

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İMİDAKLOPRİDİN GİDERİMİNDE *Rhodotorula mucilaginosa*
KULLANIMI

Somayeh DOOSTI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2015

Her hakkı saklıdır

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

01/11/2015

Somayeh DOOSTI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İMİDAKLOPRİDİN GİDERİMİNDE *Rhodotorula mucilaginosa* KULLANIMI

Somayeh DOOSTI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Ankara il sınırlarındaki çeşitli bölgelerden alınan toprak ve su örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve *Rhodotorula mucilaginosa* kullanılarak insektisit imidakloprid (IMI) gideriminin araştırıldığı tez çalışmasında, besiyeri pH'ının ve artan IMI konsantrasyonlarının insektisit giderimine etkileri belirlenmiştir.

İzolasyon çalışmaları sonucunda insektisit içeren besiyerlerinde gelişebilen 33 izolat içinden diğerlerinden daha iyi gelişen iki tanesi seçilmiştir. Denemelerde kullanılan iki izolata da denenen tüm IMI (40, 60, 80, 120 ve 160 ppm) konsantrasyonlarında gelişebildiği ancak IMI giderimi yapmadıkları görülmüştür.

Melashlı besiyerinde geliştirilen *R. mucilaginosa* kullanılarak yapılan IMI giderim çalışmalarında, besiyeri pH'ının ve artan IMI (16, 22, 40 ve 53 ppm) konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır. Üç farklı pH' da (pH 4, 5 ve 6) yapılan denemeler sonunda pH 4'de en yüksek IMI gideriminin olduğu saptanmıştır. Tez çalışması sonunda *R. mucilaginosa* en yüksek IMI giderimini 16 ppm IMI konsantrasyonunda % 57 olarak, en düşük giderimi ise 53 ppm IMI konsantrasyonunda % 24 olarak gerçekleştirmiştir.

Kasım 2015, 48 sayfa

Anahtar Kelimeler: Neonikotinoid, İmidakloprid, Giderim, Mikroorganizma,
Rhodotorula

ABSTRACT

Master Thesis

REMOVAL OF THE IMIDACLOPRID INSECTICIDE by *Rhodotorula mucilaginosa*

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

In this research, the insecticide Imidacloprid (IMI) removal capacities of *Rhodotorula mucilaginosa* and the microorganisms that isolated from different soil and water samples from Ankara province were determined. For this purpose, the effects of pH of the growth medium and increasing concentrations of IMI were investigated.

Among the isolated 33 strains that could grow in the media containing IMI, 2 of them which had higher growth were selected for further experiments. It was obtained that these two isolated microorganisms were able to grow up at all tested IMI concentrations (40, 60, 80, 120 and 160 ppm), however they could not show removal capacity.

The effects of pH values of growth medium (4, 5, 6) and increasing initial IMI concentrations (16, 22, 40 and 53 ppm) on bioremoval of IMI by *R. Mucilaginosa* were studied in molasses medium. The highest removal yield was obtained as 57% at pH 4 in the presence of 16 ppm IMI; while the lowest removal was obtained as 24% in the media containing 53 ppm IMI.

November 2015, 48 pages

Key Words: Neonicotinoid, Imidacloprid, Biodegradation, Microorganism, *Rhodotorula*

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında yakın desteğini gördüğüm; çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) tezimin deney aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen tüm laboratuvar arkadaşlarıma, her koşulda yanımda olduğunu hissettiren eşime ve aileme tezimin hazırlandığı süreçte gösterdikleri sabır, ilgi ve hoşgörülerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Somayeh DOOSTI
Ankara, Kasım 2015

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Pestisitler ve Genel Özellikleri.....	3
2.2 Pestisitlerin Canlılar Üzerindeki Olumsuz Etkileri	4
2.3 Pestisit Arıtım Yöntemleri.....	5
2.3.1 Parçalanma.....	6
2.3.2 Adaptasyon	7
2.3.3 Kometabolizma.....	7
2.3.4 Giderim Sürecinde Kimyasal Yapının Önemi	7
2.4 İnektisitler.....	9
2.4.1 Neonikotinoid İnektisitler.....	10
2.4.2 İmidakloprid.....	11
2.4.3 İmidaklopridin farklı ortamlarda bulunuşu	11
2.4.3.1 Havada.....	12
2.4.3.2 Toprakta	12
2.4.3.3 Suda.....	14
2.5 <i>Rhodotorula</i>	16
2.6 Neonikotinoid İnektisit Giderim Çalışmaları.....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1 İnektisit.....	22
3.2 Mikroorganizma.....	22
3.3 Örnek Alma	22

3.4 Zenginleştirme	22
3.4.1 Toprak Ekstraktın hazırlanışı	23
3.5 İzolasyon	23
3.6 Seçim.....	24
3.7 IMI giderimi	24
3.8 IMI Konsantrasyonunun Etkisi	24
3.9 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ile Giderim Çalışması	24
3.9.1 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> gelişimine pH etkisi	25
3.9.2 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> gelişimine IMI konsantrasyonunun etkisi.....	25
3.10 Analitik Yöntemler	25
3.10.1 Optik yoğunluğun belirlenmesi	25
3.10.2 Pestisit miktarının belirlenmesi	25
3.11 IMI Gideriminin Hesaplanması.....	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1 İzolatlarla Giderim Çalışmaları.....	27
4.1.1 İzolat Seçimi.....	27
4.1.2 Artan IMI konsantrasyon etkisi.....	30
4.2 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ile Giderim Çalışmaları.....	33
4.2.1 pH etkisi	33
4.2.2 IMI konsantrasyon etkisi	34
5.TARTIŞMA ve SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	48

SİMGELER DİZİNİ

C_0	Başlangıç İmidakloprid konsantrasyonu (ppm)
IMI	İmidakloprid
$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	2 molekül kristal sulu kalsiyum klorür
$Co(NO_3)_2 \cdot 6 H_2O$	6 molekül kristal sulu kobalt nitrat
$CuSO_4 \cdot 5 H_2O$	5 molekül kristal sulu bakır sülfat
H_3BO_4	Borik asit
K_2HPO_4	Dipotasyum hidrojen fosfat
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	7 molekül kristal sulu magnezyum sülfat
$MnCl_2 \cdot 4 H_2O$	4 molekül kristal sulu mangan klorür
$NaNO_3$	Sodyum nitrat
Na_2CO_3	Sodyum karbonat
Na_2EDTA	Disodyum etilendiamin tetraasetat
$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	2 molekül kristal sulu sodyum molibdat
$ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$	7 molekül kristal sulu çinko sülfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Neonikotinoid insektisitler.....	10
Şekil 2.2 İmidaklopridin toprakta giderimi.....	12
Şekil 2.3 İmidaklopridin suda giderimi.....	15
Şekil 2.4 İmidaklopridin gideriminde önerilen metabolik yol.....	16
Şekil 2.5 Microbotryomycetes sınıfı Sporidiobolales ordosuna ait <i>R.mucilaginosa</i> türünün yer aldığı <i>Rhodotorula</i> cinsine ait türlerin filogenetik haritası.....	17
Şekil 2.6 <i>Rhodotorula</i> cinsinin koloni yapıları ve mikroskopik görüntüsü.....	18
Şekil 4.1 Melaslı besiyerinde seçilen izolatların gelişimi	30
Şekil 4.2 İnsektisit konsantrasyonunun 3C izolatının gelişimine etkisi	32
Şekil 4.3 İnsektisit konsantrasyonunun A ₃ izolatının gelişimine etkisi	32
Şekil 4.4 pH'nın IMI giderimine etkisi	33
Şekil 4.5 IMI konsantrasyonunun <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> gelişimine etkisi.....	34
Şekil 4.6 16 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi	36
Şekil 4.7 22 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi	36
Şekil 4.8 40 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi	37
Şekil 4.9 53 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi	38
Şekil 4.10 Artan IMI konsantrasyonunun <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> gelişimine ve insektisit giderimine etkisi	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 İnsektisitlerin sınıflandırılması.....	9
Çizelge 2.2 <i>R. mucilaginosa</i> türünün anahtar özellikleri	18
Çizelge 4.1 Ankara Çayımdan elde edilen izolatların Melaslı Besiyeri ve MSM ortamlarındaki gelişimi	28
Çizelge 4.2 Çubuk 1 Barajı ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma tarlalarından elde edilen izolatların Melaslı Besiyeri ve MSM ortamlarındaki gelişimi.....	29

1. GİRİŞ

Günümüzde doğal kaynakların aşırı derecede kullanılması, ksenobiyotik bileşiklerin büyük hacimde sentezi hava, su ve karasal ekosistemlerin kontaminasyonu gibi sorunlara yol açıp, biyojeokimyasal döngüleri etkilemektedir. Bu etkenlerin bir parçası olan pestisitlerin günümüzde 500'den fazla türü özellikle ziraatte kullanılmaktadır (Azevedo 1998).

Modern ziraatin yoğunlaşması; hava ve su kirlenmesi, sera gazının yayılması, amonyağın kaynağı ve asit yağmurunun en önemli nedeni olarak belirlenmiştir. Modern ziraatın bu yönlerinin çevreye çok kötü etkisi olmasına rağmen pestisit kullanımı hala devam etmektedir.

Bir tür pestisit olan insektisitlerin kullanımıyla insan sağlığı ve tarımsal ekosistemler korunmaktadır. İnsektisitlerin sürekli olarak kullanıldığı arazilerde, insektisitler doğaya karışıp içerdikleri kimyasal maddeler ve zararlı metabolitler nedeniyle insan sağlığına, tarımsal ekosistemlere ve birinci hedef olmayan ancak etkilerine maruz kalan canlılara zarar vermekte hatta insektisitlere karşı direnç gelişimi gibi sonuçlara neden olmaktadır (Devine vd. 2007, Arias-Estervez vd. 2007).

Son yıllarda çevresel kirlenme sorunu için çok farklı çözümler sunulmaktadır. Bu çözümlerden biri olan biyolojik giderim çevresel biyoteknolojide önemli rol taşımaktadır. Bu yöntemle insektisitler gibi zararlı organik bileşikler; bakteri, mantar ve bitki gibi organik canlılar aracılığıyla parçalanırlar. Böylece biyolojik giderim metodu inatçı, kalıcı ve ksenobiyotik kirlilikleri çevreden arındırmak için verimli stratejiler sağlamaktadır (Rittmann vd. 2006, Young vd. 1991).

Bu nedenle günümüzde biyolojik giderim için uygun olan mikroorganizmalar izole edilmektedir. Bu mikroorganizmalar hassas şartlarda bile insektisitler gibi kalıcı toksik bileşikleri yan ürünü az olacak şekilde, çeşitli katabolik yollarla parçalayabilirler (Wang vd. 2009).

Tez çalışmasında kullanılan neonikotinoid grubunda yer alan, oldukça güçlü bir insektisit olan imidaklopridin (IMI) degradasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC 1.1788, *Leifsonia strain* PC-21, *Pseudomonas* sp.1G, *Rhodotorula mucilaginosa* IM-2, *Burkholderia cepacia* (strain CH9), *Klebsiella pneumonia strain* BHC1, *Bacillus* sp., *Brevibacterium* sp., *Pseudomonas putida* F1, *Bacillus subtilis* ve *Rhizobium* sp., mikrobiyel türlerinin IMI kullanımları gösterilmiştir (Dai vd. 2006, Anhalt vd. 2007, Pandey vd. 2009, Dai vd. 2010, Madhuban vd. 2011, Phugare vd. 2013, Sabourmoghaddam vd. 2014).

IMI içeren atıksuların biyolojik arıtımını etkin şekilde yapacak mikroorganizmaların belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen tez çalışmasında, insektisitle kirlendiği düşünülen toprak ve su örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ile birlikte *R. mucilaginosa* mayası kullanılarak IMI giderimi araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Pestisitler ve Genel Özellikleri

Pestisitler, özellikle tarımsal ve halk genel sağlığına karşı olan zararlı canlıları kontrol altına almak, zirai ürünlerin gelişmesini sağlayıp gıdayı artırmak için üretilmekte olan kimyasal bileşiklerdir (Arias-Estervez vd. 2007). Pestisitler; uygulandıkları canlıya, tesir şekline veya sürecine göre ayrıca kimyasal içeriklerine göre sınıflandırılmaktalar (Arias-Estervez vd. 2007).

Hedef Canlıya Göre

Bakterileri etkileyen bakterisitler, yaprak dökücü olan defoliantlar, kurutucu olan desikantlar, mantar öldürücü olan fungisitler, istenmeyen bitki örtüsünü kaldıran herbisitler, böcek öldürücü olan insektisitler, kenelere karşı olan mitisitler, sümüklü böcekler ve salyangozları etkileyen molluscicideler, bağırsak kurtlarına öldürücü etkisi olan nematositler, bitki büyüme düzenleyicileri, kemirgenleri etkileyen rodentisitler, ağaçlık ve ahşabı tahrip eden ahşap koruyucular.

Tesir Şekline Göre

Fiziksel temas, eradikasyon, dezenfektan gaz, zehirli madde, ekinden önce veya sonra uygulananlar ve sistemik olarak sınıflandırılmaktadır.

Kimyasal İçeriklerine Göre

Organik veya organik olmayanlar şeklinde ayrılmaktadır (Arias-Estervez vd. 2007). Günümüzde 500 farklı formulasyona sahip pestisit, özellikle ziraatte ve hatta insan sağlığını tehdit eden genel biyolojik tehlikelere karşı kullanılmaktadır (Azevedo 1998).

Geçtiğimiz 50 yıldan beri pestisit kullanımı dünya'daki gıda miktarı ve kalitesini geliştirdiğinden dolayı artmaktadır. Pestisit kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte kalıcı yan etkileri, insan gibi doğrudan hedef olmayan canlılara karşı artış göstermektedir.

Pestisitlerin uygulandıkları yerde kalıntıları bulunmaktadır. Pestisit kalıntılarının çok az bir miktarı bile canlı organizmalarda birikebilmektedir. Pestisitlerde bulunan kimyasal maddeler tarımsal veya tarım dışı faaliyetlerde kullanımından dolayı serbest kalıp çevre döngüsüne girmektedir. Bu da hem insan sağlığı, hem de ekosistem için risk oluşturmaktadır. Çünkü insanlar bu maddelere; hava, içme suyu, gıda ve toz vasıtasıyla maruz kalmaktadır.

Araştırmalar; bu kalıntıların sonucu olarak bazı balık türlerinde ölüm, kuşlarda çiftleşme problemleri ve insanlarda ise çeşitli hastalık sorunlarının ortaya çıktığını göstermektedir.

2.2 Pestisitlerin Canlılar Üzerindeki Olumsuz Etkileri

Ekosistemde yoğun ve bilinçsiz şekilde kullanılan ve çevre kirliliğine neden olan etkenlerden biri olan pestisitler, ekonomik bir şekilde üretilmeleri ve üretim kolaylığı nedeniyle; ürün kaybına neden olan hastalıkların, böceklerin, yabancı otların ve zararlıların olumsuz etkilerini gidererek kalitesini ve verimini güvence altına alan maddelerdir.

