dış solungaçların bulunmasıdır. Kuyruk hem larva evresinde hem de erginde mevcuttur. Kuyruklu kurbağaların bir kısmında dış solungaçlar ergin dönemde de kalır.

Anurular; tür sayısı bakımından en zengin grubu oluştururlar. Kozmopolittirler yani dünyanın her tarafında yayılış gösterirler. Vücut genişçe yapılı olup, baş ile gövde arasında boyun kısmı bulunmaz. Ergin evrede kuyruksuzdurlar, sıçramaya elverişli olan arka bacakları ön bacaklardan daha uzundur. Suya bağımlı olanlarda parmak aralarında yüzme zarı bulunur. Bazı türlerin erkeklerinde ses keseleri bulunur. Üreme şekli açısından çeşitliliğe sahiptirler. Birkaç istisna dışında döllenme dışıdır. Bugün yaşadığı saptanan kuyruksuz kurbağa 301 cins içinde 3438 türdür. Yaşayan amfibi türlerinin %85'ini kuyruksuz kurbağalar takımı oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra, kuyruklu kurbağalar takımı mevcut amfibi türlerinin yalnız %10'unu, bacaksız kurbağalar takımı ise %5'ini meydana getirir (Özeti ve Yılmaz, 1994; Demirsoy, 2005; Budak ve Göçmen, 2008).

1.3. Çalışılan Türün Sistematikteki Yeri

- Âlem : Animalia (Hayvanlar)
- Şube : Chordata (Sırt İplikliler)
- Sınıf : Amphibia (İki Yaşamlılar, Kurbağalar)
- Takım : Anura (Kuyruksuz Kurbağalar)
- Aile : Ranidae (Gerçek Su Kurbağaları)
- Cins : *Rana*
- Tür : *Rana macrocnemis* (Uludağ Kurbağası) (Şekil 4).



Şekil 4. Ergin bir *Rana macrocnemis*'in genel görünümü.

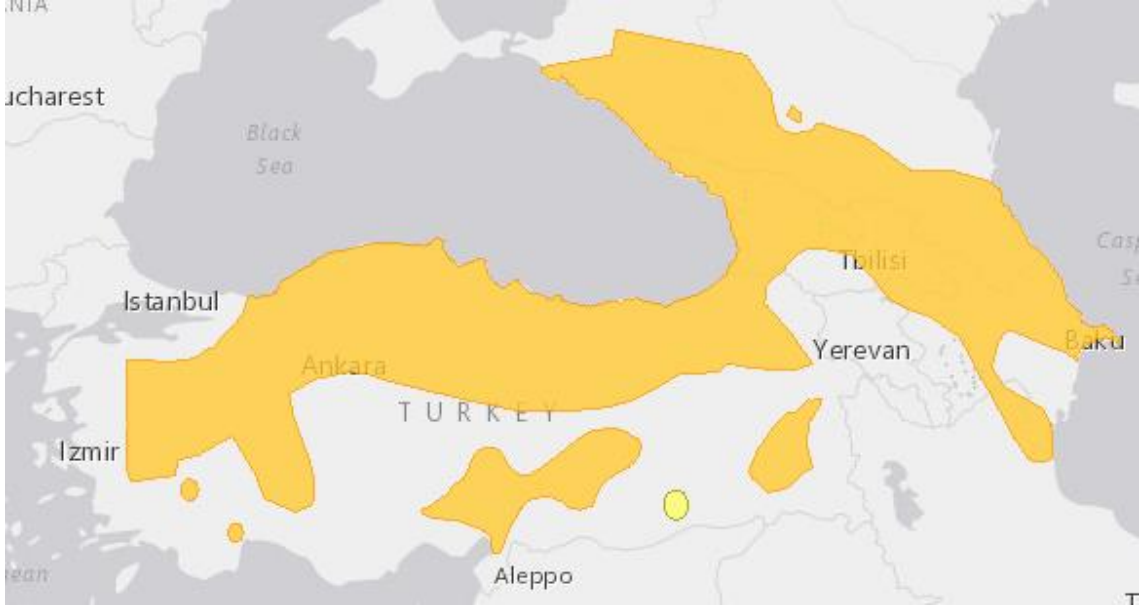
1.3.1. Morfolojik Karakterleri

Vücut boyu 8 cm kadar, göz bebeği yatay, baş yanlarındaki koyu bantlar (temporal şerit) barizdir. Deri genellikle pürüklü sırt yanlarındaki boyuna uzanan deri kıvrımları az çok barizdir. Erkeklerde iç ses kesesi bulunur. Sırt taraf pembemsi kahverengi veya tuğla kırmızısı, bu zemin üzerinde sınırları kesin olmayan kahverengi veya siyahımsı lekeler bulunur. Sırt ortasında boyuna uzanan açık renkli şerit nadiren görülen karın taraf lekесiz, pembemsi veya sarımsı pembedir (Baran vd., 2012). Arka ayaklarda yüzme zarı vardır (ön ayak parmakları serbesttir). Arka bacakları uzundur; öne doğru uzatıldığında, tibio-tarsal eklem başın uç kısmına erişir. İç metatarsal tüberkülleri oval; ön bacaklarının (erkeklerde) birinci parmaklarındaki şişkinlik yekparedir (Özeti ve Yılmaz, 1994; Demirsoy, 2005).

1.3.2. Biyolojik-Ekolojik Özellikleri ve Yayılışı

Genellikle açık arazide veya ağaçlı kısımlardaki küçük dereler ve bunların kenar bölgelerinde yaşarlar. Ayrıca ıslak zeminli çayırıklarda veya suya yakın diğer yerlerde de görülürler. Besinlerini böcek türleri teşkil eder. Dişiler yumurtalarını kümeler

halinde derelerin kenarlarındaki bitkili ve durgun kısımlara bırakılırlar. Dağ kurbağası olan bu tür 1000 metreden alçak yerlerde bulunmaz. Uzun kış mevsimini dere kenarlarındaki çayır köklerinin teşkil ettiği yastıklar arası ve altında geçirirler. Türkiye’de Batı, Güney, Dağu ve Kuzey Anadolu Bölgeleri’nde yayılmıştır (Şekil 5). Vertikal dağılışı 1000 ile 2300 metre arasında değişir (Baran vd., 2012).



Şekil 5. *Rana macrocnemis*'in Türkiye ve dünyadaki dağılış alanı (IUCN) (URL-1).

1.4. Amonyum Sülfat Gübresi İle İlgili Bilgiler

Genellikle beyaz rekte ve toz şeker görünümündedir. Bu özelliğinden dolayı şeker gübre diye tanınır. 100 kilo amonyum sülfat gübresinde 21 kilo azot (N), 24 kilo civarında da bir başa besin maddesi olan kükürt (S) bulunur. Amonyum sülfat gübresindeki azot amonyum formundadır. Ancak gübre toprağa uygulandıktan bir süre sonra amonyumun bir kısmı nitrata dönüşür.

Amonyum sülfat gübresindeki amonyum, toprak tarafından ısmen tutulduğu için verilen gübrenin sulama suyu ve yağışlarla yıkanarak kaybolması kısmen önlenmiştir. Amonyum sülfat asit karakterli bir gübredir (URL-2).

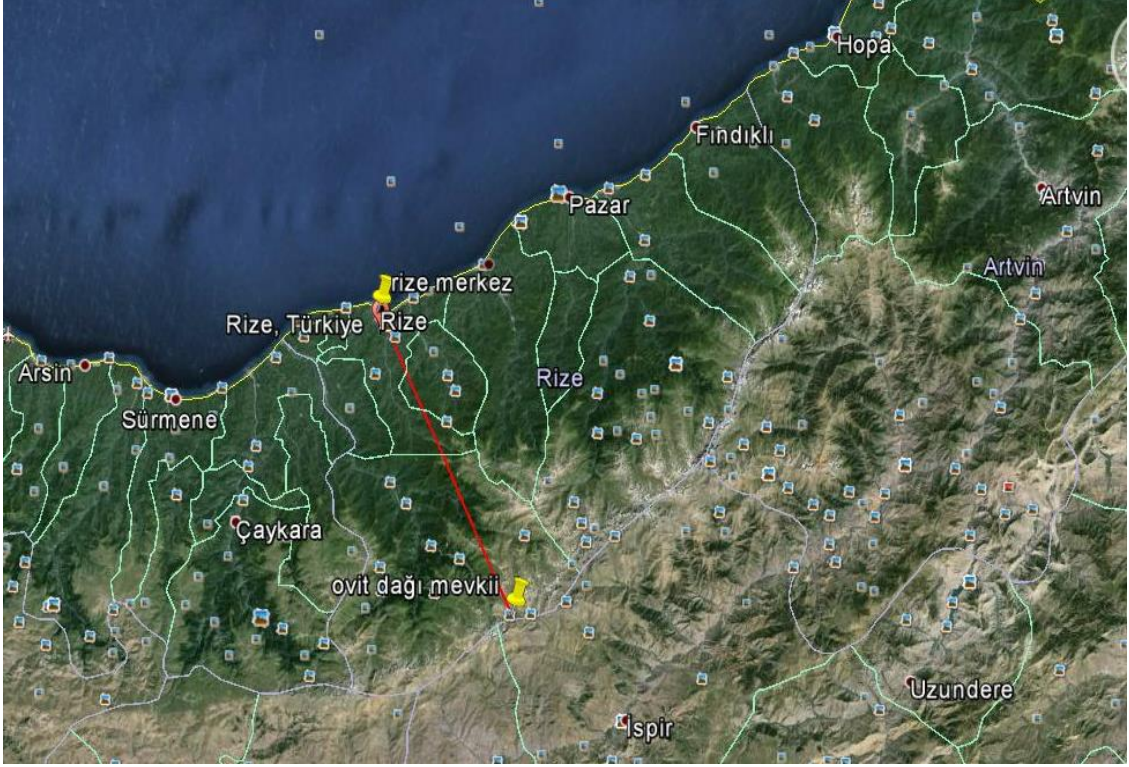
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal ve Metot

Bu çalışmada Mayıs 2013 tarihinde Rize-Ovit Dağı mevkiine (2695 m) düzenlenen arazi çalışması sonucunda toplanan *Rana macrocnemis* (Uludağ kurbağası) türüne ait yumurtalardan, laboratuvar ortamında elde edilen larvalara değişik konsantrasyonlarda uygulanan amonyum sülfat tarım gübresinin akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkileri incelenmiştir.

2.1.1. Arazi Çalışması

Türün üreme döneminde Rize-Ovit Dağı (Şekil 6) mevkiine (40°37'30.26" K ve 40°46'53.83" D, 2695 m) düzenlenen arazi çalışması neticesinde akarsu yatağının kenarlarında bulunan irili ufaklı 4 farklı su birikintilerinden (Şekil 7), yaklaşık 180 kurbağa yumurtası ve yumurtaların bulunduğu sulardan örnekler alındı. Alınan yumurtalar laboratuvara ulaşıncaya kadar embriyoların oksijen gereksinimini karşılamaya yetecek kadar su alabilen ve dökülmeye karşı kapağı bulunan fakat oksijen girişini sağlamak amacıyla delikleri bulunan plastik bir kaba koyuldu. Arazi çalışması sırasında sucul habitata ait sıcaklık değeri kullanılan elektronik termometre ile 14-19°C olarak, suyun ortalama pH değeri ise portatif pH metre yardımıyla 7.05 olarak ölçülmüştür.



Şekil 6. Çalışma yapılan alanın harita üzerinde gösterimi (Kırmızı ölçek çizgisinin uzunluğu 50.05 km.)



Şekil 7. Yumurta örneklerinin alındığı ortam.

2.1.2. Su Örneklerinin Elde Edilmesi ve Saklanması

Yumurta örneklerinin alındığı ortamlardan su örnekleri alınırken 500 ml'lik plastik kaplar kullanıldı. Su örnekleri alınır alınmaz buz içeren kapaklı köpük kablara alındı. Çünkü ısı artışı nitrat ve nitrit bakterilerinin aktivitesini artırarak nitrat ve nitrit değerlerini etkilemekte ve analizlerde yanlış sonuçların alınmasına yol açmaktadır. Bu sebepten dolayı da laboratuvara ulaşıldığında da örnekler -20°C 'de saklandı. Analizler yapılmadan önce suların açılması için $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi.

2.1.3. Su Analizlerinin Yapılması

Alınan su örneklerinin analizleri, Spektroquant cihazı (Novago-Merck) (Şekil 8) kullanılarak nitrit (NO_2), nitrat (NO_3), amonyum (NH_4) ve sülfat (SO_4) tayin kitleri ile gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları Tablo 1'de bulunan su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri ile karşılaştırıldı.



Şekil 8. Su analizlerinin yapıldığı Spektroquant cihazı.

Tablo 1. Su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri (c: pH değerine bağlı olarak serbest amonyak azotu konsantrasyonu 0.02 mg NH₃⁻N/L değerini geçmemelidir).

Su kalite parametreleri	Su kalite sınıfları			
	I. Kalite su (Yüksek kalite su)	II. Kalite su (Az kirlenmiş su)	III. Kalite su (Kirlenmiş su)	IV. Kalite su (Çok kirlenmiş su)
1) Sıcaklık (°C)	25	25	30	>30
2) pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6,0-9,0	6,0-9,0 dışında
3) Oksijen doygunluğu (%)	90	70	40	<40
4) Çözünmüş oksijen(mg O ₂ /L)	8	6	3	<3
5) Sülfat iyonu (mg SO ₄ ⁻² /L)	200	200	400	>400
6)Amonyum azotu (mg NH ₄ ⁺ -N/L)	0,2 ^c	1 ^c	2 ^c	>2
7) Nitrit azotu (mg NO ₂ ⁻ -N/L)	0,002	0,01	0,05	>0,05
8) Nitrat azotu (mg NO ₃ ⁻ -N/L)	5	10	20	>20

2.1.4. Alınan Yumurta Örneklerinin Bakımı

Laboratuvara getirilen yumurtalar, RSW (Reconstituted Soft Water veya Yapay Tatlı Su) çözeltisi içerisine alındı (Karaoğlu, 2011). Su sıcaklığının doğal ortama uygun olarak 14-19°C civarında olmasına dikkat edildi. Gerekli oksijen ise sürekli işlev gören hava motorlarıyla karşılanmaya çalışıldı (Johansson vd., 2001). Yumurtaların bulunduğu kap içerisine bitkiler yerleştirildi. Böylece yumurtaların kabın zeminine direkt temas etmeleri engellendi. Bu da yumurtaların iyi oksijen alabilmesi ve iyi şekilde gelişmesi sağlandı (Demirsoy, 2005; Karaoğlu, 2011).

2.1.5. Larvaların Uygun Gelişim Aşamasına Kadar Büyütülmesi ve Deney İçin Uygun Larva Seçimi

Larvalar yumurtadan çıktıktan sonra RSW çözeltisi içerisinde, sıcaklığı 14-19°C civarında ve hava motorlarıyla büyük bir akvaryumun içerisinde tutularak Gosner (1999)'in ölçütlerine göre 25. gelişim aşamasına kadar ulaşmaları beklendi (Johansson vd., 2001; Hecnar, 1995). Bu aşamaya kadar dışarıdan besin alma ihtiyaçları olmadığından hiçbir besin verilmedi ve bu esnada larvalar çıkana kadar 3 günde bir RSW çözeltisi değiştirildi.

Gosner'in 25. gelişim aşamasına ulaşan larvalardan deney için morfolojik açıdan veya davranış açısından herhangi bir anormalliği olmayan larvalardan gerekli sayıda seçilerek deney çözeltisine koyuldu (Xu ve Oldham, 1997).

2.1.6. Deney Şartları ve Deney Çözeltisinin Hazırlanması

Tüm deney yaklaşık 14-19°C'deki çözeltilerde gerçekleştirildi. Oda sıcaklığı ise klima yardımı ile sabit tutuldu. Deney, 5 litrelik kaplarda 2 litrelik çözeltiler içerisinde gerçekleştirildi (Şekil 9).

Deneyler için gerekli çözeltiler, RSW hazırlanarak içerisinde 0, 50, 75, 100, 150, 250 ve 500 mg amonyum sülfat (%21 azot (N), %24 kükürt (S)) çözülerek oluşturuldu. RSW ise; 1 litre deiyonize su içerisinde 48 mg NaHCO_3 , 30 mg $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 61 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 mg KCl çözülerek hazırlandı. Her çözeltinin pH'sı 10 mM Tris tamponu ile 7,5'e ayarlandı.



Şekil 9. Deneyde kullanılan kaplar ve deney düzeneğinin genel görünümü.

2.1.7. Akut Deneyin Uygulanışı

Deneyin bu aşamasında gerçekleştirilen uygulamada, larvalara alındığı çevrede bulunmayacak düzeyde amonyum sülfat suni gübresi uygulanarak, amonyum sülfatın bu türün larvaları üzerindeki akut toksikolojik etkileri araştırıldı.

Deneyin bu aşamasında konsantrasyonları 0, 50, 75, 100, 150, 250, 500 mg/L olacak şekilde amonyum sülfat kullanılarak çözeltiler oluşturuldu. Bu işlem her bir konsantrasyon için 5'er tekrarlı yapıldı. Her konsantrasyon için bir deney kabı 2 litre çözelti ve 5 larva içerecek şekilde düzenlendi. Böylece her konsantrasyon için 25'er larva ve tüm deney uygulamasında toplam 175 larva kullanılmış oldu. Her çözeltinin pH'sı 10mM Tris tamponu ile 7,5'e ayarlandı.

Deneye başlamadan önce 175 larvanın ağırlıkları (gr) hassas terazi, boyu (mm) ise hassas elektronik kumpas kullanılarak ölçüldü. Her bir larva önce yumuşak bir bez üzerine koyularak hızlı ve dikkatli bir şekilde kurulandı. Sonra hassas terazi üzerine yerleştirilmiş içi su ile dolu ve darası alınmış saat camı içerisine koyularak ağırlıkları ölçüldü. Aynı saat camı içerisinde suyu biraz pipet ile çekilerek larva hareketsiz halde iken kumpasın uçları larvanın gövde ucu ve kuyruk ucuna temas edecek biçimde açılarak boyları ölçüldü (Tablo 2). Ölçüm değerleri kaydedilen her larva tek tek numaralandırılmış plastik bardaklara alındı. Ölçümleri bilinen bu 175 larva uygulama gruplarının tümünde her tekrarda larvaların başlangıç ağırlıkları eşit olacak biçimde dağıtıldı.

Tablo 2. Deney öncesi larvaların boy ve ağırlık ölçümleri.

Birey No	Boy	Ağırlık	Birey No	Boy	Ağırlık
1	16,17 mm	0,0492 g	47	14,33 mm	0,0434 g
2	15,69 mm	0,0429 g	48	12,10 mm	0,0396 g
3	15,62 mm	0,0354 g	49	12,73 mm	0,0529 g
4	12,57 mm	0,0271 g	50	12,84 mm	0,0501 g
5	13,97 mm	0,0476 g	51	14,25 mm	0,0511 g
6	15,24 mm	0,0473 g	52	16,17 mm	0,0520 g
7	12,47 mm	0,0141 g	53	12,63 mm	0,0677 g
8	12,42 mm	0,0234 g	54	12,95 mm	0,0233 g
9	16,28 mm	0,0757 g	55	15,18 mm	0,0568 g
10	14,52 mm	0,0309 g	56	16,21 mm	0,0506 g
11	14,61 mm	0,0447 g	57	14,20 mm	0,0470 g
12	12,87 mm	0,0237 g	58	12,14 mm	0,0151 g
13	15,14 mm	0,0752 g	59	14,04 mm	0,0252 g
14	15,44 mm	0,0619 g	60	12,44 mm	0,0301 g
15	16,06 mm	0,0538 g	61	12,37 mm	0,0304 g
16	14,01 mm	0,0470 g	62	12,04 mm	0,0234 g
17	15,89 mm	0,0530 g	63	12,82 mm	0,0406 g
18	13,81 mm	0,0328 g	64	12,47 mm	0,0236 g
19	15,13 mm	0,0507 g	65	12,55 mm	0,0260 g
20	12,95 mm	0,0398 g	66	12,84 mm	0,0332 g
21	15,86 mm	0,0465 g	67	11,90 mm	0,0146 g
22	12,80 mm	0,0226 g	68	16,80 mm	0,0718 g
23	12,82 mm	0,0380 g	69	15,92 mm	0,0508 g
24	12,09 mm	0,0194 g	70	15,50 mm	0,0403 g
25	12,80 mm	0,0300 g	71	14,21 mm	0,0442 g
26	12,17 mm	0,0244 g	72	13,92 mm	0,0338 g
27	14,69 mm	0,0426 g	73	12,87 mm	0,0391 g
28	15,57 mm	0,0425 g	74	12,64 mm	0,0366 g
29	16,61 mm	0,0630 g	75	15,27 mm	0,0510 g
30	12,17 mm	0,0245 g	76	12,83 mm	0,0297 g
31	16,52 mm	0,0756 g	77	12,42 mm	0,0291 g
32	14,33 mm	0,0408 g	78	14,13 mm	0,0446 g
33	12,64 mm	0,0338 g	79	12,62 mm	0,0315 g
34	15,59 mm	0,0434 g	80	12,04 mm	0,0337 g
35	14,30 mm	0,0669 g	81	13,98 mm	0,0474 g
36	14,49 mm	0,0555 g	82	14,74 mm	0,0360 g
37	16,06 mm	0,0661 g	83	13,85 mm	0,0305 g
38	11,63 mm	0,0339 g	84	15,17 mm	0,0338 g
39	12,58 mm	0,0328 g	85	12,06 mm	0,0268 g
40	16,48 mm	0,0656 g	86	12,48 mm	0,0351 g
41	12,73 mm	0,0662 g	87	16,08 mm	0,0410 g
42	12,91 mm	0,0480 g	88	12,54 mm	0,0298 g
43	12,17 mm	0,0391 g	89	14,11 mm	0,0319 g
44	15,49 mm	0,0624 g	90	12,64 mm	0,0300 g
45	14,14 mm	0,0454 g	91	12,91 mm	0,0466 g
46	14,12 mm	0,0436 g	92	12,92 mm	0,0690 g

Tablo 2 (devamı). Deney öncesi larvaların boy ve ağırlık ölçümleri.

