



Kadmiyuma Maruz Bırakılan *Lymnaea stagnalis*'in Ovotestis Dokularındaki Histolojik Değişiklikler

Birgül OTLUDİL^{1,a,✉}

¹Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Diyarbakır

^aORCID: 0000-0002-3990-8011

Geliş Tarihi/Received
27.04.2020

Kabul Tarihi/Accepted
28.05.2020

Yayın Tarihi/Published
30.06.2020

Öz

Bu çalışmada tatlı su salyangozu *Lymnaea stagnalis*, kadmiyumun sublethal konsantrasyonlarına (7.92 µg/L, 15.85 µg/L, 31.7 µg/L and 63.4 µg/L) maruz bırakıldı. Deneyde 7, 14, 21 ve 28 günlük periyotlar sonunda *L. stagnalis* ovotestisleri alınarak histolojik preparatları hazırlandı. Kadmiyumun farklı konsantrasyonlarında ovotestislerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopunda incelendi. Kadmiyum uygulaması sonucunda; ovotestislerde, oosit çevrelerinde vakuolleşme, spermatozoon sayısında azalma, spermatozoon ve yumurta hücrelerinde dejenerasyon, asinus hücrelerinde dejeneratif nekroz gibi değişiklikler gözlemlendi. Ovotestislerde lezyonların şiddeti artan kadmiyum konsantrasyonuna ve kadmiyuma maruz kalma süresine bağlı olarak paralel artış gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Histopatoloji, kadmiyum, *Lymnaea stagnalis*, ovotestis.

Histological Changes in Ovotestis Tissues of *Lymnaea stagnalis* Exposed to Cadmium

Abstract

In this study, freshwater snail *Lymnaea stagnalis* was exposed to sublethal concentrations of cadmium (7.92 µg/L, 15.85 µg/L, 31.7 µg/L and 63.4 µg/L-1). At the end of 7, 14, 21 and 28 day periods, ovotestis of *L. stagnalis* were removed for histological preparations. Histopathological changes in ovotestis at different concentrations of cadmium were examined by light microscope. As a result of cadmium application, vacuolization on oocyte circles, decrease in number of spermatozoan, degeneration of spermatozoan and egg cells, degenerative necrosis in acinus cells were observed in ovotestis. The severity of the lesions in ovotestis increased parallel to the cadmium concentration and the duration of exposure to cadmium.

Key Words: Cadmium, histopathology, *Lymnaea stagnalis*, ovotestis

GİRİŞ

Ağır metaller sucul ekosistemdeki organizmaları doğrudan veya dolaylı olarak tehdit etmektedir. Sucul organizmalarda uzun yıllar birikerek besin zincirinde üst trofik seviyelere kadar taşınmaktadır. Toksik ağır metallere birisi olan kadmiyum, toprak ve suya hızla sızarak dip ve yüzey sularını kirletmektedir (1). Sucul ortamlardaki organizmalar tarafından alınarak organizmada birikim ve toksisiteye neden olmaktadır (2-8). Kadmiyumun düşük derişimleri, duyarlı canlı türlerinde embriyonik gelişiminin engellenmesine, üremenin durmasına, gelişimin yavaşlamasına ve mortaliteye neden olurken toleransı yüksek olan türlerde, besin zinciri yoluyla üst basamaklara daha derişik olarak aktarılmaktadır (9).

Gastropodlar arasında *Lymnaea* türleri, çeşitli toksik maddelerin ve ağır metallerin fizyolojik süreçler üzerindeki etkilerinin araştırılması gibi toksikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan canlılardır (10, 11). Çalışma konumuzu oluşturan *L. stagnalis*, geniş coğrafik dağılımı, kimyasal analiz için uygun büyüklüğü ve ağır metal birikimi için büyük kapasitesi ile ağır metal kirliliğinin iyi bir göstergesi olarak

kabul edilmektedir (9, 11, 12). *L. stagnalis*'in genç ve yetişkin bireylerinde Cd'un toksik etkisi özellikle büyüme, gelişme, üreme, embriyonik gelişim, yaşama süresi, popülasyon ve osmoregülasyon üzerine olumsuz yönde etki etmektedir (2, 13).

