



Sphingomonas melonis ve *Bacillus muralis*'in İndaziflam Herbisiti Üzerinde Biyoparçalanma Performansının Değerlendirilmesi

Gökhan Önder ERGÜVEN^{1*} Gürdal KANAT²

¹Munzur Üniversitesi, Kimya Ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü/Laboratuvar Teknolojisi Pr. Tunceli/Türkiye
²Yıldız Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Davutpaşa/Türkiye

Geliş/Received: 09.06.2020

Kabul/Accepted: 07.07.2020

Atf yapmak için: Ergüven, G.Ö. & Kanat, G. (2020). *Sphingomonas melonis* ve *Bacillus muralis*'in indaziflam herbisiti üzerinde biyoparçalanma performansının değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(3), 318-324.
How to cite: Ergüven, G.Ö. & Kanat, G. (2020). Biodegradation performance of *Sphingomonas melonis* and *Bacillus muralis* on herbicide indaziflam. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(3), 318-324.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-1573-080X>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-2600-2912>

***Sorumlu yazarın:**

Gökhan Önder ERGÜVEN
Munzur Üniversitesi, Kimya Ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü/Laboratuvar Teknolojisi Pr. Tunceli/Türkiye.
✉: gokhanondererguven@gmail.com
Cep telefonu : +90 (546) 408 80 44

Öz: Bu çalışmada, toprak bakterileri olan *Sphingomonas melonis* ve *Bacillus muralis*'in farklı indaziflam herbisiti konsantrasyonlarında (100, 150 ve 200 ppm) biyodegradasyon performansı 25°C'ta kültür koşullarında önemli çevresel parametreler ile birlikte incelenmiştir. *S. melonis* bakterisi Türkiye'nin Adana ilindeki pamuk tarımı yapılan tarımsal alandan izole edilirken, *B. muralis* Kırklareli bölgesinde ayçiçeği tarlasından izole edilmiştir. Çalışma sonucunda; *S. melonis* için en etkili biyoparçalanma oranı 6 günde BOİ₅ ve KOİ için sırasıyla %83 ve 73 iken TOK giderim oranları ise %70'tir. *B. muralis* için en etkili biyoparçalanma oranı KOİ ve BOİ₅ parametrelerinde 5 günde 100 ppm'de %91 ve 84 iken TOK giderim oranı aynı zaman zarfında %77'dir. *S. melonis* ve *B. muralis*'de 5. ve 6. günlerin sonunda popülasyon dinamiği sonuçlarına göre bulanıklığın artması bu parametreler ile biyoremediasyon sonuçlarını doğrulamaktadır. Bu sonuçlar göstermiştir ki *S. melonis* ve *B. muralis* indaziflam remediasyonunda etkili KOİ, TOK ve BOİ₅ gideriminde kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Biyoparçalanma, indaziflam, *Sphingomonas melonis*, *Bacillus muralis*, çalkalamalı kültür koşulları, türbidite.

Biodegradation Performance of *Sphingomonas melonis* and *Bacillus muralis* on Herbicide Indaziflam

Abstract: In this study, the biodegradation performance of a soil bacteria *Sphingomonas melonis* and *Bacillus muralis* on the different (100, 150 and 200 ppm) concentrations of herbicide indaziflam (C₁₆H₂₀FN₅) under agitated (160 rpm) culture conditions at 25°C investigated with reduction of important environment parameters. *S. melonis* was isolated from agricultural field in Adana province of Turkey in cotton agricultural field while *B. muralis* was from Kırklareli city in sunflower field. As a results of the study; for *S. melonis*; the most efficient biodegradation rates were as 83 and 73% at 150 ppm for COD and BOD₅ respectively on 6 days while TOC removal rate was 70% in. For *B. muralis*, the most efficient biodegradation rates were as 91 and 84% at 100 ppm for COD and BOD₅ parameters respectively on 5 days while TOC removal rate was 77% in same time period. According to the results of the population dynamics of *S. melonis* and *B. muralis*; after the 5th and 6th day, this results corroborated with the increased turbidity These results indicate that *S. melonis* and *B. muralis* might be used in indaziflam remediation with a significant acetochlor, COD, TOC and BOD₅ reduction

Keywords: Biodegradation, indaziflam, *Sphingomonas melonis*, *Bacillus muralis*, agitated culture conditions, turbidity.

GİRİŞ

Pestisitlerin yoğun kullanımı toprak ekolojik ortamını etkilemektedir. Aynı zamanda toprak mikrobiyal

popülasyonları ve biyolojik aktivitesi de bu durumdan doğrudan etkilenmektedir. Böylece pestisitlerin bozunma

özellikleri de tetiklenmektedir. Son yıllarda, kimyasal maddeler ve toprak mikrobiyalleri arasındaki ilişki çevre biliminin önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir (Diao vd., 2005). Bu nedenle, pestisitlerin toprak mikrobiyaline etkisinin araştırılması, pestisitlerin toprak ekolojik güvenliği üzerindeki etkisini değerlendirmek için önemli bir göstergedir (Trasar-cepada vd., 2000).

