

T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Lymnaea stagnalis LINNAEUS, 1758
(GASTROPODA:PULMONATA)'DA HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERE NEDEN OLAN KADMIYUMUN
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE EDTA'NIN KORUYUCU VE
İYİLEŞTİRİCİ ETKİLERİ

Serpil BÜRÇÜN KARAKAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DIYARBAKIR
OCAK 2010

TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunu bana Yüksek Lisans Tezi olarak veren ve çalışmalarım sırasında her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen danışmanım Sayın Yrd.Doç.Dr. Birgül OTLUDİL'e teşekkür ederim. Ayrıca Hidrobiyoloji Araştırma Laboratuvarını kullanmamızı sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Hidrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ'ye, preparatların incelenmesi ve resimlenmesi için gerekli mikroskobu bize temin eden Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Yüksel COŞKUN'a, örneklerin toplanmasında yardımcı olan Sayın Bayram BARAN'a, kimyasal analizlerimizin yapılmasında bize yardımcı olan Kimya Bölümü Öğretim Elemanlarından Sayın Arş. Gör. Ersin KILINÇ'a teşekkür ederim. Tez çalışmalarım sırasında yeterince ilgilenemediğim biricik kızım Beren'e de anlayışından ötürü teşekkür ederim.

DÜBAP 07-02-19 Nolu proje ile maddi katkı sağlayarak yardımda bulunan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığına (DÜBAP) ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
AMAÇ.....	iii
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL VE METOT.....	18
3.1. Türün Tanımı.....	18
3.2. Örneklerin Toplanması ve Laboratuara Getirilmesi.....	20
3.3. Deney Düzeneklerinin Hazırlanması.....	20
3.4. Deneysel Çalışma.....	21
3.5. Kimyasalların Hazırlanması.....	23
3.6. Kimyasal Analiz İşlemleri.....	24
3.7. Histolojik Preparatların Hazırlanması.....	25
4. BULGULAR.....	27
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	27
4.1.1. Ayak.....	27
4.1.1.1. Kontrol Grupları.....	27
4.1.1.2. Deney Grupları.....	27
4.1.2. Manto.....	37
4.1.2.1. Kontrol Grupları.....	37
4.1.2.2. Deney Grupları.....	37
4.1.3. Hepatopankreas.....	46
4.1.3.1. Kontrol Grupları.....	46
4.1.3.2. Deney Grupları.....	46
4.2. Kimyasal Sonuçlar.....	58
4.2.1. Dokularda Kadmiyum Birikimi.....	58
4.2.1.1. Kontrol Grupları.....	58
4.2.1.2. Deney Grupları.....	58
4.2.2. Dokulardan Kadmiyumun Uzaklaştırılması.....	62
4.2.2.1. Deney Grupları.....	62
5. TARTIŞMA.....	65
6. KAYNAKLAR.....	73
7. EK-1. RESİM LİSTESİ.....	84
7. EK-2. TABLO LİSTESİ.....	88
7. EK-3. GRAFİK LİSTESİ.....	89
8. ÖZGEÇMİŞ.....	90

AMAÇ

Son yıllarda teknolojinin gelişmesi sonucu nehir ve göllere bırakılan endüstriyel ve kentsel atıklar, sucul organizmaları tehdit etmektedir. Nehirlerin ve göllerin kirlenmesi sonucu, sudaki ağır metallerin oranı da artmakta ve belirli bir konsantrasyona ulaştığında ise sucul organizmalar için toksik etki oluşturmaktadır.

Gastropodların tatlı su kirliliğinin potansiyel biyoindikatörleri oldukları ve kirleticilerin etkilerini değerlendirmek için duyarlılıklarından, ağır hareket yeteneklerinden ve kirli sedimentle temaslarından dolayı iyi model oldukları bilinmektedir.

Ağır metaller tatlı su salyangozlarında histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler meydana getirmektedir. EDTA ise bazı çevresel kirleticilerin (Cd gibi) toksik etkilerini en aza indirebilme özelliğinden dolayı ağır metallerin zararlı etkilerinden salyangozları koruyabilmektedir.

Çalışmamızda söz konusu nedenlerle ilişkili olarak, tatlı sularda yayılış gösteren *Lymnaea stagnalis* türünün farklı dokularında kadmiyumun birikim oranlarının belirlenmesi ve buna bağlı olarak dokularda meydana gelebilecek histopatolojik değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte, kadmiyum ortamında bekletilen salyangozların EDTA ile yapılacak bir aylık iyileştirme periyodu sonunda, kadmiyum atılımına etki edip etmediği ve dokularda meydana gelebilecek histopatolojik değişikliklerin ne ölçüde geri dönüşümlü olabildiği de belirlenmeye çalışılmıştır.

Literatürlerde, salyangozlarda ağır metallerin neden olduğu toksisiteler üzerinde EDTA'nın koruyucu ve iyileştirici etkileri hakkında deneysel sonuçların bir eksikliği vardır. Bu çalışma, *L. stagnalis*'te Cd'un histopatolojik etkilerine karşı EDTA'nın koruyuculuğunu ve iyileştiriciliğini incelemek için planlanmıştır.

ÖZET

Cd, ağır metaller arasında toksik bakımdan cıvadan sonra ikinci sırada gelir. Toksisitesinin canlılar üzerindeki etkisini belirleyebilmek için böyle bir çalışmaya karar verildi. Bu deneysel çalışma için, kontrol, 63.4 µg/l, 31.7 µg/l, 15.85 µg/l ve 7.92 µg/l Cd konsantrasyonlu olmak üzere toplam beş grup seçildi. Çalışmamızda 28 günlük Cd uygulaması sürecini, 28 günlük EDTA uygulaması ile iyileşme süreci izledi.

Cd uygulama ve iyileştirme evresinde, histopatolojik çalışma ve kimyasal analizler için, uygulamanın 7., 14., 21. ve 28. günlerinde ve iyileştirmenin 14. ve 28. günlerinde salyangozlar dissekte edilerek ayak, manto ve hepatopankreas dokuları alındı.

Cd uygulaması sonucunda; ayakta mukositlerin, pigment ve protein hücreleri ile lipid vakuollerinin sayısında artış, epitelde deskuamasyon görüldü. Kas fibrillerinde atrofi, piknotik hücre ve çift çekirdekli hücre gibi nekrotik yapılar saptandı. Mantoda, kas fibrillerinde atrofi, bağ dokusu hücreleri ve lipid vakuollerinde artış gözlemlendi. Ayrıca epitelde de deskuamasyon meydana geldi. Hepatopankreasta, hemolenfatik alanların ve tübüllerarası boşlukların genişlemesiyle, lipid vakuelleri ve amöbositlerde artış gözlemlendi. Epitelde deskuamasyon, tübüllerde ise vakuolleşme oluştu. Lezyonların şiddeti artan Cd konsantrasyonuna ve zamanın ilerlemesine bağlı olarak artış gösterdi. Değişikliklerin çoğu geri dönüşümlüydü. Ancak iyileştirme periyodu sonrasında az da olsa histopatolojik lezyonlara yine de rastlandı. Elde edilen histopatolojik bulgular yorumlandı ve fotoğrafları çekildi.

Dokulara ait kimyasal analizler için dokulardaki kadmiyum düzeyi İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) ile ölçüldü. Ölçümler sonucunda; en fazla Cd birikimi hepatopankreasda, sonra ayakta, en az da mantoda tespit edildi. İyileştirme süreci sonunda dokulardaki Cd düzeyi, belirli oranlarda azaldı.

Anahtar Kelimeler: *Lymnaea stagnalis*, Cd, EDTA, histopatoloji.

SUMMARY

Among the heavy metals cadmium (Cd) is the second on account of toxic after mercury. Such a study was decided for determine the effects of its toxicity on living organisms. For this experimental work; control, 63.4 µg/l, 31.7 µg/l, 15.85 µg/l and 7.92 µg/l Cd concentrations was chosen to be as five groups. In our study, 28-day Cd application process was followed by EDTA application for 28-day recovery period.

The snails were dissected and foot, mantle and hepatopancreas tissue samples were taken in 7, 14, 21 and 28 days during Cd application and in 14 and 28 days in recovery periods for histopathological studies and chemical analysis.

At the end of Cd application increase were seen in the number of mukosit, pigment and protein cells and lipid vacuoles with desquamation in the epithelium in the foot. Necrotic structures such as atrophy in muscle fibrils, pycnotic cell and cell with dual-core were detected. In mantle, atrophy in muscle fibrils, connective tissue cells and increase in the lipid vacuoles was observed. Also, desquamation in the epithelium has occurred. Due to expansion of hemolymphatic areas and spaces between tubules, increase in the lipid vacuoles and amoebocyte was observed in the hepatopancreas. Desquamation in the epithelium and vacuolation in tubules has occurred. Severity of the lesions has showed increase depending on the time progress and increasing in Cd concentrations. Most of the changes were reversible. However, histopathological lesions, slightly, still have been found after the recovery period. The obtained histopathological findings have been interpreted and photographs were taken.

For chemical analysis of Cd in each tissue, the level of cadmium in the tissues was measured with Inductively Coupled Plasma - Emission Spectroscopy (ICP-OES). As a result of measurements, most of accumulation of Cd was detected in the hepatopancreas, then in the foot, and at least in the mantle. Cd levels in the tissues were decreased in specific rates at the end of recovery period.

Keywords: *Lymnaea stagnalis*, Cd, EDTA, histopathology.

1. GİRİŞ

Türkiye, gerek coğrafik konumu gerekse farklı habitatlarıyla tür zenginliği bakımından Palearktik bölgede önemli bir konuma sahip ülkelerden biri olmakla birlikte, Gastropoda zoocoğrafyasında da önemli bir yer tutmaktadır (Yıldırım, 1999).

Çalışmamıza konu oluşturan *Lymnaea stagnalis* örnekleri, zengin bitki örtüsüne sahip birçok tatlı su göletlerinde, göllerde ve nehirlerde suların durgun veya yavaş akan bölgelerinde yaşarlar. Ayrıca mevsimsel yağışlara bağlı olarak oluşan geçici su birikintilerinde de bulunabilirler. Türün geniş bir dağılışa sahip olduğu, Holarktik bölgede (Kuzey Afrika, Avrupa, Kuzey ve Orta Asya ile Kuzey Amerika) pek çok lokalitede yaşadığı saptanmıştır (Zhadin, 1965). Ülkemizde de yayılış gösteren *L. stagnalis* türünün Ege, Akdeniz, İç Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde dağılış gösterdiği belirlenmiştir (Yıldırım ve ark., 2006).

Günümüzde bilim adamlarının karşı karşıya oldukları en önemli sorunlar çevre ve çevre koruma ile ilgili olanlardır. Modernleşme, sanayinin geliştirilmesi ve tarım, bir taraftan yaşam standartlarında bir artış sağlarken diğer taraftan da çevresel bozulmalara neden olabilmektedir (Kalay ve Karataş, 1999; Chyb ve ark., 2000). Bu bozulma insan sağlığı ve yaşam için doğrudan bir tehdit teşkil etmektedir.

Kadmiyum (Cd) yerkabuğunun nispeten nadir metallere biridir. Herhangi bir organizma için esansiyel olduğu henüz bilinmemektedir. Doğal veya antropojenik kaynaklardan çevreye bulaşır. Antropojenik kaynaklı olarak, metal eritme işlemleri, akü üretimi, gübre üretimi, boya, kaplama ve plastik sanayi gibi kaynaklardan çevreye verilmektedir. Doğal kaynaklı olarak salınımları ise; volkanlar, orman yangınları ve karasal bitki örtüsünden metal bakımından zenginleştirilmiş partiküllerin doğaya salınması şeklinde olmaktadır (Burger, 2008).

Kadmiyumun biyolojik sistemlerde herhangi bir işlevi olmamasına karşın, özellikle sucul ortamlarda, gerek duyulan iyonlarla rekabet halinde olması nedeniyle, akuatik organizmalar tarafından alınmaktadır. Alınan kadmiyumun metal bağlayıcı bileşikler tarafından kolayca esterleştirilmesi organizmada birikimine ve toksisiteye neden olmaktadır. Kadmiyum gelişme, üreme, yaşama süresi ve osmoregülasyonu olumsuz yönde etkiler (Sorensen, 1991).

Günümüzde kadmiyum endüstriyel olarak nikel/kadmiyum pillerde, korozyona karşı özellikle denizsel koşullara dayanıklılığı nedeniyle gemi sanayisinde, çeliklerin kaplanmasında, boya sanayisinde, PVC stabilizatörü olarak, alaşımlarda ve elektronik sanayinde kullanılır. Cd fosfatlı gübrelerde, deterjanlarda ve rafine petrol türevlerinde bulunur ve bunların çok yaygın kullanımı sonucunda da önemli miktarda Cd kirliliği ortaya çıkar (Kahvecioğlu ve ark., 2003).

Cd, ağır metaller arasında toksik bakımdan cıvadan sonra ikinci, suda çözünme özelliği bakımından da birinci sırada gelir. Bu nedenle doğada yayılım hızı yüksektir ve insan yaşamı için gerekli elementlerden değildir. Suda çözünebilir özelliğinden dolayı Cd^{+2} halinde sucul organizmalar tarafından biyolojik sistemlere alınır ve akümüle olma özelliğine sahiptir. Canlı vücudunda genellikle metallothionein ile birleşmiştir (Friberg ve ark., 1974). Metallothionein sisteyince zengin, düşük molekül ağırlığına sahip olan metal bağlayıcı bir proteindir. Kadmiyum kanda proteinlere ve alyuvarlara bağlanır ve bu şekilde taşınır. Taşınan Cd'un %50-70'i karaciğer ve böbreklerde biriktirilir (Benson ve ark., 1990).

Kadmiyum sucul organizmalar için temel bir metal olmayıp, sucul ekosistemlere ziraat, endüstri gibi kaynaklar aracılığıyla girer. Gerek doğada gerekse canlı organizmalarda çeşitli doku ve organlarda birikebilme özelliğine sahiptir. Doğada biyoakümülyasyon özelliğine sahip ağır metallerden biri olan Cd, besin zinciri yoluyla

insan sağlığını tehdit etmekte ve ekolojik zararlar verebilmektedir (Gomot, 1998). Bununla birlikte, ağır metallerin ekolojik sistemde yayılımları dikkate alındığında doğal çevrimlerden daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayılımının söz konusu olduğu da görölmektedir (Kahvecioğlu ve ark., 2003).

Deneysel olarak, pek çok sucul organizmada Cd'un birikimi üzerine çalışmalar yapılmış olup, sudaki Cd ölçüm değerlerinin, ortamda olan ve insan besini olarak kullanılan canlılardaki Cd'un değerlerini yansıtmadığı belirtilmiştir (Ruangsomboon ve Wongrat, 2006). Çeşitli metallerin özellikle besin zinciri yoluyla insana bulaşma riskinden dolayı, bunların dokulardan eliminasyonu konusunda da çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Muramoto, 1982; Kargın, 1996; Kargın ve Çoğun, 1999; Erdem ve ark., 2005).

EDTA gibi ajanların, sucul organizmalarda Cd toksisitesini indirgediği saptanmıştır (Sunda ve ark., 1978). Kimyasalların çeşitli dokulara (ayak, manto ve hepatopankreas vb.) ciddi zararlar verdiği histolojik çalışmalarla tespit edilmiştir (Otludil ve ark., 2004; Cengiz ve ark., 2005; Ünlü ve ark., 2005). Bununla birlikte, dokularda biriken Cd'un EDTA (Etilen diamin tetra asetikasit) muamelesiyle dokulardan elimine edildiği de gözlemlenmiştir (Kargın, 1996). Tatlı su salyangozları toksikolojik ve patolojik olarak sucul ekosistemlerin sağlığını değerlendirmek için yaygın bir şekilde kullanılan yararlı deneysel modellerdir.

Günümüzde çeşitli ekosistemlerin çevresel kirlilik açısından izlenmesinde çoğu kez biyoindikatör türlerden yararlanılmaktadır (Taylan ve Özkoç, 2007). Çoğu kez yaşadıkları çevrenin göstergesi olabilen türlerin, yalnızca belli bir alanda var olup olmadıklarına ilişkin bulgular, o alanın çevresel açıdan kirlenme boyutu hakkında ipucu verebilmektedir. Belli türlerin belli alanlarda zaman içerisinde izlenmesi gerek türlerin, gerekse söz konusu alanların maruz kaldığı etkiler bakımından son derece önemlidir.

Ayrıca, bir sucul ekosistemde bazı biyoindikatör türlerin varlığı ya da yokluğuna göre suyun kalitesine ilişkin genel yorumlar da yapılabilmektedir. Bazı omurgasız canlılar kullanışlı birer biyoindikatör canlı olduklarından, sucul sistemlerde biyolojik izleme çalışmalarında en çok kullanılan organizma grubudur. Söz konusu türlerin bazılarının faunada varlığı ya da baskın olması ile organik ve inorganik kirlilik arasında anlamlı ilişkiler olduğuna ait çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Thorne ve Williams, 1997; Kazancı ve Girgin, 1998; Metcalfe, 1998; Duran, 2006).

Potansiyel olarak toksik olan ağır metallerin tatlı su salyangozları üzerine olan etkileri hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar söz konusu metallerin toksisiteyi ve etki mekanizmaları hakkında bilgi edinmeyi mümkün kılar (Pyatt ve ark., 2002). Ama genel olarak kadmiyumun tatlı su omurgasızları üzerine olan toksik etkilerini belirlemeye yönelik yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu daha çok akut toksisiteyi saptamaya yönelik olarak 24 - 96 saat aralığı gibi kısa sürelerde gerçekleştirilen deneysel çalışmalardır (Green ve ark., 1986; Hall ve ark., 1986; Gerhardt, 1992; Wright ve Welbourn, 1994; Coeurdassier ve ark., 2003).

Modern biyoloji günümüzde akuatik toksikolojik araştırmalarla ekzotoksikolojik çalışmalar için potansiyel araçlar sağlamıştır. Ağır metallerin genel olarak protein yapısını etkiledikleri ve organizmalarda strese neden oldukları bilinmektedir (Gopal ve ark., 2009). Çeşitli organik kirleticilerin sucul organizmalarda doku hasarlarına (histopatolojik değişikliklere) neden oldukları bilinmekle beraber, tatlı su salyangozu olan *L. stagnalis* türüne ilişkin olarak, kadmiyumun neden olduğu etkiler konusundaki çalışmalar azdır. Çalışmamıza konu olan tür aynı zamanda tatlı su sistemlerinin ağır metal izlenmesi için kullanılabilen bir türdür (Rozsa ve ark., 1988).

Bu çalışmada, ağır metallerin canlı sağlığı üzerinde herhangi bir tehlikesinin bulunup bulunmadığı konusunda fikir edinebilmek için, *Lymnaeidae* familyasına ait bir

tür olan *L. stagnalis*'e subletal konsantrasyonlarda kadmiyum verilmesi, Cd'a maruz kalan dokularda (ayak, manto ve hepatopankreas) meydana gelebilecek histopatolojik değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine EDTA'nın olası iyileştirici etkilerinin histopatolojik olarak saptanması amaçlanmıştır. Çünkü sucul ortamda yaşayan canlı organizmalarda biriken ağır metallerden dolayı meydana gelecek toksik etkiler ve bunların besin zinciri yoluyla insanlar üzerindeki tehlikeleri günümüzün en önemli çevresel problemlerdendir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zylstra ve ark. (1978), iki tatlı su salyangozunda manto kenarının histolojisini ve ultrastrüktürünü çalışmışlardır. Manto kenarının epitel hücrelerinin diğer hücrelere iyon ve su taşımalarını inceleyerek, subepitelial bez hücrelerinin ve serbest sinir uçlarının bu durum üzerindeki rollerini tartışmışlardır.

Mason ve ark. (1986), sucul sistemlerde yaşayan ve besin zincirinin tepesinde yer alan su samurlarında cıva, kurşun ve kadmiyum ağır metallerini inceleyerek, söz konusu ağır metallerin böbrek, karaciğer, kıl ve kas dokudaki birikimini araştırmışlardır.

Dictus ve ark. (1987), *L. stagnalis*'in albümin bezinin mitokondrisi içine kalsiyumun geçmesinde rol oynayan bir nöropeptit konusunda çalışmışlardır. Yumurta bırakma sürecinin ardışık evrelerinde Ca^{+2} içeren mitokondrinin yüzdesinin önemli ölçüde değiştiğini tespit etmişlerdir.

Ravera (1991), *Crustacea* ve tatlı su salyangozlarının bazı türlerinin embriyonik gelişimi ve üreme karakterleri üzerine bazı ağır metallerin (Zn, Cu, Pb, Cd, Ni, V ve Hg) etkisini araştırmıştır. Düşük konsantrasyondaki ağır metallerin tatlı su salyangozlarının embriyonik gelişimleri üzerine bir etkisi olmadığını belirten çalışmaların aksine, düşük konsantrasyonlarda bile çalışılan türlerin embriyonik gelişimlerinde değişiklikler gözlemlendiğini belirtmiştir. Pulmonatlarda toksik metale maruz kalmanın belirgin etkilerinin, embriyonik ve seksüel gelişim gecikmesi ile yüksek oranda anormal embriyolar şeklinde olduğunu tespit etmiştir. *Cladocera*'ların üreme sistemi üzerinde ise, yetişkin dişi ölümünde artış, kuluçka sayısında ve büyüklüğünde düşme şeklinde etki gösterdiğini saptamıştır.

Presing ve ark. (1993), salyangozlarda kabuğun kadmiyum almadığını, yumuşak vücut dokularının ise 200 µg Cd/g konsantrasyonunda doyuma ulaştığını

belirtmişlerdir. Çalışmalarında 0.1 mg/L Cd konsantrasyonunda dört hafta tuttıkları *L. stagnalis* örneklerinde Cd'un alınımını, birikimini ve bu işlem sırasında doğal çinko seviyesinde meydana gelen değişimleri iki aylık bir periyotta incelemişlerdir. Sekiz haftalık temiz suda tutma süresi sonunda bile dokularda önemli miktarda Cd bulunduğunu bildirmişlerdir.

Lajtner ve ark. (1996), 250 ve 300 mg/L fenole maruz kalan salyangozların sindirim bezindeki değişiklikler 7 gün boyunca incelenmiş, bu süre sonunda hiçbir salyangozun hayatta kalmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmada gözlenen histopatolojik değişiklikler, fenolün sindirim hücrelerinin fonksiyonunu etkilediğini doğrulamıştır. Sindirim bezindeki bu fonksiyon bozukluğunun, fenole maruz kalmaya bağlı olarak histopatolojik etkilerle birlikte hayatta kalan salyangozlarda büyüme ve üremeye de yansımıştır. Çünkü kontrol grubunda yumurtlama görüldüğü halde, fenolün 100 ve 150 mg/L'lik konsantrasyonlarına maruz kalan salyangozlar iyileştirme periyodunda yumurtlamamışlardır.

Elangovan ve ark. (1997), *L. stagnalis*'i nötral pH değerinde, alüminyumun farklı formlarındaki çeşitli konsantrasyonlarına 30 gün boyunca maruz bırakmışlardır. Tüm yumuşak dokularda önemli değerlerde alüminyum biriktiğini saptamışlardır. Dokuların alüminyumdan arındırılma sürecinde de alüminyumun en geç sindirim bezinden elimine edilebildiğini belirtmişlerdir.

Klobucar ve ark. (1997), pentaklorofenolün kronik ve sub-kronik konsantrasyonlarının *Planorbarius corneus*'un sindirim bezi üzerinde neden olduğu lipid peroxidasyonu ve histopatolojik değişiklikleri göstermeye çalışmışlardır. Çalışma sonucunda pentaklorofenolün, sindirim bezinde histopatolojik değişikliklere neden olduğunu ve lipid peroxidasyonunu indüklediğini belirtmişlerdir.

Lam ve ark. (1997), *Brotia hainanensis* (Gastropoda: Prosobranchia: Thiaridae)

türünde ayak ve iç organlarda farklı kadmiyum konsantrasyonunun oluşturduğu etkileri ve bunun kadmiyumsuz suya transferi sırasındaki değişimleri incelemişlerdir. Yüksek kadmiyum verilmesinin akut mortalite ile sonuçlanmadığını ve bunun metal toksikantların etkili bir şekilde detoksifiye edilmesine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Pyatt ve ark. (1997), kirlenmemiş bir çevreden toplanan *L. stagnalis* örneklerinin farklı vücut dokularında çeşitli metallerin konsantrasyonlarını, elektron prob X-ray mikro analiz yöntemiyle ölçmüşlerdir. Bakır, manganez ve titanyum gibi ağır metallerin, alınan su örneklerinde tespit edilmemesine karşın *L. stagnalis*'in bütün dokularında saptanması, biyoakümülyasyon olduğunu göstermiştir. Manganez ve bakırın en yüksek konsantrasyonları kabuk bölgesinde, titanyumun ise en yüksek konsantrasyonunun baş ve ayak bölgesinde olduğu tespit etmişlerdir. Aynı örneklere üç hafta boyunca Pb (kurşun) verilerek kurşunun da hangi dokularda ne derece biriktiğini tartışmışlardır.

Gomot (1998), Cd'un 0, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg litre⁻¹'lik konsantrasyonlarına maruz bırakılan *L. stagnalis* örnekleri üzerinde çalışmıştır. Çok toksik olan bu metalin üremenin çeşitli evreleri (yumurta kütlelerinin miktarı, yumurta sayısı, embriyo gelişimi ve yumurtadan çıkma) üzerine olan etkilerini ele almıştır. 20 °C sıcaklıkta, 200 µg litre⁻¹'lik konsantrasyon ile yumurtadan çıkmanın %0.4'e düştüğünü, ve 400 µg litre⁻¹'lik konsantrasyon ile yumurta üretiminin kesildiğini tespit etmiştir. Embriyo gelişiminin en hassas evre olduğunu ve Cd⁺² konsantrasyonuna bağlı olarak anomalilerin gözlemlendiğini saptamıştır. Çalışılan en yüksek konsantrasyonda (400 µg litre⁻¹) yumurtalar ilk çatlama evresinde bloke edilmiştir. 25 ile 100µg litre⁻¹'lik konsantrasyonlara kadar, gelişim yavaşlamış ve yumurtadan çıkma, kontrol grubundan 5-15 gün sonra gerçekleşmiştir (kontrol grubu 12-13 günde yumurtadan çıkmıştır). Elde edilen sonuçlar, *L. stagnalis*'te üreme ve gelişim üzerine Cd⁺² un etkilerini göstermiş ve

etkilenen hedefler (embriyonun organogenezi ve hücre çoğalması veya yumurta oluşumunun nöroendokrin kontrolü) hakkında bilgi elde edilmesini sağlamıştır. Sonuç olarak, türün kadmiyum ile kirlenmiş bir çevrede hayatta kalma olasılığını tahmin etmek ve bunu diğer kirleticilerin etkileriyle karşılaştırmanın mümkün olabileceğini belirtmiştir.

