

The growth responses of *Eisenia fetida* (Savigny 1826) exposed to microplastics

Elif Menteş¹, Şükran Yalçın Özdilek*²

*Corresponding author: sozdilek@comu.edu.tr

Received: 30.10.2020

Accepted: 05.12.2020

Affiliations

¹Graduate Institute of Natural and Applied Sciences, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, TURKEY

²Department of Biology, Faculty of Science and Art, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, TURKEY

Keywords

Microplastic
Growth
Length
Weight
Eisenia fetida

ABSTRACT

With the increase in the use of plastics around the world, smaller particles called microplastics increase over time in natural environments. Microplastics are potential threatening because they can be consumed involuntarily by organisms. In this study, the effects of microplastics on the growth parameters of soil worms (*Eisenia fetida*) were investigated. Within this framework, the earthworm groups were fed diet contains <1 mm microplastic grains at the rate of 25% of the total daily requirements of the worms. A group of worms was kept in the polystyrene (PS) environment. Two different microplastics, plastic paint pigment (PBP) and polymethylmethacrylate (PMMA) were used in experiments and the effects of the microplastics on the growth parameters of the worms were observed. The length and weights of worms exposed to PBP, PMMA and PS were measured on the 21st and 42nd days in the applications and the 42nd and 84th days in the repeat application of PBP. Before the application, *E. fetida* individuals were fed in tea and purslane medium for 30 days, and the mean length and weights of worms were increased. In PBP, PBP repeat, PMMA and PS applications, a decrease in worms' weight was observed in the process.

Eisenia fetida (Savigny 1826)'da mikroplastik maruziyetinin büyüme parametreleri üzerine etkisi

ÖZET

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. Bu çalışmada mikroplastığın toprak solucanlarının (*Eisenia fetida*) büyüme parametrelerine etkileri araştırılmıştır. Bu çerçevede solucanların diyetine günlük toplam besin gereksinimlerinin %25'i oranında 1mm'den küçük mikroplastik parçacıklar katılmıştır. Bir grup solucan polistiren (PS) ortamına bırakılmıştır. Deneylerde iki farklı mikroplastik, plastik boya pigmenti (PBP) ve polimetilmetakrilat (PMMA) kullanılmış ve toprak solucanlarının büyüme parametreleri üzerine etkileri gözlenmiştir. Toprak solucanlarının PBP, PMMA ve PS uygulamalarında 21. ve 42., PBP tekrar uygulamasında 42. ve 84. günlerindeki boy ve ağırlıkları ölçülmüştür. Uygulama öncesinde *E. fetida* bireyleri çay ve semizotu ortamında 30 gün boyunca beslenmiş, boy ve ağırlıklarında artış gözlenmiştir. PBP, PBP tekrar, PMMA ve PS uygulamalarında süreçte solucanların ağırlığına bir azalma gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler

Mikroplastik
Büyüme
Boy
Ağırlık
Eisenia fetida

Cite this article as

Menteş, E. & Yalçın Özdilek, Ş. (2020). The growth responses of *Eisenia fetida* (Savigny 1826) exposed to microplastics. *Marine and Life Sciences*, 2(2): 97-104. (In Turkish)

Giriş

Yeryüzündeki su kaynakları plastik ve mikroplastik türevleri nedeniyle tehdit altındadır (Van Cauwenberghe ve ark., 2013). Kentsel alanlarda, kıyılarda sediment üzerinde biriken plastik atıklar mikroplastik olarak kutuplar ve okyanusların derinliklerine kadar doğal habitatlara taşınarak birikmektedir (Barnes ve ark., 2009; Thompson ve ark., 2009; Do Sul ve Costa, 2014). Özellikle deniz ve okyanuslarda biriken mikroplastiklerin çıplak gözle ayırt edilememesi endişe kaynağıdır (Andrady, 2011). Mikroplastikler hayvanların besinlerine yada tortu şeklinde olmaları nedeniyle (Gall ve Thompson, 2015) çok sayıda organizma için biyolojik olarak kullanılabilme potansiyeline sahip ve sucul yaşam için (Wright ve ark., 2013) ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Mikroplastikler balıklar ve omurgasızlar tarafından besin gibi yutulabilmektedir, organik kirleticiler tarafından taşınabilmektedir (Goldstein ve ark., 2012). Sediment içerisine karışıklarında kum kurtlarının sindirim kanalına alınması muhtemeldir (Green ve ark., 2016). Bu parçacıklar teorik olarak bağırsak boyunca ilerlerken tıkanma veya sindirim sisteminde birikime yol açabildiği gibi mekanik beslenmeyi ve sindirimi de bozabilir (Setälä ve ark., 2014).

