



Biodegradation of Some Pesticides by *Enterobacter cloacae*; *in vitro*[#]

Tarık Balkan^{1,a,*}, Sabriye Belgüzar^{1,b}, Mehmet Kızıllarlan^{1,c}, Özlem Yılmaz^{1,d}

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>[#]This study was presented at the 6th International Anatolian Agriculture, Food, Environment and Biology Congress (Kütahya, TARGID 2022)</p> <p>Research Article</p> <p>Received : 11.11.2022 Accepted : 26.11.2022</p> <p>Keywords: Biodegradation <i>Enterobacter cloacae</i> Pesticide PGPR LC-MS/MS</p>	<p>The degradation of some pesticides (acetamiprid, boscalid, deltamethrin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin and pyridaben) by <i>Enterobacter cloacae</i> (plant growth-promoting bacteria) was investigated <i>in vitro</i>. In this study, firstly the effective substances used initially did not have a negative effect on <i>E. cloacae</i>, and the bacteria showed the same growth as the control group in the nutrient agar medium. Secondly, application doses of pesticides were added to erlenmeyer with nutrient broth, and 1 ml of 1×10^9 cells/ml of <i>E. cloacae</i> solution was inoculated and incubated in a shaker at room temperature (24°C) for 7 days. After the nutrient broth medium was extracted, pesticides were measured by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). When the results were compared with the control group, there was no degradation in acetamiprid, but 98.9% in pyraclostrobin, 98.6% in boscalid, 94.1% in kresoxim-methyl, 73.5% in pyridaben and 57.3% in deltamethrin. It is thought that the results of this study and the information obtained on the degradation of boscalid, deltamethrin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin and pyridaben will shed light on future studies.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 10(sp1): 2783-2788, 2022

Bazı Pestisitlerin Laboratuvar ortamında *Enterobacter cloacae* Tarafından Biyodegradasyonu

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p>Araştırma Makalesi</p> <p>Geliş : 11.11.2022 Kabul : 26.11.2022</p> <p>Anahtar Kelimeler: Biyodegradasyon <i>Enterobacter cloacae</i> Pestisit PGPR LC-MS/MS</p>	<p>Bu çalışmada seçilen bazı pestisitlerin (acetamiprid, boscalid, deltamethrin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin ve pyridaben) laboratuvar ortamında <i>Enterobacter cloacae</i> (bitki gelişimini teşvik eden bakteri) tarafından bozunması araştırılmıştır. Çalışmada, ilk olarak kullanılan pestisitlerin <i>E. cloacae</i> üzerinde olumsuz bir etki yapmadığı, nutrient agar besi yerinde bakterinin kontrol grubu ile aynı gelişimi gösterdiği tespit edilmiştir. İkinci olarak nutrient broth sıvı besi yeri bulunan erlenmayerlere pestisitlerin uygulama dozları eklenmiş ve 1'er ml 1×10^9 hücre/ml yoğunluğunda <i>E. cloacae</i> solüsyonu inokule edilerek 7 gün boyunca oda sıcaklığında (24°C'de) inkübasyona bırakılmıştır. Süre bitiminde alınan nutrient broth besi yerleri ekstrakte edildikten sonra Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS)'de pestisit miktarları ölçülmüştür. Sonuçlar kontrol grubu ile kıyaslandığında acetamiprid'de bozunma görülmezken pyraclostrobin'de %98,9, boscalid'de %98,6, kresoxim-methyl'de %94,1, pyridaben'de %73,5 ve deltamethrin'de %57,3 oranında bozunma görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, boscalid, deltamethrin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin ve pyridaben etkili maddelerinin degradasyonu ile ilgili elde edilen bilgilerin ilerideki çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.</p>

^a tarik.balkan@gop.edu.tr

^b <http://orcid.org/0000-0003-4756-4842>

^c sabriye.yazici@gop.edu.tr

^d <http://orcid.org/0000-0002-8892-0017>

^c mehmetkizilarlan60@gmail.com

^d <http://orcid.org/0000-0002-6739-6551>

^d ozlem.yilmaz1617@gop.edu.tr

^d <http://orcid.org/0000-0001-8564-120X>



Giriş

Günümüzde hızlı artan nüfusa paralel olarak gıda ihtiyacı da artmaktadır. Artan gıda ihtiyacının karşılanması için birim alandan alınan verimin nüfusa oranla sürdürülebilir olarak artması gerekmektedir. Tarımsal ürün yetiştiriciliğinde ürünlerin kalite ve kantitelerinin artırılması, üretimde süreklilik ve ekonomik kârlılık gibi nedenlerle birçok üretim girdisi kullanılmaktadır. Modern tarımda üretimi artırmak için kullanılan girdilerden birisi de bitki koruma ürünleridir. Bunlar, tarımı yapılan ürünlerde verim ve kalite kaybına neden olan bitki koruma etmenlerinin oluşturabileceği zararların önlenmesi veya zararın kabul edilebilir seviyelere indirgenmesi için kullanılmaktadırlar. Geçmişten günümüze bitki koruma etmenlerine karşı kültürel, fiziksel, mekanik, biyolojik ve biyoteknik mücadele gibi teknikler kullanılmasına rağmen işgücü ve zaman vd. açısından pestisit uygulamalarının sağladığı avantajlar günümüzde kimyasal mücadelenin hala etkili bir mücadele yöntemi olduğunu göstermektedir (Hillocks ve ark., 2012; Storck ve ark., 2017; İstanbullu ve ark., 2022).