Kalay ve Karataş (1999), *Tilapia nilotica*'nın kas, beyin ve kemik dokularındaki kadmiyum birikim düzeyini incelemiştir. Kas, beyin ve kemik dokularındaki kadmiyum birikim düzeyi Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülmüştür. Beyin ve kemik dokularındaki kadmiyum derişimi artan ortam derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak istatistiksel olarak ayırım gösterecek düzeyde artış gösterirken, kas dokusu kadmiyum düzeyi, ortamdaki kadmiyum derişimine ve deney süresine bağlı olarak istatistiksel olarak ayırım gösterecek düzeyde artmamıştır. İncelenen dokularda biriken toplam kadmiyum miktarının %16'sının kas dokusunda, %36'sının kemik dokusunda, %48'inin ise beyin dokusunda olduğu saptanmıştır.

Kargın ve Çoğun (1999), *Tilapia nilotica*'nın karaciğer, solungaç ve kas dokusunda, kadmiyum ve çinkonun akümüasyonu ile eliminasyonu üzerine metal etkileşimlerinin etkilerini belirlemeye çalışmışlardır.

Yıldırım (1999), Türkiye'de gözlenen *Prosobranchia* (Gastropoda: Mollusca) türlerini derleyerek söz konusu türlerin zoocoğrafik yayılışlarına ilişkin önemli bilgiler sunmuştur.

Bhavan ve Geraldine (2000), tatlı su karideslerini 21 günlük süre boyunca endosülfanın subletal dozlarına maruz bırakarak, solungaç ve hepatopankreaslarında meydana gelen değişiklikleri ışık mikroskobuyla incelemişler, hepatopankreas ve solungaçlarda çeşitli tahribatların olduğunu gözlemlemişlerdir.

Elangovan ve ark (2000), *L. stagnalis*'i yüksek konsantrasyonda alüminyum içeren nötr pH'ya sahip suda 30 gün muameleye tabi tutarak 20 günlük iyileşme periyodundan sonra örneklerin sindirim bezini elektron mikroskobu ile incelemişlerdir. Alüminyumun sindirim bezindeki hücrelerin sarı ve yeşil renkli granüllerinde lokalize olduğunu tespit etmişlerdir. Alüminyuma maruz kalan salyangozların sindirim bezindeki granül sayısının kontrollere göre ardışık bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kammenga ve ark. (2000), çalışmalarında toprakta yaşayan bir dizi organizmada stres belirteçlerinin analizi için yöntemler geliştirmeye çalışmışlardır. Söz konusu araştırmacılar, histolojik ve ultrastrüktürel işaretleri, metalotiyoneinleri ve metal bağlayıcı proteinler gibi omurgasızlardaki biyomarkırları tartışarak salyangozlarda kadmiyumun uzun bir süre sindirim bezinde birikebildiğini belirtmişlerdir.

Zyadah ve Abdel-Baky (2000), bakır, çinko ve kadmiyumun bazı sucul organizmalardaki toksisitesini ölçmüşler ve balıklardaki birikim oranını belirlemeye çalışmışlardır. Bununla birlikte çalıştıkları her tür için LC₅₀ değerlerini belirleyerek her türün toplam mortalite oranlarını saptamışlardır.

Ghosal ve Kaviraj (2002), sucul organizmalarda kadmiyumun ve kompost gübre etkileşiminin toksisitesini değerlendirmek için laboratuvar şartlarında sazan yavruları (*Cyprinus carpio*), *Copepod (Diaptomus forbesi)* ve Oligoket (*Branchiura sowerbyi*) örnekleri üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada farklı miktarda gübre kompostlarına maruz bırakılan gruplarda LC₅₀ değerinde meydana gelen değişimleri inceleyerek *Copepod* ve sazan yavrularında LC₅₀ değerinin düştüğünü, Oligoketlerde ise yükseldiğini saptamışlardır.

Abdallah ve Moustafa (2002), ağır metal kirliliğini izlemede kullanılan türlerden olan deniz salyangozu *Nerita saxtilis*'te kurşun ve kadmiyumun farklı dokulardaki birikimini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar kurşun ve kadmiyumun birikim

özellikleri açısından farklılık gösterdiğini belirterek, kurşun için birikim sıralamasının sindirim bezi >ayak> kabuk şeklinde, kadmiyum için ise sindirim bezi>kabuk>ayak şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, söz konusu türün sindirim bezinin ağır metal biriktirme kapasitesinin fazla olmasına rağmen herhangi bir histopatolojik değişikliğin olmadığını saptamışlardır.

Marigomez ve ark. (2002), yumuşakçalarda, metal alınımının kolaylaştırılmış difüzyon, aktif taşıma veya endositoz ile olabileceği ve bunun metalotiyoneinlerin senteziyle veya mineralli granül oluşumuyla kolaylaştırılabileceğini belirtmişlerdir. Sucul yumuşakçalarda, metallerin metalotiyoneinlere bağlı olarak bulunduğu solungaçların çözülmüş metal alınımı için önemli bir aracı oluşturduğunu, ancak metal alınımının ağırlıklı olarak endositozla sindirim yolu ile olduğunu belirtmişlerdir. Alınan metaller önce lizozomlara, daha sonra da organlara, özellikle sindirim bezinin sindirim hücrelerine aktarılır. Ayrıca, metaller seçilen belirli hücre türlerinde de biriktirilebilir. Ligand olarak bağlayıcılık hücreden hücreye değiştiği için, farklı metallerin farklı hücre tiplerinde muhafaza edilebileceğini saptamışlardır. Aynı araştırmacılar, yumuşakçaların hedef hücrelerindeki metal seviyesinin mikroskopik tekniklerle değerlendirilmesinin umut verici uygulamalarla çevresel izleme programları için bir biyomarker olarak erken uyarı önlemi sağlayabileceğini de ifade etmişlerdir.

Coeurdassier ve ark. (2003), laboratuvar şartlarında iki göl salyangozunun (*L. palustris* ve *L. stagnalis*) yaşam döngüsü üzerine kadmiyumun toksik etkilerini ve biyokonsantrasyonunu çalışmışlardır. *L. stagnalis*'te gelişim için EC₅₀ değeri 142 µg l⁻¹ olarak belirlenmiştir. Kadmiyumun embriyo gelişimini bloke etmesinden dolayı fertilitenin olumsuz etkilendiğini tespit etmişlerdir.

Fleeger ve ark. (2003), kontaminantların sucul sistemler üzerine olan dolaylı etkileri konusunda bir derleme yapmışlardır. Subletal ve letal dozların farklı

organizmalar üzerine olan farklı etkilerini değerlendirmişlerdir.

Leung ve ark. (2003), sucul kaynaklı kadmiyumun farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *L. stagnalis*'te, metalotiyonein ve ağır metal konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir. Araştırmacılar yüksek konsantrasyonda kadmiyuma maruz kalan *L. stagnalis*'te metalotiyoneinlerin indüklendiğini ve dokularda Cr ve Ni konsantrasyonlarının önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, yüksek kadmiyum yoğunluğuna maruz kalmanın dokulardaki eser elementlerin yoğunluğunu arttırabileceğini de belirtmişlerdir.

Coeurdassier ve ark. (2004), belirli şartlarda haftalarca artan Cd konsantrasyonuna maruz kalan *L. stagnalis* ve *L. palustris*'in hayat döngüsü ve hayatta kalma yüzdesi üzerine Cd'un etkilerini ve biyokonsantrasyonunu çalışmışlardır. *L. stagnalis*'in farklı evreleri üzerine kadmiyumun akut toksisitesine ilişkin önemli bilgiler vererek LC₅₀ değerlerini belirlemişlerdir.

Otludil ve ark. (2004), Türkiye'de yaygın olarak yayılış gösteren *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata)'un sindirim bezi, ayak ve manto dokuları üzerine endosülfanın neden olduğu histopatolojik etkileri belirlemeye çalışmışlardır. Salyangoz örnekleri endosülfanın iki subletal dozuna (0.4 ve 0.8 mg / l) 10, 20 ve 30 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Endosülfanın konsantrasyonlarına ve maruz kalma süresine bakılmaksızın, salyangozun hepatopankreas, ayak ve manto dokularında önemli histopatolojik değişikliklere neden olduğunu belirterek, sonuçları diğer sucul organizmalarla karşılaştırmışlardır.

Yıldırım (2004), Eğirdir Gölü'nde yayılış gösteren salyangoz türlerini ve yayılış özelliklerini incelemiştir. Gölde Gastropoda sınıfı, Prosobranchia takımına dahil olan 5 ve Pulmonata takımına dahil olan 7 türün yayılış gösterdiğini bildirmiştir. Gölün malakofaunasına çevredeki sucul sistemlerin etkisini belirlemek amacıyla gölle

bağlantılı olan dokuz tatlı su istasyonunda yayılış gösteren salyangoz türlerini de incelemiştir. Ayrıca belirlenen türlerin ekolojik isteklerine, yayılış gösterdikleri habitatların palaeocoğrafik ve hidrocoğrafik özelliklerine bakılarak gölün trofik yapısı hakkında önemli bilgiler vermiştir.

Cengiz ve ark. (2005), laboratuvar şartlarında Thiodana maruz bırakılan tatlı su salyangozu *Galba truncatula* (Gastropoda, Pulmonata)'nın sindirim bezi, ayak ve manto dokularında meydana gelen histopatolojik değişimleri çalışmışlardır. Salyangoz örneklerini Thiodanın beş farklı subletal dozuna maruz bırakmışlardır. Salyangozlar yüksek olan iki dozda 96 saat, düşük olan üç ayrı dozda ise uzun süre (10, 20 ve 30 gün) bekletilmiştir. Thiodanın konsantrasyonlara ve maruz kalma süresine bakılmaksızın, salyangozun dokularında önemli histopatolojik değişikliklere neden olduğunu belirtmişlerdir.

Erdem ve ark. (2005), *Clarias gariepinus* türü üzerinde yaptıkları araştırmada farklı konsantrasyonlarda (0.25, 0.50 ve 1.00 ppm) kadmiyumun 30 gün süre ile solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve kas dokularında birikimini ve bunu izleyen 15, 30 ve 45 günlük dönemde bu dokularda metal atılım düzeylerini belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar, kadmiyum birikiminin kontrole oranla tüm dokularda önemli düzeyde arttığını, en fazla birikimin böbrek dokusunda olduğunu ve bunu sırasıyla karaciğer, dalak, solungaç ve kas dokularının izlediğini bildirmişlerdir. Farklı ortam derişimlerinin 30 gün etkisi sonunda belirlenen artım periyotlarında ise dalak ve karaciğer dokularında herhangi bir değişim gözlenmediğini, solungaç ve kas dokusundaki metal düzeyinde genel olarak bir azalma, böbrek dokusunda ise bir artış olduğunu belirtmişlerdir.

Snyman ve ark. (2005), bir fungusid olan bakır oksiklorid'in ($Cu_2Cl(OH)_3$) *Helix aspersa*'nın sindirim bezi hücrelerinde neden olduğu nicel değişiklikleri saptamak

için bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda bakırın, salyangozun sindirim bezinde biriktiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca sindirim bezinde, bakır birikiminin bir sonucu olarak, sindirim bezindeki epitel hücrelerinin yüksekliğinde ölçülebilir değişikliğin meydana geldiğini ve bu değişikliğin maruz kalınan doz ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Tanhan ve ark. (2005), kadmiyumun akut ve subkronik etkisine bağlı olarak, yenilebilen bir salyangoz türü olan *Babylonia areolata*'da farklı vücut kısımlarında meydana gelen histopatolojik değişimleri belirlemeye çalışmışlardır.

Ünlü ve ark. (2005), *L. stagnalis*'in sindirim bezi, ayak ve manto dokularında Thiodanın neden olduğu histopatolojik değişiklikleri belirlemeye çalışmışlardır. Salyangoz örneklerinde Thiodanın %0.36 ve %0.72'lik konsantrasyonlarına 96 saat maruz bırakıldıktan sonra, 30 günlük iyileşme periyodunda değişim olup olmadığı araştırılmıştır. Thiodanın doz ile bağlantılı olarak, çalışılan dokularda histopatolojik değişikliklere neden olduğunu tespit etmişlerdir. Thiodana maruz kaldıktan sonra salyangozun sindirim bezinde geri dönüşü olmayan nekrotik değişiklikler oluşmuştur. Bunun yanında ayağın kas fibrillerindeki dejeneratif değişiklikler, ayaktaki protein ve pigment hücreleri ile mantodaki bağ doku bileşenleri, pestisit içermeyen 30 günlük iyileşme periyodundan sonra düzelmişlerdir.

Desouky (2006), metallerin etkilerini ve detoksifikasyonlarındaki hücresel mekanizmaları aydınlatmaya çalışmıştır. Bunun için *L. stagnalis*'i 30 gün boyunca Al, Zn ve Cd'a maruz bırakmış, bu metallerin salyangoz vücudunda hangi dokulara yerleştiğini ve nasıl bir etki yaptığını belirlemeye çalışmıştır. Ağır metallerin çoğunluğunun sindirim bezinde ve böbrekte biriktiğini kaydetmiştir. Bu çalışmadaki mikroskopik incelemeler, sindirim bezi hücrelerinden metal detoksifikasyonunun dışkı yoluyla veya iç organ kütleleri arasındaki bağ dokusu aracılığıyla yapılan bazal

eksositoz ile atıldığını göstermiştir.

Ruangsomboon ve Wongrat (2006), deneysel olarak fitoplanktonları da içine alacak şekilde, sucul organizmalarda kadmiyumun birikimi üzerine çalışmışlardır. Sonuçlar sudaki kadmiyum ölçüm değerlerinin, ortamda olan ve insan besini olarak kullanılan canlılardaki kadmiyum değerlerini yansıtmadığını göstermişlerdir.

Yıldırım ve ark. (2006), Türkiye'nin tatlı sularında yayılış gösteren Basommatophora alttakımına dahil 5 familyaya ait 28 tür tespit etmişlerdir. *L. stagnalis* türünün Ege, Akdeniz, İç Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde dağılış gösterdiğini saptamışlardır.

Koşal Şahin ve Yıldırım (2007), Sapanca Gölü'nün Molluska faunasını belirleyerek türleri etkileyen bazı fiziko-kimyasal parametreleri sunmuşlardır. Söz konusu alanda *L. stagnalis* dahil 12 Gastropod türü ve 4 Bivalvia türü olmak üzere 16 türün yayılış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Zaldibar ve ark. (2007), sülüklerde metal ve organik kirleticilere maruz kalmanın sindirim bezi hücrelerinde hücre kayıplarına neden olduğunu ve bu kayıpların ne ölçüde biyomarkırları etkilediğini ve geri dönüşümün olup olmadığını belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmaları sonucunda, laboratuvar şartlarında hücre tipi kompozisyon değişikliklerinin geri dönüşümlü olduğunu, ancak doğal ortamda hayvanların kronik olarak yaşamları boyunca ağır metallere maruz kalabileceklerini, bu yüzden de geri dönüşümün olup olmadığının test edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Burger (2008), farklı canlı grupları üzerinde kadmiyumun etkilerini araştırarak, kadmiyumun doğal yaşam açısından rolünün belirlenmesi ve buna ilişkin stratejilerin nasıl geliştirilmesi gerektiği konusunda önemli bilgiler sunmuştur.

Golovanova (2008), ağır metallerin balıklar ve sucul omurgasızların fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkilerini araştırmıştır. Balıklar ve su

omurgasızları için ağır metallerin alımı ve detoksifikasyon mekanizmaları üzerinde çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlerin rol oynadığını belirtmiştir.

Kalyoncu ve ark. (2008), çeşitli su kalitesi parametreleri ve sucul gastropodların dağılımı arasındaki ilişkiyi inceleyerek fiziko-kimyasal değişimlerin sucul gastropodların gelişimini ve dağılımlarını etkilediğini tespit etmişlerdir.

Mebane ve ark. (2008), *Oncorhynchus mykiss* türünü Cd, Pb ve Zn'ya maruz bırakarak, soğuk akarsu sistemi ile ilişkili olarak gelişen akut ve kronik toksisite oranlarını belirlemeye çalışmışlardır.

Michalik-Kucharz (2008), endüstrileşmiş bölgelerde (Polonya) tatlı su salyangozlarının varlığı ve dağılımlarına yönelik çalışma yapmıştır. Dağılım ile çevresel faktörler arasındaki ilişkiyi inceleyerek, çalışma sonucunda baraj rezervuar alanlarının ve eski nehir yataklarının gastropodlar tarafından tercih edildiğini, bunun yanında balık havuzları, madencilik çöküntü havuzları ve kil ocaklarının tercih edilmediğini belirtmişlerdir.

Strong ve ark. (2008), gastropoda çeşitliliği açısından yeryüzündeki hotspotları belirterek dünyanın tatlı su salyangoz faunasının başta habitat kaybı olmak üzere çeşitli tehditlerle karşı karşıya olduğunu bildirmişlerdir.

Zaldibar ve ark. (2008), kronik metal kirliliğine maruz kalan sülüklerin sindirim bezi hücrelerinde meydana gelen değişimlerin dönüşümlü olup olmadığını ve meydana gelen değişimlerin metal birikim parametrelerini nasıl etkilediğini ve farklı hücre ve doku biyomarkırlarındaki etkilerini araştırmışlardır.

Gopal ve ark. (2009), *Cirrhinus mrigala* türünün bazı organları üzerine (solungaç, böbrek, karaciğer ve kas doku) nikel klorürün etkisini araştırmışlar ve CaNa₂ EDTA'nın bir antidot olarak nasıl bir etki gösterdiğini belirlemeye çalışmışlardır. Nikel klorür ile muamele edilen dokuların total protein içeriğinde, glutatyon, glutatyon

peroksidaz ve lipid peroksidasyonun azalmış olduğunu gözlemişlerdir. Bu değerlerin, CaNa_2 EDTA'nın bir antidot olarak uygulanmasından sonra normal değerlere yakın seviyelere döndüğünü belirlemişlerdir. Histopatolojik olarak da CaNa_2 EDTA'nın kelatör olarak nikelin toksisitesinde azalmaya neden olduğunu, patolojik hasarda azalmaya neden olarak organların normal görünümüne yakın bir görünüme sahip olmalarını sağlayarak katkı sağladığını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Türün Tanımı

Lymnaeidae familyası Pulmonata ordosu ve Basomtophora subordosuna dahil, akciğerli tatlı su salyangozlarını içine alan, yumuşakçalara ait taksonomik bir gruptur (Kruglov ve Starobogatov, 1993). Genel sınıflandırılması;

Regnum (Alem)	: Animale (Hayvanlar alemi)
Phylum (Şube)	: Mollusca (Yumuşakçalar)
Clasis (Sınıf)	: Gastropoda (Salyangozlar ve sümüklü böcekler)
Ordo (Takım)	: Pulmonata
Subordo (Alttakım)	: Basommatophora
Familia (Aile)	: <i>Lymnaeidae</i>
Genus (Cins)	: <i>Lymnaea</i>
Tür	: <i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)

L. stagnalis, toksik maddelerin ve ağır metallerin fizyolojik süreçler üzerine olan etkilerinin araştırılmasında, geniş bir coğrafik dağılıma sahip olması (Desouky, 2006) ve ağır metal birikim kapasitesiyle uygun bir indikatör türdür (Coeurdassier et ark., 2003; Salanki ve ark., 2003, Desouky, 2006).



Resim 1. *L. Stagnalis*'de kabuğun dorsalden ve ventralden görünüşü.

Solunum, pneumostomun kasılıp gevşemesiyle (açılıp kapanması hareketiyle), oksijenli havanın akciğere dolması şeklinde gerçekleştirilir. Bunlarda deri solunumu da önemli bir yer tutar, fakat suyun içerdiği oksijen miktarına bağlı olarak değişir. Hareket, esas olarak ayak tabanındaki siller ve kaslarla gerçekleştirilir.

L. stagnalis örneklerinde eş zamanlı hermafroditlik görülmektedir, bireylerden biri erkek diğeri ise dişi rolü üstlenir. Genellikle, bu cinsel roller aynı salyangoz çifti tarafından ters olarak da tekrarlanır. Yani, genellikle birbirini takip eden iki birleşme olur, birinci birleşmede erkek rolü alan salyangoz, ikinci birleşmede dişi rolünü üstlenir. Yumurtalar, jelâtinimsi yumurta kapsülleri halinde bırakılır ve her birinde 100 veya daha fazla yumurta bulunur. Sulardaki yüzen bitkisel materyal başta olmak üzere yosun ve artık bitkisel materyaller ile beslenirler.

3.2. Örneklerin Toplanması ve Laboratuara getirilmesi

L. stagnalis örnekleri Eğirdir Gölü'nün kıyıya yakın sığ bölgelerindeki bitkilerin ve sazlıkların üzerinden bir kepçe yardımı ile toplanarak laboratuara getirilmiştir. Toplanan örnekler gölün suyu ile yarıya kadar doldurulmuş ve havalandırma düzeneği yerleştirilmiş olan 15 litrelik plastik bidona bırakılmış, üzerine de salyangozların beslenmesi için göl kıyısındaki saz ve bitkilerden az miktarda ilave edilmiştir. Toplanan salyangozların mümkün olduğu kadar aynı büyüklükte olmasına özen gösterilmiştir.

3.3. Deney düzeneklerinin hazırlanması

D.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Araştırma laboratuvarına getirilen *L. stagnalis* örnekleri, buradaki iklim odasında önceki günden hazırlanmış olan ve içerisinde dinlendirilmiş musluk suyu ve havalandırma düzeneği bulunan akvaryuma yerleştirilmiştir. Salyangozlar düzeneğe yerleştirildikten sonra beslenmeleri için yıkanmış marul yaprakları akvaryuma bırakılmıştır. Adaptasyon ve test aşamalarında iklim odası termostatlı klima ile 22 ± 1 °C sabit sıcaklıkta tutulmuştur.

15 günlük adaptasyon sürecinde, her gün akvaryum yüzeyindeki artık marul parçaları, kırıntıları ve salyangoz dışkıları kepçe ile temizlenerek, akvaryum suyunun yarısı boşaltılarak yerine aynı miktarda dinlendirilmiş su bırakılmıştır (Tablo 1). Bu süre zarfında, salyangozların vücudundaki ağır metal ve kirlilik unsurlarından arınmaları sağlanmıştır.

Salyangozlar 15 günlük adaptasyondan sonra, kontrol grubu ve deney grupları olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Her gruba ait 15 örnek, 2'şer litre dinlendirilmiş su içeren ve havalandırma düzeneği bulunan cam kavanozlara yerleştirilmiştir.

Tablo 1. Laboratuvar şartlarında kurulan akvaryumdaki suyun kimyasal özellikleri

Kimyasal Parametreler	Değer
pH	7,92
İletkenlik (us/cm)	353 us/cm
Kalsiyum (mg/L)	67,5mg/L
Nitrat (mg/L)	2,85 mg/L
Nitrit (mg/L)	0,23 mg/L
Klorür (mg/L)	0,15 mg/L
Demir (mg/L)	0,61 mg/L
Mangan (mg/L)	-
Bakır (mg/L)	-
Kadmiyum (mg/L)	-
Magnezyum (mg/L)	7,15 mg/L

3.4. Deneysel Çalışma

L. stagnalis örneklerinin LC₅₀ değeri 1585 µg/l olarak tespit edilmiştir (Coourdassier ve ark., 2004). Bu çalışma için seçilen subletal konsantrasyonlar 63.4 µg/l, 31.7 µg/l, 15.85 µg/l ve 7.92 µg/l (96 saatlik LC₅₀ değerinin 1/25, 1/50, 1/100 ve 1/200)'dir. *L. stagnalis* örnekleri biri kontrol grubu, diğerleri de farklı konsantrasyonlardaki Cd grupları olmak üzere 5 gruba ayrılarak kavanozlara yerleştirilmiştir.

Grup I. Kadmiyum içermeyen kontrol grubu

Grup II. Kadmiyumun 63.4 µg/l konsantrasyonuna maruz bırakılan grup

Grup III. Kadmiyumun 31.7 µg/l konsantrasyonuna maruz bırakılan grup

Grup IV. Kadmiyumun 15.85 µg/l konsantrasyonuna maruz bırakılan grup

Grup V. Kadmiyumun 7.92 µg/l konsantrasyonuna maruz bırakılan grup

Cd'un yarılanma ömrü ve buharlaşması gibi nedenlerle, test solüsyonlarının derişimlerinde zaman içerisinde değişimler olabileceği göz önüne alınarak, test

solüsyonlarının yaklaşık %50'si her gün boşaltılarak yerine aynı miktarda yeni hazırlanmış solüsyonlar ilave edilmiştir (Tablo 2). Tüm deneysel aşamalar boyunca kontrol grubuna besin dışında herhangi bir madde verilmemiştir.

Tablo 2. 1 litre su için kadmiyum konsantrasyonları.

Gruplar	I. Grup Kontrol	II. Grup 63.4µg/l	III. Grup 31.7µg/l	IV. Grup 15.85µg/l	V. Grup 7.92 µg/l
Birey sayısı	15	15	15	15	15
Cd miktarı (1 lt)	-	634 µl	317 µl	158 µl	79 µl

Farklı konsantrasyonlardaki Cd uygulaması deneysel çalışmanın 28. gününde tamamlandıktan sonra, 28 günlük EDTA uygulamasına geçildi.

Tablo 3. 1 litre sudaki EDTA konsantrasyonları.

Gruplar	I. Grup Kontrol	II. Grup 63.4 µg/l	III. Grup 31.7µg/l	IV. Grup 15.85 µg/l	V. Grup 7.92 µg/l
Birey sayısı	15	15	15	15	15
EDTA (1 lt)	-	1902 µl	951 µl	474 µl	237 µl

Tablo 4. Deney sırasında ölen salyangozlar.

Gruplar	Maruz kalınan Cd konsantrasyonu	Ölen Birey Sayıları	% Ölüm
I. Grup (n=15)	-	-	0
II. Grup (n=15)	63.4 µg/l	6	40
III. Grup (n=15)	31.7 µg/l	5	33
IV. Grup (n=15)	15.85 µg/l	3	20
V. Grup (n=15)	7.92 µg/l	3	20

EDTA'nın da yarılanma ömrü ve buharlaşması gibi nedenleri göz önüne alınarak, test solüsyonlarının yaklaşık %50'si her gün boşaltılarak yerine aynı miktarda yeni hazırlanmış solüsyonlar ilave edilmiştir (Tablo 3).

