



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ



***EISENIA FETIDA* (SAVIGNY 1826)DA MİKRO PLASTİK
ABSORBSİYONU VE BÜYÜME PARAMETRELERİNE ETKİSİNİN
KARARLI İZOTOP YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Elif MENTEŞ

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***EISENIA FETIDA* (SAVIGNY 1826)DA MİKRO PLASTİK
ABSORBSİYONU VE BÜYÜME PARAMETRELERİNE ETKİSİNİN
KARARLI İZOTOP YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Elif MENTEŞ

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 02/02/2018

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Şükran YALÇIN ÖZDİLEK

ÇANAKKALE

Elif MENTEŞ tarafından Prof. Dr. Şükran YALÇIN ÖZDİLEK yönetiminde hazırlanan ve **02/02/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "***Eisenia fetida* (Savigny 1826)da Mikro Plastik Absorbsiyonu Ve Büyüme Parametrilerine Etkisinin Kararlı İzotop Yöntemiyle Araştırılması**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Şükran YALÇIN ÖZDİLEK

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Bektaş SÖNMEZ

Üye

Yrd. Doç. Dr. Esra KOÇUM

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FLY-2017-1263

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Elif MENTEŞ

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen Danışman Hocam Prof. Dr. Şükran YALÇIN ÖZDİLEK'e teşekkür ederim. Jüri üyelerim Yard. Doç. Dr. Bektaş SÖNMEZ ve Yard. Doç. Dr. Esra KOÇUM'a, laboratuvarından deneyde kullanılan PMMA teminini sağlayan Prof. Dr. İsmet KAYA'ya, laboratuvar çalışması aşamasında deney ortamını sağlayarak, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen Biyoloji Bölümü Arş. Gör. Selin ERTÜRK GÜRKAN'a ve doktora öğrencisi Nur Banu PARTAL'a, deney sürecinde desteğini esirgemeyen Rukiye ALTAŞ'a ve Esra BARIN'a, bu dönemde en büyük destekçim olan Yunus ÇAĞLAR'a ve beni yetiştirip bugünlere getiren aileme ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif MENTEŞ
Çanakkale, Şubat 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

mp	Mikroplastik
PMMA	Polimetilmetakrilat
MMA	Metilmetakrilat
g	gram
μ	mikron
PS	Polistiren
%	Yüzde oranı
N	Solucan Sayısı
$^{\circ}$ C	Derece santigrat
PBP	Plastik boya pigmenti
ort	Ortalama
ss	Standart sapma
min	Minimum
mak	Maksimum

ÖZET

***EISENIA FETIDA* (SAVIGNY 1826)DA MİKRO PLASTİK ABSORBSİYONU VE BÜYÜME PARAMETRELERİNE ETKİSİNİN KARARLI İZOTOP YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Elif MENTEŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Prof. Dr. Şükran YALÇIN ÖZDİLEK

02/02/2018, 43

Dünya üzerinde plastik kullanımının artması ile birlikte zamanla aşınarak mikroplastik adı verilen daha küçük partiküller doğal ortamlarda artış göstermektedir. Mikroplastikler canlılar tarafından istemsizce tüketilebilir boyutlarda olmaları sebebiyle tehdit oluşturmaktadırlar. Literatürde canlıların yiyecekleri ile birlikte aldıkları mikroplastik parçacıkları kas dokularına alabilecekleri konusunda bilgi boşluğu vardır. Bu çalışmada *Eisenia fetida* türü toprak solucanında kararlı karbon izotop oranları kullanılarak mikroplastiklerin kas dokularında belirlenebileceğini test etmek amaçlanmıştır. Bununla birlikte mikroplastığe maruz kalan solucanların büyüme parametrelerine etkilerini ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Ağır karbon izotop oranında azalma ve artma sağlamak üzere solucanlar 50 gün süreyle çay (*Camellia sinensis*) ve semizotu (*Portulaca oleracea*) ile beslenmişlerdir. Daha sonra solucanların diyetine toplam besin gereksinimlerinin %25'i oranında <5mm olan üç farklı PBP (plastik boya pigmenti), PMMA (polimetilmetakrilat) ve PS (polistiren) ilave edilmiş ve PBP1 uygulamalarında 21. ve 42., PBP1 tekrar uygulamasında 42. ve 84., PMMA ve PS uygulamalarında 21. ve 42.günlerindeki hem boy ağırlık hem de $\delta^{13}\text{C}$ oranları ölçülmüştür. PBP1 uygulamasında ayrıca kontrol çalışması da yapılmıştır. PBP1 tekrar, PMMA ve PS uygulamalarında süreçte solucanların ağırlığına bir azalma gözlenmiştir. PBP1 tekrar ve PMMA uygulamalarında $\delta^{13}\text{C}$ kompozisyonu solucanların mikroplastik çeşitlerine doğru eğilim gösterdiğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları ve literatür çalışmalarında da görüldüğü gibi mikroplastikler canlılar tarafından rastgele olsa da tüketilmekte ve kas dokularına geçebilmektedir. Bu şekilde

mikroplastiklerin besin ağına girişi de mümkündür. Mikroplastiklerin besin ağı yolu ile taşınımı ve hücre düzeyinde olası etkileri $\delta^{13}\text{C}$ oranları kullanılarak gerçekleştirilebilir.

Anahtar sözcükler: Mikroplastik, Kararlı İzotop Oranı, İki Kaynak Karışım Modeli, $\delta^{13}\text{C}$



ABSTRACT

THE ASSESSMENT OF MICRO PLASTIC ABSORPTION ON *EISENIA FETIDA* (SAVIGNY 1826) AND EFFECTS ON GROWTH PARAMETERS USING STABLE ISOTOPE ANALYSIS

Elif MENTEŞ

Canakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science in Biology

Advisor : Prof. Dr. Şükran YALÇIN ÖZDİLEK

02/02/2018, 43

With the increasing use of plastic on the earth, smaller particles, called microplastics, wear out over time and increase in natural environments. Microplastics are a threat because they are inadvertently consumed by living things. In the literature, there is gap on information about whether they transferred to muscle tissue of micro-plastic particles taken with food of living organisms. In this study, it was aimed to test that microplastics can be determined in muscular tissues of worm, *Eisenia fetida*, by using stable carbon isotope ratios. At the same time, it was aimed to reveal the effects of microplastics on the growth parameters of worms. Worms were feed on tea (*Camellia sinensis*) and purslane (*Portulaca oleracea*) in order to deplete and enriched the heavy carbon isotope ratio of worms for 50 days. Than three kinds of smaller than <5 mm plastics which are Plastic Dye Pigment (PBP1), polymethylmethacrylate (PMMA) and polystyrene (PS) were mixed to diet by the 25% percentage of total food requirements. The length, weight and $\delta^{13}\text{C}$ ratio of worms during the experiment were measured in the worms samples collected in 21st and 42nd in PBP1, in 42nd and 84th in PBP1 reapplication, in 21st and 42nd days both in PMMA and PS applications. In addition, during the PBP1 reapplication, $\delta^{13}\text{C}$ ratio of the worms as the control group was recorded. There was a decrease in weight of worms in PBP1 reapplication, PMMA and PS applications during the process. The stable carbon ratio of worms indicated the tendency toward microplastics, in the treatments of PBP1 reapplication and PMMA. The results indicated that microplastics were consumed randomly and may accumulate in the muscle tissue. The microplastics may transferred

through food chain in natural environments and stable carbon isotope is a good tool in order to understand the transfer mechanisms of microplastics through food web.

Keywords: Mikroplastic, Stable Isotope Ratio, Two End Mixing Model, $\delta^{13}\text{C}$



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1. Toprak Solucanının Biyolojisi	2
1.1.1. Genel Vücut Yapıları.....	2
1.1.2. Beslenme, Sindirim ve Emilim.....	4
1.1.3. Üreme ve Gelişim.....	5
1.2. Toprak Solucanının Ekolojisi.....	6
1.3. Mikroplastikler	7
1.3.1. Mikroplastiklerin Neden Olduğu/Olabileceği Sorunlar	9
1.4. Kararlı İzotop Analizi	10
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	12
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal	16
3.2. Tez Çalışmasının Tasarlanması ve Deney Protokolü.....	17
3.2.1. Deney Öncesi Aşamalar	19
3.2.1.1. Deneyin Yapılacağı Vivaryum Kaplarının Temin Edilmesi	19
3.2.1.2. Vivaryum Toprağının Hazırlanması.....	20
3.2.1.3. <i>E. fetida</i> Türü Toprak Solucanının Temin Edilmesi	20
3.2.1.4. Solucanları C ₃ ve C ₄ Bitkisi İle İndirgeme ve Zenginleştirme İşlemi	20
3.2.1.5. Mikroplastiklerin Temini ve Hazırlanması	21
3.2.2. Deney Başlangıcı ve Sonrasındaki Aşamalar.....	21
3.2.2.1. Vivaryumun Hazırlanması.....	21
3.2.2.2. Solucanlara Yem ve Mikroplastik Verilmesi	23

3.3. Solucanların uygulamalara hazırlanması ve uygulama sürecinde sıcaklık, nem, pH ölçümlerinin yapılması.....	25
3.4. Kararlı İzotop Analizi İçin Örnek Alımı.....	26
3.5. Alınan Solucan Örneklerinin Kararlı İzotop Analizi İçin Hazırlanması.....	26
3.6. Mikroplastik ve Bitki Örneklerinin Kararlı İzotop Analizi İçin Hazırlanması.....	26
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	28
4.1. Mikroplastik Maruziyetinin Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri.....	28
4.1.1. Mikroplastik Maruziyetine Bırakılmamış <i>E. fetida</i> Örneklerinin Boy- Ağırlık Değişimi	28
4.1.2. Mikroplastik Maruziyetine Bırakılmış <i>E. fetida</i> Örneklerinin Boy- Ağırlık Değişimi	29
4.2. Mikroplastik Muamelesine Maruz Bırakılan <i>E. fetida</i> Bireylerinin Kararlı İzotop Değişimi	30
4.3. Mikroplastik Absorbsiyonu.....	34
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Toprak solucanının anatomik yapısının gösterimi (Tutar 2012)	3
Şekil 1.2. Toprak solucanlarının ekofizyolojik olarak sınıflandırılması (Tecimen 2013).....	6
Şekil 3.1. Çalışmanın tasarlanması	19
Şekil 3.2. Vivaryum için hazırlanan ahşap kaplar	19
Şekil 3.3. Solucanlara 3 günlük besin verilmesi ve 3. gün besinleri tükettiklerinin gözlemlenmesi	21
Şekil 3.4. Vivaryum için yakılarak karbonu uzaklaştırılan topraklar	22
Şekil 3.5. PBP1 uygulanan toprağı	23
Şekil 3.7. PMMA uygulaması toprağı	24
Şekil 3.8. PS madde ile hazırlanan vivaryum	25
Şekil 4.1. PBP1 tekrar uygulaması yapılan ve yapılmayan <i>E. fetida</i> bireylerinin kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}C$ değerleri. Yeşil dolu halka Çay bitkisinde, kırmızı boş halka PBP1 mikroplastığında ölçülen $\delta^{13}C$ oranını, kesik çizgi PBP1 uygulanan, düz çizgi kontrol grubu solucanları göstermektedir. Mavi oklar uygulamaların günlerini göstermektedir.	32
Şekil 4.2. PMMA deney sürecinde solucan örneklerinin kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}C$ değerleri (siyah çizgi). Yeşil dolu semizotu, kırmızı boş daire PMMA'da ölçülen değerleri göstermektedir.	33
Şekil 4.3. PS uygulaması yapılan <i>E. fetida</i> bireylerinde solucanların kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}C$ değerleri (siyah çizgi). Yeşil dolu semizotu, kırmızı boş daire PS'de ölçülen değerleri göstermektedir.	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. Ön çalışmada kullanılan mikroplastik çeşitleri ile deneylerde kullanılan materyallerin kararlı izotop analiz sonuçları	17
Çizelge 4.1. Mikroplastik absorpsiyonuna maruz bırakılmamış çay besi ortamında yetiştirilen <i>E. fetida</i> örneklerinin boy- ağırlık ort. ve ss değerleri	28
Çizelge 4.2. Mikroplastik absorpsiyonuna maruz bırakılmamış semizotu ile zenginleştirme işlemi uygulanan <i>E. fetida</i> örneklerinin boy- ağırlık ort. ve ss değerleri.....	28
Çizelge 4.3. PBP1,PBP1 tekrar, PMMA ve PS deney gruplarındaki solucan örneklerinden alınan boy ve ağırlık ölçümlerinin ortalama \pm standart sapma değerleri.....	30
Çizelge 4.4. PBP1, PBP1 tekrar, PMMA ve PS deney gruplarından deney sürecinde solucanların kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}C$ ve standart sapma değerleri	32
Çizelge 4.5. Seçilen mikroplastiklerin solucan kas dokusundaki karışıma katkı oranları (*PBP1 için 42. gün ve ** PBP1 için 84. gün).....	34

BÖLÜM 1

GİRİŞ

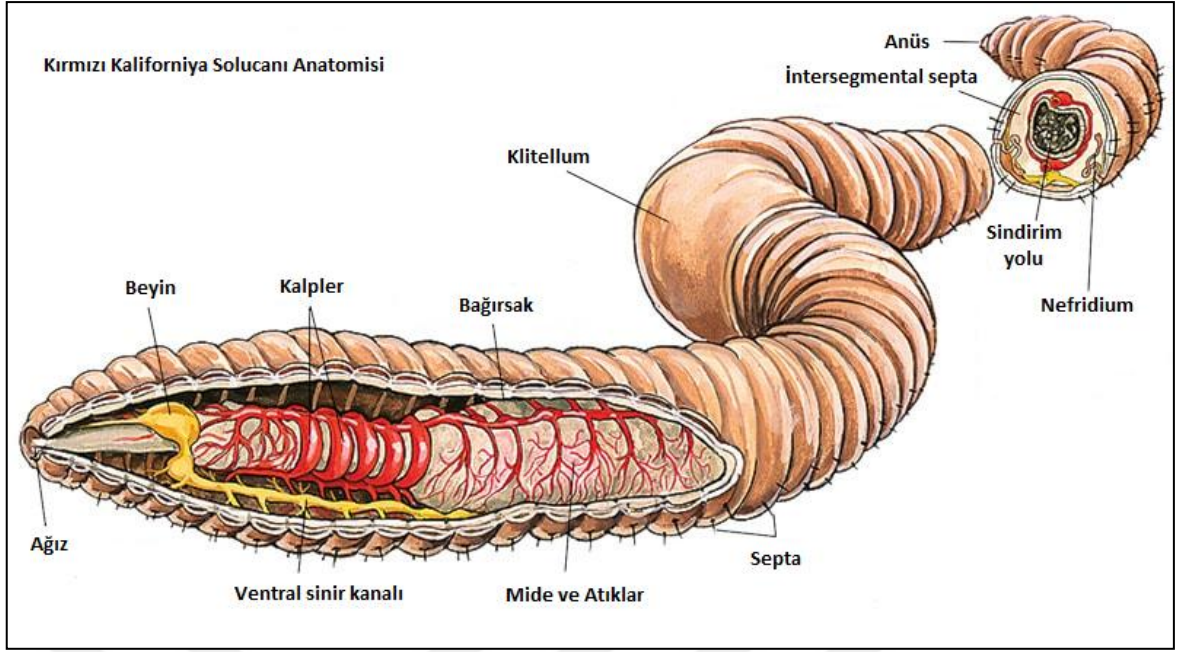
Plastik kullanımından elde edilen büyük çapta faydalara rağmen, ekosistemlerde, özellikle de mikroplastik madde birikimi artan bir çevresel kaygı haline gelmektedir. Dünya üzerindeki deniz ve okyanuslar farklı türden bir tehdiye maruz kalmaktadır (Van Cauwenberghe ve ark., 2013). Plastiklerin rastgele satılması ve kullanıldıktan sonra rastgele atılması sonucu atıklar çevrede kontrol edilemez oranda birikmektedir (Wright ve ark., 2013). Bununla birlikte rüzgar ve nehirler vasıtasıyla taşınarak kıyılara kadar ulaşmış durumdadır (Wright ve ark., 2013). Çalışmalar ve raporlar genellikle büyük plastik deniz debrisinin, deniz memelileri, kuşlar ve balıklar için hangi tehlikeleri oluşturduğuna odaklanmıştır (Setälä ve ark., 2014). Son on yıl içerisinde deniz çevresindeki bu tür büyük plastik maddeler, birkaç mikrometre kadar küçük boyutlarda, 'mikroplastik' adı verilen küçük fragmentlere ayrılmıştır (Andrady, 2011; Cole ve ark., 2011). Çevredeki mikroplastik debris, kutba ve okyanustan deniz dibine doğal habitatlarda taşınarak ve yığılarak çoğalmaktadır; debris ayrıca kent kıyıları ve bozulmamış sediment üzerinde birikmektedir (Barnes ve ark., 2009; Thompson ve ark., 2009; Do Sul ve Costa, 2014). Sediment içerisine mikroplastikler bir kere katıldığında seçici olmayan kum kurtları tarafından alınması olasıdır (Green ve ark., 2016). Mikroplastikler, sudaki çevrelerde yoğun olarak çalışılmıştır ve çok az sayıda çalışma topraklar üzerinde yoğunlaşmıştır. Ancak bununla birlikte günümüzde yapılan bir çalışmada mikroplastik parçacıkların (polietilen boncukların) toprak solucanları vasıtasıyla toprak yüzeyinden toprak profiline taşınabileceği test edilmiştir (Rillig ve ark., 2017). Bu çalışma neticesinde toprak solucanlarının mikroplastik boncukları toprağın çeşitli katmanlarına doğrudan yada dolaylı olabilecek şekilde taşıdıkları tespit edilmiştir. Karasal ortamlarda polimer kaynaklı materyal enkazlarının dolaşması ve canlılar tarafından yutulması, deniz ortamında olduğu gibi literatürde yer almıştır ve çiftlik hayvanlarının polimer kaynaklı materyalleri tükettiği bilinmektedir (Lambert ve ark., 2014). Güncel bir araştırmada, kuraklığın sebep olduğu yetersiz çayırın, İran'da Birjand'da koyun ve keçilerin yabancı cisimleri yutmasının önemli bir nedeni olarak tespit edilmiştir ve tüketilen baskın yabancı maddelerin polimer kaynaklı materyaller oldukları saptanmıştır (Lambert ve ark., 2014). Plastik torbalar gibi yabancı cisimler, Güney Afrika'daki çiftçilerin yaşadığı birçok hayvan yetiştirme sorunlarından biri olarak da vurgulanmıştır (Lambert ve ark., 2014). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda denizel ve karasal mikroplastik etkileri çeşitli canlılarla ortaya