Dünyada tarımsal üretim alanlarında verim ve kalitede azalmaya neden olan bitki koruma etmenlerinin zararları hasat öncesi %30-35 civarındadır. Hasat öncesi zararların %10'unu yabancı otlar, %11'ini hastalıklar (fungal, viral ve bakteriyel) ve %14'ünü en büyük payla zararlılar (böcek, akar, nematod ve omurgalılar) oluşturmaktadırlar. Tarımsal ürünlerde ürün kayıpları hasat sonrasında da devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda kuşlar, kemirgenler, böcekler ve mikroorganizmaların zararlarının hasat sonrası %14 civarında ürün kayıplarına neden olduğu görülmüştür. Hasat öncesi ve sonrası toplam kayıpların %50'yi bulması bitki koruma etmenleri ile mücadelenin tarımsal üretimde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (ADAS, 2008; Clarke ve ark., 2009; Özdem ve Karahan, 2018).

Bitki koruma etmenleri ile mücadelede kullanılan pestisitlerin dünyada kullanımı 2,7 milyon ton (FAO, 2020), Türkiye'de ise 53 bin ton kadardır (TUİK, 2021). Pestisit uygulamaları bilinen avantajlarının yanında pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Bilinçsiz kullanıldıklarında hem insan sağlığı hem de çevre üzerinde önemli sorunlara neden olabilmektedirler. Pestisitlerin tarımsal ürünlerde maksimum kalıntı limitinin (MRL) üzerinde kalıntı bırakmaması için önerilen dozlarda kullanılması tavsiye edilmektedir. Ayrıca mükerrer ilaçlama yapılmamalı, tavsiye edilmeyen karışımlar kullanılmamalı, son ilaçlama ile hasat arasındaki süreye (PHI) de uymak gerekmektedir. Yüksek oranda kalıntı içeren gıdaları tüketen insanlarda kısa ve uzun vadede sağlık riskleri ortaya çıkabilmektedir (Göktürk, 2007)

Pestisitlerin bireyler üzerindeki etkileri; maruziyetin süresine, hangi yolla bünyeye geçtiğine, bireyin kilosuna, yaşına ve sağlık durumuna göre değişmektedir. Pestisitler insanların bünyesinden metabolik faaliyetler sonucunda detoksifike olması yanında yağ dokusunda birikebilir veya diğer vücut dokularında birikebilirler (Alewu ve Nosiri, 2011; Pirsahab ve ark., 2015). Pestisitler ile akut etkileşimde bulunan bireylerde maruziyet etkileri irritasyondan, dermatite ve bireylerdeki sistemik emilime bağlı olarak ölüme kadar değişebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl üç milyon civarında pestisit zehirlenme vakası meydana gelmekte ve bu vakalardan

220 bini ölümlü sonuçlanmaktadır (Tatlı, 2006). Kısa süreli yüksek dozlarda pestisitlerin etkinliğinin insan bünyesindeki olumsuz etkileri dikkat çekici olsa da düşük dozlarda uzun süreli pestisite maruziyet sinir, solunum, kalp, mide, bağırsak ve dolaşım sistemlerinde; karaciğer, böbrek gibi iç organlarda; deri ve gözlerde çeşitli hasarlara ek olarak kanser, lösemi, nörotoksinite ve kısırılık gibi istenmeyen etkilerin insan sağlığını olumsuz etkilediği bilinmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997; Baldi ve ark., 2010; Meenakshi ve ark., 2012; Wickerham ve ark., 2012).