Histopatolojik çalışmalar, çevresel kirleticilerin salyangozların ovotestis gibi hedef organlarında meydana getirdiği hücresel değişikliklerin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak önem taşımaktadır. Bu nedenle ağır metallere maruz kalan salyangozların ovotestisleri, çevre faktörleri ile erkek ve dişi üreme hücreleri arasındaki etkileşimleri histolojik olarak incelemek için uygun bir modeldir (14). Histopatolojik çalışmalarda, kadmiyumun ovotestiste birikimi sonucunda, oosit çevrelerinde vakuolleşme, spermatozoon sayısında azalma, spermatozoon ve yumurta hücrelerinde dejenerasyon, asinus hücrelerinde dejeneratif ve fokal nekroz gibi değişikliklere neden olduğu görülmektedir. Ağır metallerin salyangozlarında birikimi sonucunda ovotestis dokularına ciddi zararlar verdiği, histolojik çalışmalarla tespit edilmiştir (14).

Bu çalışmada, *L. stagnalis*'e farklı dozlarda ve farklı sürelerde kadmiyum verilerek, kadmiyum birikim oranlarına

bağlı olarak ovotestis'te meydana gelen histopatolojik değişiklikler incelenmiş ovotestis üzerine olan etkisinin histolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Lymnaea stagnalis Eğirdir Gölü'nün kıyıya yakın sığ bölgelerinden toplandı. Laboratuvara getirilen örnekler, akvaryumlara yerleştirilerek $22 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, 8 saat aydınlık 16 saat karanlık periyotta 15 gün boyunca laboratuvara alışmaları sağlandı. Deneyde kullanılan suyun ortalama değerleri; pH 7.92 ± 0.50 , Ca 67.5 mg/L, Fe 0.61 mg/L, Mg 7.15 mg/L, NO₃ 2.85 mg/L, NO₂ 0.23 mg/L, çözülmüş oksijen 7.5 ± 0.38 mg/l, toplam klorid 0.15 mg/l ve iletkenlik 353 us/cm idi. Akvaryumlar deney sırasında her gün oksijen ile suyu doydurmak için hava kompresörüne bağlı hava taşlarıyla havalandırıldı. Salyangozlar deney boyunca taze marul yapraklarıyla günde bir kez beslendi.

Adaptasyondan sonra salyangozlar 5 gruba ayrıldı.

- Grup I. Cd konsantrasyonuna maruz bırakılmayan kontrol grubu
- Grup II. 7.92 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan grup
- Grup III. 15.85 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan grup
- Grup IV. 31.7 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan grup
- Grup V. 63.4 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan grup

Cd'un sublethal konsantrasyonları, *L. stagnalis* için 1585 ug/L olarak verilen 96 saatteki LC₅₀ değerinin 1/25, 1/50, 1/100 ve 1/200' ü olarak belirlendi (14). Dinlendirilmiş su ve havalandırma cihazı içeren cam kavanozlara her gruptan 15 salyangoz yerleştirildi.

