

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**İMİDAKLOPRİD İNSEKTİSİTİNİN BAZI TOPRAK BAKTERİLERİYLE
BİYOİSLAHININ İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ulaş DEMİRCİ

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan Önder ERGÜVEN
TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İMİDAKLOPRİD İNSEKTİSİTİNİN BAZI TOPRAK BAKTERİLERİYLE
BİYOİSLAHININ İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ulaş DEMİRCİ
(162102105)

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan Önder ERGÜVEN

TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İMİDAKLOPRİD İNSEKTİSİTİN BAZI TOPRAK BAKTERİLERİYLE
BİYOİSLAHININ İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ulaş DEMİRCİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 18/12/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan
Önder ERGÜVEN
(Munzur Üniversitesi)
DANIŞMAN

İmza:.....

Doç. Dr. E. Işıl ARSLAN
TOPAL
(Fırat Üniversitesi)
ÜYE

İmza:.....

Doç. Dr. Mehtap Tanyol
(Munzur Üniversitesi)
ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB017-18

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Bu çalışmada, ülkemizin özellikle Akdeniz bölgesinde pamuk, antep fıstığı, domates, biber ve patlıcan yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan imidakloprid etken maddeli insektisit in bazı toprak bakterileriyle biyoislahı üzerinde durulmuştur. Çalışmada izole edilen bakterilerin bulunduğu tarım toprağı Adana ili Alihocalı mahallesinde pamuk yetiştiriciliğı yapılan bir tarladan alınan toprak örneklerinden temin edilmiştir. Bu maksatla insektisit in tarım arazilerinde kullanılması tavsiye edilen konsantrasyonları baz alınarak hazırlanan çözeltilerinin içine zirai alandan izole edilen ve zenginleştirilen bazı bakteri türleri ilave edilmiş ve yedi-on dört gün boyunca 24'er saatte bir olmak üzere alınan örneklerde kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ₅), toplam organik karbon (TOK), pH ve çözünmüş oksijen ölçümleri yapılarak biyoislah izlenmesi takip edilmiştir.

Bu maksatla izole edilen ve zenginleştirilen bakteriler hem sıvı hem de laboratuvar da oluşturulan yapay tarla düzeneklerine aş ılanmış ve sıvı ortamlarda ve topraktan elde edilen süzüntülerde haftada bir yapılan deneylerle söz konusu parametrelerde ne ölçüde bir değ işime uğradıkları gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: İmidakloprid, insektisit, kimyasal oksijen ihtiyacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, toplam organik karbon

ABSTRACT

In this study, bioremediation of insecticide that has an active ingredient of imidacloprid which is widely used in the Mediterranean region of our country on the cultivation of cotton, pistachio, tomato, pepper and eggplant has been investigated via some soil bacteria. Agricultural soil for isolation of bacteria used in this study are gained in a cotton cultivation area from Alihocali main street in Adana province. For this purpose isolated and enriched bacteria added to prepared based advised concentrations of insecticide in agricultural area and in seven-fourteen days period, each 24 hours, chemical oxygen demand (COD), biochemical oxygen demand (BOD), total organic carbon (TOC), pH and dissolved oxygen parameters are performed and bioremediation studies monitored.

For this purpose, isolated and enriched bacteria are added to both liquid and artificial agricultural field and changing of these parameters are monitored once a week from the filtrates gained from this liquid and soil media.

Key words: Imidacloprid, insecticide, chemical oxygen demand, biochemical oxygen demand, total organic carbon.

TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın planlanması, hayata geçirilmesi, deneylerinin yapılması, tezimin yazımı ve diğer bütün aşamalarında her daim yanımda olan maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen bilgi, deneyim ve tecrübesinden faydalandığım saygıdeğer danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökhan Önder ERGÜVEN'e değerli katkısından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca verilerin İstatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Numan YILDIRIM' a, Laboratuvar imkanlarından faydalanmam hususunda tecrübeleriyle bana yol gösteren Anabilim Başkanımız Sn Doç. Dr. Mehtap TANYOL' a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu tez Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (MUNİBAP), tarafından YLMUB017-18 nolu proje olarak desteklenmiş olup sağlanan maddi destek için, Munzur Üniversitesi-MUNİBAP'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans çalışmam süresince maddi, manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ulaş DEMİRCİ
TUNCELİ-2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜRLER.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR.....	VX
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyoislah Sürecine Etki Eden Faktörler	5
1.2. Bakteriyel Biyoislah	7
1.3. Biyoparçalayıcıların Avantaj ve Dezavantajları	9
1.4. Biyoislah ve Biyodegradasyon	12
1.5. Pestisit Biyoislahının Metabolik Göstergeleri	14
1.6. Organoklorinler.....	15
1.7. Organofosfatlar	15
1.8. Karbamatlar	16
1.9. Piretroidler	16
1.10. Pestisit Biyoislahının Gelecekteki Perspektifi.....	17
2. MATERYAL VE METOD	19
2.1. Tarım Alanının Belirlenmesi ve Toprak Örneklerinin Toplanması.....	19
2.2. Tarım Toprağının Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Yapılan Çalışmalar	21
2.2.1. pH ve tuzluluk analizi.....	21
2.2.2. Kireç analizi.....	21
2.2.3. Suyla doygunluk testi	22
2.2.4. Organik madde analizi.....	22
2.2.5. Toplam azot tayini (Kjeldahl).....	22
2.2.6. Alınabilir fosfor ve alınabilir potasyum	23
2.2.7. Katyon değişim kapasitesi (KDK).....	23
2.2.8. Toprak bünyesi (Tekstürü) tayinleri	24

2.3. Toprak Örneklerinden Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu	25
2.4. İnsektisit Çözeltilerinin Hazırlanması	28
2.5. İnsektisit Biyoislah İşlemi ile Giderimi	28
2.5.1. Sıvı ortamda yapılan biyoislah çalışmaları.....	28
2.5.2. Toprak ortamında yapılan biyoislah çalışmalar	29
2.6. İnsektisit Azalımının Takibine Yönelik Yapılan Çalışmalar.....	30
2.6.1. Biyokimyasal oksijen ihtiyacı tayini (BOİ5).....	30
2.6.2. Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) tayini	31
2.6.3. Toplam organik karbon (TOK) tayini	32
2.6.4. pH ve çözünmüş oksijen tayini.....	32
2.7. İstatistiksel Analizler	32
3. BULGULAR.....	34
3.1. Tarım Toprağının Özellikleri.....	34
3.2. Mikrobiyal Tür Teşhis Sonuçları.....	35
3.3. Biyoislah Çalışmaları Sonuçları	35
3.3.1. Sıvı ortamda yapılan biyoislah çalışmaları sonuçları.....	35
3.3.2. Toprak ortamında yapılan biyoislah çalışmaları sonuçları.....	40
4. SONUÇLAR.....	42
5. ÖNERİLER.....	45
KAYNAKÇA.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Toprak, su ve havada biodegradasyonu ve biyoyıslahı etkileyen faktörler.	6
Şekil 2.1. Çalışma sahası ve istasyonları gösteren harita	20
Şekil 2.2. Tekstür (Bünye) üçgeni	25
Şekil 2.3. Mikrobiyal türlerin belirlenmesi için gerçekleştirilen adımların şematik gösterimi	27
Şekil 2.4. Orion 5 Star multiparametre cihazı	28
Şekil 2.5. Çalışmada kullanılan toprak-süzüntü düzeneği.....	30
Şekil 2.6. AL 606 Oxitop cihazı	31
Şekil 2.7. KOİ ölçüm cihazları	31
Şekil 3.1. Çalkalayıcılı inkübatör	36
Şekil 3.2. Bakteri türlerinde ve karışımlarında sıvı ortamda KOİ azalışı.....	37
Şekil 3.3. Bakteri türlerinde ve karışımlarında sıvı ortamda BOİ ₅ azalışı.....	37
Şekil 3.4. Bakteri türlerinde ve karışımlarında sıvı ortamda TOK azalışı.....	38
Şekil 3.5. Bakteri türlerinde ve karışımlarında Ç.O değişimi.....	39
Şekil 3.6. Bakteri türlerinde ve karışımlarında pH azalışı	39
Şekil 3.7. Bakteri türlerinde ve karışımlarında toprak ortamında KOİ azalışı	40
Şekil 3.8. Bakteri türlerinde ve karışımlarında toprak ortamında BOİ ₅ azalışı.....	41
Şekil 3.9. Bakteri türlerinde ve karışımlarında toprak ortamında TOK azalışı.....	41

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Pestisitlerin hedef aldıkları canlılara göre sınıflandırılması.....	3
Tablo 1.2. Görev alan organizmaya bağlı olan biyolojik yöntemleri.....	4
Tablo 1.3. Bazı iyileştirme yöntemlerinin avantaj ve özellikleri	10
Tablo 1.4. Son yıllarda bazı pestisitlerin biyolojik üzerine çalışılan mikroorganizmalar ve pestisit türleri	12
Tablo 2.1. Toprağın kireç içeriğine göre sınıfı	21
Tablo 2.2. Absorbe edilen toplam su miktarına göre bünye sınıfları	22
Tablo 3.1. Tarım toprağının özellikleri	20
Tablo 3.2. Biyolojik için gerekli toprak özellikleri	35
Tablo 3.3. Tür teşhis sonuçları	35

KISALTMALAR

TOK	:	Toplam Organik Karbon
KOİ	:	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
BOİ ₅	:	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
DDT	:	Diklorodifeniltrikloroetano
KDK	:	Katyon Değişim Kapasitesi
FKT	:	Fırın Kuru Toplam Ağırlığı
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DGGE	:	Denature Gradyan Jel Elektroforozu
rRNA	:	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
EC	:	Elektriksel Kondaktivite
PCA	:	Plate Count Agar
SDB	:	Sabouraud Dekstrozu Agar

1. GİRİŞ

Son 50 yılda pestisitler tarımsal yaşamın önemli bir parçası haline gelmiştir. Pestisit kullanımı her ne kadar tarımsal üretim miktarını arttırmaya yönelik olsa da üretimindeki ve tarımsal endüstrisindeki sahip olduğu payının artışı bu maddelerin gereğinden fazla kullanımını gündeme taşımıştır (Oliveira-Silva ve ark., 2001). Bu maddelerin faydalarına ilave olarak toksik etkileri aynı zamanda çevresel risk taşırlar. (Golfopoulos ve ark., 2003).

Pestisitler toprağa direkt ya da toprak üzerindeki bitki örtüsüne uygulanırlar ve böylelikle alıcı ortamlara kolayca ulaşırlar (Goncalves ve ark., 2006). Böylelikle pestisitlerden kaynaklanan çevresel zararlar toplum sağlığına ve doğal habitata tesir eder (Liu ve ark., 2010). Pestisitler, insan sağlığı, fauna ve çevre açısından en çok zarara yol açan kirletici gruplarından (Vega ve ark., 2005). Pestisitler, uygulamadan hemen sonra uygulama alanına ve uygulayıcıya nüfuz eder ve olumsuz etkileri baş göstermeye başlar (Konradsen ve ark., 2003).

Mikroorganizmaların biyoslahı, kalıcı organik kirleticilerin detoksifikasyonunda konvensiyonel, kimyasal ve fiziksel metodlara kıyasla çevre dostu bir arıtım modelidir. Bununla beraber, kalıcı organik kirleticilerin biyoparçalanmaları gibi uygulamalar biyoslahı örnek olarak gösterilmektedir (Zotti ve ark., 2013). Bakteri ve mantarların birçok türleri kalıcı çok aromatik hidrokarbonların ve diğer petol türevlerinin biyolojik parçalanmalarında görev alır (Bacosa ve ark., 2010; Gemmell ve ark., 2016). Mikrobiyal popülasyonların organik materyalleri biyoparçalama özelliği oldukça yüksektir.

Toprağın karmaşık bir yapıya sahip olmasından dolayı pestisitlerin parçalanmaları sıcaklık, pH, nem, bitki örtüsü türü gibi birçok farklı sebebe dayanmaktadır. Birçok araştırmacıya göre toprak pH'ı, perstisit uygulama hızı ve zamanı, toprağın organik madde içeriği pestisit parçalanmasında temel faktörlerdir. Bu faktörlerden toprak nemi ve sıcaklığı pestisit uygulama şartlarını etkilemektedir (Ghadiri ve Rose, 2001). Pestisitlerin topraktaki kalıcılığı kimyasal ve biyolojik bir parçalanma olarak ele alınırsa toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleriyle de düşünülmesi kaçınılmazdır. Toprak karakterizasyonu iklim, ana toprak materyali, içinde bulundurduğu canlı organizma ve bitki örtüsüne bağlı olarak değişebilir (Karasali ve ark., 2016).

Herbisitlerin biyoparçalanabilirliği toprağın nem, sıcaklık, alıkonma süresi, geçirgenlik, besi maddesi içeriği, oksijen seviyesi, mikrobiyal popülasyonu ve pestisit çözünürlüğü gibi parametrelerden etkilenir (Fernandes ve ark., 2013). Biyoparçalanmayı gerçekleştiren bazı mikroorganizmalar doğada bulunurlar. Son yıllardaki çalışmalar pestisitleri mikroorganizmalar aracılığıyla gidermeye odaklanmıştır. Pestisitlerin biyoparçalanabilirliği pestisite maruz kalmış alanlarda doğrudan görülmektedir (Antonious 2012). Pestisitlerin ekosistemdeki akıbeti toprakta ve suda çeşitli faktörlerle parçalandıkları için oldukça önem arz etmektedir. Pestisitlerin ve kalıntılarının toprak ortamında izlenmesinin zorunlu olmasından dolayı pestisitlerin toprak kalitesine ve sağlığıyla beraber topraktaki mikrobiyal aktivitesine de göz atmak gerekmektedir. Günümüzde çevrecilerin birincil konuları metabolitlerin topraktan bertarafına yöneliktir. Pestisitlerin toksik etkileri bitkilerin veya mikroorganizmaların kullanımıyla meydana gelen biyoislah prosesleri ve bu prosesler sonucunda oluşan çeşitli metabolik yan ürünlerle azaltılmaktadır (Chowdhury ve ark., 2008). Dünya genelinde birçok çalışma toprak kirleticilerinin tanımlanması üzerine yapılmışken bazı çalışmalar ise pestisitle kirlenmiş alanların pestisitlerden arındırılmasında görev alan mikroorganizmaları tanımlamaya yöneliktir. Bakteriler tarafından herbisitlerin parçalanması çok çalışılan bir konudur (Radosevich ve ark., 1995; Struthers ve ark., 1998; Bending ve ark., 2003)

Pestisitler tarımsal üretimde zararlıları ortadan kaldırmak veya bunları tolere edilebilir bir düzeyde tutmaya yararlar. “Pest” kelimesinin sonuna eklenen “cide”, “ölüm” anlamındadır ve böylece “pestisit” terimi zararlıları ortadan kaldıran kimyasal madde olarak tanımlanır. Pestisitleri sadece yabancı böcek türlerini ortadan kaldıran maddeler olarak tanımlamak yetersiz bir yaklaşımdır. Pestisitler birçok farklı üretimi içinde barındırır ve dolayısıyla hedef aldığı türler de çeşitlilik gösterir (Tablo 1.1). Pestisit kelimesi zararlıların türleriyle kombine edilerek kullanılır (Norris, 2011).

Tablo 1.1. Pestisitlerin hedef aldıkları canlılara göre sınıflandırılması

Pestisit	Hedef Tür
Algisitler	Algler
Avisitler	Kuşlar
Bakterisitler	Bakteriler
Fungisitler	mantarşar
Insektisitler	Böcekler
Akarisitler	Kemirgenler
Mollusisitler	Sürüngenler
Nematisitler	Nematotlar
Rodentisitler	Rodentler
Virücitler	Virüsler
Algicitler	Algler

Pestisitler toksik özelliklerine, kimyasal gruplarına, çevredeki kalıcılıklarına, hedef aldıkları organizmalara veya diğer özelliklerine göre sınıflandırılabilirler. Kalıcı Organik Kirleticiler ile ilgili Stokholm’de gerçekleştirilen bir konferansta 12 kalıcı organik kirleticinin 9’u pestisitler olarak belirlenmiştir. Organik (organik moleküler yapıya sahip olanlar) pestisitler organoklorine, organofosfat, organometalic, piretroid ve karbomatlar arasında yer almaktadır (Gilden ve ark., 2010). Birçok pestisit organizmaya ulaştığında olumsuz etkiler gösterir. Toksik etkilerin yoğunluğu zamana, doza, organizma karakteristik özelliklerine, çevredeki varlığına veya pestisit karakterizasyonuna bağlıdır. Çevredeki varlığı ve organizmaya verilen dozu bu organizmanın hayatta kalma mücadelesini etkilemektedir. Böylece çevredeki pestisit varlığı yaşam için bir risk oluşturur. Daha fazla kalıcı olan pestisit, daha fazla çevresel etki anlamına gelir. Çevredeki pestisit varlığı organizmanın fizikokimyasal özelliklerine ne kadar çok etki ederse organizmanın pestisiti parçalayabilme yeteneğini de zorlamış olmaktadır. Işık, ısı veya nem bazı pestisitlerin buharlaşma veya parçalanma yoluyla ortamdan azalmasına neden olur (Sibanda ve ark., 2011).

Organizmanın sebep olduğu parçalanmayla (biodegradation) beraber çevredeki pestisit miktarı da azalmaktadır. Bu sayede kirleticilerin tahammül edilemez ölçekteki olumsuz etkileri organizmalarla ortadan kaldırılabilir. Bu etkileşime “biyoislah” denir.

Organizmaların pestisitleri biyolojik olarak ıslah edebilme özellikleri bunların biyoıslah özelliklerine bağlıdır. Biyoıslah ilk olarak mikroorganizmalarla gerçekleşmesine rağmen, bitki ve alg gibi diğer organizmalarca da gerçekleştirilebilir.

Bioıslah kelimesi bunu izah etmek için tek başına yeterli olmayabilir. Bu noktada, biyoıslah terimini anlamak için bazı kelimeler kullanılmaktadır.

“Bioıslah”, kirleticilerin çevreden gelen istenmeyen etkilerini ortadan kaldırmak için kullanılan herhangi bir yöntemi ifade eder. Kirletici maddelerin ortadan kaldırılması arzu edilir, ancak bu her zaman mümkün değildir; yine de bazı organizmalar pestisitleri sınırlandırabilir veya etkisiz hale getirebilir. Örneğin organizmalar kirletici maddeleri biriktirebilir ve çevresel etkilerini azaltabilir, ancak bunları ortamdan tamamen uzaklaştırmaz. Gerçekte kullanılan “Fitoekstraksiyon” gibi (EPA, 2006) yöntemler de “biyoıslah” kavramına dahil edilmelidir. Bioıslah yapabilen organizmalar “biyoremediatör” olarak adlandırılır.

Biyoremediasyon genellikle mikroorganizmalar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, son yirmi yılda bitkileri, mantarları, yosunları veya organizmalardan elde edilen enzimleri kullanarak biyoremediasyon üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Fitodemasyon veya rizoremediasyon gibi ifadeler de kullanılmıştır (Kuiper ve ark., 2004). Kullanılan organizma çeşitlerine bağlı olarak adlandırılan biyoıslah yöntemleri (Tablo 1.2)’de gösterilmektedir.

