



***BACILLUS SUBTILIS* ve *B. THURINGIENSIS*
İZOLATLARININ BİYOLOJİK İYİLEŞTİRME
POTANSİYELLERİNİN TATLI SULARDA
KONTROLLÜ KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

Ayşe KALAYCI

**Yüksek Lisans Tezi
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Gonca ALAK**

2020

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***BACILLUS SUBTILIS* ve *B. THURINGIENSIS* İZOLATLARININ
BİYOLOJİK İYİLEŞTİRME POTANSİYELLERİNİN TATLI
SULARDA KONTROLLÜ KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

Ayşe KALAYCI

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2020

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

BACILLUS SUBTILIS ve B. THURINGIENSIS İZOLATLARININ BİYOLOJİK İYİLEŞTİRME POTANSİYELLERİNİN TATLI SULARDA KONTROLLÜ KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

Prof. Dr. Gonca ALAK danışmanlığında, Ayşe KALAYCI tarafından hazırlanan bu çalışma ~~12./02/2020~~ 2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (3./0.)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Gülşen ALTUĞ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Recep KOTAN

İmza:

Üye: Prof. Dr. Gonca ALAK

İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu ~~12.03.2020~~ 12.03.2020 tarih ve ~~11./1/58~~ 11./1/58 nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BACILLUS SUBTILIS ve B. THURINGIENSIS İZOLATLARININ BİYOLOJİK İYİLEŞTİRME POTANSİYELLERİNİN TATLI SULARDA KONTROLLÜ KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

Ayşe KALAYCI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gonca ALAK

Günümüzde biyolojik iyileştirme (biyoremediasyon) teknikleri çevre dostu akıllı çözümler olarak su kirliliğinin giderilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Malacosoma neustria* ve *Ricania simulans*'dan izole edilen ve moleküler olarak tanılanan *Bacillus subtilis* ve *B. thuringiensis* izolatlarının yetiştiricilik faaliyetlerine bağlı akuatik kirliliğin giderilmesinde tekli ve çoklu kültürlerinin etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla kalitatif biyoindikatör olarak japon balıklarının (*Carassius auratus*) bulunduğu ortamlar (kullanılmış akvaryum suyu içeren) iki adet kontrol [K (+) kirlilik kontrolünde kullanılan *Bacillus* içerikli ticari bir ürün ve K (-) negatif kontrol olarak herhangi bir ürün/uygulama içermeyen] ve 3 adet bakteri uygulaması [*Bacillus thuringiensis* strain CP-1 grubu, *Bacillus subtilis* strain FD-1 grubu ve *Bacillus thuringiensis* strain CP-1+ *Bacillus subtilis* strain FD-1 grubu)] olmak üzere toplam 15 adet akvaryumdan oluşmuştur. Akvaryum sularında kontrollü koşullarda nitrit azotu, nitrat azotu, amonyum azotu, toplam fosfor ve ağır metal [alüminyum (Al), demir (Fe), kadmiyum (Cd), krom (Cr), bakır (Cu), mangan (Mn), nikel (Ni), bor (B) ve selenyum (Se)] konsantrasyonları ve bazı su kalite parametreleri [çözünmüş oksijen, pH, sıcaklık, iletkenlik, bulanıklık, renk, serbest klor, toplam klor, alkalinite, toplam sertlik] değişimleri araştırılmıştır. Kurulan deney düzeneklerinde *B.subtilis* ve *B. thuringiensis* izolatlarının 1×10^7 kob/ml olacak şekilde tekli ve çoklu kültürlerinin inoküle edildiği ortamlar bu izolatların olmadığı kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş ve ortamlarda yayma plak yöntemi ile toplam aerobik mesofilik bakteri sayımları yapılmıştır.

Deney düzeneklerinde altı gün sonunda *Bacillus* izolatlarının tekli ve çoklu kültürlerinin yer aldığı $17-20 \pm 0,05$ °C sıcaklık, 5,1-8,1 pH, 2- 4,6 mg/l çözünmüş oksijen değerlerine sahip ortamda toplam fosfor değerinde % 2 artış görülürken, amonyak azotu % 4, nitrit azotu % 80, nitrat azotu için % 100 giderim oranı tespit edilmiştir. Ağır metal konsantrasyonlarındaki değişimlerde ise büyükten küçüğe Ni, Cr, Se, Al, Cd, Mn, Fe ve B için sırasıyla % olarak 57, 50, 50, 43, 40, 23, 5 ve 2 oranlarında giderim belirlenmiştir. *B. thuringiensis* izolatının metal gideriminde *B. subtilis*'ten daha etkili olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak *B. subtilis* ve *B. thuringiensis* izolatlarının biyolojik iyileştirmede potansiyel sundukları tespit edilmiştir.

2020, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bacillus, biyolojik iyileştirme, organik kirlilik, su ürünleri yetiştiriciliği, su kalitesi, ağır metal

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINING THE EFFECTIVENESS OF BACILLUS BACTERIA IN REMOVING THE AQUATIC POLLUTION

Ayşe KALAYCI

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Gonca ALAK

Today, biological improvement (bioremediation) techniques are widely used to remove water pollution as environmentally friendly smart solutions. In this study, *Bacillus subtilis* and *B. thuringiensis* isolates, which were molecularly recognized and isolated from *Malacosoma neustria* and *Ricania simulans*, were investigated in terms of the effectiveness of single and multiple cultures in eliminating aquatic pollution related to aquaculture activities. For this purpose, environments with goldfish (*Carassius auratus*) as a qualitative bioindicators (containing used aquarium water) consisted of a total of 15 aquariums, two controls [C (+) is a commercial product containing *Bacillus* used in pollution control and C (-) does not contain any product / application as a negative control] and 3 bacterial applications [(*Bacillus thuringiensis* strain CP-1 group, *Bacillus subtilis* strain FD-1 group and *Bacillus thuringiensis* strain CP-1 + *Bacillus subtilis* strain FD-1 group)]. Nitrite nitrogen, nitrate nitrogen, ammonium nitrogen, total phosphorus and heavy metal [aluminum (Al), iron (Fe), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), manganese (Mn), nickel (Ni), boron (B) and selenium (Se)] concentrations and some water quality parameters [dissolved oxygen, pH, temperature, conductivity, turbidity, color, free chlorine, total chlorine, alkalinity, total hardness] were investigated in aquarium waters. In the established experimental setups, the environments where *B. subtilis* and *B. thuringiensis* isolates were inoculated with single and multiple cultures at 1×10^7 CFU / ml were evaluated comparatively with control groups without these isolates, and total aerobic mesophilic bacterial counts were performed in the media by smear plate method.

At the end of the six days of experiment, in the environment in which single and multiple cultures of *Bacillus* isolates were presented with $17-20 \pm 0.05$ °C temperature and 5.1-8.1 pH, 2-4.6 mg / l dissolved oxygen values, 2% increase in total phosphorus value was observed. On the other hand, 4% removal for ammonia nitrogen, 80% removal for nitrite nitrogen, and 100% removal for nitrate nitrogen were observed. In the changes in heavy metal concentrations, the removal for Ni, Cr, Se, Al, Cd, Mn, Fe and B were observed from highest to lowest as 57%, 50%, 50%, 43%, 40%, 23%, 5% and 2%, respectively. It also has been seen that *B. thuringiensis* isolate was observed to be more effective than *B. subtilis* in metal removal. As a result, *B. subtilis* and *B. thuringiensis* isolates have been found to offer potential in biological healing.

2020, 64 pages

Keywords: Bacteria, bioremediation, organic pollution, aquaculture, water quality, heavy metal

TEŞEKKÜR

Araştırmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde bilgi birikimini, yardımlarını, maddi manevi desteğini benden hiç esirgemeyen ve yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gonca ALAK'a,

Desteğini ve bilgi birikimini benimle paylaşan ve laboratuvar analizlerim esnasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN'a, Sayın Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP'e, Sayın Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU'na ve Sayın Dr. Nesibe TEKİNER'e,

Erzurum Büyükşehir Belediyesi ESKİ Genel Müdürlüğü Arıtma Tesisleri Daire Başkanı Sayın Tayyip ÇUBUKÇU'ya, Su ve Atıksu Kalite Kontrol Laboratuvar Şube Müdürü Sayın Akif TUFANÇLI'ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olup, moral ve motivasyon desteği veren Sayın Doç. Dr. Arzu UÇAR ve Sayın Doç. Dr. Veysel PARLAK'a,

Maddi ve manevi yönden hep yanımda olan başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme en içten dileklerle teşekkür ederim.