Bu tür amaçlar için kullanılan pestisitlerin ancak %0.015-%6'sı hedef alınan canlı üzerine etki oluşturmakta, geriye kalan %94-%99,9'luk kısım ise ekosistemde hedef olmayan organizmalara, toprağa, suya ve hayvanlara ulaşmakta, gıdalarda da kalıntı olarak kimyasal kirliliğe neden olmaktadır. Oysaki bir böceği öldürmek için genelde 0,03 µL'nin yeterli olduğu durumda, başka bir ifadeyle bir bölgede 1 milyon böceğin öldürülmesi için 30 mg etkili madde yeterli olmasına rağmen arazide ancak bu miktarın 3000 katının uygulanmasıyla yeterli etki alınabildiği belirtilmektedir (Yıldız vd. 2005).

Pestisitlerin zararları ile ilgili bütün dikkat, gıda ve çevredeki kalıntılara yönelmiş durumdadır. Pestisitle ilgili kazaların veya olumsuz etkilerinin çoğunun, yanlış kullanımdan veya dikkatsizlikten dolayı ortaya çıktığı söylenebilir Bu maddelerin insanlar dahil hedef olmayan organizmaları da etkiledikleri belirlenmiştir. Epidemiyolojik

araştırmalara göre pestisite maruz kalmak solunum hastalıkları, nörolojik işlev bozukluğu, kanser ve üreme bozukluklarına neden olmaktadır (Stenersen 2004).

Pestisit kalıntılarının insan ve hayvanlarda görülen etkilerini ciddi zehirlenmeler ve kronik etki olmak üzere iki grupta incelemek mümkündür. Akut zehirlenmelerde, pestisit etkisi kısa sürede görülmekte ve bu olaya pestisit teneffüs edilmesi, yanlışlıkla yutulması veya cilde temas etmesi neden olmaktadır. Bu tip zehirlenme vakalarının belirtileri; titreme, diyare, aşırı terleme, mide bulantısı ve göz bebeklerinde küçülme olarak görülmektedir. Kronik etkileri ise; kanserojen, mutajen, teratojen ve allerjen etkilerle uzun vadede ortaya çıkmaktadır.

2.3 Pestisit Arıtım Yöntemleri

Günümüzde insan faaliyetleri sonucu olarak çok sayıda kirletici ve atık çevreye bırakılmıştır. Pestisitler Dünya çapında herbisit, insektisit vb olarak bitkilerdeki hastalıkları kontrol etmenin yanısıra insan ve hayvanların sağlığını da kontrol etmektedir (Damalas 2009, Agrawal vd. 2010). Bununla birlikte sabit bir kimyasal baskı altında bazı haşereler pestisitlere karşı genetik direnç sağlamış, hedef olmayan organizmalar zarar görmüş ve pestisit kalıntıları beklenmedik yerlerde ortaya çıkmıştır (Damalas, 2009). Pestisit kullanımının devam etmesiyle, pestisitlerin topraktaki ve sudaki konsantrasyonu artmış ve bu nedenle pestisitlerin toksisite derecesine bağlı olarak insan sağlığı, farklı yaşam biçimleri ve doğal ekosistem olumsuz etkilere maruz kalmıştır (Agrawal vd. 2010).

Pestisitler doğal ortamda ya sonradan mikroorganizmalar tarafından değişim ve parçalanmaya maruz kalır ya da ortamda birikip toprağın humus parçası haline gelir ve gıda zincirinde biyolojik byltmeye (biyomagnification) neden olurlar.

Pestisitlerin evreye ve sağlık açısından neden olduğu etkileri azaltmak amacıyla geliştirilen stratejiler arasında en uygun olan ve zararlı bileşimleri parçalanmaya zorlayan metod biyodegradasyondur (Singh vd. 2006).

Bu teknik, mikroorganizmaların organik kirleticilerini basit ve çevreye zararsız bileşikler haline getirebilen özelliklerine dayalıdır (Dua vd. 2002, Singh vd. 2006).

2.3.1 Parçalanma

Pestisit parçalanma reaksiyonları çoğunlukla toksin olmayan zararsız formların oluşumuna neden olmaktadır.

Parçalanma reaksiyonları;

- Foto ayrışma
- Kimyasal ayrışma
- Mikrobiyolojik ayrışma

Foto ayrışma

Çoğunlukla güneş ışığına maruz kalması sonucu pestisitlerin parçalanmasıdır. Foto ayrışma bitki yapraklarındaki, toprak yüzeyindeki ve hatta havadaki pestisitleri yok edebilmektedir. Pestisitlerin foto ayrışmasını etkileyen faktörler ise güneş ışınlarının şiddeti, uygulama alanının ve pestisidin özellikleridir.

Kimyasal ayrışma

Kimyasal reaksiyonlarla pestisidin parçalanmasıdır. En çok bilinen kimyasal ayrışma süreci pestisitlerin su ile reaksiyona girdiği hidrolizdir. Alkali ortamlarda birçok organofosforlu ve karbamatlı pestisit türü hidroliz reaksiyonuna girmektedir.

Mikrobiyolojik ayrışma

Pestisitleri besin maddesi olarak kullanan mantar, bakteri ve diğer mikroorganizmalar vasıtası ile meydana gelen parçalanmadır. Bu parçalanmanın birçoğu toprakta olmakta ve nem, sıcaklık, pH, havalandırma ve organik madde miktarı gibi mikrobiyolojik çoğalmayı veya aktiviteyi doğrudan etkileyen toprak şartlarının bozunmayı da etkilediği bildirilmektedir. Belirli bir pestisit türünün aynı arazide devamlı kullanılması, o bölgede bu pestisidi besin kaynağı olarak benimsemiş mikroorganizma grubunun çoğalmasına

ve sonrasındaki uygulamalarında pestisidin hedef canlıya ulaşmadan mikrobiyolojik ayrışmasına neden olacaktır.

2.3.2 Adaptasyon

Bir teoriye göre, doğru şartlar altında her zaman herhangi bir organik bileşiği giderebilen bir ya da birkaç mikroorganizma bulunmaktadır. Ancak tek hücreli bir mikroorganizma, bitkiler ve ksenobiyotiklerin ikinci lipofilik metabolitlerini degrede edebilen enzimlere sahip değildir. Ancak türlerin fazlalığı, üreme hücrelerindeki farklı mutasyonlar, ayrıca mikroorganizmalarda oluşabilen yüksek seçim baskı nedeniyle, sonunda bileşiği degrede edebilen bir organizma oluşabilmekte ve bu yeni biyotipin sayısı başka mikroorganizmalara göre bir üstünlüğe sahip olursa Darvinci seçim şekliyle artacaktır. Böylece giderim hızı da zamanla artacaktır (Stenersen 2004).

2.3.3 Kometabolizma

Bir madde ayrıca kometabolizma yöntemi ile de degrede olabilmektedir. Bu durumda herhangi bir biyotip, bir maddeyi degrede edebilmesi için avantajlı olmaz ancak o madde mikro florada bulunan binlerce enzimin bir kaçı tarafından substrat olarak kullanıldığı için degrede olabilmektedir ancak bu tür giderim daha uzun sürmektedir. Klorlu hidrokarbonların çoğunun topraktaki yarılanma ömürleri yıllarca sürmekte, hatta bazı doğal organik maddelerin giderimi binlerce yılı bulmaktadır.

2.3.4 Giderim Sürecinde Kimyasal Yapının Önemi

Toprağa iyice tutunmuş olan kimyasalların mikrobiyal giderimleri daha düşük olabilmektedir. Bu şekilde polar olan ve suda çözünür maddeler, apolar ve suda çözünür olmayan maddelerden daha hızlı degrede olabilmektedir. Ayrıca (dikloro difenil trikloroethan) DDT, dioksin ve parakuat gibi katyonik maddeler pozitif iyonların toprak parçalarına iyice tutunmaları için trikloroasetik asit, malation ve dalapon gibi anyonik maddelere göre daha yavaş degrede olabilmektedirler.

Alifatik moleküller veya molekülün alifatik bölümleri, aromatik bölümlere göre daha hızlı degrede olabilmektedirler.

Esterler çok kolay hidroliz olabilmektedirler. Malation ve piretroidler gibi. Polar gruptaki ester bağları polar olmayanlara göre daha rahat hidroliz olmaktadır. Ancak mikroorganizmalar, hidrolizi hızlandırabilen karboksil esterazlara sahiptirler.

Çok miktarda kloro sahip olan maddeler gibi yüksek oksidasyon durumu olan bileşimler daha fazla oksidasyona direnç göstermektedir. Bu nedenle bu bileşikler anaerobik şekilde degradasyon olmaktadır. Yani hidrojen, klorinin yerine geçmekte veya HCl kaldırılır ve bir çift bağ sunulur. Örneğin, DDT anaerobik yöntem ile 4,4'-diklorodifenildikloroetan'a (DDD) deklare olabilir veya yavaşça 4,4'-diklorodifenildikloroetilen'e (DDE) dönüşebilmektedir. Mireks ve heksaklorobenzen gibi bileşikler degradasyona iyice direnç gösterirler ve mikroorganizmalar teflon ve (Polivinil klorid) PVC gibi fazlasıyla florlu veya klorlu polimerlere saldırmazlar.

Aromatik bileşiklerin yer değiştirme metodu degradasyon hızını oldukça etkilemektedir. 12 farklı klorobenzenin degradasyonu onların bulunduğu yere bağlıdır. Eğer yakın pozisyonlarda iki hidrojen atomu bulunursa, oksijen bir epoksi köprüsü olarak eklendiğinden dolayı degradasyon daha hızlı olmaktadır. Pentaklorofenol ve bazı korozyon inhibitörleri mikroorganizmalar için fazlası ile zehirli olduklarından degradasyonları kolayca gerçekleşmemektedir (Stenersen 2004).

Bazı çevresel faktörlerin de dikkate alınması gerekir; Yüksek sıcaklıkta olan bir madde daha çözünür olduğundan ve ayrıca toprak parçalarına daha az yapıştığından dolayı mikroorganizmalara daha da kolay sunulur ve dolayısıyla degradasyon hızı da artmaktadır.

Nemin varlığı giderimi etkilemektedir. Anaerobik şartlara ihtiyacı olan maddeler nemli toprakta daha rahat degrede olur çünkü mikrobiyal aktivite ile beraber artan su, oksijeni uzaklaştırmaktadır. Orta nemli bir çevre mikrobiyal aerobik gelişmeyi sağlamaktadır.

Yüksek mikrobiyal aktivitesi olan zengin bir toprağın co-metabolizma nedeniyle degradasyonu daha da yoğundur. Yüksek pH degradasyon için daha uygun olabilmektedir (Stenersen 2004).

2.4 İnsektisitler

İnsektisitler, zararlı böceklerin gelişimini ve üremesini engellemek için kullanılan kimyasal tarım ilaçları olarak bilinir. Çizelge 2.1’de 22 grup altında toplanan insektisitler gösterilmiştir (Devine ve Furlong 2007).

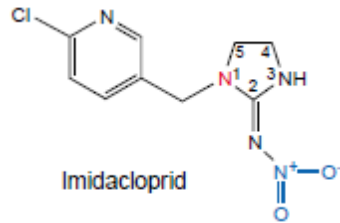
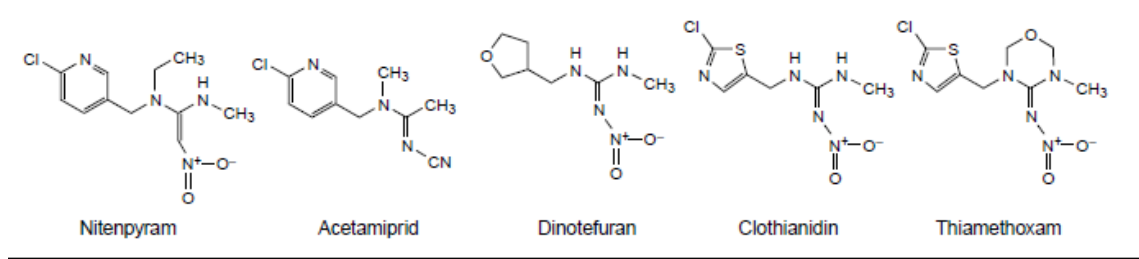
Çizelge 2.1 İnsektisitlerin sınıflandırılması

Carbamates	Aldicarb, Bendiocarb, Carbaryl, Carbofuran Carbosulfan, Methiocarb, Methomyl Pirimicarb, Thiodicarb (1956)
Organophosphates	Acephate, Chlorpyrifos, Diazinon, Dimethoate, Fenitrothion, Fenthion, Malathion (1950)
Cyclodiene organochlorines	Chlordane, Endosulfan, gamma-HCH (1945)
Phenylpyrazoles	Fipronil
Pyrethrins	Pyrethrins (pyrethrum)
Pyrethroids	Allethrin, Bifenthrin, Cyfluthrin, lambda-Cyhl Cyhalothrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Fenvalerate, Permethrin, Resmethrin(1952)
Neonicotinoids	Acetamiprid, Imidacloprid, Nitenpyram, Thia- cloprid, Thiamethoxam (1991)
Nicotine	Nicotine (1930s)
Spinosyns	Spinosad (1996)
Avermectin	Abamectin, Emamectin benzoate (1985)
Juvenile hormone ana- analogues and mimics	Hydroprene, Kinoprene, Methoprene, Fenoxycarb, Pyriproxyfen (1993)
Cryolite	Cryolite
Pymetrozine	Pymetrozine
Bacillus species	Bacillus thuringiensis subsp. israelensis, Bacillus sphaericus, Bacillus thuringiensis subsp. aizawai, Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki, Bacillus thuringiensis subsp. Tenebrionis (1961)
Diafenthiuron	Diafenthiuron (1997)
Chlorfenapyr	Chlorfenapyr (1985)
Benzoylureas	Novaluron, Diflubenzuron, Teflubenzuron (1983)
Buprofezin	Buprofezin (1988)
Diacylhydrazines	Halofenozide, Tebufenozide (1999)
Azadirachtin	Azadirachtin (1985)
Rotenone	Derris, Rotenone (1850s)
Indoxacarb	Indoxacarb (2000)

2.4.1 Neonikotinoid İsektisitler

Neonikotinoidler dünya çapında kullanılan en önemli ticari insektisitlerden biri sayılmaktadır. Neonikotinoidler sistemik ve geniş spektrumlu insektisitlerdir. Bu insektisit grubu yaprak bitleri, yaprak ve bitki piresi, ekin biti, bazı mikro-pulkanatlılar ve bazı kınkanatlılar gibi organizmaları etkilemektedirler.

Neonikotinoid moleküllerin tesir şekli nikotinik asetilkolin reseptörünü (nAChR) aynı yönde etkileyerek organizmalarda felç ve ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Neonikotinoidlerin pestlerde bulunan nikotinik asetilkolin reseptörüne olan meyli imidakloprid (IMI), tiametoksam (THIA), klotianidin (CLO) ve dinotefuran yapısında bulunan nitroimin (dN-NO₂), asetamiprid (AAP) ve tiakloprid' de (THI) bulunan siyanoimin (dN-CN) ve nitenpiram yapısındaki nitrometilen (dC-NO₂) grubundan kaynaklanmaktadır. Neonikotinoidler bu farmakofor gruplarından dolayı normalde böceklerin nikotinik asetilkolin reseptörüne göre omurgalılara karşı daha meyillidir. Bu pestisitlerdeki nitro veya nitril grubu kaybı neonikotinoidlerin etki meylini böceklerden omurgalılara doğru değiştirebilmektedir (Dai vd. 2010).



