

**T.C**  
**RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMONYUM SÜLFAT'IN SİĞİLLİ KURBAĞA (*Bufo bufo*)**  
**LARVALARININ GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ AKUT**  
**TOKSİKOLOJİK, MORFOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK**  
**ETKİLERİ**

**GÜLŞAH KÖSEOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DOÇ. DR. NURHAYAT ÖZDEMİR**  
**TEZ JÜRİLERİ**  
**PROF. DR. BİLAL KUTRUP**  
**YRD. DOÇ. DR. SERKAN GÜL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RİZE-2015**

**Her Hakkı Saklıdır**

T.C.  
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMONYUM SÜLFAT'IN SIĞILLI KURBAĞA (*Bufo bufo*)  
LARVALARININ GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİKOLOJİK,  
MORFOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR danışmanlığında Gülşah KÖSEOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 02/04/2015 tarihinde BİYOLOJİ Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Ünvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan

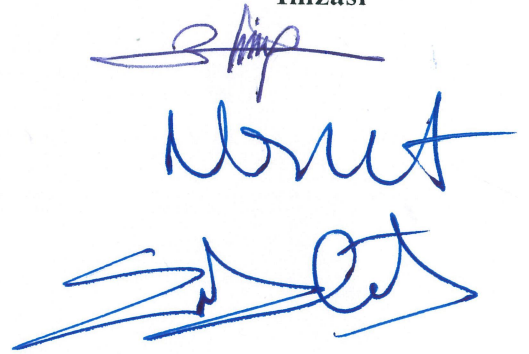
: Prof.Dr. Bilal KUTRUP

Üye

: Doç.Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

Üye

: Yrd.Doç.Dr. Serkan GÜL





PROF. DR. SELAMİ SAŞMAZ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜ 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, Büşra KARACA, su analizlerimin yapılmasında ve toksikoloji konusunda yardımlarını esirgemeyen Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Öğretim üyesi Prof. Dr. Bülent VEREP'e, histoloji çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarından dolayı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi öğretim üyeleri; Doç. Dr. Yıldırım KALKAN, Doç. Dr. Levent TÜMKAYA ve Uzm. Erva ESMER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları ve sonrasında yapılan bütün çalışmalarda yanımda olup tezimin bu aşamaya gelmesinde manevi desteklerini esirgemeyen Cansu KÖSEOĞLU, Aycan KÖSEOĞLU, Kader TAN, Damla BİLALOĞLU ve İlhan BİLALOĞLU'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzakta da olsalar hiçbir zaman manevi desteklerini ve bilgilerini esirgemeyen dostlarım Sema CEVAHİR ve Tuğçe YILDIZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sonsuz sabır ve sevgi ile her zaman yanımda olan ailemin bütün üyelerine minnetlerimi sunarım.

**GÜLŞAH KÖSEOĞLU**

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “**Amonyum sülfat’ın siğilli kurbağa (*Bufo bufo*) larvalarının gelişimi 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. 30/04/2015

**GÜLŞAH KÖSEOĞLU**

**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 SİĞİLLİ KURBAĞA (*Bufo bufo*) LARVALARININ GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİKOLOJİK, MORFOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

GÜLŞAH KÖSEOĞLU

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

Bu çalışmada Mayıs 2014 tarihinde Rize-Çamlıhemşin Çat Köy'ü mevkiinden (1300 m) toplanan *Bufo bufo* (Siğilli kurbağa) türüne ait yumurtalardan elde edilen Gosner 32. evredeki larvalara değişik konsantrasyonlarda (0, 75, 100, 250, 500, 750, 1000 mg/L) 96 saat boyunca uygulanan amonyum sülfat tarım gübresinin akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkileri incelenmiştir. Amonyum sülfatın LC<sub>50</sub> değeri 1155.672 mg/L olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analizler sonucunda yüksek konsantrasyonlarda (750 ve 1000 mg/L) amonyum sülfata maruz kalan *Bufo bufo* örneklerinde ortalama boy ve ağırlığın azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca amonyum sülfat tarım gübresinin *Bufo bufo* larvalarını davranışsal ve fizyolojik olarak olumsuz yönde etkilediği, konsantrasyon miktarı arttıkça, yüzmede yavaşlama, ölüm, pigment kaybı, ödem birikimi, hareket süresinin kısalması, omurga eğriliği ve kuyruk deformasyonu olaylarının arttığı görülmüştür. Ayrıca histopatolojik olarak incelenen mide, karaciğer, bağırsak, beyin, gonad ve pronefrik tübül kesitlerinde epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, pigmentasyon, nekrosis ve bağ doku artışı, germ epitel dejenerasyonu ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdelerinin konsantrasyon miktarına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak 96 saatlik akut deney sonunda; amonyum sülfat tarım gübresinin *Bufo bufo* larvaları üzerindeki morfolojik, davranışsal, fizyolojik ve histopatolojik etkileri ilk defa açığa çıkarılmıştır.

2015, 122 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Bufo bufo*, akut toksikoloji, Çamlıhemşin, Amonyum sülfat, histopatoloji.

## ABSTRACT

### THE ACUTE TOXICOLOGICAL, MORPHOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF AMMONIUM SULPHATE ON THE LARVAL DEVELOPMENT OF COMMON TOAD (*Bufo bufo*)

GÜLŞAH KÖSEOĞLU

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

In this study, acute toxicological, morphological and histopathological effects of applied agricultural fertilizer ammonium sulphate in different concentration (0, 75, 100, 250, 500, 750, 1000 mg/L) on the larvae in stage Gosner 32 for 96 hours obtained from eggs of *Bufo bufo* (Common toad) collected from Rize-Çamlıhemşin Çat village on May 2014 were examined. The LC<sub>50</sub> value of the ammonium sulphate was calculated as 1155.672 mg / L. As a result of statistical analysis, it was observed that the average length and weight of *Bufo bufo* samples exposed to higher concentration (750 and 1000 mg/L) of ammonium sulphate was reduced. Additionally, it was observed that agricultural fertilizer of ammonium sulphate effects *Bufo bufo* larvae behavioral and physiological adversely and by the concentration increases slow swimming, death, pigment loss, edema accumulation, shortening of the activity, skewness of the vertebra and tail deformation were increased. Besides, 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, intestines, brain, gonad and pronephric tubules sections depending on the amount and concentration of the fertilizer. As a result, at the end of 96-hours acute experiments; the acute morphological, behavioral, physiological and histopathological effects of the agricultural fertilizer ammonium sulphate on larvae of *Bufo bufo* were revealed for the first time.

2015, 122 pages

**Key words:** *Bufo bufo*, acute toxicology, Çamlıhemşin, ammonium sulfate, histopathology

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ .....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ .....	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIII
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Amfibiler Hakkında Genel Bilgiler.....	6
1.2.1. Ekolojik Özellikler ve Yayılış.....	6
1.3. Amonyum Sülfat Gübresi ve Çay Tarımında Kullanımı .....	7
1.3.1. Azotlu Gübrelerin Canlılar Üzerindeki Etkileri .....	8
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	10
2.1. Materyal ve Metot .....	10
2.1.1. Çalışan Türün Sistemattikteki Yeri .....	10
2.1.2. Morfolojik Özellikleri .....	12
2.1.3. Çalışma Alanının Özellikleri.....	12
2.1.4. Su Örneklerinin Alınması ve Muhafazası .....	13
2.1.5. Su Örneklerinin İncelenmesi .....	13
2.1.6. Yumurta Örneklerinin Alınması .....	14
2.1.7. Yumurtaların Bakımı .....	15
2.1.8. Larvaların Uygun Gelişme Aşamasına Kadar Büyütülmesi .....	15
2.2. Deney için Uygun Larvanın Seçimi .....	16
2.2.1. Deney Şartları ve Deney Çözeltilerinin Hazırlanması .....	16
2.4. Histolojik Çalışmaların Yapılışı.....	17
2.5. Kullanılan İstatiksel Analizler.....	18
3. BULGULAR .....	20
3.1. Su Analizi Sonuçları .....	20

3.2.	Akut Deney .....	20
3.2.1.	0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	21
3.2.2.	75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	22
3.2.3.	100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	23
3.2.4.	250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	23
3.2.5.	500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	24
3.2.6.	750 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	24
3.2.7.	1000 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	25
3.3.	Histopatolojik İncelemeler .....	28
3.3.1.	0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	29
3.3.1.1.	Karaciğerdeki Gözlemler .....	29
3.3.1.2.	Midedeki Gözlemler.....	30
3.3.1.3.	Bağırsaktaki Gözlemler.....	32
3.3.1.4.	Beyindeki Gözlemler .....	33
3.3.1.5.	Gonadlardaki Gözlemler .....	35
3.3.1.6.	Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	36
3.3.2.	75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	38
3.3.2.1.	Karaciğerdeki Gözlemler .....	38
3.3.2.2.	Midedeki Gözlemler.....	39
3.3.2.3.	Bağırsaktaki Gözlemler.....	41
3.3.2.4.	Beyindeki Gözlemler .....	42
3.3.2.5.	Gonadlardaki Gözlemler .....	44
3.3.2.6.	Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	45
3.3.3.	100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	47
3.3.3.1.	Karaciğerdeki Gözlemler .....	47
3.3.3.2.	Midedeki Gözlemler.....	48
3.3.3.3.	Bağırsaktaki Gözlemler.....	50
3.3.3.4.	Beyindeki Gözlemler .....	51
3.3.3.5.	Gonadlardaki Gözlemler .....	53
3.3.3.6.	Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	54
3.3.4.	250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	56
3.3.4.1.	Karaciğerdeki Gözlemler .....	56



3.3.4.2. Midedeki Gözlemler.....	57
3.3.4.3. Bağırsaktaki Gözlemler.....	59
3.3.4.4. Beyindeki Gözlemler .....	60
3.3.4.5. Gonadlardaki Gözlemler .....	62
3.3.4.6. Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	63
3.3.5.3. Bağırsaktaki Gözlemler.....	68
3.3.5.4. Beyindeki Gözlemler .....	69
3.3.5.5. Gonadlardaki Gözlemler .....	71
3.3.5.6. Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	72
3.3.6. 750 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	74
3.3.6.1. Karaciğerdeki Gözlemler .....	74
3.3.6.2. Midedeki Gözlemler.....	75
3.3.6.3. Bağırsaktaki Gözlemler.....	77
3.3.6.4. Beyindeki Gözlemler .....	78
3.3.6.5. Gonadlardaki Gözlemler .....	80
3.3.6.6. Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	81
3.3.7. 1000 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler .....	83
3.3.7.1. Karaciğerdeki Gözlemler .....	83
3.3.7.2. Midedeki Gözlemler.....	84
3.3.7.3. Bağırsaktaki Gözlemler.....	86
3.3.7.4. Beyindeki Gözlemler .....	87
3.3.7.5. Gonadlardaki Gözlemler .....	89
3.3.7.6. Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler .....	90
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	96
5. ÖNERİLER.....	100
KAYNAKLAR .....	101
ÖZGEÇMİŞ .....	106

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Bufo bufo</i> 'da amplexus.....	7
Şekil 2. Amfibilerde görülen yumurta tipleri.....	7
Şekil 3. Ergin bir <i>Bufo bufo</i> örneği.....	10
Şekil 4. Çalışma yapılan alanın harita üzerinde gösterimi.....	12
Şekil 5. Yumurta örneklerinin alındığı ortam.....	13
Şekil 6. Su analizlerinin yapıldığı Spektroquant cihazı ve Portatif pH metre.....	14
Şekil 7. Yumurtaların toplanması.....	15
Şekil 8. Histopatolojik incelemelerde kullanılan cihazlar.....	19
Şekil 9. Kontrol grubundaki normal bireyin görünümüleri.....	22
Şekil 10. 75 mg/L konsantrasyondaki görünümler.....	22
Şekil 11. 100 mg/L konsantrasyondaki görünümler.....	23
Şekil 12. 250 mg/L konsantrasyondaki görünümler.....	23
Şekil 13. 500 mg/L konsantrasyondaki görünümler.....	24
Şekil 14. 750 mg/L konsantrasyondaki görünümler.....	25
Şekil 15. 1000 mg/L konsantrasyondaki görünümler.....	26
Şekil 16. 0 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	29
Şekil 17. 0 mg/L konsantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	31
Şekil 18. 0 mg/L konsantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	32
Şekil 19. 0 mg/L konsantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	34
Şekil 20. 0 mg/L konsantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	35
Şekil 21. 0 mg/L konsantrasyondaki Pronefrik tübüllerde histopatolojik incelemeler.....	37
Şekil 22. 75 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik incelemeler.....	38
Şekil 23. 75 mg/L konsantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	40
Şekil 24. 75 mg/L konsantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	41
Şekil 25. 75 mg/L konsantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	43
Şekil 26. 75 mg/L konsantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	44
Şekil 27. 75 mg/L konsantrasyondaki pronefrik tübüllerde histopatolojik incelemeler.....	46
Şekil 28. 100 mg/L konsantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	47
Şekil 29. 100 mg/L konsantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	49
Şekil 30. 100 mg/L konsantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	50

<b>Şekil 31.</b> 100 mg/L konantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	52
<b>Şekil 32.</b> 100 mg/L konantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	53
<b>Şekil 33.</b> 100 mg/L konantrasyondaki pronefrik tübüllerde histopatolojik incelemeler.....	55
<b>Şekil 34.</b> 250 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	56
<b>Şekil 35.</b> 250 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	58
<b>Şekil 36.</b> 250 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	59
<b>Şekil 37.</b> 250 mg/L konantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	61
<b>Şekil 38.</b> 250 mg/L konantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	62
<b>Şekil 39.</b> 250 mg/L konantrasyondaki pronefrik tübüllerde histopatolojik incelemeler.....	64
<b>Şekil 40.</b> 500 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	65
<b>Şekil 41.</b> 500 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	67
<b>Şekil 42.</b> 500 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	68
<b>Şekil 43.</b> 500 mg/L konantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	70
<b>Şekil 44.</b> 500 mg/L konantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	71
<b>Şekil 45.</b> 500 mg/L konantrasyondaki pronefrik tübüllerde histopatolojik incelemeler.....	73
<b>Şekil 46.</b> 750 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	74
<b>Şekil 47.</b> 750 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	76
<b>Şekil 48.</b> 750 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	77
<b>Şekil 49.</b> 750 mg/L konantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	79
<b>Şekil 50.</b> 750 mg/L konantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	80
<b>Şekil 51.</b> 750 mg/L konantrasyondaki pronefrik tübüllerde histopatolojik inceleme.....	82
<b>Şekil 52.</b> 1000 mg/L konantrasyondaki karaciğerde histopatolojik inceleme.....	83
<b>Şekil 53.</b> 1000 mg/L konantrasyondaki midede histopatolojik inceleme.....	85
<b>Şekil 54.</b> 1000 mg/L konantrasyondaki bağırsaklarda histopatolojik inceleme.....	86
<b>Şekil 55.</b> 1000 mg/L konantrasyondaki beyinde histopatolojik inceleme.....	88
<b>Şekil 56.</b> 1000 mg/L konantrasyondaki gonadlarda histopatolojik inceleme.....	89
<b>Şekil 57.</b> 1000 mg/L konantrasyondaki pronefrik tübüllerde histopatolojik incelemeler.....	91

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri.....	14
<b>Tablo 2.</b> Su analiz sonuçları.....	20
<b>Tablo 3.</b> Uygulamaya başlamadan önce 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama ağırlık ve boyları.....	21
<b>Tablo 4.</b> Uygulamaya bittikten sonra 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama ağırlık ve boyları.....	21
<b>Tablo 5.</b> Uygulama bittikten sonra 750 mg/L lik kaplarda gözlemlenen ölü birey sayısı.....	27
<b>Tablo 6.</b> Uygulama bittikten sonra 1000mg/L lik kaplarda gözlemlenen ölü birey sayısı.....	27
<b>Tablo 7.</b> Deney sonucundaki LC10, LC50 ve LC70 değerleri.....	28
<b>Tablo 8.</b> 0 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	30
<b>Tablo 9.</b> 0 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	31
<b>Tablo 10.</b> 0 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	33
<b>Tablo 11.</b> 0 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	34
<b>Tablo 12.</b> 0 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	36
<b>Tablo 13.</b> 0 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	37
<b>Tablo 14.</b> 75 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	39
<b>Tablo 15.</b> 75 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	40
<b>Tablo 16.</b> 75 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	42
<b>Tablo 17.</b> 75 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	43
<b>Tablo 18.</b> 75 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	45
<b>Tablo 19.</b> 75 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	46

<b>Tablo 20.</b> 100 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	48
<b>Tablo 21.</b> 100 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	49
<b>Tablo 22.</b> 100 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	51
<b>Tablo 23.</b> 100 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	52
<b>Tablo 24.</b> 100 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	54
<b>Tablo 25.</b> 100 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	55
<b>Tablo 26.</b> 250 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	57
<b>Tablo 27.</b> 250 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	58
<b>Tablo 28.</b> 250 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	60
<b>Tablo 29.</b> 250 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	61
<b>Tablo 30.</b> 250 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	63
<b>Tablo 31.</b> 250 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	64
<b>Tablo 32.</b> 500 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	66
<b>Tablo 33.</b> 500 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	67
<b>Tablo 34.</b> 500 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	69
<b>Tablo 35.</b> 500 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	70
<b>Tablo 36.</b> 500 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	72
<b>Tablo 37.</b> 500 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	73
<b>Tablo 38.</b> 750 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	75
<b>Tablo 39.</b> 750 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	76

<b>Tablo 40.</b> 750 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	78
<b>Tablo 41.</b> 750 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	79
<b>Tablo 42.</b> 750 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	81
<b>Tablo 43.</b> 750 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	82
<b>Tablo 44.</b> 1000 mg/L konsantrasyona ait karaciğerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	85
<b>Tablo 45.</b> 1000 mg/L konsantrasyona ait midedeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	86
<b>Tablo 46.</b> 1000 mg/L konsantrasyona ait bağırsaktaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	88
<b>Tablo 47.</b> 1000 mg/L konsantrasyona ait beyindeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	89
<b>Tablo 48.</b> 1000 mg/L konsantrasyona ait gonadlardaki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	90
<b>Tablo 49.</b> 1000 mg/L konsantrasyona ait pronefrik tübüllerdeki anormalliklerin görülme yüzdeleri.....	92

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ss.	Standart Sapma
g	Gram
mg	Miligram
L	Litre

# 1.GENEL BİLGİLER

## 1.1. Giriş

Günümüzde ekolojik tahribat konusuna büyük önem verilmeye başlanmış ve bu konu da çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Özellikle insan kaynaklı olan bu tahribatlar doğada ki diğer canlı grupları üzerinde büyük etki göstermektedir. Birçok canlı türü yok olmaya başlamıştır. Bu yüzdende birçok araştırmacı bu konuya dikkat çekmek ve tahribatın engellenmesi için çeşitli canlı gruplarını kullanarak deneyler gerçekleştirmişlerdir. Son yıllarda dünya çapında amfibi populasyonlarında da ciddi azalmalar olduğu dikkat çekmiştir. Birçok bilim adamına göre bu geri dönüşümsüz durumun muhtemel sebepleri arasında en güçlü ve en yaygın olanı tarımdaki ileri gelişmeler ve buna bağlı olarak çeşitli suni gübrelerin kullanılmasıdır (Miaud vd., 2011, Oldham vd., 1997; Vitousek vd., 1997; Fenn vd., 2003, Karaoğlu, 2010).

Tarımsal üretimde yüksek verim elde etmek için gübre uygulamaları zorunluluk olarak görülmektedir. Ancak uygulanan gübrelerin miktarları, çeşitleri ve uygulama zamanlarının farklılık göstermesi ve bu alandaki bilgi yetersizliği nedeniyle canlı sağlığı ve çevre olumsuz olarak etkilenmektedir. Gübrelemenin çevreye olan zararlı etkileri dolaylı ve doğrudan etkiler yönde değerlendirilebilmesine rağmen, etki dereceleri ve süreleri daha fazla önem taşımaktadır. Gereğinden fazla ve uzun süreli gübre kullanıldığında; topraklarda tuzlanma, ağır metal birikimi, besin maddesi dengesizliği, mikroorganizma etkinliğinin bozulması, sularda ötrofikasyon ve nitrat birikimi, havaya azot ve kükürt içeren gazların verilmesi, ozon tabakasının incilmesi, sera etkisi gibi çevresel problemler oluşmaya başlamaktadır. Sucul ortamlarda azot kirliliğinin ana kaynağını da bu tarımsal gübreler oluşturmaktadır (Miaud vd., 2011, Oldham vd., 1997; Vitousek vd., 1997; Fenn vd., 2003, Karaoğlu, 2010).

Amfibi populasyonları hakkında yapılan araştırmalar populasyon azalmasıyla tarımsal bölgeye yakınlık arasında ciddi bir ilişki olduğunu göstermiştir (Bishop vd., 1999; Davidson 2004). Pestisit ve gübre gibi tarımsal kimyasalların kullanımı çeşit, kombinasyon ve miktar bakımından farklılık göstermektedir (Mann vd., 2009).



Miaud vd., (2011) yaptıkları çalışmada populasyonlar arasında nitrat toleransları bakımından farklılık olup olmadığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışma için çok yaygın olan *Bufo calamita* türü seçilmiştir. İspanya ve Fransa' da farklı nitrat konsantrasyonlarına maruz kalan 8 populasyon seçilmiş ve larvaların ölüm ve aktiviteleri incelenmiştir. 8 populasyondan yumurta kümesi alınıp, örneklerin alındığı azot konsantrasyonları ölçülmüş. Herbir örnek laboratuara getirilip Gosner 25. evreye ulaşıldığında 12 litrelik havalandırılması olan ve içinde klorsuz su bulunan, 19-21°C sıcaklıklı kaplara koyulmuştur. 0, 50, 100, 500, 1000 mg/L NO<sub>3</sub>-N konsantrasyonları hazırlanmış ve 5 farklı konsantrasyon 3 tekrarlı olarak deney gerçekleştirilmiştir. 72 saatlik akut deneyi sonucunda bireylerin hiçbirinde ölüm gözlenmemiştir. Nitrate maruz kalan larvaların aktivitesinin düştüğü gözlemlenmiştir.

Birçok araştırma sonucunda, sulara karışan amonyum konsantrasyonlarının amfibi larvalarında çeşitli anormalliklere sebep olduğu, aktivite kaybına yol açtığı belirlenmiştir (Hecnar, 1995; Xu ve Oldham, 1997; Marco vd., 1999; Griffis-Kyle ve Ritchie, 2007; Burgett vd., 2007; Karaoğlu vd., 2010). 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; Schuyttema ve Nebeker, 1999a ve 1999b; Marco vd., 1999; Griffis-Kyle ve Ritchie, 2007; Burgett vd., 2007; Karaoğlu vd., 2010). Bunlara ek olarak, çeşitli nitrat bileşikleri amfibi larvalarında gelişme ve metamorfoz sürecini geciktirmektedir. (Marco, vd., 1999, Ortiz, vd., 2004, Oromi, vd., 2009).

Çoğu sucul ekosistemler gübre kullanımını sonucu azot kirliliğine maruz kalırlar ve yağmurla birlikte azot inorganik nitrojenik bileşiklere dönüşür (NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Örneğin, Kuzey Amerika'nın göllerinden toplanan 8545 su örneğinin %19.8 inde nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) konsantrasyonunun amfibilerde sub-lethal etkilere yol açan doz miktarını aştığı gözlenmiştir (Rouse vd., 1999).

Nitrat toksitesinin sucul hayvanlara etkisi nitrat konsantrasyonu ve maruz kalınan süre ile doğru orantılı olarak artar (Camaargo, vd., 2005). Eğer ölüm meydana gelmemişse bu etkiler tüm yaşam boyunca kendini göstermektedir (Watt ve Jarvis, 1997). Nitrate maruz kalan ergin semenderlerde, nitratın ikincil eşeyssel karakterlerin

ekspresyon zamanını değiştirerek ve vücut boyunu kısaltarak üremeyi etkilediği görülmüştür (Secondirt vd., 2009). Ayrıca semender larvalarında (Meredith ve Whiteman 2008) ve anura larvalarında (Marco, vd., 1999, Ortiz, vd., 2004, Oromi, vd., 2009) metamorfoz zamanını ve büyüklüğünü etkilediği görülmüş. Bununla birlikte nitrat larvanın performansını etkileyebilir (yüzme, beslenme) ve sucul ekosistemlerde üretkenliği ve av-avcı ilişkilerini değiştirerek kompleks etkiler oluşturabilir (Smith vd., 2006).

Xu ve Oldham (1997) amonyum nitratın vücut aktivitesini ve çevresel koşullara hassasiyeti kontrol eden merkezi sinir sistemini etkilediğinden bahsetmişlerdir. Dört farklı kirleticiye maruz bırakılan *Bufo melanostictus* larvalarının konsantrasyon artışına bağlı olarak şekil bozukluklarında artış gözlenmiştir. Artan konsantrasyonlarda ödem, deri ülseri ve özellikle kuyruk bölgesinde deformasyonlara rastlanmıştır. 96 saat boyunca kurşuna maruz bırakılan *Bufo regularis* larvalarında da aynı şekilde yüksek konsantrasyonlarda kuyrukta şekil bozukluğu ve yüzmede fonksiyon bozukluğu gözlenmiştir (Ndumbi, 2015). Ayrıca Miaud vd., (2011) *Bufo calamita* ile yaptıkları çalışmada özellikle 500mg/L ve üstü konsantrasyonlarda nitratın hareketlerde oldukça düşüşe neden olduğu gözlemlendi.. Aktivitedeki bu azalmalar merkezi sinir sisteminden kaynaklanabileceği yine bu çalışmada vurgulanmıştır.

Gürkan ve Hayretdağ (2012), yaptıkları çalışmada bakır sülfatın *Bufo viridis* larvaları üzerindeki akut toksikolojik etkilerini morfolojik ve histolojik olarak ortaya koymuşlardır. Gosner 21. evredeki *B. viridis* larvaları farklı konsantrasyonlarda (0,01, 0,05, ve 0,1 mg/L) bakır sülfata 120 saat süreyle maruz bırakılmışlardır. Bakır sülfatın LC<sub>50</sub> 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 CuSO<sub>4</sub>). Bununla birlikte karaciğerde hepatoselüler dejenerasyon, mide ve bağırsak epitel hücrelerinde hasar, somit taslaklarında deformasyon ve anomaliler gözlenmiştir ( $\geq 0,01$  mg/L CuSO<sub>4</sub>). 0,05 ve 0,1 mg/L CuSO<sub>4</sub> uygulamasının yapıldığı gruplardaki larvalarda, uyarılara daha az tepki verme, denge kaybı ve yüzme mesafesinin kısaltıldığı 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 maruz bırakmışlardır. Endosülfan ve Diazinon konsantrasyonlarına maruz kalma ile kontrol arasında ortalama ölüm oranında fark olduğu ( $p < 0,05$ ) gösterilmiştir. 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. Farklı kirleticilerin türler üzerindeki öldürücü etkileri de farklı olmaktadır. *Bufo bufo* türü üzerinde yapılan diğer akut toksikolojik çalışmalarda amonyum nitrat için  $LC_{50}$  değeri, 2.198.7 mg/L olarak bildirilmiştir (Xu ve Oldham, 1997). Bununla birlikte; Berger (1989) yine aynı türde 96 saat için  $LC_{50}$  değerini 20 mg/L olarak belirtmiştir. *B. melanostictus* larvalarına uygulanmış dört farklı kirleticinin 48 saat sonundaki  $LC_{50}$  değerlerine bakıldığında hepsinin ortalama öldürücü konsantrasyonlarının farklı olduğu görülmüştür (Chlorpyrifos 1.47 ppm, Dimethoate 8.89 ppm, Glyphosate 45.94 ppm, Propanil 1.46 ppm).

Isioma ve Lawrence (2013), bir organik klorürlü insektisit olan Endosulfanın *Bufo regularis* türünün beyin dokuları üzerindeki biyokimyasal ve histopatolojik etkilerini değerlendirmişlerdir. Örnekleri 28 gün süre ile 0.01, 0.02, 0.03 ve 0.04 mg'lik / L yarı öldürücü Endosülfan konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar. Glutasyon S-transferaz (GST), Asetilkolinesteraz (AChE), Kortikosteron, total protein ve kan şekeri seviyelerindeki değişiklikler araştırılmıştır. Sonuçta Kortikosteron ve Total Protein seviyelerinde kontrole göre önemli ölçüde düşüş gözlemlenirken, beyin GST düzeyleri önemli derecede artmıştır. Aynı zamanda glikoz seviyesinde de diferansiyel bir artış görülmüştür. 28 gün Endosulfana maruz kalmış bireylerin, beyinlerinde vakuolizasyona, ödeme, nöron hücrelerinde dejenerasyona sebep olduğu gözlenmiştir. Wang vd., (2012) *Bufo bufo gargarizans* da Butaklor herbisitinin karaciğer üzerine toksisitesini incelemişlerdir. *Bufo bufo gargarizans* rastgele ( $n = 15$ ) gruplara ayrılıp kontrol grubu ve deney grupları ayrı havalandırılmış su içinde ve butaklor ihtiva eden deney kapları içine yerleştirilmiştir (5,10,30ml / L). 3, 6 ve 9 gün sonra bireylerin karaciğerindeki histolojik etkilerine bakıldığı zaman, hepatik yapının arttığı ve kendi kendini yok

etmeye başladığı gözlenmiştir. *Bufo regularis* üzerinde yapılan histopatolojik çalışmada ise kirleticilerin *Bufo regularis* türünün karaciğerindeki epitel hücreleri yıkıma uğratarak doku bütünlüğünü bozduğundan bahsetmiştir (Sakr ve Hanafy, 2002).

Gürkan vd., (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 LC<sub>10</sub>, LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 26.98, 35.35 ve 46.31 µg/L olarak belirlemişlerdir. Ölü larvalar seçilip alınırken sağ kalan larvaların morfolojik ve histopatolojik incelemeleri yapılmıştır. Probit analizi değerlendirmesinde başlangıçta yapılan ölçümler ile deney bitiminde yapılan ölçümler arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Histopatolojik etkilerine bakıldığı zaman; karaciğerde vakuolizasyon ve artan konsantrasyonlar ile birlikte pronefrik tübüllerde deformasyon artışı görülmüştür. *Bufo viridis* larvaları üzerinde bakır sülfatın histopatolojik etkilerine bakıldığı zaman karaciğerde hepatoselüler dejenerasyon, mide ve bağırsak epitel hücrelerinde hasar, somit taslaklarında deformasyon ve anormallikler gözlemlenmiştir. Ndimbumi (2015) yaptığı çalışmada *Bufo regularis* larvalarında kurşunun (Pb), büyüme ve ön beyin gelişimi üzerindeki etkisini ortaya koymuştur. Larvalar 96 saat süre ile 1.8, 3.5, 6, 10 ve 15 mg / L kurşuna maruz bırakılmıştır. Kurşun için ortalama öldürücü konsantrasyon ( LC<sub>50</sub> ) 5,1 mg/L bulunmuştur. *Bufo regularis* ait kırk yumurta 7, 14, 21, 28 ve 35 gün süre ile ve her bir test kabı içinde, 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 10 mg / L kurşun konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Sonuçta kurşunun *Bufo regularis* üzerindeki histopatolojik etkilerine bakıldığı zaman ön beyinde nöral tüplerde zayıf gelişme ve kortekse gelen nöron geçişlerinde gecikmeler olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Özellikle tarımsal kimyasallarla ilgili alınması gereken önlemlerin belirlenebilmesi açısından bu kimyasallar ve kurbağalar üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmaların yapılması büyük önem taşımaktadır. Birçok ülkede nitrat bileşikleriyle yapılan çalışmaların sonuçları ışığında pek çok kurbağa türünün korunması açısından bilgi edinilmiş ve çeşitli önlemler alınmıştır. Fakat yaptığımız literatür taraması sonucunda bu tez kapsamında incelenen *Bufo bufo* türü, amonyum sülfat etkisi bakımından ne ülkemizde ne de yurt dışında ele alınmamış bir türdür.

Bu tez çalışmasında siğilli kurbağa olarak bilinen *Bufo bufo* türüne ait larvalara, tarımsal uygulama da kullanılan amonyum sülfat gübresinin akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

## 1.2. Amfibiler Hakkında Genel Bilgiler

Amphibia kelimesi iki taraflı yaşayışı olanlar anlamına gelir. Derileri çıplaktır ve nemli kalması için bol salgı bezi içerir. Gelişmeleri genel olarak metamorfoz ile olmaktadır. Günümüzde yaşayan gelişmiş amfibiler 3 takıma ayrılır. Bunlar;

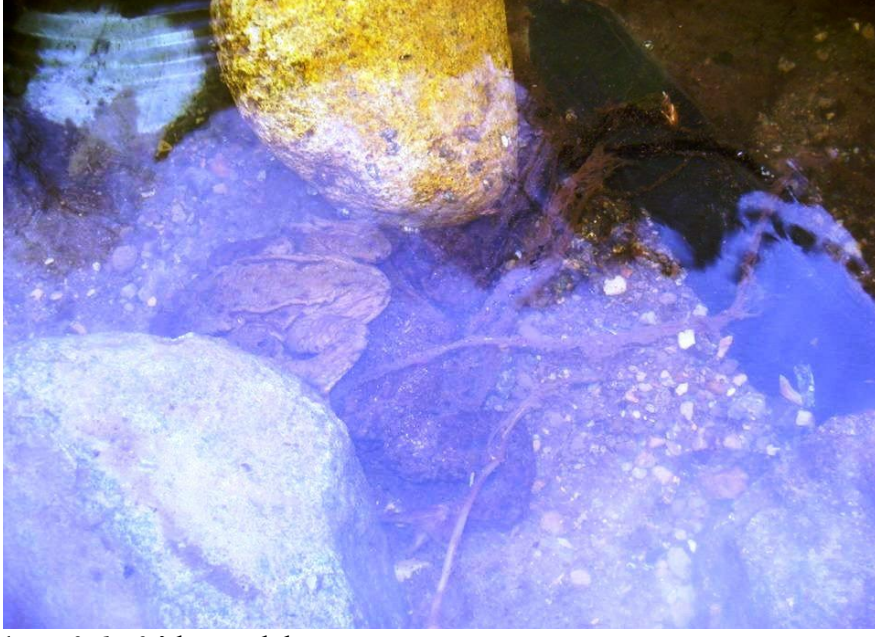
- 1) Anura (Salientia= Kuyruksuz kurbağalar),
- 2) Urodela (Caudata= Kuyruklu kurbağalar),
- 3) Apoda (Caesilia veya Gymnophiona= Bacaksız kurbağalar) dır.