Pestisitler, ekosistemleri ve insan sağlığını tehdit eder (Campo vd., 2013). Su kalitesinin bozulmasını önlemek için pestisitlerin atık sudan arıtılması gerektiği gibi yapılmalıdır (Castillo vd., 2008). Pestisitlerin aşırı kullanımının normal biyojeokimyasal döngüleri, toprak, hava ve suyu kirlettiği bilinmektedir (Latifi vd., 2012). Pestisit kaderi ve topraktaki davranışları kimyasal, biyolojik ve fotokimyasal bozunma, taşıma ve birikme, buharlaşma ve sızma gibi çeşitli ve sıklıkla eşzamanlı olgular içerirler (Senesi, 1992).

Herbisitlerin parçalanması genellikle çok sayıda mikroorganizma ile gerçekleşir. Her bir mikroorganizma herbisitler üzerindeki biyoremediasyon reaksiyonlarına katkıda bulunur, ancak tek bir suş ile mineralizasyonun hiçbir örneği açıklanmamıştır. Yeterli biyoremediasyon için farklı mikroorganizmaların ortamda bulunması gerekir (Ergüven, 2019).

Son yıllardaki laboratuvar ölçekli çalışmalar bakteri konsorsiyumları üzerinedir. Tek tek kültürlerin biyoremediasyondaki rollerine ilişkin çalışmalar oldukça azdır. Hızlı büyüme özelliğinde olmaları, kolay kullanımları ve düşük maliyetleri, bakterileri biyoremediasyon için uygun hale getirir (Cycon vd., 2009).

Mikroorganizmalar, az sayıda yan ürünle birlikte, zor olmayan koşullar altında birçok tür kalıcı organik kirleticileri parçalayarak çevresel biyoteknolojide önemli roller oynarlar (Yong & Zhong, 2010).

Indaziflam(C₁₆H₂₀FN₅), doğrudan toprağa uygulanan ve yabancı otları kontrol etmek için kullanılan nispeten yeni bir herbisittir (Sebastian vd., 2017). Birleşik Devletler Çevre Koruma Dairesi'ne göre indaziflam molekülü, indanil radikalının indaziflam-triazin indanona ve indaziflam-karboksilik aside oksidasyonu yoluyla bozunmaktadır. Bu metabolitler, ana bileşik ile birlikte, floretoilendiaminotriazin oluşturmak üzere daha da bozular. Kalıntılar sonunda zerre kadar olan kalıntıları da CO₂'ye dönüştürülür.

Indaziflam, 2012 yılında çeşitli tarımsal ve tarım dışı sistemlerde yabancı ot kontrolü için tescil edilmiştir ama tarla ve laboratuvar koşullarında toprakta taşınması ve dağılması hakkında sınırlı bilgi mevcuttur. Indaziflam, N-(2,6-dimetilindan-1-il) -6- (1-floretoil)-1,3,5-triazin-2,4-diaminin iki in-floretoil diastereoizomerinin bir inastereoizomerik karışımıdır. Bir selüloz biyosentez inhibitörü olarak narenciye, üzüm, meyve ağaçları, çam ağaçları, yıllık çimenler ve spor alanlarının

çimlendirilmesinde ve geniş yapraklı yabancı otların kontrolü için kullanılan bir herbisittir (Tompkins, 2010).

Günümüzde, pestisitlerin bakterilerin parçalayıcı enzimleri tarafından biyolojik olarak iyileştirilmesi tercih edilen yöntem olmuştur. Bunun sebebi bakterilerin çevre dostu olmasıdır ve geniş substrat özgüllüğüne sahip olması yönüyle aynı zamanda uygun maliyetleridir (Shen vd., 2010). Şimdiye kadar, pestisitleri parçalama yeteneğine sahip birçok bakteri suşu izole edilmiştir. Bu suşların çoğunun metabolik olarak pestisitleri kullandıkları bildirilmiştir (Dhanya, 2014).

Bununla birlikte bu bileşikler tek karbon kaynağı olarak kullanabilen ve bozabilen sadece birkaç bakteri suşu literatürde belirtilmiştir. Bunlardan bazıları *Flavobacterium sp.* ATCC 27551, *Brevundimonas diminuta* MG, *Pseudomonas stutzeri*, *Arthrobacter spp.*, *Agrobacterium radiobacter*, *Pseudomonas spp.*, *Arthrobacter sp.*, *Xanthomonas sp.* (Gorla vd., 2009), *Bacillus sp.* (Sreenivasulu ve Aparna, 2001), *Pseudomonas sp.* (Siddaramappa vd., 1973) ve *Serratia* (Pakala vd., 2007)' dir.