Deneysel çalışmalar sırasında, farklı konsantrasyonlara ait toplam 17 salyangoz ölmüştür (Tablo 4).

3.5. Kimyasalların Hazırlanması

Bouin Fiksatifinin Hazırlanması

Suda doymuş pikrik asit	75 ml
Formalin	25 ml
Glasiyal asetik asit	5 ml

Suda doymuş pikrik asit hazırlamak için 1 ölçü pikrik asit 86 ölçü saf suda eritilir. Fiksatif kullanılacağı zaman bu maddeler birbirine karıştırılır.

Eozin Y Solüsyonunun Hazırlanması

Eozin Y	1 gr
Saf su	100 gr

Eozin Y'nin saf su içinde çözülmesiyle hazırlanır.

Harris'in Hematoksilen Solüsyonunun Hazırlanması

Hematoksilen	1 gr
Mutlak alkol	10 ml
Potasyum şapı	20 gr
Cıva oksit	0.5 gr
Glasiyal asetik asit	8 ml

Hematoksilen, mutlak alkolde çözdürülür. Ayrıca potasyum şapı, saf suda eritilir. İki eriyik birbirine karıştırılır ve kaynama noktasına kadar ısıtılır. Karışıma cıva

oksit ilave edilir. Hızlı bir şekilde soğutulur ve filtre edilir. Soğutulduktan sonra karışıma glasiyal asetik asit ilave edilir.

Asit-Alkol Hazırlanması

%70'lik etil alkol 100ml

HCl 1 ml

%70'lik etil alkol ile HCl birbiriyle karıştırılır.

Kadmiyumun Hazırlanışı

Çalışmamızda ağır metal olarak kadmiyum kullanılmıştır.

Kadmiyum 1000 mg

Saf su 1000 ml

Kadmiyumun saf su içinde çözünmesiyle, 1000 ml stok (**STOK I**) hazırlanmıştır.

STOK I'den 10 ml

Saf su 90 ml

Daha sonra **STOK I'den**, **STOK II** hazırlanmıştır.

EDTA'nın Hazırlanışı

EDTA 1 mg

Saf su 1000 ml

3.6. Kimyasal Analiz İşlemleri

Deney düzeneğine ağır metal (Cd) ilave edilmeye başlandıktan sonra disseksiyonlar, Cd subletal dozunun 7., 14., 21., 28. ve iyileştirme periyodunun ise 14., 28. günlerinde yapılmıştır. Disseksiyondan önce örnekler, 50 mg/l MS-222 içeren çözeltiliye alınmış, 2-3 dakika içinde bayılmaları sağlanmıştır. Dissekte edilen örneklerin ayak, manto ve hepatopankreas bölgelerinden 200-250 mg ağırlığında numuneler alınmıştır. Kimyasal analiz için alınan numuneler numaralandırılıp Fen Fakültesi Kimya

Bölümü'ne ait Kimyasal Analiz Laboratuvarına götürülerek yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Yaş ağırlıkları alınan numuneler mikrodalga çözünürleştirme tüplerine bırakılarak çözünürleştirme için üzerine 6 ml Nitrik asit (HNO₃) ilave edilmiştir. Asit ilavesinden sonra, örnekler en az 20 dk. bekletilmiştir. Daha sonra numuneler mikrodalga cihazına (Berghof marka, Germany) bırakılmış ve çözünürleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Kadmiyum analizi için çözünürleştirme işlem basamakları.

Basamak	1	2	3	4
T (°C)	160	190	190	100
Ta (dk)	5	1	1	1
Time (dk)	5	5	10	10

Bu işlemden sonra fırından çıkarılan tüplerdeki kadmiyum analizi, Perkin Elmer Optima marka 2100 DV model ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi) cihazında yapılmıştır. Kadmiyum analiz dalga boyu 228.802 nm şeklindedir.

3.7. Histolojik preparatların hazırlanması

Deney düzeneğine ağır metal (Cd) ilave edilmeye başlandıktan sonra disseksiyonlar, Cd subletal dozunun 7., 14., 21., 28. ve iyileştirme periyodunun ise 15., 30. günlerinde yapılmıştır. Disseksiyondan önce örnekler, 50 mg/l MS-222 içeren çözeltiliye alınmış, 2-3 dakika içinde bayılmaları sağlanmıştır. Histopatolojik çalışmalar için dissekte edilen örneklerin ayak, manto ve hepatopankreas bölgelerinden dokular alınarak bouin fiksatif ile tespit edilmiştir. Tespitten sonra parçalar, 1 gece boyunca

akar eşme suyu altında bırakılarak fiksatifin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Dokular artan etil alkol serilerinden (%70, %80, %90, %96, %100) geçirilerek dehidre edilmiştir. Ksilolde saydamlaştırılan dokular, parafin banyolarından sonra parafin bloklara alınmıştır. Parafin bloklardan Leica marka mikrotom kullanılarak 4-5 µ kalınlığında kesitler alınmıştır.

Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra (Gurr, 1972), preparatlar entellen yardımıyla kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar Nikon marka ışık mikroskobu ile incelenerek, Coolpix 8400 marka fotoğraf makinesi ile fotoğraflanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Ayak

4.1.1.1. Kontrol Grupları: Ayak, vücudun ventralinde uzanan kaslı yapıda ve geniş tabanlı bir organdır. Hareket, ayak tabanının kaslı ve geniş yüzeyinin zeminle temas etmesi sonucu, iğ şeklindeki düz kas hücrelerinin bir araya gelmesiyle oluşan kolumnar kas fibrilleri sayesinde, sürünme şeklinde gerçekleştirilir. Suprapedal bezdeki mukosit hücrelerinden salgılanan mukus, ayağın zemine bağlanmasını sağlar. Ayak dokusunda kolumnar kas fibrilleri ve mukositler dışında protein hücreleri, pigment hücreleri, epitel hücreleri ve lipid vakuelleri de bulunur.

Deneysel çalışmada kontrol örneklerinin ayak dokuları normal görünümündedir (Resim 2).

4.1.1.2. Deney Grupları: 7., 14., 21. ve 28. günlerde ayak dokusunun farklı gruplarından (II., III., IV. ve V. gruplar) histopatolojik uygulamaların semikantitatif sonuçları Tablo 6 ve Tablo 7’de sunulmuştur. Deneyde, Cd uygulama evresinde ayak dokusunda meydana gelen lezyonlar ve EDTA ile iyileşme süreci sonundaki değişiklikler Resim 3-29’da verilmiştir. Ayaklarının 28 gün boyunca 63.4 µg/l, 31.7 µg/l, 15.85 µg/l ve 7.92 µg/l konsantrasyonlarda kadmiyuma maruz bırakılmaları sonucunda, dokularda Cd konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir.

II. grup (63.4 µg/l) salyangozların ayak dokusunda deneyin 7. gününde, epitelde deskuamasyon, mukositlerde ve lipid vakuollerinde artış, kas fibrillerinde atrofi gözlenmiştir. 14. günde kas fibrilleri daha fazla atrofiye olmuş, mukosit, pigment hücreleri, protein hücreleri ve lipid vakuelleri yoğunlaşmıştır. Epitel tabakasında

deskuamasyon ilerlemiştir. 21. ve 28. günlerinde epitel tamamen bozulmuş, kas fibrillerinde atrofi artmış, yerini bağ dokusu almıştır. Mukositler, protein hücreleri, pigment hücreleri ve lipid vakuollerinde aşırı artış olduğu gözlenmiştir (Resim 3-6).

EDTA ile iyileştirme sürecinin 14. gününde fazla bir değişiklik olmamasına rağmen, 28. gününde ayak dokularındaki kas fibrilleri artmış, mukositler, protein hücreleri ve lipid vakuolleri azalmıştır. Epitel tabakasında yeniden yapılanma saptanmıştır (Resim 7-8).

III. grup (31.7 µg/l) salyangozların ayak dokusunda, deneyin 7. ve 14. günlerinde, epitelde deskuamasyon, mukositlerde ve lipid vakuollerinde artış, kas fibrillerinde atrofi gözlenmiştir. 21. günde kas fibrilleri daha fazla atrofiye olmuş, mukosit, pigment hücreleri, protein hücreleri ve lipid vakuolleri yoğunlaşmıştır. Epitel tabakasında deskuamasyon ilerlemiştir. 28. günde epitel tamamen bozulmuş, kas fibrillerinde atrofi artmış, yerini bağ dokusu almıştır. Mukositler, protein hücreleri, pigment hücreleri ve lipid vakuollerinde aşırı artış olduğu tespit edilmiştir (Resim 9-12).

EDTA ile iyileştirme sürecinin 14. gününde fazla bir değişiklik olmamakla beraber bağ dokusu azalmış ve kas fibrilleri yoğunlaşmaya başlamıştır. Deneyin 28. gününde ayak dokularındaki kas fibrilleri artmış, mukositler, protein hücreleri ve lipid vakuolleri azalmıştır. Epitel tabakasında yeniden yapılanma gözlenmiştir (Resim 13-14).

IV. grup (15.85 µg/l) salyangozların ayak dokusunda, deneyin 7. gününde pek bir değişiklik olmamasına karşın, 14. gününde epitelde deskuamasyon oluşmaya başlamış, mukositler, protein hücreleri ve lipid vakuolleri artmıştır. 21. günde epitelde deskuamasyon artmış, kas fibrillerinin daha fazla atrofiye olduğu gözlenmiştir. 28. günde mukosit ve lipid vakuolleri aşırı yoğunlaşmış, epitel tabakasında deskuamasyon ilerlemiş, kas fibrillerinde atrofi artmıştır (Resim 15-18).

EDTA ile iyileştirme sürecinin 14. gününde kas fibrilleri yoğunlaşmaya başlamış ve epitelde yapılanma gözlenmiştir. Deneyin 28. gününde kas fibrilleri yoğunlaşmış, mukositler, protein hücreleri ve lipid vakuelleri azalmış, epitel yeniden yapılanmıştır (Resim 19-20).

V. grup (7.92 µg/l) salyangozların ayak dokusunda, deneyin 7. gününde pek değişiklik olmamasına karşın 14. günde, mukositlerde, pigment hücrelerinde ve protein hücrelerinde artış gözlenmiştir. 21. günde epitelde deskuamasyon, kas fibrillerinde atrofiye oluşmuştur. 28. günde mukosit ve lipid vakuelleri aşırı yoğunlaşmış, epitel tabakasında deskuamasyon ilerlemiş ve kas fibrillerinde atrofi artmıştır (Resim 21-24).

EDTA ile iyileştirme sürecinin 14. gününde kas fibrilleri yoğunlaşmaya başlamış ve epitelde yapılanma gözlenmiştir. Deneyin 28. gününde kas fibrilleri yoğunlaşmış, mukositler, protein hücreleri ve lipid vakuelleri azalmış, epitel yeniden yapılanmıştır (Resim 25-26).

Tablo 6. Kadmiyuma maruz kalan ayak dokularında saptanan lezyonların kalitatif değerlendirmesi.

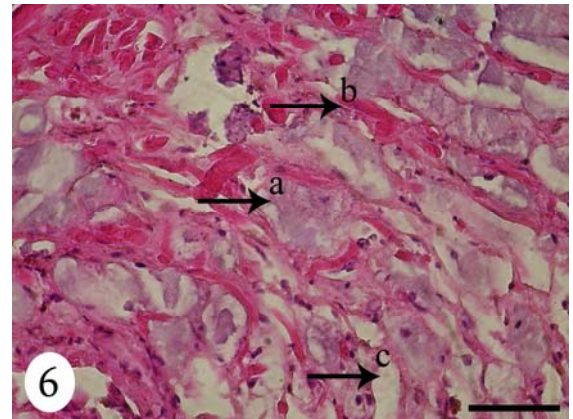
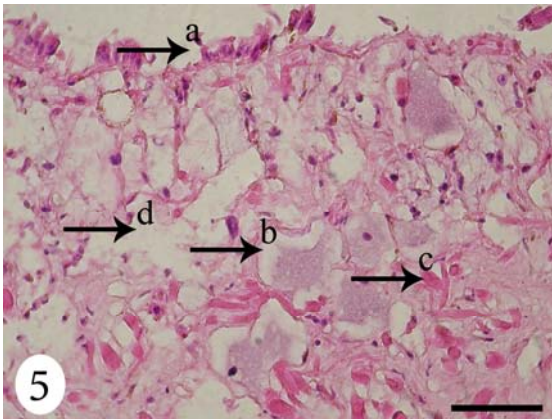
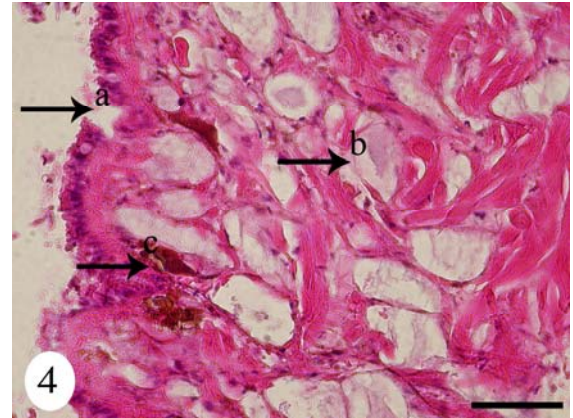
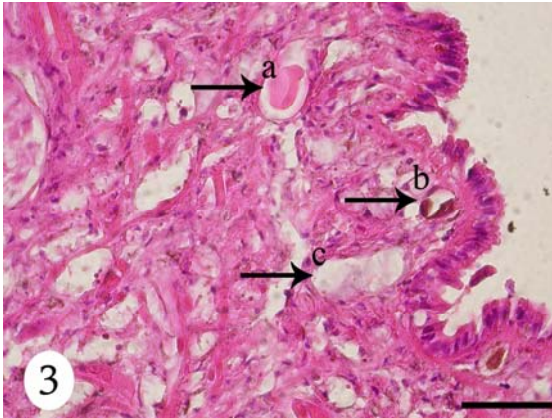
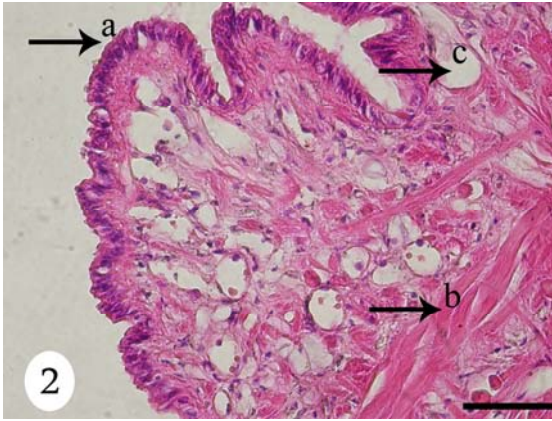
Histopatolojik Değerlendirme	Süre	Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Lipid vakuollerinde artış	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	+	+	-
	21 gün	-	++	++	+	+
	28 gün	-	+++	+++	++	++
Mukositlerde artış	7 gün	-	+	+	+	-
	14 gün	-	++	++	+	+
	21 gün	-	+++	+++	++	+
	28 gün	-	+++	++	++	++
Pigment hücrelerinde artış	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	+	+	+	+
	21 gün	-	++	++	+	+
	28 gün	-	++	++	++	+
Protein hücrelerinde artış	7 gün	-	+	+	+	-
	14 gün	-	+	++	++	+
	21 gün	-	++	++	++	+
	28 gün	-	++	++	++	+
Epitel hücrelerinde deskuamasyon	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	++	+	+
	21 gün	-	+++	++	++	++
	28 gün	-	+++	+++	+++	++
Kolumnar kas hücrelerinde atrofi	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	+	+	-
	21 gün	-	++	++	++	+
	28 gün	-	+++	+++	++	++

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık.

Tablo 7. EDTA'ya maruz kalan ayak dokularında lezyonların iyileştirilmesinin kalitatif değerlendirmesi

Histopatolojik Değerlendirme	Süre	Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Lipid vakuollerinde azalma	14 gün	-	+	+	++	+
	28 gün	-	++	++	+++	++
Mukosit sayılarında azalma	14 gün	-	+	+	++	+
	28 gün	-	+	+++	+++	+++
Pigment hücrelerinde azalma	14 gün	-	-	+	+	+
	28 gün	-	-	++	+++	++
Protein hücrelerinde azalma	14 gün	-	+	+	+	+
	28 gün	-	+	++	++	++
Epitel hücrelerinde onarılma	14 gün	-	-	+	+	+
	28 gün	-	++	++	+++	++
Kolumnar kas hücrelerinde onarılma	14 gün	-	+	+	+	++
	28 gün	-	++	++	+++	+++

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık.



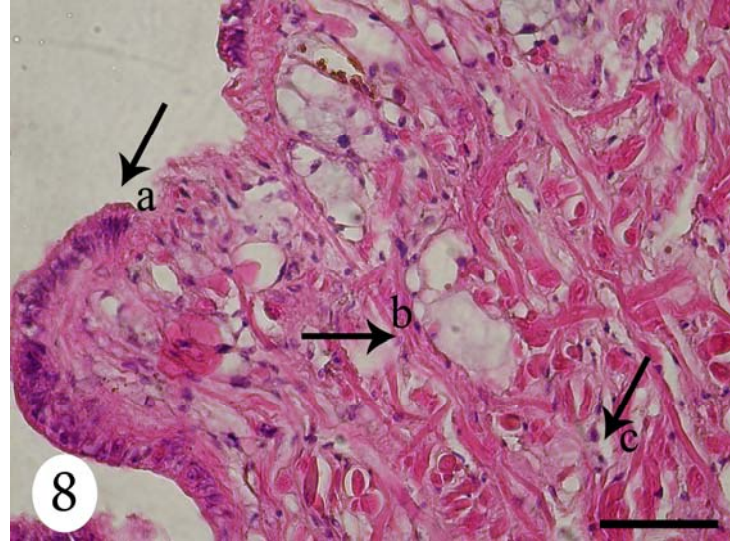
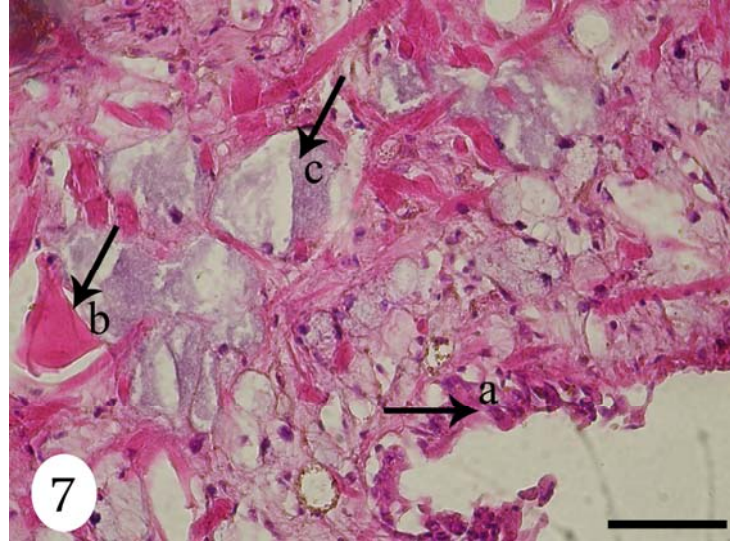
Resim 2. I. grup kontrol, a; epitel, b; kas fibrili, c; lipid vakuolü. H&E; Scale bar=20 µm.

Resim 3. II. grup (63.4 µg/l), 7. gün, a; protein hücresi, b; pigment hücresi, c; mukosit.

Resim 4. III. grup (63.4 µg/l), 14. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; mukosit, c; pigment hücresi.

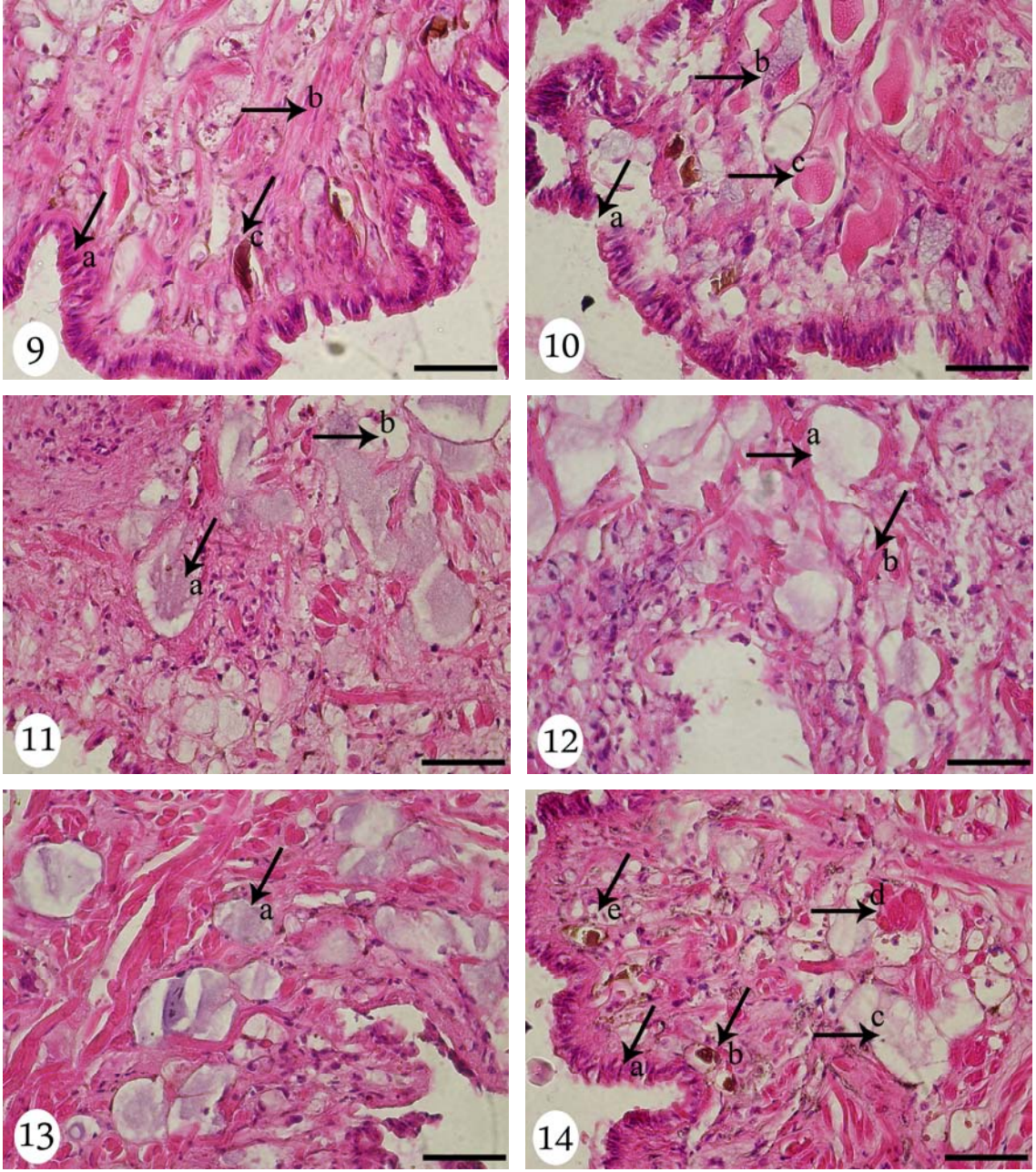
Resim 5. IV. grup (63.4 µg/l), 21. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; mukosit, c; kas atrofisi, d; nekroz.

Resim 6. V. grup (63.4 µg/l), 28. gün, a; mukosit, b; kas atrofisi, c; lipid vakuolü.



Resim 7. I. grup (EDTA), 14. gün, a; epitel, b; protein hücresi, c; mukosit. H&E; Scale bar=20 µm.

Resim 8. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; çift çekirdekli hücre.



Resim 9. II. grup (31.7 µg/l), 7. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; pigment hücresi. H&E; Scale bar=20 µm.

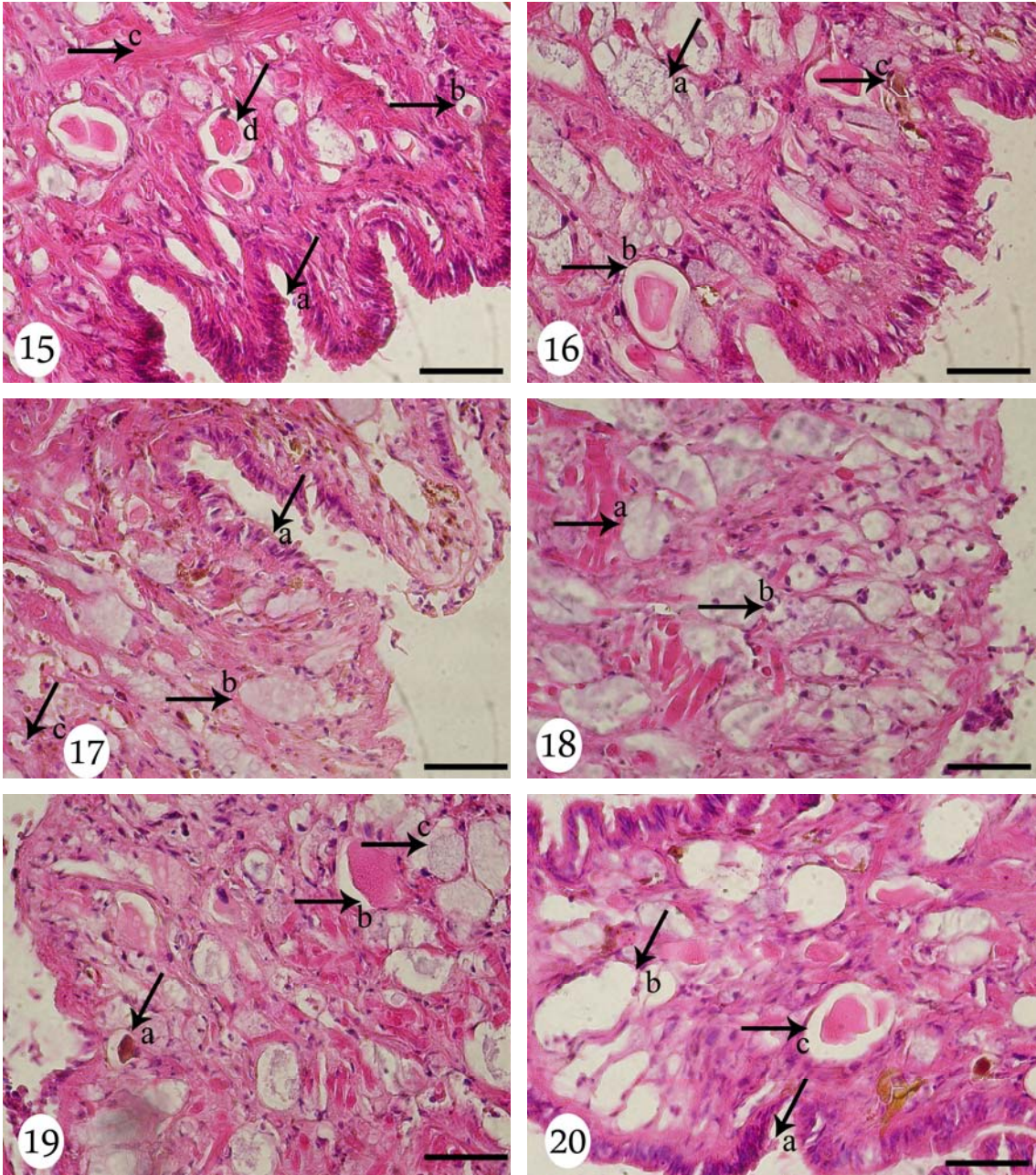
Resim 10. III. grup (31.7 µg/l), 14. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; mukosit, c; protein hücresi.

