



## Böcek Mikroflorasından $\alpha$ -Endosülfanı Parçalayabilen Bakterilerin İzolasyonu ve Tanısı

Özlem Gür Özdal<sup>1\*</sup>, Murat Özdal<sup>1,2</sup>, Ömer Faruk Algur<sup>1</sup>, Alev Sezen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 25240 Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi, İspir Hamza Polat Meslek Yüksekokulu, 25900 Erzurum, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

Geliş 20 Haziran 2015  
Kabul 16 Şubat 2016  
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

#### Anahtar Kelimeler:

Biyodegradasyon,  
Biyoremediasyon  
 $\alpha$ -endosülfan  
İzolasyon  
Böcek

#### \* Sorumlu Yazar:

E-mail: ozlemgur55@gmail.com

### ÖZET

Nüfusun ve sanayileşmenin artması sonucu, çevrede birçok kimyasal madde birikmektedir. Özellikle sentetik ve toksik kimyasalların yaygın kullanımı, çevreden bu kimyasal kirleticilerin azaltılması ya da yok edilmesi için yeni teknolojileri geliştirmeye yöneltmektedir. Geniş tarım alanlarında toksik maddelerin biyodegradasyonu için kullanılan kimyasal yöntemler pahalı, zaman alıcı ve zordur. Ayrıca bu yöntemler yeni kimyasal kirleticilerin ortaya çıkmasına da neden olur. Son yıllarda alternatif bir yöntem olarak, bu toksik kimyasalların biyodegradasyonu için mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Bu yöntem etkili, daha az zararlı, ekonomik, çok yönlü ve çevre dostudur. Bu çalışmada insektisitlere dirençli böceklerin florasından elde edilen potansiyel yeni bakteriyel izolatların insektisitlerin biyodegradasyonu için kullanılabilmesi düşünülmüştür. Orthoptera, Dermaptera, Mantodea ve Hymenoptera takımlarına ait böcek türlerinden, bir insektisit olan  $\alpha$ -endosülfanı parçalayabilen toplam 24 bakteriyel izolat elde edilmiştir. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler ile total yağ asidi profillerine göre izole edilen; *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Flavimonas* ve *Rhodococcus* cinslerine ait bakteriler teşhis edilmiştir. Sonuç olarak, bu bakteriler farklı çevrelerde  $\alpha$ -endosülfan kalıntılarının artırımında kullanılabilir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 4(4): 248-254, 2016

### Isolation and identification of $\alpha$ -Endosulfan degrading bacteria from insect microflora

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 June 2015  
Accepted 16 February 2016  
Available online, ISSN: 2148-127X

#### Keywords:

Biodegradation  
Bioremediation  
 $\alpha$ -endosülfan  
Isolation  
Insect

#### \* Corresponding Author:

E-mail: ozlemgur55@gmail.com

### ABSTRACT

Increasing of industrialization and population has resulted in the accumulation of a wide variety of chemicals. Especially, widespread use of synthetic and toxic chemicals have led to an effort to improve new technologies to reduce or eliminate these contaminants from the environment. Chemical methods that used for the treatment of toxic materials are expensive, time-consuming and difficult, especially in extensive agricultural areas. Furthermore these methods led to formation of new chemical pollutants. Recent years, one promising alternative treatment method is to use of microorganisms for the biodegradation of these toxic chemicals. This method is effective, minimally hazardous, economical, versatile and environment friendly. In this study, we thought that microflora of insecticide resistant insects may be a potential reservoir for the isolation of new bacteria that can be used for the biodegradation of insecticides. In this research work, totally 24 bacterial isolates capable of biodegradation  $\alpha$ -endosulfan were isolated from the body microflora of insects belong to Orthoptera, Dermaptera, Mantodea and Hymenoptera orders. Based on the some morphological, physiological and biochemical characteristics and fatty acid profiles they were identified as *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Flavimonas* and *Rhodococcus*. As a result, these isolates can be used for the treatment of  $\alpha$ -endosulfan residues at different environments.

## Giriş

Artan dünya nüfusunun besin ihtiyacını karşılayabilmek ve yüksek kalitede ürün elde etmek için zararlılara karşı pestisitler kullanılmaktadır. Çevre için toksik olan bu kimyasallar tarım alanları dışında; depolanmış ürünlerin korunmasında, orman ağaçlarına zarar veren böceklerle ve yabancı otlara karşı geniş çapta kullanılmaktadır (Kataoka ve Takagi, 2013; Vymazal ve Brezinova, 2015). Pestisit kullanımı her geçen gün artarak devam etmektedir. Dünya genelinde ortalama  $3 \times 10^9$  kg pestisit kullanılmakta ve yıllık pazar payı yaklaşık 40 milyar dolardır. Pestisit tüketim miktarları bakımından Tayvan (17 kg/ha), Hindistan, Çin (14 kg/ha), Japonya (12 kg/ha), Hollanda (9,4 kg/ha), Amerika Birleşik Devletleri (7 kg/ha), Birleşik Krallık (5 kg/ha), Fransa (4,6 kg/ha) ve İtalya (4,17 kg/ha) gibi ülkeler başı çekmektedir. Türkiye’de ise pestisit tüketimi yıllık 1,3 kg/ha’dır (Kaymak ve Serim, 2015; Yadav ve ark., 2015).