Araştırmacılar, pestisitlerin zararlı etkilerinden dolayı gıdalardaki pestisit kalıntı miktarını azaltmak amacıyla, farklı metot ve işlemler geliştirmişlerdir. Kurutma, pişirme, kabuk soyma, yıkama, çeşitli kimyasallarla muamele, depolama, ultrasonik ses uygulama, elektrik akımı uygulama, mikrodalga uygulaması gibi yöntemler kalıntı miktarını azaltmada oldukça iyi sonuçlar vermektedir (Thangavadi ve ark., 2009; Boulaid ve ark., 2012; Shayeghi ve ark., 2012; Bajwa ve Sandhu, 2014; Cengiz ve Certel, 2014; Cheng ve ark., 2015; Bazrafshan ve ark., 2016; Polat, 2021; Balkan and Yılmaz, 2022a). Ancak kurutma, pişirme, kabuk soyma gibi yöntemler kabuksuz ve çiğ tüketilen besinlerde uygulanamamaktadır. Kimyasal çözücülerle gıdaların yıkanması metodunda ise pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması sağlanırken, gıdalar yeni kimyasallara maruz kalabilmektedir. Ultrasonik ses, elektrik akımı, mikrodalga uygulamaları ise gıdaların yapılarında deformasyonlara, yüksek enerji giderlerine neden olabilmektedirler. Uygulanmaları için özel cihazlara ihtiyaç duyulur. Bu yöntemlerin dezavantajları ve eksiklikleri göz önüne alındığında pestisit giderimine yönelik farklı yaklaşımlar araştırılmaktadır.

Pestisitlerin bozunum sürecini hızlandırmak için enzimce yoğun olan bakterilerin biyoaktiviteleri sayesinde biyodegradasyon çalışmaları da yapılmaktadır. Ancak bu konudaki araştırmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Hindistan Kerala bölgesinde chlorpyrifos'la bulaşık topraklardan elde edilen 5 farklı *Bacillus* sp. izolatu ve bu izolatların birbiri ile olan kombinasyonlarının *in vitro* ortamda chlorpyrifos etken maddesinin biyodegradasyonu üzerinde başarı sağladığı bildirilmiştir (Varghese ve ark., 2021). *Bacillus* sp.'un organofosforlu pestisit olan omethoate üzerindeki biyodegradasyon etkinliğine yönelik Çin'in Henan eyaletinde yapılan bir çalışmada ise atık su tesisinde çamurdan elde edilen bakterilerin etken maddenin biyodegradasyonu üzerine olumlu etkiler yaptığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2021).

Bu çalışma ile bitkisel üretimde yoğun olarak kullanılan acetamiprid, boscalid, deltamethrin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin ve pyridaben etken maddelerinin *in vitro* koşullarda *Enterobacter cloacae* tarafından biyodegradasyonunun araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal

Çalışmada Kullanılan Bakteri İzolatu

Çalışmada bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri *Enterobacter cloacae* (ZE-2) kullanılmıştır. Bakteri izolatu Dr. Zeliha KAYAASLAN (Bozok Üniversitesi)'dan temin edilmiştir. Daha önce Kayaaslan (2021) tarafından yürütülen çalışmada da belirtildiği üzere, izolat Tokat ili

biber üretim alanlarında sağlıklı biber bitkilerinin rizosfer bölgelerinden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilmiştir. Elde edilen izolat ile çeşitli biyokimyasal testler, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyon testi ve patatestte yumuşak çürüklük testi yapılmış ve MALDI-TOF MS (Matriks-destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyonu) tekniği ile *Enterobacter cloacae* olarak kesin tanısı konulmuştur. Kullanılan bakteri izolatu Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji laboratuvarında nutrient broth ve gliserol içerisinde stok kültür olarak -20°C'de muhafaza edilmektedir.

Çalışmada biyodegradasyonu araştırılan etken maddeler

Çalışmada, *Enterobacter cloacae* bakterisinin biyodegradasyon etkinliğini belirlemek için acetamiprid, boscalid, deltamethrin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin ve pyridaben etken maddeleri kullanılmıştır (Tablo 1).

Çalışmada kullanılan besi yerleri

Çalışmada Nutrient Agar (NA) ve Nutrient Broth (NB) besi yerleri kullanılmıştır.

Yöntem

In vitro koşullarda Petri denemesi şeklinde yürütülen çalışmada ilk olarak, seçilen etken maddelerin *Enterobacter cloacae* üzerinde olumsuz bir etki yapıp yapmadığı incelenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında ilk olarak NA besi yeri hazırlanmıştır. Otoklav edilen besi yerleri 40°C'ye kadar soğutulmuş ve etken maddeler firmanın önerdiği uygulama dozlarına ayarlanarak besi yerlerine eklenmiştir. Etken maddeli besi yerleri 90 mm çaplı petri kaplarına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dökülmüştür. Kontrol olarak herhangi bir etken maddenin konulmadığı besi yeri kullanılmıştır. Katılaştıran besi yerlerine bakterinin inokulasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ilk olarak stok kültür olarak bulunan bakteri izolatu NA besi yerinde geliştirilerek 26°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda etken madde eklenmiş besi yerlerine bakterinin yayma ekimi yapılmıştır. Bakteriden hazırlanan 1×10^9 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyondan pipet ile 100 µl alınarak besi yerlerine konulmuş ve steril cam baget ile yayma ekimi yapılmıştır. Bakterilerin inokule edildiği besi yerleri 26°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre bitiminde kontrol petrilerindeki ve etken maddelerin eklendiği besi yerlerindeki petrilerde bakteri gelişimlerine bakılmıştır (Belgüzar ve ark., 2019).