konulmuştur. Bununla birlikte toprak solucanlarıyla ilgili kararlı izotop analizi kullanılarak yapılan mikroplastik çalışması mevcut değildir. Ancak toprak solucanlarının ekosistemdeki rolü göz önünde bulundurulduğunda mikroplastiklerin bu canlılar üzerindeki etkilerinin bilinmesi literatüre önemli bir katkı sağlayabilir. Toprak ekosistemlerinde, toprağın fiziksel özelliklerinin düzenlenmesinde, nitrifikasyonun (azot dönüşümü) gerçekleşebilmesinde, humus oluşumunun kolaylaşmasında, organik maddelerin ayrışarak dönüşmesi yanında tüneller kazarak toprağın hava almasını sağlama özelliğindeki toprak solucanları birçok alanda sıklıkla kullanılan ve önemli işlevlere sahip canlılardır (Aydın, 2006). Mikroplastik alımı, zararlı etkileri gözlemlenerek hem laboratuvar (Browne ve ark., 2008; Van Cauwenberghe ve ark., 2015) hem de saha koşullarında, bir dizi omurgalı ve omurgasız tür üzerinde belirlenmiştir (Courtene-Jones ve ark., 2017). Mikroplastik araştırmaları, gelişmekte olan bir alandır ve sonuç olarak bir dizi temel araştırma konusu içerir. Bununla birlikte, bu araştırmalarda veri karşılaştırılabilirliği açısından ilerleme, metodolojik eksiklik (kullanılan methodların standart olmayışı, değişkenlik göstermesi) nedeniyle engellenmektedir (Courtene-Jones ve ark., 2017). Metodolojik farklılıkların ortadan kaldırılması ve en iyi uygulamaların oluşturulması, karşılaştırılabilir ve anlamlı veriler sağlamak ve mikroplastik araştırma sahasını geliştirmek için zorunludur (Courtene-Jones ve ark., 2017).

1.1. Toprak Solucanının Biyolojisi

1.1.1. Genel Vücut Yapıları

Toprak solucanlarının boyları çeşitli uzunluklarda olmakla beraber ortalama 5-15 cm' den, 50-100 cm' ye (Dev Avustralya Solucanları, *Megascolides australis*) kadar değişmektedir (Tutar 2012). Toprak solucanları omurgasız hayvanların Annelida şubesinde yer alan vücutları uzun ve "metamer" segmentlerden oluşmuş karasal canlılardır (Şekil 1.1) (Tutar 2012).



Şekil 1.1. Toprak solucanının anatomik yapısının gösterimi (Tutar 2012)

Ekolojik yaşam koşulları farklılıklar içermesine rağmen toprak solucan türlerinin fizyolojik özelliklerinin oldukça benzer oldukları gözlenmiştir (Tutar 2012).

Toprak solucanlarının vücudunu başlıca kütikül tabaka, epidermis tabakası, sinir dokusu, boylamsal ve halkasal kas tabakaları ve sölom epitel dokusu sarar. Bu yapıların oluşturduğu vücut duvarı aynı zamanda deri-kas kıllı olarak geçmektedir. Bağırsak damarları da dahil olmak üzere damarlar üzerinde bulunan ve sarı, kahverengi, yeşile benzer renk tanecikleri barındıran özelleşmiş hücrelerden oluşan sölom epiteli, vücut duvarı üzerinde ve septumlarda ince bir tabaka şeklinde mevcuttur. Eşeyssel bezlerin, çeşitli lenfositlerin ve deforme olan klorogogen hücrelerinin bulunduğu renksiz sıvı şeklindeki yapı ise sölom boşluğudur. Vücudun sırt bölümündeki bazı segmentlerin orta bölümlerinde sırt porları mevcuttur ve vücut nemini kaybedecek ve kuruyacak olursa, bu porlardan vücut sıvısının bir bölümü dışarıya salınarak derinin kurumamasının önüne geçildiği saptanmıştır (Mısırlıoğlu, 2011). Toprak solucanlarının ağız kısımları vücudun karın bölgesinde ve ilk segmentin önünde bulunmaktadır. Yutak (farinks) 3-6. segmentlerin olduğu bölgede, özafagus (yemek borusu) 7-14. segmentlerin arasında, crop (kursak) 14-16. segmentlerin olduğu bölgede, gizzard (taşlık) 17-18. segmentlerin olduğu bölgede ve bağırsak ise 19. segment ile başlayarak son segmente kadar olan bölgede yer alır ve anüs sindirim sisteminin son kısmıdır (Tutar, 2012).

1.1.2. Beslenme, Sindirim ve Emilim

Ölü bitki dokusu tüketilen organik maddenin büyük kısmını içerir ancak mikroorganizmalar, nematodlar ve diğer mikrofauna, mezofaunalar ve bunların ölü kalıntıları da toprak solucanlarının tükettikleri besin maddeleri arasına girmektedir (Curry ve Schmidt, 2007). Beslenmelerinin direkt ağızdan gerçekleştirirler ve ayrıca toprağın humuslu kısmıyla beslendikleri de bilinmektedir. Aldıkları besin maddelerinin çoğunluğunu sindirdikten sonra büyük bir kısmını atık olarak vücudun dışına atarlar. Bu atıkları sürükleyerek toprak yüzeyinde küçük topluluklar oluştururlar (Mısırlıoğlu, 2011; Tutar 2012).

Besinlerin iletiminin kolaylaşması için alınan besinler ağızda tükürük işlevi gibi rol üstlenen bir sıvı ile muamele olur ve besinler yutağa geçer. Besinler ağızdan sindirim sisteminin diğer kısımlarına yutak sayesinde iletilir. Besinlerin tutulduğu bölge ise kursaktır ve besinlerin mekanik olarak parçalanması ise taşlık bölgesinde gerçekleşir. Yemek borusu üzerinde segmentlerin her birinde en az bir çift olmak üzere keseler bulunmaktadır. Bu keseler besinlerin vücudun diğer kısımlarına iletilmesi için sindirilen besinlerin kana aktarımını kolaylaştırır. Keselerin bulundukları bezlerde kalsiyum karbonat taneleri mevcuttur ve bezlerin humik asit miktarı fazla olan besin maddelerinin nötr duruma getirdiği öngörülmektedir. Ayrıca kandaki asit-baz dengesi için önemli bir görev üstlendiği de düşünülmektedir. Alınan kalsiyumun fazlası oluşan karbondioksiti bağlayarak dengenin bu şekilde korunduğu öne sürülmektedir. Bağırsak düz bir doğrultudadır, bağırsak duvarları ince ve geniştir, kenarlarında besinlerin emilimini arttıran çıkıntılar ve dorsalinde tiflozis denilen girinti bulunmaktadır. Solucanlarda, omurgalılarda bulunan karaciğer gibi işlev gören yapı klorogogen hücreleridir. Bu klorogogen hücreleri yeşilimsi görünümündedir ve bağırsağın etrafında bir tabakalı olarak bulunmaktadır. Glikojen sentezi, depo edilmesiyle beraber yağların, silisik asidin ve ürenin sentezlenmesini de klorogogen hücreleri üstlenirler. Atık maddelerin birikimi de yine bu hücrelerde gerçekleşebilmektedir. Sindirim sisteminde anüse bağlanan son bağırsakta, sindirilen besin maddelerindeki organik kısım vücuda alınmak üzere emilirken mineral kısım ise anüsten dışarı atılmaktadır (Mısırlıoğlu, 2011; Tutar, 2012).

Solucanların bağırsak florası incelendiğinde oldukça fazla miktarda bakteri buldukları saptanmıştır. Doğal, verimli ve tahrip edilmemiş toprakta bakteri sayısı $1,7 \times 10^8$ olarak saptanırken, toprak solucanlarının bağırsaklarında $2,1 \times 10^9$ adet olarak bulunmaktadır (Pedersen ve Hendriksen, 1993). Toprak solucanlarının bağırsaklarında barındırdıkları bakteri ve funguslar aracılığıyla sindirim işlevinin kolaylaştığı ve önemli

işleve sahip oldukları yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Byzov ve ark. 2009). Bir takım toprak solucanlarında ise bağırsaklarında bulunan aktif sellobiaz, nitrat redüktaz, amilaz, ksilenaz, asit fosfataz, endoglukanaz, alkalın fosfataz ve selülaz enzimlerin alınan besinlerdeki organik maddelerin sindirimi ve humus oluşumunda önemli oldukları saptanmıştır (Prabha ve ark., 2007).

1.1.3. Üreme ve Gelişim

Toprak solucanları hem dişil hem de eril özellik gösterebilmektedirler. Ventral ve ventro-lateral vücut bölgelerinde mevcut olan dişil ve erkek genital porlar dışarı açılırlar. Bu porların buldukları bölgeler farklı familyalarda değişik segmentler olabilir (Tutar, 2012). Aynı segmentte bulunan ve bir çift ovaryum içeren dişil üreme sisteminde yumurtalar da aynı segmentte ancak sölom sıvısı içerisinde bulunur. Yumurta kanalı aracılığı ile yumurtalar dışarı çıkarlar. Sperm keselerindeki spermler aktarıldıktan sonra depolanır. Depolanan spermler kokonlardaki yumurtalar dölleninceye kadar burada kalmaktadır. Toprak solucanlarının aktivitesi en yüksek ılıman ve nemli havalardadır. Toprak solucanları yılın her periyodunda üreyebilmektedirler. Çiftleşme gece gerçekleşmektedir ve birkaç gün geçmesiyle klitellumun çevresinde, bezler ile salgılanan maddelerle, bir kokon (yumurta kapsülü) oluşmaktadır. Toprak solucanın yaşadığı ortamda bulunan toprak ve kalıntılar içine bırakılan kokonda döllenme gerçekleşir. Kokon içerisindeki yumurtalarda gerçekleşen zigot sonrası oluşan solucanlar yumurtalardan dışarı çıkarlar. *Eisenia fetida* türü toprak solucanlarının 3-5 günde bir 2-10 adet civarında kokon oluşturdukları, bir kokonda yaklaşık 1-8 adet yumurta bulunduğu ve bu yumurtalardan 2 tanesinin gelişebildiği saptanmıştır (Mısırlıoğlu, 2011; Tutar 2012).

Toprak solucanlarının kirleticilere maruz kalması, solucan üremesini doğrudan ve dolaylı yollarla değiştirebilmektedir. Üreme üzerinde dolaylı toksik etkiler, çevresel kirleticilere maruz kalan organizmalarda oluşan enerji bütçesinde bir değişiklik ile açıklanabilmektedir (Savard ve ark., 2006). Çevrede meydana gelen ağır metal kirliliği, toprak solucanlarının; kokon sayısını, kokondan çıkan yavru birey sayısını ve genç bireylerin hayatta kalmalarını olumsuz yönde etkilemektedir (Dominguez ve ark., 2012).

Toprak solucanlarının yumurtadan çıkma ve erginleşme süreleri sıcaklığa ve çevre koşullarına göre değişir. Yavaş gelişim gösterirler ve buldukları ortamda uygun sıcaklık olmadan yumurtadan çıkmazlar. Toprak solucanlarının gelişim evreleri genç, önergın ve ergın olmak üzere 3 kısma ayrılabilir. Gelişim evrelerinde başkalaşım ve serbest larva dönemi bulunmaz. Genç bireylerde eşeyssel yapılar ve klitellum gelişmemiştir. Klitellum

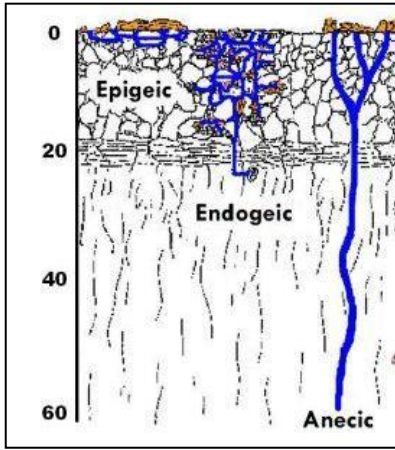
ergin bireylerde bulunur, önergün bireylerde eşeyssel yapılar oluşmasına rağmen klitellum tam olarak gelişmemiştir. Toprak solucanları yenilenme özellikleri sayesinde vücutlarının gerek ön gerekse arka kısmından ayrılan çok küçük parçaları dahi tamamen yenileyebilir (Mısırlıoğlu, 2011; Tutar 2012).

1.2. Toprak Solucanının Ekolojisi

Başlıca 3 temel ekofizyolojik gruba ayrılan toprak solucanları;

- 1) Ölü toprak örtüsü veya kompost tüketen "epigeic" toprak solucanları (ör: *Eisenia fetida*)
- 2) Üst toprak katmanı veya orta toprak katmanında yaşayan "endogeic" toprak solucanları (ör: *Allolobophora caliginosa*)
- 3) Toprakta 50-150 cm' ye kadar kalıcı kanallar açabilen ve yaprak veya besin maddesi olabilecek bitkisel kalıntılar için yüzeye çıkabilen "anecic" toprak solucanları (ör: *Lumbricus terrestris*)' dir (Şekil 1.2) (Edwards ve ark. 2011; Tecimen 2013).

Epigeic türlerin birçoğu örneğin *E. fetida* kompost solucanlarından ve bu solucanlar ölü bitki örtüsünün ayrışmasını kısa sürede sağlarken, toprağa karışmasına katkı sağlamadıkları bilinmektedir (Tecimen 2013).



Şekil 1.2. Toprak solucanlarının ekofizyolojik olarak sınıflandırılması (Tecimen 2013)

E. fetida için optimum sıcaklık 25 °C, nem içeriği % 70 ve pH 6.5'dur (Tripathi ve Bhardwaj, 2004). Toprak hayvanları toprak verimliliği ve nemlendirme süreçlerinin önemli sebeplerindendir (Tripathi ve Bhardwaj, 2004). *E. fetida* sıcaklık, nem, ve toprak pH toleransının geniş olması sebebi ile kolaylıkla kültürlenebilir ve dayanıklı solucan türüdür (Callaham ve ark., 2002). Toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri hakkında

solucanların etkisi belgelenmiştir (Bolan ve Baskaran 1996). Toprak solucanları toprağı işleyen canlılar olarak bilinmektedir. İçinde buldukları ekosistem üzerinde pek çok yönden belirleyici işlevlere sahiptirler. Bunların başında toprağın pH'sı üzerindeki etkileri yer almaktadır. Nitekim solunum sistemlerinin çalışma prensibi toprakta kalsiyum karbonat olarak bilinen kalsitlerin (CaCO_3) miktarını arttırarak toprağın pH'sı üzerinde asitliğı tamponlayıcı yönde etkiye sahiptir (Tecimen 2013). Solucanlar oluşturdıkları kanal sisteminde diğerk mikro canlılar için de uygun bir yaşama ortamı sağlayarak bir çeşit besin alanları oluştururlar (Tecimen 2013).