Kimyasal yapılarına göre en önemli pestisit grupları organoklorlu, organofosforlu ve karbamat pestisitleri ile doğal ve sentetik pretroidlerdir (Verma ve ark., 2014). Endosülfan organoklorlu pestisitlerin siklodin grubunda yer alan geniş spektrumlu bir insektisit olup 7:3 oranındaki iki stereoizomer olan  $\alpha$ -endosülfan ve  $\beta$ -endosülfanın karışımından oluşmaktadır (Kataoka ve ark., 2011). Endosülfanın kullanımı birçok ülkede ve ülkemizde yasaklanmıştır. Fakat yapılan çalışmalar endosülfanın yasal olmayan yollarla üretildiğini ve kontrol dışı kullanımının devam ettiğini göstermektedir (Dar ve ark., 2015; Karadeniz ve Karataş 2015). Endosülfan ve parçalanma ürünleri atmosfer, toprak, gıda ürünleri, yeraltı ve yüzey suları gibi çevrelerde tespit edilmiştir (Hussain ve ark., 2007; Kataoka ve Takagi, 2013; Kumar ve ark., 2014). Doğada uzun süre bozulmadan kalabilmekte, çevre ve halk sağlığını tehdit etmektedir. Merkezi sinir sistemi, karaciğer ve kan kimyasını bozucu etkilere sahip olduğu gibi teratojenik ve mutajenik etkilere de sahiptir (Lu ve ark., 2000).

Endosülfanın doğada parçalanması aerobik ve anaerobik şartlarda biyotik veya abiyotik yollarla olabilmektedir. Toprak ve sucul çevrelerde endosülfanın biyodegradasyonu mikroorganizma faaliyetleri sonucu olmaktadır. Mikroorganizmalar endosülfanı karbon ve/veya kükürt kaynağı olarak kullanabilmektedir (Kwon ve ark., 2005; Hussain ve ark., 2007).

Böcekler, canlı organizmalar içerisinde tür çeşitliliği bakımından en zengin grubu oluşturmaktadır (Novatry ve ark., 2002). Böcek mikrobiyal florasının en önemli üyelerini bakteriler oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar; böcekler için gıda, sindirime yardımcı ve faydalı enzimleri üretme, vitamin sentezleme, feromonları üretme ve böcek patojenleri ile rekabet etmek suretiyle böceklerin yaşamına önemli katkılar sağlamaktadır (Dharne ve ark., 2006; İskender ve Algur, 2009; Özidal ve ark., 2012). Böcek mikroflorasının, özellikle patojen ve antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların taşınmasındaki etkileri araştırılmıştır (Pai ve ark., 2005). Ancak, pestisitli ortamlarda yaşayan böceklerin mikroflorası hakkında yeterli bilgi yoktur. Böcek bağırsakları, bakteriler arasında gen transferi için uygun ortam sağlamaktadır. Mikroorganizmalar farklı çevre şartlarına horizontal gen

transferi (De Gelder ve ark., 2008), konjugatif plazmit (De Boever ve ark., 2007) ve basit mutasyonlarla farklı özellikler kazanarak yeni çevrelere adapte olabilirler. Bu bilgiler ışığında böcek bağırsaklarından pestisitlere dirençli mikroorganizmaların izole edilmesi olanağı oldukça yüksektir.

Birçok böcek grubunda (Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Orthoptera, Dermaptera ve Hymenoptera) pestisitlerin kullanımı sonucu pestisitlere karşı direnç oluşmaktadır (Georghiou, 1983). Pestisitlere dayanıklı oldukları gözlenen böceklerin bağırsak florası, pestisitlerin biyolojik parçalanmasında kullanılabilecek bakteriler bakımından zengin olabileceğinden, bu çalışmada böceklerden izole edilen bakterilerin  $\alpha$ -endosülfanı parçalama potansiyeline sahip etkili türlerin izolasyonu ve tanısı amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Kimyasallar

Çalışmada kullanılan  $\alpha$ -endosülfan ve diğer kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Sigma firmasından, besiyerleri ise Merck ve Difco firmalarından temin edilmiştir.

### Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanması

Bu çalışmada  $\alpha$ -endosülfanın kükürt içeriyor olması nedeniyle, Minimal besiyeri (MB) ortamının kısmen modifiye edilmesiyle hazırlanan besiyeri kullanılmıştır. MB; 1 L saf su içerisine 0,225g  $K_2HPO_4$ ; 0,225g  $KH_2PO_4$ ; 0,225g  $NH_4Cl$ ; 0,845g  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; 0,005g  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ ; 0,005g  $CaCO_3$ ; 1g D-glukoz ve 1 mL eser element solüsyonu eklenerek çözülerek hazırlanmıştır. Eser element çözeltisi ise; 1 L saf su içerisinde 198 mg  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ ; 136 mg  $ZnCl_2$ ; 171 mg  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ; 24 mg  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  ve 24 mg  $NiCl_2 \cdot 6H_2O$  olacak şekilde hazırlanmıştır (Siddique ve ark., 2003). Bu besiyeri  $121^\circ C$ ’de 20 dk. otoklavlanmış ve oda sıcaklığına geldiğinde 100 mg/L  $\alpha$ -endosülfan stok çözeltisi eklenmiştir. Stok çözelti aseton içerisinde  $\alpha$ -endosülfanın (100 mg/mL) çözülmesiyle hazırlanmıştır.