İkinci aşama olarak, çalışmada *Enterobacter cloacae*'nin seçilen pestisitlerin bozunmasındaki rolü ortaya konulmuştur. Bu aşamada 90 ml nutrient broth sıvı

besi yeri bulunan her bir erlenmayere pestisitlerin firmanın önerdiği uygulama dozları eklenmiştir. Daha sonra pestisit eklenmiş erlenmayere 1'er ml 1×10^9 hücre/ml yoğunluğunda *E. cloacae* solüsyonu inokule edilerek 7 gün boyunca oda sıcaklığında (24°C'de) 150 rpm'de çalkalayıcıda inkübe edilmiştir (Karagoz ve ark., 2016). Bakterinin inokule edilmediği, pestisit eklenmiş besi yerleri kontrol olarak kullanılmıştır. Süre bitiminde besi yerlerinden 5'er ml alınmış ve üzerine 5 ml asetonitril eklenerek 15 ml'lik falkon tüplerine konulmuştur. Falkon tüpleri 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve üst fazlarından 2 ml alınarak cam viallere konulmuştur. Ekstrakte edilen örnekler LC-MS/MS (Sıvı Kromatografi Tandem Kütle/Kütle Spektrometre Sistemi) cihazına verilmiş ve pestisit analizleri yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Tarımsal üretimde pestisitlerin yoğun kullanımı nedeniyle su, hava, toprak ve bitkilerde kalıntılara rastlanabilmektedir (Javedankherad ve ark., 2013; Raheison ve ark., 2019; Silva ve ark., 2019; Balkan ve Yılmaz, 2022b). Bu durum insan sağlığı ve habitatların geleceği için gerçek bir tehdit olarak görülmektedir. Endişe verici toksik maddelerin etkilerini azaltmak için diğer yöntemlere göre çevre dostu, ucuz ve sürdürülebilir bir yaklaşım olan biyodegradasyondan faydalanmak gerekir.

Yapılan petri çalışmasında etken maddelerin eklendiği katı besi yerinde bakteri ekiminin yapıldığı petrilerde bakteri gelişimleri tam olarak gözlemlenmiştir. Kullanılan yöntemlere göre, kontrol petrilerindeki bakteri gelişimleri ile pestisitlerin eklendiği besi yerlerindeki bakteri gelişiminin aynı olduğu ve böylece pestisitlerin bakteri üzerinde herhangi bir olumsuz etki göstermediği görülmüştür. Çalışmanın ikinci aşamasında ise yapılan pestisit kalıntı analizleri sonucu *Enterobacter cloacae* bakterisinin farklı etken maddelerde farklı oranlarda degradasyona neden olduğu tespit edilmiştir. Pyraclostrobin, boscalid, kresoxim-methyl, pyridaben ve deltamethrin etken maddelerinde sırasıyla %98,9, 98,6, 94,1, 73,5, 57,2 oranında degradasyon tespit edilmiştir. Acetamiprid konsantrasyonunda herhangi bir değişim görülmemiştir (Tablo 2).

Çalışmada en yüksek biyodegradasyon oranı pyraclostrobin maddesinde belirlenmiştir. Farklı bakterilerin (*Bacillus* sp. CSA-13, *Paenibacillus alvei* CBMAI2221, *Bacillus* sp. CBMAI2222, *Bacillus safensis* CBMAI2220 ve *Bacillus aryabhatai* CBMAI2223) kullanıldığı başka bir çalışmada da, pyraclostrobin'in %64,2 ile %95,4 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Birolli ve ark., 2020). Bu sonuçlar pyraclostrobin'in bozunması üzerinde bazı bakterilerin etkili olabileceğini göstermektedir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan etken maddeler ve özellikleri
Table 1. Active ingredient used in the study and their properties

Etken Madde	Ticari Adı	Bitkide Etki Şekli	Grubu
Pyroclastrobin	Bellis 38 WG	Sistemik	Fungusit
Boscalid	Collis SC	Sistemik	Fungusit
Kresoxim-methyl	Collis SC	Sistemik	Fungusit
Pyridaben	Puzzle 20 WP	Sistemik olmayan	Akarisit
Deltamethrin	Deltarin	Sistemik olmayan	İnsektisit
Acetamiprid	Mospilan 20 SP	Sistemik	İnsektisit

Tablo 2. Pestisitlerin degradasyon oranları

Table 2. Degradation rates of pesticides

Pestisit	Kontrol (µg/kg)	Bakteri İlaveli (µg/kg)	% Degradasyon
Pyraclostrobin	161,3	1,6	98,9
Boscalid	118,7	1,5	98,6
Kresoxim-methyl	63,1	3,8	94,1
Pyridaben	80,8	21,1	73,5
Deltamethrin	5,7	2,7	57,2
Acetamiprid	324,5	325,4	-