Sucul ekosistemlerde mikroplastiklerin etkileri üzerine çalışmalar bulunmaktadır (Christaki ve ark., 1998, Besseling ve ark., 2014, Wang ve ark., 2020) ancak karasal ekosistemlerde toprak canlıları üzerinde yapılmış çok az çalışma bulunmaktadır. Polietilen mikroplastik parçacıkların toprak yüzeyinden toprak solucanları vasıtasıyla toprak profilinde doğrudan ya da dolaylı olarak taşınabileceği tespit edilmiştir (Rillig ve ark., 2017). Huerta-Lwanga ve ark. (2016) <150 µ polietilen mikroplastığe maruz kalan *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae) bireylerinin ağırlıklarında azalma kaydederken, Rodriguez-Seijo ve ark. (2017) 250-1000 µ polietilen mikroplastığe maruz bırakılan *Eisenia fetida* bireylerinin bağırsakları ve immun sistemlerinin zarar gördüğünü rapor etmişlerdir. Karasal ortamlarda polimer kaynaklı materyal atıklarının çiftlik hayvanları tarafından tüketildikleri, çiftçiler için plastik torbalar gibi cisimlerin hayvan yetiştirmedeki sorunlar arasında olduğu belirtilmiştir (Lambert ve ark., 2014). Bununla birlikte plastikler organik maddelerdir ve mikroplastikler bazı canlılar için besin kaynağı olarak kullanılabilir (Yang ve ark., 2015). Besin kaynağı olarak kullanılması durumunda çeşitli mikroplastik besi ortamına maruz bırakılan canlıların büyüme parametrelerinde artış olması

beklenir.

E. fetida heteretrofik besin zincirinde ilk basamaklarında yer alan, karasal ekosistemlerde önemli ekolojik rolü olan detritus yiyici olarak bilinen bir türdür (Sampedro ve Dominguez, 2008). *E. fetida* mikroplastik bakımından zenginleştirilmiş organik besinleri doğrudan alabilir, optimum yetiştirme koşulları ve geniş bir diyet aralığı nedeniyle kolay kültüre edilebilirler. Böylece karasal ortamda sınırlı sayıda çalışma bulunan mikroplastik besi ortamı maruziyetine dair deneysel çalışmalarda tercih edilebilir. Toprak solucanlarının ekosistemdeki rolü (Aydın, 2006) göz önünde bulundurulduğunda mikroplastiklerin bu canlılar üzerindeki etkilerinin bilinmesi literatüre toprak ekolojisini daha iyi anlamamıza yardımcı olacak önemli katkılar sağlayabilir. Bu çalışma mikroplastiklere maruz kalan toprak solucanlarının büyüme parametreleri üzerindeki etkilerini ortaya koymayı amaçlamıştır.

Materyal ve Yöntem

E. fetida türü toprak solucanı Çanakkale'nin Bayramiç ilçesindeki Bereket Solucan (Bersol) Yetiştirme Tesisi'nden alınmıştır. Kapalı bir kap içerisinde laboratuvara getirilen solucanlar ahşap bir kasada, hava alabilecek şekilde karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Mikroplastik olarak yaygın plastik çeşitlerinden Plastik boya pigmenti (PBP), Polimetilmetakrilat (PMMA) ile Yang ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada un kurtlarının polistrien (PS) ile beslendikleri literatüründen yola çıkarak PS mikroplastığı seçilmiştir.

Deneyde kullanılan plastik boya renklendirme sistemlerinden seçilen PBP petri kaplarına dökülerek etüvde 60°C' de 24 saat boyunca kurutulduktan sonra demir eğe yardımıyla <1mm olacak şekilde toz haline getirilmiştir. Polymethylmethacrilat, PMMA (-CH₂C(CH₃)(CO₂CH₃)-_n) 600 µ boyutlarında olup Alfa Aesar (9011/14-7) firmasından temin edilmiş, PS ise küçük parçalara ayrıştırılmadığından doğrudan strafor kap besi ortamı olarak düzenlenmiştir.