Birey No	Boy	Ağırlık	Birey No	Boy	Ağırlık
93	12,48 mm	0,0344 g	135	13,99 mm	0,0332 g
94	14,04 mm	0,0246 g	136	13,96 mm	0,0516 g
95	13,95 mm	0,0282 g	137	12,33 mm	0,0206 g
96	14,58 mm	0,0414 g	138	12,22 mm	0,0255 g
97	14,74 mm	0,0379 g	139	12,13 mm	0,0289 g
98	16,08 mm	0,0558 g	140	11,54 mm	0,0185 g
99	12,87 mm	0,0365 g	141	15,98 mm	0,0478 g
100	14,60 mm	0,0487 g	142	14,45 mm	0,0380 g
101	14,90 mm	0,0466 g	143	12,15 mm	0,0245 g
102	14,27 mm	0,0400 g	144	12,48 mm	0,0267 g
103	14,35 mm	0,0562 g	145	12,80 mm	0,0383 g
104	12,31 mm	0,0280 g	146	15,62 mm	0,0412 g
105	12,65 mm	0,0289 g	147	14,14 mm	0,0411 g
106	15,22 mm	0,0512 g	148	12,85 mm	0,0246 g
107	12,68 mm	0,0400 g	149	15,23 mm	0,0541 g
108	15,62 mm	0,0370 g	150	14,69 mm	0,0415 g
109	14,42 mm	0,0272 g	151	14,47 mm	0,0347 g
110	12,93 mm	0,0210 g	152	13,96 mm	0,0294 g
111	14,11 mm	0,0301 g	153	16,54 mm	0,0793 g
112	12,60 mm	0,0257 g	154	12,19 mm	0,0295 g
113	14,17 mm	0,0305 g	155	16,21 mm	0,0603 g
114	14,42 mm	0,0445 g	156	14,52 mm	0,0334 g
115	14,11 mm	0,0293 g	157	12,85 mm	0,0263 g
116	12,62 mm	0,0408 g	158	15,62 mm	0,0469 g
117	15,40 mm	0,0340 g	159	16,54 mm	0,0605 g
118	12,89 mm	0,0383 g	160	12,02 mm	0,0430 g
119	15,95 mm	0,0544 g	161	12,09 mm	0,0476 g
120	14,69 mm	0,0506 g	162	14,07 mm	0,0304 g
121	11,28 mm	0,0220 g	163	12,88 mm	0,0332 g
122	12,11 mm	0,0644 g	164	15,45 mm	0,0225 g
123	12,90 mm	0,0330 g	165	12,88 mm	0,0246 g
124	12,81 mm	0,0386 g	166	12,97 mm	0,0315 g
125	15,58 mm	0,0530 g	167	16,55 mm	0,0660 g
126	14,38 mm	0,0438 g	168	13,99 mm	0,0279 g
127	13,90 mm	0,0306 g	169	12,06 mm	0,0224 g
128	14,69 mm	0,0402 g	170	13,86 mm	0,0260 g
129	12,90 mm	0,0302 g	171	12,81 mm	0,0242 g
130	12,09 mm	0,0310 g	172	12,12 mm	0,0360 g
131	12,69 mm	0,0305 g	173	14,68 mm	0,0560 g
132	12,11 mm	0,0324 g	174	15,17 mm	0,0551 g
133	15,65 mm	0,0480 g	175	12,62 mm	0,0422 g
134	16,88 mm	0,0641 g			

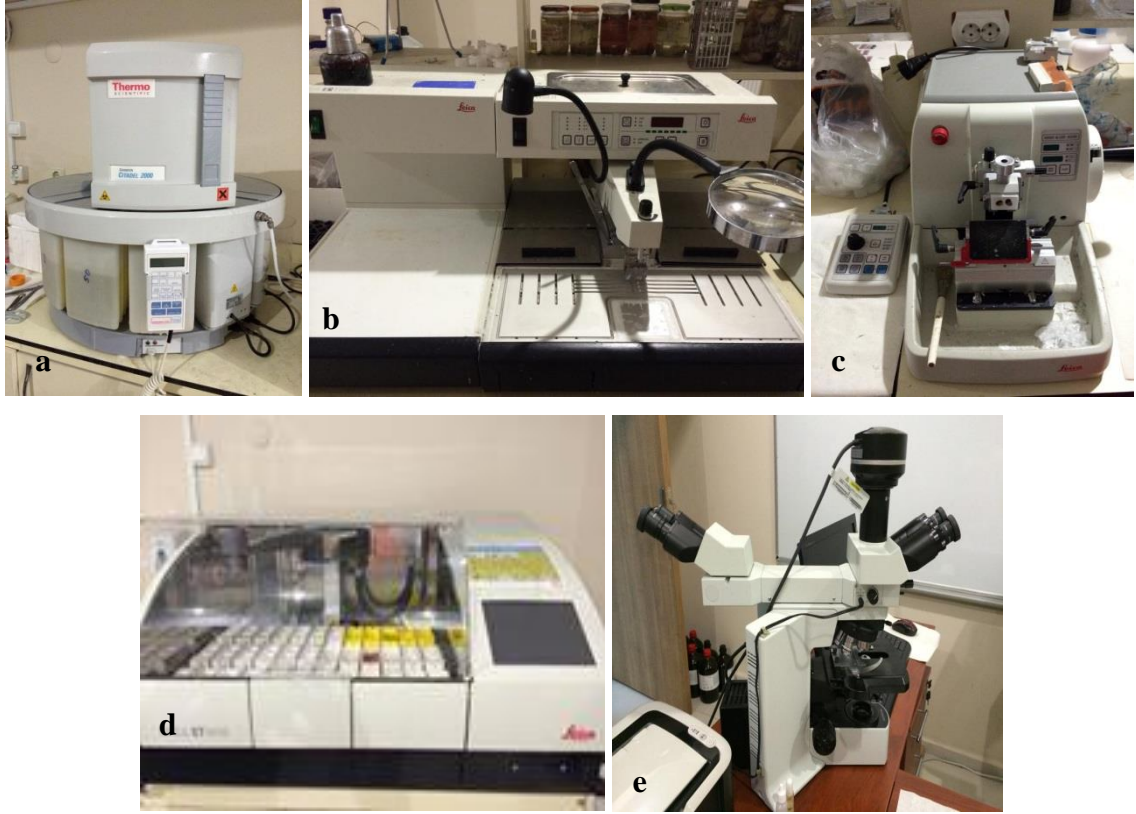
Larvalara besin olarak hassas terazide tartılmış eşit ağırlıklara sahip haşlanmış marul verildi. 4 gün süren deney sürecinde çözeltiler her gün yenilendi. Deneyler boyunca larvalar rahatsız edilmeyecek şekilde sabah ve akşam gözlemlendi ve davranışsal veya morfolojik anormallikler kaydedildi, ölü larvalar sayılarak alındı (ölü

larvalar %4'lük formaldehitte saklandı). Deneyin sonunda larvaların büyüklükleri, ağırlıkları, morfolojik ya da davranışsal değişiklikleri ve ölüm oranları hesaplandı.

Larvalara doğada bulunan amonyum sülfat değerlerinin üstünde dozlar uygulanarak bu tür için popülasyonlarının yarısının ölümüne yol açacak amonyum sülfat konsantrasyonu (LC₅₀) belirlendi.

2.1.8. Histopatolojik Çalışmanın Yapılışı

Akut deneyin uygulamasından sonra canlı olan larvalar buzlu su içerisinde bekletilerek ötenazi uygulandı. Ölen larvalar ise % 4'lük formaldehit içerisinde 2 saat bekletildi. Her konsantrasyonun tekrarlarına ait 50 ml'lik kapaklı kaplar kullanıldı. Dokuların o andaki görünümünün ısı, nem ve enzimlerin etkisiyle değişmesini, bozulmasını önlemek için doku tespiti yapıldı. Bunun için Bouin's solüsyonu kullanıldı. Ölen larvalar kaplar içerisine ve larva başı 10 ml Bouin's solüsyonu (750 ml pitrik asit-250 ml %40'lük formaldehit-50 ml gleserol asetikasit) eklenerek 10 saat bekletilip %50-%70 alkol içerisinde 1 gün muhafaza edildi. Tespit sıvısı olarak kullanılan Bouin's solüsyonunu uzaklaştırmak ve dokunun sertleşmesi için larvalar kasetler içerisine koyularak 4 saat suda yıkanıp rutin takip işlemi için %50-%100'lük alkol serilerinden geçirildikten sonra 2 defa da ksilenden geçirildi. Bu işlem için doku takip cihazı (Thermo Scientific Shandon Citadel 2000) (Şekil 10a.) kullanıldı. Larvalar dikdörtgen prizma biçimindeki kalıplara koyuldu ve üzerlerine ısıtılmış parafin dökülüp, ardından soğutulmasıyla bloklar (Soğutma cihazı: Leica EG1150C, Bloklamacihazı: Leicac1150H) (Şekil 10b.) elde edildi. Parafin bloklar mikrotom (Leica RM2255) (Şekil 10c.) ile 3-5 µm kalınlıkta kesildi ve daha iyi görünmesi için ılık su banyosuna koyuldu, oradan da lamlar üzerine alındı. Ardından kesitlerin kuruyup lama yapışması için etüve koyuldu ve elde edilen kesitler boyama cihazı (Leica ST5020) (Şekil 10d.) ile hematoksilin-eosinle (H&E) boyandı. Lam üzerinde bulunan kesitlerin üzerine lamel kapatılarak kalıcı preparat hazırlandı. Hazırlanan preparatlar mikroskop (Olympus BX51) (Şekil 10e.) altında incelendi.



Şekil 10. Histopatolojik incelemeerde kullanılan cihazlar: a. Doku takip cihazı (Thermo Scientific Shandon Citadel 2000), b. Soğutma cihazı: Leica EG1150C, Bloklamacihazı: Leica1150H, c. Mikrotom (Leica RM2255), d. Boyama cihazı (Leica ST5020), e. Mikroskop (Olympus BX51).

2.1.9. İstatiksel Analizler

Uygulanan deneylerde kontrol grubu ve değişik konsantrasyonlarda amonyum sülfata maruz bırakılmış gruplara ait boy ve kilo bakımından ve histopatolojik incelemeler sonucunda karaciğer, mide ve bağırsak dokularında konsantrasyonlar arasında fark olup olmadığının belirlenmesinde Kruskal-Wallis testi (SPSS 21) kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Araziden alınan su örneklerinin analiz sonuçları

Nitrit (NO_2), nitrat (NO_3), amonyum (NH_4) ve sülfat (SO_4) tayin kitleri ile yapılan analiz sonuçlarında nitrit (NO_2) değerleri 0,009 mg/L, nitrat (NO_3) değerleri 0,2-0,6 mg/L, amonyum (NH_4) değerleri 0,43-4,31 mg/L ve sülfat (SO_4) değerleri ise 2-4 mg/L olarak bulundu. Elde edilen su analiz sonuçlarının ortalaması ise Tablo 3'de görülmektedir.

Yapılan su analizleri sonucuna göre; Nitrat azotu ve Sülfat iyonu bakımından alınan tüm su örnekleri I. Kalite su (Yüksek kaliteli su), Amonyum azotu bakımından Akarsu ve 1.Su birikintisinden alınan su örnekleri IV. Kalite su (Çok kirlenmiş su), 2. su birikintisi ile 3. su birikintisinden alınan su örnekleri II. Kalite su (Az kirlenmiş su) ve Nitrit azotu bakımından alınan tüm su örnekleri II. Kalite su (Az kirlenmiş su) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3. Su analiz sonuçları

ÖLÇÜLEN PARAMETRELER	SU ÖRNEKLERİNİN ALINDIĞI ORTAMLAR			
	Akarsu	Su birikintisi 1	Su birikintisi 2	Su birikintisi 3
1) Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	8,4	12,9	15,3	15,8
2) pH	7,28	7,12	6,86	7,16
3) Oksijen doygunluğu (%)	103,0	107,6	140,4	138,6
4) İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	32,5	27,6	18,78	13,95
5) Çözülmüş oksijen(mg O_2/L)	8,37	8,19	10,13	9,91
6) Sülfat iyonu (mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{L}$)	4	4	3	4
7) Amonyum azotu (mg $\text{NH}_4^{+}\text{-N}/\text{L}$)	2,035	2,495	1,705	0,79
8) Nitrit azotu (mg $\text{NO}_2^{-}\text{-N}/\text{L}$)	0,009	0,009	0,009	0,009
9) Nitrat azotu (mg $\text{NO}_3^{-}\text{-N}/\text{L}$)	0,25	0,35	0,35	0,4

3.2. Akut Toksik Deney

Deney uygulanmaya başlanmadan önce 175 larvanın boy ve ağırlık ölçümleri yapıldı. Numaralandırılmış plastik bardaklara alınan bu larvalar ağırlık ortalamaları her deney kabında ortalama eşit olacak şekilde ve her konsantrasyon için 5 tekrara, her

tekrara da 5'er larva gelecek şekilde dağıtıldı. Böylece bir konsantrasyon için 25 larva kullanıldı. Deney 4 gün devam etti ve deney süresince her gün sabah akşam larvalar gözlenerek gerekli notlar alındı. Uygulamaya başlanmadan önce (Tablo 4) ve uygulama bittikten sonra (Tablo 5) larvaların ağırlık ve boyları ölçülerek her konsantrasyonun tekrarlarındaki ağırlık ve boy ortalamaları belirlendi.

Tablo 4. Uygulamaya başlamadan önce 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama ağırlıkları (gram).

UYGULAMA ÖNCESİ							
	0 mg/L	50 mg/L	75 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	500 mg/L
1.Tekrar	0,04006	0,04002	0,04002	0,03996	0,03996	0,04000	0,04008
2.Tekrar	0,04008	0,04001	0,04002	0,04010	0,04004	0,04002	0,04002
3.Tekrar	0,04004	0,03992	0,04006	0,03992	0,04006	0,04010	0,03994
4.Tekrar	0,04010	0,03990	0,04000	0,04008	0,04004	0,04000	0,03998
5.Tekrar	0,04012	0,04003	0,04006	0,03996	0,04004	0,03998	0,04008

Tablo 5. Uygulama bittikten sonra 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama ağırlıkları (gram).

UYGULAMA SONRASI							
	0 mg/L	50 mg/L	75 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	500 mg/L
1.Tekrar	0,07384	0,07603	0,05242	0,05620	0,04476	0,03968	0,03602
2.Tekrar	0,04854	0,09520	0,04232	0,03802	0,0498	0,03966	0,02716
3.Tekrar	0,05156	0,05228	0,05250	0,03716	0,04252	0,04908	0,04048
4.Tekrar	0,05295	0,05908	0,05208	0,06346	0,04368	0,03278	0,03652
5.Tekrar	0,05538	0,07040	0,04212	0,05396	0,05132	0,04840	0,03706

Deney sürecinde yapılan gözlemler sonucunda farklı amonyum sülfat konsantrasyonlarına ait her bir tekrarda bulunan bireylerin ölüm ve davranışsal anormallik vaka sayıları Tablo 6'de gösterilmektedir. 4 gün sonun da $LC_{10}=117,67$ mg/L, $LC_{50}=436,623$ mg/L ve $LC_{70}=567,141$ mg/L olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 6. 4 gün boyunca gözlemlenen ölü ve anormallikler (yy: yüzmede yavaşlama gözlemlenen birey, ty: ters yüzme gözlemlenen birey).

1. GÜN							
Konsantrasyon / Tekrar	0 mg/L	50 mg/L	75 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	500 mg/L
1.Tekrar		1 ölü		1 ölü			
2.Tekrar		1 yy.					
3.Tekrar							
4.Tekrar			1 yy. 1 ölü				1 yy.
5.Tekrar							1 yy.

2. GÜN							
Konsantrasyon / Tekrar	0 mg/L	50 mg/L	75 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	500 mg/L
1.Tekrar		1yy.		1 ölü 1 yy.			
2.Tekrar		1 ölü					4 yy.
3.Tekrar			1 ölü				3 yy.
4.Tekrar					1 yy.	2 yy.	2 ty.
5.Tekrar					1 yy.		1 ölü

3. GÜN							
Konsantrasyon / Tekrar	0 mg/L	50 mg/L	75 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	500 mg/L
1.Tekrar							2 ty. 1 yy. 2 ölü
2.Tekrar		2 yy.					4 ty. 1 ölü
3.Tekrar							1 ölü 2 ty.
4.Tekrar	1 ölü					1 ölü	2 yy. 1 ty. 2 ölü
5.Tekrar					1 ty.		1 yy

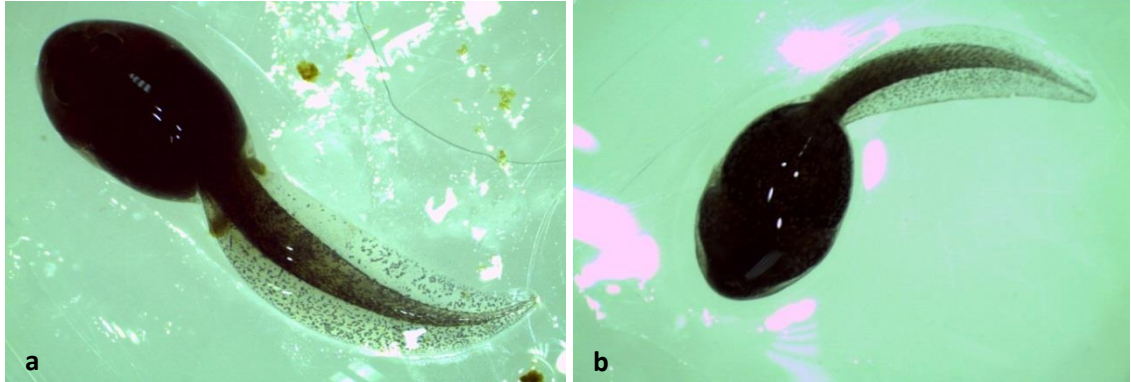
4. GÜN							
Konsantrasyon / Tekrar	0 mg/L	50 mg/L	75 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	500 mg/L
1.Tekrar		2 ölü					3 ölü
2.Tekrar							4 ölü
3.Tekrar							2 ölü 2 yy.
4.Tekrar						1 ölü	1 ölü
5.Tekrar					1 ölü		1 ölü

Tablo 7. Deney sonucundaki LC₁₀, LC₅₀ ve LC₇₀ değerleri.

Öldürücü konsantrasyon	Konsantrasyon (mg/L)	%95 güven aralığı	
		Alt sınır	Üst sınır
LC ₁₀	117,67	29,381	179,832
LC ₅₀	436,623	357,884	575,724
LC ₇₀	567,141	461,938	768,087

3.2.1. 0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

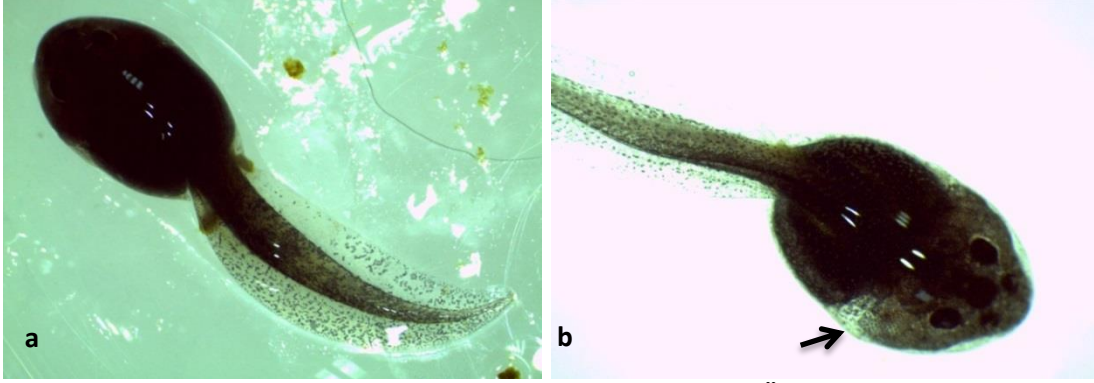
0 mg/L konsantrasyon grubunda (kontrol grubu) toplam 25 birey bulunmaktadır. Deney sürecinde 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda üçüncü günde 1 ölü (%4 oranında) birey tespit edildi. Deney bitiminde canlı kalan bireylerde yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda davranışsal ve fiziksel olarak hiçbir anormallik olmadığı belirlendi (Şekil 11).



Şekil 11. Kontrol grubundaki normal bireyin: a. Üsttengörünümü, b. alttan görünümü.

3.2.2. 50 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

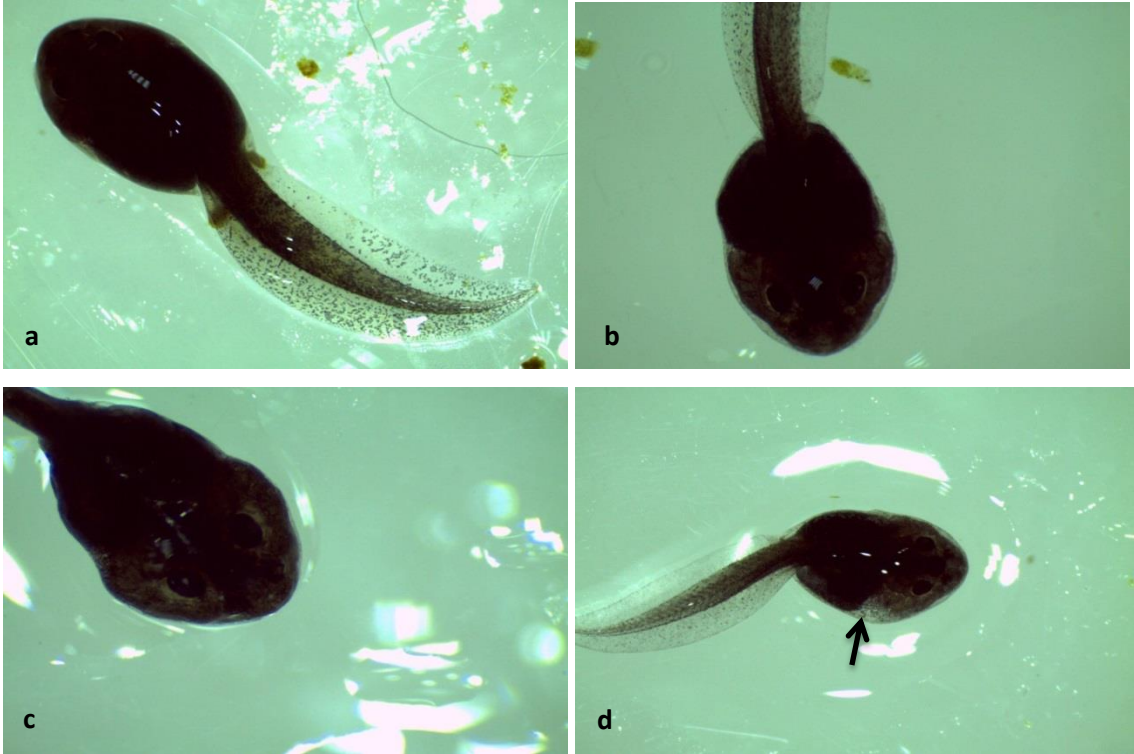
50 mg/L konsantrasyon grubunda 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda 4 bireyde yüzmede yavaşlama, ardından ters yüzme ve daha sonra ölüm gerçekleştiği görülmüştür. Dolayısıyla ölüm oranı %16 olarak tespit edildi. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu ve nadir olarak pigment kaybı gözlemlendi (Şekil 12).



Şekil 12. 50 mg/L Konsantrasyon: a. Normal birey, b. Ok: Ödem gözlemlenen birey.

3.2.3. 75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

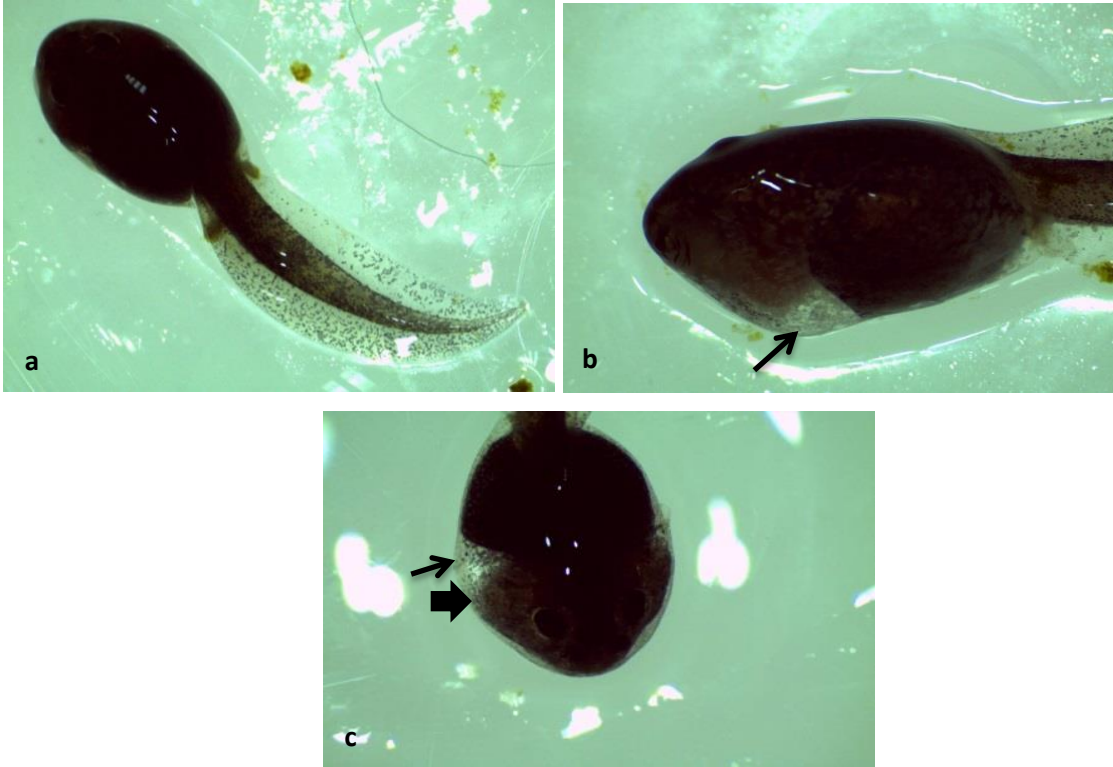
75 mg/L konsantrasyon grubunda 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda 1 bireyde yüzmede yavaşlama ve 2 bireyde ölüm görülmüştür. Dolayısıyla ölüm oranı %8 olarak tespit edildi. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu, pigment kaybı ve gövde biçimde bozulma gözlemlendi (Şekil 13).



Şekil 13. 75 mg/L Konsantrasyon: a. Normal birey, b-c. Gövde biçiminde bozulma gözlenen birey, d. Ok: Ödem ve pigment kaybı gözlenen birey.