### Çalışmada Kullanılan Böcekler

Pestisit uygulanan habitatlardan Orthoptera, Dermaptera, Mantodea ve Hymenoptera takımlarına ait böcekler 2012 ilkbahar-yaz döneminde farklı bölgelerden toplanmış ve tür teşhisleri Prof. Dr. Orhan Erman ve Prof. Dr. Ümit İncekara tarafından yapılmıştır. En kısa sürede laboratuara getirilerek izolasyon işlemine başlanmıştır.

### $\alpha$ -Endosülfanı Parçalayabilen Potansiyel Bakteri Strainlerinin İzolasyonu

Laboratuara getirilen böcek örnekleri önce etil asetat emdirilmiş pamuk bulunan kapalı kutular içerisinde etkisiz hale getirilerek %70’lik etil alkol ile 3 dk yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve steril fizyolojik su (SFS) ile alkol giderimi yapıldıktan sonra içerisinde SFS olan steril bir havanda ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenattan seri dilüsyonlar hazırlanmış, içerisinde 100 mg/L  $\alpha$ -endosülfan bulunan sıvı MB’ye 0,1 mL ekimler yapılmıştır. 7 gün  $30^\circ C$ ’de 150 rpm’de inkübe edilen kültürlerden aynı şartlardaki besiyerlerine 0,1 mL aktarılmış ve bu işlem 7 günde bir tekrarlanarak 3 hafta

(21 gün) sürdürülmüştür. İçerisine agar eklenmiş olan MB 121°C’de 20 dk otoklavlanmış ve 45°C’ye kadar soğuduktan sonra 100 mg/L α-endosülfan eklenerek katı besiyerleri hazırlanmıştır.

Zenginleştirme kültürden 0,1 mL alınarak, hazırlanan katı besiyerine cam bagetle yayma ekim yapılmıştır. Petriler 30°C’de inkübe edilmiş ve 72 saat sonunda öncelikle yoğun gelişenlerden olmak üzere farklı karakterdeki koloniden zengin besiyeri olan TSA (Tryptic Soya Agar) besiyerine transfer edilerek izolasyon yapılmış ve yatık agarda +4°C’de saklanmıştır.

#### İzolatların Tanınması

Bakteri türlerinin kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri (Gram, hücre şekli, endospor, hareket, katalaz, oksidaz) (Harley ve Prescott, 2002) ile izole edilen bakterilerin yağ asit profilleri GC cihazı ile belirlenmiştir (Kotan ve ark., 2006).

#### Bulgular

Çalışmada, ülkemizde pestisitlerin yoğun olarak kullanıldığı bölgelerden toplanan Orthoptera, Dermaptera, Mantodea ve Hymenoptera takımlarına ait böcekler kullanılmıştır (Tablo 1). Laboratuara getirilen örnekler teşhis edildikten sonra, sterilizasyon ve homojenizasyon işlemlerine tabi tutulmuş ve elde edilen homojenattan yapılan inokulasyon sonucu α-endosülfan bulunan ortamda üreyen 24 bakteriyal izolat elde edilmiştir. Tablo 1’de izolatların elde edildiği böcek türleri ve izolat grubu belirtilmiştir.

Tablo 2’de izolatların bazı kültürel, sitolojik ve biyokimyasal test sonuçları verilmiştir. Bu izolatlardan 7’si Gram pozitif, 17’si Gram negatiftir. Bunlardan 20’si katalaz pozitif, 15’i oksidaz pozitif, 6’sı endospor oluşturan ve 16’sı hareketli bakteridir.

Tablo 1 İzolatların elde edildiği böcek türleri

| Strain Grubu | Bilimsel Adı                                   | Toplandığı yer | Familiya       | Takım       |
|--------------|--|----------------|----------------|-------------|
| SE           | <i>Saga ephippigera</i> (Fischer 1846)         | Elazığ         | Tettigoniidae  |             |
| PT           | <i>Poecilimon tauricola</i> (Ramme 1951)       | Erzurum        | Tettigoniidae  |             |
| GB           | <i>Gryllus bimaculatus</i> (De Geer 1773)      | Antalya        | Gryllidae      | Orthoptera  |
| LM           | <i>Locusta migratoria</i> (Linnaeus 1758)      | İzmir          | Acrididae      |             |
| GG           | <i>Gryllotalpa gryllotalpa</i> (Linnaeus 1758) | Elazığ         | Gryllotalpidae |             |
| FA           | <i>Forficula auricularia</i> (Linnaeus 1758)   | Samsun         | Forficulidae   | Dermaptera  |
| SV           | <i>Sphodromantis viridis</i> (La Greea 1950)   | İzmir          | Mantidae       | Mantodea    |
| F            | <i>Formica</i> sp. (Linnaeus 1758)             | Erzurum        | Formicidae     | Hymenoptera |