Resim 11. IV. grup (31.7 µg/l), 21. gün, a; mukosit, b; lipid vakuolü.

Resim 12. V. grup (31.7 µg/l), 28. gün, a; lipid vakuolü, b; kas atrofisi.

Resim 13. I. grup (EDTA), 14. gün, a; mukosit.

Resim 14. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; pigment h., c; lipid vakuolü, d; kas fibrili, e; çift çekirdekli hücre.



Resim 15. II. grup (15.85 µg/l), 7. gün, a; epitel, b; piknotik hücre, c; kas fibrili, d; protein hücresi.

H&E; Scale bar=20 µm.

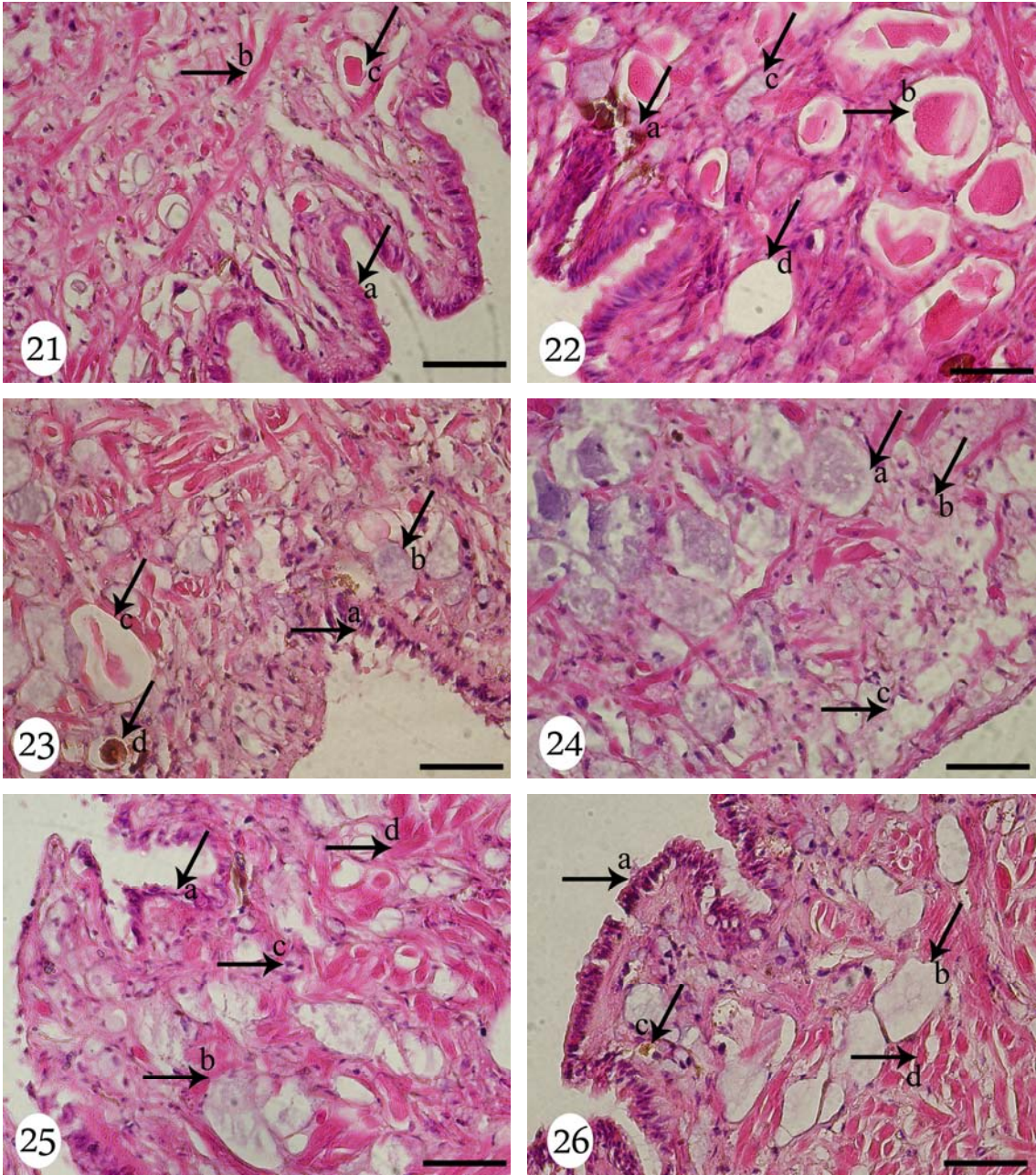
Resim 16. III. grup (15.85 µg/l), 14. gün, a; mukosit, b; protein hücresi, c; pigment hücresi.

Resim17. IV. grup (15.85 µg/l), 21. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; mukosit, c; piknotik hücre.

Resim 18. V. grup (15.85 µg/l), 28. gün, a; mukosit, b; piknotik hücre.

Resim 19. I. grup (EDTA), 14. gün, a; pigment hücresi, b; protein hücresi, c; mukosit.

Resim 20. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; lipid vakuolü, c; protein hücresi.



Resim 21. II. grup (7.92 µg/l), 7. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; protein hücresi. H&E; Scale bar=20 µm.

Resim 22. III. grup (7.92 µg/l), 14. gün, a; pigment hücresi, b; protein hücresi, c; mukosit, d; lipid vakuolü.

Resim 23. IV. grup (7.92 µg/l), 21. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; mukosit, c; protein hücresi, d; pigment hücresi.

Resim 24. V. grup (7.92 µg/l), 28. gün, a; mukosit, b; piknotik hücre, c; lipid vakuolü.

Resim 25. I. grup (EDTA), 14. gün, a; epitel, b; mukosit, c; çift çekirdekli hücre, d; kas fibrili.

Resim 26. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; lipid vakuolü, c; pigment hücresi, d; kas fibrili.

4.1.2. Manto

4.1.2.1. Kontrol Grupları: Manto pneumostom dışında kalan kabuk kenarını kuşatarak, kabuğun iç yüzeyine bağlanmaktadır. Manto yüzeyinde, çok sayıda kan damarları içeren ince ve nemli epidermal tabaka mevcuttur. Manto dokusu kolumnar kas fibrilleri, lipid vakuelleri, pigment hücreleri ve protein hücrelerinden oluşur (Resim 27).

4.1.2.2. Deney Grupları: 7., 14., 21. ve 28. günlerde manto dokusunun farklı gruplarından (II., III., IV. ve V. gruplar) histopatolojik uygulamaların semikantitatif sonuçları Tablo 8 ve Tablo 9'da sunulmuştur. Deneyde, Cd uygulama evresinde manto dokusunda meydana gelen lezyonlar ve EDTA ile iyileşme süreci sonundaki değişiklikler Resim 28-51'de verilmiştir. Mantolarının 28 gün boyunca 63.4 µg/l, 31.7 µg/l, 15.85 µg/l ve 7.92 µg/l konsantrasyonlarda kadmiyuma maruz kalmaları sonucunda dokularda, Cd konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir.

II. grup (63.4 µg/l) salyangozların manto dokusunda, deneyin 7. gününde, epitelde deskuamasyon başlamış, lipid vakuellerinde artış, kas fibrillerinde atrofi gözlenmiştir. 14. günde kas fibrilleri daha fazla atrofiye olmuş ve lipid vakuelleri yoğunlaşmış, epitel tabakasında deskuamasyonun ilerlediği saptanmıştır. 21. ve 28. günlerde epitel tamamen bozulmuş, kas fibrillerinde atrofi ilerlemiş, bağ dokusu hücrelerinde ve lipid vakuellerinde aşırı artış olduğu gözlenmiştir (Resim 28-31).

EDTA ile iyileşme sürecinde, iyileştirmenin 14. gününde fazla bir değişiklik olmamasına rağmen, 28. gününde manto dokusunda kas fibrilleri artmış, lipid vakuelleri ve bağ doku hücreleri azalmış, epitel tabakasında yeniden yapılanma saptanmıştır (Resim 32,33).

III. grup (31.7 µg/l) salyangozların manto dokusunda, deneyin 7. ve 14. günlerinde, epitelde deskuamasyon, lipid vakuollerinde artış ve kas fibrillerinde atrofiye gözlenmiştir. 21. günde epitel tabakasında deskuamasyon ve lipid vakuollerinde yoğunlaşma saptanmıştır. 28. günde ise epitelin tamamen bozulduğu, kas fibrillerinin atrofiye olduğu ve yerini bağ dokusunun aldığı tespit edilmiştir (Resim 34-37).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde fazla bir değişiklik olmamakla beraber epitel hücrelerinin oluşmaya başladığı saptanmıştır. Deneyin 28. gününde manto dokusunda kas fibrilleri artmış, lipid vakuolleri azalmış, epitel tabakasında yeniden yapılanma gözlenmiştir (Resim 38,39).

IV. grup (15.85 µg/l) salyangozların manto dokusunda, deneyin 7. gününde pek bir değişiklik olmamasına karşın, 14. gününde epitelde deskuamasyon oluşmaya başlamış, lipid vakuolleri artmış ve kas fibrillerinde atrofi gözlenmiştir. 21. günde epitelde deskuamasyon artmış, lipid vakuollerinin ve bağ dokunun arttığı tespit edilmiştir. 28. günde lipid vakuolleri aşırı yoğunlaşmış, epitel tabakasında deskuamasyon ilerlemiştir (Resim 40-43).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde kas fibrillerinin yoğunlaştığı, lipid vakuollerinin ise azaldığı gözlenmiştir. Deneyin 28. gününde kas fibrillerinde yoğunlaşma artmış, lipid vakuolleri azalmış, epitel yeniden yapılanmıştır (Resim 44,45).

V. grup (7.92 µg/l) salyangozların manto dokusunda, deneyin 7. ve 14. günlerinde pek değişiklik olmamasına karşın 21. günde epitelde deskuamasyon, kas fibrillerinde atrofi oluşmuştur. 28. günde lipid vakuolleri aşırı yoğunlaşmış, epitel tabakasında deskuamasyon ilerlemiş ve kas fibrillerinde atrofinin ilerlediği saptanmıştır (Resim 46-49).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde bağ doku hücrelerinin azaldığı, epitelde yapılanma olduğu gözlenmiştir. Deneyin 28. gününde kas fibrilleri yoğunlaşmış, lipid vakuelleri azalmış, epitel yeniden yapılanmıştır (Resim 50, 51).

Tablo 8. Kadmiyuma maruz kalan manto dokularında saptanan lezyonların kalitatif değerlendirmesi.

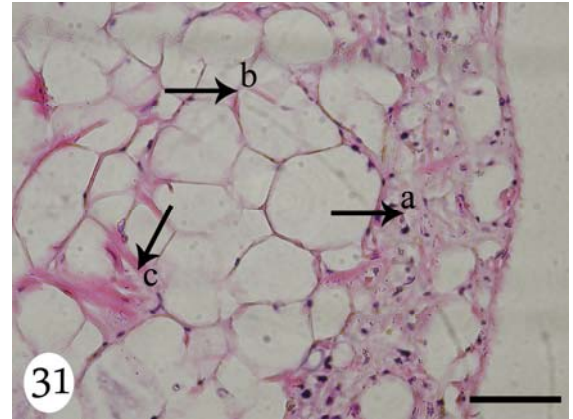
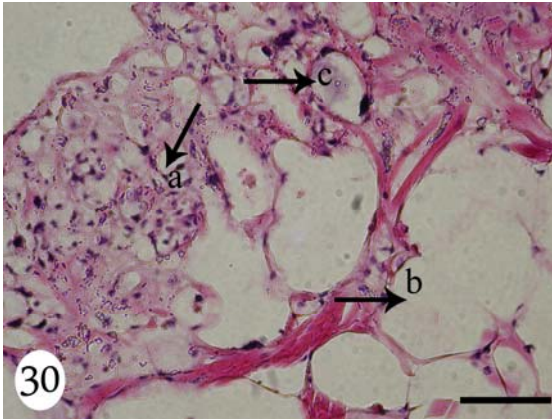
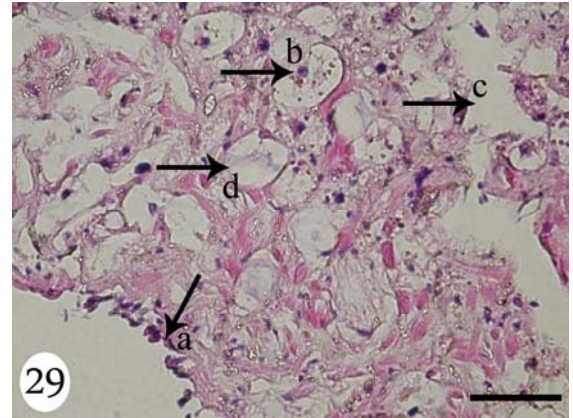
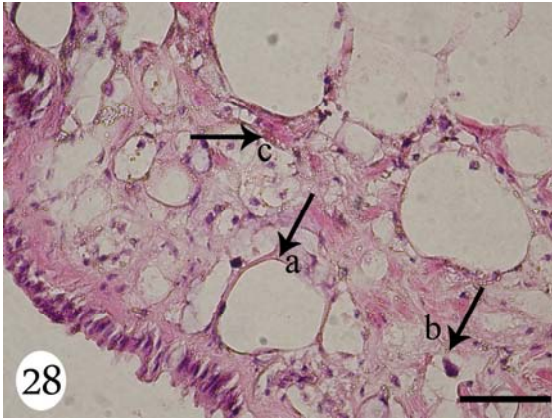
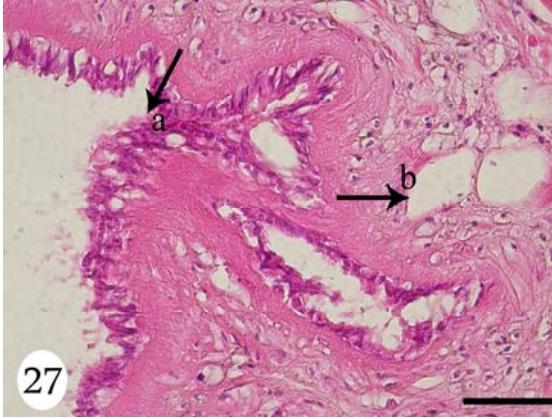
Histolojik Değerlendirme	Süre	Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Lipid vakuellerinde artış	7 gün	-	+	+	+	-
	14 gün	-	++	++	+	+
	21 gün	-	+++	++	++	++
	28 gün	-	+++	+++	+++	++
Bağ dokusu hücrelerinde artış	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	+	+	+
	21 gün	-	+++	++	++	++
	28 gün	-	+++	+++	++	++
Epitel hücrelerinde deskuamasyon	7 gün	-	+	+	+	+
	14 gün	-	++	++	+	+
	21 gün	-	+++	++	++	++
	28 gün	-	+++	+++	+++	++
Kolumnar kas hücrelerinde atrofi	7 gün	-	+	+	+	+
	14 gün	-	++	+	+	+
	21 gün	-	++	++	++	++
	28 gün	-	+++	+++	++	++
Piknotik hücre	7 gün	-	+	+	+	+
	14 gün	-	+	+	+	+
	21 gün	-	++	++	++	++
	28 gün	-	++	++	++	++

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık.

Tablo 9. EDTA'ya maruz kalan manto dokularında lezyonların iyileştirilmesinin kalitatif değerlendirmesi.

Histopatolojik Değerlendirme	Süre	Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Lipid vakuollerinde azalma	14 gün	-	-	+	+	+
	28 gün	-	++	++	++	++
Bağ dokusu hücrelerinde azalma	14 gün	-	+	+	+	+
	28 gün	-	++	++	++	++
Epitel hücrelerinde onarılma	14 gün	-	-	-	+	+
	28 gün	-	++	+	++	++
Kolumnar kas hücrelerinde onarılma	14 gün	-	-	-	+	+
	28 gün	-	+	+	++	++
Çift çekirdekli hücre	14 gün	-	+	+	+	+
	28 gün	-	++	++	++	+

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık.



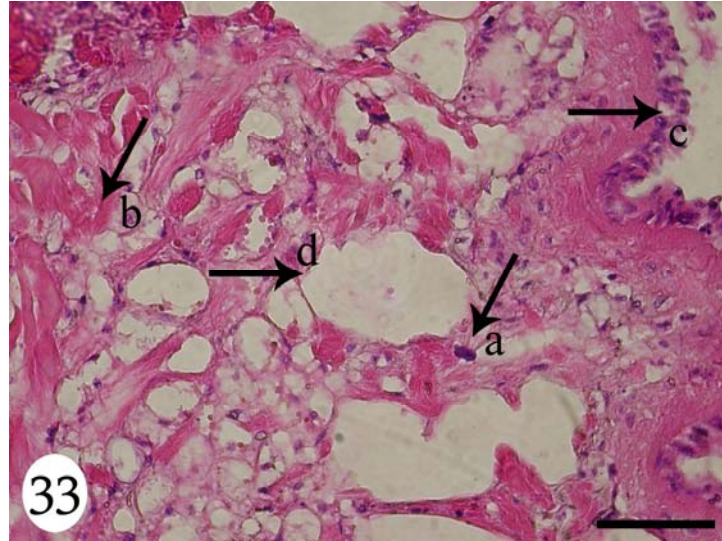
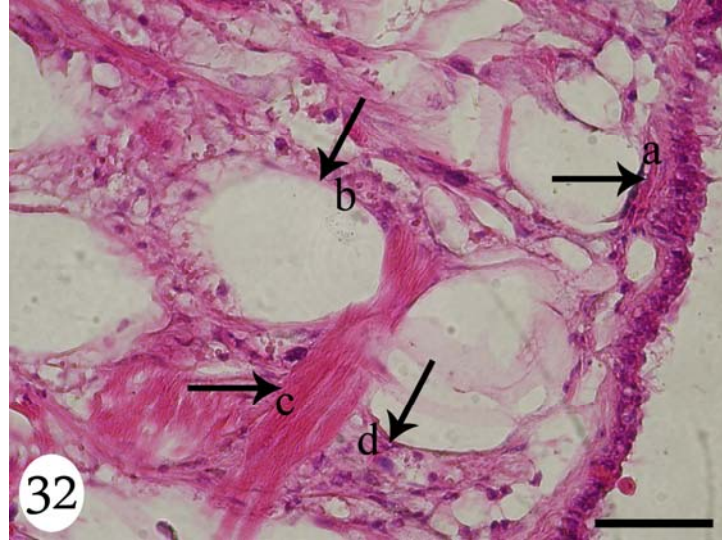
Resim 27. I. grup kontrol, a; epitel, b; lipid vakuolü. H&E; Scale bar=20 µm.

Resim 28. II. grup (63.4 µg/l), 7. gün, a; lipid vakuolü, b; piknotik hücre, c; kas atrofisi.

Resim 29. III. grup (63.4 µg/l), 14. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; piknotik hücre, c; nekroz, d; lipid vakuolü.

Resim 30. IV. grup (63.4 µg/l), 21. gün, a; bağ doku hücreleri, b; lipid vakuolü, c; mukosit.

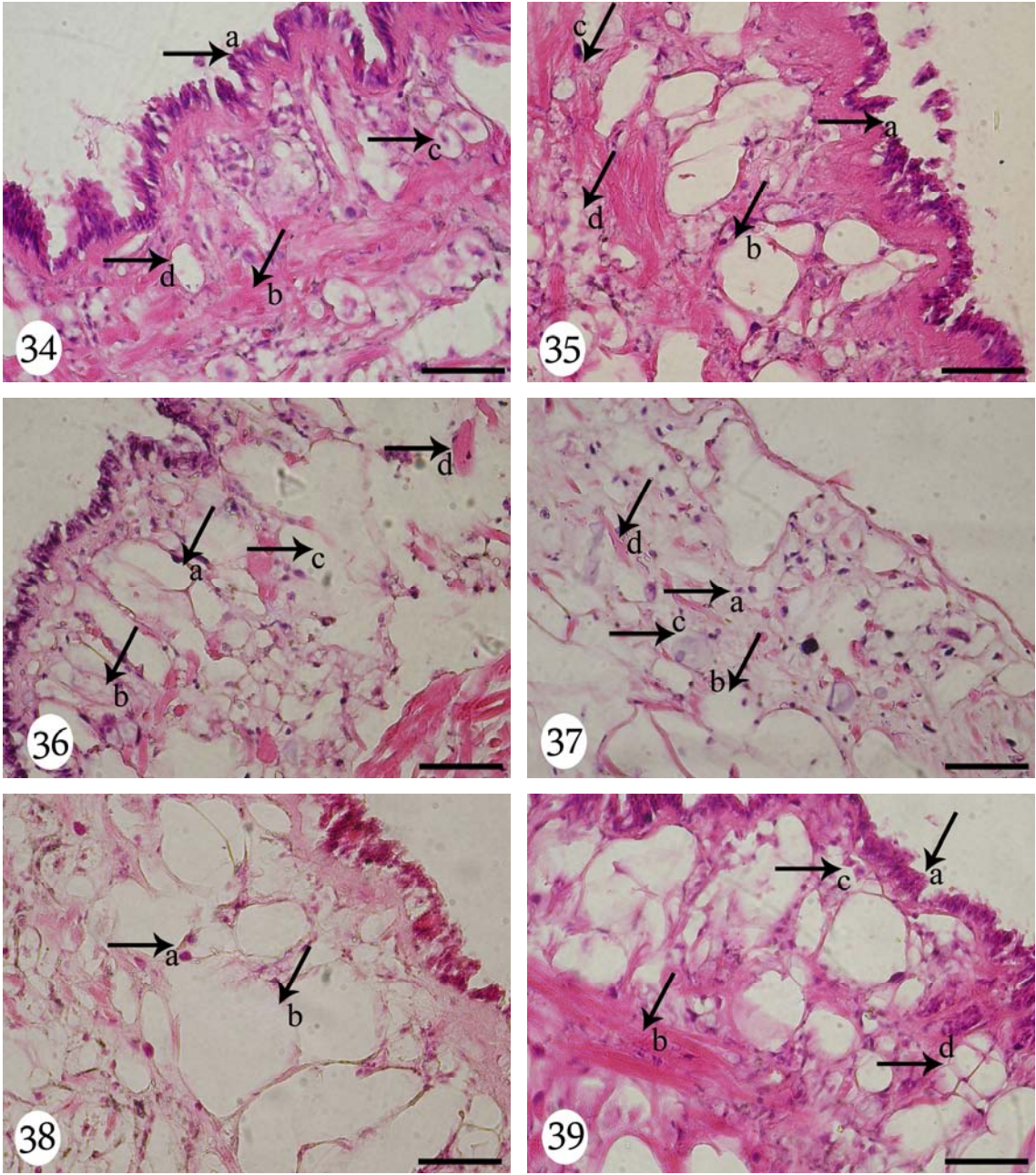
Resim 31. V. grup (63.4 µg/l), 28. gün, a; bağ doku hücreleri, b; lipid vakuolü, c; kas atrofisi.



Resim 32. I. grup (EDTA), 14. gün, a; epitel, b; lipid vakuolü, c; kas fibrili, d; bağ doku hücreleri. H&E;

Scale bar=20 μ m.

Resim 33. II. grup (EDTA), 24. gün, a; pigment hücresi, b; kas fibrili, c; epitel, d; lipid vakuolü.



Resim 34. II. grup (31.7 µg/l), 7. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; piknotik hücre, d; lipid vakuolü. H&E;

Scale bar=20 µm.

Resim 35. III. grup (31.7 µg/l), 14. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; lipid vakuolü., c; pigment hücresi,

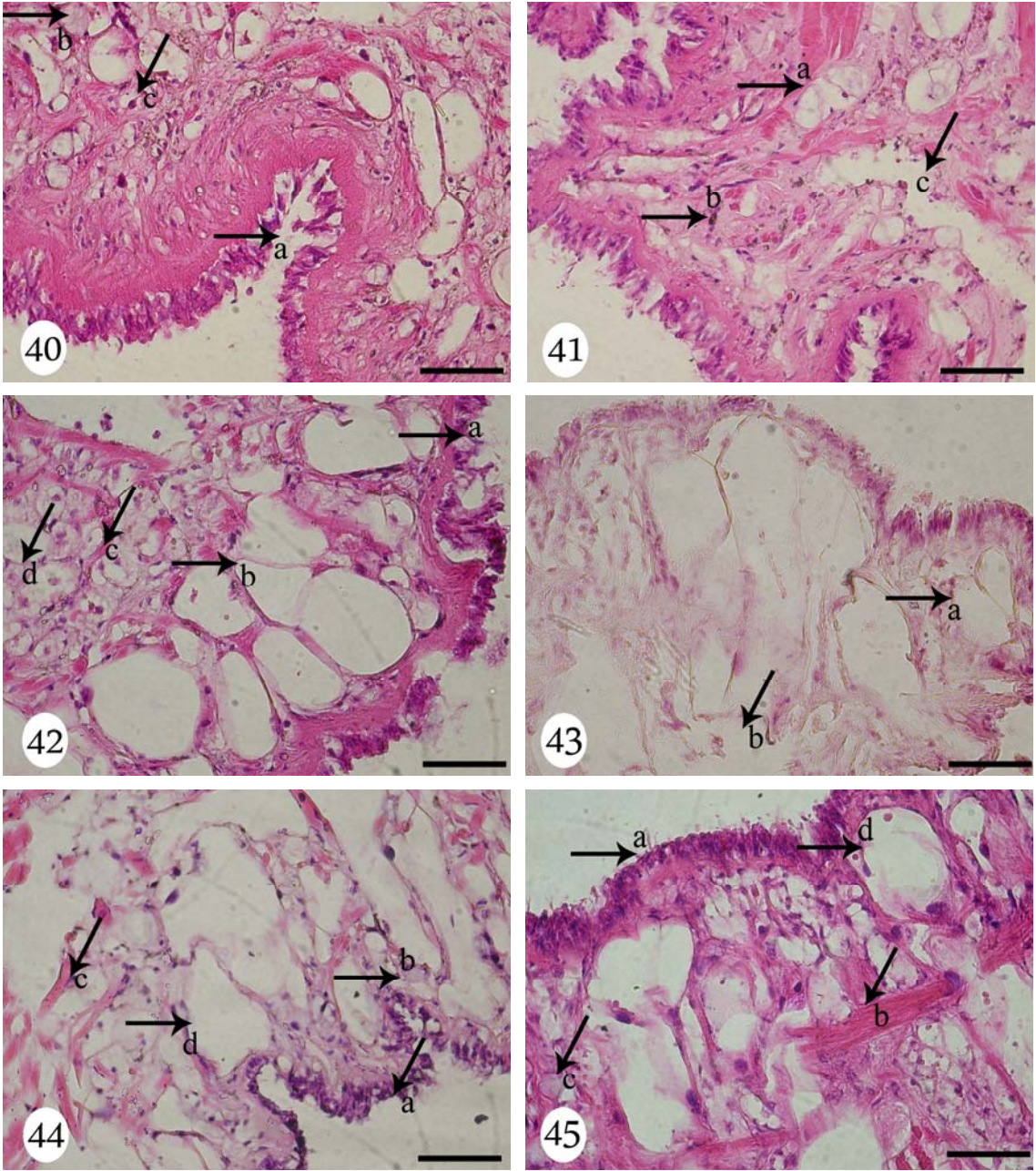
d; bulanık şişme.

