



POLİSİKLİK AROMATİK HİDROKARBONLARIN HALOFİLİK BAKTERİ VE ARKEA'LAR TARAFINDAN BİYOLOJİK OLARAK PARÇALANMALARI

Sevim Feyza ERDOĞMUŞ^{1*}, Safiye Elif KORCAN²

¹Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, Bayat MYO, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar, Türkiye.sfevza@aku.edu.tr

²Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü, Sağlık Hizmetleri MYO, Uşak Üniversitesi, Uşak, Türkiye.elif.korcan@usak.edu.tr

Geliş Tarihi:01.08.2016

Kabul Tarihi:12.06.2017

ÖZET

PAH'lar doğada yaygın olarak bulunurlar ve potansiyel toksisiteleri, mutajeniteleri, karsinojeniteleri nedeniyle çevre kirleticisi olarak büyük öneme sahiptirler. Hidrofobik özellikleri nedeniyle pek çok PAH toprak ve sediment partiküllerine bağlanarak çevrede uzun süre parçalanmadan kalabilmektedir. Aşırı tuzlu habitatlar ekolojik açıdan oldukça önemlidirler. Tüm ekosistemler gibi bu ortamlarda sürekli olarak kontaminasyona uğramaktadırlar. Endüstriyel atıkların yaklaşık olarak %5'i tuzlu veya aşırı tuzlu atıklardır. Yüksek tuz konsantrasyonunda organik kirleticilerin ekstrem olmayan mikroorganizmalar ile bertaraf edilmesi mümkün değildir. Halofilik mikroorganizmalar metabolizmaları bakımından diğer mikroorganizmalardan farklıdırlar ve aşırı tuzlu ortamlarda yaşamaya adapte olmuşlardır. Bu mikroorganizmalar aşırı tuzlu ortamlardaki kirleticilerin biyoremediasyonları için kullanılabilirler. Bu derlemenin amacı; halofilik bakteri ve arkeaların aromatik hidrokarbonları biyolojik parçalama kapasitelerini ve bu süreçte kullandıkları metabolik yolları aydınlatmaktır.

Anahtar kelimeler: *Biyolojik Parçalama, Biyoremediasyon, Halofilik Arkea, Halofilik Bakteri, PAH*

BIODEGRADATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY HALOPHILIC BACTERIA AND HALOPHILIC ARCHAEA

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons are widespread in various ecosystems and are pollutants of great concern due to their potential toxicity, mutagenicity and carcinogenicity. Because of their hydrophobic nature, most PAHs bind to particulates in soil and sediments, rendering them less available for biological uptake. Microbial degradation represents the major mechanism responsible for the ecological remediation of PAHs contaminated sites. Hypersaline environments are important ecological significance. As all other ecosystems, they are impacted by pollution. It is estimated that 5% of industrial effluents are saline and hypersaline. Nonextremophilic microorganisms are unable to efficiently perform the removal of organic pollutants at high salt concentrations. Halophilic microorganisms are metabolically different and are adapted to extreme salinity. These microorganisms are good candidates for the bioremediation of hypersaline environments. The purpose of this review is to determine the halophilic bacteria and archaea biodegradation capacity of aromatic hydrocarbons and to clarify the metabolic pathway in this process.

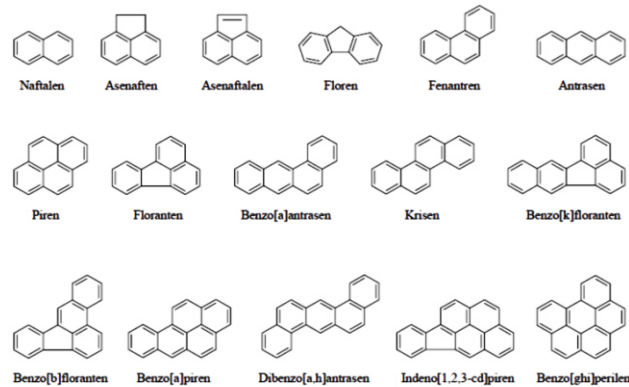
Keywords: *Archaea, Biodegradation, Bioremediation, Halophilic Archaea, Halophilic Bacteria, PAH*

1. GİRİŞ

Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH'lar) çeşitli sebeplerden dolayı, çevrede yaygın olarak bulunan organik kirleticilerdir [1,2]. Çevre kirleticisi olarak büyük öneme sahip olmalarının yanında potansiyel mutajeniteleri ve karsinojeniteleri sebebiyle canlılar üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadırlar [3-7]. Diğer ekosistemler gibi aşırı tuzlu ortamlarda bu toksik bileşiklerden etkilenmektedirler [4]. Biyoremediasyon PAH'lar ile kontamine ortamların iyileştirilmesinde temel bir mekanizmadır [8-10]. Aşırı tuzluluk koşullarına dayanıklı enzimleri, zor şartlarda enerji üretimine olanak sağlayan özel proteinlerinin varlığı, ekstrem koşullara karşı koyabilmek için kullandıkları stratejiler ve bu koşullara uyum göstermiş özel yapıları nedeniyle halofilik mikroorganizmalar, biyoteknoloji alanında çalışan birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir [11-15]. Bu derlemede; özellikle halofilik bakteri ve arkeaların aromatik hidrokarbonlar ile kontamine olan ortamların biyoremediasyonlarında kullanım potansiyelleri ve bu süreçte kullandıkları metabolik yollar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

2. POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLAR (PAH'LAR)

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar iki ya da daha fazla benzen halkasına sahip hidrofobik karakterli organik bileşiklerdir [16]. PAH'lar doğal ya da insan kaynaklı olarak organik bileşiklerin eksik yanması sonucu oluşurlar. İki veya üç halkalı düşük molekül ağırlıklı PAH'ların, büyük molekül ağırlıklı PAH'lara oranla sudaki çözünürlükleri ve uçuculukları daha yüksektir. PAH'lar hidrofobik bileşiklerdir ve suda çözünmek yerine daha çok partiküllere tutunma eğilimindedirler. Bu nedenle de sulu ortamlarda daha çok sedimentlere tutunarak birikirler ve bu da biyolojik olarak parçalanmalarını yavaşlatmaktadır [17]. Toksik özelliklerinin bulunması, dayanıklı olmaları ve çevrede yaygın olarak bulunmalarından dolayı 16 adet PAH bileşiği, Amerikan Çevre Koruma Örgütü'nün (EPA) öncelikli kirleticiler listesinde yer almaktadır. EPA'nın listesinde bulunan PAH'lar ve kimyasal yapıları Şekil 1'de verilmiştir (18-20). Bazı PAH bileşiklerinin doğrudan kanserojenik ve mutajenik etkileri bulunmaktadır [6]. Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü (IARC) USEPA'nın belirlediği 16 PAH bileşiğinden 6 tanesinin dâhil olduğu 15 PAH bileşiğini potansiyel karsinojen olarak belirlemiştir [3].



Şekil 1. EPA'nın öncelikli kirleticiler listesinde bulunan PAH'lar ve kimyasal yapıları [19]

3. AŞIRI TUZLU EKOSİSTEMLER

Yeryüzünde pek çok tuzlu ve aşırı tuzlu ortamlar bulunmaktadır. Bu gibi ortamlardaki tuz konsantrasyonu %3.5 ile % 35 arasında değişiklik göstermektedir. Bu gibi ortamlar arasında doğal tuzlu ve aşırı tuzlu göl ve göletler, tuzlu bataklıklar, salamura üretim tesisleri, tuz üretimi yapılan tuzlalar, petrol yatakları yer almaktadır. Aşırı tuzlu çevreler “Thalassohalin” ve “Athalassohalin” olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Thalassohalin çevreler deniz suyunun buharlaşmasından kaynaklanmaktadır ve iyonik kompozisyonları deniz suyunun özelliklerini yansıtmaktadır. Utah'daki Büyük Tuz Gölü'nün sularının tuz kompozisyonu, deniz suyununkine benzerdir. Bu nedenle hala Thalassohalin olarak değerlendirilmektedir [21,22]. Diğer birçok tuzlu su deniz suyundan oldukça farklı olan iyonik kompozisyona sahiptirler ve bunlar Athalassohalin çevreler olarak adlandırılmaktadırlar. Alkalın soda gölleri yüksek konsantrasyonda karbonat/bikarbonat içermekte ve pH değerleri 10-11 ya da daha fazla olabilmektedir. Dünyada başka birçok tuzlu ve aşırı tuzlu athalassohalin göller mevcuttur ve bunların iyonik kompozisyonları değişiklik göstermektedir [22,23].

4. HALOFİLİK BAKTERİ VE ARKEA

Halofilik mikroorganizmalar; gelişebilmeleri için yüksek miktarda tuz konsantrasyonuna ihtiyaç duyan, tuzlu ortamlarda yaşayabilmek için farklı adaptasyonlar geliştirmiş, hem prokaryotik hem de ökaryotik temsilcileri olan bir gruptur. Kushner (1985), mikroorganizmaları gelişebilmeleri için gerekli olan optimum NaCl miktarına göre sınıflandırmıştır. Halofilik olmayanlar; gelişmeleri için %1'in altında NaCl'ye ihtiyaç duyanlar. Az halofiller; gelişmeleri için %1-3 arasında NaCl'ye ihtiyaç duyarlar. Orta derecede halofiller; gelişmeleri için %3-15 arasında NaCl'ye ihtiyaç duyarlar. Aşırı halofiller; gelişmeleri için %15'den daha fazla NaCl'ye ihtiyaç duyarlar. Ayrıca bunların dışında “Halotolerant” olarak adlandırılan bir grup daha bulunmaktadır. Bunlar tuzun varlığında veya yokluğunda gelişebilen ılımlı halofilik mikroorganizmalardır [24]. Halofilik Arkea üyeleri çok yüksek miktarda hatta bazen doygunluğa yakın miktarda tuza ihtiyaç duymaktadırlar. Üremeleri için en az 1,5 M NaCl'e ihtiyaç duymakta olup pek çoğu 3-5 M NaCl konsantrasyonunda en iyi üreme göstermektedir [22, 25].