Ayşe KALAYCI

Şubat, 2020

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ..... | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | ix |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ..... | 16 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 29 |
| 3.1. Materyal..... | 29 |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriler..... | 29 |
| 3.2. Metot..... | 30 |
| 3.2.1. Deney düzeneklerinde kullanılan bakterilerin geliştirilmesi..... | 30 |
| 3.2.2. Bakterilerin 16S-23S rDNA gen dizilimlerinin belirlenmesi..... | 30 |
| 3.2.3. Deney düzeneğinin tasarlanması ve bakterilerin deney düzeneğine inokülasyonu..... | 31 |
| 3.2.4. Düzeneklerin deneylerle izlenmesi..... | 33 |
| 3.2.4.a. Toplam aerobik bakteri düzeylerinin belirlenmesi..... | 33 |
| 3.2.4.b. Su parametreleri analizleri..... | 33 |
| 3.2.5. İstatistikî analizler..... | 35 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA..... | 36 |
| 4.1. Bakterilerin tanı sonuçları..... | 36 |
| 4.2. Bakteriyolojik sayım sonuçları..... | 38 |
| 4.3. Su kalite parametreleri..... | 42 |
| 4.3.1. Sudaki bazı fiziko-kimyasal analizler..... | 42 |
| 4.3.2. Toplam azot, fosfor ve sülfat değerleri..... | 47 |
| 4.3.3. Sudaki ağır metallerin derişimi..... | 50 |
| 5. SONUÇ..... | 54 |
| KAYNAKÇA..... | 56 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 65 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------------|--|
| μl | Mikrolitre |
| AB | Avrupa Birliği |
| AgNP | Gümüş Nanopartikül |
| Al | Alüminyum |
| AOB | Amonyak Oksitleyici Bakteri |
| APAP | Analjezik İlacın Aktif Bileşeni Olan Asetaminofen |
| ÇOM | Çözünmüş Organik Madde |
| As | Arsenik |
| B | Bor |
| BDE-47 | 2,2',4,4'-Tetrabromodifenil Eteri |
| Bs | Bacillus subtilis strain FD-1 + Japon balığı |
| BSGM | Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü |
| Bt | Bacillus thuringiensis strain CP-1+ Japon balığı |
| Bt+Bs | Bacillus thuringiensis strain CP-1+ Bacillus subtilis strain FD-1 + Japon balığı |
| Ca^{2+} | Kalsiyum |
| CaCO_3 | Kalsiyum Karbonat |
| Cd | Kadmiyum |
| Cfu | Colony-Forming Unit |
| CH_2 | Metilen |
| CO_3^{2-} | Karbonat |
| Cr^{6+} | Krom |
| Cu^{2+} | Bakır |
| CuSO_4 | Bakır (II) Sülfat |
| ÇO | Çözünmüş Oksijen |
| DNA | Deoksiribo Nükleik Asit |
| dNTP | Deoksi-Nüklozid trifosfat |
| EDTA | Etilendiamin Tetraasetik Asit |
| EDX | Enerji Dağıtıcı X-ışını |

| | |
|-------------------------------|--|
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| Fe | Demir |
| Fe ²⁺ | Demir |
| FTIR | Fourier Transform Infrared Spektroskopisi |
| g | Gram |
| GESAMP | Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Pollution |
| HCO ₃ ⁻ | Bikarbonat |
| Hg | Cıva |
| ICP-OES | Endüktif Çiftleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi |
| K (-) | Rutin akvaryum suyu + Japon balığı |
| K (+) | Ticari ürün ve Japon balığı |
| kg | Kilogram |
| KOİ | Kimyasal Oksijen İhtiyacı |
| LB | Loria Broth Besiyeri |
| Mg ²⁺ | Magnezyum |
| MgCl ₂ | Magnezyum Klorür |
| mL | Mililitre |
| Mn ²⁺ | Mangan |
| ms | Milisiemens |
| MIS | Mikrobal Identifikasyon Sistemi |
| N | Azot |
| NA | Nutrient Agar Besiyeri |
| NB | Nutrient Broth Besiyeri |
| NH ₃ | Amonyak |
| Ni ²⁺ | Nikel |
| nm | Nanometre |
| NO ₂ ⁻ | Nitrit |
| NO ₃ ⁻ | Nitrat |
| NOB | Nitrit Oksitleyici Bakteri |
| OAP | Oksidasyon-Azaltma Potansiyeli |
| OATA | Ornamental Aquatic Trade Association |

| | |
|-------------------------------|--|
| OHRB | Organohalide Solunan Bakteri |
| OK | Organik Kirlilik |
| OP | Organofosfat Pestisit |
| PAH | Polisiklik Aromatik Hidrokarbon |
| PBDE | Polibromlu Difenil Eterlerin |
| PZR | Polimerik Zincir Reaksiyonu |
| S | Sülfür |
| Sb | Antimon |
| Se | Selenyum |
| SEM | Taramalı Elektron Mikroskobu |
| SMX | Sülfametoksazol |
| SO ₃ | Kükürt Trioksit |
| SO ₄ ²⁻ | Sülfat |
| SOB | Mixotrofik Sülfid Oksitleyici Bakteri |
| SPSS | Statistical Package for Social Sciences yazılımı |
| TAE | Tris-asetat |
| TN | Toplam Azot |
| TPH | Toplam Petrol Hidrokarbon |
| TÜİK | Türkiye İstatistik Kurumu |
| UV | Ultraviyole |
| XRD | X-ışını Kırınımı |
| Zn ²⁺ | Çinko |
| µS | Mikrosiemens |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1. Organik kirleticilerin genel bozunma süreci | 10 |
| Şekil 4.1. Bacillus izolatlarının dizi analizi sonuçları..... | 37 |
| Şekil 4.2. Bakteri uygulaması yapılan akvaryumlara ait toplam bakteri sayım sonuçları | 39 |
| Şekil 4.3. Deneme ortamlarından alınarak farklı dilusyonlarda hazırlanan su örneklerinde NA besiyerinde inkübasyon sonrası üreyen bakteri kolonilerinin görünümü | 41 |
| Şekil 4.4. Deneme ortamlarına ait 2. ve 4. gün bazı fizikokimyasal su parametre değişimleri..... | 44 |
| Şekil 4.5. Deneme ortamlarına ait 2. ve 4. gün toplam azot, fosfor ve sülfat değişimleri..... | 49 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Çizelge 1.1. Biyoremediasyonu etkileyen faktörler..... | 9 |
| Çizelge 1.2. Biyoremediasyon stratejilerinin özeti | 13 |
| Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları | 29 |
| Çizelge 3.2. Kullanılan primer çiftine ait primer sekansları | 30 |
| Çizelge 3.3. PZR karışımı ve döngüsü..... | 31 |
| Çizelge 3.4. Deney düzeneklerinde yer alan uygulama içerikleri | 32 |
| Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının sekans tanı sonuçları..... | 36 |
| Çizelge 4.2. Deneme ortamlarına ait fiziko-kimyasal özelliklerin değişimleri | 46 |
| Çizelge 4.3. Deneme ortamlarına ait azot fraksiyonları ve toplam fosforun değişimi ... | 47 |
| Çizelge 4.4. Deneme süresince akvaryum ortamlarının metal içerikleri | 53 |

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünyanın en hızlı büyüyen gıda üretim sektörleri arasındadır. Bu sektör yüksek kaliteli protein elde edilmesinde oldukça etkin olup bu bağlamda özellikle de artan deniz ürünleri talebini karşılamaktadır (Mandario *et al.* 2019). Su ürünlerinin, besin içeriği (değerli protein, yağ, mineral ve vitaminler) sayesinde beslenmedeki yararlarının yanı sıra tüketici sağlığının korunmasında da oldukça etkili olduğu bilinmektedir. (Alak ve Kocaman 2008; Yavuzcan vd 2015).

Dünya nüfusu günümüze kadar sürekli artış göstermiş olsa da bu artış özellikle 20. yy'da oldukça önemli bir hal almış ve bir önceki yüzyıla (19.yy nüfus 1 milyar) oranla 6 kat yükselmiştir (Şahin 2018). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre de, son 10 yılda dünya nüfusu 1 milyar artmıştır. Yapılan bu tahminler doğrultusunda protein ihtiyacının karşılanması için su ürünleri üretiminin %50 artırılması gerekmektedir. Ülkemiz sahip olduğu farklı ve zengin su kaynakları sayesinde su ürünleri üretiminde ciddi bir potansiyele sahiptir. Değerli bir besin kaynağı olarak su ürünlerinden etkili bir şekilde yararlanmak, nüfusun giderek arttığı Dünya ve ülkemizde oldukça önem kazanmaktadır. (Yavuzcan vd 2015; Kömürlü ve Atar 2019).

Gıda endüstrisi içerisinde önemli bir paya sahip olan su ürünleri sektörü, insan beslenmesinin yanı sıra bazı önemli ekonomik katkılar (sanayiye hammadde temini, istihdam oluşturması ve ihracat potansiyelinin yüksek olması) da sağlamaktadır (Yavuzcan vd 2015). Türkiye'nin Avrupa Birliği (AB) ülkelerine, tek hayvansal gıda ürünü olarak kültür balığı ihracat ettiği bilinmekle birlikte 2017 yılında yıllık satış rakamlarının 800 milyon doları aştığı bildirilmiştir (Anonim 2020).

Yapılan araştırmalara göre, dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü su ürünleri olup dünya besin gereksiniminin önemli bir kısmını karşılayan temel bir endüstridir (Yavuzcan vd 2015; Kömürlü ve Atar 2019). Su ürünleri üretimi avcılık (balıkçılık) ve yetiştiricilik (kültür balıkçılığı - akuakültür) olmak üzere iki başlıkta toplanmaktadır.

Dünya su ürünleri üretimi (yetiştiricilik ve avcılık) 2000 yılında 130 milyon ton iken, 2016 yılında dünya su ürünleri üretimi 170.995.437 tona ulaşmıştır. Ülkemizde su ürünleri üretimi 2000 yılında 582 bin ton iken, 2016 yılında 588 bin ton, 2017 yılında ise 630.820 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2018; BSGM 2019).

Su ürünleri yetiştiriciliği üretimi, Dünya’da 2000-2016 yılları arasında %136 artış sağlarken, Türkiye’de ise 2002-2017 yılları arasında %354 büyüme sağlayarak ekonomiye ciddi bir katkı sunduğu bilinmektedir (BSGM, 2018; Kömürlü ve Atar 2019). Ülkemizde su ürünleri üretimi, bir önceki yıla oranla %6,56 artarak yaklaşık 631 tona yükselmiştir. Bu üretim miktarının 276.502 tonunu kültür balığı yetiştiriciliği oluşturmaktadır (TÜİK 2018). Su ürünleri sektörü bu rakamlarla ülkemiz ekonomisine önemli katkı sağlar hale gelmiş yaklaşık 1 milyar dolarlık ihracat rakamlarını yakalamıştır (Anonim 2020).