Şekil 2.1 Neonikotinoid insektisitler (Sheets 2001)

2.4.2 İmidakloprid

(1[(6-kloro-3-piridinil)methyl]-N-nitro-2- imidazolidinimin) formülü ile bilinen imidakloprid; pire, yaprak bitleri, beyaz karınca, çim böcekleri, toprak böcekleri ve bazı kınkanatlılar gibi emici böcekleri kontrol etmek için kullanılan sistemik bir insektisittir. Bu insektisit ayrıca sebze ve pamuk ekinlerinde, tohum ve yaprak tedavisinde, toprak, bina, bina içi ve dışı böcek kontrolünde, ev bahçesinde ve evcil hayvan ürünlerinde de kullanılmaktadır.

İmidaklopridin çevredeki kalıntıları farklı canlılarda, farklı etkiler bırakmaktadır. Yayla kuşları, özellikle Japon bıldırcını, serçe, kanarya ve güvercingiller için zehirlidir. Kuşlarda koordinasyon sağlama eksikliği, tepkisizlik ve uçuş yetersizliğine neden olmaktadır. Kuşların yumurta kabuğunda incelme, kilo vermesi, düşük yumurta üretimi ve düşük kuluçkadan çıkma sayısı bu insektisitin bıraktığı diğer etkilerdendir. Balıklar için az tehlikeli sayılsa da, tatlı su ve nehirlerde bulunan kabuklular için ciddi anlamda toksik sayılmaktadır. İmidaklopride düşük konsantrasyonlarda maruz kalan solucanlar ise üreme ve mutasyon hataları göstermişlerdir.

Bir insektisit olmasına rağmen, imidakloprid bitkiler için de zehirli olabilir. İmidakloprid uygulanan seralar bunun bir örneğidir. İmidakloprid ayrıca siyanobakteriler ve diatomelerin sayısında azalmaya neden olmaktadır (Anonymous 2015).

2.4.3 İmidaklopridin farklı ortamlarda bulunuşu

Haşere ve yabancı otları kontrol etmek için en iyi araç olan imidaklopridle, revaçta olan mahsullerin devamını sağlayarak ekonomik açıdan katkıda bulunurlar.

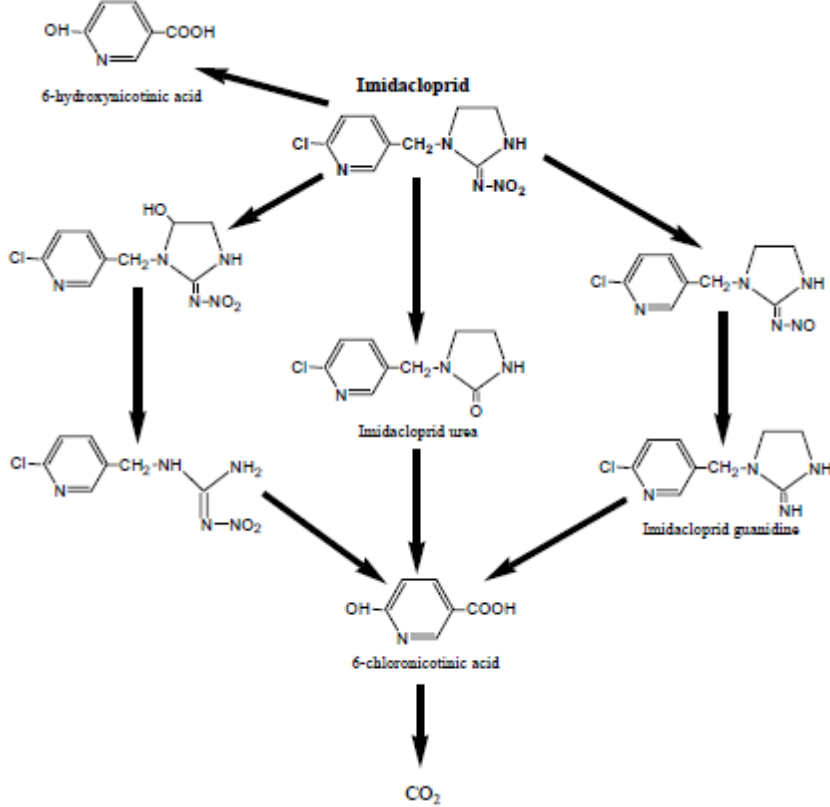
Ancak sürekli kullanımda olan bu insektisitler uygulanan mekândan hava, toprak ve yeraltı su kaynaklarına karışabilir (Arias 2008). Bu nedenle imidaklopridin havadaki, topraktaki ve sudaki mekanizmasını araştırmak önemlidir.

2.4.3.1 Havada

İmidaklopridin düşük buharlaşma basıncından dolayı ($1,0 \times 10^{-7}$ mmHg) çok az miktarda buharlaşabilir. İmidaklopridin havada bulunması, uygulanma esnasında genellikle sprey şeklinde olmasından kaynaklanmaktadır. İmidakloprid fotokimyasal radikallerle çok hızlı fotodegrede ve transforme olup havada kalıcı olmamaktadır (Krohn vd. 2002).

2.4.3.2 Toprakta

Pest Yönetim ve Düzenleme Kurumunda bulunan bilgilere göre imidaklopridin yarılanma ömrü 1-2 yıldır (Anonymous 2001). Ayrıca Sabbagh vd., tarafından sekiz farklı toprakta IMI giderimi üzerinde yapılan bir araştırmaya göre imidaklopridin yarılanma ömrü 83 gün ile bir yıl arasında rapor edilmiştir (Sabbagh vd. 2002) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 İmidaklopridin toprakta giderimi (Bacey 2000).

İmidaklopridin giderme zamanı üzerinde yapılan diğer araştırmalara göre IMI laboratuardaki standart şartlar altında gayet kalıcıdır ancak dış ortam koşullarında değişebilen bir direnç sergilemektedir (Krohn 2002).

Araştırmalara göre IMI için bulunan giderme zamanı ekilmiş toprakta, ekilmemiş toprağa göre daha düşüktür (Schols vd. 1992, Krohn 2002).

Muhtemelen imidaklopridin ekilmiş olan topraktaki düşük giderim zamanı (DT) zamanı bitkisel (Rouchaud vd. 1994) ve mikrobiyal (Capri 2001) metabolizmalardan kaynaklanmaktadır.

Bir öneriye göre yeni organik gübreler kimyasalları, mikrobiyal giderime karşı korumaktadır, oysaki organik gübreler zamanla imidaklopridi metabolize eden topraktaki mikrobiyal aktiviteyi artırmaktadır (Floress-Cespedes vd. 2002). Yapılan araştırmalar imidaklopridin kalıcılığı ve metabolizmasının katı veya sıvı formülünden etkilenmediğini kanıtlamıştır (Sarkar vd. 2001).

zet olarak IMI' nin topraktaki dayanaklılığı; sıcaklık, toprağın organik içeriği ve toprağın ekili olup olmadığı gibi değişik faktörlerden etkilenmektedir. Böylece IMI uygulanmış olan bir topraktaki DT₅₀ süresi 80 günden 2 yıla kadar değişmektedir. Bundan dolayı IMI, Goring ve arkadaşlarının sınıflandırmasına göre toprakta kalıcı olarak belirtilmektedir (Goring vd. 1975).

İmidaklopridin orta-yüksek derecede toprakta emilme meyli bulunmaktadır (Tomlin, 2000; Sabbagh, 2002).İmidakloprid ve metabolitlerin toprakta emilmesi, toprak türü ve özellikle organik karbon miktarı gibi nedenlerden etkilenmektedir (Cox vd. 1998, Capri vd. 2001).İmidaklopridin topraktaki emilimi ayrıca topraktaki znrlk oranından etkilenmektedir (Cox vd. 1998). Toprağın yüksek miktarda su içerdiği sretiyle, yüksek znrlk nedeniyle imidakloprid daha düşük sorpsiyon sergileyecektir.

Ayrıca imidaklopridin başlangıçtaki düşük konsantrasyonu ne kadar fazla olursa ona göre emilme hızı da daha az olacaktır (Cox vd. 1998, Krohn vd. 2002).

İmidaklopridin sudaki yüksek çözülme özelliğine dayanarak, bu maddenin yüksek süzülme potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir (Anonymous 2001).

Eğer toprağın sulandırma şartları suyun buharlaşma hızına uymazsa ve toprak sudan doymuş hale gelirse imidakloprid toprağın nerdeyse 105 cm derinliğine kadar süzebilmektedir (Mulye 199).

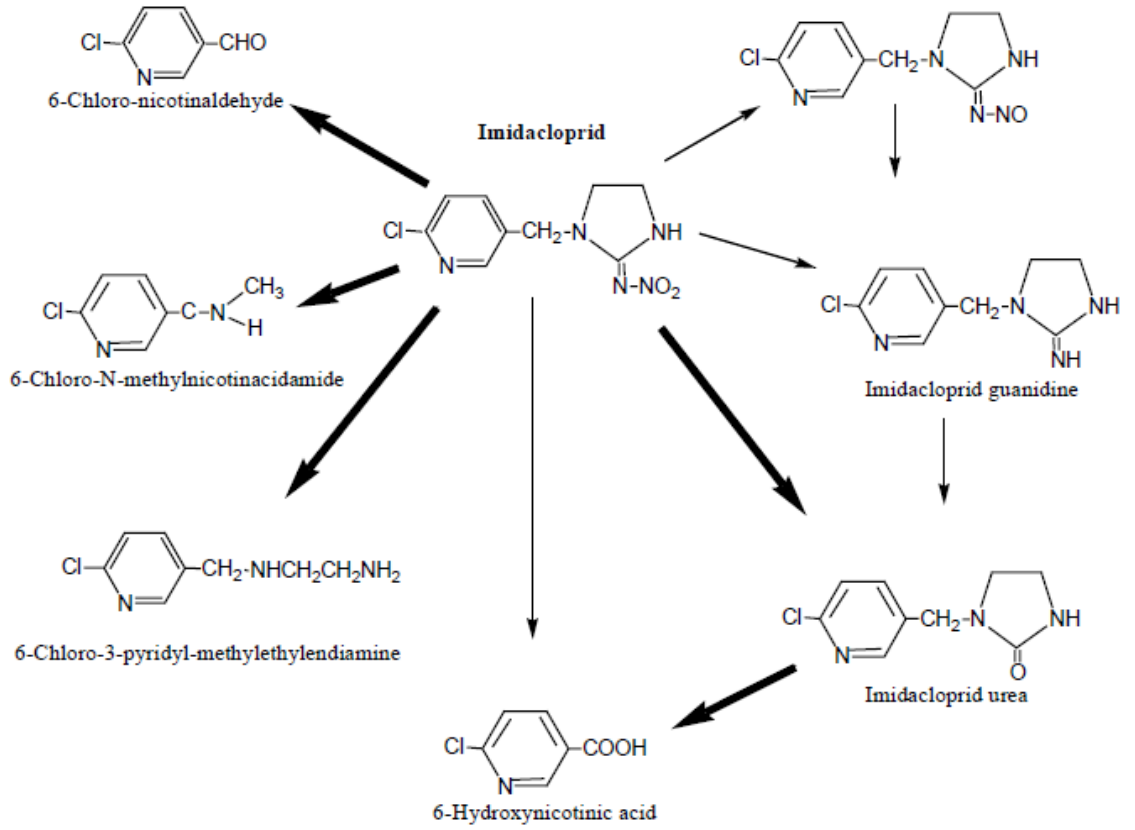
2.4.3.3 Suda

İmidaklopridin sulu ortamdaki dayanıklılığı ışık, pH, mikroorganizma yoğunluğu, çevresel faktörler, ayrıca uygulama hızı ve formülasyon gibi faktörlere bağlıdır. İmidaklopridin bir günlük sudaki yarılanma ömrü (farklı ışık miktarına maruz kaldığı düşünülerek) yaklaşık 4 saat olarak tahmin edilmektedir (Tomlin 2000, Krohn vd. 2002).

İmidaklopridin hidroliz hızı sıcaklıkla artmaktadır. İmidaklopridin hidrolizinden elde edilen temel reaksiyon sonucu 1-[(6-kloro-3-piridinil)metil]-2-imidazolidon oluşmaktadır (Zheng vd. 1999).

İmidaklopridin degradasyon hızı, mikroorganizma olmadan ve karanlık bir ortamda pH'ya bağlıdır ancak bazı denemelerde buna uymayan sonuçlar rapor edilmektedir. Sarkar ve arkadaşlarına göre imidaklopridin ortalama yarılanma ömrü, alkol içeren ortamda artmaktadır (Sarkar vd. 1999). Buna karşın bazı kaynaklara göre imidakloprid, çok daha düşük pH' da da degrade olmaktadır (Yoshida 1989, Mulye 1991, Zheng vd. 1999).

Sulu ortamdaki imidakloprid mikroorganizmalardan dolayı da metabolize olmaktadır (Şekil 2.3). Işık ve değişen çökelti olmadan 30, 130 ve 160 günlük DT₅₀ sonuçları görülmektedir (Krohn vd. 2002).



Şekil 2.3 İmidaklopridin suda giderimi (Bacey 2000)

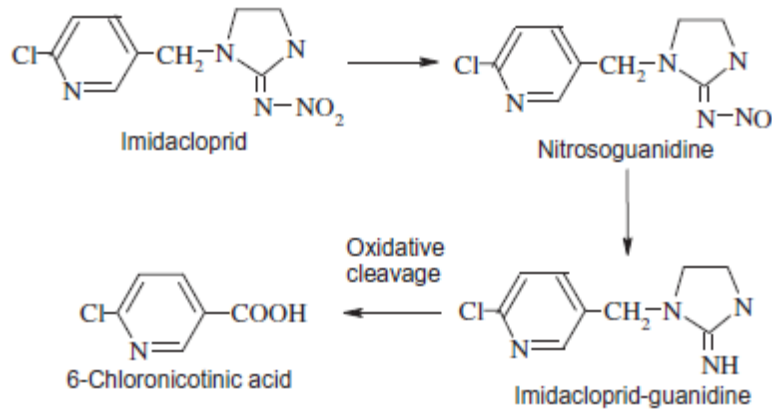
İmidaklopridin formülasyonu ve uygulanma hızı sulu ortamdaki dayanıklılığını etkilemektedir. Araştırmalara göre pudra şeklindeki imidaklopridin, sıvı haline göre daha yüksek yarılanma ömrüne sahip olduğu bildirilmektedir. Uygulama hızının artması ile dayanıklılık artış göstermektedir (Sarkar vd. 1999).