Doğada halofilik Arkea dağılımını belirleyen temel faktörler; total tuz konsantrasyonu, tuzların iyonik kompozisyonu ve mevcut besinlerdir [26, 27]. Arkea domaini içindeki halofilik mikroorganizmalar 3 familyada bulunurlar: *Halobacteriaceae*, *Methanospirillaceae*, *Methanosarcinaceae*. Tuzlu ve aşırı tuzlu şartlara uyum sağlamış organizmaları olduğu kadar halofilik olmayan organizmaları da içermektedirler. Halofilik Arkea türlerinin çoğu içerdikleri C50 ve C40 karotenoidlerinden dolayı kırmızı tonlarındadır ve yüksek komünite yoğunluğuna ulaştıkları zaman nötral ve alkali aşırı tuzlu suların kırmızı renk tonlarında görünmelerine neden olmaktadır. Doymun tuz konsantrasyonunda (5.2 M NaCl) yaşayan *Halobacteriales* ordosu üyeleri, ortamdaki yüksek ozmotik basınca karşı koyabilmek için stoplazmalarında başta K⁺ ve Cl⁻ olmak üzere yüksek oranda karşıt iyonlar biriktirirler [24]. Halofilik Arkea üyeleri, iç ortamlarında ozmolit çözüner madde olarak dış ortamdakinin 100 katı oranında KCl biriktirdikleri için, hüresel bileşenleri de bu tuz konsantrasyonuna adapte olup proteinlerin stabilitesi ve fonksiyonu için bu tuz oranı gereklidir. Halofilik enzimler yaklaşık 1 M'in altındaki NaCl/KCl konsantrasyonlarında hızla denatüre olmaktadır. Bu nedenle halofilik Arkea türlerinin protein yapılarında, diğer canlılara göre negatif yüklü aminoasit oranı %20 daha fazladır [28, 29].

5. HİDROKARBONLARIN HALOFİLİK BAKTERİ VE ARKEA ÜYELERİ TARAFINDAN BİYOLOJİK OLARAK PARÇALANMASI

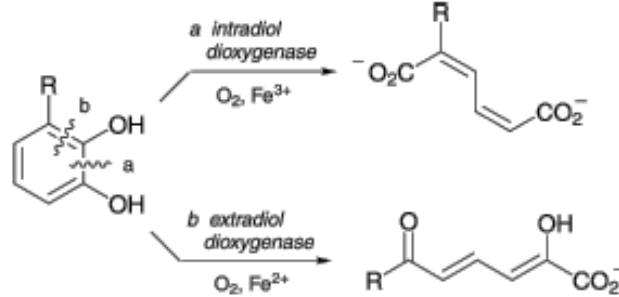
Doğada kompleks kirletici organik moleküllerin parçalanması, biyolojik parçalanma olarak kendiliğinden devam ederken, ortam şartlarında insan eliyle yapılan değişikliklerle bu durum hızlandırılabilen ve özellikle biyoremediasyon çalışmaları olarak karşımıza çıkmaktadır. Biyoremediasyonda zararlı kontaminantları parçalayabilmek için mikroorganizmaların metabolik çeşitliliklerinden yararlanılmaktadır [30-36].

PAH'ları parçalayabilen mikroorganizmaların belirlenmesi, izolasyonu ve karakterizasyonu, çevrenin daha kısa bir sürede temizlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Hem prokaryotik hem de ökaryotik biyolojik parçalama mekanizmalarında, PAH halkalarına enzimatik tutunmanın başlaması için moleküler oksijenin bulunması gerekmektedir [31, 36]. Bunun yanı sıra sülfat ve nitrat redükleme koşulları altında bazı anaerob mikroorganizmaların PAH parçalayabildikleri belirlenmiştir [37].