Resim 36. IV. grup (31.7 µg/l), 21. gün, a; lipid vakuolü, b; mukosit, c; nekroz, d; kas atrofisi.

Resim 37. V. grup (31.7 µg/l), 28. gün, a; bağ doku h., b; lipid vakuolü, c; mukosit, d; kas atrofisi.

Resim 38. I. grup (EDTA), 14. gün, a; çift çekirdekli hücre, b; lipid vakuolü.

Resim 39. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; çift çekirdekli hücre, d; lipid vakuolü.



Resim 40. II. grup (15.85 µg/l), 7. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; mukosit, c; piknotik hücre. H&E;

Scale bar=20 µm.

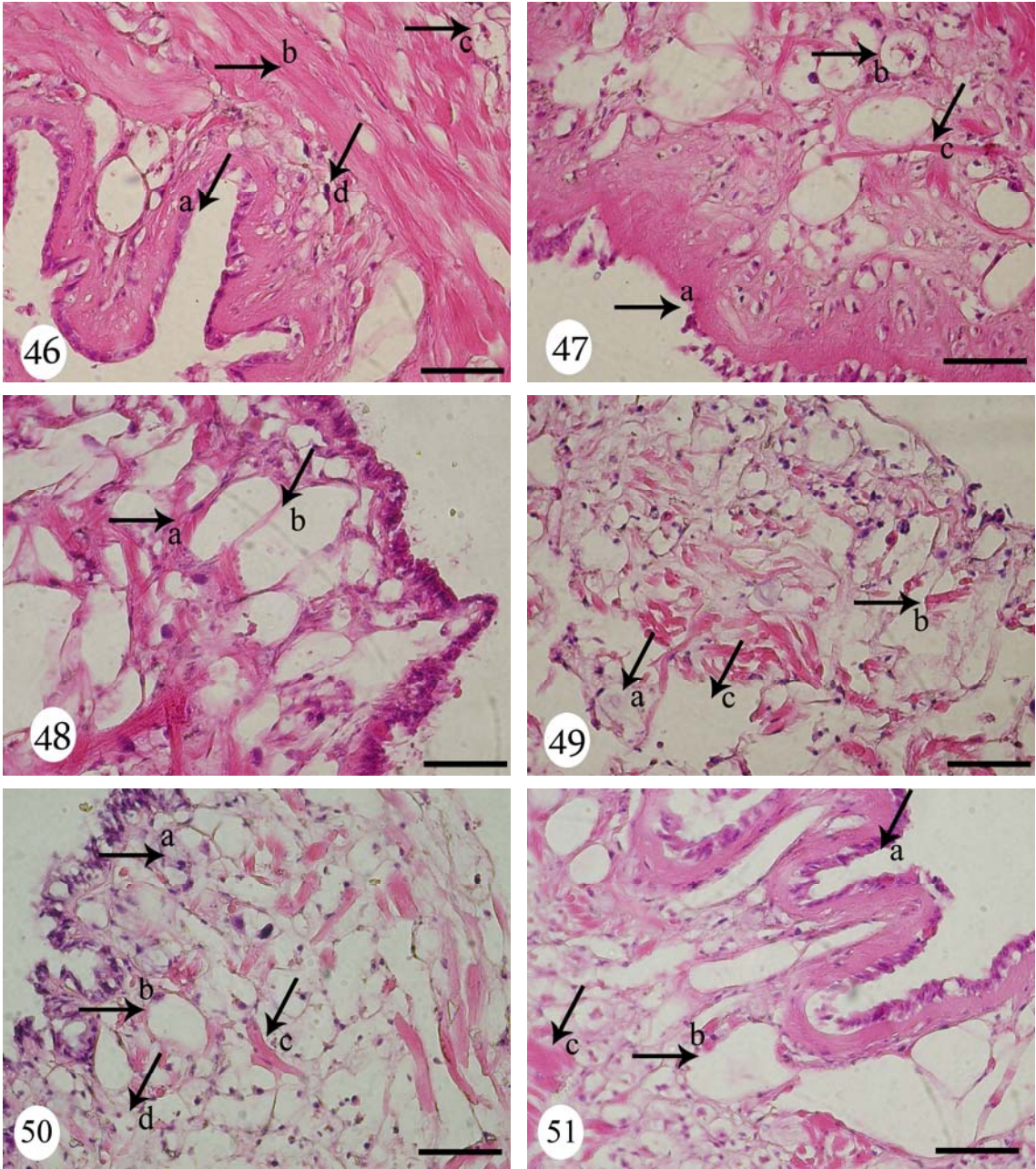
Resim 41. III. grup (15.85 µg/l), 14. gün, a; mukosit, b; pigment hücresi, c; nekroz.

Resim 42. IV. grup (15.85 µg/l), 21. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; lipid vakuolü, c; kas atrofisi, d; mukosit.

Resim 43. V. grup (15.85 µg/l), 28. gün, a; lipid vakuolü, b; nekroz.

Resim 44. I. grup (EDTA), 14. gün, a; epitel, b; mukosit, c; kas fibrili, d; lipid vakuolü.

Resim 45. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; mukosit, d; lipid vakuolü.



Resim 46. II. grup (7.92 µg/l), 7. gün, a; epitel, b; kas fibrili, c; piknotik hücre, d; pigment hücre.

H&E; Scale bar=20 µm.

Resim 47. III. grup (7.92 µg/l), 14. gün, a; epitel deskuamasyonu, b; piknotik hücre, c; kas atrofisi.

Resim 48. IV. grup (7.92 µg/l), 21. gün, a; kas atrofisi, b; lipid vakuolü.

Resim 49. V. grup (7.92 µg/l), 28. gün, a; mukositis, b; kas fibrili, c; nekroz.

Resim 50. I. grup (EDTA), 14. gün, a; mukositis, b; lipid vakuolü, c; kas fibrili, d; çift çekirdekli hücre.

Resim 51. II. grup (EDTA), 24. gün, a; epitel, b; lipid vakuolü, c; kas fibrili.

4.1.3. Hepatopankreas

4.1.3.1. Kontrol Grupları: Hepatopankreas (sindirim bezi) çok küçük tübüllerden oluşur. Tübüllerin arasında gevşek bağ doku ve hemolenfatik alanlar vardır. Tübül epitel, sindirim hücreleri ve bazofilik hücreler olmak üzere iki çeşit hücre tipinden oluşur (Lajtner, 1996). Sindirim hücreleri uzundur, şekilleri kübikten silindiriğe kadar değişir. Bazofilik hücreler ise kısa, üçgen şeklinde ve apikal yüzlerinde sil taşırlar. Enine kesitlerde, tübüller dairesel yapılar olarak görülür. Sindirim hücrelerinin sitoplazması farklı büyüklükteki salgı granülleriyle doludur. Pek çok hücre fagositik içerikli vakuoller içerir ve nukleus bazal membrana doğru yerleşmiştir. Bazofil hücreler kalsiyum karbonat hücre granüllerinin varlığı ile karakterize edilir. Sarı parlak granüller mevcuttur. Kontrol grubu salyangozlarının sindirim bezinde herhangi bir patolojik değişiklik gözlenmemiştir (Resim 52).

4.1.3.2. Deney Grupları: 7., 14., 21. ve 28. günlerde hepatopankreas dokusunun farklı gruplarından (II., III., IV. ve V. gruplar) histopatolojik uygulamaların semikantitatif sonuçları Tablo 10 ve Tablo 11’de sunulmuştur. Deneyde, Cd uygulama evresinde hepatopankreas dokusunda meydana gelen lezyonlar ve EDTA ile iyileşme süreci sonundaki değişiklikler Resim 53-76’da verilmiştir. Hepatopankreasların 28 gün boyunca 63.4 µg/l, 31.7 µg/l, 15.85 µg/l ve 7.92 µg/l konsantrasyonlarda kadmiyuma maruz kalmaları sonucunda, dokularda Cd konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir.

II. grup (63.4 µg/l) salyangozların sindirim bezinde, deneyin 7. gününde, sindirim hücrelerindeki vakuolleşmede belirginleşme, tübüller arasındaki bağ dokuda bozulma saptanmıştır. Amöbositlerde artış, piramidal bazofilik hücrelerde şişme ve nekrotik değişiklikler saptanmıştır. 14. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişiklikler ilerlemiş, lenfatik alanlarda genişlemeler olmuş, tübüller

arasındaki bağ dokuda lipid vakuolleri oluşmuş ve amöbositlerin arttığı gözlenmiştir. 21. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişikliklerle birlikte piknotik hücre sayısında da artış gözlenmiştir. 28. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişikliklerin çok fazla ilerlediği, bağ dokuda atrofinin iyice belirginleştiği, tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda genişlemelerin daha da ilerlediği ve nekrotik değişikliklerde de büyük artış olduğu saptanmıştır (Resim 53-56).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde tübüller arasındaki bağ dokuda düzelme, amöbositlerde ve lipid vakuollerinde azalma gözlenmiştir. Tübüllerin birbirine yaklaştığı tespit edilmiştir. Deneyin 28. gününde bazofilik hücrelerin küçüldüğü, amöbositlerin ve lipid vakuollerinin azaldığı, hemolenfatik alanların daraldığı ve nekrotik değişikliklerin azaldığı saptanmıştır (Resim 57, 58).

III. grup (31.7 µg/l) salyangozların sindirim bezinde, deneyin 7. ve 14. günlerinde, sindirim hücrelerindeki vakuolleşmenin belirginleşmeye başladığı, tübüller arasındaki hemolenfatik alanların genişlediği, amöbositler ve lipid vakuollerinin arttığı, piramidal bazofilik hücrelerin şiştiği ve ayrıca nekrotik değişikliklerin olduğu tespit edilmiştir. 21. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişiklikler daha da ilerlemiş, bazofilik hücreler ise daha fazla şişmiş ve piknotik hücre sayısı artmıştır. Tübül lümenleri ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda genişlemeler olmuştur. 28. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişiklikler çok fazla ilerlemiş, bağ doku atrofisi iyice belirginleşmiş, bazofilik hücreler daha fazla şişmiş, tübül lümeninde ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda genişlemeler artmıştır. Lipid vakuolleri ve amöbositlerin toplanması da belirgin bir artış göstermiştir (Resim 59-62).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde tübüller arasındaki bağ dokuda düzelme, amöbositlerde ve lipid vakuollerinde azalma gözlenmiştir. Tübüllerin

birbirine yaklaştığı tespit edilmiştir. Deneyin 28. gününde, bazofilik hücrelerin küçüldüğü, hemolenfatik alanların daraldığı ve nekrotik değişikliklerin azaldığı saptanmıştır (Resim 63, 64).

IV. grup (15.85 µg/l) salyangozların sindirim bezinde, deneyin 7. gününde, sindirim hücrelerindeki vakuolleşme belirginleşmeye başlamış ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlar genişlemiştir. Amöbositler ve lipid vakuolleri artmış, piramidal bazofilik hücreler şişmiş, ayrıca nekrotik değişiklikler tespit edilmiştir. 14. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişiklikler ilerlemiş, lenfatik alanlarda genişlemeler olmuş, tübüller arasındaki bağ dokuda lipid vakuollerinin ve amöbositlerin arttığı gözlenmiştir. 21. günde, nekrotik değişikliklerin ilerlediği saptanmıştır. Tübül lümenleri ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda genişlemeler olmuştur. 28. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişiklikler daha da ilerlemiş, bağ dokuda atrofi iyice belirginleşmiştir. Tübül lümeninde ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda genişlemeler ilerlemiş, lipid vakuolleri ve amöbositlerin toplanmasında da belirgin bir artış gözlenmiştir (65-68).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde tübüller arasındaki bağ dokuda düzelme, amöbositlerde ve lipid vakuollerinde azalma gözlenmiştir. Tübüllerin birbirine yaklaştığı tespit edilmiştir. Deneyin 28. gününde, bazofilik hücrelerin küçüldüğü, hemolenfatik alanların daraldığı ve nekrotik değişikliklerin azaldığı saptanmıştır (Resim 69,70).

V. grup (7.92 µg/l) salyangozların sindirim bezinde, deneyin 7. ve 14. günlerinde, sindirim hücrelerindeki vakuolleşmenin belirginleşmeye başladığı, tübüller arasındaki hemolenfatik alanlardaki amöbositlerin ve lipid vakuollerinin arttığı, ayrıca nekrotik değişikliklerin olduğu tespit edilmiştir. 21. günde, nekrotik değişikliklerin ilerlediği gözlenmiştir. Tübül lümenleri ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda

genişlemeler olmuştur. 28. günde, sindirim hücrelerinde vakuolasyon ve nekrotik değişiklikler çok fazla ilerlemiş, bağ dokuda atrofi iyice belirginleşmiştir. Tübül lümeninde ve tübüller arasındaki hemolenfatik alanlarda genişlemelerin arttığı gözlenmiştir (71-74).

EDTA ile iyileşme sürecinde iyileştirmenin 14. gününde tübüller arasındaki bağ dokuda düzelme, amöbositlerde ve lipid vakuollerinde azalma gözlenmiştir. Tübüllerin birbirine yaklaştığı tespit edilmiştir. Deneyin 28. gününde, bazofilik hücrelerin küçüldüğü, hemolenfatik alanların daraldığı ve nekrotik değişikliklerin azaldığı saptanmıştır (Resim 75,76).

Tablo 10. Kadmiyuma maruz kalan hepatopankreas dokularında saptanan lezyonların kalitatif değerlendirmesi.

Histolojik Değerlendirme	Süre	Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Sindirim hücrelerinde vakuolasyon	7 gün	-	+	+	+	-
	14 gün	-	++	++	+	+
	21 gün	-	++	++	++	+
	28 gün	-	+++	+++	+++	++
Bazofilik hücrelerde şişme ve büyüme	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	++	+	+
	21 gün	-	+++	++	++	+
	28 gün	-	+++	+++	++	++
Nekroz	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	+	+	+
	21 gün	-	++	++	++	+
	28 gün	-	+++	+++	++	++
Lipid vakuolleri	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	+	++	+	+
	21 gün	-	++	++	+	++
	28 gün	-	++	++	++	++
Sarı granüllerin artması	7 gün	-	+	+	+	+
	14 gün	-	++	+	+	-
	21 gün	-	++	++	++	+
	28 gün	-	++	++	+++	++
Amöbosit birikimi	7 gün	-	+	+	+	-
	14 gün	-	++	+	+	+
	21 gün	-	++	++	++	+
	28 gün	-	+++	+++	+++	++
Piknotik hücre	7 gün	-	-	-	-	-
	14 gün	-	+	+	-	-
	21 gün	-	+	+	+	+
	28 gün	-	++	++	+	+
Tübüller arasındaki bağ dokuda atrofi	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	+	+	+	+
	21 gün	-	++	++	+	+
	28 gün	-	+++	++	++	++

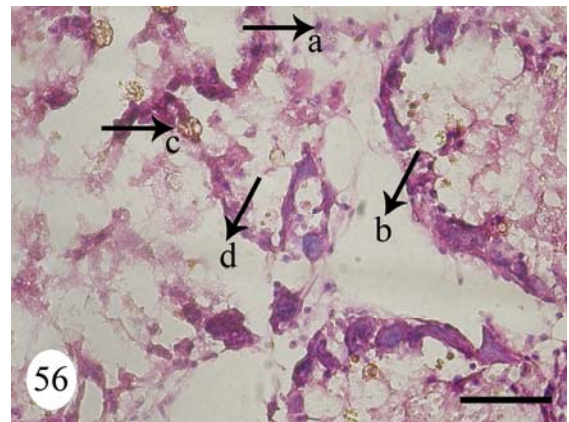
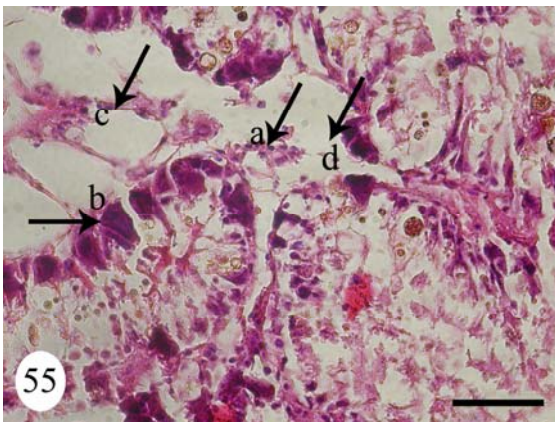
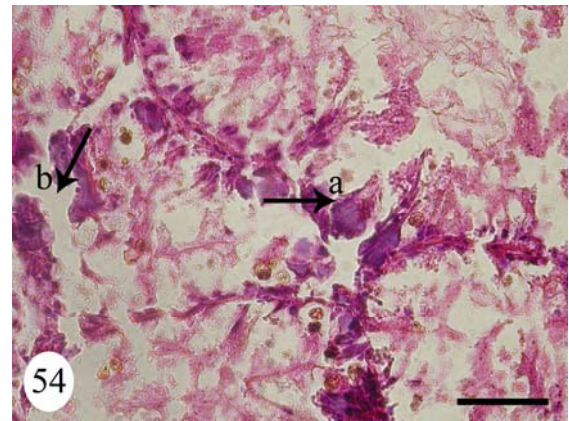
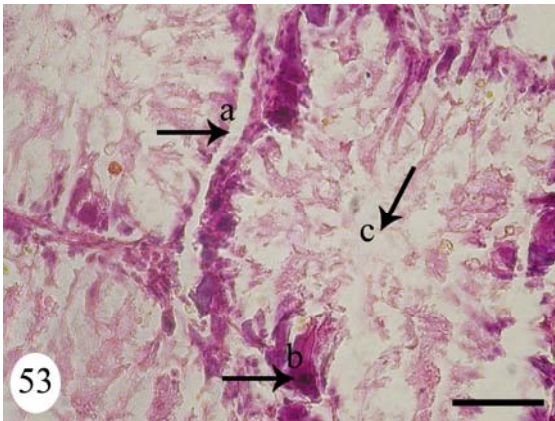
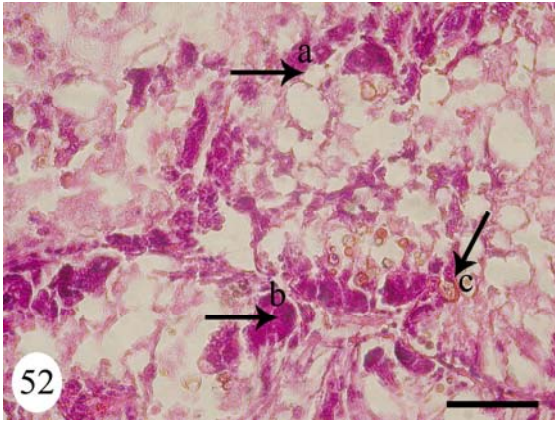
Tübül lümeninde genişleme	7 gün	-	+	-	-	-
	14 gün	-	+	-	-	-
	21 gün	-	++	+	+	+
	28 gün	-	+++	++	++	+
Hemolenfatik alanlarda bozulma	7 gün	-	+	+	-	-
	14 gün	-	++	+	-	-
	21 gün	-	++	++	+	+
	28 gün	-	+++	+++	++	++
Bulanık şişme	7 gün	-	+	-	-	-
	14 gün	-	+	+	-	-
	21 gün	-	++	++	+	+
	28 gün	-	++	++	+	+

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık.

Tablo 11. EDTA'ya maruz kalan hepatopankreas dokularında lezyonların iyileştirilmesinin kalitatif değerlendirmesi.

Histolojik Değerlendirme	Süre	Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Sindirim hücrelerinde vakuolasyon azalma	14 gün	-	+	+	+	-
	28 gün	-	++	++	+	+
Bazofilik hücrelerde küçülme	14 gün	-	+	+	-	-
	28 gün	-	++	++	+	+
Lipid vakuollerinde azalma	14gün	-	-	+	-	-
	28 gün	-	++	++	++	++
Sarı granüllerin artması	14 gün	-	+	+	+	+
	28gün	-	++	+	+	-
Amöbositlerde azalma	14 gün	-	+	+	+	-
	28 gün	-	++	+	+	+
Çift çekirdekli hücre	14 gün	-	-	-	-	-
	28 gün	-	-	+	-	+
Tübüller arasında daralma	14 gün	-	+	+	-	-
	28 gün	-	+	+	+	+
Tübül lümeninde daralma	14 gün	-	+	-	-	-
	28 gün	-	+	+	+	+
Hemolenfatik alanlarda daralma	14 gün	-	+	+	-	-
	28 gün	-	++	++	++	++

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık.



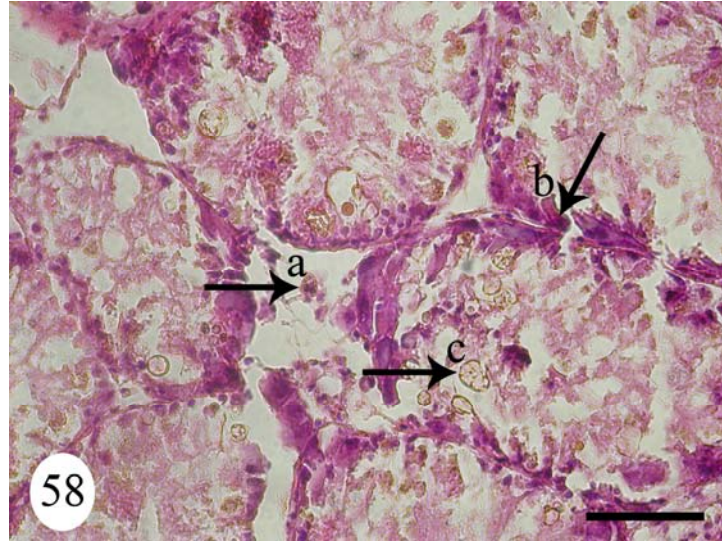
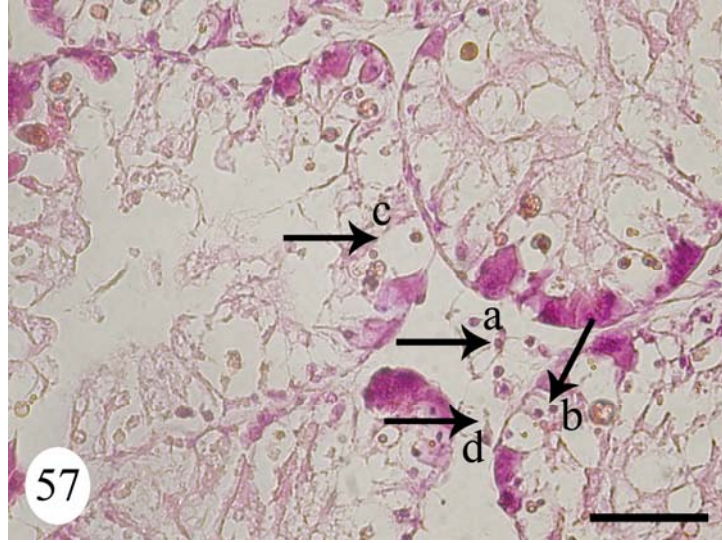
Resim 52. I. grup kontrol, a; sindirim hücresi, b; bazofilik hücre, c; sarı granül. H&E, Scale bar= 20 µm.

Resim 53. II. grup (63.4 µg/l), 7. gün, a; tübüller arasındaki alan, b; bazofilik hücre, c; tübül lümeni.

Resim 54. III. grup (63.4 µg/l), 14. gün, a; bazofilik hücre, b; nekroz.