3.2.4. 100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

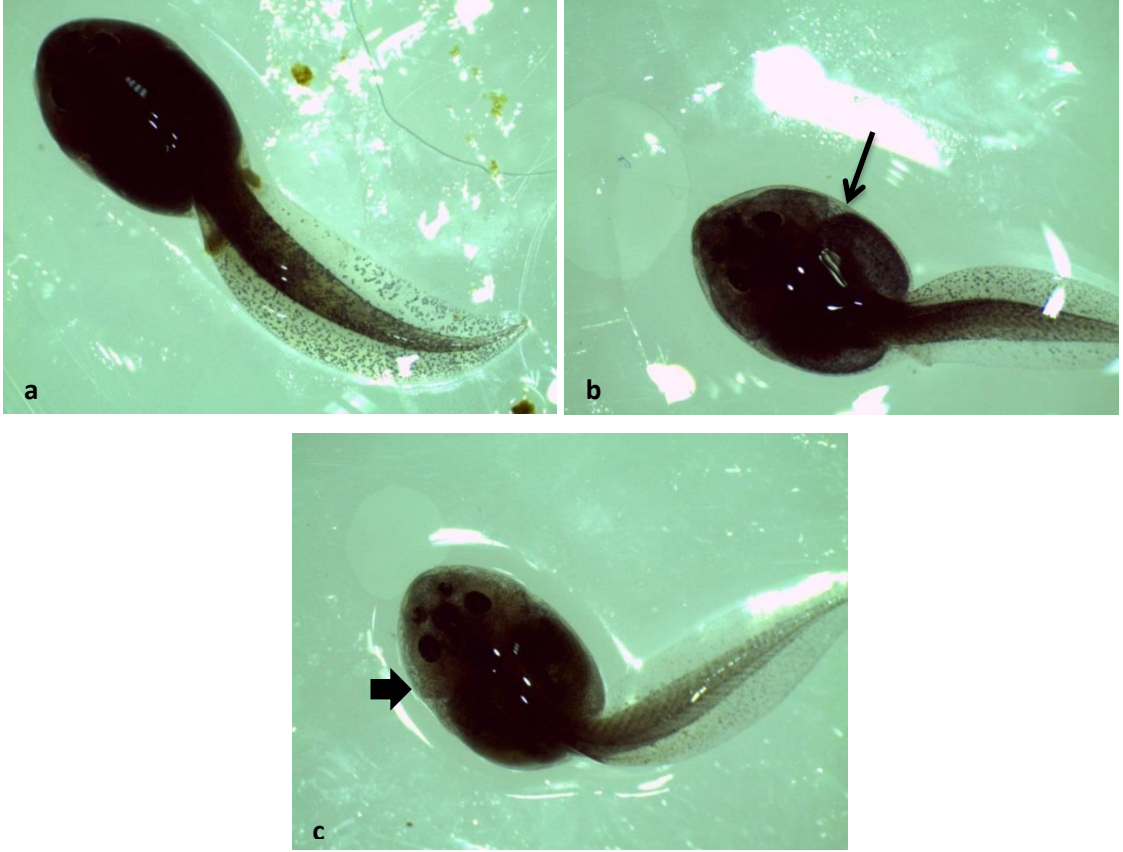
100 mg/L konsantrasyon grubunda 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda 1 bireyde yüzmede yavaşlama ve 2 bireyde ölüm görülmüştür. Dolayısıyla ölüm oranı %8 olarak tespit edildi. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu ve pigment kaybı gözlemlendi (Şekil 14).



Şekil 14. 100 mg/L konsantrasyon: a. Normal birey, b-c. Ok: Ödem gözlenen birey, c. Kalın ok: Pigment kaybı gözlenen birey.

3.2.5. 150 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

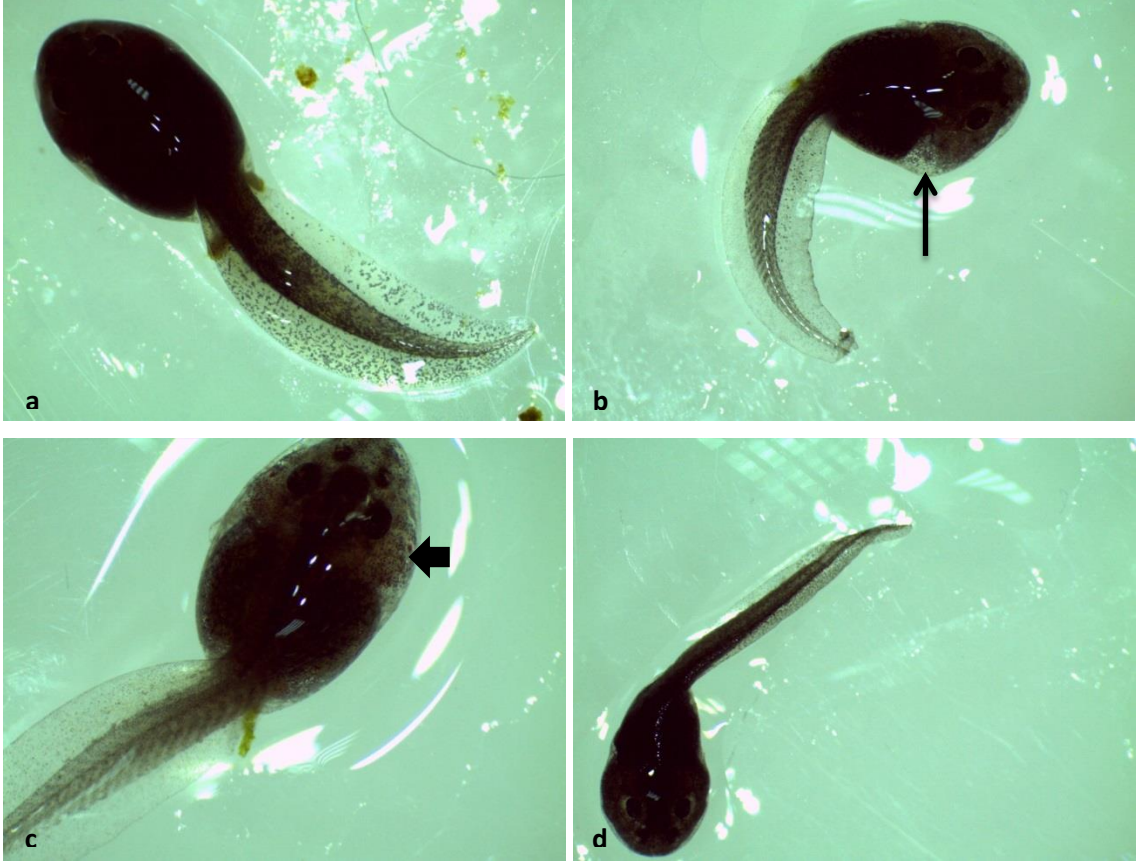
150 mg/L konsantrasyon grubunda 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda 2 bireyde yüzmede yavaşlama, ardından 1 bireyde ters yüzme ve daha sonra ölüm gerçekleştiği görülmüştür. Dolayısıyla ölüm oranı %4 olarak tespit edildi. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu ve pigment kaybı gözlemlendi (Şekil 15).



Şekil 15. 150 mg/L konsantrasyon: a. Normal birey, b. Ok: Ödem gözlenen birey, c. Kalın ok: Pigment kaybı gözlenen birey.

3.2.6. 250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

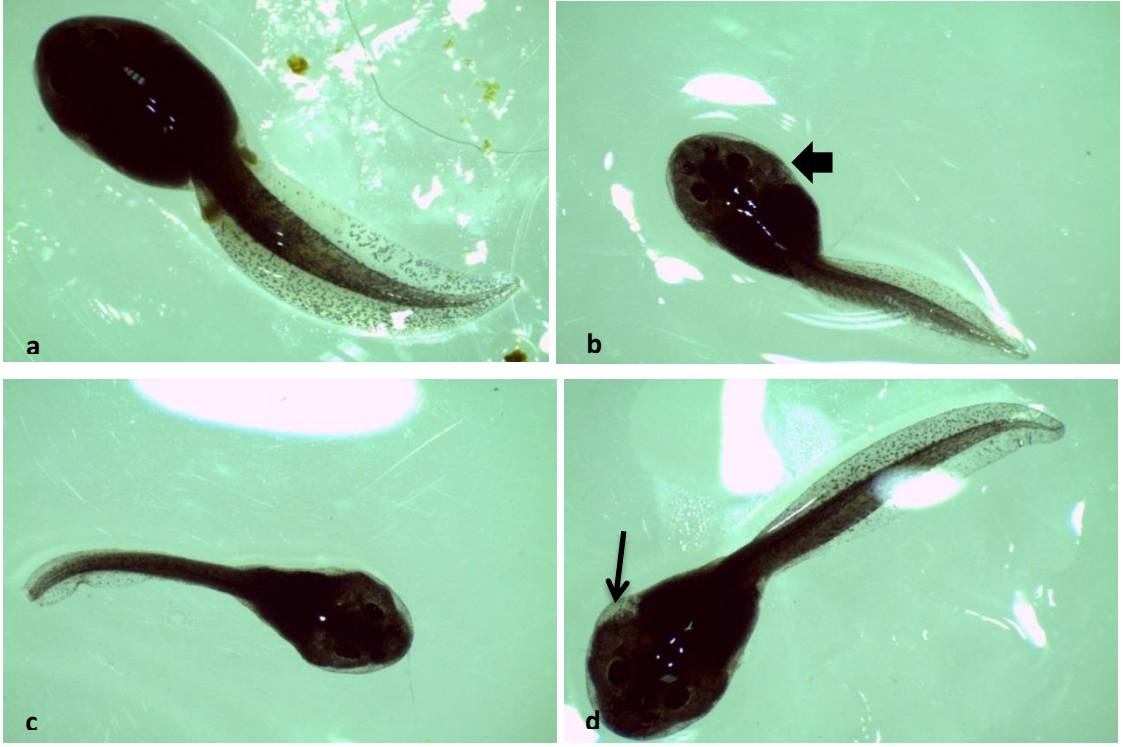
250 mg/L konsantrasyon grubunda 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda 2 bireyde yüzmeye yavaşlama, ardından ters yüzmeye daha sonra ölüm gerçekleştiği görülmüştür. Dolayısıyla ölüm oranı %8 olarak tespit edildi. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu, gövde biçiminde bozulma ve pigment kaybı gözlemlendi (Şekil 16).



Şekil 16. 250 mg/L konsantrasyon: a. Normal birey, b. Ok: Ödem gözlenen birey, c. Kalın ok: Pigment kaybı gözlenen birey, d. Gövde biçiminde bozulma gözlenen birey.

3.2.7. 500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

500 mg/L konsantrasyon grubunda 4 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda 15 bireyde yüzmede yavaşlama, 11 bireyde ters yüzme ve 18 bireyde ölüm görülmüştür. Dolayısıyla ölüm oranı %72 olarak tespit edildi. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskobik incelemeler sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu, gövde biçiminde bozulma (çoğunlukla ölü bireylerde) ve pigment kaybı gözlemlendi (Şekil 17).

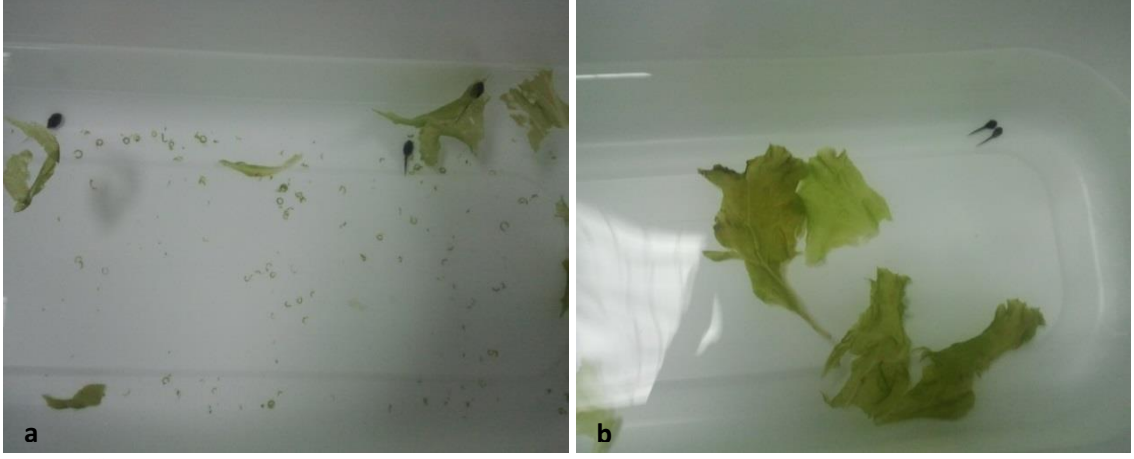


Şekil 17. 500 mg/L konsantrasyon: a. Normal birey, b. Kalın ok: Pigment kaybı gözlenen birey, c. Gövde biçiminde bozulma gözlenen birey, d. Ok: Ödem oluşumu gözlenen birey.

Deney sürecinde yapılan davranışsal ve fizyolojik gözlemler; 0 mg/L konsantrasyonda ölen bireyin diğer bireylere göre daha zayıf olduğunu, tüm konsantrasyonlarda ölen bireylerin diğer bireyler tarafından yenilip tahrip edildiğini göstermiştir (Şekil 18). Ayrıca konsantrasyon miktarı arttıkça beslenme oranının azaldığı hatta beslenmenin olmadığı görüldü (Şekil 19).

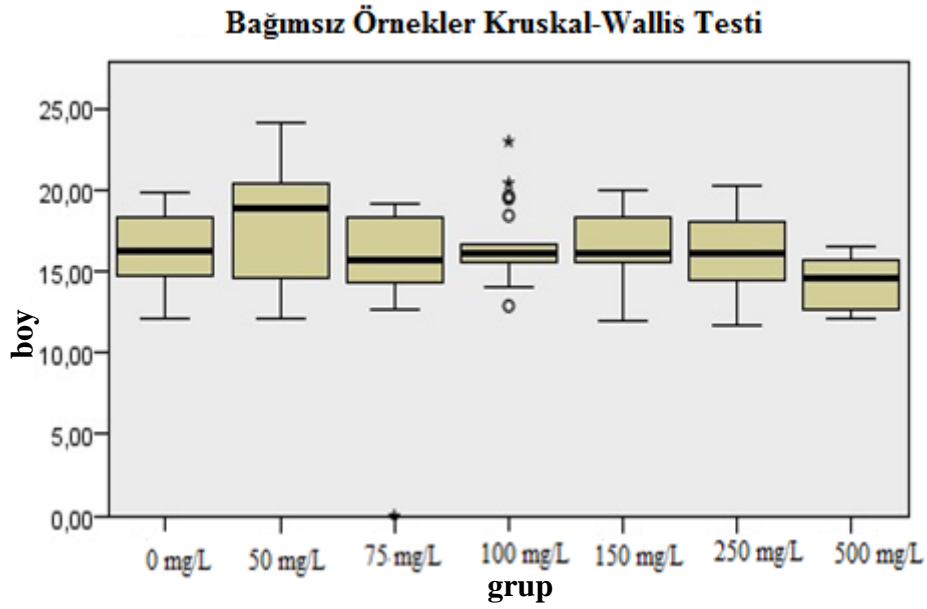


Şekil 18. Ölen bireyin diğer bireyler tarafından yenilip tahrip edilmesi (ok).

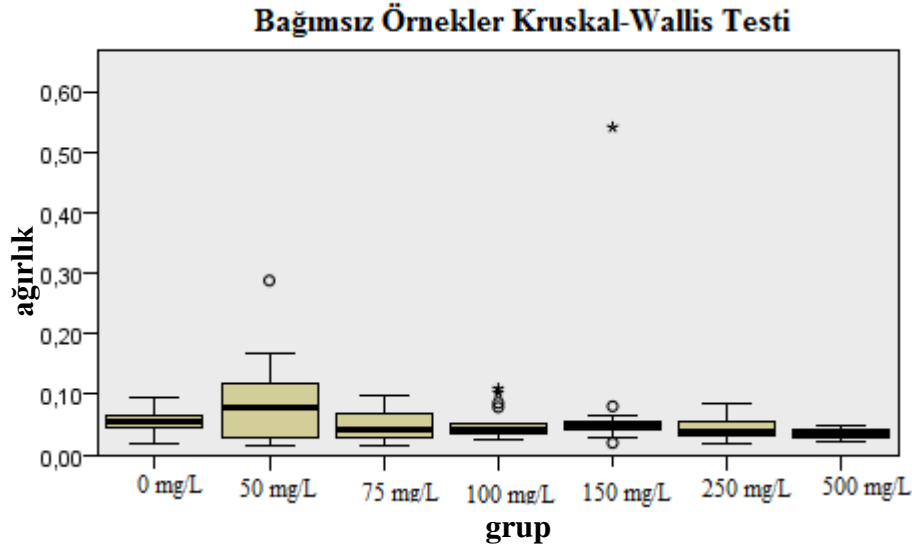


Şekil 19. a: 0 mg/L konsantrasyonunda beslenme b: 500 mg/L konsantrasyonda beslenme.

Maruz kalmış bireylere ait tanımlayıcı istatistik değerleri Tablo 8’de verilmiştir. Değişik konsantrasyonlardaki gruplar arasında boy ve ağırlık bakımından fark olup olmadığı Kruskal-Wallis testine göre analiz edilmiştir. Yapılan analiz sonucunda boy ($H= 14.556$, $sd= 6$, $p<0.05$) (Şekil 20) ve ağırlık ($H=19.473$, $sd=6$, $p< 0.05$) (Şekil 21) bakımından farklılık gözlenmektedir.



Şekil 20. Kruskal-Wallis testine göre boy bakımından analiz sonucu



Şekil 21. Kruskal-Wallis testine göre kilo bakımından analiz sonuçları.

Tablo 8. Amonyum sülfata maruz kalmış bireylere ait tanımlayıcı boy (mm) ve ağırlık (g) değerleri.

Konsantrasyonlar (mg/L)		N	Ortalama±S. D	Minimu m	Maksimum
Boy	Kontrol grup	23	16,20±2,38	12,12	19,88
	50	22	17,39±3,83	11,51	24,12
	75	24	15,10±4,22	0,00	19,18
	100	23	16,54±2,26	12,88	22,96
	150	25	16,40±1,96	12,03	19,97
	250	25	15,73±2,34	11,65	20,28
	500	25	13,61±2,20	8,85	16,52
Ağırlık	Kontrol grup	23	0,06±0,02	0,0204	0,0940
	50	22	0,08±0,06	0,0165	0,2880
	75	24	0,05±0,02	0,0238	0,0973
	100	23	0,05±0,02	0,0257	0,1095
	150	25	0,07±0,10	0,0201	0,5410
	250	25	0,04±0,02	0,0181	0,0855
	500	25	0,03±0,01	0,0179	0,0572

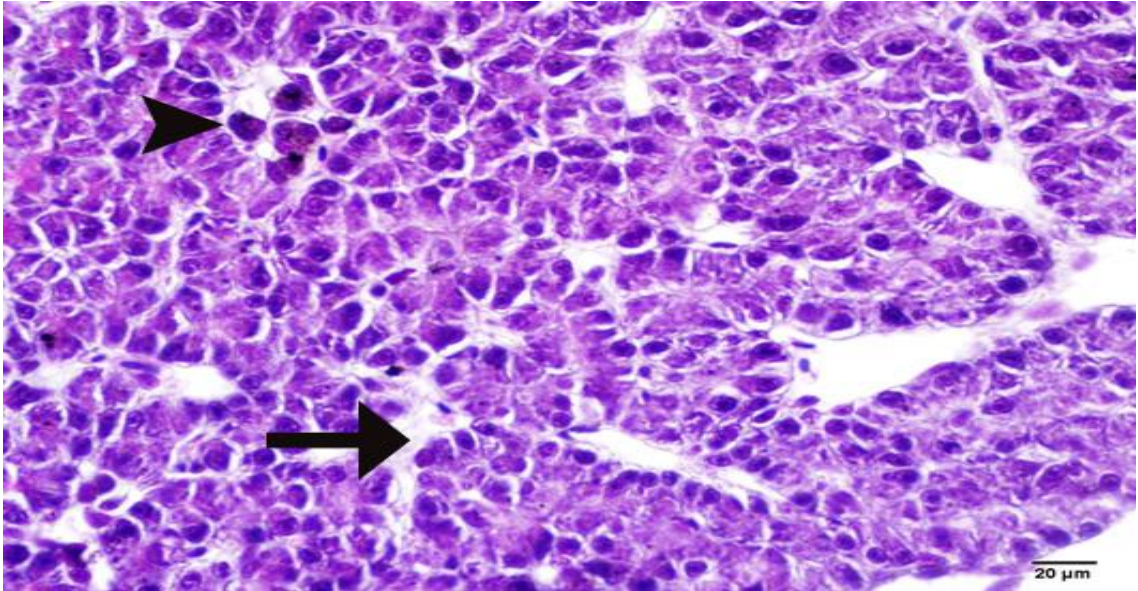
3.3. Histopatolojik İncelemeler

Akut deney sonucunda her konsantrasyonda bulunan larvalara ait kesitlerde organlardan karaciğer, mide ve bağırsak histopatolojik olarak incelenmiştir.

3.3.1. 0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

3.3.1.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulmadığı, hepatositlerde yer yer dejenerasyonlar olmasına karşın normal histolojik görünümüne sahip oldukları gözlemlendi. Sinuzoidal alanlarda hafif genişlemeler olmasına rağmen dilatasyon seviyesinde olmadığı, hücrelerde apoptosisten dolayı hafif eosinofilik görüldüğü ve bazı hücrelerde pigmentasyonel melanin biriktiği tespit edildi (Şekil 22). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 9'da gösterilmektedir.



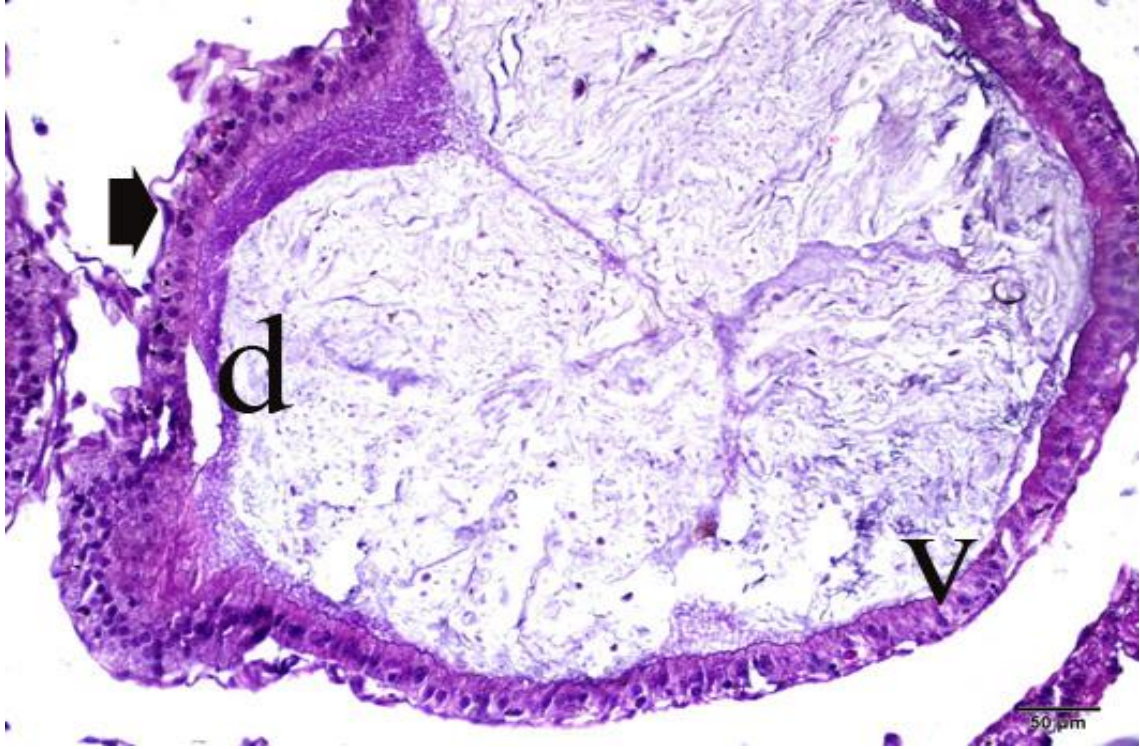
Şekil 22. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; ok başı: hafif pigmentasyonlu hücreler, ok: sinuzoidal alanlar hafif dilatasyon alanları. Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 9. Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
0 grup 1 alan	-	+	-	-	-	-
0 grup 2 alan	-	+	-	-	-	+
0 grup 3 alan	-	-	-	-	+	-
0 grup 4 alan	+	+	+	-	-	-
0 grup 5 alan	-	+	-	-	+	+
0 grup 6 alan	-	-	-	-	-	-
0 grup 7 alan	-	+	-	+	+	-
0 grup 8 alan	+	+	-	-	-	-
Ortalama değer yüzdesi	% 70 (-) % 30 (+)	% 70 (+) % 30 (-)	% 85 (-) % 15 (+)	% 85 (-) % 15 (+)	% 65 (-) % 35 (+)	% 70 (-) % 30 (+)

3.3.1.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün histolojik olarak bozulmadığı, epitel hücrelerinde yer yer vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal prizmatik görünümüne sahip oldukları gözlemlendi. Epitelin bazalında dilatasyon şekillendiği, boyları kısalan bazı epitelyal hücrelerde apoptosisten dolayı hafif eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede pigmentasyona rastlanmazken miyoepitel hücrelerde hafif şişmeler olduğu gözlemlendi. Mide lumeninin kimus ile dolu olduğu canlılığın sindirim olayının devam ettiğini göstermektedir (Şekil 23). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 10'da gösterilmektedir.