Pek çok ekosistem gibi tuzlu ve aşırı tuzlu ortamlarda çeşitli sebeplerden dolayı aromatik hidrokarbonlar ile kontamine olmaktadır. Pek çok çalışmada bu gibi aşırı tuzlu ortamlarda aromatik hidrokarbonların biyoremediasyonlarında halofilik ve ılımlı halofilik mikroorganizmaların kullanılabilecekleri gösterilmiştir [38-43]. Cuadros-Orellana ve ark. 2006 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, halofilik Arkea izolatlarının *p*-hidroksibenzoik asiti karbon ve enerji kaynağı olarak kullanarak geliştirdiklerini belirlemiştir. Bu izolatların metabolik ve genetik çeşitliliğine bağlı olarak *p*-hidroksibenzoik asiti en geniş oranda *Halobacteriaceae* üyelerinin parçalama yeteneklerinin olduğunu ileri sürmüşlerdir [44]. Yapılan diğer bir çalışmada, Tapilatu ve ark. (2010), *Haloarcula* sp. ve *Haloferax* sp. izolatlarının hidrokarbon degradesyonunda rol oynadıklarını göstermişlerdir [35]. Arulazhagan ve Vasudevan'ın (2009), yaptığı çalışmada deniz suyu örneklerinden PAH parçalayabilen mikroorganizmaları izole ederek, izolatların hem düşük hem yüksek molekül ağırlıklı PAH'ları (fenantren, florin, piren ve benzo [e] piren) metabolize edebildiklerini belirlemiştir. Aynı zamanda bu mikroorganizmaların ham petrol ile kontamine olmuş tuzlu atık sularda mevcut olan PAH'ları parçalayabildikleri saptanmıştır. [27]. Lease ve ark. (2011), kontamine olmuş ve olmamış olan kaynaklardan piren parçalayabilen *Mycobacterium* spp.'ler izole edilerek identifikasyonlarını yapmışlardır [31]. Haddadi ve Shavandi (2013), aşırı tuzlu topraklardan fenol parçalayabilen halofilik bakteri *Halomonas* sp. PH2 izole etmişlerdir. Bu izolatın fenol içeren atık suların biyoremediasyonu için potansiyel olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir [42]. Dalvi ve ark. (2016), aşırı tuzlu koşullarda Halobakteri üyelerinden; *Halopenitus*, *Halosarcina*, *Natronomonas*, *Halosimplex*, *Halorubrum*, *Salinarchaeum* ve *Haloterrigena*'nın aşırı tuzlu koşullarda aromatik hidrokarbonları parçalayabildiklerini göstermiştir [15].

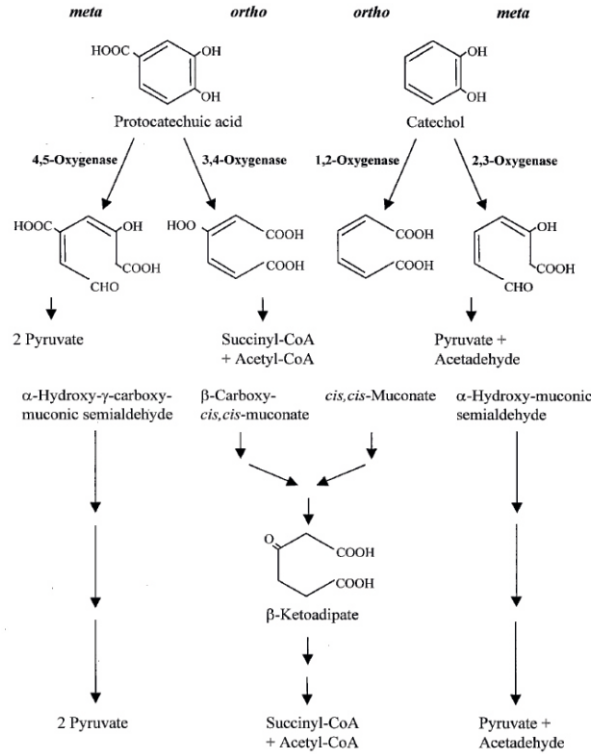
6. DİOKSİJENAZ ENZİMLERİ

Doğada pek çok enzimin atmosferdeki oksijenin aktivasyonu ile faaliyet gösterdiği ve önemli reaksiyonlarda etkili oldukları görülmüştür. Dioksijen ile aktive olabilen enzimler, oksijeni bir antioksidan olarak kullanarak oksidazlara parçalayıp dioksijen indirgenerek hidrojen peroksit ve suya dönüştürürler. Böylece oksijenazlar, dioksijenin oksijen atomlarının ürününe katılmasını sağlarlar. Monooksijenazlar sadece bir oksijen atomunun ürününe katılmasını sağlarlar, dioksijenazlar her iki oksijen atomunu ürüne katmaktadır. Dioksijenaz enzimlerinin pek çoğu genellikle Fe^{+2} veya Fe^{+3} gibi bir metal kofaktöre ihtiyaç duymaktadırlar [45]. Katekol dioksijenazlar, katekol'ün oksidatif parçalanmasını katalizlemektedirler. Doğada aromatik bileşiklerin bakteriyel parçalanması için katekol'e dönüşümü anahtar basamaktır [46]. Katekol'ün oksidatif olarak parçalanmasını katalize edebilen ve dioksijeni substrat olarak kullanabilen iki dioksijenaz enzim ailesinin varlığı ortaya konulmuştur [47]. Bunlardan bir tanesi intradiol dioksijenazlar olup, katekol 1,2 dioksijenazlar (pyrocatechase) olarak isimlendirilmektedirler. Bu enzimler fenolik hidroksil grupları arasındaki karbon-karbon arasındaki bağları parçalayarak ürün olarak mukonik asit oluşumunu sağlamaktadırlar ve kofaktör olarak Fe^{+3} 'e gereksinim duymaktadırlar [48]. Diğerleri ise ekstradiol dioksijenazlardır ve katekol 2,3 dioksijenazlar (metapyrocatechase) olarak isimlendirilmektedirler. Bunlar fenolik hidroksil gruplarına bitişik olarak bulunan karbon-karbon arası bağları parçalayarak ürün olarak 2-hidroksimukonaldehid oluşumunu sağlamaktadırlar ve kofaktör olarak Fe^{+2} 'e ihtiyaçları vardır [49]. Ekstradiol ve intradiol dioksijenazlar ile aromatik halkaların parçalanması Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Ekstradiol ve intradiol dioksijenazlar ile aromatik halkaların parçalanması [45].