Tablo 1.2. Görev alan organizmaya bağlı olan biyoıslah yöntemleri

Biyoremediatör organizma	Yöntem
Mikroorganizma	Mikrobiyoıslah veya Bioıslah
Bakteri	Bakteriyel biyoıslah
Mantar	Mikoremediasyon
Bitki	Fitoremediasyon
Rizosfer	Rizoremediasyon
Alg	Fikoremediasyon

Biyolojik bozunma ve biyotransformasyon kavramları geniş bir şekilde örtüşür, böylece görünüşte eş anlamlıdırlar. Biyolojik bozunma, bileşiğin kimyasal yapısını değiştiren biyolojik reaksiyonları içerir, dolayısıyla bu durum, toksisitede bir düşüş anlamına gelir. Biyotransformasyon ise bunun aksine kirletici konsantrasyonunu ya modifikasyon ya da translokasyon ile azaltır. Böylece, biyotransformasyon azalan veya

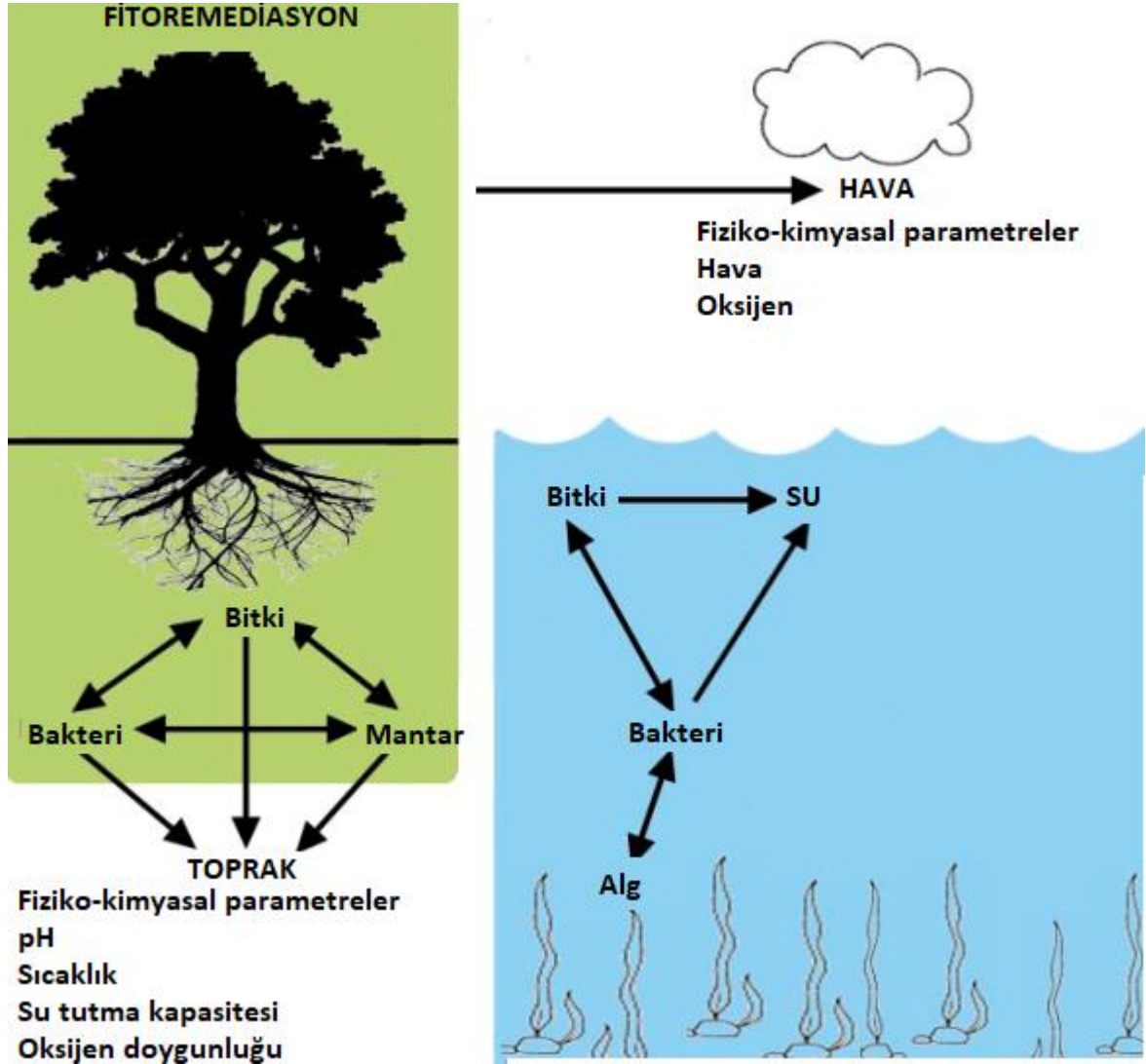
istenmeyen etkileri artırabilir. Biyolojik bozunma meydana gelmediğinde, ancak biyo dönüşüm gerçekleşir ki bu da kirletici maddelerin yer değiştirmesi anlamına gelir (Parkinson, 2001) Biyotransformasyon ve biyolojik bozunma kirletici maddelerin organizmalara verdikleri istenmeyen etkilerin ortadan kaldırılmasının amaçladığı biyoremediasyon yöntemlerine ait kavramlardır.

Belli bir bileşiği biyodegrade edebilen organizma için “Biyoparçalayıcı” kelimesi kullanılmaktadır. “Mineralleşme”, biyolojik olarak asimile edilebilen CO₂ veya NH₃ gibi bileşiklere yol açan biyodegradasyonu ifade eder (Alexander, 1999).

Biyoremediasyon hakkındaki ilk çalışmalarda, asıl amaç biyoparçalayıcı mikroorganizmaları veya konsorsiyumu bulmak veya izole etmek olmuştur. Başarılı sonuçlar veren bir çalışmada, Alexander (1999), kirli çevre matrislerinde (toprak, tortu veya su) bulunan çeşitli biyoparçalayıcı konsorsiyumlarını gözden geçirmiştir. Bu adapte olmuş mikroorganizmalar arasında, bazı uygun türler olduğu saptanmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre, pestisitlerin evrimsel baskı uyguladıkları, böylelikle, yalnızca pestisit dozlarını tolere edebilen organizmaların hayatta kalması mümkün olabilmektedir. Bu nedenle, pestisitler tarafından uygulanan evrimsel baskı, bazı toleranslı mikroorganizmaları seçecektir. Buna bağlı olarak, biyoremediasyon çalışmalarında sadece son kirleticilerin konsantrasyonları ölçülmüştür, fakat biyobozunmadan sorumlu biyokimyasal mekanizmalar üzerinde durulmamıştır. Biyolojik bozunma sürecini etkileyen faktörler hakkında daha fazla araştırma, biyoremediasyonun seçimini ve biyoremediasyon teknolojilerinin uygulanmasını geliştirmek için gereklidir.

1.1. Biyoslah Sürecine Etki Eden Faktörler

Mikroorganizmaların biyoslah etkinliği ile ilgili bazı metabolik özellikler araştırılmıştır (Alexander, 1999). Büyüme veya metabolizmayı değiştirebilen herhangi bir faktör de biyodegradasyonu etkilemektedir. Bu nedenle, sıcaklık, pH, su potansiyeli, oksijen ve substrat varlığı gibi çevresel matriksin fizikokimyasal özellikleri, biyolojik bozunma etkinliğini belirlemektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Toprak, su ve havada biodegradasyonu ve biyoslahı etkileyen faktörler (Alexander, 1999).

Bu faktörlere ko-metabolizma da eklenebilir. Bazı mikroorganizmalar, pestisitleri parçalayabilmek için başka alt tabakalara ihtiyaç duyarlar (Alexander, 1999). Bu olgu ko-metabolizma olarak adlandırılır ve özellikle organoklorlu bileşiklerin parçalanması için gereklidir. Ancak, diğer karbon kaynaklarının varlığının organofosfat biyodegradasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir (Hayatsu ve ark., 2000). İnsektisit parçalanması genellikle birden fazla mikroorganizma ile gerçekleşir. Yani her bir mikroorganizma pestisitler üzerindeki biyodegradasyon reaksiyonlarına katkıda bulunur, ancak tek bir suş ile mineralizasyonun hiçbir örneği açıklanmamıştır. Yeterli biyobozunma için farklı mikroorganizmaların ortamda bulunması gerekir. Tespit edilen mikroorganizmalar, bazı bakteriyel sınıflara aittir. Bunlar arasında gamma-proteobakteriler (*Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Plesiomonas*), beta-proteobakteriler (*Burkholderia*, *Neisseria*), alfa-

proteobakteri (*Sphingomonas*), aktinobakteri (*Micrococcus*) ve flavobakteri (*Flavobacterium*) seçkin türlerdir.

Pestisitler, deklorinasyon, parçalanma, oksidasyon, farklı enzimlerle indirgeme gibi biyolojik bozunma reaksiyonlarına maruz kalabilir. Biyodegradasyon, organizmalar tarafından daha kısa sürede gerçekleştiği için gelecek vaad eden bir arıtım modelidir ve detoksifiye edici enzimler tarafından gerçekleşir. Bu sayede biodegradasyon ürünleri elde etmek daha kolaydır. Bu nedenle, bakteriler, doğal veya yapay kirleticilere cevap vermek için daha caziptir. Bu karışık organizmalarda bulunan enzimler, daha iyi biyobozunma kabiliyetine sahiptirler. (Copley, 2009) kirletici biyodegradasyonun etkinliğini belirleyen faktörleri ele almıştır. Bakterilerin iyi biyoparçalayıcı oldukları kanıtlanmış olsa da, bazı mantarlar, bitkiler ve algler de böcek ilaçlarını biyolojik olarak parçalayabilirler. Bioparçalanma türünü bilmek biyoremediasyon yönteminin seçimini kolaylaştırır ve geliştirir. Ayrıca moleküler biyoloji sayesinde, metabolik biyobozunma özelliği biyoparçalayıcılardan başka bir organizmaya aktarılabilir ve böylelikle bozunma yeteneği de geliştirebilir (de la Pena Mattozi ve ark., 2006). Tüm bunları göz önünde bulundurursak, biyodegradasyon enzimlerinin biyoslah süreçlerinde kilit bir rol oynadığı ve en uygun yöntemi tasarlamada veya seçmede yardımcı olabileceği açıktır.

1.2. Bakteriyel Biyoslah

Bakteriler, biyoremediasyon amaçları için yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllardaki çalışmalar bakteri, konsorsiyum veya biyotransformasyon enzimlerinin araştırılması üzerinedir. Hızlı büyüme özelliğinde olmaları, kolay kullanımları ve düşük maliyetleri, bakterileri biyoremediasyon için uygun hale getirir. Ancak, bakteriyel biyokütle, patojenite, biyoaktivasyon ve bertaraf gibi bazı dezavantajları da vardır. Bakteriler toprağa, suya veya havaya yayılmış parçacıklarda bile bulunabilir. Laboratuvar koşullarında sadece küçük bir bakteri fraksiyonu (topraktan % 10) kültürlenebilir (Cycon ve ark., 2009). Bu nedenle, pestisit biyobozunma mekanizmaları ile ilgili çalışmaların sayısı, biyodegrader izolasyonu ile ilgili olanlardan daha azdır ve biyokimyasal mekanizmalar ve enzimler hakkında çok az literatür mevcuttur. Organoklorlu pestisitler için, sadece birkaç biyolojik degradasyon enzimi ve gen tanımlanmıştır.

Bakteriyel biyodegradasyon anaerobik veya aerobik koşullarda gerçekleşebilir. Her iki duruma farklı enzimler katılsa da eğer bir mineralizasyonun meydana gelmesi

bekleniyorsa hem aerobik hem de anaerobik degradasyonun olması gerektiği görülmektedir (Langerhoff ve ark., 2001). Aerobik koşullarda organoklorinin daha yüksek kalıcılığı (Singh ve ark., 1999) enzim yokluğundan veya organoklorin metabolizmasını takiben oksidatif hasara neden olabilir. Heteroatomların (halojenler gibi) veya heteroatom içeren grupların uzaklaştırılması, sıklıkla biyodegradasyondaki ilk basamaklar arasındadır. Bu aşamalar, aerobik koşullarda büyük miktarlarda serbest radikal üretebilen monooksijenazlar, dioksijenazlar veya peroksidazlar (Wackett, 1995) tarafından katalize edilir. Bu nedenle, anaerobik koşullar, organoklorlu pestisitlerin biyodegradasyonu için yeterlidir (EPA, 2006). Bu genellemeye rağmen, bazı organoklorlu pestisitlerin biyotransformasyonu in situ (Qureshi ve ark., 2009) ile gerçekleştirilebilir.

Baczynski ve ark. (2010)'da diklorodifeniltrikloroetano (DDT), metoksiklor ve gama-heksaklorokloheksan (gamma-HCH) 'nin anaerobik biyodegradasyonunun, sıcaklık ve desorbe edilen pestisit oranından etkilendiğini ispatlamıştır. Ayrıca bu koşullarda sadece klor atomunun DDT'den ayrılabilceğini belirlemişlerdir. Bu durum, biyodegradasyonun en az bir klor atomuna sahip moleküller üretebileceğine işaret eden Timothy (2010) tarafından da bildirilmiştir. DDT'yi yaklaşık olarak tamamen ayrıştırabilen *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* ve *Acinetobacter* bakterileri, Meksika'daki Yaqui vadisinden izole edilmiştir (Carrillo-Perez ve ark., 2004). Ancak, biyodegradasyon mekanizması hakkında hiçbir bilgi derlenmemiştir. *Anabaena* (bir çeşit *cyanobacterium*), *Pseudomonas spinosa*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Burkholderia*'nın endosülfanın iyi biyodegraderleri olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2003). *Pseudomona*'nın biyoparçalayıcı KS-2P suşu, endosülfan ile kirlenmiş toprağından izole edilmiştir. Bu suş, endosülfan konsantrasyonunu günden güne doza bağlı bir şekilde azaltabilmektedir. Endosülfanın mineralizasyonu bu çalışmada gözlenmiştir. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Aerobacter*, *Muchor*, *Micrococcus* ve *Burkholderia* cinslerinden mikroorganizmaların, dieldrin ve endrin'i biyolojik olarak bozduğu da gözlemlenmiştir (Matsumoto ve ark., 2009).

Murthy ve Manonmani (2007)'de *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* cinslerinden türler içeren bir biyoparçalayıcı konsorsiyumunu belirlemişlerdir. Biyodegradasyon saatler içinde gerçekleşmiştir. Phillips ve ark. (2005) tarafından yapılan bir başka çalışmada (Phillips ve ark., 2005), birkaç pestisit türünün biyoparçalayıcılarını tanımlanmakta ve listelenmektedir. Bunlar iki bakteri (*Sphingomonas* ve *Pseudomonas*) ve bir beyaz çürük mantar (*Phanerochaete chrysosporium*) olarak gruplandırılabilirler.

Pestisit parçalanmasının aerobik ve anaerobik koşullara ihtiyacı olduğu, diğer bir deyişle, oksijenin toprakta biyoislahı görülmekte, diğer yandan da toprak partiküllerinin anaerobik metabolizma için nişler oluşturabileceği gözlemlenmiştir. Bu durum aynı zamanda, kahve çekirdeklerinde yetiştirilen bakterilerin, yalnız ortamda bulunanlara kıyasla daha iyi biyobozunma sergilediklerini de açıklayabilmektedir. (Barragan-Huerta ve ark., 2007). DDT ve endosulfan için biyodegradasyon zamanlarının karşılaştırılması, farklılıklar gözlenmiştir. Biyolojik bozunma için gereken zamanın artan bir sırayla DDT <endosulfan olduğu tespit edilmiştir. Bu süre kullanılan konsorsiyum veya suşlara göre değişmektedir. Bazı bakterilerin A-esteraz kullanarak parathion (Choi ve ark., 2009)'u bozabileceği gösterilmiştir. Singh ve ark. (2004) topraktan izole ettikleri enterobacterinin Chlorpyrifos, parathion, diazinon, coumaphos ve isazofos'u mineralize edebilecek yapıda olduklarını belirlemişlerdir. Benzer şekilde, *Serratia* ile ilgili bir bakteriyel biyoparçalayıcının da diazinon'u parçalayabileceği bulunmuştur (Abo-Amer 2011). Metilparatyonu hidrolize edebilen *Plesiomonas* ile ilgili bir suşun genomundan bir gen *Escherichia coli*'ye klonlanmıştır (Zhongli ve ark., 2001). *Burkholderia* suşu ile fenitotreyi bozma yeteneğinin plazmidler üzerinde kodlandığı bulunmuştur (Hayatsu ve ark., 2000). Ne yazık ki, diğer karbon veya fosfor kaynaklarının varlığı, organofosfat biyodegradasyonunun etkinliğini azaltmaktadır. Bu durum biyoparçalayıcıların biyoremediasyon üzerine uygulanmasını ciddi şekilde sınırlamaktadır.

1.3. Biyoparçalayıcıların Avantaj ve Dezavantajları

Biyoislah yöntemleri, organik kirletici maddelerin çevreden uzaklaştırılmasını amaçlayan fiziko-kimyasal veya termal işlemlere kıyasla farklı avantajlar göstermektedir (Tablo 1.3). Bunu uygulamak için harcanan enerji için, ekonomik ve insan kaynaklarına rağmen bir yıldan uzun bir süre tutulabilen bu stratejiye bakılabilir. Örneğin, bir pestisit salınımindan sonra, bir defada fizikokimyasal iyileştirme, mikro-biyoremediasyon veya fitomodifikasyon kullanılabilir. Bununla birlikte, yıl boyunca sürekli veya aralıklı bir pestisit salınımı meydana gelirse, bazı yöntemler tekrar uygulanmalıdır.

Tablo 1.3. Bazı biyoislah yöntemlerinin avantaj ve özellikleri

	Fizikokimyasal veya termal remediasyon	Mikrobiyal Biyoislah	Fitoremediasyon
Avantaj/Dezavantaj	Yüksek	Düşük	Düşük
Maliyet	Düşük	Yüksek	Yüksek
Yarar/maliyet oranı	Hayır	Evet	Evet
Çevresel duyarlılığı	Hayır	Evet	Evet
Estetik	Hayır	Kısmen	Evet
Enerji gereksinimi	Evet	Hayır	Hayır
Çeşitli organizmaların metabolizmalarında kullanılabilirliği	Hayır	Evet	Hayır
Biyoislahda kullanılabilirliği			
Toprak	Evet	Evet	Evet
Su	Evet	Evet	Evet
Hava	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Evet
Gereksinimler			
Özel altyapı	Evet	Kısmen	Hayır
Kalıntıların geri arıtımı	Evet	Hayır	Hayır
Biyolojik kontrol veya mikroorganizmaların yok edilmesi	Uygulanmadı	Evet	hayır
Zaman	Kısa	Orta	Uzun
Anahtar noktalar			
Biyolojik birikim	Uygulanmadı	Evet	Evet
Kirletici yan ürünler	Evet	Hayır	Hayır
Besi maddesi ilavesi	Uygulanmadı	Kısmen	Hayır
Oksijen durumu	Kısmen	Kısmen	Hayır

Bitkiler ve çevresindeki gazlar, su ve metabolitlerin değişimi nedeniyle, toprak, su veya havayı biyoremediasyon için kullanılabilirler. Su biyoremediasyonu, toprak boyunca biorilitörlerle süzülerek ya da metalleri biyolojik olarak biriktirebilen sucul bitkiler tarafından in situ olarak elde edilebilir. Bitki-rizosfer ekolojisindeki olan fitokimya, mikroorganizmayı ve bitki biyodegradasyonunu kapsar. Ayrıca, bitkiler rizosfer biyoçeşitliliği ve miktarı üzerinde biyolojik kontrol uygular; aynı şekilde mantarlar ve bakteriler, allelopatinin ve rizosfer mikroorganizmaları arasındaki tüm rekabet etkileşimlerinin bir sonucu olarak onları kontrol ederler. Bunu anlayabilmek için, fitomodifikasyonun mikrobiyoremeden daha fazla zaman alması mantıklıdır, ancak ilk önce substrat girişi gerektirmez ve daha az alt ürün üretir. Bu, fitoremediasyonun mikrobiyoslahtan daha çevre dostu bir teknoloji olabileceğini düşündürmektedir.

Her bir pestisit için az sayıda bioremediator mevcuttur. Örnek vermek gerekirse, bir parathion bioremediator'un organoklorin gibi başka tür pestisitler de dahil olmak üzere diğer organofosfatları etkin bir şekilde biyolojik olarak bozacağı kabul edilemeyebilir. Bu nedenle, her bir pestisit için yeterli biomantar bulunmalıdır. Ayrıca, biobirikimden kaçınmak için, en tatmin edici biyoparçalayıcıları bulmak şarttır.