Su ürünleri yetiştiricilik sektörüne giderek artan bir ilginin olmasında başlıca etkenler olarak avcılık yoluyla sağlanan üretimin nüfus ve gelir düzeyindeki artışa cevap verecek potansiyelinin olmaması, su ürünleri talebindeki hızlı artışın karşılanması, dengeli ve sağlıklı beslenme eğilimi, sanayi sektörüne hammadde temini ve yüksek ihracat imkanı, doğal balık stoklarına olan av baskısının azaltılması, istihdam imkanı, kırsal kalkınmaya katkısı, biyolojik çeşitliliğin muhafazasında doğal kaynakların daha etkin yönetimi, bazı tür ve stoklarda aşırı avcılığın görülmesi, avcılığın mevsimsel olması, su kaynaklarından sağlanan üretimin (%71’i sularla kaplı olan dünyamızda) tarımsal üretimle karşılaştırıldığında oldukça düşük olması ve biyoteknolojik gelişmeler sayılmaktadır (Yavuzcan vd 2015; Boran 2018).

Türkiye, sahip olduğu farklı ekolojik özellikler sayesinde (deniz ve içsuları, soğuk /sıcak su balık yetiştiriciliği ve avcılığı), çok sayıda balık türünü bünyesinde bulunduran oldukça zengin çeşitliliğe sahiptir. Bu bağlamda denizlerimize baktığımızda Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz’de sırasıyla 240, 200, 300 ve 500 balık türü bulunmaktadır (Yavuzcan vd 2015).

Dünyada, tatlı su balıklarının ilk olarak modern anlamda akvaryumlarda sergilenmesi 19. yüzyılda İngiltere ve Almanya'da başlamıştır. Daha sonraları akvaryum sektörünün çok daha hızlı gelişimi ise hava taşımacılığı sektörüne paralel olarak artmıştır (Türkmen ve Aktuğ 2011). Ülkemizde ise bu sektöre olan merak 1980'li yıllarda sadece büyük şehirlerden ibaret olmayıp hemen hemen her il hatta son yıllarda ilçelerde bile yayılım göstermiştir. Bu eğilim akvaryum balıklarının çok sayıda ve farklı türlerde ithal edilmesi ile de desteklenmiştir (Türkmen ve Aktuğ 2011).

Akvaryum sektörü, hobi olarak düşünülse de küresel çapta yüksek oranda ekonomik hacim ile önemli bir sektör haline geldiği bildirilmektedir (Aydın 2018). Bu sektör meraklılarının oldukça fazla sayıda olduğu ve özellikle gelişmiş ülkelerde bulunduğu bilinmekle birlikte sadece ABD'de tatlı su akvaryumu bulunduranların sayısı 9,2 milyon, deniz akvaryumu bulunduranların sayısı ise 730.000 olarak tahmin edilmektedir (Anonim 2020a). Bu doğrultuda ilgililerin gereksinimlerini karşılayacak akvaryum balıklarının yetiştiriciliği haricinde bu sektöre yan malzeme sağlayan (tatlısu balıkları, deniz balıkları, omurgasız canlılar, mercan resifleri, su bitkileri ve akvaryum malzemeleri vs.) pek çok iş kolu çıktığı ve bu sektörden yaklaşık bir milyon dolayında insanın para kazanarak yaşamını sürdürdüğü bilinmektedir. Bu sektörde, küresel alanda 100'den fazla ülkede, 1000'den fazla türde yaklaşık 1 milyon civarında akvaryum balığı ihraç edilmekte ve yaklaşık 6 - 15 milyar dolarlık piyasa değerine sahip olduğu tahmin edilmektedir (Aydın 2018). Avrupa Birliği Ülkeleri'nde ise bu miktar, 2016 yılında 78,3 milyon Euro olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir (OATA 2017). Türkiye'de de akvaryum balıkları yetiştiriciliği giderek önem kazanmakta ve yüksek ekonomik getirisi olan bir iş kolu haline gelmektedir.

Akvaryum balıkları içerisinde Japon balıkları (*Carassius auratus*, Linnaeus 1758) ilginç vücut yapıları ve renkleri (beyazdan kırmızıya kadar değişen) ile yüksek oranda talep gören bir türdür (Yılmaz 2012). *Carassius auratus* Asya ve Avrupa'da yaygın olarak bulunan bir türdür (Yılmaz 2012; Küçükosman 2019).

Bu balıklar akıntı hızı yavaş, bitkili ve ılıman sulu nehir, göl, lagün, havuz ile akvaryumlarda yetiştirilmektedir. Bakımları birçok türe oranla daha kolay olan güzel yapılı bu canlılar oldukça yüksek oranda ilgi toplamaktadır (Küçükosman 2019).

Genel olarak Japon balıkları ılık ve az soğuk sularda yaşayabilen bir türdür. Bu balıkların su sıcaklık değerinin 5- 30°C, pH aralığının da 6.5-8.5 [hafif asitli ve orta sertlikteki sulardan hoşlanırlar] arasında olduğu değerlerde yetiştiricilik şartları optimum olarak düşünülür (Yılmaz 2012; Küçükosman 2019).

Su ürünleri yetiştiriciliği, üretim kapasitesine, yetiştiricilik metodunun çeşidine, yetiştiricilik yapılan alanın biyolojik, kimyasal ve fiziksel karakterine bağlı olarak çevreye etki edebilmektedir (GESAMP 1991; Yıldırım ve Korkut 2004; Koca vd 2011). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, bu etkinin ekosistemde çok az olumsuz sürece neden olduğu kabul edilmektedir (Koca vd 2011).

Ancak su ürünleri yetiştiriciliği faaliyetlerinden kaynaklanan deşarjlar, sucul ekosistemlerde yüksek miktarda askıda katı madde birikimine yol açarak bu ekosistemleri olumsuz etkilediği de bildirilmiştir (Ackefors and Enell 1994; Axler *et al.* 1996; Read and Fernandes 2003). Aynı zamanda organik çamur, alg ve bakteri biyokütlesini içeren su ürünleri atıklarının birikmesi (Brune *et al.* 2003), su ve tortunun fiziksel ve kimyasal bileşimini değiştirerek sucul canlıları ve bentik çevreyi olumsuz etkiler (Holmer *et al.* 2003; Kalantzi and Karakassis 2006; Soto 2009). Su ürünleri atıklarından çıkan deşarjlı besinler ve organik maddeler alıcı su kütlelerini kirletebilir ve ötrofikasyona neden olabilir (San Diego-McGlone *et al.* 2008; Tucker and Hargreaves 2008). Ötrofikasyonun başlıca nedenleri; üretim alanlarının genişlemesi, yetiştiricilikte stok yoğunluğu ve yem kullanımının artmasıdır. Yetiştiricilik kaynaklı organik maddeler taşındıkları ortamlarda anoksik koşullar geliştirebilir ve bentik organizmaların ekolojisini olumsuz etkiler (Gowen and Bradbury 1987; Kristensen 2001). Su ürünleri sektöründe toplam endüstriyel işlenmiş yem üretimi 1995 yılında 7,6 milyon tondan 2010'da 35 milyon tona, yıllık ortalama %11'lik bir büyüme oranına ulaşmaktadır.

Ayrıca, bu büyümenin devam etmesi ve akuatik yem üretiminin 70 milyon tona ulaşması beklenmektedir (Tacon 2012; Tacon *et al.* 2012; Dikel ve Demirkale 2019). Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan yemler genel olarak fosfor (%0,9-1,5) ve azot (%7-8) ihtiva etmektedir. Ancak balık türlerine göre değişmekle beraber yemlerle alınan azot miktarı yaklaşık %20-30 civarında olup, geri kalan oran (%70-80) ise suya geri atılmaktadır (Yıldırım ve Korkut 2004).

Bu fosfor ve azotun yanı sıra organik maddeler ve askıdaki katı maddeler de balık çiftliklerinde kirliliğe neden olan etkenlerdendir (Yıldırım ve Korkut 2004; Koca vd 2011). Proteinler, lipitler ve karbonhidratlar gibi yemle alınan besinler balık tarafından tamamen sindirilmeyip (bir kısmı hiç sindirilmeden veya az oranda sindirilerek) dışkı yolu ile su ortamına atılır (genel olarak balıklar aldıkları her 1 kg yemin (besinin) 260 g'ını dışkı olarak suya bırakmaktadır). Yemden kaynaklanan azot bazlı atıkların miktarını, önemli ölçüde yemin aminoasit kompozisyonu belirler. Balık beslemede yemlerin yüksek oranda protein içermesi, hızlı aminoasit katabolizması sonucunda amonyak (NH_3), nitrit (NO_2^-), nitrat (NO_3^-) gibi azotlu bileşiklerin su ortamında oluşmasına ve azot (N) yükünün artmasına neden olmaktadır (Yıldırım ve Korkut 2004). Su ürünlerinde zengin içerikli yemlerin kullanımı ile bu bileşikler ortamda artarak kirlilik yükünü teşvik edici yönde hareket edererek kısa süre içerisinde toksik forma dönüşüp balıklar için ciddi sağlık sorunlarına neden olurlar. Bunun yanı sıra dekompozisyonları durumunda buldukları ortamda kötü koku ve görsel kirlilik oluştururlar (Koca vd 2011). Kapalı havzaların su kalite kriterlerinde meydana gelen değişimler, ışık geçirgenliğindeki azalma, besin elementi içeriği, elektrik iletkenliği ve klorofil-a miktarlarındaki artış üzerinde ötrofikasyonun etkili olabileceği belirtilmiştir (Koca vd 2011).