Aerobik bakteriyel sistemlerde başlangıç basamağı PAH'ların dioksijenaz katalizli oksidasyonu ile gerçekleşmektedir ve cis-dihidrodiol ile multikomponent enzim sistemi ile erken biyöürün olarak ortaya çıkmaktadır. PAH substratlarının cis-dihidrodiollerinin oluşumundan sorumlu dioksijenazlar en çok bakterilerde görülmektedir [34, 50]. Bu dihidroksile ara ürünler, intradiol ya da ekstradiol halka parçalayan dioksijenazlar ile *orto* parçalama yolu ya da *meta* parçalama yolu ile kesilerek santral ara ürünler oluşmaktadır ve daha sonra bu ürünler TCA siklusundaki ara ürünlere dönüşmektedirler. Intradiol (*orto*) yol; β -ketoadipate yolu olarak da isimlendirilmektedir. Intradiol halka parçalama yolundaki (*orto*) yol enzimler, katekol 1,2 dioksijenaz ve/veya protokatekuat 3,4-dioksijenaz iken ekstradiol halka parçalama yolundaki (*meta*) yol enzimler ise katekol 2,3 dioksijenaz ve/veya protokatekuat 4,5-dioksijenaz enzimleridir [34, 51, 52]. Bu metabolik yollar ve enzimleri Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Oksidatif aromatik halka parçalama reaksiyonu. Farklı aromatik hidrokarbonlar çeşitli halka parçalama reaksiyonları ile santral ara ürünlere dönüşmektedir [53].

Erdoğan ve ark. (2013) yapmış oldukları bir çalışmada, halofilik Arkea izolatlarının aromatik hidrokarbonları parçalama kapasiteleri ve ilgili metabolik yol araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan halofilik izolatların aromatik hidrokarbonları parçalamak için kullandıkları metabolik yolda katekol 1,2 dioksijenaz ve protokatekuat 3,4 dioksijenaz enzimlerini kullandıklarını belirlemişlerdir [39]. Diğer bir çalışmada, Garcia ve ark. (2005), aromatik bileşikleri parçalayabilen halofilik bakterilerin katabolik çeşitliliklerini araştırmışlardır. Aromatik bileşik olarak benzoik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, sinamik asit, salisiklik asit, fenilasetik asit, fenilpropionik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, *p*-aminosalisiklik asit, *p*-kresol ve fenol kullanmışlardır. Halka parçalayan dioksijenaz enzimlerin varlığını belirlemişlerdir. İzolatların, β -ketoadipate yolundaki katekol 1,2 dioksijenaz ve protokatekuat 3,4 dioksijenaz enzimlerini kullanarak aromatik bileşikleri parçalayabildiklerini saptamışlardır [52]. Saxena ve Thakur (2005), *Pseudomonas fluorescens* IST8 izolatı ile yapmış oldukları çalışmada; 4-klorobenzoik asit'i *orto* yolun halka parçalayan enzimlerinden biri olan katekol 1,2 dioksijenaz enzimi ile parçalandığını saptamışlardır [54]. Wang ve ark.(2006), karbon kaynağı olarak benzoik asit kullanarak *Pseudomonas aeruginosa* TKU002 suşundan katekol 1,2 dioksijenaz enzimini saflaştırarak karakterize etmişlerdir [55]. Diğer bir çalışmada Mallick ve ark. (2007), petrol ile kontamine olmuş topraktan izole ettikleri *Staphylococcus* sp. PN\Y izolatının karbon ve enerji kaynağı olarak fenantreni de

kullanabildiği belirlenmiştir [30]. Fenantren biyoremediasyonunda çeşitli metabolitler spektrofotometrik ve kromatografik analizler ile ortaya çıkarılmıştır. Chang ve ark. (2011), petrol ile kontamine olmuş bölgelerden aldıkları sediment ve toprak örneklerinden PAH'ların biyoremediasyonu için potansiyel olarak kullanılacak *Staphylacoccus* sp. KW-07, *Pseudomonas* sp. CH-11, *Ochrobactrum* sp. CH-19 olmak üzere üç suş izole etmişlerdir. PAH degradasyonuna aracılık eden katekol dioksijenaz geninin (*nahH* genleri) *Staphylacoccus* sp. KW-07 ve *Ochrobactrum* sp. CH-19 izolatlarında kromozomlarda, *Pseudomonas* sp. CH-11 izolatında ise plasmid DNA'sında yer aldığını belirlemişlerdir [32]. Khemili-Talbi ve ark. (2015) kontamine olmuş tuzlu sulardan izole ettikleri *Natrialba s. C21* izolatı üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Fenol, naftalen ve piren hidrokarbonlarını orto parçalama yolu enzimlerinden katekol 1,2 dioksijenaz enzimini kullanarak başarılı bir şekilde parçalayabildiklerini saptamışlardır [56]. Açıkgöz ve Özcan (2016), halofilik Arkea izolatlarının fenol parçalayabilme kapasitelerini araştırmışlardır. Aşırı tuzluluk koşullarında fenolü metabolize edebildiklerini ve en çok katekol 2,3 dioksijenaz enziminin katalitik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [43].

