



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SARIÇAY (ÇANAKKALE)'DAKİ ÇEVRESEL PARAMETRELERİN
PELOPHYLAX BEDRIAGAE VE *MAUREMYS RIVULATA* TÜRLERİ
ÜZERİNDE HEMATOLOJİK VE GENOTOKSİKOLOJİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

BEGÜM BORAN

**Tez Danışmanı
PROF. DR. ÇİĞDEM GÜL**

ÇANAKKALE – 2022



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SARIÇAY (ÇANAKKALE)'DAKİ ÇEVRESEL PARAMETRELERİN
PELOPHYLAX BEDRIAGAE VE MAUREMYS RIVULATA TÜRLERİ
ÜZERİNDE HEMATOLOJİK VE GENOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEGÜM BORAN

Tez Danışmanı
PROF. DR. ÇİĞDEM GÜL

Bu çalışma, ÇOMÜ BAP kurumu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2021-3727

ÇANAKKALE – 2022

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Begüm BORAN

05/08/2022

TEŞEKKÜR

Bu tezin her aŐamasında ve t¼m çalıŐmam s¼resince bilgi birikimini ve desteğini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. ığdem G¼L'e, arazi ve laboratuvar çalıŐmalarımnda her zaman yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Murat TOSUNOğLU'na, çalıŐmalarım sırasında yardımlarını ve manevi desteklerini her daim hissettiğim baŐta değerli hocam Bengi BAYCAN olmak üzere ekip arkadaşlarım Ceren Nur ÖZG¼L, Didem KURTUL ve İbrahim UYSAL'a, hayatımın her evresinde bana destek olan sevgili annem Emine BORAN'a ve babam Osman Nuri BORAN'a sonsuz teŐekk¼rlerimi sunarım.

Beg¼m BORAN
anakkale, Ağustos 2022

ÖZET

SARIÇAY (ÇANAKKALE)'DAKİ ÇEVRESEL PARAMETRELERİN *PELOPHYLAX BEDRIAGAE* VE *MAUREMYS RIVULATA* TÜRLERİ ÜZERİNDE HEMATOLOJİK VE GENOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Begüm BORAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Çiğdem GÜL

05/08/2022, 65

Bu çalışmada, Sarıçay'ın farklı su kalitelerine sahip olan iki lokalitesinde yaşayan *Pelophylax bedriagae* (Levanten Ova Kurbağası) (Camerano, 1882) (12♂♂, 8♀♀), *Mauremys rivulata* (Balkan Çizgili Kaplumbağası) (Valenciennes, 1833) (4♂♂, 17♀♀) türlerine ait toplam 41 adet örneğin, yaşam ortamlarındaki bazı ekolojik parametrelerden etkilenip etkilenmediği hematolojik ve genotoksikolojik analizler yapılarak belirlenmiştir. Klinik hematolojiye ait eritrosit sayısı, eritrometrik ölçümler, lökosit sayısı, lökosit tipleri (lökosit formülü), hemoglobini değeri, hematokrit değeri, ortalama eritrosit hacmi (OEH), ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHbK); genotoksikolojik analizler kapsamında nükleer anormallik frekansları ve kandaki ağır metal birikimleri incelenmiştir.

Analizler için kurbağaların orta abdominal veninden, kaplumbağaların ise dorsal kaudal veninden alınan kan örneklerinin bir kısmı eser element tüplerine aktarıldıktan sonra santrifüj edilerek elde edilen plazma kısmı ağır metal analizine gönderilmiştir. Diğer hematolojik parametreler manuel olarak veya preparatlar üzerinde gerekli incelemeler yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak; yaşadıkları habitatların su kalitesine göre *P. bedriagae* türünde mikronükleus, loblu nükleus, çentikli nükleus, böbrek şekilli nükleus, tomurcuklu nükleus ve total nükleer anormallik frekanslarında; *M. rivulata*'da ise hematokrit değerinde, lenfosit,

eozinofil, heterofil ve bazofil yüzdelerinde, eritrosit genişliği değerinde, loblu ve böbrek şekilli nükleus frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pelophylax bedriagae*, *Mauremys rivulata*, Hematoloji, Genotoksikoloji, Ağır Metal Birikimi, Sarıçay.



ABSTRACT

DETERMINATION OF HEMATOLOGICAL AND GENOTOXICOLOGICAL EFFECTS OF ENVIRONMENTAL PARAMETERS ON *PELOPHYLAX BEDRIAGAE* AND *MAUREMYS RIVULATA* SPECIES IN SARIÇAY (ÇANAKKALE)

Begüm BORAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Prof. Dr. Çiğdem GÜL

05/08/2022, 65

In this study, hematological and genotoxicological analyzes on a total of 41 specimens of *Pelophylax bedriagae* (Levant Marsh Frog) (12♂♂, 8♀♀), *Mauremys rivulata* (Balkan Terrapin) (4♂♂, 17♀♀) species from two localities with different water qualities of Sariçay, whether they were affected by some ecological parameters of the water that they lived. Within the context of clinical hematology; erythrocyte count, erythrometric measurements, leukocyte count, leukocyte types (leukocyte formula), hemoglobin value, hematocrit value, mean erythrocyte volume (MCV), mean erythrocyte hemoglobin (MCH), mean erythrocyte hemoglobin concentration (MCHC) and in the context of genotoxicological analyzes; nuclear abnormality frequencies and heavy metal accumulations in the blood were investigated.

Blood was taken from the middle abdominal vein of frogs and the dorsal caudal vein of turtles. The blood samples were transferred to trace element tubes, and the plasma obtained by centrifugation was sent for heavy metal analysis. Other hematological analyzes were performed manually or by making necessary examinations on the blood smears.

As a result; in *Pelophylax bedriagae* statistically significant differences were found in the frequencies of micronucleus, lobbed nuclei, notched nuclei, kidney-shaped nuclei, blebbed nuclei and total nuclear abnormality; and in *Mauremys rivulata*, statistically

significant differences were found in hematocrit value, lymphocyte, eosinophil, heterophile and basophil percentages, erythrocyte width value, lobbed and kidney-shaped nuclei frequencies according to the water quality of their habitats.

Keywords: *Pelophylax bedriagae*, *Mauremys rivulata*, Hematology, Genotoxicology, Heavy Metal Accumulation, Sarıçay.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

6

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

9

3.1. Araştırma Bölgesinin Tanımı.....	9
3.2. Örneklerin Toplanması.....	10
3.3. Alınan Morfolojik Ölçümler.....	12
3.4. Kan Alım Yöntemleri.....	13
3.5. Hematolojik Analizler.....	13
3.5.1. Eritrosit Sayımı.....	14
3.5.2. Lökosit Sayımı.....	14
3.5.3. Hemoglobın Tayini.....	15
3.5.4. Hematokrit Tayini.....	15
3.5.5. Eritrosit İndeksleri.....	16

3.5.6. Lökosit Tiplerinin Belirlenmesi (Lökosit Formülü).....	17
3.5.7. Eritrometrik Ölçümler.....	17
3.6. Genotoksikolojik Analizler.....	18
3.6.1. Mikronükleus Testi.....	18
3.6.2. Su ve Kanda Ağır Metal Analizleri.....	18
3.7. İstatistiksel Analizler.....	19

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Su Örneklerinde Ağır Metal Analizleri.....	20
4.2. <i>Pelophylax bedriagae</i> Türüne Ait Morfolojik Ölçümler.....	23
4.3. <i>Pelophylax bedriagae</i> Türüne Ait Hematolojik Analizler.....	23
4.3.1. Eritrometrik Ölçümler.....	28
4.4. <i>Pelophylax bedriagae</i> Türüne Ait Genotoksikolojik Analizler.....	30
4.4.1. Mikronükleus Testi.....	30
4.4.2. Kan Örneklerinde Ağır Metal Analizleri.....	33
4.5. <i>Mauremys rivulata</i> Türüne Ait Morfolojik Ölçümler.....	35
4.6. <i>Mauremys rivulata</i> Türüne Ait Hematolojik Ölçümler.....	35
4.6.1. Eritrometrik Ölçümler.....	40
4.7. <i>Mauremys rivulata</i> Türüne Ait Genotoksikolojik Analizler.....	42
4.7.1. Mikronükleus Testi.....	42
4.7.2. Kan Örneklerinde Ağır Metal Analizleri.....	46

BEŞİNCİ BÖLÜM SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Sonuç.....	48
5.2. Öneriler.....	50
KAYNAKÇA	51
EKLER.....	I
EK-1 ETİK KURUL İZİN BELGESİ.....	I
EK-2 AKADEMİK ÇALIŞMA BEYANI	II
EK-3 KONGRE KATILIM BELGESİ	III
ÖZGEÇMİŞ	IV

SİMGELER VE KISALTMALAR

♂♂	Erkek Birey
♀♀	Dişi Birey
'	Dakika
%	Yüzde Oranı
°	Derece
"	Saniye
m	metre
mg/L	Miligram/Litre
g	Gram
mm	Milimetre
ml	Mililitre
mm ³	Milimetre Küp
g/dL	Gram/Desilitre
rpm	Dakikadaki devir sayısı
µ ³	Mikrometre Küp
µµg	Mikromikrogram (Pikogram)
µm ²	Mikrometre Kare
ug/L	Ünite Alkol
µm	Mikrometre
mg/kg	Miligram/Kilogram
OEH	Ortalama Eritrosit Hacmi
OEHb	Ortalama Eritrosit Hemoglobini
OEHbK	Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
K2 EDTA	K2-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
NO ₂	Azot Dioksit
NO ₃	Nitrat
NH ₄	Amonyum
PO ₄	Fosfat
Org. PO ₄	Organik Fosfat
SiO ₂	Silisyum Dioksit
Ca	Kalsiyum

Mg	Magnezyum
Fe	Demir
Ni	Nikel
Zn	Çinko
Cu	Bakır
Pb	Kurşun
Mn	Mangan
Cd	Kadmiyum
Cr	Krom
As	Arsenik
Hg	Cıva
K	Kuzey
D	Doğu
SKKY	Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği
VA	Vücut Ağırlığı
BGU	Baş+Gövde Uzunluğu
KDU	Karapasin Doğrusal Uzunluğu
EU	Eritrosit Uzunluğu
EG	Eritrosit Genişliği
NU	Nükleus Uzunluğu
NG	Nükleus Genişliği
NR	Nükleositol plazmik Oran
EB	Eritrosit Boyutu
NB	Nükleus Boyutu
MN	Mikronükleus
MAKÜ	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve
BİLTEKMER	Araştırma Merkezi
ÇOBİLTUM	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
Al	Alüminyum
B	Bor
Ba	Baryum
Co	Kobalt

K	Potasyum
Na	Sodyum
P	Fosfor
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
Min-Maks	Minimum ve Maksimum Değer
Ort	Ortalama Değer
SE	Standard Error
SD	Standard Deviation



TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	SKKY (Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği)'ye göre bazı fiziksel su kalitesi parametrelerine göre kalite sınıfları (SKKY, 2004)....	10
Tablo 2	Çalışılan 2 farklı lokaliteden alınan su örneklerine ait fizikokimyasal parametreler ve bazı ağır metal konsantrasyonları (-; Tespit edilememiştir.).....	21
Tablo 3	<i>P. bedriagae</i> örneklerinin klinik hematoloji parametrelerine ait ortalama değerler.....	24
Tablo 4	<i>P. bedriagae</i> örneklerinin lökosit formülüne ait ortalama değerler	26
Tablo 5	Lokalitelere göre <i>P. bedriagae</i> örneklerinin eritrometrik ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistik sonuçları	29
Tablo 6	Lokalitelere göre <i>P. bedriagae</i> örneklerinde gerçekleştirilen mikronükleus ve diğer nükleer anormalliklere ait tanımlayıcı istatistik sonuçları.....	31
Tablo 7	Çalışılan 2 farklı lokaliteden alınan örneklerin kanlarındaki bazı ağır metal konsantrasyonları (-; Tespit edilememiştir.).....	34
Tablo 8	<i>M. rivulata</i> örneklerinin klinik hematoloji parametrelerine ait ortalama değerler.....	35
Tablo 9	<i>M. rivulata</i> örneklerinin lökosit formülüne ait ortalama değerler.....	38
Tablo 10	Lokalitelere göre <i>M. rivulata</i> örneklerinin eritrosit ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistik sonuçları.....	40
Tablo 11	Lokalitelere göre <i>M. rivulata</i> örneklerinde gerçekleştirilen mikronükleus ve diğer nükleer anormalliklere ait tanımlayıcı istatistik sonuçları.....	43
Tablo 12	Çalışılan 2 farklı lokaliteden alınan örneklerin kanlarındaki bazı ağır metal konsantrasyonları (-; Tespit edilememiştir.).....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Örneklerin yakalandığı lokaliteler (1. Lokalite: Şehir Merkezi Yakını, 2. Lokalite: Atikhisar Barajı Yakını, Çanakkale) (https://maps.google.com).....	9
Şekil 2	Çalışılan kurbağa ve kaplumbağa türlerine ait fotoğraflar (A: <i>Pelophylax bedriagae</i> , B: <i>Mauremys rivulata</i>) (Orijinal).....	12
Şekil 3	Kurbağa ve kaplumbağa örneklerinin yakalandığı habitatlar A: Şehir Merkezi Yakını (1. Lokalite, Kirlili), B: Atikhisar Barajı Yakını (2. Lokalite, Temiz) (Orijinal).....	12
Şekil 4	Hematolojik analizlerde kullanılan malzemeler (Orijinal).....	14
Şekil 5	Analizlerde kullanılan mikrohematokrit santrifüj cihazı (Orijinal).	16
Şekil 6	Eser element tüpü ve santrifüj cihazı (Orijinal).....	19
Şekil 7	Kirli olarak seçilen alandaki (Şehir Merkezi Yakını) kirlilik kaynakları ve etkileri (Orijinal).....	20
Şekil 8	Temiz olarak seçilen alana (2. Lokalite: Atikhisar Barajı Yakını) ait fotoğraflar (Orijinal).....	21
Şekil 9	<i>P. bedriagae</i> ve <i>M. rivulata</i> bireylerinde görülen lökosit tipleri A: Lenfosit (<i>P. bedriagae</i>), B: Monosit (<i>M. rivulata</i>), C: Eozinofil (<i>P. bedriagae</i>), D: Eozinofil (<i>M. rivulata</i>), E: Nötrofıl (<i>P. bedriagae</i>), F: Heterofil (<i>M. rivulata</i>), G: Bazofil (<i>P. bedriagae</i>).....	28
Şekil 10	<i>P. bedriagae</i> bireylerinin nükleer anormallik frekanslarında lokaliteler arasında görülen farklılığa ait grafikler (* Aykırı değer)	33
Şekil 11	<i>M. rivulata</i> bireylerinin hematokrit değerinde lokaliteler arası görülen farklılığa ait kutu grafiği (* Aykırı değer).....	37
Şekil 12	<i>M. rivulata</i> bireylerinin lökosit tiplerinde lokaliteler arası görülen farklılıklara ait kutu grafikleri (*Aykırı değer).....	40
Şekil 13	<i>M. rivulata</i> bireylerinde ölçülen eritrometrik parametreler arasında lokaliteler arası farklılık görülen eritrosit genişliği değerine ait kutu grafiği.....	42

Şekil 14	<i>M. rivulata</i> bireylerinin nükleer anormallik frekanslarında lokaliteler arasında görülen farklılığa ait kutu grafikleri (* Aykırı değer).....	45
Şekil 15	<i>P. bedriagae</i> ve <i>M. rivulata</i> bireylerinde tespit edilen nükleer anormallik tipleri A: Mikronükleus, B: Loblu Nükleus, C: Çentikli Nükleus, D: Böbrek Şekilli Nükleus, E: Tomurcuklu Nükleus, F: Binükleat.....	45



BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Sanayi Devrimi 1970’li yıllarda başlayarak beraberinde birçok çevre sorununu getirmiştir. Aşırı nüfus artışı, kentleşme, sanayileşme, yenilenemeyen enerji kaynaklarının atmosfere saldığı sülfür oksitlerin oluşturduğu asit yağmurları, radyoaktif kirlenmeler, ormanların tahrip edilmesi, karbondioksit ve sera gazlarının global ölçekte yarattığı küresel ısınma, kimyasal atıklar nedeniyle denizlerin kirlenmesi, pestisit ve diğer çevresel kirleticilerin kullanılması çevre sorunlarının oluşmasının başlıca sebeplerindedir (Doğan, 2002; Uysal ve Tosunoğlu, 2012; Çördük vd., 2018; Gül vd., 2019). Ayrıca evsel ve endüstriyel atıkların akarsulara arıtılmadan deşarj edilmesi kirliliğin boyutlarını arttırarak sucul canlılar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Egemen, 2000; Selvi, 2006). Antropojenik kirleticiler, doğrudan canlıların hematolojileri üzerine etki ederek hem eritrositlerin hem de lökositlerin hücre formunda ve işlevinde bazı değişikliklere yol açmaktadır (Beynon vd., 1992; Browne, 2004).

Çanakkale ili, Ülkemizin kuzeybatısı kısmında ve Marmara Bölgesi’nin güneyinde yer almaktadır. Çanakkale ili Kara Menderes, Tuzla, Sarıçay, Kavak, Biga, Gönen, Uludere, Bayramdere, Çınardere, Büyükdere ve Tayfur Çayı gibi akarsulara sahiptir (Kelkit, 2003). Çanakkale’nin su kaynaklarının kalitesini etkileyen birçok kirleticiler etmeninin varlığı bölgede yapılan çalışmalarca belirlenmiştir (Akbulut vd., 2006). Çanakkale ilindeki kıyı akarsularında tespit edilen bazı ağır metallerin konsantrasyonlarının olması gereken değerlerin çok üzerinde olduğu tespit edilmiştir (İlgar, 2000). İldeki su kirliliğinin nedenlerinin kentsel kökenli atıklar ve kıyı bölgelerde yer alan sanayi kuruluşlarının atık suları olduğu saptanmıştır (İlgar, 2000; Akbulut vd., 2006).

Çanakkale kent merkezinde yer alan Sarıçay 37’ – 45’ doğu meridyenleri ile 40’ – 45’ kuzey paralelleri koordinatları arasındadır. Sarıçay bölgedeki en büyük beşinci akarsu olup, Kazdağları’ndan doğmaktadır (Hacıoğlu, 2011). Sarıçay ve Çanakkale’nin en büyük içme suyu kaynağı olan Atikhisar Barajı’nın çevresinde tarımsal faaliyetler yapılmakta olup, tarımsal uygulamalar için kullanılan pestisitler baraja ve nehre ulaşmaktadır (Kaya, 2007). Ayrıca şehrin içinden geçen Sarıçay, endüstriyel ve evsel atıklar nedeniyle de kirlenmektedir (İlgar, 2000; Kaya, 2007). Sarıçay üzerinde yapılmış tüm çalışmalarda, suyun genellikle

şehir merkezine yakın bölgelerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik bakımdan daha kirli olduğu rapor edilmiştir (İlgar, 2000; Yüksek, 2003; Akbulut vd., 2006).

Kirliliği tespit etmek üzere yapılan bazı çalışmalar sonucu; pestisit konsantrasyonları bakımından Atikhisar Barajı'nın 1. Sınıf su kalitesinde ve Sarıçay'ın 2. ve 3. Sınıf su kalitesinde olduğu, Sarıçay'ın besin tuzları (NO_2 , NO_3 , NH_4 , PO_4 , Org. PO_4 , SiO_2), toprak alkali metaller (Ca, Mg) ve metallerce (Fe, Ni, Zn, Cu) kirlenmiş olduğu tespit edilmiştir (Odabaşı, 2005; Kaya, 2007). Ayrıca Sarıçay'da tespit edilen Zn, Pb, Cu, Fe ve Mn gibi metallerin konsantrasyonlarının istatistiksel olarak Atikhisar Barajı'ndan daha yüksek olduğu ($p < 0,05$), ancak Cd metalinin her iki bölge için benzer konsantrasyonlarda olduğu ($p > 0,05$) belirlenmiştir (Selvi vd., 2015). Sarıçay'daki ağır metal konsantrasyonlarının bazı makroomurgasızlar üzerindeki etkileri tespit edilmiş olup, diğer sucul canlılara nasıl bir etkisi olduğu bilinmemektedir (Selvi; 2006; Kaya, 2007).

Akarsular ve kaynaklarının her geçen gün artan kirlilik sonucu tehdit altında olması ile birlikte çevresel kirliliğin, sucul organizmaların yaşam koşulları üzerindeki etkisinin artmasına yol açmaktadır (Romanova ve Egorikhina, 2006; Kaya, 2007). Çevresel kirleticiler sucul ekosistemlere, doğal süreçler (hava durumu, toprak erozyonu) ve antropojenik faktörler (sanayi ve evsel atıkların salınımı) yoluyla taşınabilmektedir (Selvi vd., 2015). Sucul ekosistemlerde antropojenik faktörlerden kaynaklanan metallerin miktarı, fosil yakıtların kullanılması, metal içeren ürünlerin tarımda kullanılması (örn. arsenikli pestisitler), arıtma ve rafineri tesislerinin atıklarının akarsulara boşaltılması ve madencilik faaliyetlerinin artmasıyla artış göstermektedir (Topcuoğlu, 2005; Atay, 2009). Sudaki ağır metallerin kaynağının çok sayıda olması, toksisitelerini azaltan biyodegradasyon işlemine uğramamaları ve doğada uzun süre kalmaları nedeniyle, metal birikimi açısından ekolojik ve çevresel çalışmaların öneminin artmasına sebep olmaktadır (Taylan ve Özkoç, 2007; Gao vd., 2016; Tunca, 2016).