Anura takımı, kozmopolit bir gruptur, dünyanın her tarafında bulunur. Vücut genişçe yapılı olup, baş ile gövde arasında, boyun kısmı bulunmaz. Kuyruksuz kurbağaların hepsi üreme zamanında suya gider ve larva safhalarını suda geçirirler. Üreme zamanı dışındaki hayat tarzları, cinslere göre değişir. Örneğin; *Bufo* cinsi karasal ve gececidir, *Hyla* cinsi genel olarak ağaçlarda veya ağaçsı bitkilerde yaşar, *Pelobates* cinsi kazıcı, *Bombina* cinsi sucul, *Rana* cinsi genç bireyler bir müddet karasal hayat sürer veya suyun içinden ziyade kenarlarında yaşarlar.

Erkek kurbağalar, hiç olmazsa üreme zamanında ses çıkarırlar. Dişiler sessizdir. Anura'larda çiftleşme, erkeğin ön bacaklarıyla dişiye koltuk veya kalça bölgesinden kavraması (ampleksus) şeklinde olur (Şekil 1). Koltuk bölgesinden kavrayanlar: *Bufo*, *Hyla* ve *Rana* cinsleridir. Kalça bölgesinden kavrayanlar: *Bombina*, *Pelobates* ve *Pelodytes* cinsleridir. Yumurtaları küresel şekillidirler (Şekil 2). Her bir yumurtada ovum'u saran jelatinimsi kılıf bir veya daha fazla tabakalıdır (Özeti ve Yılmaz, 1994).

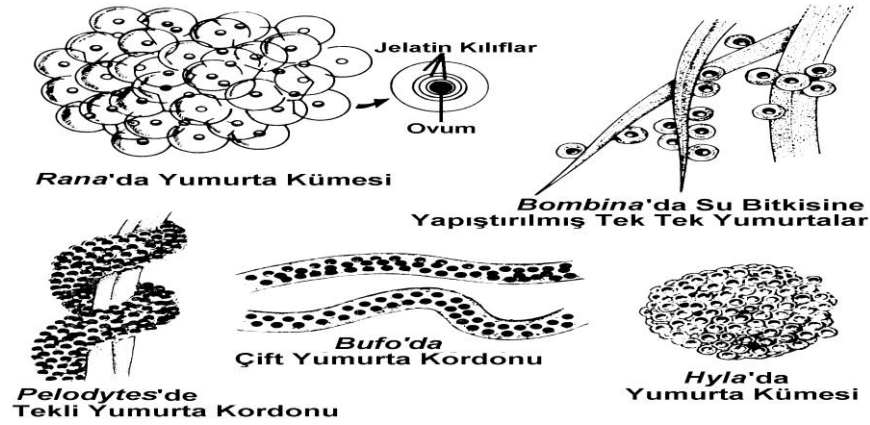
### 1.2.1 Ekolojik Özellikler ve Yayılış

Az bitkili veya ormanlık bölgelerde nemli taşlık kısımlarda yaşar. Gündüzleri taş altı, topraktaki oyuk ve deliklerde gizlenir.



Şekil 1. *Bufo bufo*'da amplexus

Geceleri avlanan tür, böcek, solucan ve yumuşak vücutlu hayvanlarla beslenir Baharda üreme zamanı havuz ve gölcüklere gider, iki kordon halinde dışarı çıkan yumurtalar sudaki bitki ve ağaç parçalarına sardırılır. Erkekler küçük bir köpek yavrusunun havlamasını andıran ses çıkarırlar. Bir dişi 5000-7000 yumurta bırakır. Deniz seviyesinden 3000 metreye kadar çıkmaktadır (Baran, vd., 2012).



Şekil 2. Amfibilerde görülen yumurta tipleri.

### 1.3. Amonyum Sülfat Gübresi ve Çay Tarımında Kullanımı

Asit özellikli bir gübre olduğu için nötr ve kireçli (alkali) topraklarda kullanılır. Uzun yıllar sürekli olarak toprağa verilmesi halinde topraktaki asit miktarını artırır. Bu

nedenle asitli topraklara verilmemelidir. Verilmek zorunda kalındığında ise bir miktar kireçle birlikte uygulanmalıdır. Genellikle beyaz renkli olup toz şekere benzediği için çiftçilerimiz tarafından “şeker gübre” diye de adlandırılır. Bitkilerde azot ihtiyacının karşılanmasında kullanılır. Yapısında bulunan kükürt sayesinde bitkinin kükürt ihtiyacı da karşılanır. Amonyum sülfat gübresi, nitratlı gübreler gibi kolay yıkanmamakta, bu nedenle de birçok bitkide ekimle birlikte verilebilmektedir. Çeltik ve hububat tarımında sıklıkla kullanılır. Fizyolojik asit karakterli bir gübredir (URL1).

1974-1991 yılları arasında çay tarımında kullanılan ahır gübresi miktarı azalırken; yapay gübre miktarı yıllar itibariyle artmıştır. Bu dönemde çay tarımında uygulanan gübrelerin % 60-70’i amonyum sülfat niteliğinde olup Çay Ekicileri Kooperatifleri aracılığıyla çay tarımıyla uğraşan çiftçilere sunulmuştur. 1991-2010 yılları arasında çay tarımında en fazla kullanılan gübre azot-fosfor-potasyum 25-5-10 karışımı (NPK 25-5-10) gübre olmuştur (Anonim, 2012; Yüksek vd., 2013).

Çay bitkisi için amonyum sülfat tercih edilen bir gübre olmakla beraber, bölge toprakları pH’larının çok düşük olması ve amonyum sülfat gübresinin de asit karakter göstermesi nedeniyle, amonyum nitrat gübresi tercih edilmelidir (URL2).

Sürdürülebilir çay tarımının devamı, çayın kalitesinin korunması ve veriminin artırılması ve üretilen çayın daha kolay ihraç edilebilmesi için çay tarımında gelişigüzel yapılan gübrelemeye son verilmelidir (Yüksek vd., 2013).

### **1.3.1. Azotlu Gübrelerin Canlılar Üzerindeki Etkileri**

Gelişmiş ülkelerde nüfus artışı % 0.5 düzeyinde iken gelişmekte olan ülkelerde bu oran % 2.5’e kadar uzun süre sonra ortaya çıkabilecek konular daha az dikkate alınmakta ve bunun çıkabilmektedir. İmkânların daha sınırlı olduğu gelişmekte olan ülkelerde, artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla kimi zaman güvenlik ve çevre kirliliği gibi, etkileri sonucu olarak tarımsal alanlarda kontrolsüz gübre ve ilaç kullanımı gündeme gelebilmektedir (Atılğan vd., 2007).

İdeal koşullarda bile toprağa uygulanan azotlu gübrelerin ancak % 50'sinin bitkiler tarafından kullanıldığı, % 2-20'sinin buharlaşma yoluyla kaybedildiği, % 15-25'inin killi toprakta bulunan organik bileşikler ile birleştiği ve geri kalan % 2-10'luk kısmının yüzey ve yer altı sularına karıştığı ifade edilmektedir (URL 4, Sönmez vd., 2008). Sulardaki yüksek nitrat seviyesi, canlılığın azalmasına, ölü çocuk doğumlarına, düşük doğum ağırlıklarına ve çiftlik hayvanlarında düşük ağırlıklara neden olmaktadır (URL 3, Sönmez vd., 2008).

Kimyasal gübreler fazla miktarda kullanıldıkları zaman mikroorganizmalar, solucanlar ve çeşitli toprak kurtçuklarına tahrip edici ve öldürücü etki yapmaktadır. Bu organizmalar ile direk temas eden gübre tozları öldürücü etki yapmaktadır. Topraklara aşırı azotlu gübreler verilmesi *Rhizobium sp.* gibi simbiyotik azot fikse eden mikro organizmaların aktivitelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durumda havanın serbest azotundan faydalanma yolu tıkanmaktadır. Buna ilave olarak verilen fazla azotlu gübreler nitrifikasyon bakterilerini faaliyetlerini sınırlandırmaktadır. Böylece masrafsız olan ikinci azot kaynağı da zarar görmektedir (Brohi ve Topbaş, 1998).



## 2.YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Materyal ve Metot

Bu çalışmada 4 Mayıs 2014 tarihinde *Bufo bufo* türüne ait Çat Köyünden alınmış yumurtalardan laboratuvar koşullarında elde edilmiş larvalar kullanılmıştır. Bu çalışma kapsamında amonyum sülfat gübresinin farklı konsantrasyonlarının (0 mg/l, 75 mg/l, 100 mg/l, 250 mg/l, 500 mg/l, 750 mg/l, 1000 mg/l) siğilli kurbağa üzerindeki akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

#### 2.1.1 Çalışan Türün Sistematikteki Yeri

- Alem : Animalia (Hayvanlar)  
Şube : Chordata (Sırt İplikliler)  
Sınıf : Amphibia (İki Yaşamlılar)  
Takım : Anura (Kuyruksuz Kurbağalar)  
Aile : Bufonidae (Kara Kurbağaları)  
Cins : *Bufo*  
Tür : *Bufo bufo* ( Siğilli Kurbağa ) (Özeti ve Yılmaz, 1994).(Şekil 3)



Şekil 3. Ergin bir *Bufo bufo* örneği.

*Bufo bufo*'nun taksonomik durumu ile ilgili yapılan son çalışmalar 2012 ve 2013 yıllarında yayınlanmıştır. Recuero vd. (2012) *B. bufo* grubunu toplam 232 birey (tüm alttürleri ve *verrucosissimus*'u da içine alan) kullanarak incelemiş ve mt DNA'nın 16S rRNA ve cyt-b genleri ile 4 nüklear gen (pro-opiomelanocortin:POMC, chemokine (C-X-C) receptor 4: CXCR4, brain-derived neurotrophic factor: BDNF ve ribozomal protein L3: RPL3) üzerinde çalışmışlardır. Recuero vd. (2012)'nin bu çalışmasında Türkiye'den 4 lokaliteden toplam 6 örnek yer almıştır: Havza (Samsun), Erbaa (Tokat), Eflani (Karabük) ve Karagöl (Artvin). Yapılan filogenetik analizler sonucunda Havza, Erbaa ve Eflani örneklerinin *B. bufo*'ya, Artvin örneğinin ise *B. verrucosissimus* türüne ait olduğu belirtilmiştir. Fakat çalışma sonucunda *B. bufo*'nun doğuda nereye kadar dağılım gösterdiği ve *B. verrucosissimus* ile kontak zonlarının hala belirsiz olduğu vurgulanmıştır.

Garcia-Porta vd. (2012) ise 147'si *B. bufo* kompleksine ait toplam 151 örnekte mtDNA'nın tRNAval (48 bp), 16S rRNA (1386 bp) ve ND1 (554 bp) genlerini kullanarak filogenetik analizler yapmıştır. Ayrıca bazı lokalitelere ait örneklerde ise 21 lokusa ait 16 protein sistemi (allozim) çalışmışlardır. Bu çalışmada Türkiye'den 6 lokalite (Trabzon, Ordu, Samsun, Bolu, Alanya, Bursa) yer almıştır. Türkiye'den Alanya örneği Kafkasya dalında (*Bufo verrucosissimus*) yer alırken diğerleri (Anayurt, Kayabaşı, Bursa ve Bafra) ise Avrupa dalında (*B. bufo*) yer almıştır. Allozim çalışmasında Türkiye'den sadece Bolu ve Alanya örneği kullanılmıştır ve ikisi de *B. b. spinosus* olarak sınıflandırılmasına rağmen filogenetik analizlerde *B. verrucosissimus* olarak gruplanmıştır. Morfoloji ve coğrafik dağılımlarına göre *B. b. spinosus* olarak tayin edilen populasyonların (Alanya ve Bolu) mtDNA veya allozim sonuçlarına göre *B. verrucosissimus* olarak gruplanmıştır (Garcia-Porta vd., 2012).

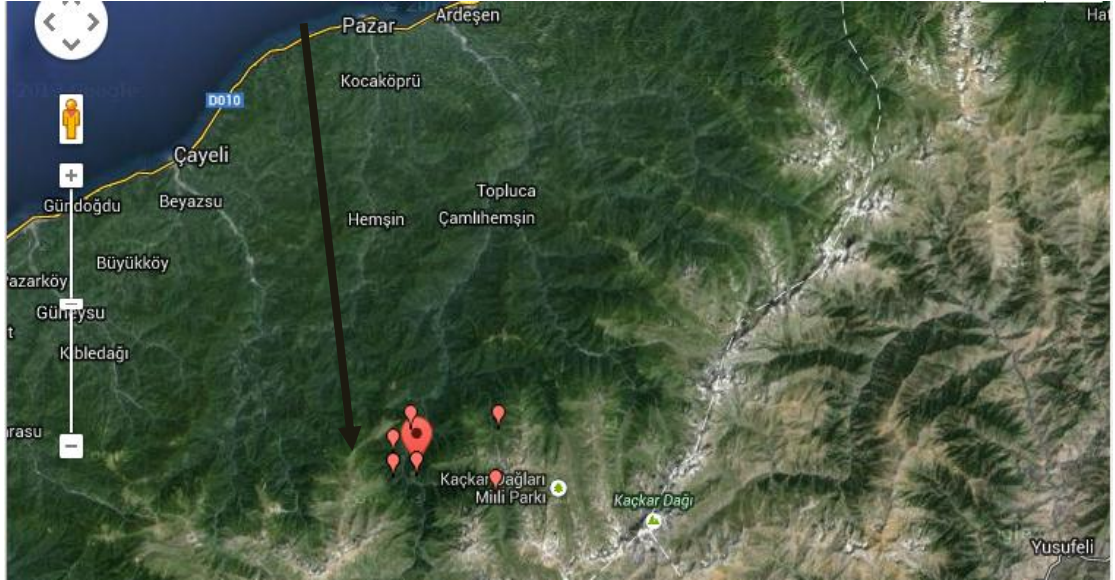
Recuero vd. (2012) ve Garcia-Porta vd. (2012)'nin çalışmaları birbirinden farklı sonuçlar içerdiği için iki makale arasında uyumsuzluk bulunmaktadır. Ayrıca Rize örnekleri çalışılmadığı için bu proje kapsamında çalışılan örnekler daha önceki literatürde olduğu (Baran, vd., 2012) gibi *Bufo bufo* olarak değerlendirilmiştir.

### 2.1.2. Morfolojik Özellikleri

Vücut boyu 15 cm kadar, gözlerin arkasındaki zehir bezleri çok büyüktür. Göz bebeği yatay, göz irisi altın veya bakır rengindedir. Deri fazla kabarcıklı, sırtta sık ve bariz siğiller bulunur. Erkeklerde ses kesesi yoktur. Sırt taraf genellikle kahverengi, bazen kırmızımsı veya grimsi olabilir. Bu renk üzerinde daha koyu lekeler bulunur. Alt taraf kirli beyaz veya grimsi olup koyu lekeli (Baran, vd., 2012).

### 2.1.3. Çalışma Alanının Özellikleri

Arazi çalışma alanı olan Çat Köyü Rize Çamlıhemşin'in güneyinde ve Çamlıhemşin Merkeze 28 km uzaklıktadır (Şekil 4, Enlem: 40.92804°, boylam: 40.95411° ve rakım: 1300 metre). Alınmış olan yumurta örneklerinin alındığı su birikintisi yakınında birkaç evin de bulunduğu yaşam alanlarına çok uzak sayılmayan yol kenarında ormanın içinden gelen sulara aittir (Şekil 5).



Şekil 4. Çalışma yapılan alanın harita üzerinde gösterimi (Siyah ölçek çizgisinin uzunluğu 53 km.)



**Şekil 5.** Yumurta örneklerinin alındığı ortam.

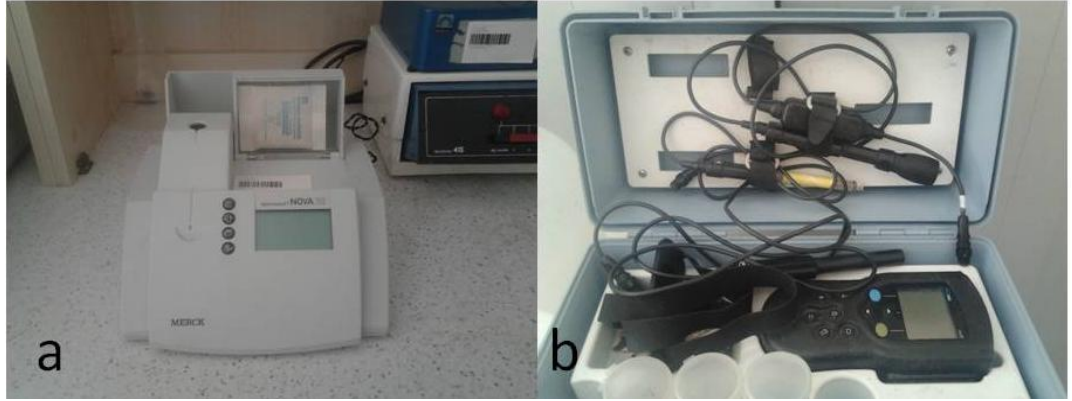
#### **2.1.4. Su Örneklerinin Alınması ve Muhafazası**

Örneklerin toplandığı zaman aralığında sucul habitata ait sıcaklık değeri elektronik termometre ile 19°C olarak ölçülürken, suyun ortalama sıcaklığı 9,9°C ve pH değeri ise portatif pH metre (Şekil 6, b) yardımıyla 8.76 hpA olarak ölçülmüştür. Yapılan örnekleme esnasında 100 ml'lik plastik kaplar kullanıldı. Aynı alandan 3 farklı su birikintisinden su örneği alınmıştır. Örnekler alınır alınmaz buz içeren, kapaklı köpük kaplara koyulmuştur. Çünkü ısı artışı nitrat ve nitrit bakterilerinin aktivitesini artırarak nitrat ve nitrit değerlerini etkilemekte ve sülfat değerinde de değişikliğe neden olabileceğinden dolayı analizlerde yanlış sonuç alınmasına yol açmaktadır. Aynı sebepten dolayı, laboratuvara ulaşıldığında da örnekler -20°C'de muhafaza edilmiştir.

#### **2.1.5. Su Örneklerinin İncelenmesi**

Alınan su örneklerinin analizleri Spektroquant cihazı (Şekil 6,a) kullanılarak nitrit (NO<sub>2</sub>), nitrat (NO<sub>3</sub>), amonyum (NH<sub>4</sub>) ve sülfat (SO<sub>4</sub>) tayin kitleri ile gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları Tablo 1'de bulunan su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri ile karşılaştırıldı.





Şekil 6. a . Su analizlerinin yapıldığı Spektroquant cihazı b: Portatif pH metre

**Tablo 1.** Su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri.

Su kalite parametreleri	Su kalite sınıfları			
	I.	II.	III.	IV.
	Kalite su (Yüksek kalite su)	Kalite su (Az kirlenmiş su)	Kalite su (Kirlenmiş su)	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 <sub>2</sub> /L)	8	6	3	<3
5) Sülfat iyonu (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> /L)	200	200	400	>400
6) Amonyum azotu (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/L)	0,2	1	2	>2
7) Nitrit azotu (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N/L)	0,002	0,01	0,05	>0,05
8) Nitrat azotu (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/L)	5	10	20	>20

### 2.1.6. Yumurta Örneklerinin Alınması

Deneysel çalışmalar için 3 farklı su birikintisinden gerekli miktarda yumurta alınmıştır (Şekil 7). Yumurtaların laboratuvara getirilmesi sırasında yumurta içerisindeki oksijen miktarını karşılamaya yetecek kadar su alabilen ve oksijen girişini engellemeyecek kapağı bulunan plastik bir kap içerisinde, yumurtaların üzerini (doğal ortamda oldukları kadar) aşacak şekilde su ile doldurulmuştur. Yumurtaların alındığı

bölgeden aynı zamanda su örnekleri de alınıp nitrat, nitrit, amonyum ve sülfat içeriği belirlenmek üzere depolandı.



**Şekil 7.** Yumurtaların toplanması

### **2.1.7. Yumurtaların Bakımı**

Laboratuvara getirilen yumurtalar, deneysel sürecin tamamında musluk suyu içerisine alındı (Candioti vd., 2009). Su sıcaklığının doğal ortama da uygun olarak 19-21 °C civarında olmasına dikkat edildi. Gerekli oksijen ise sürekli işlev gören hava motorlarıyla karşılanmaya çalışıldı (Johansson vd., 2001). Yumurtaların bulunduğu kap içerisine doğal ortamlarından alınan bazı bitkiler yerleştirildi. Böylece yumurtaların kabın zeminine direkt temasları engellendi. Bu da embriyoların her yönden oksijen alabilmesini ve iyi bir şekilde gelişebilmesini sağladı (Demirsoy, 2005; Karaoğlu, 2011).

### **2.1.8. Larvaların Uygun Gelişme Aşamasına Kadar Büyütülmesi**

Larvalar yumurtadan çıktıktan sonra da musluk suyu içerisinde (Bernabo vd., 2013) yaklaşık 19-21 °C'de ve yukarıda bahsedildiği gibi bir havalandırma düzeneği bulunan büyükçe bir akvaryum içerisinde tutularak Gosner'in (1960) ölçütlerine göre

32. gelişim aşamasına ulaşmaları beklendi (Nikoloff, vd., 2013). Larvalar 32. gelişim aşamasına ulaşmaya kadar hergün haşlanmış marul ile beslendi (Nikoloff, vd., 2013) ve bu süre zarfında akvaryum içerisindeki su üç günde bir değiştirildi (Bernabo vd., 2013). Laboratuvara getirilen larvaların yumurtadan çıkması ortalama 8-10 gün, yumurtadan çıkan larvaların 32. Gelişim aşamasına ulaşması (arka ayak 4. ve 5. parmak tomurcuk oluşumu) ise ortalama 24-26 gün sürdü.

## **2.2. Deney için Uygun Larvanın Seçimi**

32. gelişim aşamasına ulaşan larvalardan deney için morfolojik açıdan veya davranışlar açısından herhangi bir anormalliği olmayan ve hemen hemen aynı boyuta sahip olanlar arasından gerekli sayıda larva seçildi ve tartılarak deney çözeltilerine aktarıldı (Oldham, 1999). Larvalar seçilmesi esnasında gelişim aşamaları Gosner (1960)'in ölçütlerine göre belirlendi. İlk ölçüm değerlerine ait ortalama ağırlık ve boy değerleri bulgular kısmında tablo halinde verilmiştir (Tablo3).

### **2.2.1. Deney Şartları ve Deney Çözeltilerinin Hazırlanması**

Tüm deney yaklaşık 19-21°C'de, doğal fotoperiyotta gerçekleştirildi. Oda sıcaklığı klima yardımı ile sabitlendi. Deney 5 litrelik kaplarda 1 litrelik çözeltiler içerisinde gerçekleştirildi. Deney için musluk suyu kullanılmış olup, içerisinde uygun miktarda amonyum sülfat çözülerek gerekli çözeltiler (0, 75, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L) oluşturuldu. Amonyum sülfatın toksikliği pH'a bağımlı olduğu için her çözeltinin pH'sı 10 mMTris tamponu ile 7,5'e ayarlandı (Johansson vd., 2001). Deney boyunca larvalara dışarıdan beslenme yapılmamıştır (Nikoloff, vd., 2013).

## **2.3. Akut Deneyin Uygulanışı**

Deneyin bu aşamasında, amonyum sülfatın bu tür üzerindeki akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkileri araştırıldı. Akut uygulama 0, 75, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L çözeltiler kullanılarak 96 saat sürdürüldü. Deney kapları her populasyon için 1 litre çözelti ve 5'er larva kullanılmıştır. Her uygulama çözeltisi 5 kez tekrarlandı.

Böylece her konsantrasyonda 25'er larva ve akut uygulamada bir bölge için toplam 175 larva kullanılmıştır.

Deneye başlamadan önce kullanılacak olan 175 larvanın ağırlıkları (g) hassas terazi, boyu (mm) ise elektronik kumpas kullanılarak ölçüldü. Ölçüm değerleri kaydedilen her larva tek tek numaralandırılmış plastik kaplara alındı. Ölçümleri bilinen bu 175 larva uygulama gruplarının tümünde her tekrarda başlangıç ağırlık ölçümleri eşit olacak şekilde dağıtıldı.

Larvalara deney süresince besin verilmedi ve deney çözeltileri her gün yenilendi. Böylece 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri belirlenmiş oldu. Deneyler boyunca her gün larvalar rahatsız edilmeyecek şekilde, gün boyunca sabah, öğle ve akşam olmak üzere 3 kez gözlemlendi ve davranışsal veya morfolojik anormallikler kaydedildi, ölü larvalar sayılarak alındı (Hecnar, 1995; Marco vd., 1999). Akut etkiler, larvaların deney sonundaki büyüklükleri, deney boyunca hayatta kalma oranları, morfolojik ya da davranışsal anormallikleri hesaplandı.

#### **2.4. Histolojik Çalışmaların 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 değişip bozulmasını önlemek için doku tespiti yapılmalıdır.

Doku tespiti için Bouin's solüsyonu kullanıldı. Ölen larvalar kaplar içerisine ve larva başı 10 ml Bouin's solüsyonu (750 ml pitrik asit-250 ml %40'luk formaldehit-50 ml gleserol asetik asit) 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 alkolden geçirildikten sonra 2 defa da ksilenden geçirildi. Bu işlem için doku takip cihazı (Thermo Scientific Shandon Citadel 2000)

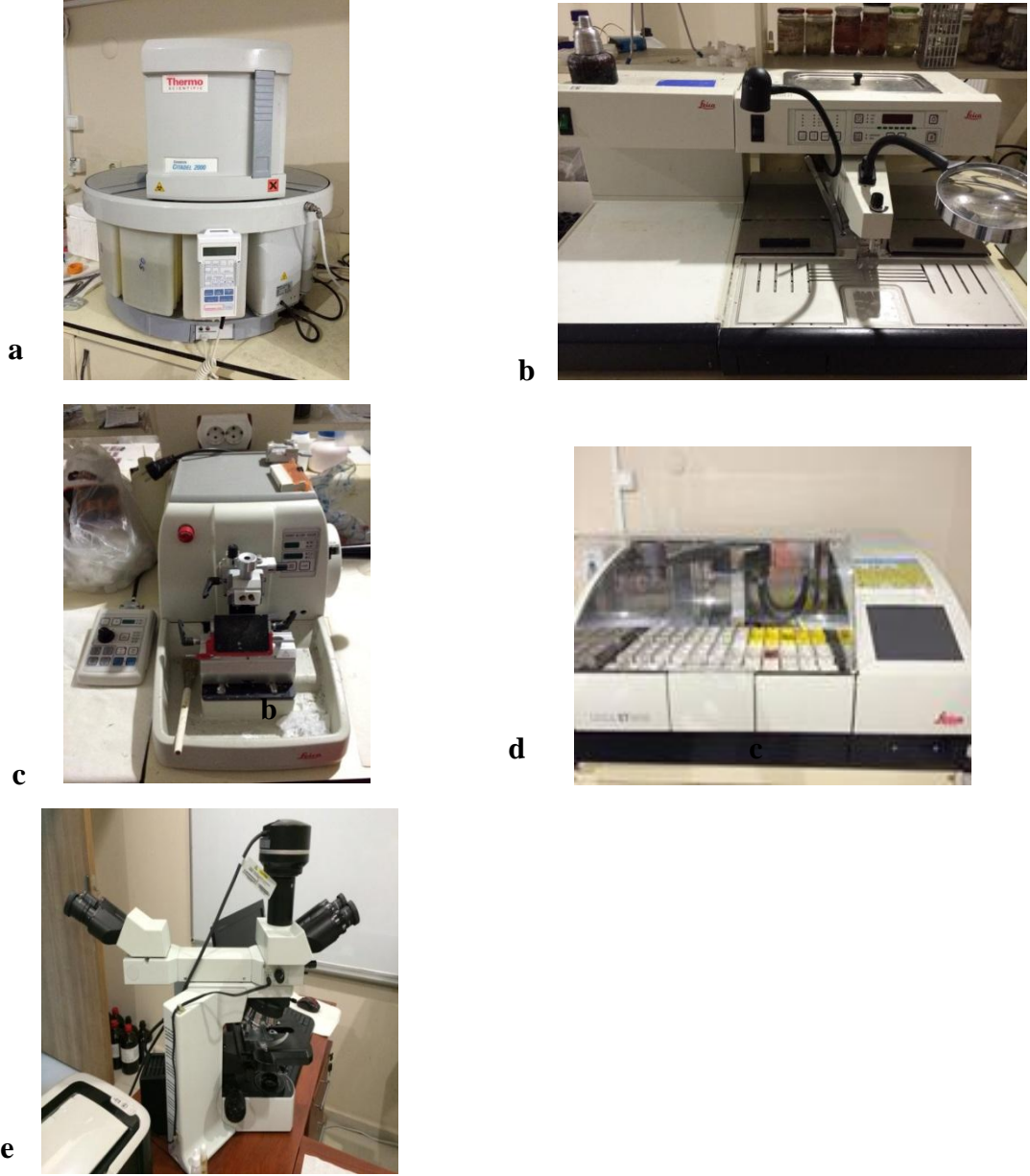


(Şekil 8a) kullanıldı. Larvalar dikdörtgen prizma biçimindeki kalıplara koyuldu ve üzerlerine ısıtılmış parafin dökülüp soğutulmasıyla bloklar elde edilmiş oldu.

Parafin bloklar mikrotom (Şekil 8c) ile 3-5 µm kalınlıkta kesildi, kesilen kesitler daha iyi görünmesi için ılık su banyosuna koyuldu ve oradan da lamalar üzerine alındı. Daha sonra kesitlerin kuruyup lama yapışması için kesitler etüve koyuldu. Elde edilen kesitler boyama cihazı (Şekil 8d) kullanılarak hematoksilin-eosinle (H&E) boyandı. Lam üzerinde bulunan kesitlerin üzerine lamel kapatılarak kalıcı preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar mikroskop (Şekil 8e) altında incelendi.

## **2.5. Kullanılan İstatiksel Analizler**

Bu çalışmamızda uygulanan deneylerde, kontrol grubu ve değişik konsantrasyonlarda amonyum sülfata maruz bırakılmış gruplara ait boy ve kilo bakımından veriler arasında fark olup olmadığını ve histopatolojik incelemeler sonucunda incelenen organlarda konsantrasyonlar arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla SPSS 21 programında yer alan One-Way Anova, Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.



**Şekil 8.** a. Doku takip cihazı (Thermo Scientific Shandon Citadel 2000), b. Soğutma cihazı: Leica EG1150C, Bloklamacihazı: Leicac1150H, c. Mikrotom (Leica RM2255), d. Boyama cihazı (Leica ST5020), e. Mikroskop (Olympus BX51).

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Su Analizi Sonuçları

Kitler yardımı ile yapılan su analiz sonuçlarında nitrit (NO<sub>2</sub>) değerleri 0.010 mg/L, nitrat (NO<sub>3</sub>) değerleri 2.2 mg/L, amonyum (NH<sub>4</sub>) değeri 0.10-0.03 mg/L, amonyum azot (NH<sub>4</sub>) değeri 0.071-0.025 mg/L ve sülfat (SO<sub>4</sub>) değeri 1-2 mg/L bulunmuştur ( Tablo 2). Ölçülen su parametrelerine bakıldığı zaman, örneklerin alındığı lokalitelerin su kaliteleri pH ve nitrit oranı bakımından az kirlenmiş su özelliği taşıdığı görülmüştür.

**Tablo 2.** Su analiz sonuçları

ÖLÇÜLEN PARAMETRELER	SU ÖRNEKLERİNİN ALINDIĞI ORTAMLAR		
	Su birikintisi 1	Su birikintisi 2	Su birikintisi 3 (Akıntılı Bölge)
1) Sıcaklık (°C)	9,9	9,9	10,2
2) pH	8,76	8,76	8,76
3) Oksijen doygunluğu (%)	91,6	90,8	94,9
4) İletkenlik (mS/cm)	91,1	90,6	97,3
5) Çözünmüş oksijen (mg O <sub>2</sub> /L)	8,95	8,76	8,98
6) Sülfat iyonu (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> /L)	1	2	Çok küçük
7) Amonyum azotu (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/L)	0,071	0,141	0,025
8) Nitrit azotu (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N/L)	0.010	0.010	0,010
9) Nitrat azotu (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N/L)	2,2	2,2	2,2
10)Amonyum (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> L)	0,10	0,18	0,03

#### 3.2. Akut Deney

Deneyimizde toplam 7 farklı konsantrasyon ve herbir konsantrasyon için 5 örneklem oluşturuldu. Her bir örneklem grubuna 32. evreye gelmiş 5 birey koyuldu. Böylece her bir konsantrasyonda 25 birey olacak şekilde toplamda 175 birey kullanıldı. Bu bireylerin tek tek boy ve kilo ölçümü yapılarak fotoğrafları çekildi (Tablo 3). Daha sonra her örneklem grubunda kilo ve boyları ortalama olarak eşit olacak şekilde dağılımları yapıldı. 96 saat sonunda bütün bireyler genellikle 35. evreye ulaşmışlardı.

Bireylerin deney sonunda tekrar boy ve kilo ölçümü yapılarak fotoğrafları çekildi (Tablo 4).

**Tablo 3.**Uygulamaya başlamadan önce 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama boy (mm) ve ağırlıkları (gram).

Konsantrasyon mg/L	Grup sayısı	Her grupta bulunan birey sayısı	Grup ağırlık ortalama ± SS	Grup boy ortalama ± SS	Toplam birey sayısı
0	5	5	0,39 ±0,01	20,30±2,50	25
75	5	5	0,39±0,06	20,38±1,17	25
100	5	5	0,39± 0,01	19,96±1,60	25
250	5	5	0,39± 0,01	19,38± 1,15	25
500	5	5	0,38± 0,03	18,11±2,92	25
750	5	5	0,41± 0,01	21,34±1,10	25
1000	5	5	0,41± 0,02	21,49±1,14	25

**Tablo 4.**Uygulama bittikten sonra 6 farklı amonyum sülfat konsantrasyonunda bulunan larvaların yaklaşık ortalama boy (mm) ve ağırlıkları (gram).