7. SONUÇ

Hızla gelişmekte olan sanayileşme insan yaşamını kolaylaştırırken birçok çevre sorununu beraberinde getirmektedir. Şehirleşme ve insan nüfusundaki sürekli artış çevre kirliliğine önemli katkıda bulunmaktadır. Çevresel kirlenimler canlıların yaşamını olumsuz yönde etkileyerek pek çok sağlık sorunlarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. PAH'lar doğada yaygın olarak bulunan tehlikeli organik kirlenimlerdir. PAH'lar ile kontamine olan ortamların iyileştirilmesi, canlılar için büyük önem taşımaktadır. Bu ortamların iyileştirilmesi için en çok kullanılan yöntemlerin başında biyoremediasyon çalışmaları gelmektedir. Pek çok habitat gibi tuzcul ve aşırı tuzcul habitatlarda PAH bileşikleri ile sıklıkla kontamine olmaktadır. Yapılan literatür taramaları bu gibi ekstrem ortamların biyoremediasyonları için halofilik ve ılımlı halofilik mikroorganizmaların kullanılabilirliğini göstermiştir. Sonuç olarak halofilik Bakteri ve Arkea'lar kontamine çevrelerin biyoremediasyonları için büyük bir kullanım potansiyeline sahip olup, ekosistemdeki dengelerin yeniden kurulmasına önemli katkı sağlayabilecekleri düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Wei, C., Bandowe, B.A., Han, Y., Cao, J., Zhan, C. and Wilcke, W., "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their derivatives (alkyl-PAHs, oxygenated-PAHs, nitrated-PAHs and azaarenes) in urban road dusts from Xi'an, Central China", *Chemosphere*, 134,512-520 (2015).
- [2] Shimada, T., Murayama, N., Yamazaki, H., Tanaka, K., Takenaka, S., Komori, M., Kim, D. and Guengerich, F.P., "Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons and aryl and heterocyclic amines by human cytochromes P450, 2A13 and 2A6", *Chem. Res. Toxicol*, 26,529-537 (2013).
- [3] Archana, C., Fazlurrahman, J., John, G., Oakeshott, R. and Jain, K., "Bacterial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: strategies for bioremediation", *Ind. J. Microbiol*, 48, 95-113 (2008).
- [4] Tao, X.Q., Lu, G.N., Dang, Z., Yang, C. and Yi, X.Y., "A phenanthrene-degrading strain *Sphingomonas sp.* GY2B isolated from contaminated soils". *Process. Biochem*, 42, 401-408 (2007).

- [5] Peng, R.H., Xiong, A.S., Xue, Y., Fu, X.Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.S. and Yao, Q.H., “ Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons”. FEMS Microbiol. Rev, 32, 927–955 (2008).
- [6] Onduka, T., Ojima, D., Kakuno, A., Mochida, K., Ito, K., Koyama, J. and Fujii, K., “Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment: acute toxicities for organisms at three trophic levels”. Jpn. J. Environ. Toxicol, 15,1-10 (2012).
- [7] Manzetti, S., “ Ecotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons, aromatic amines, and nitroarenes through molecular properties”. Environ. Chem. Lett. 10, 349-361 (2012).
- [8] Erdoğmuş, S.F., Korcan, S.E., Konuk, M., Güven, K. and Mutlu, M.B., “Aromatic hydrocarbon utilization ability of *Chromohalobacter* sp.” Ekoloji, 24 (94), 10-16 (2015).
- [9] Deka, H. and Lahkar, J., “Soil Bacteria for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) remediation: Application potentialities and limitations, Springer International Publishing Switzerland, K.R. Hakeem et al. (Eds.), Plant, Soil and Microbes, DOI: 10.1007/978-3-319-27455-3_15 (2016).
- [10] Dong, C., Bai, X., Sheng, H., Jiao, L., Zhou, H. and Shao, Z., “Distribution of PAHs and the PAH-degrading bacteria in the deep-sea sediments of the high-latitude”, Arc. Ocean Biogeosci, 12, 2163-2177 (2015).
- [11] Fathepure, B.Z., “Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments”, Front. Microbiol, 5,173 (2014).
- [12] Martins, L.F. and Peixoto, R.S. , “Biodegradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments”, Braz. J. Microbiol, 43,865–872 (2012).
- [13] Borgne, S.L., Paniagua, D. and Vazquez-Duhalt, R., “ Biodegradation of organic pollutants by halophilic bacteria and archaea”. J.Mol. Microbiol. Biotechnol, 15, 74-92 (2008).
- [14] Dalvi, S., Nicholsona, C., Najarc, F., Roec, B.A., Canaanb, P., Hartsonb, S.D. and Fathepurea, B.Z., “ Isolation of a novel *Arhodomonas* sp. strain seminole and its genetic potential to degrade aromatic compounds at high salinity”, Appl. Environ. Microbiol. 80(21),6664–6676 (2014).
- [15] Dalvi, S., Youssef, N. H., Fathepure, B.Z., “ Microbial community structure analysis of a benzoate degrading halophilic archaeal enrichment”, Extremophiles, DOI: 10.1007/s00792-016-0823-0 (2016).
- [16] Wang, C.L., You, S.L. and Wang, S.L. “Purification and characterization of a novel catechol 1,2-dioxygenase from *Pseudomonas aeruginosa* with benzoic acid as a carbon source”, Process. Biochem, 41, 1594-1601 (2006).
- [17] Lima, A.L.C., Farrington, J.W. and Reddy, C.M., “Combustion-derived polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment-a review”, Environ. Forensics, 6, 109-131 (2005).
- [18] Keith, L.H. and Telliard, W.A., “Priority pollutants. I. A perspective view”, Environ. Sci. Technol, 13, 416-423(1979).
- [19] EPA, “Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons”. United States Environmental Protection Agency, EPA/600/R-93/089, (1993).
- [20] Liu, K., “Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from a coal fired pilot FBC system”. J. Hazard. Mat, 84, 175-188(2001).
- [21] Oren, A., “Halophilic microorganism and their environments”, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, (2002).