Ağır metaller, doğada bulunmalarının yanı sıra ekosistemlerde bulunan antropojenik kaynaklardan ve farklı konsantrasyonlardan oluşmaktadır. En yaygın olarak görülen ağır metal kirleticileri şunlardır: Kurşun (Pb), Kadmiyum (Cd), Krom (Cr), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Nikel (Ni), Arsenik (As) ve Cıva (Hg). Bunlardan en büyük endişe kaynakları ise Hg, Pb ve Cd'dir (Stankovic ve Stankovic, 2013; Mani, 2021). Bazı ağır metaller, sucul canlılar için doğrudan zehirli özellikte olmakla birlikte çoğu organizmada büyük ölçüde ağır metal birikimine yol açmaktadır (Taylan ve Özkoç, 2007). Ağır metallerin, sucul canlıların immün

sistemini yıkıma uğratmak ve hematolojik bozukluklara (eritrosit yıkımı ve lökositoz) yol açmak gibi toksik etkilere sahip olduğu daha önce yapılan bazı çalışmalar ile belirlenmiştir (Javed ve Usmani, 2012; Zhelev vd., 2017). Eritrosit ve lökosit sayısında, lökosit tipi, hematokrit ve hemoglobindeğerleri, OEH ve OEHb parametrelerinde oluşan değişiklikler gibi birçok hematolojik değişikliğin ağır metallere maruz kalma sebebiyle olduğu tespit edilmiştir (Wijesinghe, 2018). Böylece kan profillerinin türlerin sağlık durumu için iyi birer indikatör olduğu rapor edilmiştir (Aleksandar vd., 2005). Hematolojik parametreler, potansiyel olarak toksik etki gösteren kimyasalların çevresel risklerini ve sağlık durumuna etkilerini belirlemek ve kirletilmiş alanlarda erken uyarı sinyalleri olarak hizmet eden önlemler geliştirmek için oldukça önemlidir (Salinas vd., 2015; Pollo vd., 2016; Zhelev vd., 2017).

Çevresel kirlilik organizmaların genetik materyaline de zarar vermektedir. In vitro genotoksisite testleri genetik materyal üzerinde mutasyona sebep olan kirleticilerin izlenmesinde kullanılmaktadır. Mikronükleus Testi ile çevresel kirliliğin etkilerinden dolayı hücrelerde meydana gelen mikronükleus sayısı belirlenebilir ve bu sayede kirleticilerin genotoksik etkileri tespit edilip izlenebilir. Son yıllarda, nükleer anomaliler (Böbrek şeklindeki nükleus, loblu nükleus, çentikli nükleus ve tomurcuklu nükleus gibi) ve Mikronükleus Testi, çevresel kirleticilerin bazı türler üzerindeki etkilerini belirlemede kullanılmaktadır (Ergene vd., 2007; Guilherme vd., 2008; Napierska, 2009; Strunjak-Perovic vd., 2010; Dar vd., 2016; Çördük vd., 2018; Özgül vd., 2020).

Amfibiler, karasal ve sucul habitatlarda yaşayabilmeleri ve geçirgenliği yüksek bir deriye sahip olmaları nedeniyle yaşam ortamlarında meydana gelen değişimlere karşı oldukça hassas canlılardır (Phillips, 1990; Barinaga, 1990; Blaustein, 1994; Blaustein ve Wake, 1990; Alford ve Richards, 1999; Çördük vd., 2018). Ani iklim değişimleri, sucul habitatın kimyasal değişimi veya olumsuz antropojenik etkiler amfibiler tarafından algılanarak bazı koruma davranışları göstermelerine, farklı habitatlara göç etmelerine ve toplu ölümlere yol açmaktadır (La Marca vd., 2005; Erdoğan, 2019). Amfibiler yüksek geçirgenliğe sahip derileri ve yaşam döngüleri sebebiyle sulak alanların izlenmesinde önemli rolü olan gruplardan biri olarak kabul edilmektedir. Amfibilerin kan parametreleri, birçok kirleticilere karşı hassas olduğundan iyi birer biyobelirteç olmalarını sağlamaktadır (Cabagna vd., 2005; Teixeira vd., 2012; Carvalho vd., 2016; Medina vd., 2016; Zhelev vd., 2017). Özellikle eritrosit sayısındaki değişikliklerin, amfibi türlerinin sucul ekosistemdeki ağır

metal kirliliğine karşı gösterdikleri tepkiyi yansıtmakta olduğu rapor edilmiştir (Romanova ve Egorikhina, 2006). Kuyruksuz kurbağaların hematolojik parametreleri toksik özellik gösteren maddelere karşı duyarlıdır ve hematolojik parametrelerin incelenmesiyle bu maddelerin çevre üzerindeki etkilerini anlamak mümkün hale gelmektedir (Salinas vd., 2015; Pollo vd., 2016; Şahin, 2019).

Amfibilerde (Ordo: Anura) klinik hematoloji, kan hücre morfolojisi, kan hücre ölçümleri ve kan sayımı ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur (Alder ve Huber, 1923; Wintrobe, 1933; Arvy, 1947; Hutchison ve Szarski, 1965; Szarski ve Czopek, 1966; Haris, 1972; Kuramoto, 1981; Arıkan, 1989; Stöck ve Große, 1997; Atatür vd., 1999; Wojtaszek ve Adamowicz, 2003; Arıkan vd., 2003; Cabagna vd., 2005; Coppo vd., 2005; Arserim ve Mermer, 2008; Dönmez vd., 2009; Gül vd., 2009; Arıkan ve Çiçek, 2010; Gül vd., 2011b; Das ve Mahapatra, 2014; Zhelev vd., 2015; Fathinia vd., 2020; Ulubeli vd., 2020).

Pelophylax bedriagae türünde klinik hematoloji (Atatür vd., 1999; Gül ve Tok, 2009; Gül vd., 2011b; Zhelev vd., 2013; 2015; Tosunoğlu vd., 2015), genotoksikoloji, mikronükleus ve diğer nükleer anormallikler (Aymak, 2010; Gürkan vd., 2014; Çördük vd., 2018; Özgül vd., 2020) üzerine çalışmalar yapılmış olup plazma biyokimyasına ait bazı parametreler incelenmiştir (Tepeova vd., 2015; Özlü, 2017) ve bu parametrelerin çevresel kirlilikten etkilenip etkilenmediği belirlenmiştir (Dönmez, 2021).

Sürüngenler de amfibiler gibi global olarak azalmakta olan bir takson olarak kabul edilmektedir. Habitat tahribatı ve habitat kaybı, istilacı türler, parazitik hastalıklar, iklim değişikliği ve çevre kirliliğinin sürüngenler üzerinde olumsuz etkiye sahip faktörler olduğu bildirilmiştir (Gibbons vd., 2000). Sürüngenler uzun yaşamaları ve yaşadıkları habitata bağlı olmaları ile çevre kirliliği ve habitat tahribatı gibi konularda biyoindikatör canlılar olarak görülmektedir (Crain ve Guillette, 1998; Hopkins, 2000).

Çevresel kirleticilerin reptiller üzerindeki etkileri, amfibilerden daha az çalışılmaktadır ancak sürüngen türlerinin birçok kirleticiden olumsuz etkilendiğine dair kanıtlar sağlamak için bazı toksikolojik çalışmalar bulunmaktadır (Hall, 1980; Fontenot vd., 1994; Hopkins vd., 1999). Tatlı su kaplumbağası türleri diğer türler ile karşılaştırıldığında, çevresel kirliliğin izlenmesinde pek çok avantaja sahiptir. Yaşadıkları su kütlesinin pek çok farklı kirleticili unsura maruz kalması sebebiyle sucul ekosistemlerin izlenmesinde ve çevre sağlığının belirlenmesinde ideal organizmalardır (Meyers-Schöne vd., 1993; Silva vd., 2003; Yu vd., 2011). Tatlı su kaplumbağaları ile ilgili hematolojik çalışmalar yapılmakta ve bu

çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır (Pages vd., 1992; Anderson vd., 1997; Uğurtaş vd., 2003; Metin vd., 2006; Hidalgo-Vila vd., 2007; Colagar ve Jafari, 2007; Metin vd., 2008; Oliviera-Junior vd., 2009; Yılmaz ve Tosunoğlu, 2010; Gül vd., 2011a; Omonona vd., 2011; Chi vd., 2013; Parto vd., 2013; López vd., 2017; Bayrakçı vd., 2021).

Mauremys rivulata türünde klinik hematoloji (Uğurtaş vd., 2003; Metin vd., 2008; Yılmaz ve Tosunoğlu, 2010; Gül vd., 2011a; Gül vd., 2015; Özmen, 2020), kan hücre morfolojisi (Çiçek vd., 2015; Bayrakçı vd., 2021) ve plazma biyokimyasına ait bazı parametreler incelenmiş (Metin vd., 2008; Yılmaz ve Tosunoğlu, 2010; Gül vd., 2011a; Bilgin, 2018) ve bu parametrelerin türün biyolojik özelliklerine ve çevresel koşullara göre etkilenip etkilenmediği tespit edilmiştir (Yılmaz, 2009; Yılmaz ve Tosunoğlu, 2010; Gül vd., 2011a; Gül vd., 2015).

Son yıllarda çevresel kirleticilerin bazı amfibi ve sürüngen türleri üzerindeki etkilerini tespit etmek üzere bazı hematolojik ve genotoksikolojik çalışmalar yapılmıştır (Ergene vd., 2007; Guilherme vd., 2008; Napierska, 2009; Marques vd., 2009; Strunjak-Perovic vd., 2010; Aymak, 2010; Tok vd., 2012; Gürkan vd., 2014; Hacıoğlu vd., 2014; Lajmanovich vd., 2014; Josende vd., 2015; Çördük vd., 2018; Özgül vd., 2020; Dönmez, 2021).

Bu tez çalışmasında, önceki çalışmalarda çevresel kirleticilere maruz kaldığı bildirilen bir akarsu olan Sarıçay'da yaşayan *P. bedriagae* ve *M. rivulata* örneklerinin bu kirlilikten etkilenip etkilenmediği hematolojik ve genotoksikolojik analizler yapılarak belirlenmesi, bu bölgedeki kirleticilerin etkilerinin ilk defa ortaya konması amaçlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ilgar, 2000; Çanakkale Boğazı ekosisteminin çevre kirliliğinde etkili ağır metal konsantrasyonlarını saptamıştır. Boğaza dökülen 13 akarsudan sediment örneği alınarak ölçmüş, elde edilen sonuçlara göre en yüksek ağır metal değerlerine aynı kaynaktan çıkan akarsuların bulunduğu Umurbey, Musaköy ve Yapıldak köylerinde rastlamıştır. Sarıçay'da Zn ve Cu ağır metallerinin yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmesinin sebebinin, yukarı kesimlerinde kurşun ve çinko madenlerini işleten fabrikaların atıksuları olduğu düşünülmektedir.

Odabaşı, 2005; yaptığı çalışmada Çanakkale ilinde yer alan Sarıçay'ın kirlilik yükünü belirleme amacıyla periyodik olarak bazı fizikokimyasal parametreleri ölçmüştür. Yapılan ölçümler sonucu su kalitesine etki eden bazı ağır metal (Fe, Ni, Zn ve Cu) düzeylerinin normal değerlerin üzerinde olduğuna ve sudaki kirlilik seviyesinin düzensiz bir şekilde arttığına ulaşılmıştır.

Akbulut vd., 2006; yaptıkları bu çalışmada Çanakkale ilindeki bazı önemli iç su kaynaklarının fizikokimyasal parametreleri tespit ederek, kirletici etmenler belirlemişlerdir. Ayrıca yapılan önceki çalışmalara dayanarak Atikhisar Baraj Gölü'nün önceki yıllara ait bazı fizikokimyasal parametreleri (pH = 7,9, Çözünmüş Oksijen = 8,1 mg/dL, Ca = 74 mgL⁻¹, K = 3,9 mgL⁻¹) ve kimyasal analiz sonuçları (Cd = 0,004 mgL⁻¹, Pb = 0,035 mgL⁻¹, Cu = <0,02 mgL⁻¹, Zn = 0,07 mgL⁻¹) derlenmiştir.

Zhelev vd., 2006; gelişmiş bir kimya endüstrisi bölgesinde yaşayan *Rana ridibunda* türünün eritrositlerinin bazı metrik parametreleri belirlemişlerdir. Elde edilen veriler yazarın daha önce temiz bir alanda ve farklı kirlilik kaynağına sahip olan bir sanayi bölgesinde yapmış olduğu bir çalışma ile karşılaştırılmıştır. Eritrosit ve nükleus parametrelerinde önemli farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir.

Kaya, 2007; çalışmasında Sarıçay ve Atikhisar Barajı'ndaki pestisit ve evsel kirliliğin seviyesi tespit etmiştir. Veriler kirlilik açısından değerlendirildiğinde, Atikhisar Barajı'nın 1. sınıf su kalitesine, Sarıçay'ın 2. veya 3. sınıf su kalitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Sarıçay'da evsel kirliliğin, Atikhisar Baraj Havzasının ise tarım ve hayvancılık kaynaklı pestisit kirliliğinin görüldüğü rapor edilmiştir.

Gül vd., 2011a; yaptıkları çalışmada Çanakkale'nin farklı bölgelerinden toplanan tatlı su kaplumbağaları (*E. orbicularis* ve *M. rivulata*) türlerinin hematolojik ve plazma biyokimyası parametreleri üzerine yaşadıkları sucul habitatların özelliklerinin etkisini incelemiştir. Yaşadıkları habitattaki su kalitesinin eritrosit ve lökosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin değerleri üzerinde farklılıklara yol açtığı tespit edilmiştir.

Zhelev vd., 2013; Bulgaristan'da yer alan antropojenik olarak farklı kirleticilerle kirletilmiş iki nehirde yaşayan üç *Pelophylax ridibundus* popülasyonunun bazı kan parametrelerini (eritrosit sayısı, lökosit sayısı, hemoglobin, lökosit tipleri) incelemiştir. Çalışılan iki nehirdeki çevre kalitesini hematolojik veriler kullanarak belirlemiştir. Kirli alandan elde edilen veriler ve kontrol grubu arasında istatistiksel farklar olduğu tespit edilmiştir. Kirli alanda yaşayan bireylerdeki eritrosit sayısının ve hemoglobin miktarının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. İki nehir arasında lökosit tipleri de önemli ölçüde farklılık göstermiştir.

Gül vd., 2015; bu çalışmayla Biga Çayı'nın kirlilik bakımından farklı olduğu fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler ile belirlemiş ve iki bölgesinden alınan *Mauremys rivulata* türünün hematolojik değerlerini inceleyerek, değerler üzerinde etki edebilecek çevresel parametreler tespit etmişlerdir. Karşılaştırılan hematolojik parametreler değişkenlik göstermiş, ancak önemli bir farklılık saptanmamıştır.

Tosunoğlu vd., 2015; çalışmalarında Biga Çayı'nda bulunan iki lokalite üzerinde fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapmış, bu iki lokaliteden birinin yüksek su kalitesine sahip olduğunu diğerinin ise kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. *Pelophylax ridibundus* bireylerinin bazı hematolojik parametrelerine ve plazma biyokimyasına ait bulguları iki lokalite arasında karşılaştırmışlardır. İncelenen klinik hematoloji parametrelerinin su kalitesine bağlı olarak değişmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Şişman vd., 2015; tarafından yapılan bir çalışmada Karasu Nehri'nin ağır metaller nedeniyle kirlenmiş ve kirlenmemiş kısımlarından toplanan *Pelophylax ridibundus* türü üzerindeki genotoksik etkileri mikronükleus ve nükleer anormallikler bakımından incelemiştir. Kirlenmiş bölgedeki anormallik frekansı kirlenmemiş bölgeye göre daha fazla olduğundan yüksek ağır metal seviyelerinin toksisiteye yol açtığı belirlenmiştir.

Zhelev vd., 2015; çalışmalarında Bulgaristan'da bazı ağır metallerce (Cd, Zn, Pb) kirlenmiş olan bölgelerde yaşayan *Pelophylax ridibundus* türünün hematolojik parametreleri

üzerine çalışmışlardır. Eritrosit sayılarının kirlenmiş bölgelerde, kontrol bölgelerden alınan örneklerle göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çördük vd., 2018; tarafından Biga Çayı'nda dağılışı gösteren *Pelophylax ridibundus* türünde yapılan çalışmada çevresel kirleticiler nedeniyle oluşmuş mikronükleus ve diğer nükleer anomalileri incelemiş ve sudaki kirlenme seviyelerini belirlemek için ağır metal analizleri yapmışlardır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda total nükleus anomalileri ile ağır metal düzeylerinin paralel olduğu ve Biga Çayı'ndaki genotoksik kirletici seviyelerinin organizmalar üzerinde DNA hasarlarına yol açtığı saptanmıştır.

Gül vd., 2019; tarafından yapılan çalışmada çevresel kirleticilerin Biga Çayı'nda dağılışı gösteren *Mauremys rivulata* türü üzerindeki genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Örneklerdeki mikronükleus ve diğer nükleer anomalileri (tomurcuklu nükleus, böbrek şeklinde nükleus, loblu nükleus ve çentikli nükleus) incelemişlerdir. Nükleer anomalilerin Biga Çayı'nın şehir merkezine yakın bir bölgesinde daha yoğun olduğu tespit edilmiştir (%9,16±0,02). Sonuç olarak Biga Çayı'nın farklı bölgelerindeki genotoksik kirletici düzeylerinin *Mauremys rivulata* türü üzerinde DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir.

Özgül vd., 2020; çalışmalarında Çan ilçesinde yaşayan sucuk (*Pelophylax ridibundus*) ve karasal (*Bufo variabilis*) amfibi türlerinin hematolojik parametrelerini incelemişlerdir. Ayrıca çalışılan amfibi türleri üzerindeki DNA hasarını tespit etmek için çeşitli nükleer anomalileri araştırmışlardır. Sonuç olarak sucuk türleri ile karasal türler karşılaştırıldığında hemoglobün değerleri, heterofil sayısı ve nükleer anomali tipi bakımından anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

Dönmez, 2021; yaptığı tez çalışmasında Erzurum ilinin şehir merkezinde bulunan farklı antropojenik kirlilik kaynaklarındaki (tarım faaliyetleri, gürültü kirliliği, otoyol kirliliği ve evsel atıklar) ağır metal birikimini su ve sediment örnekleri olarak tespit etmiştir. Belirlenen kirlilik kaynaklarında yaşayan *Pelophylax ridibundus* türü üzerinde morfolojik incelemeler, eritrometrik ölçümler, genotoksikolojik ve sitotoksik analizler yapılmış olup türün genel sağlık durumunu belirlemiştir. Yapılan tüm analizler sonucunda antropojenik kirlilik ile türün genel sağlık durumu arasında bir korelasyon olduğu tespit edilmiş olup, *P. ridibundus* türünün kirlilikten negatif olarak etkilendiği bilimsel olarak kanıtlanmıştır.

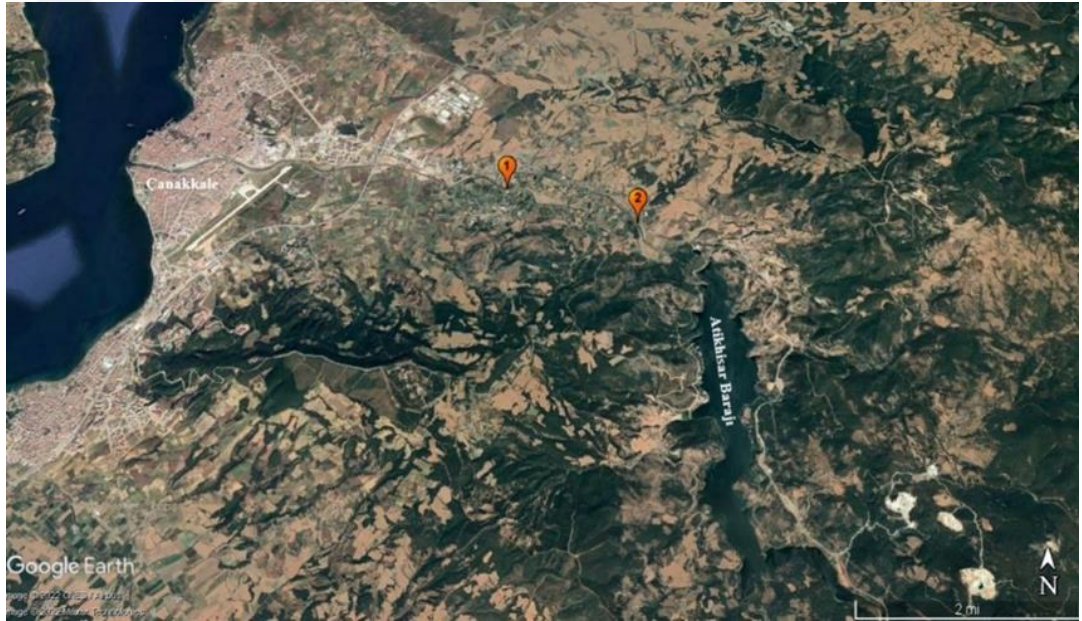
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, arazi çalışmaları ve laboratuvar uygulamaları olarak iki kısımda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Araştırma Bölgesinin Tanımı

Çanakkale kent merkezinde yer alan Sarıçay (Kocaçay) 25° 37'–27° 45' doğu meridyenleri ile 39° 40'–40° 45' kuzey paralelleri koordinatları arasında olup, deniz seviyesine göre yüksekliği 2 m'dir (Anonim, 2007; Hacıoğlu, 2011). Bu tez çalışmasında kullanılan *P. bedriagae* ve *M. rivulata* örnekleri, Sarıçay'ın iki lokalitesinden toplanmıştır. 1. Lokalite Sarıçay'ın şehir merkezine yakın olan kısmı (40° 8'21.35" K, 26°28'54.29" D), 2. Lokalite ise Atikhisar Barajı yakını (40° 7'58.37" K, 26°30'35.08" D) olarak belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Örneklerin yakalandığı lokaliteler (1. Lokalite: Şehir Merkezi Yakını, 2. Lokalite: Atikhisar Barajı Yakını, Çanakkale) (<https://maps.google.com>).