Konsantrasyon mg/L	Grup sayısı	Her grupta bulunan birey sayısı	Grup ağırlık ortalama ± SS	Grup boy ortalama± SS	Toplam birey sayısı
0	5	5	0,38± 0,01	20,30±2,5	25
75	5	5	0,35± 0,07	20,17±1,1	25
100	5	5	0,35± 0,01	18,72±1,6	25
250	5	5	0,34± 0,01	19,60±1,0	25
500	5	5	0,32±0,01	18,84±1,5	25
750	5	5	0,25± 0,01	20,19±1,0	25
1000	5	5	0,23±0,09	20,43±0,8	25

### 3.2.1. 0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

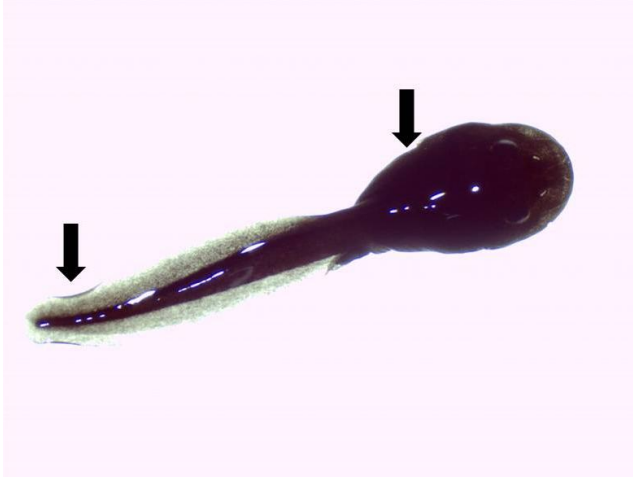
0 mg/L konsantrasyon grubunda (kontrol grubu) toplam 25 birey bulunmaktadır. 96 saat süren deney süresinde ölüm gözlenmemiştir. Deney bitiminde bütün bireylerde davranışsal veya fiziksel olarak hiçbir anormallik olmadığı belirlenmiştir (Şekil 9). Yapılan mikroskobik çalışmanın sonucunda da bireylerde hiçbir deformasyon gözlemlenmemiştir.



**Şekil 9.** Kontrol grubundaki normal bireyin görünümü

### **3.2.2. 75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler**

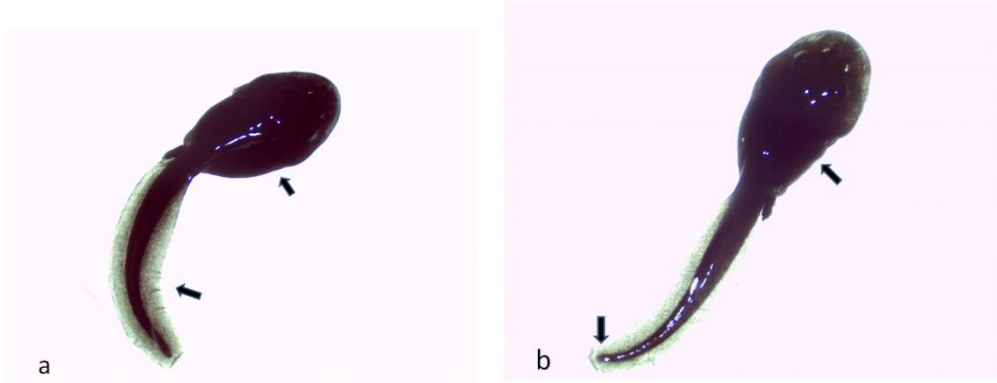
75 mg/L konsantrasyon grubunda 96 saat sonunda bütün bireylerde fiziksel ve davranışsal olarak hiçbir farklılık gözlenmemiştir. Fakat mikroskopik incelemeler sonucunda bazı bireylerde kuyruk kıvrılmaları ve gövdenin yan taraflarında basıklık gözlemlenmiştir (Şekil 10).



**Şekil 10.** 75 mg/L konsantrasyonda görülen kuyruk kıvrılması ve gövdenin yan taraflarında basıklık

### 3.2.3. 100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

100 mg/L konsantrasyon grubunda 96 saat sonunda tüm bireylerde davranışsal veya fiziksel olarak bir anormallik görülmedi. Fakat mikroskop incelemeleri sonucunda bazı bireylerde kuyruk kıvrılmaları gözlemlendi (Şekil 11).



**Şekil 11.** 100 mg/L konsantrasyonda görülen anormallikler a. Kuyruk kıvrılması ve kuyruk boyunca deformasyon ve gövdede pigmentasyon artışı, b. Kuyruk ucunda kıvrılma ve gövdede ödem oluşumu.

### 3.2.4. 250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

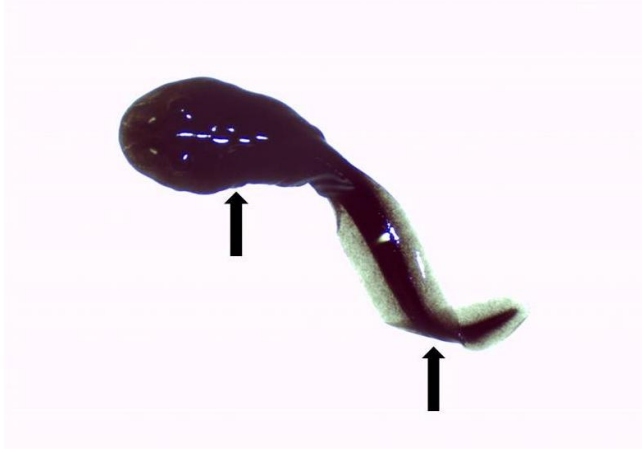
250 mg/L konsantrasyon grubunda 96 saat sonrasında tüm bireylerde fiziksel ve davranışsal olarak hiçbir değişiklik görülmedi. Fakat yapılan mikroskopik çalışmalar sonucunda bazı bireylerde gövdede boğumlanma tespit edildi (Şekil 12).



**Şekil 12.** 250 mg/L konsantrasyonda gövdede boğumlanma

### 3.2.5. 500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

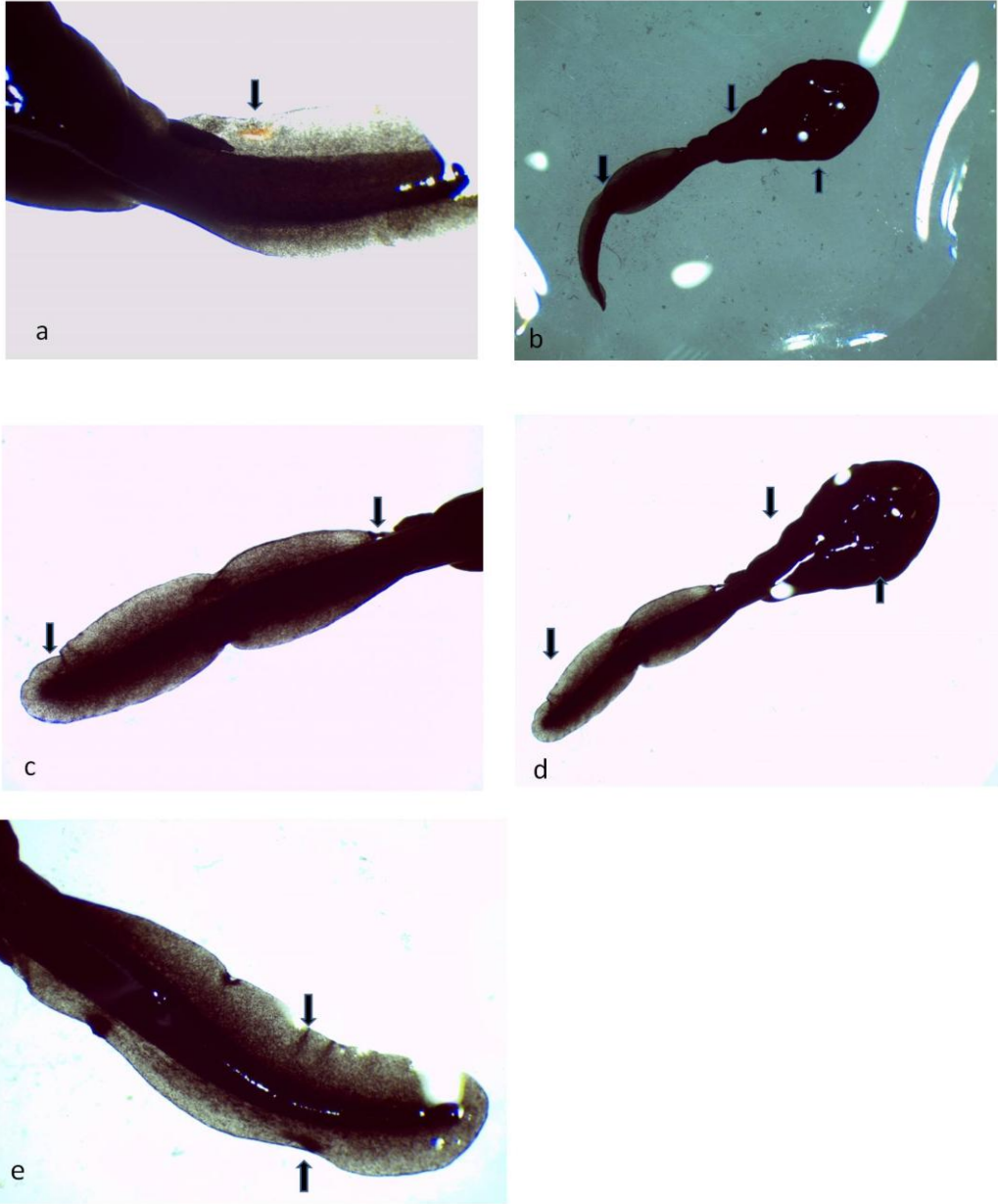
500 mg/L konsantrasyon grubunda 96 saat sonunda solüsyonda ki bireylerde hareket yavaşlaması ve renklerinde koyulaşma gözlemlenmiştir. Deney sonunda tüm bireylerin mikroskopik incelemesi yapılmış olup bazı bireylerin kuyruklarında kıvrılma, gövdede ödem ve pigmentasyon artışı tespit edilmiştir (Şekil 13).



**Şekil 13.** 500 mg/L konsantrasyonda kuyrukta kıvrılma, gövdede yoğun pigmentasyon ve ödem oluşumu

### 3.2.6. 750 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

750 mg/L konsantrasyon grubunda 96 saatin sonunda yapılan gözlemlerde bazı bireylerde 24 saat bazılarında ise 48 saat sonunda hareket yavaşlaması gözlemlenmiştir. 72 saat sonunda bireylerde hareketler iyice yavaşlayıp, bazıları ise yatay yüzmeye başlamıştır. Son olarak 96 saat sonunda bireylerde hareket süreleri çok kısaldı ve yaşadıkları halde tepkisizlik gözlemlendi. Mikroskopik incelemeler sonunda kuyruk morfolojisinde ödem, kıvrımlar ve kızarıklıklardan oluşan deformasyonlar gözlemlendi ve ayrıca gövdede ödem oluşumu ile yoğun pigmentasyon ve omurga eğriliği gözlemlenmiştir (Şekil 14).



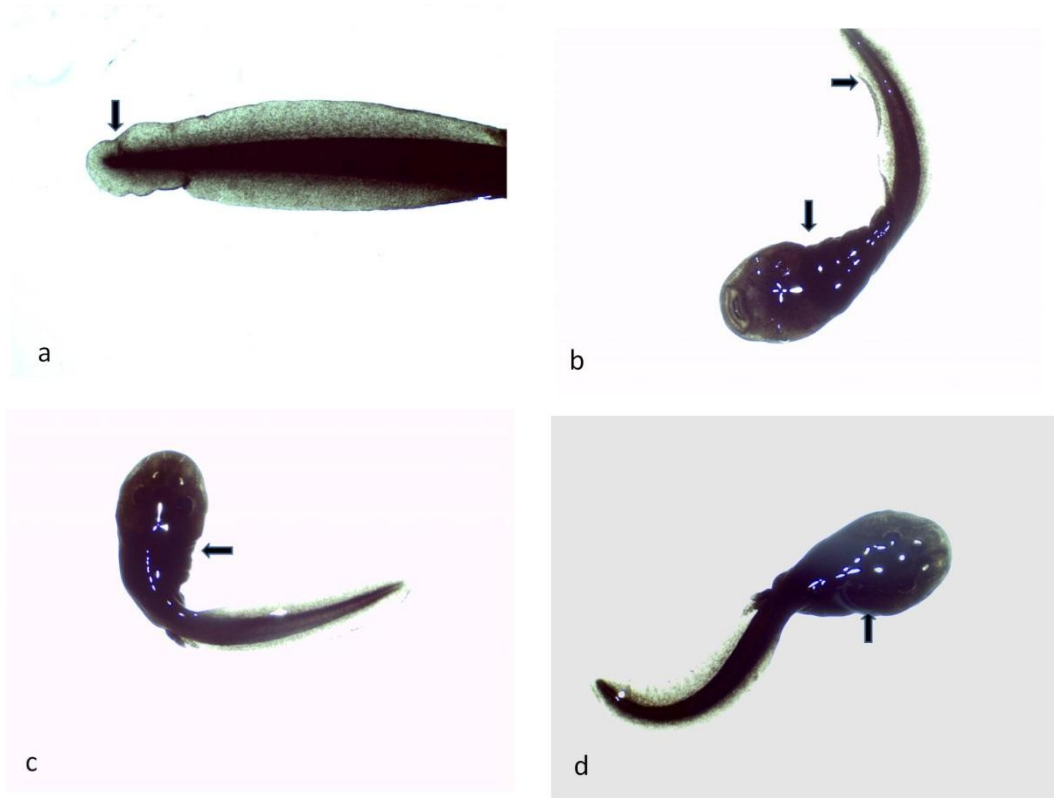
**Şekil 14.**750 mg/L konsantrasyonda gözlemlenen anormallikler a. Kuyrukta kızarıklık, b. Kuyrukta ödem ve gövdede ödem oluşumu ile yoğun pigmentasyon, c-d. Kuyrukta boğumlanma ve omurga eğriliği, kuyrukta katlanmalar ve kuyruk boyunca deformasyon.

### 3.2.7. 1000 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

1000 mg/L konsantrasyon grubunda 96 saat sonunda yapılan gözlemlerde, bazı bireylerde 24 saat bazı bireylerde ise 48.saat sonunda hareket yavaşlaması gözlemlenmiştir.72 saat sonunda solüsyonda ki bireylerde hareketler oldukça yavaşladı



ve hareket sürelerininde kısaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı bireylerde yatay yüzme gözlemlenmiştir. Cam bagetle dokunulduğunda çok geç tepki vermeye başladıkları gözlemlenmiştir. Son olarak 96 saat sonunda bireylerin hareket sürelerinin çok kısaldığı ve yaşadıkları halde tepkisizlik gözlemlenmiştir. Birçoğu su yüzeyine çıkamamakta ve yüzeye çıkan bireylerde ise 2 saniye kadar hareketlilik gözlemlendikten sonra tekrar suyun dibine indikleri görülmüştür. Mikroskopik çalışmalar sonunda kuyruk deformasyonu ve gövdede küçülme, boğumlanma, pigmentasyon artışı, ödem oluşumu ve şekil bozukluğu tespit edilmiştir (Şekil 15).



**Şekil 15.** 1000 mg/L konsantrasyon a.kuyruk deformasyonu, b.gövde küçülmesi ve kuyruk katlanmaları, c.gövde de ödem oluşumu ve yoğun pigmentasyon, d.gövde de şekil bozukluğu

Akut deney boyunca 0 mg/L, 75 mg/L, 100mg/L, 250 mg/L'lik solusyonlarda incelenen *Bufo bufo* larvalarında davranışsal bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Ancak mikroskop incelemesi sonrasında bu konsantrasyonlardaki bireylerin bazılarının kuyruklarında kıvrılma, gövde boğumlanmaları gibi anormallikler tespit edilmiştir. 500 mg/L'lik solusyonda ki bireylerde ise bu anormalliklerin yanı sıra hareket yavaşlaması

ve renklerinde koyulaşma gözlemlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda (750 ve 1000 mg/L) amonyum sülfata maruz kalan larvalarda ise ortalama boy ve ağırlığın azaldığı gözlenmiştir. Ölüm sadece 750 mg/L ve 1000 mg/L'lik konsantrasyonlarda (Tablo 5 ve 6) gerçekleştiği ve ayrıca kuyruk ve gövde deformasyonlarının arttığı tespit edilmiştir.

**Tablo 5.** Uygulama bittikten sonra 750 mg/L' lik kaplarda gözlemlenen ölü birey sayısı.

Gün/Ölü birey sayısı	1.kutu	2.kutu	3.kutu	4.kutu	5.kutu
1 (24 saat)	yok	1 birey	yok	yok	Yok
2 (48 saat)	yok	yok	yok	yok	Yok
3 (72 saat)	yok	yok	yok	yok	Yok
4 (96 saat)	yok	yok	1 birey	yok	Yok

**Tablo 6.** Uygulama bittikten sonra 1000 mg/L' lik kaplarda gözlemlenen ölü birey sayısı.

Gün/Ölü birey sayısı	1.kutu	2.kutu	3.kutu	4.kutu	5.kutu
1 (24 saat)	yok	Yok	yok	yok	Yok
2 (48 saat)	yok	Yok	yok	yok	Yok
3 (72 saat)	yok	Yok	yok	yok	Yok
4 (96 saat)	4 birey	1 birey	1 birey	yok	Yok

Amonyum sülfatın farklı konsantrasyonlarına (kontrol grubu, 75, 100, 250, 500, 750, 1000 mg/L) 96 saat boyunca maruz bırakılan larvalardaki boy ve ağırlık bakımından farklılıklar One-way Anova testine göre analiz edilmiştir. Bu sonuçlara göre; boy ve ağırlık bakımından gruplar arasında anlamlı derecede farklılıklar gözlenmiştir ( $F_{\text{ağırlık}} = 7.987$ ,  $p < 0.05$ ,  $F_{\text{boy}} = 4.056$ ,  $p < 0.05$ ). Ağırlık bakımından farklılık gözlenen gruplar; kontrol grubu ile sadece 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları, 75

mg/L ile 750 mg/L arasında, 100 mg/L ile 750 mg/L arasında, 250 mg/L ile 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları arasındadır ( $p<0.05$ ). Boy bakımından; 500 mg/L ile kontrol grubu, 75 mg/L ve 1000 mg/L konsantrasyonları arasında anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Deney sürecinde yapılan gözlemler sonucunda farklı amonyum sülfat konsantrasyonlarına ait her bir tekrarda bulunan bireylerin ölüm ve davranışsal anormallik vaka sayıları Tablo 5 ve 6 da gösterilmiştir. 96 saat sonun da  $LC_{10}$ (868.750),  $LC_{50}$ (1155.672) ve  $LC_{70}$ (1273.078) değerleri olarak belirlenmiştir (Tablo 7)

**Tablo 7.** 96 saat sonunda  $LC_{10}$ ,  $LC_{50}$  ve  $LC_{70}$  değerleri (mg/L)

	Konsantrasyon (mg/L)	%95 güven aralığı	
		Alt sınır	Üst sınır
$LC_{10}$	868,750	532,028	980,514
$LC_{50}$	1155,672	1025,271	2177,651
$LC_{70}$	1273,078	1099,162	2795,450

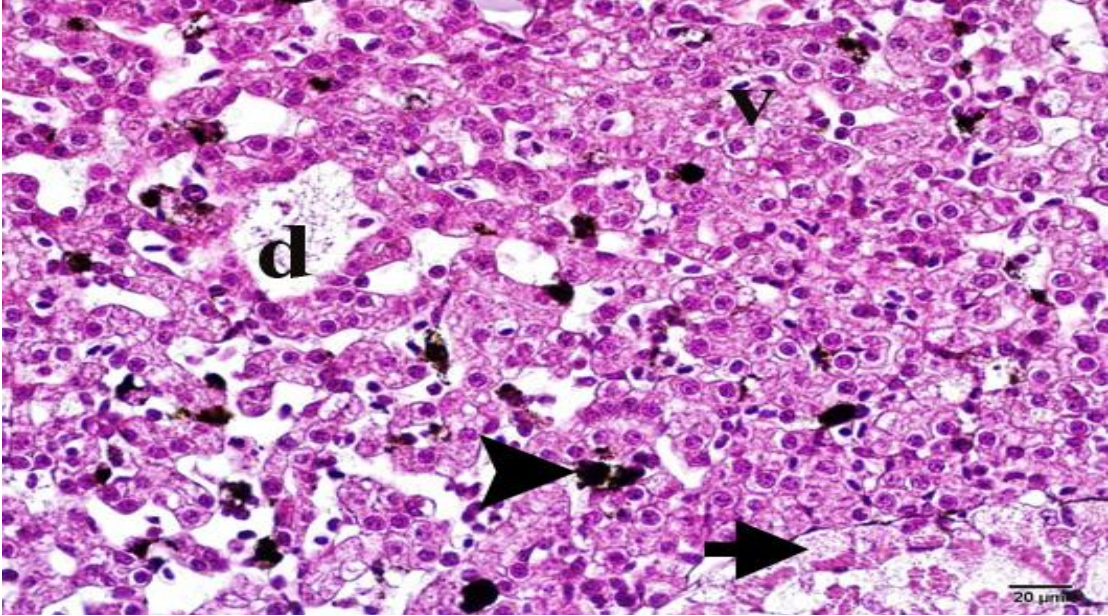
### 3.3. Histopatolojik İncelemeler

Akut deney sonucunda her konsantrasyonda bulunan larvalara ait hazırlanan preparatlarda karaciğer, mide,bağırsak,pronefrik tübül, gonad ve beyin dokuları incelenmiştir.

### 3.3.1. 0 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

#### 3.3.1.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulmadığı, hepatositlerin bazılarında yer yer vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın dokunun genelinin normal histolojik görünüme sahip olduğu görüldü. Sinuzoidal alanlarda yer yer hafif genişlemeler olup bazı alanlarda dilatasyon seviyesinde olduğu gözlemlendi.. Hücrelerde döngüsel apoptosiden dolayı hafif eosinofilik görüldüğü ve bazı makrofajik hücrelerde pigmentasyonel melanin biriktiği tespit edildi (Şekil 16). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 8’da gösterilmektedir.



**Şekil 16.** Karaciğerde yapılan histopatolojik inceleme; ok başı: pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon ve ödem, kısa ok: dejenere hücre, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

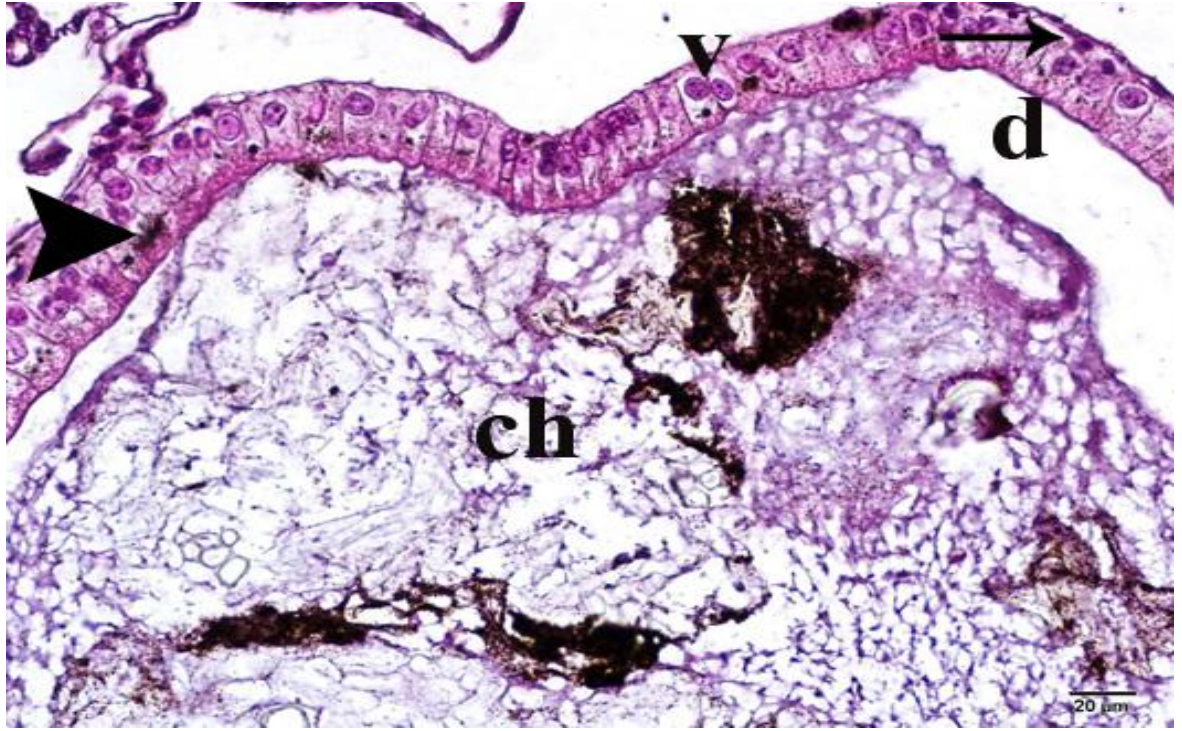
**Tablo 8.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SS)
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	% 75 (-) % 25 (+)	% 25 (-) % 62 (+) % 12 (++)	% 88 (-) % 12 (+)	% 75 (-) % 25 (+)	% 63 (-) % 37 (+)	% 63 (-) % 37 (+)

### 3.3.1.2. Midedeki Gözlemler

Histolojik olarak mide doku bütünlüğünün normal olduğu ve dejeneratif bozukluğun oluşmadığı, epitel hücrelerinde yer yer vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal prizmatik görünüme sahip oldukları gözlemlendi.. Epitelin bazalında daha eosinofilik ve yer yer de dilatasyonların şekillendiği, bazı alanlarda boyları kısalan epitelyal hücrelerde apoptosisten dolayı hücre bütününe eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede hafif pigmentasyonlara rastlanırken, myoepitelyal hücrelerde hafif şişmeler olduğu gözlemlendi. ( Şekil 17). Mide lumeninin kimus ile dolu olduğu canlının sindirim olayının devam ettiğini göstermektedir. Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 9’de gösterilmektedir.





**Şekil 17.** Midede yapılan histopatolojik inceleme; ch: Kimus, ok:hafif şişmiş miyoepitelyal hücre, d: dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı:pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

**Tablo 9.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Kas hücresi dejenerasyonu (median ±SS)
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	% 85 (-) % 15 (+)	% 25 (-) % 62 (+) % 13 (++)	% 88 (-) % 12 (+)	% 88 (-) % 12 (+)	% 67 (-) % 37 (+)

### 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 lümeneye bakan apikal kısımlarında yoğun eosinofilik boyanma gözükürken, bazal kısımlarında yer yer dilatasyona varan genişlemelerin ve ödemlerin olduğu tespit edildi. Epitelin bazılarının boyları kısaldığı prizmatik görünümünü kaybettiği ve kübik olarak görüldüğü, bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosisten dolayı hafif eosinofilik ve ökromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede hafif pigmentasyona rastlanırken, myoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi ile dolu olmadığı görüldü (Şekil 18). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 10’da gösterilmektedir.



**Şekil 18.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; ince ok: şişmiş miyoepitelyal hücre, d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, kalın ok; dejenere hücre, Hematoxilen eosin boyama, X40.

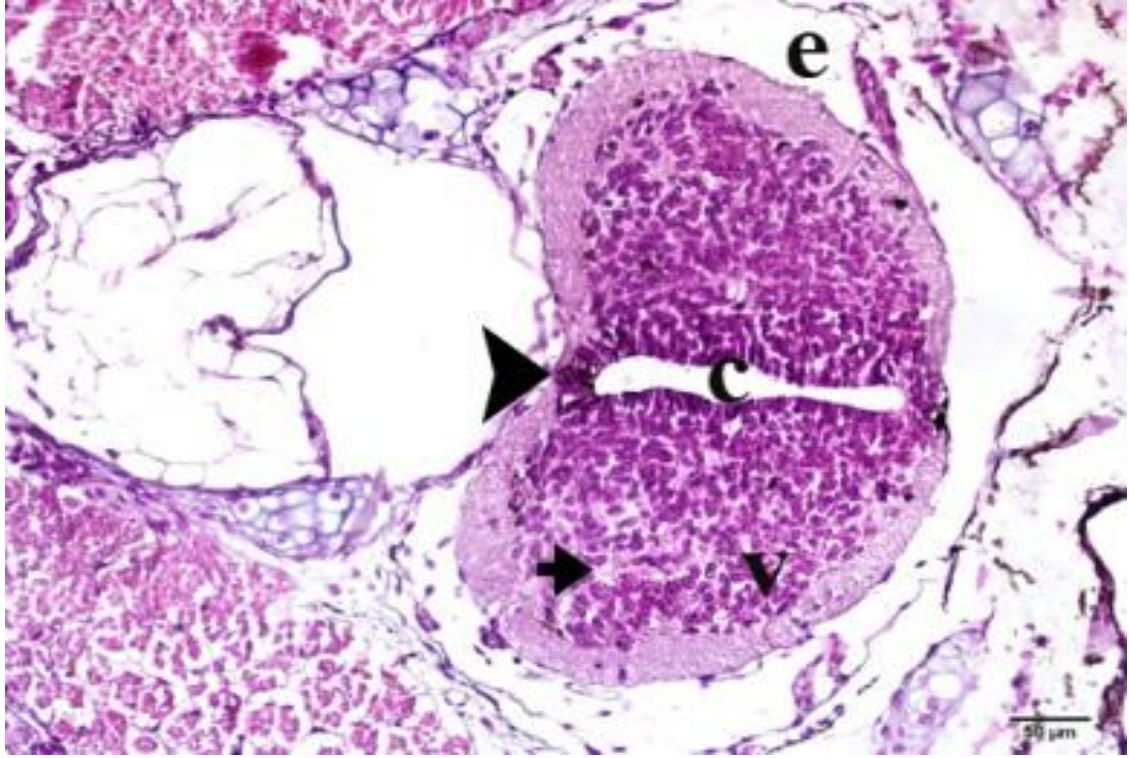
**Tablo 10.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	+	-	-	-	-
8.alan	-	-	-	-	-
Ortalama değer	% 63 (-) % 37 (+)	% 63 (+) % 37 (-)	% 87 (-) % 13 (+)	% 62 (-) % 38 (+)	% 87 (-) % 13 (+)

### 3.3.1.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün çok hafif bozulduğu, granüler hücrelerde yer yer vakuolizasyonların ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal histolojik görünüme sahip oldukları gözlemlendi.. Merkezi kanalın (Omuriliğin ortasında bulunan ve boydan boya uzanan içinde beyin omurilik sıvısı bulunan kanal) normal olarak genişlediği ve nöronal hücrelerde apoptosiden dolayı hafif eosinofilik olduğu ve kortekse yakın bazı hücrelerde ise hafif pigmentasyonel melanin biriktiği tespit edildi (Şekil 19). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 11’de gösterilmektedir.





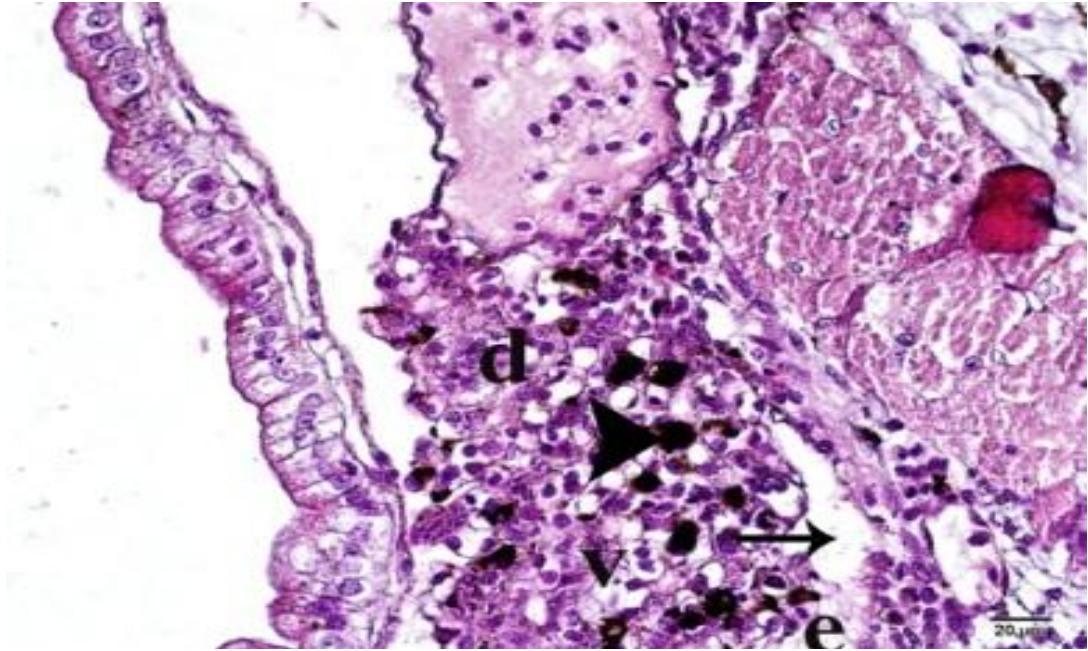
**Şekil 19.** Beyinde yapılan histopatolojik inceleme; kısa ok: iç ödem alanları, c: merkezi kanal, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, e: dış ödem, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 11.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 (-) % 25 (+)	% 50 (-) % 50 (+)	% 65 (-) % 35 (+)	% 65 (-) % 35 (+)

### 3.3.1.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün hafif bozulduğu, germ hücrelerinde yer yer dejenerasyonlar ve vakuolizasyonlar olmasına karşın (%40) normal histolojik görünüme sahip hücrelerin çoğunlukta olduğu (%60) gözlemlendi.. İntestinal alanlarda pigmentasyonların arttığı (ok başı) ve dış alanlarda pigmentasyon derecesinin azaldığı gözlemlendi.. Akıtıcı kanallarda hafif genişlemeler olmasına rağmen dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olmadığı, korteksteki hücrelerde apoptosisten dolayı eosinofilik ve karyolizli yapıda görüldüğü, vakuolizasyona uğramış hücrelerin sitoplazmalarının doku bütünlüğünü kaybettikleri gözlemlendi.. Ayrıca bazı miyoloid hücrelerde hafif pigmentasyonel melanin biriminin olduğu tespit edildi (Şekil 20). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 12’de gösterilmektedir.