Boscalid etken maddesi özellikle domates, hıyar ve patates gibi çok tüketilen ürünlerde yoğun olarak kullanılmakta olup toprakta ve suda uzun süreler boyunca kararlılığını koruyabilen bir fungusittir. Biyolojik bozunmasının doğal ortamlarda uzun sürmesi ve kalıcılığı doğal habitatlar için ciddi tehlikeler oluşturmaktadır (IUPAC, 2022). Bu nedenle toprak yüzeyinde ve yer altı sularında pestisit miktarının azaltılması amacıyla yeni stratejiler geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada *E. cloacae*'nin boscalid'i %98,6 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Bhatt ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada topraktan elde edilen *Lysinibacillus boronitolerans*, *Peribacillus muralis* ve *Bacillus simplex*'in boscalid'i %85-95 oranında parçaladığı bildirilmiştir.

Kresoxim-methyl, kabakgiller, turunçgiller, bazı tahıllar, bağ, domates, biber, patlıcan elma, şeftali ve fındıkta kullanılan koruyucu özelliğe sahip sistemik bir fungusittir. Önceki çalışmalarda kresoxim-methyl'in azaltılmasında farklı yöntemlerin kullanıldığı, bakterilerle biyodegradasyonuna yönelik ise sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Bu çalışmada *E. cloacae*'nin kresoxim-methyl'i %94,1 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Feng ve ark. (2020), *Ochrobactrum anthropi* SH14'nin kresoxim-methyl'i %9,4 oranında parçaladığını ifade etmişlerdir.

Biber, domates, hıyar, elma ve turunçgillerde akarlar ve beyaz sineğe karşı ruhsatlı olan pyridaben etken maddesinin *E. cloacae* tarafından biyodegradasyona (%73) uğradığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde pyridaben'in degradasyonuna yönelik TiO₂-fotokatalitik (Zhu ve ark., 2004; Zhu ve ark., 2005) ve ultraviyole ışık yöntemleri (Ji ve ark., 2020) kullanıldığı görülmüş, ancak biyodegradasyonla ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Diğer degradasyon yöntemlerine alternatif olarak *E. cloacae* tarafından pyridabenin biyodegradasyonuna yönelik elde ettiğimiz sonuçların oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

E. cloacae tarafından tarımsal üretimde zararlılara karşı geniş kullanım alanına sahip deltamethrin etken maddesinin biyodegradasyonu ise diğer etken maddelere kıyasla daha düşük oranda (%57,2) olmuştur. Farklı bakteri türleri ile yapılan çalışmalarda *Bacillus cereus* Y1'in toprakta ve sıvı besiyerinde deltamethrin'in bozunmasında etkili olabileceği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2016). Benzer şekilde Wu ve ark. (2021), *Stenotrophomonas maltophilia* XQ08'in Luria-Bertani ve Mineral Salt besi yerinde, deltamethrin'in yüksek oranda bozunmasını sağladıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmada kullanılan *E. cloacae*'nin acetamiprid'in biyodegradasyonunda ise etkili olmadığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızın aksine, *Sphingobium*, *Acinetobacter*, *Afiplia*, *Stenotrophomonas*, *Microbacterium* cinslerine ait

farklı bakteri türlerinin acetamiprid karıştırılmış toprakta bozunmayı sağladığı belirlenmiştir (Xu ve ark., 2020). Toprakta elde edilen *Ochrobactrum* sp. D-12 (Wang ve ark., 2013a), *Pigmentiphaga* sp. AAP-1 (Wang ve ark., 2013b), *Lysinibacillus macrolides* MSR-H10 (Gomaa ve ark., 2020), yüzey sularından elde edilen *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 (Sun ve ark., 2017) acetamiprid bozunmasında başarılı olduğu bildirilmiştir. Yapılan biyodegradasyon çalışmalarında, bakterilerin toksik kimyasalları çevre dostu yöntemlerle daha basit ve genellikle daha az toksik yapılara ayrıştırdığı ifade edilmektedir (Ortiz-Hernández ve ark., 2013).