İmidaklopridin bu şekilde çevrede bulunan kalıntıları farklı canlılarda, farklı etkiler bırakmaktadır. Örneğin; İmidakloprid yayla kuşları, özellikle Japon bildircini, serçe, kanarya ve güvercingiller için zehirlidir. İmidakloprid kuşlarda koordinasyon sağlama eksikliği, tepkisizlik ve uçma yetersizliğine neden olmaktadır. Kuşların yumurta kabuğunda incelme, kuşların kilo vermesi, düşük yumurta üretimi ve düşük kuluçkadan çıkma sayısı imidaklopridin bıraktığı diğer etkilerdendir. İmidakloprid balıklar için az tehlikeli sayılsa da, tatlı su ve nehirlerde bulunan kabuklular için ciddi anlamda toksik sayılmaktadır.

İmidaklopride düşük konsantrasyonlarda bile maruz kalan solucanlar üreme ve mutasyon hataları göstermişlerdir.

Bir insektisit olmasına rağmen, imidakloprid bitkiler için de zehirli olabilir. İmidakloprid uygulanan seralar bunun bir örneğidir. İmidakloprid ayrıca mavi-yeşil algler ve diatomların sayısında azalmaya neden olmaktadır.

İmidaklopridin biyolojik giderimi için önerilen metabolik yol şekil 2.4’da gösterilmiştir. (Phugare vd. 2013)

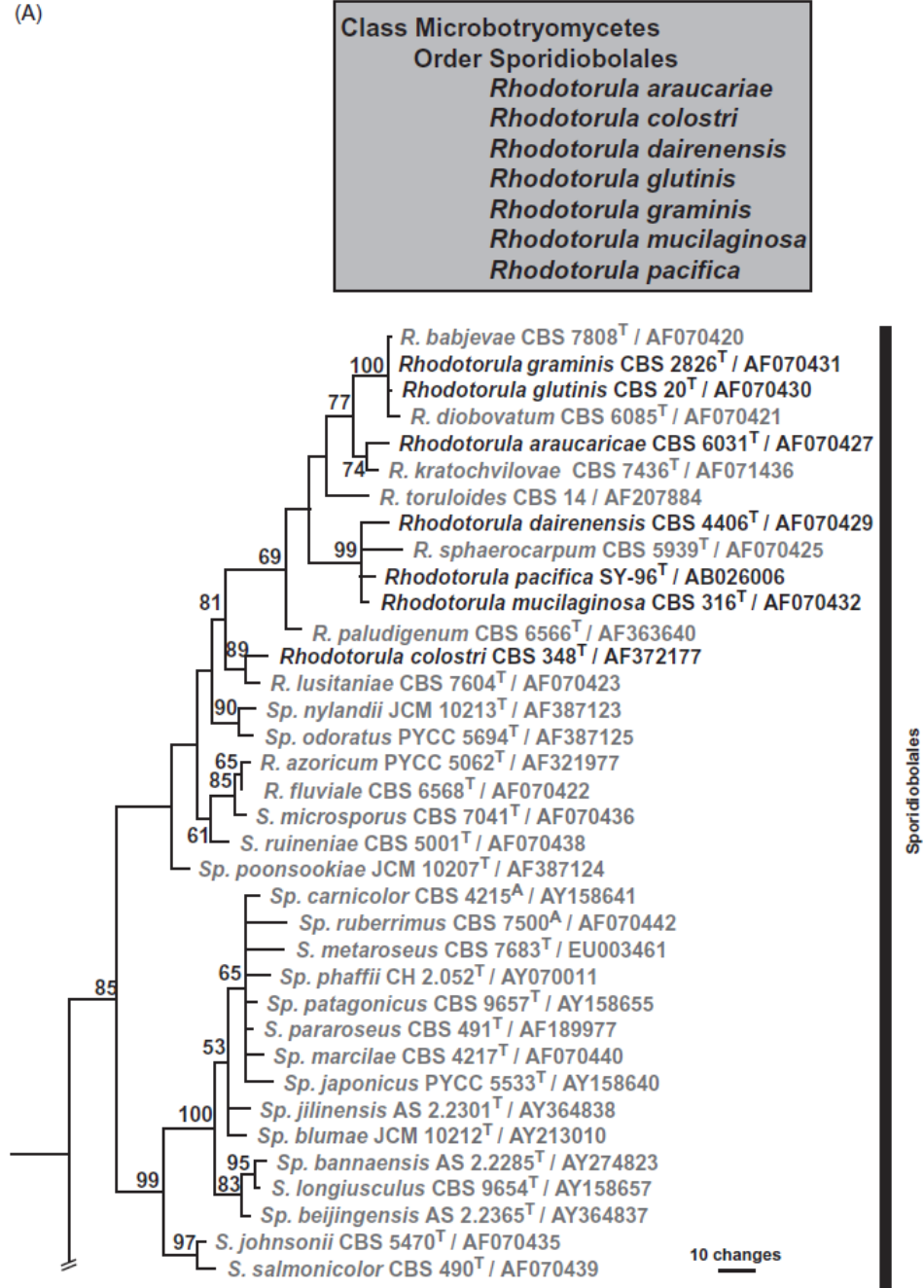


Şekil 2.4 İmidaklopridin gideriminde önerilen metabolik yol

2.5 *Rhodotorula*

Rhodotorula cinsinin taksonomik sınıflandırılması 1927 yılında Harrison tarafından yapılmıştır. *Rhodotorula* havada, toprakta, göllerde, okyanuslarda ve mandıra ürünlerinde bulunan bir mayadır. Bitkiler, insanlar ve diğer memelilerde koloni oluşturabilmektedirler. Şekil 2.5’de Microbotryomycetes sınıfı Sporidiobolales ordosuna ait *R.mucilaginoso* türünün yer aldığı *Rhodotorula* cinsine ait türlerin filogenetik haritası verilmiştir (Sampaio 2011).

(A)



Şekil 2.5 Microbotryomycetes sınıfı Sporidiobolales ordosuna ait *R.mucilaginosa* türünün yer aldığı *Rhodotorula* cinsine ait türlerin filogenetik haritası

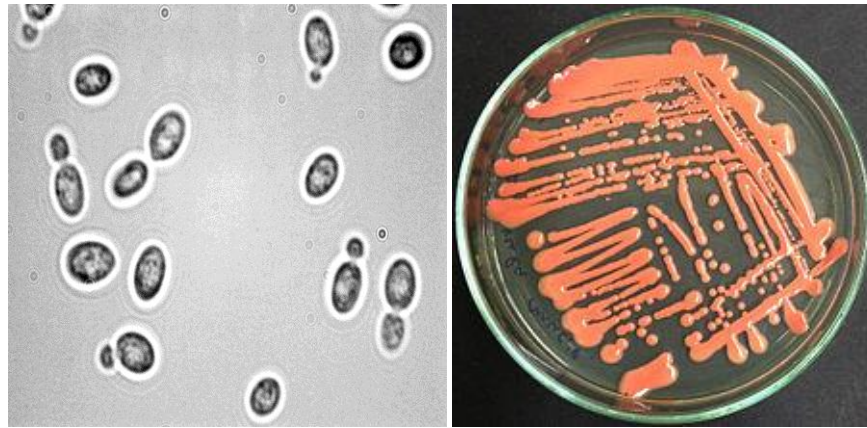
R.mucilaginosa Microbotryomycetes sınıfında yer alan Sporidiobolales ordosuna ait bir türdür. Dünyada geniş bir yayılım alanı gösiren bu tür tatlı ve tuzlu sular ile karasal ortamlarda bulunur. Malt ekstrakt ağardaki gelişmelerine göre yuvarlak, oval ve silindirik şeklinde olan, 1.5-4x4-12 µm arasında değişen boyutlarda, tek ya da ikili hücreler

halinde bulunan bu türün hücreleri polar tomurcuklanma göstermektedir. Hücrelerinde genellikle mannoz bulunan *R. mucilaginosa* türünün Sporidiobolales ordosundaki diğer *Rhodotorula* cinsine ait türlerden farklı özellikleri çizelge 2.2’de verilmiştir (Sampaio, 2011).

Çizelge 2.2 *R. mucilaginosa* türünün anahtar özellikleri

	Gallic acid	Maltose	Melezitose	L-Rhamnose	L-Arabinose	Vitamin-free	Raffinose	Nitrate/nitrite
<i>R. araucariae</i>	+	-	-	-	-	+	v	+
<i>R. colostri</i>	-	+	v	-	-	-	-	+
<i>R. dairenensis</i>	-	+	+	-	+	-	+	+
<i>R. glutinis</i>	-	+	+	-	+	+	+	+
<i>R. graminis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>R. mucilaginosa</i>	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>R. pacifica</i>	n	+	+	+	+	n	+	+

Basidiomycota ailesinde yer alan tek hücreli pigmentli bir maya cinsidir. Bu mikroorganizmanın şekil 2.5 koloni yapıları ve mikroskopik görüntüsü verilmiştir (Anonymous 1927).



Şekil 2.6 *Rhodotorula* cinsinin koloni yapıları ve mikroskopik görüntüsü

Rhodotorula cinsi için çalışmalarda kullanılan 3 tane aktif tür vardır: *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta* ve *Rhodotorula mucilaginosa*.

2.6 Neonikotinoid İsektisit Giderim Çalışmaları

Topraktaki pestisitlerin bozunması genellikle kimyasal, güneş ışığı veya mikrobiyal faktörler gibi biyotik veya biyotik olmayan etkenler tarafından yapılmaktadır. Bu faktörler arasında biyodegradasyon sentetik kimyasalları organik olmayan ürünlere çevirmek için en yaygın kullanılan yöntemdir.

Neonikotinoid böcek öldürücüler dünya çapında kullanılan ve ticari anlamda en önemli insektisitlerden sayılır. Molekülleri, nikotik asetilkolin reseptörüyle (nAChR) agonist olarak böceğin organizmalarında felç ve ölüme neden olmaktadır.

Neonikotinoidlerin böceklerdeki nAChRa karşı meyli imidakloprid (IMI), tiametoksam (THIA), clotianidin (CLO), ve dinotefurandaki nitroimin (dN-NO₂) grubuna, acetamiprid (AAP) ve tiaklopridin (THI) siyanoimin (dN-CN) grubuna ve nitenpiramdaki nitromethilen (dC-NO₂) farkamofor gruplarına dayanmaktadır (Tomizawa ve Casida 2003).

Bu nedenle, neonikotinoidlerdeki farkamofor faktörün biyotransformasyonu bitki ve memeli sistemlerde, belirli bir odak noktası olmuştur (Ford ve Casida 2006, 2008). Nitroimin grubunun üzerinde yapılan enzimatik çalışmalar, insandaki çeşitli P450 monooksijenazın (sitokrom P450 enzimi) oksijene duyarlı bir biçimde imidaklopridi nitroso (dN-NO) türevine dönüştürülmesini göstermektedir. Ayrıca tavşan karaciğerindeki sitozolda bulunan bir aldehit oksidaz, imidaklopridi nitroso ve amino (dN-NH₂) metabolitlerine dönüştürmektedir (Tomizawa ve Casida 2005).

İnsan ciğerinde bulunan aldehid oksidaz CLO ve THIA insektisitlerini nitroso metabolitlerine dönüştürdüğü bilinmektedir.

Toprakta yapılan imidakloprid degradasyonunu; imidakloprid üre(1-[(6-chloro-3-pyridinyl) -methyl-2-imidazolidinone), imidakloprid guanidin (1-[(6-chloro-3-pyridinyl)

methyl] -4,5-dihydro-1*H*-imidazol-2-amine) ve 6-kloronikotinik asitin bu amaç için muhtemel metabolitler olduklarını göstermektedir (Krohn ve Hellpointner 2002).

İmidaklopridin mikrobiyal degradesyonunun üzerinde yapılan araştırmalar bu bileşiğin sadece birkaç bakteri ile degrades olabileceğini göstermektedir.

Anhalt vd. (2007) yılında yapılan araştırmada *Leifsonia strain PC-21* topraktan izole edilmiş ve imidaklopridi degrades eden ilk mikroorganizma olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmada 1g L^{-1} süksinat ve D-glokoz içeren TSB besiyeri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri tarafından 25mg L^{-1} imidaklopridin %37-58 oranında kometabolize edildiği ve bunun sonucunda 6 metabolitin elde edildiği ve bunların da ikisinin imidakloprid-guanidin ve imidakloprid-üre olduğu rapor edilmiştir. Bu alışmada *Leifsonia* bakterisi imidaklopridi karbon veya nitrojen kaynağı olarak kullanmamıştır.

Pandey ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka araştırmada, izole edilen *Pseudomonas sp.1G* bakterisinin imidakloprid ve tiametoksam pestisitlerini kometabolize ederek nitrozoguanidin (=N-NO), desnitro (=NH), ve ure (=O) metabolitlerini oluşturduğu gösterilmiştir (Pandey vd. 2009). Bu alışmalar sonucunda *Leifsonia strain PC-21* ve *Pseudomonas sp.1G* bakterilerinin ikisinde nitroimin grubunu etkiledikleri dűřünölmektedir.

Stenotrophomonas maltophilia CGMCC 1.1788 bakterisi ile yapılan çalışmada, her zaman üçüncü amin grubunun yanındaki karbon atomuna etkileyip IMI, THI ve IMTi hidrolize ettiği gösterilmiştir. Bakteri ayrıca AAPi N-demetile ederek nitroimin grubunu da etkilemiştir (Dai vd. 2006). Ancak imidakloprid bu araştırmaların sonucunda degrades olmamiş biyotransformasyon ile daha da etkili bir maddeye dönüşmüştür.

Ayrıca neonikotinoidlerden olan AAP ve THI böcek öldürücülerinin metabolizmaları bal arısı, fareler, ıspanak ve toprakta araştırılmıştır. AAP ve THI insektisitlerdeki siyanoimin grubun metabolizmi nitroimin grubuna karşı hala tam olarak

açıklanmamıştır. Yapılan araştırmalara göre mikrobiyal metabolizmaları sonucu AAP ve THI toprakta çok hızlı giderirler (Tokieda vd. 1999).

Madhuban ve arkadaşları çalıştıkları bir araştırmada ziraii bir topraktan imidaklopridi degrede edebilen bir bakteri izole etmeyi başarmışlardır. Onların araştırmasına göre *Burkholderia cepacia* (strain CH9), imidaklopridi 20 günlük bir süreçte ve 50 µg mL⁻¹ imidaklopirid içeren mineral tuz kültüründe %69- 86'ya kadar biyodegrede edebilmektedir (Madhuban vd. 2011).

Diğer bir çalışmada, Phugare ve arkadaşları önceden pestisit uygulanmış bir tarım toprağından *Klebsiella pneumonia* strain BHC1 izole etmiş ve imidaklopridi 7 günlük bir süreçte %78'e kadar degrede ettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada farklı çevresel koşulların degradasyon üzerindeki etkisi araştırılmış ve sonuçta nitrosoguanidin, imidakloprid-guanidin ve 6-kloronikotinik metabolitlerinin elde edildiği bildirilmiştir (Phugare vd. 2013).

Sabourmoghaddam ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan imidakloprid degridasyonunda %25.4-45.5 kadar etkili olan *Bacillus* sp., *Brevibacterium* sp., *Pseudomonas putida* F1, *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* sp. bakterileri izole edilmiştir. (Sabourmoghaddam vd. 2014).