Pestisitler, zehirli olan böcekler, nematodlar ve kemirgenler dahil zararlıları öldürebilen doğal veya sentetik bileşiklerdir. Böcek ilaçlarının ufkunu genişletmek için, mantar ilaçları ve fungusitler de dahil edilmiştir. İkinci Dünya Savaşı'ndan önce pestisitler çoğunlukla minerallerden veya bitkilerden oluşuyordu. İkinci Dünya Savaşı'nın sona ermesinden bu yana, organoklorinler, organofosfatlar, karbamatlar ve sentetik piretroidler de dahil olmak üzere daha etkili pestisitler yavaş yavaş gelişmiştir. Pestisitler genellikle aşağıdaki ana gruplarda kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılır:

Bilim ve teknolojiadaki ilerlemeler, Biyoslahtan olarak adlandırılan kirlilik azaltımı için biyolojik çeşitlilik potansiyelini uygulamamızı sağlamıştır. Bu tekniğin prensibi, çevreden gelen zehirli kirleticileri uzaklaştırmak veya toksik ürünleri mikropları kullanarak toksik olmayan ürünlere dönüştürmektir (Nawaz ve ark., 2011). Bu yaklaşım şu anda toprak, tortu, yüzey suyu, yeraltı suyu ve havayı dekontamine etmek için uygulanmaktadır. Geleneksel fiziko-kimyasal yöntemlerle kıyaslandığında, bu strateji, nispeten düşük sermaye maliyetleri, en az yıkıcı yöntemler ve doğal olarak estetik yapısı nedeniyle geleneksel temizleme teknolojilerine cazip alternatifler haline gelmiştir (Wasi ve diğerleri, 2011). Kirletici maddelerin etkin bir şekilde arındırılması için bakteriler, bitkiler, algler ve mantarlar gibi çeşitli organizmaların istihdam edilebilirliği belirlenmiştir (Lee 2003).

1.4. Biyoislah ve Biyodegradasyon

Pestisitlerin biyoislahı için birkaç bakteri, maya ve mantar türü kullanılmıştır. Çeşitli pestisitlerin biyoremediasasyonu için kullanılan seçilmiş mikroorganizmaların kapsamlı olmayan bir listesi, yirmi birinci yüzyılın ilk on yılının kısa bir süresi boyunca bu zehirli maddelerin biyoislahında bilimsel topluluğun ilgi alanını göstermek için gösterilmiştir (Tablo 1.4).

Biyoislahın mikroorganizmaları içeren biyoteknolojik bir süreç olarak kullanımı, biyodegradasyon yoluyla birçok kirleticinin tehlikelerini çözme potansiyelinin artması nedeniyle mikrobiyolojide çekici bir alan haline gelmiştir. Çoğunlukla, diğer biyoislah prosedürlerine göre avantajları nedeniyle, mikroorganizmalar su, toprak ve tortularda mükemmel birer temizleme araçları olarak düşünülebilir. Pratik bir uygulamayı garanti altına almak için, herhangi bir biyoislah işlemi kirleticilerin uzaklaştırılmasının birincil etkisi olduğunu ve degradasyon oranının doğal dekontaminasyon oranından daha büyük olduğunu göstermelidir.

İyileştirme yöntemlerinin geliştirilmesindeki zorluklardan biri, laboratuvarda olduğu gibi sahada da iyi sonuçların elde edilmesinde yatmaktadır (Fialho et al., 2009). Doğal süreçteki azalım, kirletici dönüşümün aktif bir süreç olmasını sağlamak için kirlilik konsantrasyonlarındaki çeşitlilik bakımından topraklarda izlenen en basit biyoislah yöntemidir (Kaplan ve Kitts, 2004).

Tablo 1.4. Son yıllarda bazı pestisitlerin biyoislahı üzerine çalışılan mikroorganizmalar ve pestisit türleri

Pestisit türü	Mikroorganizma	Referans
İnsektisitler		
Aldrin, Lindane	<i>Bacillus</i> sp., <i>Exiguobacterium aurantiacum</i> , <i>Pandoraea</i> sp., <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	Okeke ve ark. (2002) Lopez ve ark. (2005)
DDT	<i>Serratia marcescens</i> DT-1P	Bidlan and Manonmani (2002)
Endosulfan	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Cheatosartorea stromatoides</i> , <i>Cladosporium oxysporum</i> , <i>Fusarium ventricosum</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> KE-8, <i>Klebsiella pneumoniae</i> KE-1, <i>Mycobacterium</i> sp. ESD, <i>Pandoraea</i> sp., <i>Pseudomonas</i>	Sutherland ve ark. (2002); Siddique ve ark. (2003a); Sethunatan ve ark. (2004); Kwon ve ark. (2005); Mukherjee ve Mittal, (2005).

	<i>aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas spinosa</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i>	
Cadusafos, dichlorovos, ethoprophos, fenamiphos, malathion, methyl-parathion, phosphomidon, quinolphos	<i>Acinetobacter radioresistens</i> , <i>Arthobacter</i> sp., <i>Aulosira fertilissima</i> ARM 68, <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Nostoc mucorum</i> ARM221, <i>Pseudomonas-putida</i> (epI), <i>Sphingomonas paucimobilis</i> ,	Karpouzas ve ark. (2005); Kim ve ark. (2005); Sprenger ve ark. (2003); Subramanian ve ark. (1994); Liu ve ark. (2007)
Chlorpyrifos,	<i>Enterobacter</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Alcaligenes faecalis</i>	Singh ve ark. (2004); Yang ve ark. (2005) Ghanum ve ark. (2007).
Carbofuran Carbamate Aldicarb	<i>Novosphingobium</i> sp. <i>Rotylenchulus reniformis</i>	Yan ve ark. (2007) McLean ve Lawrence (2003)
Fenitrothion	<i>Burkholderia</i> sp.	Hayatsu ve ark. 2000
Malathion	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (ME446) <i>Acinetobacter johnsonii</i> MA19	Kim ve ark. (2005) Erguven ve ark. (2017) Shan ve ark. (2009).
Bipyramidal	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Ammounh ve ark. (2011)
Herbisitler		
Aclonifen	<i>P. trichoderma</i> , <i>P. simplicissimum</i> , <i>P. Talaromyces</i> , <i>M. chlamydosporia</i> , <i>A. alternata</i> , <i>B. simplex</i> , <i>B. muralis</i> , <i>M. luteus</i> , <i>M. yunnanensis</i> , <i>C. tetani</i>	Erguven ve ark. (2016)
2, 4-D Alachlor	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Streptomyces capoamus</i> , <i>Streptomyces galbus</i> , <i>Streptomyces bikiniensis</i> , <i>Streptomyces taxa</i>	Musarrat ve ark. (2000) Sette ve ark. (2005)
Chlorsulfuron	<i>B. simplex</i> , <i>B. muralis</i> , <i>M. luteus</i> , <i>M. yunnanensis</i> , <i>C. tetani</i>	Erguven ve Yildirim (2016) Erguven (2017)
Metsulfuron-Methyl	<i>Aspergillus niger</i>	Boschin ve ark. (2003).
chlorimuron-ethyl.	<i>Sporobolomyces</i> sp.	Zhang ve ark. (2009)
Isoproturon	<i>Sphingomonas</i> spp	Bending ve ark. (2003)
Pendimethalin	<i>P. chrysosporium</i>	Belal ve Negwa (2014)

Fungisitler		
Pentaklorophenol	<i>Pseudomonas sp.</i>	Wolski ve ark. (2006)
Vinclozolin	<i>Cunninghamella elegans</i>	Pothuluri ve ark. (2000)
Diuron, isoproturon	<i>Methylopila sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Sphingomonas sp.</i>	El-Deeb, (2001); El Sebai ve ark. (2004); Ronhede ve ark. (2005); Shi ve Bending (2007)
Gramoxone ve matanča	<i>Pseudomonas putida</i>	Kopytko ve ark. (2002)
Isoxaben	<i>Microbacterium sp.</i>	Arrault ve ark. (2002).
Phenylurea	<i>Arthrobacter globiformis D47</i>	Turnbull ve ark. (2001)

1.5. Pestisit Biyoslahının Metabolik Göstergeleri

Çeşitli pestisitlerin mikrobiyal degradasyonu ile ilgili araştırmaların çoğunda görülmüştür ki bu işlem esas olarak bakterilerin spesifik genler ve enzimleriyle gerçekleştirilmiştir. Ancak bazı mayalar ve mantarlar da böyle bir biyoremidasyon özelliğine sahiptir. Bunun nedeni bakterilerin basit ortamlarda kolay kültürler oluşturması ve diğer mikroorganizmalardan daha hızlı büyümesidir. Buna ilave olarak, bakteriler, parçalama kabiliyetlerini arttırmak için onlara ekstra bir potansiyel kazandıran genetik modifikasyonlara karşı daha hassastır. Bakteriyel genetik ve moleküler biyoloji araçları, parçalanma süreçlerinin anlaşılmasına ve pestisit degradasyonuna katılan genlerin izolasyonuna ve karakterizasyonuna büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Ancak, pestisit mineralizasyonunun izole monokültürden ziyade mikrobiyal topluluklar tarafından gerçekleştirildiği ve birçok durumda ko-metabolik yolların mevcut olduğu dikkate değerdir. Pestisitlerin kimyasal yapısı değişken olduğundan, bozunma-detoksifikasyon yollarının bireysel reaksiyonları çok yönlüdür ve oksidasyon, indirgeme, hidroliz ve konjugasyonu içerir. Bu reaksiyonlar dioksigenenler (Van Eerd ve ark., 2003), dehidrojenazlar (Bourquin, 1977; Singh ve Singh, 2005), sitokrom p450 sistemi (Jauregui ve ark., 2003) organohalojenat bileşikler, dehalogenases olgusu gibi bir dizi farklı enzim ile elde edilir. (Sharma ve ark., 2006).

Insektisitlerin metabolizması üç fazlı bir işlemi içerebilir. Bir ana bileşiğin başlangıç özellikleri, genellikle ana maddeden daha fazla suda çözünür ve genellikle daha az toksik bir ürün üretmek için oksidasyon, indirgeme veya hidroliz yoluyla faz I'de dönüştürülür. İkinci aşama, bir pestisit veya pestisit metabolitinin bir şeker veya amino aside konjugasyonunu içerir ve su çözünürlüğünü arttırmayı ve ana pestisit ile

karşılaştırıldığında toksisiteyi azaltmayı amaçlamaktadır. Üçüncü faz, faz II metabolitlerinin, aynı zamanda toksik olmayan ikincil konjugatlara dönüşmesini karakterize eder. Bu süreçlerde bakteri ve mantarların, hidrolitik enzimler, oksijenazlar, peroksidazlar, vb. dahil olmak üzere hücre içi veya hücre dışı enzimler ürettiği bulunmuştur (Van Eerd ve ark., 2003).

1.6. Organoklorinler

Organoklorin pestisitlerinin uygulanması günümüzde büyük ölçüde azalmıştır, çünkü birçok ülke bunların uygulamalarını yasaklamıştır. Bununla birlikte, bazı ülkelerde hala kullanımda olup, bu böcek ilacı grubu en kalıcı olduğu için bertaraf sorunu meydana getirmektedir. Mikroorganizmaların organoklorin bileşiklerini bozduğu iki ana yol vardır: dehidroklorinasyon, aerobik koşullarda meydana gelen bir süreç ve oksijenin yokluğunda meydana gelen indirgeyici deklorinasyon. *Alcaligenes* (Don ve Pemberton, 1981), *Klebsiella* (Kwon ve ark. 2005), *Staphylococcus* (Sonkong ve arkadaşları, 2008) ve *Pseudomonas* (Barragan-Huerta ve ark., 2007), dahil olmak üzere birçok bakteri cinsinin bu reaksiyonları üstlendiği gösterilmiştir. Bazı çalışmalar, farklı mantar türlerinin organoklorinleri bozabileceğini göstermiştir. Bunların arasında, bazı *diomycetes* türleri bu bileşiklere daha dirençli görünmektedir (Gomes-Machado ve ark., 2005; Rigas ve ark., 2005). Son zamanlarda, bir *Trichoderma harzianum* suşunun, bir oksidatif sistem yoluyla organoklorinleri degrade ettiği bulunmuştur (Katayama ve Matsumura, 2009).

1.7. Organofosfatlar

Organofosfor pestisitler yapısal olarak fosforik, fosfonik veya fosforamidik asitlerin ester veya tiyol türevlerinden oluşur. Ana bozunma yolu, P-O alkil veya P-O aril bağlarının hidrolizi ile başlar, bu da bu bileşiklerin toksisitesinin 100 katını azaltır. Bakteriye enzimlerin bu gibi detoksifikasyon reaksiyonlarına ulaştığı tespit edilmiştir (Yañez-Ocampo ve ark., 2009). Bu reaksiyonlar, bir dizi farklı bakteri ve mantar cinsi için tarif edilmiş olan esterazlar veya fosfotriesterazlar tarafından gerçekleştirilir. Bunlar arasında birkaç farklı gen tanımlanmıştır (Singh ve Walker, 2006). Bakteriye cinslerin büyük bir grubunun organofosfat bileşiklerini bozduğu bildirilmiştir. Yaygın olarak çalışılan enzimler, merkezi fosfor atomunda organofosfat pestisitlerini hidrolize edebilen

fosfotröteraz ile ilgilidir. Hidroliz, molekülün tamamen bozunması için temel reaksiyondur. Fosfat giderici aktivite detoksifikasyon sürecinin ilk ve en önemli adımıdır.

1.8. Karbamatlar

Bu pestisitler, topraktaki böcek ve nematod popülasyonunu kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Memeli sistemindeki toksisiteleri, organoklorinler kadar kalıcı olmamasına rağmen çok yüksektir. Bir dizi bakteri cinsi karbamat indirgeyici olarak tanımlanmıştır (Parekh ve diğerleri, 1995). Bu grup pestisitinin bozunması, esas olarak, ilk olarak *Achromobacter sp.* Türünde Chem. (1997) 'de tarif edilen bir plazmid üzerinde bulunan mcd geni tarafından kodlanan, karbofuran hidrolaz olarak adlandırılan bir enzim ile metilkarbamat bağının hidrolizi yoluyla meydana gelmiştir. (Tomasek ve Karns, 1989). Daha ileri çalışmalar, çok çeşitli bakterilerin, karbamatları karbofuran hidrolaz kullanarak indirgeyebileceğini göstermiştir. Diğer cinsler arasında *Bacillus*, *Mesorhizobium*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Ralstonia* ve *Rhodococcus* en tanınmış olanlardır (Desaint et al., 2000).

1.9. Piretroitler

Bu insektisitler, bir alkol ve bir asit bileşeni içeren bir lipofilik ester sınıfıdır. Her ne kadar diğer insektisit gruplarına göre daha az toksik ve kalıcı olsa da, hala bir problem oluşturabilirler. Piretroidler Na^+ kanallarına oldukça yüksek bir afinite gösterirler ve bu kanallara bağlanma uzun bir kanal açılmasına neden olur. Böyle bir uzatmanın açılması, hücre zarının tam bir depolarizasyonuna ve nöronal aktivitenin bloke olmasına neden olabilir. Genellikle üst üste bindirilen iki bozulma, foto ve biyolojik bozulma yolu vardır.

Tarımda kullanılmak üzere geliştirilen piretroit pestisitler, doğal piretrinlerden çok daha fazla ışık alabilirler, ancak güneş ışığına karşı hassastırlar, bu da onların izomerizasyonunu veya ester bölünmesini sağlar. Mikropların piretroid bozunmasının temel yolu, ana ester bağlantısının hidrolizinden geçer. Bu reaksiyon, karboksil esterazlar veya fosfotriesterazlar ile kolayca katalize edilebilir. Grant ve ark. (2002) tarafından belgelenen piretroidlerin bakteriyel degradasyonu, belirli *Serratia* ve *Pseudomonas* izolatlarının kabiliyetlerini açıklamaktadır. Bazı *Bacillus*, *Achromobacter* ve *Pseudomonas* türleri de piretroid yıkımı için başarılı bir şekilde gerekli olmuştur (Maloney ve ark., 1988).

Bir başka ilginç çalışmada, sivrisinek mücadelesinde yaygın olarak kullanılan geri tepmeli bir piretroid olan allethrin'in, *Acidomonas sp.* (Paingankar ve ark., 2005) türü ile parçalanabileceği üzerinedir.

Atıksu ve toprak ortamlarının biyoyıslahı, oldukça kayda değer sonuçlar vermesine rağmen, biyobozunmuş bir bileşiğin toksik metabolitlerinin üretimini ya da bileşenin kalıcılığını ortaya çıkaran senaryolar mevcuttur. Toprağı antropojenik maddelerden temizlemek için mikropların metabolik süreçleri kullanılır. Detoksifikasyon için pestisitler üzerindeki spesifik fonksiyonel grupların bölünmesine aracılık eden genleri ve enzimleri karakterize etmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Karpouzas ve Singh, 2006). Organoklorlu pestisitler degradasyonu için, (Sutherland ve ark., 2002), bir organoklorin insektisit olan endosülfanın detoksifikasyonunda rol oynayan genleri/enzimleri tanımlamıştır. *Mycobacterium sp.* sıra dışı bir monooksijenaz enzimleri ile yaklaşık % 50 oranında sekans homolojisi sergilemiştir.

1.10. Pestisit Biyoyıslahının Gelecekteki Perspektifi

Kirlenmiş toprak ve sudan pestisitlerin uzaklaştırılması ve/veya detoksifikasyonu için biyoremediasyon süreci şimdilerde en iyi seçenek olarak ortaya çıkmıştır. Günümüzde, çeşitli pestisitlerin kalıcı ve tekrarlayıcı niteliğine ve bunlarla ilişkili sağlık tehlikelerine rağmen çeşitli biyo-modifikasyon yaklaşımları mevcuttur. Pestisitler, tek bir sınıfa özgü biyoyıslah yönteminin, diğer zehirli madde sınıflarında olduğu gibi başarılı bir şekilde çalışmasının beklenmediği ve çok sayıda organik toksik madde grubudur. Ayrıca, bu tür yöntemlerin çoklu pestisit kontaminasyon senaryosundaki öngörü değeri çevresel örneklerin karmaşıklığına bağlı olarak oldukça düşüktür. Sonuç olarak, ex situ bioaugmentasyon stratejileri, diğer durumlarda olduğu gibi in situ biyoremediasyon süreci için de çok yararlı olmayabilir. Ancak bu olumsuz senaryoya rağmen, pestisitlerin dekontaminasyonu için biyo-stimülasyon ve biyo-dejenerasyon stratejilerinin yanı sıra belirli genlerin ve enzimlerin rolü ile bireysel pestisitlerin biyoyıslah mekanizmalarının anlaşılmasında son derece tatmin edici bir ilerleme kaydedilmiştir. Ayrıca, omik tabanlı teknolojiler ve veritabanları, genel olarak biyoteknolojinin tüm alanlarında ve özellikle de pestisit-biyoremediasyonun yeni bakış açılarını açmıştır. Nanoteknoloji ve immobolizasyon teknolojisi de bu alanda kayda değer bir potansiyel göstermiştir.

Yukarıdakilere ek olarak, özellikle genetik olarak değiştirilmiş organizmaların kullanıldığı doğru fito-genetikleştirme stratejisi ile rizoremediasyon sũreci de pestisitlerin giderilmesi araştırmaları alanında parlak bir geleceğe sahip gibi gũrũnmektedir.