Sarıçay ve Atikhisar Barajı'ndaki kirliliği tespit etmek üzere yapılan bazı çalışmalar sonucu; pestisit konsantrasyonları bakımından Atikhisar Barajı'nın I. Sınıf su kalitesinde ve Sarıçay'ın II. ve III. Sınıf su kalitesinde olduğu, Sarıçay'ın besin tuzları (NO₂, NO₃, NH₄, PO₄, Org. PO₄, SiO₂), toprak alkali metallere (Ca, Mg) ve metallere (Fe, Ni, Zn, Cu) kirlenmiş olduğu tespit edilmiştir (Odabaşı, 2005; Kaya, 2007).

Çalışma alanındaki suyun pH'ı, çözülmüş oksijeni, iletkenlik ve su sıcaklığı Hach HQ40d markalı ekolojik kit ile ölçülerek fizikokimyasal parametrelere ait veriler elde edilmiştir. Ağır metal analizleri ve ekolojik kit ile ölçülen çözülmüş oksijen, pH ve sıcaklık parametrelerine göre su kalite sınıfları, Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği (SKKY)'ndeki veriler (Tablo 1) baz alınarak belirlenmiştir.

Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği'ne (SKKY, 2004) göre kıta içi yüzey suları bazı fizikokimyasal parametrelere göre; I. Kalite Sınıfı: Yüksek Kaliteli, II. Kalite Sınıfı: Az Kirlenmiş, III. Kalite Sınıfı: Kirlenmiş, IV. Kalite Sınıfı: Çok Kirlenmiş olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. SKKY (Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği)'ye göre bazı fiziksel su kalitesi parametrelerine göre kalite sınıfları (SKKY, 2004).

FİZİKOKİMYASAL PARAMETRELER	SU KALİTE SINIFLARI			
	I	II	III	IV
pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6,0-9,0	6,0-9,0 dışında
Çözülmüş Oksijen (mg/L)	8	6	3	<3
Sıcaklık (°C)	25	25	30	>30

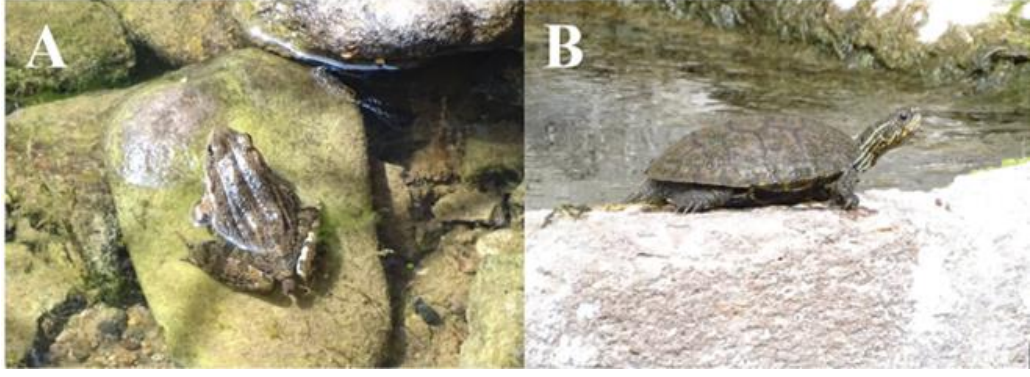
3.2. Örneklerin Toplanması

Ranidae (Su Kurbağaları) familyasına ait bir tür olan Levanten Ova Kurbağası, *Pelophylax bedriagae* (Camerano, 1882), Doğu Akdeniz bölgesinde geniş bir yayılım gösterir (Papenfuss vd., 2009). Türkiye'de Ege kıyıları ile Anadolu'nun güney kesimlerinde yaygın olarak görülmektedir (Başkale ve Kaya, 2012). Göl ve yavaş akan sularda, bol bitki örtüsüne sahip ve genellikle yükseltisi az ovalardaki sulak alanları tercih ederler (Özlu, 2017). Çiftleşme Mayıs ve Haziran ayları arasında gerçekleşir, dişiler yumurtalarını sucul

bitkilerin arasına veya sucul alana bırakır. Suyun sıcaklığına da bağlı olarak 3-4 ay süren larval dönemden sonra 3 yaşını geçince eşeyssel olgunluğa ulaşırlar. Kış mevsiminin soğuk geçtiği bölgelerde yaşadıkları sulak alanın dibinde yaşarlar (Demirsoy, 2005; Dönmez, 2021). *Pelophylax bedriagae* türünün su kirliliğini değerlendirmek için biyoindikatör canlı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Tosunoğlu vd., 2015; Özlü, 2017; Dönmez, 2021).

Geoemydidae (Bataklık Kaplumbağaları) familyasına ait Balkan Çizgili Kaplumbağası, *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833) türünün Balkanlarda, Anadolu'da ve Doğu Akdeniz'de dağılışı olduğu bilinmektedir. Ülkemizde Trakya Bölgesi ile Batı ve Güney Anadolu'da dağılışı göstermektedir (Baran vd., 2021). Bu tatlı su kaplumbağası türü yaşama alanı olarak genellikle mevsimlik göletler, göller, kıyı lagünleri, sulama kanalları ve barajlar gibi pek çok doğal ve yapay habitatları seçer; hızla akan suları tercih ederler (Gasith ve Sidis, 1983; Sidis ve Gasith, 1985; Mantziou ve Rifai, 2014; Bilgin, 2018). İlbaharın ilk aylarında çiftleşme gerçekleşir, türün dişileri yaz mevsiminin başlangıcında yumurtalarını sudan uzak yerlere veya kumul alanlara bırakır. Hibernasyon dönemini ise suyun dibindeki çamura gömülerek geçirirler (Baran vd., 2021). *Mauremys rivulata* türü kirli sular için indikatör canlı olarak bilinmektedir (Gül vd., 2011a; 2015).

Çalışılan kurbağa ve sucul kaplumbağa örnekleri Mart-Ağustos 2021-2022 tarihleri arasında kepçe ve pinter yardımıyla toplanmıştır. *P. bedriagae* türünden 20 adet (12♂♂, 8♀♀), *M. rivulata* türünden 21 adet (4♂♂, 17♀♀), olmak üzere toplam 41 örnek yakalanmıştır (Şekil 2). Yapılan işlemler için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu'ndan 2021/06-13 nolu izin alınmıştır. Canlı halde laboratuvara getirilen örneklerin morfolojik ölçümleri alınmış, cinsiyetleri belirlenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Örnekler üzerinde hematolojik çalışmalar yapıldıktan sonra ait oldukları biyotopa geri bırakılmışlardır (Şekil 3).



Şekil 2. Çalışılan kurbağa ve kaplumbağa türlerine ait fotoğraflar (A: *Pelophylax bedriagae*, B: *Mauremys rivulata*) (Orijinal).



Şekil 3. Kurbağa ve kaplumbağa örneklerinin yakalandığı habitatlar A: Şehir Merkezi Yakını (1. Lokalite, Kirlili), B: Atikhisar Barajı Yakını (2. Lokalite, Temiz) (Orijinal).

3.3. Alınan Morfolojik Ölçümler

P. bedriagae türüne ait ergin örneklerden VA (Vücut Ağırlığı) ve BGU (Baş+Gövde Uzunluğu) gibi morfolojik ölçümler alınmıştır. Ağırlık ölçümü Sinbo Hassas terazi ile, morfolojik ölçüm ise Mitutoyo marka dijital kumpasla yapılmıştır. Vücut ağırlığı gram (g), ölçüm milimetre (mm) birimi ile verilmiştir.

Ergin *M. rivulata* örneklerinde VA (Vücut Ağırlığı) ve KDU (Karapasin Doğrusal Uzunluğu) gibi morfolojik ölçümleri belirlenmiş; ağırlık ölçümü terazi ile morfolojik ölçümler ise tortometre ve Mitutoyo marka dijital kumpas vasıtasıyla yapılmıştır. Vücut ağırlığı gram (g), morfolojik ölçüm milimetre (mm) birimi olarak verilmiştir.

P. bedriagae ve *M. rivulata* örneklerinden alınan morfolojik ölçümlerden elde edilen sonuçlara göre benzer büyüklükteki örnekler kullanılarak, istatistiki olarak karşılaştırma yapılması mümkün kılınmıştır.

3.4. Kan Alım Yöntemleri

Önceki çalışmalar incelendiğinde kurbaçalarda kan örnekleri; genellikle lingual venous plexus (Baranowski-Smith ve Smith, 1983), femoral venden (Hadfield ve Whiticker, 2005), orta abdominal ven veya kalpten (Wright ve Whitaker, 2001) alınmaktadır. Kaplumbağalarda ise; femurdan (Robin vd., 1964; Haning ve Thompson, 1965), juguler venden (Lopes, 1955) veya karotid arterden (Crenshaw, 1965; Berkson, 1966; Dessauer, 1970) alınmaktadır.

Bu tez çalışmasında analizler için gerekli kan örnekleri kurbağaların orta abdominal veninden, sucul kaplumbağaların ise dorsal kaudal veninden alınmıştır (Wright ve Whitaker, 2001; Ballard ve Cheek, 2003; Thrall vd., 2004).

Hematoloji ve ağır metal analizleri için laboratuvar ortamına getirilen kurbağa ve sucul kaplumbağa örneklerinden, aynı gün içerisinde 21 iğne çaplı 5 ml şırınga yardımıyla toplam 2 ml kan alınmıştır (Ballard ve Cheek, 2003; Thrall vd., 2004).

3.5. Hematolojik Analizler

Bu tez çalışmasında klinik hematolojiye ait eritrosit sayısı, eritrometrik ölçümler, lökosit sayısı, lökosit tipleri (lökosit formülü), hemoglobin değeri, hematokrit değeri, ortalama eritrosit hacmi (OEH), ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHbK) incelenmiştir. 1. lokaliteden (Şehir Merkezi Yakını) *P. bedriagae* türüne ait 10 adet, *M. rivulata* türüne ait 11 adet; 2. lokaliteden (Atikhisar Barajı Yakını) *P. bedriagae* türüne ait 10 adet, *M. rivulata* türüne ait 10 adet, toplam 41 adet örneğin klinik hematolojisi çalışılmıştır.

Hematolojik analizler için alınan kan örneklerinden kan yayma preparatları hazırlanmıştır. Bu preparatlar eritrometrik ölçümler ve lökosit formülü hesaplamaları için

Wright boyası ile boyanmıştır (Başoğlu ve Öktem, 1984). Kullanılan malzemeler Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. Hematolojik analizlerde kullanılan malzemeler (Orijinal).

3.5.1. Eritrosit Sayımı

Örneklere alınan kan, 1 mm^3 kanda bulunan eritrosit sayısını belirlemek üzere eritrosit sulandırma pipetinin üzerinde bulunan 0,5 çizgisine kadar çekilir. Hayem çözeltisi ile 200 kat sulandırılır. Pipet hafifçe sallanarak elde edilen çözeltinin homojen olması sağlanır. Neubauer Hemositometresi üzerine lamel kapatılarak kullanıma hazır hale getirilir. Kan örneği bulunan sulandırma pipetindeki ilk damlalar dışarı atıldıktan sonra geri kalanı hemositometre üzerinde bulunan odacıklara doldurulur. Eritrosit sayımı Olympus CX21 mikroskobunda 40x büyütme ile yapılmıştır. Yapılan analiz ile elde edilen sonuç matematiksel olarak hesaplanarak eritrosit sayısı tespit edilmiştir (Arıkan vd., 2012).

3.5.2. Lökosit Sayımı

Örneklere alınan kan, 1 mm^3 kanda bulunan lökosit sayısını belirlemek üzere lökosit sulandırma pipetinin üzerinde bulunan 0,5 çizgisine kadar çekilir. Sulandırma pipetinin 11 çizgisine kadar lökositler için seyreltme solüsyonu olan Türk solüsyonu çekilir.

Pipet hafifçe sallanarak çözeltinin homojen hale gelmesi sağlanır. Neubauer Hemositometresi lamelle kapatılarak hazır hale getirildikten sonra, pipetteki ilk damlalar dışarı atılır ve geri kalanı lamelin aralık olan kısımlarından hemositometredeki odacıklara doldurulur. Lökosit sayımı Olympus CX21 mikroskopunda 40x büyütme ile yapılmıştır. Yapılan analiz ile elde edilen sonuç matematiksel olarak hesaplanarak lökosit sayısı tespit edilmiştir (Arıkan vd., 2012).

3.5.3. Hemoglobin Tayini

Hemoglobin tayini Sahli Metodu kullanılarak yapılmıştır. Sahli Hemoglobinometresi içerisindeki tüpün üzerinde bulunan 2 çizgisine kadar yüzde 1 oranında olan hidroklorik asit damlatılır. Örneklerden alınan kan Sahli pipetinin 20 mikron çizgisine kadar çekildikten sonra içerisinde hidroklorik asit bulunan tüpe boşaltılır. Cam karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak kanın hidroklorik asit ile homojen olarak karışması sağlanır. Hemoglobinin parçalanarak hematinik aside dönüşmesi için birkaç dakika beklendikten sonra çözeltinin rengi hemoglobinometrenin her iki yanında bulunan standart sıvının rengini alana kadar saf su damlatılır. Hemoglobin tüpündeki sıvının seviyesi g/dL olarak okunarak, hemoglobin değeri elde edilmiştir (Tanyer, 1985).

3.5.4. Hematokrit Tayini

Hematokrit tayini için; mikrohematokrit santrifüj cihazı (Elektro-Mag M19) kullanılmıştır (Şekil 5). Kılcal tüpe alınan kan örnekleri 1000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilerek, plazmanın kan hücrelerinden ayrılması sağlanır. Santrifüj işleminden sonra kanın ayrılan kısımları milimetrik kağıt kullanılarak ölçüldükten sonra elde edilen sonuçlar % olarak hesaplanmış ve hematokrit değeri elde edilmiştir (Tanyer, 1985).



Şekil 5. Analizlerde kullanılan mikrohematokrit santrifüj cihazı (Orijinal).

3.5.5. Eritrosit İndeksleri

Eritrosit indeksleri, klinik hematoloji analizlerinden elde edilen hematokrit, hemoglobin ve eritrosit sayısı sonuçları doğrultusunda Tanyer (1985)'e göre hesaplanmıştır.

Ortalama Eritrosit Hacmi (OEH) 'nin Hesaplanması:

$$OEH (\mu^3) = \frac{\text{Hematokrit (\%)} \times 10^6}{\text{Eritrosit sayısı (1mm}^3\text{)}}$$

Ortalama Eritrosit Hemoglobini (OEHb) 'nin Hesaplanması:

$$OEHb (\mu\mu\text{g}) = \frac{\text{Hemoglobin (g/dL)} \times 10^6}{\text{Eritrosit sayısı (1mm}^3\text{)}}$$

Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu (OEHBK) 'nın Hesaplanması:

$$\text{OEHBK (\%)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dL)} \times 100}{\text{Hematokrit (\%)}}$$

3.5.6. Lökosit Tiplerinin Belirlenmesi (Lökosit Formülü)

Wright boyası ile boyanmış preparatlarda Olympus CX21 mikroskobu altında 40x büyütmede 100 lökosit hücresi teşhis edilerek kaydedilir. Lenfosit, monosit, eozinofil, nötrofil ve bazofil olmak üzere 5 farklı lökosit tipinin periferik kanda yüzde kaç oranında bulunduğu matematiksel hesaplamalar sonucu belirlenmiş ve her bir örneğe ait lökosit formülü oluşturulmuştur (Arıkan vd., 2012).

3.5.7. Eritrometrik Ölçümler

Alınan kan örnekleri ile hazırlanmış ve Wright boyasıyla boyanarak incelemeye hazır hale getirilmiş her bir preparattan rastgele seçilmiş 40 eritrositin morfolojik karakterleri ölçülür. Olympus CX21 mikroskobu altında 100x büyütmede Olympus 1-15X mikrometrik oküleri vasıtasıyla her eritrositten dört adet ölçüm alınmıştır: Eritrosit Uzunluğu (EU) ve Genişliği (EG), Nükleus Uzunluğu (NU) ve Genişliği (NG). Eritrosit ve nükleusların şekilleri EU/EG ve NU/NG oranları aracılığıyla belirlenmiş, nükleositol plazmik oran (NR) ise NB/EB oranıyla belirlenmiştir. Eritrosit boyutu (EB) ve nükleus boyutu (NB) ölçümler sonucu elde edilen sonuçlar doğrultusunda matematiksel olarak hesaplanmıştır (Atatür vd., 1999).

Eritrosit Boyutunun Hesaplanması:

$$\text{EB} = \text{EU} \times \text{EG} \times \pi / 4 [\mu\text{m}^2]$$

Nükleus Boyutunun Hesaplanması:

$$\text{NB} = \text{NU} \times \text{NG} \times \pi / 4 [\mu\text{m}^2]$$

3.6. Genotoksikolojik Analizler

Genotoksikolojik ölçümler için alınan kan örneğinden kan yayma preparatları hazırlanmış ve mikronükleus tespiti için Giemsa boyası ile boyanmıştır (Josende vd., 2015; Çördük vd., 2018).

3.6.1. Mikronükleus Testi

Mikronükleus testi için; kan yayma preparatları, 20 dakika etanol ile fikse edilir ve oda sıcaklığında kuruması için beklenir. Daha sonra 15 dakika metanol ile fikse edilip Giemsa boyasıyla boyanır (Josende vd., 2015; Çördük vd., 2018). Hazırlanan her preparat Olympus CX21 marka optik mikroskop altında 100x büyütmede incelenerek toplamda 1000 eritrosit sayılmıştır.

Mikronükleus Tespitinin Basamakları:

- a) MN ana nükleusun üçte birinden daha küçük olmalıdır.
- b) MN ana nükleusla temasta olmaması gerekmektedir.
- c) MN ana nükleus ile aynı renkte ve yoğunlukta olması ve refraktif olmaması gerekmektedir (Heddle ve Countryman, 1976; Fenech, 2000; Çördük vd., 2018).

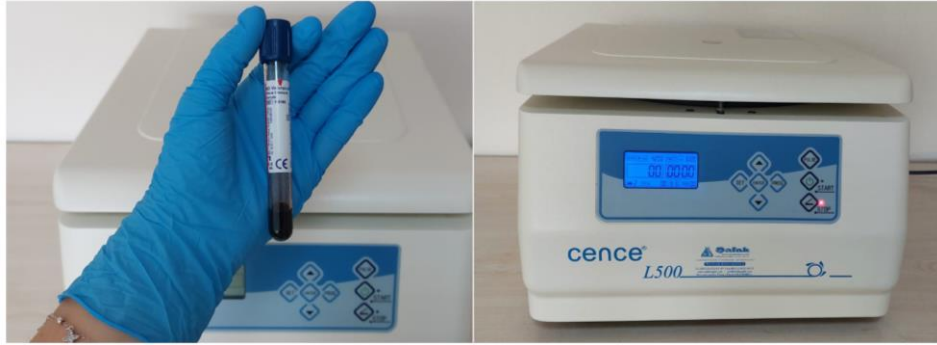
Böbrek şeklindeki nükleus, loblu nükleus, çentikli nükleus ve tomurcuklu nükleus gibi diğer nükleer anormallikler de bu preparatlardan tespit edilerek sayılmıştır.

3.6.2. Su ve Kanda Ağır Metal Analizleri

Ağır metal analizleri için alınan kan örnekleri K2 EDTA içeren eser element tüplerine (BD Vacutainer, Becton Dickinson, Plymouth, UK) aktarıldıktan sonra santrifüj cihazında 4000 rpm-10 dakika santrifüj edilerek plazma kısmı ayrılmıştır (Şekil 6). Elde edilen plazma, otomatik pipet yardımıyla Eppendorf tüplere alınarak muhafaza edilmiştir. 1. Lokaliteden (Şehir Merkezi Yakını) *P. bedriagae* türüne ait 3 adet, *M. rivulata* türüne ait 3 adet; 2. Lokaliteden (Atikhisar Barajı Yakını) *P. bedriagae* türüne ait 3 adet, *M. rivulata* türüne ait 3

adet olmak üzere toplam 12 adet kan örneğinin element analizi MAKÜ BİLTEKMER'den (Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi) hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

Ayrıca çalışma alanları olan bu iki lokaliteden alınan su örnekleri 100 cc'lik polietilen şişelere konularak muhafaza edilmiş, 1. Lokaliteden (Sarıçay Merkez Sanayi Bölgesi) 1 adet, 2. Lokaliteden (Atikhisar Barajı Civarı) 1 adet olmak üzere toplam 2 adet su örneğinin element analizi ÇOBİLTUM'dan (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi) hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kan ve su örneklerinde analizi yapılan elementler şunlardır: Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Zn.



Şekil 6. Eser element tüpü ve santrifüj cihazı (Orijinal).

3.7. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilere ait standart değerler Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics 20 ve R Project for Statistical Computing programlarından yararlanılarak değerlendirilmiştir. Hematolojik parametrelerin temiz ve kirli lokaliteler arasında farklılık olup olmadığı Mann-Whitney U non-parametrik testi ile ortaya konulmuştur. Analizler sonucu elde edilen tüm veriler $P \leq 0,05$ anlam seviyesi göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada Sarıçay'da bulunan iki lokalitedeki su örnekleri fizikokimyasal ve ağır metal analizleriyle incelenmiştir (1. Lokalite: Şehir Merkezi Yakını ve 2. Lokalite: Atikhisar Barajı Yakını). Bu lokalitelerde dağılış gösteren *Pelophylax bedriagae* (12♂♂, 8♀♀) ve *Mauremys rivulata* (4♂♂, 17♀♀) örnekleri üzerinde çevresel parametrelerin etkileri morfolojik, hematolojik ve genotoksikolojik olarak incelenmiş ve aşağıda alt başlıklar şeklinde verilmiştir.