Solucanları besleme

Solucanları barındırmak için besin olarak kullanamayacakları organik karbonu uzaklaştırılan yanmış toprak kullanılmıştır. Organik maddeden arındırma toprağın kül fırınında 550°C' de sabit ağırlığa ulaşınca kadar yakmak suretiyle yapılmıştır. Çalışmada ikisi normal besi ortamı (çay veya semizotu), dördü mikroplastik uygulamaları olmak üzere altı adet uygulama modeli kurulmuştur. Her bir uygulama için solucanların

içerisinde tutulacakları 35x14 cm ölçülerinde ahşap vivaryumlar içine 1 kg yanmış toprak nemlendirilerek konmuştur. Çalışma sürecinde termometre ile sıcaklık ($^{\circ}\text{C} \pm 0,1$), nem ölçer cihazı ile % nem, smooth garden pH ölçüm cihazı ile pH ($\pm 0,1$) her gün ölçülmüştür. Ölçüm cihazları toprağa saplandıktan 5 dk sonraki değerler esas alınmak suretiyle koşullar solucanlar için optimum seviyeye ulaşacak şekilde uygulama yapılmıştır.

İki vivaryuma 100'er adet *E. fetida* türü toprak solucanı bırakılmış, birindeki solucanlar çay (*Camellia sinensis* L.) diğerindeki solucanlar semizotu (*Portulaca oleracea* L.) ile beslenmiştir. Çay bitkisi marketlerden, semizotu da pazardan temin edilmiş, bir solucanın günlük besin ihtiyacı 0,6 g kabul edilerek, her bir vivaryuma günlük 60 g besin eklenmiştir. Bu miktar solucan yetiştiricilerinin deneyimi ve üç günlük ön denemeler neticesinde belirlenmiştir. Çay bitkisi sıcak su ile demlenip, semizotu da kıyılarak solucanlara verilmiştir. Deney sürecinde solucanlar için optimum sıcaklık (25°C), nem (%70), pH (6,5) 'da tutulmuştur. Besleme 30 gün boyunca devam etmiş, beslemenin başlangıcı ve sonunda solucanların boy ve ağırlıkları ölçülmüştür. Böylece solucanların mikroplastik uygulamaları öncesinde sadece tek tip organik maddeye maruz kalmaları sağlanmıştır.

Mikroplastik Uygulamaları

Mikroplastik uygulamaları çay ve semizotu ile beslenme sonrasında 30. günde boy ve ağırlıkları alınmış olan toprak solucanları kullanılmak suretiyle başlıca dört deney düzeneği kurularak gerçekleştirilmiştir.

a. PBP uygulaması: Çay ile beslenmiş solucan grubundan 20 adet solucan vivaryum kabına yerleştirilmiştir. Solucanlara uygulanan mikroplastik miktarı: yem oranı; üzerinden toplam solucan ağırlığının %25'i mikroplastik ve %75'i çay bitkisi olarak belirlenmiştir. Mikroplastikler <1mm olacak şekilde yem ile birlikte karıştırılarak, günlük olarak verilmiştir. Deney 42. günde sonlandırılmıştır.

b. PBP tekrar uygulaması: Çay bitkisi ile beslenmiş solucan grubundan 20 adet solucan deney düzeneğine yerleştirilmiştir. Deney protokolü PBP uygulamasında olduğu gibi uygulanmış, farklı olarak 42. ve deneyin sonlandırıldığı 84. günde ölçümler gerçekleştirilmiştir.

c. PMMA uygulaması: Semizotu ile beslenen solucan grubuna uygulanan deney protokolü PBP uygulamasında anlatıldığı gibidir, farklı olan sadece PMMA ve semizotu uygulamasıdır.

d. PS uygulaması: Semizotu ile beslenen solucan grubundan 20 adet birey, 20x6 cm boyutundaki polistiren vialler içine yerleştirilmiştir. %25/%75 polistiren vialerin ağırlığı/semizotu ağırlığı olacak şekilde ayarlanmıştır.