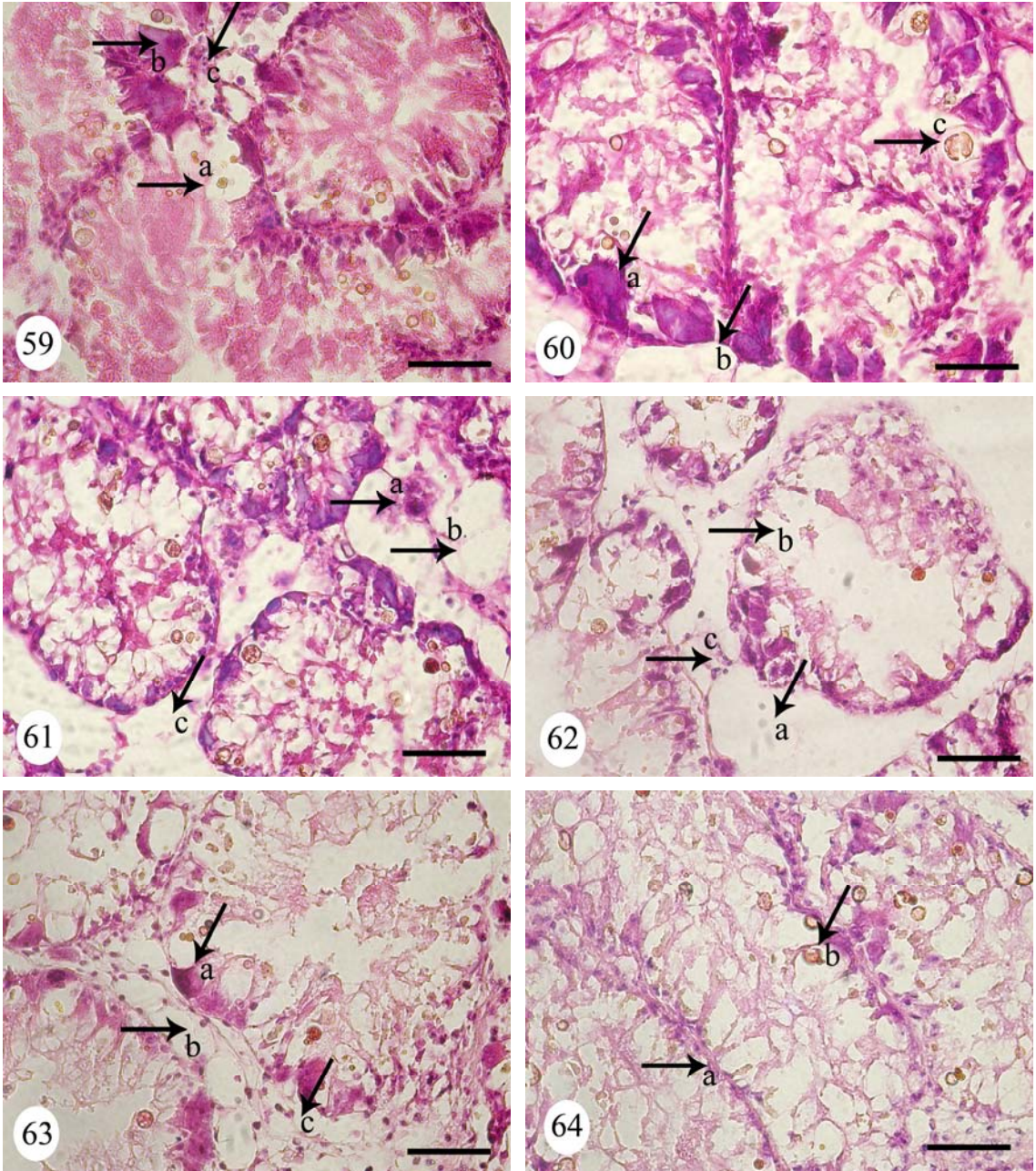
Resim 55. IV. grup (63.4 µg/l), 21. gün, a; amöbosit, b; bazofilik hücre, c; lipid vakuolü, d; tübüller arasındaki hemolenfatik alan.

Resim 56. V. grup (63.4 µg/l), 28. gün, a; amöbosit, b; tübüller arasındaki hemolenfatik alan, c; sarı granül, d; nekroz.



Resim 57. I. grup (EDTA), 14. gün, a; amöbosit, b; çift çekirdelli hücre, c; sindirim hücresinde vakuolleşme, d; tübüller arasındaki hemolenfatik alan. H&E, Scale bar= 20 µm.

Resim 58. II. grup (EDTA), 24. gün, a; amöbosit, b; tübüller arası daralma, c; sarı granül.



Resim 59. II. grup (31.7 µg/l), 7. gün, a; sindirim hücresinde vakuolleşme, b; bazofilik hücre, c; amöbosit. H&E, Scale bar= 20 µm.

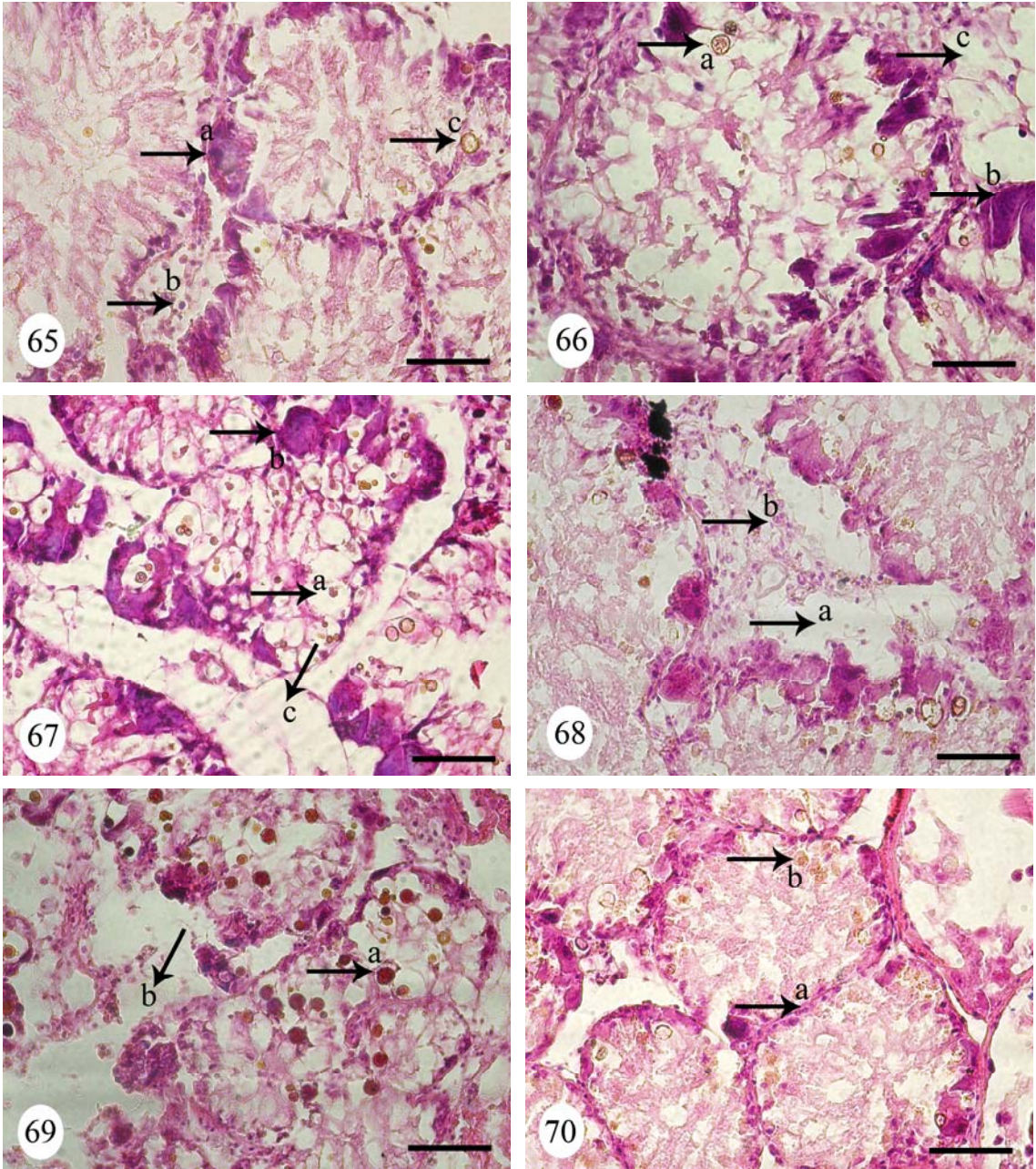
Resim 60. III. grup (31.7 µg/l), 14. gün, a; bazofilik hücre, b; lipid vakuolü, c; sarı granül.

Resim 61. IV. grup (31.7 µg/l), 21. gün, a; amöbosit, b; lipid vakuolü, c; tübüller arasındaki h. alan.

Resim 62. V. grup (31.7 µg/l), 28. gün, a; tübüller arasındaki hemolenfatik alan, b; nekroz, c; amöbosit.

Resim 63. I. grup (EDTA), 14. gün, a; bazofilik hücre, b; lipid vakuolü, c; tübüller arasındaki hemolenfatik alan.

Resim 64. II. grup (EDTA), 24. gün, a; tübüller arasındaki alanda daralma, b; sarı granül.



Resim 65. II. grup (15.85 $\mu\text{g/l}$), 7. gün, a; bazofilik hücre, b; amöbosit, c; sarı granül. H&E, Scale bar= 20 μm .

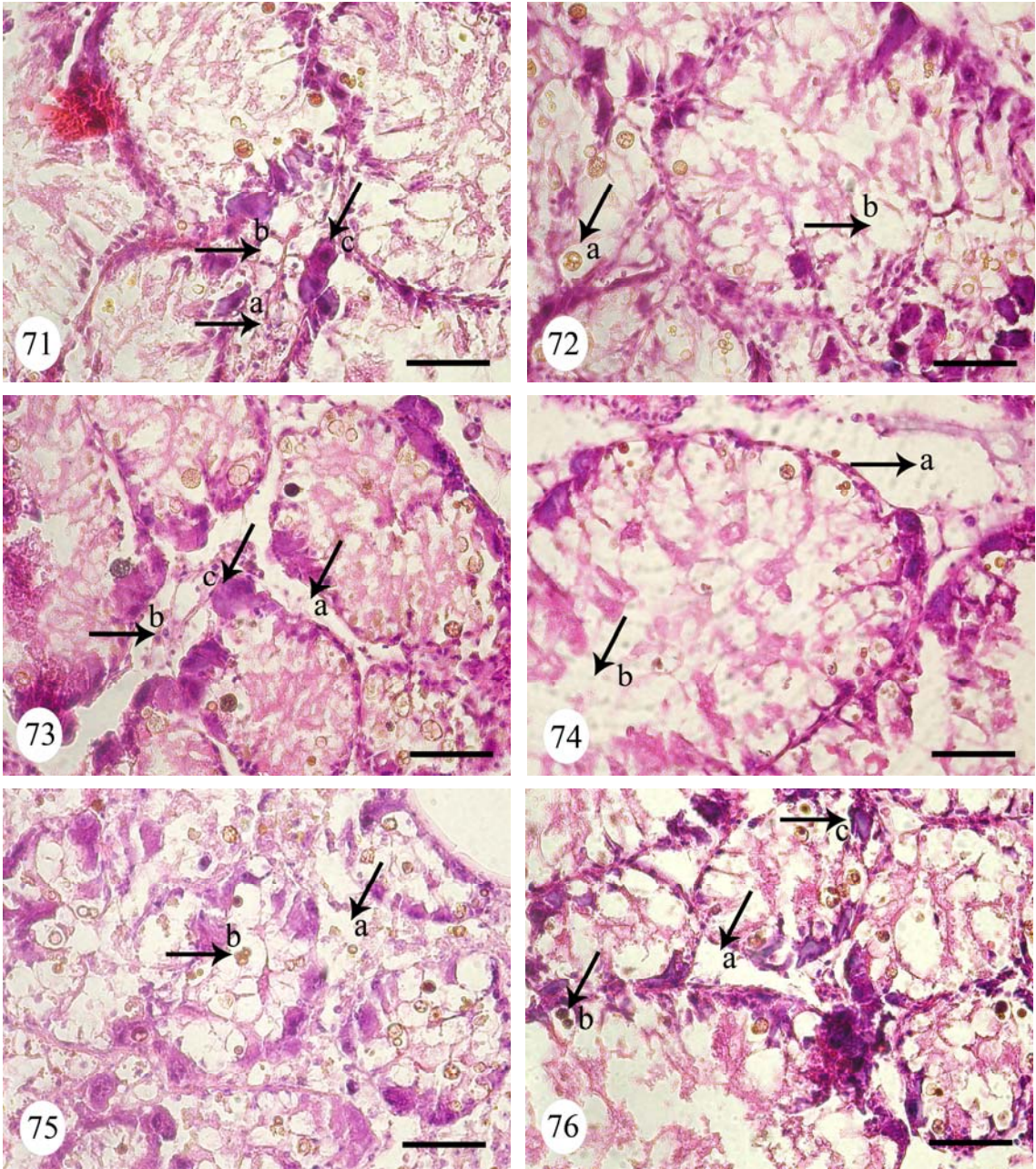
Resim 66. III. grup (15.85 $\mu\text{g/l}$), 14. gün, a; sarı granül, b; bazofilik hücre, c; lipid vakuölü.

Resim 67. IV. grup (15.85 $\mu\text{g/l}$), 21. gün, a; sindirim hücresinde vakuolleşme, b; bazofilik hücre, c; lipid vakuölü.

Resim 68. V. grup (15.85 $\mu\text{g/l}$), 28. gün, a; tübüller arasındaki hemolenfatik alan, b; amöbosit.

Resim 69. I. grup (EDTA), 14. gün, a; sarı granül, b; tübüller arasındaki hemolenfatik alan.

Resim 70. II. grup (EDTA), 24. gün, a; tübüller arası alanlarda daralma, b; sarı granül.



Resim 71. II. grup (7.92 µg/l), 7. gün, a; amöbosit, b; lipid vakuolü, c; bazofilik hücre. H&E, Scale bar= 20 µm.

Resim 72. III. grup (7.92 µg/l), 14. gün, a; sindirim hücrelerinde vakuolleşme, b; nekroz.

Resim 73. IV. grup (7.92 µg/l), 21. gün, a; tübüller arasında genişleme, b; amöbosit, c; bazofilik hücre.

Resim 74. V. grup (7.92 µg/l), 28. gün, a; tübüller arasındaki hemolenfatik alan b; nekroz.

Resim 75. I. grup (EDTA), 14. gün, a; tübüller arasındaki hemolenfatik alan, b; sarı granül.

Resim 76. II. grup (EDTA), 24. gün, a; tübüller arasındaki hemolenfatik alan b; çift çekirdekli hücre, c; bazofilik hücre.

4.2. Kimyasal Sonuçlar

4.2.1. Dokularda Kadmiyum Birikimi

4.2.1.1. Kontrol Grupları

Kontrol grubundaki dokularda (hepatopankreas, ayak ve manto) eser miktarda Cd tespit edilmiş, bunun deney gruplarıyla kıyaslanamayacak kadar önemsiz olduğu ve deney uygulaması boyunca kendiliğinden azaldığı gözlenmiştir (Grafik 1).

4.2.1.2. Deney Grupları

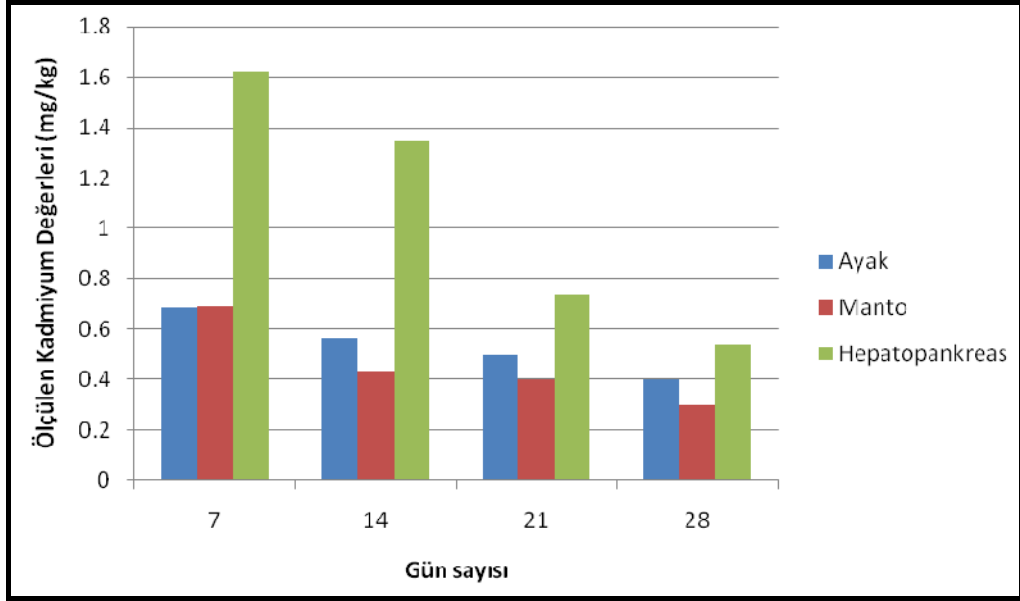
II. grupta (63.4 µg/l), dokulardaki en fazla Cd birikimi hepatopankreasta olmuştur. Cd miktarının dokularda düzenli bir artış gösterdiği, 21. gün ile 28. günler arasında ise artış hızının azalmaya başladığı gözlenmiştir. En fazla Cd birikiminin hepatopankreasta ilk 7 günde, ayak ve mantoda ise 14. ve 21. günler arasında olduğu tespit edilmiştir (Grafik 2).

III. grupta (31.7 µg/l), yine dokulardaki en fazla Cd birikimi hepatopankreasta olmuştur. Cd miktarının dokularda düzenli artış gösterdiği, 21. ve 28. günler arasında ise artış hızının azalmaya başladığı gözlenmiştir. En az Cd birikiminin hepatopankreas, ayak ve mantoda 21. ve 28 günler arasında, en fazla Cd birikiminin ise hepatopankreas, ayak ve mantoda 14. ve 21 günler arasında olduğu gözlenmiştir (Grafik 3).

IV. grupta (15.85 µg/l), hepatopankreasta en fazla Cd birikimi ilk 14 günde olmuştur. 14. ve 21. günler arasında birikim azalmıştır. Ayak ve mantoda ise Cd birikimi en fazla 14. ve 21. günler arasında olmuş, 21. ve 28. günler arasında ise azalmıştır (Grafik 4).

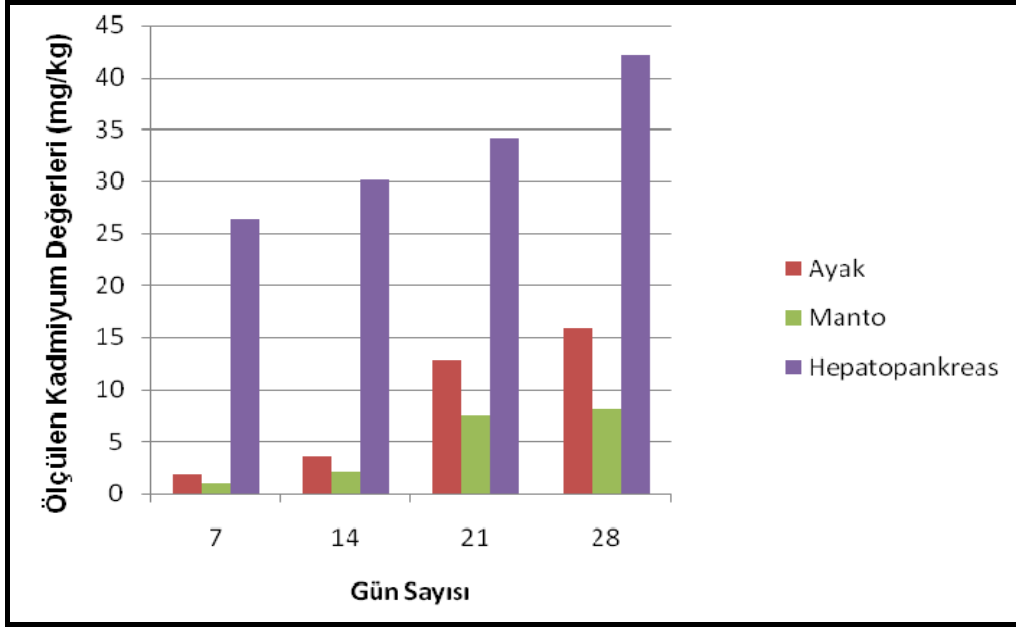
V. grupta (7.92 µg/l), ilk 21 gün Cd birikimi en fazla hepatopankreasta olmuş, ayak ve manto fazla etkilenmemiştir. 21. ve 28. günler arasında hepatopankreastaki Cd birikimi azalırken, ayak ve mantodaki birikimin en fazla olduğu gözlenmiştir (Grafik 5).

I. Grup (Kontrol)



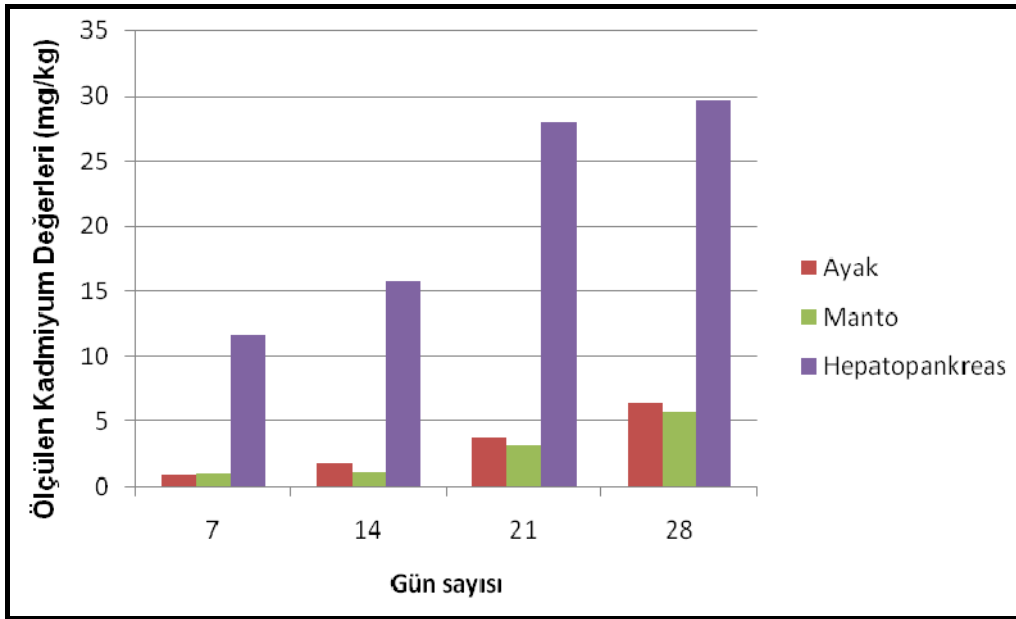
Grafik 1. I. grup kontrol, salyangozlarda 28 gün boyunca kadmiyumsuz ortamda ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

II. Grup



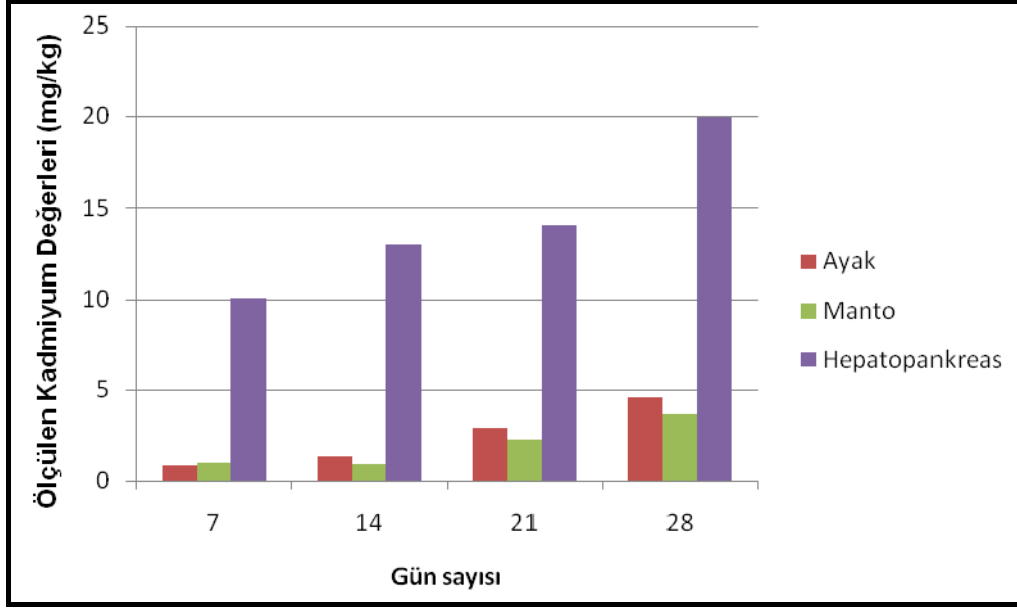
Grafik 2. II. grup (63.4 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

III. Grup



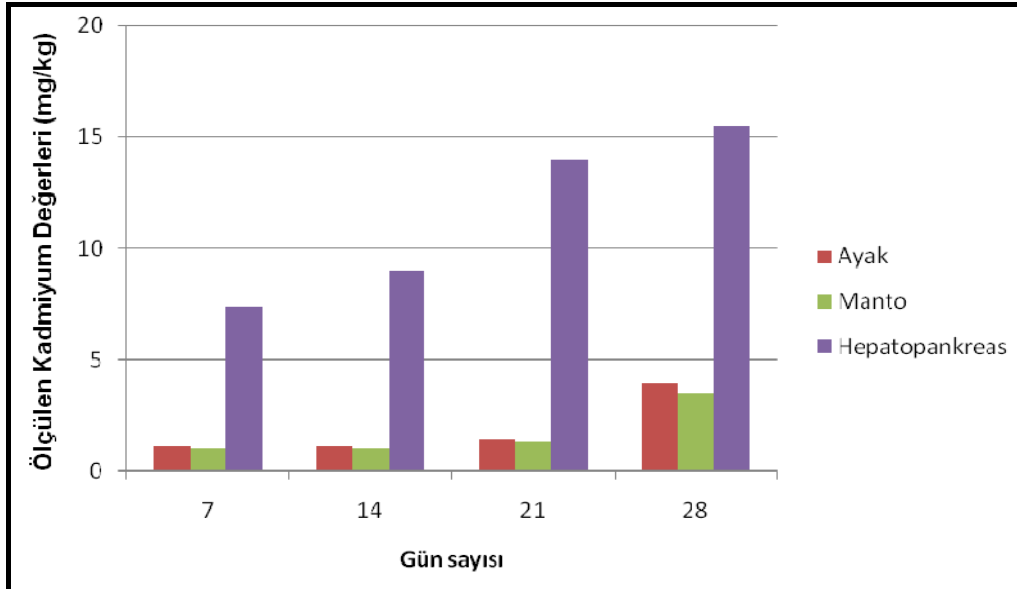
Grafik 3. III. grup (31.7 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

IV. Grup



Grafik 4. IV. grup (15.85 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

V. Grup



Grafik 5. V. grup (7.92 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

4.2.2. Dokulardan Kadmiyumun Uzaklaştırılması

4.2.2.1. Deney Grupları

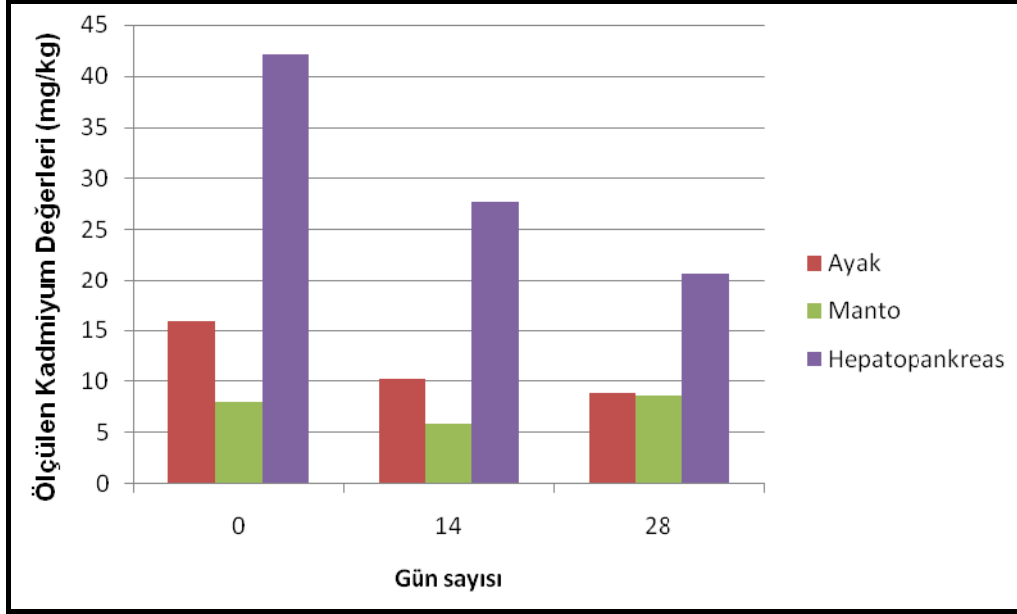
II. grupta (EDTA), hepatopankreas ve ayaktaki Cd miktarının 28 gün boyunca düzenli bir azalma gösterdiği, en fazla azalmanın 14. güne kadar gerçekleştiği belirlenmiştir. Mantoda ise 14. güne kadar azalma, 14. ve 28. günler arasında ise artma olduğu saptanmıştır (Grafik 6).