Daha kalıcı organik kirleticilerin parçalanmasını kolaylaştırmak veya mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini en aza indirmek için, biyoremediasyon teknikleri genellikle organik atıklara ve/veya hedeflenen kirleticilere karşı katabolik yeteneklere sahip özel suşlar getirmektedir (Chowdhury vd., 2008). Genetiği değiştirilmiş suşların kullanımı, pestisitlerin ayrıştırılması için etkili bir strateji oluşturabilir (Nikel vd., 2014). Ancak, yasal kısıtlamalar bu çözümü kısa vadede olanaksız kılmaktadır. Bu durumun aksine pestisitlere maruz kalan doğal organizmalar, bu maddeleri parçalama yeteneğine sahip olabilirler (Castillo vd., 2016). Aslında, bu teknik pestisitlerle çevre kirliliğinin giderilmesi için tasarlanmıştır (Barreiros vd., 2012).

Bu çalışmada, yukarıda belirtildiği gibi tekil bakteri kültürlerinin biyoremediasyondaki rollerini belirlemek için Kırklareli ve Adana'da ayçiçeği ve pamuk ekimi yapılan tarım arazisinden izole edilen *S. melonis* ve *B. muralis* tarım alanlarında kullanımı tavsiye edilen çeşitli indaziflam konsantrasyonlarında gösterdikleri biyodegradasyon performansı; pestisit etken maddesi azalmasına alternatif fikirler sunan Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ₅), toplam organik karbon (TOK) ve bulanıklık parametreleri ile incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Örneklerin toplanması, bakteri izolasyonu ve zenginleştirilmesi: 10 gr tarım toprağı örnekleri steril cam kavanozlara toprağın üst 20 cm lik tabakasından alınmıştır. Bu toprak örnekleri *S. melonis* bakterisi için Adana ili Yüreğir ilçesi Alihocalı mahallesi pamuk tarımı yapılan bir

bölgeden alınırken, *B. muralis* bakterisi ise Kırklareli ili'ne bağlı Lüleburgaz İlçesi'nin Turgutbey Köyü'nden ayçiçeği tarımı yapılan bir tarım alanından alınmıştır. Bu topraklar ayrı ayrı %0,8'lik sodyum klorürlü izotonik suda 10^{-4} 'e kadar seyreltilmiştir. Bu seyreltiden alınan 0,1 ml'lik örnekler sterilize edilerek hazırlanan plate count agar besiyerine aseptik şartlara sahip ekim kabini içinde ekimler yapılmıştır (Travers vd., 1987). Ekim sonrası petri kutuları 25°C 'lik inkübatöre alınmış ve bakterilerin gelişimi 5 günde tamamlanmıştır. Petri kutuları üzerinde gelişen bakteriler etiketlenip steril öze yardımıyla subarad dextrose brotha alınarak zenginleştirilmiştir (Saha & Chakrabarti, 2006). İzolasyon sonrası bu bakterilerin tür teşhisleri Johnson (1994)'de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

Tür teşhis çalışmaları oligonükleotid ve primerler, moleküler DNA (deoksiribonükleik asit) problemleri, sentetik genler ve klonlama, DNA dizilimi, protein sentezi, protein ve gen ekspresyonu analizleri ve hücre kültürü analizleri basamaklarını takip edilerek yürütülmüştür. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemleri için, elektroforez cihazı, mycycler thermal cycler system, jel görüntüleme sistemi, genetik analiz sistemi (Beckman Coulter CEQ 8000) kullanılmıştır (Ozkaya ve Demir, 2011).

Moleküler karakterizasyon çalışmaları, Beutler vd. (1990)'da belirtildiği esaslara göre "Isolating Genomic DNA from Gram Positive and Gram Negative Bacteria" metodlarına göre yapılmıştır. Alınan numuneler moleküler tekniklerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Mikrobiyal tür tayini; nükleik asit ekstraksiyonu, PCR, Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE) ve nükleik asit dizisinin belirlenmesi kademelerinden oluşmuştur. 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 ile ısı döngüleme (Thermal Cycler) aleti ile çoğaltılmış ve bu işlem sonrası metanojenik tür çeşitliliği, DGGE (Denature Gradyan Jel Elektroforezi) ve DNA dizi analiziyle tespit edilmiştir. Sekanslama yapılan örneklerin sekansları Snap Gene programında tespit edilmiştir ve sekans dizisi seçilmiştir. Elde edilen bakteriler daha sonar malt ekstat broth sıvı besi yerine steril bir öze ile alınarak 28°C 'de 5 gün boyunca 160 rpm de çalkalanarak zenginleştirilmiştir.