Yukarıda bahsedildiği üzere, yüksek potansiyele sahip su ürünleri yetiştiricilik sektörünün girdilerinde üretim aşamasında en önemli kalemi yem, sonraki aşamada ise atık su kontrolünde arıtma sistemleri ve bunların kimyasal bileşenleri oluşturmaktadır.

Yem maliyetlerinin düşürülmesi adına alternatif kaynakların araştırıldığı çok sayıda çalışma (Mo *et al.* 2020; Vera *et al.* 2019; Santos *et al.* 2019; Pradhan *et al.* 2020) bulunmasına rağmen su ürünleri yetiştiriciliğinde atık yönetiminin ekonomisi ve ekolojisi ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Hâlihazırda bu amaçla kullanılan sentetik içerikli bileşimler marka ve içeriğe bağlı olarak etkinliği ve fiyatı değişmekle birlikte genellikle pahalı (Örneğin ticari bir markanın 1000 g'ı 335 \$) ürünlerdir.

Su ürünleri atıklarından kaynaklanan organik kirlilik (OK), sülfür (S) ve demir (Fe) miktarını arttırır ve sediment pH'sını düşürür. Balık havuzu ortamında, yüksek OK'nin aşırı yemlerden ve fekal atıklardan ayrışması, anaerobik koşul oluşturan mikroorganizmalar tarafından çözülmüş oksijen (ÇO) için yüksek talebe yol açabilir. Anoksik koşullar altında S, sülfat indirgeyici bakteriler tarafından sülfüre indirgenerek su kolonuna ulaşabilir. Bu durum balıklar ve diğer su organizmaları için toksik özellik oluşturur. Ayrıca sülfür, pirit olarak bilinen çözünmeyen demir sülfürleri oluşturmak için reaktif demir bileşikleri ile reaksiyona girebilir (Mandario *et al.* 2019). Pirit oksitlendiğinde sülfürik asit salar ve asit-sülfat tortusu olarak adlandırılır. Çökeltide demirin varlığının, çökeltideki su akışını ve hava girişini de engelleyen “paslı lavabo” (Lalonde *et al.* 2012) olarak adlandırılan organik karbonun korunmasını desteklediği bildirilmiştir (Fruzińska 2011). Bu nedenle, çift kültürlü filtrasyon kullanımı (Jones *et al.* 2001), polikete destekli kum filtreleri (Palmer 2010), inşa edilmiş sulak alanlar (Buhmann and Papenbrock 2013) ve çökeltme havzaları gibi su ürünleri atıklarının işlenmesi için birçok strateji uygulanmıştır.

Bozulan doğal dengeyi tekrar kurabilmek ve toprak/su kaynaklarının temizlemesini sağlamak amacıyla mevcut arıtma sistemlerinde görülen yetersizlikleri gidermede etkili olabilecek ileri arıtım yöntemleri geliştirilmiştir. Biyoremediasyon en temel ve en önemli olan, üzerinde oldukça yoğunlaşılacak hem çevre dostu hem de ekonomik avantajları ile bu yöntemlerden biri olmuştur. Biyoremediasyon (biyoyileştirme), mikroorganizmalar vasıtasıyla, organik ve inorganik kirliliğin (metalik ve radyonüklid kirliliği) yıkıma uğratılmasını sağlayan ve çevre kirliliğini azaltmada gelecek vadeden bir yöntemdir.

Bunların yanı sıra, maliyet verimliliği ve ikincil kirletici riskinin azalması nedeniyle de küresel olarak uygulanan bir çevresel restorasyon yöntemidir (Özer 2011; Adams *et al.* 2015; Vural vd 2018; Nie *et al.* 2020). Bu avantajlar nedeniyle, çevreyi eski haline getirmede alternatif yaklaşımlar arasında biyoremediasyon teknolojisi birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir (Gou *et al.* 2020; Nie *et al.* 2020). Bu yöntemin aynı zamanda biyoteknolojik iyileştirme yöntemleri arasında yer alması verimli, ekonomik, çok yönlü ve çevreye duyarlı bir çözüm olarak kabul edilmesini sağlamıştır (Margesin and Schinner 2001; Vural *et al.* 2018; Gou *et al.* 2020).

Biyolojik iyileştirme, özellikle kirlenmiş toprak ve su alanlarında doğal biyolojik aktivite kullanarak çeşitli kirleticileri yok etme veya zehirli, bozulmayan bileşiklerin, toksik olmayan ürünlere verimli bir şekilde dönüştürülmesi imkanı sunan bir seçenektir. Bu nedenle, yüksek bir kamu kabulüne sahip olan ve genellikle sahada gerçekleştirilebilen nispeten düşük maliyetli, düşük teknolojili teknikler kullanır. Bununla birlikte, üzerinde etkili olduğu kirletici madde aralığının sınırlı olması, zaman ölçekleri nispetinin uzun olması ve elde edilebilen atık kirletici seviyelerinin her zaman uygun olmaması da söz konusudur. Kullanılan yöntemler teknik olarak karmaşık olmasa da, başarılı bir biyoremediasyon programı tasarlamak ve uygulamak dikkate değer deneyim ve uzmanlık gerektirmektedir. Yine kapsamlı ve tatmin edici bir sonuç elde etmek için koşulların optimize edilmesi gerekir. Bilgi ve deneyim kazandıkça gelişen biyolojik iyileştirmede belirli türdeki çevre kirliliği ile başa çıkmak için potansiyel artmaktadır. Biyolojik iyileştirme, çevresel kirleticileri daha az toksik formlara indirgemek için başta mikroorganizmalar olmak üzere canlı organizmaların kullanılmasıdır. Doğal ortam bakterileri, insan sağlığı ve / veya çevre için tehlikeli maddeleri parçalayan veya detoksifiye eden funguslar veya bitkiler de kullanılmaktadır (Vidali 2001; Vural vd 2018). Çoğu biyoremediasyon sistemi aerobik koşullar altında çalıştırılırken, anaerobik koşullar altında çalıştırmak da mikrobiyal organizmaların inatçı molekülleri parçalamasına izin verir (Colberg and Young 1995). Atık su arıtımında doğal biyolojik iyileştirme kullanılmasına rağmen tehlikeli atıkların azaltılması yönünde bilinçli bir şekilde kullanım güncel bir gelişme olarak kaydedilmiştir (Adams *et al.* 2015).

Tüm dünyada biyoteknoloji alanında kaydedilen gelişmeler sayesinde yapılan çalışmalarda yeni disiplinlerin gelişimine yönelik eğilimler oluşmuştur. Bu disiplinler arasında "Blue Biotechnology" olarak tanımlanan ve deniz alanlarında/denizel biyotada yapılan çalışmalar hızlı bir gelişim sağlayarak özellikle bakterilerin kullanıldığı iyileştirme çalışmaları (bacterial bioremediation) araştırmacılar için ilgi odağı olmuştur (Altuğ 2016).

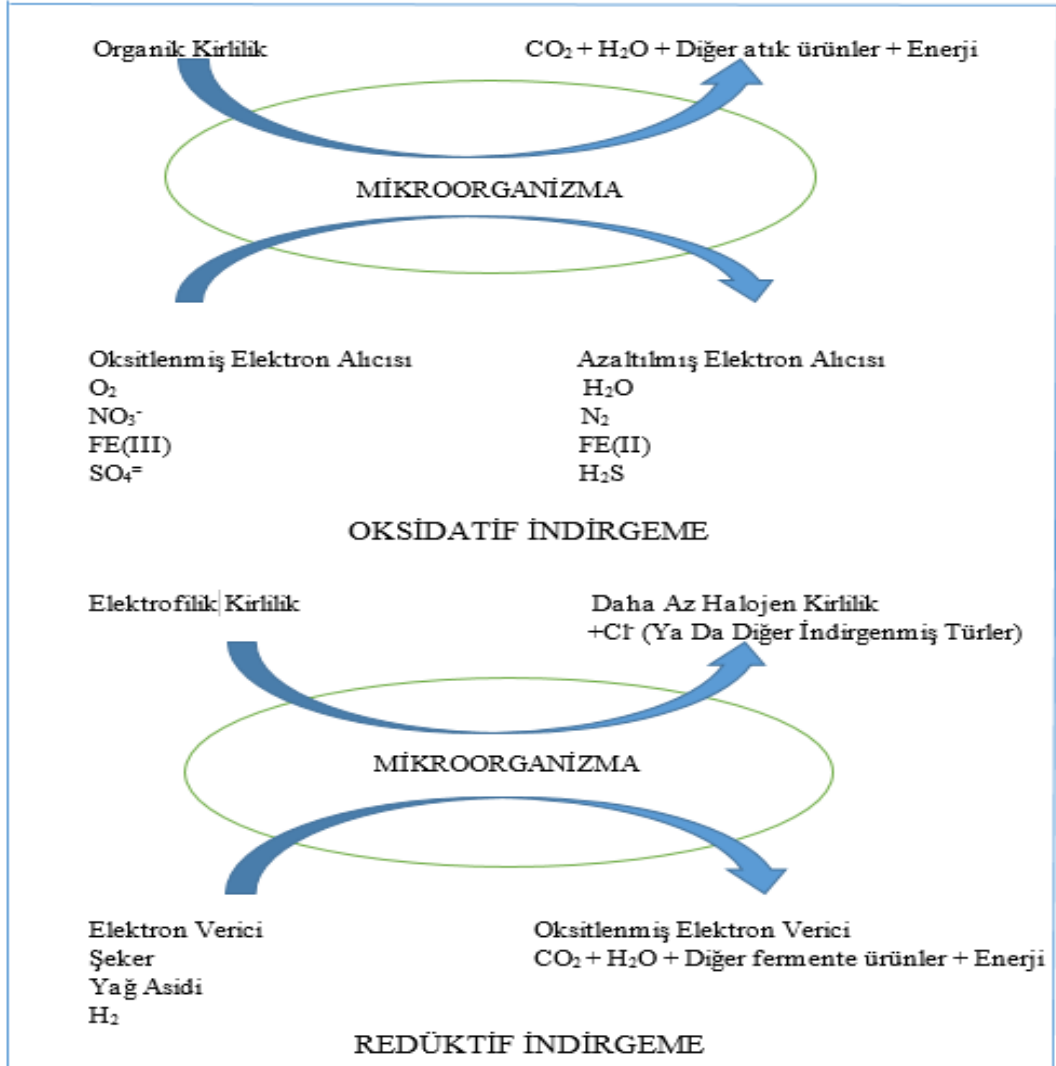
Biyoremediasyon, mikrobiyal hücreler içinde bir redoks reaksiyonunda enerji üretimini içerir. Bu reaksiyonlar; solunum, hücre büyümesi ve çoğalması için gerekli diğer biyolojik fonksiyonları içerir (Adams *et al.* 2015). Biyoremediasyon süreçlerinin kontrolü ve optimizasyonu birçok faktörün karmaşık bir sistemidir. Bu faktörler; kirleticileri parçalayabilen bir mikrobiyal popülasyonun varlığı, mikrobiyal popülasyonda kirleticilerin mevcudiyeti ve çevre faktörlerinden [toprak tipi, sıcaklık, pH, oksijen, nitrat ve sülfat gibi elektron alıcılarının ve besin maddelerinin (başta azot ve fosfor) varlığı] oluşur (Vidalı 2001; Adams *et al.* 2015). Genellikle bu sistemin çalışması için bir enerji kaynağı (elektron verici), bir elektron alıcısı ve besinler gibi etkenlerden birini veya birkaçını sağlayan bir iletim sistemi gereklidir (Adams *et al.* 2015).