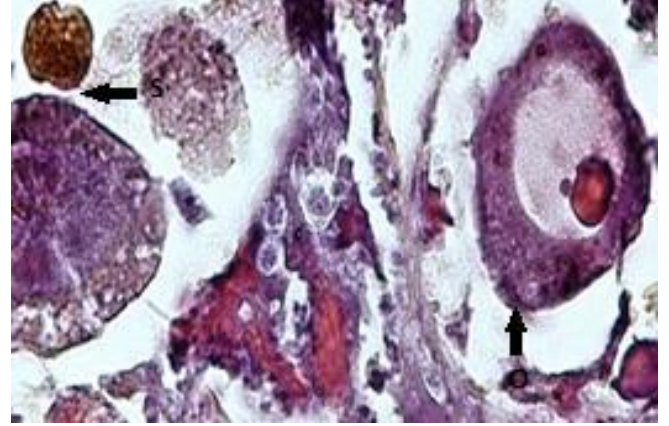
Deney düzeneği hazırlandıktan sonra kontrol grupları dışındaki gruplara kadmiyum (99.95%, Sigma-Aldrich, 202908) sublethal dozları ilave edildi ve deneysel süreç 28 günde tamamlandı. Histopatolojik incelemeler için 7, 14, 21 ve 28 günlük tedavi sürelerinden sonra, her bir gruptan beşer salyangoz alındı. Salyangozlar, 50 mg/l MS-222 (3-aminobenzoik asit etil ester metan sülfonat tuzu, Sigma A5040) solüsyonu içinde anestezi altına alındı ve disseksiyonları yapıldı.

Salyangozların ovotestis dokuları bir hafta süre ile %10'luk formalinde tespit edildi ve 24 saat akar çeşme suyu altında bekletildi. Etil alkol ile dehidre edilen dokular ksilolde şeffaflaştırıldı. Parafin banyolarından sonra parafin bloklara alınan dokulardan mikrotom (Leica) aracılığı ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Dokular Harris'in hematoksilin çözeltisi, Merck (Darmstadt, Almanya) ve eosin boyası ile boyandıktan sonra ışık mikroskopu (Eclipse 80i, Nikon, Tokyo, Japan). Hazırlanan preparatlarda histopatolojik incelemelerin yarı kantitatif skorlaması, (-) yok, (+) düşük, (++) sık, (+++) çok sık şeklinde uygulandı (15).

BULGULAR

Kontrol Grubu

Kontrol grubunun (Grup I) ovotestisi, dış tarafta (tek tabakalı yassı epitel ile kaplıdır ve bez asinus olarak bilinen çok sayıda oval şekilli foliküllerden meydana gelmiştir. Her asinusta, bir dizi oosit, birkaç ovum ve spermatozoonlar bulunur (17). Çalışmamızda kontrol grubunun (Grup I) ovotestisinde herhangi bir histopatolojik değişiklik gözlenmedi (Şekil 1).



Şekil 1. *Lymnaea stagnalis*'in kontrol grubu ovotestis dokuları. O; oosit, S; spermatozoon. H&E

Deney Grupları

Deneyin 28 günlük sürecinde II, III, IV ve V. gruplarda Cd dozuna bağlı olarak önemli ölçüde histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. 7, 14, 21 ve 28. günlerde Cd'ye maruz kalan farklı ovotestis doku gruplarından (grup II, III, IV ve V) histopatolojik incelemelerin yarı kantitatif skorlaması Tablo 1'de sunulmaktadır.

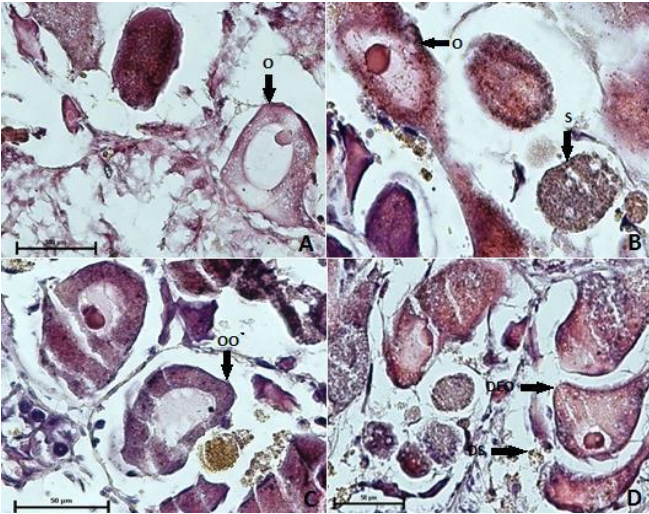
Tablo 1. Kadmiyuma maruz kalan farklı ovotestis doku gruplarının (grup II, III, IV ve V) histopatolojik incelemelerinin semikantitatif skorlaması