Tablo 2 İzolatlarının kültürel, sitolojik ve biyokimyasal özellikleri

| İzolat Adı | Gram | Hücre şekli  | Endospor | Hareket | Katalaz | Oksidaz |
|------------|------|--------------|----------|---------|---------|---------|
| SE4        | -    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| SE5        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | +       |
| PT16       | -    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| PT5        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | +       |
| PT7        | -    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| PT9        | +    | Çubuk        | +        | +       | +       | +       |
| GB1        | +    | Çubuk        | +        | +       | +       | +       |
| GB4        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | -       |
| GB8        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | +       |
| GB9        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | +       |
| LM1        | +    | Çubuk        | +        | +       | +       | +       |
| LM11       | -    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| LM9        | +    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| LM2        | +    | Çubuk        | +        | +       | +       | +       |
| LM3        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | -       |
| GG5        | -    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| FA3        | +    | Çubuk        | +        | +       | +       | +       |
| FA5        | +    | Çubuk        | +        | +       | +       | +       |
| FA8        | -    | Çubuk        | -        | +       | -       | +       |
| SV2        | -    | Çubuk        | -        | -       | +       | -       |
| SV3        | -    | Çubuk        | -        | +       | -       | +       |
| SV5        | -    | Çubuk        | -        | +       | +       | +       |
| SV9        | -    | Çubuk        | -        | +       | -       | +       |
| F1         | -    | Kıvrık çubuk | -        | +       | -       | +       |

MIS analizi sonuçlarına göre, izolatların yağ asidi profilleri Tablo 3 ve Tablo 4'te özetlenmiştir. Yapılan MIS analizi sonucu, 7 farklı cins ve 11 farklı tür bakteriyel izolat tanımlanmıştır. Morfolojik, biyokimyasal ve yağ asitleri verilerine dayanılarak izolatlar; *Acinetobacter lwoffii* (SE4, PT7, GG5), *Pseudomonas aeruginosa* (SE5, PT5, GB8, GB9, SV5), *Stenotrophomonas maltophilia* (FA8, SV3, SV9), *Bacillus megaterium* (PT9, GB1), *Brevibacillus choshinensis* (LM1, FA5), *Brevibacillus parabrevis* (LM2, FA3), *Acinetobacter calcoaceticus* (PT16, SV2), *Flavimonas oryzihabitans* (GB4, LM3), *Acinetobacter johnsonii* (LM11), *Rhodococcus rhodochrous* (LM9) ve *Pseudomonas huttiensis* (F1) olarak tanımlanmıştır. İzole edilen bakterilerin cinsleri ağırlıklı olarak *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Brevibacillus* ve *Bacillus* olarak tespit edilmiştir. En fazla bakteriyel çeşitlilik *Poecilimon tauricola* (4), *Gryllus bimaculatus* (4) ve *Sphodromantis viridis* (3) türlerinde görülmüştür.

Tablo 3 ve 4 birlikte incelendiğinde *Acinetobacter lwoffii* olarak tanımlanan SE4, PT7, GG5 izolatları 18:1 w9c, 16:0, 12:0 ve 16:1 w7c/15:0 iso2OH yağ asitlerini, *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanımlanan SE5, PT5, GB8, GB9, SV5 izolatları 16:0, 18:1 w7c, 16:1 w7c/15:0

iso 2OH yağ asitlerini, *Stenotrophomonas maltophilia* olarak tanımlanan FA8, SV3, SV9 izolatları 15:0 iso, 15:0 Antesio, 16:1 w7c/15:0 iso 2OH yağ asitlerini, *Bacillus megaterium* olarak tanımlanan PT9, GB1 izolatları 15:0 iso, 15:0 Antesio yağ asitlerini, *Brevibacillus choshinensis* olarak tanımlanan LM1, FA5 izolatları 15:0 Antesio yağ asidini, *Brevibacillus parabrevis* olarak tanımlanan LM2, FA3 izolatları 15:0 Antesio, 15:0 yağ asitlerini, *Acinetobacter calcoaceticus* olarak tanımlanan PT16, SV2 izolatları 16:0, 18:1 w9c, 16:1 w7c/15:0 iso 2OH yağ asitlerini, *Flavimonas oryzihabitans* olarak tanımlanan GB4, LM3 izolatları 18:1 w7c, 16:0 ve 16:1 w7c/15:0 iso 2OH yağ asitlerini, *Acinetobacter johnsonii* olarak tanımlanan LM11 izolatı 16:0, 18:1 w9c, 16:1 w7c/15:0 iso 2OH yağ asitlerini, *Rhodococcus rhodochrous* olarak tanımlanan LM9 izolatı 16:0, 18:1 w9c yağ asitlerini, *Pseudomonas huttiensis* olarak tanımlanan F1 izolatı 16:0, 18:1 w7c, 16:1 w7c/16:1w6c yağ asitlerini daha yüksek oranlarda içermektedir. Bakteriyel izolatların toplam 38 çeşit yağ asidi içerdiği tespit edilmiştir. İzolatlardaki yağ asidi karbon sayısı 10-20 arasında değişmektedir. İzolatların hepsinde 16:0 yağ asidi mevcut olup, en çok rastlanılan diğer yağ asidi çeşitleri ise 12:0, 14:0 ve 18:0'dır.