Biyoremediasyon çalışmaları: İndaziflam aktif maddesi sigma-aldrich (Germany) nın Türkiye distribütöründen 950782-86-2 CAS numarasıyla tedarik edilirken, PCA (Plate count agar) ve MEB (malt extract broth) Sigma Aldrich'den (Türkiye) M6409-70146 lot no ile satın alınmıştır. Pestisiti parçalayacak olan çalkalamalı kültür ortamının oluşturulması için *S. melonis* ve *B. muralis* bakterilerinden ayrı ayrı alınan zenginleştirilmiş kültürler 28°C da şartlandırılmıştır. 5 günlük inkübasyon

sonucunda elde edilen zenginleşmiş kültürlerden alınan 1 ml lik bakteri örnekleri (Her ml sinde yaklaşık 10^9 koloni oluşturan birey barındırır) 100 mL erlenmayer şişelerinin içine alınmış ve bunların içine 100, 150 ve 200 ppm oranlarında indaziflam ilavesi yapılmıştır. Bu kültürler 160 rpm 'de 6 gün boyunca 28°C 'da çalkalanmıştır. Her gün 12' şer saat arayla 650 nm dalga boyunda bulanıklık ölçümü ile eş zamanlı olarak KOİ, BOİ₅ ve TOK ölçümleri alınarak biyoremediasyon işlemi takip edilmiştir. Deneyler 3' er tekrarlı olarak yürütülmüştür ve bu tekrarların ortalaması alınmıştır. KOİ deneylerinde Standart Metot 5220C'de belirtilen kapalı reflüks titrimetric metot ışığında 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 kullanılırken BOİ₅ deneyinde ise Standart Metot 5210B yöntemi kullanılmıştır. TOK deneylerinde TEKMAR - DOHRMANN - Apollo 9000 cihazı ile Standart metot 5310A Yüksek sıcaklıkta yakma metodu kullanılmıştır. (APHA, 1998). Bunlara ilave olarak bu bakterilerin popülasyon dinamiğinin takibi için ortamdan alınan yaklaşık 5 ml'lik örneklerde 650 nm (Photolab 6600 UV-VIS Spectrophotometer) cihazında Harry ve ark. (1990)'da belirtilen yöntemine göre turbidite ölçümü yapılmıştır. Bütün deneyler oda sıcaklığında yürütülmüştür.

İstatistiksel Analizler: Bütün istatistiksel analizler "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile yapılmıştır (ANOVA 2017). Sunulan veriler üçer tekrarlı olarak yapılan deneylerin ortalamalarının standart sapmalarıyla ifade edilmiştir. KOİ, BOİ₅ ve TOK azalımlarına göre en yüksek giderim verimini gösteren değerler şekil 1-4 arasında verilmiştir.

BULGULAR

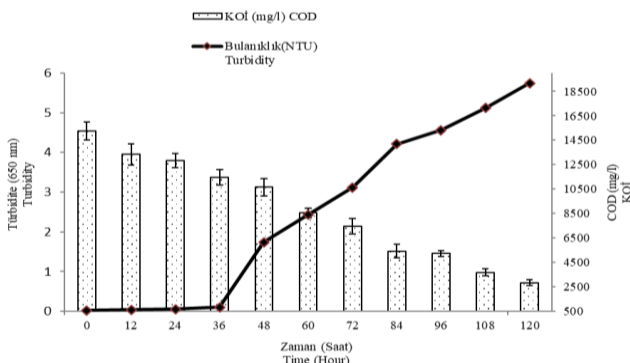
S. melonis ve *B. muralis*'nin indaziflam herbisiti üzerindeki biyoremediasyon performansının belirlenmesine yönelik olan çalışmalar 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonundaki indaziflam herbisit çözeltilerinde takip edilmiştir. Bu konsantrasyonlar bu herbisitin çiftçiler için tavsiye edilen kullanım konsantrasyonlarıdır. En yüksek giderim verimi KOİ parametresinde *B. muralis* türünde 100 ppm indaziflamda 5.günün sonunda % 91 olarak görülmüştür. Aynı parametrede *S. melonis* 150 ppm konsantrasyonda aynı süre zarfında %81' lik bir giderim verimi yakalamıştır. BOİ₅ parametresi incelendiğinde ise *S. melonis* bakterisi 6. Günün sonunda 150 ppm de %73 lük bir giderim yakalarken, *B. muralis* aynı konsantrasyonda 5. Günün sonunda %84'lük bir giderim sağlamıştır. TOK parametresindeki azalım ise *S. melonis* ve *B. muralis* türlerinde 150 ppm de 5. ve 6. Günün sonunda sırasıyla %

77 ve 71' dir. 5 günlük deney sonuçlarına göre *S. melonis* bakterisinde en düşük giderim verimi 200 ppm'de KOİ için % 56, BOİ için % 41 ve TOK için ise %53'tür. *B. muralis* bakterisindeki en düşük giderim verimleri 200 ppm' de bu üç parametre için sırasıyla %61, %46 ve %55 olarak göze çarpmaktadır. *S. melonis* bakterisinde 100 ppm'deki giderim verimi ve *B. muralis* bakterisinin 200 ppm'deki giderim verimleri bu değerlerin arasındadır. Her iki bakteri türünün 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyondaki indaziflam herbisitinde KOİ, BOİ₅ ve TOK bazında zamana bağlı olarak gösterdikleri azalmalar Tablo 1' de verilmiştir. Çalışmada ayrıca en iyi giderim veriminin tespit edildiği aralıklarda popülasyon dinamiği takibi yapılmıştır. Elde edilen en iyi giderim verimlerine ilişkin sonuçlar KOİ-populasyon dinamiği ve BOİ₅ – TOK parametreleri olarak *S. melonis* ve *B. muralis* bakterileri için sırasıyla Şekil 1-4 arasında verilmiştir.