Dai ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada topraktan izole edilmiş olan *Rhodotorula mucilaginosa* IM-2 mayası neonikotinoidler ailesinden AAP ve THI pestlerini hidrolize ederek IM-3 ve THI amid grubuna dönüştürmektedir. Bu sonuçlara göre IM-3 hiçbir insektisit özelliğine sahip değildir ve THI amidin pestisit gücü 15,6-38,6 kadar THI' a göre azdır. Böylece AAP ve THI toprak biyoremedasyonunda *R. mucilaginosa* IM-2 tarafından degrede olmaktadır. Bu alışmada IMI ve IMT'de araştırılmış ancak bu insektisitlerde herhangi bir degridasyon görülmemiştir (Dai vd. 2010).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 İnektisit

Çalışmada kullanılan imidakloprid ticari tarım ilacı olarak tedarik edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Ankara Üniversitesi, Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

3.2 Mikroorganizma

Tez çalışmasında çeşitli bölgelerden alınmış toprak ve su örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ile birlikte kültür koleksiyonumuzda bulunan *Rhodotorula mucilaginosa* maya türü kullanılmıştır.

3.3 Örnek Alma

Giderim çalışmalarında kullanılmak üzere farklı mikroorganizmalar elde etmek amacıyla, Ankara Çayı, Çubuk (I) Barajı ve Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Keçiören yerleşkesi tarlalarından alınan toprak ve su örnekleri kullanılmıştır.

3.4 Zenginleştirme

Alınan örnekler 40 ppm IMI içeren 100ml lik erlenlerdeki 50 ml lik melaslı besiyeri (MB) ve MSM (Mineral Salt Medium) sıvı besiyerlerine aktarılmıştır. Örnekler 5 gün boyunca 30°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir.

Melaslı Besiyeri Bileşimi

Bileşen	Miktar
(NH ₄) ₂ SO ₄	1(g/L)
KH ₂ PO ₄	0.5(g/L)
Melas	10.0(ml/L)

Mineral Tuz Besiyeri Bileşimi

Bileşen	Miktar (g/L)
K ₂ HPO ₄	0.8
KH ₂ PO ₄	0.2
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0.2
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.001
(NH ₄) ₂ SO ₄	5.0
CaCl ₂	0.003
Toprak Ekstraktı.....	40ml/L

3.4.1 Toprak Ekstraktın hazırlanışı

Bir kilogram ince bir şekilde elenmiş gübresiz bahçe toprağı 2 L çeşme suyu ile karıştırılmıştır. Karışımın içindeki minerallerin iyice çözülüp suya salınması için 121C°, 1 atmosfer buhar basıncında, 60 dakika otoklavda tutulmuştur. Bir gün boyunca soğumaya bırakılan süspansiyon filtre kâğıdı ile iki kere süzölmüştür. Elde edilen mineralce zengin altın sarısı sıvı Mineral Tuz Besiyerine ilave edilmiştir.

3.5 İzolasyon

Farklı besiyerlerinde zenginleştirilen örneklerden,40 ppm IMI içeren Melaslı besiyeri ve MSM agarlı besiyerleride sürme yöntemiyle tek koloniler elde edilmiştir. Son aşama olarak yatık agarda saklanmıştır.

3.6 Seçim

Elde edilen suşlar 40 ppm IMI içeren 100ml lik erlenlerdeki 50 ml lik Melaslı besiyeri ve MSM sıvı besiyerlerine ekilmiştir. Bu denem 30°C sıcaklık ve 5 gün boyunca inkübe edilmiştir.

3.7 IMI Giderimi

Denemeler 250 ml lik erlenlerde, pHı 6 olan 100 ml lik Melaslı Besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta, 100rpm çalkalamalı inkübatörde 6 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. 40 ppm IMI içeren melaslı besiyerlerine önceden aktifleştirilmiş mikroorganizmadan 1ml eklenmiştir. Denemeler üç paralel şekilde yapılmıştır

3.8 IMI Konsantrasyonunun Etkisi

Melaslı Besiyerinde en iyi gelişmeyi gösteren mikroorganizmaların insektisit konsantrasyonlardaki gelişimlerini araştırmak amacıyla izolatlar 40, 60, 80, 120 ve 160 ppm IMI içeren Melaslı besiyerine ekilmiş ve sonuçlar 7 gün boyunca izlenmiştir. Denemeler 250 ml lik erlenlerde, pHı 6 olan 100 ml lik Melaslı Besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta 100rpm çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir.

3.9 *Rhodotorula mucilaginosa* ile Giderim Çalışması

Denemeler 250 ml lik erlenlerde, 100 ml lik Melaslı Besiyerinde, 30°C sıcaklıkta 100 rpm çalkalamalı inkübatörde 4 günlük inkübasyon boyunca gerçekleştirilmiştir. Her erlende önceden aktifleştirilmiş mikroorganizmadan 1ml eklenmiştir. Denemeler 3 paralel şekilde yapılmıştır.

3.9.1 *Rhodotorula mucilaginosa* gelişimine pH etkisi

Denemeler pH 4, 5 ve 6 olmak üzere üç farklı pH’da ve 22 ppm IMI konsantrasyonunda gerçekleştirilmiştir.

3.9.2 *Rhodotorula mucilaginosa* gelişimine IMI konsantrasyonunun etkisi

Artan IMI konsantrasyonlarının *Rhodotorula mucilaginosa* gelişimine ve IMI giderimine etkisi 16, 22, 40 ve 53 ppm IMI başlangıç konsantrasyonlarında araştırılmıştır.

3.10 Analitik Yöntemler

3.10.1 Optik yoğunluğun belirlenmesi

İnkübasyon süresi boyunca erlenlerden 3 ml örnek alınmış, 5000 g sağlayan çevirme hızında 5 dakika santrifüjlenmiş, distile su ile yıkandıktan sonra gerekli seyreltmeler yapılarak optik yoğunluk değerleri 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Shimatzu UV-1700) olarak belirlenmiştir.

3.10.2 Pestisit miktarının belirlenmesi

İnkübasyon süresi boyunca her günde alınan örnekler 5000 g çevirme hızında biyokütlenin uzaklaştırılması için 5 dakika santrifüj (Hettich 234) edilmiştir. Supernatant kısım, ortamda kalan IMI konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla 291 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Shimatzu UV-1700) olarak ölçülmüştür.

3.11 IMI Gideriminin Hesaplanması

C_0 : Başlangıç IMI konsantrasyonu (ppm).

C_{gd} : Mikroorganizmaların ortamdaki uzaklaştırdığı kirletici miktarı (ppm).

$$\% \text{ Giderim} = C_{gd}/C_0 \times 100$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Tez alıŐmasında IMI ile kirlendiĐi dűŐnűlen Ankara il sınırlarındaki çeŐitli bűlgelerden alınan toprak ve su űrneklerinden insektisite dirençli mikroorganizmalar izole edilerek bunların artan IMI konsantrasyonlarındaki geliŐimleri belirlenmiŐtir.

Denemelerde atık sulardan izole edilen *Rhodotorula mucilaginosa* tűrűnűn IMI giderim kapasitesi de araŐtırılmıŐtır.

4.1 İzolatlarla Giderim alıŐmaları

4.1.1 İzolat Seçimi

Denemeler sonucunda Ankara ayından alınan űrneklerden 17 farklı saf kűltűr, çubuk 1 barajından alınan űrneklerden dűrt farklı saf kűltűr ve Ziraat Fakűltesi araŐtırma tarlalarından alınan toprak űrneklerinden 12 saf kűltűr 40 ppm IMI içeren besiyerlerinden izole edilmiŐtir.

Ankara ayından izole edilen 17 saf kűltűrűn 40 ppm IMI içeren melaslı besiyeri ve MSM ortamındaki geliŐimi izelge 4.1’de gűsterilmiŐtir. Denenen tűm izolatların MSM ortamında zayıf geliŐtiĐi Melaslı Besiyerinde daha iyi geliŐtiĐi belirlenmiŐtir. Bunlar içinden 3C ve 6a diĐerlerinden melaslı besiyerinde daha iyi geliŐtiĐi için sonraki denemeler bu iki izolatla gerçekleŐtirilmiŐtir.

Çizelge 4.1 Ankara Çayımdan elde edilen izolatların Melaslı Besiyeri ve MSM ortamlarındaki gelişimi

Ankara Çayı	İzolatlar	Örnek	Melaslı Besiyeri	MSM
	1a ₁	Toprak	+	+
	1a ₂	Toprak	+	+
	1b	Toprak	+	+
	2a	Toprak	+	+
	2c	Toprak	+	+
	3a	Su	+	+
	3b	Su	+	+
	3c	Su	+++	+
	4a	Toprak	++	+
	4a'	Toprak	+	+
	4b	Toprak	++	+
	4b'	Toprak	+	+
	4b''	Toprak	+	+
	5a	Toprak	+	+
	5b	Toprak	+	+
	6a	Su	+++	+
	6c	Su	+	+

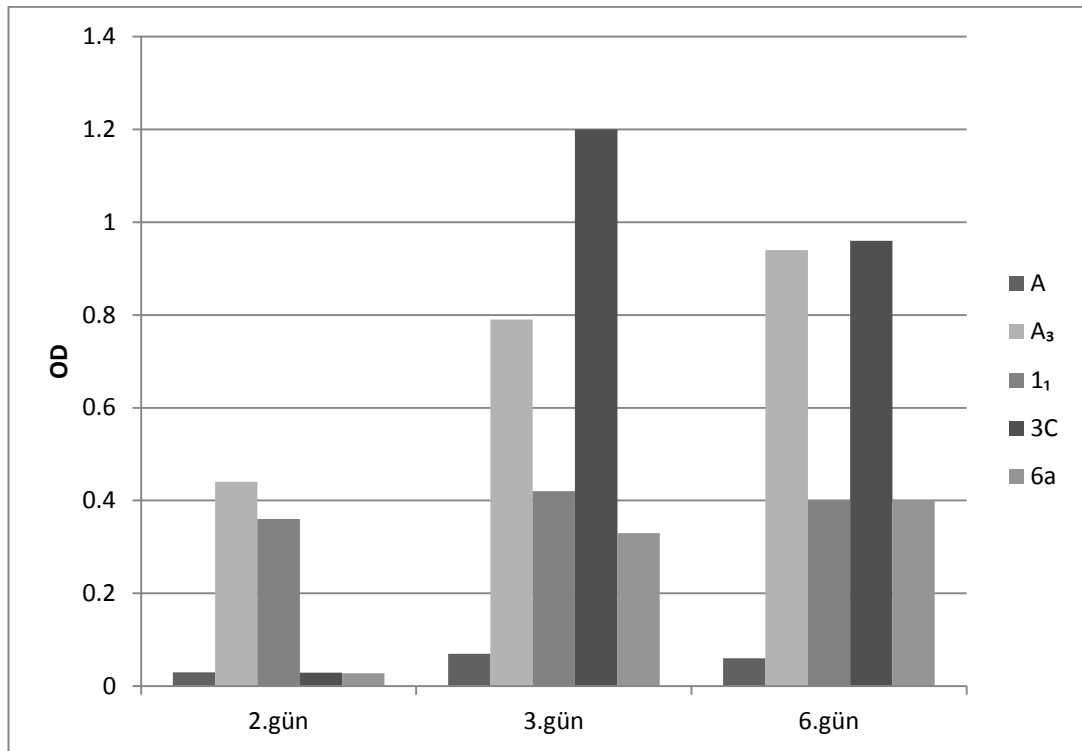
Çubuk 1 Barajından ve Ziraat Fakültesi araştırma tarlalarından 40 ppm IMI içeren melaslı besiyeri ve MSM ortamından izole edilen toplam 16 saf kültürün bu besiyerlerindeki gelişimi çizelge 4.2'de verilmiştir. Denemeler sonunda Ankara

çayından izole edilen kültürlerle benzer şekilde izolatların melaslı besiyerinde daha iyi gelişme gösterdiği belirlenerek çubuk barajında iki ve ziraat toprağından bir olmak üzere sonraki denemeler için toplam üç izolat seçilmiştir.

Çizelge 4.2 Çubuk 1 Barajı ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma tarlalarından elde edilen izolatların Melaslı Besiyeri ve MSM ortamlarındaki gelişimi

	İzolatlar	Örnek	Melaslı Besiyeri	MSM
Çubuk 1 Barajı	A ₁	Toprak	++	+
	A ₂	Toprak	+	+
	A ₃	Toprak	+++	+
	B	Su	+	+
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Araştırma Tarlaları	1 ₁	Toprak	++	+
	1 ₃	Toprak	+	+
	1 ₄	Toprak	+	+
	2 ₁	Toprak	+	+
	2 ₈	Toprak	+	+
	3 ₂	Toprak	+	+
	3 ₃	Toprak	+	+
	3 ₄	Toprak	+	+
	3 ₄ '	Toprak	+	+
	3 ₅	Toprak	+	+
	3 ₈	Toprak	+	+
	3 ₉	Toprak	+	+

Denemeler sonucu seçilen beş izolat 40 ppm IMI içeren 250 ml'lik erlenlerdeki 100ml Melaslı besiyerinde 6 gün boyunca inkübe edilmiştir. Şekil 4.1'de gösterildiği gibi test edilen beş izolat arasından iki tanesi diğerlerinden daha iyi gelişme göstermiştir. İnkübasyon süresi arttıkça diğer izolatlarda zayıf gelişme gözlenmiş ancak inkübasyon süresinin sonunda Ankara Çayından izole edilen 3C ve Çubuk1 barajından izole edilen A3 diğerlerinden daha fazla gelişme göstermiştir. Sonraki denemelerde bu iki izolat kullanılmıştır.



Şekil 4.1 Melaslı besiyerinde seçilen izolatların gelişimi

(IMI: 40 ppm, pH: 6, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)

4.1.2 Artan IMI konsantrasyon etkisi

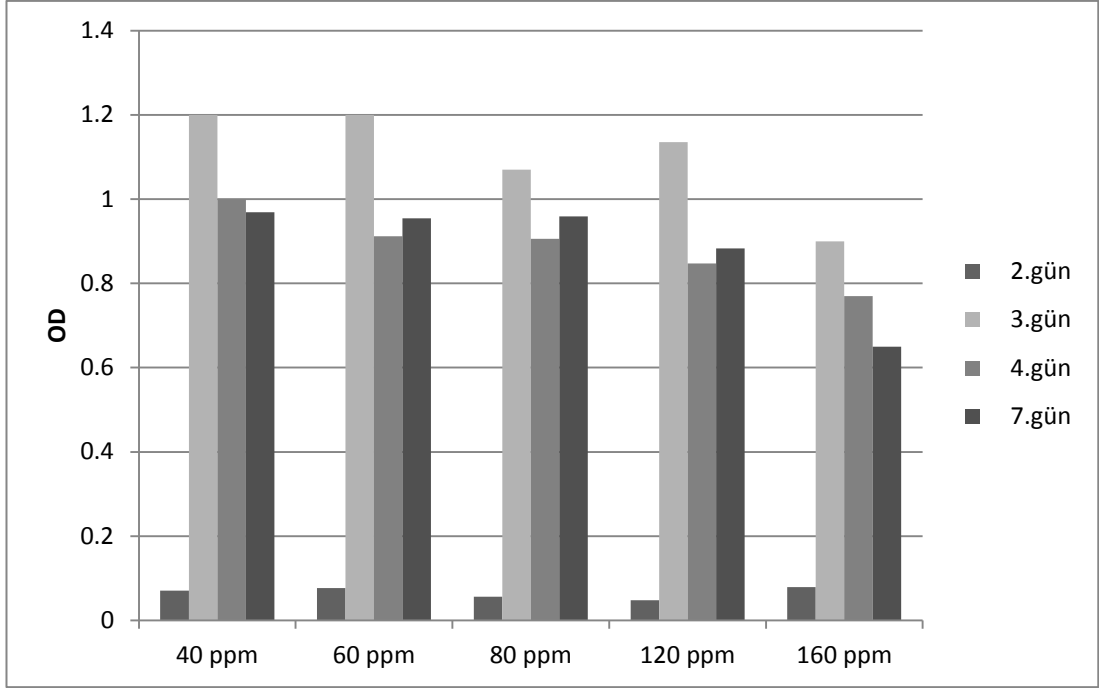
Melaslı Besiyerinde en yüksek gelişme gösteren mikroorganizmaların belirlenmesinden sonra 3C ve A₃ numaralı izolatlar 40, 60, 80, 120 ve 160 ppm IMI içeren Melaslı besiyerlerine ekilmiştir.