- [22] Oren A., "Life at high salt concentrations", *Prokaryotes*, 2, 263-282 (2006).
- [23] Mutlu, M.B. and Guven, K., "Bacterial diversity in Çamaltı saltern, Turkey", *Pol. J. Microbiol*, 64 (1), 37-45 (2015).
- [24] Kushner, D., "The *Halobacteriaceae. sp.*" En C. Woese and Wolfe, S. (Eds.), *The Bacteria*, Academic Press, London, 8, 171-214 (1985).
- [25] Trigui, H., Masmoudi, S., Brochier-Armanet, C., Maalej, S. and Dukan, S., "Characterization of *Halorubrum sfaxence sp. nov.*, A new halophilic archaeon isolated from the solar saltern of Sfax in Tunisia", *Int. J. Microbiol*, DOI: 10.1155/2011/240191, (2011).
- [26] Ma, Y., Galinski, E.A., Grant, W.D., Oen, A. and Ventosa, A., "Halophiles: Life in saline environments", *Appl. Environ. Microbiol*, 76, 6971-6981, (2010).
- [27] Arulazhagan, P. and Vasudevan, N., "Role of a moderately halophilic bacterial consortium in the biodegradation of polyaromatic hydrocarbons". *Mar. Poll. Bul*, 58, 256-262, (2009).
- [28] Hough, D.W. and Danson, M.J., "Archaeobacteria: ancient organisms with commercial potential". *Lett. Appl. Microbiol*, 9, 33-39, (1989).
- [29] Kunte, H.J., Trüper, G. and Stan-Lotter, H., "Halophilic microorganisms Astrobiology: The quest for the conditions of life", Gerda Horneck, Christa Baumstark-Khan (Eds), Heidelberg: Springer-virlag, ISBN: 3-540-42101-7, (2001).
- [30] Mallick, S., Chatterjee, S. and Dutta, T.K., "A novel degradation pathway in the assimilation of phenanthrene by *Staphylococcus sp.* strain PN/Y via *meta*-cleavage of 2-hydroxy-1-naphthoic acid: formation of trans-2,3-dioxo-5-(29-hydroxyphenyl)-penta-4-enoic acid", *Microbiol.*, 153, 2104-2115 (2007).
- [31] Lease, C.W.M., Bentham, R.H., Gaskin, S.E. and Juhasz, A.L., "Isolation and identification of pyrene mineralizing *Mycobacterium spp.* from contaminated and uncontaminated sources". *Appl. Environ. Soil. Sci*, DOI:10.1155/2011/409643, (2011).
- [32] Chang, C.H., Lee, J., Ko, B.G., Kim, S.K. and Chang, J.S., "*Staphylococcus sp.* KW-07 contains nahH gene encoding catechol 2,3-dioxygenase for phenanthrene degradation test in soil microcosm", *Int. Biodeter. Biodegr.* 65, 198-203, (2011).
- [33] Cao, B., Geng, A. and Chee, L. "Induction of *ortho*- and *meta*-cleavage pathways in *Pseudomonas* in biodegradation of high benzoate concentration: MS identification of catabolic enzymes, genomics and proteomics", *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 81, 99-107, (2008).
- [34] Song, Y.J., "Characterization of aromatic hydrocarbon degrading bacteria isolated from pine litter". *Korean. J. Microbiol. Biotechnol*, 37, 333-339, (2009).
- [35] Tapilatu, Y.H., Grossi, V., Acquaviva, M., Milton, C., Bertrand, J.C. and Cuny, P., "Isolation of hydrocarbon degrading extremely halophilic archaea from an uncontaminated hypersaline pond (Camargue, France)", *Extremophiles*, 14, 225-231, (2010).
- [36] Wu, M.L., Nie, M.Q., Wang, X.C. and Cao, W. "Analysis of phenanthrene biodegradation by using FITIR, UV and GC-MS". *Spectrochimica. Acta. Part. A*, 75, 1047-1050, (2010).