Tablo 1. Bakteri türlerinin İndaziflam herbisitinde zamana bağlı olarak gösterdikleri KOİ, BOİ₅ ve TOK parametrelerindeki azalmalar.

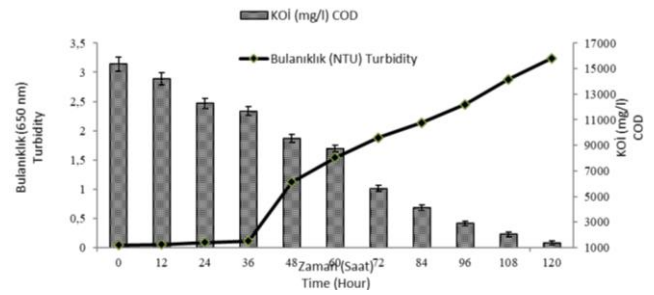
Table 1. Decreases in COD, BOD₅ and TOC parameters of bacterial species in time due to Indaziflam herbicide.

<i>S. melonis</i> 100 ppm				<i>S. melonis</i> 150 ppm			<i>S. melonis</i> 200 ppm		
Zaman (Saat)	KOİ (mg/l)	BOİ ₅ (mg/l)	TOK (mg/l)	KOİ (mg/l)	BOİ ₅ (mg/l)	TOK (mg/l)	KOİ (mg/l)	BOİ ₅ (mg/l)	TOK (mg/l)
0	11370	7280	9540	15250	10440	13280	20260	13290	22480
12	9540	6640	8940	13350	9220	13270	18890	12270	21110
24	9210	5980	8760	12840	8450	12580	17550	11490	18550
36	8640	5770	8550	11450	7890	10480	16670	10580	18220
48	8210	5460	7780	10660	7440	8560	15220	9970	17750
60	7450	4490	7460	8550	6220	7740	13360	9560	16690
72	6690	4280	6820	7460	5460	6280	12450	8870	14480
84	5420	3840	4490	5410	4520	5790	10170	8220	13330
96	5070	3420	4210	5220	3850	5320	9550	7900	12860
108	3890	3010	3750	3680	3350	4570	8890	7850	10750
120	3870	2980	3720	2840	3320	4510	8910	7840	10570
144	3870	2980	3720	2840	2820	3980	8910	7840	10570
<i>B. muralis</i> 100 ppm				<i>B. muralis</i> 150 ppm			<i>B. muralis</i> 200 ppm		
Zaman (Saat)	KOİ (mg/l)	BOİ ₅ (mg/l)	TOK (mg/l)	KOİ (mg/l)	BOİ ₅ (mg/l)	TOK (mg/l)	KOİ (mg/l)	BOİ ₅ (mg/l)	TOK (mg/l)
0	15360	7570	12490	19220	11540	13250	25540	12390	15760
12	14210	7440	11360	17750	9850	12540	23380	11480	14450
24	12280	6980	11020	1580	9210	11480	20170	10260	13220
36	11680	6740	70450	13250	7860	10560	18550	9550	12480
48	9540	6220	8440	10970	5460	8920	16970	9420	11280
60	8750	5870	7950	8420	4480	7420	14560	9110	8560
72	5640	5630	6420	6980	3950	6550	14120	8950	8420
84	4110	5220	5540	4580	2240	6210	12890	8220	7760
96	2890	4570	5360	3250	2050	4580	11580	7450	7450
108	2050	4250	5130	2710	1920	3110	10020	7020	7110
120	1380	4240	5120	2690	1850	3050	9960	6940	7090



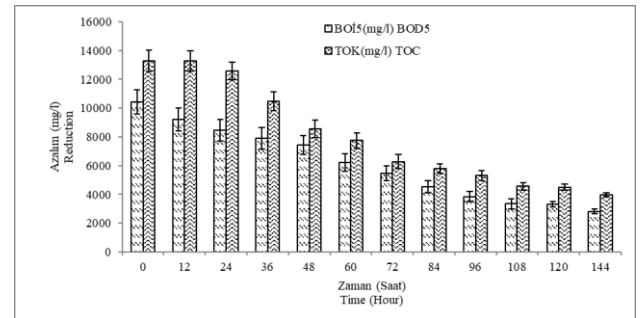
Şekil 1. 150 ppm İndaziflamın *S. melonis* bakterisi ile KOİ azalışının türbidite ile ilişkisi.