Biyolojik iyileştirme tekniklerinde kirleticilerin başarılı bir şekilde zararsız ürünlere dönüştürmeleri için mikroorganizmaların kirletici maddelere enzimatik olarak saldırması, parçalamada etkin olan mikroorganizmaların kirletici maddelerle yakın ilişkide olması gerekmektedir (Adams *et al.* 2015; Vural *et al.* 2018). Yine bu amaçla kullanılacak mikroorganizmaların büyümelerinin teşvik edilmesi (Ceyhan ve Esmeray 2012; Vural *et al.* 2018) ve popülasyonu mevcut değilse/yetersizse, mikroorganizmaları kirletici maddelerle temas ettirmek gibi tekniklerin geliştirilmesi gerekmektedir (Vural vd 2018). Kirleticilerin bulunduğu alana besin aktarımı yapılması veya ortama yeni mikroorganizma aktarılmasıyla mevcut popülasyonun artırılması da mümkün olmaktadır (Ceyhan ve Esmeray 2012; Vural *et al.* 2018). Biyoremediasyonu etkileyen faktörler Çizelge 1.1'de verilmiştir (Dindar vd 2010; Gül ve Yavuz 2018).

Çizelge 1.1. Biyoremediasyonu etkileyen faktörler

| Uygun kimyasal ve biyolojik faktörler | Uygun hidrojeolojik faktörler | Uygun olmayan kimyasal ve biyolojik faktörler | Uygun olmayan hidrojeolojik faktörler |
|---------------------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------------------|
| Az sayıda organik kirlilik | Granüler boşluklu alan | Birçok organik ve inorganik kirleticilerin karışımı | Kırık kayalar |
| Aşırı toksik olmayan kirleticiler | Yüksek permeabilite (10^{-4} cm/s) | Toksik kirleticiler | Düşük permeabilite |
| Mikroorganizmaların çeşitliliği | Uniform mineroloji | Düşük mikrobiyal popülasyon | Kompleks mineroloji |
| Oksidasyon için uygun elektron alıcı | Homojen alan | Oksidasyon için elektron alıcısı yokluğu | Heterojen alan |
| Uygun pH aralığı | Doyurulmuş tabaka | Uygun olmayan pH aralığı | Doyurulmamış tabaka |

Biyoremediasyona oksijen, nitrat, manganez, demir (III), sülfat veya karbon dioksit azaltıcı ve bunların karşılık gelen redoks potansiyelleri gibi farklı tiplerde mikrobiyal elektron alıcı sınıflar dahil olabilir. Redoks potansiyelleri, elektron alıcı sınıflarının göreceli baskınlığının bir göstergesidir. Organik kirleticilerin genel bozunma süreçleri Şekil 1.1’de verilmiştir (Adams *et al.* 2015).



Şekil 1.1. Organik kirleticilerin genel bozunma süreci

Biyoremediasyon Çeşitleri

Biyoremediasyon çevresel biyoteknoloji kapsamında ele alınır. Bu metotun her geçen gün gelişerek toksik madde sayısına göre uygulanan biyoremediasyon teknikleri ile artacağı umulmaktadır (Vural vd 2018). Biyoremediasyonun yapılabirliğinde kirleticilerin bulunduğu yer önemli rol oynar (Adams *et al.* 2015). Bu teknik, yerinde (*in-situ*), uzaktan (*ex-situ*) ve kombine biyoremediasyon tekniği olmak üzere 3 ana sınıfta incelenir (Vidalı 2001; Adams *et al.* 2015; Vural vd 2018).

Yerinde teknikler, sahadaki toprak ve yeraltı suyuna minimum rahatsızlık ile uygulanan teknikler olarak tanımlanmaktadır. *Ex situ* teknikler; kazı (toprak) veya pompalama (su) ile çevreden uzaklaştırılan toprak ve yeraltı suyuna uygulanan tekniklerdir. Biyo-büyütme teknikleri ise, kirleticileri parçalama kabiliyetine sahip mikroorganizmaların eklenmesini içerir (Vidalı 2001). Biyoremediasyon stratejilerinin özeti Çizelge 1.2' de sunulmuştur (Vidalı 2001).

Yerinde (*in-situ*) Biyoremediasyon Tekniği: Bu teknik, biyolojik filtreler, biyolojik arıtma ve biyolojik uyarılma konularını içermektedir (Vural vd 2018). Bu teknikler, kontaminantların kazılması ve taşınması olmadan yerinde iyileştirme sağladıkları için daha düşük maliyet ve kolaylık nedeniyle genellikle en çok tercih edilen seçeneklerdir. Yerinde işlem, etkili bir şekilde işlenebilen toprağın derinliği ile sınırlıdır. Birçok toprakta, istenen biyolojik iyileştirme oranları için etkili oksijen difüzyonu 60 cm' ye kadar uzanır (Vidalı 2001; Adams *et al.* 2015). Bu teknik yaygın olarak halojen olmayan yarı uçucu organiklerin giderilmesinde uygulanmaktadır (Dindar vd 2010). En önemli saha uygulamaları:

- a. Bioventing:** En yaygın yerinde iyileştirme tekniğidir. Bu teknikte yerli bakterileri uyarmak için kuyulardan kirlenmiş toprağa hava ve besin geçişi sağlanır.
- b. Yerinde biyo-bozunma:** Doğal olarak oluşan bakterileri organik kirleticileri parçalamak üzere uyarmak için sulu çözeltilerin kontamine topraklarda dolaştırılması yoluyla oksijen ve besin maddelerinin ortama kazandırılmasını içerir. Toprak ve yeraltı suyu için kullanılabilir.
- c. Biosparging:** Yeraltı suyu oksijen konsantrasyonlarını arttırmak ve doğal olarak oluşan bakteriler tarafından kirleticilerin biyolojik bozulma oranını arttırmak için su tablasının altına basınçlı hava enjeksiyonu uygulamasını içerir. Biosparging doymuş bölgedeki karışımı artırır ve böylece toprak / yeraltı suyu arasındaki teması artırır.
- d. Bioaugmentation:** Sıklıkla kontamine bölgelere yerli veya eksojen mikroorganizmaların eklenmesini içerir.

Uzaktan (*ex-situ*, ortam dışı) Biyoremediasyon Tekniği: Bu teknik; kompostlama, arazi düzeltme, biyolojik yığınlama ve biyoreaktörler yöntemlerini içerir (Vural vd 2018). Kirli toprakların taşınması veya kirli suların biyoremediasyon bölgesine pompalanması bu tekniğin uygulamalarıdır (Gül ve Yavuz 2018). Teknikte kazı yapıldıktan sonra taşınımın söz konusu olması ekonomik yönden dezavantaj oluşturmaktadır. Uzaktan (*ex-situ*) biyoremediasyon teknikleri ise;

a. Tarla tarımı, kirlenmiş toprağın kazılarak hazırlanmış bir yatak üzerine yayıldığı teknikte, kirleticiler bozulana kadar periyodik olarak işlem devam ettirilir. Basit bir teknik olup, amaç ortamdaki biyobozunur mikroorganizmaları uyarmak ve kirleticilerin aerobik bozulmalarını kolaylaştırmaktır.

b. Kompostlama, kirlenmiş toprağın gübre veya tarımsal atıklar gibi tehlikeli olmayan organik bileşenlerin birleştirilmesini içeren bir tekniktir.

c. Biopiles, tarım ve kompostlama karışımından oluşan bir teknik olup, esasen, tasarlanmış hücreler, havalandırılmış kompost yığınları olarak inşa edilir.

d. Biyoreaktörler (bulamaç reaktörler veya sulu reaktörler), kirlenmiş toprağın ve kirlenmiş bir ortamdan pompalanan suyun *ex-situ* iyileştirilmesi için kullanılır. Reaktörlerde biyoremediasyon, kontamine olmuş katı materyalin (toprak, tortu, çamur) veya suyun karışımı şeklinde bir muhafaza sistemi yoluyla işlenmesini içerir.