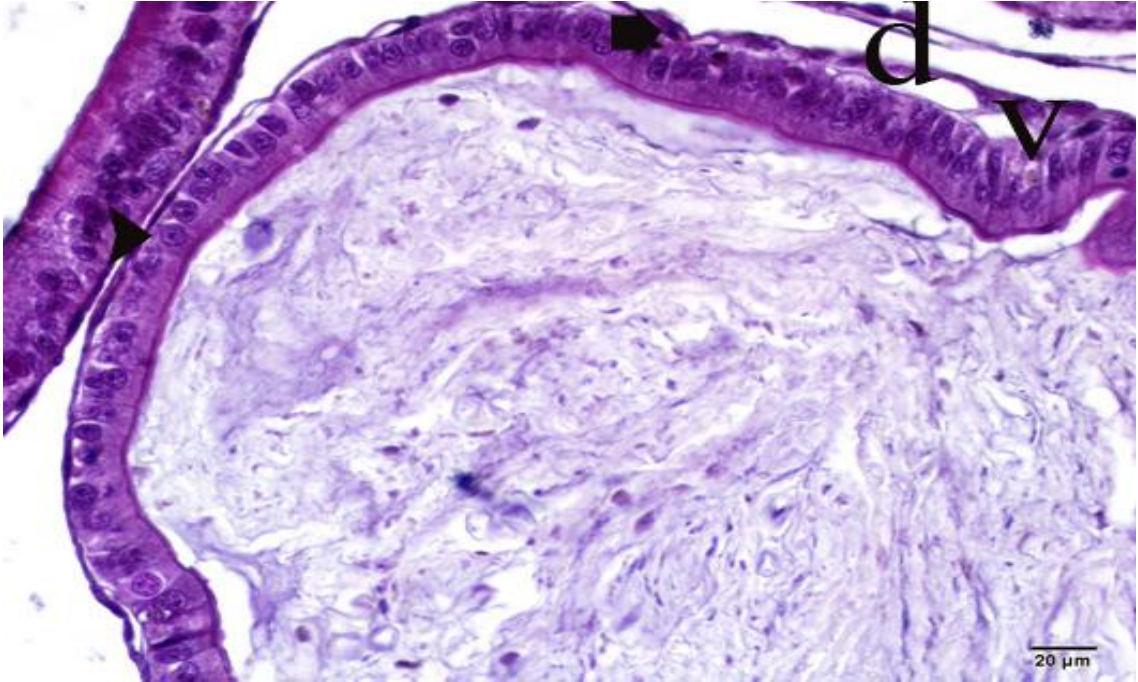
Şekil 23. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, Hematoksilen eosin boyama, X20

Tablo 10. Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)	Kas hücre dejenerasyonu (median ±SD)
0 grup 1 alan	-	+	-	-	+
0 grup 2 alan	-	-	-	-	-
0 grup 3 alan	+	+	+	-	+
0 grup 4 alan	-	-	-	-	-
0 grup 5 alan	-	+	+	-	+
0 grup 6 alan	-	-	-	-	-
0 grup 7 alan	-	+	-	+	-
0 grup 8 alan	-	+	-	-	-
Ortalama değer yüzdeleri	% 85 (-) % 15 (+)	% 65 (+) % 35 (-)	% 70 (-) % 30 (+)	% 85 (-) % 15 (+)	% 65 (-) % 35 (+)

3.3.1.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulmadığı, epitel hücrelerinde yer yer vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal prizmatik görünümde oldukları gözlemlendi. Bununla birlikte, epitel hücrelerinin apikal kısımları yoğun eosinofilik boyanma gözüktürken, bazal kısımlarında yer yer dilatasyona varan genişlemelerin olduğu tespit edildi. Epitelin bazılarında boyları kısaldığı kübik olarak görüldüğü (ok başı), bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosisten dolayı hafif eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede pigmentasyona rastlanmazken myoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi dolu olduğu görüldü (Şekil 24). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 11’de gösterilmektedir.



Şekil 24. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı: kübik şekilli hücre, Hematoxilen eosin boyama, X20.

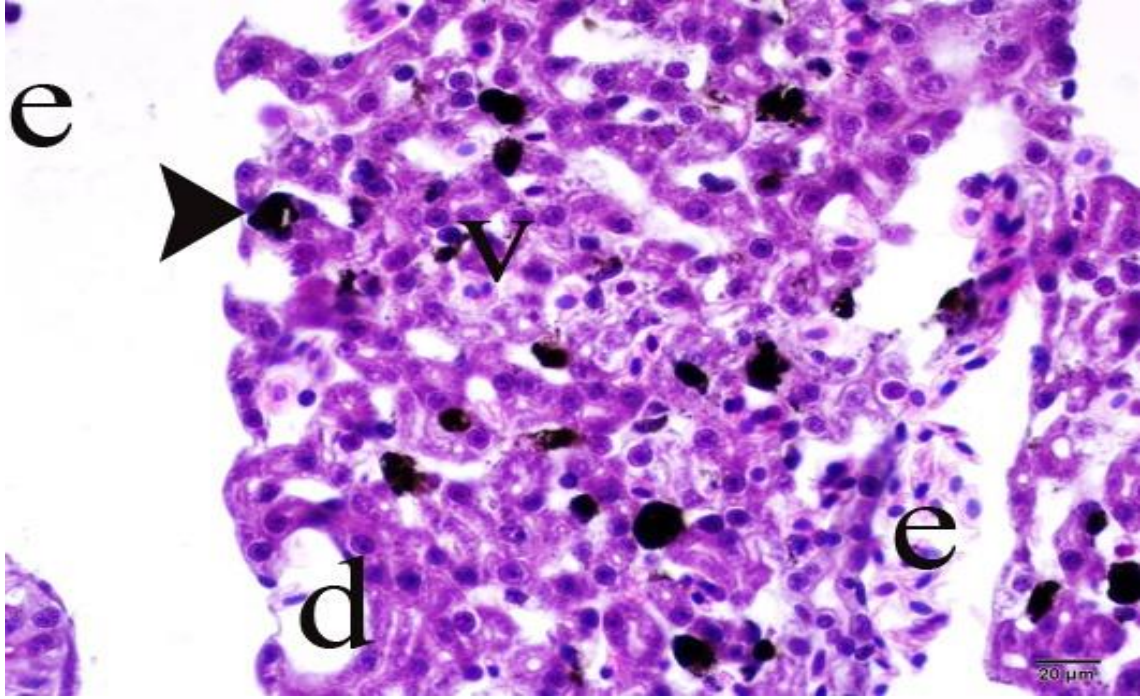
Tablo 11. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)
0 grup 1 alan	-	+	-	-	-
0 grup 2 alan	-	-	-	-	-
0 grup 3 alan	+	+	-	+	-
0 grup 4 alan	-	-	+	-	-
0 grup 5 alan	-	+	-	+	-
0 grup 6 alan	+	-	-	-	-
0 grup 7 alan	-	+	-	+	+
0 grup 8 alan	+	+	-	-	-
Ortalama değer yüzdesi	% 65 (-) % 35 (+)	% 65 (+) % 35 (-)	% 85 (-) % 15 (+)	% 65 (-) % 35 (+)	% 85 (-) % 15 (+)

3.3.2. 50 mg/L Konsantrasyon Gözlemleri

3.3.2.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde dejenerasyonlar olmasına karşın normal histolojik görünüme sahip hücrelerinde bulunduğu gözlemlendi. Sinuzoidal alanlarda yer yer yoğun olmak üzere genişlemeler olduğu tespit edildi. Hücrelerde yoğun apoptosisten dolayı eosinofilik görüldüğü, çekirdeklerinin ise hafif bazofilik olduğu belirlendi. Bazı makroj tipi hücrelerde yoğun pigmentasyona bağlı melanin pigmenti biriktiği tespit edildi. Karaciğerin loblarının ortalarına yakın bölgelerde vakuolizasyonların arttığı ve dejenerasyona uğramış hücrelerin yoğun olduğu nekrosis alanlarına rastlandı (Şekil25). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 12’de görülmektedir.



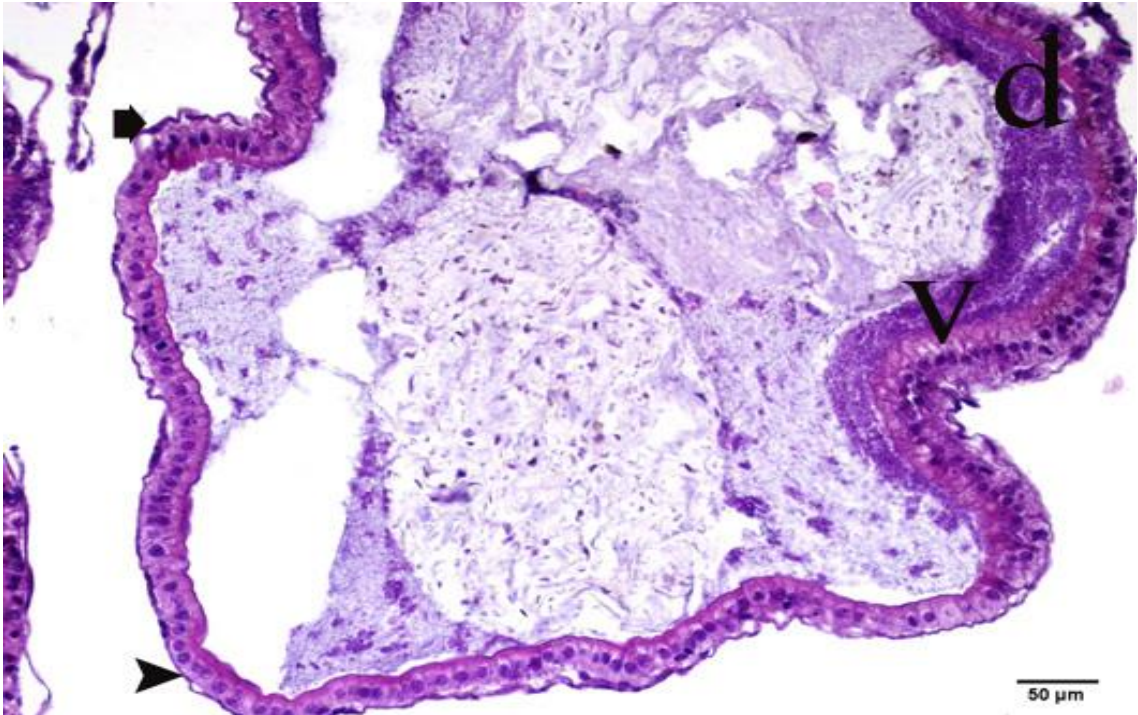
Şekil 25. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; v: vakuolizasyon e: ödem, d: sinuzoidal dilatasyon ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 12. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağdoku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SD)
50 grup 1 alan	++++	+++	+	++	+++	+
50 grup 2 alan	++	+++	++	+++	+++	+
50 grup 3 alan	++++	+	+	+++	++++	+
50 grup 4 alan	+++	+++	+	+++	++++	+
50 grup 5 alan	+++	++	+++	++	+++	++
50 grup 6 alan	++	+	++	+++	+++	+
50 grup 7 alan	+++	++++	++	+++	+++	++
50 grup 8 alan	+++	++	+	++	++	+
Ortalama değer yüzdesi	% 25 (++) % 50 (+++) % 25 (++++)	% 23 (+) % 25 (++) % 37 (+++) % 15 (++++)	% 50 (+) % 37 (++) % 13 (++) % 15 (++)	% 38 (++) % 62 (++) % 62 (++) % 13 (++)	% 25 (++) % 62 (+++) % 13 (++)	% 75 (+) % 25 (++)

3.3.2.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün histolojik olarak bozulmadığı, epitel hücrelerindeki vakuolizasyonların yoğun olarak görüldüğü ve dejenerasyonlara bağlı hücre dökülmelerinin olduğu görüldü. Normal prizmatik görünüme sahip hücre oranının az olmasına karşın kübik hücrelerin (ok başı) yoğun oldukları gözlemlendi. Epitelin bazalında yoğun dilatasyonların şekillendiği, buna bağlı olarak miyositlerin ayrışmaya başladığı gözlemlendi. Boyları kısalan bu kübik şekilli hücrelerin altlarında dilatasyonların daha fazla şekillendiği ve bazı epitelyal hücrelerinde de apoptosisten dolayı eosinofilik boyanmanın arttığı görüldü. Dokunun bütününde yapılan incelemede hafif pigmentasyon odaklarına rastlandı. Mide lumeninin kimus ile dolu olmasından dolayı canlılığın sindirim olayının devam ettiğini göstermektedir (Şekil 26). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis pigmentasyon ve bağdoku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 13’de görülmektedir.



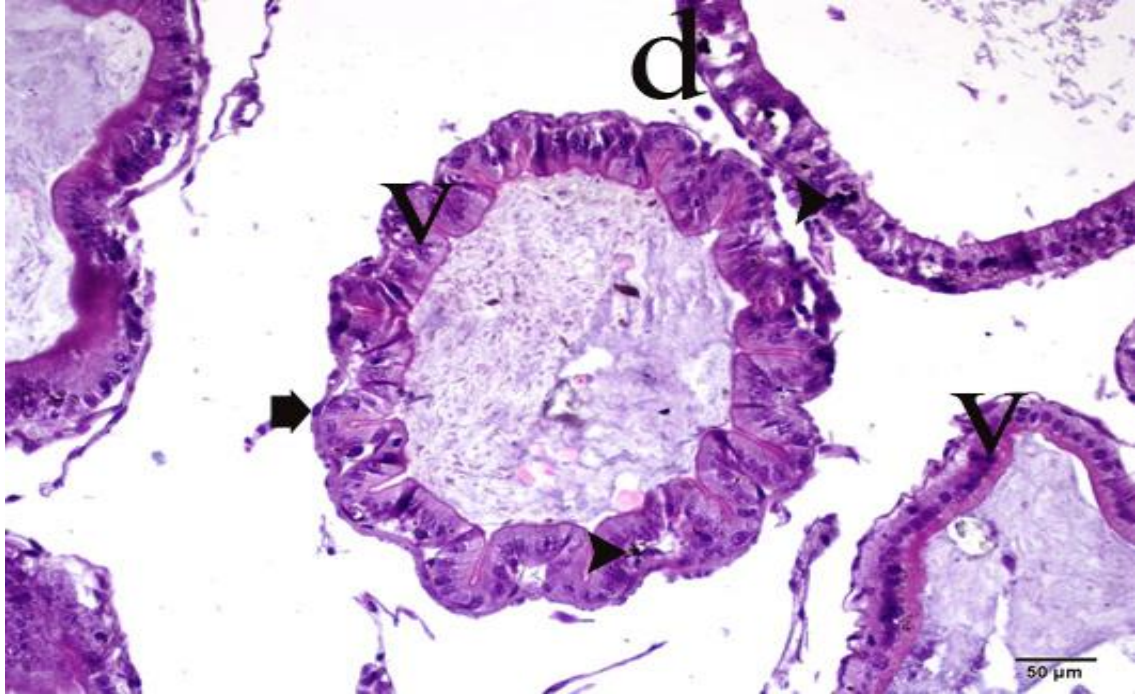
Şekil 26. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, d: hafif dilatasyon, ok başı: kübik epitele dönmüş prizmatik epitel, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, Hematoksilen eosin boyama, X20.

Tablo 6. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis pigmentasyon ve bağdoku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
50 grup 1 alan	+++	++	+	++	+	+
50 grup 2 alan	++	+++	++	++	+	++
50 grup 3 alan	+++	+	+	+++	++	++
50 grup 4 alan	+++	++	+	++	+	+
50 grup 5 alan	++	++	++	++	+	++
50 grup 6 alan	++	+	++	++	+	+
50 grup 7 alan	++++	+++	++	+++	+	++
50 grup 8 alan	+++	++	+	++	++	++
Ortalama değer yüzdesi	% 37 (++) % 50 (+++) % 13 (++++)	% 25 (+) % 50 (++) % 25 (+++)	% 50 (+) % 50 (++)	% 75 (++) % 25 (+++)	% 75 (+) % 25 (++)	% 62 (+) % 38 (++)

3.3.2.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün az da olsa bozulduğu gözlemlendi. Epitel hücre şekillerinin prizmatikten kübik epitele doğru değiştiği ve yer yer sitoplazmik vakuolizasyonların gözlemlendiği tespit edildi. Yoğun hücre dejenerasyonları olmasına karşın normal prizmatik görünümde hücre sayısının oldukça fazla olduğu gözlemlendi. Epitelin bazılarında boyları kısaldığı kübik olarak görüldüğü ve bazallerinde pigmentasyonun olduğu gözlemlendi (ok başı), bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosisten dolayı hafif eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Myoepitelyal hücrelerde yer yer şişmeler olduğu, dilatasyon oluşan kısımlara hücrelerin döküldüğü gözlemlendi. Ayrıca organ lumeninin kimus kitlesi dolu olduğu görüldü (Şekil 27). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 14’de görülmektedir.



Şekil 27. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, d: dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

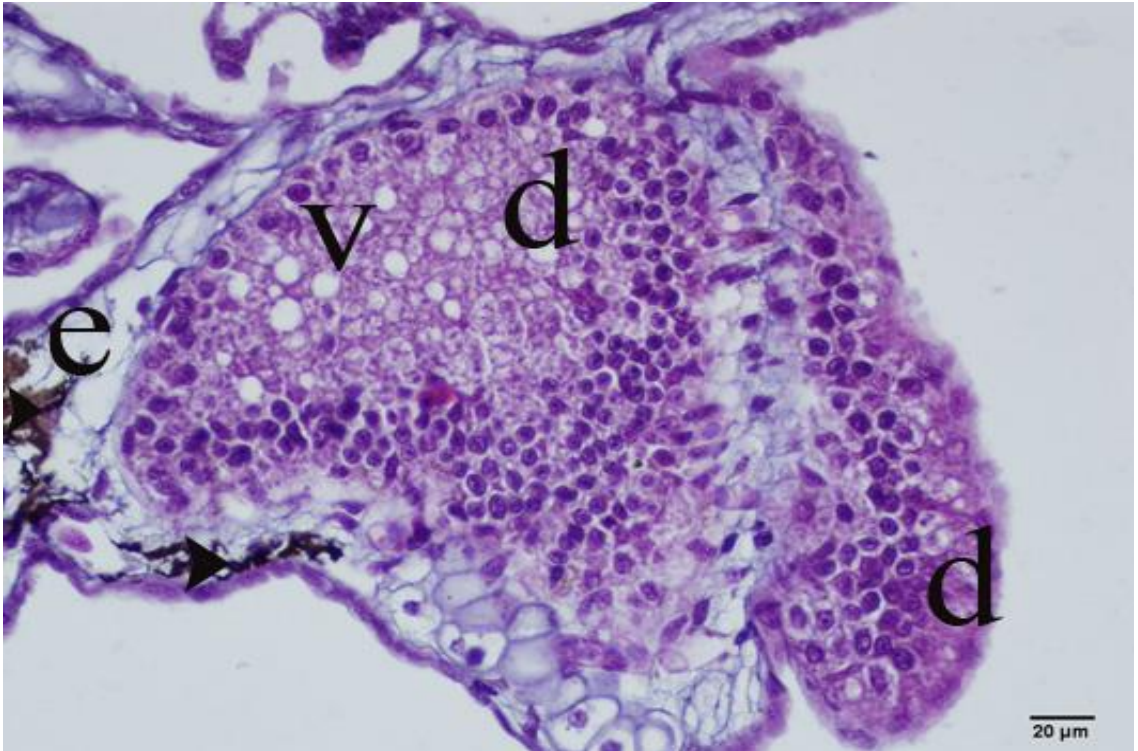
Tablo 14. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağdoku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
50 grup 1 alan	+++	+++	+	++	++	+
50 grup 2 alan	+++	+++	++	++	++	+
50 grup 3 alan	+++	+	+	+++	+++	++
50 grup 4 alan	+++	++	+	++	+	+
50 grup 5 alan	++	+++	+	++	+++	+
50 grup 6 alan	++	++	++	++	++	+
50 grup 7 alan	++++	+++	++	+++	++	++
50 grup 8 alan	++++	++	+	++	++	++
Ortalama değer	% 25 (++)	% 13 (+)	% 62 (+)	% 75 (++)	% 13 (+)	% 62 (+)
yüzdeleri	% 50 (+++)	% 37 (++)	% 38 (++)	% 25 (+++)	% 62 (++)	% 38 (++)
	% 25 (++++)	% 50 (+++)			% 25 (+++)	

3.3.3. 75 mg/L Kosantrasyondaki Gözlemler

3.3.3.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde dejenerasyonlar olmasına karşın normal histolojik görünümüne sahip hücrelerinde bulunduğu gözlemlendi. Sinuzoidal alanlarda yer yer yoğun olmak üzere genişlemeler olduğu tespit edildi. Hücrelerde yoğun apoptosisten dolayı eosinofilik görüldüğü, çekirdeklerinin ise hafif bazofilik olduğu belirlendi. Bazı makroji tipi hücrelerde yoğun pigmentasyona bağlı melanin pigmenti biriktiği tespit edildi. Karaciğerin loblarının ortalarına yakın bölgelerde vakuolizasyonların arttığı ve dejenerasyona uğramış hücrelerin yoğun olduğu nekrosis alanlarına rastlandı (Şekil 28). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 15’de görülmektedir.



Şekil 28. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; d: dejenera hücreler, v: vakuolizasyon e: ödem, ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 15. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
75 grup 1 alan	++++	+++	+	++	+++	+
75 grup 2 alan	++	+++	++	+++	+++	+
75 grup 3 alan	+++	+	+	+++	+++	+
75 grup 4 alan	+++	+++	+	+++	+++	+
75 grup 5 alan	+++	++	++	++	++	++
75 grup 6 alan	++	+	++	++	++	+
75 grup 7 alan	++	++++	++	+++	+++	+
75 grup 8 alan	+++	++	+	++	++	+
Ortalama değer	% 25 (++) % 50 (+++)	% 23 (+) % 25 (++)	% 50 (+) % 37 (++)	% 38 (++) % 62 (+++)	% 25 (++) % 62 (+++)	% 75 (+) % 25 (++)
yüzdesi	% 25 (++++)	% 37 (++++) % 15 (++++)	% 13 (+++)		% 13 (++++)	

3.3.3.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün histolojik olarak fazla bozulmadığı, epitel hücrelerindeki dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların hafif olarak görüldüğü ve dejenerasyon görülen hücrelerde prizmatik şekillerini kaybettiği ve yer yer hücrelerin döküldükleri görüldü. Bu grupta epitelin bazalında dilatasyonların şekillendiği, buna bağlı olarak miyositlerin bazal bölgeden ayrışmaya başladığı ve yer yer şişerek yuvarlaklaştığı gözlemlendi. Boyları kısalan bu kübik şekilli hücrelerin sayısı az olmasına karşın dejenerasyon olmuş hücrelerin altlarında dilatasyon bölgelerinde daha fazla görüldüğü tespit edildi. Vakuolizasyon oluşan hücrelerin apikallerinde eosinofilik yapının kaybolduğu gözlemlendi. Dokunun bütününde yapılan incelemede çok az pigmentasyon odaklarına rastlandı. (Şekil 29). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 16'da görülmektedir.