Histopatolojik Değişiklikler	Günler	Cd Uygulanan Gruplar				
		I	II	III	IV	V
Epitel dokuda invazyon	7	-	-	+	+	+
	14	-	+	+	+	++
	21	-	+	++	++	++
	28	-	++	++	++	+++
Oositlerde dejenerasyon	7	-	-	-	+	++
	14	-	+	+	++	++
	21	-	+	++	++	+++
	28	-	++	++	+++	+++
Asinüslerde bozulma	7	-	-	-	+	++
	14	-	+	+	++	++
	21	-	+	++	++	++
	28	-	++	++	+++	+++
Sitoplazmada vakuolleşme	7	-	-	+	+	+
	14	-	+	+	++	++
	21	-	+	+	++	++
	28	-	++	++	+++	+++
Piknotik hücre artışı	7	-	-	-	+	+
	14	-	+	+	+	++
	21	-	+	++	++	++
	28	-	++	++	+++	+++

-yok, + düşük, ++sık, +++ çok sık

Deneyde 7. günün sonunda 7.92 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup II); ovotestis sitoplazmasında lekelenmeler, 15.85 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (III. Grup); ovotestis sitoplazmasında vakuolleşmeler, 31.7 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup IV); hafif dejenere olmuş oositler, 63.4 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup V); dejenere olmuş ovum ve dejenere olmuş spermatozoonlar gözlenmiştir.

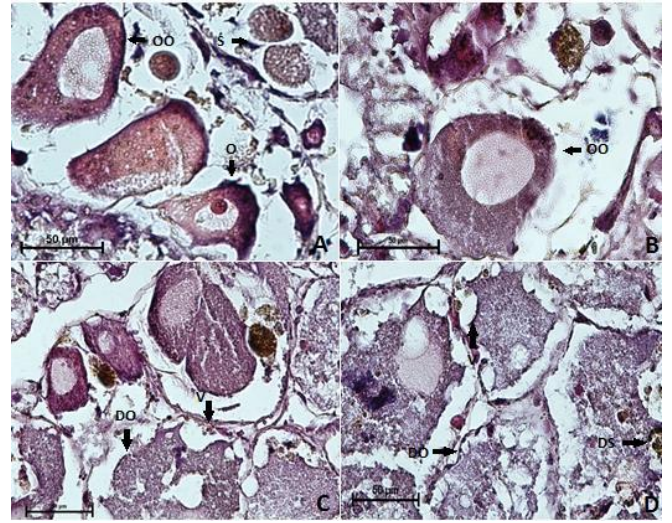
Deneyde 14. günün sonunda 7.92 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup II); intrafoliküler bölgelerde vakuolleşme (Şekil 2A), 15.85 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (III. Grup); oositin çevresinde daha vakuolleşme, dejenere olmuş oosit (Şekil 2B), 31.7 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup IV); ovotestis sitoplazması yoğun lekelenmeler vakuolleşmeler (Şekil 2C), 63.4 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup V); oositin çevresinde sık vakuolleşme, spermatozoon sayısında azalma, hücresel düzeyde değişiklikler belirlenmiştir (Şekil 2D).



Şekil 2. (A) 7.92 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan *Lymnaea stagnalis*'in 14. günde ovotestis dokusu, (B) 15.85 µg/L Cd maruz bırakılan salyangoz grubu, (C) 31.7 µg/L Cd maruz bırakılan salyangoz grubu, (D) 63.4 µg/L Cd maruz bırakılan salyangoz grubu. (O; oosit, DO; dejenere ölü ovum, S; spermatozoon, V; vakuol, DEO; dejenere ovum, DS; dejenere spermatozoon). H&E.