1.3. Mikroplastikler

Plastik, yüksek termal ve elektrik yalıtım özelliklerine sahip, ucuz, hafif, korozyona dayanıklı malzemelerdir. Polimerlerin çeşitliliğı ve özelliklerinin çok yönlülüğü, tıbbi ve teknolojik ilerlemeler, enerji tasarrufu ve sayısız diğerk toplumsal fayda getiren geniş bir ürün yelpazesi oluşturmak için kullanılır (Thompson ve ark.,2009) Kullanıldıktan sonra atılan ve zamanla deniz çevresine taşınan bu tür büyük plastik maddelerin, birkaç mikrometre kadar küçük boyutlara, 'mikroplastik' adı verilen küçük fragmentlere ayrıldığı son on yıl içerisinde ortaya çıkmıştır (Andrady, 2011; Cole ve ark., 2011). Mikroplastikler 5 mm den küçük parçacıklar olarak nitelendirilmektedir (Goldstein ve ark., 2012). Mikroplastikler, büyük plastik parçaların parçalanmasıyla ortaya çıkarlar yada küçük boyutlarda üretilirler (Courtene-Jones ve ark., 2017). Parçalanma, polimerin ortalama moleküler ağırlığını önemli ölçüde azaltan bir kimyasal değışiklikdir. Plastiklerin mekanik bütünlüğü, yüksek ortalama molekül ağırlıklarına bağılı olduğundan, bozulma önemli ölçüde maddenin kaçınılmaz olarak zayıflamasına neden olur. Geniş ölçüde bozulmuş plastikler, taşınma sırasında toz halinde parçalara bölünecek kadar kırılğan hale gelir. Çoğunlukla çıplak gözle görülemeyen parçalarda bile, polimerdeki karbon CO_2 'ye dönüştürülerek (genel olarak mikrobiyal aracılı biyolojik bozunum yoluyla) daha da bozunuma uğrayabilir ve deniz biyokütlesine dahil edilir. Bu işlem tamamlandığında ve polimerdeki organik karbonun tamamı dönüştürüldüğünde, mineralizasyonun tamamlandığından bahsedilir (Andrady, 2011).

Bozunma genellikle ona neden olan ajana göre sınıflandırılır;

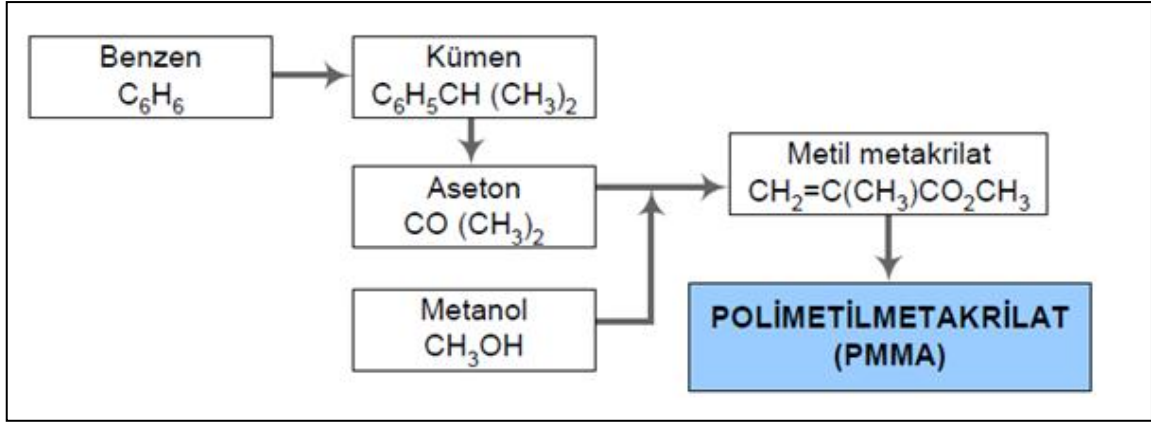
(a) Biyodegradasyon - Canlı organizmaların aktivasyonu (genellikle mikroorganizmalarla)

(b) Fotodegradasyon - Işık etkisi ile bozulma (genellikle açık havada maruz kalınan güneş ışıkları).

- (c) Termooksidatif bozunum - orta dereceli sıcaklıklarda yavaş oksidatif bozulma.
- (d) Isıl bozunma - yüksek dereceli sıcaklıklarda bozulma.
- (e) Hidroliz - su ile reaksiyona girerek bozulma.

Bazı mikro plastikler, özellikle de tüketici ürünlerinde kullanılan plastiklerin, üretilen mikro ve nanopartikülleri (Andrady, 2011) doğrudan akarsu yoluyla okyanusa girebilmektedir. Bunlar, gemi söküm endüstrisinde üretilenler (Andrady, 2011), sentetik "kumlama" yönteminde (akrilik plastikler ve polyester boncuklar) endüstriyel aşındırıcılar olarak kullanılan mikron boyutlu plastik parçacıklar ve kozmetik formülasyonlarda genellikle eksfoliyatif ediciler olarak kullanılan plastik parçacıklardır (Andrady, 2011). Bunlar akarsu yoluyla okyanusa kolaylıkla ulaşabilmektedirler. Bununla birlikte, mikro plastiğin büyük bir çoğunluğunun oluşması için muhtemel mekanizma, plaj ortamında mesoplastiklerin ve daha büyük plastik çöp parçalarının in situ hava şartlarında bozunmasıdır (Andrady, 2011). Suyun içinde yüzenlerin aksine, plajlarda bulunan plastik çöp çok yüksek sıcaklıklara maruz kalmaktadır. Bu sebeple bozunması daha hızlı olabilmektedir (Andrady, 2011). Çöp yığınlarında bulunan plastikler aşınmayla parçalanarak toprağa karışabilme ihtimalini barındırmaktadır. Bununla birlikte bina yıkıntılarında bulunan inşaat kaynaklı plastikler de toprağa karışma riski içerebilmektedir. Bu plastikler içerisinde pigment, mikroplastik olarak bulunabilecek maddelerden biridir. Pigment, boyaya rengini veren kimyasaldır. Pigmentler genellikle katıdır bu yüzden uygulaması ve yayılması zor olur. Bir kağıda veya duvara yapışması zor olması ve ıslandıkları zaman akıp gitmeleri sebebiyle, boyalar tutkal denilen maddeleri içerir. Tutkalın görevi pigmentleri birbirine yapıştırmak ayrıca birbirine yapışan pigmentleri uyguladığınız yüzeye yapıştırmaktır.

PMMA, metil metakrilat monomerinden radikal zincir büyüme polimerizasyonu metodu kullanılarak sentezlenir. Sentezin ilk basamağında benzen bulunmaktadır ve benzen taşkömürü katranının ayrışması sırasında 80-170°C arasında geçen hafif yağlardan meydana gelir (Vardar, 2015). PMMA'nın karbonlarının nereden geldiğini bilmek, kararlı izotop analizinde bu karbonların kökenini bilmek bakımından önemlidir.



Şekil 1.3. Polimetilmetakrilat eldesi (Vardar 2015)

PS, stirenden elde edilen bir polimerdir. Stiren düşük miktarlarda da olsa bitkilerde doğal olarak bulunmaktadır. Alkollü içecekler, kızılçık, yaban mersini, kuş üzümü, üzüm, sirke, maydanoz, süt ve süt ürünleri, viski, kakao, kahve, çay ve fıstıklarda bulunmaktadır. Stiren aynı zamanda tatlandırıcı bir katkı maddesidir. Polimerleri gıda işlemede iyon değişim reçinelerinde kullanılır. Yapıştırıcılardan, yulafardan ve ambalaj malzemelerinden kaynaklanan dolaylı gıda katkı maddesidir. Stiren, polistren ve birkaç kopolimerin öncüsüdür (NCBI, 2018).

1.3.1. Mikroplastiklerin Neden Olduğu/Olabileceği Sorunlar

Özellikle okyanuslardaki mikroplastiklerin çıplak gözle görülemeyenleri de dahil olmak üzere, daha küçük plastik parçacıklar haline gelmesi endişe kaynağıdır (Andrady, 2011). Mikroplastikler av hayvanları yada tortu tanelerine benzemesi sebebiyle (Gall ve Thompson, 2015) organizmaların geniş bir oranı için biyolojik olarak kullanılabilme potansiyelindedir ve özellikle de sucul yaşam için (Wright, 2013) ciddi bir tehlike oluşturmaktadır (Courtene-Jones ve ark., 2016). Mikroplastiklerin bilinen çevresel etkileri; balıklar ve omurgasızlar tarafından besin olarak tüketimi, organik kirleticilerce taşınması ve yabancı tür girişine sebep olması şeklinde gruplandırılabilir (Wong ve ark., 1974; Goldstein ve ark., 2012). Sediment içerisine mikroplastikler bir kere katıldığında seçici olmayan kum kurtları tarafından alınması olasıdır (Green ve ark., 2016). Canlılar tarafından alınan parçacıklar teoride, bağırsak yolundan geçerken tıkanmaya veya sindirim sisteminde birikime neden olabilir bunlarla birlikte mekanik beslenmeyi ve sindirimi bozabilir (Setälä ve ark., 2014). Mikroplastik alımıyla ilişkili diğer bir muhtemel zarar ise bu partiküllerin başka kimyasallara bağlanması ve çevreyi zehirli bir hale getirmesi olasıdır. Plastikler organizmada tutulduğu takdirde kimyasal olarak başlatılan

sorunların ortaya çıkması da neden olabileceği zararlar arasında yer almaktadır (Setälä ve ark., 2014). Mikroplastiklerin topraktaki taşınımıyla ilgili yapılan bir çalışmada polistiren boncukların toprak solucanları aracılığıyla toprağın farklı katmanlarına ulaştığı bulunmuştur (Rillig ve ark., 2017). Mikroplastikler, günümüze yakın tarihlerde tanımlanmıştır ve gelişmekte olan bir alan olması sebebiyle bilim insanlarının, atık ekstraksiyonunu nicelendirmesi, karakterize etmesi ve toksisitesini test edebilmesi için standardize edilmiş yada edilecek metodolojisi bulunmamaktadır (Rochman ve ark., 2017). Standartlaştırılmış yöntemlerin geliştirilmesi, deniz canlıları ve diğer canlılar tarafından mikroplastik sindirim analizinde güvenilir ve anlamlı veriler sağlamak için önem taşımaktadır (Courtene-Jones ve ark., 2017).

1.4. Kararlı İzotop Analizi

İzotoplar çekirdekteki nötron sayısında farklılık gösteren aynı element formlarıdır. Genellikle proton sayısına eşit veya biraz daha fazla sayıda nötron, izotopların ve elementlerinin uzun vadeli kararlılığı için kilit bileşendir. Bugün neredeyse tüm elementlerin birden fazla izotop formu olduğu bilinmektedir. Elementlerin ve izotopların nihai kaynağı, evrenin başlangıcı olan büyük patlama ve nükleer reaksiyonlarca üretimine dayanır (Clayton 2003). Bu kaynaklar göz önüne alındığında, dünyadaki ağır ve hafif izotopların temel oranları milyarlarca yıl önceki eski sentezlerden kaynaklanmaktadır. Yeryüzündeki radyoaktif bozunma yavaş yavaş gerçekleşmekle birlikte elementlerde ve izotoplarda ufak farklılıklar meydana getiren yerel bir karışım oluşturmaktadır. Buna göre yeryüzünde bulunan bir atomun kararlı izotop formları ağır ve hafif izotop formları olarak bilinir. Bu oran yeryüzündeki element çevrimleri boyunca çeşitli kategorilerde değişse de döngünün belirli kademelerinde az yada çok sabittir ve ekolojik olarak bir gösterge niteliğindedir. İzotop çalışmalarında standarda oranla örnekte ölçülen ağır/hafif izotop oranının binde değişimi olan δ değeri kullanılır. Ekolojik çalışmalarda en yaygın kullanılan kararlı izotoplar karbon, hidrojen, oksijen, azot ve kükürttür. Karbon döngüsü atmosfer, karasal ekosistemler ve yüzey okyanusu arasında aktif CO₂ alışverişini içerir. Atmosferdeki CO₂'nin $\delta^{13}C$ değeri, fosil yakıttan, biyokütle yakma ve ayrışmasıyla ortaya çıkarken azalmaktadır (Fry, 2006). C₃ ve C₄ bitkilerinin izotopik ayrımı, Calvin döngüsü (C₃), Hatch-Slack döngüsü (C₄) fotosentetik yollarıyla gerçekleşmektedir (Michener. ve Lajtha 2008). C₃ yolağı, atmosferden CO₂'nin difüzyonuyla başlar. Difüzyon esnasında ağır karbon (¹³C) içeren CO₂ moleküllerinin daha yavaş hareketi nedeniyle ~ 4,4 ‰'lük belirgin bir fraksiyonasyon mevcuttur. Yaprak içinde, karboksilasyon enzimi ribuloz

bisfosfat karboksilaz / oksijenaz (rubisco), ağır olması sebebiyle ^{13}C 'ün alımını sınırlamaktadır (Michener ve Lajtha 2008). C_4 bitkilerinin izotopik bileşimi C_3 bitkilerinin izotopik bileşiminden oldukça farklıdır. C_4 fotosentezinin ilk basamağı C_3 bitkilerin fotosentez mekanizması ile aynıdır. Bununla birlikte, C_4 fotosentezi Fosfoenolpiruvat (PEP) karboksilaz isimli farklı bir enzim tarafından katalize edilir. Karada dominant olan C_3 bitkilerinin fotosentez esnasında karbon alımı, atmosferik CO_2 (‰-8) ve bitki biyokütlesi (‰-28) arasında yaklaşık 20 ‰'lik net bir fraksiyonasyona neden olur. Başlıca tropikal ve tuzlu otsulardan oluşan C_4 bitkilerinde fotosentez esnasında alınan karbon, yaklaşık ‰5 'lik net bir fraksinyasyonu içermektedir. Ağaçlar, çalılar ve pek çok otsu C_3 bitkileri, ortalama ‰ -28 civarında $\delta^{13}\text{C}$ değerlerine sahipken, mısır, şeker kamışı ve kuru çayır gibi C_4 bitkileri, ‰ -13 civarında ortalama değerlere sahiptir. Fraksiyonasyon ile oluşan bu temel C_3 / C_4 ayırmadan çok geniş kapsamlı ekolojik araştırmalarda kaynak karışımı açısından istifade edilmiştir (Fry, 2006). Özellikle ekolojik besin ağlarını ortaya çıkarmada giderek önem kazanan bir araç olup teknik olarak, besin kaynaklarının yendiğinde mevcut elementlerinin tüketiciye aktarıldığı gerçeğini kullanır (Parnell ve ark., 2013). Bir tüketicinin kas dokusunda ölçülen kararlı izotop oranı C_3 veya C_4 bitkisi ile beslenmesine göre iki kaynağın hangisinden ne oranda alındığı konusunda bilgi verir (Fry, 2006). Tüketici dokularının analizi tüketilen farklı besin kaynaklarının oransal katkısını bilgi olarak vermektedir. Bir tüketicinin dokuları sonuçta onların tükettiği besin kaynaklarından elde edilmiştir, tüketicilerin dokularının izotop oranları göz önüne alındığında, bir birey ya da bireylerin asimile ettikleri besinleri hangi kaynakları ne oranda tükettiğini kararlı izotop oranları ile iki sonlu karışım modeli (two end-mixing model) uygulayarak tahmin etmek mümkündür (Phillips ve Gregg, 2001).

Bu çalışmada genel amaç mikroplastiklerin besin alımı sırasında kas dokularına absorbe edilip edilmediğini *E. fetida* model organizması üzerinde kararlı izotop yöntemi ile ortaya çıkarmanın mümkün olup olamayacağını test etmektir. Aynı zamanda mikroplastik ortamına maruz bırakılan *E. fetida* örneklerinde büyüme bakımından bir farklılık olup olmadığını ortaya koymak amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mikroplastikler ile ilgili kararlı izotop analiz yöntemiyle yapılmış bir çalışmaya henüz rastlanılmamıştır. Aynı şekilde mikroplastiklerin absorpsiyonuna ait bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Ancak mikroplastiklerin sindirim kanalına alınması ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır.

Toprak solucanı ve kararlı izotoplarla ilgili olarak yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sampedro ve Dominguez' in (2008) yılında yayınladıkları kararlı izotop çalışmalarını; domuz ve sığır gübreleriyle beslenen *E. fetida* üyelerinin $\delta^{13}\text{C}$ ve $\delta^{15}\text{N}$ doğal bolluklarını kullanarak, vermikompost besin ağında yürütmüşlerdir. Çalışmada, solucanların yaşadıkları yüzeylerdeki izotopik sinyallere benzeme durumlarını incelemek, *E. fetida* solucanının ontogenik değişiklikleri hakkındaki bilgiyi genişletmek ve vermikompostlama sistemlerinin besin toprak faunasının görece trofik durumu hakkında bilgi almak amaçlanmıştır. Sonuç olarak ise solucanların izotop oranlarının beslendikleri besin türüne yakın oldukları bulunmuştur. Ayrıca *E. fetida* türü toprak solucanının izotop oranlarına bakıldığında ağırlıklı olarak sığır gübresiyle beslendiği bulunmuştur.