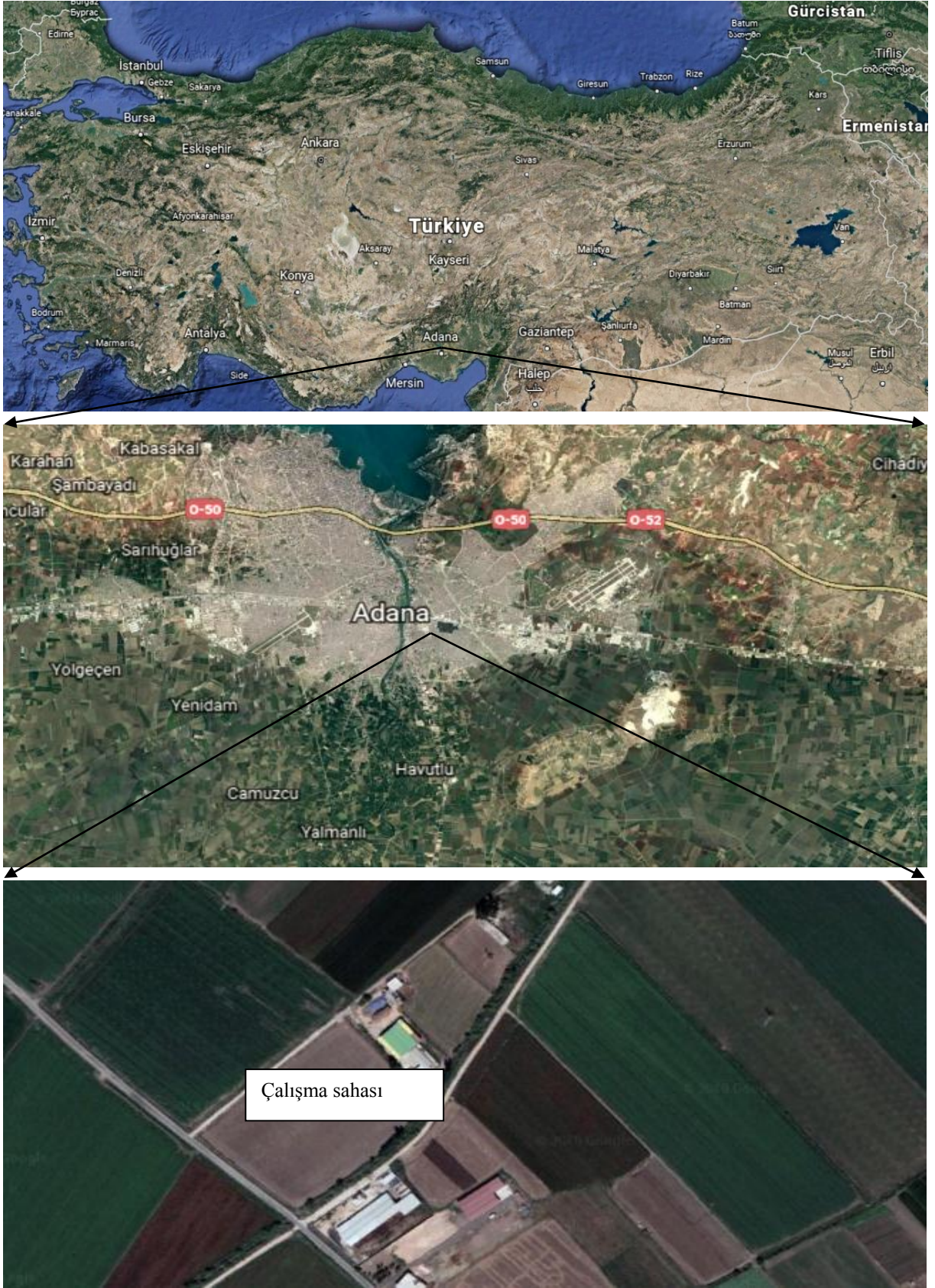


2. MATERYAL VE METOD

2.1. Tarım Alanının Belirlenmesi ve Toprak Örneklerinin Toplanması

Çalışmada kullanılan topraklar Adana ili Alihocalı mahallesinde pamuk yetiştiriciliği yapılan yaklaşık 1 dekar bir tarım alanından temin edilmiş olup (Şekil 2.1) belirlenen (Zelles ve ark., 1991) 20 cm derinlikten beş ayrı noktadan steril koşullarda alınan toprak numunelerinin yaklaşık birer kilogramlık örneği özelliklerinin belirlenmesi için Elazığ İl Tarım ve Orman Müdürlüğü laboratuvarına getirilmiştir.





Şekil 2.1.Çalışma sahası ve istasyonları gösteren harita

2.2. Tarım Toprağının Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Yapılan Çalışmalar

Çalışmada steril koşullarda alınan toprak örneklerine aşağıdaki metodlar çerçevesinde bir takım analizler uygulanmıştır. Bu analizler arazide, pestisitler uygulanmadan önce T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığınca insektisit kullanacak olan çiftçilerden insektisit kullanma izni almadan önce istenen parametlerden oluşmuştur. Uygulamalar, aşağıda belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır.

2.2.1. pH ve Tuzluluk Analizi

Richards (1954)' de belirtildiği üzere saturasyon çamurundan elde edilen süzöntüde prob daldırılarak pH ve tuzluluk miktarları belirlenmiştir.

2.2.2. Kireç Analizi

10 ml'lik erlene 10 ml 3N HCl çözeltisi konulup terazide ağırlığı belirlenmiştir. Daha sonra havada kurutulmuş ve 2 mm'den küçük elekten elenmiş 5 g toprak örneği erlene azar azar katılıp çalkalanmıştır. Karbondioksit çıkışı nedeniyle kabarma durduktan sonra erlenin kapağı gevşek şekilde kapatılıp 30 dk. kendi haline bırakılmış, bu süre içerisinde erlen kısa aralıklarla elle çalkalanmıştır. Daha sonra kapak çıkartılıp erlen 10-20 saniye elle hızlı şekilde çalkalanıp, böylece erlen içerisindeki CO₂'nin hava ile tamamen yer değiştirmesi sağlanarak ve kapağı kapatılan erlenin ağırlığı belirlenmiştir. Erlenin ağırlığı 2–3 mg'dan daha fazla değişmeyinceye kadar işlem tekrarlanmıştır. Toprak örnekleri içerisindeki %CaCO₃ miktarı hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 2.1'deki standart değerlerle kıyaslanarak (Tüzüner 1990)' a göre değerlendirilmiştir.

Tablo 2.1.Toprağın kireç içereğine göre sınıfı (Richards 1954).

%CaCO ₃	Sınıfı
0-2	Kirecsiz
2-4	Az Kireçli
4-8	Orta Kireçli
8-15	Kireçli
15-50	Çok Kireçli
50-90	Çok Fazla Kireçli
>90	Kireçli

2.2.3. Suyla Doygunluk Testi

Öncelikle toprak numunesi analizine uygun şekilde saturasyon macunu hazırlanmıştır. Bu işlem için harcanan su miktarı tespit edildikten sonra bu miktarın yaklaşık %10'u kadar daha su ilave edilerek toprak numunesinin absorbe ettiği toplam su miktarı hesaplanmıştır. Absorbe edilen toplam su miktarı Tablo 2.2 ile karşılaştırılmak suretiyle toprağın bünyesi kabaca tespit edilmiştir (Tüzüner, 1990).

Tablo 2.2. Absorbe edilen toplam su miktarına göre bünye sınıfları (Richards 1954).

Absorbe Edilen Toplam Su Miktarı	Bünye Sınıfı
30 ml'den az	Kumlu
31–50 ml	Tınlı
51–70 ml	Killi-tınlı
71–110 ml	Killi
110 ml ve üstü	Ağır killi

2.2.4. Organik Madde Analizi

Walkey-Black (1934) yöntemine göre 0.5 gr toprak üzerine 10 ml $K_2Cr_2O_7$ ilave edilerek ıslanmaya kadar çalkalanmış, daha sonra, 20 ml konsantre sülfirik asit ilave edildikten sonra bir dakika yavaşça çalkalanıp karışım 30 dakika boyunca çeker ocağa alınmıştır. 30 dk sonunda örnekler hacimleri 200 ml oluncaya kadar saf su ve 4- 5 damla ferroin indikatörü ilave edilmiştir. Daha sonra demir sülfat ile titre edilerek % organik madde miktarı tespit edilmiştir. (Bremnel, 1965).

2.2.5. Toplam Azot Tayini (Kjeldahl)

Toplam azot modifiye Kjeldahl, Bremnel (1965)' de belirtildiği şekilde göre belirlenmiştir. 10 gr toprak örneği üzerine 40 ml salisilik-sülfirik asit karışımı ilave edilmiş, toprak ıslanmaya kadar karıştırılıp 16 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda, örnekler 5'er gr sodyum tiosülfat ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) ilave edilerek kabarma bitinceye kadar ısıtılmıştır. Soğutulmaya alınan örnekler daha sonra 20 ml saf su ve 10'ar gram 10:1:0.5 oranındaki tuz karışımı ($K_2SO_4 + FeSO_4 + CuSO_4$) ilave edilerek Kjeldahl yakma

düzeneğinde karışım gri renk alıncaya kadar yakmış ve bundan sonra 1 saat kadar ıslak yakma işlemine devam edilmiştir. Yakma sonucu karışım soğuduktan sonra belli miktar saf su ile damıtma balonuna aktararak örnek üzerine 10 N NaOH'den bir miktar ilave edilerek karışım damıtılmıştır. Damıtık 0.005 N H₂SO₄ ile titre edilerek toplam azot % olarak belirlenmiştir.

2.2.6. Alınabilir Fosfor ve Alınabilir Potasyum

Organik materyallerin fosfor içeriği nitrik-perklorik asit karışımı ile yaş yakma metodu sonucunda elde edilen filtrattaki fosfor vanadomolibdofosforik sarı renk metoduna göre tayin edilmiştir (Kacar ve Kovancı, 1982). Potasyum ise organik materyallerdeki makro ve mikro elementlerden yaş yakma metodu ile elde edilen filtrattaki fosfor miktarı ise atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir (Kacar, 1972).

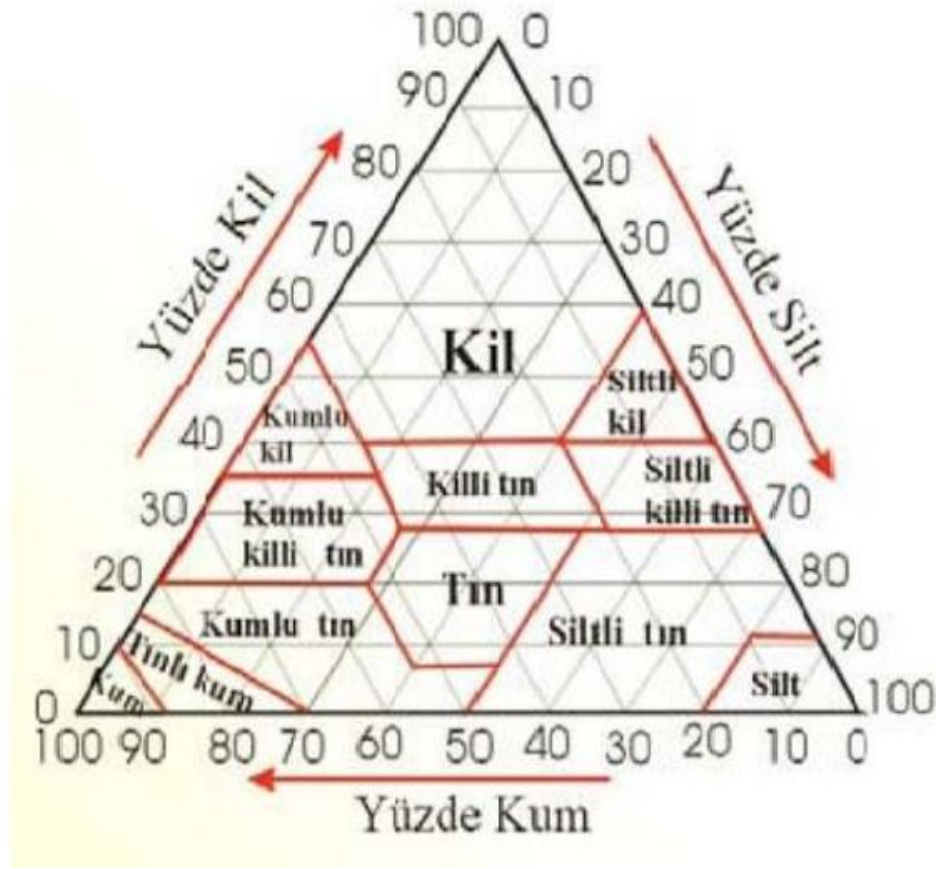
2.2.7. Katyon Değişim Kapasitesi (KDK)

Katyon değişim kapasitesi Tüzüner (1990)'da belirtildiği üzere sodyum asetat metodu ile belirlenmiştir. Hava kurusu yapılmış ve 2mm'lik süzgeçten geçirilmiş topraklardan 4'er gr tartılıp santrifüj tüplerine konulmuştur. 33 ml, pH 8,2 olan sodyum asetat çözeltisi eklenip 5 dakika çalkalanmıştır. Tıpa ve etrafı sodyum asetat ile yıkandıktan sonra 5 dakika 1000 rpm'de santrifüjlenmiş ve bu işlem üstteki berrak sıvı dökülerek 4 defa tekrarlanmıştır. Daha sonra sodyum asetatla yıkanmış olan toprakların üzerine 33 ml etil alkol eklenip 5 dakika çalkalanmıştır. Tıpa ve etrafı etil alkolle yıkanan tüpler santrifüj edilmiştir. Bu işlem üstte kalan sıvı faz dökülerek 3 defa tekrarlanmıştır. Üçüncü yıkamada üstteki berrak sıvının elektriksel iletkenliği (EC) ölçülmüştür. Adsorbe olmuş sodyum numunesinin üzerine 33 ml amonyum asetat eklenerek 5 dakika çalkalanmış ve çalkalanan tüplerin tıpası ve ağzı amonyum asetat ile yıkanıp santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrasında üstte kalan berrak sıvı 100 ml'lik balonjojeye alınmıştır. Bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Amonyum asetat çözeltisi ile balonjojedeki çözelti 100 ml'ye tamamlandıktan sonra flamefotometrede okuma yapılmıştır.

2.2.8. Toprak Bünyesi (Tekstürü) Tayinleri

Önceden içerdiği nem miktarı belirli olan toprak örneğinden 50 gr alınarak 400 ml'lik behere konulmuştur.  zerine 10 ml %10'luk sodyum hekzametafosfat ilave edildikten sonra 100 – 150 ml saf su konularak karıştırılmış ve bir gece dispersiyon için bırakılmıştır. Ertesi gün beherdeki toprak, beherde hiçbir toprak zerresi kalmayacak şekilde dikkatlice yıkanarak karıştırma aletinin kabına boşaltılmış ve kap ağzına 6 cm kalana kadar saf su ile doldurularak mikserle bağlanmıştır. Toprak İnce bünyeli (killi) olduğu için 15 dakika karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi bittikten sonra kap içerisindeki süspansiyon hiç toprak zerresi kalmayacak şekilde pisetle su püskürtülerek cam silindire aktarılmıştır. Cam silindir içerisine hidrometre daldırılıp 50 gr toprak numunesi çalışmalarında saf su ilavesi ile mez r 1130 ml seviyesine getirilmiştir. Hidrometre silindirden çıkartılıp yıkanıp kurulanıp kronometre hazır konuma getirildikten sonra el karıştırıcısı silindirin içerisine daldırılarak ve aşağı yukarı olmak üzere 20 kez süspansiyon karıştırılmıştır. Karıştırıcı süspansiyonda çıkartıldığı anda kronometre çalıştırılmış ve 20 sn sonra hidrometre süspansiyona daldırılarak ve 40 saniye sonra hidrometrede okunan değer kaydedilip eş zamanlı olarak süspansiyonun sıcaklığı ölçülmüştür. İlk karıştırma anındaki zaman başlangıç olarak kabul edilip 2. saatte hidrometre tekrar süspansiyona daldırılıp okunan değer not edilmiştir. 2. saat okumasından hemen sonra da süspansiyonun sıcaklığı okunmuştur.

Fırın kuru toplam ağırlığı (FKT) değer, önceden nem kapsamı bilinen 50 gr hava kuru toprak ağırlığından hesaplanmıştır. Elde edilen % kum, silt ve kil değerlerinde bünye sınıflarının belirlenmesinde şekil 2.2'de gösterilen tekstür   genininden yararlanılmıştır (Bouyoucos 1962).



Şekil 2.2. Tekstür (Bünye) üçgeni

2.3. Toprak Örneklerinden Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

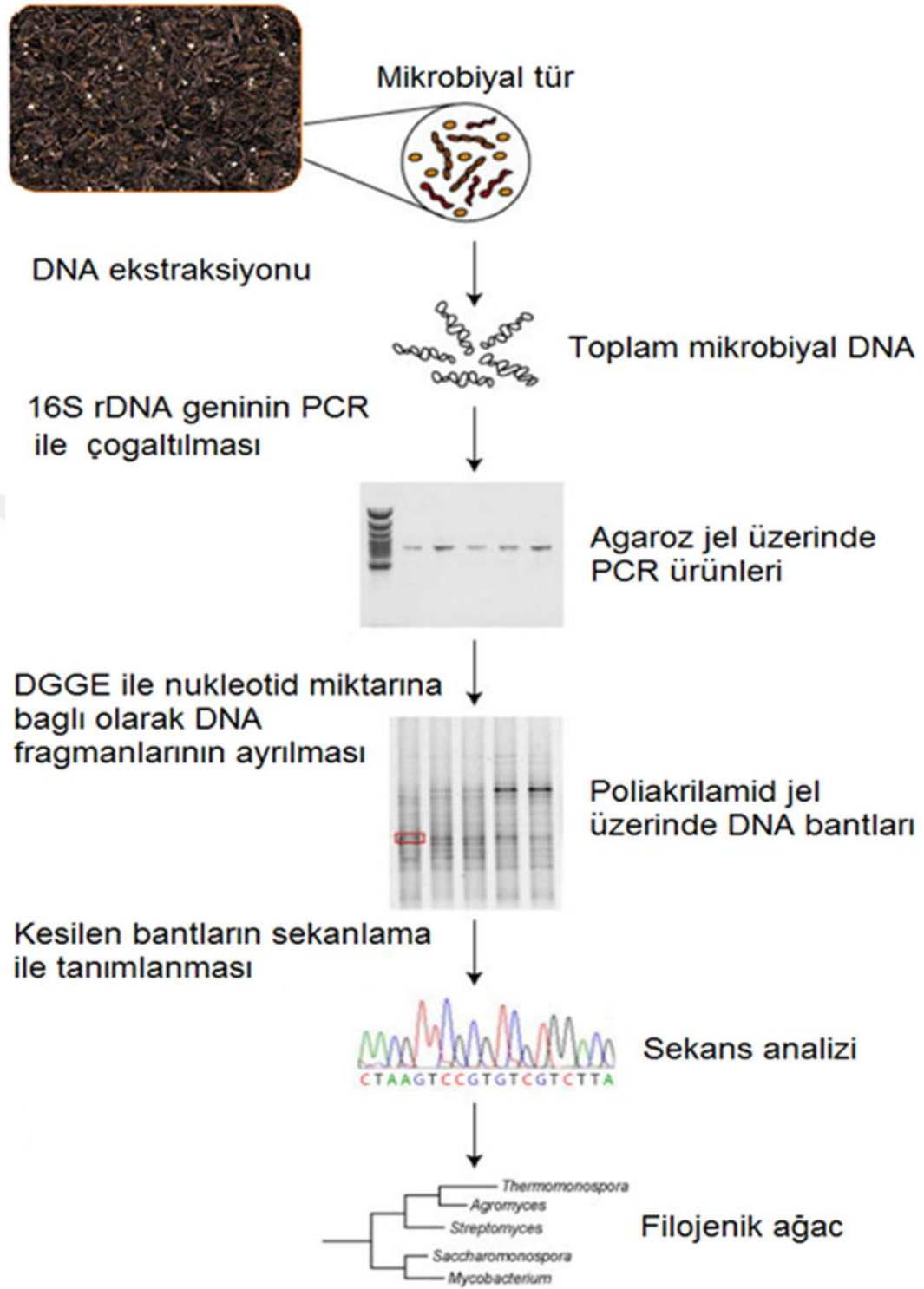
Çalışmada, bakteri izolasyonu için zirai alandan insektisit atılmadan bir gün önce, 0-20 cm derinliklerden alınan toprak örnekleri, steril cam kavanozlara alınmıştır (Zelles ark., 1991). Yaklaşık 10 g toprak örneği, %0,8'lik sodyum klorürlü izotonik suda 10^{-4} 'e kadar seyreltilmiştir. Bu seyreltiden karıştırılıp her bir besiyeri için ayrı ayrı alınan 0,1 ml'lik porsiyonlar otoklavda 121°C 'de 15 dk 1 atm basınç altında sterilize edilerek hazırlanan plate count agar besiyerine aseptik şartlara sahip ekim kabininde ekimler yapılmıştır (Travers ve ark., 1987). Ekim sonrası petri kutuları 25°C 'lik inkübatöre alınmış ve bakterilerin gelişimi tamamlanmıştır. Petri kutuları üzerinde gelişen bakteriler kodlanıp (B1 ve B2) ve ekim kabininde steril öze kullanılarak bakteri kolonileri için subaraud dextrose brotha, inkübe edilerek zenginleştirilmiştir (Cruikshank, 1972).