Deneyde 21. günün sonunda 7.92 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup II); intrafoliküler bölgelerde vakuollerde aşırı artış, 15.85 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (III. Grup); oositin çevresinde daha sık vakuolleşme, dejenere olmuş ovumlar, 31.7 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup IV); ovotestis sitoplazmasında daha yoğun lekelenmeler ve büyük vakuolleşmeler, 63.4 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup V); özellikle oositin çevresinde daha sık vakuolleşme, spermatozoon sayısında azalma, hücresel düzeyde değişiklikler belirlenmiştir.

Deneyde 28. günün sonunda 7.92 µg/L Kadmiyum konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup II); ovotestiste dejenerasyon (Şekil 3A), 15.85 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (III. Grup); dejenerasyon sürerken asinus duvarlarından ayrılmış şekilsiz oositler (Şekil 3B), 31.7 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup IV); üreme hücrelerinde aşırı derecede bozulma ve dokudaki bütün asinuslarda nekroz (Şekil 3C), 63.4 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan salyangoz grubunda (Grup V); dejenerasyon ilerlerken spermatozoonlar tahrip olmuş, asinus duvarlarından ayrılmış şekilsiz oositler tespit edilmiştir. Epitel dokunun invajine olduğu ve bazı asinüs hücrelerinin içinin boş olduğu görülmüştür. (Şekil 3D).



Şekil 3. (A) 7.92 µg/L Cd konsantrasyonuna maruz bırakılan *Lymnaea stagnalis*'in 28. günde ovotestis dokusu, (B) 15.85 µg/L Cd maruz bırakılan salyangoz grubu, (C) 31.7 µg/L Cd maruz bırakılan salyangoz grubu, (D) 63.4 µg/L Cd maruz bırakılan salyangoz grubu. (O; oosit, OO; ovum, S; spermatozoon, DO; dejenere ölü ovum, V; vakuol, DS; dejenere spermatozoon). H&E.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pulmonatlarla ilgili yapılan çalışmalarda, epitelyal absorpsiyonun bir sonucu olarak salyangoz dokularında, büyük miktarlarda ağır metal akümülyasyonu olduğu ve bu canlıların toksikolojik çalışmalar için uygun organizmalar olduğu belirtilmektedir (4, 17-19). Ayrıca, Cd kirliliğine maruz kalan salyangozlarda büyüme, üreme, embriyonik gelişim, popülasyon ve histopatoloji üzerine olumsuz yönde etkiler gözlenmiştir (2, 13). Histopatolojik biomarkırlar, çevre kirliliğine maruz kalan salyangoz popülasyon sağlığının incelenmesinde, çeşitli antropojenik ve doğal kirlenmelerin biyobelirteçleri olarak yaygın şekilde kullanılabilir (6, 19, 20).

Bu çalışmada, Cd'a maruz kalmış *Lymnaea stagnalis* ovotestislerinde; dejenere olmuş ovotestisler spermatozoonlar gözlenmiştir. Özellikle oositlerde küçülme, oosit çevresinde vakuolleşme, şekil bozuklukları, spermatozoon sayısında ciddi azalma, üreme hücrelerinde dejenerasyon ve asinüs hücrelerinde dejeneratif nekrozlar gibi önemli histopatolojik değişiklikler görülmüştür.

Bu toksik etkiler, farklı salyangoz türleri üzerine yapılan ağır metal ve pestisit çalışmalarıyla uyum içindedir (2, 6,

20, 21). El-feky, F. (21), Tributyletin uyguladığı *Lymnaea natalensis* örneklerinde hem sperm hem de yumurtada dejenerasyonu gözlemiştir. *Physa fontinalis*'te ise dejenerasyon sadece olgun oositlerde değil oogenezin bütün aşamalarında devam ettiği belirtilmiştir (20). Bakır sülfata maruz bırakılmış *Biomphalaria glabrata* ovotestislerinde erkek üreme hücrelerinde dejenerasyon ve spermatozoaların sayısında genel bir azalma, oositlerde dejenerasyon ve boyutlarında küçülme görülmüştür (2, 20). CuSO₄'a maruz kalan *Physa acuta*'da ovotestiste, hücresel düzeyde değişiklikler ve vakuolizasyon, sperm ve yumurtalarda dejenerasyon, üreme hücrelerinde yoğun tahribat ve acinus hücrelerinde dejeneratif nekroz tespit edilmiştir (6).