Browne ve ark., (2008) yılında yayınladıkları bir çalışmada *Mytilus edulis* midyesini kullanarak mikroplastik atık alınımını ve translokasyonunu incelemişlerdir. İlk deneylerin sonucunda ağızdan alınan mikroplastiklerin bağırsakta biriktiği gözlenmiştir. Midyeler daha sonra deniz suyu ve mikroplastik içeren işlemlere maruz bırakılmıştır. Temiz koşullara maruz bırakıldıktan sonra mikroplastikler hemolimfi takip etmiştir ve vücut dışına atıldığını saptanmıştır.

Setälä ve ark., (2014)'te yaptıkları bir çalışmada plastik alım potansiyelini ölçmek için farklı Baltık Denizi zooplankton taksonları kullanılmıştır. Mysid karidesleri, kopepodlar, kladoseranlar, rotiferler, poliket larvaları ve siliyatlar 10 mm floresan polistiren mikrokürelere maruz bırakılmışlar ve deney sonunda bütün taksonların mikrokürelere aldığı gözlenmiştir.

Yang ve ark., (2015)'te yaygın bir polistiren (PS) ürünü olan straforun unkuurları (*Tenebrio molitor*, Linnaeus 1758) tarafından sindirimini araştırmışlardır. Unkuurları (*T. molitor* larvaları) farklı kaynaklardan beslenebilmekte ve yaygın bir PS ürünü olan straforu mekanik olarak parçalayabilmekte ve yiyebilmektedir. Köpüğün etkin bir şekilde en az 24 saatlik vücutta kalma süresinde, larva bağırsağında hazmedildiği gözlenmiştir. Tek besin olarak polistiren ile beslenen larvalar, normal besin ile beslenenlerin yanı sıra 1 aylık

periyodun üzerinde yaşamışlardır. Straforla beslenen larvanın dışarı attığı tortunun analizi yapılmıştır ve uzun zincirli PS moleküllerinin depolimerizasyonu ve depolimerize metabolitlerin oluşumu; larva sindirim gözlenmiştir. 16 günlük test süresi içinde, alınan strafor karbonu % 47,7 oranında dönüştürülmüştür.

Green ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada; açık bir mesokozm deneyinde *Arenicola marina* (Linnaeus, 1785) solucanlarında biyolojik aktivite ve sağlık üzerine, artan konsantrasyonlarda, üç farklı tipte mikroplastik birikiminin etkilerini ve solucanların yaşadığı sedimentin birincil üretimine ve nitrojen döngüsü üzerine etkilerini hesaplamıştır. 31 günlük deneyin sonunda, *A. marina* sedimentin mikroplastik içeriğinde daha az atık üretmiştir. *A. marina*'nın mikroplastiklerin bulunmadığı sedimentle, yüksek konsantrasyonlarda ve düşük konsantrasyonlarda bulunduğu sedimentler arasında metabolik oranları, mikroalg, biyomas azalması kıyaslanmıştır. Genel olarak, kumlu sedimentteki bilinen ve biyolojik olarak parçalanmış mikroplastikler, solucanların sağlığını ve davranışlarını, direk ya da dolaylı olarak habitatların birincil üretimini etkileyebildiği bu çalışmada vurgulanmıştır.

Rillig ve ark., (2017) yaptıkları bir çalışmada mikroplastik parçacıkların (polietilen boncukların) toprak solucanları vasıtasıyla toprak yüzeyinden toprak profiline taşınabilme olasılığını incelemişlerdir. Dört farklı boyuttaki mikroplastik sera deneyinde, anek bir solucan türü olan *Lumbricus terrestris* L. kullanılmıştır. Solucanların varlığının, farklı derinlikteki mikroplastik parçacıkların mevcudiyetini büyük ölçüde arttırdığını (her biri 3,5 cm derinliğinde 3 zemin tabakasını incelenmiştir), daha küçük polietilen (PE) mikroboncukların toprağın aşağı kısımlarına doğru daha büyük bir oranda taşındığı bulunmuştur. Solucanların topraktaki mekanik hareketlerinin ve besin atıklarının aracılığıyla mikroplastiklerin farklı katmanlara taşınabileceği yorumu yapılmıştır.

Rodriguez-Seijo ve ark., (2017) yaptıkları bir çalışmada *Eisenia andrei* türündeki solucanlar, suni topraklarda farklı konsantrasyonlarda mikroplastiklere maruz bırakılmış ve standart bir protokol izlenerek yetişkinlerin çoğalması, hayatta kalması ve büyümesi test edilmiştir. Solucanların maruz kaldığı polietilen mp'lerin boyutu 250 ila 1000 mm arasında bulunmaktadır. 28 gün mikropilastik maruziyetinden sonra hayatta kalma ve gençlerin sayısında, yetişkin solucanların son ağırlığında farklı mikroplastik yoğunluklarına ilişkin önemli bir etki kaydedilmemiştir. Bununla birlikte, solucanların FTIR-ATR'si ve bağırsağın histopatolojik analizi, mikroplastiklerin verdiği hasarı ve bağışıklık sisteminin kanıtlarını sağlamıştır. Genel olarak, protein, lipid ve polisakaritlerin miktarlarındaki artış ile mikroplastik konsantrasyonundaki artış tutarlı bir eğilim olarak gözlemlenmiştir.

Solucanların stres altında oldukları için enzim aktivitelerinin arttığı ve mikroplastik maruziyetinin enerji bütçesini etkilediği incelenmiştir.

Redondo Hasselerharm ve ark., (2018) yaptıkları bir çalışmada altı adet tatlı su bentik makroomurgasızlarını kullanarak tortu ile karıştırılmış polistiren mikroplastik maruziyeti gerçekleştirmişlerdir. *Gammarus pulex*, *Hyaella azteca*, *Asellus aquaticus*, *Sphaerium corneum* ve *Tubifex spp.*'nin hayatta kalmaları üzerine hiçbir etki göstermezken *Lumbriculus variegatus*'un üremesinde de hiçbir etki bulunmamıştır. Bununla birlikte, *G. pulex*'in büyümesinde önemli bir azalma göstermiştir ve mikroplastik alımının sedimentteki mikroplastik konsantrasyonlarla orantılı olduğu incelenmiştir. Bu sonuçlar, çevresel olarak mikroplastik konsantrasyonlarının risklerinin düşük olmasına rağmen, biyolojik çeşitliliği ve sucul toplulukların işleyişini de etkileyebildiğini ortaya koymuştur.

Yapılan literatür taramasında kararlı izotop yöntemini kullanarak mikroplastik absorpsiyonunu araştırmaya dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte besin tüketicinin çeşitli besin kaynaklarını hangi oranda tükettiklerine dair çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda sunulmuştur.

Schoeller ve ark. (1986) Metropolitan Chicago, ABD'de yaşayan on sağlıklı bireyde, besin kaynağı belirteçleri olarak kararlı karbon, azot ve hidrojen izotoplarını kullanmışlardır. Kırk gıda izotopik olarak analiz edilmiştir ve insan plazması ve saçlarıyla karşılaştırılmıştır. Karbon izotopu bolluğu, C₄ bitkilerinden türetilen karbonun tüketilen besinlerin içerisinde en bol bulunduğunu doğrulamaktadır.

Kuzeybatı Atlantik'de önemli bir balıkçılık sahası olan Georges Bank'ın besin ağı yapısını incelemek için kararlı izotop ölçümlerinin bir kombinasyonu kullanmıştır. Açık deniz sistemlerindeki trofik seviye göstergeleri olarak partiküller, omurgasız ve balık örneklerinin $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ ve $\delta^{34}\text{S}$ ölçümlerini test etmek için kararlı izotop analizi yapılmıştır. Kükürt izotopik kompozisyonları, trofik seviyede çok az değişiklik göstermiştir ve besin ağı tabanındaki fitoplankton karbon izotopik girdilerinin trofik pozisyonu tahmin etmek için $\delta^{13}\text{C}$ kullanmıştır (Fry 1988).

Vander Zanden ve ark (1999)'nın yaptıkları bir çalışmada istilacı türlerin besin ağında meydana getirdikleri değişimler kararlı izotop yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Yerli olmayan iki yırtıcı tür, tatlısu levreği ve kaya levreğinin Kanada göllerine girmesinin, besin ağındaki değişimin sonuçlarını belgelemek için kararlı izotop oranları kullanılmıştır. İşgal edilen iki gölün istila öncesi ve sonrası besin ağlarının karşılaştırılması, istilanın ardından, gölde diyetle bir kaymayı yansıtan, gölet alabalığının kıyı avında bol miktarda azalma ve tropik konumda önemli düşüşler izlediğini göstermiştir, alabalıkların

zooplanktona doğru kaydıkları ve littoral alana olan bağımlılıklarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, besin ağı yapısındaki değişiklikleri saptamak için kararlı izotop tekniklerinin kullanılmasının önemini göstermektedir (Vander Zanden ve ark., 1999).

Bir grup laboratuvar çalışmasıyla deniz çayırı besin ağındaki izotop doğruluğu test edilmiştir ve bozulma sırasında deniz çayırlarının karbon izotop değerlerinde az bir değişiklik bulunmuştur. Ayrıca iki tür deniz çayırı otoburu (amphipod ve deniz kestanesi) ile deniz çayırı arasındaki izotop benzerliğini bulmuştur (Fry 2006).



BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada model organizma olarak toprak solucanı *E. fetida* seçilmiştir. Bu organizmanın seçilme nedeni; toprak solucanının (a) detritus yiyici olarak heteretrofik besin zincirinde ilk basamaklarda yer alması (Sampedro ve Dominguez, 2008) ve mikroplastik bakımından zenginleştirilmiş organik besinleri doğrudan alabilecek bir organizma olması (b) kolay kültüre edilmesi (c) optimum yetiştirme koşullarının geniş olması (d) geniş bir diyet aralığının olması, böylece ağır ve hafif izotop oranına sahip bitkilerle besleme olasılığının olması olarak sıralanabilir.

Solucan için besin kaynağı olarak doğal besinler ve mikroplastikler seçilmiştir. Doğal besin olarak çay (*Camellia sinensis*) ve semiz otu (*Portulaca oleracea*) seçilmiştir. İki ayrı besin kaynağı seçilmesinin sebebi ise bu besinlerden birinin C₃ bitkisi (çay bitkisi) diğerinin ise C₄ bitkisi (semiz otu) olması ve bu bitkilerin $\delta^{13}\text{C}$ kompozisyonlarının ilkinin düşük, ikincisinin ise yüksek olması sebebiyle ayırt edici olarak kullanılabilmesidir.

Çalışmada besin kaynağı olarak mikroplastik seçimi için ön çalışma yapılmış, çevrede yaygın olarak bulunan plastik çeşitlerinden örnekler alınarak homojenize edilmiş, daha sonra da analiz için US Davis Laboratuvarına gönderilerek $\delta^{13}\text{C}$ ve $\delta^{15}\text{N}$ izotop kompozisyonları belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Bunlar arasından $\delta^{13}\text{C}$ oranı açısından belirleyici olması açısından en yüksek ve en düşük oranlara sahip olan sırasıyla Plastik boya pigmenti 1 (PBP1) ve Polimetilmetakrilat (PMMA) mikroplastikleri seçilmiştir. Ayrıca Yang ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada un kurtlarının polistrien (PS) ile beslendikleri literatüründen yola çıkarak PS mikroplastığı seçilmiştir. Sıvı olan PBP 60 °C'de kurutulduktan sonra zımpara ile küçültülerek <5 mm (75µ-250µ) toz haline getirilmiştir. PMMA 600 µ boyutlarında hazır olarak (Alfa Easer 9011-14-7) temin edilmiştir. PS ise yaklaşık 1 mm boyutlarında olacak şekilde el ile küçültülmüş, ayrıca solucanlar vivaryum olarak PS'ye maruz bırakılmıştır.

Çizelge 3.1. Ön çalışmada kullanılan mikroplastik çeşitleri ile deneylerde kullanılan materyallerin kararlı izotop analiz sonuçları

Mikroplastik çeşidi	$\delta^{13}\text{C}$, ‰	$\delta^{15}\text{N}$, ‰
Yüksek Yoğunluklu Polietilen (Plastik Şişe Kapağı)	-28,82	0,02
Plastik Boya Pigment	-21,64	0,40
Polietilen (Plastik Beyaz Poşet)	-28,41	0,01
Poliviklorür (PVC)	-28,12	0,03
Polietilen (Buzdolabı Poşedi)	-33,02	0,01
Polietilen tereftalat (Pet şişe)	-28,67	0,01
Polietilen tereftalat (Bardak su plastiği)	-28,69	0,01
Plastik boya pigment 1 (PBP1)	-19,8	-
Plastik boya pigment 2	-21,04	-
Plastik boya pigment 3	-20,64	-
Plastik boya pigment 4	-20,37	-
Plastik boya pigment 5	-20,07	-
PMMA (Polimetilmetakrilat)	-31,74	-
PS (Polistiren)	-28,23	-
Solucan (<i>E. fetida</i>)	-19,88	11,38
Semiz otu (<i>P. oleracea</i>)	-12,53	4,71
Çay (<i>C. sinensis</i>)	-29,5	3,60

3.2. Tez Çalışmasının Tasarlanması ve Deney Protokolü

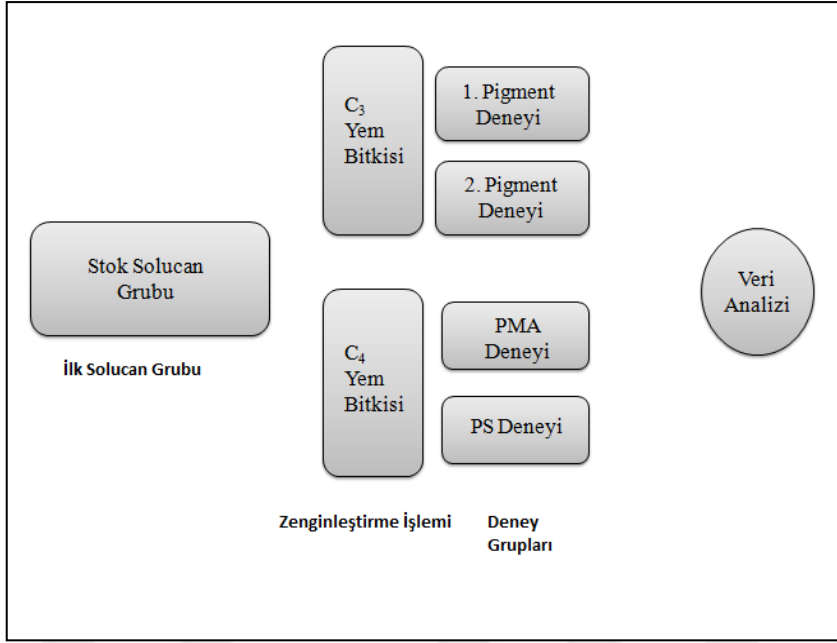
Bu çalışma, besin kaynaklarının tüketilmesinden sonra besindeki kararlı izotop oranlarının dokulara absorpsiyonu üzerinden tasarlanmıştır. Bir canlının iki besin kaynağından hangisi ile beslendiği kas dokusundaki kararlı karbon izotop oranı ile anlaşılabilir (Parnell ve ark., 2013). $\Delta^{13}\text{C}$ izotop oranlarının C_3 ve C_4 bitkileri arasındaki oldukça farklı olması (C_3 : -29,46‰, C_4 : -12,53‰ (Fry, 2006)) önem içermektedir. Böylece kas dokusunda düşük ve yüksek izotop oranlarına sahip olan solucan grupları oluşturulabilir.

Mikroplastik de bir karbon kaynağı olduğuna göre belirli bir izotopik oranı olacaktır. Bu oran aynı C_3 , C_4 bitki gibi kaynak olarak mikroplastığı işaretlemek için kullanılabilir. *E. fetida* bireylerinde absorpsiyon yaptıkları besinin çeşidi kararlı karbon izotop oranı ile anlaşılabilir diyetine mikroplastik içeren besinler ilave edilen bireylerde mikroplastik

absorbsiyonu olup olmadığı anlaşılabilir.

