


***Bacillus subtilis* Bakterisi ile Metribuzin Herbisitinin Biyoslahının Yapay Tarla Düzeneginde Araştırılması**

Gökhan Önder Ergüven

Munzur Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Tunceli, Türkiye
 gokhanondererguven@gmail.com 

Makale gönderme tarihi: 20.02.2019, Makale kabul tarihi: 13.06.2019

Öz

Türkiye’de domates yetiştiriciliğinde seçkin bir herbisit olan Metribuzinin ($C_8H_{14}N_4OS$) biyoslahı *Bacillus subtilis* bakterisiyle çalkalanmalı kültür koşullarında ve yapay tarla düzenegine araştırılmıştır. Bakteri Türkiye Elazığ ilinden bir tarım arazisinden toplanan topraktan izole edilmiştir. Bölge daha önce metribuzine maruz kalmayan bir bölgedir. 1750 mg L^{-1} konsantrasyonda (çiftçiler için tavsiye edilen konsantrasyon) $100'$ er mL’lik beş adet aparat hazırlanmıştır ve metribuzin her bir erlenmayer şişesine ilave edilmiştir. Her bir zenginleştirilen solüsyon $\times 10^7$ Koloni oluşturan birey (KOB) içermektedir. Bu şişeler 160 rpm de 28°C ’de steril koşullarda 17 gün boyunca çalkalanmıştır. 24 saatlik dilimlerde, her bir örnek toplanmıştır ve DR/890 kolorimetre ile kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) kapalı reflüks yöntemi ışığında belirlenirken Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı (BOİ₅) standart method 5210D ye göre oksitoplarla belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre en iyi giderim performansı 100 mL *Bacillus subtilis* türünde KOİ ve BOİ₅ bazında 17 günde %98 oranında görülmüştür. Yapay tarla çalışmasının sonuçlarına göre KOİ ve BOİ₅ parametrelerinde 2. haftanın sonunda sırasıyla %99.4 ve %96 olarak görülmüştür. Bu deneyler göstermiştir ki *Bacillus subtilis* alıcı ortamlardaki metribuzin gideriminde seçkin bir türdür.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, biyoslah, herbisit, metribuzin

Investigation of the Bioremediation of Herbicide Metribuzin with *Bacillus subtilis* Bacteria at Artificial Agricultural Field

Abstract

The bioremoval of metribuzin ($C_8H_{14}N_4OS$) which is one of the selective herbicide in tomato farming in Turkey was investigated with *Bacillus subtilis* bacteria under agitated culture conditions and artificial agricultural field. The bacterium was isolated in collected soil samples from one of the agricultural area in Elazığ province of Turkey. The area is unexposed to metribuzin before. Five apparatuses were set up and 100 mL of metribuzin in 1750 ppm concentration (advised concentration of tomato farmers) was added to each Erlenmayer flasks. $5, 10, 20, 50$ and 100 mL of enriched *Bacillus subtilis* solutions (in sabouraud dextrose broth) added to these flasks. Each mL of the enriched solutions contains $\times 10^7$ Colony forming unit (CFU). These flasks were shaken at 160 rpm at 28°C in sterile conditions for 17 days. In 24 hours intervals, each sample was collected to flasks and chemical oxygen demand (COD) was determined with DR/890 colorimeter by the line of closed reflux method while Biochemical oxygen demand (BOD₅) experiments were performed via standard methods 5210D with oxitops. As a result of the study, best removal performance observed in 100 mL *Bacillus subtilis* as 98% at 17 days in COD. In a soil study, 100 mL mixture of *Bacillus subtilis* consortia used for bioremediation studies. According to the results of artificial agricultural field study, the bioremediation seen at COD and BOD₅ parameters are 99.4% and 96% respectively at the end of 2. week. This experiments have focused that, *Bacillus subtilis* should be a selective type for bioremediation of metribuzin on receiving environments.

Keywords: Bacteria, bioremoval, herbicide, metribuzin

GİRİŞ

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. (Chowdhury ve ark., 2008).

Araştırma makalesi/Research article
 DOI: 10.29132/ijpas.529882

Dünya genelinde birçok çalışma toprak kirlenmelerinin tanımlanması üzerine yapılmışken bazı çalışmalar ise pestisitlerle kirlenmiş alanların pestisitlerden arındırılmasında görev alan mikroorganizmaları tanımlamaya yöneliktir. Bakteriler tarafından herbisitlerin parçalanması çok çalışılan bir konudur (Bending ve ark., 2003).