Yapılan moleküler çalışmaları için öncelikle petri kutularından izole edilen kültürler, stok edilmek üzere, bakteriler için standart plate count agar besi yerleriyle hazırlanan eğik besiyerlerine alınmıştır. Tür teşhis çalışmaları Ankara’da bulunan oligonükleotid ve primerler, moleküler DNA problemleri, sentetik genler ve klonlama, DNA dizilimi, protein sentezi, protein ve gen ekspresyonu analizleri ve hücre kültürü analizleri alanlarında ürün ve hizmetler sunan SENTEBİOLAB BIOTECH firması ile koordineli olarak yürütülmüştür. PCR işlemleri için, elektroforez cihazı, mycycler thermal cycler system, jel görüntüleme sistemi, (ORTE), genetik analiz sistemi (Beckman Coulter CEQ 8000) kullanılmıştır.

Moleküler karakterizasyon çalışmaları, Wizard Genomic DNA Purification kit kitabında belirtildiği şekilde, Isolating “Genomic DNA from Gram Positive and Gram Negative Bacteria” metodlarına göre yapılmıştır (Beutler ark. 1990). Mikrobiyal tür tayini; nükleik asit ekstraksiyonu, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), DGGE (Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi) ve nükleik asit dizisinin belirlenmesi kademelerinden oluşmuştur. Alınan numuneler moleküler tekniklerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Numunelerden ilk olarak nükleik asitler ekstrakte edilmiştir. Ekstre edilen DNA’lar, -20°C’de muhafaza edilmiş olup bu DNA karışımlarının 16S rRNA genleri, PCR yöntemi kullanılmak sureti ile ısı döngüleme (Thermal Cycler) aleti ile çoğaltılmış ve bu işlem sonrası metanojenik tür çeşitliliği, DGGE ve DNA dizi analiziyle tespit edilmiştir. Sekanslama yapılan örneklerin sekansları SnapGene programında tespit edilmiştir. Örneğin sekansını gösteren kromatogram görüntüsünün (sekans dizisi) tamamı seçilerek bu ekranda kopyalanmıştır.

Bu maksatla [“blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch”](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch) linkinde “Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)” kısmına kopyalanan sekans dizisi yapıştırılarak ardından database others seçilmiştir. Blast tıklandıktan sonra çıkan tür analiz dosyasında max skordaki tür seçilmiştir.

Mikrobiyal türlerin belirlenmesi için gerçekleştirilen adımlar Şekil 2.3’de verilmiştir



Şekil 2.3. Mikrobiyal türlerin belirlenmesi için gerçekleştirilen adımların şematik gösterimi (Özkaya ve Demir 2011).

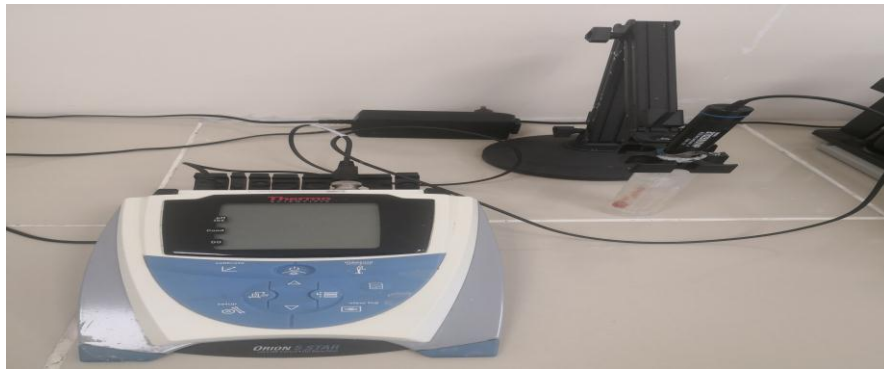
2.4. İnsektisit Çözeltilerinin Hazırlanması

İmidakloprid, kullanım tarifiinde yer aldığı şekilde 1600 ppm olarak 200 er ml'lik erlenler içine hazırlanmıştır. Hazırlanan bu konsantrasyonlar tarım arazilerinde tavsiye edilen konsantrasyonlardır.

2.5. İnsektisit Biyoislah İşlemi ile Giderimi

2.5.1. Sıvı Ortamda Yapılan Biyoislah Çalışmaları

Plate count agar besi yerlerinden izole edilen ve tür tespitleri yapılan bakterilerin insektisitli ortamlarındaki biyoislah faaliyetlerini tespit etmek amacıyla bu bakterin ayrı ayrı konsortiaları ve karışımları zenginleştirilmiş besi yerlerine alınarak burada çoğalmaları sağlanmıştır. Bu işlemde sabouraud dextrose broth kullanılmıştır. %0,8'lik steril izotonik çözeltiye hazırlanan bakteri solüsyonunun içine insektisit ilave edilerek ayrı ayrı oluşturulan kültür ortamları 25°C'lik çalkalayıcı inkübatöre alınmıştır. 7 günde bir alınan süzüntü numunelerinde Munzur Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü laboratuvarında KOİ, BOİ₅, pH, çözünmüş oksijen ölçümleri yapılırken, bu numunelerin birer örneği de toplam organik karbon (TOK) ölçümleri için Yıldız Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Laboratuvarına gönderilmiştir. KOİ için standart method 5220B Kapalı reflüks yöntemi kullanılırken, BOİ deneyinde standart method 5210D ışığında Oxitoplar kullanılmıştır. TOK deneyi Standart Method 5310B Yüksek sıcaklıkta yakma metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. pH parametresi Standart method 4500H⁺B ile, çözünmüş oksijen parametresi ise Orion 5 Star multiparametre cihazıyla takip edilmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Orion 5 Star multiparametre cihazı

Giriş TOK, KOİ, BOİ₅, pH ve çözünmüş oksijen değerlerinin belirlenmesi amacıyla, insektisit çözeltilerinin içerisine sıvı besi yerinden alınan kültürler agarlı ortamdaki büyümeye bağlı olarak tespit edilen konsantrasyonlarda ilave edildikten hemen sonra 0.45µm lik süzgeç kağıdı ve steril bir huni ile süzme yapılmış ve süzüntüde TOK, KOİ ve BOİ₅ parametrelerinin takibi yapılmıştır. Deney sırasında kültürlerin aktivitesinin önlenmesi amacıyla süzüntülere 1' er damla 1N H₂SO₄ ilave edilmiştir.

2.5.2. Toprak Ortamında Yapılan Biyoslah Çalışmaları

Çalışmanın bu basamağında 2 litrelik steril plastik şişelerin arka kısımları kesilerek 15 cm çapına açık ağızlı şişeler elde edilmiştir. Bu şişelerin kesilen parçalarına 2 mm lik delikler açıldıktan ve bu parçaların şişelerin uç kısımlarına doğru yerleştirilmesinden sonra bir süzgeç elde edilmiş ve şişelerin üst kısımlarına yaklaşık 20 cm lik kısmına steril tarım toprağı ilave edilmiştir (Şekil 2.5). Biri şahitten oluşan beş tane yapay tarla düzeneğinin dördüne agarlı ortamda gelişmenin sağlandığı ve aynı zamanda tarım arazisinde kullanılan konsantrasyonlarda imidakloprid ilave edilmiştir. Oluşturulan şahit düzeneğine bakteri kültürü ilave edilmemiş olup sadece insektisit ilavesi yapılmıştır. Daha sonra her bir şişeye, 24 saatte bir 200'er ml damıtık çeşme suyu ilavesi edilerek elde edilen süzüntülerde deneysel çalışmalar yürütülmüştür. Böylece toprağın mikroorganizmasız steril koşullarda insektisit ne kadarını ne kadar zamanda bünyesinde tutabildiği tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan düzeneklere ilave edilen su miktarının belirlenmesi için bölgeye düşen ve pamuk yetiştiriciliği için gerekli su miktarı göz önünde bulundurulmuştur. Yıllık yağış miktarı meteoroloji genel müdürlüğünden temin edilmiştir. Şişelerin alt kısımlarına yerleştirilen 500 ml'lik beherlerin üzerine süzülen sıvı numune üzerinde 24 saat ara ile TOK, KOİ ve BOİ₅ deneyleri yapılarak insektisitteki azalma ve pH ile Ç.O deneyleri ile de ortamın şartları takip edilmiştir.



Şekil 2.5. Çalışmada kullanılan toprak-süzüntü düzeneği

2.6. İnsektisit Azalımının Takibine Yönelik Yapılan Çalışmalar

2.6.1. Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı Tayini (BOİ₅)

Organik maddelerin aerobik şartlarda biyolojik olarak parçalanmaları için mikroorganizmalar tarafından kullanılan oksijen miktarı, “biyokimyasal oksijen ihtiyacı” olarak tanımlanır ve kısaca BOİ₅ şeklinde gösterilir. BOİ₅, bu çalışmada pestisit çözeltisindeki organik maddelerin aerobik şartlar altında oksidasyonu ve minerilazasyonu için mikroorganizmalar tarafından sarf edilen oksijen miktarıdır. Pestisit içerdiği organik maddeler mikroorganizmalar için gıda maddesidir. BOİ₅ parametresi, atıksularda kanalizasyon ve içinde toksik maddeler bulunmayan endüstri atıklarının kirletebilme derecesini, gerekli oksijen miktarı cinsinden tayinde kullanılır. Çalışmada AL 606 model oxitop cihazları kullanılmıştır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. AL 606 Oxitop cihazı

2.6.2. Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) Tayini

Kimyasal oksijen ihtiyacı organik maddelerin redoks reaksiyonlarıyla parçalanması sırasında ihtiyaç duyulan oksijen miktarıdır. Çalışmada organik maddenin yerini pestisit almıştır. Kimyasal oksijen ihtiyacı ile pestisit çözeltisinin içeriğindeki organik maddeler, kimyasal oksidasyonları için gerekli oksijen miktarı cinsinden belirlenmiştir. Yöntem birkaç istisna dışında tüm organik maddelerin kuvvetli oksitleyicilerle asit ortamlarda oksitlenebilecekleri esasına dayanmaktadır. Çalışmada HACH DRB 200 model termoreaktör ile Hach DR 890 Colorimeter cihazı ile uyumlu 0-1500 mg/l aralığında ölçüm yapabilen Cat. 23459-52 model KOİ kitleri kullanılmıştır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. KOİ ölçüm cihazları

2.6.3. Toplam Organik Karbon (TOK) Tayini

Atıksulardaki organik kirlilik derecesini ölçen önemli bir parametredir. Organik kirleticiler; sularda çözünmüş halde bulunan oksijeni tüketerek kirlenmeye neden olurlar. Bu tip kirleticiler insan faaliyetleri sonucunda sulara karışırlar. Karışıkları sular eğer durgun suysa bunlar suyun dibinde birikirler. Buna sedimentasyon denir. Sedimentasyonla çöken organik maddeler içinde birtakım inorganik maddeler de bulundurulur. Organik ve inorganik maddelerin bir karışımı olan sedimentler mikroorganizmalar için iyi bir besi ortamıdır. Böyle bir ortamda mikroorganizmalar suda çözünmüş oksijeni kullanarak sedimentteki organik maddeleri parçalarlar. Bunlarda su, CO₂, NO₃, SO₄, ve PO₄ meydana getirirler. Çalışmamızda TOK analizleri Yıldız Teknik Üniversitesi merkez laboratuvarında bulunan Tekmar Dohrmann Apollo 9000 model TOK cihazında Standart Method 5310A yüksek sıcaklıkta yakma metodu ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan numuneler BOİ₅ ve KOİ deneylerinde kullanılan numunelerin birer örneğidir.

2.6.4. pH ve Çözünmüş Oksijen Tayini

pH, bir çözeltinin asitlik veya alkalinité derecesini ifade bir eden ölçü birimidir. 0'dan 14'e kadar olan bir aralıkta ölçülür. pH teriminde p; eksi logaritmanın matematiksel sembolünden, ve H ise Hidrojenin kimyasal formülünden türetilmişlerdir. Bir maddenin pH değeri hidrojen iyonu [H⁺] ile hidroksit iyonunun [OH⁻] derişimlerinin oranına direk bağılıdır. Eğer H⁺ derişimi OH⁻derişiminden fazla ise çözelti asidik; yani pH değeri 7 den düşüktür. Eğer OH⁻ derişimi H⁺ derişiminden fazla ise maddemiz bazik; yani pH değeri 7 den büyüktür. Eğer OH⁻ ve H⁺ iyonlarından eşit miktarlarda mevcutsa, madde 7 pH değerine sahip olmak üzere nötrdür.

Çözünmüş oksijen suyun içersinde çözünmüş halde bulunan oksijendir. Çalışmamızda pH, çözünmüş oksijeni ve sıcaklığı ölçebilen Orion 5 Star multiparametre cihazı kullanılmıştır.

2.7. İstatistiksel Analizler

Bütün istatistiksel analizler SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile yapılmıştır. Sunulan veriler üçer tekrarlı olarak yapılan deneylerin ortalamalarının standart

sapmalarıyla ifade edilmiştir. (SE). Sıvı ve toprak ortamındaki KOİ, BOİ ve TOK azalımları varyans analizleriyle yorumlanmıştır (ANOVA).

Elde edilen grafiklerde (Şekil 3.2-3.9) sütunların üzerindeki farklı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğuna işraet etmektedir.

3. BULGULAR

3.1. Tarım Toprağının Özellikleri

Çalışmada kullanılan tarım toprağına ait özellikler Tablo 3.1’ de verilmiştir.

Tablo 3.1. Tarım toprağının özellikleri

Adana pamuk tarlası		
Parametre	Değer	Nitelik
Saturasyon	% 61.6	Killi
EC(Tuz)	1252 mS/cm	Tuzsuz
Kireç	27 mg/l	Kireçli
Organik madde	10.41 (%1.45)mg/l	Orta
Potasyum	35 mg/l	Yüksek
Fosfor	0.052 mg/l	Düşük

Elde edinilen özelliklere göre çalışmada kullanılan bu toprağın saturasyon bakımından % 61.6 lık bir değerle killi olduğu belirlenirken 1252 mD/cm’lik EC(Tuz) değerinin toprağın tuzsuz olduğunu göstermiştir. Kireç miktarı bakımında 27 mg/l’lik değer toprağın kireç bakımından yeterli seviyede olduğunu gösterirken 10.41 (%1.45) mg/l’lik organik madde içeriğinin de toprağın orta sınıfta bir bünyeye sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir. 35 mg/l lik potasyum miktarı toprağın bu madde bakımından yüksek, ancak 0.0352 mg/l’lik fosfor miktarı ise bu maddenin düşük seviyede olduğunu belirtmektedir. Genel anlamda ele alındığında bu toprak tipinin Shanahan (2004) ‘de belirtildiği üzere biyoslah için yeterli seviyede olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Biyoislah için gerekli toprak özellikleri (Shanahan, 2004)

Çevresel Faktör	Optimum Koşular
Uygun Toprak Nemi	25-85 % Su Tutma Kapasitesi
Oksijen	>0.2 mg/L Ç.O, Oksijenli Parçalanma için >10% tanecikler arası hava boşluğu
Redox Potansiyeli	Eh> 50milivolt
Besin Maddeleri	C:N:P = 120:10:1 Molar Oran
pH	5.5-8.5
Sıcaklık	15-45°C

3.2. Mikrobiyal Tür Teşhis Sonuçları

Yaptırılan moleküler çalışmalar sonuçlarına göre elde edilen primerler ve türler Tablo 3.3’ de verilmiştir.

Tablo 3.3. Tür teşhis sonuçları

Sekans #	Örnek	Primer	Sanger Sonuç	Tür
7634	Beyaz Pamuk (P1)	16S rRNA Fwd	medium quality	<i>Ochrobactrum thiophenivorans</i>
7635	Sarı Pamuk(P2)	16S rRNA Fwd	medium quality	<i>Sphingomonas melonis</i>

Buna göre Beyaz Pamuk olarak adlandırılan bakteri türü *Ochrobactrum thiophenivorans* iken, Sarı pamuk olarak adlandırılan tür ise *Sphingomonas melonis* olarak belirlenmiştir.

3.3. Biyoislah Çalışmaları Sonuçları

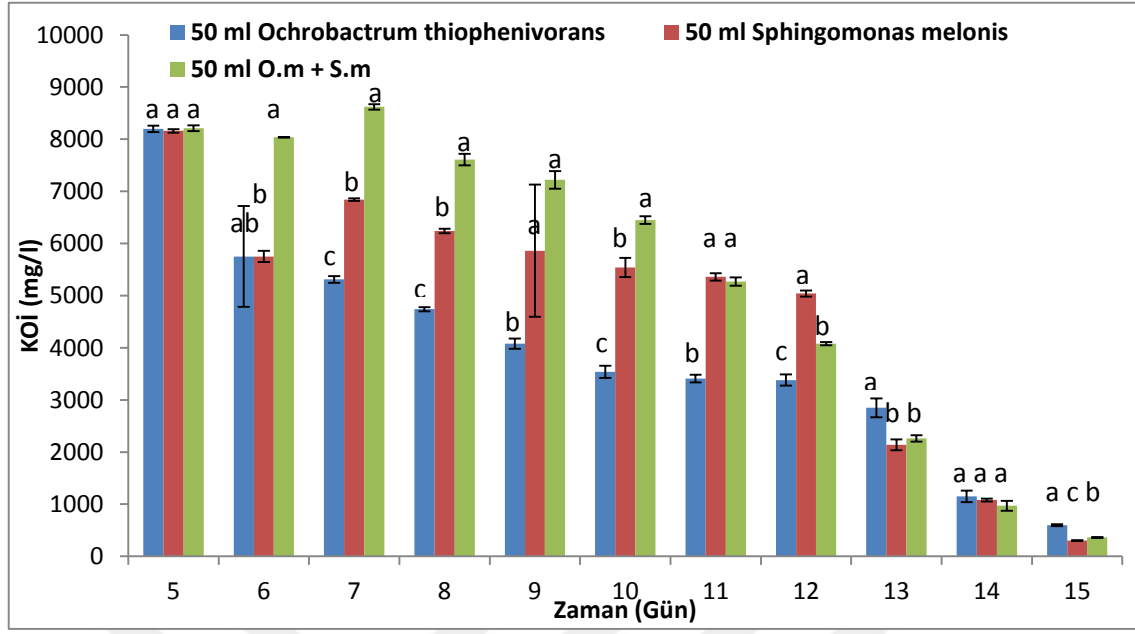
3.3.1. Sıvı ortamda yapılan biyoislah çalışmaları sonuçları

Çalışmanın toprak ortamı basamağına geçmeden önce toprak ortamında kullanılacak mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla öncelikle sıvı