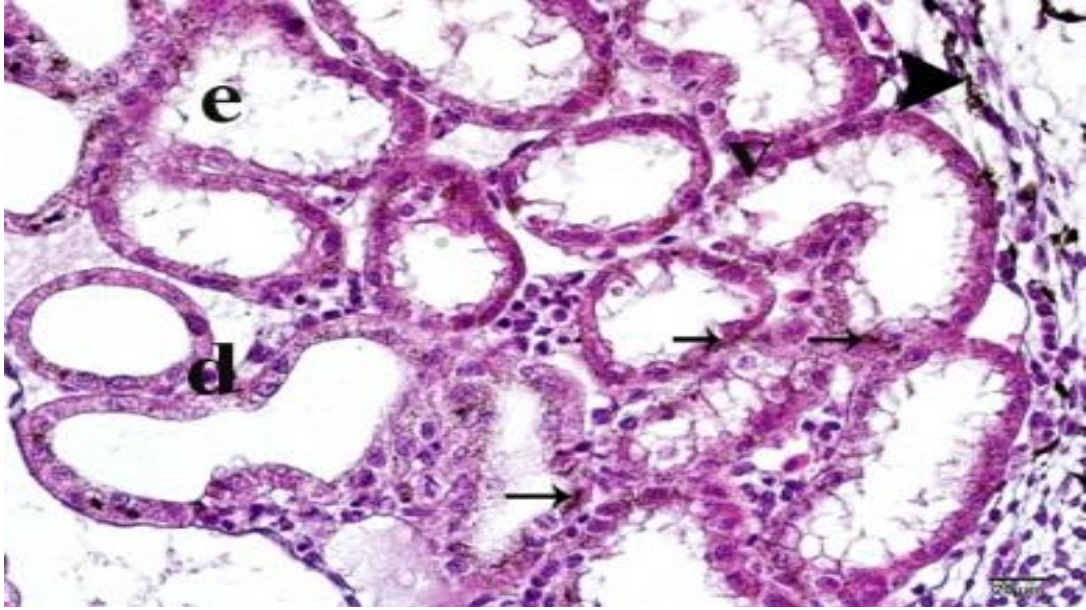
**Şekil 20.** Gonadlarda yapılan histopatolojik inceleme; ok: dilatasyon ve ödem alanları, e: ödem sıvısı, d:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 12.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem ( median ±SS )	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 75 (-) % 25 (+)	% 50 (-) % 50 (+)	% 75 (-) % 25 (+)	% 62 (-) % 38 (+)

### 3.3.1.6. Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün hafif bozulduğu yer yer dilatasyonlar şekillendiği kübik epitel hücrelerin yassılaştığı ve hafif dejenerasyonlar ile vakuolizasyonlar olmasına karşın (%25) normal histolojik görünüme sahip hücrelerin yoğunlukta oldukları gözlemlendi.. Kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu ve içerisinde ödem sıvısı benzeri yapılar (e) olduğu belirlendi. Hücrelerde sitoplazma apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı, bazı çekirdeklerin bile asidofilik olduğu gözlemlendi.. Çevre bağdokuda hafif pigmentasyonların olduğu, bu pigmentasyonun intestinal alanda çok az olduğu (ok), ödemlerin şekillendiği ve karyolizli hücrelerin çevresinde vakuolizasyonların ve doku kayıplarının olduğu görüldü. Tübüllerin etrafını saran bağdokudaki bazı hücrelerde yoğun pigmentasyonel melanin biriminin olduğu fakat tübüllerdeki hücreleride ise pigmentasyon gözlenmediği tespit edildi (Şekil 21). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 13’de gösterilmektedir.



**Şekil 21.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan histopatolojik inceleme; e: tübüller içinde ödem, d:degeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: bağdokuda pigmentasyon, ok: tubullerde hafif pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

**Tablo 13.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

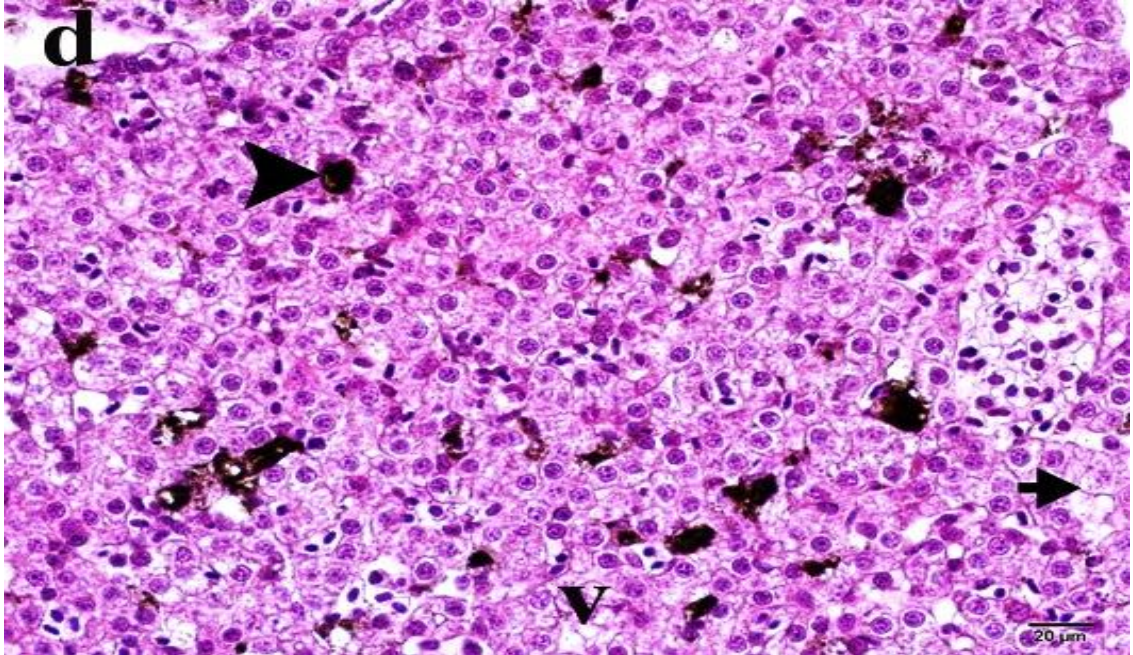
Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem ( median ±SS )	Pigmentasyon (median ±SS)
0 grup 1. alan	-	-	-	-
0 grup 2. alan	-	-	-	-
0 grup 3.alan	-	-	-	+
0 grup 4.alan	+	-	+	-
0 grup 5.alan	-	-	-	+
0 grup 6.alan	+	+	-	-
0 grup 7.alan	-	-	+	+
0 grup 8.alan	+	+	-	-
Ortalama değer yüzdesi	% 75 (-) % 25 (+)	% 75 (-) % 25 (+)	% 75 (-) % 25 (+)	% 65 (-) % 35 (+)



### 3.3.2. 75 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

#### 3.3.2.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Yer yer karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, hepatositlerin bazılarında yer yer vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın dokunun genel görünümünün normal histolojik morfolojiye sahip olduğu görüldü. Sinuzoidal alanlarda yer yer hafif genişlemeler olup bazı alanlarda dilatasyon seviyesinde olduğu gözlemlendi.. Hücrelerde döngüsel apoptosiden dolayı hafif eosinofilik görüldüğü ve bazı makrofajik hücrelerde pigmentasyonel melanin biriktiği tespit edildi. Bazı alanlarda fibrozise bağlı hücre kayıplarının olduğu 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 14’da gösterilmektedir.



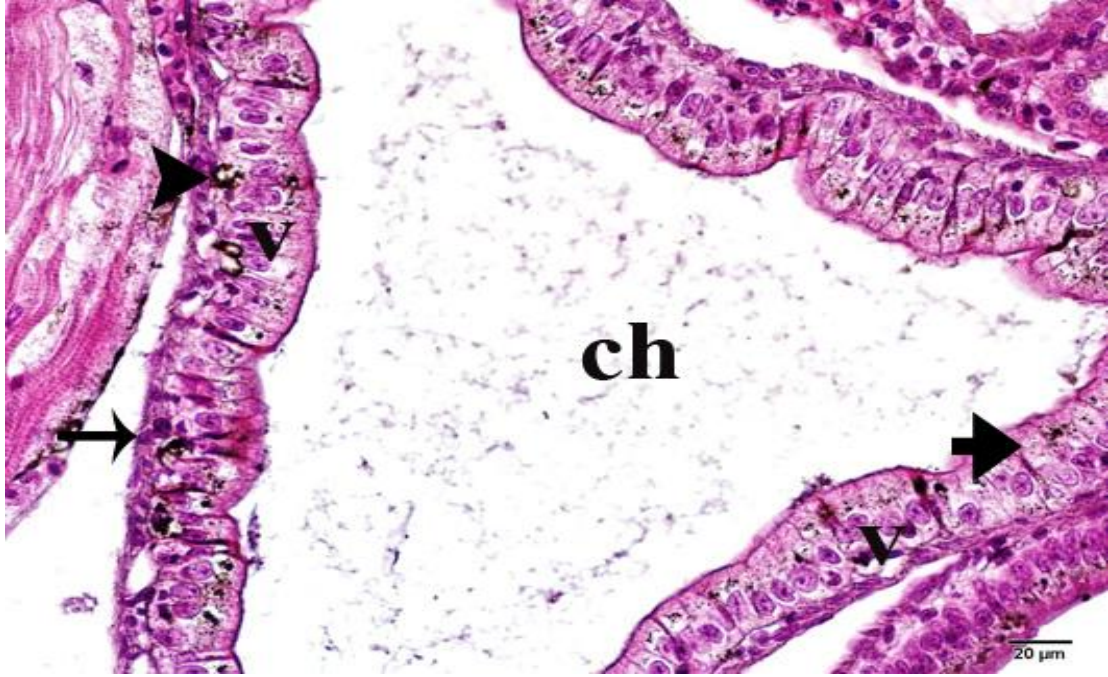
**Şekil 22.** Karaciğerde yapılan histopatolojik inceleme; ok başı: pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon ve ödem, kısa ok: dejenere hücre, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 14.** 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 ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 50 (-) % 50 (+)	% 12 (-) % 63 (+) % 25 (++)	% 62 (-) % 38 (+)	% 62 (+) % 38 (++)	% 75 (+) % 25 (++)	% 12 (-) % 75 (+) % 13 (++)

### 3.3.2.2. Midedeki Gözlemler

Histolojik olarak mide doku bütünlüğünün dokunun genelinde normal olduğu, bazı hücrelerde dejeneratif bozukluğun olduğu, epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal prizmatik görünüme sahip oldukları gözlemlendi.. Epitelin bazalında daha eosinofilik ve yer yer de dilatasyonların şekillendiği, bazı alanlarda boyları kısalan epitelyal hücrelerde apoptosiden dolayı hücre bütününe eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede dokunun bazalında hafif pigmentasyonlara rastlanırken, myoepitelyal hücrelerde ise şişmeler olduğu gözlemlendi. Mide lumeninin kimus ile dolu olmadığı fakat az miktarda da olsa içeriğin bulunduğu tespit edildi. Bu olay canlının sindirim olayının devam ettiğinin bir göstergesidir (Şekil 23). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 15’de gösterilmektedir.



**Şekil 23.** Midede yapılan histopatolojik inceleme; ch: Kimus, ok:hafif şişmiş miyoepitelyal hücre, v:hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı;pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

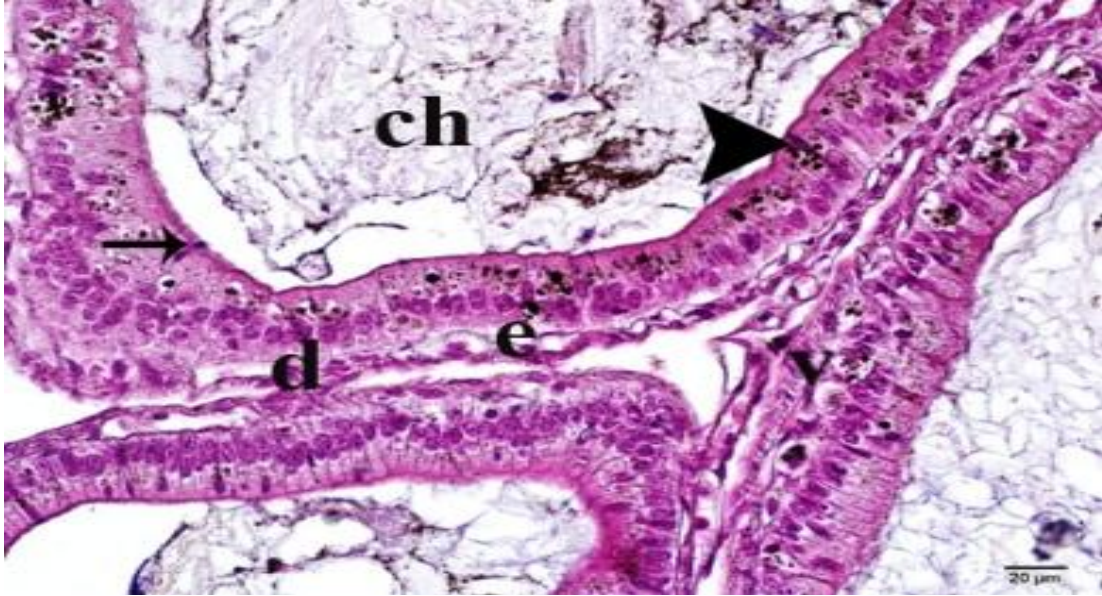
**Tablo 15.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Kas hücresi dejenerasyonu (median ±SS)
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	% 75 (-) % 25 (+)	% 25 (-) % 50 (+) % 25 (++)	% 75 (-) % 25 (+)	% 75 (-) % 25 (+)	% 50 (-) % 50 (+)



### 3.3.2.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulmadığı, epitel hücrelerinde yer yer pigmentasyonlarla beraber vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu, buna karşın normal prizmatik görünümünü kaybetmedikleri gözlemlendi.. Epitel hücrelerinin lümeneye bakan apikal kısımlarında yoğun eosinofilik boyanma gözükürken, bazal kısımlarında yer yer dilatasyona varan genişlemelerin ve ödemlerin olduğu tespit edildi. Epitelin bazılarının boyları kısaldığı prizmatik görünümünü kaybettiği ve kübik olarak görüldüğü, bazı epitelyal hücrelerde ise apoptosiden dolayı hafif eosinofilik ve ökromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede yoğun pigmentasyona rastlanırken, apikal alanlarda pigmentasyonların arttığı gözlemlendi. Mioepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesiyle dolu olduğu görüldü (Şekil 24). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 16’da gösterilmektedir.



**Şekil 24.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; ince ok: epitel apikalı, d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, kalın ok; dejenere hücre, Hematoxilen eosin boyama, X40.

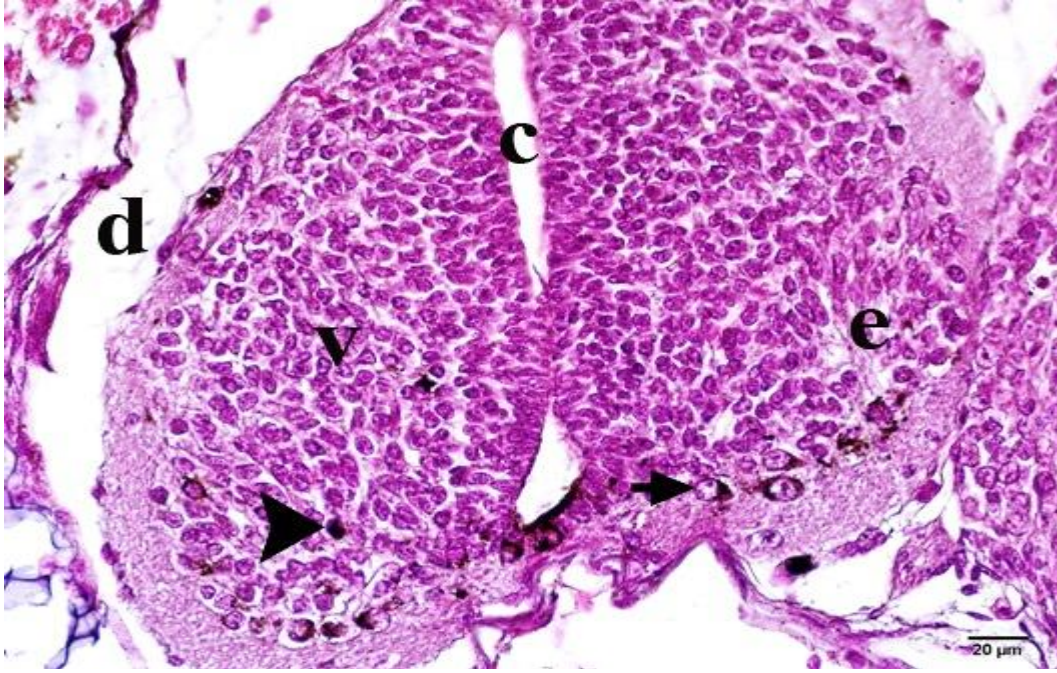


**Tablo 16.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 50 (-) % 50 (+)	% 63 (+) % 37 (-)	% 63 (-) % 37 (+)	% 63 (-) % 37 (+)	% 37 (-) % 63 (+)

#### 3.3.2.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün çok hafif bozulduğu, granüler hücrelerde yer yer vakuolizasyonların ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal histolojik görünüme sahip oldukları gözlemlendi. Merkezi kanalın normal olarak genişlediği ve nöronal hücrelerde apoptosiden dolayı hafif eosinofilik olduğu ve kortekse yakın bazı hücrelerde ise hafif pigmentasyonel melanin biriktiği tespit edildi (Şekil 25). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 17’de gösterilmektedir.



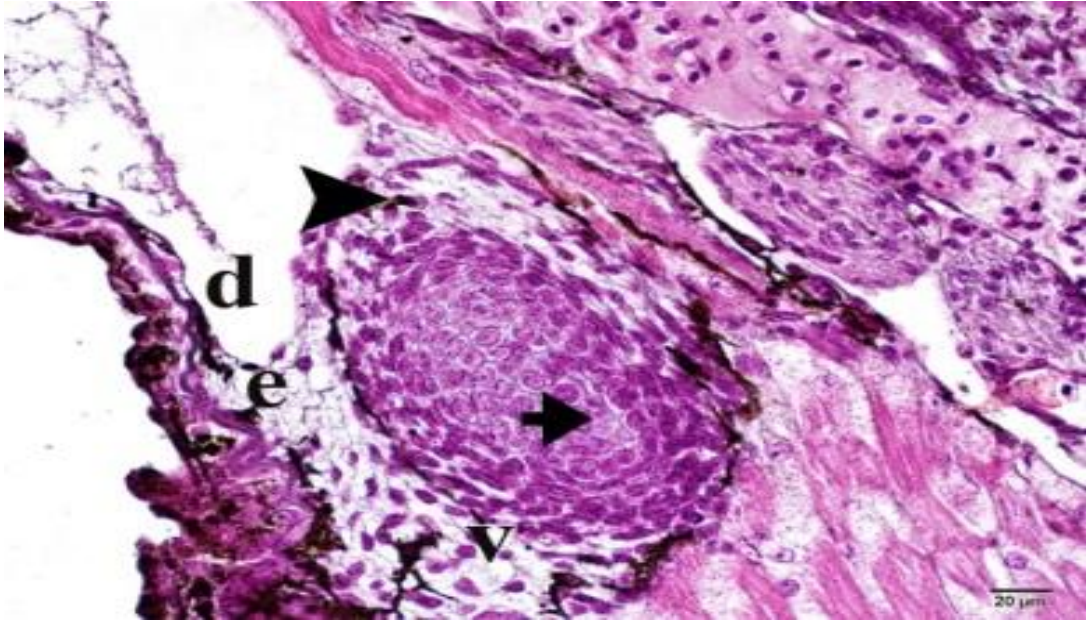
**Şekil 25.** Beyinde yapılan histopatolojik inceleme; kısa ok: dejenere hücre, d:periferik dilatasyon c: merkezi kanal, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, e: ödem, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 17.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 63 (-) % 37 (+)	% 25 (-) % 75 (+)	% 37 (-) % 63 (+)	% 50 (-) % 50 (+)

### 3.3.2.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün hafif bozulduğu, germ hücrelerinde yer yer dejenerasyonlar ve vakuolizasyonlar olmasına karşın (%50) normal histolojik görünüme sahip hücrelerin aynı oranda olduğu (%50) gözlemlendi.. İntestinal alanlarda pigmentasyonların periferde arttığı (ok başı) ve iç kısım alanlarda pigmentasyon derecesinin azaldığı gözlemlendi.. Akıtıcı kanallarda hafif genişlemeler olmasına rağmen dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olmadığı, korteksteki hücrelerde apoptosiden dolayı eosinofilik ve karyolizli yapıda görüldüğü, vakuolizasyona uğramış hücrelerin sitoplazmalarının dağıldığı ve doku bütünlüğünü kaybettikleri gözlemlendi.. Ayrıca bazı miyoloid hücrelerde pigmentasyonel melanin biriminin kontrol grubundan fazla olduğu tespit edildi (Şekil 26). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 18’de gösterilmektedir.



**Şekil 26.** Gonadlarda yapılan histopatolojik inceleme; d: dilatasyon ve ödem alanları, e: ödem sıvısı, kısa ok: dejeneratif hücre, v: hücrede hafif vakuolizasyon, ok başı: hafif pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

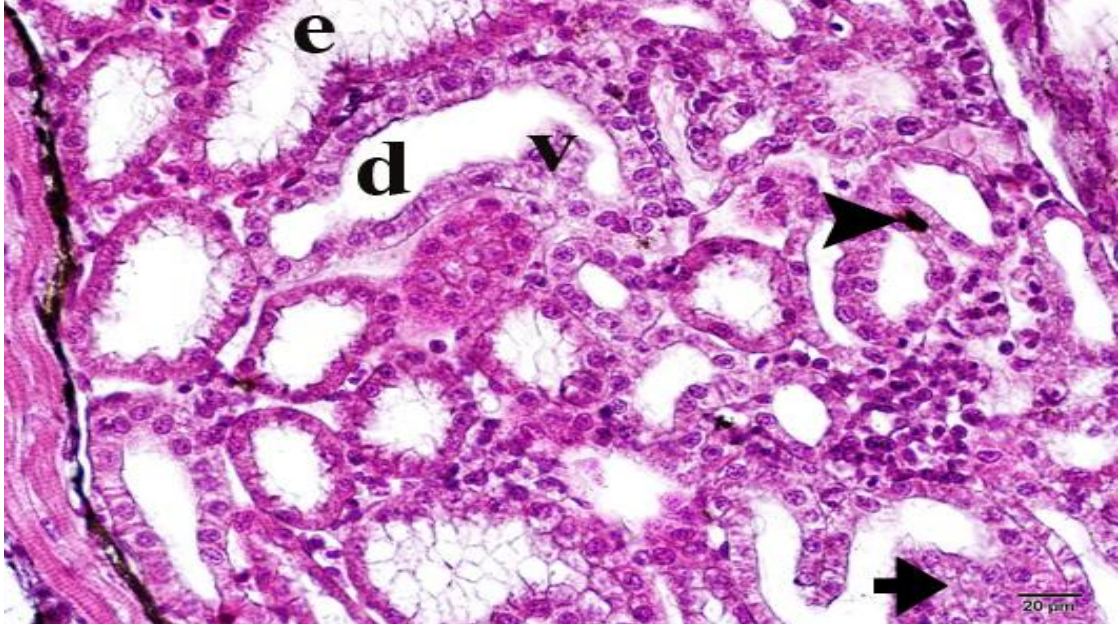
**Tablo 18.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 37 (-) % 63 (+)	% 25 (-) % 75 (+)	% 25 (-) % 50 (+)	% 37 (-) % 63 (+)
yüzdesi			% 25 (++)	

### 3.3.2.6 Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün bozulduğu yer yer dilatasyonların şekillendiği kübik epitel hücrelerin yassılaştığı, vakuolizasyonların olduğu ve dejenerasyona uğradığı gözlemlendi.. Normal histolojik görünüme sahip hücrelerin dokunun ortasına yakın alanlarda daha yoğunlukta oldukları gözlemlendi.. Kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu ve içerisinde yoğun ödem sıvısı benzeri yapılar (e) olduğu belirlendi. Merkeze yakın bazı hücrelerin sitoplazmasında apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı, bazı çekirdeklerin ise yoğun bazofilik oldukları gözlemlendi.. Çevre bağ dokuda yoğun pigmentasyonların olduğu, bu pigmentasyonun intestinal alanda çok az olduğu (ok başı), doku kayıplarının ödemlerin şekillendiği alanlarda ve karyolizli hücrelerin çevresinde vakuolizasyonların olduğu tespit edildi. Tübül epitel hücrelerinde pigmentasyon gözlenmediği tespit edildi (Şekil 27). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 19’da gösterilmektedir.





**Şekil 27.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan histopatolojik inceleme; e: tübüller içinde ödem, kısa ok: dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

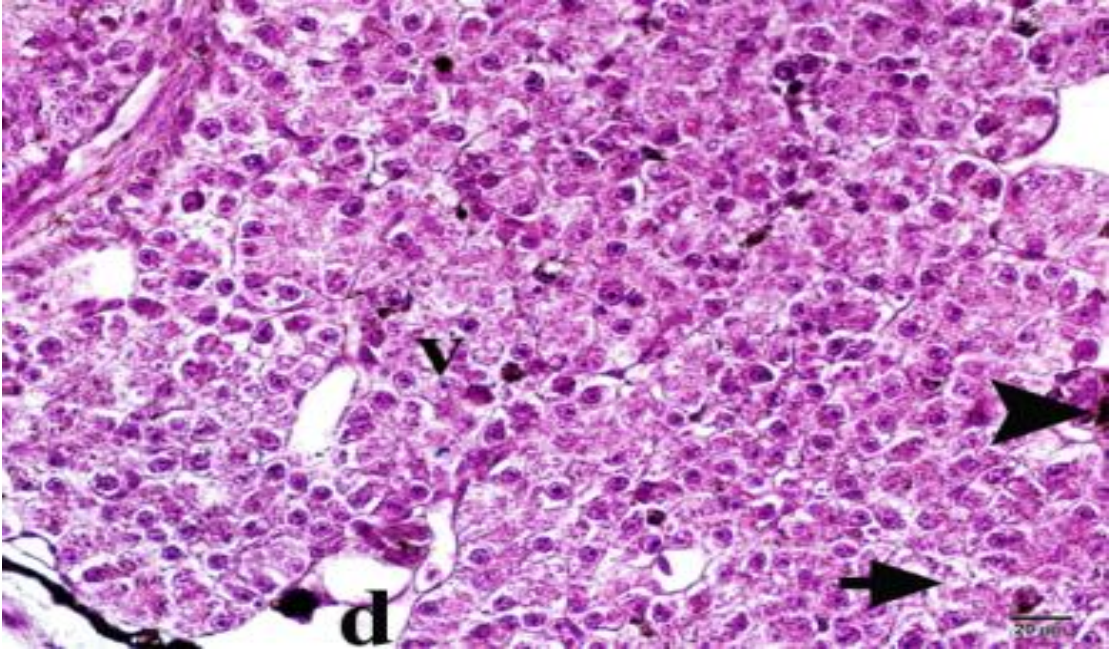
**Tablo 19.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 25 (-) % 63 (+) % 12 (++)	% 25 (-) % 75 (+)	% 50 (-) % 50 (+)	% 37 (-) % 63 (+)

### 3.3.3 100 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

#### 3.3.3.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, hepatositlerde vakuolizasyonların arttığı ve dejenerasyonların olmasına karşın dokunun genel görünümünün normal histolojik morfolojiye sahip hepatositlerinde olduğu görüldü. Sinuzoidal alanlarda yer yer hafif genişlemeler olup kontrol grubuna göre bazı alanlarda dilatasyon seviyesinde olduğu gözlemlendi.. Hücrelerdeki yaşam döngüsü içinde apoptosisten dolayı vakuoller hücrelere yakın eosinofilik görünümlü hücreler ve bazı makrofajik hücrelerde ise pigmentasyonel melanin birikimi tespit edildi. Bazı alanlarda fibrozise bağlı hücre kayıplarının olduğu, bu alanların eosinofilik olarak soluk boyandığı görüldü (Şekil 28). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 20 'de gösterilmektedir.



**Şekil 28.** Karaciğerde yapılan histopatolojik inceleme; ok başı: hafif pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon ve ödem, kısa ok: dejenerasyonlu hücre, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 20.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri

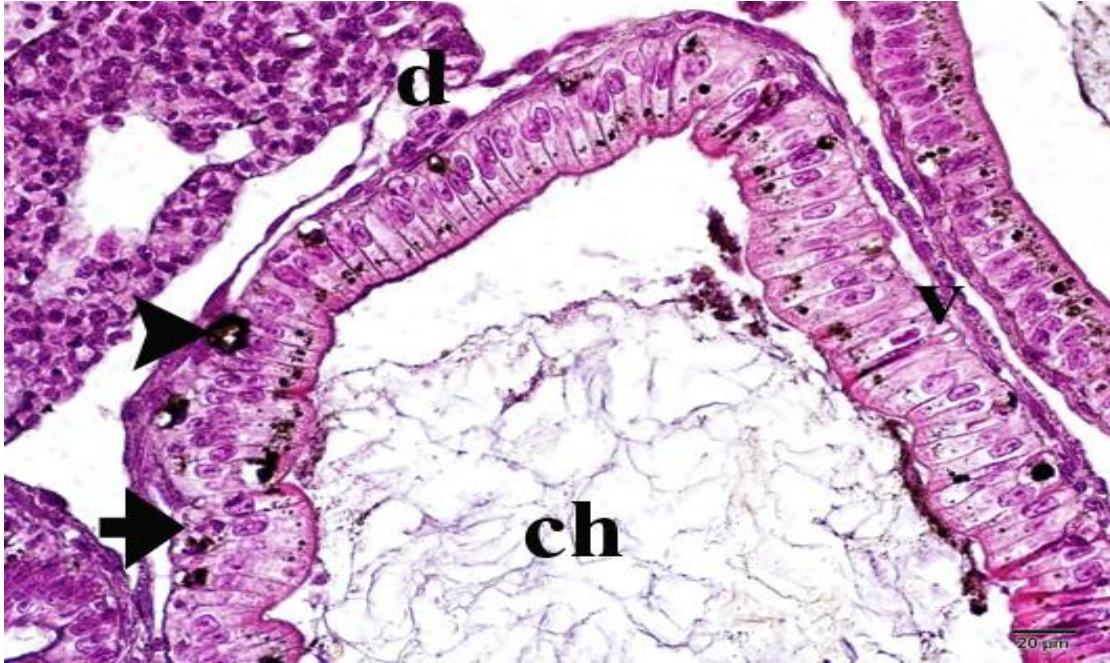
Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median $\pm$ SS)	Vakuolizasyon (median $\pm$ SS)	Ödem (median $\pm$ SS)	Nekrosis (median $\pm$ SS)	Pigmentasyon (median $\pm$ SS)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median $\pm$ SS)
100 grup 1. alan	+	+	+	+	+	+
100 grup 2. alan	+	+	-	+	+	+
100 grup 3. alan	-	-	-	+	+	+
100 grup 4. alan	+	+	+	+	+	+
100 grup 5. alan	-	++	+	++	+	+
100 grup 6. alan	+	++	++	++	-	+
100 grup 7. alan	-	++	+	++	+	+
100 grup 8. alan	+	+	-	+	++	++
Ortalama değer yüzdesi	% 37 (-) % 63 (+)	% 13 (-) % 50 (+) % 38 (++)	% 38 (-) % 50 (+) % 13 (++)	% 62 (+) % 38 (++)	% 13 (-) % 75 (+) % 12 (++)	% 87 (+) % 13 (++)

### 3.3.3.2. Midedeki Gözlemler

Mide doku bütünlüğünün histolojik olarak dokunun genelinde normal olduğu, bazı hücrelerde dejeneratif değişikliklerin olduğu, epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar, pigmentasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal prizmatik görünümünün normal ebatlarda oldukları gözlemlendi. Epitelin bazalında daha eosinofilik boyandığı, yer yer dilatasyonların ve ödem alanlarının şekillendiği, bazı kesit alanlarında epitelyal hücrelerin boylarında kısaltmalar olduğu, apoptosiden dolayı ise hücre bütünlüğünün koyu pembe ve eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede dokunun bazalinde hafif pigmentasyonlara rastlanırken, myoepitelyal hücrelerde ise şişmeler olduğu gözlemlendi. Mide lumeninin kimus ile dolu olmadığı fakat az miktarda da olsa içeriğin bulunduğu tespit edildi. Bu olay canlılığın sindirim olayının devam ettiğinin bir göstergesidir (Şekil 29). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem,



nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 21’de gösterilmektedir.