Boy ve Ağırlık Ölçümleri

Çay ve semizotu ile beslenen stokta tutulan 100'er adet solucanın boy ve ağırlıkları başlangıç ve 30. günde ölçülmüştür. Boy ölçümleri nemli kurutma kâğıdı üzerine konularak $\pm 0,01$ mm hassasiyetli kumpas ile ağırlıkları ise $\pm 0,01$ mg hassasiyetli Precisa marka 0,01g hassas terazi ile yapılmıştır. Kontrol grubu, PBP, PMMA ve PS gruplarında mikroplastik uygulaması öncesinde (n=20), 21. ve 42. gün (n=10), PBP tekrar grubunda ise başlangıç (n=20), 42. gün (n=10) ve 84. gün (n=10) sonunda solucanların boy ve ağırlık ölçümleri yukarıda belirtildiği gibi aynı yöntem ile yapılmıştır.

Çay bitkisi ve semizotu ile beslenen ve hiçbir mikroplastik ve başka bir besi ortamına maruz bırakılmayan solucanların 30 günlük süreçte ortalama boy ve ağırlıkları arasında fark olup olmadığı iki yönlü (bitki çeşidi ve süreç) varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. ANOVA testi uygulanmadan önce boy ve ağırlık verilerinin normal dağılım gösterdiği Shapiro test ile test edilmiştir ($p>0,05$). Semizotu ile beslenen solucanlarda PMMA ve PS gruplarında başlangıçta, 21 gün sonra ve 42 gün sonra ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerleri arasında fark olup olmadığı iki yönlü (süreç ve plastik çeşidi) ANOVA ile PBP ve PBP tekrar uygulamasında solucanlarda kısa ve uzun dönemde ölçülen ortalama boy ve ağırlıkları arasında fark olup olmadığı tek yönlü (süreç) ANOVA ile test edilmiş, TUKEY HSD testi ile hem boy hem de ağırlık için grup ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu analizler Studio R (R Studio Team, 2020) stats (version 4.0.2) paketi kullanılarak yapılmıştır (Chambers ve ark., 1992). Aynı programda ggplot2, ggpubr, psych ve tidyverse paketleri ile grafikler çizilmiştir (R Core Team, 2020).

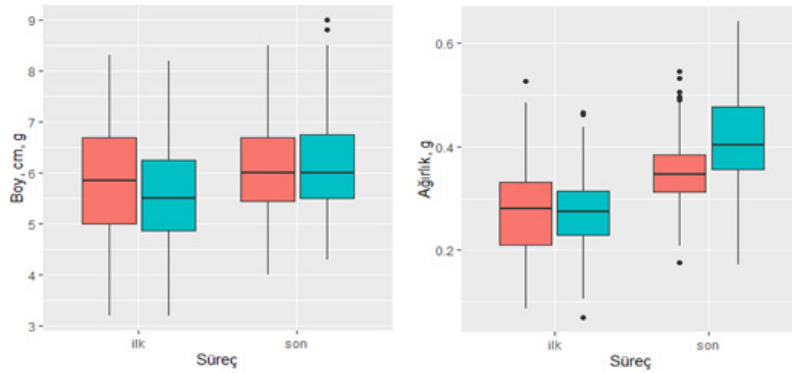
Bulgular

Semizotu (*P. oleracea*) ile beslenen solucanlarda otuz günlük süreçte en yüksek boy (%11), ve ağırlık (%53) artışı gözlenirken, çay bitkisi (*C. sinensis*) ile beslenen solucanlarda boy ve ağırlık artışı sırasıyla % 4 ve % 29 olmuştur (Tablo 1). Çay bitkisi ve semizotu ile beslenen solucanların ilk gün ve 30 gün sonunda ölçülen ortalama boyları arasında besin çeşidi açısından istatistik olarak önemli bir farklılık olmamakla birlikte ($p>0,05$) süreç bakımından farklılık vardır ($p<0.001$, Tablo 2).

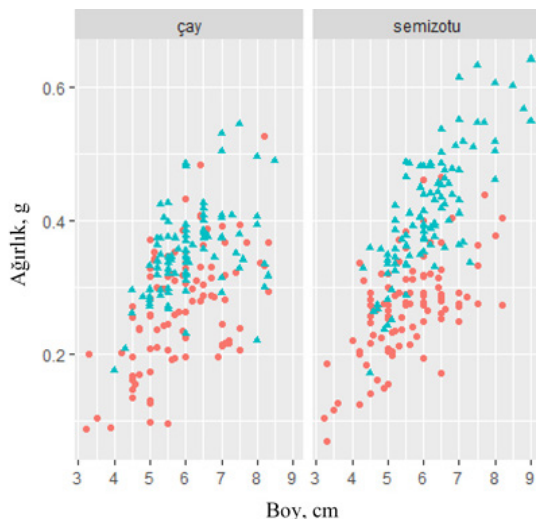
Solucanların ortalama ağırlıkları ise hem bitki çeşidi hem de süreç bakımından istatistik olarak önemli bir farklılık göstermiştir ($p < 0,001$, Tablo 2). Her iki besin grubu ile beslemede solucan örneklerinin büyüme parametrelerinde bir artış görüldüğü, bu artışın semizotu ile beslenmede daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 1 ve 2). Bu süreçte her iki besi ortamında solucanların üremelerinin de devam ettiği ve kokon oluşumlarının mevcut olduğu gözlenmiştir.