Endofit bakteriler, konukçusu oldukları bitkide semptom göstermeden bitki dokularında (kök, gövde, yaprak ve meyveler) hücre içi ve hücre aralarında kolonize olabilmektedirler (Schulz ve Boyle, 2006). Bir takım türleri bitki gelişimini destekleyerek bitkisel verimliliği artırmaktadırlar. Ayrıca bu türlerin organik kirleticilerin ve pestisitlerin bitkide neden oldukları fitotoksisiteyi azaltıcı davranışlar gösterdiği bilinmektedir (Wenfeng ve ark., 2020). Hem bitkisel üretimi teşvik edici hem de degradasyon yeteneğine sahip olmaları oldukça önemlidir. Çalışmamızda kullanılan *Enterobacter cloacae*'nin pestisitlerle bulaşık ortamlarda canlılığını koruyabildiği bunun yanında pestisit kalıntılarının azaltılmasında etkili olduğu belirlenmiştir. Zhao ve ark. (2014) tarafından Çin'in Gansu eyaletinde topraktan izole edilen *Enterobacter ludwigii* şuşunun organofosforlu pestisitlere karşı biyodegradasyon etkinliği *in vitro* koşullarda toprak testi ile araştırılmıştır. Çalışmada, 32 gün sonunda methyl parathionun %93, 54 gün sonunda ise chlorpyrifosun %71 oranında bozunum gösterdiği bildirilmiştir.