Kombine Biyoremediasyon Tekniği: Kolay bozulmayan, karmaşık ve inorganik bileşik karışımları içeren tehlikeli atık alanları (hastane atıkları, radyoaktif atıklar, arıtım çamurlarının döküldüğü alanlar gibi) için önerilen bir tekniktir (Ceyhan ve Esmeray 2012).

Çizelge 1.2. Biyoremediasyon stratejilerinin özeti

| Teknoloji | Örnekler | Avantajlar | Sınırlamalar | Dikkate Alınması Gerekenler |
|----------------|---|--|---|--|
| <i>In-situ</i> | <i>In-situ</i> biyoremediasyon Biyo-serpme Biyolojik havalandırma Biyoaugmentasyon | En uygun maliyetli yayılmacı olmayan Nispeten pasif doğal zayıflama süreçleri Toprak ve su iyileştirmesi | Çevresel kısıtlamalar Uzatılmış iyileşme süresi İzleme zorlukları | Yerli mikroorganizmaların bozunma yetenekleri Metallerin ve diğer inorganiklerin varlığı Çevresel parametreler Kirleticilerin biyolojik olarak parçalanabilirliği |
| <i>Ex-situ</i> | Alan işleme Kompost Biyopiles | Düşük maliyetli Yerinde yapılabilirlik Düşük etkili | Mekan gereksinimleri Uzatılmış iyileşme süresi Abiyotik kaybını kontrol etme ihtiyacı Biyoyararlanım sınırlaması | Yukarıya bakınız |
| Biyoreaktörler | Bulamaç reaktörleri Sulu reaktörler | Hızlı bozunma kinetiği optimize edilmiş Çevresel parametreler Toplu aktarımı geliştirir Aşılardan ve yüzey aktif maddelerin etkili kullanımı | Toprak kazı gerektirir Nispeten yüksek maliyetli sermaye Nispeten yüksek işletme maliyeti | Yukarıya bakınız Biyoaugmentasyon Değişikliklerin toksisitesi Zehirli madde konsantrasyonu |

Biyoremediasyon Sürecinde Yer Alan Organizmalar:

Biyoremediasyon tekniğinde bitki ve mikroorganizmaların rol aldığı bilinmektedir. Bu teknikte kirleticilerin bulunduğu yerde doğal olarak bulunan ya da dışarıdan inoküle edilen mikroorganizmalar en çok tercih edilen ajanlar olarak yüksek potansiyele sahiptir (Prescott *et al.* 2002; Vural vd 2018). Mikroorganizmalar hızlı büyüme özelliğine sahip olmaları, kolay kullanımları ve düşük maliyetleri nedeniyle biyoremediasyon tekniğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda bakterilerin tekli ve çoklu kültürleri veya biyotransformasyon enzimlerinin araştırılması üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Ergüven 2019; Nie *et al.* 2020).

Bazı biyoremediasyon proseslerinde birtakım bakteriler kullanılmıştır. Bu bakterilerden *Pseudomonas*'lar ve *Methanobakter*'ler biyoremediasyon sürecine katılan

mikroorganizmalar olup, diğer organizmalarla (mikroorganizma, fungus, bitki gibi) birlikte, iyileştirme işlemine tabi tutulmuşlardır. Bakteriler anaerobik ve aerobik metabolizmaları sayesinde toksik metalleri, aromatik bileşikleri, pestisitler gibi ksenobiyotikleri çok basamaklı prosesler ile uzaklaştırmaktadırlar (Özer 2011).

Bacillus Tipi Mikroorganizmalar

Bakteriler arasında Bacillus cinsi bakteriler biyolojik iyileştirmede dikkat çeken mikroorganizmalardandır. Antibiyotik, enzim ve toksin üretimi gibi metabolik özellikleri ile kolay üretilen ve endüstriyel öneme sahip mikroorganizmalardır (Uzunalioglu 2015). Bacillus cinsi 70'den fazla Gram pozitif bakteriyel tür içerir. Etkileyici fizyolojik çeşitliliği ve sporlarının elverişsiz koşullara karşı yüksek direnci, bu bakterilerin çok çeşitli doğal yaşam alanlarında yaygın olarak bulunma nedenidir (Selenska-Pobell *et al.* 1999). *Bacillus thuringiensis* (Bt) ve *Bacillus subtilis* (Bs) her yerde bulunan, spor oluşturan Gram pozitif bakterilerdir. Bt entomokidal proteinler içeren kristalin inklüzyonlar, ayrıca sporülasyon işlemi sırasında Bt toksinleri veya endotoksinler olarak da adlandırılır (Chandrasekaran *et al.* 2015). Bt sporları ve protein kristalleri içeren preparatlar 1970'lerden beri mikrobiyal pestisitler olarak kullanılmaktadır (Navon 2000; Inatsu *et al.* 2006). Bt suşları her biri farklı konakçı aralıkları ile çeşitli kristal proteinler üretir (Chandrasekaran *et al.* 2015). Heterotrof olan *B. thuringiensis*'in hayvan ve insan sağlığı açısından hedef dışı canlılara toksik olmadığı yönünde güvenilirlik testleri bulunmaktadır (Uzunalioglu 2015). *B. subtilis*(Bs); Bacillaceae familyasının Bacillus cinsine ait toprak, su, hava ve çürüyen bitki artıklarından izole edilen ve her yerde bulunabilen bir bakteridir. 20-30 °C'de üreyen, oksijenli solunum (veya geçici oksijenli solunum) yapan bir bakteri cinsidir. Vejetatif şekilleri dayanıksız olmasına rağmen, sporları bazen kaynama derecelerinde birkaç saat dayanabilmektedir (Piggot and Hilbert 2004; Yonsel 2010).

Bu bakteri AB ve ülkemizde çeşitli yönetmeliklerde kullanımına izin verilmiş oldukça farklı alanlarda (gıda, yem ve tarım sanayinde) değerlendirilen bir mikroorganizmadır (Yonsel 2010). Özellikle son yıllarda, bakterilerin biyoremediasyon ajanları olarak

kullanılmasına yönelik çalışmalara ilgi artmaktadır (Özer 2011). *Bacillus sp.* bu konuda en umut verici bakteri grubu olarak ortaya çıkmaktadır. Bunun yanısıra bu bakterilerin sucul ekosistem kirliliklerinde kullanımı ve remediasyon mekanizmasına dair bilgiler oldukça sınırlı olup su ko-kontaminasyonlarının bozulma süreci ve yolu üzerindeki potansiyel etkileri ya hiç değerlendirilmemiş ya da sınırlı birkaç parametre ile çalışılmıştır. Tüm dünyada su ürünleri yetiştiriciliğinde de en etkili süreçlerden biri atık su yönetimidir. Bu amaçla bugüne kadar sentetik ve/veya biyolojik birçok yöntem kullanılmasına rağmen hızla artan çevre problemleri, kimyasal kalıntılar, ekolojik dengenin bozulması ve kullanılan tekniklerin arıtımda yüksek maliyetli ya da kalifiye iş gücü gerektirmesi gibi nedenlerden dolayı insanlar alternatif remediasyon kaynaklarına yönelmiştir. Mikroorganizmaların biyoremediasyon, biyogübre ve biyopestisit olarak kullanımları ülkemiz için yeni olmamasına rağmen, bu konulardaki çalışmalar farklı mikroorganizmaların devreye alınması ve özellikle de yerli izolatların kullanımıyla geliştirilerek devam etmektedir. Bu alanda yapılan birçok çalışmada, mikroorganizmaların izolasyonu, gelişim şartları ve ksenobiyotiklere (ağır metal/büyüme üzerinde etkili olan maddeler, antibiyotikler) karşı direnç mekanizmaları biyoteknolojik ve çevresel uyumun yanı sıra remediasyon potansiyelleri de farklı ortamlarda ve bakterilerle araştırılmıştır (Altuğ and Bayrak 2003; Altuğ and İçöz 2005; Altuğ *et al.* 2006; Altuğ 2008; Altuğ and Okgerman 2008; Barlas Turan and Altuğ 2011; Çardak and Altuğ 2014).

Bu çalışmada, yerli izolatların kullanımı ile kontrollü şartlar altında yetiştiricilik kaynaklı (yem atığı, dışkı vb) oluşan kirlilik etmenlerinin giderilmesinde *Bacillus thuringiensis* ve *B. subtilis*'in biyolojik iyileştirme potansiyellerinin; toplam azot, nitrit, nitrat, fosfor, sülfat düzeyleri ile bazı fizikokimyasal su parametreleri [çözünmüş oksijen, pH, sıcaklık, iletkenlik, bulanıklık, renk, serbest klor, toplam klor, alkalinite, toplam sertlik] ve ağır metal [alüminyum (Al), demir (Fe), kadmiyum (Cd), krom (Cr), bakır (Cu), mangan (Mn), nikel (Ni), bor (B) ve selenyum (Se)] konsantrasyonları üzerine remediasyon etkileri araştırılarak ileri çalışmalar için ön veri oluşturulmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Chen *et al.* (2018), genellikle sucul ekosistemlere deşarj edilen polibromlu difenil eterlerin (PBDE's), farklı besin seviyelerine sahip atık sulara mikrobiyal bozunmasını araştırmak amacıyla kontamine tortularda 2,2 ', 4,4'-tetrabromodifenil eteri (BDE-47) farklı besin özelliklerine sahip üç atık suya (atık su, belediye kanalizasyon ve karides gölet atık suyu) bırakarak anaerobik bir mikrokozmos deneyi ile değişimini incelemişlerdir. Karbon ve azot konsantrasyonları düşük olan belediye kanalizasyon sularında BDE-47'nin nispeten hızlı, buna karşın daha yüksek besin konsantrasyonlarına sahip atık su ve karides gölet atık sularında ise çok daha yavaş bozunduğunu tespit etmişlerdir. Atık sulardaki BDE-47 giderimindeki farklılıkların, demir azaltma oranları ve organohalide solunan bakterilerin (OHRB) varlığı/bolluğu ile ilgili olduğunu ifade etmişlerdir. Diğer remediasyon çalışmaları ile karşılaştırıldığında, PBDE degradasyon yeteneklerine sahip bazı bakteri gruplarının, atık sulara PBDE degradasyon etkinliklerinin daha yüksek olduğunu kaydetmişlerdir.