Ankara ayından izole edilen 3C izolatıyla yapılan çalışmalarda denenen tüm konsantrasyonlarda inkübasyon süresi arttıa gelişmenin de arttığı gözlenmiştir (şekil4.2).

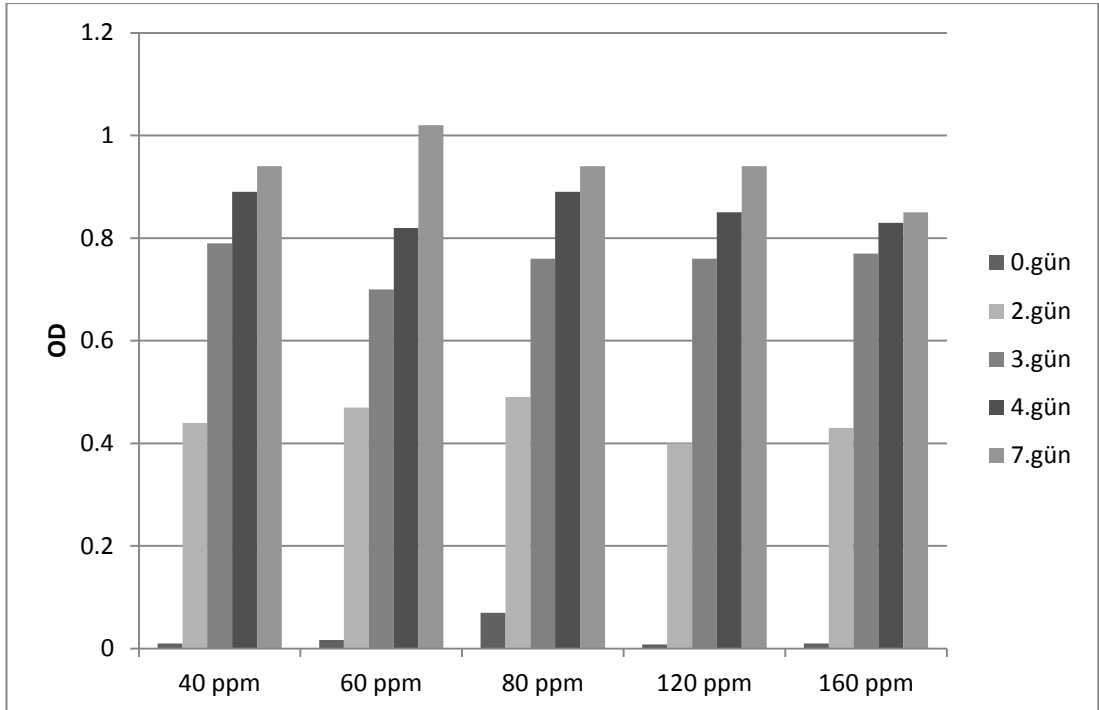
Artan IMI konsantrasyonu izolatın gelişimini azaltmış ancak engellememiştir. Inkübasyon süresinin sonunda en yüksek IMI konsantrasyonunda gelişim devam etmiştir.

Ankara ayından izole edilen 3C izolatına benzer şekilde, A₃ suşuyla yapılan çalışmada artan IMI konsantrasyonları gelişimi engellememiş ancak azaltmıştır. şekil 4.3'de grldğu gibi denenen en yüksek konsantrasyonda da gelişme olmuştur. Test edilen her iki izolat da ortamdaki yüksek IMI konsantrasyonlarından etkilenmemiştir.

Her iki izolatın IMI giderim kapasitesine bakıldığında, besiyerlerinde insektisit denenen tüm konsantrasyonlarda ortamda az bir değişim göstererek kaldığı belirlenmiştir. Denemeler sonucunda, izolatların insektisiti değrede etmediği görülmüş olsa da insektisit yüksek konsantrasyonlarına direnç gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.2 İnsektisit konsantrasyonunun 3C izolatının gelişimine etkisi
(pH: 6, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)



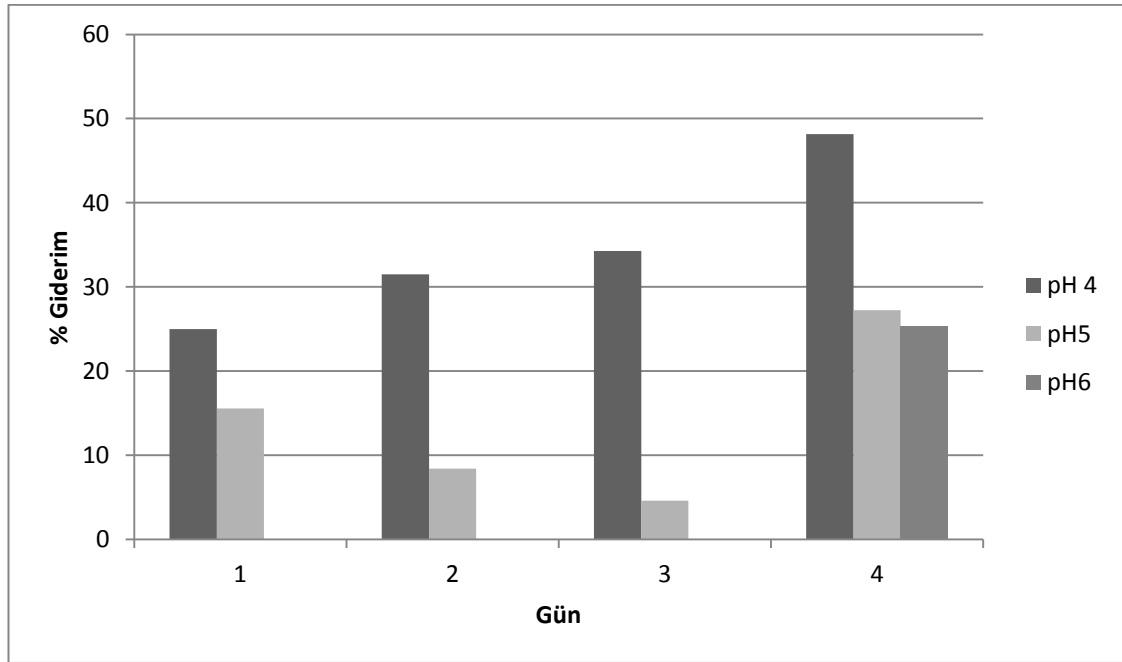
Şekil 4.3 İnsektisit konsantrasyonunun A₃ izolatının gelişimine etkisi
(pH: 6, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)

4.2 *Rhodotorula mucilaginosa* ile Giderim Çalışmaları

4.2.1 pH etkisi

IMI giderimine pH etkisinin belirlenmesi amacıyla maya gelişimi üç farklı pH'da (4, 5 ve 6) dört gün boyunca izlenmiştir.

Rhodotorula mucilaginosa inkübasyon süresinin sonunda 22 ppm IMI konsantrasyonunda denenen tüm pH'larda gelişim göstererek IMI giderimi yapmıştır (Şekil 4.4). Denemelerde zayıf maya gelişiminin olduğu pH 5 ve 6'da IMI gideriminin de düşük olduğu görülmüştür. İnkübasyonun ilk gününden itibaren pH 4'de diğer pH'lardan daha yüksek maya gelişimi ve buna paralel olarak da yüksek IMI gideriminin gerçekleştiği bulunmuştur. Diğer pH'larda inkübasyon periyodu sonunda elde edilen IMI giderim yüzdesine pH 4'de ilk günde ulaşılmıştır. Denemeler sonunda dördüncü günde mayanın IMI giderimi pH 4'de % 48, pH 5'de %27 ve pH 6'da %25 olarak belirlenmiştir. Sonraki denemeler yüksek IMI gideriminin olduğu pH 4'de yapılmıştır.

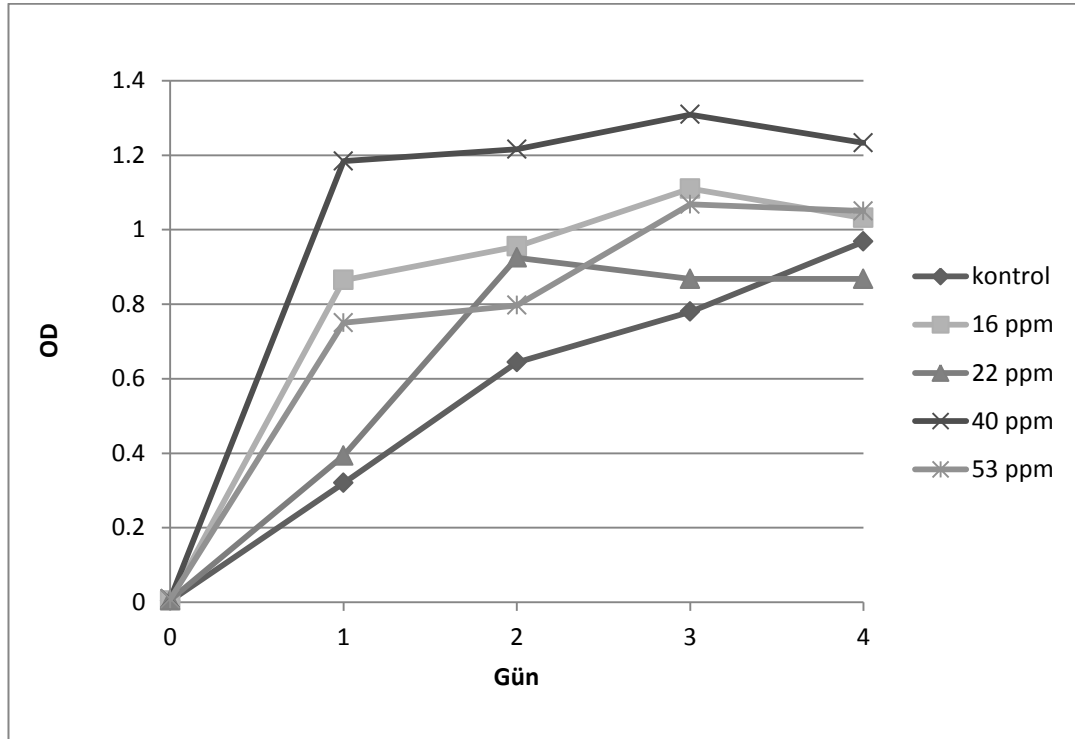


Şekil 4.4 pH'ın IMI giderimine etkisi
(IMI: 22 ppm, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)

4.2.2 IMI konsantrasyon etkisi

Artan IMI konsantrasyonlarının maya gelişimi ve insektisit giderimine etkisinin belirlenmesi amacıyla *Rhodotorula mucilaginosa* 16, 22, 40 ve 53 ppm IMI içeren melaslı besiyerlerinde dört gün boyunca üretilmiştir.

Artan IMI konsantrasyonlarındaki maya gelişimi şekil 4.5’de gösterilmiştir. Denemelerde IMI içermeyen melaslı besiyerlerinde IMI içerenlere oranla daha düşük maya gelişiminin olduğu bulunmuştur. Ortamdaki IMI artışı maya gelişimini arttırmış ve en yüksek maya gelişimine 40 ppm IMI konsantrasyonunda inkübasyonun birinci gününde ulaşılmıştır. Bu değer inkübasyonun sonuna kadar belirgin bir değişim olmadan kalmıştır. Denemelerde kullanılan en yüksek IMI konsantrasyonu olan 53 ppm de maya gelişiminin düşerek, 16 ve 22 ppm IMI konsantrasyonlarındaki maya gelişimine benzer değerlerin elde edildiği görülmüştür.

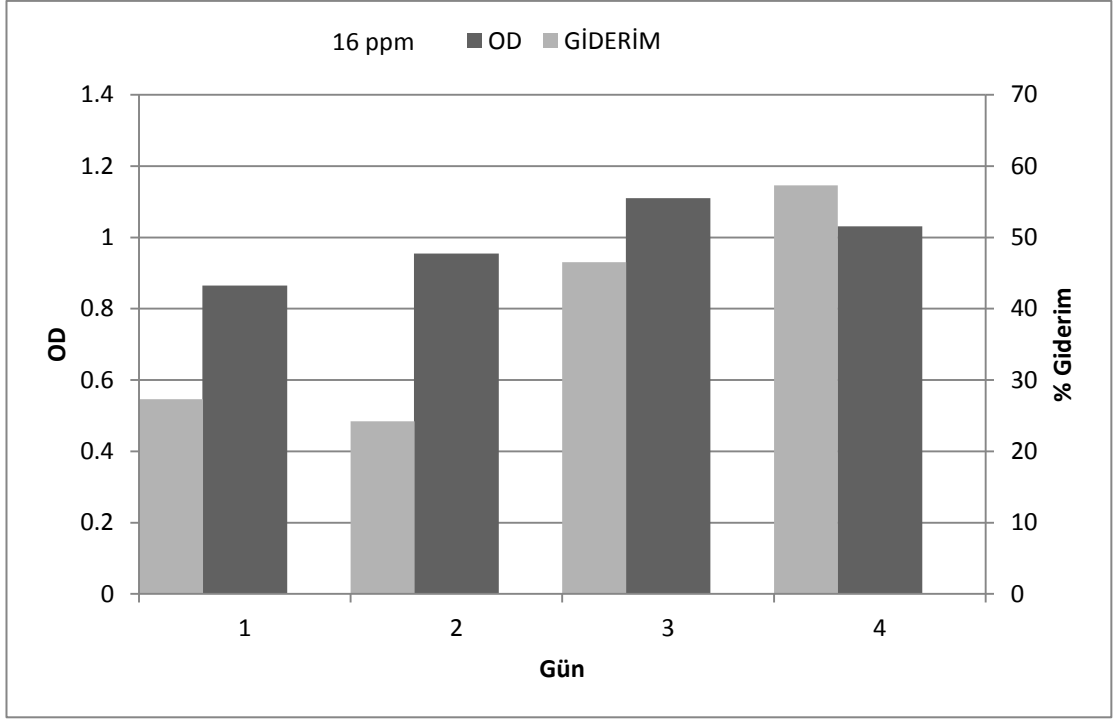


Şekil 4.5 IMI konsantrasyonunun *Rhodotorula mucilaginosa* gelişimine etkisi (pH: 4, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)