Figure 1. Relationship between *S. melonis* bacteria and COD reduction in 150 ppm İndaziflam with turbidity.



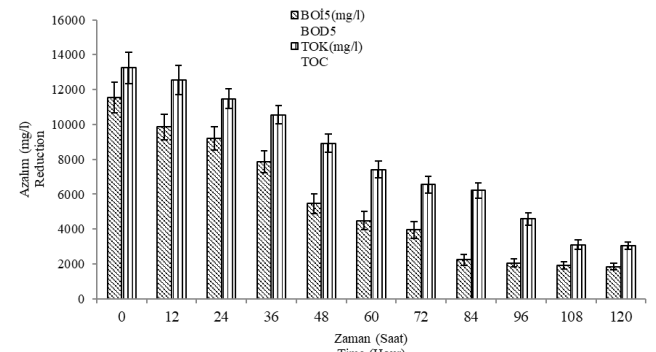
Şekil 2. 100 ppm İndaziflamın *B. muralis* bakterisi ile KOİ azalışının türbidite ile ilişkisi.

Figure 2. Relationship between *B. muralis* bacteria and COD reduction in 100 ppm İndaziflam with turbidity.



Şekil 3. *S. melonis* bakterisi ile 150 ppm İndaziflamda BOİ₅ ve TOK azalışı.

Figure 3. BOD₅ and TOC reduction in 150 ppm İndaziflam with *S. melonis* bacteria.



Şekil 4. *B. muralis* bakterisi ile 150 ppm İndaziflamda BOİ₅ ve TOK azalışı.

Figure 4. BOD₅ and TOC reduction in 150 ppm İndaziflam with *B. muralis* bacteria.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular literatürdeki benzer çalışma sonuçları ile uyumludur. Daha önceleri, birçok araştırmacı topraktan ya da sudan izole ettikleri mikroorganizmaların biyoremediasyon kapasitelerini tespit etmeye yönelik araştırmalarda bulunmuştur.

Murthy ve Manonmani (2007)'de *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* cinslerinden türler içeren ve saatler içinde parçalanma gerçekleştirebilen bir biyoremediasyon konsorsiyumunu belirlemişlerdir. Yang vd. (2014)'de klorimuron-etil (herbisit) kullanma yeteneğine sahip bir bakteri suşunu

araştırmışlardır. Klorimuronetil'in tek karbon kaynağı olarak temin edildiğini ve başlangıçta 50 mg/L lik klorimuron-etilden %95'inden fazlasının ayrıştığını bulmuşlardır. Ergüven ve ark. (2016)'da, beş farklı toprak ünitesine Trakya topraklarından izole edilen *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 olarak ilave edilmiştir. Bu toprak ünitelerinin her birine 1900 µg/L oranında Aklonifen herbisiti ilave etmişlerdir. Beş hafta süren çalışma sonucunda Aklonifen, KOİ, BOİ₅, ve TOK parametrelerinde sırasıyla %93, %98, %99 ve %99'lük giderim verimleri saptanmıştır. Belal ve Mohamed (2013)'de pendimethalin ile kirlenmiş topraktan izole edilmiş *Pseudomonas putida* bakterilerinin pendimethalin herbisitinin biyoremediasyonunda 4 hafta sonunda; 100 µg/mL konsantrasyonda pendimethalinin bu bakteri türü tarafından uzaklaştırıldığını gözlemlemişlerdir. Ergüven (2018)'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. cylindrosporae* ve *V. chlamydosporium* türlerinde asetoklor etken maddesinde %91 – 55 aralığında; KOİ'de %90 – 52 aralığında; TOK'da %85 - 50 aralığında ve BOİ₅'de %80 - 50'lik oranlarda giderim verimlilikleri belirlemiştir. Chlorpyrifos insektisitinin biyoparçalanırlığı üzerinde toprak bakterileri ile yapılan bir çalışmada, Maya ve Singh. (2011)'de *Pseudomonas*, *Agrobacterium* ve *Bacillus* türlerini kullanmıştır. *Bacillus subtilis*, *Brucella melitensis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella türleri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia marcescens* türleri ile yaptıkları çalışmaları sonucunda, 20. günün sonunda %46-72 verim elde edilmiştir. Diaz vd. (2016)'da bakteri ve mantar konsorsiyum kültür ortamında biyoparçalamaya kapasitesini değerlendirmiştir. Onbeş günlük bir inkübasyon sonucunda ortamda pestisit konsantrasyonunun dimethoate ve imidakloprid için %26-50 arasında düşüş gösterdiğini bulmuşlardır. Buna rağmen *A. xylosoxidans*, *P. aeruginosa*, *Bacillus* sp. ve *C. Koseri*'nin bireysel suşlarının profenofoz ve 4-bromo-2-chlorophenol'u parçalayamadığını ve parçalanma veriminin profenofoz parçalayan bakteri konsorsiyumuna nazaran çok daha düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Mikroorganizmalarda pestisitlere karşı tolerans, fizyolojik/genetik mikroorganizma düzeyinde gerçekleşen karmaşık bir süreçtir ve bu nedenle pestisitlere karşı direnç geliştiren mikroorganizmalar sıklıkla biyolojik olarak parçalanabilmektedir (Ortiz-Hernández ve Sánchez-Salinas, 2010). Benzer parçalanma yöntemleri