Sonuç

Bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin, endofit/epifitik türlerin, tarımsal ürünlerde pestisit kalıntılarının azaltılması ve gıda güvenliğinin iyileştirilmesi amacıyla sürdürülebilir olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir. Bu çalışmada *Enterobacter cloacae* bakterisinin *in vitro* ortamda kullanılan etken maddelerin çoğunu büyük oranda azalttığı/parçaladığı ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçlar, tarımsal üretimde kullanılan pestisit kalıntılarının azaltılması için ümitvar sonuçlar içermektedir. İlerideki çalışmalarda *Enterobacter cloacae*'nin arazi şartlarında uygulanarak etkinliğinin araştırılması, çalışmanın ana hedefine ulaşması için oldukça önemlidir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen sonuçların, pestisitlerin atık su, yeraltı suyu, toprak ve bitkide biyodegradasyonu ile ilgili yapılacak olan diğer çalışmalar için faydalı bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Çalışmada kullanılan bitki gelişimini teşvik edici rizobakteri *Enterobacter cloacae*'nin temini için Dr. Zeliha Kayaaslan (Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- ADAS. 2008. Evaluation of the impact on UK agriculture of the proposal for a regulation of the European Parliament and of the council concerning the placing of plant protection products on the market. Agricultural Development and Advisory Services.
- Alewu Alewu B, Nosiri C. 2011. Pesticides and human health. In: Stoytcheva M, editor. Pesticides in the Modern World – Effects of Pesticides Exposure. InTech. p. 231–50.
- Bajwa U, Sandhu KS, 2014. Gıdalardaki pestisit kalıntıları üzerinde işleme ve işlemenin etkisi-bir inceleme. Gıda bilimi ve teknoloji dergisi, 51 (2), 201-220. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0499-5>
- Baldi I, Gruber A, Rondeau V, Lebailly P, Brochard P, Fabrigoule C. 2010. Neurobehavioral effects of long-term exposure to pesticides: results from the 4-year follow-up of the PHYTONER study. *Occup. Environ. Med.* 68 (2): 108–115 <https://doi.org/10.1136/oem.2009.047811>
- Balkan T, Yılmaz Ö. 2022a. Efficacy of some washing solutions for removal of pesticide residues in lettuce. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11 (143), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00324-x>
- Balkan T, Yılmaz Ö. 2022b. Method validation, residue and risk assessment of 260 pesticides in some leafy vegetables using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 384, 132516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132516>
- Bazrafshan E, Mohammadi L, Balarak D, Keikhaei S, Mahvi AH. 2016. Optimization of diazinon removal from aqueous environments by electrocoagulation process using response surface methodology. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 26(138), 118-130.
- Belgüzar S, Şin B, Kadioğlu K, Yılmaz M. 2019. Bazı Herbisitlerin Toprak Bakterileri Üzerine Etkisi. 3rd International UNIDOKAP Black Sea Symposium “Sustainable Agriculture and Environment”. 21-23 June 2019, Tokat, 137.
- Bhatt D, Srivastava A, Srivastava PC, Sharma A. 2022. Evaluation of three novel soil bacterial strains for efficient biodegradation of persistent boscalid fungicide: Kinetics and identification of microbial biodegradation intermediates. *Environmental Pollution*, 316:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120484>
- Birrolli WG, Ferreira de Silva B, Rodrigues-Filho E. 2020. Biodegradation of the fungicide Pyraclostrobin by bacteria from orange cultivation plots. *Science of the Total Environment*, 746: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140968>
- Boulaïd M, Aguilera A, Camacho F, Garcia-Fentes L, Valverde A. 2012. Effect of household processing and unit to unit variability of azoxystrobin, acrinathrin and kresoxim-methyl residues in zucchini. *Food Control*, 25: 594-600. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.038>
- Cengiz MF, Certel M. 2014. Effects of chlorine, hydrogen peroxide, and ozone on the reduction of mancozeb residues on tomatoes. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38(3), 371-376. <https://doi.org/10.3906/tar-1307-14>
- Cheng G, Lin J, Lu J, Zhao X, Cai Z, Fu J. 2015. Advanced treatment of pesticide-containing wastewater using Fenton reagent enhanced by microwave electrodeless ultraviolet. *BioMed research international*. <https://doi.org/10.1155/2015/205903>
- Clarke J, Wynn S, Twining S, Berry P, Cook S, Ellis S, Gladders P. 2009. Pesticide availability for cereals and oilseeds following revision of Directive 91/414/ECC; effects of losses and new research priorities. *HGCA Research Review*, (70).
- FAO. 2020. Pesticides Use. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>
- Feng Y, Zhang W, Pang S, Lin Z, Zhang Y, Huang Y, Bhatt P, Chen S. 2020. Kinetics and New Mechanism of Azoxystrobin Biodegradation by an *Ochrobactrum anthropi* Strain SH14. *Microorganisms*, 8, 625. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050625>
- Gomaa IM, Saad MM, Mahmoud HA, Abo-Koura, HA. 2020. Biodegradation of Acetamiprid by both free and immobilized *Lysinobacillus macrolides* strain MSR-H10 in soil. *International Journal of Scientific Research and Sustainable Development*, 3, 3: 1-18.
- Göktürk FA. 2007. Pestisit endüstrisi atıklarının fenton prosesi ile arıtımı, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 1-80.
- Güler Ç, Çobanoğlu Z. 1997. Pestisitler. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52; 1997. 1. Baskı Ankara.
- Hillocks RJ. 2012. Farming with fewer pesticides: EU pesticide review and resulting challenges for UK agriculture. *Crop Protection*, 31(1), 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.08.008>
- IUPAC. 2022. Pesticide Properties DataBase. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/86.htm>
- İstanbullu Y, Yılmaz M, Ayanoglu E, Demir S, Çetin V, Tosunoğlu H. 2022. Mihaliç peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı gruplarda yer alan bazı pestisitlerin yıkımı üzerine etkilerinin incelenmesi. *Gıda ve Yem Bilim-Teknoloji Dergisi / Journal of Food and Feed Science-Technology* 27: 68-77 (1).
- Javedankherad I, Esmaili-Sari A, Bahramifar N. 2013. Levels and distribution of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in water and sediment from the international Anzali Wetland, north of Iran. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 90 (3), 285-290. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0922-2>
- Ji R, Ma S, Bian H, Wang X, Yu C, Zhang Y. 2020. Determination and Modeling on Ultraviolet Light Degradation of Pyridaben Based on Fluorescence Spectrum. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 23 (2), 141-147. <https://doi.org/10.2174/1386207323666200127121949>
- Karagoz K, Dadasoglu F, Kotan R. 2016. Effect of Some Plant Growth Promoting and Bioagent Bacteria on Degradation of Organochlorine Pesticides. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25 (5): 1348-1353.
- Kayaaslan Z. 2021. Tokat ili biber üretim alanlarında bakteriyel leke hastalığı etmeni (*Xanthomonas euvesicatoria*)'nin tanınması, epidemiyolojisi ve biyolojik mücadelesi. Doktora Tezi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Ens., Bitki Koruma ABD, 126 s.
- Li R, Wang J, Li S. 2021. Biodegradation of omethoate by *Bacillus* sp. YB-10: optimization of culture conditions and degradation characteristics. *Environmental Engineering Research*, 26(4). <https://doi.org/10.4491/eer.2020.235>
- Meenakshi Sharon P, Bhawana M, Anita S, Gothecha VK. 2012. A short review on how pesticides affect human health. *Int. J. Ayurvedic Herbal Medic.* 5, 935–946 <https://doi.org/10.31142/ijahm/v9i3.08>
- Ortiz-Hernández ML, Sánchez-Salinas E, Dantán-González E, Castrejón-Godínez ML. 2013. Pesticide biodegradation: mechanisms, genetics and strategies to enhance the process. *Biodegradation-Life of Science*, 251-287. <https://doi.org/10.5772/56098>