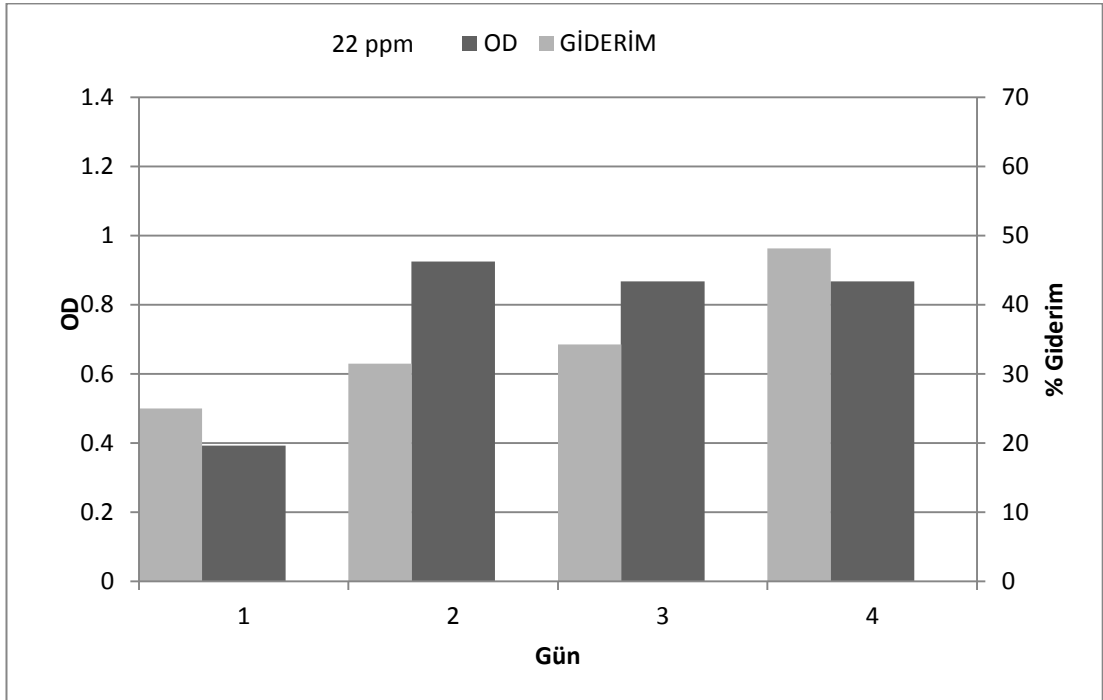
Denemelerde kullanılan en düşük IMI konsantrasyonu olan 16 ppm'deki insektisit giderimi şekil 4.6'da verilmiştir. *Rhodotorula mucilaginosa*, inkübasyonun ilk gününden itibaren IMI giderimi yaparak birinci günde ulaştığı %27 giderim oranını inkübasyonun sonunda yaklaşık iki kat arttırarak dördüncü günde %57 oranına yükseltmiştir.

IMI giderimine paralel olarak maya gelişimi de inkübasyonun ilk gününden itibaren yüksek değerlere ulaşmıştır. İnkübasyon süresinin sonuna kadar maya gelişimi az da olsa artışa devam etmiştir. Denemelerde dördüncü günde maya gelişiminin durduğu ancak giderim yüzdesinin artmaya devam ettiği gözlenmiştir.

Şekil 4.7'de 22 ppm IMI konsantrasyonundaki insektisit giderimi gösterilmiştir. *Rhodotorula mucilaginosa*, inkübasyon süresinin sonuna kadar artan oranda IMI giderimi yapmıştır. Denemeler sonunda artan maya gelişimiyle birlikte IMI gideriminin de arttığı ikinci günden sonra maya gelişiminde belirgin bir fark olmasa da insektisit gideriminin artmaya devam ettiği saptanmıştır.



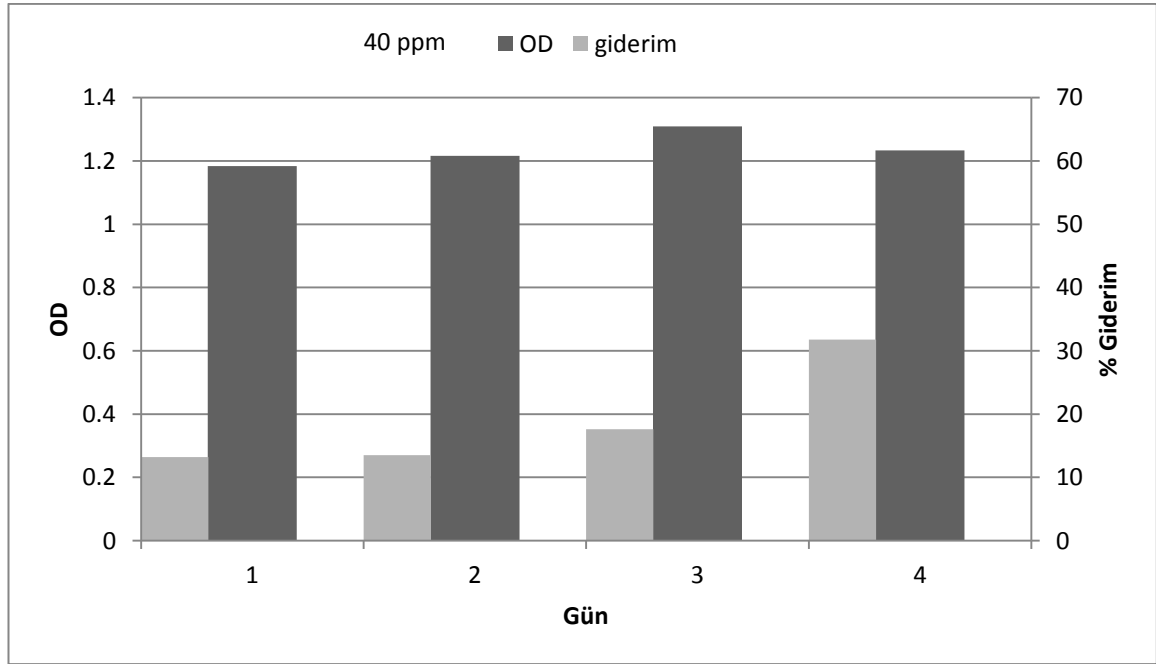
Şekil 4.6 16 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi
(pH: 4, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)



Şekil 4.7 22 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi
(pH: 4, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)

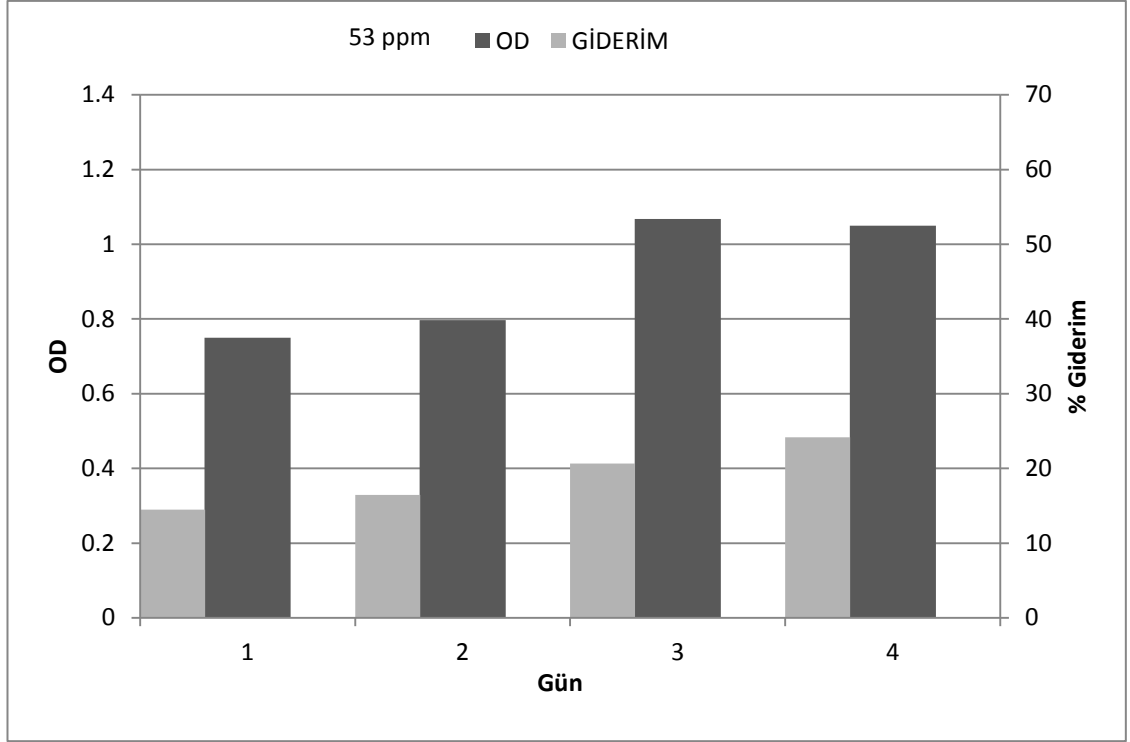
Rhodotorula mucilaginosa gelişimi ve IMI gideriminde 40 ppm ve 53 ppm IMI konsantrasyonlarının etkisi sırasıyla şekil 4.8 ve 4.9’da verilmiştir. Denenen her iki konsantrasyonda da maya gelişiminin IMI gideriminden çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Maya 40 ppm IMI konsantrasyonunda birinci günde elde ettiği yüzde giderim (% 13) oranını dördüncü günde çok arttırarak % 32 oranına yükseltmiştir. Düşük IMI konsantrasyonlarında ilk günlerde elde edilen insektisit giderimine, 40 ppm IMI konsantrasyonunda ancak son günde ulaşılmıştır.

Maya ile yapılan denemelerde kullanılan en yüksek IMI konsantrasyonunda, giderim yüzdesi inkübasyonun birinci gününde %14 olarak belirlenmiş, inkübasyon süresi boyunca giderimin de yavaş da olsa artarak dördüncü günde %24’e ulaştığı bulunmuştur (Şekil 4.9).



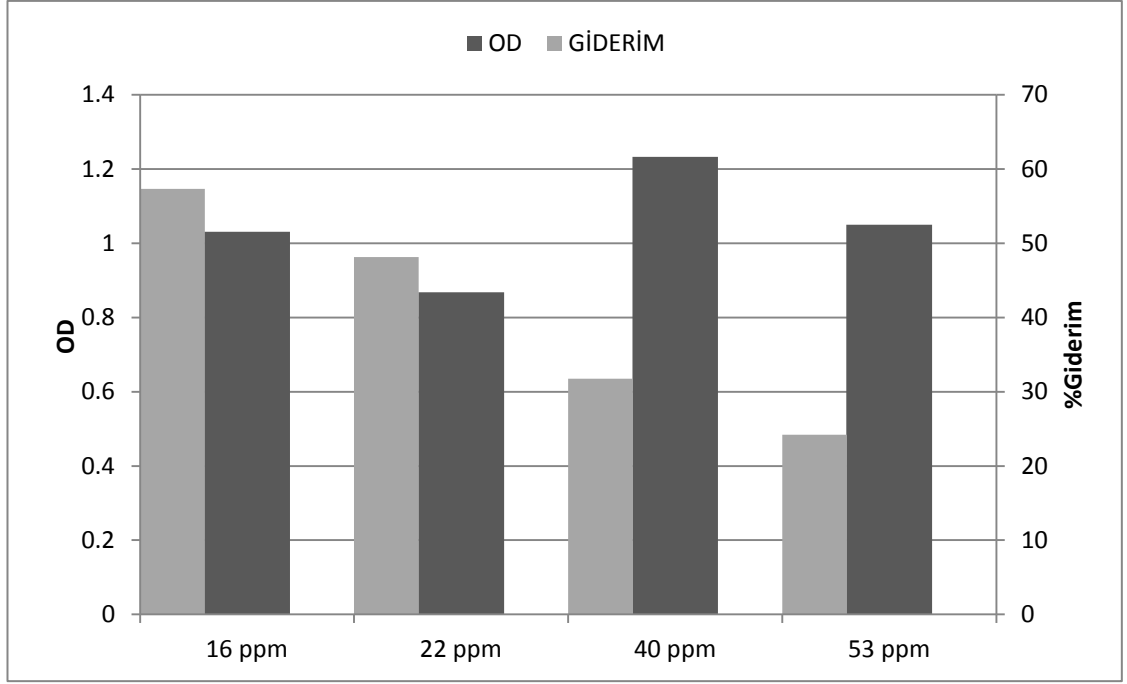
Şekil 4.8 40 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi

(pH: 4, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)



Şekil 4.9 53 ppm IMI konsantrasyonunun etkisi
(pH: 4, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm)

Artan IMI konsantrasyonunun, maya gelişimi ve insektisit giderimine dört günlük inkübasyon periyodu sonundaki etkisi şekil 4.10’da verilmiştir. Denemelerde düşük IMI konsantrasyonlarında giderimin yüksek olduğu konsantrasyon arttıkça giderimin de azalarak en yüksek IMI konsantrasyonunda en az giderimin olduğu belirlenmiştir. Maya gelişiminin ise genelde tüm denemelerde OD 1 civarında kaldığı görülmüştür. IMI konsantrasyon artışından maya gelişiminin olumsuz yönde etkilenmediği, yüksek konsantrasyonlarda maya gelişiminin düşük konsantrasyonlara göre az da olsa arttığı denemeler sonucu bulunmuştur.



Şekil 4.10 Artan IMI konsantrasyonunun *Rhodotorula mucilaginosa* gelişimine ve insektisit giderimine etkisi

(pH: 4, Sıcaklık: 30°C, Çalkalama hızı: 100rpm, İnkübasyon Süresi: 4 gün)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda çevre ve doğa kirliliğinin en önemli faktörlerinden biri olan pestisitlerin, canlı sistemlerde nasıl bir mekanizma sonucu metabolize edildiği merak konusu olmuştur. Bu tür atıkların arıtımında kullanılan klasik yöntemler, yatırım ve işletme maliyetlerinin yüksekliği ve arıtma sonrasında yeni kirleticileri oluşturması nedeniyle tercih edilmemekte, biyolojik arıtma ile kombine teknikler üzerinde durulmaktadır (Chen vd. 2007).

Yaygın olarak kullanılan aerobik ve anaerobik yöntemlerle kirleticilerin biyolojik arıtımda karşılaşılan en büyük problem, yüksek kirletici miktarlarının arıtım yapan mikroorganizmaların üremesini engelleyerek arıtımı kısıtlamasıdır. Bu kısıtlayıcı sorunların çözümüne yönelik literatürde çok sayıda araştırma bulunmaktadır (Clarke ve Anliker 1981, Hussain vd. 2009).