Brevundimonas diminuta MG ve *Flavobacterium* sp. ATCC 27551 (Gorla vd., 2009) ve *Bacillus* sp. (Sreenivasulu & Aparna, 2001) gibi çeşitli bakteri izolatlarıyla rapor edilmiştir. Bu çalışmada iki bakteri türünün indaziflam herbisitinin üç farklı konsantrasyonunda biyodegradasyon etkinliği araştırılmıştır. *B. muralis* genel olarak indaziflam biyoremediasyonu için diğer bakteri türünden daha fazla giderim potansiyeli sergilemiştir. Bu çalışma, indaziflamın kontamine ortamdaki uzaklaştırılması için *B. muralis* ve *S. melonis* in pratik uygulamalarında yardımcı olacaktır. Bu çalışmadan elde edilen diğer sonuçlara göre bu herbisit besin maddesi görevi görerek aynı zamanda ortamdaki bakterilerin sayısının da logaritmik olarak artışına sebep olmaktadır. Bu logaritmik artış aynı zamanda herbisit de parçalanmasını beraberinde getirmektedir. Bu bulgular, pestisitlerin besin yeri olarak kullanım özelliklerinin, bakteri büyümesini arttırdığını ortaya koymaktadır. Çalışma, tarla uygulamalarından önce pestisitlerin dikkatli bir şekilde taranmasının laboratuvarında yapılması gerektiğini göstermiştir. Pestisit stresi altındaki bakterilerin hangi enzimlerin veya genlerinin etkilendiğini belirlemek için moleküler düzeyde pestisit-bakteri etkileşimi hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu araştırmalar artan indaziflam konsantrasyonu ile mikrobiyal aktivitenin uyarılmasını ölçmek için daha da genişletilebilir.

KAYNAKLAR

- APHA. (1998).** Standard Methods for the examination of water and waste water, American Public Health Association Port City Press, Baltimore, 874pp.
- ANOVA. (2017).** IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Barreiros, L., Peres, J., Azevedo, N.F. Manaia, C.M. & Nunes, O.C. (2012).** Environmental factors influencing molinate biodegradation by a two-member mixed culture in rice paddy field floodwater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **72**, 52-58.
- Beutler, E., Gelbart, T. & Kuhl, W. (1990).** Interference of Heparin with The Polymerase Chain Reaction. *Biotechniques*, **9**, 166pp.
- Belal, B.E. & Mohamed, F.E.N. (2013).** Bioremediation of pendimethalin contaminated soil. *African Journal of Microbiology Research*, **7**(21), 2574-2588.
- Campo, J., Masiá, A., Blasco, C. & Picó, Y. (2013).** Occurrence and removal efficiency of pesticides in sewage treatment plants of four Mediterranean