Mikroorganizmaların biyoslah etkinliği ile ilgili bazı metabolik özellikler araştırılmıştır (Alexander, 1999). Büyümeyi 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.

Pestisitlerin 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.

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 (toprakta %10) kültürlenebilir (Cycon ve ark., 2009). Bu nedenle, pestisit biyobozunma mekanizmaları ile ilgili çalışmaların sayısı azdır ve biyokimyasal mekanizmalar ve enzimler hakkında çok az literatür mevcuttur.

Bu çalışmada, metribuzin herbisitinin tavsiye edilen konsantrasyonlarının Türkiye Elazığ ilinde domates ekimi yapılan bir tarım arazisinden izole edilen *Bacillus subtilis* bakterisiyle bazı önemli çevresel parametreler olan KOİ ve BOİ₅ parametreleri bakımından çalkalanmış kültür

ortamlarında ve yapay tarım arazisinde giderimleri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Tarım Alanının Belirlenmesi ve Toprak Örneklerinin Toplanması

Çalışmada kullanılan topraklar Elazığ İlinde domates ekimi yapılan yaklaşık 500 m² bir bahçeden temin edilmiştir (Şekil 1). Topraklar, Zelles ve ark., (1991)'de belirtilen yöntemlere göre 0-20 cm derinlikten beş ayrı noktadan steril koşullarda alınmıştır.

Toprak Örneklerinden Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

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 subarad dextrose brotha, inkübe edilerek zenginleştirilmiştir (Cruikshank, 1972).

Yapılan moleküler çalışmaları için öncelikle petri kutularından izole edilen kültürler 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, mycyclers thermal cyclers 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).

Araştırma makalesi/Research article
 DOI: 10.29132/ijpas.529882



Şekil 1. Toprak örneklerinin alındığı bölge

Mikrobiyal tür tayini; nükleik asit ekstraksiyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Denatüre Gradyan Jel Elektroföresi (DGGE) 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.

“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.

İnsektisit Çözeltilerinin Hazırlanması

Metribuzin, kullanım tarifinde yer aldığı şekilde 1750 mg L^{-1} olarak 100'er mL'lik erlenler içinde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu konsantrasyonlar tarım arazilerinde tavsiye edilen konsantrasyonlardır.

Araştırma makalesi/Research article
 DOI: 10.29132/ijpas.529882

İnsektisit Biyoslah İşlemi ile Giderimi Sıvı Ortamda Yapılan Biyoslah Çalışmaları

Plate count agar besi yerlerinden izole edilen ve tür tespitleri yapılan bakterinin metribuzinli ortamlarındaki biyoslah faaliyetlerini tespit etmek amacıyla bu bakterin 5, 10, 20, 50 ve 100 mL'lik zenginleştirilmiş kültürleri metribuzin çözeltisinin içine aşılanmıştır. Zenginleştirme işlemde sabouraud dextrose broth kullanılmıştır. Kültür ortamları 28°C'lik 160 rpm'de çalkalayıcı inkübatöre alınmıştır. 17 gün boyunca 24'er saatte bir alınan numunelerde Munzur Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü laboratuvarında KOİ ve BOİ₅ ölçümleri yapılmıştır. KOİ deneylerinde standart method 5220B Kapalı reflüks yöntemi ışığında HACH DRB 200 model termoreaktör ile Hach DR 890 Colorimeter cihazı ile uyumlu 0-1500 mg L⁻¹ aralığında ölçüm yapabilen Cat. 23459-52 model KOİ kitleri kullanılırken BOİ₅ deneyinde standart method 5210D ışığında Oxitoplar kullanılmıştır.

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

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. Biri şahitten oluşan beş tane yapay tarla düzeneğinin dördüne agarlı ortamda gelişmenin sağlandığı ve aynı zamanda tarım arazisinde kullanılan konsantrasyonlarda metribuzin ilave edilmiştir. Oluşturulan şahit düzeneğine bakteri kültürü ilave edilmemiş olup sadece herbisit ilavesi yapılmıştır. Daha sonra her bir şişeye, 24 saatte bir 200'er mL damıtık çeşme suyu ilavesi edilerek elde edilen süzüntülerde KOİ ve BOİ₅ izlemesi yapılmıştır. Böylece toprağın mikroorganizmasız steril

koşullarda metribuzinin ne kadarını ne kadar zamanda bünyesinde tutabildiği tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan düzeneklere ilave edilen su miktarının belirlenmesi için bölgeye düşen ve domates 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 KOİ ve BOİ₅ deneyleri yapılarak herbisitteki azalma takip edilmiştir.