**Şekil 29.** Midede yapılan histopatolojik inceleme; ch: Kimus, kısa ok: dejenere hücre, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı; pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

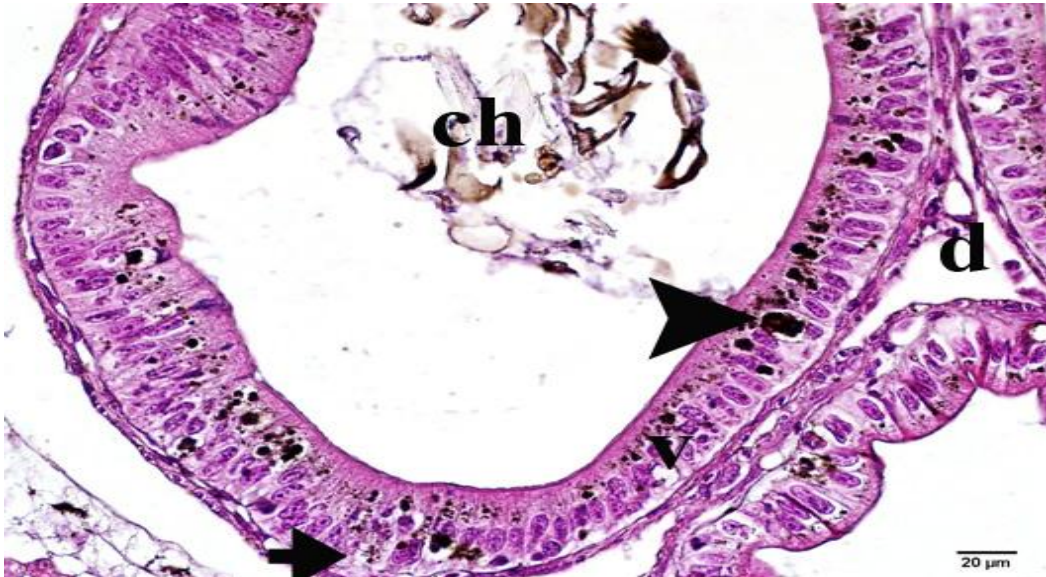
**Tablo 21.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Kas hücresi dejenerasyonu (median ±SS)
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	% 50 (-)	% 13 (-)	% 37 (-)	% 38 (-)	% 50 (-)
yüzdeleri	% 50 (+)	% 37 (+)	% 50 (+)	% 37 (+)	% 50 (+)
		% 50 (++)	% 13 (++)	% 25 (++)	



### 3.3.3.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün az bozulduğu, epitel hücrelerinde pigmentasyonlarla beraber vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu, buna karşın normal prizmatik görünümünü ise kaybetmedikleri gözlemlendi.. Epitel hücrelerinin lümeneye bakan apikal kısımlarında yoğun eosinofilik boyanma gözlenirken, hücrenin bazal kısımlarında dilatasyona varan genişlemelerin olduğu ve bazı preparatlarda bu alanlarda ödem sıvısının varlığı tespit edildi. Bazı epitellerin boyları kısaldığı, prizmatik görünümünü kaybettiği ve kübik olacak şekilde kısaldıkları görüldü. Birçok epitelyal hücrelerin ise apoptosiden dolayı eosinofilik olduğu bazı çekirdeklerin ökromatik bazılarının ise yoğun hetero kromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede yoğun pigmentasyona rastlanırken, apikal alanlara doğru pigmentasyonların arttığı ve pigment ebatlarının büyüdüğü gözlemlendi.. Myoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi ile kısmen dolu olduğu görüldü (Şekil 30). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitelyum dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 22’de gösterilmektedir.



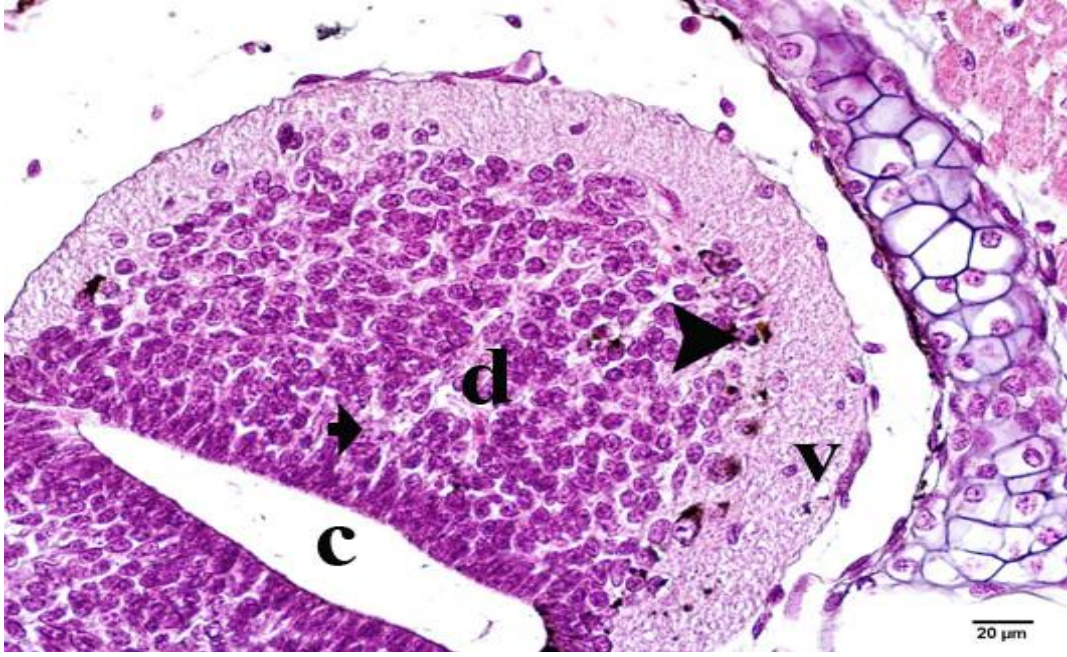
**Şekil 30.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, kalın ok; dejenerasyonlu hücre, Hematoxilen eosin boyama, X40.

**Tablo 22.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 37 (-) % 63 (+)	% 63 (+) % 37 (-)	% 50 (-) % 50 (+)	% 63 (-) % 37 (+)	% 12 (-) % 75 (+) % 13 (++)

#### 3.3.3.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün çok hafif bozulduğu, granüler hücrelerde vakuolizasyonların hem korteks de hem de medullada arttığı ve yer yer nöronal dejenerasyonların olmasına karşın doku bütünlüğünün normal histolojik görüne sahip olduğu gözlemlendi.. Sentra kanalın normal olarak genişlediği çevresindeki ependimal hücrelerde ve nöronal hücrelerde apoptosiden dolayı eosinofilik olduğu ve medulla-korteks sınırına yakın bazı hücrelerde ise hafif pigmentasyonel melanin biriktiği tespit edildi. Kontrol grubu ve 75 mg/L konsantrasyondaki gruba nazaran vakuolizasyonların belirgin olareak artmaya başladığı gözlemlendi. (Şekil 31). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 23’de gösterilmektedir.



**Şekil 31.** Beyinde yapılan histopatolojik inceleme; kısa ok: dejenere hücre, d:periferik dilatasyon c: merkezi kanal, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, e: ödem, Hematoksilen eosin boyama, X40.

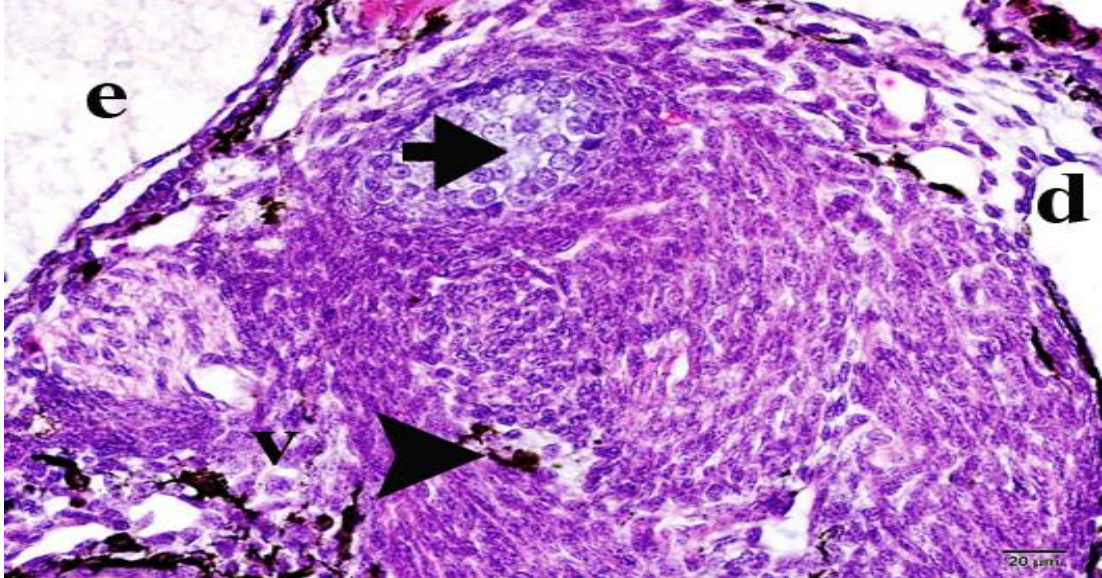
**Tablo 23.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 63 (-) % 37 (+)	% 75 (+) % 25 (++)	% 37 (-) % 63 (+)	% 50 (-) % 50 (+)



### 3.3.3.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün hafif bozulduğu, germ hücrelerinde yer yer dejenerasyonlar ve vakuolizasyonlar olmasına karşın (%75) normal histolojik görünüme sahip hücrelerinde yoğun olarak bulunduğu (%75) gözlemlendi. İntestinal alanlarda pigmentasyonların periferde arttığı (ok başı) ve iç kısımlarda pigmentasyon derecesinin azaldığı gözlemlendi. Akıtıcı kanallarda hafif genişlemeler olmasına rağmen dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olmadığı, korteksteki hücrelerde apoptosiden dolayı eosinofilik ve karyolizli yapıda görüldüğü, vakuolizasyona uğramış hücrelerin sitoplazmalarının dağıldığı ve doku bütünlüğünü kayb ettikleri gözlemlendi. Ayrıca bazı miyoloid hücrelerde pigmentasyonel melanin biriminin kontrol grubundan fazla olduğu tespit edildi (Şekil 32). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 24’de gösterilmektedir.



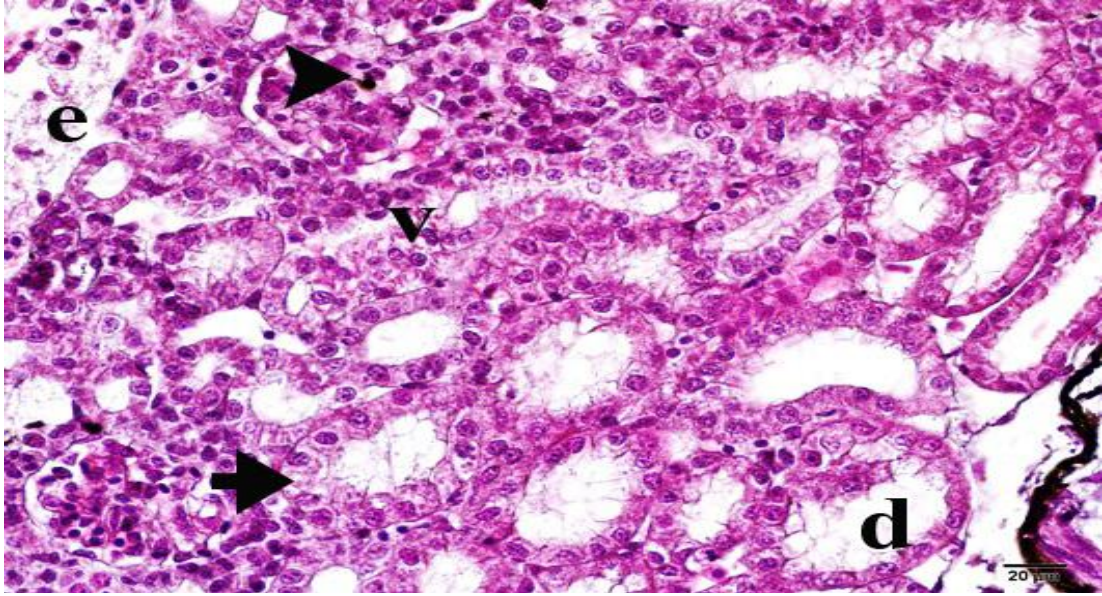
**Şekil 32.** Gonadlarda yapılan histopatolojik inceleme; d: dilatasyon ve ödem alanları, e: ödem sıvısı, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede hafif vakuolizasyon, ok başı: hafif pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 24.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 13 (-) % 37 (+)	% 25 (-) % 75 (+)	% 12 (-) % 63 (+)	% 25 (-) % 75 (+)
yüzdesi	% 50 (++)		% 25 (++)	

### 3.3.3.6 Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün bozulduğu yer yer dilatasyonlar şekillendiği kübik epitel hücrelerin yassılaştığı, vakuolizasyonların olduğu ve dejenerasyona uğradığı gözlemlendi. Normal histolojik görünüme sahip hücrelerin dokunun ortasına yakın alanlarda daha yoğunlukta oldukları gözlemlendi.. Kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu ve içerisinde yoğun ödem sıvısı benzeri yapılar (e) olduğu belirlendi. Merkeze yakın bazı hücrelerin sitoplazmasında apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı, bazı çekirdeklerin ise yoğun bazofilik oldukları gözlemlendi. Çevre bağ dokuda yoğun pigmentasyonların olduğu, bununla beraber pigmentasyonun intestinal alanda çok az olduğu (ok başı), doku kayıplarının ödemlerin şekillendiği alanlarda ve karyolizli hücrelerin çevresinde vakuolizasyonların olduğu tespit edildi. Tübul epitel hücrelerinde pigmentasyon gözlenmediği tespit edildi (Şekil 33). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 25’de gösterilmektedir.



**Şekil 33.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; e: tübüller içinde ve dışında ödem, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 25.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

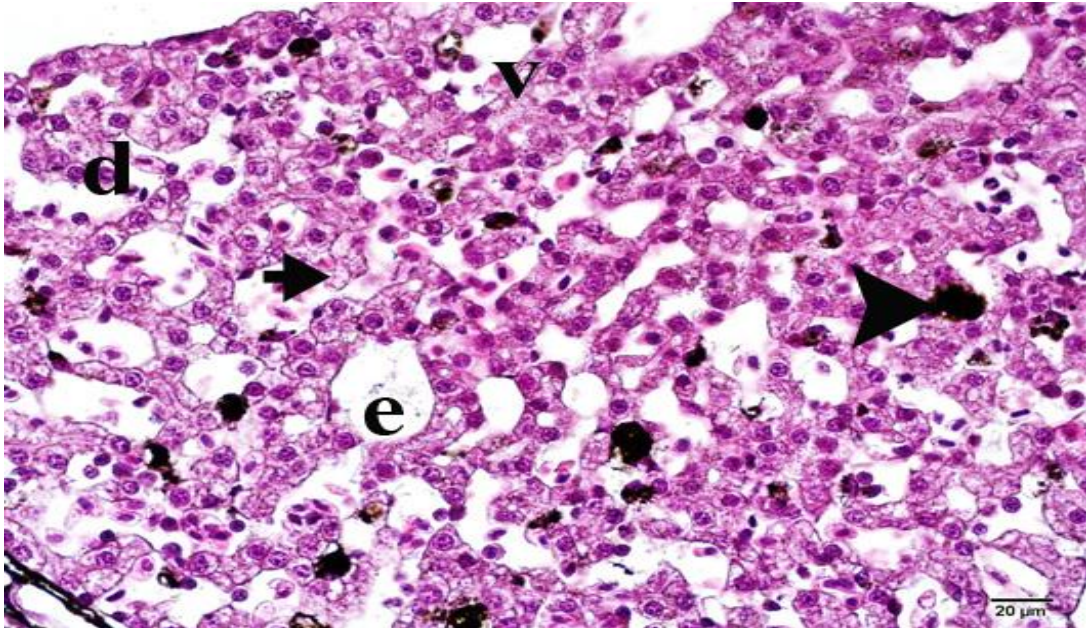
Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
100 grup 1. alan	-	-	-	-
100 grup 2. alan	+	+	-	+
100 grup 3.alan	+	+	+	+
100 grup 4.alan	++	+	+	-
100 grup 5.alan	+	++	++	+
100 grup 6.alan	+	+	+	+
100 grup 7.alan	++	+	++	+
100 grup 8.alan	++	++	+	-
Ortalama değer yüzdesi	% 13 (-) % 50 (+) % 37 (++)	% 13 (-) % 62 (+) % 25 (++)	% 25 (-) % 50 (+) % 25 (++)	% 37 (-) % 63 (+)



### 3.3.4. 250 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

#### 3.3.4.1 Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, hepatositlerin yoğun vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar ile patolojik morfolojiye sahip olduğu görüldü. Vakuolizasyonların dokunun bütününde homojen dağıldığı, sinuzoidal alanlarda meydana gelen genişlemelerin dilatasyon seviyesinde olduğu gözlemlendi.. Hücrelerde döngüsel apoptosiden dolayı bazı hücrelerin yoğun eosinofilik görüldüğü ve bazı makrofajik hücrelerin ise pigmentasyonel melaninden dolayı şekillerini kaybettikleri tespit edildi. Gözlemlenen pigmentasyon dokunun her yerinde homojen görümlü olup, bazı alanlardaki kordonlarda fibroze bağlı hücre kayıplarının olduğu tespit edildi (Şekil 34). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 26’da gösterilmektedir.



Şekil 34. Karaciğerde yapılan histopatolojik inceleme; ok başı: pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon ve ödem, kısa ok: dejenere hücre, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

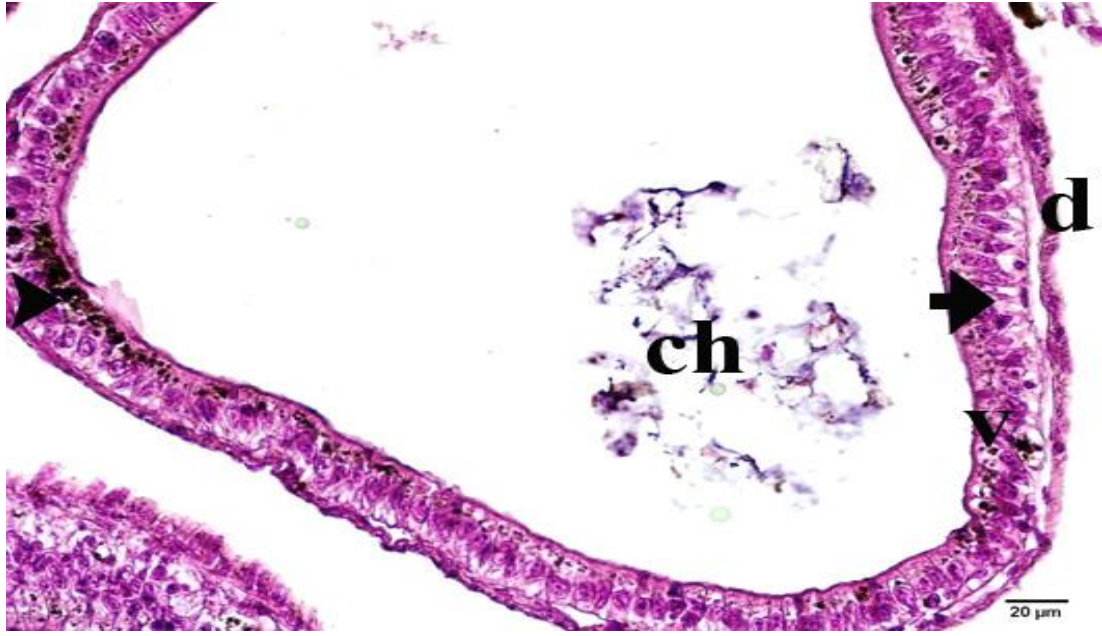
**Tablo 26.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejen. Dökülmeleri (median $\pm$ SS)	Vakuolizasyon (median $\pm$ SS)	Ödem (median $\pm$ SS)	Nekrosis (median $\pm$ SS)	Pigmentasyon (median $\pm$ SS)	Bağdoku artışı, dilatasyon (median $\pm$ SS)
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 yüzdesi	% 25 (+) % 38 (++) % 37 (+++)	% 12 (+) % 63 (++) % 25 (+++)	% 13 (-) % 50 (+) % 37 (++)	% 50 (+) % 25 (++) % 25 (+++)	% 50 (+) % 50 (++)	% 50 (+) % 37 (++) % 13 (+++)

### 3.3.4.2. Midedeki Gözlemler

Histolojik olarak mide doku bütünlüğünün genelde normal olduğu, bazı hücrelerde bazale doğru dejeneratif bozuklukların olduğu, epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal prizmatik görünüme sahip oldukları gözlemlendi. Genelde epitelin bazalında gözlenen vakuolizasyonların apikaldede gözlemlendiği, hücrelerin daha eosinofilik ve yer yer de dilatasyonların şekillendiği görüldü. Bazı alanlarda epitel boylarının kısaldığı, hücrelerde apoptosiden dolayı hücre bütününe yoğun eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede dokunun bazalında hafif pigmentasyonlara rastlanırken, myoepitelyal hücrelerde ise şişmeler olduğu gözlemlendi.. Mide lumeninin kimus ile tamamen dolu olmadığı fakat az miktarda da olsa içeriğin bulunduğu tespit edildi. Bu olay canlının sindirim olayının az da olsa devam ettiğinin bir göstergesidir (Şekil 35). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 27’de gösterilmektedir.





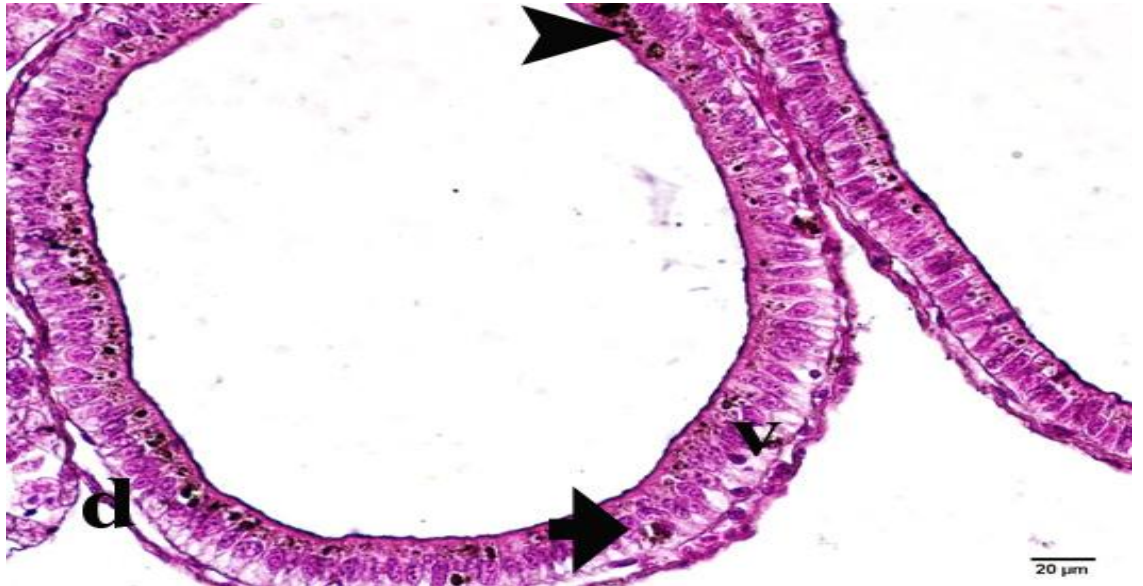
**Şekil 35.** Midede yapılan histopatolojik inceleme; ch: Kimus, kısa ok:dejenere hücre, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı:pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

**Tablo 27.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Muscle cell degenealanion (median ±SS)
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	% 75 (-) % 25 (+)	% 62 (+) % 25 (++) % 13 (+++)	% 12 (-) % 75 (+) % 13 (++)	% 25 (-) % 37 (+) % 25 (++)	% 25 (-) % 75 (+)

### 3.3.4.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün tamamen bozulmadığı, fakat epitel hücrelerinde yer yer hafif pigmentasyonlarla beraber vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu gözlemlendi.. Epitelyal kattaki hücreler normal prizmatik görünümlemlerini kaybetmedikleri ve histolojik morfolojilerinin yerinde olduğu tespit edildi. Epitel hücrelerinin lümene bakan apikal kısımlarında hem yoğun eosinofilik boyanırken hem de çizgili kenar düzeyinde pigmentli olduğu gözlemlendi.. Hücrelerin apikallerinde çok hafif vakuolizasyon gözlenirken, bazal kısımlarında ise daha yoğun dilatasyona varan genişlemelerin ve ödemlerin olduğu tespit edildi. Epitelin bazılarının boyları kısaldığı, sitoplazmik pigmentasyonlarının arttığı ve prizmatik görünümlemlerini kaybettikleri ve kübik olarak görüldüğü belirlendi. Birçok epitelyal hücrede ise apoptosiden dolayı hafif eosinofilik ve ökromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede yoğun pigmentasyona rastlanırken, apikal alanlarda pigmentasyonların arttığı gözlemlendi.. Miyoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi ile dolu olduğu görüldü (Şekil 36). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 28’de gösterilmektedir.



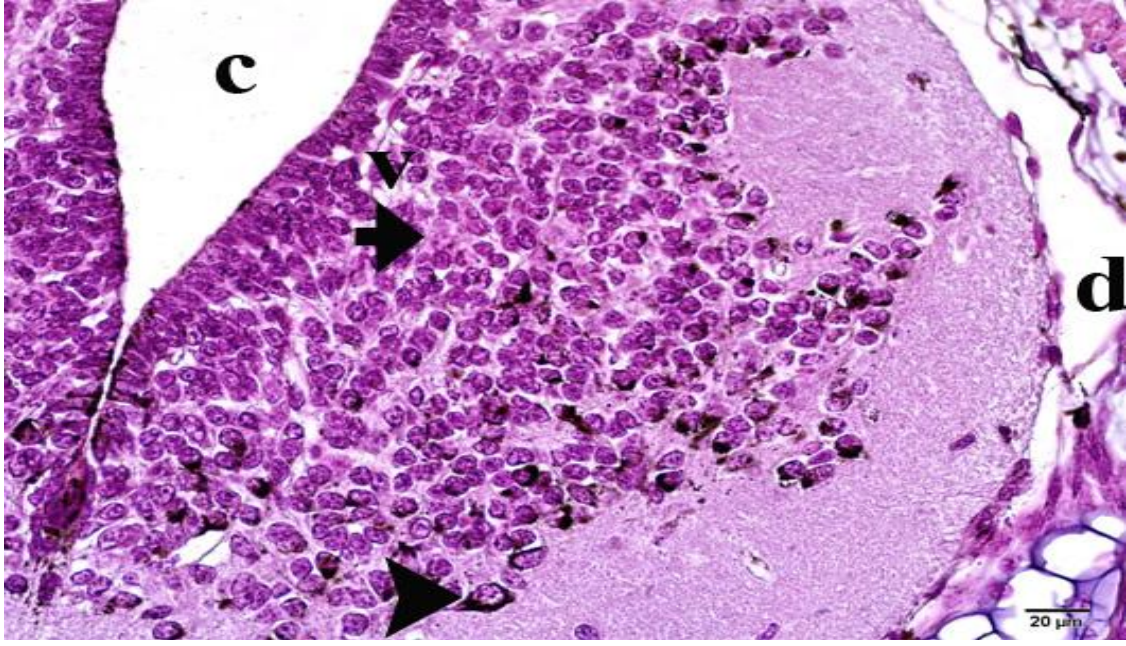
**Şekil 36.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında hafif vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, kalın ok; dejenere hücre, Hematoxilen eosin boyama, X40.

**Tablo 28.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 25 (-) % 75 (+)	% 25 (-) % 75 (+)	% 37 (-) % 63 (+)	% 50 (-) % 50 (+)	% 13 (-) % 87 (+)

#### 3.3.4.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün bozulduğu, korteks bölgesinde granüler hücrelerde yer yer vakuolizasyonların ve dejenerasyonlar olduğu gözlemlendi. Merkezi kanalın hücrelerinin normal morfolojide olmasına karşın çapının genişlediği tespit edildi. Hem ependimal hem de nöronal hücrelerde apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı ve korteks medulla sınır bölgesindeki hücrelerde yoğun pigmentasyonel melanin birikimi olduğu belirlendi (Şekil 37). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 29’da gösterilmektedir.



**Şekil 37.** Beyinde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kısa ok: dejenere hücre, d:periferik dilatasyon c: merkezi kanal, v: hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, e: ödem, Hematoksilen eosin boyama, X40.

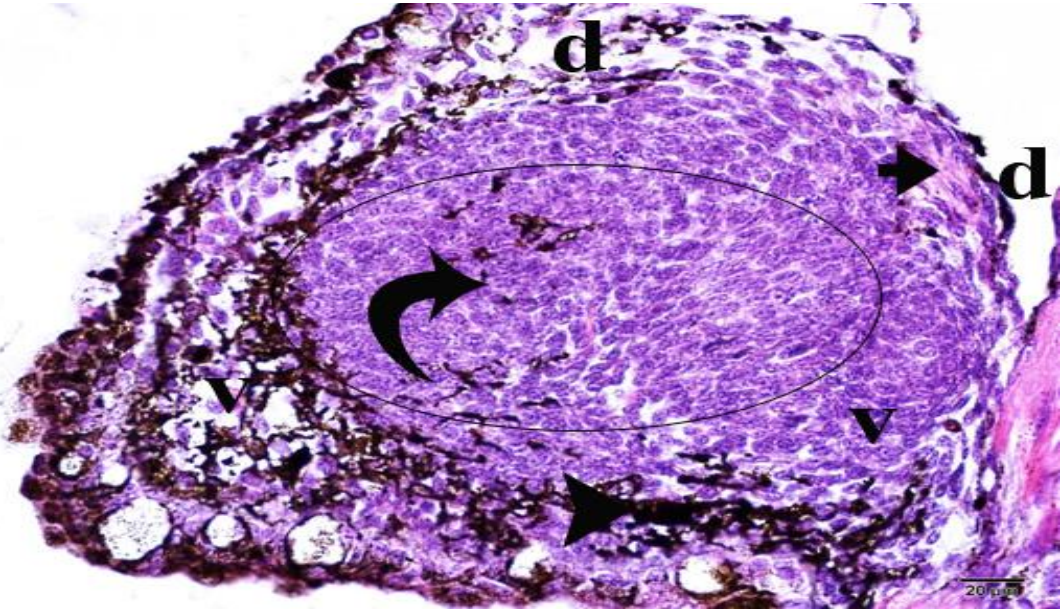
**Tablo 29.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 37 (-) % 63 (+)	% 38 (+) % 37 (++) % 25 (+++)	% 25 (-) % 63 (+) % 12 (++)	% 25 (-) % 63 (+) % 12 (++)



### 3.3.4.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün periferal bölgelerde yoğun olarak bozulduğu, germ hücrelerinde yer yer dejenerasyonlar ve vakuolizasyonlar olmasına karşın (%70) normal histolojik görünüme sahip hücrelerin de merkezde yerleşimli olduğu (%30) gözlemlendi. İntestinal alanlarda pigmentasyonların periferde arttığı (ok başı) ve iç kısımdaki dejeneratif alanlarda pigmentasyon derecesinin ise azaldığı görüldü. Akıtıcı kanallarda hafif genişlemeler olmasına rağmen dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olmadığı, korteksteki hücrelerde apoptosiden dolayı eosinofilik ve karyolizli yapıda görüldüğü, vakuolizasyona uğramış hücrelerin sitoplazmalarının dağıldığı ve doku bütünlüğünü kaybettikleri gözlemlendi. Periferal alanlardaki vakuolizasyonların ve damar dilatasyonlarının arttığı belirlendi. Ayrıca bazı miyoloid hücrelerde pigmentasyonel melanin birikiminin 100 mg/L konsantrasyondaki gruptan fazla olduğu tespit edildi. Ovaryum dokusunda somatik dokulu hafif intersex alanının gonadın merkezinde oluşumu gözlemlendi. (Şekil 38). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 30’da gösterilmektedir.



**Şekil 38.** Gonadlarda yapılan histopatolojik inceleme; d: dilatasyon ve ödem alanları, e: ödem sıvısı, kısa ok: dejeneratif hücre, v: hücrede hafif vakuolizasyon, ok başı: hafif pigmentasyon, eğri ok-yuvarlak alan: intersex bölgesi, Hematoksilen eosin boyama, X40.

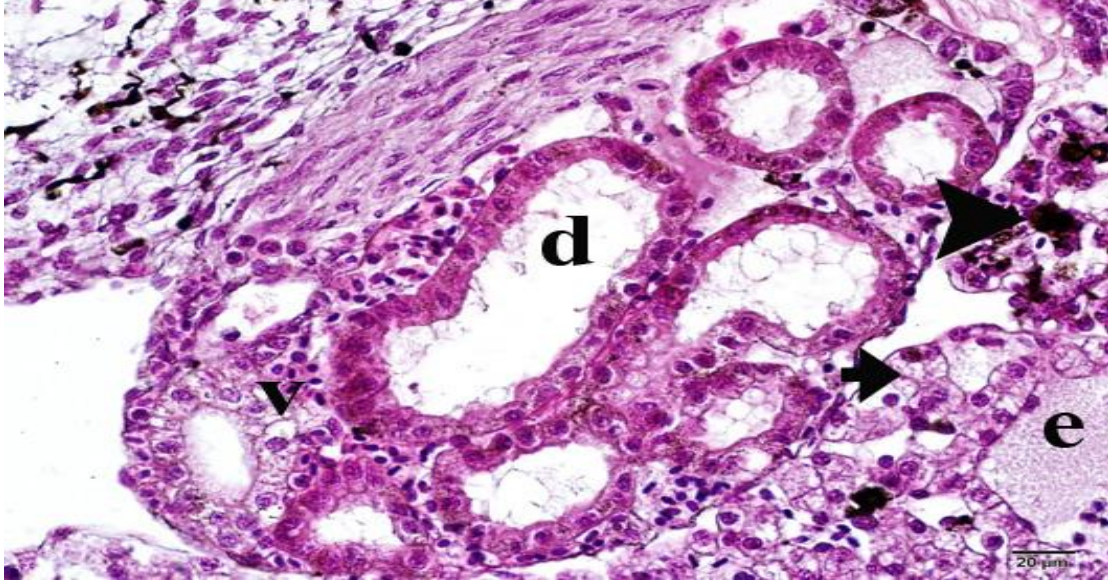
**Tablo 30.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 yüzdesi	% 13 (-) % 37 (+) % 50 (++)	% 37 (+) % 50 (++) % 13 (+++)	% 12 (-) % 25 (+) % 63 (++)	% 25 (+) % 50 (++) % 25 (+++)

### 3.3.4.6 Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün bozulduğu yoğun dilatasyonlar şekillendiği kübik epitel hücrelerin hem yassılaştığı, hem de vakuolizasyonların artarak dejenerasyona uğradığı gözlemlendi. Normal histolojik görünüme sahip hücrelerin dokunun ortasına yakın alanlarda daha yoğunlukta oldukları, perifer alanlarda ise kayıpların arttığı görüldü. Kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu ve içerisinde yoğun ödem sıvısı benzeri yapılar (e) oluşturduğu belirlendi. Merkeze yakın bazı hücrelerin sitoplazmasında apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı gözlenirken dejenere hücrelerin ise soluk ve granuler vakuolizasyonlu olduğu tespit edildi. Bazı çekirdeklerin ise yoğun bazofilik oldukları ve etraflarında vakuollerin şekillendiği gözlemlendi. Çevre bağdokuda yoğun pigmentasyonların olduğu, bu pigmentasyonun intestinal alanda çok az, fakat yoğun boyalı olduğu (ok başı), doku kayıplarının ödemlerin şekillendiği alanlarda ve karyolizli hücrelerin çevresinde vakuolizasyonların oluşturduğu tespit edildi. Tübul epitel hücrelerinde pigmentasyon gözlenmediği tespit edildi (Şekil 39). Histopatolojik

incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 31’de gösterilmektedir.