III. grupta (EDTA), hepatopankreastaki Cd miktarının iyileşme periyodu boyunca düzenli bir azalma gösterdiği, en fazla azalmanın ise 14. güne kadar gerçekleştiği tespit edilmiştir. Mantoda Cd miktarının 28 gün boyunca düzenli olarak azaldığı görülmüştür. Ayakta Cd miktarının 14. güne kadar hemen hemen değişmediği, 14. gün ile 28. günler arasında ise azalma gösterdiği belirlenmiştir. Buna bağlı olarak ayak dokusunda Cd miktarının 14. günden itibaren azalmaya başladığını belirtmek mümkündür (Grafik 7).

IV. grupta (EDTA), hepatopankreastaki Cd miktarının iyileşme periyodu boyunca düzenli bir azalma gösterdiği, en fazla azalmanın ise 14. güne kadar gerçekleştiği saptanmıştır. 14. ve 28. günler arasında ise Cd miktarındaki azalmanın az olduğu belirlenmiştir. Ayak ve mantodaki Cd miktarının 14. güne kadar çok az bir azalma gösterdiği, 14. gün ile 28. günler arasında ise azalma hızının arttığı belirlenmiştir (Grafik 8).

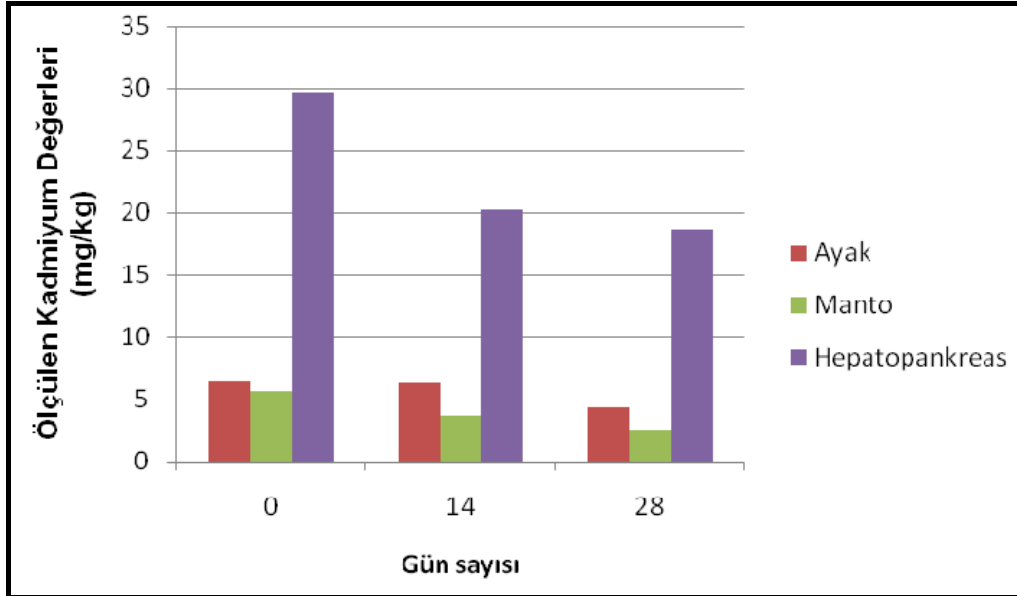
V. grupta (EDTA), hepatopankreas ayak ve mantodaki Cd miktarının iyileşme periyodu boyunca ilk 14 güne kadar hafif bir azalma gösterdiği, en fazla azalmanın ise 14. ve 28. günler arasında gerçekleştiği belirlenmiştir (Grafik 9).

II. Grup



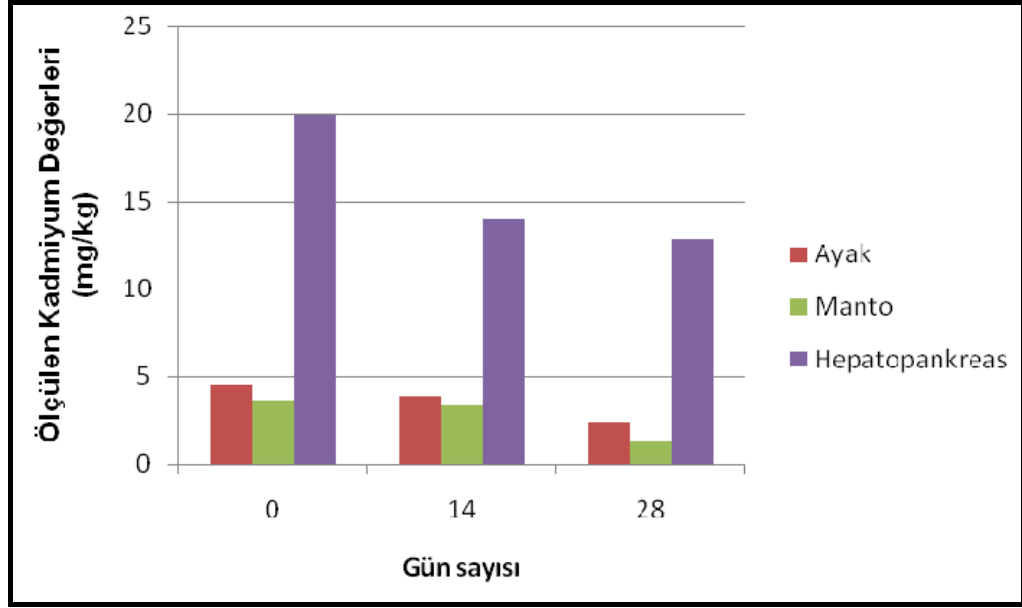
Grafik 6. II. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

III. Grup



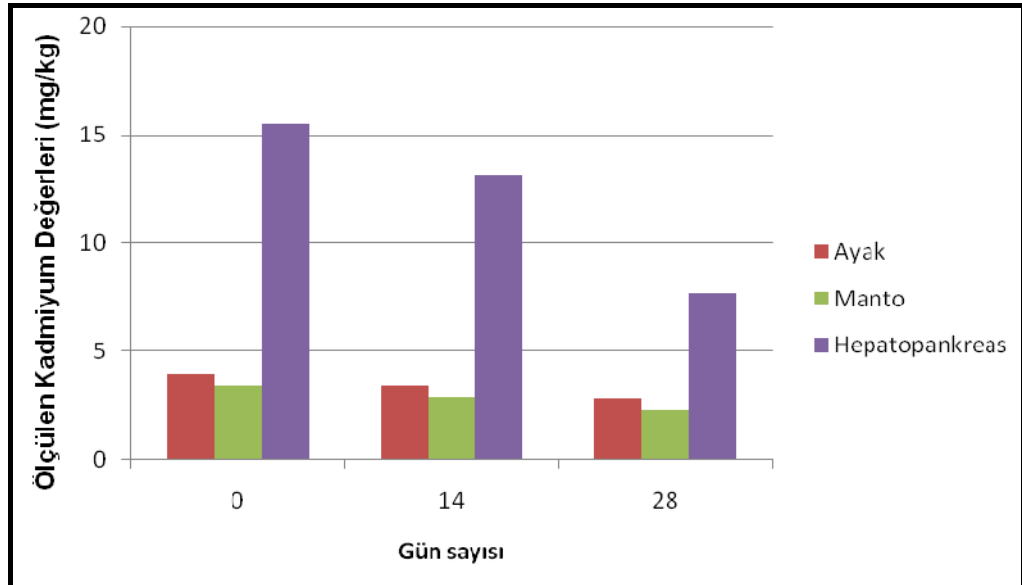
Grafik 7. III. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

IV. Grup-EDTA



Grafik 8. IV. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

V. Grup-EDTA



Grafik 9. V. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

5. TARTIŞMA

Çevre atık çalışmalarında pek çok ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen ağır metaller canlılar için hala ciddi sağlık riskleri oluşturmaktadır. Metaller doğal su ekosistemlerinde çok düşük konsantrasyonlarda, genellikle litre başına nanogram ile mikrogram düzeylerinde bulunurlar. Son zamanlarda özellikle ağır metallerin doğal ortamda artan miktarlarının varlığı ve alarm verici bir hızla büyüyor olması, sucul ekosistem sağlığı açısından bir endişe haline gelmiştir (Gopal ve ark., 2009).

Yaptığımız bu çalışma sonucunda, cıvadan sonra en tehlikeli ağır metal olan kadmiyumun dokulardaki birikiminin, akuatik canlılar için ne derece tehlikeli olabileceği ve bu toksik etkilerin EDTA ile ne derece tedavi edilebileceği gösterildi.

Yapılan çalışmalar, Cd uygulanan salyangozların dokuları incelendiğinde; en fazla etkinin hepatopankreasta, daha sonra sırasıyla ayak ve mantoda olduğunu gösterdi. Yapılan kimyasal analiz sonuçları da histopatolojik çalışmaları destekler niteliktedir. Analiz sonuçlarında da Cd birikiminin en fazla hepatopankreasta, en az da mantoda olduğu gözlemlendi. Kadmiyumun dokulardaki birikimi, ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış gösterdi.

Cd uygulanan *L. stagnalis* örneklerinin 4 haftalık süreç sonunda hepatopankreas dokularında; sindirim hücrelerinde vakuolasyon, tübüller arasındaki bağ dokuda atrofi, amöbositlerde ve lipid vakuollerinde artış (lipid akümülyasyonu), piramidal bazofilik hücrelerde şişme, piknotik hücre sayısında artış, sarı granüllerde artış ve lenfatik alanlarda genişlemeler gibi lezyonlar gözlemlendi.

Çalışmamızda hepatopankreasta gözlenen değişiklikler, Cd uygulanma süresi ve konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdi. Ayrıca uygulanan EDTA'ya bağlı olarak histopatolojik lezyonların çoğunluğunun geri dönüşümlü olduğu tespit edildi. Amöbosit

sayılarında ve lipid vakuollerinde azalma gözlemlendi. Hemolenfatik alanlarda daralma ve sarı granüllerde azalma tespit edildi. Dokudaki yenilenmenin bir göstergesi olan çift nukleuslu hücreler saptandı. Bu durum dokunun mitotik aktivitesinin bir göstergesidir. Kimyasal analiz sonuçları da dokudaki Cd birikiminin azaldığını gösterdi.

Nikel, kadmiyum, cıva ve kurşun gibi ağır metallerin emilimi ve atılımı, metilasyona ve metalotiyoneinlere bağlanmaya yardım eden antioksidanların ve tiyollerin varlığına bağlıdır. Antioksidanların, ağır metal toksisitesini azaltmada belirli rolleri vardır. Bazı metaller, standart şelat ajanları ile birlikte kullanıldıkları zaman, ağır metal hareketliliğini ve atılımını iyileştirebilirler. Ağır metal subletal dozuna maruz kaldıktan hemen sonra, CaNa_2 EDTA ile kelasyon tedavisi sayesinde biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin iyileştirilmesinde önemli ölçüde iyi sonuçlara varılabilir. Bu yöntem, ekolojik olarak zarar gören habitatlarda yaşayan sucul canlıları korumada bir çözüm sunabilir. Subletal değerlerin testi, hayvanların yapısal ve biyolojik fonksiyonlarındaki değişiklikler hakkında bilgi verebilir. Bu değişiklikler, sucul canlıların sağlık durumunu yanı sıra belirli bir ortamdaki suyun saflık durumunu da gösterebilir (Gopal ve ark., 2009).

Sucul organizmaların dokularında metal birikimini azalttığı bilinen çeşitli ajanlar (EDTA, NTA ve DTPA) vardır. EDTA ve NTA'nın sucul organizmalarda kadmiyum toksisitesini azalttığı gösterilmiştir (Kargın, 1996). Ayrıca bu ajanlar omurgalı ve omurgasızlarda da metal birikimini azaltmaktadır (Sunda ve ark., 1978; Muramoto, 1980; Kargın, 1996).

Pek çok tatlı su Pulmonat gastropodlarda Cd, dokularda yüksek oranlarda birikmekte ve bireysel büyümede inhibisyona neden olmaktadır. Türler arasındaki Cd birikimindeki farklılıkların, büyük olasılıkla Cd'un alınımı ve detoksifikasyonu

arasındaki spesifik farklılıklardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Coourdassier, 2003).

Cd'a maruz bırakılan salyangozların en yaygın hepatopankreas lezyonu, lipid akümülyasyonudur. Lipid akümülyasyonu toksik bileşiklere en yaygın bir hücreyel yanıttır, özellikle lipit metabolizmasında önemli bir role sahip olan hepatopankreas gibi organlarda yaygın olarak görülür. Lipid akümülyasyonunun en önemli nedenlerinden biri hücrelerden lipid salınışının inhibisyonudur. Bu olay protein sentezinin inhibisyonu ile olur. Cd'un protein sentezini inhibe etmesi, hücre dışına lipid transportu için gerekli apoproteinlerin sentezinin de inhibe olmasına neden olmaktadır. Bu da lipid akümülyasyonuna neden olabilmektedir. Lipid akümülyasyonu, Cd'un artan lipid sentezi ile de ilgili olabilir (Timbrell, 1991). Cd'un yağ metabolizmasını hızlandırarak yağ oluşumunun artması sonucu biriktiğini de düşündürmektedir.

Sindirim hücreleri, muhtemelen tübül lümeninde sindirilen besininin alımıyla ilgilidir (Elangovan ve ark., 2000). *L. stagnalis*'in beslendiği organik ve inorganik materyallerin sindirim hücrelerince yutulduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Hareketsiz partiküller ve sindirilmeyen artıklar, granüllerin içine dahil edilir (Peczenik, 1925; Carriker ve Blistad, 1946).

Gastropodlardaki hepatopankreas, metabolizma için hizmet veren ve ayrıca xenobiyotiklerin birikim ve biyodönüşümlerinin yapıldığı temel organdır. Metallerin hepatopankreas ve ele alınan diğer dokular arasındaki göreceli dağılım ölçümleri yumuşak dokular arasında en fazla metal birikimin hepatopankreasta olduğunu göstermiştir. *L. stagnalis*'in dokularındaki Cd'un %65 kadarı hepatopankreasta biriktirilmiştir. Hepatopankreasta gözlenen sarı granüllerin, detoksifiye edilen metallerin depolanma yeri olduğu düşünülmektedir. Pek çok araştırmacı bu durumu, kirletici metallerin çeşitli biyokimyasal bileşenlerle (metalotiyoneinlerle veya lipofuksin

granüleriyle) kelasyon yoluyla detoksifikasyon mekanizmasıyla ilişkilendirmiştir. Kirlenmiş alanlardan toplanan salyangozların hepatopankreasının elektron mikroskobu çalışmaları, sindirim hücrelerinde çeşitli boyutlarda lizozomal vakuollerin ve bazofillerde elektronca yoğun veziküllerin varlığını göstermiştir (Abdallah ve Moustafa, 2002).

Sindirim bezinde metallerin birikmesi, buradaki spesifik bağlayıcı bileşenlerin varlığı ile ilişkili olabilir. Metaller genellikle omurgasızlar tarafından hücre içinde iki yöntemden biriyle detoksifiye edilir; A sınıfı metaller (donör oksijen atomuyla ligand ile bağlama için bir tercihe sahip metaller) zara bağlı granüllere (tip A granül) dahildir. Diğer taraftan, B sınıfı metaller (donör atom olarak sülfür veya azot gibi, Zn, Cd ve Cu atomu ile bağlanma için bir tercihe sahip metaller) sitoplazmada metalloprotein denen ve daha sonra lizozomal aktivite ile atık olarak atılabilen bileşenler (tip B granülleri) şeklindedir (Hopkin, 1986). Hepatopankreasta bulunan sarı granüller, lizozomun gelişim aşamalarındandır. Morfolojilerine ve metal içeriklerine dayalı olarak, araştırılan salyangozdaki sarı granüller büyük olasılıkla karasal eklembacaklılardaki A sınıfı metal içeren A granüller ile eşdeğerdir (Desouky, 2006).

Salyangozların sindirim bezindeki lizozomlardan türeyen granüller, doğal katabolik mekanizmanın bir parçası olarak bilinmelerine rağmen temelde, hücre tarafından üretilen normal atıklar için doğal granülleri temsil etmektedirler (Brooks ve White, 1995). *L. stagnalis*'in sindirim hücrelerinde, metalleri bağlayacak ligantlar (P ve S) olduğu için, metal alıkoyma ve granül formasyonu bir detoksifikasyon mekanizması olarak hareket edebilir. Cd'un donör atomu S olan ligantlara, memelilerde olduğu gibi, yüksek bir ilgisi vardır ve lizozomal granüllere yerleştirilmeden önce salyangoz tarafından sitoplazmada S içeren metalloproteine (metalotiyonein) hapsedilir (Dallinger ve ark., 1993, 2000). S, Cd'un lizozomal granüllerdeki birikiminde artışa, bu metallere

maruz kalmanın hücrede metalotiyonein sentezine neden olabileceğine işaret edebilir. Gastropodlar dahil, farklı omurgasızlarda bu mekanizma için direk emsaller vardır (Ireland, 1981; Dallinger ve Berger, 1993; Yasoshima ve ark.,2001; Leung ve ark., 2003; Shi ve Wang, 2004).

Yumuşakçalarda, metal alınımlı kolaylaştırılmış difüzyon, aktif transport, endositoz ile metalotiyonein sentezi veya mineralli granüllerin oluşumu şeklinde gerçekleşebilir. Metaller metalotiyoneinlere bağlı olarak lizozomlarda bulunurlar ve buradan kan plazmasına salınarak hemositlere geçerler. Dokular arasında metal taşımacılık için en uygun sistem teşkil eden hemositler, vücut boyunca hareket edebilir ve iç taraftaki metalleri alarak sindirilmemiş ürünler şeklinde lizozomlarda birikmesini sağlayabilirler. Yumuşakçaların hedef hücrelerindeki metal düzeylerinin değerlendirilmesi, çevresel izleme programları için umut vericidir (Marigomez ve ark., 2002).

Kadmiyumun etkisi, hepatopankreas gibi metabolik bakımdan aktif dokularda molekül ağırlığı düşük olan metal bağlayıcı proteinlerin sentezini arttırmaktadır (Hogstrand ve Haux, 1990). Cd'un metal bağlayıcı proteinlere bağlanarak bu dokularda birikmesi, lizozomal veziküller tarafından fagosite edilerek olmaktadır (Erdem, 2005).

Sindirim bezi hücrelerinden metal detoksifikasyonu dışı yoluyla (Ballane-Du Francias ve ark., 1985; Recio ve ark., 1988; Elangovan ve ark., 2000) veya bazal ekzositoz ile hemositlere doğru ve bağ doku tarafından iç organ kütlesi içinde dağıtma şeklinde (Ballane-Du Francias ve ark., 1985) olabilir. Böylece, metaller sindirim bezi epitelinden, mantonun bağ dokusuna doğru (Robinson ve Ryan, 1988) hareket eder. Mikroskopik incelemeler, her iki durumun da *L. stagnalis*'in hepatopankreasında meydana geldiğini göstermiştir. İçeriklerini lümen içine boşaltan bazı sarı granüller

tespit edilmiş, ayrıca yoğun bir dizi granülün sindirim epitelinin bazal membranına geçişi gözlenmiştir (Gopal ve ark., 2009).

Bu çalışmada hepatopankreasta görülen histopatolojik değişiklikler, daha önceki pestisit çalışmalarıyla uyum içindedir (Lajtner, 1996; Otludil ve ark., 2004, Cengiz ve ark., 2005; Ünlü ve ark., 2005). Tatlı su salyangozları üzerinde ağır metallerin oluşturduğu histopatolojik çalışmalar yok denecek kadar az olduğu için, çalışmamızı ancak bu konu üzerindeki pestisit çalışmalarıyla mukayese edebildik. Bu eksiklikten dolayı, ağır metallerin sucul organizmalarda oluşturduğu histopatolojik çalışmalara ağırlık verilmelidir.

Çalışmamızın sonucu, Cd uygulanan salyangozların ikinci derecede etkilenen dokularının ayak olduğunu gösterdi. Yapılan kimyasal analiz sonuçları da histopatolojik çalışmaları destekler niteliktedir. Analiz sonuçlarında da Cd birikiminin ikinci derecede ayak dokusunda olduğu gözlemlendi. Kadmiyumun dokulardaki birikimi, ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış gösterdi.

Cd uygulanan *L. stagnalis* örneklerinin 4 haftalık süreç sonunda ayak dokularında; mukositlerde, pigment hücrelerinde, protein hücrelerinde ve lipid vakuollerinde artış gözlemlendi. Epitelde deskuamasyon ve kas fibrillerinde atrofi oluştu.

Mukosit ve protein hücrelerinin sayısında ve boyutunda artma gözlemlendi. Artan mukus üretiminin ardından mukus salgılanmasındaki artış gastropodların, mekanik uyaran veya molluscicidal kimyasallardan kaynaklı tahriş dahil olmak üzere gastropodların pek çok stres türüne gösterdikleri ilk tepkilerden biridir (Triebkorn ve ark., 1998). Literatürlerde ağır metallerin, *L. stagnalis*'in ayak dokuları üzerine olan histopatolojik etkileri hakkında herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmamızda ayak dokusunda görülen histopatolojik değişiklikler, daha önceki pestisit çalışmalarıyla uyum içindedir (Lajtner, 1996; Otludil ve ark., 2004, Cengiz ve ark., 2005; Ünlü ve

ark., 2005). Bununla beraber, endosulfan (%35 EC), methylparathion quinalphos ve nuvana maruz kalan *Bellamya dissimilis* türü salyangozların ayakları için bildirilen epitel şişmesi (Jonnalagadda ve Rao, 1996), mevcut çalışmamızda gözlenmedi.

Uygulanan EDTA'ya bağlı olarak histopatolojik lezyonların çoğunluğunun geri dönüşümlü olduğu tespit edildi. EDTA ile iyileştirme sürecinin sonunda kas fibrilleri yeniden yoğunlaşmaya başladı ve epitelde yapılanma gözlendi. Mukositler, protein hücreleri ve lipid vakuelleri azaldı. Kimyasal analiz sonuçları da dokudaki Cd birikiminin azaldığını gösterdi.

Çalışmamızın sonucu, Cd uygulanan salyangozların üçüncü derecede etkilenen dokularının manto olduğunu gösterdi. Yapılan kimyasal analiz sonuçları da histopatolojik çalışmaları destekler niteliktedir. Analiz sonuçlarında da Cd birikiminin üçüncü derecede mantoda olduğu gözlendi. Kadmiyumun dokulardaki birikimi, ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış gösterdi.

Cd uygulanan *L. stagnalis* örneklerinin 4 haftalık süreç sonunda manto dokularında; epitel tabakasında deskuamasyon ve kas fibrillerinde atrofi gözlendi. Lipid vakuellerinde yoğunlaşma saptandı.

Ağır metallerin, mollusklerin mantoları üzerine olan histopatolojik etkileri hakkında bilgiye rastlanmamıştır. Manto pulmonatlarda solunum için önemli bir organdır (Luchtel ve Deyrup - Olsen, 2001). Pestisitlere maruz kalan *B. dissimilis*'te manto dokusunun organizasyonunun bozulduğu saptanmıştır (Jonnalagadda ve Rao, 1996). Benzer histopatolojik değişiklikler tatlı su salyangozu *Viviparus bengalensis*'in mantosunda da görülmüştür (Gupta ve Durve, 1986). Sonuç olarak bu çalışmanın histopatolojik gözlemleri, Cd'un subletal konsantrasyonlarının *L. stagnalis*'in vücut dokularında yıkıcı etkilere neden olduğuna işaret etmektedir.

Uygulanan EDTA'ya bağlı olarak histopatolojik lezyonların çoğunluğunun geri dönüşümlü olduğu tespit edildi. EDTA ile iyileştirme sürecinin sonunda kas fibrilleri yeniden yoğunlaşmaya başladı, epitelde yapılanma gözlendi ve lipid vakuolleri azaldı. Kimyasal analiz sonuçları da dokudaki Cd birikiminin azaldığını gösterdi.