Tablo 1. Mikroplastik absorpsiyonuna maruz bırakılmamış çay ve semizotu ile zenginleştirme işlemi uygulanan *E. fetida* örneklerinin ortalama boy (TL, cm) ve ortalama ağırlık (W, g) \pm standart sapma değerleri

Parametre	N	1. Gün	N	30. Gün
Çay				
TL	96	5,9 \pm 1,13	91	6,09 \pm 1,01
W	96	0,3 \pm 0,09	91	0,35 \pm 0,07
Semizotu				
TL	100	5,55 \pm 1,08	99	6,18 \pm 1,02
W	100	0,27 \pm 0,07	99	0,41 \pm 0,09



Şekil 1. Mikroplastik uygulama öncesi çay ve semizotu bitkileri ile beslenen solucanların ilk gün ve 30 gün sonrasında ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerlerini gösteren kutu grafikleri. Kırmızı çay, turkuaz semizotu besi ortamında yetişen solucanları göstermektedir.



Şekil 2. Çay ve Semizotu ortamında beslenen solucanların başlangıç (kırmızı yuvarlak) ve 30. günde (yeşil üçgen) kaydedilen boy (cm) - ağırlık (g) ilişkisi

Mikroplastığe maruz bırakılan solucanların uygulama başlangıcından sonuna kadar ortalama boylarında % 4 - % 7 oranında bir artış gözlenirken, ağırlıklarında ise bazı gruplarda artış (PBP %10, PBP tekrar % 6) gözlenirken PMMA ve PS gruplarında ağırlıklarında ya çok az % 0,5 ve %-19 kadar bir azalma olmuştur (Tablo 3). PBP tekrar grubunda deney daha küçük solucan grubu ile başlamış (Tablo 3, Şekil 3), ilk 42 günde hızlı bir boy ve ağırlık artışından (sırasıyla % 25,9 ve % 31,7) sonra bu artış boy ve ağırlıkta sırasıyla %2 ve %0'a gerilemiştir (Tablo 3). Mikroplastik uygulamalarına maruz bırakılan solucanların boy-ağırlık grafiklerine bakıldığında büyüme parametrelerinin PBP grubunda en az olmak üzere diğer gruplarda daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4). Uzun süreli pigment maruziyetinin *E. fetida* türü toprak solucanının büyüme parametrelerini olumsuz yönde etkileyebileceği söylenebilir. Bununla birlikte her iki PBP uygulamasında da solucanlarda üreme ve kokon oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca diseksiyon yapılan solucanların sindirim kanalında pigment mikroplastiklerine rastlanmıştır (Şekil 5).

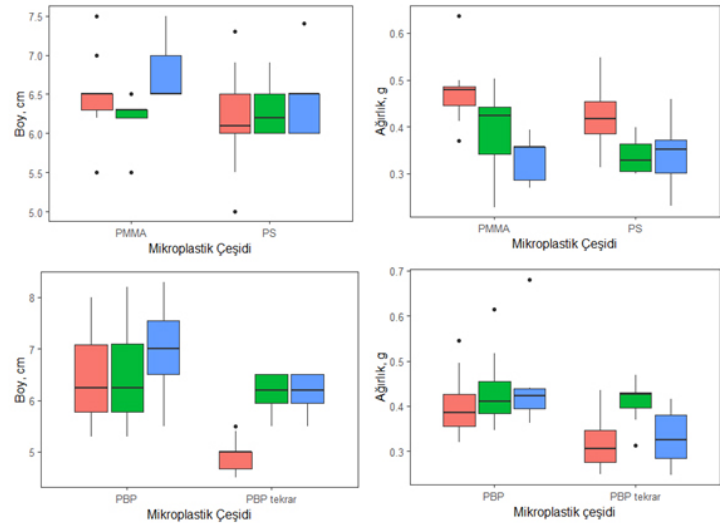
Tablo 2. Mikroplastik uygulama öncesi çay ve semizotu bitkileri ile beslenen solucanların ilk gün ve 30 gün sonrasında ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerlerinin iki yönlü ANOVA sonuçları