**Şekil 39.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan histopatolojik inceleme; d:dilatasyon, e: tübüller içinde ve dışında ödem, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

**Tablo 31.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

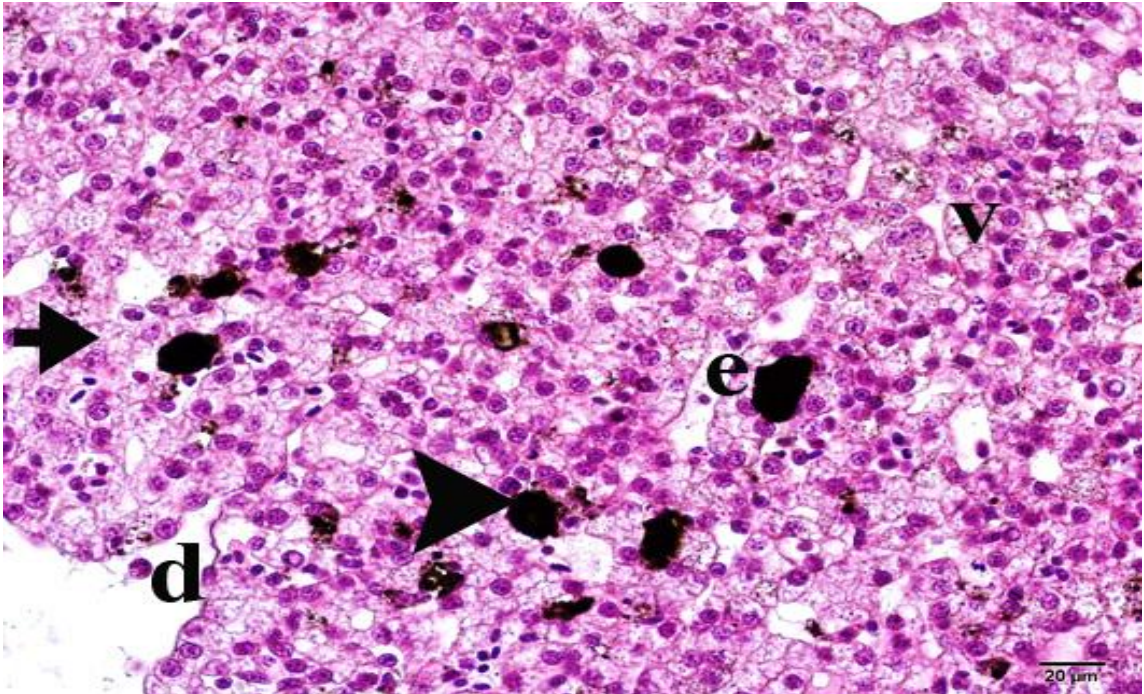
Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
250 grup 1. alan	+	+	-	-
250 grup 2. alan	+	+	+	+
250 grup 3.alan	++	+	+	+
250 grup 4.alan	++	+	+	-
250 grup 5.alan	+	++	++	+
250 grup 6.alan	+++	+++	++	+
250 grup 7.alan	+++	++	++	+
250 grup 8.alan	++	++	++	3
Ortalama değer yüzdesi	% 37 (+) % 25 (++) % 25 (+++)	% 50 (+) % 37 (++) % 13 (+++)	% 13 (-) % 37 (+) % 50 (++)	% 25 (-) % 75(+)

### 3.3.5. 500 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler



### 3.3.5.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, hepatositlerin yoğun vakuolizasyonlar, dejenerasyonlar ve hücre kayıplarıyla patolojik morfolojiye sahip olduğu görüldü. Vakuolizasyonların dokunun bütününde homojen dağılıp, boyutları sinuzoidal alanlara yaklaştıkça arttığı, sinuzoidal alanlarda meydana gelen genişlemelerin ise dilatasyon seviyesinde olduğu gözlemlendi.. Bazı hücrelerde döngüsel apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik görüldüğü ve bazı makrofajik hücrelerin büyüdüğü ve yoğun depolanan pigmentasyonel melaninden dolayı şekillerini kaybettiği tespit edildi. Gözlenen pigmentasyon dokunun her yerinde homojen görünümlü olmayıp, dilatasyon bölgeleri ve remark kordonlarında yoğunluklarının arttığı, fibroze bağlı hücre kayıplarının da bu alanlarda arttığı tespit edildi (Şekil 40). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 32’de gösterilmektedir.



**Şekil 40.** Karaciğerde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon e; hafif ödem, kısa ok: dejenerasyon hücre, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.



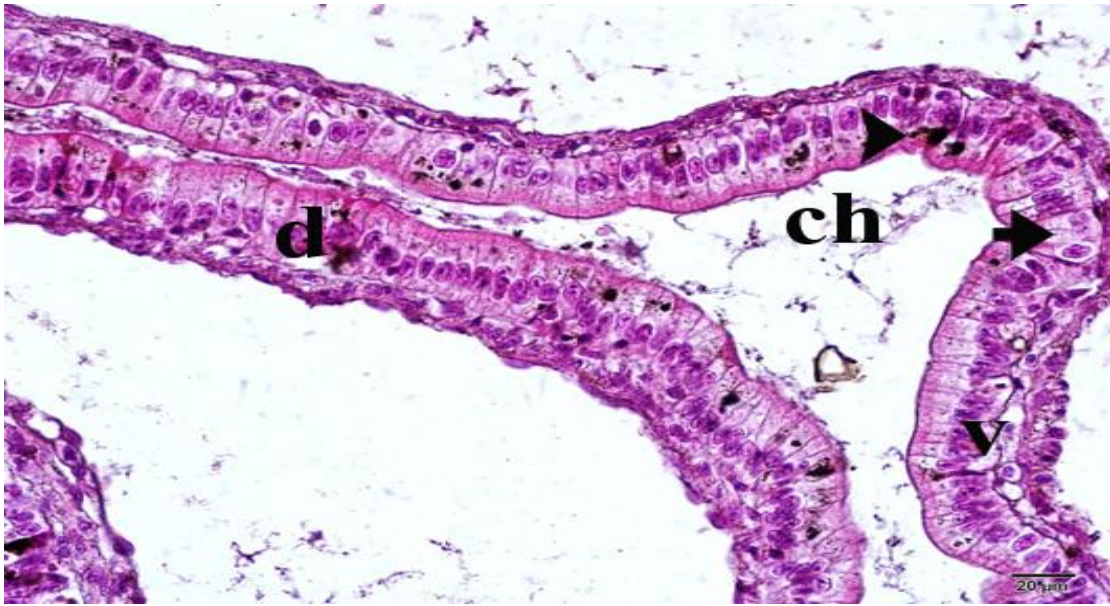
**Tablo 32.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SS)
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	% 37 (++) % 63 (+++)	% 63 (++) % 37 (+++)	% 50 (+) % 50 (++)	% 25 (+) % 37 (++) % 87 (+++)	% 37 (+) % 63 (++)	% 37 (+) % 50 (++) % 13 (+++)

### 3.3.5.2. Midedeki Gözlemler

Dokunun genelinde mide doku bütünlüğünün normal olduğu, bazı hücrelerde dejeneratif bozukluğun olduğu, epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olmasına karşın normal pirizmatik görünümüne sahip oldukları gözlemlendi. Epitelin bazalının daha fazla eosinofilik boyandığı ve yer yer de dilatasyonların şekillendiği görüldü. Bazı alanlarda epitel boyları kısaldığı ve apoptosisten dolayı hücre vaskulizasyonu hariç eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede epitelyal dokunun bazalinde hafif pigmentasyonlara rastlanırken, sitoplazmik pigmentasyonlarında homojen olmayan bir dağılım gösterdikleri belirlendi. Ayrıca miyoepitelyal hücrelerde de şişmeler olduğu gözlemlendi.. Mide lumeninin kimus ile dolu olmadığı yer yer büzüştüğü, az miktarda da olsa içeriğin bulunması canlılığın sindirim olayının devam ettiğinin bir göstergesidir (Şekil 41). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri,

vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 33’de gösterilmektedir.



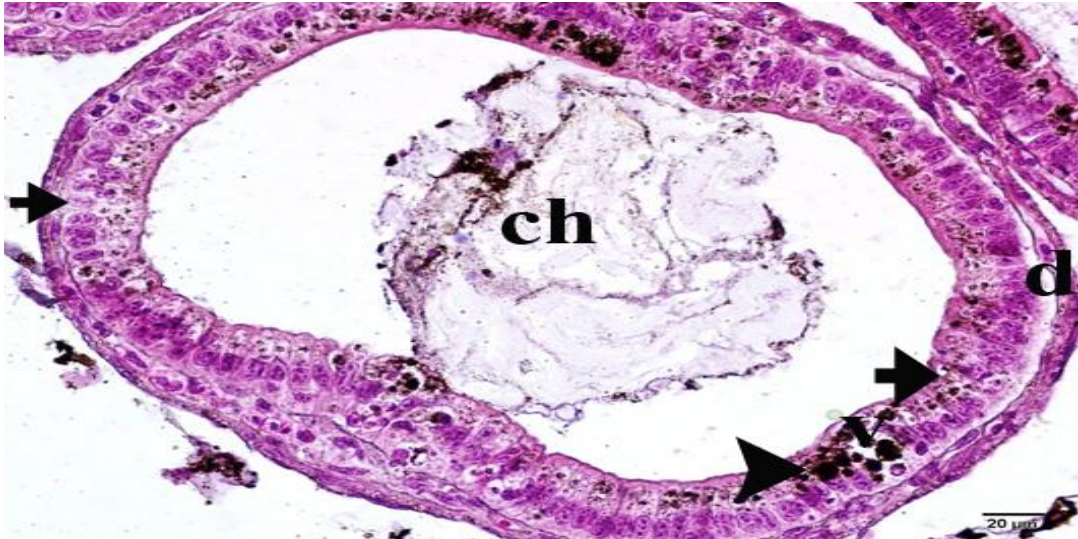
**Şekil 41.** Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; ch: Kimus, kısa ok: dejenere hücre, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, ok başı; pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 33.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Muscle cell degenealanion (median ±SS)
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	% 63 (+) % 37 (++)	% 25 (+) % 63 (++) % 13 (+++)	% 12 (-) % 75 (+) % 13 (++)	% 25 (-) % 37 (+) % 25 (++)	% 25 (-) % 75 (+)

### 3.3.5.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulmaya başladığı, epitel hücrelerinde yer yer hafif pigmentasyonlarla beraber vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu gözlemlendi. Epitelyal kattaki hücreler normal prizmatik görünümünü kaybetmedikleri histolojik morfolojilerinin yerinde olduğu tespit edildi. Epitel hücrelerinin lümene bakan apikal kısımlarında hem yoğun eosinofilik boyanırken hem de çizgili kenar düzeyinde pigmentli olduğu gözlemlendi. Hücrelerin apikallerinde çok hafif vakuolizasyon görülürken, bazal kısımlarında ise daha yoğun dilatasyona varan genişlemelerin ve ödemlerin olduğu tespit edildi. Epitelin bazılarının boylarının kısaldığı, sitoplazmik pigmentasyonlarının arttığı ve prizmatik görünümünü kaybettiği ve kübik olarak görüldüğü belirlendi. Birçok epitelyal hücrede ise apoptosiden dolayı hafif eosinofilik ve ökromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede yoğun pigmentasyona rastlanırken, apikal alanlarda pigmentasyonların arttığı görüldü. Myoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi ile dolu olduğu görüldü (Şekil 42). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 34’de gösterilmektedir.



**Şekil 42.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, kalın ok; dejenerasyon hücre, Hematoxilen eosin boyama, X40.

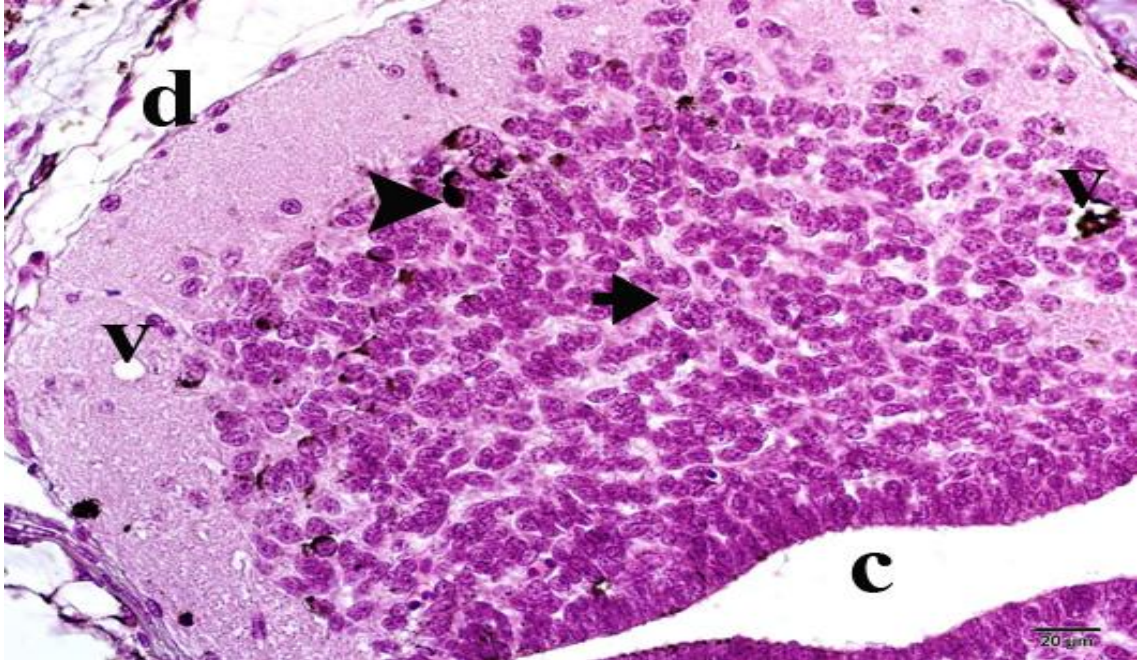
**Tablo 34.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenarasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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 (-) % 75 (+)	% 37 (+) % 50 (++)	% 25 (-) % 75 (+)	% 25 (-) % 63 (+)	% 25 (+) % 63 (++)
yüzdesi	% 50 (++)	% 12 (+++)		% 12 (++)	% 12 (+++)

### 3.3.5.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün bozulduğu, korteks bölgesinde granüler hücrelerde yer yer vakuolizasyonların ve dejenerasyonlar oluştuğu, medullar nöroglial alanlarda vakuolizasyonun arttığı gözlemlendi. Merkezi kanalın hücrelerinin normal morfolojide olmasına karşın kanal çapının genişlediği ve hücrelerin eosinofilik olduğu tespit edildi. Hem endodimal hem de nöronal hücrelerde apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı ve korteks medulla sınır bölgesindeki hücrelerde yoğun pigmentasyonel melanin birikimi oluştuğu, bazı hücrelerde pigment birikiminin vakuolizasyon alanlarına yakın olduğu belirlendi (Şekil 43). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 35’de gösterilmektedir.





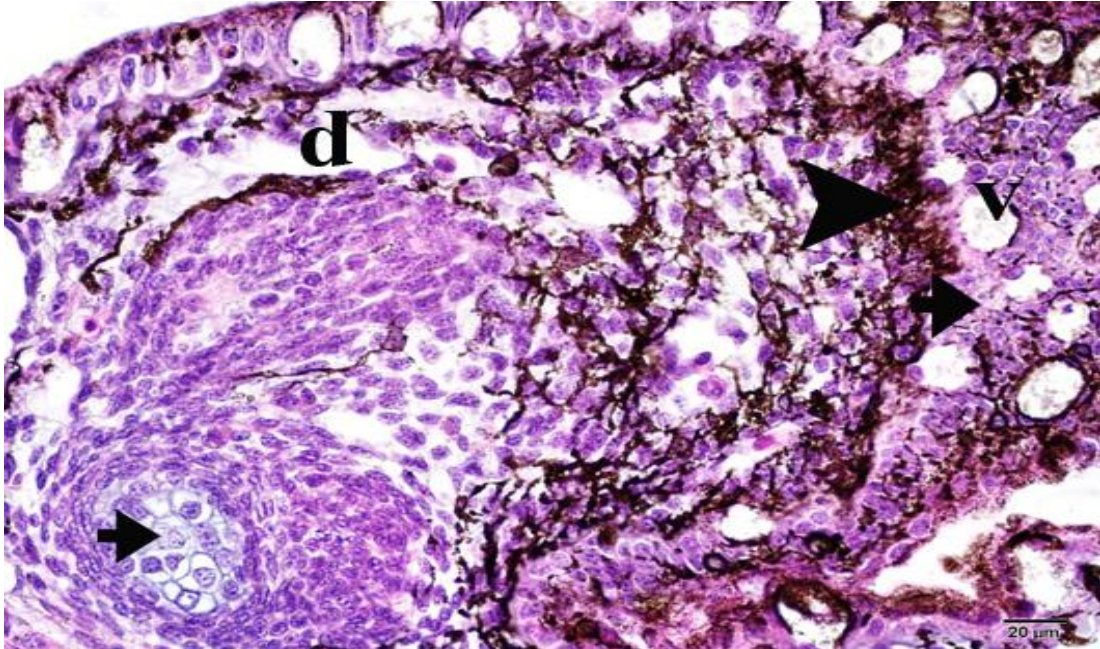
**Şekil 43.** Beyinde yapılan histopatolojik inceleme; kısa ok: dejenerere hücre, d:periferik dilatasyon c: merkezi kanal, v: vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 35.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 12 (-) % 63 (+) % 25 (++)	% 25 (+) % 37 (++) % 37 (+++)	% 13 (-) % 37 (+) % 50 (++)	% 38 (+) % 37 (++) % 25 (+++)

### 3.3.5.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün periferal bölgelerde yoğun olarak bozulduğu, germ hücrelerinde yer yer dejenerasyonlar ve vakuolizasyonlar olmasına karşın (%80) normal histolojik görünüme sahip hücrelerin de merkezde yerleşimli olduğu (%20) gözlemlendi. 250 mg/L konsantrasyondan daha yoğun dejenerasyon ve vakuolizasyonların olduğu belirlendi. İntestinal alanlarda pigmentasyonların az olduğu, periferde ise arttığı (ok başı) ve iç kısımdaki dejeneratif alanlarda pigmentasyon derecesinin ise azaldığı görüldü. Akıtıcı kanallarda yoğun genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu, korteksteki hücrelerin apoptosisiden dolayı eosinofilik ve karyolizli yapıda görüldüğü, vakuolizasyona uğramış hücrelerin sitoplazmalarının dağıldığı ve doku bütünlüğünü kayb ettikleri gözlemlendi.. Ayrıca bazı miyoloid hücrelerde pigmentasyonel melanin birikiminin 100 mg/L konsantrasyonundaki gruptan fazla olduğu tespit edildi (Şekil 44). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 36'da gösterilmektedir.



**Şekil 44.** Gonadlarda yapılan histopatolojik inceleme; d: dilatasyon ve ödem alanları, kısa ok:degeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: yoğun pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 36.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

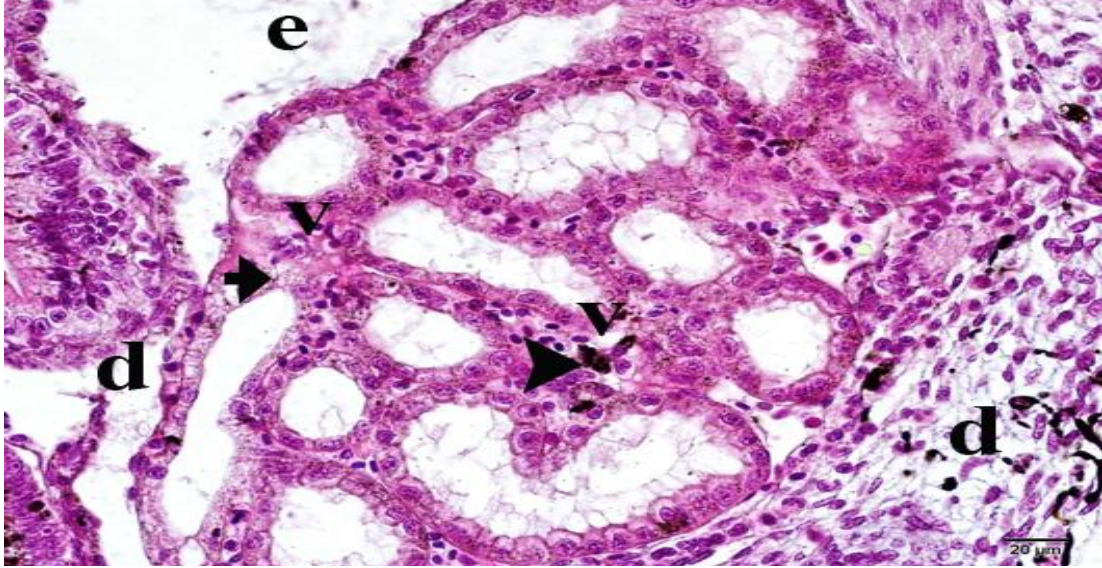
Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
500 grup 1. alan	-	++	++	+
500 grup 2. alan	+	+	++	++
500 grup 3. alan	+	+	++	++
500 grup 4. alan	+	++	+	+++
500 grup 5. alan	++	+	+	+
500 grup 6. alan	++	++	-	++
500 grup 7. alan	++	++	++	++
500 grup 8. alan	++	+++	++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 13 (-) % 37 (+) % 50 (++)	% 37 (+) % 50 (++) % 13 (+++)	% 12 (-) % 25 (+) % 63 (++)	% 25 (+) % 50 (++) % 25 (+++)

### 3.3.5.6. Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün bozulduğu yoğun dilatasyonlar şekillendiği kübik epitel hücrelerin hem yassılaştığı, hem de vakuolizasyonların artarak dejenerasyona uğradığı gözlemlendi. Normal histolojik görünüme sahip hücrelerin dokunun ortasına yakın alanlarda daha yoğunlukta oldukları, perifer alanlarda ise kayıpların arttığı gözlemlendi. 250 mg/L konsantrasyondaki gruba göre kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu ve içerisinde yoğun ödem sıvısı benzeri yapılar (e) olduğu belirlendi. Merkeze yakın bazı hücrelerin sitoplazmasında apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı gözlenirken dejenere hücrelerin ise soluk ve granuler vakulizasyonlu olduğu tespit edildi. Bazı çekirdeklerin ise yoğun bazofilik oldukları ve etraflarında vakuoller şekillendiği görüldü. Çevre bağ dokuda hem vakuolizasyonlar hem de yoğun pigmentasyonların olduğu, bu pigmentasyonun intestinal alanda daha az, fakat yoğun boyalı olduğu (ok başı), doku kayıplarının, ödemlerin şekillendiği alanlarda ve karyolizli hücrelerin çevresinde vakuolizasyonların olduğu tespit edildi. Tübül epitel hücrelerinde pigmentasyon gözlenmediği tespit edildi (Şekil 45). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre



dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 37’de gösterilmektedir.



**Şekil 45.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan histopatolojik inceleme; d:periferik dilatasyon, e: tübüller içinde ve dışında ödem, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: inter tubuluer pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

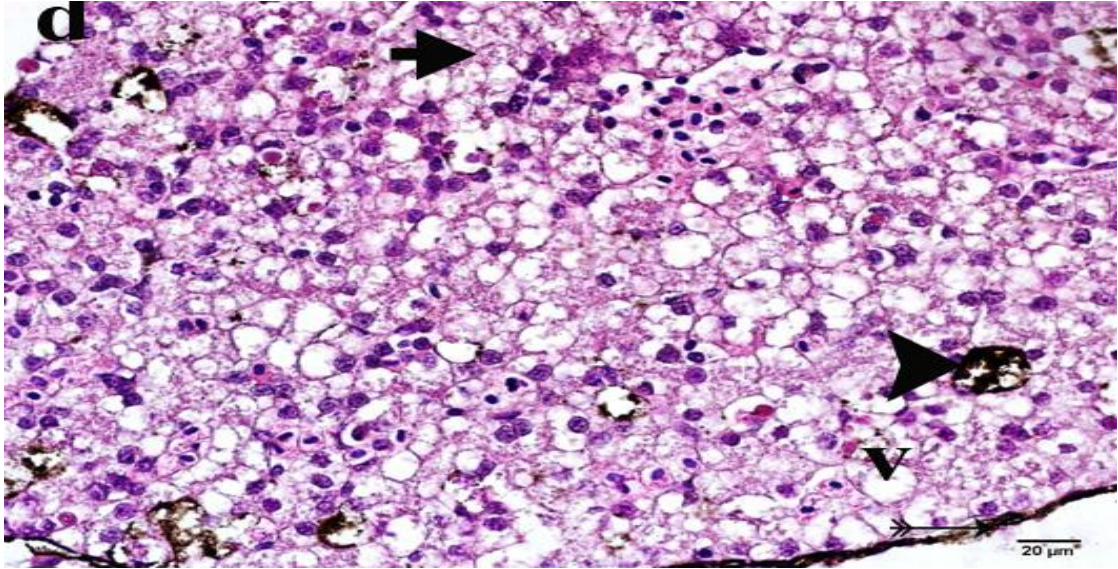
**Tablo 37.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
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	% 37 (+) % 25 (++) % 25 (+++)	% 50 (+) % 37 (++) % 13 (+++)	% 13 (-) % 37 (+) % 50 (++)	% 25 (-) % 75(+)

### 3.3.6. 750 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

#### 3.3.6.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, hepatositlerin yoğun vakuolizasyonlar, dejenerasyonlar ve hücre kayıplarıyla patolojik morfolojiye sahip olduğu görüldü. Dokunun bütününde vakuolizasyonların arttığı ve her yönde homojen dağıldığı, boyutlarının da sinuzoidal alanlara yaklaştıkça arttığı, sinuzoidal alanlarda meydana gelen genişlemelerin ise dilatasyon seviyesinde olduğu gözlemlendi.. Bazı hücrelerde yoğun eosinofilik görüldüğü ve bazı makrofajik hücrelerin büyüdüğü ve yoğun pigmentasyonel melaninden dolayı büyüdüğü ve şekillerini kaybettikleri tespit edildi. Gözlenen pigmentasyon dokunun her yerinde homojen görümlü olmayıp, dilatasyon bölgelerinde daha büyük ve remark kordonlarında ise yoğunluklarının arttığı, fibroze bağlı hücre kayıplarının da bu alanlarda arttığı tespit edildi (Şekil 46). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 38’de gösterilmektedir.



Şekil 46. Karaciğerde yapılan histopatolojik inceleme; ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon e; hafif ödem, kısa ok: dejenere hücre, ince ok; periferik pigmentasyon, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

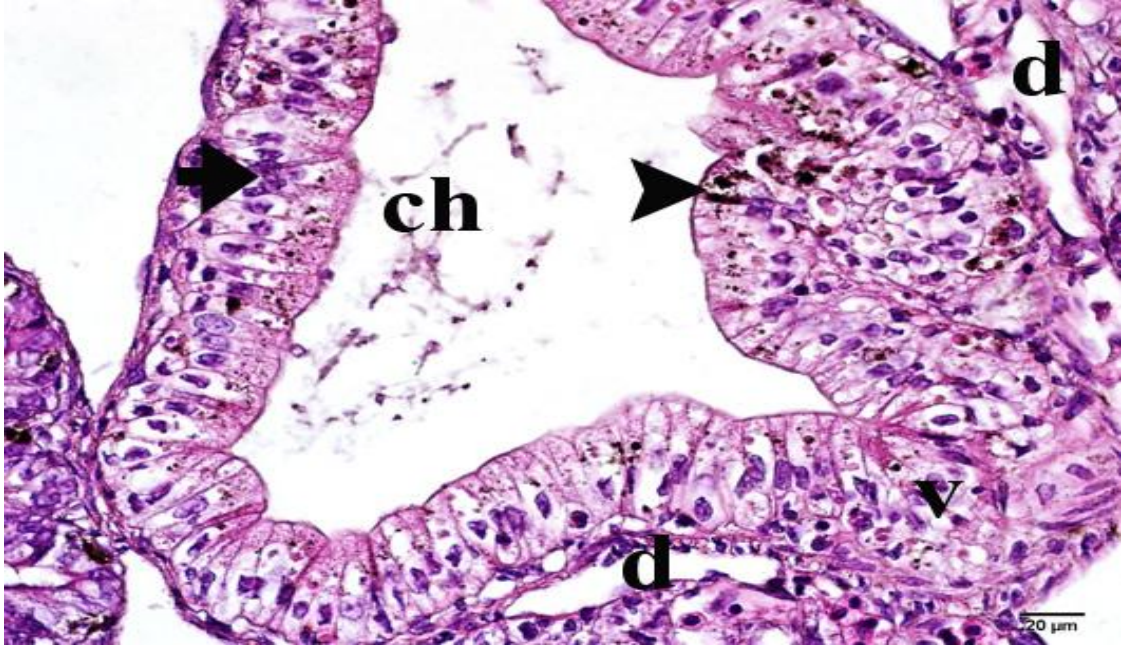
**Tablo 38.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejeneras.ve Dökülmeleri (median $\pm$ SS)	Vakuolizasyon (median $\pm$ SS)	Ödem (median $\pm$ SS)	Nekrosis (median $\pm$ SS)	Pigmentasyon (median $\pm$ SS)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median $\pm$ SS)
750 grup 1. alan	+++	+++	+	+	+	+
750 grup 2. alan	+++	++++	+	+	+++	+
750 grup 3.alan	++	+++	++	+	+++	++
750 grup 4.alan	+++	++++	++	+	++	++
750 grup 5.alan	+++	+++	++	++	++	++
750 grup 6.alan	+++	+++	++	+	++	++
750 grup 7.alan	+++	++++	++	++	+++	++
750 grup 8.alan	+++	++++	++	+	+++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 12 (++) % 88 (+++)	% 50 (++++) % 50 (++++)	% 25 (+) % 62 (++)	% 12 (+) % 63 ++ %25+++	% 12 (+) % 37 (++) % 50 (+++)	% 25 (+) % 63(++) % 13 (+++)

### 3.3.6.2. Midedeki Gözlemler

Dokunun genelinde mide doku bütünlüğünün bozulduğu, bazı hücrelerde prizmatik görünümünü kaybettikleri, dejeneratif bozukluğun olduğu, epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olduğu gözlemlendi.. Özellikle epitelin bazalının daha fazla vakuolizasyon şekillendiği görüldü. Bazı alanlarda epitel boyları uzadığı, şiştiği ve apoptosiden dolayı vakuolizasyonlu hücre hariç eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Dokuda yapılan incelemede epitelyal dokunun bazalında hafif pigmentasyonlara rastlanırken, sitoplazmik pigmentasyonlarında homojen olmayan bir dağılım gösterdikleri bazen hacimlerinin arttığı belirlendi. Ayrıca, miyoepitelyal hücrelerde de şişmeler olduğu gözlemlendi.. Mide lumeninin kimus ile dolu olmadığı yer yer büzüştüğü, az miktarda da olsa içeriğin bulunmadığı görülmüştür (Şekil 47). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonunun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 39’da gösterilmektedir.





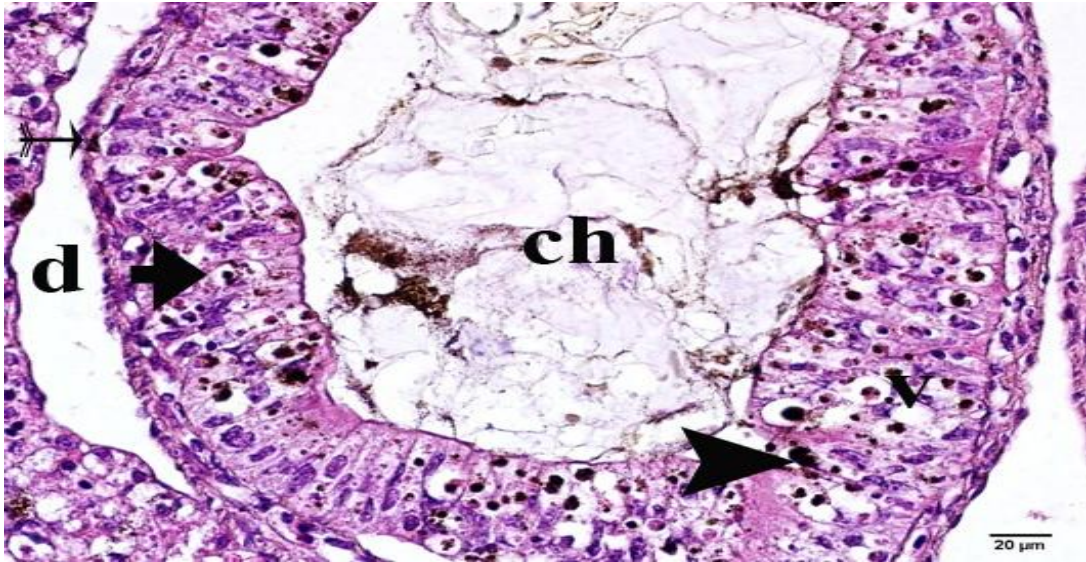
**Şekil 47.** Midede yapılan histopatolojik inceleme; ch: Kimus, kısa ok:dejenere hücre, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, ok başı;pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 39.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Muscle cell degenealanion (median ±SS)
750 grup 1. alan	+	++	-	-	+
750 grup 2. alan	+	++	+	+	-
750 grup 3.alan	++	+++	++	+	+
750 grup 4.alan	++	+++	+	+	+
750 grup 5.alan	++	++	++	++	+
750 grup 6.alan	+	+++	+	++	+
750 grup 7.alan	++	+++	++	++	+
750 grup 8.alan	++	++	+	++	+
Ortalama değer	% 37 (+)	% 50 (++)	% 13 (-)	% 13 (-)	% 13 (-)
yüzdesi	% 63 (++)	% 50 (+++)	% 50 (+)	% 37 (+)	% 88 (+)

### 3.3.6.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulmadığı, fakat epitel hücrelerinde yer yer pigmentasyonlarla beraber vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu, prizmatik görünümünü kaybetmedikleri gözlemlendi. Epitel hücrelerinin lümene bakan apikal kısımlarında vakuolizasyonların arttığı, yoğun pigmentasyon ve eosinofilik boyanma gözükürken, bazal kısımlarında ise yer yer dilatasyona varan genişlemelerin ve ödemlerin olduğu tespit edildi. Epitelin morfolojisi değişerek prizmatik görünümünü kaybettiği görüldü. Bazı epitelyal hücreler apoptosiden dolayı hem hafif eosinofilik hem de ökromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede yoğun pigmentasyona rastlanırken, apikal alanlarda pigmentasyonların arttığı dokunun tamamında homojen pigmentasyon dağılımı olduğu gözlemlendi. Myoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi ile dolu olduğu görüldü (Şekil 48). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 40'da gösterilmektedir.