Analiz edilen bu veriler doğrultusunda PMMA ve PS mikroplastik türleri $\delta^{13}\text{C}$ oranlarının düşük olması ve PBP1'de $\delta^{13}\text{C}$ oranlarının diğerlerine göre yüksek olması nedeniyle seçilmiştir. Buna göre; çayla beslenerek $\delta^{13}\text{C}$ oranı azaltılan solucanlara yüksek $\delta^{13}\text{C}$ oranlı PBP1 uygulandığında ve semiz otu ile beslenerek $\delta^{13}\text{C}$ oranı zenginleştirilen solucanlara düşük $\delta^{13}\text{C}$ oranlı PMMA ve PS uygulandığında, solucan iki enerji kaynağına maruz kalacağından hangisini ne oranda absorbe ettiği bilgisi kaslarında ölçülecek $\delta^{13}\text{C}$ oranı ile kendini gösterecektir. Bu varsayımdan hareketle başlıca aşağıdaki işlemler gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1):

- 1) *E.fetida* türü toprak solucanları seçilen iki besin kaynağı (semiz otu ve çay bitkisi) ile ayrı ayrı beslenerek karbon oranlarının, zenginleşmesi ve azaltılması, böylece besin kaynaklarının $\delta^{13}\text{C}$ kompozisyonuna yaklaşması çalışmanın ilk aşamasını oluşturmaktadır
- 2) İzotopik zenginleşme ve azaltma işlemini takiben C_3 bitkisi ile beslenen solucanlar PBP1 ve C_4 bitkisi ile beslenen solucanlar da PMMA ve PS içeren besi ortamına maruz bırakılmışlardır.
- 3) PBP1 maruziyeti iki tekrarlı yapılmış, birinde 21. ve 42. gün süre içinde verdikleri cevap, diğerinde ise 42. ve 84. Gün süre içinde verdikleri cevap solucanların kas dokularındaki $\delta^{13}\text{C}$ oranının ölçülmesi ile test edilmiştir.
- 4) PMMA ve PS maruziyeti birer kez yapılmış ve 21. ve 42. gün süre içinde verdikleri cevap solucanların kas dokularındaki $\delta^{13}\text{C}$ oranının ölçülmesi ile test edilmiştir.
- 5) Mikroplastik maruziyetine bırakılmış solucanlarda ölçülen $\delta^{13}\text{C}$ oranları kullanılarak iki kaynak karışım modeli (two source mixing model) ile iki kaynaktan (biri çay veya semiz otu, diğeri mikroplastik) hangisini hangi oranda aldığı hesaplanmıştır.
- 6) Mikroplastik maruziyetine bırakılan solucanlar ile kontrol grubundaki solucanların boy ve ağırlıkları 21. ve 42. Günlerde ölçülerek mikroplastığın büyüme üzerine etkileri değerlendirilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmanın tasarlanması

3.2.1. Deney Öncesi Aşamalar

3.2.1.1. Deneyin Yapılacağı Vivaryum Kaplarının Temin Edilmesi

Deney için gerekli olan, solucanların içerisinde tutulacakları vivaryumlar için kapaklı, ahşap kaplar, Çanakkale'nin Merkez İlçesi'ndeki marangozda 35 x 14 cm ölçülerinde 6 adet yaptırılmış (Şekil 3.2) ve ahşap kaplar vivaryumların hazırlanması için laboratuvar ortamına getirilmiştir.



Şekil 3.2. Vivaryum için hazırlanan ahşap kaplar

3.2.1.2. Vivaryum Toprağının Hazırlanması

Solucanların detritus ile beslendiği bilinmektedir. Toprak içindeki organik maddeler solucanın beslenmesini etkileyebilir. Solucanları sadece hedef besinlere maruz bırakmak için organik maddeden arındırılmış barınak olarak kullanabilecekleri yanmış toprak, ahşap vivaryum kaplar içerisine 1 kg olarak konulmuştur. Burada kullanılan yanmış topraklar, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Laboratuvarında, kül fırınında 550 °C’ de krezeller aracılığı ile yakılarak organik karbonu uzaklaştırılmıştır.

3.2.1.3. *E. fetida* Türü Toprak Solucanının Temin Edilmesi

Deneysel uygulama için gerekli olan canlı *E. fetida* türü toprak solucanı 2015 yılında kurulan Çanakkale’nin Bayramiç ilçesindeki Bereket Solucan (Bersol) Yetiştirme Tesisi’nden alınmıştır. Solucanlar kapalı bir kaptaki laboratuvar ortamına getirilerek ahşap bir kasada, hava alabilecek ve karanlık kalabilecek şekilde muhafaza edilmiştir. Laboratuvar ortamına getirilen solucanlar içerisinden kararlı izotop analizi için örnekler alınıp, boy ve ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra analize hazır hale getirilmiştir.

3.2.1.4. Solucanları C₃ ve C₄ Bitkisi İle İndirgeme ve Zenginleştirme İşlemi

Ahşap kaptan oluşan 35 x 14 cm boyutlarındaki iki adet vivaryum içerisine 1’er kg yanmış toprak nemlendirilip koyulmuştur. Nem oranının solucanların yaşaması için optimum düzeyde olması sağlanmıştır. Her vivaryuma 100 adet *E. fetida* türü toprak solucanı, boy (cm) ve ağırlık (gr) ölçümleri yapıldıktan sonra eklenmiştir. İndirgeme ve zenginleştirme işlemi bir C₃ bitkisi olan çay (*C. sinensis* L.) (Cengiz ve ark., 2017) ve bir C₄ bitkisi olan semiz otu (*P. oleracea* L.) (D’Andrea 2014) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yem olarak kullanılan çay bitkisi marketlerden temin edilmiş olup bir solucanın günlük besin ihtiyacı üzerinden (0,6 g), 100 solucan için hesap yapılarak (0,6g x 100adet = 60g) belirlenmiştir. Bu besin gereksinimi solucan yetiştiricilerinden yardım alınarak belirlenmiştir. Besin miktarının solucanların günlük gereksinimi karşılayıp karşılamadığını test etmek amacıyla, 3 günlük besin miktarını 100 adet solucana vererek takibi yapılmıştır. Gözlemler neticesinde 3. günde solucanların besini tam olarak tükettikleri izlenmiştir. Besinlerin tüketimi her gün kontrol edildiği için toprağın üzerinde kalan besin miktarının 3. günde bittiği gözlemlenmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Solucanlara 3 günlük besin verilmesi ve 3. gün besinleri tükettiklerinin gözlemlenmesi

Çay bitkisi sıcak su ile demlenip solucanların alımı için kolay ve hazır hale getirilerek canlılara verilmiştir. Bu işlem 30 gün boyunca devam ederek 100 adet solucanın karbon izotop oranı bakımından düşürülmesi sağlanmıştır. Bu işlem boyunca solucanlar için gerekli olan optimum sıcaklık (25 °C), nem (% 70), pH aralığı (6,5) kontrol altında tutularak korunmuştur. 30 günün sonunda 100 adet solucanın boy ve ağırlık ölçümleri yapılarak kararlı izotop analizi için numuneler alınmış ve analiz için hazır hale getirilmiştir.

3.2.1.5. Mikroplastiklerin Temini ve Hazırlanması

Deneyde kullanılan PBP1, Filli Boya Çanakkale şubesinden satın alınmıştır. Plastik pigment sıvı halde olması sebebiyle petrilere dökülerek etüvde 60 °C’ de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan plastik pigment plakaları nalburdan alınan demir ege yardımıyla homogenize edilerek toz haline getirilmiştir. PMMA Alfa Aesar firmasından temin edilmiş, PS ise Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ekolojisi Laboratuvarı’ndan sağlanmıştır.

3.2.2. Deney Başlangıcı ve Sonrasındaki Aşamalar

3.2.2.1. Vivaryumun Hazırlanması

Deney 1: PBP1 uygulaması: Vivaryum için yaptırılan 35 x 14 cm boyutlarındaki ahşap kap içerisine, 550 °C’ de yakılarak organik karbonu uzaklaştırılmış olan 1 kg yanmış toprak (Şekil 3.4.), solucanlar için barınak olması amacıyla nemlendirilerek koyulmuştur. C₃ bitkisi ile 30 gün boyunca beslenerek $\delta^{13}C/ \delta^{12}C$ düşürülme işlemi yapılan solucan

grubundan 20 adet solucan alınıp boy ve ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra, hazırlanan bu deney düzeneği içerisinde bırakılmıştır.



Şekil 3.4. Vivaryum için yakılarak karbonu uzaklaştırılan topraklar

Deney 2: PBP1 uygulama tekrarı: Vivaryum için yaptırılan 35 x 14 cm boyutlarındaki ahşap kap içerisine, 550 °C’ de yakılarak organik karbonu uzaklaştırılmış olan 1 kg yanmış toprak, solucanlar için barınak olması amacıyla nemlendirilerek koyulmuştur. C₃ bitkisi ile 50 gün boyunca beslenerek izotop oranı düşürülme işlemi yapılan solucan grubundan 20 adet solucan alınıp boy ve ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra, hazırlanan bu deney düzeneği içerisinde bırakılmıştır.

Deney 3: PMMA uygulaması: Vivaryum için yaptırılan 35 x 14 cm boyutlarındaki ahşap kap içerisine, 550 °C’ de yakılarak organik karbonu uzaklaştırılmış olan 1 kg yanmış toprak, solucanlar için barınak olması amacıyla nemlendirilerek koyulmuştur. C₄ bitkisi ile 80 gün boyunca zenginleştirme işlemi yapılan solucan grubundan 10 adet solucan alınıp boy ve ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra, hazırlanan bu deney düzeneği içerisinde bırakılmıştır.

Deney 4: PS uygulaması: Bu deney grubunda 20 x 6 cm boyutundaki polistiren kap vivaryum olarak kullanılarak hazırlanmıştır, 550 °C’ de yakılarak organik karbonu uzaklaştırılmış olan 1 kg yanmış toprak, solucanlar için barınak olması amacıyla nemlendirilerek koyulmuştur. C₄ bitkisi ile 80 gün boyunca zenginleştirme işlemi yapılan solucan grubundan 20 adet solucan alınıp boy ve ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra, hazırlanan bu deney düzeneği içerisinde bırakılmıştır.

Kontrol grubu: Biri C₃ bitkisi ortamı, diğeri C₄ bitki ortamı olmak üzere iki kontrol grubu belirlenmiştir. Bunlardan ilki 35 x 14 boyutlarında vivaryuma 1 kg yanmış toprak üzerine 100 adet solucan bırakılmış ve deney süresi boyunca çay ile beslenmiştir. İkincisi de 35 x

14 boyutlarındaki vivaryuma 1 kg yanmış toprak üzerine 100 adet solucan bırakılarak ve deney süresi boyunca semiz otu ile beslenerek gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.2. Solucanlara Yem ve Mikroplastik Verilmesi

Deney 1: PBP1 uygulaması: Deney grubu solucanlarına verilecek yem ve mikroplastik oranı, 21 günlük toplam yem gereksinimi içerisinde; % 25'i mp (mikroplastik), % 75'i çay bitkisi olarak belirlenmiştir. Besinler ve mikroplastikler kütleli olarak yüzdelere bölünmüş bulunmaktadır. Deney düzeninde bulunan solucanlara deney başlangıcından 21. güne kadar mikroplastikler >5mm olacak şekilde yem ile birlikte karıştırılarak, günlük olarak verilmiştir. 21 gün boyunca ve ayrıca sonrasında da deney bitimine kadar solucanların yaşaması için gerekli optimum sıcaklık, nem, pH aralığı kontrol edilerek korunmuştur. 21. günde 20 solucan içerisinde 10 adet solucanın kararlı izotop analizi için alınması sebebiyle ikinci 21 günlük süreçte yem 10 solucanın günlük gereksinimine göre hesaplanarak verilmiştir. Ancak bu günlük yem miktarı sadece solucan miktarına bağlı olarak değiştirilmiştir, % 75'lik oran bozulmamıştır. Deney 42. günde sonlandırılarak kalan 10 adet solucan örneği izotop analizi için hazırlanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. PBP1 uygulanan toprağı

Deney 2: PBP1 uygulama tekrarı: Deney grubu solucanlarına verilecek yem ve mikroplastik oranı, 21 günlük toplam yem gereksinimi içerisinde; % 25'i mp (mikroplastik), % 75'i çay bitkisi olarak belirlenmiştir. Deney düzeninde bulunan solucanlara deney başlangıcından 21. güne kadar mikroplastikler >5mm olacak şekilde yem ile birlikte karıştırılarak, günlük olarak verilmiştir. 42 gün boyunca ve ayrıca sonrasında da deney bitimine kadar solucanların yaşaması için gerekli optimum sıcaklık (25 °C), nem (% 70), pH aralığı (6,5) aralığı kontrol edilerek korunmuştur. 42. günde 20 solucan içerisinde 10 adet solucanın kararlı izotop analizi için alınması sebebiyle ikinci 42 günlük süreçte yem 10 solucanın günlük gereksinimine göre hesaplanarak verilmiştir.

Ancak bu günlük yem miktarı sadece solucan miktarına bağı olarak değiştirilmiştir, % 75'lik oran bozulmamıştır. Deney 84. günde sonlandırılarak kalan 10 adet solucan örneği izotop analizi için hazırlanmıştır (Şekil 3.6).



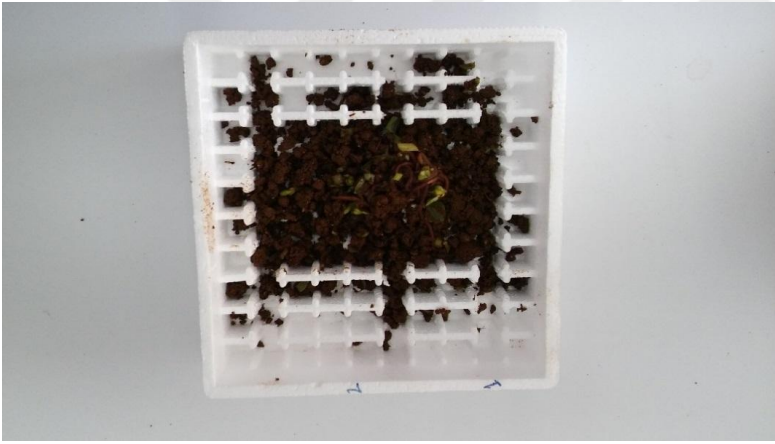
Şekil 3.6. PBP1 tekrarı uygulanan toprak

Deney 3: PMMA uygulaması: Bu deneyde 600 mikron Alfa easer (9011/14-7) Polymethylmethacrilat mikroplastik kaynağı olarak kullanılmıştır. Deney grubu solucanlarına verilecek yem ve mikroplastik oranı, 21 günlük toplam yem gereksinimi içerisinde; % 25'i mikroplastik, % 75'i çay bitkisi olarak belirlenmiştir. Deney düzeneğinde bulunan solucanlara deney başlangıcından 21. güne kadar mikroplastikler yem ile birlikte karıştırılarak, günlük olarak verilmiştir. 21 gün boyunca ve ayrıca sonrasında da deney bitimine kadar solucanların yaşaması için gerekli optimum sıcaklık (25 °C.), nem (% 70), pH aralığı (6,5) aralığı kontrol edilerek korunmuştur. 21. günde 20 solucan içerisinde 10 adet solucanın kararlı izotop analizi için alınması sebebiyle ikinci 21 günlük süreçte yem 10 solucanın günlük gereksinimine göre hesaplanarak verilmiştir. Ancak bu günlük yem miktarı sadece solucan miktarına bağı olarak değiştirilmiştir, % 75'lik oran bozulmamıştır. Deney 42. günde sonlandırılarak kalan 10 adet solucan örneği izotop analizi için hazırlanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. PMMA uygulaması toprağı

Deney 4: Polistiren uygulaması: Bu deney grubunda 20 x 6 cm boyutundaki polistiren malzeme doğrudan vivaryum kab olarak kullanılmıştır. Polistiren madde hacim olarak çok yer kaplaması sebebiyle kullanılmak istenen miktar vivaryum kap yapılmıştır. Vivaryum kabın ağırlığı solucanların 21 günlük besin ihtiyacının % 25'ine denk gelecek şekilde hazırlanmıştır. 21 gün boyunca ve ayrıca sonrasında da deney bitimine kadar solucanların yaşaması için gerekli optimum sıcaklık (25 °C), nem (% 70), pH aralığı (6,5) aralığı kontrol edilerek korunmuştur. Solucanlara yem olarak verilen çay bitkisi, solucanların besin ihtiyacının % 75'i olarak verilmiştir. 21. günde 20 solucan içerisinde 10 adet solucanın kararlı izotop analizi için alınmıştır. İkinci 21 günlük süreçte yem 10 solucanın günlük gereksinimine göre hesaplanarak verilmiştir. Ancak bu günlük yem miktarı sadece solucan miktarına bağlı olarak değiştirilmiştir, % 75'lik oran bozulmamıştır. Deney 42. günde sonlandırılarak kalan 10 adet solucan örneği izotop analizi için hazırlanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. PS madde ile hazırlanan vivaryum

3.3. Solucanların uygulamalara hazırlanması ve uygulama sürecinde sıcaklık, nem, pH ölçümlerinin yapılması

Çalışma sürecinde solucanların yaşam alanlarının optimum sıcaklık, nem ve pH aralığında kalmasını sağlamak amacı ile yapılan ölçümlerde; sıcaklık °C cinsinden termometre ($\pm 0,1$), nem Moisture nem ölçer cihazı ile % nem ile, pH ise smooth garden pH ölçüm cihazı ($\pm 0,1$) ile ölçülmüştür. Ölçümler optimum koşulların kontrolü amacıyla her gün yapılmıştır. Cihazlar toprağa saplandıktan 5 dk sonra değerlere bakılarak solucanlar için olumsuz olan koşullar optimum seviyeye çekilmiştir. Tüm uygulamalar sürecinde sadece nemlilikte oluşan farklılıklar görülmüştür ve bu durum su ile

nemlendirilerek ortadan kaldırılmıştır. Solucanların yaşam ortamlarında çok büyük farklılıklar barındıran ve onların fonksiyonlarını etkileyecek değerler görülmediğinden ayrıca bir işlem yapılmamıştır.