4.1. Su Örneklerinde Ağır Metal Analizleri

Çalışılan lokalitelerdeki su kalitelerini belirlemek üzere bazı su parametreleri ekolojik kit ile ölçülerek SKKY'nin belirlediği kalite sınıflarına göre sınıflandırılmıştır. pH, çözünmüş oksijen ve sıcaklık değerleri göz önüne alındığında 1. Lokalite (Şehir Merkezi Yakını) IV. su kalite (Kirli) sınıfı içerisinde yer alırken 2. Lokalite (Atikhisar Barajı Yakını)'nin I-II. su kalite (Temiz) sınıfı içerisinde yer almakta olduğu belirlenmiştir (Tablo 1, Şekil 7 ve 8).



Şekil 7. Kirli olarak seçilen alandaki (Sarıçay Şehir Merkezi Yakını) kirlilik kaynakları ve etkileri (Orijinal).



Şekil 8. Temiz olarak seçilen alana (2. Lokalite: Atikhisar Barajı Yakını) ait fotoğraflar (Orijinal).

Mart-Ağustos 2021-2022 tarihleri arasında yapılan arazi çalışmalarında örneklerin toplandığı lokalitelerden alınan su örneklerinin element içeriği analiz edilmiştir. Her iki lokaliteden aynı aylarda alınan su örnekleri üzerinde yapılan analizler sonucu, bazı fizikokimyasal parametreler ve tespit edilen ortalama metal konsantrasyonları Tablo 2’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 2. Çalışılan 2 farklı lokaliteden alınan su örneklerine ait fizikokimyasal parametreler ve bazı ağır metal konsantrasyonları (-; Tespit edilememiştir.).

PARAMETRELER	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)	2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)
Tarih	25.05.2022	24.05.2022
pH	5,63	6,97
Çözülmüş Oksijen (mg/L)	0,68	10,89
Sıcaklık (°C)	20,3	26,6
Alüminyum (ug Al/L)	-	-
Bor (ug B/L)	45,86 ug/L	92,64 ug/L
Baryum (ug Ba/L)	68,21 ug/L	40,07 ug/L
Ca (mg Ca/L)	104,6 mg/L	30,47 mg/L
Kadmiyum (ug Cd/L)	0,875 ug/L	0,716 ug/L
Kobalt (ug Co/L)	0,987 ug/L	1,122 ug/L
Krom (ug Cr/L)	-	-
Bakır (ug Cu/L)	-	-
Demir (ug Fe/L)	67,58 ug/L	10,63 ug/L

K (mg K/L)	6,305 mg/L	6,685 mg/L
Mg (mg Mg/L)	24,60 mg/L	20,33 mg/L
Mangan (ug Mn/L)	204,3 ug/L	1,469 ug/L
Na (mg Na/L)	48,93 mg/L	55,88 mg/L
Nikel (ug Ni/L)	6,392 ug/L	8,836 ug/L
P (mg P/L)	0,799 mg/L	0,077 mg/L
Kurşun (ug Pb/L)	-	-
Çinko (ug Zn/L)	4,242 ug/L	2,953 ug/L

Tespit edilemeyen konsantrasyonlar eser miktarda olarak kabul edildiği için değerlendirmeye alınmamıştır. Su analizinden elde edilen sonuçlara göre; 1. Lokalite’de Ba, Ca, Cd, Fe, Mg, P ve Zn elementlerinin daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir. B, Co, K, Mn, Na ve Ni elementlerinin ise 2. Lokalite’de daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sarıçay üzerinde yapılmış tüm çalışmalarda, suyun genellikle şehir merkezine yakın bölgelerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik bakımdan daha kirli olduğu ve şehir merkezinden Atikhisar Barajına doğru gidildikçe kirlilik seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir (İlgar, 2000; Odabaşı, 2005; Akbulut vd., 2006; Kaya, 2007).

Kaya (2007) tarafından yapılan tez çalışmasında, Sarıçay ve Atikhisar farklı lokalitelerinde pestisit ve evsel kirliliğin boyutları belirlenmiştir. Belirlenen lokalitelerden biri (6. İstasyon) bizim çalışmamızdaki 1. Lokalite ile yakın konumlarda bulunmakta, diğerinin konumu ise (5. İstasyon) 2. Lokalite ile yakınlık göstermektedir. Çalışmada Mayıs 2006’ da en düşük sıcaklık (5,1 °C) ve çözünmüş oksijen değeri (4,83 g/dL) ve Haziran 2006’ da en düşük pH değeri (6,82) 5. İstasyon’da görülmüştür. Bunun sebebinin ise çalışılan diğer istasyonlar ile karşılaştırıldığında en sığ lokalitenin 5. İstasyon (30-40 m) olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. 6. İstasyonun da sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri bakımından 5. İstasyon ile yakın değerler gösterdiği görülmüştür. Yapılan analizlerde bu iki lokalitede pestisit saptanamamıştır ancak arazi çalışmalarında özellikle 6. İstasyonun yakınlarında kullanılıp suya atılmış pestisit şişeleri gözlemlenmiştir.

Zhelev vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada endüstriyel alandan alınan *P. ridibundus* türü üzerinde, genotoksisite ve nükleer anormallik analizleri yürütülmüştür. Suda ölçülen ağır metal seviyeleri daha az kirlenmiş bir kontrol bölgesi ile karşılaştırıldığında; Cu, Zn, Cd, Ni, A, Hg ve Al konsantrasyonlarının kirli alanda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ölçülen pH değeri iki lokalite arasında yakın değerlere sahip olsa da, çözülmüş oksijen değeri bakımından Kaya (2007)'nin çalışması ile kıyaslandığında iki lokalite arasında büyük bir fark olduğu görülmüştür. Arazi çalışmalarımızda 1. Lokalite'de su kenarına bırakılan katı atıklara ve akarsuya boşaltılan atık suların varlığına rastlanmıştır (Şekil 4). Bu nedenle çözülmüş oksijen seviyesinin azalmış olabileceği tahmin edilmektedir. Ağır metal konsantrasyonlarına bakıldığında; Cd ve Zn seviyelerinin önceki çalışmalar ile benzerlik göstererek 1. Lokalite'de daha yüksek çıktığı, Ni seviyesinin ise aksine düşük çıktığı tespit edilmiştir.

4.2. *Pelophylax bedriagae* Türüne Ait Morfolojik Ölçümler

Çanakkale ili Sarıçay'ın şehir merkezi yakını ve Atikhisar Barajı yakınından yakalanan Levanten Ova Kurbağası (*Pelophylax bedriagae*) örneklerinden bazı morfolojik ölçümler alınmış (Vücut Ağırlığı, Baş+Gövde Uzunluğu) ve incelenmiştir. 1. Lokalite'de yaşayan bireylerde sırasıyla; 22,767±13,928 g, 61,512±11,630 mm olarak, 2. Lokalite'de yaşayan bireylerde; 21,025±11,724 g, 60,714±12,350 mm olarak belirlenmiştir.

4.3. *Pelophylax bedriagae* Türüne Ait Hematolojik Analizler

Bu tez çalışması kapsamında incelenen *P. bedriagae* (12♂♂, 8♀♀) türüne ait 1. Lokalite'den (Şehir Merkezi Yakını) 10 adet, 2. Lokalite'den (Atikhisar Barajı Yakını) 10 adet ergin birey toplanmış, dişi ve erkekler arasında istatistiki olarak fark olmadığından birlikte değerlendirilerek türe ait bazı klinik hematolojik parametreleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar üzerinde tanımlayıcı istatistik analizi yapılarak Tablo 3'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3. *Pelophylax bedriagae* örneklerinin klinik hematoloji parametrelerine ait ortalama değerler. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

HEMATOLOJİK PARAMETRELER	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)					2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)				
	N	Min-Maks	Ort	SE	SD	N	Min-Maks	Ort	SE	SD
Hb (g/dl)	10	4,0-12,6	7,130	0,765	2,420	10	4,8-9,0	6,880	0,416 5	1,317 2
Ht (%)	10	11-53	30,70	3,62	11,47 0	10	19,0-43,0	27,700	1,993 3	6,303 4
ES (1mm ³)	10	270000-530000	408000,00	28394,053	89789,878	10	290000-640000	485000,00	34968,240	11057,9283
LS	10	4000-8300	6520,00	438,634	1387,083	10	4600-7700	5930,00	306,612	969,593
OEH (fl)	10	407,407-1656,250	772,253	111,763	353,426	10	429,687-862,068	590,126	47,186	149,216
OEHb (pg)	10	12,121-39,375	18,071	2,474	7,826	10	10,9098-17,931	14,485	0,752	2,378
OEHbK (%)	10	16,190-50,909	25,430	3,406	10,770	10	20,800-29,090	25,083	0,911	2,883

Hematolojik parametreler ve eritrosit indeksleri incelendiğinde, 1. Lokalite'deki bireylerin eritrosit sayısı dışındaki tüm değerlerin 2. Lokalite'deki bireylerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Eritrosit sayısı, 1. Lokalite'deki bireylerde 1 mm³ kanda ortalama 408,000 olarak, 2. Lokalite'deki bireylerde ise 1 mm³ kanda ortalama 485,000 olarak tespit edilmiştir. 1. Lokalite'den ve 2. Lokalite'den toplanan *P. bedriagae* bireylerinin hematolojik parametreleri ve eritrosit indeksleri karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bir farklılık göstermediği sonucuna ulaşılmıştır ($P \geq 0,05$).

Zhelev vd., (2015) tarafından *P. ridibundus* türü üzerinde yapılan çalışmada bazı ağır metaller ile kirlenmiş (Cd, Zn, Pb) bölgeden alınan örneklerde eritrosit sayısı 480,000-690,000 1 mm³, lökosit sayısı 3200-4300 1 mm³, hemoglobin 5,21-8,97 g/dl, hematokrit 0,31-0,41 L/l (%31-41), OEH 540,50-806,25 fL, OEHb 110,04-172,85 pg, OEHbK 157,97-254,53 g/L olarak belirlenmiştir.

Zhelev vd., (2013)'nin *P. ridibundus* ile yaptığı daha önceki çalışmasında ise kirletici varlığı görülmeyen bölgedeki bireylerde eritrosit sayısı 270,000-490,000 1 mm³ olarak; çeşitli kirleticiler ile kirlendiği bildirilen iki lokalitede ise kirlenmiş olduğu tespit edilen bölgelerdeki bireylerde ise 380,000-590,000 ve 400,000-920,000 1 mm³ olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda kirli bölgelerde eritrosit ve lökosit sayılarında, hemoglobin, hematokrit, OEH, OEHb ve OEHbK değerlerinde artış görülmüştür.

Tosunoğlu vd., (2015) yaptığı çalışmada Biga Çayı'nda bulunan yüksek su kalitesine sahip ve kontamine olmuş iki lokalitede yaşayan *P. ridibundus* bireylerinin bazı hematolojik parametreleri incelenmiştir. Yüksek su kalitesine sahip bölgedeki bireylerde; eritrosit sayısı 240,000-690,000 1 mm³, lökosit sayısı 2900-5500 1 mm³, hemoglobin 5-10 g/dl, hematokrit %16-20, OEh 14-1125 fL, OEhb 19-366,67 pg, OEhbK %14-37,69 gibi hematolojik parametrelerine ait referans aralıkları tespit edilmiştir. Bu değerler kontamine olmuş bölgedeki bireylerde ise; eritrosit sayısı 300,000-574,000 1 mm³, lökosit sayısı 3600-6000 1 mm³, hemoglobin 5-10,5 g/dL, hematokrit %20-44, OEh 13-423,08 fL, OEhb 13-92,59 pg, OEhbK %13-15,15 olarak belirlenmiştir. İncelenen klinik hematoloji parametrelerinin su kalitesine bağlı olarak değişmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Özlü (2017), *P. ridibundus* bireyleri üzerinde yaptığı tez çalışmasında Asit-Maden Gölünde bulunan bireylerde hematokrit değerinin %20-60 aralığında; hemoglobin değerinin 3,50-9,60 g/dL aralığında olduğunu bildirmiş. Aynı değerlerin kontrol bölgesinde yaşayan bireylerde sırasıyla %17-50 ve 3,50-8,20 g/dL aralığında olduğu belirlenmiştir. Her iki bölge arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark görülmemiş olup, elde edilen değerler birbirine yakın olduğu gözlenmiştir.

Peskova vd., (2019), farklı kirlilik tiplerine sahip iki biyotopta yaşayan *P. ridibundus* bireylerinin hematolojik parametrelerini incelemiş ve her iki bölgede yaşayan kurbağaların eritrosit sayısında ve hemoglobin değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını ancak hücrelerde hiperkromi görüldüğünü tespit etmişlerdir. İnceledikleri biyotoplardaki su kalitesinin kuyuksuz kurbağalar üzerinde patolojik bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Önceki çalışmalarda kirli alanlarda eritrosit sayısının arttığı görülmüştür (Zhelev vd., 2013; Tosunoğlu vd., 2015), ancak bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre eritrosit sayısının nispeten daha az kirlenmiş 2. Lokalite'deki örneklerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Kirli alanlarda hematolojik parametrelerde görülen bu değişikliklerin sebebinin yaşam ortamlarında bulunan ksenobiyotiklerin varlığından kaynaklanan anemi ve bağışıklık sistemindeki bozuklukların göstergesi olduğu ve dokulara oksijen taşınımını bozabilecek hipoksiden kaynaklandığı düşünülmektedir (Zhelev vd., 2018). Verilerimiz ile uyumlu olarak, Fierascu vd., 2018'de yaptığı çalışmasında pestisite maruz kalan bireylerde eritrositopeni görülebileceğini rapor etmiştir. *P. bedriagae* türünün diğer hematolojik

parametrelerine ait elde edilen veriler literatürde kirli ve temiz lokaliteler için rapor edilen verilerle uyum içerisindedir.

İki lokalitedeki *P. bedriagae* bireylerine ait lökosit yüzdelerinin buldukları suyun fizikokimyasal parametrelerine göre nasıl bir artış gösterdiği bireylerin lökosit tiplerinin incelenmesiyle (Şekil 9) lökosit formüllerinin çıkarılması sonucu belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. *Pelophylax bedriagae* örneklerinin lökosit formülüne ait ortalama değerler. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

LÖKOSİT TİPLERİ	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)					2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)				
	N	Min- Maks	Ort	SE	SD	N	Min- Maks	Ort	SE	SD
Lenfosit (%)	10	38-71	53,20	3,690	11,670	10	45-76	59,70	3,194	10,100
Monosit (%)	10	3-16	9,90	1,278	4,040	10	4-20	10,50	1,586	5,017
Eozinofil (%)	10	1-25	8,50	2,566	8,114	10	2-28	11,20	2,719	8,600
Nötrofil (%)	10	1-39	16,20	4,093	12,943	10	2-30	10,50	2,460	7,778
Bazofil (%)	10	3-24	12,20	2,205	6,973	10	1-12	7,10	1,016	3,213

Örneklerin kan yayma preparatlarının incelenmesiyle elde edilen lökosit yüzdelerine bakıldığında; lenfosit, monosit ve eozinofil yüzdelerinin nispeten 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu tespit edilmiş, nötrofil ve bazofil yüzdelerinin ise 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek görülmüştür. Ancak kirli ve temiz olarak tespit edilen lokalitelerde bulunan *P. bedriagae* bireylerinin lökosit yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($P \geq 0,05$).

Peskova vd. (2001), önceki yıllarda yaptıkları bir çalışmalarında *P. ridibundus* türünün lökosit formülünde, adaptif ve patolojik olmak üzere iki farklı değişimin görüldüğünü bildirmişlerdir. Adaptif değişimlerde genç eozinofiller ile monositlerin sayıca arttığını ve lenfosit ve eozinofillerin hücre içeriğinde birtakım değişiklikler görüldüğünü; patolojik değişimlerde ise nötropeni, eozinofili ile birlikte monositoz ve lenfositoz görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Zhelev vd. (2013) yaptıkları çalışmada antropojenik kirlilik varlığı görülmeyen bir bölge ile kirlenmiş bir nehrin iki bölgesinde yaşayan *P. ridibundus* bireylerinin

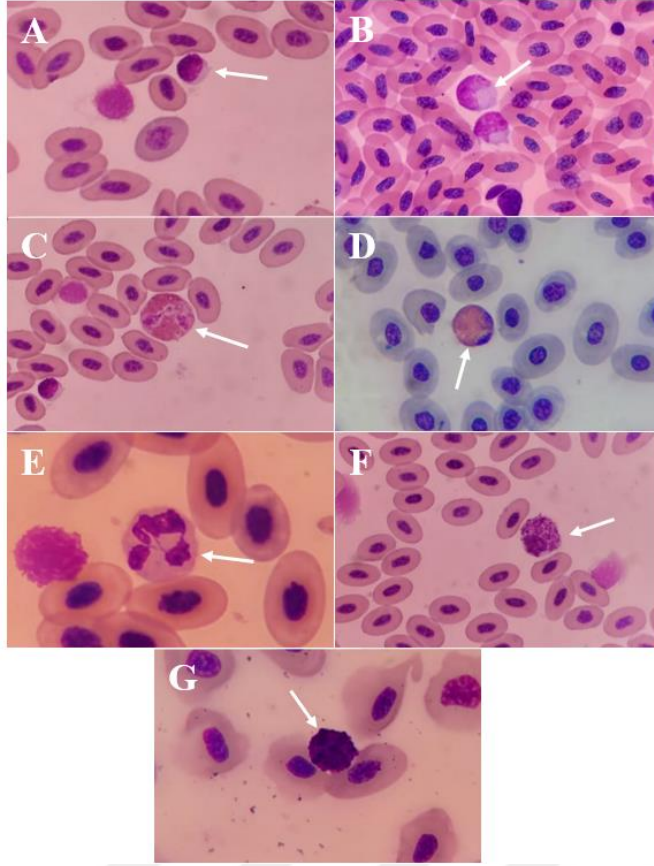
lökosit tipleri kıyaslandığında; kirliliğin en çok görüldüğü bölgede yalnızca segmentli nötrofil ve monosit sayılarında artış olduğu görülmüştür. Daha temiz olduğu belirlenen lokalitede lenfosit %72-90; monosit %1-9; eozinofil %1-3; bazofil %1-4; bantlı ve segmentli nötrofil ise sırasıyla %4-10 ve %1-6 oranında belirlenirken, en kirli olduğu belirlenen lokalitede lenfosit %72-87; monosit %6-19; eozinofil %0-2; bazofil %0-3; bantlı ve segmentli nötrofil ise sırasıyla %1-7 ve %3-8 oranında olarak tespit edilmiştir.

Peskova vd. (2019), Nisan- Eylül ayları arasında farklı kirlilik tiplerine (pestisit maruziyeti ve evsel atık su maruziyeti) sahip iki biyotopta yaşayan *P. ridibundus* bireylerinin lökosit formüllerini inceleyerek, sayıca nötrofillerin daha fazla görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bazofil sayısında incelenen aylar boyunca istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Ancak çalışılan aylar arasında bazı bireylerde bazofilopeni ve eozinofili görülmüştür.

Önceki çalışmalarda kirli ve temiz alanlardaki *P. ridibundus* bireylerinin lökosit formülleri üzerinde elde edilen bulgular ile elde ettiğimiz veriler karşılaştırıldığında lenfosit yüzdesinin daha düşük olduğu; yalnızca 1. Lokalite'deki bireylerde görülen monosit yüzdesinin önceki çalışmalarda verilen referans aralıkları içerisinde olduğu; eozinofil, nötrofil, bazofil ve 2. Lokalite'deki bireylerde görülen monosit yüzdelerinin ise önceki çalışmaya göre yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir.

Monosit yüzdesinin kirli alanlarda artması gerekirken 2. Lokalite'de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Monositlerin yanı sıra lenfosit ve eozinofil yüzdelerinin de 2. Lokalite'de daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir, ancak bu veriler literatürde verilen referans aralıkları ile uyum içerisinde değildir. Ayrıca Zhelev vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada en kirli alanda bazofil yüzdesinin düşük olduğu bildirilmiş olup, bizim çalışmamızda bu değer kirli alanda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Monositler, hücre ve doku bozunma ürünlerini fagosit eder, bu hücrelerin kandaki artması vücudun savunma kabiliyetinde bir artışa işaret etmektedir (Zhiteneva vd., 2004). Bazofillerin işlevi, diğer tipteki lökositlerin dokulara göçünü sağlamaktır; anafilaktik şok gibi alerjik reaksiyonların başlamasına yardımcı olurlar. Bazofilopeni, hayvanlarda stres varlığına karakteristik bir tepkidir (Zhiteneva vd., 2004; Peskova vd., 2019).



Şekil 9. *P. bedriagae* ve *M. rivulata* bireylerinde görülen lökosit tipleri A: Lenfosit (*P. bedriagae*), B: Monosit (*M. rivulata*), C: Eozinofil (*P. bedriagae*), D: Eozinofil (*M. rivulata*), E: Nötrofil (*P. bedriagae*), F: Heterofil (*M. rivulata*), G: Bazofil (*P. bedriagae*).