Tablo 3 Orthoptera takımından izole edilen bakterilerin yağ asidi profilleri

| Yağ Asitleri       | Bakteriler |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |      |       |       |
|--------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
|                    | SE4        | SE5   | PT5   | PT7   | PT9   | PT16  | GB1   | GB4   | GB8   | GB9   | LM1   | LM9   | LM11  | LM2  | LM3   | GG5   |
| 10:0               |            | 0,29  | 0,29  |       |       |       |       | 0,21  | 0,29  | 0,29  |       |       |       |      |       |       |
| 10:0 3OH           |            | 3,19  | 3,19  |       |       |       |       | 2,2   | 3,19  | 3,19  |       |       |       |      | 2,6   |       |
| 12:0               | 10,2       | 4,57  | 4,57  | 10,2  | 4,97  | 6,61  | 4,97  | 5,09  | 4,57  | 4,57  |       | 8,16  | 8,03  |      | 9,14  | 10,2  |
| 12:0 2OH           |            | 4,87  | 4,87  |       |       |       |       | 4,29  | 4,87  | 4,87  |       |       | 0,75  |      | 4,08  |       |
| 12:0 3OH           | 3,55       |       |       | 3,55  |       |       | 4,87  |       |       |       |       |       | 4,70  |      |       | 3,55  |
| 13:0 iso           |            |       |       |       | 0,44  |       | 0,44  |       |       |       |       |       |       |      |       |       |
| 14:0 iso           |            |       |       |       | 0,73  |       | 0,73  |       |       |       | 2,30  |       |       |      |       |       |
| 14:0               |            | 0,60  | 0,60  |       | 0,48  |       | 0,48  | 0,65  | 0,60  | 0,60  | 1,19  | 5,35  |       |      | 0,53  |       |
| 15:0 iso           |            |       |       |       | 40,82 |       | 40,82 |       |       |       | 5,99  |       |       |      |       |       |
| 15:0 Antesio       |            |       |       |       | 38,23 |       | 38,23 |       |       |       | 69,45 |       |       |      | 46,70 |       |
| 15:0               |            |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |      | 39,21 |       |
| 16:0 iso           |            |       |       |       | 1,61  |       | 1,61  |       |       |       | 1,13  |       |       |      |       |       |
| 16:1 w7c           |            |       |       |       | 0,53  |       | 0,53  |       |       |       |       |       |       |      | 0,96  |       |
| 16:1 w11c          |            |       |       |       | 0,36  |       | 0,36  |       |       |       | 8,27  |       |       |      | 0,79  |       |
| 16:0               | 20,58      | 25,03 | 25,03 | 20,58 | 1,66  | 13,48 | 1,66  | 25,66 | 25,03 | 25,03 | 2,13  | 22,89 | 16,45 | 0,72 | 25,54 | 20,58 |
| 17:1 w8c           |            |       |       |       |       | 0,96  |       |       |       |       |       |       |       |      |       |       |
| 17:0 cyclo         |            | 0,95  | 0,95  |       |       |       |       | 0,48  | 0,95  | 0,95  |       |       |       |      |       | 0,34  |
| 17:0               |            | 0,10  | 0,10  |       |       |       |       |       | 0,10  | 0,10  |       | 0,82  |       |      |       |       |
| 17:1 iso w10c      |            |       |       |       | 0,99  |       | 0,99  |       |       |       |       |       |       |      | 2,00  |       |
| 17:0 iso           |            |       |       |       | 3,28  |       | 3,28  |       |       |       |       |       |       |      | 1,09  |       |
| 17:0 antesio       |            |       |       |       | 5,23  |       | 5,23  |       |       |       | 1,88  |       |       |      | 4,77  |       |
| 18:1 w7c           | 3,94       | 41,64 | 41,64 | 3,94  |       | 5,35  |       | 44,14 | 41,64 | 41,64 |       |       |       |      | 3,74  | 43,91 |
| 18:1 w9c           | 22,85      |       |       | 22,85 |       | 36,31 |       |       |       |       |       | 20,93 | 27,38 |      |       | 22,85 |
| 18:0               |            | 0,43  | 0,43  |       |       | 2,12  |       | 0,64  | 0,43  | 0,43  |       | 1,14  | 3,57  |      | 0,62  |       |
| 19:0               |            |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 3,77  |       |      |       |       |
| 20:0               |            |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 1,44  |       |      |       |       |
| 17:1 iso/antesio B |            |       |       |       | 0,68  |       | 0,68  |       |       |       | 4,13  |       |       |      | 3,76  |       |
| 16:1w7c/15:0iso2OH | 38,81      | 17,26 | 17,26 | 38,81 |       | 27,52 |       | 18,29 | 17,26 | 17,26 |       |       | 31,53 |      | 15,21 | 38,81 |
| 16:1 w7c/16:1w6c   |            |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 3,51  |       |       |      |       |       |
| 17:1 w8c           |            | 0,21  | 0,21  |       |       |       |       | 0,21  | 0,21  |       |       | 3,10  |       |      |       |       |

Tablo 4 Dermaptera, Mantodea ve Hymenoptera takımlarından izole edilen bakterilerin yağ asidi profilleri