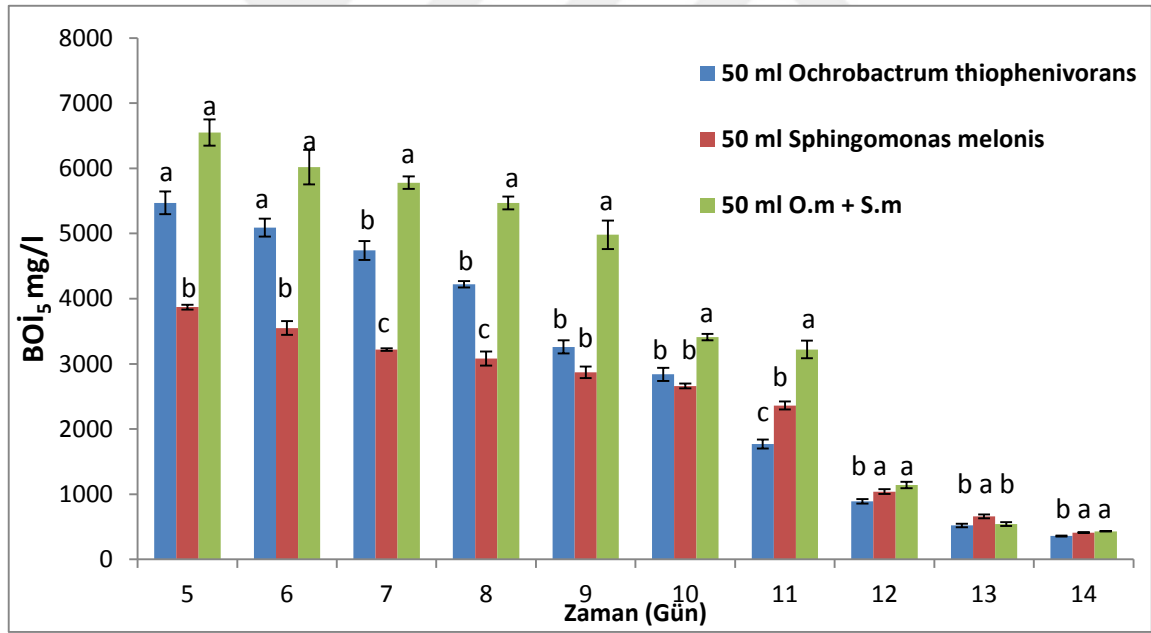
ortamda çalışmalar yürütülmüştür. Bu maksatla tarım arazisinden izole edilen *Ochrobactrum thiophenivorans* ve *Sphingomonas melonis* bakterilerinin her ikisinin ve bunların karışımları öncelikle plate count agar (PCA) ortamından alınarak zenginleştirilmesi için subauraud dextrose broth (SDB) ortamına alınmıştır. Tarım toprağının mikroorganizma izolasyonu için daha önceden alındığı toprak sıcaklığı 28⁰ olduğu için SDB ortamının da sıcaklığı Ttyitech marka ZHWY-2008 model çalkalayıcılı inkübatörde bu sıcaklığa ayarlanmıştır (şekil 3.1) ve KOİ değerleri 24'er saat arayla takip edilerek çalışmada kullanılacak olan imidakloprid insektisitinin tarım arazisinde kullanılan tavsiye edilen kimyasal oksijen ihtiyaı (KOİ) değerine eşit olması beklenmiştir. 96 saat sonunda imidakloprid insektisitinin tavsiye edilen kullanım KOİ değeri olan 8000 mg/L ye ulaşınca bu zenginleştirilmiş ortamdan alınan 50'şer ml'lik kültürler(50ml *Ochrobactrum thiophenivorans*, 50 ml *Sphingomonas melonis* ve 25'er ml her ikisinden) pestisitine içine aşılanmış ve 24 er saat arayla alınan örneklerden Standar Method(SM) 5220 kapalı Reflux yöntemiyle KOİ, SM 5210B ile Biyokimyasal Oksijen İhtiyaı (BOİ) ve SM 5310A yöntemi ile de Toplam Organik Karbon lmleri gerçekleştirilmiştir. Deneyler toplamda 14 gün sürmüştür. Elde edinilen sonuçlara göre *Ochrobactrum thiophenivorans*, *Sphingomonas melonis* ve karışımlarının imidakloprid pestisitine karşı göstermiş oldukları biyoislah sonuçları sırasıyla şekil 3.2-3.4 arasında gösterilmiştir.



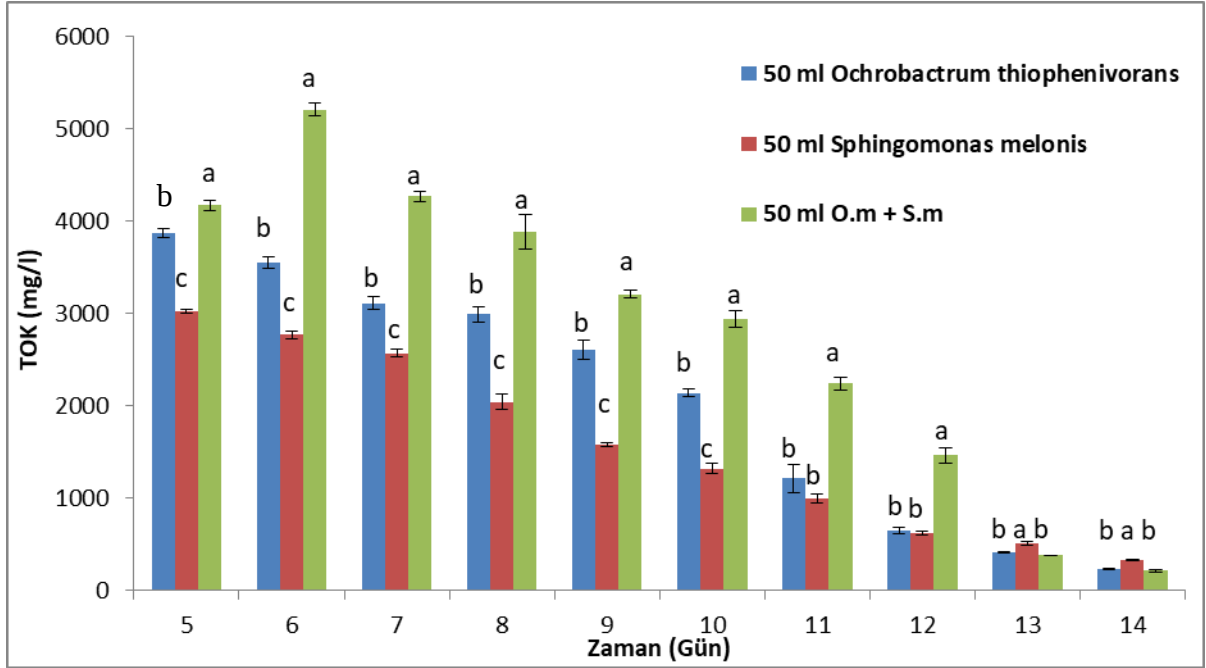
şekil 3.1. alkalayıcılı inkübatör



Şekil 3.2. Bakteri türlerinde ve karışımlarında sıvı ortamda KOİ azalışı



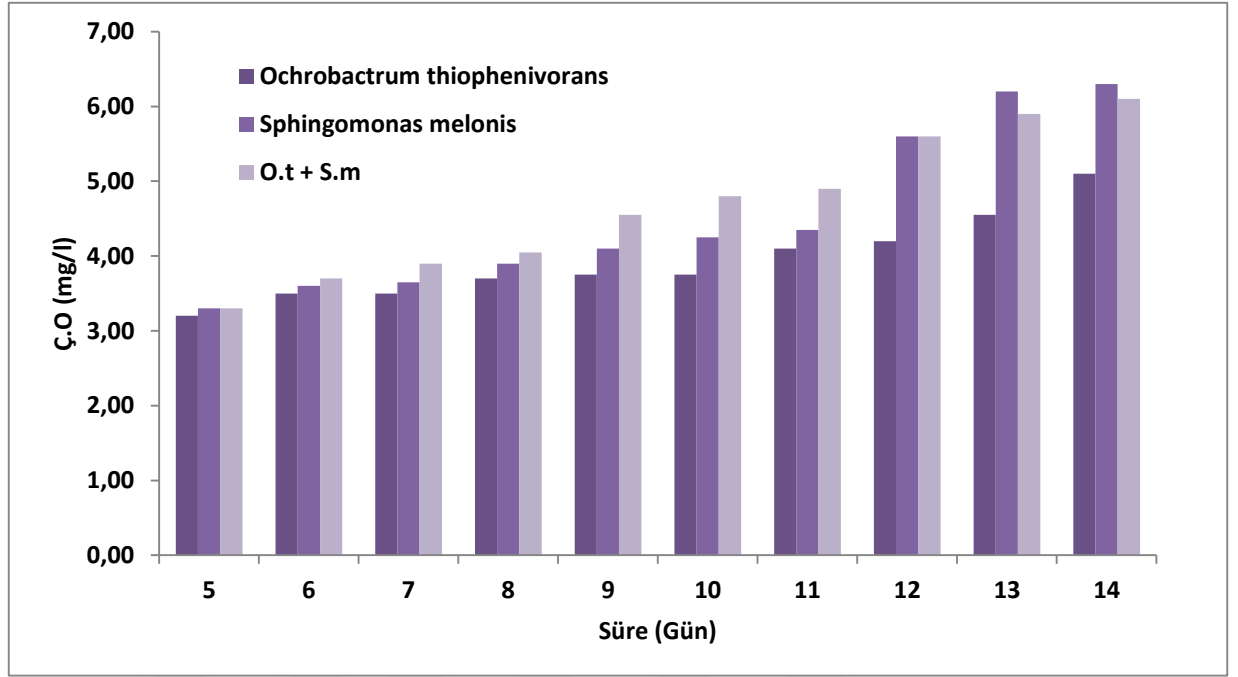
Şekil 3.3. Bakteri türlerinde ve karışımlarında sıvı ortamda BOİ₅ azalışı



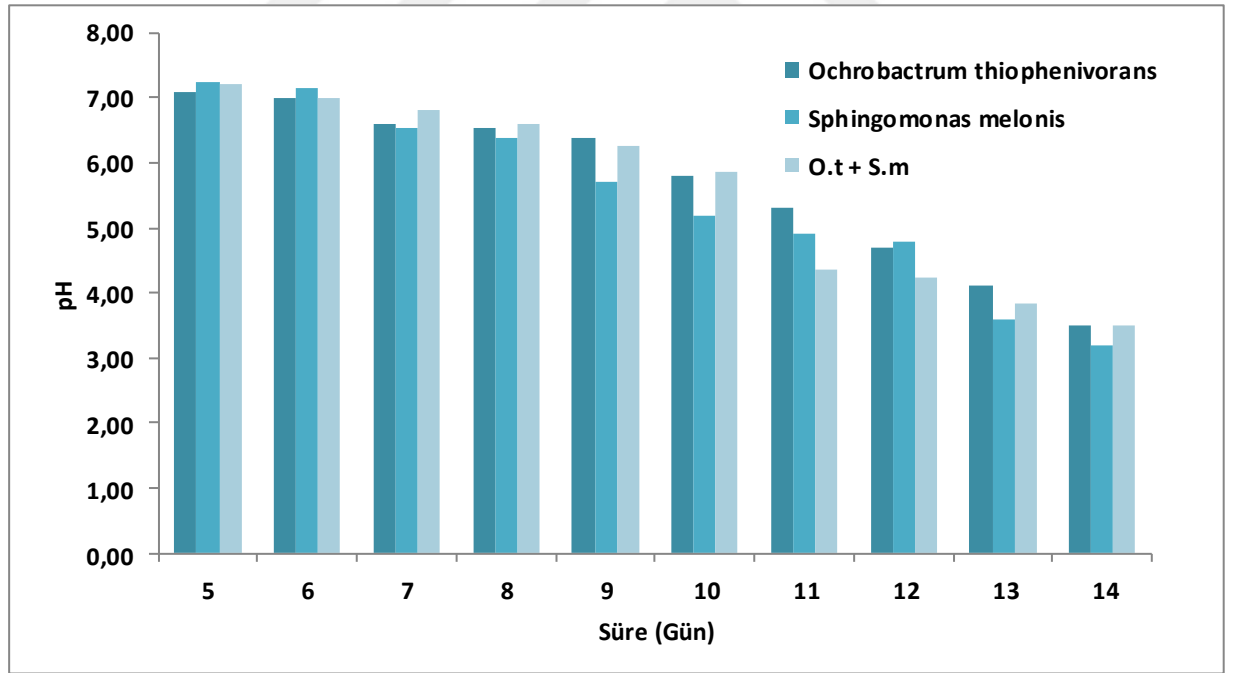
Şekil 3.4. Bakteri türlerinde ve karışımlarında sıvı ortamda TOK azalışı

Ortamların KOİ, BOİ₅ ve TOK azalışları, sistemin verimli bir şekilde çalıştığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre *Ochrobactrum thiophenivorans* (o.m) türünde KOİ azalışı 14. günün sonunda %92,7; *Sphingomonas melonis* (s.m) türünde %96,2, karışımda ise %95,5'dir. Benzer sonuçlar BOİ₅ ve TOK'da da görülmektedir. BOİ₅ deki azalma *Ochrobactrum thiophenivorans* türünde %93,4 iken *Sphingomonas melonis* türünde %89,4, karışımda ise %93,4'tür. TOK azalışları ise üç farklı deney ortamlarında sırasıyla %94, %89 ve %94,9 olarak saptanmıştır.

Çalışmada Ç.O ve pH değerleri de incelenmiş olup, *Ochrobactrum thiophenivorans*, *Sphingomonas melonis* ve karışımlarının imidakloprid pestisitine karşı göstermiş oldukları biyoislah faaliyetlerinde ortamların bu parametrelerdeki değişimleri de kontrol edilmiştir. Bu değişimler şekil 3.5 ve 3.6'de gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Bakteri türlerinde ve karışımlarında Ç.O değişimi



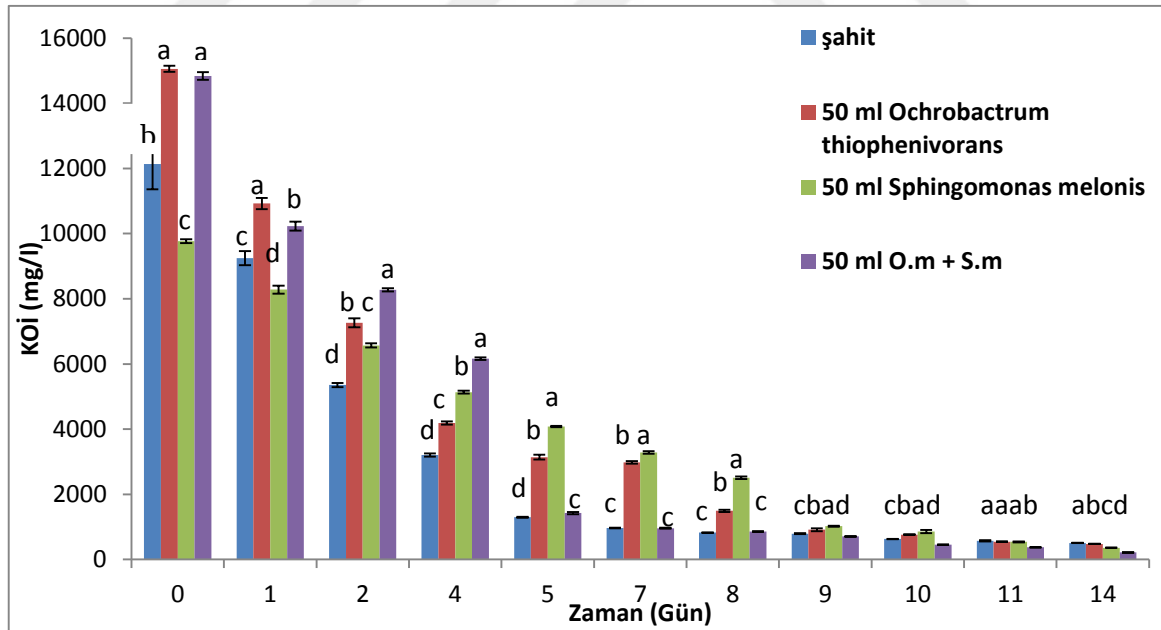
Şekil 3.6. Bakteri türlerinde ve karışımlarında pH azalışı

Ç.O sonuçları incelendiğinde ortamın mikroorganik faaliyetlerle fakültatif şartlardan aerobik şartlara yükseldiği gözlemlenmektedir. Bu durum sistemde çalışan bakteri türlerinin ortamdaki oksijeni tüketerek bir biyoyıslah faaliyetinde olduklarını göstermektedir. pH sonuçları incelendiğinde ise çalışma ortamının şartlarının başlangıçta

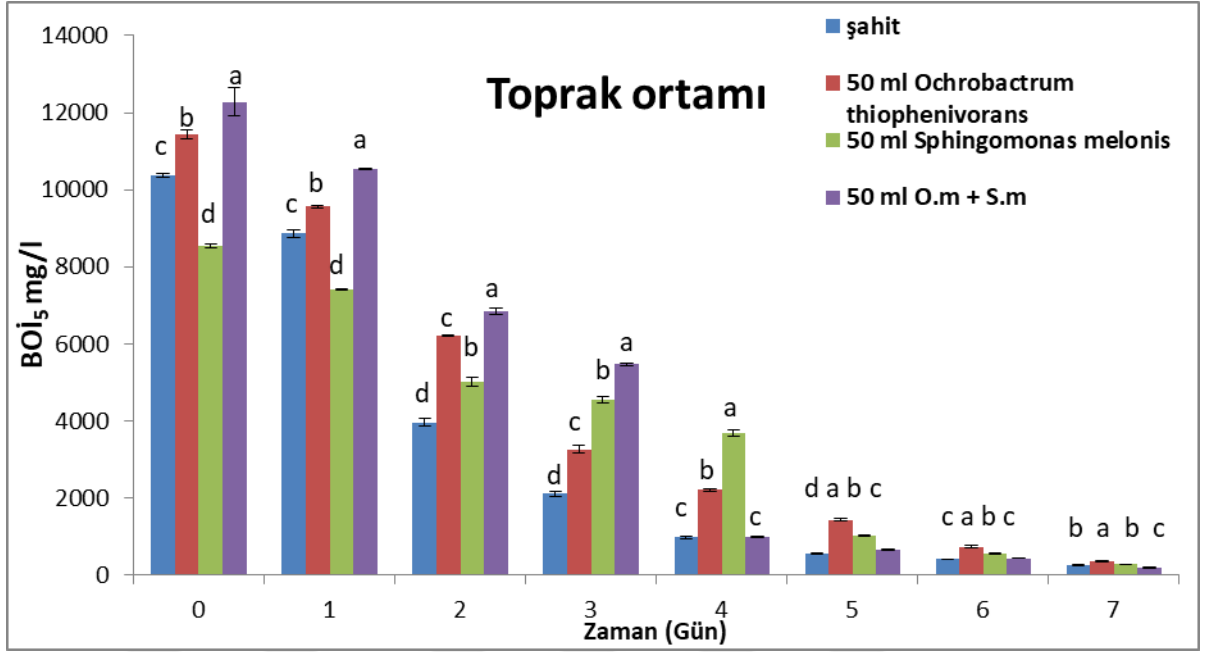
pH 7 civarından günler geçtikçe 3-4 aralığında asidik bir karaktere büründüğünü görmekteyiz. Bu da ortamda meydana gelen karbonik asitin bir sonucudur. Ortamdaki oksijenin artmasına bağlı olarak pH düşüklüğü yaşanması beklenen bir olaydır.