4.3.1. Eritrometrik Ölçümler

Kirliliğin eritrosit morfolojisine ve boyutuna etkilerini izlemek adına 1. ve 2. lokalitelerde bulunan ergin *P. bedriagae* bireylerinden bazı eritrometrik ölçümler (Eritrosit Uzunluğu (EU) ve Genişliği (EG), Nükleus Uzunluğu (NU) ve Genişliği (NG)) alınmış, bu veriler doğrultusunda oranlar (EU/EG, NU/NG, NB/EB, NR) ve matematiksel hesaplamalar (Eritrosit Boyutu (EB), Nükleus Boyutu (NB)) yapılmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Lokalitelere göre *P. bedriagae* örneklerinin eritrometrik ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistik sonuçları. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

ÖLÇÜMLER	n	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)					2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)				
		N	Min-Maks	Ort	SE	SD	N	Min-Maks	Ort	SE	SD
EU (µm)	40	10	18,5-31,0	23,668	0,112	2,250	10	19,0-29,0	23,204	0,097	1,939
EG (µm)	40	10	5,0-161,5	15,042	0,379	7,588	10	11,0-21,0	14,686	0,100	2,008
NU (µm)	40	10	7,0-14,0	9,818	0,063	1,266	10	7,0-12,0	9,594	0,048	0,978
NG (µm)	40	10	4,0-8,0	5,916	0,040	0,817	10	4,0-8,0	5,665	0,040	0,803
EB (µm ²)	40	10	90,275-373,936	282,443	9,054	181,081	10	183,690-436,852	269,252	2,677	53,549
NB (µm ²)	40	10	25,120-81,640	46,040	0,541	10,837	10	23,550-72,220	43,004	0,466	9,324
EU/EG (µm)	40	10	0,182-4,60	1,631	0,013	0,266	10	1,200-2,250	1,598	0,008	0,178
NU/NG (µm)	40	10	1,187-2,545	1,675	0,010	0,216	10	1,285-2,500	1,713	0,010	0,209
NR (µm)	40	10	0,017-0,382	0,168	0,001	0,0309	10	0,094-0,227	0,160	0,001	0,021

İki lokalite karşılaştırıldığında, daha kirli olduğu tespit edilen 1. Lokalite'deki bireylerin eritrometrik ölçümlerinin daha temiz olduğu tespit edilen 2. Lokalite'ye göre daha büyük olduğu belirlenmiştir. Ölçümler baz alınarak yapılan matematiksel hesaplamalar doğrultusunda elde edilen EB (Eritrosit Boyutu) ve NB (Nükleus Boyutu) değerlerinin de 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Oranlara bakıldığında ise 2. Lokalite'deki bireylerde sadece NU/NG oranının yüksek olduğu tespit edilmiş, diğer iki oran 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. *P. bedriagae* bireylerine ait eritrometrik ölçümler ve oranlar iki lokalitede bulunan bireyler arasında karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunamamıştır ($P \geq 0,05$).

Zhelev vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, antropojenik kirliliğe maruz kalmış bir bölgede yaşayan *P. ridibundus* bireylerinde eritrosit uzunluğu, genişliği ve boyutu; nükleus uzunluğu, genişliği ve boyutu değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir.

Şahin (2019), tarafından *P. bedriagae* türü üzerinde yapılan tez çalışmasında farklı kirleticiler ile kirletilmiş alanlardaki bireylerin eritrositlerinin uzunluğunun ve genişliğinin kontrol bireylerine kıyasla daha büyük olduğu, ancak nükleus büyüklüğü ve genişliğinin ise kontrol bireylerinde daha büyük olduğu rapor edilmiştir. Nükleositoplazmik oran kirlenmiş diğer bölgeler ile karşılaştırıldığında kontrol bölgesinde en yüksek değerlerde olduğu

belirlenmiştir. Oksijen seviyesi düşük olan kirli alanlardaki bireylerde eritrosit sayısı ve hacminin yüksek olması ve nükleositoplazmik oranın düşük olması sebebiyle oksijen tutma kapasitesinin arttırıldığı saptanmıştır.

Zhelev vd. (2021) yaptıkları çalışmalarında ağır metallerce kirletilmiş bir alandaki *P. ridibundus* türünün eritrosit boyutlarını belirlemek ve kontrol bölge ile karşılaştırmak üzere bazı eritrometrik ölçümlerini almışlardır. Kontrol bölgesindeki bireylerin eritrosit ölçümlerine ait değerlerin, kirli bölgedeki bireylerden yüksek olduğu rapor edilmiştir. Nükleositoplazmik orana bakıldığında kirli alandaki bireylerde düşüş gösterdiği görülmüştür. Bunun sebebinin hipoksi koşullarında eritrositlerin yüzey alanını arttırarak oksijen kapasitesini arttırmak olabileceği olarak rapor edilmiştir.

P. bedriagae türü üzerinde yapılan önceki çalışmalar incelendiğinde, elde ettiğimiz verilerin büyük çoğunluğunun literatür ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Ancak nükleositoplazmik oran kirli alanlarda daha düşük seviyelerde görülürken; bizim çalışmamızda daha kirli olan 1. Lokalite’de 0,168 µm, daha temiz olan 2. Lokalite’de 0,160 µm olarak belirlenmiş olup birbirine yakındır. Nükleositoplazmik oranın mevsime bağlı olarak artış gösterdiği, ilkbahar aylarında diğer aylara kıyasla artış gösterebileceği bildirilmiştir (Zhelev vd., 2016).

4.4. *Pelophylax bedriagae* Türüne Ait Genotoksikolojik Analizler

4.4.1. Mikronükleus Testi

Su kirliliğinin genotoksikolojik etkilerini araştırmak amacıyla iki farklı lokaliteden toplanmış ergin *P. bedriagae* bireylerinin periferal kanları kullanılarak kan yayma preparatları hazırlanmış ve mikronükleus testi uygulanarak nükleer anormallikler tespit edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Lokalitelere göre *P. bedriagae* örneklerinde gerçekleştirilen mikronükleus ve diğer nükleer anormalliklere ait tanımlayıcı istatistik sonuçları. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

NÜKLEAR ANORMALLİKLER	N	1. LOKALİTE (IV. KALİTE) (Ort±SD)	N	2. LOKALİTE (I-II. KALİTE) (Ort±SD)
Mikronükleus (%)*	10	0,260±0,368	10	0,020±0,042
Loblu Nükleus (%)*	10	0,260±0,231	10	0,020±0,042
Çentikli Nükleus (%)*	10	5,060±2,372	10	1,660±0,780
Böbrek Şekilli Nükleus (%)*	10	0,430±0,330	10	0,080±0,078
Tomurcuklu Nükleus (%)*	10	7,470±4,085	10	2,320±1,387
Binükleat (%)	10	0,020±0,042	10	0,00±0,000
Toplam Nükleer Anormallik (%)*	10	13,030±6,632	10	4,100±1,966

*Lokaliteler arası önemli farklılık tespit edilen parametreler.

Bulgular incelendiğinde, nükleer anormalliklerin daha kirli olduğu belirlenen 1. Lokalite'deki bireylerde, daha temiz olduğu belirlenen 2. Lokalite'deki bireylere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu doğrultuda total nükleer anormallik frekansı 1. Lokalite'deki bireylerde ortalama %13,030 olarak, 2. Lokalite'deki bireylerde ise ortalama %4,100 olarak tespit edilmiştir. 1. ve 2. Lokalite arasında nükleer anormallik frekansları karşılaştırıldığında; mikronükleus (U: 21,000; W: 76,000; Z: -2,423; p: 0,015) ve böbrek şekilli nükleus (U: 17,000; W: 72,000; Z: -2,543; p: 0,011) frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Loblu nükleus (U: 15,000; W: 70,000; Z: -2,864; p: 0,004), çentikli nükleus (U: 4,500; W: 59,500; Z: -3,442; p: 0,001), tomurcuklu nükleus (U: 4,500; W: 59,500; Z: -3,442; p: 0,001) frekansları ve total nükleer anormallik frekansı incelendiğinde de kirli ve temiz lokalite arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu görülmektedir (U: 10000; W: 65,000; Z: -3,026; p: 0,002). Ancak lokaliteler arası yapılan karşılaştırmada binükleat frekansında istatistiki açıdan herhangi bir fark tespit edilememiştir ($P \geq 0,05$).

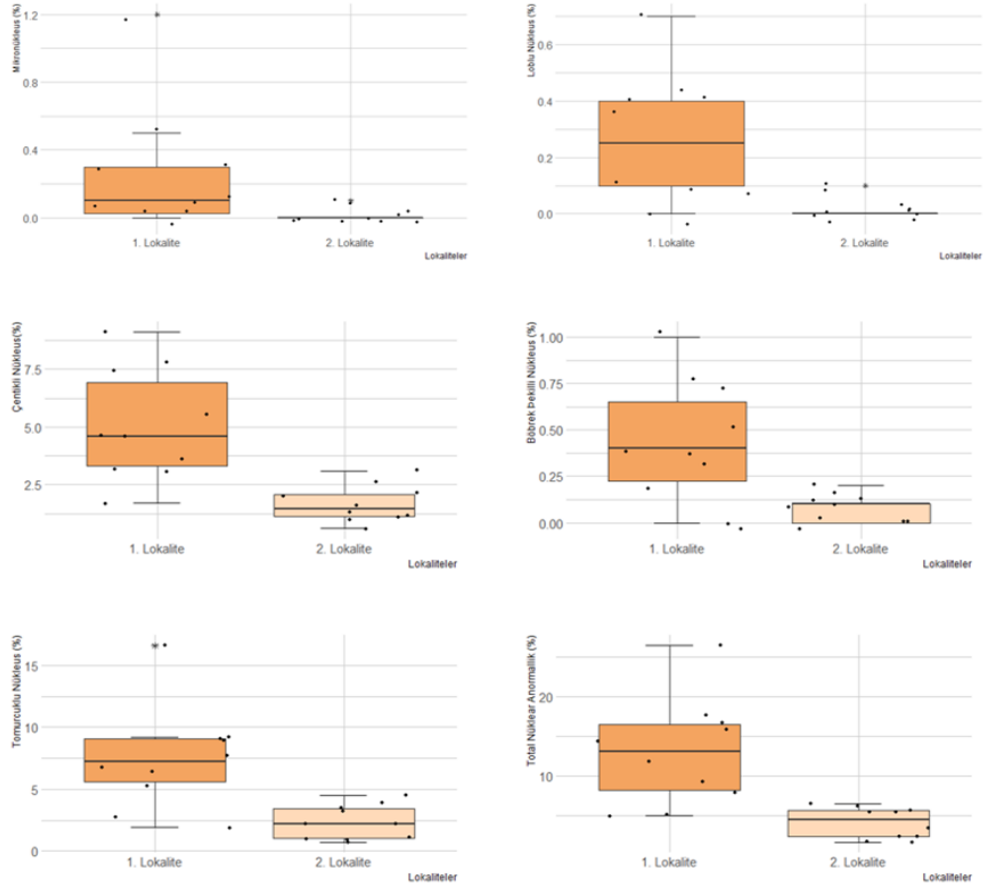
Aymak (2010), tarafından Mersin'de iki lokalitedeki çevresel kirliliğin *Rana ridibunda* türü üzerindeki genotoksik etkilerini belirlemek için yapılan yüksek lisans tez çalışmasının sonucunda ağır metal konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu alandan alınan

kurbağaların total nükleer anormallik frekansının yüksek derecede anlamlı bir fark görüldüğü tespit edilmiştir ($P < 0,001$).

Çördük vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada bazı ağır metallerce kirlenmiş bölgelerde bulunan *P. ridibundus* bireylerinin nükleer anormalliklerine bakıldığında; ağır metal konsantrasyonu en yüksek lokalitedeki total nükleer anormallik frekansının %8,64 olduğu tespit edilmiştir. Kirlenmiş alanlara en uzak olan ve ağır metal seviyesinin en düşük olduğu lokalitedeki total nükleer anormallik frekansı ise %3,41 olarak belirlenmiştir. Ayrıca daha temiz lokalitedeki bireylerin mikronükleus ve böbrek şekilli nükleus frekansının en kirli bölgeye oranla daha fazla olduğu görülmüştür.

Şişman vd. (2021), yaptıkları çalışmada yoğun ve az olmak üzere tarımsal faaliyetlerin gerçekleştirildiği bölgelerden aldıkları *P. ridibundus* bireylerinin nükleer anormallikleri referans bölge ile kıyaslandığında nükleer anormallik çeşitlerinde ve total nükleer anormallik değerinde artış görüldüğünü bildirmişlerdir. Aynı zamanda kirli alanlarda görülen loblu ve çentikli nükleus frekanslarının diğer anormalliklerden daha fazla görüldüğü rapor edilmiştir.

Önceki çalışmalarda kirli ve temiz lokaliteler karşılaştırıldığında, kirliliğin nükleuslarda daha fazla DNA hasarına yol açtığı belirtilmiş olup, bizim çalışmamızda da elde edilen bulgular önceki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, 1. Lokalite'nin daha kirli olduğunu ve türlerin bu kirlilikten etkilendiğini söylemek mümkündür (Şekil 10).



Şekil 10. *P. bedriagae* bireylerinin nükleer anormallik frekanslarında lokaliteler arasında görülen farklılığa ait grafikler (* Aykırı değer).

4.4.2. *Pelophylax bedriagae* Türünün Kan Örneklerinde Ağır Metal Analizleri

Bireylerin kanındaki ağır metal birikimini saptamak için her iki lokaliteden benzer boyuttaki üçer bireyden alınan kanlardan elde edilen plazma örnekleri element analizine gönderilmiştir. Elde edilen ortalama değerler Tablo 7’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 7. Çalışılan 2 farklı lokaliteden alınan örneklerin kanlarındaki bazı ağır metal konsantrasyonları (-; Tespit edilememiştir).

İNCELENEN ELEMENTLER	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)	2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)
Hg (mg/kg)	0,019	0,022
Co (mg/kg)	0,586	-
Cu (mg/kg)	8,523	10,328
Al (mg/kg)	0,204	0,233
P (mg/kg)	194,994	245,134
Mn (mg/kg)	-	-
Ca (mg/kg)	183,4	238,867
Na (mg/kg)	2629,316	2591,664
K (mg/kg)	298,067	319,37
Zn (mg/kg)	8,546	11,019
Pb (mg/kg)	0,212	-
Cd (mg/kg)	-	-
Ni (mg/kg)	-	0,194
Fe (mg/kg)	5,218	0,376
Cr (mg/kg)	0,473	0,013

Tespit edilemeyen konsantrasyonlar eser miktarda olarak kabul edildiği için değerlendirmeye alınmamıştır. Elde edilen sonuçlara göre; 1. Lokalite'deki bireylerde Co, Na, Pb, Fe ve Cr elementlerinin daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu geri kalan elementlerin ise 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu tespit edilmekle birlikte yakın değerlerde oldukları görülmektedir.

Romanova vd. (2021) yaptıkları çalışmada iki farklı kurbağa türünün organ ve dokularında bulunan bazı ağır metal konsantrasyonlarını karşılaştırmıştır. *P. ridibundus* ve *Pelophylax lessonae* türlerinin kanlarındaki ağır metal konsantrasyonlarına bakıldığında; Fe konsantrasyonunun *P. ridibundus* türünde, Cu konsantrasyonunun ise *P. lessonae* türünde daha yüksek olduğu görülmüştür. Organ ve dokulardaki ağır metal seviyeleri ile sudaki seviyelerin oranlanmasıyla hesaplanan biyolojik birikim katsayısına bakıldığında *P. ridibundus*'un kanında en yoğun birikimin Al, Cu, Fe ve Zn metallerinde olduğu görülmüştür.

4.5. *Mauremys rivulata* Türüne Ait Morfolojik Ölçümler

Sarıçay'ın iki lokaliteden alınmış Balkan Çizgili Kaplumbağası (*Mauremys rivulata*) örneklerinden de bazı morfolojik ölçümler (Vücut Ağırlığı, Karapasın Doğrusal Uzunluğu) alınarak incelenmiştir. Kirliliği bölgede yaşayan bireylerde sırasıyla; 750,60±164,582 g olarak, 189,756±13,906 mm olarak, temiz bölgede yaşayan bireylerde sırasıyla; 425,36±224,207 g, 145,485±23,927 mm olarak belirlenmiştir.

4.6. *Mauremys rivulata* Türüne Ait Hematolojik Analizler

Bu tez çalışması kapsamında incelenen *M. rivulata* (4♂, 17♀) türüne ait, 1. Lokaliteden (Sarıçay Merkez Sanayi Yakını) 10 adet, 2. Lokaliteden (Atikhisar Barajı Yakını) 11 adet ergin birey toplanmış, bireylerin dişi ve erkekleri birlikte değerlendirilerek türe ait bazı klinik hematolojik parametreleri tespit edilmiştir. Sonuçlara ait tanımlayıcı istatistik analizi yapılarak Tablo 8'de detaylı olarak verilmiştir.

Tablo 8. *Mauremys rivulata* örneklerinin klinik hematoloji parametrelerine ait ortalama değerler. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

HEMATOLOJİK PARAMETRELER	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)					2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)				
	N	Min-Maks	Ort	SE	SD	N	Min-Maks	Ort	SE	SD
Hb (g/dl)	10	3,5-8,0	6,060	0,430	1,360	11	3,0-7,4	5,473	0,4392	1,4568
Ht (%)*	10	17-38	26,50	1,910	6,042	11	12,0-25,0	19,136	1,0447	3,4648
ES (1mm ³)	10	320000-700000	516000,00	41424,630	130996,183	11	220000-610000	439090,91	34124,226	113177,254
LS	10	3300-6700	5680,00	305,068	964,711	11	2500-8100	5372,73	501,650	1663,785
OEH (fl)	10	348,484-843,750	538,695	51,344	162,364	11	250,000-732,142	466,306	46,105	152,916
OEhb (pg)	10	83,333-202,941	124,367	13,680	43,260	11	62,295-236,363	134,513	16,194	53,711
OEhbK (%)	10	12,068-40,588	23,734	2,258	7,143	11	19,000-41,111	28,570	1,828	6,063

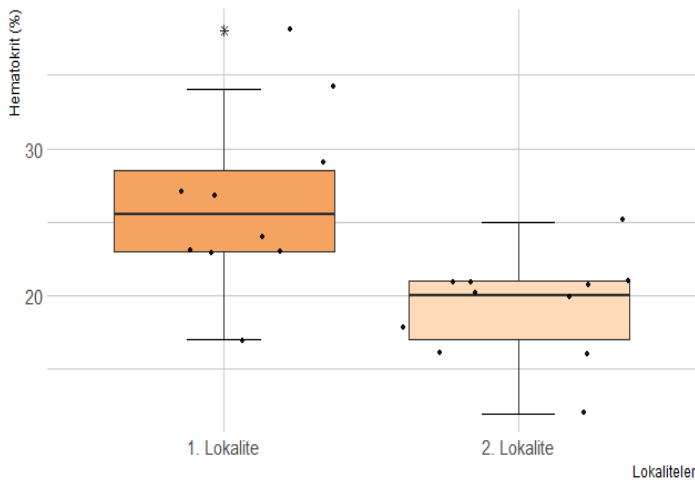
*Lokaliteler arası önemli farklılık tespit edilen parametreler.

Lokaliteler arası karşılaştırma yapıldığında yalnızca OEHb ve OEHbK değerleri nispeten 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek bulunmuş, geri kalan tüm hematolojik parametrelere ait ortalama değerler 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek çıkmıştır. Aynı zamanda 1. ve 2. Lokalite'den toplanan *M. rivulata* bireylerinin hematolojik parametreleri ve eritrosit indeksleri istatistiksel olarak da karşılaştırılmıştır. Hematolojik parametreler arasında sadece hematokrit (%) değerinde önemli düzeyde anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir (U: 12,000; W: 78,000; Z: -3,039; p: 0,002). Daha kirli olduğu belirlenen 1. Lokalite'den toplanmış bireylerin ortalama hematokrit değeri %26,50 olarak, daha temiz olduğu belirlenen 2. Lokalite'den toplanmış bireylerin ortalama hematokrit değeri ise %19,136 olarak belirlenmiştir (Şekil 11).

Gül vd. (2011a), tarafından farklı su kalitelerinde yaşayan *M. rivulata* bireyleri üzerinde gerçekleştirilmiş bir çalışmada; I. Kalite sudaki bireylerin eritrosit sayısı 165,000-253,333 1mm^3 aralığında; lökosit sayısı 1733-2866 1mm^3 aralığında; hematokrit %10-21 aralığında; hemoglobinin 3,30-8,60 g/dL aralığında; OEH 571,43-1260 fL aralığında; OEHb 158,82-339,47 pg aralığında; OEHbK %15,71-45,26 aralığında tespit edilmiştir. IV. Kalite sudaki bireylerde ise eritrosit sayısı 320,000-586,666 1mm^3 ; lökosit sayıları 3500-8800 1mm^3 ; hematokrit %6,20-26 aralığında; hemoglobinin 3,0-7,30 g/dL aralığında; OEH 172,22-625,0 fL aralığında; OEHb 83,33-218,75 pg aralığında; OEHbK %27,65-48,39 olarak değiştiği görülmüştür. Artan eritrosit değerlerinin oksijen değerlerinde görülen düşüşten kaynaklandığını, artan lökosit değerlerinin ise su kirliliği sonucu meydana gelebileceği düşünülmektedir.

Gül vd. (2015), *M. rivulata* türü üzerinde yaptıkları çalışmada yüksek su kalitesine sahip bölgedeki bireylerde eritrosit sayısının 380,000-574,000 1mm^3 , lökosit sayısının 4700-8100 1mm^3 , hemoglobinin 4,0-8,0 g/dL, hematokrit değerinin %15-33, OEH değerinin 365,85-616,82 fL, OEHb değerinin 100,93-146,15 pg, OEHbK değerinin %16,36-38,09 aralıkları arasında olduğu tespit edilmiştir. Kontamine olmuş su ortamında bulunan bireylerde ise eritrosit sayısının 410,000-860,000 1mm^3 , lökosit sayısının 3300-8000 1mm^3 , hemoglobinin 4,0-8,30 g/dL, hematokrit değerinin %16-37, OEH değerinin 305,08-902,43 fL, OEHb değerinin 62,50-170,73 pg, OEHbK değerinin %12,19-37,50 aralıkları arasında olduğu rapor edilmiştir. Su kalitesine bağlı olarak yapılan incelemelerde türün hematolojisine ait bazı değerlerde (eritrosit ve lökosit sayısı, OEH ve OEHb) farklılıklar saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Klinik hematolojiye ait bulgular değerlendirildiğinde, Gül vd., tarafından 2011 yılında yapılan çalışmadaki kirli alan ile çalışmamızdaki 1. Lokalite bireyleri karşılaştırıldığında hematokrit ve OEHBK bakımından önceki çalışmaya kıyasla daha düşük değerler elde edildiği görülmüştür. Temiz alan ile çalışmamızdaki 2. Lokalite bireyleri karşılaştırıldığında ise eritrosit ve lökosit sayısının referansa göre daha yüksek olduğu OEHB ve OEHBK değerlerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. OEHB ve OEHBK değerleri 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek, geri kalan tüm hematolojik parametrelere ait değerler 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek çıkmıştır. Gül vd., tarafından 2015 yılında yapılan kirli ve temiz alanlara ait veriler ile karşılaştırma yapıldığında, tüm verilerin referans aralıkları ve literatür ile uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir. Hematolojik parametrelerin kirli alanlarda artış göstermesini, metabolizmanın hızlanarak aktif bir toksin çıktısı sağladığının bir kanıtı olabileceği rapor edilmiştir (Zhelev vd., 2017).