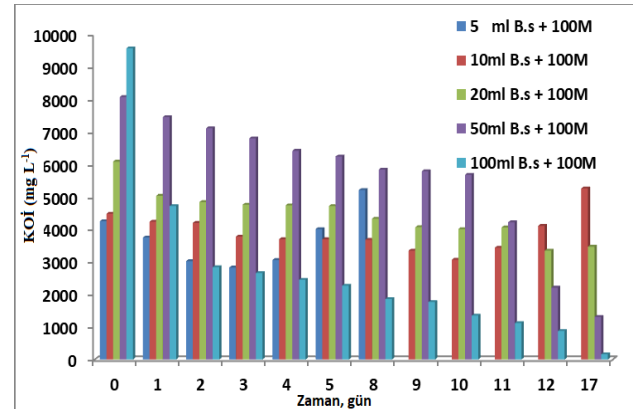
BULGULAR

Mikrobiyal Tür Teşhis Sonuçları

Yaptırılan moleküler çalışmalar sonuçlarına göre *Bacillus subtilis* türü elde edilmiştir. Primer dizilimi "AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG" olarak saptanmıştır.

Metribuzinin Biyoslah İşlemi ile Giderimi Sıvı Ortamda Yapılan Biyoslah Çalışmaları Sonuçları

Tarım arazisinden izole edilen *Bacillus subtilis* bakterisinin 5, 10, 20, 50 ve 100 mL'lik zenginleştirilmiş ortamının metribuzin çözeltisine aşılanmasıyla 24 saatte bir elde edilen KOİ bazında giderim verimleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. *Bacillus subtilis* türünde 17 günde görülen KOİ azalışı (B.s: *Bacillus subtilis*)

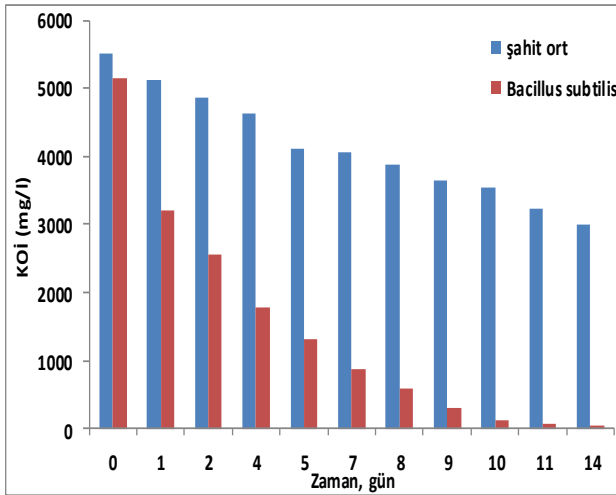
Elde edilen sonuçlara göre *Bacillus subtilis* türü en iyi giderim verimine 100 mL'lik ortamında 17. günde %98 oranında ulaşmıştır. Diğer sonuçlara bakıldığında 5, 10, 20 ve 50 mL'lik *Bacillus subtilis* ortamlarında giderim verimleri 3, 10, 12 ve 17. günde sırasıyla %67, %69, %55 ve %84'dür. Bu sonuçlar göstermiştir ki *Bacillus subtilis* metribuzin

Araştırma makalesi/Research article
 DOI: 10.29132/ijpas.529882

herbisitinin gideriminde seçkin bir tür olarak kullanıldığı takdirde 17 günlük bir sürede başarılı bir giderim verimi elde edebilir.

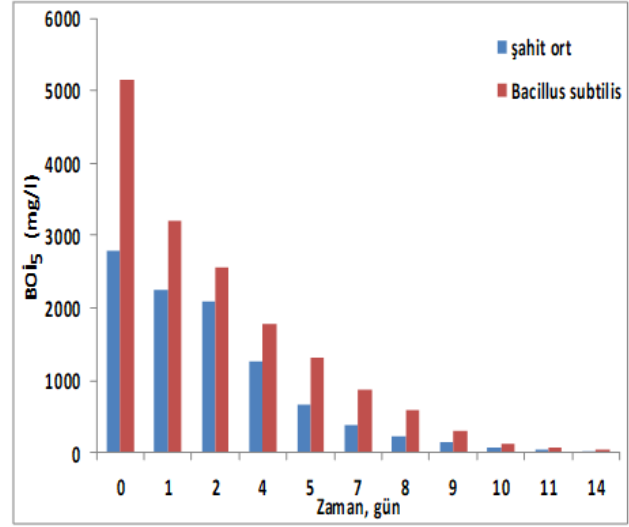
Toprak Ortamında Yapılan Biyoislah Çalışmaları Sonuçları