3.3.2. Toprak ortamında yapılan biyoislah çalışmaları sonuçları

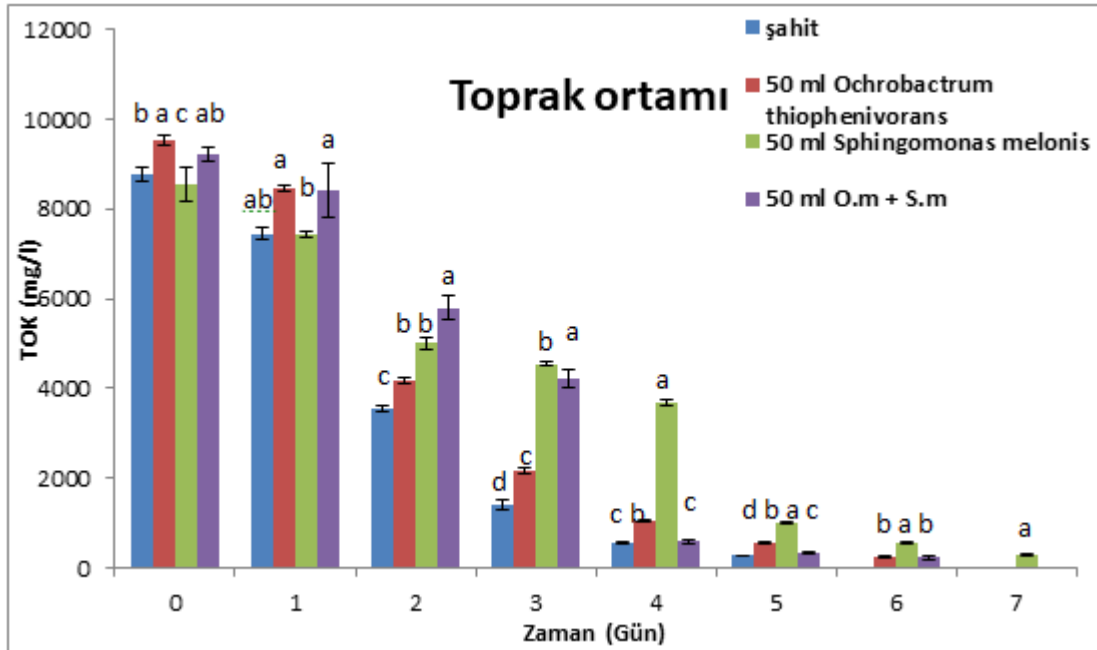
Gerek çalışmanın sıvı ortamında daha önceden 5-10-25-50 ml’lik mikroorganizma türleri kullanıldığında pestisitın mevcut KOİ değerine en yakın sonuç 50 ml’lik karışık kültürlerde görüldüğü için gerekse toprağın da karışık bir mikroorganizma ortamına sahip olduğu için toprak ortamında da bakterilerin bu şartlarda biyoislah faaliyetlerinde çalışması amaçlanmıştır. Zenginleştirilen *Ochrobactrum thiophenivorans* ve *Sphingomonas melonis* türlerinin 50’şer ml’si (ml’sinde yaklaşık 10^6 adet bakteri barındırır) ve her iki bakteri türünün 25’er ml’sinin oluşturduğu karışımlar hazırlanıp steril toprakların üzerlerine ilave edilmesiyle ve sulandırılmasıyla 24’er saat arayla elde edilen süzöntülerden alınan örneklerin KOİ, BOİ₅ ve TOK değerleri şekil 3.7-3.9 arasında gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Bakteri türlerinde ve karışımlarında toprak ortamında KOİ azalışı



Şekil 3.8. Bakteri türlerinde ve karışımlarında toprak ortamında BOI₅ azalışı



Şekil 3.9. Bakteri türlerinde ve karışımlarında toprak ortamında TOK azalışı

4. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre Adana ili Alihocalı mahallesi pamuk tarımı yapılan zirai alandan izole edilen *Ochrobactrum thiophenivorans* ve *Sphingomonas melonis* bakterilerinin ayrı ayrı ve birlikte oluşturdukları konsorsiyumların İmidaklorid etken maddeli pestisit sıvı ve toprak ortamında yüksek bir verimle parçalayıp bu maddenin alıcı ortamlara vereceği olumsuz etkileri azaltabileceği görülmüştür. Sıvı ortamda yapılan ayrı ayrı ve karışık kültürlerin biyoislah çalışmaları sonuçlarına göre iki haftalık periyot neticesinde *Sphingomonas melonis* bakterisinde *Ochrobactrum thiophenivorans* türüne göre KOİ bazında daha iyi bir performans sergilediği, ancak BOİ₅ ve TOK parametresinde ise yaklaşık yüzde 5'lik bir farkla *Ochrobactrum thiophenivorans* tütünün *Sphingomonas melonis* türünden daha başarılı olduğu saptanmıştır. İki bakteri türünün karışımını ele aldığımızda her üç parametre için de verim %93'ün üzerinde görülmektedir. Tek tek çalışılan bakteriler ile elde edilen giderim verimleriyle kıyasladığımızda görülen yüzde 1-5 arasındaki farklılıklar, sistemin sürekli mikrobiyal aktivitede olduğundan bazı deneysel sapmalardan dolayı olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan benzer çalışmaları ele alacak olursak, toprak ve su ortamında pestisitlerin mikrobiyal parçalanmasına ilişkin pek çok çalışma mevcuttur (Awad ve ark., 2011). Yang ve ark. (2014)'de fosfat-bazal minimal ortam kültürlerinde karbon kaynağı olarak klorimuron-etil (herbisit) kullanma yeteneğine sahip bir bakteri suşunu araştırmışlardır. Klorimuronetil'in tek karbon kaynağı olarak temin edildiğini, klorimüronetil degradasyonu ile birlikte mikrobiyal suşun büyüme oranının artmasını ve başlangıçta 50 mg/L lik klorimuron-etilden %95'inden fazlasının ayrıştığını bulmuşlardır. Boschin ve arkadaşları (2003)'de, *Aspergillus niger* mantarının klorsülfuron herbisitini parçalamasını incelemiştir. Sonuç olarak, dört hafta sonra, kimyasal bozulma dışında klorsülfuron için parçalanma verimini yaklaşık %30 bulmuşlardır. Toprak mikroorganizmaları, karbon ihtiyaçlarını karşılamak için pestisit kalıntılarını kullanırlar. Karışık bakteri ortamının kullanıldığı aerobik ve anaerobik ortamlarda yapılan çalışmalarda, endosulfanın biyolojik olarak %96 ya kadar giderildiği belirlenmiştir (Kumar ve Philip, 2006). Ergüven ve ark. (2016)'da, beş farklı toprak ünitesine Trakya topraklarından izole edilen bakteri ve mantar karışımları (*Bacillus simplex*, *Bacillus muralis*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus yunnanensis*, *Clostridium tetani*, *Penicillium trichoderma*, *Penicillium simplicissimum*,

Penicillium talaromyces, *Metacordyceps chlamydosporia* ve *Stachybotrys chartarum*) 1,2, 5 ve 10 ml (her ml sinde 10^9 koloni oluşturan ünite) olarak ilave edilmiştir. Bu toprak ünitelerinin her birine 1900 µg/L oranında Aklonifen herbisiti ilave etmişlerdir. Beş hafta süren çalışma sonucunda topraktan elde edilen süzöntülerde Aklonifen, KOİ, BOİ₅, ve TOK parametrelerinde sırasıyla % 93, % 98, % 99 ve % 99'luk giderim verimleri saptanmıştır. Aynı bakteri ve mantar türleriyle yine aklonifen herbisitinde toprak ortamında yapılan bir başka çalışmada ise karanlık ortamda artan konsantrasyonlarda mikroorganizma ilavesinin artan oranlarda giderim verimi yakaladığı saptanmıştır. 2 ml'lik karışık kültürlerde giderim verimi etken madde bazında 7 hafta sonucunda %63 de tamamlanırken 5 ml'lik karışık kültürlerde 6. haftanın sonunda %90, 10 ml'lik karışık kültürlerde ise 5. haftanın sonunda %97 olarak saptanmıştır. KOİ parametresinde karışık kültürlerde 5. günde %93'lük bir giderim verimi görülürken bakteri karışımlarında bu verim %90, mantar karışımlarında ise %91'dir. Etken maddede bu oran bakteri ve mantar karışımlarında sırasıyla %71 ve %91 olarak saptanmıştır. Her iki türün de oluşturduğu karışık kültürlerde topraktaki çalışmalarda en iyi giderim verimi 5. hafta sonunda %97 ile yakalanmıştır. 2 ml'lik karışık kültürlerde bu oran 7. hafta sonunda %63 iken, 5 ml'lik karışık kültürlerde 6. haftanın sonunda %90'luk bir giderim görülmüştür. Belal ve Mohamed (2013)'de pendimethalin ile kirlenmiş topraktan izole edilmiş *Pseudomonas putida* bakterileri pendimethalin herbisitinin biyoremediasyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır. 4 hafta sonunda; 100 µg/mL konsantrasyonda pendimethalinin bu bakteri türü tarafından uzaklaştırıldığını gözlemlemişlerdir. Ergüven ve Yildirim (2017)' de chlorsulfuron etken maddeli herbisit üzerine yaptıkları çalışmada 120 saat sonunda *B. simplex*, *B. muralis*, *M. yunnanensis*, *C. tetani* ve *M. luteus* türlerinde KOİ bazında %94, 78, 79, 74 ve 70 oranında bir giderim verimi tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre *B. simplex* türünün sıvı ortamda chlorsulfuron etken maddeli herbisitte iyi bir giderim verimi yakaladığını belirlemişlerdir (18000 mg/l den 1080 mg/l'ye). Yönten ve ark (2017)'de *P. Eryngii* mantar türünün KOİ bazında biyoparçalama verimini araştırmışlardır ve bu türün pestisit biyosilahında etkili olacağını belirlemişlerdir. Ergüven ve ark. (2017)'de malathion etken maddeli bir insektisit *P. chrysosporium* ile giderimi konusunda bir araştırma yapmışlardır. 50, 100 ve 150 ppm malathion konsantrasyonlarında ve 130 rpm de çalkalayıcı inkübatörde KOİ bazında bir takip gerçekleştirmişlerdir. 15. günün sonunda üç ayrı konsantrasyonda sırasıyla %97, 99 ve 99'luk bir giderim verimleri saptanmıştır. Elde ettikleri sonuca göre *P. Chrysosporium*'un, malathiona maruz bırakılmış alıcı

ortamların arıtımında uygun bir mikroorganizma olduğunu belirlemişlerdir. Ergüven (2017)'de bazı mantar türleriyle asetoklor herbisitinin etken madde, KOİ, BOİ₅ ve TOK bakımından giderim verimlerini çalışmıştır. Bu maksatla Trakya bölgesinden elde ettiği tarım toprağından izole ettiği izole ettiği *T. geodes*, *C. cicadae*, *M. owariensis*, *M. cylindrospora* ve *V. Chlamydosporium* türlerinde asetoklor etken maddesinde %91, 87, 78, 69 ve 55; KOİ'de %90, 90, 74, 61, ve 52; TOK'da %85, 85, 70, 55 ve 50 son olarak da BOİ₅'de %80, 76, 76, 54 ve 50'lik oranlarda giderim verimlilikleri belirlemiştir. Chlorpyrifos insektisitinin biyoparçalanırlığı üzerinde toprak bakterileri ile yapılan bir çalışmada, Maya ve ark. (2011)'de *Pseudomonas*, *Agrobacterium* ve *Bacillus* türlerini kullanmıştır. *Bacillus subtilis*, *Brucella melitensis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella* türleri, *Pseudomonas fluoresans*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia marcescens* türleri ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, 20. günün sonunda %46-72 verim elde edilmiştir ve klorpirifosun sulu ortamda karbon kaynağı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir (Lakshmib ve ark., 2008).

5. ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan *Ochrobactrum thiophenivorans* ve *Sphingomonas melonis* türlerinin imidakloprid insektisitini gerek sıvı gerekse toprak ortamında içinde bulundukları ortamda besi maddesi kalmadığında bir besin maddesi muamelesi yaptıkları belirlenmiştir. Sıvı ortamda 14 günde süren ve toprak ortamında 7-14 gün süren parçalama işlemi, ortama daha fazla türün gelmesiyle daha kısa sürede olabileceği literatür çalışmalarından da anlaşılmıştır. Eldeki imkanlar dahilinde pestisit etken maddesindeki azalımı kromatografik cihazlar olmadığından bakılamamıştır. Ancak, KOİ, BOİ₅ ve TOK da önemli çevre parametreleridir ve bizlere bu insektisit mikrobiyal parçalanması hakkında fikir verebilmektedir. Daha büyük bütçelerde etken madde bazında azalmalar ve hatta pestisit moleküler yapısındaki değişimler de takip edilebilir. Bununla birlikte parçalama işleminde görev alan mikroorganizmaların genlerinde meydana gelen farklılıklar da gözlemlenebilir. Tarım toprakları, pestisitleri parçalayabilecek nitelikte mikroorganizma barındırdığından farklı tarım topraklarından elde edilen mikroorganizmalarla farklı pestisitler üzerinde de çalışmalar yürütülebilir. Elde edilen sonuçlar ülkemizde pestisite maruz bırakılan alıcı ortamların rehabilite edilmesinde ve dolayısıyla besin zincirinin en üst basamağında yer alan insanoğlunun bünyesinde de pestisit birikimini engelleyebilecek tedbirlerin alınmasında yardımcı olacaktır.

KAYNAKÇA

- Abo-Amer A.**, 2011. Biodegradation of diazinon by *Serratia marcescens* DI101 and its use in bioremediation of contaminated environment. *J. Microbiol Biotechnol.* 2011;21(1):71-80.
- Alexander M.**, 1999. Biodegradation and bioremediation. 2nd ed. England: Academic Press.
- Ammounh H., Harba M., Idris E., Makee H.**, 2011. Isolation and characterization of native *Bacillus thuringiensis* isolates from Syrian soil and testing of their insecticidal activities against some insect pests, *Turk. J. Agric. For.*, 35 (2011) 421–431.
- Antonious G.F.**, 2012. On-farm bioremediation of dimethazone and trifluralin residues in runoff water from an agricultural field, *J. Environ Sci Heal B.*, 47(7)(2012) 608-621.
- Arrault S., Desaint S., Catroux C., Sémon E., Mougin C., Fournier J.C.**, 2002. Isolation and characterization of efficient isoxaben transforming *Microbacterium* sp strains from four European soils. *Pest. Manag. Sci.* 58: 1229-1235.
- Awad N., Sabit HH., Abo-Aba., SEM., Bayoumi RA.**, 2011. Isolation, Characterization and fingerprinting of some chlorpyrifos-degrading bacterial strains isolated from egyptian pesticides polluted soils. *Afr. J. Microbio.l Re.s* 5(18): 2855-2862.
- Bacosa H., Suto K., and Inoue C.**, 2010. Preferential degradation of aromatic hydrocarbons in kerosene by a microbial consortium, *Int. Biodeter. Biodegr.* 64(8)(2010) 702– 710.
- Baczynski T.P., Pleissner D., Grotenhuis T.**, 2010. Anaerobic biodegradation of organochlorine pesticides in contaminated soil - significance of temperature and availability. *Chemosphere.* 78(1): 22-8.
- Barragan-Huerta B.E., Costa-Pérez C., Peralta-Cruz J., Barrera-Cortés J.**, 2007. Esparza- García F. and Rodríguez-Vázquez, R. Biodegradation of organochlorine pesticides by bacteria grown in microniches of the porous structure of green bean coffee. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 59(3): 239–244.
- Belal BE, Mohamed FEN.**, 2013. Bioremediation of pendimethalin contaminated soil. *Afr J. Microbiol. Res.* 7(21): 2574–2588.
- Bending G.D., Lincoln S.D., Sorensen S.R., Morgan J.A.W., Aamand J., Walker A.**, 2003. In-field spatial variability in the degradation of the phenyl-urea herbicide isoproturon is the result of interaction between degradative *Sphingomonas* spp. and soil pH, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69 (2003) 827–834.

- Beutler, E., Gelbart, T. Kuhl, W.,** 1990. "Interference of Heparin with The Polymerase Chain Reaction", *Biotechniques* 9: 166.
- Bidlan, R., and Manonmani, H.K.,** 2002. Aerobic degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by *Serratia marcescens* DT-1P. *Process Biochem.*, 38: 49–56. Biodegradation of methyl parathion by *Acinetobacter radioresistens* USTB– 04. *J. Environ. Sci.*, 19: 1257–1260.
- Boschin, G., Agostina, A.D., Arnoldi, A., Marotta, E., Zanardini, E., Negri, M., Valle, A. and Sorlini, C.,** 2003. Biodegradation of chlorsulfuron and metsulfuronmethyl by *Aspergillus niger* in laboratory conditions. *J. Environ. Sci. Health*, 38: 737–746.
- Bourquin, A.W.,** 1977. Degradation of malathion by salt-marsh microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 356–362.
- Bouyoucos G. J.,** 1962. "Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils," *Agron. J.*, vol. 54, no. 5, pp. 464–465.
- Bremner J. M.,** 1965. *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, Agronomy Series no. 9, American Society of Agronomy, Madison, Wis, USA.
- Carrillo-Pérez E, Ruiz-Manríquez A, Yeomans-Reina H.,** 2004. Isolation, identification and evaluation of a mixed culture of microorganisms for degradation of DDT. *Rev Int. Contam. Ambient.* 20(2):69–75
- Choi MK, Kim KD, Ahn KM, Shin DH, Hwang JH, Seong CN.,** 2009. et al. Genetic and phenotypic diversity of parathion-degrading bacteria isolated from rice paddy soils. *J. microbiol biotechnol.* 2009;19(12):1679-87.
- Chowdhury, A., Pradhan, S., Saha, M., Sanyal N.,** 2008. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies *Indian J. Microbiol.* (2008) 48: 114
- Copley SD.,** 2009. Evolution of efficient pathways for degradation of anthropogenic chemicals. *Nature chemical biology.* 2009;5(8):559-66. .
- Cruikshank, R.,** 1972. *Medical Microbiology* 11th, Ed. Livingstone, London, 356s.
- Cycon M, Piotrowska-Seget Z.,** 2009. Changes in bacterial diversity and community structure following pesticides addition to soil estimated by cultivation technique. *Ecotoxicology.* 2009;18(5):632-42.
- de la Pena Mattozzi M, Tehara SK, Hong T, Keasling JD.,** 2006. Mineralization of paraoxon and its use as a sole C and P source by a rationally designed catabolic pathway in *Pseudomonas putida*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006;72(10):6699-706.
- Desaint, S., Hartmann, A., Parekh, N.R. and Fournier, J.C.,** 2000. Genetic diversity of carbofuran-degrading soil bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 34: 173– 180

- Don, R.H and Pemberton, J.M.**, 1981. Properties of six pesticide degradation plasmids isolated from *Alcaligenes paradoxus* and *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.*, 145(2): 681–686.
- E.B. Belal, M.E. Negwa.**, 2014. Biodegradation of pendimethalin residues by *P. chrysosporium* in aquatic system and soils, *J. Biol. Chem. Environ. Sci.*, 9 (2014) 383–400.
- El Sebai, T., Lagacherie, B. and Martin-Laurentm, F.**, 2004. Isd characterisation of an isoproturon–mineralising *Methylophilus* sp. TES from French agricultural soil. *FEMS Microbiol. Lett.*, 239: 103–110.
- El-Deeb, A.B.**, 2001. Catabolic plasmid–mediated heavy metal resistance in herbicide diuron–degrading *Pseudomonas* species. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 11: 7–12.
- EPA, (Environmental Protection Agency).**, 2006. In situ treatment technologies for contaminated soil. Environmental Protection Agency, Contract No: EPA 542/F-06/013.
- Ergüven G. O., Yildirim N.**, 2016. Efficiency of some soil bacteria for chemical oxygen demand reduction of synthetic chlorsulfuron solutions under agitated culture conditions. *Cell. Mol. Biol.* 2016, 62 (6): 92-96
- Ergüven G.O., Bayhan H., Demir G., İkizoglu B., Kanat G.**, 2016. Monitoring Aclonifen Remediation in Soil with a Laboratory-Scale Research. *J. Chem.* Makale no: 5059049 p. 1-8
- Ergüven G.O., Yildirim N., Adar E.**, 2017. The ability of *Phanerochaete chrysosporium* (ME446) on chemical oxygen demand remediation in submerged culture medium supplemented with malathion insecticide. *Desalin. Water Treat.* 94 (2017) 231–235.
- Ergüven G.O.**, 2017. Role of Some Selected Fungi Cultures on Bioremediation of Herbicide Chlorsulfuron. *JOTAF* 2017: 14 (02) 110-118.
- Ergüven Gökhan Önder, Bayhan Hürrem, İkizoglu Bahar, Kanat Gürdal, Demir Göksel.**, 2016. Removal Rate Of Herbicide Aclonifen With Isolated Bacteria and Fungi. *ALOKI*, 14(2), 351-365.
- Ergüven Gökhan Önder., Yıldırım Numan., Adar Elanur.**, 2017. The Ability Of *Phanerochaete Chrysosporium* (Me446) on Chemical Oxygen Demand Remediation in Submerged Culture Medium Supplemented With Malathion Insecticide. *Desalin Water Treat.*, 94, 231-235
- Fernandes C.C., Pizano A.M. and Morales A.M.**, 2013. Characterization modes of action and effects of Trifluralin. *Agricultural and Biological Sciences*. "Herbicides- Current Research and Case Studies in Use". DOI: 10.5772/55169.