Lymnaeidae familyasına ait salyangozların ağır metal birikimine bağlı dokularında meydana gelecek histopatolojik etkiler ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır. Aynı şekilde bu familya üzerinde EDTA'nın koruyucu ve iyileştirici etkisine ait herhangi bir histopatolojik bulguya da rastlanmamıştır. Bu alışma, bu özelliği ile daha sonraki çalışmalara öncül olabilir. Bu alanda daha fazla çalışma yapılmalıdır. Ayrıca ileriki çalışmalarda diğer ağır metallerin de bu canlılar üzerindeki etkileri araştırılmalı ve hatta bu canlıların protein ve DNA yapılarında meydana gelecek değişimlere kadar inilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- ABDALLAH, A.T., MOUSTAFA, M.A., 2002. Accumulation of lead and cadmium in the marine prosobranch *Nerita saxtilis*, chemical analysis, light and electron microscopy. *Environmental Pollution* 116: 185–191.
- BALLANE-DU FRANCIAS, C., JEANTET, A.Y., FAGHALLI, C., HALPERN, S., 1985. Physiological features of heavy metal storage in bivalve digestive cells and amoebocytes: EPMA and factor analysis of correspondences. *Biol. Cell.* 53: 283–292.
- BENSON, W.H., BAER, K.N., WARSON, C.F., 1990. Metallothionein as a biomarker of environmental metal contamination: species dependent effects. *In: McCarthy, J.F., Shugart, L.R. (Eds.) Biomarkers of Environmental Contamination.* Lewis Publishers, Florida, pp: 255-265.
- BHAVAN, P.S., GERALDINE, P., 2000. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology* 50: 331–339.
- BROOKS, A.W., WHITE, K.N., 1995. The localization of aluminium in the digestive gland of the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Tissue Cell*, 27: 61–72.
- BURGER, J., 2008. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Science of the Total Environment* 389(1): 37–45.
- CARRIKER, M.R., BLISTAD, H.M., 1946. Histology of the alimentary system of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 65: 250–275.
- CENGİZ, E.İ., YILDIRIM, M.Z., OTLUDİL, B., ÜNLÜ, E., 2005. Histopathological effects of Thiodan® on the freshwater snail *Galba truncatula* (Gastropoda, Pulmonata). *Journal of Applied Toxicology* 25: 464-469.

- CHYB, J., KIME, D.E., MIKOLAJCZYK, T., SZCZERBIK, P., EPLER, P., 2000. The influence of zinc on sperm motility of common carp - A computer assisted studies. *Archives of Polish Fisheries* 8 (1): 5-14.
- COEURDASSIER, M., DE VAUFLEURY, A., BADOT, P.M., 2003. Bioconcentration of Cadmium and Toxic Effects on Life-History Traits of Pond Snails (*Lymnaea palustris* and *Lymnaea stagnalis*) in Laboratory Bioassays. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 45: 102–109.
- COEURDASSIER, M., DE VAUFLEURY, A., SCHEIFLER, R., MORHAIN, E., BADOT, P.M., 2004. Effects of Cadmium on the Survival of Three Life-Stages of the Freshwater Pulmonate *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72: 1083–1090.
- DALLINGER, R., BERGER, B., 1993. Function of metallothionein in terrestrial gastropods. *Sci. Total Environ.* 141 (Suppl.): 607–615.
- DALLINGER, R., JANSSEN, H.H., BAUER-HILTY, A., BERGER, B., 1993. Characterisation of an inducible Cd-binding protein from hepatopancreas of metal exposed slug (Arionidae: Mollusca). *Comp. Biochem. Physiol.* 92C: 355–360.
- DALLINGER, R., BERGER, B., GRUBER, C., HUNZIKER, P., STURZENBAUM, S., 2000. Metallothioneins in terrestrial invertebrates: structural aspects, biological significance and implications for their use as biomarkers. *Cell Mol. Biol.* 46 (2): 331–346.
- DESOUKY, M.M.A., 2006. Tissue distribution and subcellular localization of trace metals in the pond snail *Lymnaea stagnalis* with special reference to the role of lysosomal granules in metal sequestration. *Aquatic Toxicology* 77: 143–152.
- DICTUS W.J., DE JONG-BRINK, M., BOER, H.H., 1987. A neuropeptide (Calfluxin) is involved in the influx of calcium into mitochondria of the albumen gland of the

- freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. Gen. Comp. Endocrinol. 65(3): 439-450.
- DURAN, M. 2006. Monitoring water quality using benthic macroinvertebrates and physicochemical parameters of the Behzat Stream (Tokat, N TURKEY). Polish Journal of Environmental Studies 15(5): 709-717.
- ELANGOVA, R., WHITE, K.N., MCCROHAN, C.R., 1997. Bioaccumulation of aluminium in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* at neutral pH. Environmental Pollution 96 (1): 29-33.
- ELANGOVA, R., MCCROHAN, C.R., BALLANCE, S., POWELL, J.J., WHITE, K.N., 2000. Localization and fate of aluminium in the digestive gland of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. Tissue & Cell 32 (1): 79-87.
- ERDEM, C., CİCİK, B., KARAYAKAR, S., KARAYAKAR, F., KARAYTUĞ, S., 2005. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)'da kadmiyum'un solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve kas dokularındaki birikim ve arıtımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi Cilt: 1, Sayı: 2: 18-26.
- FLEEGER, J.W., CARMAN, K.R., NISBET, R.M., 2003. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. The Science of the Total Environment 317: 207-233
- FRIBERG, L., PISCATOR, M., NORDBERG, G.F., KJELLSTROM, T., 1974. Cadmium in the environment. CRS Press, Cleveland.
- GERHARDT, A., 1992. Acute toxicity of Cd in stream invertebrates in relation to pH and test design. Hydrobiologia 239: 93-100.
- GHOSAL, K.T., KAVIRAJ, A., 2002. Combined effects of cadmium and composted manure to aquatic organisms. Chemosphere 46: 1099-1105.
- GOLOVANOVA, I.L., 2008. Effects of Heavy Metals on the Physiological and Biochemical Status of Fishes and Aquatic Invertebrates. Inland Water Biology

- 1(1): 93–101.
- GOMOT, A., 1998. Toxic Effects of cadmium on Reproduction, Development and Hatching in the Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* for Water Quality Monitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 41 (3): 288-297.
- GOPAL, R., NARMADA, S., VIJAYAKUMAR, R., JALEEL, C.A., 2009. Chelating efficacy of CaNa₂ EDTA on nickel-induced toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) through its effects on glutathione peroxidase, reduced glutathione and lipid peroxidation. *Comptes Rendus Biologies* 332: 685–696.
- GREEN, D.W.J., WILLIAMS, K.A., PASCOE, D., 1986. The acute and chronic toxicity to cadmium to different life history stages of the freshwater crustacean *Asellus aquaticus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 465–471.
- GUPTA, P.K., DURVE, V.S., 1986. Histopathological changes induced by pentachlorophenol and sodium pentachlorophenate in the mantle of the freshwater snail *Viviparus bengalensis* (L). *Acta Hydrochim. Hydrobiologia*, 14: 433–437.
- GURR, E., 1972. *Biological Staining Methods*. Kent Printers. 143. Tonbridge.
- HALL, W.S., PAULSON, R.L., HALL, L.W., BURTON, D.T., 1986. Acute toxicity of cadmium and sodium pentachlorophenate to daphnids and fish. *Bull Environ Contam Toxicol* 37: 308–316.
- HOGSTRAND, C.L., HAUX, C., 1990. Metallothionein as an indicator of heavy metal exposure in two subtropical fish species. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, 138: 69-84.
- HOPKIN, S.P., 1986. Ecophysiological strategies of terrestrial arthropods for surviving heavy metal pollution. *In: Velthuis, H.H.W. (ed) Proceedings of the Third European Congress of Entomology*. Amsterdam, Nederlandse Entomologische Vereniging, 263–266.
- IRELAND, M.B., 1981. Uptake and distribution of cadmium in the terrestrial slug,

- Arion ater* (L.). Comp. Biochem. Physiol. 68A: 37–41.
- JONNALAGADDA, P.R., RAO, B.P., 1996. Histopathological changes induced by specific pesticides on some tissues of the fresh water snail, *Bellamya dissimilis* Müll. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 57: 648–654.
- KAHVECİOĞLU, Ö., KARTAL, G., GÜVEN, A., TİMUR, S., 2003. Metallerin Çevresel Etkileri I. Metalürji Dergisi 136: 47-53.
- KALAY, M., KARATAŞ, S., 1999. Kadmiyumun *Tilapia nilotica* (L.)’da Kas, Beyin ve Kemik (Omurga Kemiği) Dokularındaki Birikimi. Turk J Zool 23(3): 985-991.
- KALYONCU, H., BARLAS, M. YILDIRIM, M.Z., YORULMAZ, B., 2008. Gastropods of Two Important Streams of Gökova Bay (Mugla, Turkey) and Their Relationships with Water Quality. International Journal of Science & Technology 3(1): 27-36.
- KAMMENGA, J.E., DALLINGER, R., DONKER, M.H., KOHLER, H.R., SIMONSEN, V., TRIEBSKORN, R., WEEKS, J.M., 2000. Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 164: 93-147.
- KARGIN, F., 1996. Elimination of Cadmium from Cd-Contaminated *Tilapia zilli* in Media Containing EDTA and Freshwater: Changes in Protein Levels. Bull Environ Contam Toxicol. 57:211-216.
- KARGIN, F., ÇOĞUN, H.Y., 1999. Metal interactions during accumulation and elimination of Zinc and Cadmium in tissues of the freshwater fish *Tilapia nilotica*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 63: 511-519.
- KAZANCI, G., GIRGIN, S., 1998. Distribution of Oligochaeta species as bioindicators of organic pollution in Ankara stream and their use in biomonitoring. Turk J Zool 22: 83-87.

- KLOBUCAR, G.I.V., LAJTNER, J., ERBEN, R., 1997. Lipid Peroxidation and Histopathological Changes in the Digestive Gland of a Freshwater Snail *Planorbarius corneus* L. (Gastropoda, Pulmonata) Exposed to Chronic and Sub-Chronic Concentrations of PCP. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58: 128-134.
- KOŞAL ŞAHİN, S., YILDIRIM, M.Z., 2007. The Mollusk Fauna of Lake Sapanca (Turkey: Marmara) and Some Physico-Chemical Parameters of Their Abundance. Turk J Zool 31: 47-52.
- KRUGLOV, N.D., STAROBOGATOV, Y.I., 1993. Annotated and illustrated catalogue of species of the family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata, *Lymnaeiformes*) of Palaearctic and adjacent river drainage areas, Part 1. Ruthenica 1: 65–92.
- LAJTNER J, ERBEN R, KLOBUCAR G.I.V., 1996. Histopathological effects of phenol on the digestive gland of *Amphimelania holandri* Fer (Gastropoda, Prosobranchia). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 57: 458–464
- LAM, P.K.S., YU, K.N., NG, K.P., CHONG, M.W.K., 1997. Changes in cadmium concentrations in the viscera and foot of *B. hainanensis* during the uptake and depuration phases are shown in Cadmium Uptake and Depuration in the soft tissues of *Brotia hainanensis* (Gastropoda: Prosobranchia: Thiaridae): A Dynamic Model. Chemosphere 35(11): 2449-2461.
- LEUNG, K.M.Y., IBRAHİM, H., DEWHURST, R.E., MORLEY, N.J., CRANE, M., LEWIS, J.W., 2003. Concentrations of Metallothionein-Like Proteins and Heavy Metals in the Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* Exposed to Different Levels of Waterborne Cadmium. Bull. Environ. Contam. Toxicol, 71(5): 1084-1090.
- LUCHTEL, D.L., DEYRUP-OLSEN, I., 2001. Body wall: form and function. In *Biology of Terrestrial Molluscs*, Barker GM (ed.) CABI Publishing: New York; 147–178.

- MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M.P., ANGULO, E., GIAMBERINI, L., 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Techniques* 56: 358-392.
- MASON, C.F., LAST, N.I., MACDONALD, S.M., 1986. Mercury, cadmium and lead in British otters. *Bull Environ Contam Toxicol* 37: 844-849.
- MEBANE, C.A., HENNESSY, D.P., DILLON, F.S., 2008. Developing Acute-to-chronic Toxicity Ratios for Lead, Cadmium, and Zinc using Rainbow Trout, a Mayfly, and a Midge. *Water Air Soil Pollution* 188: 41–66.
- METCALFE, J.L., 1998. Biological water quality assessment of running waters based on Macroinvertebrate communities: history and present status in Europe. *Env. Pollution* 60: 101-139.
- MICHALIK-KUCHARZ, A., 2008. The occurrence and distribution of freshwater snails in a heavily industrialised region of Poland (Upper Silesia). *Limnologica* 38: 43–55.
- MURAMOTO, S., 1982. Reduction of Cd in a Cd-contaminated fish by long-term exposure to EDTA and fresh-water. *J Environ Sci Healt* 17: 67-74.
- OTLUDİL B, CENGİZ E.İ., YILDIRIM, M.Z., ÜNLÜ, E., 2004. The effects of endosulfan on the great ramshorn snail *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study. *Chemosphere* 56 (7): 707-716.
- PECZENIK, O., 1925. Über die intrazelluläre eiweißverdauung in der mitteldarmdrüse von *Lymnaea*. *Z. Vergl. Physiol.*, 2: 215–225.
- PIP, E., 1992. Cadmium, copper and lead in gastropods of the Lower Nelson River system, Manitoba, Canada. *J Moll Stud* 58: 199-205.
- PRESING, M., BALOGH, K.V., SALANKI, J., 1993. Cadmium uptake and depuration in different organs of *Lymnaea stagnalis* L. and the effect of cadmium on the

- natural zinc level. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 24(1): 28-34.
- PYATT, F.B., PYATT, A.J., PENTREATH, V.W., 1997. Distribution of metals and accumulation of lead by different tissues in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* (L.). Environmental Toxicology and Chemistry 16(6): 1393–1395.
- PYATT, A.J., PYATT, F.B., PENTREATH, V.W., 2002. Lead toxicity, locomotion and feeding in the freshwater snail, *Lymnaea stagnalis* (L.). Invert Neurosci 4: 135–140.
- RAVERA, O., 1991. Influence of heavy metals on the reproduction and embryonic development of freshwater pulmonates (Gastropoda: Mollusca) and cladocerans (Crustacea; Arthropoda). Comp. Biochem. Physiol. C., 100: 215–219.
- RECIO, A., MARIGOMEZ, J.A., ANGULO, E., MOYA, J., 1988. Zinc treatment of the digestive gland of the slug, *Arion ater* L. 1. Cellular distribution of zinc and cadmium. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 41: 858–864.
- ROBINSON, W.E., RYAN, D.K., 1988. Transport of cadmium and other metals in the blood of the bivalve molluscs, *Mercenaria mercenaria*. Mar. Biol. 97: 101–109.
- ROZSA, K., SALANKI, J., PRESING, M., 1988. Use of *Lymnaea stagnalis* in monitoring heavy metal pollution. In: Yasuno M, Whitton BA (eds) Biological monitoring and environmental pollution. Tokai University Press, Tokyo, pp 247–255.
- RUANGSOMBOON, S., WONGRAT, L., 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*. Aquatic Toxicology 78: 15–20.
- SHI, D., WANG, W.X., 2004. Understanding the difference in Cd and Zn bioaccumulation and subcellular storage among different population of marine

- clams. Environ. Sci. Technol. 38 (2): 449–456.
- SNYMAN, R.G., REINECKE, A.J., REINECKE, S.A., 2005. Quantitative changes in the digestive gland cells of the snail *Helix aspersa* after exposure to the fungicide copper oxychloride. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 47–52.
- SORENSEN, E.M., 1991. Metal Poisoning in Fish. VI. Cadmium; CRC Press: Boca Raton, 175-234.
- STRONG, E.E., GARGOMINY, O., PONDER, W.F., BOUCHET, P., 2008. Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. Hydrobiologia 595: 149–166.
- SUNDA, W.G., ENGEL, D.W., THUOTTE, R.M., 1978. Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, *Palaemonetes pugio*: Importance on free cadmium ion. Environ Sci Technol 12: 409-413.
- TANHAN, P., SRETARUGSA, P., POKETHITIYOOK, P., KRUAATCHUE, M., UPATHAM E. S., 2005. Histopathological Alterations in the Edible Snail, *Babylonia areolata* (Spotted Babylon), in Acute and Subchronic Cadmium Poisoning. Environmental Toxicology 20(2): 142-149.
- TAYLAN, Z.S., ÖZKOÇ, H.B., 2007. Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği Balıkesir Üniv. FBE Dergisi 9(2): 17-33.
- THORNE, R.S., WILLIAMS, W.P., 1997. The response of benthic macroinvertebrate to pollution in developing countries: A multimeric system of bioassessment, Freshwater Biology 13(1): 57-73.
- TIMBRELL, A.J., 1991. Toxic responses of to foreign compounds. In Principles of Biochemical Toxicology. Second Edition, Taylor and Francis, London.
- TRIEBSKORN, R., CHRISTENSEN, K., HEIM, I., 1998. Effects of orally and

- dermally applied metaldehyde on mucus cells of slugs (*Deroceras reticulatum*) depending on temperature and duration of exposure. J. Mollus. Stud. 64: 467–487.
- ÜNLÜ, E., CENGİZ, E.İ., YILDIRIM, M.Z., OTLUDİL, B., ÜNVER, Ö., 2005. Histopathological effects in tissues of snail *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) exposed to sublethal concentration of Thiodan® and recovery after exposure. Journal of Applied Toxicology 25(6): 459-463.
- YASOSHIMA, M., MATSUO, M., KUNO, A., TAKANU, B., 2001. Studies on intake of heavy metals by *Bradybaena similaris*, land snails, by XAFS measurements. J. Synchrotron Radiat. 18 (2): 969–971.
- YILDIRIM, M.Z., 1999. Türkiye Prosobranchia (Gastropoda: Mollusca) Türleri ve Zoocoğrafik Yayılışları 1. Tatlı ve Acı Sular. Turk J Zool 23, Ek Sayı 3: 877-900.
- YILDIRIM, M.Z., 2004. The Gastropods of Lake Eğirdir. Turk J Zool 28: 97-102.
- YILDIRIM, M.Z., GÜMÜŞ, A.B., KEBAPÇI, Ü., KOCA, S.B. 2006. The Basommatophoran Pulmonate Species (Mollusca: Gastropoda) of Turkey. Turk J Zool 30: 445-458.
- WRIGHT, D.A., WELBOURN, P.M., 1994. Cadmium in the aquatic environment: A review of ecological, physiological, and toxicological effects of biota. Environ Rev 2: 187–214.
- ZALDIBAR, B., CANCIO, I., SOTO, M., MARIGOMEZ, I., 2007. Digestive cell turnover in digestive gland epithelium of slugs experimentally exposed to a mixture of cadmium and kerosene. Chemosphere 70: 144–154
- ZALDIBAR, B., CANCIO, I., SOTO, M., MARIGOMEZ, I., 2008. Changes in cell-type composition in digestive gland of slugs and its influence in biomarkers following transplantation between a relatively unpolluted and a chronically metal-polluted site. Environmental Pollution 156: 367-379.

- ZHADIN, V.I., 1965. Mollusks of Fresh and Brackish Water of The U.S.S.R. Zoological Institute of The Academy Sciences of The Union of Soviet Socialist Republics. Israel Program for Scientific Translations. 46: 1-368. Jerusalem.
- ZYADAH, M.A., ABDEL-BAKY, T.E., 2000. Toxicity and Bioaccumulation of Copper, Zinc, and Cadmium in Some Aquatic Organisms. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 64: 740-747.
- ZYLSTRA, U., BOER, H.H., SMINIA, T., 1978. Ultrastructure, Histology, and Innervation of the Mantle Edge of the Freshwater Pulmonate Snails *Lymnaea stagnalis* and *Biomphalaria pfeifferi*. Calcified Tissue Research 26: 271-282.

EK-1. RESİM LİSTESİ

Resim 1. *L. stagnalis*'de kabuğun dorsalden ve ventralden görünüşü.

Resim 2. I. grup, kontrol ayak.

Resim 3. II. grup (63.4 µg/l), 7. gün, ayak enine kesiti.

Resim 4. III. grup (63.4 µg/l), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 5. IV. grup (63.4 µg/l), 21. gün, ayak enine kesiti.

Resim 6. V. grup (63.4 µg/l), 28. gün, ayak enine kesiti.

Resim 7. I. grup (EDTA), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 8. II. grup (EDTA), 24. gün, ayak enine kesiti.

Resim 9. II. grup (31.7 µg/l), 7. gün, ayak enine kesiti.

Resim 10. III. grup (31.7 µg/l), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 11. IV. grup (31.7 µg/l), 21. gün, ayak enine kesiti.

Resim 12. V. grup (31.7 µg/l), 28. gün, ayak enine kesiti.

Resim 13. I. grup (EDTA), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 14. II. grup (EDTA), 24. gün, ayak enine kesiti.

Resim 15. II. grup (15.85 µg/l), 7. gün, ayak enine kesiti.

Resim 16. III. grup (15.85 µg/l), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim17. IV. grup (15.85 µg/l), 21. gün, ayak enine kesiti.

Resim 18. V. grup (15.85 µg/l), 28. gün, ayak enine kesiti.

Resim 19. I. grup (EDTA), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 20. II. grup (EDTA), 24. gün, ayak enine kesiti.

Resim 21. II. grup (7.92 µg/l), 7. gün, ayak enine kesiti.

Resim 22. III. grup (7.92 µg/l), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 23. IV. grup (7.92 µg/l), 21. gün, ayak enine kesiti.

Resim 24. V. grup (7.92 µg/l), 28. gün, ayak enine kesiti.

Resim 25. I. grup (EDTA), 14. gün, ayak enine kesiti.

Resim 26. II. grup (EDTA), 24. gün, ayak enine kesiti.

Resim 27. I. grup, kontrol, manto enine kesiti.

Resim 28. II. grup (63.4 µg/l), 7. gün, manto enine kesiti

Resim 29. III. grup (63.4 µg/l), 14. gün, manto enine kesiti.

Resim 30. IV. grup (63.4 µg/l), 21. gün, manto enine kesiti.

Resim 31. V. grup (63.4 µg/l), 28. gün, manto enine kesiti.

Resim 32. I. grup (EDTA), 14. gün, manto enine kesiti.

Resim 33. II. grup (EDTA), 24. gün, manto enine kesiti.

Resim 34. II. grup (31.7 µg/l), 7. gün, manto enine kesiti.

Resim 35. III. grup (31.7 µg/l), 14. gün, manto enine kesiti.

Resim 36. IV. grup (31.7 µg/l), 21. gün, manto enine kesiti.

Resim 37. V. grup (31.7 µg/l), 28. gün, manto enine kesiti.

Resim 38. I. grup (EDTA), 14. gün, manto enine kesiti.

Resim 39. II. grup (EDTA), 24. gün, manto enine kesiti.

Resim 40. II. grup (15.85 µg/l), 7. gün, manto enine kesiti.

Resim 41. III. grup (15.85 µg/l), 14. gün, manto enine kesiti.

Resim 42. IV. grup (15.85 µg/l), 21. gün, manto enine kesiti.

Resim 43. V. grup (15.85 µg/l), 28. gün, manto enine kesiti.

Resim 44. I. grup (EDTA), 14. gün, manto enine kesiti.

Resim 45. II. grup (EDTA), 24. gün, manto enine kesiti.

Resim 46. II. grup (7.92 µg/l), 7. gün, manto enine kesiti.

- Resim 47.** III. grup (7.92 µg/l), 14. gün, manto enine kesiti.
- Resim 48.** IV. grup (7.92 µg/l), 21. gün, manto enine kesiti.
- Resim 49.** V. grup (7.92 µg/l), 28. gün, manto enine kesiti.
- Resim 50.** I. grup (EDTA), 14. gün, manto enine kesiti.
- Resim 51.** II. grup (EDTA), 24. gün, manto enine kesiti.
- Resim 52.** I. grup, kontrol, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 53.** II. grup (63.4 µg/l), 7. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 54.** III. grup (63.4 µg/l), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 55.** IV. grup (63.4 µg/l), 21. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 56.** V. grup (63.4 µg/l), 28. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 57.** I. grup (EDTA), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 58.** II. grup (EDTA), 24. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 59.** II. grup (31.7 µg/l), 7. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 60.** III. grup (31.7 µg/l), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 61.** IV. grup (31.7 µg/l), 21. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 62.** V. grup (31.7 µg/l), 28. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 63.** I. grup (EDTA), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 64.** II. grup (EDTA), 24. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 65.** II. grup (15.85 µg/l), 7. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 66.** III. grup (15.85 µg/l), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 67.** IV. grup (15.85 µg/l), 21. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 68.** V. grup (15.85 µg/l), 28. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 69.** I. grup (EDTA), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.
- Resim 70.** II. grup (EDTA), 24. gün, hepatopankreas enine kesiti.

Resim 71. II. grup (7.92 µg/l), 7. gün, hepatopankreas enine kesiti.

Resim 72. III. grup (7.92 µg/l), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.

Resim 73. IV. grup (7.92 µg/l), 21. gün, hepatopankreas enine kesiti.

Resim 74. V. grup (7.92 µg/l), 28. gün, hepatopankreas enine kesiti.

Resim 75. I. grup (EDTA), 14. gün, hepatopankreas enine kesiti.

Resim 76. II. grup (EDTA), 24. gün, hepatopankreas enine kesiti.

EK-2. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Laboratuvar şartlarında kurulan akvaryumdaki suyun kimyasal özellikleri

Tablo 2. 1 litre su için kadmiyum konsantrasyonları.

Tablo 3. 1 litre sudaki EDTA konsantrasyonları.

Tablo 4. Deney sırasında ölen salyangozlar.

Tablo 5. Kadmiyum analizi için çözünürleştirme işlem basamakları.

Tablo 6. Kadmiyuma maruz kalan ayak dokularında saptanan lezyonların kalitatif değerlendirilmesi.

Tablo 7. EDTA'ya maruz kalan ayak dokularında lezyonların iyileştirilmesinin kalitatif değerlendirilmesi

Tablo 8. Kadmiyuma maruz kalan manto dokularında saptanan lezyonların kalitatif değerlendirilmesi.

Tablo 9. EDTA'ya maruz kalan manto dokularında lezyonların iyileştirilmesinin kalitatif değerlendirilmesi.

Tablo 10. Kadmiyuma maruz kalan hepatopankreas dokularında saptanan lezyonların kalitatif değerlendirilmesi.

Tablo 11. EDTA'ya maruz kalan hepatopankreas dokularında lezyonların iyileştirilmesinin kalitatif değerlendirilmesi.

EK-3. GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. I. grup kontrol, salyangozlarda 28 gün boyunca kadmiyumsuz ortamda ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

Grafik 2. II. grup (63.4 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

Grafik 3. III. grup (31.7 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

Grafik 4. IV. grup (15.85 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

Grafik 5. V. grup (7.92 µg/l), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum birikimindeki değişiklikler.

Grafik 6. II. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

Grafik 7. III. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

Grafik 8. IV. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

Grafik 9. V. grup (EDTA), salyangozlarda 28 gün boyunca ayak, manto ve hepatopankreas dokularında kadmiyum eliminasyonundaki değişiklikler.

ÖZGEÇMİŞ

1975 doğumlu olup, ilk, orta ve lise öğrenimini Diyarbakır'da tamamladı. 1993 yılında Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı ve 1997 yılında aynı bölümden mezun oldu. 1998 yılında Milli Eğitim Bakanlığı'nın atamasıyla Diyarbakır'a öğretmen olarak atandı. Halen Diyarbakır Faik Ali İ.Ö.O.'unda görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.

Serpil BÜRÇÜN KARAKAŞ