| Yağ Asitleri          | Bakteriler |       |       |       |       |       |       |      |
|-----------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
|                       | FA3        | FA5   | FA8   | SV2   | SV3   | SV5   | SV9   | F1   |
| 10:0                  |            |       | 0,62  |       | 0,62  | 0,29  | 0,62  |      |
| 11:0 iso              |            |       | 3,26  |       | 3,26  |       | 3,26  |      |
| 11:0 iso 3OH          |            |       | 1,28  |       | 1,28  |       | 1,28  |      |
| 10:0 3OH              |            |       | 0,14  |       | 0,14  | 3,19  | 0,14  | 3,68 |
| 12:0                  |            |       | 2,79  | 6,61  | 2,79  | 4,57  | 2,79  | 3,54 |
| 12:0 2OH              |            |       |       |       |       | 4,87  |       | 3,46 |
| 12:0 3OH              |            |       | 2,93  | 4,87  | 2,93  |       | 2,93  | 2,92 |
| 13:0 iso              |            |       | 0,49  |       | 0,49  |       | 0,49  |      |
| 13:0 Antesio          |            |       | 0,17  |       | 0,17  |       | 0,17  |      |
| 14:0 iso              |            | 2,30  | 0,69  |       | 0,69  |       | 0,69  |      |
| 14:0                  |            | 1,19  | 3,93  |       | 3,93  | 0,60  | 3,93  | 0,51 |
| 13:0 iso 3OH          |            |       | 2,42  |       | 2,42  |       | 2,42  |      |
| 13:0 2OH              |            |       | 0,26  |       | 0,26  |       | 0,26  |      |
| 15:1 iso F            |            |       | 1,27  |       | 1,27  |       | 1,27  |      |
| 15:0 iso              |            | 5,99  | 33,81 |       | 33,81 |       | 33,81 |      |
| 15:0 Antesio          | 46,70      | 69,45 | 11,07 |       | 11,07 |       | 11,07 |      |
| 15:0                  | 39,21      |       |       |       |       |       |       |      |
| 16:0 iso              |            | 1,13  | 1,05  |       | 1,05  |       | 1,05  |      |
| 16:1 w7c              | 0,96       |       |       |       |       |       |       |      |
| 16:1 w11c             | 0,79       | 8,27  |       |       |       |       |       |      |
| 16:0                  | 0,72       | 2,13  | 9,19  | 13,48 | 9,19  | 25,03 | 9,19  | 22,3 |
| 16:1 w9c              |            |       | 3,67  |       | 3,67  |       | 3,67  |      |
| 17:1 iso w9c          |            |       | 4,68  |       | 4,68  |       | 4,68  |      |
| 17:1 w8c              |            |       |       | 0,96  |       |       |       |      |
| 17:0 cyclo            |            |       |       |       |       | 0,95  |       | 1,45 |
| 17:0                  |            |       |       |       |       | 0,10  |       |      |
| 17:1 iso w10c         | 2,00       |       |       |       |       |       |       |      |
| 17:0 iso              | 1,09       |       | 3,08  |       | 3,08  |       | 3,08  |      |
| 17:0 antesio          | 4,77       | 1,88  | 0,34  |       | 0,34  |       | 0,34  |      |
| 18:1 w7c              |            |       | 0,95  | 5,35  | 0,95  | 41,64 | 0,95  | 20,6 |
| 18:1 w9c              |            |       | 1,70  | 36,31 | 1,70  |       | 1,70  |      |
| 18:0                  |            |       | 0,23  | 2,12  | 0,23  | 0,43  | 0,23  |      |
| 17:1 iso/antesio B    | 3,76       | 4,13  |       |       |       |       |       |      |
| 16:1 w7c/15:0 iso 2OH |            |       | 11,81 | 27,52 | 11,81 | 17,26 | 11,81 |      |
| 16:1w7c/16:1w6c       |            | 3,51  |       |       |       |       |       | 41,2 |
| 17:1 w8c              |            |       |       |       |       | 0,21  |       |      |

## Tartışma

Omurgasız hayvanların, sindirim sistemlerinde ve diğer vücut bölgelerinde mikroorganizmaları barındırdığı bilinmektedir (Dillon ve Dillon, 2004; Özdal ve ark., 2012; Okay ve ark., 2013). Bu nedenle, böcek bağırsak mikroflorası bize yeni biyokatalizörleri bulmamızı sağlar. Birçok araştırmacı pestisit ile kontamine olmuş topraktan izole edilen bakterileri pestisit biyodegradasyonunda kullanmıştır (Goswami ve Singh, 2009; Thangadurai ve Suresh, 2014). Pestisitlerin biyodegradasyonu için böcek mikroflorasının kullanıldığı çalışma sayısı oldukça azdır. Verma ve ark. (2011) yaptığı çalışmada toprak solucanının bağırsağından izole edilen *Rhodococcus* MTCC6716 straini ile endosülfan biyodegradasyonunu çalışmıştır. Başka bir çalışmada ise *Blatta orientalis* (Hamam böceği)'den izole edilen *S. maltophilia*,  $\alpha$ -cypermetrinin biyodegradasyonunda kullanılmıştır (Gur ve ark., 2014).

Genel olarak mikroorganizmaların teşhisinde farklı yöntemler kullanılmaktadır (Kurbanoglu ve ark., 2015). Son yıllarda klasik tanı yöntemlerine ilaveten kullanılan teknikler içerisinde MIS; hızlı, ucuz ve pratik olması bakımından mikroorganizmaların teşhisinde ve taksonomisinde kullanılmaktadır. Bu yöntemde GC ile bakterilerin yağ asit profilleri belirlenir. Yağ asidi

profillerindeki farklılıklar mikroorganizmaların birbirleri ile akrabalıklarının dolaylı bir göstergesidir (Giacomini ve ark., 2000). Dolayısıyla yağ asidi analizi profili tür teşhisi için kullanıldığı gibi, bakterilerin filogenetik yakınlık düzeyleri konusunda da faydalı bilgiler sunmaktadır.