- Gemmell B.J., Hernando P.B., Zhanfei L. and Edward J.B.**, 2016. Can gelatinous zooplankton influence the fate of crude oil in marine environments?, *Marine Pollution Bulletin.*, 15;113(1-2)(2016) 483-487
- Ghadiri H. and Rose C.V.**, 2001. Degradation of endosulfan in a clay soil from cotton farms of Western Queensland, *J. Environ. Manage.*, (62)(2001) 155-169.
- Ghanum, I., Orfi, M. and Shamma, M.**, 2007. Biodegradation of chlorpyrifos by *Klebsiella* sp. isolated from an activated sludge sample of waste water treatment plant in Damascus. *Folia Microbiol.*, 52: 423-427.
- Golfinopoulos S.K., Nikolaou A.D. and Kostopoulou M.N.**, 2003. Organochlorine pesticides in the surface waters of Northern Greece, *Chemosphere*, 50(4)(2003) 507-516.
- Gomes-Machado, K.M., Matheus D.R., Rosim-Monteiro, R.T. and Ramos-Bononi, V.L.**, 2005. Biodegradation of pentachlorophenol by tropical basidiomycetes in soils contaminated with industrial residues. *World J. Microbiol Biotechnol.* 21(3): 297-301.
- Goncalves C., J.J. Carvalho., M.A. Azenha., M.F.**, 2006. Alpendurada Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography-tandem mass spectrometry *J. Chromatogr. A*, 1110 (2006), pp. 6-14
- Grant R.J., Daniell T.J. and Betts W.B.**, 2002. Isolation and identification of synthetic pyrethroid-degrading bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 92: 534-540.
- Hayatsu M., Hirano M., Tokuda S.**, 2000. Involvement of two plasmids in fenitrothion degradation by *Burkholderia* sp. strain NF100. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000;66(4):1737-40.
- Hayatsu M., Hirano M., Tokuda S.**, 2000. Involvement of Two Plasmids in Fenitrothion Degradation by *Burkholderia* sp. strain NF100. *Appl. Environ. Microbiol.*. 2000; 66: 1737-40.
- Jauregui, J., Valderrama, B., Albores, A. and Vazquez-Duhalt, R.**, 2003. Microsomal transformation of organophosphorus pesticides by white rot fungi. *Biodegradation*, 14: 397-406.
- Kacar B. and I.Kovancı.**, 1982. "Bitki, Toprak ve Gübrelerde Kimyasal Fosfor Analizleri ve Değerlendirilmesi," Tech. Rep. 354, Ege Universitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, Türkiye.
- Kacar B.**, 1972. "Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri: II. Bitki Analizleri", Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları: 453, Uygulama Klavuzu:155, Ankara, Türkiye.
- Kacar B.**, 1972. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri: II. Bitki Analizleri, Uygulama Klavuzu: 155, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Turkey.

- Kaplan CW1., Kitts CL.,** 2004. Bacterial succession in a petroleum land treatment unit. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004 70(3):1777-86.
- Karasali H., Marousopoulou A. and Machera K.,** 2016. Pesticide residue concentration in soil following conventional and low-input crop management in a mediterranean agro- ecosystem in central Greece, *Sci. Total Enviro.*, (541)(2016) 130–142.
- Karpouzas, D.G., and Singh, B.K.,** 2006. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: Metabolic pathways and molecular basis. *Adv. Microb. Physiol.*, 51: 119–185.
- Karpouzas, D.G., Fotopoulou, A., Menkissoglu–Spiroudi, U. and Singh, B.K.,** 2005. Non–specific biodegradation of the organophosphorus pesticides, cadusafos and ethoprophos, by two bacterial isolates. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 53: 369–378.
- Katayama A. and Matsumura F.,** 2009. Degradation of organochlorine pesticides, particularly endosulfan, by *Trichoderma harzianum*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12(6): 1059–1065.
- Kim, Y.H., Ahn, J.Y., Moon, S.H. and Lee, J.,** 2005. Biodegradation and detoxification of organophosphate insecticide, malathion by *Fusarium oxysporum* cutinase. *Chemosphere*, 60: 1349–1355.
- Konradsen F., Van Der Hoek W., Cole D.C., Hutchinson G., Daisley H., Singh S. and Eddleston M.,** 2003. Reducing acute poisoning in developing countries-options for restricting the availability of pesticides., *Toxicology*, 192(2003) 249–261
- Kopytko, M., Chalela, G. and Zauscher, F.,** 2002. Biodegradation of two commercial herbicides (Gramoxone and Matancha) by the bacteria *Pseudomonas putida*. *Electronic J. Biotechnol.*, 5: 182–195.
- Kuiper I, Legendijk EL, Bloemberg GV, Lugtenberg BJ.,** 2004. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI.* 2004;17(1):6- 15.
- Kumar M. and Philip L.,** 2006. Adsorption and desorption characteristics of hydrophobic pesticide endosulfan in four Indian soils, *Chemosphere* 62(7)(2006) 1064-1077.
- Kwon, G.S., Sohn, H.Y., Shin, K.S., Kim, E. and Seo, B.I.,** 2005. Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE–8. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 67: 845–850.
- Lakshmib C.V., M. Kumarb and S. Khanna.,** 2008. Biotransformation of chlorpyrifos and bioremediation of contaminated soil. *Int. Biodeter. Biodeg.*, 62 (2)(2008): 204–209.
- Langerhoff A., Charles P., Alphenaar A., Zwiep G., Rijnaarts H.,** 2001. Intrinsic and stimulated in situ biodegradation of Hexachlorocyclohexane (HCH). 6th international HCl and pesticides.

- Lee SE, Kim JS, Kennedy IR, Park JW, Kwon GS, Koh SC., 2003. et al.** Biotransformation of an organochlorine insecticide, endosulfan, by *Anabaena* species. *J. Agric. Food Chem.* 2003;51(5):1336-40.
- Lima, D., Viana, P., André, S., Chelinho, S., Costa, C., Ribeiro, R., Sousa, J.P., Fialho, A.M. and Viegas, C.A., 2009.** Evaluating a bioremediation tool for atrazine contaminated soils in open soil microcosms: The effectiveness of bioaugmentation and biostimulation approaches. *Chemosphere*, 74: 187–192.
- Liu, F.Y., Hong, M.Z., Liu, D.M., Li, Y.W., Shou, P.S., Yan, H., and Shi, G.Q., 2007.** Biodegradation of methyl parathion by *Acinetobacter radioresistens* USTB-04. *J Environ Sci (China)*. 2007;19(10):1257-60.
- Liu, Y., Xu Z., Wu X., Gui W. and Zhu G., 2010.** Adsorption and desorption behavior of herbicide diuron on various Chinese cultivated soils, *J. Hazard. Mater.*, 178(2010) 462–468.
- Lopez, L., Pozo, C., Rodelas, B., Calvo, C., Juarez, B., Martinez–Toledo, M.V., and Gonzalez–Lopez, J., 2005.** Identification of bacteria isolated from an oligotrophic lake with pesticide removal capacities. *Ecotoxicology*, 14: 299–312.
- Maloney S.E., Maule, A. and Smith, A.R.W., 1988.** Microbial transformation of the pyrethroid insecticides: Permethrin, deltamethrin, fastac, fenvalerate, and fluvalinate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54(11): 2874–2876.
- Matsumoto E, Kawanaka Y, Yun SJ, Oyaizu H., 2009.** Bioremediation of the organochlorine pesticides, dieldrin and endrin, and their occurrence in the environment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009;84(2):205-16.
- Mattes T.E., Alexander K.A., Coleman N.V., 2010.** Aerobic biodegradation of the chloroethenes: pathways, enzymes, ecology, and evolution *FEMS Microbiol Rev*, Volume 34, Issue 4, 1 July 2010, Pages 445–475.
- Maya K., Singh R.S., 2011.** S.N. Upadhyay and S.K. Dubey, Kinetic analysis reveals bacterial efficacy for biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolyzing metabolite TCP Process, *Biochem.*, (46)(2011) 2130–2136.
- McLean, K.S. and Lawrence, G.W., 2003.** Efficacy of aldicarb to *Rotylenchulus reniformis* and biodegradation in cotton field soils. *J. Nematol.*, 35: 65–72.
- Mukherjee, I., and Mittal, A., 2005.** Bioremediation of endosulfan using *Aspergillus terreus* and *Cladosporium oxysporum*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 75: 1034–1040.
- Murthy HM, Manonmani HK., 2007.** Aerobic degradation of technical hexachlorocyclohexane by a defined microbial consortium. *J. Hazard Mater.* 2007;149(1):18-25.

- Musarrat, J., Bano, N., and Rao, R.A.K.,** 2000. Isolation and characterization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-catabolizing bacteria and their biodegradation efficiency in soil. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 16: 495–497.
- Nawaz, K., Hussain, K., Choudary, N., Majeed, A., Ilyas, U., Ghani, A., Lin, F., Ali, K., Afghan, S., Raza, G. and Lashari, M.I.,** 2011. Eco-friendly role of biodegradation against agricultural pesticides hazards. *Afri. J. Microbiol. Res.*, 5(3): 177–183.
- Norris A. Past Alaska Master Gardener Manual.,** 2011. [cited 2012 February, 10th]; Available from: www.uaf.edu/ces/districts/tanana/mg/manual. *Gilden RC, Huffling K, Sattler B.* Pesticides and health risks. *JOGNN.* 2010;39(1):103-10.
- Okeke, B.C., Siddique, T., Arbestain, M.C. and Frankenberger, W.T.** 2002. Biodegradation of hexachlorocyclohexane and hexachlorocyclohexane in water and soil slurry by *Pandora sp.* *J. Agric. Food Chem.*, 50: 2548–2555.
- Oliveira-Silva J.J., Alves S.R. and Meyer A.,** 2001. Influence of socioeconomic factors on the pesticides poisoning Brazil, *Rev. Saude. Publica.*, 35(2)(2001) 130-135.
- Özkaya B., Demir A.,** 2011. “Microbial Community Analysis With Pcr-Dgge-Sequencing Based Molecular Methods in Municipal Solid Waste Management”, *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, Sigma* 3: 219-227.
- Paingankar, M., Jain, M. and Deobagkar, D.,** 2005. Biodegradation of allethrin, a pyrethroid insecticide, by an *Acidomonas sp.* *Biotechnol Lett*, 27: 1909– 1913.
- Parekh, N.R., Hartmann, A., Charnay, M.P. and Fournier, J.C.,** 1995. Diversity of carbofuran-degrading soil bacteria and detection of plasmid-encoded sequences homologous to the *mcd* gene. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 17: 149–160.
- Parkinson A.,** 2001. Biotransformation of xenobiotics. In: Curtis K, editor. Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons. 6th ed. USA: McGraw-Hill; p. 133-224.
- Phillips, T. M., Seech, A. G., Lee, H., & Trevors, J. T.,** 2005. Biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) by microorganisms. *Biodegradation*, 16: 363–392.
- Pothuluri JV., Freeman JP., Heinze TM., Beger RD., Cerniglia CE.,** 2000. Biotransformation of vinclozolin by the fungus *Cunninghamella elegans*. *J. Agric. Food. 2000 Chem. Dec*;48(12):6138-48.
- Qureshi A, Mohan M, Kanade GS, Kapley A, Purohit HJ.,** 2009. In situ bioremediation of organochlorine-pesticide-contaminated microcosm soil and evaluation by gene probe. *Pest manag sci.* 2009;65(7):798-804.
- Radosevich M., Traina S.J., Hao Y.L. and Touvinen O.H.,** 1995. Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate, *Appl. Environ. Microbiol.* (61)(1995) 297-302.

- Richards L. A.**, 1954. Diagnosis and improvement of Saline and Alkali Soils, USDA Agriculture Handbook No. 60, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC, USA.
- Rigas, F., Dritsa, V., Marchant, R., Papadopoulou K., Avramides, E.J. and Hatzianestis, I.**, 2005. Biodegradation of lindane by *Pleurotus ostreatus* via central composite design. *Environ. Int.*, 31(2): 191–196.
- Ronhede, S., Jensen, B., Rosendahl, S., Kragelund, B.B., Juhler, R.K. and Aamand, J.**, 2005. Hydroxylation of the herbicide isoproturon by fungi isolated from agricultural soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 7927–7932.
- Sethunathan, N., Megharaj, M., Chen, Z.L., Williams, B.D., Lewis, G. and Naidu, R.**, 2004. Algal degradation of a known endocrine disrupting insecticide, endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate, in liquid medium and soil. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3030–3035.
- Sette, L.D., de Oliveira, V.M. and Manfio, G.P.**, 2005. Isolation and characterization of alachlor degrading actinomycetes from soil. *Int. J. Gen. Molec. Microbiol.*, 87: 81–89.
- Shan XIE, Junxin LIU, Lin LI, Chuanling QIAO.**, 2009. Biodegradation of malathion by *Acinetobacter johnsonii* MA19 and optimization of cometabolism substrates. *J. Environ. Sci.* 21(1):76–82
- Shanahan, Peter.**, 2004. Bioremediation. Waste Containment and Remediation Technology, Spring 2004, Massachusetts Institute of Technology, MIT Open Course Ware.
- Sharma, P., Raina, V., Kumari, R., Malhotra, S., Dogra, C., Kumari, H., Kohler, H.P.E., Buser, H.R., Holliger, C. and La, R.**, 2006. Haloalkane dehalogenase LinB is responsible for and hexachlorocyclohexane transformation in *Arthrobacter aurescens* B90A. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(9): 5720–5727.
- Shi, S.J. and Bending, G.D.**, 2007. Changes to the structure of *Sphingomonas* sp. communities associated with biodegradation of the herbicide isoproturon in soil. *FEMS Microbiol. Lett.*, 269: 110–116.
- Sibanda MM, Focke WW, Labuschagne FJ, Moyo L, Nhlapo NS, Maity A.**, 2011. et al. Degradation of insecticides used for indoor spraying in malaria control and possible solutions. *Malar J.* 2011;10:307.
- Siddique, T., Okeke, B.C., Arshad, M., and Frankenberger, W.T.**, 2003. Enrichment and isolation of endosulfan-degrading microorganisms. *J. Environ. Qual.*, 32: 47–54.
- Singh BK, Kuhad RC, Singh A, Lal R, Tripathi KK.**, 1999. Biochemical and molecular basis of pesticide degradation by microorganisms. *Crit. Rev. Biotechnol.* 1999;19(3):197-225.

- Singh, B.K., Walker, A., Morgan, J.A.W. and Wright, D.J.**, 2004. Biodegradation of chlorpyrifos by *Enterobacter* strain B-14 and its use in bioremediation of contaminated soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70: 4855–4863.
- Singh, J. and Singh, D.K.**, 2005. Dehydrogenase and phosphomonoesterase activities in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) field after diazinon, imidacloprid and lindane treatments. *Chemosphere*, 60(1): 32–42.
- Singh, B. and Walker, A.**, 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev.*, 30: 428–471.
- Sprenger, W.W., Dijkstra, A., Zwart, G.J.M., van Agterveld, M.P., and van Noort, P.C.M.**, 2003. Competition of a parathion-hydrolyzing *Flavobacterium* with bacteria from ditch water in carbon-, nitrate- and phosphate-limited continuous cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 43: 45–53.
- Struthers J.K., Jayachandran K. and Moorman T.B.**, 1998. Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil, *Appl. Environ. Microbiol.*, (64)(1998) 3368-3375.
- Subramanian, G., Sekar, S. and Sampooram, S.**, 1994. Biodegradation and utilization of organophosphorus pesticides by Cyanobacteria. *Intern. Biodet. Biodeg.*, 33: 129–143.
- Sutherland, T.D., Horne, I., Harcourt, R.L., Russell, R.J. and Oakeshott, J.G.**, 2002. Isolation and characterization of a *Mycobacterium* strain that metabolizes the insecticide endosulfan. *J. Appl. Microbiol.*, 93: 380–389.
- Tomasek, P.H. and Karns, J.S.**, 1989 Cloning of a carbofuran hydrolase gene from *Achromobacter* sp. strain WM111 and its expression in Gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.*, 171: 4038–4044.
- Travers, R. S., Martin, P. A. W. and Reichelderfer, C. F.**, 1987. “Selective Process for Efficient Isolation of Soil *Bacillus* Sp.”, *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1263–1266.
- Turnbull, G.A., Ousley, M., Walker, A., Shaw, E., and Morgan, J.A.W.**, 2001. Degradation of substituted phenylurea herbicides by *Arthrobacter globiformis* strain D47 and characterization of a plasmid-associated hydrolase gene, *puhA*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 2270–2275.
- Tüzüner A.**, 1990. Toprak ve Su Analiz Laboratuvarları El Kitabı, T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, Turkey. University Institute of natural Sciences Elazığ 2007.
- Van Eerd L.L., Hoagland, R.E., Zablotowicz, R.M. and Hall, J.C.**, 2003. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Sci*, 51(4): 472–495.

- Vega A.B., Frenich A.G. and Vidal J.L.M.**, 2005. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta.*, 538: 117–127.
- Wackett L.P.**, 1995. Recruitment of co-metabolic enzymes for environmental detoxification of organohalides. *Environ. Health Perspect.* 103 Suppl 5:45-8.
- Walkley A. and Black I. A.**, 1934. “An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents,” *Soil Sci.*, vol. 63, pp. 251–263.
- Wasi, S., Tabrez, S. and Ahmad, M.**, 2011a. Suitability of immobilized *Pseudomonas fluorescens* SM1 strain for remediation of phenols, heavy metals and pesticides from water. *Water Air Soil Pollut*, 220(1–4): 89–99.
- Wolski, E.A., Murialdo, S.E. and Gonzalez, J.F.**, 2006. Effect of pH and inoculums size on pentachlorophenol degradation by *Pseudomonas* sp. *Water S.A.*, 32(1): 93–97.
- Yan, Q.X., Hong, Q., Han, P., Dong, X.J., Shen, Y.J. and Li, S.P.**, 2007. Isolation and characterization of a carbofuran-degrading strain *Novosphingobium* sp FND–3. *FEMS Microbiol. Lett.*, 271: 207–213.
- Yañez–Ocampo, G., Penninckx, M., Jiménez–Tobon, G.A, Sánchez–Salinas, E. And Ortiz–Hernández, M.L.**, 2009. Removal of two organophosphate pesticides employing a bacteria consortium immobilized in either alginate or tezontle. *J. Hazard. Mater.*, 168: 1554–1561.
- Yang L, Li X, Li Xu, Sua Z, Zhanga C, Zhang H.**, 2014. Bioremediation of chlorimuron- ethylcontaminated soil by *Hansschlegelia* sp. strain CHL1 and the changes of indigenous microbial population and N-cycling function genes during the bioremediation process. *J. Hazard. Mat.* 274: 314–321.
- Yang, L., Zhao, Y.H., Zhang, B.X., Yang, C.H. and Zhang, X.**, 2005. Isolation and characterization of a chlorpyrifos and 3,5,6–trichloro–2–pyridinol degrading bacterium. *FEMS Microbiol. Lett.*, 251: 67–73.
- Zelles, L., Adrian, P., Bai, Q. Y., Stepper, K., Adrian, M.V., Fischer, K., Maier, A., Ziegler, A.**, (1991) “Microbial Activity Measured in Soils Stored under Different Temperature and Humidity Conditions”, *Soil Biol Biochem.* 23: 955-962.
- Zhang X., Zhang H., Li X., Su Z., Wang J., Zhang C.**, 2009. Isolation and characterization of *Sporobolomyces* sp. LF1 capable of degrading chlorimuron-ethyl. *J. Environ. Sci.* 21: 1253–1260.
- Zhongli C, Shunpeng L, Guoping F.**, 2001. Isolation of methyl parathion-degrading strain M6 and cloning of the methyl parathion hydrolase gene. *Appl. Environ. Microbiol.*;67(10):4922-5.

Zotti, M. J., A. D. Grutzmacher, I. H. Lopes, and G. Smagghe., 2013. Comparative effects of insecticides with different mechanisms of action on *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): lethal, sublethal and dose-response effects. *Insect Sci.* 20(6): 743Ð752. (doi: 10.1111/1744-1917. 12008)



ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Tuncelide doğdu. Adana Seyhan Milli Mensucat İlköğretim Okulunda ilköğretimini tamamladıktan sonra Adana 5 Ocak lisesinde ortaöğrenimini tamamladı. 2010'da Çukurova Üniversitesi Çevre mühendisliği lisans bölümünü tamamladı. 2016 yılında Munzur Üniversitesi Çevre Mühendisliği Yüksek Lisans eğitimine başlamıştır.