Solucanların Boyu, cm					
Gruplar	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Bitki	1,00	1,30	1,29	1,14	>0,05
Süreç	1,00	17,90	17,93	15,88	<0,001
Bitki:Süreç	1,00	4,00	4,02	3,56	>0,05
Toplam	382,00	431,20	1,13		
Solucanların ağırlığı, g					
Bitki	1,00	0,10	0,10	15,36	<0,001
Süreç	1,00	1,22	1,22	184,24	<0,001
Bitki:Süreç	1,00	0,10	0,10	14,75	<0,001
Toplam	382,00	2,52	0,01		

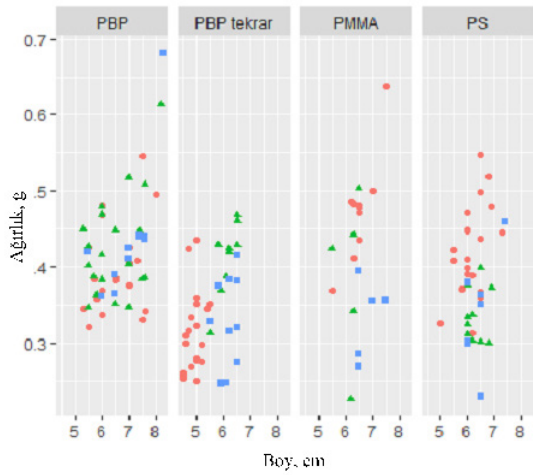
Tablo 3. Mikroplastik absorpsiyonuna maruz bırakılmış *E. fetida* örneklerinin ortalama boy (TL, cm) ve ortalama ağırlık (W, g) ± standart sapma değerleri

	N	1. Gün	N	21. Gün	N	42. Gün
PMMA+semizotu						
TL	10	6,48±0,52	5	6,16 ±0,39	5	6,80±0,45
W	10	0,48±0,07	5	0,39 ±0,11	5	0,33±0,05
PS+semizotu						
TL	20	6,18± 0,53	10	6,31±0,34	7	6,41±0,50
W	20	0,42±0,06	10	0,34±0,04	7	0,34±0,07
PBP+çay						
TL	20	6,46±0,84	20	6,48±0,87	10	6,94±0,84
W	20	0,40±0,06	20	0,43±0,07	10	0,44±0,09
PBP tekrar + çay						
	N	1.Gün	N	42.Gün	N	84.Gün
TL	20	4,90±0,29	10	6,17±0,35	10	6,17±0,34

Mikroplastik uygulamaları, süreç ve her iki faktör birlikte mikroplastik maruziyetine bırakılan iki grup solucanın ortalama boylarının farklılaşmasında etkili olmamıştır ($p>0,05$), solucanların ortalama ağırlık değerlerinin gruplar arasında farklılaşmasında süreç etkili olmuştur (Tablo 4). Yapılan TUKEY testi sonucuna göre ağırlık bakımından PS ile PMMA ($p<0,001$) ve süreç bakımından başlangıç ve 42. gün ile başlangıç ve 84. günler ($p<0,001$) arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur. Bununla birlikte PBP ve PBP tekrar uygulamasında süreç açısından ortalama boy ve ortalama ağırlık değerleri arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuş (Tablo 5), yapılan TUKEY testinde ortalama boy değerleri için başlangıç-42.gün ($p<0,05$) ve başlangıç-84 gün ($p<0,001$) arasındaki farklılık ve ortalama ağırlık değerleri için başlangıç-42.gün ($p<0,001$) değerleri arasındaki farklılık istatistik olarak önemli bulunmuştur (Şekil 3).