Daha önce yapılan araştırmalarda *Pseudomonas* türleri 3-OH 10:0, 3-OH 12:0, 12:0, 16:1 w9c, 16:0 ve 18:1w7c (Vancanneyt ve ark., 1996), *S. maltophilia* türünün kompleks bir yağ asit profiline sahip olup farklı OH-asitlerini içerdiği (David ve ark., 2008), *Bacillus* türlerinde birçok mikroorganizmada yüksek oranda bulunan 14:0 ve 16:0 yağ asitlerinin düşük miktarda bulunduğunu (Kaneda, 1977), *Acinetobacter* türlerinde genellikle yüksek oranda 18:1 w9c, 16:1 w7c ve 16:0 yağ asitleri bulunduğu, ayrıca *A. lwoffii* hariç diğer strainlerin düşük miktarda 12:0 2-OH içerdiği (Moss ve ark., 1988), *Rhodococcus erythropolis* türünün 16:0, 18:1w7, 19:0 yağ asitlerini yüksek oranda içerdiği (Rainey ve ark., 1995), *Brevibacillus* grubunun ise C15:0 iso, 15:0 Antesio, 14:0 iso (Choi ve ark., 2010) yağ asitlerini yüksek oranda içerdiği belirtilmektedir. Bu çalışmada  $\alpha$ -endosülfanı indirgeyen bakterilerin yağ asidi profilleri daha önce aynı bakterilerle yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda endosülfanı parçalayabilen bakteriler çoğunlukla yoğun pestisit kullanılan tarım alanlarından izole edilmiştir. Elde edilen türler *Achromobacter xylosoxidans* C8B (Singh ve Singh, 2011), *Pseudomonas spinosa* TJ1.B1, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* TJ2.B6 (Hussain ve ark., 2007), *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rhodococcus erythropolis* (Kumar ve ark., 2007), *Bacillus subtilis* (Kumar ve ark., 2014), *Pseudomonas fluorescens* (Jesitha ve ark., 2015), *Klebsiella*, *Alcanigenes*, *Flavobacterium*, *Bacillus* ve *Acinetobacter* (Kafizadeh ve ark., 2015)' dir. Bu çalışmada önceki çalışmalarla benzer bakteriler izole edilmiştir. Buna ek olarak, yeni türlerin de degradasyonda etkili olabileceği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu araştırmada elde edilen  $\alpha$ -endosülfanı parçalayan mikroorganizmaların bu insektisidin kirlettiği bölgelerdeki arıtma çalışmalarında kullanılabilirliği söylenebilir. Ancak, biyodegradasyonun yüksek verimle ve uygulanabilir olması için optimizasyon çalışmalarına da ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

- Choi MJ, Bae JY, Kim KY, Kang H, Cha CJ. 2010. *Brevibacillus fluminis* sp. nov., isolated from sediment of estuarine wetland. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60: 1595–1599.
- Dar SA, Yousuf AR, Ganai FA, Bhat FA. 2015. Assessment of endosulfan induced genotoxicity and mutagenicity manifested by oxidative stress pathways in freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.). *Chemosphere*. 120: 273-283.
- David F, Tienpont B, Sandra P. 2008. Chemotaxonomy of bacteria by comprehensive GC and GC-MS in electron impact and chemical ionisation mode. *Journal of Separation Science*. 31: 3395–3403.
- De Boever P, Ilyin P, Forget-Hanus V, Van der Auwera G, Mahillon J, Mergeay M. 2007. Conjugation-mediated plasmid exchange between bacteria grown under space flight conditions. *Microgravity Science and Technology*. 19: 5–6.
- De Gelder L, Williams JJ, Ponciano JM, Sota M, Top EM. 2008. Adaptive plasmid evolution results in host-range expansion of a broad-host-range plasmid. *Genetics*. 178(4): 2179–2190.
- Dharne M, Patole M, Shouche, YS. 2006. Microbiology of the insect gut: tales from mosquitoes and bees. *Journal of Bioscience*. 31(3): 293–295.
- Dillon RJ, Dillon VM. 2004. The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annual Review of Entomology*. 49: 71-92.
- Georghiou GP, Saito T. 1983. *Pest Resistance to Pesticides*. New York: Plenum. 809 pp.
- Giacomini M, Ruggiero C, Calegari L. 2000. Artificial neural network based identification of environmental bacteria by gas-chromatographic and electrophoretic data. *Journal of Microbiological Methods*. 43: 45-54.
- Goswami S, Singh DK. 2009. Biodegradation of  $\alpha$  and  $\beta$  endosulfan in broth medium and soil microcosm by bacterial strain *Bordetella* sp. B9. *Biodegradation*. 20: 199–207.
- Gür Ö, Özdal M, Algur ÖF. 2014. Biodegradation of the synthetic pyrethroid insecticide  $\alpha$ -cypermethrin by *Stenotrophomonas maltophilia* OG2. *Turkish Journal of Biology*. 38(5), 684–689.
- Harley J.P, Prescott L.M. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology*. McGraw-Hill Pub. 5th edition.
- Hussain S, Arshad M, Saleem M, Khalid A. 2007. Biodegradation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -endosulfan by soil bacteria. *Biodegradation*. 18: 731–740.
- İskender NA, Algur ÖF. 2009. Sekiz Dişli Kabuk Böceği (*Ips typographus*, Coleoptera: Scolytidae)'nin Bakteriyel Florası Üzerine Araştırmalar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2(1): 67-76.
- Jesitha K, Nimisha KM, Manjusha CM, Harikumar PS. 2015. Biodegradation of Endosulfan by *Pseudomonas fluorescens*. *Environmental Processes*, 2(1), 225-240.
- Kafizadeh F, Ebrahimnezhad M, Tahery Y. 2015. Isolation and identification of endosulfan-degrading bacteria and evaluation of their bioremediation in Kor River, Iran. *Osong Public Health and Research Perspectives*. 6(1): 39-46.
- Kaneda T. 1977. Fatty Acids of the Genus *Bacillus*: an Example of Branched-Chain Preference. *Bacteriological Reviews*. 41(2): 391–418.
- Karadeniz H, Yenisoy-Karakaş S. 2015. Spatial distributions and seasonal variations of organochlorine pesticides in water and soil samples in Bolu, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*. 187(3): 1-12.
- Kataoka R, Takagi K, Sakakibara F. 2011. Biodegradation of endosulfan by *Mortierella* sp. strain W8 in soil: Influence of different substrates on biodegradation. *Chemosphere*. 85: 548–552.
- Kataoka R, Takagi K. 2013. Biodegradability and biodegradation pathways of endosulfan and endosulfan sulphate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97: 3285–3292.
- Kaymak S, Serim AT. 2015. Pestisit Sektöründe Araştırma ve Geliştirme. *Meyve Bilimi*. 2(1): 27-34.
- Kotan R, Sahin F, Ala A. 2006. Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pome fruit trees in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection* 113(1): 8-13.
- Kumar A, Bhoot N, Soni I, John PJ. 2014. Isolation and characterization of a *Bacillus subtilis* strain that degrades endosulfan and endosulfan sulfate. *3 Biotech*. 4: 467–475.
- Kumar K, Devi SS, Krishnamurthi K, Kanada GS, Chakrabarti T. 2007. Enrichment and isolation of endosulfan-degrading and detoxifying bacteria. *Chemosphere*. 68: 317–322.
- Kurbanoglu EB, Ozdal M, Ozdal OG, Algur, OF. 2015. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* MO-1 using ram horn peptone. *Brazilian Journal of Microbiology*. 46(2): 631-637.
- Kwon GS, Sohn HY, Shin KS, Kim E, Seo BI. 2005. Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 67: 845–850.
- Lu Y, Morimoto K, Takeshita T, Takeuchi T, Saito T. 2000. Genotoxic effects of alpha-endosulfan and beta-endosulfan on human HepG2 cells. *Environmental Health Perspectives*. 108: 559–561.
- Moss CW, Wallace PL, Hollis DG, Weaver RE. 1988. Cultural and chemical characterization of CDC groups EO-2, M-5, and M-6, *Moraxella* (*Moraxella*) species, *Oligella urethralis*, *Acinetobacter* species, and *Psychrobacter immobilis*. *Journal of Clinical Microbiology*. 26: 484-492.
- Novatry V, Basset Y, Miller SE, Weiblen GD, Bremer B, Cizek L, Drozd P. 2002. Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature*. 416: 841- 844.
- Okay S, Özdal M, Kurbanoglu EB. 2013. Characterization, antifungal activity, and cell immobilization of a chitinase from *Serratia marcescens* MO-1. *Turkish Journal of Biology*. 37: 639-644.