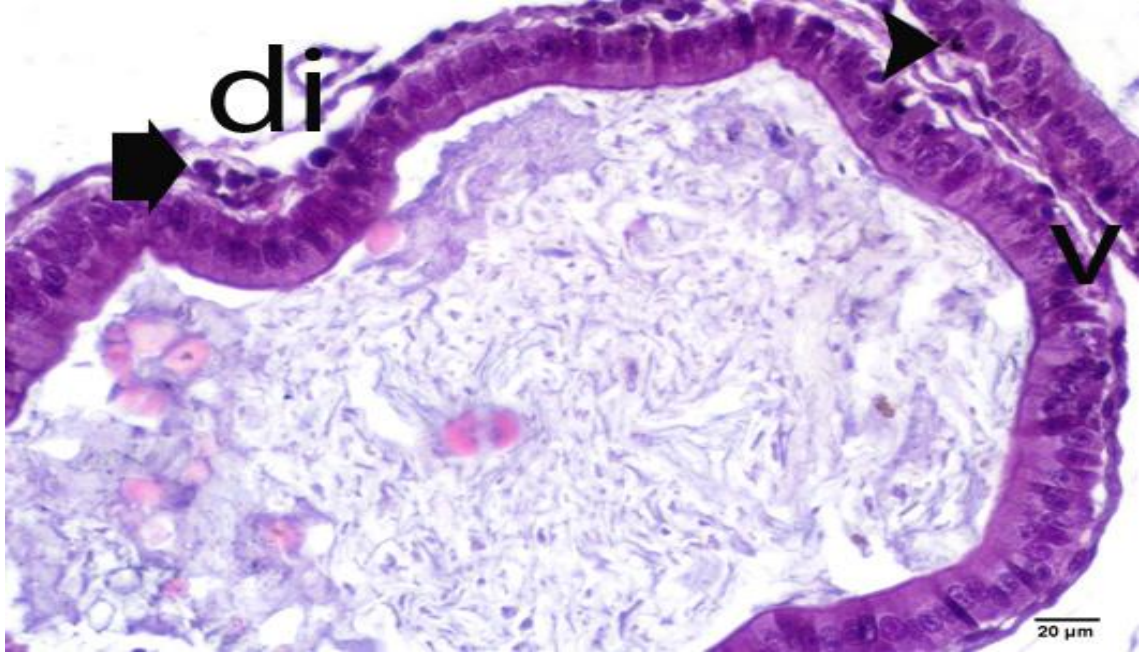
Şekil 29. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödem alanı ve sıvısı, di: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok: epitel dökülmeleri, Hematoksilen eosin boyama, X20.

Tablo 16. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)	Kas hücre dejenerasyonu (median ±SD)
75 grup 1 alan	++++	+++	++	+	+++
75 grup 2 alan	+++	+++	+++	+	+++
75 grup 3 alan	++	+++	++	++	++++
75 grup 4 alan	+++	++++	++	++	++++
75 grup 5 alan	+++	++	+++	++	++++
75 grup 6 alan	++	++	++	+	+++
75 grup 7 alan	+++	++++	+++	+	+++
75 grup 8 alan	+++	++	++	++	+++
Ortalama değer	% 25 (++)	% 37 (++)	% 62 (++)	% 50 (+)	% 62 (+++)
yüzdesi	% 62 (+++)	% 38 (+++)	% 38 (+++)	% 50 (++)	% 38 (++++)
	% 13 (++++)	% 25 (++++)			

3.3.3.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün fazla bozulmadığı gözlemlendi. Bazal membrana yakın alanlarda hafif dilatasyonların olduğu gözlemlendi. Epitel hücre şekillerinin prizmatikten kübik epitele doğru değiştiği ve yer yer sitoplazmik vakuolizasyonların gözlemlendiği tespit edildi. Epitel hücrelerinin apikal kısımları eosinofilik boyanmasına karşın doku bütünlükleri korunmuş, çekirdekleri yuvarlak ve ya basık şekilli olduğu görüldü. Yoğun eosinofilik boyanma gözlenen bazı hücrelerin çekirdekleri heterokromatik olduğu gözlenirken dejenere alanlardaki hücre çekirdeklerinin hem ökromatik yapılı hem de karyolizis oluşmuş olduğu gözlemlendi. Hücrenin bazal kısımlarında hafif dilatasyonların olduğu tespit edildi. Epitelin hücrelerinin boyları kısaldığı şekillerinin alçak prizmatikten kübiğe doğru değiştiği, bazalle yakın alanlarda hafif pigmentasyon yapılarının olduğu gözlemlendi. Miyoepitel hücrelerde şişmeler olduğu, bu hücrelerin döküldüğü alanlarda dilatasyonların olduğu gözlemlendi. Bağırsakların birbirlerine bakan alanlarında ödemlerin olduğu ve organlar arası mesafenin arttığı görüldü. Ayrıca organ lumeninin kimus kitlesi dolu olduğu görüldü. Bağırsakların arasında ödem sıvısına rastlanmadı (Şekil 30). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 17’de görülmektedir.



Şekil 30. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, di: dilatasyon alanları, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyonlar, ok başı: hafif pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

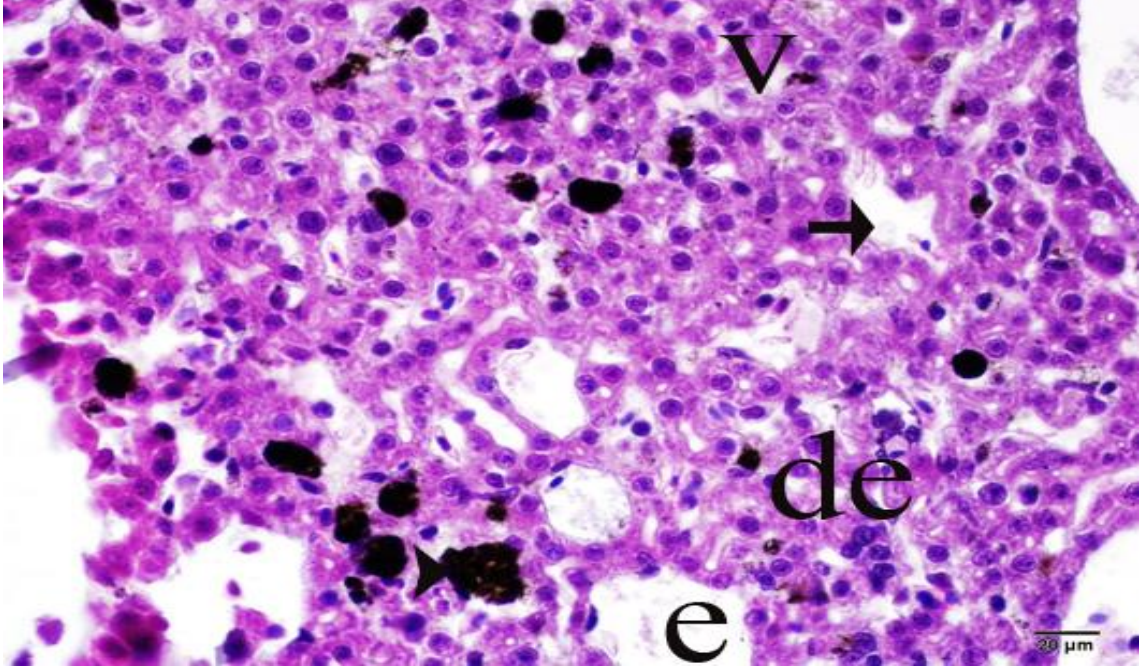
Tablo 17. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)
75 grup 1 alan	+++	+++	+	++	++
75 grup 2 alan	+++	+++	++	++	+
75 grup 3 alan	+++	++	++	+++	++
75 grup 4 alan	+++	++	+	++	++
75 grup 5 alan	++	+++	+	+++	+++
75 grup 6 alan	++	++	++	++	+
75 grup 7 alan	+++	+++	++	+++	+
75 grup 8 alan	++++	++	++	++	++
Ortalama değer	% 25 (++) % 62 (+++)	% 50 (++) % 50 (+++)	% 37 (+) % 63 (++)	% 62 (++) % 38 (+++)	% 38 (+) % 37 (++)
yüzdeleri	% 13 (++++)				% 25 (+++)

3.3.4. 100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

3.3.4.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün histolojik olarak deformasyona uğradığı, dejenere hücrelerin hem merkezde hem de periferde yoğun olarak görüldüğü tespit edildi. Sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde dejenerasyonların daha fazla olduğu, bu alanların içinde ödem sıvısı biriktiği fakat yakınlarında normal histolojiye sahip hücrelerinde bulunduğu gözlemlendi. Sinuzoidal alanlarda görülen genişlemeler dilatasyon seviyesinde belirlenirken perifer alanlarda bunların genişliklerinin daha da arttığı görüldü. Periferde yerleşmiş normal histolojik yapıları bazı hücrelerde apoptosisten dolayı eosinofilik görüldüğü, çekirdeklerinin ise bazofilik olduğu belirlendi. Bazı makrofaj tipi hücrelerde yoğun pigmentasyona bağlı melanin pigmenti biriktiği tespit edildi. Bu pigmentasyon alanlarının periferden uzaklaştıkça arttığı bazı alanlarda yoğun kümelenmeler gösterdiği tespit edildi. Karaciğerin loblarının orta alanlarına yakın vakuolizasyonların arttığı, dilatasyon bölgeleriyle birleşen yapıların nekroz alanları oluşturduğu ve dejenerasyona uğramış hücrelerin de bu alanlarda yoğun olduğu görüldü (Şekil 31). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 18’de verilmiştir.



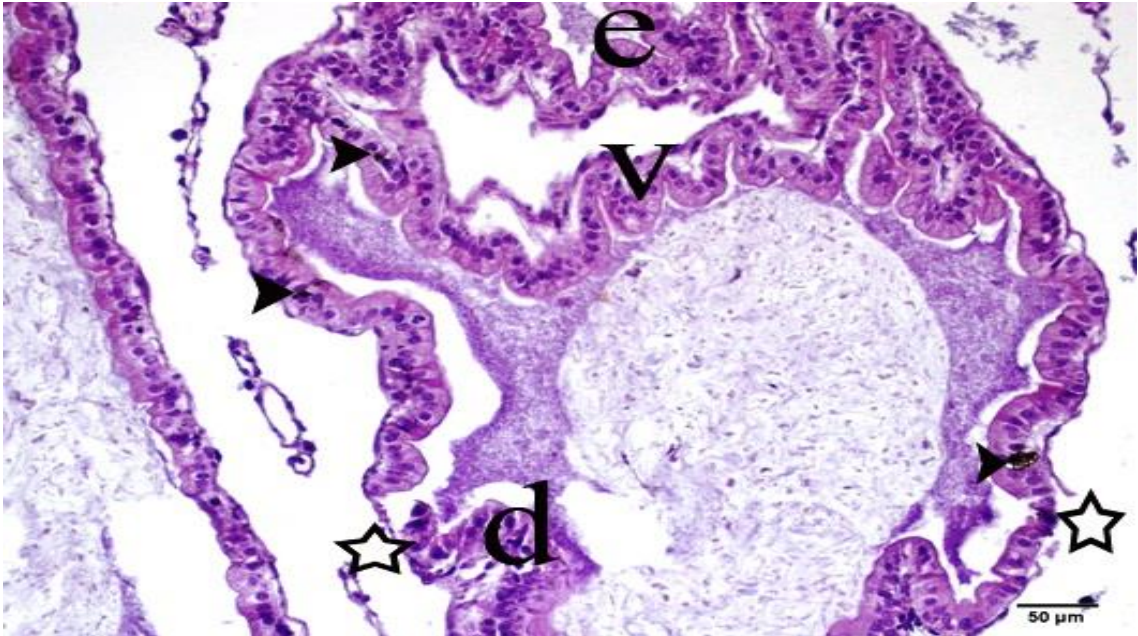
Şekil 31. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; v: vakuolizasyon e: ödem, ok: sinuzoidal dilatasyon ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 18. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SD)
100 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++	++
100 grup 2 alan	+++	+++	+++	++++	+++	+
100 grup 3 alan	++++	+++	++	+++	++++	++
100 grup 4 alan	+++	++++	++	++++	++++	+
100 grup 5 alan	+++	++	++++	++	++++	+++
100 grup 6 alan	++	++	++	+++	+++	++
100 grup 7 alan	+++	++++	+++	++++	+++	+++
100 grup 8 alan	++++	++	++	++	+++	+
Ortalama değer yüzdesi	% 12 (++) % 50 (+++) % 38 (++++)	% 37 (++) % 38 (+++) % 25 (++++)	% 62 (++) % 25 (+++) % 13 (++++)	% 26 (++) % 37 (+++) % 37 (++++)	% 62 (+++) % 38 (++++)	% 37 (+) % 37 (++) % 24 (+++)

3.3.4.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün histolojik olarak fazla bozulmadığı, epitel hücrelerindeki dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların yoğun olarak görüldüğü ve dejenerasyonlara bağlı hücre prizmatik şekillerini kaybettiği ve yoğun dökülmelerinin (yıldız) oluştuğu görüldü. Normal prizmatik görünüme sahip hücre oranının çok olmasına karşın kübik hücrelerin de dökülme bölgelerinde yoğun olarak gözlemlendiği belirlendi. Bu grupta epitelin bazalında yoğun dilatasyonların şekillendiği, buna bağlı olarak miyositlerin bazal bölgeden ayrışmaya başladığı gözlemlendi. Boyları kısalan bu kübik şekilli hücrelerin ve dejenere olmuş hücrelerin altlarında dilatasyonların daha fazla şekillendiği görüldü. Bazı epitelyal hücrelerinde de apoptosisten dolayı eosinofilik boyanmanın arttığı ve dokunun bütününde yapılan incelemede hafif pigmentasyon odaklarına rastlandı. Mide lumeninin kimus ile dolu olduğu tespit edildi (Şekil 32). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 19’da verilmiştir.



Şekil 32. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödem alanı ve sıvısı, d: hafif dilatasyon, ok başı: pigmentasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, yıldız: epitel dökülmeleri, Hematoksilen eosin boyama, X20.

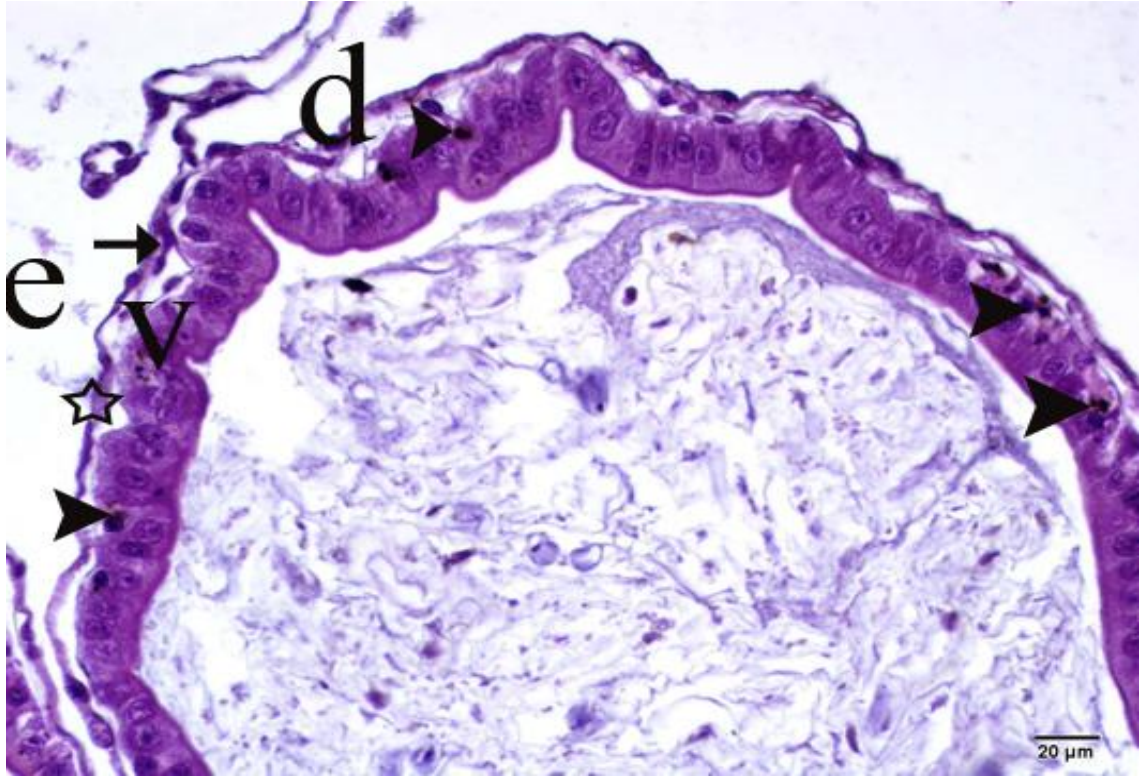
Tablo 19. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Kas hücre dejenerasyonu (median \pm SD)
100 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++
100 grup 2 alan	+++	+++	+++	++++	+++
100 grup 3 alan	++++	+++	++	+++	++++
100 grup 4 alan	+++	++++	++	++++	++++
100 grup 5 alan	+++	++	++++	++	++++
100 grup 6 alan	++	++	++	+++	+++
100 grup 7 alan	+++	++++	+++	++++	+++
100grup 8 alan	++++	++	++	++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 12 (++) % 50 (++++) % 38 (++++)	% 37 (++) % 38 (++++) % 25 (++++)	% 62 (++) % 25 (++++) % 13 (++++)	% 26 (++) % 37 (++++) % 37 (++++)	% 62 (++++) % 38 (++++)

3.3.4.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulduğu ve bazal membrana yakın alanlarda dilatasyonların arttığı gözlemlendi. Epitel hücre şekillerinin prizmatikten kübik epitele doğru değiştiği ve yer yer sitoplazmik vakuolizasyonların gözlemlendiği tespit edildi. Yoğun hücre dejenerasyonları olan alanlarda hücrelerin kayıplarının arttığı, fakat yine de normal prizmatik görünümde hücre sayısının oldukça fazla olduğu gözlemlendi. Epitel hücrelerinin apikal kısımları eosinofilik boyanmasına karşın doku bütünlükleri korunmuş glikokaliks yapıları tespit edildi. Yoğun eosinofilik boyanma gözlenen bazı hücrelerin çekirdekleri heterokromatik olduğu gözlenirken dejenerasyon alanlarında ökromatik yapılu hücrelerde gözlemlendi. Hücrenin bazal kısımlarında dilatasyonların arttığı tespit edildi. Epitelin hücrelerinin bazılarında boyları kısaldığı şekillerinin değiştiği ve kübik olarak görüldüğü, bazalle yakın alanlarda pigmentasyon kümeleri olduğu gözlemlendi (ok başı), bazı epitelial hücrelerde ise apoptosisten dolayı sitoplazmalarının yoğun eosinofilik

görüldüğü tespit edildi. Myoepitelyal hücrelerde şişmeler olduğu, bu hücrelerin döküldüğü alanlarda dilatasyonların oluştuğu gözlemlendi. Bağırsakların birbirlerine bakan alanlarında ödemlerin oluştuğu ve organlar arası mesafenin arttığı görüldü. Ayrıca organ lumeninin kimus kitlesi dolu olduğu görüldü (Şekil 33). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 20’de görülmektedir.



Şekil 33. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödem, kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, d: dilatasyon alanları, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyonlar, ok başı: yoğun pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

Tablo 20. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

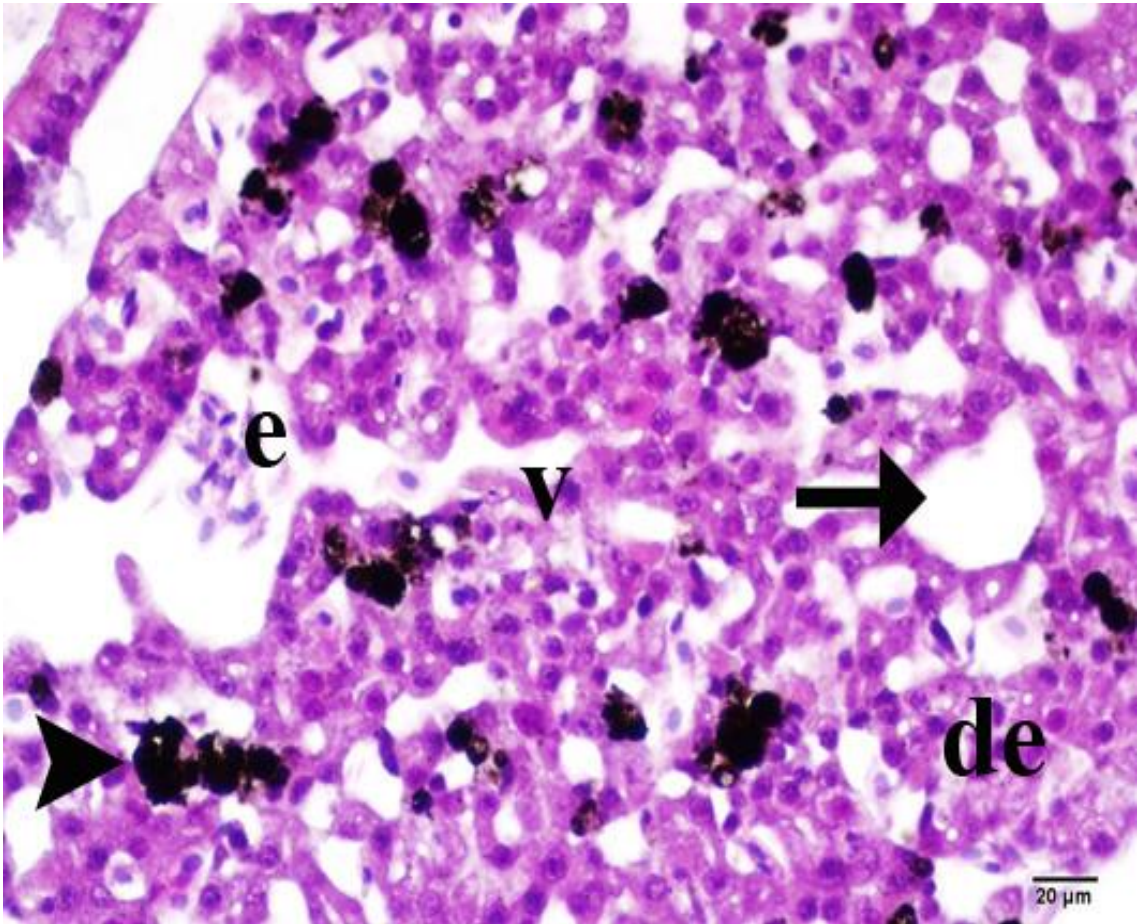
Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)
100 grup 1 alan	+++	+++	+	++	++
100 grup 2 alan	+++	+++	++	++	++
100 grup 3 alan	+++	++	++	+++	+++
100 grup 4 alan	+++	++	+	++	++
100 grup 5 alan	++	+++	+	+++	+++
100 grup 6 alan	++	++	++	++	++
100 grup 7 alan	+++	+++	++	+++	++
100 grup 8 alan	++++	++	++	++	++
Ortalama değer yüzdesi	% 25 (++) % 62 (+++) % 13 (++++)	% 50 (++) % 50 (+++)	% 37 (+) % 63 (++)	% 62 (++) % 38 (+++)	% 75 (++) % 25 (+++)

3.3.5. 150 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

3.3.5.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğü bozulmuş olup histolojik olarak hücrelerin deformasyona uğradığı, dejenere hücrelerin hem merkezde hemde periferde buldukları ve sinuzodi çevresinde yoğun olarak görüldüğü tespit edildi. Sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde vakuoler dejenerasyonların daha fazla olduğu, bu alanların içinde ödem sıvısı biriktiği ve lenfosit kümeleri olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte sinuzoidal alanın yakınlarında eosinofilik fakat normal histolojiye sahip hücrelerinde bulunduğu tespit edildi. Sinuzoidal alanlarda görülen genişlemeler granül benzeri vakuollerin birleşmesi ile yoğun dilatasyon seviyesinde belirlenirken perifer alanlarda bunların genişliklerinin daha da arttığı görüldü. Sinuzoidlerin periferde yerleşmiş normal görümlü gözlenen bazı hücrelerde hem karyoliz hem de apoptosiden dolayı eosinofilik görüldüğü, çekirdeklerinin ise bazofilik olduğu belirlendi. Bazı makrofaj tipi

hücrelerde yoğun pigmentasyona bağlı melanin pigmenti biriktiği tespit edildi. Bu pigmentasyon alanlarının periferden uzaklaştıkça arttığı bazı alanlarda yoğun kümelenmeler gösterdiği tespit edildi. Karaciğerin loblarının orta alanlarına yakın vakuolizasyonların arttığı, dilatasyon bölgeleriyle birleşen yapıların nekroz alanları oluşturduğu ve dejenerasyona uğramış hücrelerin de bu alanlarda yoğun olduğu görüldü (Şekil 34). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 21’de görülmektedir.