- [37] Rockne, K.J. and Strand, S.E., "Anaerobic biodegradation of phenanthrene, naphthalene and biphenyl by a denitrifying enrichment culture". *Wat. Res.*, 35(1), 291-299, (2001).
- [38] Nicholson, C. A., "Biodegradasyon of petroleum hydrocarbons by halophilic and halotolerant microorganisms." Oklahoma State University, Master Thesis, USA, 3-40, (2005).
- [39] Erdoğan, S. F., Mutlu, M.B., Korcan, S.E., Güven, K. and Konuk, M. "Aromatic hydrocarbon degradation by halophilic archaea isolated from Çamaltı Saltern, Turkey". *Wat. Air. Soil. Pollut.*, 224(1449), DOI: 10.1007/s11270-013-1449-9, (2013).
- [40] Kleinstuber, S., Riis, V., Fetzer, I., Harms, H. and Müller, S., " Population dynamics within a microbial consortium during growth on diesel fuel in saline environments". *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 3531-3542, (2006).
- [41] Young, C.H., Woo, S.H. and Park, J.M., "Effects of intermediate metabolites on phenanthrene". *J. Microbiol. Biotech.*, 16, 969-973,(2006).
- [42] Haddadi, A. And Shavandi, M., "Biodegradation of phenol in hypersaline conditions by *Halomonas* sp. strain PH2-2 isolated from saline soil", *Int. Biodeter. Biodegr.*, 85, 29-34, (2013).
- [43] Açıkgöz, E. and Özcan, B., "Phenol biodegradation by halophilic archaea", *Int. Biodeter. Biodegr.*, 107,140-146, (2016).
- [44] Cuadros-Orellana, S., Pohlschroder, M. and Durrant, L.R., "Isolation and characterization of halophilic archaea able to grow in aromatic compounds", *Int. Biodeter. Biodegr.*, 57, 151-154, (2006).
- [45] Bugg, T.D.H., "Dioxygenase enzymes: catalytic mechanisms and chemical models", *Tetrahedron*, 59, 7075-7101, (2003).
- [46] Dagley, S. , "A biochemical approach to some problems of environmental pollution". *Essays.Biochem.*, 11, 81-138, (1975).
- [47] Hayaishi, O., Katagiri, M. and Rothberg, S.J., "Mechanism of the pyrocatechase reaction". *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 5450-5451, (1995).
- [48] Kojima, Y., Itada, N. and Hayaishi, O.J., "Metapyrocatachase: a new catechol-cleaving enzyme". *Biol. Chem.*, 236, 2223, (1961).
- [49] Guo, G., Fang, T., Wang, C., Huang, Y., Tian, F., Cui, Q. and Wang, H., "Isolation and characterization of two novel halotolerant catechol 2, 3-dioxygenases from a halophilic bacterial consortium", *Sci. Rep.*, DOI: 10.1038/srep17603, (2015).
- [50] Fairley, D.J., Boyd, D.R., Sharma, N.D., Allen, C.C.R., Morgan, P. and Larkin, M.J., "Aerobic metabolism of 4 hydroxybenzoic acidin archaea via an nusual pathway involving an intramolecular migration", *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 6246-6255, (2002).
- [51] Cerniglia, C.E., White, G.L. and Heflich, R.H., "Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Arc. Microbiol.*, 143, 105-110, (1985).
- [52] Garcia, M.T., Ventosa, A. and Mellado, E., "Catabolic versatility of aromatic compound degrading halophilic bacteria", *FEMS Microbiol. Ecol.*, 54, 97-109, (2005).

- [53] Iwagami, S.G., "Protein purification and genetic characterization of a streptomycete protocatechuate 3,4 dioxygenase". Master of Science, The University of British Columbia, Microbiology and Immunology, Columbia, (1999).
- [54] Saxena, P. and Thakur, I.S. "Purification and characterization of catechol 1,2 dioxygenase of *Pseudomonas fluorescens* for degradation of 4-chlorobenzoic acid", Ind. J. Biotech, 4, 134-138, (2005).
- [55] Wang, C.L., You, S.L. and Wang, S.L., "Purification and characterization of a novel catechol 1,2-dioxygenase from *Pseudomonas aeruginosa* with benzoic acid as a carbon source". Process. Biochem, 41, 1594-1601, (2006).
- [56] Khemili-Talbi, S., Kebbouche-Gana, S., Akmoussi-Toumi, S., Angar, Y. and Gana, M.L., "Isolation of an extremely halophilic archaeon *Natrialba* sp. C21 able to degrade aromatic compounds and to produce stable biosurfactant at high salinity", Extremophiles,19(6), DOI: 10.1007/s00792-015-0783-9, (2015).