Sonuç olarak yapılan histopatolojik çalışmadan elde edilen bulgular, kadiyumun akümülyasyon miktarı ile histopatolojik değişiklikler arasında doğrudan bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Bu değişiklikler, sucul canlıların sağlık durumunun yanı sıra belirli bir ortamdaki suyun kalitesini ortaya çıkarmak içinde kullanılabilir. Bu çalışmanın histopatolojik gözlemleri Cd un sublethal konsantrasyonlarının *Lymnaea stagnalis*'in ovotestislerinde yıkıcı etkilere neden olduğuna işaret etmektedir.

Tatlısu salyangozları konusunda ağır metallerin oluşturduğu histopatolojik çalışmalar çok az sayıdadır. Bu yüzden ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde oluşturduğu histopatolojik çalışmalara daha fazla ağılık verilmelidir. Salyangozların hedef hücrelerindeki metal düzeylerinin değerlendirilmesi, çevresel izleme programları için umut vericidir.

KAYNAKLAR

1. De Silva N, Marsden ID, Gaw S, Glover CN. (2018). Acute Waterborne Cadmium Toxicity In The Estuarine Pulmonate Mud Snail, *Amphibola crenata*. Ecotoxicol Environ Saf. 30;158:274-283.
2. Gomot A. (1998). Toxic Effects of Cadmium on Reproduction, Development and Hatching in The Freshwater Snail *Lymnaea Stagnalis* for Water Quality Monitoring. Ecotoxicol Environ Saf. 41 (3): 288-297.
3. Ziyadah MA, Abdel-Baky TE. (2000). Toxicity and Bioaccumulation of Copper, Zinc, and Cadmium in Some Aquatic Organisms. Bull Environ Contam Toxicol. 64: 740-747.
4. Moolman L, Van Vuren JH, Wepener V. (2007). Comparative Studies on the Uptake And Effects of Cadmium and Zinc on The Cellular Energy Allocation of Two Freshwater Gastropods. Ecotoxicol Environ Saf. 68:443-450.
5. Bürçün Karakaş S. (2010). *Lymnaea stagnalis* Linnaeus, 1758 (Gastropoda:Pulmonata)'da Histopatolojik Değişikliklere Neden Olan Kadmiyumun Toksikitesi Üzerine Edta'nın Koruyucu ve İyileştirici Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. İcel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD. 90s, Diyarbakır.
6. Otludil B, Ayaz, S. (2020). Effect of Copper Sulphate (CuSO₄) on Freshwater Snail, *Physa acuta* Draparnaud, 1805: A Histopathological Evaluation. Bull Environ Contam Toxicol. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02846-5>.
7. Otludil B, Karadede Akin H. (2017). Yeşil Alg *Cladophora glomerata* Mevcudiyetinde, Kadmiyuma Maruz Bırakılan Nil tilapisi, *Oreochromis niloticus*'un Karaciğer Dokularındaki Histolojik Değişiklikler. Dicle Üniv Vet Fak Derg.10:1-6.
8. Otludil B, Karadede Akin H, Ünlü E. (2017). Effects of Sub-Lethal Exposure of Cadmium on Histopathology of Gills of Nile