Şekil 34. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; v: vakuolizasyon e: ödem, ok: sinuzoidal dilatasyon, de:dejeneratif hücreler, ok başı: yoğun ve büyük pigmentasyonlu hücreler, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 21. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
150 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++	+++
150 grup 2 alan	+++	+++	+++	++++	++++	++
150 grup 3 alan	++++	++++	++	+++	++++	++
150 grup 4 alan	+++	++++	++	++++	++++	+
150 grup 5 alan	+++	+++	++++	++	++++	+++
150 grup 6 alan	+++	+++	++	+++	+++	+++
150 grup 7 alan	+++	++++	+++	++++	++++	+++
150 grup 8 alan	++++	++	++	++	+++	++
Ortalama değer yüzdesi	% 62 (+++) % 38 (++++)	% 12 (++) % 50 (+++) % 38 (++++)	% 62 (++) % 25 (+++) % 13 (++++)	% 26 (++) % 37 (+++) % 37 (++++)	% 38 (+++) % 62 (++++)	% 13 (+) % 37 (++) % 50 (+++)

3.3.5.2. Midedeki Gözlemler

Histolojik olarak incelenen mide doku bütünlüğünün bozulmaya başladığı, özellikle epitel hücrelerindeki dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların her tarafta yoğun olarak görüldüğü ve dejenerasyonlara bağlı prizmatik hücre şekillerinin kaybolduğu ve lümeneye doğru hücre dökülmelerinin (yıldız) yoğun olduğu görüldü. Normal prizmatik görünüme sahip hücre oranının çok olmamasına karşın bazı hücrelerde basık prizmatik-kübik şekilli hücrelerin de görüldüğü belirlendi. 100 grupta gözlenen dilatasyonların bu grupta epitelin bazalında yoğun dilatasyonların şekillendiği gözlemlendi ve buna bağlı olarak miyositlerin bazal bölgeden ödem benzeri ayrışmaya başladığı gözlemlendi. Boyları kısalan bazı kübik şekilli hücrelerin ve dejenere olmuş hücrelerin altlarında dilatasyonların daha fazla şekillendiği ve yer yer bu bölgelerdeki hücrelerinde parçalandığı görüldü. Bazı epitelyal hücrelerinde de apoptosisten dolayı eosinofilik boyanmanın arttığı ve dokunun bütününde yapılan incelemede hafif pigmentasyon odaklarına rastlandı. Mide lumeninin kimus ile dolu olduğu tespit edildi (Şekil 35).

Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 22’de görülmektedir.



Şekil 35. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödemalanı ve sıvısı, de: dejeneratif hücreler, d: hafif dilatasyon, ok başı: pigmentasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, yıldız: epitel dökülmeleri, Hematoksilen eosin boyama, X20.

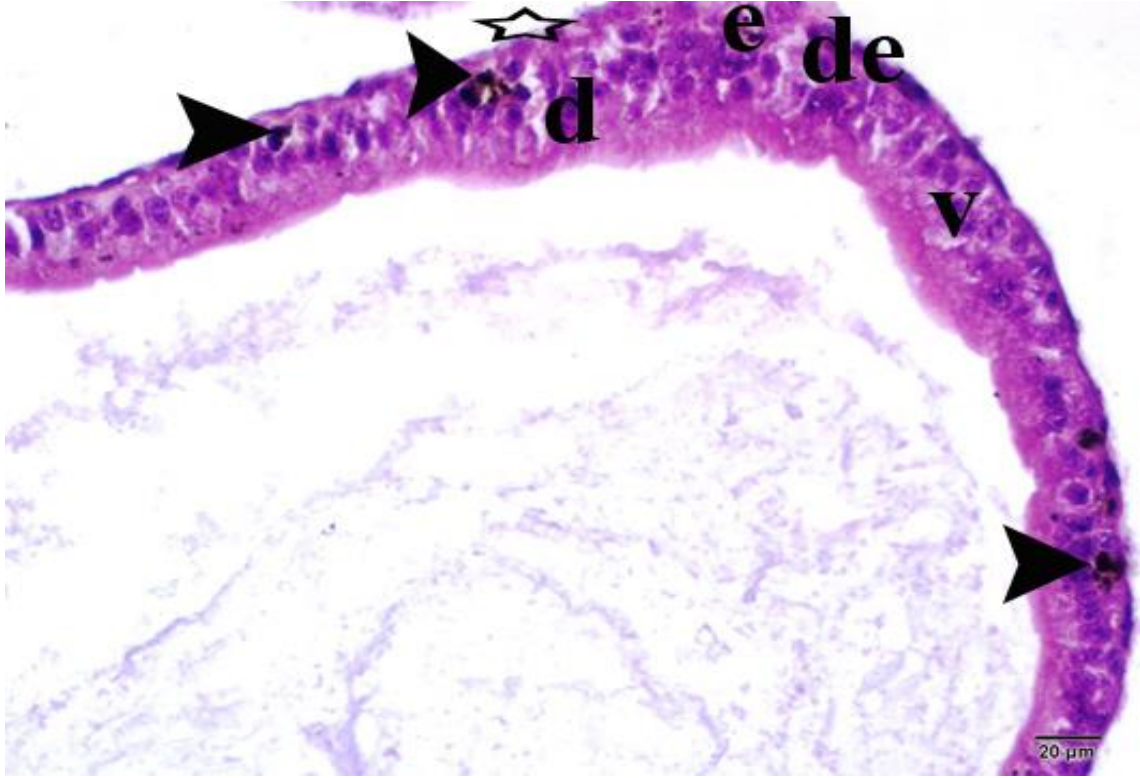
Tablo 22. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
150 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++	++
150 grup 2 alan	++++	+++	+++	++++	+++	+
150 grup 3 alan	++++	+++	++	+++	++++	+++
150 grup 4 alan	+++	++++	+++	++++	++++	++
150 grup 5 alan	+++	++	++++	+++	++++	+++
150 grup 6 alan	+++	+++	++	++++	++++	++
150 grup 7 alan	+++	++++	+++	++++	+++	+++
150 grup 8 alan	++++	+++	++	++	+++	+
Ortalama değer yüzdesi	% 50 (++++) % 50 (++++)	% 13 (++) % 62 (++++) % 25 (++++)	% 50 (++) % 37 (++++) % 13 (++++)	% 13 (++) % 37 (++++) % 50 (++++)	% 50 (++++) % 50 (++++)	% 25 (+) % 37 (++) % 38 (++++)

3.3.5.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoksil-eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulduğu ve bazal membrana yakın alanlarda hafif dilatasyonların olduğu gözlemlendi. Epitel hücre şekillerinin prizmatikten kübik epitele doğru değiştiği, yer yer sitoplazmik vakuolizasyonların gözlemlendiği ve apikal kısımların şiştiği tespit edildi. Yoğun hücre dejenerasyonları olan alanlarda hücrelerin kayıplarının arttığı, fakat yine de normal prizmatik görünüme sahip hücrelerin sayısında oldukça fazla olduğu gözlemlendi. Epitel hücrelerinin apikal kısımları eosinofilik boyanmasına karşın doku bütünlükleri korunmuş glikokaliksde hacisel artış tespit edildi. Hücre içi sitoplazmik vakuol oluşan hücrelerde çekirdek yoğun bazofilik iken çevresinde hücre dejenerasyonu çok olan hücrelerin çekirdekleri asidofilik olarak gözlemlendi. Yoğun eosinofilik boyanma gözlenen bazı hücrelerin çekirdekleri ise heterokromatik olduğu gözlenirken dejenerasyon alanlarında önkromatik yapıya hücrelerde gözlemlendi. Hücrenin bazal kısımlarında dilatasyonların arttığı tespit edildi. Epitelin

hücrelerinin bazılarında boyları kısaldığı şekillerinin değiştiği ve kübik olarak görüldüğü, bazalle yakın alanlarda gruplaşmalar yapan granüler tip pigmentasyon kümeleri olduğu gözlemlendi (ok başı), bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosisten dolayı sitoplazmalarının yoğun eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Myoepitelyal hücrelerde şişmeler olduğu, bu hücrelerin döküldüğü alanlarda dilatasyonların olduğu gözlemlendi. Bağırsakların birbirlerine bakan alanlarında ödemlerin olduğu ve organlar arası mesafenin arttığı görüldü. Ayrıca organ lumeninin kimus kitlesi dolu olduğu sindirim faaliyetlerinin devam ettiği görüldü (Şekil 36). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 23’de görülmektedir.



Şekil 36. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; yıldız:şişmiş myoepitel hücresi, e: ödem, de: dejeneratif hücre, d: hafif dilatasyon alanları, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyonlar, ok başı: yoğun pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

Tablo 23. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri

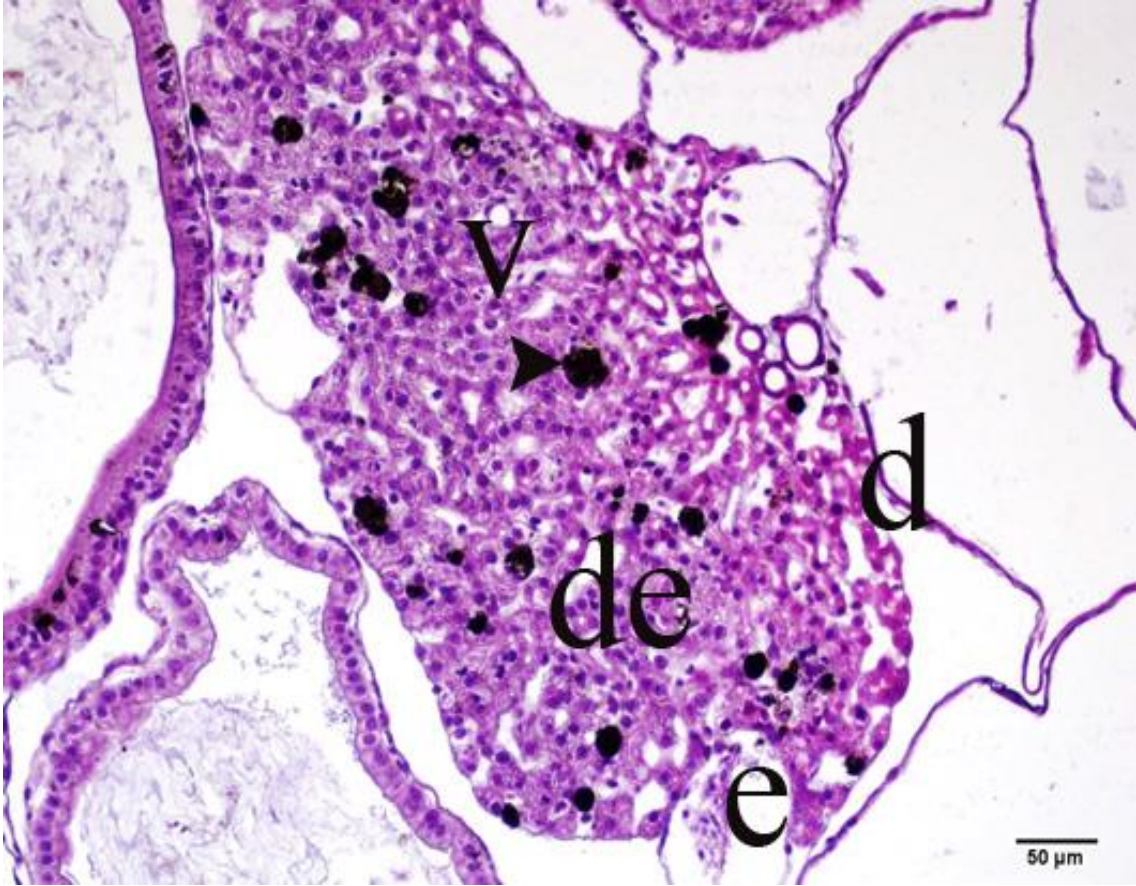
Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
150 grup 1 alan	+++	+++	++	+++	++	+
150 grup 2 alan	+++	+++	++	++	++	+
150 grup 3 alan	+++	++	++	+++	+++	++
150 grup 4 alan	+++	++	+	++	++	++
150 grup 5 alan	+++	++++	+	+++	+++	++
150 grup 6 alan	++	++	++	++	+++	++
150 grup 7 alan	+++	+++	+++	+++	++	+++
150 grup 8 alan	++++	+++	++	++	++	++
Ortalama değer	% 12 (++) % 75 (+++)	% 37 (++) % 50 (+++)	% 25 (+) % 62 (++)	% 50 (++) % 50 (+++)	% 63 (++) % 37 (+++)	% 25 (+) % 62 (++)
yüzdeleri	% 13 (++++)	% 13 (++++)	% 13 (+++)			% 13 (+++)

3.3.6. 250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

3.3.6.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün histolojik olarak deformasyona uğradığı, dejenere hücrelerin hem merkezde hemde periferde yoğun olarak görüldüğü tespit edildi. Sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde dejenerasyonların daha fazla olduğu, bu alanların içinde ödem sıvısı biriktiği fakat yakınlarında normal histolojiye sahip hücrelerinde bulunduğu gözlemlendi. Sinuzoidal alanlarda görülen genişlemeler dilatasyon seviyesinde belirlenirken perifer alanlarda bunların genişliklerinin daha da arttığı görüldü.. periferde yerleşmiş normal görünümlü gözlenen bazı hücrelerde apoptosiden dolayı eosinofilik görüldüğü, çekirdeklerinin ise bazofilik olduğu belirlendi. Bazı makrofaj tipi hücrelerde yoğun pigmentasyona bağlı melanin pigmenti biriktiği tespit edildi. Bu pigmentasyon alanlarının periferden uzaklaştıkça arttığı bazı alanlarda yoğun kümelenmeler gösterdiği tespit edildi. Karaciğerin loblarının orta alanlarına yakın

vakuolizasyonların arttığı, dilatasyon bölgeleriyle birleşen yapıların nekroz alanları oluşturduğu ve dejenerasyona uğramış hücrelerin de bu alanlarda yoğun olduğu görüldü (Şekil 37). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 24’de görülmektedir.



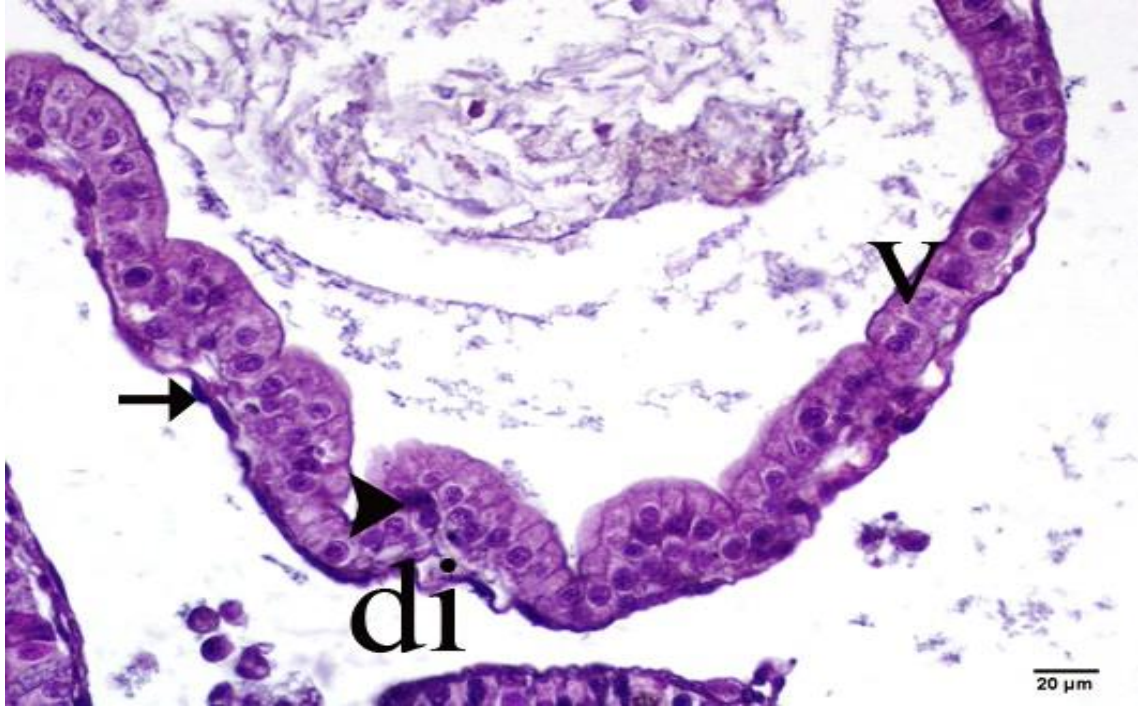
Şekil 37. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; v: vakuolizasyon e: ödem, d: sinuzoidal dilatasyon, ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, de: dejenere hücreler, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 24. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Ödem (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median \pm SD)
250 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++	++
250 grup 2 alan	+++	+++	+++	++++	+++	+
250 grup 3 alan	++++	+++	++	+++	++++	++
250 grup 4 alan	+++	++++	++	++++	++++	+
250 grup 5 alan	+++	++	++++	++	++++	+++
250 grup 6 alan	++	++	++	+++	+++	++
250 grup 7 alan	+++	++++	+++	++++	+++	+++
250 grup 8 alan	++++	++	++	++	+++	+
Ortalama değer	% 12 (++)	% 37 (++)	% 62 (++)	% 26 (++)	% 62 (+++)	% 37 (+)
yüzdesi	% 50 (+++)	% 38 (++++)	% 25 (++)	% 37 (+++)	% 38 (++++)	% 37 (++)
	% 38 (++++)	% 25 (++++)	(+++)	% 37 (++++)		% 24 (+++)
			% 13 (++++)			

3.3.6.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün histolojik olarak fazla bozulmadığı, epitel hücrelerindeki dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların yoğun olarak görüldüğü ve dejenerasyonlara bağlı hücre prizmatik şekillerini kaybettiği ve yoğun dökülmelerinin (yıldız) oluştuğu görüldü. Normal prizmatik görünüme sahip hücre oranının çok olmasına karşın kübik hücrelerin de dökülme bölgelerinde yoğun olarak gözlemlendiği belirlendi. Boyları kısalan bu kübik şekilli hücrelerin ve dejenere olmuş hücrelerin altlarında dilatasyonların daha fazla şekillendiği görüldü. Bazı epitelyal hücrelerinde de apoptosisten dolayı eosinofilik boyanmanın arttığı ve dokunun bütününde yapılan incelemede hafif pigmentasyon odaklarına rastlandı. Mide lumeninin kimus ile dolu olduğu tespit edildi (Şerkil 38). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 25’de görülmektedir.



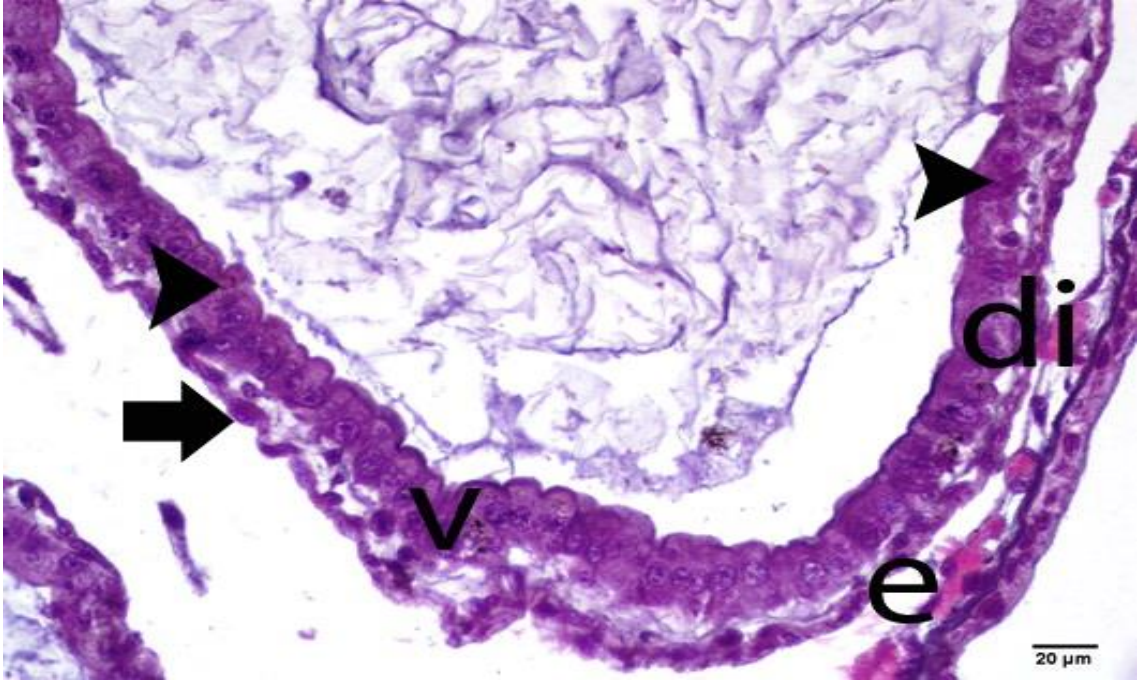
Şekil 38. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödemalanı ve sıvısı, d: hafif dilatasyon, ok başı: pigmentasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, yıldız: epitel dökülmeleri, Hematoksilen eosin boyama, X20.

Tablo 7. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve muscle hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)	Kas hücre dejeerasyonu (median ±SD)
250 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++
250 grup 2 alan	++++	+++	+++	++++	+++
250 grup 3 alan	++++	+++	+++	++++	++++
250 grup 4 alan	++	++++	++	++++	++++
250 grup 5 alan	+++	+++	++++	+++	++++
250 grup 6 alan	+++	+++	++	+++	+++
250 grup 7 alan	++++	++++	++++	++++	+++
250 grup 8 alan	++++	++	++	++	+++
Ortalama değer	% 13 (++) % 25 (+++)	% 13 (++) % 62 (+++)	% 50 (++) % 25 (+++)	% 13 (++) % 37 (+++)	% 62 (+++) % 38 (++++)
yüzdese	% 62 (++++)	% 25 (++++)	% 25 (++++)	% 50 (++++)	

3.3.6.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoksilin-eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre boyutlarının ve doku bütünlüğünün bozulduğu, bazal membrana yakın alanlarda dilatasyonların arttığı ve homojen bir şekilde genişlemeler olduğu gözlemlendi. Epitel hücre şekilsel değişikliklerin arttığı normalde prizmatik olan hücrelerin yoğun bir şekilde kübik epitele doğru değiştiği ve bazal kısımlarında yer yer sitoplazmik vakuolizasyonların gözlemlendiği tespit edildi. Yoğun hücre dejenerasyonları olan alanlarda hücrelerin kayıplarının arttığı, fakat yine de normal prizmatik görünümde hücre sayısının oldukça azaldığı görüldü. Epitel hücrelerinin apikal kısımları eosinofilik boyanmasına karşın doku bütünlükleri korunmuş glikokaliks yapıları tespit edildi. Yoğun eosinofilik boyanma gözlenen bazı hücrelerin çekirdekleri heterokromatik olduğu gözlenirken dejenerasyon alanlarında ve vakuolizasyonlu hücrelerde yoğun miktarda önkromatik yapılı hücre çekirdekleri gözlemlendi. Bazal kısımlarında dilatasyonların arttığı hücrelerin yoğun bir şekilde dejenerasyona uğradığı görüldü. Epitelin hücrelerinin çoğunda boyları kısaltıldığı şekillerinin değiştiği ve kübik olarak görüldüğü, bazalle yakın alanlarda pigmentasyon kümeleri oluştuğu gözlemlendi (ok başı), bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosisten dolayı sitoplazmalarının eosinofilik görüldüğü ve çekirdeklerini yuvarlak yapısını kaybettiği tespit edildi. Dilatasyon alanlarında daha fazla olmak üzere myoepitelyal hücrelerde şişmeler olduğu gözlemlendi. Bağırsakların birbirlerine bakan alanlarında ödemlerin oluştuğu, organlar arası mesafenin arttığı ve bu alanlarda ödem sıvısı biriktiği gözlemlendi. Ayrıca organ lumeninin kimus kitlesi dolu olduğu görüldü (Şekil 39). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, pigmentasyon ve nekrosis ortalama görülme yüzdeleri Tablo 26'da görülmektedir.