Şekil 11. *M. rivulata* bireylerinin hematokrit değerinde lokaliteler arası görülen farklılığa ait kutu grafiği (* Aykırı değer).

Sarıçay Merkez Sanayi Bölgesi Yakını ve Atikhisar Barajı Yakını olmak üzere iki lokaliteden toplanmış *M. rivulata* bireyelerine ait lökosit tiplerinin incelenmesiyle lökosit formülleri oluşturulmuştur (Tablo 9).

Tablo 9. *Mauremys rivulata* örneklerinin lökosit formülüne ait ortalama değerler. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

LÖKOSİT TİPLERİ	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)					2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)				
	N (♂♂+♀ ♀)	Min- Maks	Ort	SE	SD	N (♂♂+♀ ♀)	Min- Maks	Ort	SE	SD
Lenfosit (%)*	10	29-61	43,9 0	2,900	9,171	11	35-70	52,64	3,108	10,308
Monosit (%)	10	1-8	4,30	0,746	2,359	11	0-9	4,36	0,766	2,541
Eozinofil (%)*	10	2-36	10,5 0	3,995	12,634	11	8-39	26,36	3,206	10,633
Heterofil (%)*	10	11-49	33,7 0	3,821	12,084	11	4-33	12,82	2,769	9,185
Bazofil (%)*	10	2-18	7,60	1,400	4,427	11	1-8	3,82	0,840	2,786

*Lokaliteler arası önemli farklılık tespit edilen parametreler.

1. Lokalite'deki bireylerde heterofil ve bazofil yüzdesi daha yüksek görülmüş olup; lenfosit, monosit ve eozinofil yüzdelerinin 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen lökosit formülü incelendiğinde; lenfosit (U: 27,000; W: 82,000; Z: -1,977; p: 0,048), eozinofil (U: 16,000; W: 71,000; Z: -2,749; p: 0,006), heterofil (U: 8,000; W: 74,000; Z: -3,324; p: 0,001) ve bazofil (U: 23,000; W: 89,000; Z: -2,270; p: 0,023) yüzdeleri bakımından iki lokalite arasındaki bireylerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş olup, monosit yüzdesi bakımından anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($P \geq 0,05$).

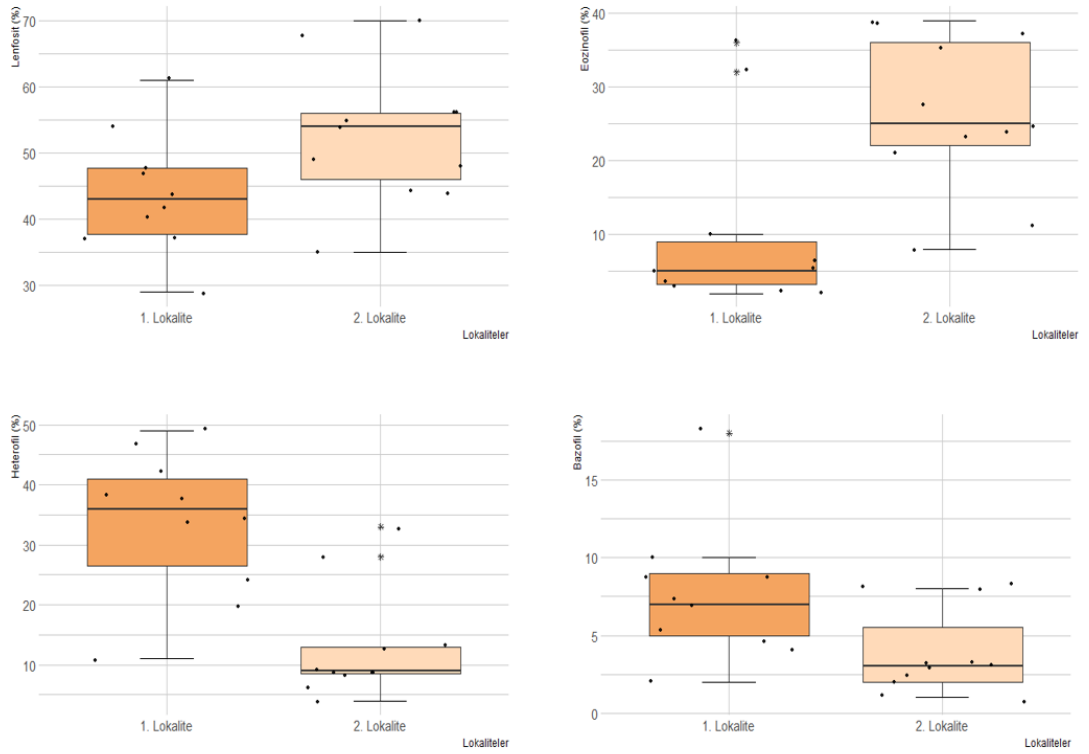
Hidalgo-Vila vd. (2007), yaptıkları çalışmada *Mauremys leprosa* türünün lökosit formülünü oluşturmuşlardır. Bu türde ortalama lökosit tipleri incelendiğinde heterofil yüzdesinin erkek bireylerde %46,9-60,8, dişi bireylerde %52-65,1 aralığında; eozinofil yüzdesinin erkek bireylerde %28,5-42, dişi bireylerde %25,9-39,2 aralığında; lenfosit yüzdesinin erkek bireylerde %4,9-7,7, dişi bireylerde %4,1-7,4 aralığında; monosit yüzdesinin erkek bireylerde %2,3-6,5, dişi bireylerde %0-11 aralığında ve bazofil yüzdesinin erkek bireylerde %0-2, dişi bireylerde %0-1 aralığında olduğunu tespit etmişlerdir.

Chi vd. (2013), çalışmalarında *Mauremys mutica* türünün hematolojisine ait referans aralıklarının mevsim ve cinsiyete göre değişip değişmediğini incelemiştir. Elde edilen lökosit formülü verilere göre heterofil %29-92; lenfosit %1-41; bazofil %0-36; eozinofil %0-3; monosit %1-22 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca heterofil ve lenfosit

yüzdelerinin yaz aylarında (Ağustos) artış gösterdiği; bazofil yüzdelerinin ise ilkbahar aylarında (Nisan) artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

M. rivulata türü üzerinde yapılan önceki çalışmalarda klinik hematolojisine ait parametreler incelenmiş olup, lökosit formüllerine ve lökosit tiplerinin çevresel parametrelere bağlı değişimleriyle ilgili literatüre rastlanmamıştır. 1. Lokalite'deki bireylerde heterofil ve bazofil yüzdelerinin; 2. Lokalite'deki bireylerde lenfosit, monosit ve eozinofil yüzdelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 12).

Eozinofiller genellikle bazı kaplumbağaların periferik kanında nadir olarak bulunur. Ancak doğal ortamdan alınmış kaplumbağaların genellikle parazitlerden muzdarip oldukları ve böylece daha yüksek eozinofil sayısına sahip olabilecekleri öne sürülmüştür (Zhang vd., 2011). Lenfositoz; yara iyileşmesi, iltihaplanma, paraziter enfeksiyonlar (Mead ve Borysenko, 1984) ve viral hastalıklar (Campbell, 2004) ile ortaya çıkmaktadır (Zhang vd., 2011). Heterofil sayısının artmasının, doku hasarına ve iltihaplanmaya neden olan metabolik aktivite, rekabet, beslenme ve çiftleşme davranışlarının artmasına bağlı olabileceği rapor edilmiştir (Terry, 2006; Ci vd. 2013). Kaplumbağa türlerinde bazofillerin, memelilerdeki bazofiller veya mast hücreleri gibi bağışıklık kapasitesi olduğu bilinse de pek çok türün periferik kanındaki sayıları değişkenlik göstermektedir (Zhang vd., 2011).



Şekil 12. *M. rivulata* bireylerinin lökosit tiplerinde lokaliteler arası görülen farklılıklara ait kutu grafikleri (* Aykırı değer).

4.6.1. Eritrometrik Ölçümler

Sarıçay'ın iki farklı lokalitesinden toplanmış ergin *M. rivulata* bireyelerine ait eritrometrik ölçümler ve bu sonuçlara dayanarak matematiksel hesaplamalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Lokalitelere göre *M. rivulata* örneklerinin eritrosit ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistik sonuçları. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

ÖLÇÜMLER	n	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)					2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)				
		N	Min-Maks	Ort	SE	SD	N	Min-Maks	Ort	SE	SD
EU (µm)	40	10	16,0-23,0	19,148	0,058	1,161	11	16,0-23,0	19,386	0,058	1,232

EG (μm)*	40	10	9,5-14,0	11,456	0,043	0,860	11	9,5-15,0	11,820	0,042	0,895
NU (μm)	40	10	5,5-9,0	6,904	0,029	0,592	11	5,0-10,0	6,919	0,031	0,662
NG (μm)	40	10	4,0-65	5,121	0,026	0,530	11	4,0-7,0	5,197	0,028	0,587
EB (μm^2)	40	10	125,600-241,780	172,369	0,922	18,458	11	131,880-239,032	180,035	0,916	19,226
NB (μm^2)	40	10	18,840-42,390	27,863	0,225	4,518	11	15,700-43,960	28,358	0,235	4,949
EU/EG (μm)	40	10	1,346-2,210	1,679	0,007	0,145	11	1,266-2,157	1,648	0,007	0,148
NU/NG (μm)	40	10	1,076-1,750	1,357	0,007	0,141	11	1,000-2,000	1,342	0,007	0,152
NR (μm)	40	10	0,109-0,233	0,161	0,001	0,021	11	0,087-0,240	0,157	0,001	0,023

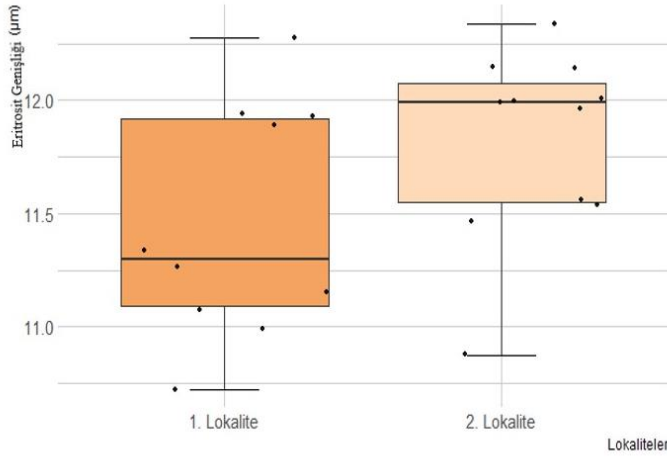
Eritrometrik ölçümler, 1. ve 2. Lokalite arasında karşılaştırıldığında; 1. Lokalite'deki bireylerde yalnızca EU/EG, NU/NG ve NR değerlerinin diğer lokaliteye kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiş, diğer tüm ölçüm ve oranlar bakımından 2. Lokalite'deki bireylere ait değerlerin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak incelenen eritrometrik parametreler arasında sadece eritrosit genişliği (EG) değerinde lokaliteler arasında farklılık olduğu tespit edilmiştir (U: 27,000; W: 82,000; Z:-1,972; p: 0,049). Eritrosit genişliğine ait ortalama değerler; 1. Lokalite'deki bireylerde 11,45 μm olarak, 2. Lokalite'deki bireylerde 11,82 μm olarak belirlenmiştir (Şekil 13).

Uğurtaş vd. (2003), bazı kara ve tatlı su kaplumbağalarının kan hücre morfolojisine ait ölçümleri karşılaştırdıkları çalışmalarında; *M. rivulata* türüne ait eritrosit uzunluğu değeri 18,30-21,96 μm , eritrosit genişliği değeri 10,37-13,42 μm , EU/EG değeri 1,73-1,94 μm , eritrosit boyutu değeri 184,30-231,30 μm ; nükleus uzunluğu değeri 7,06-9,15 μm , nükleus genişliği değeri 5,34-6,10 μm , NU/NG değeri 1,32-1,71 μm , nükleus boyutu değeri 29,74-43,81 μm , nükleositol plazmik oran ise 0,16-0,21 μm olarak rapor edilmiştir.

Çiçek vd. (2015), yaptıkları çalışmada *M. rivulata* türünün eritrometrik ölçümlerin ortalama değerleri; eritrosit uzunluğu değeri 19,3 μm , eritrosit genişliği değeri 12,3 μm , nükleus uzunluğu değeri 6,7 μm , nükleus genişliği değeri 5,9 μm , NU/NG değeri 1,1 μm , eritrosit boyutu değeri 186,7 μm , nükleus boyutu değeri 31,0 μm ve nükleositol plazmik oran 0,2 μm olarak rapor edilmiştir.

Literatür taraması sonucunda *M. rivulata* türünün kan hücre morfolojisi ile ilgili yalnızca referans değerlerin verildiği belirlenmiş, çevresel parametrelere bağlı değişimleriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda eritrometrik ölçümlerden elde edilen değer aralıkları incelendiğinde referans aralıklara yakın değerlere

sahip olduğu ve literatür ile uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir. Eritrositlerin en önemli işlevlerinden biri olan oksijen ve karbondioksit taşınımında, bu gazların dokulara geçmesi bakımından yüzey alanı-boyut oranı belirleyici bir faktördür. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzer olarak, küçük eritrositlerin daha büyük boyuttakilere nazaran daha yüksek bir gaz değişimi sunduğu yapılan çalışmalarca kanıtlanmıştır (Parto vd., 2013).



Şekil 13. *M. rivulata* bireylerinde ölçülen eritrometrik parametreler arasında lokaliteler arası farklılık görülen eritrosit genişliği değerine ait kutu grafiği.

4.7. *Mauremys rivulata* Türüne Ait Genotoksikolojik Analizler

4.7.1. Mikronükleus Testi

Genotoksikolojik analizler kapsamında iki farklı lokaliteden toplanmış ergin *M. rivulata* bireylerinin periferal kanları incelenmiş ve mikronükleus testi uygulanarak (Şekil 15) bireylerin nükleer anormallik frekansları tespit edilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. Lokalitelere göre *M. rivulata* örneklerinde gerçekleştirilen mikronükleus ve diğer nükleer anormalliklere ait tanımlayıcı istatistik sonuçları. Kısaltmaların açıklamaları Simgeler ve Kısaltmalar bölümünde verilmiştir.

NÜKLEAR ANORMALLİKLER	N	1. LOKALİTE (IV. KALİTE) (Ort±SD)	N	2. LOKALİTE (I-II. KALİTE) (Ort±SD)
Mikronükleus (%)	10	0,020±0,042	11	0,045±0,068
Loblu Nükleus (%)*	10	0,090±0,099	11	0,009±0,030
Çentikli Nükleus (%)	10	3,040±1,375	11	3,164±1,481
Böbrek Şekilli Nükleus (%)*	10	0,240±0,195	11	0,055±0,068
Tomurcuklu Nükleus (%)	10	2,380±1,834	11	1,655±1,078
Binükleat (%)	10	0,010±0,031	11	0,00±0,000
Toplam Nükleer Anormallik (%)	10	5,780±3,060	11	4,927±2,053

*Lokaliteler arası önemli farklılık tespit edilen parametreler.

Elde edilen verilere göre, ortalama mikronükleus ve çentikli nükleus yüzdesi daha temiz olduğu tespit edilen 2. Lokalite'deki bireylerde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak diğer nükleer anormallik yüzdelерinin daha kirli olarak belirlenen 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek oranda görülmüştür. Total nükleer anormallik frekansı 1. Lokalite'den toplanmış bireylerde %5,780 olarak, 2. Lokalite'den toplanmış bireylerde %4,927 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Mann-Whitney U Testi yapılarak lokalitelerde tespit edilen nükleer anormallik frekansları karşılaştırılmıştır. Buna göre 1. ve 2. Lokalite arasında yalnızca loblu nükleus (U: 26,000; W: 92,000; Z: -2,456; p: 0,014) ve böbrek şekilli nükleus (U: 16,000; W: 82,000; Z: -2,851; p: 0,004) frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Diğer nükleer anormallikler ve total nükleer anormallik frekansı bakımından lokaliteler arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P \geq 0,05$).

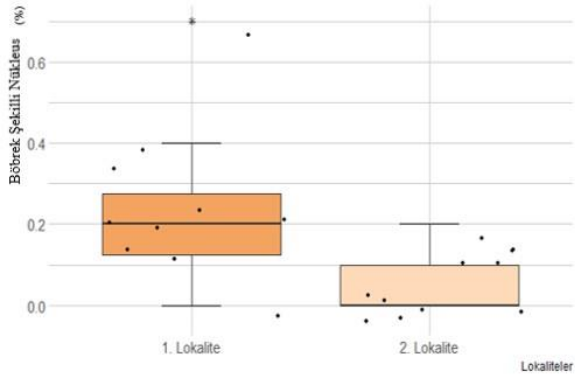
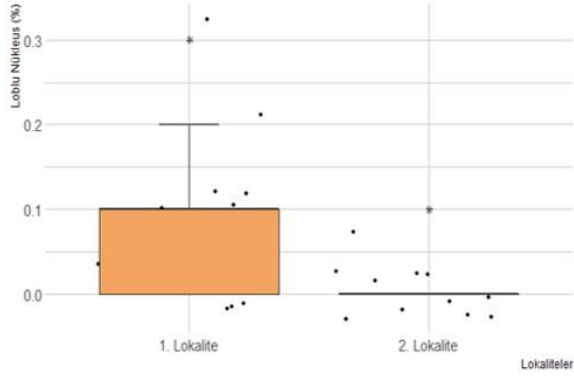
Metin vd., (2008)'de yaptıkları çalışmada *M. rivulata* türüne ait bireylerin mikronükleuslu eritrosit sayısının dört erkek birey için 0,0002 (%0,002), dört dişi birey için 0,0002 (%0,002) olduğunu tespit etmişlerdir.

Gül vd., (2019), yaptığı çalışmada bazı ağır metallerce kirletilmiş olduğu element analizleriyle belirlenmiş lokaliteler arasında diğer lokalitelere kıyasla daha yüksek değerlere sahip olan bir bölgede bulunan *M. rivulata* bireylerinde çentikli (%1,22) ve tomurcuklu

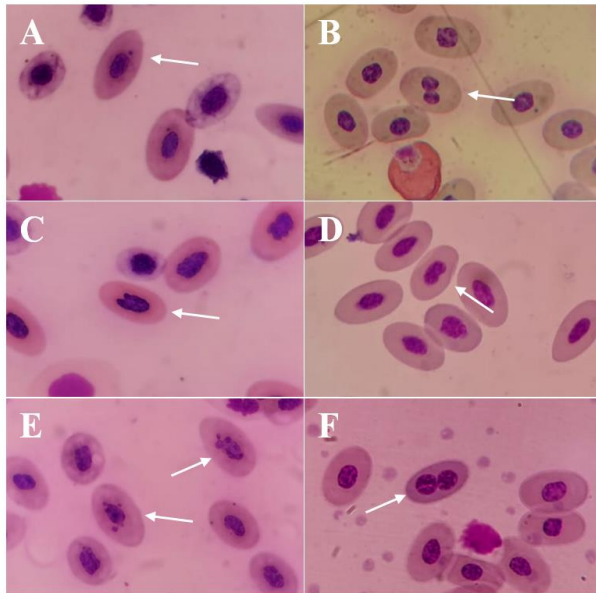
(%7,45) nükleus frekansının diğer nükleer anormalliklere göre daha yüksek oranlarda bulunduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde ağır metal konsantrasyonlarının en düşük olduğu tespit edilen lokalitede tomurcuklu nükleus (%3,34) frekansının yanı sıra çentikli nükleus (%1,07) frekansının da diğer nükleer anormalliklerden daha yüksek değerde olduğu tespit edilmiştir. Daha kirli bölgedeki total nükleer anormallik frekansı %9,16 olarak belirlenirken, daha temiz olan bölgede %4,84 olarak hesaplanmıştır.

M. rivulata türüne ait mikronükleus ve diğer nükleer anormallik yüzdeleri incelendiğinde; çentikli ve tomurcuklu nükleus yüzdelerine ait elde ettiğimiz verilerin referans çalışmalar ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu tespit edilmiş; mikronükleus yüzdesi karşılaştırıldığında ise önceki çalışmalara göre daha yüksek değerler elde edilmiştir. Mikronükleus sayısı ergin hayvanlarda genetik hasarın bir göstergesidir ve sayısındaki artış hücre sağlığın bozulduğunu gösterir. Bununla birlikte, Zuniga-González vd., (2000), çalışmalarında yeni doğan hayvanlar söz konusu olduğunda, bazı türlerin genç bireylerinde retiküloendotelyal sistem olgunlaşmamış olabileceğinden mikronükleus varlığının artabileceğini öne sürmüşlerdir.

Total nükleer anormallikler 1. Lokalite'deki bireylerde referans çalışmadaki kirli alanda bulunan bireyler ile karşılaştırıldığında düşük yüzdelerdeyken, 2. Lokalite'deki bireylerde ise önceki çalışmada temiz alanda bulunan bireylere yakın değerler tespit edilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda, 1. Lokalite'nin daha kirli olduğunu ve türlerin bu kirlilikten etkilendiğini söylemek mümkündür (Şekil 14).



Şekil 14. *M. rivulata* bireylerinin nükleer anormallik frekanslarında lokaliteler arasında görülen farklılığa ait kutu grafikleri (* Aykırı değer).