3.4. Kararlı İzotop Analizi İçin Örnek Alımı

Kontrol grubu, PBP1, PMMA ve PS gruplarında 21. günün sonunda her bir deney grubu içerisindeki 20 solucanın boy ve ağırlık ölçümleri yeniden yapılarak solucanlar içerisinde 10 adet alınıp kararlı izotop analizi için hazır hale getirilmiştir. Diğer 10 solucan, içerisinde önceden verilen ve arta kalan mp'lerin bulunduğu deney düzeneğine ölçümleri alındıktan sonra yeniden bırakılarak ikinci 21 günlük süreç başlatılmıştır. Bu 10 adet solucan da 21 gün boyunca beslendikten sonra 42. günün sonunda boy ve ağırlık ölçümleri yapılarak kararlı izotop analizi için hazır hale getirilmişlerdir. PBP1 tekrarı uygulamasında 42. günde vivaryum içerisinde 10 adet solucan alınarak boy ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Ölçümleri yapılan solucanlar kararlı izotop analizi için hazır hale getirilmiştir. Deneyin 84. gününde kalan solucan örnekleri de boy ve ağırlık ölçümlerinden sonra kararlı izotop analizi için hazırlanmıştır. Kararlı izotop analizi için alınan solucan örneklerinin boy ölçümleri cetvel $\pm 0,01$ mm ile ağırlık ölçümleri ise Precisa marka 0,01g hassas terazi ile yapılmıştır.

3.5. Alınan Solucan Örneklerinin Kararlı İzotop Analizi İçin Hazırlanması

Deney öncesinde, deney boyunca ve deney bitiminde alınan solucan örneklerinin vücutlarının, kitellumdan (kitellum hariç) anüse kadar olan kaslı bölgesi analiz için kullanılmak üzere bistüri ile disekte edilmiştir. Diseksiyon sonrasında sindirim kanalında bulunan yem artıkları ayıklanıp saf su ile yıkanarak temizlenmiştir. Temizlenen solucan kasları ayrı ayrı etiketlenen petrilere koyularak etüvde 60 °C' de 24 saat boyunca kurutulmuştur (Hamilton & Lewis, 1992). Kurutulmuş örnekler mikro dismembrator'de toz haline getirilerek analiz için tartılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Solucan örnekleri $1\text{mg}\pm 0,001$ hassasiyetli mikro terazide tartımı yapıldıktan sonra 9x9 mm'lik kalay kaplarda paketlenmiştir ve analiz için UC Davis Laboratuvarına gönderilmiştir.

3.6. Mikroplastik ve Bitki Örneklerinin Kararlı İzotop Analizi İçin Hazırlanması

Zenginleştirme ve azaltma işlemi ile deney boyunca kullanılan çay bitkisinden ve solucanların yetiştirme tesisinde içerisinde buldukları solucan yatağı olan detritus

yığından alınan örnekler petrilere koyularak etüvde 60 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur (Hamilton ve Lewis, 1992). Kurutulan örnekler mikro dismembrator'de toz haline getirilerek analiz için tartılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Örneklerden 3 mg±0,001 hassas terazide tartımı yapıldıktan sonra 9x9mm'lik kalay kaplarda paketlenmiş ve analiz için UC Davis Laboratuvarına gönderilmiştir.

3.7. Verilerin Analizi

Karbon izotop oranı kütle spektrometresi (PDZ Europa ANCA-GSL) ile California (ABD) UC Davis Laboratuvarında yapılmıştır. Örneklerin analizinde Sığır karaciğeri (0,04), Naylon 5 (0,05), Glutamik Asit (0,08) ve zenginleştirilmiş Alanin (0,09) iç çalışma standartları olarak kullanılmış ve IAEA standartları ile kalibre edilmiştir (örneğin karbon için IAEA-CH-6 ve IAEA-CH-7 ve azot için IAEA-N-1 ve IAEA-N-2 (<http://curem.iaea.org>)). Her bir analiz takımında standartlar her beş örnekte bir kullanılmaktadır. Sonuçlar δ (delta) değeri olarak ‰ (per mil= milyonda bir kısım) olarak elde edilmektedir. Sonuçlar $\delta = [(R_{\text{örnek}} / R_{\text{standart}}) - 1] \times 1000$ formülü ile hesaplanmıştır. Burada R, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ yi ifade etmektedir (Peterson ve Fry 1987).

PBP1, PMMA ve PS gruplarında başlangıçta ve 21 gün sonra, 42 gün sonra PBP1 tekrar uygulamasında başlangıç, 42 ve 84 gün sonra solucanlarda ölçülen ortalama boy, ağırlık ile $\delta^{13}\text{C}$ oranları ANOVA ile karşılaştırılmıştır. PBP1 tekrar uygulaması ile kontrol grubu ortalama $\delta^{13}\text{C}$ oranları iki faktörlü (uygulama ve süreç) ANOVA ile test edilmiştir.

Solucanların kas dokularına mikroplastik absorpsiyonu olup olmadığı iki kaynak karışım modeli kullanılarak yapılmıştır (Fry 2006).

$$f_1 + f_2 = 1 \dots\dots\dots(3.1)$$

$$f^1 = (\delta \text{ solucan} - \delta \text{ besin2}) / (\delta \text{ besin1} - \delta \text{ besin2})$$

Bu çalışmada çay veya semizotu bir besin kaynağı, seçilen mp çeşidi de diğer besin kaynağı olarak ele alınmıştır. Bu modelde iki besin kaynağı (çay veya semizotu ile seçilen mp) bir karışım oluşturduğunda kaynaktaki izotoplar bu karışıma oransal bir katkı göstereceklerdir. Başka bir kaynağın olmadığı varsayıldığında her bir kaynağın karışıma katkı oranlarının (f) toplamı 1 olacaktır. Burada, çay veya semizotu besin1, mp besin2, f_1 çay veya semizotunun katkı oranını, f_2 de seçilen mp'in katkı oranını göstermektedir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Mikroplastik Maruziyetinin Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri

Bu çalışma kapsamında çay ortamında, semizotu ortamında, PBP1, PBP1 tekrar, PMMA, PS, mikroplastiklerine maruz bırakılan ve bırakılmayan *E. fetida* türü toprak solucanlarının ortalama boy ve ağırlıklarındaki değişimleri incelenmiştir.

4.1.1. Mikroplastik Maruziyetine Bırakılmamış *E. fetida* Örneklerinin Boy-Ağırlık Değişimi

Çay bitkisi (*C. sinensis*) ile zenginleştirme işlemine maruz bırakılan 100 adet solucanın, 30 günün sonunda, ortalama boy gruplarında istatistik olarak önemli bir artma olmadığı halde ($p>0,05$) ağırlıklarında önemli bir artma gözlenmiştir ($p<0,001$). Semiz otu (*P. oleracea*) ile zenginleştirme işlemi uygulanan solucan grubunda bulunan solucan örneklerinin 1. gün, 30. gün ve 50. gün boy ve ağırlık ölçümlerinde istatistik olarak önemli artış mevcuttur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Mikroplastik absorpsiyonuna maruz bırakılmamış çay besi ortamında yetiştirilen *E. fetida* örneklerinin boy- ağırlık ort. ve ss değerleri

Parametre	N	1. Gün	N	30. Gün	Önem derecesi
Ort. Boy, cm	100	6,00 ± 1,28	98	6,14 ± 1,16	t=0,82; p>0,05
Ort. Ağırlık, g	100	0,28 ± 0,09	98	0,35 ± 0,07	t=6,73; p<0,001

Çizelge 4.2. Mikroplastik absorpsiyonuna maruz bırakılmamış semizotu ile zenginleştirme işlemi uygulanan *E. fetida* örneklerinin boy- ağırlık ort. ve ss değerleri

Parametre	N	1. Gün	N	30. Gün	N	50. Gün	Önem derecesi
Ort. Boy, cm	100	5,55 ± 1,08	99	6,18 ± 1,02	40	6,25 ± 0,48	F=12,7; p<0,001
Or. Ağırlık, g	100	0,27 ± 0,07	99	0,41 ± 0,09	40	0,44 ± 0,07	F=100,8; p<0,001

Her iki grup zenginleştirme işlemindeki solucan örneklerinin büyüme parametrelerinde bir artış görüldüğü gibi üremelerinin de devam ettiği ve kokon oluşumlarının mevcut olduğu gözlenmiştir.

4.1.2. Mikroplastik Maruziyetine Bırakılmış *E. fetida* Örneklerinin Boy- Ağırlık Değişimi

Semizotu ve çay bitkisi besi ortamında yetiştirilmiş solucan gruplarından alınan örneklerle 4 deney grubu oluşturulmuştur. Bu deney gruplarındaki solucanlardan belirli periyotlarla 3 kez boy ve ağırlık ölçümü alınmıştır. Solucan örneklerinin boy ve ağırlık ölçümlerinin ortalama değerleri çizelge 4.3'te verilmiştir.

PBP1'e maruz bırakılmış aynı zamanda çay besi ortamında yetiştirilen solucanların boy ve ağırlıklarının ortalama değerlerine bakıldığında bir artış olduğu ancak bu artışların istatistik olarak önemli olmadığı görülmektedir ($p > 0,05$). PBP1'e maruz bırakılan ikinci tekrarda sadece periyot farklılığı vardır. 2. Tekrar deneyi toplamda 84 gün sürmüştür. Bu deney grubundaki solucanların 1. günden 42. güne ortalama boy değerlerinde % 25,9 ve ortalama ağırlıklarında % 31,7 oranında artış görülmektedir ancak 84. güne gelindiğinde ise boy ortalamalarında bir değişim olmadığı gibi ağırlık ortalamalarında bir azalma olduğu görülmektedir. Pigment maruziyetinin uzun süreli sonucunun *E. fetida* türü toprak solucanının büyüme parametreleri üzerinde olumsuz bir etkisi olabileceği söylenebilir. Bu değerlerin yanı sıra PBP1 ilk ve tekrar uygulamalarının her ikisinde de üreme olduğu ve kokon oluşumunun mevcut olduğu gözlenmiştir. Ayrıca solucanların sindirim kanalında pigment mikroplastikleri gözlemlenmiştir.



Şekil 3.9. Mikroplastik parçacıkların solucan sindirim kanalındaki görünümü

PMMA ve PS deneyi toplamda 42 gün sürmüştür ve bu deney gruplarındaki solucan örneklerinin boy ölçümlerinin ortalamaları arasında istatistik olarak önemli olmayan bir artış mevcutken, ağırlık ölçümlerinin ortalamaları arasında ise azalma görülmektedir (Çizelge 4.3). Helling ve ark. (2000) bakır oksiklorürün *E. fetida* türü solucanların büyümesi ve üremesi üzerine olumsuz etki ettiğini bulmuşlardır. Fungusit olarak kullanılan maddenin toksik etki göstermesi üzerine yapılan bu araştırmada solucanların etkilenecekleri görülmüştür. Bu sebeple bizim kullandığımız mikroplastiklerin de solucanların ağırlıkları üzerine negatif etkileri, onların yaşam ortamlarında ve besinlerinde mikroplastiklere rastlaması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.3. PBP1,PBP1 tekrar, PMMA ve PS deney gruplarındaki solucan örneklerinden alınan boy ve ağırlık ölçümlerinin ortalama \pm standart sapma değerleri

	N	1. Gün	N	21. Gün	N	42. Gün	Önem derecesi
PBP1+çay							
Ort. Boy, cm	20	6,46 \pm 0,84	20	6,48 \pm 0,87	10	6,94 \pm 0,84	F=1,22; p>0,05
Ort. Ağırlık, g	20	0,40 \pm 0,06	20	0,43 \pm 0,07	10	0,44 \pm 0,09	F=1,13; p>0,05
PMMA+semizotu							
Ort. Boy, cm	10	6,48 \pm 0,52	5	6,16 \pm 0,39	5	6,80 \pm 0,45	F=2,29; p>0,05
Ort. Ağırlık, g	10	0,48 \pm 0,07	5	0,39 \pm 0,11	5	0,33 \pm 0,05	F=6,29; p<0,05
PS+semizotu							
Ort. Boy, cm	20	6,19 \pm 0,53	10	6,31 \pm 0,34	7	6,41 \pm 0,50	F=0,65; p>0,05
Ort. Ağırlık, g	20	0,42 \pm 0,06	10	0,34 \pm 0,04	7	0,34 \pm 0,07	F=9,73;p<0,001
PBP1 tekrar+çay							
	N	1. Gün		42. Gün		84. Gün	Önem derecesi
Ort. Boy, cm	20	4,90 \pm 0,29	10	6,17 \pm 0,35	10	6,31 \pm 0,45	F=78,1;p<0,001
Ort. Ağırlık, g	20	0,31 \pm 0,05	10	0,41 \pm 0,05	10	0,33 \pm 0,06	F=12,2;p<0,001

4.2. Mikroplastik Muamelesine Maruz Bırakılan *E. fetida* Bireylerinin Kararlı İzotop Değişimi

Bu çalışmanın amaçları doğrultusunda oluşturulan 4 adet deney grubundan elde edilen ve farklı periyotlarda alınan 3 adet analizin, kararlı izotop sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Her iki PBP1 uygulamasında da solucanlarda çeşitli zamanlarda ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ değerleri arasında istatistik olarak önemli bir fark bulunmuştur. Analiz

sonuçlarına bakıldığında; PBP1'e maruz bırakılan solucanların kas dokularında bulunan $\delta^{13}\text{C}$ oranının azaldığı görülmektedir. Bu azalma 21. günde % 2,4; 42. günde % 1,3, başlangıca göre ise % 3,7 şeklindedir. Birinci gün ve 42. gün ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$). Bu deney grubunda bulunan solucanlar % 75 çay bitkisi ve %25 PBP1 ile beslenmiştir. Çay bitkisinin ortalama $\delta^{13}\text{C}$ ve standart sapma değeri $-29,5 \pm 0,3$ olarak ölçülmüştür. Deney için seçilen PBP1'in $\delta^{13}\text{C}$ değeri ise $-19,8$ olarak elde edilmiştir.

PBP1 tekrar uygulamasının aşamaları, besin ve plastik oranları ve çeşitleri bakımından aynı olmakla beraber deney süreleri farklıdır ve 84 günlük bir periyodu içermektedir. Deney sürecinde PBP1'e maruz bırakılan solucanların kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ oranları arasında istatistik olarak önemli farklılık vardır. Deney başlangıcı ile 42. ve deney başlangıcı ile 84. gün ölçülen ortalama değerler arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Bu deneyden elde edilen $\delta^{13}\text{C}$ değerlerine bakıldığında, ortalamalarda 42. günde % 3,5; 84. günde % 1,3 ve başlangıca göre % 4,8 azalma görülmektedir. Her iki tekrardaki sonuçlar tutarlı olup solucanlarda ölçülen değerler çay ve pigment değerlerinin arasında olan değerlerdir.

Şekil 4.1'de görüldüğü üzere PBP1 tekrar uygulaması yapılan *E. fetida* örneklerinde 84. günde ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ oranı kontrol grubuna göre biraz daha yüksek başka bir ifade ile PBP1 yönüne doğru bir değişim göstermiştir. Ancak deney ve kontrol grubu solucanlarda ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ oranları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($F=3,1$; $df= 1$; $p=0,07$).