Maden yataklarından izole edilen bazı bakterilerin ağır metallerin (Cu (bakır)-Pb (kurşun)- Zn (çinko)) biyoremediasyonunda kullanılabilme potansiyellerinin araştırıldığı çalışmada; yedi farklı bakteri izolatu topraktan hazırlanan kültür ortamlarından izole edilmiştir. Mikrobiyolojik teknikler ile saf kültür haline getirilen bakterilerden ağır metal absorbe edebilen türler (*Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas stutzeri* ve *Pseudomonas luteola*) kültür yapılarak çoğaltılmıştır. Ardından elde edilen bakteri izolatlarının tekli ve sinerjik etkisi ile topraktaki ağır metaller (Cu-Pb-Zn) ile organik madde ve pH değişimleri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre maden yatağı topraklarında metal miktarı yüksekte düşüküğe göre sırasıyla kurşun, çinko ve bakır olarak belirlenmiş, ortama ilave edilen bakteri ve/veya bakterilerin ağır metallerde, organik madde ve pH'da kontrole göre arttığı/azaldığı tespit edilmiştir (Özbucak vd 2018).

Prasetyo *et al.* (2018), *Pseudomonas* sp. LS3K'nın büyüme kinetiğine farklı C/N oranlarında sentetik ortam ve aerobik şartların etkisini araştırmışlardır. Ortamdaki azot kaynağı sodyum nitrat ve karbon kaynağı trisodyum-sitrat-dihidrat olarak belirlenmiş ve

ortamdaki C/N oranları, 5, 10, 15 ve 20 olarak dizayn ederek bakteriyel büyüme karakteristiğini, optik yoğunluk değerindeki artışlara göre belirlemişlerdir. *Pseudomonas* sp. LS3K'nın deney süresince nitrat giderimi (NO_3) ve nitrit (NO_2) üretimini belirlemişlerdir. Sonuç olarak *Pseudomonas* sp. LS3K, ortamdaki farklı C/N oranlarında büyüebildiğini ve nitratı nitrite indirgeyerek aerobik denitrifikasyon yeteneğine sahip olduğunu kaydetmişlerdir.

Azotun bozulmasında esas olarak bir psikrotrofik suşun tanımlanmasına odaklanılan ve ön denitrifikasyon özelliklerinin araştırıldığı çalışmada, yeni J türü, brom timol mavisi katı ortam kullanılarak izole edilmiş ve düşük sıcaklıkta atık sudan nitratın uzaklaştırılması için daha verimli çalıştığı doğrulanan morfoloji ve fosfolipid yağ asidi temelinde *Pseudomonas taiwanensis* bakterisi olarak tanımlanmıştır. *Pseudomonas taiwanensis*, 15°C 'de %100 ve 5°C 'de %51,61 nitrat uzaklaştırarak olağandışı aerobik denitrifikasyon kabiliyeti gösterdiği, bu bakteri ortamının glikoz karbon kaynağı olarak kullanıldığında 15°C 'de %100 ve %93,79'a ulaşan nitrat ve toplam azot giderimine sahip olduğu belirlenmiştir. Yine J suşunun aerobik denitrifikasyon yeteneğinin yanı sıra düşük sıcaklık ve yüksek pH'ı tolere etme konusunda dikkate değer bir yeteneğe sahip olduğu bildirilmiştir (He *et al.* 2018).

Chang *et al.* (2019) su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalık salgınlarını önleme ve patojenik bakterileri inhibe etme amacıyla antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığını ifade ederek, antibiyotiklerin su kalitesi ve mikrobiyal topluluklar üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmalarında, süt balığı (*Chanos chanos*) havuzlarında sülfametoksazol (SMX) kullanımının su kalitesi ve mikrobiyal topluluklar üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak SMX ilavesinin amonyak oksitleyici bakteriler (AOB), nitrit oksitleyici bakteriler (NOB) ve fotosentetik bakteriler üzerine inhibe edici etkisi olduğunu, havuz suyunda amonyak ve toplam fosfor seviyelerini artırdığını bildirmişlerdir. Söz konusu antibiyotiğin giderimi için eklenen bakterilerle (SMX bozucu bakteriyel soylar A12 ve L'nin eklenmesi) SMX'in etkili bir şekilde bozduğunu, balık havuz suyunda amonyak ve toplam fosfor seviyelerinin azaldığını, AOB, NOB ve fotosentetik bakterilerin sayılarının restore olduğunu rapor etmişlerdir.

Ayrıca, bakteriyel suşların A12 ve L'nin ikili fonksiyon (biyo-büyütme ve su kalitesi korunumu) oluşumunun yararlı bakteriler olarak havuzların biyoremediasyonu için etkili bir yaklaşım sağladığını ifade etmişlerdir.

Ağır metal ve hidrokarbonlarla kontamine olmuş ortamların remediasyonu ve bu alanda kullanılacak mikroorganizmaların kullanımı dünya çapında önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu anlamda Antartika'daki bozulmamış bir havuzdan izole edilen *Pseudomonas extremaustralis* bakterisinin çevresel stresle başa çıkma konusunda yüksek yeteneklerinin yanı sıra mikroaerobik koşullar altında alkan bozunmasında etkili olan çok yönlü bir metabolizmaya sahip olduğu bildirilmiştir. Bu mantıkla yapılan çalışmada, *P. extremaustralis*'in yüksek bakır konsantrasyonlarını tolere etme potansiyeli ve bakır varlığının dizel biyodegradasyonuna etkisi araştırılmıştır. *P. extremaustralis*'in LB gibi zengin bir ortamda 4 mM CuSO₄'e kadar direnç gösterdiği ve ortama az miktarda glikoz (ağırlık/hacim %0.05) ilavesi ile CuSO₄ varlığında alkanların bozulma hızını artırdığını bildirmişlerdir (Colonnella *et al.* 2019).

Zhang *et al.* (2019) metal dirençli bir bakteri olan *Pseudomonas putida* ZN1'in azot giderme yeteneğini ve metallerin inhibisyon oranını araştırmışlardır. ZN1'in, amonyum, nitrat ve nitriti sırasıyla %97,47, %86,08 ve %71,57'lik seviyelerde etkin bir şekilde uzaklaştırdığını ve aynı anda nitrifikasyon ve denitrifikasyon işlemi sırasında amonyumun kullanılmasını tercih ettiğini bildirmişlerdir. Ağır metallerin amonyum giderimi üzerindeki engelleyici etkisinin yüksekten düşüğe göre Ni²⁺ > Cr⁶⁺ > Zn²⁺ > Cu²⁺ şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra ZN1'in mükemmel heterotrofik nitrifikasyon ve aerobik denitrifikasyon kapasitesi sergilediğini ve amonyumu ağır metal içeren atık sudan etkili bir şekilde uzaklaştırdığını rapor etmişlerdir.

Su ürünleri kaynaklı organik zenginlik, balık havuzlarında sedimentte yüksek seviyelerde organik madde (OM), kükürt (S), demir (Fe) ve düşük pH seviyeleri ile kimyasal kompozisyonun değişimine neden olmaktadır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, *Marphysa sp.* balık havuzlarında iki farklı sedimente (Sediment A: daha düşük OM, S, Fe ve sediment B'den daha yüksek pH) eklenerek 30 gün sonra küçük ve büyük zincirlerin

iyileştirme süreci takip edilmiştir. Sediment B'de, büyük çoklu zincirlerin OM seviyesini (%27) önemli ölçüde düşürdüğü, hem küçük hem de büyük çoklu zincirlerin ise her iki tortu tipinde de önemli ölçüde S (%71) ve Fe (%70-73) azalışına neden olduğu bildirilmiştir (Mandario *et al.* 2019).

Oualha *et al.* (2019), en yüksek biyodegradasyon verimlilik oranlarını elde etmek için iyileştirme koşullarında yerli bakteri suşlarının optimizasyonunu çalışmışlardır. Bu amaçla biyostimülasyon ve biyo-büyütme süreçlerinde biyopil sistem teknolojisinin kullanımını araştırmışlardır. Yerli *Bacillus sonorensis* D1 bakterisinin, optimize edilmiş koşullara getirildiğinde [karbon/azot/fosfor (C/N/P) (100/10/1), sıcaklık (37°C), yüzey aktif madde ara 80 (%0,12 (h/h)) ve nem (%10)] biyodegradasyon işleminde önemli bir rol oynadığını belirlemişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada, yeraltı suyundan amonyum-azot (NH_4^+ -N), nitrit-azot (NO_2^- - N), nitrat-azot (NO_3^- -N) ve toplam azotun giderilmesinde bakteriler kullanılmış ve bu besin tuzlarının uzaklaştırılması, farklı zamanlar, başlangıç konsantrasyonları, pH değerleri ve yeraltı suyu kimyasal bileşimleri (Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , ve SO_4^{2-}) dikkate alınarak incelenmiştir. Farklı konsantrasyon koşullarının, sertlik, alkalinite, anyonlar ve katyonlar, üzerine farklı teşvik edici ve inhibe edici etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca üç azot formunun adsorpsiyonundan sonra, parçalayıcı bakteriler arasında artış ve çeşitlilik bakımından önemli farklılıkların olduğu da kaydedilerek NO_3^- - N uzaklaştırılmasından sonra bakterilerin fazlalığında, NO_2^- - N uzaklaştırılmasından sonra da çeşitlilik konusunda artışlara dikkat çekilmiştir. Yine çalışma sonuçlarında NH_4^+ -N ve NO_2^- -N'yi etkili bir şekilde uzaklaştırılmasında *Pseudomonas* ve *Serratia*'nın baskın türler olduğu ifade edilmiştir (Li *et al.* 2019).