- river basins. *Journal of Hazardous Materials*, **263**, 146-157.
- Castillo, J.M., Beguet, J., Martin-Laurent, F. & Romero, E. (2016).** Multidisciplinary assessment of pesticide mitigation in soil amended with vermicomposted agroindustrial wastes. *Journal of Hazardous Materials*, **304**, 79-387.
- Castillo, M.D.P., Torstensson, L. & Stenström, J. (2008).** Biobeds for environmental protection from pesticide use – a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**(15), 6206-6219.
- Chowdhury, A., Pradhan, S., Saha, M. & Sanyal, N. (2008).** Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian Journal of Microbiology*, **48**(1), 114-127.
- Cycon, M. & Piotrowska-Seget, Z. (2009).** Changes in bacterial diversity and community structure following pesticides addition to soil estimated by cultivation technique. *Ecotoxicology*, **18**(5), 632-42.
- Dhanya, M.S. (2014).** Advances in microbial biodegradation of chlorpyrifos. *Journal of Environmental Research And Development*, **9**, 232-240.
- Diao, X.P., Sun, Y.J., Sun, Z.J. & Shen, J.Z. (2005).** Effects of sulfamethazine on microbial activity in different types of soil. *Journal of Agro-Environment Science*, **24**(3), 694-699.
- Diaz, J.M.C., Moreno, L.D., Núñez, R., Nogales, R. & Romero, E. (2016).** Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Bioresource Technology*, **214**, 234-241.
- Ergüven, G.Ö., Bayhan, H., İkizoglu, B., Kanat, G. & Göksel, D. (2016).** Removal Rate Of Herbicide Aclonfen With Isolated Bacteria and Fungi. *Applied Ecology and Environmental Research*, **14**(2), 351-365.
- 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. *Desalination and Water Treatment*, **94**, 231–235.
- Ergüven, G.O. (2018).** Comparison of Some Soil Fungi in Bioremediation of Herbicide Acetochlor Under Agitated Culture Media. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **100**, 570-575.
- Ergüven, G.O. (2019).** Bacillus subtilis Bakterisi ile Metribuzin Herbisitinin Biyoislahının Yapay Tarla Düzeninde Araştırılması. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, **5**(1), 46-52.
- Gorla, P., Pandey, J.P., Parthasarathy, S., Merrick, M. & Siddavattam, D. (2009).** Organophosphate hydrolase in Brevundimonas diminuta is targeted to the periplasmic face of the inner membrane by the twin arginine translocation pathway. *Journal of Bacteriology*, **191**, 6292-6299.
- Harry, W.S, Paul, J.V. & John, J.L.E. (1990).** *Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology*. 4th Edition. Publisher: W. H. Freeman; ASIN: B010WEO52C, McMillan Learning, New York City, United States.
- Johnson, J.L. (1994).** Similarity analysis of rRNA pp. 683-700. In: R.G. Gerhard, Murray, W.A. Wood, N.R. Krieg (Eds.). *Methods for General and Molecular Bacteriology*. American Society for Microbiology. Washington DC.
- Latifi, A.M., Khodi, S., Mirzaei, M., Miresmaeilli, M. & Babavalian, H. (2012).** Isolation and characterization of five chlorpyrifos degrading bacteria. *African Journal of Biotechnology*, **11**, 3140-3146.
- 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. *Biochemistry*, **46**, 2130-2136.
- Murthy H.M, & Manonmani, H.K. (2007).** Aerobic degradation of technical hexachlorocyclohexane by a defined microbial consortium. *Journal of Hazardous Materials*, **149**(1), 18-25.
- Nikel, P.I., Martínez-García, E. & De Lorenzo, V. (2014).** Biotechnological domestication of pseudomonads using synthetic biology. *Nature Reviews Microbiology*, **12**(5), 368-379.
- Ortiz-Hernández, M.L. & Sánchez-Salinas, E. (2010).** Biodegradation of the organophosphate pesticide tetrachlorvinphos by bacteria isolated from agricultural soils in México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, **26**, 27-38.
- 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.
- Pakala, S.B., Gorla, P., Pinjari, A.B., Krovdi, R.K., Baru, R., Yanamandra, M., Merrick, M. & Siddavattam, D. (2007).** Biodegradation of methyl parathion and p-nitrophenol: evidence for

- the presence of a p-nitrophenol 2-hydroxylase in a gram-negative *Serratia* sp. strain DS001. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **73**, 1452-1462.
- Saha, P. & Chakrabarti, T. (2006).** *Emticicia oligorophica* gen nov. a new member of the family Flexibacteraceae, phylum Bacteroidetes. 2006. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **56**, 991-995.
- Sebastian, D.J., Nissen, S.J., Sebastian, J.R. & Beck, K.G. (2017).** Seed bank depletion: the key to long-term downy brome (*Bromus tectorum* L.) management. *Rangeland Ecology & Management*, **70**, 477-483.
- Senesi, N. (1992).** Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of the Total Environment*, **123/124**, 63-76.
- Shen, Y.J., Lu, P., Mei, H., Yu, H.J., Hong, Q. & Li, S.P. (2010).** Isolation of a methyl parathion- degrading strain *Stenotrophomonas* sp. SMSP-1 and cloning of the *ophc2* gene. *Biodegradation*, **21**, 785-792
- Siddaramppa, R., Rajaram, K.P. & Sethunathan, N. (1973).** Degradation of parathion by bacteria isolated from flooded soil. *Applied Microbiology*, **26**, 846-849.
- Sreenivasulu, C. & Aparna, Y. (2001).** Bioremediation of methyl parathion by free and immobilized cells of *Bacillus* sp. isolated from soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **67**, 98-105.
- Tompkins, J. (2010).** Environmental Protection Agency Pesticide Fact Sheet: Indaziflam. <http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/indaziflam.pdf>. Erişim: Nisan 16, 2019.
- Trasar-cepeda, C., Leiros, M.C., Seoane, S. & Gil-Sotres, F. (2000).** Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**, 1867-1875.
- Travers, R. S., Martin, P.A.W. & Reichelderfer, C.F. (1987).** Selective Process for Efficient Isolation of Soil *Bacillus* Sp. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**, 1263-1266.
- Yang, L., Li, X., Li, X., Su, 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. *Journal of Hazardous Materials*, **274**, 314-321.
- Yong, Y.C. & Zhong, J.J. (2010).** Recent advances in biodegradation in China: New microorganisms and pathways, biodegradation engineering, and bioenergy from pollutant biodegradation. *Process Biochemistry*, **45**, 1937-1943.