Şekil 3. Mikroplastik uygulaması yapılan solucan gruplarının uygulama sürecinde ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerleri kırmızı başlangıç, yeşil 21. gün, mavi 42. gün (PBP tekrar uygulamasında yeşil ve mavi sırasıyla 42. gün ve 84. gün ölçümlerini ifade etmektedir).**Tablo 4.** PMMA ve PC'e maruz bırakılan solucanların başlangıç, 21. ve 42. günde ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerlerinin iki yönlü ANOVA sonuçları

	N	1. Gün	N	21. Gün	N	42. Gün
Solucanların Boyu, cm						
Gruplar	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P	6,80±0,45
Mikroplastik Uygulamaları	1	0,62	0,62	2,68	>0,05	0,33±0,05
Süreç	2	0,76	0,38	1,65	>0,05	6,41±0,50
Mikroplastik Uygulamaları:Süreç	2	0,57	0,28	1,24	>0,05	0,34 ±0,07
Toplam	51	11,71	0,23			6,94±0,84
Solucanların ağırlığı, g						
Mikroplastik Uygulamaları	1	0,02	0,02	3,57	>0,05	84.Gün
Süreç	2	0,13	0,07	15,60	<0,001	6,17±0,34
Mikroplastik Uygulamaları:Süreç	2	0,01	0,004	0,9911	>0,05	
Toplam	98	0,44	0,004			



Şekil 4. Çeşitli mikroplastik maruziyetine bırakılan solucanların başlangıç (kırmızı yuvarlak) ve 21. gün (yeşil üçgen) ve 42. Gün (mavi kare) kaydedilen boy (cm) - ağırlık (g) ilişkisi (PBP tekrar uygulamasında yeşil ve mavi sırasıyla 42. gün ve 84. gün ölçümlerini ifade etmektedir).



Şekil 5. *E. fetida* türü solucanın sindirim kanalında PBP parçacıkları

Solucanların Boyu, cm					
Gruplar	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Süreç	1	13,49	6,74	8,91	<0,001
Toplam	87	65,87	076		
Solucanların ağırlığı, g					
Süreç	2	0,07	0,04	6,69	<0,05
Toplam	87	0,44	0,004		

Tablo 5. PBP ve PBP tekrar uygulamasına maruz bırakılan solucanların 21 günlük ara ile üç dönemde ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerlerinin 42 günlük ara ile üç dönemde ölçülen ortalama boy ve ağırlık değerlerinin tek yönlü ANOVA sonuçları

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada mikroplastik maruziyetine bırakılan *E. fetida* türü toprak solucanlarının büyüme parametrelerine etkileri incelenmiştir. Solucanların semizotu besi ortamında daha iyi büyüme performansı gösterdikleri gözlemlenmiş ve semizotu solucanlar için iyi bir besi ortamı olmuştur. Semizotu kadar iyi besi ortamı olmamasına rağmen PBP ile birlikte uygulanan çay besi ortamında özellikle 42. günde her iki tekrar denemede de benzer şekilde ağırlıklarında artış olmuştur. Bu artış PBP'nin solucanlar tarafından

besin olarak tüketilebileceğini düşündürmektedir. Ancak bu çıkarımdan önce bağırsaklardan PBP absorpsiyonunu gösterecek bilimsel çalışmaların yapılması önerilir.

Un kurtlarının (*Tenebrio molitor*) PS'yi besin olarak tükettiklerine dair çalışma bulunmaktadır (Yang ve ark 2015). Ancak bu çalışmada PS besi ortamında *E. fetida* bireylerinin gelişmedikleri görülmüş ve PS'yi besin olarak tüketmedikleri sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte PS *E. fetida* bireylerine mikroplastik olarak verilmemiş, sadece yaşama ortamı olarak sunulmuştur. PS'nin besin olarak kullanılabilirliğinin canlılara mikroplastik boyutlarında veya en azından tüketilebilecek boyutlarda veya şekillerde sunulmak suretiyle tekrar test edilmesi önerilir.

PBP uygulamasında 42. günde boy ve ağırlıklarda önemli artışlar gözlemlenmiştir, ancak 84. günde yapılan ölçümlerde ortalama ağırlıktaki azalma besin yetersizliği veya mikroplastığın negatif etkilerinden kaynaklanmış olabilir. Mikroplastik etkisini anlamak için bu denemelerin daha uzun süreli planlanarak tekrarlanması önerilir.