Şekil 39. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödem, kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, di: dilatasyon alanları, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyonlar, ok başı: hafif pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

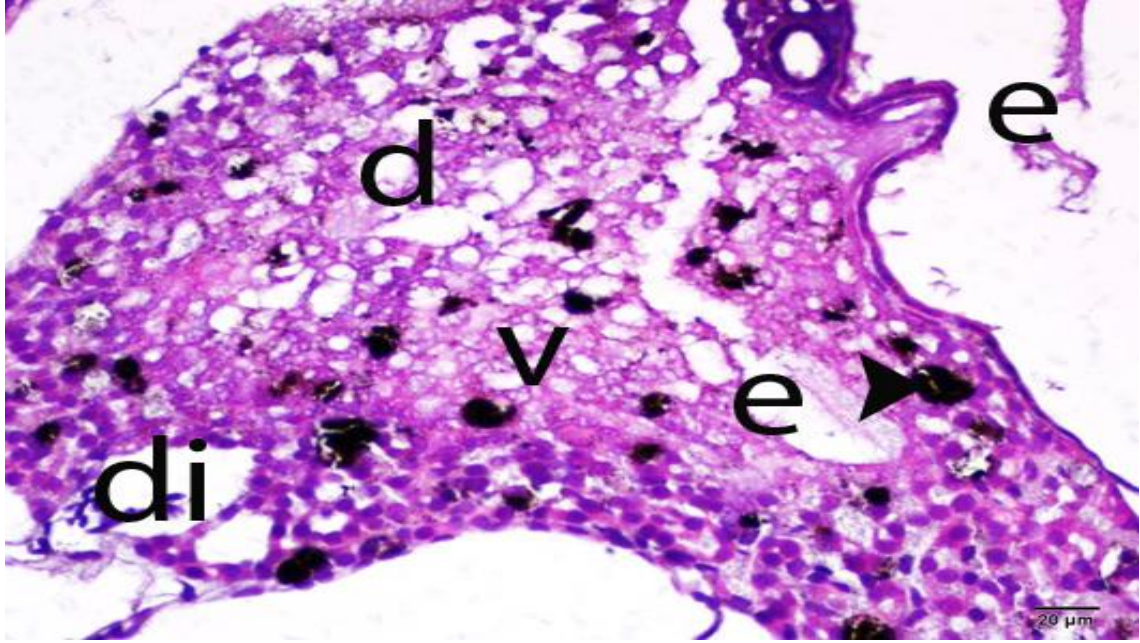
Tablo 26. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, pigmentasyon ve nekrosis ortalama görülme yüzdeleri

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)
250 grup 1 alan	+++	+++	+	++	+++
250 grup 2 alan	+++	+++	++	++	++
250 grup 3 alan	++++	++	++	+++	+
250 grup 4 alan	++++	++	++	++	+
250 grup 5 alan	++	++++	+	+++	+++
250 grup 6 alan	+++	++	++	+++	+
250 grup 7 alan	+++	++++	++	+++	+++
250 grup 8 alan	++++	+++	++	+++	++
Ortalama değer	% 13 (++) % 50 (++++)	% 37 (++) % 37 (++++)	% 25 (+) % 75 (++)	% 62 (++) % 38 (+++)	% 37 (+) % 26 (++)
yüzdeleri	% 37 (++++)	% 26 (++++)			% 37 (+++)

3.3.7. 500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

3.3.7.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde lob yapısının ve doku bütünlüğünün kaybolduğu, histolojik olarak yoğun olarak deformasyona uğradığı, dejenere hücrelerin hem merkezde hem de periferde yoğun olarak görüldüğü tespit edildi. Sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde dejenerasyonların daha fazla olduğu, bu alanların içinde ödem sıvısı biriktiği fakat yakınlarında normal histolojiye sahip hücrelerinde bulunduğu gözlemlendi. Dokunun merkezinde ve sinuzoidal alanlarda görülen genişlemeler dilatasyon seviyesinde belirlenirken perifer alanlarda meydana gelen genişliklerinin damar yakınlarında daha da arttığı görüldü. Periferde yerleşmiş normal görünümlü gözlenen bazı hücrelerde çekirdekleri bazofilik boyanmasına karşın apoptosisten dolayı eosinofilik görüldüğü belirlendi. Bazı makrofaj tipi hücrelerde yoğun pigmentasyona bağlı melanin pigmenti biriktiği tespit edildi. Bu pigmentasyon alanlarının dokunun her yerinde homojen olarak dağıldığı ve periferden uzaklaştıkça arttığı bazı alanlarda ise yoğun kümelenmeler gösterdiği tespit edildi. Karaciğerin loblarının orta alanlarına yakın hücrel vakuolizasyonların arttığı ve dejenere hücrelerin buralarda fazla olduğu gözlemlendi. Yoğun dilatasyon bölgeleriyle birleşen vakuoler yapıların nekroz alanları oluşturduğu ve dejenerasyona uğramış hücrelerin de bu fibrotik alanlarda yoğun olduğu görüldü (Şekil 40). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, pigmentasyon, nekrosis ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 27’de görülmektedir.



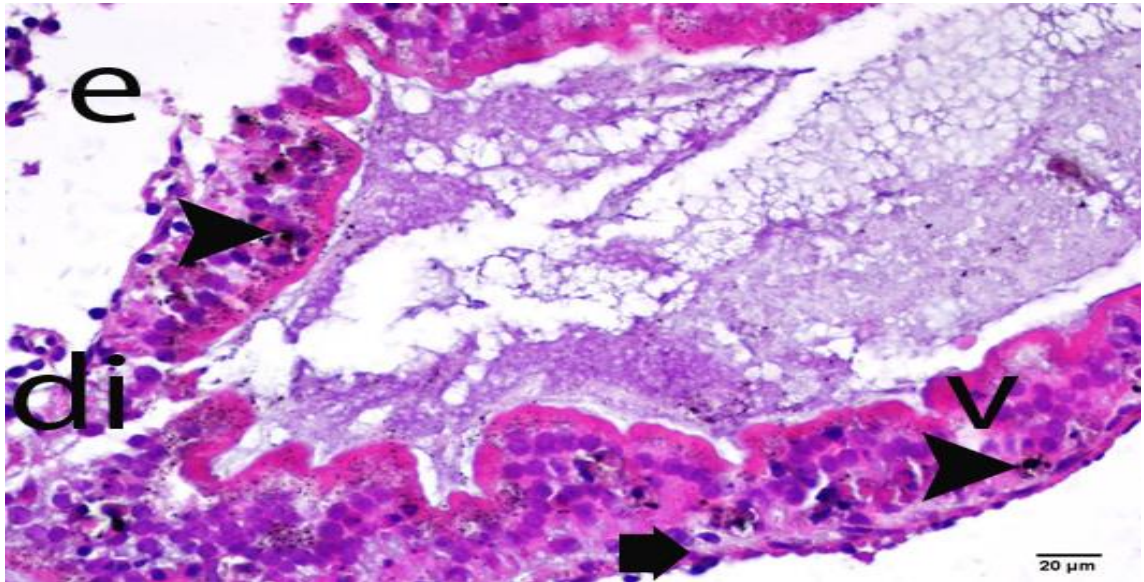
Şekil 40. Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; v: vakuolizasyon e: ödem, di: sinuzoidal dilatasyon, ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, d: dejenere hücreler, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 27. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, pigmentasyon, nekrosis ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SD)
500 grup 1 alan	++++	+++	++	+++	+++	++
500 grup 2 alan	+++	++++	+++	++++	+++	+++
500 grup 3 alan	++++	++++	+++	++++	++++	+++
500 grup 4 alan	+++	++++	++	++++	++++	+++
500 grup 5 alan	++	++	++++	++	++++	+++
500 grup 6 alan	+++	+++	+++	+++	++++	++
500 grup 7 alan	++++	++++	+++	++++	++++	++++
500 grup 8 alan	++++	+++	++	+++	+++	+++
Ortalama değer	% 12 (++) % 38 (+++)	% 13 (++) % 37 (+++)	% 37 (++) % 50 (+++)	% 13 (++) % 37 (+++)	% 38 (++) % 62 (+++)	% 25 (++) % 62 (+++)
yüzdeleri	% 50 (++++)	% 50 (++++)	% 13 (++++)	% 50 (++++)	% 62 (++++)	% 13 (++++)

3.3.7.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün bozulduğu, epitel hücrelerindeki yoğun dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların arttığı görüldü. Hüresel dejenerasyonlara bağlı hücre şekillerinin değiştiği prizmatik yapılarını kaybettiği ve yoğun dökülmelerinin olduğu gözlemlendi. Normal prizmatik görünüme sahip hücre oranının azalmış olup daha çok kübik hücrelerin görüldüğü epitel katmanında çekirdek yapılarının da bozulduğu belirlendi. Hücre şişmesi ve dökülmelerinin dilatasyon ve vakuolizasyon bölgelerinde daha yoğun olarak gözlemlendiği belirlendi. Bu grupta dilatasyonların epitelin bazalında yoğun şekilde olduğu, buna bağlı olarak bazale yakın yerleşimli miyositlerin ayrışmaya başladığı gözlemlendi. Boyları kısalan kübik şekilli hücrelerin ve dejenere olmuş hücrelerin altlarında dilatasyonların daha fazla şekillendiği kümecikler halinde pigmentasyonların homojen bir dağılım gösterdiği görüldü. Pigmentasyon boyutları fazla olmamasına karşın her yönde belirgin olarak tespit edilebilmekteydi. Mide lümeninin kimus ile dolu olduğu tespit edildi (Şekil 41). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, pigmentasyon, nekrosis ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 28’de görülmektedir.



Şekil 41. Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödem alanı ve sıvısı, di: hafif dilatasyon, ok başı: pigmentasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, kalın ok: epitel şişmesi ve dökülmeleri, Hematoksilen eosin boyama, X40.

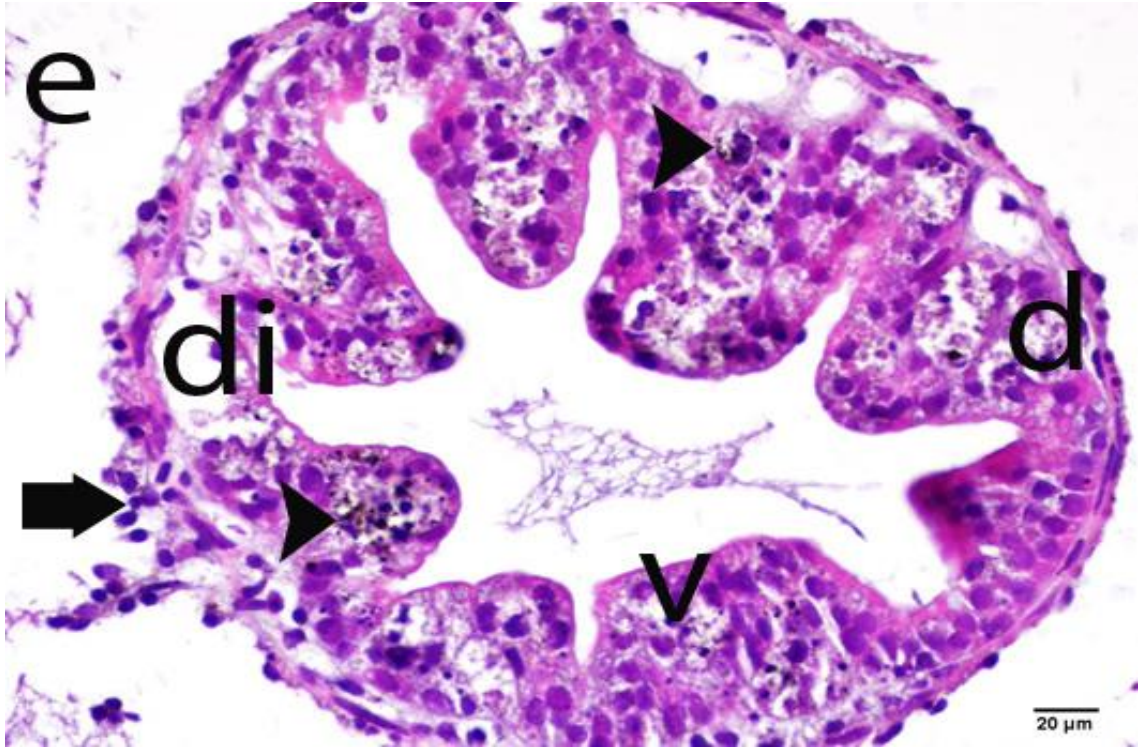
Tablo 28. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, pigmentasyon, nekrosis ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median \pm SD)	Vakuolizasyon (median \pm SD)	Nekrosis (median \pm SD)	Pigmentasyon (median \pm SD)	Kas hücre dejenerasyonu (median \pm SD)
500 grup 1 alan	++++	++++	++	+++	+++
500 grup 2 alan	++++	+++	+++	++++	+++
500 grup 3 alan	++++	+++	++++	++++	++++
500 grup 4 alan	+++	++++	+++	++++	++++
500 grup 5 alan	+++	+++	++++	+++	++++
500 grup 6 alan	++++	+++	+++	+++	++++
500 grup 7 alan	++++	++++	++++	++++	+++
500 grup 8 alan	++++	++	++	++++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 25 (+++) % 75 (++++)	% 13 (++) % 50 (+++) % 37 (++++)	% 25 (++) % 37 (+++) % 38 (++++)	% 38 (+++) % 62 (++++)	% 50 (+++) %50 (++++)

3.3.7.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoksil-eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre boyutlarının ve doku bütünlüğünün bozulduğu, lümenin daraldığı, bazal membrana yakın alanlarda dilatasyon yoğunluğunun arttığı ve homojen bir şekilde genişlemeler olduğu gözlemlendi. Epitel hücrelerinde şekilsel değişikliklerin arttığı normal histolojik incelemede prizmatik olan hücrelerin yoğun bir şekilde kübik ve basık yassı epitale doğru değiştiği gözlemlendi. Hem hücrelerin apekslerinde hem de bazal kısımlarında yer yer sitoplazmik vakuolizasyonların gözlemlendiği tespit edildi. Villuslerde gözlenen yoğun hücre dejenerasyonlarının olduğu alanlarda hücre kayıplarının arttığı belirlendi. Normal prizmatik görünümde hücre sayısının oldukça azaldığı görüldü. Epitel hücrelerinin apikal kısımları eosinofilik boyanmasına karşın çekirdeklerinin bazofilik olduğu ve doku bütünlükleri korunmuş hücrelerde glikokaliks yapıları az da olsa tespit edildi. Yoğun eosinofilik boyanma gözlenen bazı hücrelerin çekirdekleri heterokromatik olduğu gözlenirken dejenere alanlarda ve vakuolizasyonlu hücrelerde yoğun miktarda ökromatik yapılı hücre çekirdekleri gözlemlendi. Bazal kısımlarında

dilatasyonların arttığı hücrelerin yoğun bir şekilde dejenerasyona uğradığı bu alanlarda vakuolizasyonların daha belirgin olduğu görüldü. Epitelin hücrelerinin çoğunda boyları kısaldığı şekillerinin değiştiği ve kübik olarak görüldüğü, bazalle yakın alanlarda pigmentasyon kümeleri oluştuğu gözlemlendi (ok başı), bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosisten dolayı sitoplazmalarının eosinofilik görüldüğü ve çekirdeklerini yuvarlak yapısını kaybettiği karyolizis olduğu tespit edildi. Dilatasyon alanlarında daha fazla olmak üzere myoepitelyal hücrelerde şişmeler ve yoğun dökülmelerin olduğu gözlemlendi. Bağırsakların birbirlerine bakan alanlarında ödemlerin oluştuğu, organlar arası mesafenin arttığı ve bu alanlarda ödem sıvısı biriktiği gözlemlendi. Ayrıca organ lümeninin kimus kitlesi dolu olduğu görüldü (Şekil 42). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, pigmentasyon, nekrosis ve ödemin ortalama görülme yüzdeleri Tablo 29’da görülmektedir.



Şekil 42. Bağırsaklarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: ödem, kalın ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, di: dilatasyon alanları, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyonlar, ok başı: hafif pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

Tablo 29. Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, pigmentasyon, nekrosis ve ödemin ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SD)	Vakuolizasyon (median ±SD)	Ödem (median ±SD)	Nekrosis (median ±SD)	Pigmentasyon (median ±SD)
500 grup 1 alan	+++	++++	+	++	+++
500 grup 2 alan	+++	++++	++	+++	++
500 grup 3 alan	++++	++++	++	+++	++
500 grup 4 alan	++++	++++	++	++	++
500 grup 5 alan	+++	++++	++	++++	+++
500 grup 6 alan	+++	+++	+++	+++	+
500 grup 7 alan	++++	++++	++	++++	++
500 grup 8 alan	++++	+++	+++	++++	++
Ortalama değer yüzdesi	% 50 (+++) % 50 (++++)	% 25 (+++) % 75 (++++)	% 13 (+) % 62 (++) % 25 (+++)	% 25 (++) % 37 (+++) % 38 (++++)	% 13 (+) % 62 (++) % 25 (+++)

Yapılan Kruskal-Wallis testine göre; konsantrasyonlar arasında, karaciğer dokusundan alınan örneklerde epitel dejenerasyon ($p<0.05$, $X^2=25.90$), vakuolizasyon ($p<0.05$, $X^2=25.03$), ödem ($p<0.05$, $X^2=33.90$), nekrosis ($p<0.05$, $X^2= 27.60$), pigmentasyon ($p<0.05$, $X^2= 32.55$) ve bağ doku artışı ($p<0.05$, $X^2= 33.63$) açısından istatistiksel olarak önemli fark olduğu bulunmuştur. Mide dokusundan alınan örneklerde ise epitel dejenerasyon ($p<0.05$, $X^2=31.00$), vakuolizasyon ($p<0.05$, $X^2=29.19$), nekrosis ($p<0.05$, $X^2= 30.72$), pigmentasyon ($p<0.05$, $X^2= 44.18$) ve kas hücre dejenerasyonu ($p<0.05$, $X^2=22.07$), ödem ($p<0.05$, $X^2= 7.42$) bakımından fark bulunurken bağ doku artışı ($p>0.05$, $X^2= 1.73$) bakımından fark bulunamamıştır. Bağırsak dokusundan alınan örneklerde ise epitel dejenerasyon ($p<0.05$, $X^2=27.36$), vakuolizasyon ($p<0.05$, $X^2=31.10$), ödem ($p<0.05$, $X^2=27.29$), nekrosis ($p<0.05$, $X^2=28.64$) ve pigmentasyon ($p<0.05$, $X^2=25.05$) bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenirken bağ dokusu artışı ($p<0.05$, $X^2=2.53$) bakımından fark gözlenmemiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Amfibi popülasyonlarındaki azalmalar geçen son 25 yılda daha dramatik bir hal almıştır. Bu azalışın çeşitli nedenleri bulunmaktadır (Gürkan ve Hayretdağ, 2009). Fungal ve bakteriyel salgın hastalıklar, kuraklık, sıcaklık değişiklikleri, habitat tahribi ve parçalanması, egzotik türler, ağır metaller, asit yağmurları, iklim değişimi ve kimyasal gübre kullanımı amfibi azalmasına neden olan etmenler arasındadır (Barinaga, 1990; Phillips, 1990; Dunson vd., 1992; Howe vd.,1998; Adams, 1999; Hayes vd., 2002; Langan, 2003). Amfibi azalmalarında en fazla ilgiyi çeken tarımsal kimyasalların tek başına veya diğer stres yapan unsurlarla beraber kullanılmasıdır (Relyea ve Mills, 2001). Doğal popülasyonlarda yapılan çalışmalar popülasyondaki azalmalar ile tarımsal araziler arasında bir ilişki olduğu gösterilmektedir (Bishop vd., 1999; LeNoir vd., 1999; Davidson vd., 2002; Houlihan ve Findlay, 2003; Davidson, 2004). Aynı zamanda bir çok kusurlu amfibilerin pestisit ve gübrelerin fazlaca kullanıldığı tarımsal alanlarda gözlemlendiği rapor edilmiştir (Ouellet vd., 1997; Taylor vd., 2005). Amfibilerde belirli pestisit veya kimyasal maddeye karşı etkileri türden türe ya da popülasyondan popülasyona değişebilir. Bu kimyasallara karşı toleranslar tür içi veya türler arası genetik farklılıktan kaynaklandığı gibi kimyasal maddelere maruz kalmasına da bağlıdır (Bridges ve Semlitsch, 2000).

Amonyum sülfat, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ticari değeri olan inorganik bir tuzdur. Gübre olarak yaygın bir kullanım alanı vardır. Amonyum katyonu formu olarak %21 azot ve sülfat anyonu formunda %24 kükürt içerir. Yağmur suyu ile su kaynaklarına karışan suni gübreler su kaynaklarının kirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Amfibilerin hibernasyon dönemlerini geçirdikleri çamur tabakalarının en alt kısımlarında yoğun miktarda kirlenmişler rastlanmıştır (Sparling vd., 1995). Böylelikle kirlenmelerin amfibilerin sadece ekolojik nişlerine değil, üreme biyolojilerine zarar verdiği görülmektedir (Tegowska vd., 2004). Amonyum sülfatın; sucul çevreler üzerindeki toksik etkisi ile alakalı sınırlı sayıda bilgi mevcuttur (Schuytema ve Nebeker, 1999a). Bu çalışma ile amonyum sülfatın *Rana macrocnemis* larvaları üzerindeki 96 saatlik akut toksikolojik ve histopatolojik etkileri ilk defa ortaya çıkarılmıştır.

Tarımsal alan yakınlarında bulunan su sistemleri, bu alanlardan etkilenmektedir ve birçok çalışma tarımsal alanların hidrolojik ve kimyasal etkilerini açıklamak ve orada yaşayan sucül omurgalılar üzerindeki değişimlerini göstermektedir (Spear vd., 2009). Tarımsal alanların en az olduğu yerde su kalitesinin daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Tarımsal alan yoğunluğuna göre su kalitesi değişiklik göstermektedir (Spear, 2009). Ölçülü bir akarsu sisteminde coğrafik tabakalara ve fotosentetik orana bağlı olarak pH değeri 6.5 ve 8.5 arasında değişmektedir. Nitrat ve nitrit seviyeleri ise tarımsal alan yoğunluğuna bağlı olmaktadır. Artan tarımsal alan yoğunluğu topraktaki nitrat ve nitrit seviyelerini yükseltmektedir (Yang vd., 2005). Buna bağlı olarak bizim örneklerimizi aldığımız suların pH değeri verilen referans aralığı arasında değişmektedir. Ayrıca tarıma uzak alanlardan temin edilen su örneklerinde nitrit ve nitrat azot değeri de düşük bulunmuştur. Enerji metabolizması oksijen tüketimi ile ölçülmektedir. Sıcaklık arttıkça enerji metabolizması da artmaktadır. Sıcak sularda oksijen tüketimi bu yüzden fazla olurken, buna paralel olarak çözülmüş oksijen az olmaktadır. Bu yüzden kurbağa larvaları geniş bir sıcaklık aralığına sahip olmak için fizyolojik çaba sarf etmeleri gerekmektedir (Ultsch vd., 1999; Cairns vd., 1975a; Duellman ve Trueb, 1986). Su kaynaklarından örnekler incelendiğinde sıcaklık düşük olduğu için çözülmüş oksijeninde fazla olduğu gözlenmiştir. Avustralya kurbağası, *Bryobatrachus nimbus*'da oksijen tüketimi artan sıcaklık ile birlikte artmaktadır (Mitchell ve Seymour, 2000).