- Özdem A, Karahan, A. 2018. Dünyada ve Türkiye’de kimyasal mücadele. Teoriden Pratiğe Kimyasal Mücadele (pp.336). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. 1. Baskı Ankara. ISBN: 978-605-2207-13-0
- Pirsaheb M, Limoe M, Namdari F, Khamutian R. 2015. Organochlorine pesticides residue in breast milk: a systematic review. Med J Islam Repub Iran, 29:228.
- Polat, B. 2021. Reduction of some insecticide residues from grapes with washing treatments .Turkish Journal of Entomology , 45 (1) , 125-137 . <https://doi.org/10.16970/entoted.843754>
- Raherison C, Baldi I, Pouquet M, Berteaud E, Moesch C, Bouvier G, Canal-Raffin M. 2019. Pesticides exposure by air in vineyard rural area and respiratory health in children: a pilot study. Environmental research, 169, 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.002>
- Schulz B, Boyle C. 2006. What are endophytes?. In Microbial root endophytes (pp. 1-13). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_1
- Shayeghi M, Dehghani MH, Alimohammadi M, Goodini K. 2012. Using ultraviolet irradiation for removal of malathion pesticide in water. Journal of Arthropod-Borne Diseases, 6(1), 45.
- Silva V, Mol H G, Zomer P, Tienstra M, Ritsema CJ, Geissen V. 2019. Pesticide residues in European agricultural soils–A hidden reality unfolded. Science of the Total Environment, 653, 1532-1545. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.441>
- Storck V, Karpouzias DG, Martin-Laurent F. 2017. Towards a better pesticide policy for the European Union. Science of the Total Environment, 575, 1027-1033. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.167>
- Sun SL, Yang WL, Guo JJ, Zhou YN, Rui X, Chen C, Ge F, Dai YJ. 2017. Biodegradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid in surface water by the bacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 and its enzymatic mechanism. Royal Society of Chemistry, 7, 25387-25397. <https://doi.org/10.1039/C7RA01501A>
- Tatlı Ö. 2006. Ege Bölgesine Özgü Bazı Yaş Meyve, Sebze ve Kurutulmuş Gıda Ürünlerinde Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Tespiti. Yüksek Lisans Tezi.
- Thangavadeivel K, Megharaj M, Smart RSC, Lesniewski PJ, Naidu R. 2009. Application of high frequency ultrasound in the destruction of DDT in contaminated sand and water. Journal of Hazardous Materials, 168(2-3), 1380-1386. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.024>
- TUİK. 2021. Tarımsal ilaç kullanımı. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>
- Varghese EM, Sivadas S, Suresh C. 2021. Biodegradation of chlorpyrifos by an optimized *Bacillus* consortium isolated from pesticide-contaminated soils of Kerala, India. International Journal of Pest Management, 1-9. <https://doi.org/10.1080/09670874.2021.1973690>
- Wang G, Chen X, Yue W, Zhang H, Li F, Xiong M. 2013a. Microbial Degradation of Acetamiprid by *Ochrobactrum* sp. D-12 Isolated from Contaminated Soil. Plos One, 8, 12: 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082603>
- Wang G, Yue W, Liu Y, Li F, Xiang M, Zhang H. 2013b. Biodegradation of the neonicotinoid insecticide Acetamiprid by bacterium *Pigmentiphaga* sp. strain AAP-1 isolated from soil. Bioresource Technology, 138: 359-368. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.193>
- Wenfeng W, Qun W, Yixin L, Jing G, Fayun F, Xiangyang Y. 2020. Application of an Endophyte *Enterobacter* sp. TMX13 to Reduce Thiamethoxam Residues and Stress in Chinese Cabbage (*Brassica chinensis* L). Journal of Agricultural and Food Chemistry 68 (34), 9180-9187. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03523>
- Wickerham EL, Lozoff B, Shao J, Kaciroti N, Xia Y, Meeker JD. 2012. Reduced birth weight in relation to pesticide mixtures detected in cord blood of full-term infants. Environment international, 47, 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.06.007>
- Wu X, Zhang C, An H, Li M, Pan X, Dong F, Zeng Y. 2021. Biological removal of deltamethrin in contaminated water, soils and vegetables by *Stenotrophomonas maltophilia* XQ08. Chemosphere, 279: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130622>
- Xu B, Xue R, Zhou J, Wen X, Shi Z, Chen M, Xin F, Zhang W, Dong W, Jiang M. 2020. Characterization of Acetamiprid Biodegradation by the Microbial Consortium ACE-3 Enriched from Contaminated Soil. Frontiers in Microbiology, 11, 1429:1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.0142>
- Zhang H, Zhang Y, Hou Z, Wang X, Wang J, Lu Z, Zhao X, Sun F, Pan H. 2016. Biodegradation potential of deltamethrin by the *Bacillus cereus* strain Y1 in both culture and contaminated soil. International Biodeterioration Biodegradation 106, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.10.005>
- Zhao Y, Zhao P, Wang Y, Qi WJ. 2014. Isolation, Identification, and Characterization of an Organophosphorous Pesticide Degrading Bacterium, *Enterobacter ludwigii* M2. Advanced Materials Research, 1051, 398-403. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1051.398>
- Zhu X, Li P, Hu J, Feng X, Yuan C. 2004. Mechanistic study of TiO₂ photocatalytic degradation of pyridaben. Acta Scientiae Circumstantiae, 24(5):802-808
- Zhu X, Yuan C, Bao Y, Yang J, Wu Y. 2005. Photocatalytic degradation of pesticide pyridaben on TiO₂ particles. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 229 (2005) 95-105. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2004.11.010>