Şekil 15. *P. bedriagae* ve *M. rivulata* bireylerinde tespit edilen nükleer anormallik tipleri A: Mikronükleus, B: Loblu Nükleus, C: Çentikli Nükleus, D: Böbrek Şekli Nükleus, E: Tomurcuklu Nükleus, F: Binükleat.

4.7.2. *Mauremys rivulata* Türünün Kan Örneklerinde Ağır Metal Analizleri

Bireylerin kanındaki ağır metal birikimini saptamak için her iki lokaliteden benzer boyutlardaki üçer bireyden alınan kanlardan elde edilen plazma örnekleri element analizine gönderilmiştir. Elde edilen ortalama değerler Tablo 12’de ayrıntılı olarak verilmiştir

Tablo 12. Çalışılan 2 farklı lokaliteden alınan örneklerin kanlarındaki bazı ağır metal konsantrasyonları (-; Tespit edilememiştir.).

İNCELENEN ELEMENTLER	1. LOKALİTE (IV. KALİTE)	2. LOKALİTE (I-II. KALİTE)
Hg (mg/kg)	0,016	0,016
Co (mg/kg)	0,352	0,449
Cu (mg/kg)	6,416	6,662
Al (mg/kg)	0,104	0,145
P (mg/kg)	289,06	94,652
Mn (mg/kg)	-	-
Ca (mg/kg)	167,982	208,546
Na (mg/kg)	3059,540	2883,550
K (mg/kg)	149,970	161,391
Zn (mg/kg)	0,951	1,398
Pb (mg/kg)	0,883	0,699
Cd (mg/kg)	-	-
Ni (mg/kg)	-	-
Fe (mg/kg)	0,66	0,243
Cr (mg/kg)	0,034	-

Tespit edilemeyen konsantrasyonlar eser miktarda olarak kabul edildiği için değerlendirmeye alınmamıştır. Elde edilen sonuçlara göre diğer türe benzer olarak; 1. Lokalite’deki bireylerde P, Na, Pb, Fe ve Cr elementlerinin daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu geri kalan elementlerin ise 2. Lokalite’deki bireylerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Hays ve McBee (2007) çalışmalarında kirlenmiş bir alandan alınmış *Trachemys scripta* örnekleri ile kontrol bölgesinden alınan örneklerin kanlarındaki Pb ve Cd konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır. Pb konsantrasyonunda lokaliteler arasında

istatistiki açıdan anlamlı bir fark çıkmamış, Cd konsantrasyonunun ise kirlenmiş alandaki bireylerde daha yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir.

Martinez-Lopez vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada *M. leprosa* türünün kanındaki ağır metal konsantrasyonları incelenmiştir. Analizler sonucu türün dişi ve erkek bireyleri arasında karşılaştırma yapılmış, yalnızca Zn konsantrasyonunun dişilerde; Cd, Pb, Cu ve Hg konsantrasyonlarının ise erkeklerde yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Bunun da yumurta oluşumu sırasında materyal transfer sebebiyle olabileceği rapor edilmiştir.

Literatür taraması sonucunda *M. rivulata* türünün kanında bulunan ağır metal konsantrasyonları ile ilgili lokaliteler arası karşılaştırma yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çanakkale'nin merkezinden geçen bir akarsu olan Sarıçay üzerinde iki lokalite seçilerek bazı fizikokimyasal parametreleri ekolojik kit yardımıyla, ağır metal birikimi ise element analizleriyle belirlenmiştir. Fizikokimyasal parametrelere ait elde edilen veriler ve önceki çalışmalar doğrultusunda belirlenmiş su kalite sınıfları doğrultusunda, 1. Lokalite (Şehir Merkezi Yakını) IV. kalite sınıfı içerisinde; 2. Lokalite (Atikhisar Barajı Yakını) ise I-II. kalite sınıfı içerisinde yer almakta olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, Sarıçay'daki iki lokalitede yaşayan *Pelophylax bedriagae* ve *Mauremys rivulata* türlerine ait morfolojik, hematolojik (eritrosit sayısı, lökosit sayısı, hematokrit, hemoglobin, OEH, OEHb, OEHbK, lökosit formülü, eritrometrik ölçümler) ve genotoksikolojik (mikronükleus testi, ağır metal analizi) analizler yapılmıştır. Lokaliteler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı ortaya konulmuştur. Analizlerden elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

5.1. Sonuç

P. bedriagae türünde erkek ve dişi bireyler birlikte değerlendirilerek lokaliteler (1. Lokalite: IV. Kalite, 2. Lokalite: I-II Kalite) karşılaştırıldığında;

Hemoglobin, hematokrit, lökosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi, ortalama eritrosit hemoglobini ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu değerlerinin 1. Lokalite'deki bireylerde, eritrosit sayısının ise 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu görülmekte olup iki lokalite arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Lenfosit, monosit ve eozinofil yüzdelerinin 2. Lokalite'de, nötrofil ve bazofil yüzdelerinin ise 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu görülmüştür ancak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

EU, EG, NU, NG, EB, NB, EU/EG ve NR ölçümlerine ait değerlerin 1. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek, NU/NG değerinin 2. Lokalite'deki bireylerde daha yüksek olduğu görülse de anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Mikronükleus, loblu, çentikli, böbrek şekilli, tomurcuklu nükleus frekansında ve total anormallik yüzdesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Bu nükleer anormalliklerin 1. Lokalite’de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Co, Cr, Fe, Na ve Pb değerlerinin 1. Lokalite’deki bireylerin kanında daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu Al, Cu, Hg, K, Ni, P ve Zn konsantrasyonlarının ise 2. Lokalite’deki bireylerin kanında daha yüksek görüldüğü saptanmıştır.

M. rivulata türünde erkek ve dişi bireyler birlikte değerlendirilerek lokaliteler (1. Lokalite: IV. Kalite, 2. Lokalite: I-II Kalite) karşılaştırıldığında;

Hematokrit değerinde lokaliteler arasında istatistiki açıdan önemli düzeyde bir farklılık olduğu saptanmış olup 1. Lokalite’de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hemoglobin, eritrosit sayısı, lökosit sayısı ve ortalama eritrosit hacmi (OEH) değerlerinin 1. Lokalite’deki bireylerde, ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHbK) değerlerinin 2. Lokalite’deki bireylerde daha yüksek olduğu görülse de istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Lenfosit, eozinofil, heterofil ve bazofil yüzdeleri bakımından iki lokalite arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Lenfosit ve eozinofil yüzdelerinin 2. Lokalite’deki bireylerde, heterofilve bazofil yüzdelerinin 1. Lokalite’deki bireylerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Eritrometrik ölçümlere bakıldığında 2. Lokalite’deki bireylerde EU, EG, NU, NG, EB, NB değerlerinin daha yüksek olduğu ancak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. EU/EG, NU/NG ve NR değerleri ise 1. Lokalite’deki bireylerde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Mikronükleus ve çentikli nükleus frekanslarının 2. Lokalite’deki bireylerde daha yüksek olduğu ancak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. 1. Lokalite’deki bireylerde ise loblu, böbrek şekilli, tomurcuklu nükleus ve binükleat frekansları ile total nükleer anormallik yüzdesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yalnızca loblu ve böbrek şekilli nükleus frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Cr, Fe, Na, P ve Pb değerlerinin 1. Lokalite’deki bireylerin kanında, Al, Ca, Co, Cu, K ve Zn konsantrasyonlarının 2. Lokalite’deki bireylerin kanında daha yüksek görüldüğü saptanmıştır.

5.2. Öneriler

Çevresel parametrelere karşı hassas canlılar olan amfibi ve sürüngenlerde hematolojik ve genotoksikolojik parametrelerin belirlenmesi, türlerin hem fizyolojileri hem de sağlık durumları hakkında bilgi edinmek; çevresel parametrelerden etkilenme durumlarını saptamak ve popülasyonların devamlılığını sağlayabilmek için oldukça önemlidir.

Pelophylax bedriagae ve *Mauremys rivulata* türlerinde su parametrelerine bağlı olarak hematolojik ve genotoksikolojik analizlerde önemli sayılabilecek farklılıklar bulunmuştur. Bu türlerin yaşadıkları çevrenin uzun süreli etkilerini yansıtan indikatör canlılar olduğu ve su kirliliğini değerlendirmede önemli bilgiler sunmaktadır.

Çanakkale’de sucul amfibi ve sürüngen türlerinin bulunduğu diğer sulak alanlar belirlenmeli ve çalışılmalı, türlerin devamlılığını sağlamak adına bu alanlarda bulunan kirlenici etmenler ortamdan uzaklaştırılmalıdır.

Hematolojik ve genotoksikolojik analizlerin yapıldığı çalışmaların sayısı artırılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir. Bu sayede sucul hayvanların sağlık durumlarının tespiti ile çevreyle olan etkileşimlerinden ne derece etkilendiklerinin anlaşılması kolaylaşmaktadır.

Sucul hayvanlar üzerinde çalışırken hematolojik parametrelerinin yaşadıkları suya ait fizikokimyasal özelliklere göre farklılık gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Ayrıntılı istatistiksel analizlerin yapılabilmesi ve bu analizlerin doğruluk payının artırılması için örnek sayısı yüksek tutulmalı ve birbirine yakın boyuttaki örnekler kullanılmalıdır.

Çanakkale’nin merkezinden geçen bir akarsu olan Sarıçay, su kalitesi ve ağır metaller bakımından önceki çalışmalarda incelenmiştir. Bu çalışma ile Sarıçay’daki su kalitesi ve ağır metallerin sucul amfibi ve sürüngenler üzerine olumlu ya da olumsuz etkileri ilk defa ortaya konmuştur. Bu tez çalışmasının hem tür koruma ve izleme hem de toksikolojik çalışmalara önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Akbulut, M., Odabaşı, S. S., Odabaşı, D. A. ve Çelik, E. Ş. (2006). Çanakkale ili'nin önemli içsuları ve kirletici kaynakları. *Su Ürünleri Dergisi*, 23(1), pp. 9-15.
- Alder, A. and Huber, E. (1923). Unstersucheng über blutcellen bei amphibiien und reptilien. *Folia Heamatol.*, 29.1-22.
- Aleksandar, I., Edhem, H., Svetlana, J. and Dekić, R. (2005). Hematological evaluation of welfare and health of fish. *Praxis veterinaria*, 53: 191-202.
- Alford, R. A. and Richards, S. J. (1999). Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 30, 133–165.
- Anderson, N. L., Wack, R. F. and Hatcher, R. (1997). Hematology and clinical chemistry reference ranges for clinically normal, captive New Guinea snapping turtle (*Elseya novaeguineae*) and the effects of temperature, sex, and sample type. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 394-403.
- Anonim. (2007). Çanakkale İli Çevre Durum Raporu 2006-2007. Çanakkale Valiliği, İl Çevre ve Orman Müdürlüğü, Çanakkale, 410 s.
- Arıkan, H. 1989. *Rana ridibunda* (Anura, Ranidae) popülasyonlarının kan hücrelerinin sayısı bakımından incelenmesi. *Turkish Journal of Zoology*, 13(2), 54-59.
- Arıkan, H. and Çiçek, K. (2010). Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish Herpetofauna. *Acta Herpetologica*, 5(2), 179-198. https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-8526.
- Arıkan, H., Atatür, M. K. and Tosunoğlu, M. (2003). A study on the blood cells of the Caucasus frog, *Pelodytes caucasicus*. *Zoology in the Middle East*, 30(1), 43-47.
- Arıkan, H., Tosunoğlu, M. ve Gül, Ç. (2012). *Genel Hematoloji Ders Notları ve Uygulama Kılavuzu*. Kriter Yayınları, İstanbul.
- Arserim, S. K. and Mermer, A. (2008). Hematology of the Uludağ frog, *Rana macrocnemis* Boulenger, 1885 in Uludağ National Park (Bursa, Turkey). *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 1: 39-46.
- Arvy, L. (1947). Le dimorphisme sexuel sanguin chez *Rana temporaria* L. et *Bufo vulgaris*. *Laur. Compt. Rend. Soc. Biol.*, 141: 457-459.
- Atatür, M. K., Arıkan, H. and Çevik I. E. (1999). Erythrocyte sizes of some anurans from Turkey. *Tr. J. of Zool.*, 23: 111-114.

- Atay, Ş. (2009). Kirlenmiş Su Ortamının Ekotoksikolojik Olarak İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Aymak, C. (2010). Mersin Bölgesinde Yaşayan *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Ranidae, Amphibia)'nın Mikronükleus Test Yöntemi ile Genotoksik Etkilerinin ve Ağır Metal Kirliliğinin Tespit Edilmesi. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Ballard, B. M. and Cheek, R. (eds.) (2003). *Exotic animal medicine for the veterinary technician*. Wiley and Sons / Blackwell Publishing, New York.
- Baran, İ., Avcı, A., Kumlutaş, Y., Olgun, K. ve Ilgaz, Ç. (2021). *Türkiye amfibi ve sürüngenleri*. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Baranowski-Smith, L. L. and C. J. V. Smith. (1983). A simple method for obtaining blood samples from mature frogs. *Laboratory Animal Science*, 33: 386–387.
- Barinaga, M. (1990). Where have all the froggies gone?. *Science*, 247, 1033–1034.
- Başkale, E. and Kaya, U. (2012). Decline of the Levantine Frog, *Pelophylax bedriagae* Camerano, 1882, in the western Aegean Region of Turkey changes in population size and implications for conservation, *Zoology in the Middle East*, 57:1, 69-76.
- Başoğlu, M. ve Öktem, N. (1984). *Zoofizyoloji Praktikum*. Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi, İzmir.
- Bayrakçı, Y., Yenmiş, M., Mermer, A., Tok., V. and Ayaz, D. (2021). Effects of altitude and temperature on erythrocyte morphology of *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) and *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833). *Commagene Journal of Biology*, 5(1), 24-28.
- Berkson, H. (1966). Physiological adjustments to prolonged diving in the Pacific green turtle (*Chelonia mydas agassizii*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 18, 101-119.
- Beynon, P. H., Lawton, M. P. C. and Cooper, J. E. (1992). *Manual of reptiles*. British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham.
- Bilgin, H. (2018). Çanakkale’de dağılışı gösteren *Mauremys rivulata* (Testudinata: Geoemydidae) popülasyonlarında büyüklüğe bağlı hematolojik parametrelerin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Blaustein, A. R. and Wake, D. B. (1990). Declining amphibian populations: a global phenomenon. *Trends in Ecology and Evolution*, 5, 203– 204.

- Blaustein, A.R. (1994). Amphibians in a bad light. *Natural History*, 103, 32–39.
- Browne, C. L. (2004). Impacts of urbanisation and metal pollution on freshwater turtles. Doctoral Thesis. University of Sydney, School of Biological Sciences, Sydney.
- Cabagna, M. C., Lajmanovich, R. C., Stringhini, G., Sanchez-Hernandez, J. C. and Peltzer, P. M. (2005). Hematological parameters of health status in the common toad *Bufo arenarum* in agroecosystems of Santa Fe Province, Argentina. *Applied Herpetology*, 2(4), 373-380.
- Campbell, T. W. (2004). "Hematology of lower vertebrates". In *55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP)*, ACVP and ASVCP (Eds.), Middleton WI, USA. International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), 1214, pl 1104.
- Carvalho, C. S., Utsunomiya, H. S. M., Pasquoto, T., Lima, R., Costa, M. J. And Fernandes, M. N. (2016). Blood cell responses and metallothionein in the liver, kidney and muscles of bullfrog tadpoles, *Lithobates catesbeianus*, following exposure to different metals. *Environ. Pollut.*, 1–8. doi:10.1016/j.envpol.2016.12.012.
- Chi, C. H., Yu, P. H., Yang, P. Y. and Chiu, Y. S. (2013). Hematologic and plasma biochemical reference values of the yellow pond turtle *Mauremys mutica* and the effects of sex and season. *Zoological studies*, 52(1), 1-6.
- Colagar, H. and Jafari, N. (2007). Red blood cell morphology and plasma proteins electrophoresis of the European pond terrapin *Emys orbicularis*. *African Journal of Biotechnology*, 6 (13):1578-1581.
- Coppo, J. A., Mussart, N. B. and Fioranelli, S. A. (2005). Blood and urine physiological values in farm-cultured *Rana catesbeiana* (Anura: Ranidea) in Argentina. *Revista de Biologia tropical* vol. 53(3-4), pp. 545-559, 2005.
- Crain, D. A. and Guillette, L. J. (1998). Reptiles as models of contaminant-induced endocrine disruption. *Animal Reproduction Science*, 53(1-4), 77–86.
- Crenshaw, J. W. (1965). Serum protein variation in an interspecies hybrid swarm of turtles of the genus *Pseudemys*. *Evolution*, 19, 1-15.
- Çiçek, K., Arıkan, H. and Ayaz, D. (2015). Blood cells morphology and erythrocytes count of two freshwater turtles, *Emys orbicularis* and *Mauremys rivulata*, from Turkey. *Ecologia Balkanica*, 7(1).

- Çördük, N., Hacıoğlu-Doğru, N., Gül, Ç. and Tosunoğlu, M. (2018). Monitoring of micronuclei and nuclear abnormalities in *Pelophylax ridibundus* erythrocytes from the Biga Stream (Canakkale, Turkey). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(1), pp.147-153.
- Dar, S. A., Yousuf, A. R. and Balkhi, M. (2016). An introduction about genotoxicology methods as tools for monitoring aquatic ecosystem: present status and future perspectives. *Fish Aquac. J.*, 7, 1.
- Das, M. and Mahapatra, P. K. (2014). Hematology of wild caught Dubois's tree frog *Polypedates teraiensis*, Dubois, 1986 (Anura: Rhacophoridae). *The Scientific World Journal*, 2014.
- Demirsoy, A. (2005). *Omurgalılar (Yaşamın Temel Kuralları)*, Cilt III / Kısım I. Meteksan Basımevi, Ankara.
- Dessauer, H. C. (1970). 'Blood chemistry of reptiles: Physiological and evolutionary aspects' In *Biology of the Reptilia*, pp. 1–72, Vol. 3, C. Gans and T. Parson (eds.). Academy Press, London, UK.
- Doğan, U. G. (2002). Bazı tekstil boyalarının amfibi iribaşlarına toksik etkileri üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Dönmez, M. (2021). Antropojenik kirlilik kaynaklarında yaşayan *Pelophylax ridibundus* türü kurbağaların sağlık durumlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Egemen, Ö. (2000). *Çevre ve Su Kirliliği*. Ege Üni., Su Ürünleri Fak. Yayınları. İzmir.
- Erdoğan, D. C. (2019). Denizli ili, Buldan yayla gölü *Pelophylax bedriagae* popülasyonunun kan biyokimyası ve hematolojisi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Ergene, S., Çavaş, T., Celik, A., Köleli, N., Kaya, F. and Karahan, A. (2007). Monitoring of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of three fish species from the Göksu Delta (Turkey): genotoxic damage in relation to water pollution. *Ecotoxicology*, 16(4), 385–391.
- Fathinia, B., Minaei, T., Javanbakht, H. and Shafaei-Pour, A. (2020). Hematology of the Levant Green Frog, *Pelophylax bedriagae* (Amphibia: Ranidae) in southern Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 16(2), 155-170.
- Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*, 455, 81–95.

- Fierascu, I., Paunescu, A., Soare, L. C., Fierascu, R. C. and Ponepal, M. C. (2018). The influence of six pesticides on physiological indices of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 100(3), 376-383.
- Fontenot, L. W., Noblet, G. P, Platt, S. G. (1994). Rotenone hazards to amphibians and reptiles. *Herpetological Review*, 25: 150 – 153.
- Gao, W., Du, Y., Gao, S., Ingels, J. and Wang, D. (2016). Heavy metal accumulation reflecting natural sedimentary processes and anthropogenic activities in two contrasting coastal wetland ecosystems, eastern China. *Journal of Soils and Sediments*, 16(3): 1093-1108.
- Gasith, A. and Sidis, I. (1983). The distribution and nature of the habitat of the Caspian terrapin *Mauremys caspica rivulata* (Testudines: Emydidae) in Israel. *Israel Journal of Ecology and Evolution*, 32(2-3), 91-102.
- Gibbons, J. W., Scott, D. E., Ryan, T. J., Buhlmann, K. A., Tuberville, T. D., Metts, B. S., Greene, J. L., Mills, T., Leiden, Y., Poppy, S. and Winne, C. T. (2000). The global decline of reptiles, déjà vu Amphibians: Reptile species are declining on a global scale. Six significant threats to reptile populations are habitat loss and degradation, introduced invasive species, environmental pollution, disease, unsustainable use, and global climate change. *BioScience*, 50(8), pp.653-666.
- Guilherme, S., Válegab, M., Pereirab, M. E., Santosa, M.A. and Pachecoa, M. (2008). Erythrocytic nuclear abnormalities in wild and caged fish (*Liza aurata*) along an environmental mercury contamination gradient. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3), 411–421.
- Gül, Ç. and Tok, C.V. (2009). Blood cell counts and sizes of some anurans from Turkey. *Russian J. Herpetol.*, 16: 119-125.
- Gül, Ç., Tosunoğlu, M. and Dönmez, F. (2009). Hematological values in hermaphrodite, *Bufo bufo* (Linnaeus, 1758). *North-Western Journal of Zoology*, 5(1), 97-103.
- Gül, Ç., Çördük, N., Hacıoğlu-Doğru, N. and Tosunoğlu, M. (2019). Assessment of nuclear abnormalities in erythrocytes of balkan pond turtle *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833) (Testudines: Geoemydidae) from the Biga Stream, Çanakkale, Turkey. *Acta Zool. Bulg.*, 71, pp. 219-226.
- Gül, Ç., Tosunoğlu, M. and Hacıoğlu, N. (2015). “Some hematological parameters of the *Mauremys rivulata* in two different water quality in the Biga Stream (Çanakkale,

- Turkey)". *ICWERC 2015:XIII International Conference on Wildlife Ecology, Rehabilitation and Conservation*, 17(4), 1960–1962. Paris, Fransa.
- Gül, Ç., Tosunoğlu, M., Erdoğan, D. and Özdamar, D. (2011b). Changes in the blood composition of some anurans. *Acta Herpetologica*, 6(2): 137-147.
- Gül, Ç., Tosunoğlu, M. and Yılmaz, N. (2011a). Effects of varying ecological conditions on the blood parameters of freshwater turtles in Çanakkale (Turkey). *Ekoloji*, 20(78), 7–12. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5053/ekoloji.2011.782>.
- Gürkan, M., Çetin, A. and Hayretdağ, S. (2014). Acute toxic effects of cadmium in larvae of the green toad, *Pseudepidalea variabilis* (Pallas, 1769) (Amphibia: Anura). *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 65(3), 301-309.
- Hacıoğlu, N. (2011). Sarıçay ve Biga Çayında (Çanakkale) bazı kirlilik parametrelerinin saptanması ve Nitrit, Nitrat bakterileri ile Sülfür oksitleyen bakterilerin izolasyonu. Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Hacıoğlu, N., Gül, Ç. ve Tosunoğlu, M. (2014). “Biga Çayı sularından ve *Pelophylax ridibundus* Pallas 1771 örneklerinden izole edilen bakterilerin ağır metal ve antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi”. 22. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, ESKİŞEHİR (pp.914). Eskişehir, Turkey.
- Hadfield, C. A. and Whiticker, B. R. (2005). Amphibian emergency medicine and care. *Seminars in Avian and Exotic Medicine*, 14: 79–89.
- Hall, R. J. (1980). *Effects of environmental contaminants on reptiles: a review*. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Washington, DC.
- Haning, Q. C. and Thompson, A. M. (1965). A comparative study of tissue carbon dioxide in vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 15, 17-26.
- Haris, J. A. (1972). Seasonal variation in some hematological characteristics of *Rana pipiens*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 43(4), 975-989.
- Hays, K. A. and McBee, K. (2007). Flow cytometric analysis of red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*) from Tar Creek Superfund Site. *Ecotoxicology*, 16:353–361.
- Heddle, J. A. and Countryman, R. I. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberration in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 41, 321-332.