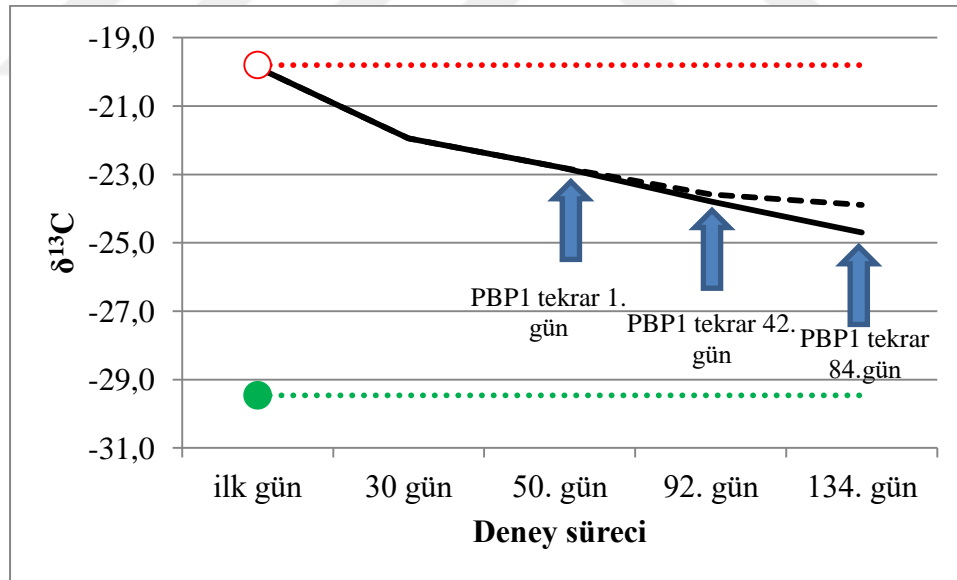
PMMA uygulanan solucanlardan 1, 21 ve 42. günlerde alınan kas örneklerinin $\delta^{13}\text{C}$ ortalamaları arasında önemli bir fark görülmüştür ($p<0,05$). 21. günde % 0,5 oranında bir artmayı takiben, 42. günde % 6 oranında bir azalma ve başlangıca göre % 5,5 oranında bir azalma görülmektedir. Tukey testi her üç günde ölçülen ortalama değerlerin istatistik olarak birbirlerinden farklı olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Semizotunun (% -12,5) ve PMMA'nın (%-31,7) $\delta^{13}\text{C}$ sonuçları değerlendirildiğinde solucanların kas dokularında ölçülen değerler bu değerler arasındadır (Çizelge 4.4).

PS uygulamasında, solucanların ortalama $\delta^{13}\text{C}$ oranları arasında istatistik olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). İlk alınan solucan örneğinin karbon izotop oranının, 21. gün uygulamasında arttığı görülmektedir. Bu artış 48. gün de devam etmektedir. Tukey testi sonucuna göre gruplar arasında sadece 1. ve 42. günler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Deney boyunca solucanlarda ölçülen $\delta^{13}\text{C}$ değerleri semizotu (% -12,5) ve PS (% -28,2) arasındadır.

PMMA ve PS kontrol gruplarının solucan örnekleri deney sırasında kaybedildikleri için izotop analizine bakılmak üzere alınamamıştır.

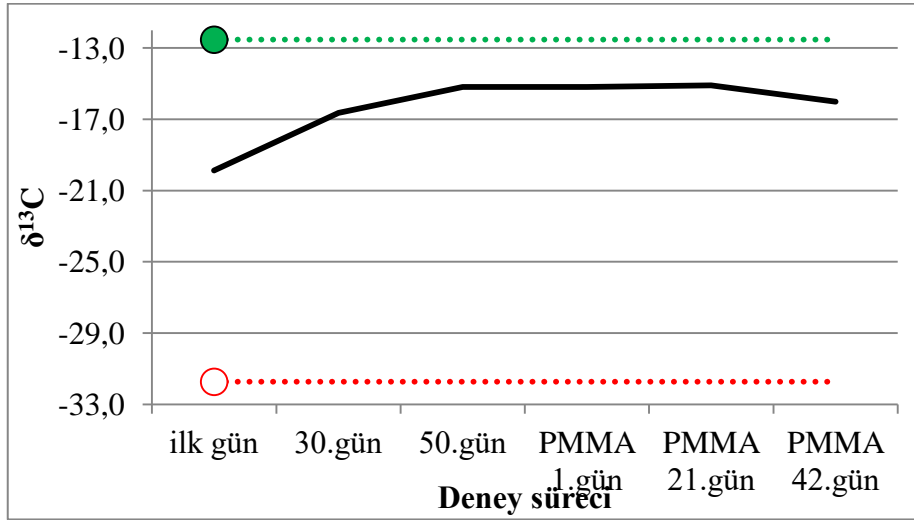
Çizelge 4.4. PBP1, PBP1 tekrar, PMMA ve PS deney gruplarından deney sürecinde solucanların kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ ve standart sapma değerleri

<i>E. fetida</i> kas dokuları uygulama	N	Başlangıç $\delta^{13}\text{C}$, ‰ Ort. \pm ss	N	21. Gün $\delta^{13}\text{C}$, ‰ Ort. \pm ss	N	42. Gün $\delta^{13}\text{C}$, ‰ Ort. \pm ss	Önem derecesi
PBP1	5	-21,9 \pm 0,4	10	-22,5 \pm 0,7	10	-22,8 \pm 0,4	F=4,0;p<0,05
PMMA	10	-15,2 \pm 0,4	5	-15,1 \pm 0,8	5	-16,0 \pm 0,6	F=4,1; p<0,05
PS	10	-15,2 \pm 0,4	10	-14,8 \pm 0,5	7	-14,5 \pm 0,3	F=6,0; p<0,05
				42. Gün		84. Gün	
PBP1 tekrar	10	-22,8 \pm 0,4	10	-23,6 \pm 0,4	10	-23,9 \pm 0,7	F=13,2;p<0,001
Kontrol (çay)	10	-22,8 \pm 0,4	5	-23,8 \pm 1,2	5	-24,7 \pm 0,9	F=10,7;p<0,005



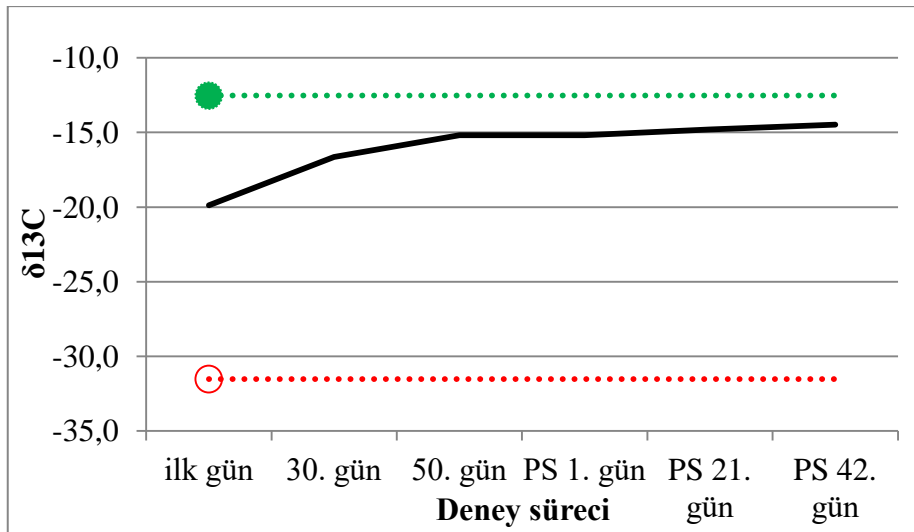
Şekil 4.1. PBP1 tekrar uygulaması yapılan ve yapılmayan *E. fetida* bireylerinin kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ değerleri. Yeşil dolu halka Çay bitkisinde, kırmızı boş halka PBP1 mikroplastiginde ölçülen $\delta^{13}\text{C}$ oranını, kesik çizgi PBP1 uygulanan, düz çizgi kontrol grubu solucanları göstermektedir. Mavi oklar uygulamaların günlerini göstermektedir.

Solucanlardan alınan ilk örnek sonrası, zenginleştirmeden ve PMMA deneyinden elde edilen kararlı izotop sonuçlarının grafiğine (Şekil 4.2) bakıldığında, zenginleştirme işleminden sonra semiz otunu tüketen solucanların PMMA verilmesinden yaklaşık 21 gün sonra $\delta^{13}\text{C}$ oranının PMMA'ya yönelik eğilim gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.2. PMMA deney sürecinde solucan örneklerinin kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ değerleri (siyah çizgi). Yeşil dolu semizotu, kırmızı boş daire PMMA'da ölçülen değerleri göstermektedir.

PS deneyinden elde edilen kararlı izotop sonuçlarında ise solucanların semiz otuyla beslenmeye devam ettikleri anlaşılmaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. PS uygulaması yapılan *E. fetida* bireylerinde solucanların kas dokularında ölçülen ortalama $\delta^{13}\text{C}$ değerleri (siyah çizgi). Yeşil dolu semizotu, kırmızı boş daire PS'de ölçülen değerleri göstermektedir.

4.3. Mikroplastik Absorbsiyonu

İki Kaynak Karışım Modeli ile mikroplastiklerin absorpsiyonu hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5’de verilmiştir. İki Kaynak Karışım Modeli sonuçları pigmentin besin olarak kas dokusuna absorpsiyonunun %10-%72 arasında olduğunu göstermektedir. Bu oranların semizotu besi ortamında düşük olsa da çay besi ortamında bu kadar yüksek görülmesi dikkat çekicidir. Genel olarak semizotu besi ortamında mp katkılarının düşük olması, solucanların besin olarak semizotunu daha fazla tercih ettiklerini düşündürülebilir. Deney sürecinde solucanların bu iki kaynaktan başka bir besin kaynağına maruz kalmamasına özen gösterilmiştir. Bununla birlikte deney sürecinde besi ortamı üzerinde gelişen mikrobiyal kolonilerin besin kaynağı olarak etkileri olmuş olabilir. Bu nedenle bu çalışmada mevcut oranlardan ziyade bu oranlarda zamana bağlı değişimin esas alınması mp absorpsiyonuna dair daha güvenli sonuçlar verebilir. Kararlı izotop analizleri İki Kaynak Karışım Modeli ile hesaplandığında elde edilen değerlerde (Çizelge 4.5) pigment ve polistiren mikroplastiklerinin absorpsiyonunun giderek azaldığı PMMA absorpsiyonunun ise arttığı görülmektedir. Buna göre PMMA uygulaması hariç diğer uygulamaların hiç birinde karışımdaki mp oranının zamana bağlı olarak artış göstermediği ve solucanlarda PMMA absorpsiyonu olabileceği sonucu çıkarılabilir. Solucanların sindirim kanalı incelemelerinde bağırsak içinde PMMA örneklerine rastlanması, bu bulguları destekler niteliktedir.

Çizelge 4.5. Seçilen mikroplastiklerin solucan kas dokusundaki karışıma katkı oranları (*PBP1 için 42. gün ve ** PBP1 için 84. gün)

Mikroplastik çeşidi	Süreç		mp oranındaki değişim
	21. Gün*	42. Gün**	
PBP1	0,72	0,69	Azalma
PBP1 tekrar	0,61	0,58	Azalma
PMMA	0,13	0,18	Artma
PS	0,12	0,10	Azalma

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada *E. fetida* türü toprak solucanın mikroplastik maruziyetinde mikroplastikleri absorbe edip etmedikleri araştırılmış ve mikroplastiklerin solucanların büyüme parametrelerine etkileri incelenmiştir.

Mikroplastikler son on yıldır araştırma konusu haline gelmeleriyle birlikte daha önce kararlı izotop analiziyle yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Yang ve arkadaşlarının 2015'te unkuurları (*T. molitor*) ile yaptıkları bir çalışmada polistiren türü plastiğin unkuurları tarafından besin olarak tüketildiği görülmüştür. Bu tez çalışmasında *E. fetida* bireylerinin PS'yi besin olarak tüketmedikleri sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte *E. fetida* bireylerinin alabilecekleri formda PS'ye maruziyeti sonucu etkileyebilir. Bu nedenle *E. fetida* veya diğer canlılarda PS'nin besin olarak kullanılabilirliğinin tüketebileceği boyutlarda veya formlarda uygulanmak suretiyle tekrar test edilmesi önerilir.

PBP1 uygulaması iki tekrarlı olarak yapılmıştır. İkinci tekrarda 84. günde yapılan ölçümlerde ortalama ağırlıktaki azalma besin azlığından kaynaklanmış olabileceği gibi mikroplastik uygulamasının uzun süre etkisi de olabilir. 84. günde yapılan ölçümün tekrarı ve kontrol grubu olmadığı için ağırlık azalmasını mikroplastik uygulamasına dayandırmak zordur. Bununla birlikte mikroplastik etkisini anlamak için bu denemelerin daha uzun süreli planlanarak tekrarlanması önerilir.

PMMA deneyinde solucanlardan alınan boy ölçümlerinin ortalamalarında artış görülürken ağırlık ortalamalarındaki düşüş, ortamdaki PMMA'nın solucanların beslenmesini olumsuz etkilemesi (sindirim kanalını tıkama, toksik etki vs.) ya da besin yetersizliği sebebiyle boy uzamasının vücut kütlelerini enerji olarak kullanması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. PMMA uygulamasında kokon ve larva oluşumunun mevcut olduğu görülmüştür. Bu deney grubunda semizotuyla besleme yapılırken semizotundan vivaryum toprağına geçen tohumların çimlendikleri gözlemlenmiştir. Vivaryum için kullanılan toprakta besin yoktur ancak solucanların mikroplastik ile karışan semizotunu tüketerek oluşturdukları atıklarla toprak verimli hale gelmiştir. Bu durum toprağın mikroplastik kontaminasyonuna rağmen *E. fetida* türü toprak solucanı ile verimli hale getirilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte bu koşullarda oluşmuş detritus ve çimlenen semizotundaki ağır/hafif izotop oranının bilinmesi mikroplastik besin zincirindeki akışı hakkında bilgi vermesi açısından önemli olacaktır.

Bu tez çalışmasında PMMA'nın bir şekilde dokulara absorpsiyonun gerçekleşerek solucanların kas dokularında da karbon kaynağı olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır. Yıldırım ve ark., (2017) insan karaciğerinde in vitro gerçekleştirdikleri bir çalışmada retinoik asit ile modifiye PMMA partiküllerinin çok yüksek bir hücre içi alım etkinliği gösterdiğini incelemişlerdir (Yıldırım ve ark., 2017). Benzer şekilde PMMA maruziyetinin *Gammarus fossarum* örneğinde assimilasyon verimliliğini önemli düzeyde etkilediği ortaya konmuştur (Straub ve ark., 2017). Mikroplastik parçıklarının trofik düzey boyunca geçebileceğine dair çalışmalar (Farrel ve Nelson 2013) bu tez çalışması bulgularını desteklemektedir.

Savaş yıllarında pilotlarda poli (metil metakrilat) (PMMA) kaynaklı yaralanmalar olduğu görülmüş, bu yaralanmalarda PMMA'nın vücutta her hangi bir hasara yada enfeksiyona neden olmadığı görülmesiyle birlikte PMMA materyaller, doku içinde de kullanılmaya başlanmıştır (Kümbüloğlu ve Oral, 2013). PMMA'nın çeşitli alanlardaki kullanımından sonra mekanik hasara uğraması, toksik monomer MMA (metil metakrilat)'nın ortaya çıktığı bilinmektedir (Ciszewska ve ark., 1997). Jones ve ark., (2001) implant yapımında kullanılan PMMA'nın dokulardaki hasarını incelemiş ve analiz sonucunda dokulardaki bir mikron altı partiküllerin membran içinde bulunan hücreler tarafından kolayca fagosite olduğunu göstermiştir (Jones ve ark., 2001). Frick ve ark., (2006) özellikle PMMA'nın fagositozu ile farelerde bağışıklık sistemini etkilediklerini ortaya koymuşlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda mikroplastığın solucanları strese soktuğu ve bu sebeple enzim aktivitesini arttırdığı, solucanların bağırsaklarında histopatolojik zararlar meydana geldiği görülmüştür (Rodriguez-Seijo ve ark., 2017). Kaynakların sınırlı olması nedeniyle bu tez çalışmasında PMMA'nın enzim aktivitesi ve histolojik incelemeleri üzerine çalışma yapılamamıştır. Ancak solucanlarda meydana gelen ağırlık kayıpları, mikroplastik kaynaklı olarak canlıların sindirim kanalındaki hasarlar sebebiyle olabilir ve enerji dağılımları strese bağlı olarak etkilenmiş olabilmektedir. Bu nedenle solucanlara veya başka model canlılara besin kaynağı olarak farklı dozlarda PMMA uygulamak suretiyle PMMA'nın toksik etkilerine dair, absorpsiyon yolları, enzim aktiviteleri ve histopatolojik sonuçları üzerine çalışmalar yapılması önerilir.