- Tilapia, *Oreochromis Niloticus* and the Mitigating Effects of *Cladophora Glomerata*. Acta Biologica Turcica. 30: 24-30.
9. Coeurdassier M, De Vauflery A, Lovy C, Badot PM. (2003). Bioconcentration of Cadmium And Toxic Effects on Life- History Traits of Pond Snails (*Lymnaea Palustris* And *Lymnaea Stagnalis*) in Laboratory Bioassays. Arch Environ Contam Toxicol. 45: 102-109.
 10. Ünlü E, Cengiz Eİ, Yıldırım MZ, Otludil B, Ünver Ö. (2005). Histopathological Effects in Tissues of Snail *Lymnaea Stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) Exposed to Sublethal Concentration of Thiodan and Recovery After Exposure. J Appl Toxicol. 25 (6): 459-463.
 11. Salanki J, Farkas A, Kamardina T, Rozsa KS. (2003). Molluscs in Biological Monitoring of Water Quality. Toxicol Lett. 140/141: 403-410.
 12. Leung KMY, Ibrahim H, Dewhurst RE, Morley NJ, Crane M, Lewis JW. (2003). Concentrations of Metallothionein-Like Proteins and Heavy Metals in the Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* Exposed to Different Levels of Waterborne Cadmium. Bull Environ Contam Toxicol. 71(5): 1084-1090.
 13. Coeurdassier M, DE Vauflery A, Scheifler R, Morhain E, Badot PM. (2004). Effects of Cadmium on the Survival of Three Life-Stages of the Freshwater Pulmonate *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda). Bull Environ Contam Toxicol. 72: 1083-1090.
 14. Ayaz S. (2013). Bakır Sülfat (CuSO₄)'ın *Physa acuta* (Draparnaud, 1805)'nin Histopatolojisi Üzerine Etkileri. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. 64s, Diyarbakır.
 15. Gurr E. (1972). Biological Staining Methods. Kent Printers. 143. Tonbridge.
 16. Jong-Brink Mde, Schot LP, Schoenmakers HJ, Bergamin Sassen MJM. (1981). A Biochemical and Quantitative Electron Microscope Study on Steroidogenesis in Ovotestis and Digestive Gland of the Pulmonate Snail *Lymnaea Stagnalis*. Gen Comp Endocrinol. 45: 30-38.
 17. Blackmore G. (2000). Field Evidence of Metal Transfer from Invertebrate Prey to an Intertidal Predator, Thais Clavigera (gastropoda: muricidae). Estuar Coast Shelf Sci. 51: 127-139.
 18. Ibrahim MM. (2006). Energy Allocation Patterns in *Biomphalaria Alexandrina* Snails in Response to Cadmium Exposure and Schistosoma Mansonii Infection. Exp Parasitol. 112: 31-36.
 19. El-Khayat HMM, Abdel-Hamid H, Gaber HS, Mahmoud KMA, Fiefel H. (2015). Snails and Fish as Pollution Biomarkers in Lake Manzala and Laboratory A: Lake Manzala Snails. Fish Aquacul J. 6: 1000153.
 20. Bacchetta R, Mantecca P, Vailati G. (2002). Oocyte Degeneration and Altered Ovipository Activity Induced by Paraquat in the Freshwater Snail *Physa Fontinalis* (Gastropoda: Pulmonata). J Moll Stud. 68: 181-186.
 21. El-feky F, Raafat HA, Kamal H. (2009). Physiological and Histopathological Effects of Tributyletin (TBT) on *Lymnaea natalensis* and *Physa acuta*. Egyptian J Hospital Med. 37: 610- 620.
 22. De Silva NAL, Marsden ID, Gaw S, Glover CN. (2018). Acute Waterborne Cadmium Toxicity in the Estuarine Pulmonate Mud Snail, *Amphibola Crenata*. Ecotoxicol Environment Saf. 158: 274-283.
 23. Elagba H, Ali M, Abdel-Rahman O. (2014). Heavy Metals in Water, Muscles and Gills of *Oreochromis niloticus* Collected from the Sewage-Treated Water and the White Nile. Int J Aquaculture. 4: 36-42

✉ Yazışma adresi:

Birgül OTLUDİL
Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Diyarbakır
E-mail: birgulotludil@gmail.com