- Hidalgo-Vila, J., Diaz-Paniagua, C., Perez-Santigosa, N., Plaza, A., Camacho, I. and Recio, F. (2007). Hematologic and biochemical reference intervals of free living Mediterranean pond turtles (*Mauremys leprosa*). *Journal of Wildlife Diseases*, 43 (4): 798-801.
- Hopkins, W. A. (2000). Reptile toxicology: challenges and opportunities on the last frontier in vertebrate ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19 (10), 2391-2393.
- Hopkins, W. A., Rowe, C.L. and Congdon, J.D. (1999). Elevated trace element concentrations and standard metabolic rates in banded water snakes (*Nerodia fasciata*) exposed to coal combustion wastes. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18:1258–1263.
- Hutchison, V. H. and Szarski, H. (1965). Number of erythrocytes in some amphibians and reptiles. *Copeia*, 3: 373-375.
- Ilgar, R. (2000). Çanakkale Boğazı ve çevresi ekosisteminin coğrafi açıdan incelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Deniz Bilimleri ve İşletmeciliği Enstitüsü, İstanbul.
- Javed, M. and Usmani, N. (2012). Toxic effects of heavy metals (Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr, Zn) to the haematology of *Mastacembelus armatus* thriving in Harduaganj reservoir, Aligarh, India. *Glob. J. Med. Res.*, 12(8):1–8.
- Josende, M. E., Tozetti, A. M., Alalan, M. T., Filho, V. M., Ximenez, S., Junior, F. M. R. and Martins, S. E. (2015). Genotoxic evaluation in two amphibian species from Brazilian subtropical wetlands. *Ecological Indicators*, 49, 83–87.
- Kaya, H. (2007). Atıkhisar Barajı ve Sarıçay’da pestisit ve evsel kirliliğin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Kelkit, A. (2003). Environmental problems of Canakkale City and solutions. *International journal of environment and pollution*, 19(1), 66-74.
- Kuramoto, M. (1981). Relationships between number, size and shape of red blood cells in amphibians. *Comp. Physiol.*, 69: 771-775.
- La Marca, E., Lips, K. R., Lötters, S., Puschendorf, R. and Ibáñez, R. (2005). Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica*, 37, 190–201.

- Lajmanovich, R. C., Cabagna-Zenklusen, M. C., Attademo, A. M., Junges, C. M., Peltzer, P. M., Bassó, A. and Lorenzatti, E. (2014). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in tadpoles of the common toad (*Rhinella arenarum*) treated with the herbicides Liberty® and glufosinate-ammonium. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 769, 7–12.
- Lopes, N. (1955). The action of alloxan in the turtle *Pseudemys d'orbignyi* D and B. *Acta Physiol. Latinoam.*, 5, 39-45.
- López, J., Waters, M., Routh, A., Rakotonanahary, T. F., Woolaver, L., Thomasson, A. and Steinmetz, H. W. (2017). Hematology and plasma chemistry of the ploughshare tortoise (*Astrochelys yniphora*) in a captive breeding program. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 48(1), 102-115.
- Mani, M. (2021). *Pelophylax ridibundus* (Ova Kurbağası)'da ağır metal konsantrasyonlarının tespiti ve risk değerlendirmesi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize.
- Mantziou, G. and Rifai, L. (2014). *Mauremys rivulata* (Valenciennes in Bory de Saint-Vincent 1833) —Western Caspian turtle, Balkan Terrapin. *Chelonian Research Monographs* (ISSN 1088-7105) No. 5.
- Marques, S. M., Antunes, S. C., Pissarra, H., Pereira, M. L., Gonçalves, F. and Pereira, R. (2009). Histopathological changes and erythrocytic nuclear abnormalities in Iberian green frogs (*Rana perezi* Seoane) from a uranium mine pond. *Aquatic Toxicology*, 91, 187–195.
- Martínez-López, E., Gómez-Ramírez, P., Espín, S., Aldeguer, M. P. and García-Fernández, A. J. (2017). Influence of a former mining area in the heavy metals concentrations in blood of free-living Mediterranean pond turtles (*Mauremys leprosa*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 99(2), 167-172.
- Mead, K. F. and Borysenko, M. (1984). Surface immunoglobulin on granular and agranular leukocytes in the thymus and spleen of the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Dev. Comp. Immunol.*, 8(1): 109–120.
- Medina, M. F., González, M. E., Klyver, S. M. R. and Odstrcil, I. M. A. (2016). Histopathological and biochemical changes in the liver, kidney, and blood of amphibians intoxicated with cadmium. *Turkish Journal of Biology*, 40(1), 229-238.

- Metin, K., Koca, B. Y., Kırıl, K. F., Koca, S. and Türkozan, O. (2008). Blood cell morphology and plasma biochemistry of captive *Mauremys caspica* (Gmelin, 1774) and *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833). *Acta Veterinaria Brno*, 77: 163-174.
- Metin, K., Türkozan, O., Kargın, F., Koca, B. Y., Taşkavak, E. and Koca S. (2006). blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European pond turtle *Emys orbicularis*. *Acta Veterinaria Brno*, 75:49-55.
- Meyers-Schöne, L., Shugart, L. R., Beauchamp, J. J. and Walton, B. T. (1993). Comparison of two freshwater turtle species as monitors of radionuclide and chemical contamination: DNA damage and residue analysis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12:1487–1496.
- Napierska, D., Baršienė, J., Mulkiwicz, E., Podolska, M. and Rybakovas, A. (2009). Biomarker responses in flounder *Platichthys flesus* from the Polish coastal area of the Baltic Sea and applications in biomonitoring. *Ecotoxicology*, 18, 846–859.
- Odabaşı, S. S. (2005). Çanakkale bölgesindeki Sarıçay akarsuyunda su kalitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, ÇOMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Oliveira-Júnior, A. A., Tavares-Dias, M. and Marcon, J. L. (2009). Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. *Research in Veterinary Science*, 86(1), 146–151. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.05.015>.
- Omonona, A. O., Olukole, S. G. and Fushe, F. A. (2011). Haematology and serum biochemical parameters in free-ranging Africa side neck turtle (*Pelusios sinuatus*) in Ibadan, Nigeria. *Acta Herpetological*, 6(2): 267-274.
- Özgül, C. N., Kurtul, D. and Gül, Ç. (2020). Haematological and genotoxicological research on *Pelophylax ridibundus* and *Bufo variabilis* living around the Çan (Çanakkale, Turkey). *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 4(2), pp.105-111.
- Özlu, M. (2017). Çan Havzasında (Çanakkale) bulunan asit-maden göllerindeki *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae) popülasyonlarında plazma biyokimyası ve hematolojik parametrelerin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Özmen, T. (2020). Çanakkale’de dağılışı gösteren sucu (*Mauremys rivulata*) ve karasal (*Testudo graeca*) kaplumbağa türlerinde hemoglobin ve hematokrit değerlerinin

- incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Pagés, T., Peinado, V. I. and Viscor, G. (1992). Seasonal changes in hematology and blood chemistry of the freshwater turtle *Mauremys caspica leprosa*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 103(2), 275-278.
- Papenfuss, T., Kuzmin, S., Disi, A.M., Degani, G., Ugurtas, I.H., Sparreboom, M., Anderson, S., Sadek, R., Hraoui-Bloquet, S., Gasith, A., Elron, E., Gafny, S., Lymberakis, P., Böhme, W. and Baha El Din, S. (2009). *Pelophylax bedriagae* (errata version published in 2016). The IUCN Red List of Threatened Species 2009: e.T58559A86622844.
- Parto, P., Javanbakht, H. and Vaissi, S. (2013). The morphological characterization of the blood cells in the three species of turtle and tortoise in Iran. *Research in Zoology*, 3(1), 38-44.
- Peskova, T. Y. (2001). Impact of anthropogenic environment pollution on amphibians. Volgograd, Volgograd State Pedagogical University Publ., 156 p. (in Russian).
- Peskova, T. Y., Bachevskaya, O. N. and Plotnikov, G. K. (2019). Hematological indices of the lake frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Ranidae, Anura) inhabiting reservoirs in the Northwestern Ciscaucasia with various pollution types. *Current Studies in Herpetology*, vol. 19, iss. 1–2, pp. 40–45 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2019-19-1-2-40-45>.
- Phillips, K. (1990). Frogs in trouble. *International Wildlife*, 20, 4-11.
- Pollo, F., Grenat, P., Otero, M., Salas, N. and Martino, A. (2016). Assessment in situ of genotoxicity in tadpoles and adults of frog *Hypsiboas cordobae* (Barrio 1965) inhabiting aquatic ecosystems associated to fluorite mine. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 133:466–474.
- Robin, E. D., Vester, J. W., Murdaugh, H. V. Jr., and Millen, J. E. (1964). Prolonged anaerobiosis in a vertebrate: anaerobic metabolism in the freshwater turtle. *J. cell. comp. physiol.*, 63, 287-297.
- Romanova, E. B. and Egorikhina, M. N. (2006) Changes in hematological parameters of *Rana* frogs in a transformed urban environment. *Russ. J. Ecol.*, 37(3):188–192.
- Romanova, E. B., Ryabinina, E. S. ve Boryakov, A. V. (2021). Heavy Metal Accumulation in the Tissues and Organs of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) and *Pelophylax*

- lessonae* (Camerano, 1882) (Amphibia: Ranidae) Inhabiting the Waterbodies of Nizhny Novgorod. *Biology Bulletin*, 48(10), 1862-1869.
- Salinas, Z., Salas, N., Baraquet, M. and Martino, A. (2015). Biomarcadores hematológicos del sapo común *Bufo (Rhinella) arenarum* en ecosistemas alterados de la provincia de Córdoba hematologic biomarkers of the common toad *Bufo arenarum* in alteredecosystem of Córdoba province. *Acta Toxicol. Argent.*, 23(1):25–35.
- Selvi, K. (2006). Çanakkale, Sarıçay'daki ağır metal kirliliğinin (Ni, Fe, Cu, Zn) bazı bentik makroomurgasızlar üzerindeki toksik etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Selvi, K., Kaya, H., Akbulut, M. and Tulgar, A. (2015). Comparison of heavy metal concentrations on European chub (*Leuciscus cephalus* L., 1758) from Sarıçay creek and Atikhisar reservoir (Çanakkale–Turkey). *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(2), 445-450.
- Sidis, I. and Gasith, A. (1985). Food habits of the Caspian terrapin (*Mauremys caspica rivulata*) in unpolluted and polluted habitats in Israel. *Journal of Herpetology*, 19:108–115.
- Silva, J., Heuser, V. and Andrade, V. (2003). “Biomonitoramento ambiental”. In: J. Silva, B. Erdtmann and J. Henriques (Eds). *Genética Toxicológica*. (p. 167–178) Porto Alegre: Alcance, Brazil.
- SKKY. (2004). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. 31.12.2004 Tarih ve 25687 Sayılı Resmi Gazete. Ankara.
- Stankovic, S. and Stankovic, R. A. (2013). “Bioindicators of toxic metals”. In: E. Lichtfouse et al., (eds) *Environmental chemistry for a sustainable world*. (p. 80) vol 2, chap 5. Springer. Berlin.
- Stöck, M. and Große, W. R. (1997). Erythrocyte size and ploidy determination in green toads (*Bufo viridis* complex) from Middle Asia. *Alytes*, 15(2), 72-90.
- Strunjak-Perovic, I., Lisicic, D., Coz-Rakovac, R., Jadan, M., Benkovic, V. and Tadic, Z. (2010). Evaluation of micronucleus and erythrocytic nuclear abnormalities in Balkan whip snake *Hierophis gemonensis*. *Ecotoxicology*, 19(8), 1460–1465.
- Szarski, H. and Czopek, G. (1966). Erythrocyte diameter in some amphibians and reptiles. *Bull. Acad. Pol. Sci. Cl. 2 Ser. Sci. Biol.*, 14 (6): 433-437.

- Şahin, E. (2019). Gediz Nehri'nde yaşayan *Pelophylax bedriagae*'nin (Camerano, 1882) (Amphibia: Ranidae) eritrosit morfolojisi ve sayısında kirliliğe bağlı değişimin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Şişman, T., Aşkın, H., Türkez, H., Özkan, H., İncekara, Ü. and Çolak, S. (2015). Determination of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of the frog *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae) sampled from Karasu River basin (Turkey) for pollution impacts. *LIMNOFISH-Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 1(2), 75–81.
- Şişman, T., Keskin, M. Ç., Dane, H., Adil, Ş., Geyikoğlu, F., Çolak, S. and Canpolat, E. (2021). Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) as a bioindicator to assess pollution in an agricultural area. *Pakistan Journal of Zoology*, 53(1),337-349.
- Tanyer, G. (1985). *Hematoloji ve Laboratuvar*. Ayyıldız Matbaası A. Ş., Ankara.
- Taylan, Z. S. ve Özkoç, H. B. (2007). Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(2), 17-33.
- Teixeira, P. C., Dias, D. C., Rocha, G. C., Antonucci, A. M., França, F. M., Marcantonio, A. S., Ranzani-Paiva, M. J. T. and Ferreira, C. M. (2012). Profile of cortisol, glycaemia, and blood parameters of American bullfrog tadpoles *Lithobates catesbeianus* exposed to density and hypoxia stressors. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32, 91-98.
- Tepeova, N. (2015). Çanakkalede dağılışı gösteren *Pseudepidalea variabilis* (Anura: Bufonidae) popülasyonlarında plazma biyokimyasına ait parametrelerin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Terry, W. C. (2006). "Clinical pathology of reptiles". In: Douglas, R. M. (ed) *Reptile medicine and surgery*, 2nd edn. (p.453-470). St Louis, MO, Saunders Elsevier.
- Thrall, A., Baker, D. C., Campbell, T. W., DeNicola, D., Feetman, M. J., Lassen, E. D., Rebar, A. and Weiser, G. (2004). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Blackwell Publishing. Philadelphia, USA.
- Tok, C. V., Gürkan, M., Hayrettaş, S. and Yakın, B. Y. (2012). A preliminary study on micronucleus analysis and nuclear anomalies in *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Anura) specimens collected around Vize (Kırklareli) and Ida Mountains (Çanakkale, Turkey). *Ege J. Fish Aqua. Sci.*, 29(3), 133- 136.

- Topcuoğlu, S. (2005). “Denizel Biota Örneklerinde Ağır Metal Kontaminasyonu”, In: K. C. Güven ve Öztürk, B. (Ed). İçinde *Deniz Kirliliği Temel Kirleticiler ve Analiz Yöntemleri*. (s.205-223) TÜDAV Yayınları, İstanbul.
- Tosunoğlu, M., Gül, Ç. ve Hacıoğlu, N. (2015). “Impact of environmental changes on blood parameters in the *Pelophylax ridibundus*”. *ICWERC 2015:XIII International Conference on Wildlife Ecology, Rehabilitation and Conservation*, 17(4), 1960–1962. Paris, Fransa.
- Tunca, E. Ü. (2016). Beyşehir Gölü'nde su ve sedimentte ağır metal birikimi ve sedimentte antropojenik kontaminasyon değerlendirmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2), 205-219.
- Uğurtaş, I. H., Sevinç, M. and Yıldırımhan, H. S. (2003). Erythrocyte size and morphology of some tortoises and turtles from Turkey. *Zoological Studies*, 42 (1): 173-178.
- Ulubeli, S. A., Başkale, E. and Kaska, Y. (2020). Red blood cell morphology and blood biochemistry of *Bufo variabilis*. *Russian Journal of Herpetology*, 27(6).
- Uysal, İ. ve Tosunoğlu, M. (2012). Kavak Deltası (Saroz Körfezi)'nın herpetofaunal zenginliği. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 3(2), 52-58.
- Wijesinghe, M. R. (2018). Ecotoxicologists must facilitate the setting of standards for safeguarding aquatic life. *Sri Lankan Journal of Biology*, 3(2).
- Wintrobe, M. M. (1933). Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia haemat.*, 51, 32-49.
- Wojtaszek, J. and Adamowicz, A. (2003). Haematology of the fire-bellied toad, *Bombina bombina* L. *Comp. Clin. Path.*, 12: 129-139.
- Wright, K. N. and Whitaker, B. R. (2001). *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Krieger Publishing Company. Malabar, USA.
- Yılmaz, N. (2009). Çanakkale'de sulak alanlarda yaşıyan *Emys orbicularis* ve *Mauremys rivulata* türlerinin yaşam alanlarının hematoloji ve plazma biyokimyası üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Yılmaz, N. and Tosunoğlu, M. (2010). Hematology and some plasma biochemistry values of free-living freshwater turtles (*Emys orbicularis* and *Mauremys rivulata*) from Turkey. *North-Western Journal of Zoology*, 6 (1): 109-117.

- Yu, S., Halbrook, R. S., Sparling, D. W. and Colombo, R. (2011). Metal accumulation and evaluation of effects in a freshwater turtle. *Ecotoxicology*, 20(8), 1801-1812.
- Yüksek, Y. (2003). Çanakkale ilindeki Sarıçay'ın mikrobiyolojik olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. ÇOMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Zhang, F., Gu, H. and Li, P. (2011). A review of chelonian hematology. *Asian Herp Res*, 2(1), 12-20.
- Zhelev, Z. M., Angelov, M. V. and Mollov, I. A. (2006). A study of some metric parameters of the erythrocytes in *Rana ridibunda* (Amphibia: Anura) derived from an area of highly developed chemical industry. *Acta zoologica bulgarica*, 58(2), 235-244.
- Zhelev, Z. M., Arnaudova, D. N., Popgeorgiev, G. S. and Tsonev, S. V. (2021). Determinations of erythrocyte sizes in adult *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura: Ranidae) inhabiting industrial area in southern Bulgaria. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(4), 1-15.
- Zhelev, Z. M., Mehterov, N. H. and Popgeorgiev, G. S. (2016). Seasonal changes of basic erythrocyte-metric parameters in *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) from anthropogenically polluted biotopes in Southern Bulgaria and their role as bioindicators. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 124:406–417.
- Zhelev, Z. M., Popgeorgiev, G. S. and Angelov, M. V. (2013). Investigating the changes in the morphological content of the blood of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) as a result of anthropogenic pollution and its use as an environmental bioindicator. *Acta Zoologica Bulgarica*, 65(2), pp.187-196.
- Zhelev, Z. M., Popgeorgiev, G. S. and Mehterov, N. H. (2015). Haematological parameters of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) from the region of the Lead and Zinc Plant “Kardzhali” (South Bulgaria) and their use in the environmental quality assessment. *Acta Zoologica Bulgarica*, 67(2): 271-282.
- Zhelev, Z., Arnaudova, D. and Tsonev, S. (2022). Genotoxicity and Erythrocyte Nuclear Abnormalities in *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Anura: Ranidae) in an Industrial Area in Southern Bulgaria: Evaluation as Biomarkers for Ecological Stress Assessment. *Acta Zoologica Bulgarica*, 74(1), 59-67.
- Zhelev, Z., Popgeorgiev, G., Ivanov, I. and Boyadzhiev, P. (2017). Changes of erythrocyte-metric parameters in *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura: Ranidae) inhabiting

- water bodies with different types of anthropogenic pollution in Southern Bulgaria. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(21), 17920-17934.
- Zhelev, Z., Tsonev, S., Georgieva, K. And Arnaudova, D. (2018). Health status of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in Southern Bulgaria and its importance in assessing environmental state: haematological parameters. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 7884-7895.
- Zhiteneva, L. D., Makarov, E. V. and Rudnitskaya O. A. (2004). *The fundamentals of ichthyohematology (in comparative aspects)*. Rostov-on-Don, Everest Publ., Russia.
- Zúñiga-González, G., Torres-Bugarin, O., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Zamora-Perez, A. A., Gómez-Meda, B. C., ... and Gallegos-Arreola, M. P. (2000). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 467(1), 99-103.