Bu çalışmanın amaçlarından biri mikroplastik absorpsiyonu olup olmadığını *E. fetida* örneğinde kararlı izotop çalışmaları ile gösterilip gösterilemeyeceğini test etmektir. Bu tez çalışmasında PMMA absorpsiyonu test edilen diğer mikroplastiklere göre daha net bir şekilde ortaya konmuştur. Absorpsiyonda mikroplastik boyutu önemli olabilir (Straub ve ark., 2017). Bu çalışmada PS, PBP1 ve PB1 tekrar uygulamalarında kullanılan

mikroplastiklerin ortalama granül boyutu toz şeklinde olan PMMA'dan daha iridir. Mikroplastik çeşitleri arasında kas dokusundaki karışıma katkı oranının PMMA maruziyetinde yüksek olması partikül boyutunun küçük olmasından kaynaklanmış olabilir. Bu nedenle kaynak kullanımı açısından, daha küçük boyutlarda mikroplastik maruziyeti olacak şekilde deneylerin tekrarlanması önerilir.

Solucanlar öğütme ve sindirim gibi faaliyetleri ile katıları etkili bir şekilde parçalayarak toprak ekolojisinde önemli bir rol oynarlar (Wang ve ark., 2017). Bu tez çalışmasında katı mikroplastik parçalarının sindirim kanalına alındığı, özellikle PMMA örneğinde kararlı karbon ve azot izotop yöntemi ile besin kaynağı gibi kullanılarak kas dokularında bulunduğu belirlenmiştir. Mikroplastiklerin hücre düzeyinde olumsuz etkilerine dair sonuçları bilinmektedir. Solucanların aşırı mikroplastiğe maruz kalması ve bu maruziyetin plastiğin uzun ömrü sebebiyle çok daha uzun sürmesi canlıların gelişimini ve çoğalmasını olumsuz etkileyebilir. Dahası mikroplastikler besin zinciri ile trofik ağ boyunca aktarılabilir. Mikroplastik maruziyetinin neticelerine dair bilgi boşluğunun giderilmesine yönelik çeşitli canlı grupları üzerinde çalışmaların yapılması önerilir.

KAYNAKLAR

- Andrady A. L., 2011. Microplastics in The Marine Environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596-1605.
- Aydın H., 2006. Toprak Solucanlarının Çevre Toksikolojisi Yönünden Değerlendirilmesi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 32(3), 75-79.
- Barnes D. K., Galgani F., Thompson R. C., Barlaz M. 2009. Accumulation and Fragmentation of Plastic Debris in Global Environments. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985-1998.
- Bolan N. S., Baskaran S., 1996. Characteristics of Earthworm Casts Affecting Herbicide Sorption and Movement. *Biology and Fertility of Soils*, 22(4), 367-372.
- Browne M. A., Dissanayake A., Galloway T. S., Lowe D. M., Thompson R. C., 2008. Ingested Microscopic Plastic Translocates To The Circulatory System of The Mussel, *Mytilus Edulis* (L.). *Environmental Science & Technology*, 42(13), 5026-5031.
- Byzov B. A., Nechitaylo T. Y., Bumazhkin B. K., Kurakov A. V., Golyshin P. N., Zvyagintsev D. G., 2009. Culturable Microorganisms From The Earthworm Digestive Tract. *Microbiology*, 78(3), 360-368.
- Callahan M. A., Stewart A. J., Alarcón C., Mcmillen S. J., 2002. Effects of Earthworm (*Eisenia fetida*) and Wheat (*Triticum aestivum*) Straw Additions on Selected Properties o Petroleum-Contaminated Soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(8), 1658-1663.
- Cengiz M. F., Turan O., Ozdemir D., Albayrak Y., Perincek F., Kocabas, H., 2017. Geographical Origin of Imported and Domestic Teas (*Camellia sinensis*) from Turkey as Determined by Stable Isotope Signatures. *International Journal of Food Properties*, 20(12), 3234-3243.
- Clayton D., 2003. *Handbook of isotopes in the cosmos: Hydrogen to gallium (Vol. 1)*. Cambridge University Press.
- Ciszewska J., Kecik T., Legec E., Zydecki M., Switka-Wieclawska I., 1997. Does The Nd:YAG Laser Bearn Damaging Artificial İntraocular Lenses Cause

- Depolymerisation of PMMA?. *Oftalmoloji*, 114-115.
- Cole M., Lindeque P., Halsband C., Galloway T. S., 2011. Microplastics As Contaminants In The Marine Environment: A Review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588-2597.
- Courtene-Jones W., Quinn B., Murphy F., Gary S. F., Narayanaswamy B. E., 2017. Optimisation of Enzymatic Digestion And Validation of Specimen Preservation Methods for The Analysis of Ingested Microplastics. *Analytical Methods*, 9(9), 1437-1445
- Curry J. P., Schmidt O., 2007. The Feeding Ecology Of Earthworms—A Review. *Pedobiologia*, 50(6), 463-477.
- Do Sul J. A. I., Costa M. F., 2014. The Present and Future of Microplastic Pollution in The Marine Environment. *Environmental Pollution*, 185, 352-364.
- D'Andrea R. M., Andreo C. S., Lara M. V., 2014. Deciphering The Mechanisms Involved In *Portulaca oleracea* (C₄) Response To Drought: Metabolic Changes Including Crassulacean Acid - Like Metabolism Induction and Reversal Upon Re - Watering. *Physiologia Plantarum*, 152(3), 414-430.
- Domínguez-Crespo M. A., Sánchez-Hernández Z. E., Torres-Huerta A. M., Negrete M. D. L. L. X., Conde-Barajas E., Flores-Vela, A., 2012. Effect of the Heavy Metals Cu, Ni, Cd and Zn on the Growth and Reproduction of Epigeic Earthworms (*E. fetida*) During the Vermistabilization of Municipal Sewage Sludge. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(2), 915-931.
- Farrell P., Nelson K., 2013 Trophic Level Transfer of Microplastic: *Mytilus edulis* (L.) To *Carcinus maenas* (L.) *Environ Pollut* 177:1–3
- Fry B., 1988. Food web structure on Georges Bank from Stable C, N, and S isotopic Compositions. *Limnology and Oceanography*, 33(5), 1182-1190.
- Fry B., 2006. *Stable Isotope Ecology* (Vol. 521). New York: Springer.
- Frick C., Dietz A. C., Merritt K., Umbreit T. H., Tomazic-Jezic V. J., 2006. Effects of Prosthetic Materials On The Host Immune Response: Evaluation of Polymethyl Methacrylate (PMMA), Polyethylene (PE), And Polystyrene (PS) Particles. *Journal*

- Of Long-Term Effects Of Medical Implants, 16(6).
- Gall S. C., Thompson R. C., 2015. The Impact Of Debris On Marine Life. *Marine Pollution Bulletin*, 92(1), 170-179.
- Goldstein M. C., Rosenberg M., Cheng L., 2012. Increased Oceanic Microplastic Debris Enhances Oviposition in an Endemic Pelagic Insect. *Biology Letters*, 8(5), 817-820.
- Green D. S., Boots B., Sigwart J., Jiang S., Rocha C., 2016. Effects Of Conventional And Biodegradable Microplastics On A Marine Ecosystem Engineer (*Arenicola marina*) And Sediment Nutrient Cycling. *Environmental Pollution*, 208, 426-434.
- Hamilton S. K., Lewis Jr., 1992. Stable Carbon And Nitrogen In Algae and Detritus From The Orinoco River Floodplain. Venezuela. *Geochim. Cosmochim.*, 56: 4237– 4226
- Helling B., Reinecke S. A., Reinecke A. J., 2000. Effects of The Fungicide Copper Oxchloride on The Growth And Reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 46(1), 108-116.
- Jones L. C., Frondoza C., Hungerford D. S., 2001. Effect Of PMMA Particles And Movement On An Implant Interface In A Canine Model. *Bone & Joint Journal*, 83(3), 448-458.
- Kümbüloğlu Ö., Oral O., 2013. Biyomateryaller. *EU Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 34 (1): 27-33.
- Lambert S., Sinclair C., Boxall A., 2014. Occurrence, Degradation, and Effect of Polymer-Based Materials in the Environment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Volume 227 (pp. 1-53). Springer, Cham.
- Michener R., Lajtha K., 2008. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. John Wiley & Sons.
- Mısırlıoğlu M., 2011. *Toprak Solucanları Biyolojileri, Ekolojileri ve Türkiye Türleri*. Nobel Yayınevi. 104s.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) 2018. PubChem Compound Database; CID=7501. 26 Mart 2018, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7501>.

- Parnell A. C., Phillips D. L., Bearhop S., Semmens B. X., Ward E. J., Moore J. W., Jackson A. L., Grey J., Kelly D. J., Inger R., 2013. Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*. 24(6):387-99.
- Pedersen J. C., Hendriksen N. B., 1993. Effect of Passage Through The Intestinal Tract of Detritivore Earthworms (*Lumbricus Spp.*) on The Number of Selected Gram-Negative and Total Bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 16(3), 227-232.
- Peterson B. J., Fry B., 1987. Stable Isotopes in Ecosystem Studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1), 293-320.
- Phillips D. L., Gregg J. W., 2001. Uncertainty in Source Partitioning Using Stable Isotopes. *Oecologia*, 127(2), 171-179.
- Prabha M. L., Jayaraaj I. A., Jeyaraaj R., Rao S., 2007. Comparative Studies on The Digestive Enzymes in The Gut of Earthworms, *Eudrilus eugeniae* and *Eisenia fetida*. *Indian Journal of Biotechnology*, 6, 567-569.
- Rillig M. C., Ziersch L., Hempel S., 2017. Microplastic Transport in Soil by Earthworms. *Scientific Reports*, 7(1), 1362.
- Redondo Hasselerharm P. E., Falahudin D., Peeters E., Koelmans A. A., 2018. Microplastic Effect Thresholds for Freshwater Benthic Macroinvertebrates. *Environmental Science & Technology*. 52 (4), pp 2278–2286
- Rochman C. M., Regan F., Thompson R. C., 2017. On The Harmonization of Methods For Measuring The Occurrence, Fate And Effects of Microplastics. *Analytical Methods*, 9(9), 1324-1325.
- Rodriguez-Seijo A., Lourenço J., Rocha-Santos T. A. P., Da Costa J., Duarte A. C., Vala H., Pereira R., 2017. Histopathological and Molecular Effects of Microplastics in *Eisenia Andrei* Bouché. *Environmental Pollution*, 220, 495-503.
- Sampedro L., Domínguez J., 2008. Stable Isotope Natural Abundances ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of The Earthworm *Eisenia fetida* and Other Soil Fauna Living In Two Different Vermicomposting Environments. *Applied Soil Ecology*, 38(2), 91-99.
- Savard K., Berthelot Y., Auroy A., Spear P. A., Trottier B., Robidoux P. Y., 2007. Effects of Hmx-Lead Mixtures on Reproduction of The Earthworm *Eisenia andrei*. *Archives*

- of Environmental Contamination and Toxicology, 53(3), 351-358.
- Schoeller D. A., Minagawa M., Slater R., Kaplan I. R., 1986. Stable Isotopes of Carbon, Nitrogen and Hydrogen in The Contemporary North American Human Food Web. *Ecology Of Food And Nutrition*, 18(3), 159-170.
- Setälä O., Fleming-Lehtinen V., Lehtiniemi M., 2014. Ingestion and Transfer of Microplastics in The Planktonic Food Web. *Environmental Pollution*, 185, 77-83.
- Straub S., Hirsch P. E., Burkhardt-Holm P., 2017. Biodegradable and Petroleum-Based Microplastics Do Not Differ in Their Ingestion and Excretion But in Their Biological Effects in a Freshwater Invertebrate *Gammarus fossarum*. *International Journal of Environmental Research And Public Health*, 14(7), 774.
- Tecimen H. B., 2013. Toprak Solucanlarını Sınıflandırma Terimleri Üzerine Bir Değerlendirme. *Avrasya Terim Dergisi*, 1(1), 40-45.
- Thompson R. C., Moore C. J., Vom Saal F. S., Swan S. H., 2009. Plastics, The Environment and Human Health: Current Consensus and Future Trends. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London B: Biological Sciences*, 364(1526), 2153-2166.
- Tripathi G., Bhardwaj P., 2004. Comparative Studies On Biomass Production, Life Cycles And Composting Efficiency Of *Eisenia fetida* (Savigny) And *Lampito mauritii* (Kinberg). *Bioresource Technology*, 92(3), 275-283.
- Tutar U., 2012. *Eisenia fetida* Türü Toprak Solucanlarından Elde Edilen Farklı Ekstraktların Bitki Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitelerinin Araştırılması (Doktora Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye.
- Van Cauwenberghe L., Vanreusel A., Mees J., Janssen C. R., 2013. Microplastic Pollution In Deep-Sea Sediments. *Environmental Pollution*, 182, 495-499.
- Van Cauwenberghe L., Claessens M., Vandegheuchte M. B., Janssen C. R., 2015. Microplastics Are Taken Up By Mussels (*Mytilus edulis*) And Lugworms (*Arenicola marina*) Living In Natural Habitats. *Environmental Pollution*, 199, 10-17.
- Vander Zanden M. J., Casselman J. M., Rasmussen J. B., 1999. Stable Isotope Evidence

- For The Food Web Consequences of Species Invasions in Lakes. *Nature*, 401(6752), 464-467.
- Vardar S. (17 Ağustos 2015). PMMA (Polimetilmetakrilat), 26 Mart 2018, [Http://polimetilmetakrilat.blogspot.com.tr/](http://polimetilmetakrilat.blogspot.com.tr/).
- Yang Y., Yang J., Wu W. M., Zhao J., Song Y., Gao L., Yang R., Jiang L., 2015. Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-eating Mealworms: Part 2. Role of gut microorganisms. *Environmental science & technology*, 49(20), 12087-12093.
- Yıldırım T., Matthäus C., Press A. T., Schubert S., Bauer M., Popp J., Schubert U. S., 2017. Uptake of Retinoic Acid-Modified PMMA Nanoparticles in LX-2 and Liver Tissue by Raman Imaging and Intravital Microscopy. *Macromolecular bioscience*, 17(10).
- Wang Y., Xing M., Yang J., 2017. Earthworm (*Eisenia fetida*) Eco-Physiological Characteristics in Vermifiltration System For Wastewater Treatment Through Analyzing Differential Proteins. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(2), 60.
- Wright S. L., Thompson R. C., Galloway T. S., 2013. The Physical Impacts Of Microplastics On Marine Organisms: A Review. *Environmental Pollution*, 178, 483-492.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif MENTEŞ

Doğum Yeri : İstanbul

Doğum Tarihi : 25.09.1992

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat

Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen

Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü 2015-2018

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Bildiriler

- **Mentes E.**, E.İ. Balkan, Ş. Yalçın-Özdilek 2014. Avrupa Yılan Balığı (*Anguilla anguilla* L., 1758)'nın Dünya'daki ve Türkiye'deki Durumu ve Önemi. 21.Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 19.-20., Trabzon-Türkiye(Sözlü Sunum)
- Menteş E., Balkan İ. E., Partal N., Yalçın Özdilek Ş., (2014) Kumkale Nehir Ağzındaki Balıkların Trofik Pozisyonlarının Kararlı İzotop Yöntemiyle Değerlendirilmesi. VI. Ulusal Limnoloji Sempozyumu. 25- 28 Ağustos 2014, Bursa. (Sözlü Sunum)
- Özdilek Ş.Y., Partal N., Balkan E. İ., Atak S., Ertürk S., Menteş E., Jones.R.I., 2016. Stable Isotope Compositions and Isotopic Niche Width of Karamenderes River Freshwater Fishes. International Symposium on Fishers and Aquatic Siciens (FABA). 3-5 Kasım 2016., Antalya Türkiye.(Sözlü Sunum)
- Yalçın Özdilek Ş., **Mentes E.**, 2017. Mikroplastiklerin Kararlı İzotop Yöntemiyle Araştırılması. Trakya Üniversiteler Birliği İkinci Lisansüstü Öğrenci Kongresi 15-16 Mayıs 2017, Edirne. (Sözlü Sunum)
- Bozyel, M.E., Merdamert, E., Doğan, G., Dinç, Ü., Gemici, A., **Menteş, E.**, Gönüz, A., 2013. Aşırı Yağışlar Sonucunda Bulanıklaşan Şebeke Sularının Genotoksitesinin *Allium cepa* Testi ile Belirlenmesi. 20. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 24-27 Haziran 2013, Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak, Türkiye. Bildiri Kitabı s 109. (Poster)

- **Bozyel, M.E.**, Merdamert, E., Doğan, G., Mentef, E., Dinç, Ü., Gemici, A., Gönüz, A., 2013. Çanakkale İl Merkezinden Alınan Çeşme Sularının *Allium cepa* L. Kök Meristem Hücrelerindeki Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. 20. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 24-27 Haziran 2013, Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak, Türkiye. Bildiri Kitabı s 38. (Sözlü Bildiri)

b) Katıldığı Projeler

- Karamenderes Nehir Ağzında Yaşayan Avrupa Yılan Balıklarının (*Anguilla anguilla*) Temel Besinlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma.

İLETİŞİM

E-posta Adresi : elifmentess@gmail.com