Neonikotinoid grubunda yer alan, oldukça güçlü bir insektisit olan IMI giderimini, biyolojik atık arıtım tesislerinde etkin şekilde yapacak mikroorganizmaların belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen tez çalışmasında, insektisitle kirlendiği düşünülen toprak ve su örneklerinden 40 ppm IMI içeren mineral tuz (MSM) ve melaslı besiyerlerinde üreye bilen 33 adet izolat saflaştırılmıştır. Bunlar içinden seçilen iki izolat, artan konsantrasyonlarda(40, 60, 80, 120 ve 160 ppm) IMI içeren melaslı besiyerinde kesikli sistemle 30°C'de, 100rpm çalkalama hızında ve dört günlük inkübasyon süresi boyunca geliştirilmiştir. Denemeler sonucu kullanılan iki izolat da denenen tüm IMI konsantrasyonlarında üremiştir. Besiyerindeki IMI miktarlarında herhangi bir değişimin olmaması, iki izolatin da IMI giderimi yapmadıklarını ancak ortamdaki yüksek IMI konsantrasyonlarından etkilenmeyerek gelişmelerine devam edebildiklerini göstermiştir.

IMI mikrobiyal degradasyonu ile yapılan araştırmalarda, topraktan izole edilen *Leifsonia* strain PC-21,IMI degrades eden ilk mikroorganizma olarak rapor edilmiştir (Anhalt vd. 2007). Bu çalışmada *Leifsoniasp.* Bakterisi IMI'yi karbon ve azot kaynağı olarak kullanmamış, kometabolize etmiştir. Tez çalışmasında izole edilen IMI içeren

melaslı besiyerinde iyi gelişen iki izolat da IMI'i karbon ve azot kaynağı olarak kullanmamıştır. Denemelerde IMI analizinin spektrofotometrik olarak yapılması kometabolize edilip edilmediğini belirlemek için yeterli olmamıştır.

Literatürde IMI degradesyonunun; *Pseudomonas* sp.1G (Pandey vd. 2009), *Burkholderia cepacia* strain CH9 (Madhuban vd. 2011), *Klebsiella pneumonia* strain BHC1 (Phugare vd. 2013) ve *Bacillus* sp., *Brevibacterium* sp., *Pseudomonas putida* F1, *Bacillus subtilis* ve *Rhizobium* sp. (Sabourmoghaddam vd. 2014) bakterileri tarafından yapıldığı gösterilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen izolatlar IMI degradesyonu yapmamış ancak literatürde belirtilen bakterilerden daha yüksek konsantrasyonda IMI içeren ortamlarda gelişebilmiştir.

Tez çalışmasında kirleticilerin bulunduğu ortamlardan izole edilmiş kültür koleksiyonumuzda bulunan *Rhodotorula mucilaginosa* mayasının, IMI giderilme kapasitesinde etkili ortam pH'sı ve insektisit konsantrasyonu, düşük maliyetli melaslı besiyerinde laboratuvar koşullarında incelenmiştir.

Mayaların endüstrinin pek çok alanında kullanıldığı bilinmektedir. Literatürde zirai topraklardaki pestisit kalıntısı gideriminde bakteri ve fungusların (Kaptan vd. 2000, Sumathi ve Manju 2002, Dursun vd. 2003) kullanılmasıyla ilgili çalışmalara rastlanmasına karşılık, mayaların bu tür alanlarda kullanılmasıyla ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Tez çalışmasında kullanılan *Rhodotorula mucillaginosa* mayasının ağır metal ve boyarmadde içeren atıksuların arıtımında kullanılabileceği bilinmektedir (Ertuğrul vd. 2009, San ve Dönmez 2012).

Kirletici giderim çalışmalarını etkileyen en önemli faktörlerden biri ortam pH'ıdır. Tez çalışmasında *Rhodotorula mucillaginosa* mayasının IMI giderimini denenen üç farklı pH (4, 5 ve 6) değerinde de yapabildiği, en yüksek giderimi ise pH 4'de gerçekleştirdiği görülmüştür. Mayanın artan IMI (16, 22, 40 ve 53 ppm) konsantrasyonlarındaki giderimi araştırıldığında, en yüksek IMI giderimini 16 ppm IMI konsantrasyonunda % 57 olarak, en düşük giderimi ise 53 ppm IMI konsantrasyonunda % 24 olarak gerçekleştirdiği bulunmuştur.

Literatürde topraktan izole edilen *Rhodotorula mucilaginosa* IM-2 mayasının IMI'in dahil olduğu neonikotinoidler ailesinden AAP ve THI insektisitlerini hidrolize ederek IM-3 ve THI amid grubuna dönüştürdükleri gösterilmiştir. Bu çalışmada izole edilen maya ile IMI degradesyonu yapılmamıştır (Dai vd. 2010).

Tez çalışmasında kullanılan *Rhodotorula mucillaginosa* mayası en yüksek IMI giderimini pH 4'de 16 ppm IMI konsantrasyonunda % 57 olarak gerçekleştirmiştir. Bu özelliği ve diğer çalışmalarda belirlenen ağır metal ve boyarmadde giderim özellikleri ile birlikte denemelerde kullanılan mayanın diğer kirleticilerle birlikte IMI içeren atıksuların da biyolojik arıtımında kullanılabilereği sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- Azevedo, A.S.O.N. 1998. Assessment and simulation of atrazine as influenced by drainage and irrigation. An interface between RZWQM and ArcView GIS. Doctor Thesis. Iowa State University, Ames, Iowa.
- Agrawal, A., Pandey, R.S. and Sharma, B. 2010. Water Pollution with Special Reference to Pesticide Contamination in India. *J. Water Resource and Protection*; 2: 432-448.
- Anliker, R. and Clarke, E.A. 1981. Use of the partition coefficient as an indicator of bioaccumulation tendency of dyestuffs in fish. *Chemosphere*. Volume 10, Issue 3, Pages 263-274.
- Anhalt, J.C., Moorman, T.B. And Koskinen, W.C. 2007. Biodegradation of imidacloprid by an isolated soil microorganism. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 42, 509–514 Copyright C _ Taylor & Francis Group, LLC ISSN: 0360-1234 (Print); 1532-4109 (Online) DOI: 10.1080/03601230701391401.
- Anonymous. 1927. <https://de.wikipedia.org>. Mayıs 2015.
- Anonymous. 2001. <http://www.pmra-arla.gc.ca/english/pdf/reg/reg.2001-11>.
- Anonymous. 2015. www.beyondpesticides.org, Mayıs 2015.
- Arias-Este´vez, Periago, m., Martı´nez-Carballo, E. Simal-Ga´ndara, J. Mejuto, J.C. and Garcı´a-Rı´o. L. 2007. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *123 (2008) 247–260*.
- Bacey, J. 2000. Environmental Fate of Imidacloprid. Environmental Monitoring & Pest Management Branch Department of Pesticide Regulation .830 K Street Sacramento, Ca 95814
- Capri, E., Camisa, M.G., Flores-Céspedes, F. Glass, C.R. Gonzalez-Pradas, E. and Trevisan, M. 2001. Imidacloprid and pyrimethanil soil sorption. *Agronomie* 21:57-64.
- Chen, S., Sun, D. and Chung, J.S. 2007. Treatment of pesticide wastewater by moving-bed biofilm reactor combined with Fenton-coagulation pretreatment. *Journal of Hazardous Materials*. Volume 144, Issues 1–2, 1, Pages 577–584.
- Cox, L., Koskinen, W.C. and Yen, P.Y. 1998. Influence of soil properties on sorption-desorption of imidacloprid. *J. Environ. Sci. Health B33(2)*: 123-134.

- Capri, E., Camisa, M.G., Flores-Céspedes, F., Glass, C.R., Gonzalez-Pradas, E. and Trevisan, M. 2001. Imidacloprid and pyrimethanil soil sorption. *Agronomie* 21:57-64.
- Dai, Y. J., Yuan, S.G. and Chen, T. 2006. Microbial hydroxylation of imidacloprid for the synthesis of highly insecticidal olefin imidacloprid. *Appl Microbiol Biotechnol* 71: 927–934
- Dai, Y. J., Chen, T., Zhang, W. J., Liu, Z.H., Ge, F. and Yuan, S. 2010. Metabolism of the Neonicotinoid Insecticides Acetamiprid and Thiacloprid by the Yeast *Rhodotorula mucilaginosa* Strain IM-2. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 58, No. 4
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N. and Johri, A.K. 2002. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Appl Microbiol Biotechnol.* 9:143–152. DOI 10.1007/s00253-002-1024-
- Damalas, C.A. 2009. Understanding benefits and risks of pesticide use. *Scientific Research and Essay.* 4(10): 945-949.
- Devine, G.J. and Furlong, M.J. 2007. Insecticide use: Contexts and ecological consequences. *Agricultural and Human Values.* Volume 24, Issue 3, pp 281-306.
- Dursun, A., Uslu, G. ve Tepe, O. 2003. A comparative investigation on the bioaccumulation of heavy metal ions growing *Rhizopus arrhizus* and *Aspergillus niger*. *Biochemical Engineering Journal*, 2, 87- 92.
- Ertuğrul, S., San, N.O. and Dönmez, G. 2009. Treatment of dye (Remazol Blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters. *Ecological Engineering.* 35:128-134.
- Flores-Céspedes, F., Gonzalez-Pradas, E., Fernandez-Perez, M., Villafranca-Sanchez, M., Socias-Viciano, M. and Urena-Amate, M., D. 2002. Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of imidacloprid in soil. *J. Environ. Qual.* 31:880-888.
- Goring, C.A.I.D., Laskowski, A. Hamaker, J.H. and Meikle, R.W. 1975. Principles of pesticide degradation in soil. *In: Haque, R. and V.H. Freed, eds. Environmental dynamics of pesticides.* pp 135 – 172. Plenum Press, New York.
- Hussain, S., Siddique, T., Saleem, M., Arshad, M. and Khalid, A. 2009. Chapter 5 Impact of Pesticides on Soil Microbial Diversity, Enzymes, and Biochemical Reactions. *Advances in Agronomy.* Volume 102, Pages 159–200.

- Kaptan, I.A. ve Kargı, F. 2000. Atıksulardan tekstil boyarmaddelerinin adsorbsiyonlu biyolojik arıtım ile giderimi. Tubitak journals, 2, 161- 69.
- Krohn, J. and Hellpointner, E. 2002. Environmental fate of imidacloprid. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer. Volume 55, Special Edition.
- Madhuban, G., Debashis, D., Shobhita, S.K. and Saumya, K. 2011. Biodegradation of Imidacloprid and Metribuzin by Burkholderia cepacia strain CH9. Pesticide Res. J. 23, 36–40.
- Mulye, H.S. 1999. Environmental evaluation of imidacloprid insecticide and the end-use product admire 240F. Submission No. 96-2186. Environmental Assessment Division, Pest Management Regulatory Agency, Health Canada.
- Pandy, G., Dorrian, S.J., Russel, J. and Oakeshott, G. 2009. Biotransformation of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiamethoxam by Pseudomonas sp. 1G. Biochemical and Biophysical Research Communications. CSIRO Entomology, GPO Box 1700, Canberra, ACT 2601, Australia.
- Phugare, S.S., Kalyani, D.C., Gaikwad, Y.B. and Jadhav, J.P. 2013. Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its biodegradation metabolites in silkworm. Chemical Engineering Journal 230 27–35
- Rittmann, B.E., Hausner, M., Löffler, F., Love, N.G., Muyzer, G. and Okabe, S. 2006. A Vista for microbial ecology and environmental biotechnology. Environ Sci Technol ;40:1096–103.
- Rouchaud, J., Gustin, F. and Wauters, A. 1994. Soil Biodegradation and Leaf Transfer of Insecticide Imidacloprid Applied in Seed Dressing in Sugar Beet Crops. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 53: 344-350.
- Sampaio, J.P. 2011. Chapter155. Rhodotorula Harrison. The Yeasts (Fifth Edition), Pages 1873-1927.
- San, N.O. and Dönmez, G. 2012. Biosorption Of Chromium(VI), Nickel(II) And Remazol Blue By Rhodotorula mucilaginosa Biomass. Water Science and Technology, 65(3):471-477.
- Sabourmoghaddam, N., Zakaria, M.P. and Omar, D. 2014. Evidence for the microbial degradation of imidacloprid in soils of Cameron Highlands. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.
- Stenersen, J. 2004. Chemical pesticides: mode of action and toxicology. ISBN 0-7484-0910-6. 1. Pesticides--Toxicology. I. Title. RA1270.P4S74 . 615.9'02—dc22.

- Scholz, K., and Spiteller, M. 1992. Influence of groundcover on the degradation of ¹⁴C-imidacloprid in soil. Brighton Crop Protection Conference. Pests and Diseases. pp. 883-888. (Cited in EXTTOXNET 1998)
- Sarkar, M.A., Roy, S., Kole, R.K. and Chowdhury, A. 2001. Persistence and metabolism of imidacloprid in different soils of West Bengal. Pest Management Science. 57:598-602.
- Singh, B.K. and Walker, A. 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 30 (3): 428–471.
- Sabbagh, G.J., Lenz, M.F., Fisher, J.M. and Arthur, E.L. 2002. Significance of binding on imidacloprid degradation in soils, and effects of soil characteristics on imidacloprid adsorption capacity. Report No. 27. Bayer CropScience, Stilwell, Kansas.
- Sumathi, S. and Manju, B.S. 2000. Uptake of Reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*. Enzyme and Microbial Technology. 27, 347- 355.
- Sheets, L.P. 2001. Imidacloprid: A Neonicotinoid Insecticide. Handbook of Pesticide Toxicology. Volume 2. Agnes.
- Tomizawa, M. and Casida, J.E. 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. Annual Review of Entomology. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731.
- Tomlin, C.D.S. 2000. The Pesticide Manual. Twelfth Edition. British Crop Protection Council. Surrey, U.K.
- Wang, L., Liu, B. and Zhou, Z.M. 2009. Research progress in genomics of environmental and industrial microorganisms. *Sci China Ser C: Life Sci* ;52:64–73.
- Young, L.Y. and Haggblom, M.M. 1991. Biodegradation of toxic and environmental pollutants. *Curr Opin Biotechnol* ;2:429–35.
- Yoshida, H. 1989. Hydrolysis of NTN 33893. Yuki Institute, Ibaraki, Japan. 34 pp. Miles Report No. 99708. (Reviewed in Mulye 1995).
- Yıldız, M., Gürkan, M.O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G. 2005. Tarımsal Savaşımında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları, VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, Ankara.

Zhang A, Kayser H, Maienfisch, P. and Casida, J.E. 2000. Insect nicotinic acetylcholine receptor: conserved neonicotinoid specificity of [3H]imidacloprid binding site. *J Neurochem* **75**:1294–1303.

Zheng, W. and Liu, W. 1999. Kinetics and mechanism of the hydrolysis of imidacloprid. *Pesticide Science* 55(4): 482-485.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Somayeh DOOSTI

Doğum Yeri : Naghadeh

Doğum Tarihi : 23/05/1984

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : İran- Metin Lisesi- 2002

Lisans : İran - Zanzan Üniversitesi - Fen Fakültesi - 2006

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri EnstitüsüBiyoloji Anabilim Dalı
(Aralık 2015)