**Şekil 48.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; d: yoğun dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, ok başı: yoğun pigmentasyon, kalın ok; yoğun dejenere hücre, ince ok; periferal pigmentasyon, Hematoxilen eosin boyama, X40.

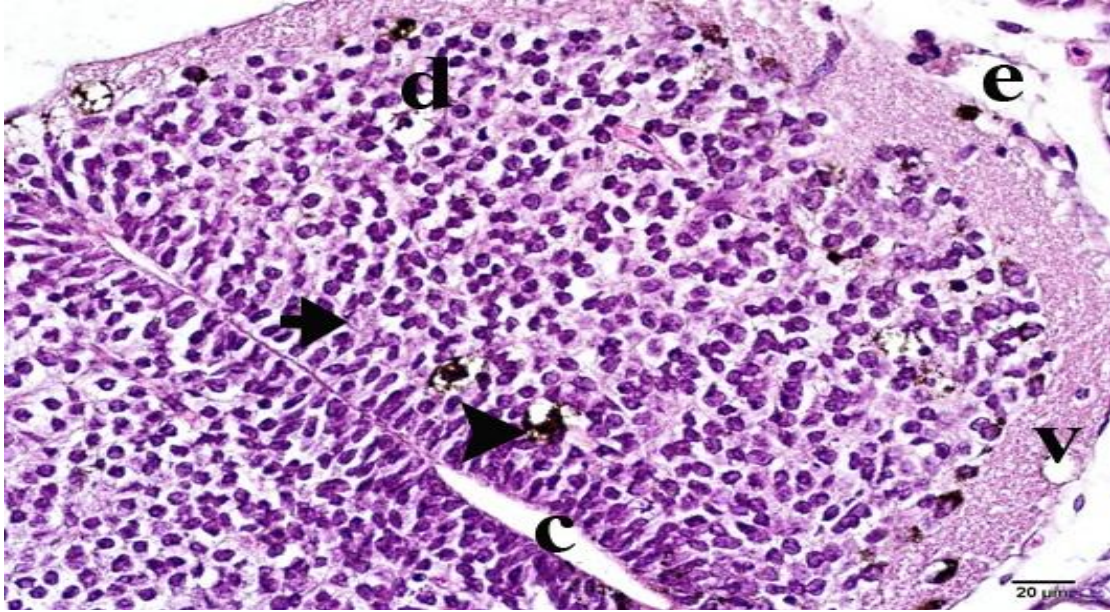
**Tablo 40.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
750 grup 1. alan	++	++	+	+	++
750 grup 2. alan	+	+++	+	+	+++
750 grup 3.alan	++	+++	+	+	+++
750 grup 4.alan	++	++	+	++	++
750 grup 5.alan	+	+++	+	++	++
750 grup 6.alan	+	++	+	++	++
750 grup 7.alan	++	+	+	++	++
750 grup 8.alan	++	+++	-	+++	+++
Ortalama değer	% 37 (+) % 63 (++)	% 12 (+) % 38 (++) % 50 (+++)	% 12 (-) % 88 (+)	% 37 (+) % 50 (++) % 12 (+++)	% 63 (++) % 37 (+++)

### 3.3.6.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün bozulduğu, korteks bölgesinde hem granüler hücrelerde hem de glial dokuda yer yer vakuolizasyonların ve dejenerasyonlar olduğu, medullar bölgedeki nöroglial alanlarda vakuolizasyonun arttığı, damarlarda dilatasyonlar şekillendiği gözlemlendi. Merkezi kanalın hücrelerinin morfolojilerinde de bozulmalar başladığı, vakuolizasyonların artmasına karşın kanal çapının daraldığı görüldü. Bazı ependimal hücrelerin eosinofilik olduğu tespit edildi. Vakuolizasyonların 500 mg/L konsantrasyondaki ile kıyaslandığında çok fazla arttığı tespit edildi. Hem ependimal hem de nöronal hücrelerde apoptosisiden dolayı dejenerasyon olduğu ve korteks medulla sınır bölgesindeki hücrelerde yoğun pigmentasyonel melanin birikimi olduğu, bazı hücrelerde pigment birikiminin vakuolizasyon alanlarına yakın olduğu belirlendi (Şekil 49). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 41’de gösterilmektedir.





**Şekil 49.** Beyinde yapılan histopatolojik inceleme; kısa ok: dejenere hücre, d: hafif dilatasyon, c: merkezi kanal, v: vakuolizasyon, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

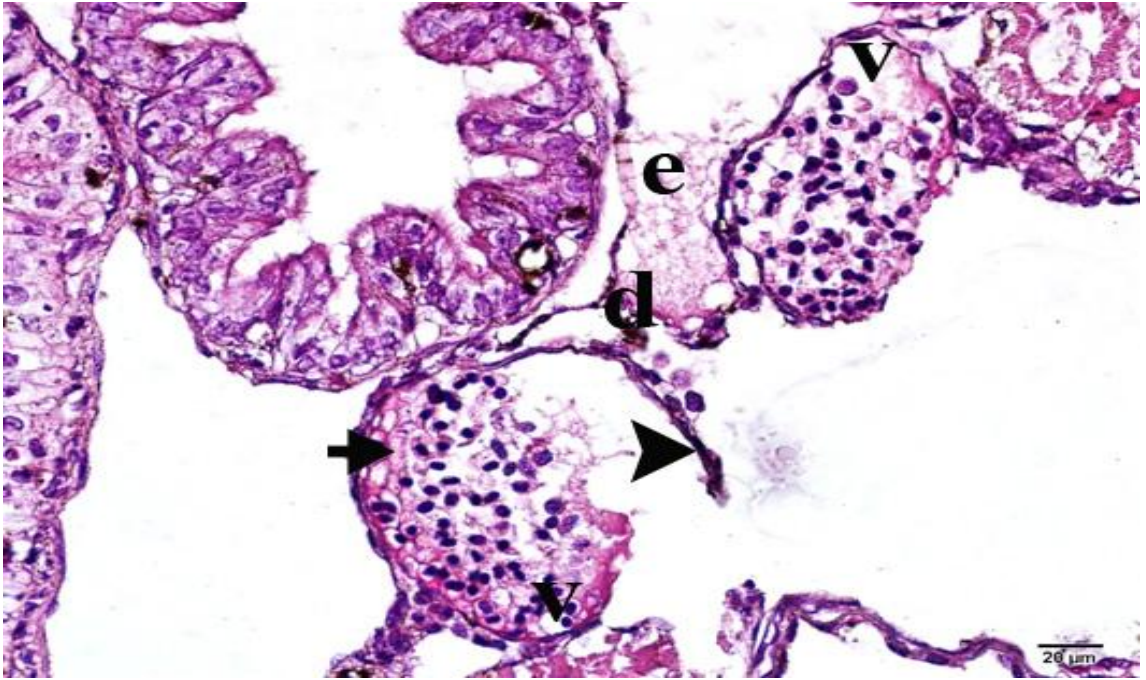
**Tablo 41.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median $\pm$ SS)	Vakuolizasyon (median $\pm$ SS)	Ödem (median $\pm$ SS)	Pigmentasyon (median $\pm$ SS)
750 grup 1. alan	+	++	-	++
750 grup 2. alan	++	+++	++	+
750 grup 3. alan	-	++	++	+
750 grup 4. alan	+	++	+	++
750 grup 5. alan	++	+++	++	++
750 grup 6. alan	++	+++	++	+++
750 grup 7. alan	++	+++	++	+++
750 grup 8. alan	++	++++	++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 12 (-) % 25 (+) % 63 (++)	% 37 (++) % 50 (+++) % 13 (++++)	% 13 (-) % 12 (+) % 75 (++)	% 25 (+) % 38 (++) % 37 (+++)



### 3.3.6.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün periferal bölgelerde çok yoğun olarak bozulduğu, germ hücrelerinde dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların arttığı (%90) normal histolojik görünümüne sahip hücrelerin ise merkezde yerleşimli olduğu (%10) gözlemlendi. 500 mg/L konsantrasyonundan daha yoğun dejenerasyon ve vakuolizasyonların olduğu ve hücre kayıplarının arttığı belirlendi. Pigmentasyonların periferde olduğu gözlemlendi (ok başı) ve iç kısımdaki dejenealanif alanlarda pigmentasyon oluşmadığı gözlemlendi. Akıtıcı kanallarda ve çevre bağ dokuda yoğun genişlemeler olduğu, bunların dilatasyon (d) oluşturacak seviyede bulunduğu belirlendi (Şekil 50). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 42’de gösterilmektedir.



**Şekil 50.** Gonadlarda yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; d: dilatasyon ve ödem alanları, kısa ok: dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: periferal pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

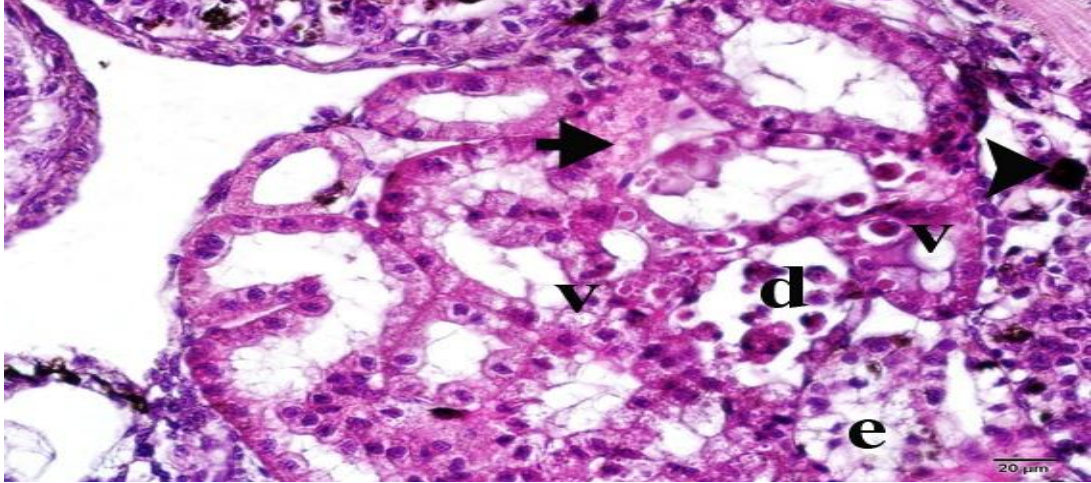
**Tablo 42.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
750 grup 1. alan	+	++	++	+
750 grup 2. alan	+	++	++	++
750 grup 3. alan	++	++	++	++
750 grup 4. alan	++	+++	+	++
750 grup 5. alan	++	+	+	+
750 grup 6. alan	++	++	++	+
750 grup 7. alan	+++	+++	++	++
750 grup 8. alan	+++	+++	+++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 25 (+) % 50 (++) % 25 (+++)	% 13 (+) % 50 (++) % 37 (+++)	% 25 (+) % 63 (++) % 13 (+++)	% 37 (+) % 50 (++) % 13 (+++)

### 3.3.6.6 Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün bozulduğu yoğun dilatasyonların şekillendiği, kübik epitel hücrelerin hem yassılaştığı, hem de vakuolizasyonların artarak dejenerasyona uğradığı, bu özellikleri ile 500 mg/L konsantrasyondaki gruba benzerlik gösterdiği tespit edildi. Normal histolojik görünüme sahip hücrelerin dokunun ortasına yakın alanlarda oldukları (%10), perifer alanlarda ise kayıpların arttığı gözlemlendi. 250 ve 500 mg/L konsantrasyonlardakine göre kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu ve içerisinde yoğun ödem sıvısı benzeri yapılar (e) olduğu belirlendi. Bu gruptaki vakuolizasyon yoğunluğunun dejenerasyonla doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Merkeze yakın bazı hücrelerin sitoplazmasında apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı gözlenirken, vakuollu ve dejenere hücrelerin ise soluk renkli olduğu tespit edildi. Tübul epitellerindeki bazı çekirdeklerin bazofilik oldukları ve etraflarında yoğun vakuollerin şekillendiği gözlemlendi. Çevre bağ dokuda hem vakuolizasyonlar hem de yoğun pigmentasyonların olduğu, bu pigmentasyonun intestinal alanda daha az, fakat yoğun boyalı olduğu (ok başı), doku kayıplarının, ödemlerin şekillendiği alanlarda ve karyolizli hücrelerin çevresinde

vakuolizasyonların oluşturduğu tespit edildi. İntersitiasal pigmentasyon hafif gözlenirken, tübül epitel hücrelerinde pigmentasyonun gözlenmediği tespit edildi (Şekil 51). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 43’de gösterilmektedir.



**Şekil 51.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan histopatolojik inceleme; d:periferik dilatasyon, e: tübüller içinde ve dışında ödem, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: inter tubuluer pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

**Tablo 43.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

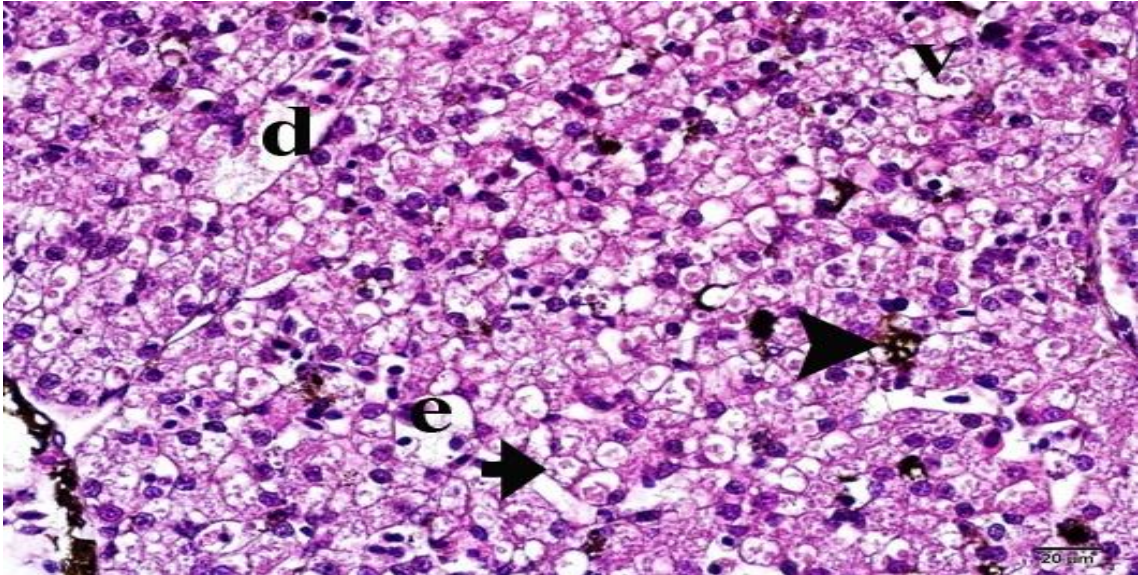
Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
750 grup 1. alan	+	+	-	-
750 grup 2. alan	++	+	++	+
750 grup 3.alan	++	++	+	+
750 grup 4.alan	++	++	+	-
750 grup 5.alan	++	++	++	+
750 grup 6.alan	+++	+++	++	+
750 grup 7.alan	+++	+++	++	+
750 grup 8.alan	++	++	++	+
Ortalama değer	% 12 (+) % 63 (++) % 25 (+++)	% 25 (+) % 50 (++) % 25 (+++)	% 12 (-) % 25 (+) % 63 (++)	% 25 (-) % 75(+)



### 3.3.7. 1000 mg/L Konsantrasyondaki Gözlemler

#### 3.3.7.1. Karaciğerdeki Gözlemler

Karaciğerde doku bütünlüğünün bozulduğu, hepatositlerin yoğun vakuolizasyonlar, dejenerasyonlar ve hücre kayıplarıyla patolojik morfolojiye sahip olduğu, 500 mg/L konsantrasyondakilere benzer belirtiler gösterdiği görüldü. Dokunun bütününde vakuolizasyonların arttığı, her yönde homojen dağıldığı, vakuol boyutlarının sinuzoidal alanlara yaklaştıkça arttığı, sinuzoidal alanlarda meydana gelen genişlemelerin vakuollerle beraber dilatasyon seviyesinde olduğu görüldü. Kapsule yakın alanlarda pigmentasyonun arttığı, bazı hücrelerde yoğun eosinofilik görüldüğü ve bazı makrofajik hücrelerin büyüdüğü ve yoğun pigmentasyonlu melaninden dolayı büyüdüğü ve şekillerini kaybettikleri (ok başı) tespit edildi. Gözlenen pigmentasyon dokunun her yerinde homojen dağılmayıp dilatasyon bölgelerinde daha büyük olduğu görüldü. Remark kordonlarının yapısının bozulduğu, fibrozise bağlı hücre kayıplarının da bu alanlarda arttığı tespit edildi (Şekil 52). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 44’de gösterilmektedir.



**Şekil 52.** Karaciğerde yapılan histopatolojik inceleme; ok başı: yoğun pigmentasyonlu hücreler, d: hafif dilatasyon e; hafif ödem, kısa ok: dejenerasyonlu hücre, v:vakuolizasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

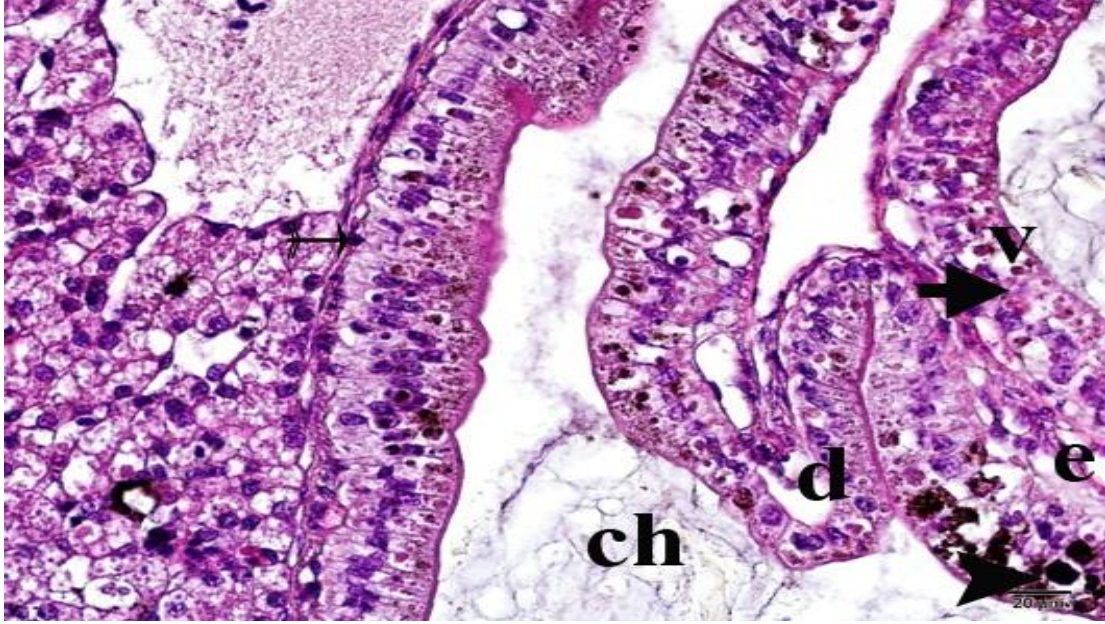
**Tablo 44.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve bağ doku artışı ve dilatasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Karaciğer	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Bağdoku artışı ve dilatasyon (median ±SS)
1000 grup 1. alan	+++	+++	+	+	+	+
1000 grup 2. alan	+++	++++	+	++	++	+
1000 grup 3. alan	++	++	+	++	++	++
1000 grup 4. alan	+++	++++	++	++	+	++
1000 grup 5. alan	+++	+++	++	++ +	++	++
1000 grup 6. alan	+++	+++	++	++	++	++
1000 grup 7. alan	+++	++++	++	++ +	++	++
1000 grup 8. alan	+++	++++	++	++	+++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 12 (++) % 88 (+++)	% 12 (++) % 38 (++++) % 50 (++++)	% 38 (+) % 62 (++)	% 12 (+) % 63 (++) % 25(+++)	% 25 (+) % 63 (++) % 12 (+++)	% 25 (+) % 63(++) %13 (+++)

### 3.3.7.2. Midedeki Gözlemler

Dokunun genelinde mide doku bütünlüğünün bozulduğu, bazı hücrelerde prizmatik görünümünü kaybettikleri, dejenealanif bozukluğun olduğu, epitel hücrelerinde yoğun vakuolizasyonlar ve dejenerasyonlar olduğu gözlemlendi. Epitelin bazalı başta olmak üzere sitoplazmanın her tarafında vakuolizasyonların şekillendiği görüldü. Bazı alanlarda epitel boyları uzadığı, şiştiği ve apoptosiden dolayı vakuolizasyonlu hücre hariç eosinofilik görüldüğü tespit edildi. Epitelyal dokunun bazalında ve apikalinde hafif pigmentasyonlara rastlanırken, bazen sitoplazmik pigmentasyonlarında homojen olmayan bir dağılım gösterdikleri, bazen ise hacimlerinin yoğun olarak arttığı belirlendi. Ayrıca, miyoepitelyal hücrelerde de şişmeler olduğu gözlemlendi. Mide lumeninin kimus ile dolu olmadığı yer yer büzüştüğü görüldü. (Şekil

53). Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 45’de gösterilmektedir.



**Şekil 53.** Midede yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; ch: Kimus, kısa ok: dejenerasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

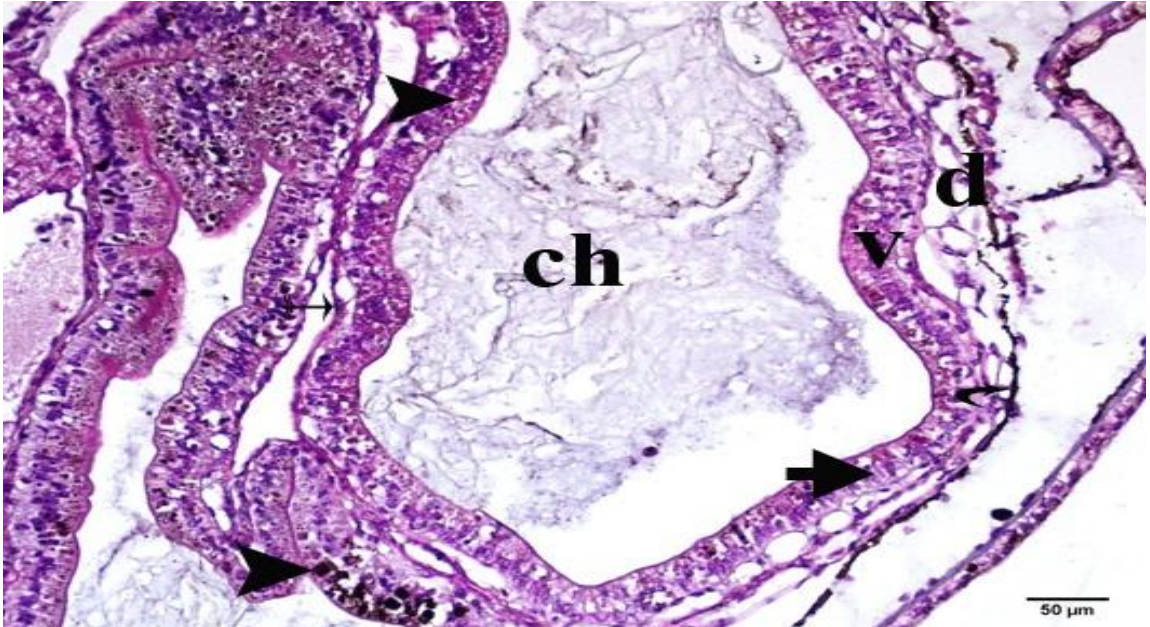
**Tablo 45.** Histopatolojik inceleme sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon ve kas hücre dejenerasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Mide	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)	Muscle cell degenealanion (median ±SS)
1000 grup 1. alan	+	++	-	+	+
1000 grup 2. alan	+	+++	+	++	+
1000 grup 3. alan	++	+++	++	++	+
1000 grup 4. alan	++	++++	+	+++	+
1000 grup 5. alan	++	+++	++	++	++
1000 grup 6. alan	+	++++	+	++	+
1000 grup 7. alan	++	+++	++	+++	++
1000 grup 8. alan	+++	++	+	+++	+
Ortalama değer	% 37 (+) % 50 (++) % 13 (+++)	% 25 (++) % 50 (+++) % 25 (++++)	% 13 (-) % 50 (+) % 37 (++)	% 13 (+) % 50 (++) % 37 (+++)	% 75(+) % 25 (++)



### 3.3.7.3. Bağırsaktaki Gözlemler

Bağırsak dokusunda hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede hücre ve doku bütünlüğünün bozulmadığı, fakat epitel hücrelerinde yer yer pigmentasyonlarla beraber vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu, prizmatik görünümünü kaybetmedikleri gözlemlendi. Epitel hücrelerinin lümeneye bakan apikal kısımlarında vakuolizasyonların arttığı, yoğun pigmentasyon ve eosinofilik boyanma gözükürken, bazal kısımlarında ise yer yer dilatasyona varan yoğun genişlemelerin ve ödemlerin olduğu tespit edildi. Epitelin prizmatik görünümünü kaybettiği görüldü. Bazı epitelyal hücreler apoptosisten dolayı eosinofilik ve ökromatik görüldüğü belirlendi. Dokuda yapılan incelemede yoğun pigmentasyona rastlanırken, apikal alanlarda pigmentasyonların arttığı dokunun periferinin tamamında homojen pigmentasyon dağılımı olduğu gözlemlendi. Ayrıca bazı alanlarda kitlesel pigmentasyon benzeri yapılar oluştuğu görüldü (ok başı). Miyoepitelyal hücrelerde yer yer hafif şişmeler olduğu, organ lumeninin kimus kitlesi ile dolu olduğu görüldü (Şekil 54). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 46'da gösterilmektedir.



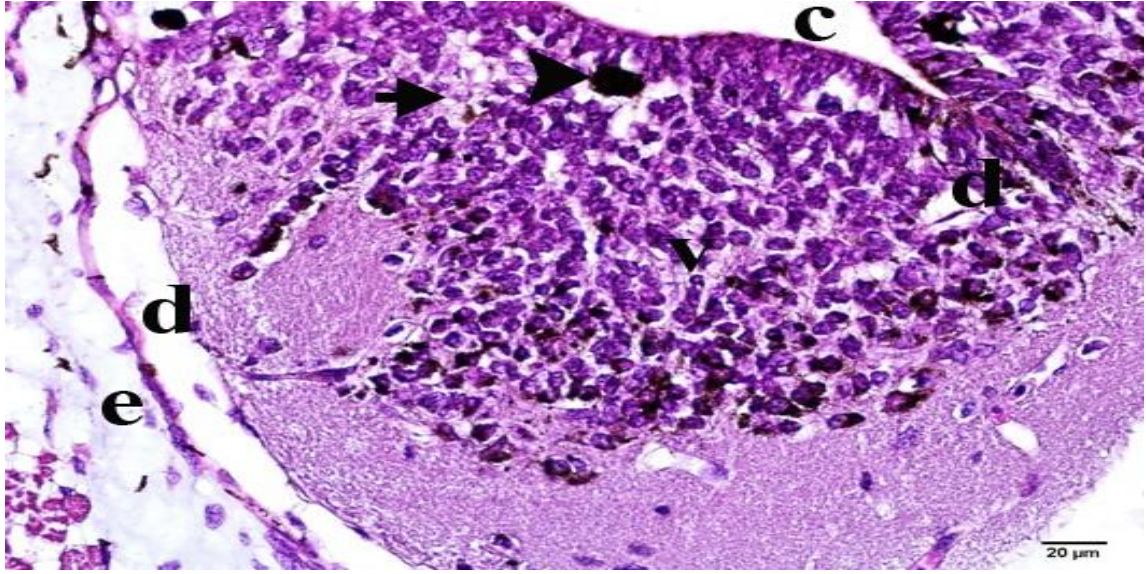
**Şekil 54.** Bağırsaklarda yapılan histopatolojik inceleme; d: hafif dilatasyon, v: hücre sitoplazmasında yoğun vakuolizasyonlar, ok başı: pigmentasyon, kalın ok; dejenerasyonlu hücre, Hematoxilen eosin boyama, X40.

**Tablo 46.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem, nekrosis ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Bağırsak	Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Nekrosis (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
1000 grup 1. alan	++	++	+	+	++
1000 grup 2. alan	+	+++	+	+	+++
1000 grup 3.alan	++	+++	+	+	+++
1000 grup 4.alan	++	++	+	++	++
1000 grup 5.alan	+	+++	+	++	++
1000 grup 6.alan	+	++	+	++	++
1000 grup 7.alan	++	+	+	++	++
1000 grup 8.alan	++	+++	-	+++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 37 (+) % 63 (++)	% 12 (+) % 38 (++) % 50 (+++)	% 12 (-) % 88 (+)	% 37 (+) % 50 (++) % 12 (+++)	% 63 (++) % 37 (+++)

### 3.3.7.4. Beyindeki Gözlemler

Beyin doku bütünlüğünün bozulduğu, korteks bölgesinde hem granüler hücrelerde hem de glial dokuda yer yer vakuolizasyonların ve dejenerasyonların olduğu, medullar bölgedeki nöroglial alanlarda vakuolizasyonun arttığı, özellikle merkezi kanala yakın alanlarda vakuolizasyon ve pigmentasyonların arttığı gözlemlendi. Hem korteks hem de medulladaki damarlarda dilatasyonların şekillendiği gözlemlendi. Merkezi kanalın hücrelerinin morfolojilerinde de bozulmalar başladığı, vakuolizasyonların artmasına karşın kanal çapının genişlediği gözlemlendi. Bazı ependimal hücrelerin eosinofilik olduğu tespit edildi. Vakuolizasyonların grup 500 ve 750 mg/L konsantrasyonlarla kıyaslandığında sayısının ve hacminin arttığı tespit edildi. Hem ependimal hem de nöronal hücrelerde apoptosiden dolayı dejenerasyon olduğu ve korteks medulla sınır bölgesindeki hücrelerde yoğun pigmentasyonel melanin birikimi olduğu, bazı hücreleri de pigment birikiminin vakuolizasyon alanlarına yakın olduğu belirlendi (Şekil 55). Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 47’de gösterilmektedir.



**Şekil 55.** Beyinde yapılan ışık mikroskopik histopatolojik inceleme; kısa ok: dejenere hücre, d:periferik dilatasyon c: merkezi kanal, v: yoğun vakuolizasyon, ok başı: yoğun pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X40.

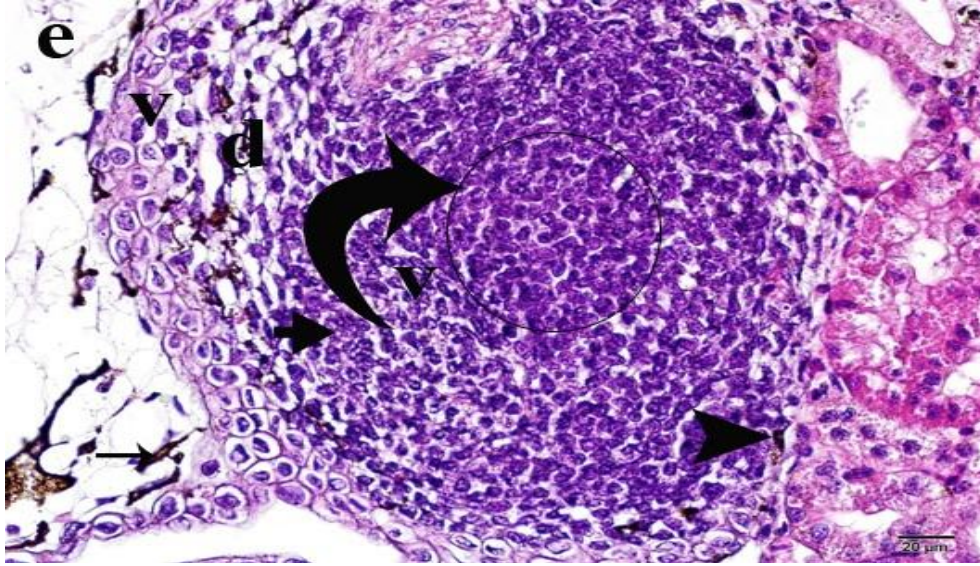
**Tablo 47.** Histopatolojik incelemeler sonucunda nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri.