96 saatlik akut deneyi sonucunda *Rana macrocnemis* için amonyum sülfatın LC₅₀ değeri 436.623 mg/L olarak tespit edilmiştir. Amonyum türevlerinin LC₅₀ değerleri akut toksikolojisi çalışmaları arasında değişiklik göstermektedir. Hecnar (1995)'ın *Bufo americanus*, *Pseudacris triseriata*, *Rana pipiens* ve *Rana clamitans* larvalarına amonyum nitrat gübresinin akut ve kronik konsantrasyonları uygulanarak etkilerinin değerlendirildiği çalışmasında, akut testte iki farklı *B. americanus* popülasyonunun kirli bölgeden alınanında 96 saatlik LC₅₀ değeri 39,3 mg/L olarak belirlenirken, temiz bölgeden alınanda 13,6 mg/L olarak belirlenmiştir. Schuytema ve Nebeker (1999a) *Pseudacris regilla* ve *Xenopus laevis* larvalarına 4'er ve 10'ar günlük amonyum nitrat, amonyum klor ve amonyum sülfat uygulanarak gerçekleştirilen çalışmada; *P. regilla* için amonyum nitrat ve amonyum sülfata ait 10 günlük LC₅₀ değerleri sırasıyla 55,2 ve 89,7 mg/L olarak tespit edilmiştir. *X. laevis* larvaları için ise üç amonyum bileşiğinin 10

günlük LC₅₀ değerleri 45-64 mg/L arasında değişmekteydi. Karaoğlu (2011) temiz ve kirli bölgeden aldığı *Pelodytes caucasicus* (Kafkas kurbağası) larvalarına kronik olarak 70 gün akut olarak ise 15 gün amonyum nitrat konsantrasyonları uygulamıştır. Temiz bölge populasyonunun LC₅₀ değeri 170 mg/L, kirli bölge populasyonunun LC₅₀ değeri ise 204 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın akut deney sürecinde amonyum sülfata maruz kalan larvalarda davranışsal ve fizyolojik değişimler gözlenmiştir. Konsantrasyon miktarı arttıkça beslenme oranının azaldığı hatta beslenmenin olmadığı, davranışsal (yüzmede yavaşlama, ters yüzme ve ölüm) ve morfolojik (pigment kaybı, ödem birikimi) anormalliklerin konsantrasyonla birlikte arttığı görülmüştür. Canlı kalan bireylerde yapılan mikroskop incelemeleri sonucunda çekilen fotoğraflarda bazı bireylerde ödem oluşumu, gövde biçiminde bozulma (çoğunlukla ölü bireylerde) ve pigment kaybı tespit edilmiştir. Hecnar (1995)'ın *Bufo americanus*, *Pseudacris triseriata*, *Rana pipiens* ve *Rana clamitans* larvalarına amonyum nitrat gübresinin akut ve kronik konsantrasyonları uygulanarak etkilerinin değerlendirildiği çalışmasında, 6 türe ait larvalarda beslenmede azalma, yüzmede yavaşlama ve dengesizlik, dokunmaya karşı verilen tepkilerde gecikme, felç, gövdede çıkıntılarının oluşması, pigment kaybı, ödemlerin gelişmesi, kuyrukta kıvrılma gibi anormallikler, ağırlık artışında önemli düzeyde azalış ve aktivite kaybı belirtmiştir. Karaoğlu'nun (2011) temiz ve kirli olmak üzere iki bölgeden alınan *Pelodytes caucasicus* larvalarına amonyum nitrat gübresinin akut ve kronik konsantrasyonları uygulanarak etkilerinin değerlendirildiği çalışmasında, büyümenin engellendiği, davranışsal ve fiziksel (yavaşlama, dengesizlik, vücut şeklinde bozukluk, kamburluk) anormalliklere yol açtığı ayrıca ölümlere neden olduğu belirlenmiştir. Gürkan ve Hayretdağ (2009) ise bakır sülfatın *Bufo viridis* larvaları üzerinde gelişim ve büyümede gerilemeye neden olduğunu göstermiştir. Lawrence ve Isimo (2010) Endosülfan ve Diazinon pestisitlerin *Bufo regularis* yetişkin bireylerinde konsantrasyonun artışına bağımlı olarak biçimsel ve davranışsal anormalliklerin attığı gözlenmiştir. Gürkan vd. (2014) ise kadmiyum klorürün *Pseudepidalea variabilis* larvaları üzerindeki etkisini araştırmışlar ve ölüm oranının artan konsantrasyonlara paralel olarak arttığını tespit etmişlerdir. Birçok ranid türünün kimyasallara karşı hassaslığı çalışılmış olup, hiçbir türün birbirinden daha fazla dayanıklı olduğu sonucuna varılamamıştır (Bridges ve Semlitsch, 2000). *Rana macrocnemis* ile *Rana dalmatina*

üzerinde yapılan çalışmada; klorpirifosun LC₅₀ değeri 5.174 mg/L olarak bulunmuş ve deney sonucunda kuyruk kısmında bükülme, iskelet ve kas bozuklukları gibi anormallikler gözlenmiştir (Bernabò vd., 2011).

96 saatlik akut deney sonucunda; ağırlık ve boy bakımından gruplar arası önemli derecede farklılıklar gözlenmiştir. Ağırlık veya boy artışında önemli düzeyde azalışa sebep olan en düşük amonyum konsantrasyonu *P. regilla* larvaları için 24,6 mg/L, en düşük nitrat konsantrasyonu için ise 30 mg/L olarak tespit edilirken *X. laevis* larvaları için ağırlık veya boy artışında önemli düzeyde azalışa sebep olan en düşük amonyum konsantrasyonu 99,5 mg/L, en düşük nitrat konsantrasyonu ise 126 mg/L olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmanın akut deneyi sonunda dokularda; amonyum sülfatın artan konsantrasyonlarında histopatolojik etkileri gözlenmiştir. Histopatolojik incelemeler sonucunda konsantrasyon artışına paralel olarak: karaciğer, mide ve bağırsak dokularında; pigmentasyon kitlelerinin, hepatositlerde dejenerasyonun, vakuolizasyonun, nekrosisin, ödemin arttığı ve doku bütünlüğünün bozulduğu gözlenmiştir. Ayrıca bağırsak dokusunda epitel hücrelerin silindirik yapıdan kübik yapıya doğru değiştiği ve mide dokusunda kas hücre dejenerasyonunun da arttığı gözlenmiştir.

Karaciğer epitel hücrelerinde deformasyon, sinuzodal alanlara yakın hepatositlerde dejenerasyonlar, ödem, loblarının orta alanlarına yakın hücresel vakuolizasyonların arttığı ve bu alanlarda dejenerasyona ayrıca yoğun dilatasyon bölgeleriyle birleşen vakuoler yapıların nekroz alanlar oluşturduğu gözlenmiştir. Gürkan vd. (2014), kadmiyum klorürün ilk olarak karaciğeri hedef aldığı ve histopatolojik lezyona, vakuolizasyona ve hepatositlerde nekrozise sebep olduğunu belirtmişlerdir. Ikechukwu ve Ajeh (2011), kadmiyumun *Hyla occipitalis*'in karaciğer dokularında hepatositleri etkilemesi sonucu, safra salınımı ve sinuzodal hücrelerde dilatasyon gözlendiğini belirtmişlerdir. Gürkan ve Hayretdağ (2009) bakır sülfatın *Bufo viridis* karaciğerde deformasyon ve hepatoselüler dejenerasyon gözlenmiştir. Midede ise; doku bütünlüğünün bozulduğu, epitel hücrelerindeki yoğun dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların arttığı, hücre şişmesi ve dökülmelerinin dilatasyon ve vakuolizasyon

bölgelerinde daha yoğun olarak gözleendiği, dilatasyon ve pigmentasyona rastlanmıştır. Daha önce larvalar üzerinde yapılan histopatolojik çalışmalarda; bakır sülfatın (fungisit) *Bufo viridis* larvaları üzerindeki etkisi araştırılmış ve gastrointestinal sistemde epitel hücrelerde artan konsantrasyonlara bağlı olarak deformasyon artışı gözlenmiştir. Çakıcı (2013), karbarilin *Pelophylax bedriage*'nin mide bezlerinde şişlik, hücresel nekroz, sıkışık epitel hücre tabakası ve kanama gözlenmiştir. Histopatolojik incelemeler sonucunda bağırsak dokularında ise; epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, pigmentasyon, nekrosis ve ödemin oluştuğu gözlenmiştir. Çakıcı (2013), karbarilin *Pelophylax bedriage*'nin bağırsak dokularında epitel hücre tabakasında düzensizlik, iltihaplanma ve nekrosis gözlenmiştir. Gürkan ve Hayretdağ (2009) bakır sülfatın *Bufo viridis*'in bağırsak dokuları epitel hücrelerinde hasar, somit taslaklarında deformasyon ve anomaliler gözlenmiştir. Kirleticilerin amfibiler üzerindeki histopatolojik etkisi birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Organ hasarları amfibi larvalarında davranışsal etkilere yol açmakta ve ölüm ile bağlantılı olmaktadır. Yüzme kabiliyetini azalması ve tuhaflaşması; beyin dokularının parçalanması ve karaciğer ve böbrekler başta olmak üzere diğer organlardaki yetmezlikten kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak amonyum sülfat tarım gübresinin *Rana macrocnemis* (Uludağ kurbağası) larvalarını davranışsal ve fizyolojik olarak olumsuz yönde etkilediği, konsantrasyon miktarı arttıkça beslenme oranının azaldığı hatta beslenmenin olmadığı, yüzmede yavaşlama, ters yüzme, ölüm, pigment kaybı, ödem birikimi olaylarının arttığı görülmüştür. Ayrıca histopatolojik olarak incelenen mide, karaciğer ve bağırsak dokularında yine konsantrasyon miktarına bağlı olarak deformasyonların arttığı ve larvaların olumsuz etkilendiği görülmüştür.

5. ÖNERİLER

Günümüzde pek çok ülkede olduğu gibi Türkiye’de de tarım alanında yaygın olarak kullanılan amonyum sülfat gübresinin amfibi türleri üzerinde morfolojik ve histolojik olarak olumsuz etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Buna bağlı olarak da olumsuz etkilerin türden türe ve popülasyondan popülasyona değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.

Amonyum sülfat tarım gübresi bakımından temiz ve kirli sulardaki larvaların durumları karşılaştırılabilir. Bu iki lokalitedeki larvaların amonyum sülfat tarım gübresine karşı direnç durumları incelenebilir. Gübrenin etkilerini daha iyi görebilmek için uzun vadeli kronik deney uygulanarak morfoloji ve histopatolojik olarak karaciğer, mide ve bağırsak dokularında inceleme yapılabilir. Uygulanan akut deney sonucunda beyin, pronefrik tübül ve gonad gibi diğer organların dokuları da incelenebilir.

En önemlisi, yapılan tüm bu araştırmaların sonuçları daha geniş kitlelere ulaştırılmalı ve doğal dengenin korunması için insanlar bilinçlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Baran, İ., Ilgaz, Ç., Avcı, A., Kumlutaş, Y. ve Olgun, K., 2012.** Türkiye amfibi ve sürüngenleri. TÜBİTAK yayınları, no: 207, 1. Baskı, ISBN:975-403-356-0, 228 s., 10-51.
- Barinaga, M., 1990.** Where have all the froggies gone. *Science*, 247, 1033-1034. DOI: 0036-8075.
- Beebee, T.J.C. and Griffiths, R.A., 2005.** The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology. *Biological Conservation*, 125, 271-285.
- Bernabo, I., Brunelli, E., Berg, C., Bonacci, A. and Tripepi, S., 2008.** Endosulfan acute toxicity in *Bufo bufo* gills: ultrastructural changes and nitric oxide synthase localization. *Aquatic Toxicology*, 86, 447-456.
- Bernabo, I., Sperone, E., Tripepi, S. and Brunelli, E., 2011.** Toxicity of chlorpyrifos to larval *Rana dalmatina*: Acute and chronic effects on survival, development, growth and gill apparatus. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 704-718. DOI: 10.1007/s00244-011-9655-1.
- Bishop, C.A., Mahony, N.A., Struger, J., Ng, P. and Pettit, K.E., 1999.** Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activity in the Holland Riverwatershed, Ontario, Canada. *Environmental Monitoring and Assessment*, 57, 21-43.
- Bridges, C.M. and Semlitsch, R.D., 2000.** Variation in pesticide tolerance of tadpoles among and within species of Ranidae and patterns amphibian decline. *Conservation Biology*, 14, 1490-1499. DOI: 10.1046/j.1523-1739.2000.99343.x.
- Budak, A., Göçmen, B., Mermer, A. ve Kaya, U., 2002.** Omurgalılar Sistematığı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, no: 181, 1. Baskı, ISBN: 975-483-549-7, 247 s., 63-154.
- Budak, A. ve Göçmen, B., 2008.** Herpetoloji. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, no: 194, 2. Baskı, ISBN: 975-483-658-2, 227 s., 5-35.
- Burgett, A.A., Wright, C.D., Smith, G.R., Fortune, D.T. and Johnson, S.L., 2007.** Impact of ammonium nitrate on wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles: effects on survivorship and behavior. *Herpetological Conservation and Biology*, no: 2, 29-34.
- Cairns, J., Heath, B. R. and Parker, B. C., 1975.** The effects of temperature upon the toxicity of chemicals to aquatic organisms. *Hydrobiologia*, 47, 135-171. DOI: 10.1007/BF00036747.
- Camargo, J.A. and Ward, J.V., 1992.** Short-term toxicity of sodium nitrate (NaNO₃) to non-target freshwater invertebrates. *Chemosphere*, 24, 23-28.

- Carey, C., Cohen, N. and Rollins-Smith, L., 1999.** Amphibian declines: an immunological perspective. *Developmental and Comparative Immunology*, 23, 459-472.
- Collins, J.P. and Storfer, A., 2003.** Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions*, 9, 89-98. DOI: 10.1046/j.1472-4642.2003.00012.x.
- Çakıcı, Ö., 2013.** Carbaryl-induced histopathologic alterations in the digestive tract of the levantine frog, *Pelophylax bedriagae*. *Toxicologic Pathology*, 1-9. DOI: 10.1177/0192623313503517.
- Davidson, C., Shaffer, H.B. and Jennings, M. R., 2001.** Declines of the California red-legged frog: climate, UV-B, habitat, and pesticides hypotheses. *Ecological Applications*, 11, 464-479.
- Davidson, C., Shaffer, H.B. and Jennings, M.R., 2002.** Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate-change hypotheses for California amphibian declines. *Conservation Biology*, 16, 1588–1601. DOI: 10.1046/j.1523-1739.2002.01030.x.
- Davidson, C., 2004.** Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecological Applications*, 14, 1892-1902.
- Demirsoy, A., 2005.** Yaşamın Temel Kuralları Cilt-III/Kısım-I. Metaksan yayınları, no: 105, 6. Baskı, ISBN: 975-7746-13-4, 684 s., 531-616.
- De Solla, S.R, Pettit, K.E., Bishop, C.A., Cheng, K.M. and Elliott, J.E., 2002.** Effects of agricultural runoff on native amphibians in the Lower Fraser River Valley, British Columbia, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 353-360. DOI: 10.1002/etc.5620210218.
- Duellman, W.E. and Trueb, L., 1986.** *Biology of Amphibians*. Johns Hopkins University Press, ISBN: 0-8018-4780-X, 677 s., 114-128.
- Dunson, W.A., Wyman, R.L. and Corbett, E.S., 1992.** A symposium of amphibians declines and habitat acidification. *Journal of Herpetology*, 26, 349-352.
- Ezemonye, L.I.N. and Ilechie, I., 2007.** Acute and chronic effects of organophosphate pesticides (Basudin) to amphibian tadpoles. *African Journal of Biotechnology*, 6, 1554-1558.
- Garcia-Munoz, E., Guerrero, F. and Parra, G., 2009.** Effects of copper sulfate on growth, development and escape behavior in *Epidalea calamita* embryos and larvae. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56, 557-565. DOI: 10.1007/s00244-008-9201-y.
- Gosner, K.L. 1999.** *Tadpoles: the biology of anuran larvae*. The University of Chicago Press, no: 16, ISBN: 0-226-55762-6, 443 s., 7-17.

- Griffis-Kyle, K.L. and Ritchie, M.E., 2007.** Amphibian survival, growth and development in response to mineral nitrogen exposure and predator cues in the field: an experimental approach. *Oecologia*, 152, 633-642. DOI: 10.1007/s00442-007-0686-2.
- Gürkan, M. ve Hayretdağ, S., 2009.** Morphological and histological effects of copper sulfate on the larval development of green toad, *Bufo viridis*. TÜBİTAK yayınları, 36(2), 231-240. DOI: 10.3906/zoo-0909-18.
- Gürkan, M., Çetin, A. ve Hayretdağ, S., 2014.** Acute toxic effects of cadmium in larvae of the green toad, *Pseudepidalea variabilis*. Toxicity in green toad larvae, 65, 301-309. DOI: 10.2478/10004-1254-65-2014-2522.
- Hatch, A.C. and Blaustein, A.R., 2000.** Combined effects of UV-B, nitrate, and low pH reduce the survival and activity level of larval cascades frogs (*Rana cascadae*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39, 494-499. DOI: 10.1007/s2440010132.
- Hatch, A.C. and Blaustein, A.R., 2003.** Combined effects of UV-B radiation and nitrate fertilizer on larval amphibians. *Ecological Applications*, 13, 1083-1093.
- Hatipoğlu, F., Alpaslan, M. ve Güneş A., 1996.** Türkiye’de Gübre kullanımı ve Çevre Üzerine Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 20, 1-5.
- Houlahan, J. E. and Findlay, C. S., 2003.** The effects of adjacent land use on wetland amphibian species richness and community composition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60, 1078–1094. DOI: 10.1139/f03-095.
- Howe, M.C., Berrill, M. Pauli, D. B., Helbing, C. C., Werry, K. and Veldhoen, N., 1998.** Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 1928-1938. DOI: 10.1897/03-71.
- Hecnar, S.J., 1995.** Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from Southern Ontario. *Environmental Chemistry*, 14, 2131-2137. DOI: 10.1002/etc.5620141217.
- Ikechukwu, E.L. and Ajeh, E.A., 2011.** Histopathological alterations in the liver and lungs of *Hoplobatrachus occipitalis* exposed to sub lethal concentrations of cadmium. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5/11, 1062-1068.
- Johansson, M., Räsänen, K. and Merilä, J., 2001.** Comparison of nitrate tolerance between different populations of the common frog, *Rana temporaria*. *Aquatic Toxicology*, 54, 1-14.
- Johansson, M., Piha, H., Kylin, H. and Merila, J., 2006.** Toxicology of six pesticides to common frog (*Rana temporaria*) tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 3164-3170. DOI: 10.1897/05-685R1.1.

- Kacar, B. 1992.** Yapraktan Bardağa Çay. T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları, no:23, 441 s., 32-35.
- Kang, H.S., Gye, M.C. and Kim, M.K., 2008.** Effects of endosulfan on survival and development of *Bombina orientalis* (Boulenger) embryos. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 81, 262-265. DOI: 10.1007/s00128-008-9475-9.
- Karaoglu, H., Kutrup, B. ve Ogut, H., 2010.** Intraspecific differences in responses of Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*) tadpoles exposed to environmentally relevant and acute levels of ammonium nitrate fertilizer. Journal of Freshwater Ecology, 25, 3, 353-366. DOI: 10.1080/02705060.2010.9664378.
- Karaoğlu, H., 2011.** Amonyum Nitrat Suni Gübresinin Kafkas Kurbağası (*Pelodytes caucasicus*) Larvaları Üzerindeki Akut ve Kronik Etkileri. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 133 s., 22-31.
- Kuru, M., 2001.** Omurgalı Hayvanlar. Palme Yayınları, no: 145, 6. Baskı, ISBN: 975-7477-52-4, 837 s., 272-374.
- Lawrence, E. and Isioma, T., 2010.** Acute toxic effects of Endosulfan and Diazinon pesticides on adult amphibians (*Bufo regularis*), Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 2/5, 73-78.
- LeNoir, J. S., McConnell, L. L., Fellers, G. M., Cahill, T. M. and Serber, J. N., 1999.** Summertime transport of current use pesticides from California's central valley of the Sierra Nevada Mountain range, USA. Environmental Toxicology and Chemistry, 18, 2715-2722. DOI: 10.1002/etc.5620181210.
- Lips, K.R., 1998.** Decline of a tropical montane amphibian fauna. Conservation Biology, 12, 106-117. DOI: 10.1111/j.1523-1739.1998.96359.x.
- Mann, R.M., Hyne, R.V., Choung, C.B. and Wilson, S.P., 2009.** Amphibians and agricultural chemicals: Review of the risks in a complex environment. Environmental Pollution, 157, 2903-2927.
- Marco, A. and Blaustein, A.R., 1999.** The effects of nitrite on behavior and metamorphosis in Cascades frogs (*Rana cascadae*). Environmental Toxicology and Chemistry, 18, 946-949. DOI: 10.1002/etc.5620180519.
- Marco, A., Consuelo, Q. and Blaustein, A.R., 1999.** Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest. Environmental Toxicology and Chemistry, 18-10, 2836-2839. DOI: 10.1002/etc.5620181225.
- Özeti, N. ve Yılmaz, İ., 1994.** Türkiye Amfibileri. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, no: 151, 2. Baskı, ISBN: 975-483-236-6, 221 s., 13-157.

- Păunescu, A., Ponopol, C.M. Grigorean, V.T. and Popescu, M., 2012.** Histopathological changes in the liver and kidney tissues of marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) induced by the action of Talstar 10EC insecticide. *Analele Universității din Oradea - Fascicula Biologie*, 1, 5-10.
- Phillips, K., 1990.** Where have all the frogs and toads gone?. *Biological Science*, 40, 422-424.
- Relyea, R.A. and Mills, N., 2001.** Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to gray treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 2491–2496. DOI: 10.1073/pnas.031076198.
- Rouse, J.D., Bishop, C.A. and Struger, J., 1999.** Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. *Environmental Health Perspectives*, 107, 799-803.
- Rowe, C.L., Hopkins, W.A. and Bridges, C., 2003.** Physiological ecology of amphibians in relation to susceptibility to natural and anthropogenic factors. In: *Amphibian Decline: An Integrated Analysis of Multiple Stressor Effects*. G. Linder, S. Krest and D.W. Sparling (Editors). Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, Florida, ISBN: 978-1180611555, 345 s., 9-58.
- Sayım, F., 2007.** Acute toxic effects of malathion on the 21st stage larvae of the marsh frog. *Turkish Journal of Zoology*, 32, 99-106.
- Schuytema, G.S. and Nebeker, A.V., 1999a.** Comparative toxicity of ammonium and nitrate compounds to Pacific tree frog, and African clawed frog tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2251-2257. DOI: 10.1002/etc.5620181019.
- Schuytema, G.S. and Nebeker, A.V., 1999b.** Effects of ammonium nitrate, sodium nitrate, and urea on Red-Legged Frogs, Pacific Treefrogs, and African Clawed Frogs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 357-364.
- Sparling, D.W., Lowe, T.P., Day, D. and Dolan, K., 1995.** Responses of amphibian populations to water and Soil Factors in Experimentally-treated aquatic macrocosms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29, 455-461.
- Sparling, D.W., Fellers, G.M. and McConnell, L.L., 2001.** Pesticides and amphibian population declines in California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1591-1595. DOI: 10.1002/etc.5620200725.
- Sparling, D.W. and Fellers, G., 2007.** Comparative toxicity of chlorpyrifos, diazinon, malathion and their oxon derivatives to larval *Rana boylei*. *Environmental Pollution*, 147, 535-539.

- Taylor, B., Skelly, D., Demarchis, L.K., Slade, M.D., Galusha, D. and Rabinowitz, P.M., 2005.** Proximity to pollution sources and risk of amphibian limb malformation. *Environmental Health Perspectives*, 113, 1497–1501.
- Tegowska, E., Grajpel, B., Worek, K., Wilczynska, B. and Piechowicz, B., 2004.** Effects of acetamipride on development and consumption of iodine by tadpole of *Rana temporaria*. *Zoologia Poloniae*, 49/1-4, 181-190.
- URL-1, 2014.** <http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=58651> (5 Aralık 2014).
- URL-2, 2015.**
http://www.tarimkutuphanesi.com/Azotlu_gubrelerin_ozellikleri_Dr._Yusuf_ISI_K_Koy_Hiz._Ars._Enst._01115.html (10 Mart 2015).
- Van Dam, R.A., Camilleri, C. and Finlayson, C.M., 1998.** The potential of rapid assessment techniques as early warning indicators of wetland degradation. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 13, 297-312.
- Wyman, R.L., 1990.** What's happening to the amphibians? *Conservation Biology*, 4, 350-352.
- Xu, Q. and Oldham, R.S., 1997.** Lethal and Sublethal Effects of Nitrojen Fertilizer Ammonium Nitrate on Common Toad (*Bufo bufo*) Tadpoles. *Environmental Contamination and Toxicology*, 32, 298-303.
- Yang, F.X., Xu, Y. and Wen, S., 2005.** Endocrine-disrupting effects of nonylphenol, bisphenol A, and p, p'-DDE on *Rana nigromaculata* tadpoles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75, 1168–1175. DOI: 10.1007/s00128-005-0872-z.

ÖZGEÇMİŞ

31.05.1990 tarihinde Rize/Merkez’de doğdu. İlkokulu 23 Şubat İlköğretim Okulu’nda (Ardahan), Ortaöğrenimi Kurtuluş İlköğretim Okulu’nda (Rize) ve liseyi Hasan Sağır Lisesi’nde tamamladı. 2007-2008 yılında şimdiki adı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi olan Rize Üniversitesi, Biyoloji programını kazandı. 2011-2012 eğitim öğretim yılının bahar döneminde lisans programını tamamladıktan sonra 2012-2013 eğitim öğretim döneminde aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimini sürdürmektedir.