- Ozdal M, İncekara U, Polat A, Gur O, Kurbanoglu EB, Tasar GE. 2012. Isolation of filamentous fungi associated with two common edible aquatic insects, *Hydrophilus Piceus* and *Dytiscus Marginalis*. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*. 2 (1): 95–105.
- Pai Hh, Chen WC, Peng CF. 2005. Isolation of bacteria with antibiotic resistance from household cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*). *Acta Tropica*. 93: 259–265.
- Rainey FA, Burghardt J, Kroppenstedt R, Klatte S, Stackebrandt E. 1995. Polyphasic evidence for the transfer of *Rhodococcus roseus* to *Rhodococcus rhodochrous*. *International journal of systematic bacteriology*. 45(1): 101–103.
- Siddique T, Okeke BC, Arshad M, Frankenberg WT. 2003. Enrichment and isolation of endosulfan-degrading microorganisms. *Journal of Environmental Quality*. 32: 47–54.
- Singh NS, Singh DK. 2011. Biodegradation of endosulfan and endosulfan sulfate by *Achromobacter xylosoxidans* strain C8B in broth medium. *Biodegradation*. 22: 845–857.
- Thangadurai P, Suresh S. 2014. Biodegradation of endosulfan by soil bacterial cultures. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 94: 38–47.
- Vancanneyt M, Witt S, Abraham WR, Kersters K, H. Fredrickson L. 1996. Fatty acid content in wholecell hydrolysates and phospholipid fractions of pseudomonads: A taxonomic evaluation. *Systematic and Applied Microbiology*. 19: 528–540.
- Verma A, Ali D, Farooq M, Pant AB, Ray RS, Hans RK. 2011. Expression and inducibility of endosulfan metabolizing gene in *Rhodococcus* strain isolated from earthworm gut microflora for its application in bioremediation. *Bioresource Technology*. 102: 2979–2984.
- Verma JP, Jaiswal DK, Sagar R. 2014. Pesticide relevance and their microbial degradation: a state-of-art. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 13(4): 429–466.
- Vymazal J, Březinová T. 2015. The use of constructed wetlands for removal of pesticides from agricultural runoff and drainage: a review. *Environment International*. 75: 11-20.
- Yadav IC, Devi NL, Syed JH, Cheng Z, Li J, Zhang G, Jones KC. 2015. Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: a comprehensive review of India. *Science of The Total Environment*. 511:123-137.