Çalışmanın sıvı ortamında daha önceden 5-10-25-50 ve 100 mL'lik mikroorganizma türleri kullanıldığında pestisit mevcut KOİ değerine en yakın sonuç 50 mL'lik karışık kültürlerde görüldüğü için ve toprağın da karışık bir mikroorganizma ortamına sahip olduğu için toprak ortamında da bakterinin bu şartlarda biyoislah faaliyetlerinde çalışması amaçlanmıştır. Zenginleştirilen *Bacillus subtilis* türünün 100 mL'lik zenginleştirilmiş kültürü (mL'sinde yaklaşık 10^6 adet bakteri barındırır) steril toprakların üzerlerine ilave edilmesiyle ve sulandırılmasıyla 24'er saat arayla elde edilen süzüntülerden alınan örneklerin KOİ ve BOİ₅ değerleri Şekil 3 ve 4'te gösterilmektedir.



Şekil 3. *Bacillus subtilis* türünde toprak ortamında iki hafta sonunda KOİ azalışı

Bacillus subtilis türü bakterinin pestisit ile aynı orandaki (1:1) zenginleştirilmiş kültürünün domates yetiştiriciliği yapılan topraktan oluşturulan yapay tarla düzeneğine ilavesiyle de iki haftada yüksek bir KOİ ve BOİ₅ giderimi bulunmuştur. Bu oranlar KOİ bazında 14. günün sonunda %99 iken BOİ₅'te ise %96'dır. Ortamların mikroorganizmasız koşullardaki KOİ ve BOİ₅ bazındaki azalmaları ise aynı süre zarfında sırasıyla %46 ve %99'dur.



Şekil 4. *Bacillus subtilis* türünde toprak ortamında iki hafta sonunda BOİ₅ azalışı

SONUÇLAR

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre Elazığ'da domates yetiştiriciliği yapılan zirai alandan izole edilen *Bacillus subtilis* bakterisinin oluşturduğu konsorsiyumların Metribuzin etken maddeli pestisiti sıvı ve toprak ortamında yüksek bir verimle parçalayıp bu maddenin alıcı ortamlara vereceği olumsuz etkileri azaltabileceği görülmüştür. Sıvı ortamdaki *Bacillus subtilis* türünün farklı konsantrasyonlarının biyoislah çalışmaları sonuçlarına göre 17 günlük süre sonucunda KOİ parametresinde iyi bir performans sergilediği saptanmıştır. Bu performanslardan en iyisi 100 mL'lik karışık kültürde gözlenmiştir (%99). 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. Klorimuron-etilin tek karbon kaynağı olarak temin edildiğini, klorimuronetil degradasyonu ile birlikte mikrobiyal suşun büyüme oranının artmasını ve başlangıçta 50 mg L⁻¹'lik klorimuron-etilden %95'inden fazlasının ayrıştığını 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

Araştırma makalesi/Research article
 DOI: 10.29132/ijpas.529882

kadar giderildiği belirlenmiştir (Kumar ve Philip, 2006). 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⁻¹ konsantrasyonda pendimethalinin bu bakteri türü tarafından uzaklaştırıldığını gözlemlenmişlerdir. Ergüven ve Yıldırım (2016)'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⁻¹'den 1080 mg L⁻¹'ye). Ergüven ve ark. (2017)'de malathion etken maddeli bir insektisit *P. chryso sporium* ile giderimi konusunda bir araştırma yapmışlardır. 50, 100 ve 150 mg L⁻¹ malathion konsantrasyonlarında ve 130 rpm de çalkalayıcı inkübatörde KOİ bazında bir takip gerçekleştirmişlerdir. 15. günün sonunda üç ayrı konsantrasyonda sırasıyla %97, 99 ve 99'lük bir giderim verimleri saptanmıştır. Elde ettikleri sonuca göre *P. Chryso sporium*'un, malathion maruz bırakılmış alıcı ortamların arıtımında uygun bir mikroorganizma olduğunu belirlemişlerdir. Ergüven (2017)'de bazı mantar türleriyle acetochlor herbisitinin etken madde, KOİ, BOİ₅ ve Toplam organik karbon (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. Chlamydo sporium* türlerinde acetochlor 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'te %80, 76, 76, 54 ve 50'lik oranlarda giderim verimlilikleri belirlemiştir. Chlorpyrifos insektisitinin biyoparçalanırılığı 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 fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia marcescens* türleri ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, 20. günün sonunda %46-72 verim elde edilmiştir ve chlorpyrifozun sulu ortamda karbon kaynağı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir (Lakshmi ve ark., 2008). 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. *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.

ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan *Bacillus subtilis* türü bakterinin metribuzin herbisitini gerek sıvı gerekse toprak ortamında içinde buldukları ortamda besi maddesi kalmadığında bir besin maddesi muamelesi yaptıkları belirlenmiştir. Sıvı ortamda 17 günde süren ve toprak ortamında 14 gün süren parçalama işlemi, ortama daha fazla miktarda aynı türün gelmesiyle daha kısa sürede olabileceği literatür çalışmalarından da anlaşılmıştır. Eldeki imkanlar dahilinde pestisit etken maddesindeki azalımı kromotografik cihazlar olmadığından bakılamamıştır. Ancak, KOİ ve BOİ₅ de önemli çevre parametreleridir ve bizlere bu herbisit mikrobiyal parçalanması hakkında fikir verebilmektedir. Daha büyük bütçelerde etken madde bazında azalimler 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.

TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (MÜNİBAP)

Araştırma makalesi/Research article
 DOI: 10.29132/ijpas.529882

tarafından PPMUB017-07 adlı projeye desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Alexander, M.**, 1999. Biodegradation and bioremediation 2th edition Academic Press, New York.
- Awad, N., Sabit, H.H., Abo-Aba, SEM., Bayoumi, R.A.**, 2011. Isolation, characterization and fingerprinting of some chlorpyrifos-degrading bacterial strains isolated from egyptian pesticides polluted soils. *African Journal of Microbiology Research*, 5(18):2855–2862.
- Baczynski, T.P., Pleissner, D., Grotenhuis, T.**, 2010. Anaerobic biodegradation of organochlorine pesticides in contaminated soil - significance of temperature and availability. *Chemosphere*, 78(1):22–28.
- Belal, B.E., Mohamed, F.E.N.**, 2013. Bioremediation of pendimethalin contaminated soil. *African Journal of Microbiology Research*, 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. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:827–834.
- Beutler, E., Gelbart, T., Kuhl, W.**, 1990. Interference of heparin with the polymerase chain reaction. *Biotechniques*, 9:166.
- Chowdhury, A., Pradhan, S., Saha, M., Sanyal, N.**, 2008. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian Journal of Microbiology*. 48:114–127.
- Cruikshank, R.**, 1972. Medical Microbiology 11th, Ed. Livingstone, London.
- 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.
- Erguven, G.O., Yildirim, N.**, 2016. Efficiency of some soil bacteria for chemical oxygen demand reduction of synthetic chloresulfuron solutions under agiated culture conditions. *Cellular and Molecular Biology*, 62(6):92–96.
- Erguven, 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.
- Erguven, G.O.**, 2017. Role of some selected fungi cultures on bioremediation of herbicide chloresulfuron. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 14(2):110–118.
- Kumar, M., Philip, L.**, 2006. Adsorption and desorption characteristics of hydrophobic pesticide endosulfan in four Indian soils. *Chemosphere*, 62(7):1064–1077.
- Lakshmi, C.V., Kumar, M., Khanna, S.**, 2008. Biotransformation of chlorpyrifos and bioremediation of contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(2):204–209.
- Matsumoto, E., Kawanaka, Y., Yun, S.J., Oyaizu, H.**, 2009. Bioremediation of the organochlorine pesticides, dieldrin and endrin, and their occurrence in the environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(2):205–216.
- Maya, K., Singh, R.S., Upadhyay, S.N., Dubey, S.K.**, 2011. 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.
- 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., Sua, Z., Zhanga, C., Zhang, H.**, 2014. Bioremediation of chlorimuron- ethyl contaminated soil by *Hans Schlegelia* 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.
- 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 Biology and Biochemistry*, 23:955–962.