Beyin	Nöron dejenerasyonu ve kayıpları (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
1000 grup 1. alan	++	++	-	++
1000 grup 2. alan	++	+++	++	++
1000 grup 3. alan	+	+++	++	++
1000 grup 4. alan	++	+++	+	++
1000 grup 5. alan	++	+++	++	+++
1000 grup 6. alan	+++	+++	++	+++
1000 grup 7. alan	+++	+++	++	+++
1000 grup 8. alan	+++	++++	++	++++
Ortalama değer	% 13 (+)	% 12 (++)	% 13 (-)	% 50 (++)
yüzdesi	% 50 (++)	% 75 (+++)	% 12 (+)	% 38 (+++)
	% 37 (+++)	% 13 (++++)	% 75 (++)	% 12 (++++)



### 3.3.7.5. Gonadlardaki Gözlemler

Gonadal doku bütünlüğünün periferal bölgelerde çok yoğun olarak bozulduğu, germ hücrelerinde dejenerasyonlar ve vakuolizasyonların arttığı (%90) normal histolojik görünüme sahip hücrelerin ise merkezde yerleşimli olduğu (%10) gözlemlendi. 500 mg/L konsantrasyondakinden daha yoğun dejenerasyon ve vakuolizasyonların olduğu ve hücre kayıplarının arttığı belirlendi. Pigmentasyonların periferde olduğu (ok başı) ve iç kısımdaki dejeneratif alanlarda pigmentasyon oluşmadığı gözlemlendi. Akıtıcı kanallarda ve çevre bağ dokuda yoğun genişlemeler olduğu, bunların dilatasyon (d) oluşturacak seviyede bulunduğu belirlendi. Ovaryum dokusunda somatik dokulu intersex alanının gonadın merkezinde yoğun olarak gözlemlendiği görüldü (eğri ok-yuvarlak alan) (Şekil 56). Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 48’de gösterilmektedir.



**Şekil 56.** Gonadlarda yapılan histopatolojik inceleme; d: dilatasyon e; ödem alanları, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: yoğun pigmentasyon, eğri ok-yuvarlak alan: intersex bölgesi, Hematoksilen eosin boyama, X40.

**Tablo 48.** Histopatolojik incelemeler sonucunda germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri

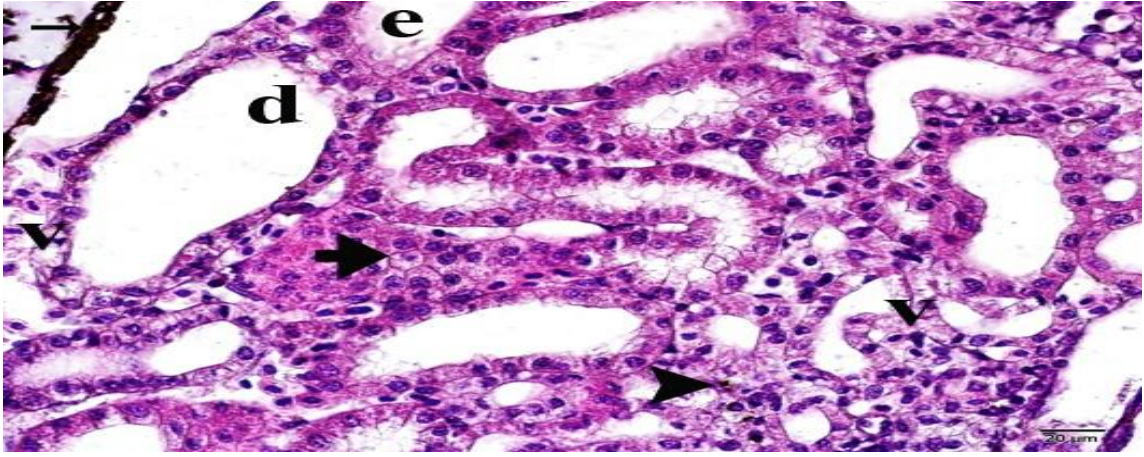
Gonadlar	Germ Epitel dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
1000 grup 1. alan	+	++	++	+
1000 grup 2. alan	++	++	++	++
1000 grup 3. alan	++	+++	++	++
1000 grup 4. alan	++	+++	+	++
1000 grup 5. alan	++	++	++	+
1000 grup 6. alan	+++	+++	++	+
1000 grup 7. alan	+++	+++	++	++
1000 grup 8. alan	+++	++++	+++	+++
Ortalama değer yüzdesi	% 12 (+) % 50 (++) % 38 (+++)	% 37 (++) % 50 (+++) % 13 (+++)	% 12 (+) % 75 (++) % 13 (+++)	% 37 (+) % 50 (++) % 13 (+++)

### 3.3.7.6 Pronefrik Tübüllerdeki Gözlemler

Pronefrik tübüllerde doku bütünlüğünün bozulduğu yoğun dilatasyonların şekillendiği kübik epitel hücrelerin yassılaştığı, vakuolizasyonların artarak dejenerasyona uğradığı, bu özellikleri ile 700 mg/L konsantrasyonuna benzerlik gösterdiği tespit edildi. Normal histolojik görünüme sahip hücrelerin dokunun ortasına yakın alanlarda oldukları (%5-10), perifer alanlara doğru hücre kayıplarının arttığı ve dilate tubullerin oluştuğu görüldü. 250, 500 ve 750 mg/L konsantrasyonlara göre kanallardaki genişlemeler dilatasyon (d) oluşturacak seviyede olduğu 750 mg/L konsantrasyon ile benzerlikler gösterdiği, bazı tübüller içerisinde yoğun ödem sıvısı (e) oluştuğu belirlendi. Bu gruptaki vakulizasyon yoğunluğunun dejenerasyonla doğru orantılı arttığı gözlemlendi. Merkeze yakın bazı hücrelerin sitoplazmasında apoptosiden dolayı yoğun eosinofilik boyandığı gözlenirken, vakuollü ve dejenere hücrelerin ise soluk renkli olduğu tespit edildi. Tübül epitelindeki bazı çekirdeklerin bazofilik oldukları ve etraflarında yoğun vakuollerin şekillendiği gözlemlendi. Çevre bağ dokuda hem vakuolizasyonlar hem de yoğun pigmentasyonların oluştuğu, bu pigmentasyonun



intestinal alanda daha az, fakat yoğun boyalı olduğu (ok başı), doku kayıplarının, ödemlerin şekillendiği alanlarda ve karyolizli hücrelerin çevresinde vakuolizasyonların oluşturduğu tespit edildi. Intersititial pigmentasyon hafif gözlenirken, tübul epitel hücrelerinde pigmentasyonun gözlenmediği tespit edildi (Şekil 57). Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri Tablo 49’da gösterilmektedir.



**Şekil 57.** Pronefrik tübüllerde üzerinde yapılan histopatolojik inceleme; d:periferik dilatasyon, e: tübüller içinde ve dışında ödem, kısa ok:dejeneratif hücre, v: hücrede yoğun vakuolizasyon, ok başı: inter tubuluer pigmentasyon, ince ok:periferik pigmentasyon, Hematoksilen eosin boyama, X20.

Pronefrik tübül dokusunda alınan örneklerde ise epitel dejenerasyon ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 27.19$ ), vakuolizasyon ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 30.64$ ), ödem ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 24.94$ ) bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenirken pigmentasyon ( $p > 0.05$ ,  $X^2 = 4.48$ ) bakımından fark gözlenmemiştir. Gonad dokusundan alınan örneklere bakıldığında; germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 28.06$ ), vakuolizasyon ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 37.37$ ), ödem ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 25.35$ ) ve pigmentasyon ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 31.28$ ) bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir. Beyin dokusundan alınan örneklerde ise; nöron dejenerasyonu ve kayıpları ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 30.56$ ), vakuolizasyon ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 38.64$ ), ödem ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 24.88$ ) ve pigmentasyon ( $p < 0.05$ ,  $X^2 = 36.06$ ) bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir.

**Tablo 49.** Histopatolojik incelemeler sonucunda epitel hücre dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyonun ortalama görülme yüzdeleri

Pronefrik tübüller	Epitel hücre dejenerasyonu ve Dökülmeleri (median ±SS)	Vakuolizasyon (median ±SS)	Ödem (median ±SS)	Pigmentasyon (median ±SS)
1000 grup 1. alan	+	+	+	-
1000 grup 2. alan	++	++	++	+
1000 grup 3.alan	++	+++	++	+
1000 grup 4.alan	++	++	++	-
1000 grup 5.alan	+++	+++	++	+
1000 grup 6.alan	+++	+++	++	+
1000 grup 7.alan	+++	+++	+++	+
1000 grup 8.alan	++	++	++	+
Ortalama değer yüzdesi	% 13 (+) % 50 (++) % 37 (+++)	% 18 (+) % 37 (++) % 50 (+++)	% 12 (+) % 75 (++) % 13 (+++)	% 25 (-) % 75(+)

Bağırsak dokuda gruplar arasında; kontrol grubu ile 75, 100, 250, 500 ve 1000 mg/L konsantrasyonları arasında pigmentasyon artışı bakımından; 250, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile ödem artışı bakımından; 500, 750 ve 1000 mg/L ile vakuolizasyon ve epitel hücre dejenerasyonu bakımından farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 75 mg/L konsantrasyon ile 500 mg/L arasında vakuolizasyon ve pigmentasyon; 750 ve 1000 mg/L ile arasında ise epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem, nekrozis, pigmentasyon bakımından farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 100 mg/L konsantrasyon ile 500 mg/L arasında vakuolizasyon ve pigmentasyon 750 ve 1000 mg/L ile arasında epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, nekrozis ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 250 mg/L konsantrasyon ile 500 mg/L arasında vakuolizasyon ve pigmentasyon 750 ve 1000 mg/L ile arasında epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, nekrozis ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 500 mg/L konsantrasyon ile 750 ve 1000 mg/L arasında epitel hücre dejenerasyonu ve nekrozis bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Karaciğer dokusunda gruplar arasında; kontrol grubu ile 75 mg/L arasında nekrozis, pigmentasyon ve bağ dokusu artışı bakımından, 100 mg/L ile ödem, nekrozis, pigmentasyon, bağ dokusu artışı bakımından, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları arasında ise epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem, nekrozis, pigmentasyon ve bağ dokusu artışı bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 75 mg/L ile 100 mg/L konsantrasyonları arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 250 mg/L konsantrasyonu ile epitel hücre dejenerasyonu ve ödem, 500 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, ödem ve bağ doku artışı, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem, nekrozis, pigmentasyon ve bağ dokusu artışı bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 100 mg/L ile 250 mg/L konsantrasyonları arasında epitel hücre dejenerasyonu bakımından, 500 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, ödem, pigmentasyon, vakuolizasyon ve bağ doku artışı, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem, nekrozis, pigmentasyon ve bağ dokusu artışı bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 250 mg/L ile 500 mg/L konsantrasyonları arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 750 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon ve pigmentasyon, 1000 mg/L konsantrasyonu ile epitel hücre dejenerasyonu ve vakuolizasyon bakımından farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 500 mg/L ile 750 mg/L konsantrasyonu arasında vakuolizasyon ve pigmentasyon, 1000 mg/L ile arasında vakuolizasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 750 mg/L ile 1000 mg/L konsantrasyonları arasında ise fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

Mide dokusuna bakıldığında gruplar arasında; kontrol grubu ile 75mg/L arasında herhangi bir fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 100 mg/L konsantrasyonu ile arasında pigmentasyon artışı ve nekrozis bakımından; 250 mg/L konsantrasyonu ile pigmentasyon, nekrozis ve epitel hücre dejenerasyonu bakımından; 500 mg/L ile vakuolizasyon, epitel hücre dejenerasyonu, nekrozis ve pigmentasyon bakımından, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile ise epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, nekrozis, pigmentasyon ve kas dokusu dejenerasyonu bakımından farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 75 mg/L konsantrasyonu ile 100 mg/L arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 250 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, nekrozis ve pigmentasyon, 500 ve 750 mg/L konsantrasyonları ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, nekrozis ve pigmentasyon, 1000 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, nekrozis,

pigmentasyon ve kas dokusu dejenerasyonu bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 100 mg/L konsantrasyon ile 250 ve 500 mg/L arasında epitel hücre dejenerasyonu, 750 mg/L konsantrasyonu ile epitel hücre dejenerasyonu ve vakuolizasyon, 1000 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, pigmentasyon ve kas dokusu dejenerasyonu bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 250 mg/L konsantrasyon ile 500 mg/L arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 750 mg/L ile vakuolizasyon, 1000 mg/L ile vakuolizasyon ve pigmentasyon bakımından farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 500 mg/L ile 750 mg/L arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 1000 mg/L konsantrasyon ile vakuolizasyon ve pigmentasyon bakımından fark bulunmuştur ( $p<0.05$ ). 750 mg/L ile 1000 mg/L arasında ise sadece pigmentasyon bakımından anlamlı farklılık görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Pronefrik tübül dokusuna bakıldığında; kontrol grubu ile 75 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 100, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon ve ödem bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 75 mg/L ile 100 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 100, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon ve ödem bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 100 mg/L ile 250 ve 500 mg/L konsantrasyonları arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 750 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon bakımından 1000 mg/L ile epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon ve ödem bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 250 mg/L ile 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları arasında fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). 500 mg/L ile 750 ve 1000 mg/L arasında da fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). Ayrıca 750 ve 1000 mg/L arasında da fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

Gonad dokusuna bakıldığında gruplar arasında; kontrol grubu ile 75 mg/L konsantrasyonu arasında ödem bakımından, 100 mg/L ile arasında germ epitel dejenerasyonu ve ödem, 250, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile germ epitel hücre dejenerasyonu, ödem, vakuolizasyon ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 75 mg/L ile 100 mg/L arasında germ epitel hücre dejenerasyonu bakımından, 250 ve 500 mg/L konsantrasyonları ile germ epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon ve pigmentasyon, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile germ epitel hücre dejenerasyonu, ödem, vakuolizasyon ve pigmentasyon fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

100 mg/L ile 250 ve 500 mg/L konsantrasyonları arasında vakuolizasyon ve pigmentasyon bakımından, 750 mg/L ile ödem, vakuolizasyon ve pigmentasyon, 1000 mg/L ile arasında ise germ epitel hücre dejenerasyonu, ödem, vakuolizasyon ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 250 mg/L ile 500 ve 750 mg/L konsantrasyonları arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 1000 mg/L ile arasında germ epitel hücre dejenerasyonu ve vakuolizasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 500 ile 750 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 1000 mg/L ile arasında germ epitel hücre dejenerasyonu ve vakuolizasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

Beyin dokusuna bakıldığında; kontrol grubu ile 75 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 100 ve 250 mg/L konsantrasyonları vakuolizasyon bakımından 500 mg/L ile arasında nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon ve ödem bakımından, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 75 mg/L ile 100 ve 250 mg/L konsantrasyonları arasında vakuolizasyon bakımından, 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 100 mg/L ile 250 mg/L arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 500, 750 ve 1000 mg/L konsantrasyonları ile arasında nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 250 mg/L ile 500 mg/L konsantrasyonu arasında pigmentasyon bakımından, 750 mg/L ile nöron dejenerasyonu ve kayıpları, ödem ve pigmentasyon bakımından, 1000 mg/L ile arasında ise nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 500 mg/L ile 750 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), 1000 mg ile arasında nöron dejenerasyonu ve kayıpları ve vakuolizasyon bakımından fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 750 mg/L ile 1000 mg/L konsantrasyonu arasında fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ).



#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Siğilli kurbağalarda tanımlanmış etkili olduğu bilinen birçok kirletici bulunmaktadır (klorpirifos, glifosa ve propanil vb.). Tarım alanlarında yoğun kullanıma sahip amonyum sülfatın *Bufo bufo* türü üzerindeki etkisi ise detaylı şekilde bilinmemektedir. Kirleticilerin amfibiler üzerindeki anormal büyüme, gelişme ve davranış gibi yarı-öldürücü etkileri rekabet ve beslenmede hassasiyet ile ayrıca üreme başarısında düşüşe sebep olduğu bilinmektedir (Bridges, 1999; Sparling, 2003; Boone ve Semlitsch, 2002; Reylea, 2005). Bu çalışma ile amonyum sülfatın *Bufo bufo* larvaları üzerindeki akut toksikolojik, morfolojik ve histopatolojik etkileri ilk defa ortaya çıkarılmıştır.

Amonyum sülfatın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Bufo bufo* bireylerinde akut deneyin sonunda morfolojik ve davranışsal değişimler gözlemlenmiştir. Morfolojik değişim olarak en çok omurgada eğrileşme, ödem oluşumu, kuyruk deformasyonu ve kuyrukta oluşan lezyonlar gibi deformasyonlar görülmüştür. Ayrıca bir süre sonra denge kayıplarının başlaması ile yatay yüzme ve yüzeye çıkamama başlamıştır. Artan kirletici konsantrasyonlarına bağlı olarak *Bufo* cinsinde morfolojik ve davranışsal değişimler literatürde de bildirilmiştir. Endosülfan ve Diazinon pestisitlerinin *Bufo regularis* üzerindeki morfolojik (derinin renk değiştirmesi, özellikle anüs ve burun tarafında kızarma) ve davranışsal (arka ve ön üyelerde koordinasyon kaybı, uzun süre su dibinde hareketsiz kalma) etkileri Lawrence ve Isimo (2010) tarafından belirtilmiştir. Xu ve Oldham (1997) ise amonyum nitratın vücut aktivitesini ve çevresel koşullara hassasiyeti kontrol eden merkezi sinir sistemini etkilediğinden bahsetmişlerdir.

Dört farklı kirleticiye maruz bırakılan *Bufo melanostictus* larvaların konsantrasyon artışına bağlı olarak şekil bozukluklarında artış görülmüştür. Artan konsantrasyonlarda ödem, deri ülseri ve özellikle kuyruk bölgesinde deformasyonlara rastlanmıştır (Jayawardena vd., 2011). 96 saat boyunca kurşuna maruz bırakılan *Bufo regularis* larvalarında da aynı şekilde yüksek konsantrasyonlarda kuyrukta şekil bozukluğu ve yüzmede fonksiyon bozukluğu gözlemlenmiştir. (Ndimbumi, 2008). Bakır sülfatın *Bufo viridis* larvalarının gelişim evresindeki davranışsal etkilerine

bakıldığı zaman uyaranlara daha az tepki verme, denge kaybı ve yüzme mesafesinin kısaldığı görülmüştür. (Gürkan ve Hayretdağ, 2012).

96 saatlik akut deneyin sonunda bu tür için LC<sub>50</sub> değeri 1155.672 mg/L olarak bulunmuştur. Farklı kirleticilerin türler üzerindeki öldürücü etkileride farklı olmaktadır. *Bufo bufo* türü üzerinde yapılan diğer akut toksikolojik çalışmalarda amonyum nitrat için LC<sub>50</sub> değeri 2,198.7 mg/L olarak bildirilmiştir (Xu ve Oldham, 1997). Bununla birlikte; Berger (1989) yine aynı türde 96 saat için LC<sub>50</sub> değerini 20 mg/L olarak belirtmiştir. *B. melanostictus* larvalarına uygulanmış dört farklı kirleticinin 48 saat sonundaki LC<sub>50</sub> değerlerine bakıldığında hepsinin ortalama öldürücü konsantrasyonlarının farklı olduğu görülmüştür (Chlorpyrifos 1.47 ppm, Dimethoate 8.89ppm, Glyphosate 45.94ppm, Propanil 1.46ppm) (Jayawardena vd., 2011).

Yapılan Kruskal-Wallis testine göre; konsantrasyonlar arasında, bağırsak dokusundan alınan örneklerde epitel dejenerasyon, vakuolizasyon, ödem, nekrosis, pigmentasyon bakımından fark olduğu bulunmuştur. Karaciğer dokusundan alınan örneklerde ise epitel dejenerasyon, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve bağ dokusu artışı bakımından fark gözlenmiştir. Mide dokusundan alınan örneklerde ise; epitel dejenerasyon, vakuolizasyon, nekrosis, pigmentasyon ve kas dokusu dejenerasyonu artışı bulunmuştur. Pronefrik tübül dokusunda alınan örneklerde ise epitel dejenerasyon, vakuolizasyon, ödem bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenirken pigmentasyon bakımından fark gözlenmemiştir. Gonad dokusundan alınan örneklere bakıldığında; germ epitel dejenerasyonu ve dökülmeleri, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyon bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir. Beyin dokusundan alınan örneklerde ise; nöron dejenerasyonu ve kayıpları, vakuolizasyon, ödem ve pigmentasyon bakımından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir.

*Bufo regularis* üzerinde yapılan histopatolojik çalışma kirleticilerin *Bufo* türünün karaciğerindeki epitel hücreleri yıkıma uğalanarak doku bütünlüğünü bozulduğundan bahsetmiştir (Sakr ve Hanafy, 2002). Aynı tür üzerinde endosülfanın histopatolojik etkilerine bakıldığında ise beyinde vakuolizasyona, ödeme, nöron hücrelerinde

dejenerasyona sebep olduğu gözlemlenmiştir (Isioma ve Lawrence, 2013). Kurşunun *Bufo regularis* üzerindeki histopatolojik etkilerine bakıldığı zaman ön beyinde nöral tüplerde zayıf gelişme ve kortekse gelen nöron geçişlerinde gecikmeler ortaya çıkarılmıştır (Ndimbuni, 2008). Butachlor herbisitinin artan konsantrasyonlarının *Bufo bufo gargarizans* karaciğerindeki histolojik etkilerine bakıldığı zaman, hepatik yapının arttığı ve kendi kendini yok etmeye başladığı görülmüştür (Wang vd., 2012). Kadmiyumun *Pseudepidalea variabilis* larvaları üzerindeki histopatolojik etkilerine bakıldığı zaman; karaciğerde vakuolizasyon ve artan konsantrasyonlar ile birlikte pronefrik tübüllerde deformasyon artışı görülmüştür (Gürkan vd., 2014). *Bufo viridis* larvaları üzerinde bakır sülfatın histopatolojik etkilerine bakıldığı zaman karaciğerde hepatoselüler dejenerasyon, mide ve bağırsak epitel hücrelerinde hasar, somit taslaklarında deformasyon ve anomaliler gözlemlenmiştir (Gürkan ve Hayretdağ, 2012).

Hayes vd. (2003), atrazine maruz kalan *Rana dalmatina* larvalarında gonad gelişiminin yavaşladığını ve testislerde oosit varlığını görmüşlerdir. *Rhinella arenarum* embriyolarında BPA nörotoksik etkisine bakıldığı zaman sinir sisteminde uyuşturucu etkisi ile karşılaşılmıştır. Merkezi sinir sistemi uyuşması ile tutarsız yüzme ve uyarılara karşı yavaş cevap verme gibi bozukluklar ortaya çıkmaktadır (Wolkowicz vd., 2011). Ayrıca bu nörolojik etkilerin histopatolojik temele dayandığı düşünülmektedir. BPA'ya maruz bırakılan kobay farelerde gelişim sırasında nöral hücre ölümleri gözlenmiştir bu sonuç tersine çevrilemez bir şekilde nöral iletişim ağını anormalliye götürmüştür (Negishi vd., 2004).

Sonuç olarak; artan amonyum sülfat konsantrasyonlarının *Bufo bufo* larvaları üzerindeki morfolojik ve davranışsal olumsuz etkileri ilk defa ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca yaygın olarak kullanılan bu tarım gübresinin beyin, gonad, karaciğer, pronefrik tübül, mide ve bağırsaktaki histopatolojik etkileri de ilk defa incelenmiştir. Böylece amonyum sülfatın amfibi larvaları üzerindeki erken larva dönemlerindeki zararlı etkileri ortaya çıkarılmıştır. Amfibi sucul ortamlarının herhangi bir şekilde amonyum sülfat ile kontamine olması sonucu ortaya çıkabilecek komplikasyonlar morfolojik ve histopatolojik olarak açığa çıkarılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları ile birlikte kirleticilerin amfibi larvaları üzerindeki etkileri belirtilmekle kalmamış, daha fazla kirleticinin amfibiler üzerindeki etkilerine bakılması gerekliliği de ortaya çıkarılmıştır.

## 5. ÖNERİLER

Amonyum sülfat gübresi Türkiye’de dahil olmak üzere birçok ülkede tarım alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanılan amonyum sülfat gübresinin çeşitli konsantrasyonlarına maruz kalan amfibi türlerinde, morfolojik ve histopatolojik olarak olumsuz etkilendiği bilinmektedir.

Bilinen bu özellikler kullanılarak daha sonraki çalışmalarda pestisit bakımından temiz ve kirli sulardan alınan aynı türe ait amfibi örnekleri birbirleri ile karşılaştırılabilir. Karşılaştırılan bu türler için direnç geni farklılıkları incelenebilir ayrıca DNA hasarı araştırılabilir. Kronik deney yaparak pestisit kullanımının metamorfoz sürecine etkisi incelenebilir. Histopatolojinin dışında enzim aktiviteleri incelemesi yapılabilir, özellikle metamorfoz sürecindeki enzimlerin değişiklikleri üzerinde durulabilir.



## KAYNAKLAR

- Atılgan, A., Coşkan, A., Saltuk, B., ve Erkan, M., 2007.** Antalya yöresindeki seralarda kimyasal ve organik gübre kullanım düzeyleri ve olası çevre etkileri. *Ekoloji*, 15(62), 37-47.
- Baran, İ., Çetin I., Avcı A., Kumlutaş Y., Olgun K., 2012.** Türkiye Amfibi ve Sürüngenleri Tübitak Pöpüler Bilim Kitapları, 4. Baskı, ISBN: 978-975-403-703-6, 204 s., 25.
- Berger, L., 1989.** Disappearance of amphibian larvae in the agricultural landscape. *Ecology International Bulletin*, 17, 65-73.
- 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*, 2008. 86(3), 447-456.
- Boone, M.D., and Semlitsch, R.D., 2002.** Interactions of an insecticide with competition and pond drying in amphibian communities. *Ecological Applications*, 12(1), 307-316.
- Bridges CM., 2000.** Long-term effects of pesticide exposure at various life stages of the southern leopard frog (*Rana sphenocephala*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 39(1), 91-96.
- Burgett, A.A., Wright, C.D., Smith, G.R., Fortune, D.T. ve Johnson, S.L., 2007.** Impact of ammonium nitrate on wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles: effects on survivorship and behavior. *Herpetological Conservation and Biology*, 2, 29-34.
- Camargo, J.A., Alonso, A., and Salamanca, A., 2005.** Nitrate toxicity to aquatic animals. A review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere*, 58 (9), 1255-1267.
- Davidson, C. 2004.** Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecological Applications*, 14, 1892-1902.
- Fenn, M.E., Baron, J.S., Allen, E.B., Rueth, H.M., Nydick, K.R., Geiser, L., and Neitlich, P., 2003.** Ecological effects of nitrogen deposition in the western United States. *BioScience*, 53(4), 404-420.
- Garcia-Porta, J., Litvinchuk, S.N., Crochet, P.A., Romano, A., Geniez, P.H., Lo-Valvo, M., and Carranza, S., 2012.** Molecular phylogenetics and historical biogeography of the west-palearctic common toads (*Bufo bufo* species complex). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(1), 113-130.
- Gosner, K.L. 1960.** A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16, 183-190.

- 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.
- Gürkan, M., ve Hayretdağ, S., 2012.** Morphological and histological effects of copper sulfate on the larval development of green toad, *Bufo viridis*. *Turkish Journal of Zoology*, 36(2), 231-240.
- Gürkan, M., Çetin, A., ve Hayretdağ, S., 2014.** Acute toxic effects of cadmium in larvae of the green toad, *Pseudepidalea variabilis* (Pallas, 1769) (Amphibia: Anura). *Arh Hig Rada Toksikology*, 65(3), 301-308.
- Hatch, A.C. ve Blaustein. A.R., 2003.** Combined effects of UV-B radiation and nitrate fertilizer on larval amphibians, *Ecological Applications*, 13, 1083-1093.
- Hayes, T., Haston, K., Tsui, M., Hoang, A., Haefele, C., and Vonk, A., 2003.** Atrazine induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*) laboratory and field evidence. *Environmental Health Perspectives*, 111(4), 568.
- Hecnar, S.J., 1995.** Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from Southern Ontario, *Environmental toxicology and chemistry*, 14, 2131-2137.
- Isioma, T., and Lawrence, E., 2013.** Effects of endosulfan pesticide on toad. *The Japanese journal of veterinary research*, 61, S67-8.
- 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.
- Josefina Vera Candiotti., Guillermo S., Natale Sonia Soloneski., Alicia E., Ronco., Marcelo L., Larramendy., 2010.** Sublethal and lethal effects on *Rhinella Arenarum* (Anura, *Bufo*) tadpoles exerted by the pirimicarb-containing technical formulation insecticide Aficida.
- 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.
- 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.
- Mann, R.M., Hyne, R.V., Chung, C.B., and Wilson, S.P. 2009.** Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. *Environmental Pollution*, 157(11), 2903-2927

- Marco, A., Consuelo, Q. and Blaustein, A.R., 1999.** Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(12), 2836-2839.
- McDiarmid, R., Altig, R., 2000.** Tadpoles. *The Biology of Anuran Larvae*. The University of Chicago Press, 2000. 10-11. sayfalar
- Meredith, C.S., and Whiteman, H.H., 2008.** Effects of nitrate on embryos of three amphibian species. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 80(6), 529-533.
- Ndimbumi, J., 2015.** Effects of lead exposure on survival, growth and development of forebrain in *Bufo regularis* tadpoles.
- Negishi, T., Kawasaki, K., Suzaki, S., Maeda, H., Ishii, Y., Kyuwa, S., and Yoshikawa, Y., 2004.** Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranlycypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. *Environmental health perspectives*, 1159-1164.
- Nikoloff, N., Natale, G.S., Marino, D., Soloneski, S., Larramendy, M.L. (2014).** Flurochloridone-based herbicides induced genotoxicity effects on *Rhinella arenarum* tadpoles (Anura: *Bufo* *regularis*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 100, 275-281.
- Oldham, R.S., 1999.** *Amphibians and Agriculture: double jeopardy*, De Montfort Univ., Leicester LE7 9SU, UK.
- Oromí, N., Sanuy, D., and Vilches, M., 2009.** Effects of nitrate and ammonium on larvae of *Rana temporaria* from the Pyrenees. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 82(5), 534-537.
- Ortiz, M. E., Marco, A., Saiz, N., and Lizana, M., 2004.** Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six European amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(2), 234-239.
- Özeti, N. ve Yılmaz, İ., 1994.** Türkiye Amfibileri, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No: 151, İzmir, 221s.
- Recuero, E., Canestrelli, D., Vörös, J., Szabó, K., Poyarkov, N.A., Arntzen, J.W., and Martínez-Solano, I., 2012.** Multilocus species tree analyses resolve the radiation of the widespread *Bufo bufo* species group (Anura, *Bufo* *regularis*). *Molecular phylogenetics and evolution*, 62(1), 71-86.
- Relyea, R.A., 2005.** The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. *Ecological applications*, 15(4), 1118-1124.
- Rouse, J.D., Bishop, C.A., and Struger, J., 1999.** Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. *Environmental health perspectives*, 107(10), 799.

- Qi, F., Li, A., Inagaki, Y., Xu, H., Wang, D., Cui, X., and Tang, W., 2012.** Induction of apoptosis by cinobufacini preparation through mitochondria-and Fas-mediated caspase-dependent pathways in human hepatocellular carcinoma cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 295-302.
- Sakr, S.A., and Hanafy, S.M., 2002.** Histopathological Alterations in the Liver and Kidney of Toads (*Bufo regularate*) Intoxicated with a Pyrethroid Insecticide.
- Schuytema, G.S. and Nebeker, A.V., 1999a.** Compaalanive toxicity of ammonium and nitrate compounds to Pacific tree frog, and African clawed frog tadpoles, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2251-2257.
- 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(3), 357-364.
- Secondi, J., Lepetz, V., Cossard, G., and Sourice, S., 2013.** Nitrate affects courting and breathing but not escape performance in adult newts. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67(11), 1757-1765.
- Smith, G.R., Temple, K.G., Dingfelder, H.A., and Vaala, D.A., 2006.** Effects of nitrate on the interactions of the tadpoles of two ranids (*Rana clamitans* and *R. catesbeiana*). *Aquatic Ecology*, 40(1), 125-130.
- Sönmez, İ., Sönmez, S., Kaplan, M., 2008.** Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, ISSN 1300-3496, 25(2): 24-34
- Sparling, D.W., 2003.** A review of the role of contaminants in amphibian declines. *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 1099-1128.
- Topbaş, M.T, A.R. Brohi. ve M.R. Karaman. 1998.** Çevre Kirliliği. T.C.Çevre Bakanlığı Yayınları. Ankara.
- URL-1, 2009.** <http://www.tarimziraat.com>
- URL-2, 2011.** [http://www.guneysan.com.tr/kimyevi\\_gubre\\_cesitleri.html](http://www.guneysan.com.tr/kimyevi_gubre_cesitleri.html)
- URL-3, 2004.** [www.nitrate.com/nitrate1.htm](http://www.nitrate.com/nitrate1.htm)
- URL-4, 2007.** [http://www.ziraat.ktu.edu.tr/tarim\\_girdi.htm](http://www.ziraat.ktu.edu.tr/tarim_girdi.htm)
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., and Melillo, J. M., 1997.** Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277(5325), 494-499.
- Watt, P.J., and Jarvis, P., 1997.** Survival analysis in palmate newts exposed to ammonium nitrate agricultural fertilizer. *Ecotoxicology*, 6(6), 355-362.

- Wolkowicz, I. R. H., Herkovits, J., Pérez Coll, C. S. (2011).** Stage-dependent toxicity of bisphenol a on *Rhinella arenarum* (Anura, *Bufo* *idae*) embryos and larvae. *Environmental toxicology*, 29(2), 146-154.
- Xu, Q. and Oldham, R.S., 1997.** Lethal and Sublethal Effects of Nitrojen Fertilizer Ammonium Nitrate on Common Toad (*Bufo bufo*) Tadpoles. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 32(3), 298-303.
- Yüksek Turan., Yüksek Filiz., Sütlü Ercan., 2013.** Rize yöresinde çay tarımında gübreleme sorunları ve sürdürülebilir çay tarımı için yeni stratejiler. Rize Kalkınma Sempozyumu, 3-4 Mayıs, 2013, Bildiri Özetleri Kitabı, 53-54



## ÖZGEÇMİŞ

GÜLŞAH KÖSEOĞLU 07/07/1989 tarihinde Rize/Çayeli’de doğdu. İlk ve orta öğretimi İstiklal İlköğretim Okulu’nda (Ankara) ve liseyi Yabancı Dil Ağırlıklı 75. Yıl Lisesi’nde (Ankara) tamamladı. 2007-2008 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi (Samsun), Biyoloji programını kazandı. 2011-2012 eğitim öğretim yılının bahar döneminde lisans programını tamamladıktan sonra 2012-2013 eğitim öğretim döneminden itibaren Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi’nin Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimi yapmaktadır.