PMMA uygulamasında solucanların ortalama boy değerlerinde artış gözlemlenirken ortalama ağırlık değerlerindeki azalma, ortamdaki PMMA'nın solucanların beslenmesini olumsuz etkilemesi (sindirim kanalını tıkkama, toksik etki vs.) ya da besin yetersizliği olabilir. PMMA stres koşullarında kokon ve larva oluştuğu gözlemlenmiştir. Savaş pilotlarında

PMMA kaynaklı yaralanmalarda PMMA'nın vücutta herhangi bir hasara yada enfeksiyona neden olmadığı anlaşılmış ve doku içinde de kullanılmaya başlanmıştır (Kümbüloğlu ve Oral, 2013). PMMA'nın mekanik hasara uğramasıyla toksik monomer MMA (metil metakrilat)'ın 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. PMMA'nın

farelerde bağışıklık sistemini etkilediği (Frick ve ark., 2006), solucanları strese soktuğu ve bu sebeple enzim aktivitesini arttırdığı, solucanların bağırsaklarında histopatolojik zararlara yol açtığı kaydedilmiştir (Rodriguez-Seijo ve ark., 2017). Bu çalışmada PMMA'nın enzim aktivitesi ve histolojik incelemeleri üzerine çalışma yapılamamıştır. Mikroplastik besi ortamı maruziyetine bırakılan solucanlarda meydana gelen ağırlık kayıpları, canlıların sindirim kanalındaki hasarlar sebebiyle olabilir. 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.

Teşekkür

Bu çalışma Elif Menteş'in Yüksek Lisans tez çalışmasının bir bölümüdür ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

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.
- Besseling, E., Wang, B., Lürling, M. & Koelmans, A. A. (2014). Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna*. *Environmental Science & Technology*, 48(20): 12336-12343.
- Chambers, J. M., Freney, A. & Heiberger, R. M. (1992). Analysis of variance; designed experiments. Chapter 5 of Statistical Models in Eds. J. M. Chambers & T. J. Hastie, Wadsworth & Brooks/Cole.
- Christaki, U., Dolan, J. R., Pelegri, S. & Rassoulzadegan, F. (1998). Consumption of picoplankton-size particles by marine ciliates: Effects of physiological state of the ciliate and particle quality. *Limnology and Oceanography*, 43(3): 458-464.
- Ciszewska, J., Kecik, T., Legec, E., Zydecki, M. & Switka-Wieclawska, I. (1997). Does Nd: YAG laser beam damage to artificial intraocular lenses cause depolymerization of PMMA?. In Laser Technology V: Applications in Medicine and Ecology International Society for Optics and Photonics, 3188: 112-115.
- 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.
- 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): 423-433.
- 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.
- Huerta Lwanga, E., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salánki, T., Van Der Ploeg, M., Besseling, E., Koelmans, A. A. & Geissen, V. (2016). Microplastics in the terrestrial ecosystem: implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Environmental Science & Technology*, 50(5): 2685-2691.
- 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). Biomateryaller. *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*, 227: 1-53.
- Rillig, M. C., Ziersch, L. & Hempel, S. (2017). Microplastic transport in soil by earthworms. *Scientific Reports*, 7(1): 1362.

Koordinasyon birimi tarafından FYL-2017-1263 nolu proje ile desteklenmiştir.

ETİK STANDARTLARA UYUM

Yazarların Katkısı

EM, deney düzeneklerinin kurdu, deneme sürecini takip etti, verileri topladı ve makale taslağını hazırladı. **ŞYÖ**, çalışma fikrini oluşturdu, çalışmayı tasarladı, denemelerin kurgulanmasını yaptı, istatistik analizleri yaptı ve makale taslağını düzenleyerek dergiye hazır hale getirdi. Tüm yazarlar makalenin son halini incelemiş ve dergiye sunulmayı onaylamışlardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını deklare etmektedir.

Etik Onay

Yazarlar bu tür bir çalışma için resmi etik kurul onayının gerekli olmadığını bildirmektedir.

- R Core Team, (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- R Studio Team, (2020). R Studio: Integrated development for R. R Studio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- 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.
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V. & Lehtiniemi, M. (2014). Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental Pollution*, 185: 77-83.
- 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.
- Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J. & Janssen, C. R. (2013). Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution*, 182: 495-499.
- 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.
- Wang, T., Hu, M., Song, L., Yu, J., Liu, R., Wang, S., Wang, Z., Sokolova, I. M., Huang, W. & Wang, Y. (2020). Coastal zone use influences the spatial distribution of microplastics in Hangzhou Bay, China. *Environmental Pollution*, 266: 115137.
- 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.