Lukwambe *et al.* (2019) bakteriyoplankton topluluğunun stabilitesi ve besinlerin uzaklaştırılması üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında biyofiltre [biyofilm, istiridye (*Tegillarca granosa*) ve makrofitler (*Spartina anglica*)] ile birlikte kapsamlı bir restorasyon teknolojisi uygulamışlardır. Bakteriyoplankton topluluğunun çeşitliliğinin azot bakımından zengin atıkların işlenmesi ve iyileştirilmesinde biyojeokimyasal

faktörlerle yüksek değerli biyokütleyle bağılı olduğunu bildirmişlerdir. Yine biyo-filtre etkilerinin yanı sıra bakteriyoplankton topluluklarına abiyotik [nitrat ($\text{NO}_3 - \text{N}$), çözülmüş oksijen (ÇO), toplam azot (TN), su sıcaklığı (SC)] ve biyotik faktörlerin (klorofil a ve yeşil alg) etki ettiğini de bildirerek bu sistemlerin, su ürünleri yetiştiriciliğinde atık su arıtma teknolojisi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Biyosorbent olarak çeşitli mikrobiyal biyokütlelerin araştırıldığı çalışmada, *Bacillus subtilis* tarafından demirin sulu çözeltilerden biyo-emilimi araştırılmıştır. Bu amaçla deney koşulları altında (100 mg / l'lik başlangıç metal konsantrasyonu, pH 4,5 ve biyokütle dozu) biyosorpsiyon kapasitesi Endüktif Çiftleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) ile elde edilmiştir. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ve Enerji Dağıtıcı X-ışını (EDX) analizi, bakteriyel yüzeyde çökeltiler ve EDX spektrumunda bir tepe noktası olarak demir biyosorpsiyonu doğrulanmıştır. Biyosorpsiyona katılan fonksiyonel hidroksil, karboksil ve amino grupları, Fourier Transform Infrared spektroskopisi (FTIR) ile belirlenmiştir. Biyosorpsiyon için biyosorbanın amorf doğası ise X-ışını Kırınımı (XRD) analizi ile gösterilmiştir. *B. subtilis* biyokütlesi, sıfır noktası yükü (pHpzc) 2.0'de tanımlanmıştır (Krishna Kanamarlapudi and Muddada 2019).

Tu *et al.* (2019), nehirde kentsel kirli sudan oldukça zenginleştirilmiş bir amonyak-oksitleyici arke kültürü elde ederek optimum gelişim koşullarını tanımlamışlardır. Bu koşullar altında en yüksek amonyak-oksitleyici arke sayısı $4,6 \times 10^7$ kopya/ng DNA olarak belirlemişlerdir. Kirli nehir suyunda amonyak-oksitleyici arke büyümesi, 10 günlük inkübasyondan sonra antibiyotik içermeyen amonyak-oksitleyici arke ile zenginleştirilmiş kültürlerde amonyak konsantrasyonunda önemli bir azalma görüldüğü, nitrat konsantrasyonunda senkron artışının 12,7 mg/L'ye yükseldiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, antibiyotikle zenginleştirilmiş amonyak-oksitleyici arkelerin, amonyak veya nitrit konsantrasyonunda önemsiz değişiklikler gösterdiğini amonyak-oksitleyici bakterilerin kirli nehir suyunun amonyak oksidasyonunda önemli bir rol oynadığını ve sadece amonyak-oksitleyici arkenin amonyak veya nitrit konsantrasyonlarında önemsiz değişiklikler gösterdiğini kaydetmişlerdir.

Daha verimli kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) giderme ve daha yüksek biyokütle verimliliği için arzu edilen bir yosun/bakteri konsorsiyumu oluşturmada önemli bir faktör olan çamur inokülasyon zamanlamasını optimize ederek KOİ giderimini artırmaya ve deşarj için çıkış standardını karşılamaya odaklanılmış bir çalışma planlanmıştır. Çalışmada KOİ'yi azaltmak için aktif çamur eklenmiş, ancak aşılama ekim başlangıcında yapılmıştır. Bununla birlikte, 3 günlük kültürasyondan sonra çamur eklendiğinde, KOİ konsantrasyonunun tekrar artmaya başladığı, alg büyümesi ve biyokütle verimliliğinin, başlangıç çamur aşılama ve kontrolden (çamursuz) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. QPCR ile ölçülen alg ve bakteri hücre sayılarının da 3 gün sonra çamur aşılması ile daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak optimize edilmiş zamanlamada aktif çamur içine bakteri inokülasyonu ile geleneksel mikroalgal atık su arıtımından daha gelişmiş bir KOİ gideriminin sağlandığı bildirilmiştir (Lee *et al.* 2019).

Sun *et al.* (2019), sekiz tür mikrotrofik sülfid oksitleyici bakteriyi (SOB) aktif çamurdan izole etmiş ve 16S rRNA dizi analizi ile tanımlamışlardır. Daha sonra organik maddelerin, çözülmüş oksijen (ÇO) içeriği ve nitratın sülfür oksidasyonu ve bakteriyel büyüme üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sonuçlar *Paracoccus sp.* (N1), *Pseudomonas sp.* (N2) ve *Pseudomonas sp.* (S4) türlerinin, düşük ÇO ve yüksek organik madde konsantrasyonlu ortamlara güçlü bir şekilde uyulanabilir olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada, oksidasyon-azaltma potansiyeli (OAP), amonyak-azot (NH₃-N) ve kokulu bir nehirde salınan H₂S değerlerinde, SOB katkısı veya SOB katkısı olmadan elde edilen sonuçlarda, optimize edilmiş SOB katkısının, kokulu nehir biyoremediasyonu için mükemmel performansa sahip olduğunu kaydetmişlerdir.

B. subtilis kirli sulardaki ağır metaller ve boyaların adsorpsiyonunda veya biyolojik oksidasyon/indirgeme ile başa çıkma kabiliyeti yüksek, çevrede yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Fakat *B. subtilis*'in bu kabiliyetindeki lipopeptitlerin rolleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, *B. subtilis* tarafından üretilen lipopeptitlerin gümüş iyonlarını gümüş nanopartiküllere (AgNP) indirgeyebildiği ve iturinin ana etkili fraksiyon olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca sentezlenen AgNP'lerin,

organik boyaların azaltılmasını katalizlemek ve sudaki Pb^{2+} kontaminasyonunu azaltmak için de etkili bir şekilde kullanılabileceği ifade edilmiştir (Zhao *et al.* 2019).

Górny *et al.* (2019), *B. thuringiensis* B1 (2015b) izolatlarının naprokseni parçalayabilen bir bakteri suşu olduğunu fakat su ko-kontaminasyonlarının bozunma süreci ve yolu üzerindeki potansiyel etkisinin henüz değerlendirilmediğini bildirmişlerdir. Bu amaçla aromatik bileşiklerin varlığında, B1 (2015b) suşunun, aromatik ko-kontaminasyon olmadan aromatik olmayanlara benzer bir verimlilikle naproksen kullandığını da belirlemişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, çamurdan izole edilen bir *Acinetobacter calcoaceticus* suşu KW3'ün bakır (Cu) direnç mekanizması ve biyolojik iyileştirme potansiyeli araştırılmıştır. Çalışmada Cu konsantrasyonlarının bakteriyel büyüme, biyokütle ve adsorpsiyon kapasitesi üzerindeki etkisinin yanı sıra temas süresinin adsorpsiyon prosesi üzerindeki etkisi de toplu biyosorpsiyon testinde değerlendirilmiştir. Analiz sonuçlarında izole edilen suşun, güçlü Cu toleransı sergilediği, hücre duvarları ve hücre içi çözünür bileşenleri sırasıyla %51,2 ve %46,6 Cu^{2+} adsorbe ettiği bildirilmiştir (Kang *et al.* 2019).

Lu *et al.* (2019), benzo (a) piren biyodegradasyonu ile belirli hedef biyomoleküller arasındaki ilişkiyi araştırdığı çalışmada, *B. thuringiensis*'in benzo (a) piren parçalanması, karbon substrat metabolizması ve ekzometabolomik mekanizmasını incelemişlerdir. Benzo (a) pirenin, sitokrom P450 hidroksilaz tarafından katalizlenen hidroksilasyon yoluyla ayrıştırıldığını, biyosorpsiyon ve degradasyon verimlerinin sırasıyla yaklaşık %90 ve %80 oranında olduğunu bildirmişlerdir.

Mikrobiyal biyoremediasyon, hidrokarbon kontaminasyonun iyileştirilmesinde etkili bir araç olarak kabul edilir. Bu amaçla yapılan çalışmada, hidrokarbonla kirlenmiş tortulardan izole edilen ve 16S rRNA gen dizisi analizi yapılan bakterinin *Alcaligenes aquatilis* BU33N suşu olduğu tanımlanmıştır. BU33N genomunun 3.506 protein kodlayan, 56 rRNA genden oluştuğu, benzoatın tamamen parçalanmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genler de dahil olmak üzere aromatik bileşiklerin metabolizması ile

ilgili geniş bir gen havuzuna sahip olduğu bildirilmiştir. Bunun yanı sıra BU33N'de bakır toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direnci gibi ağır metallere dirençle ilişkili genlerin olduğu da kaydedilmiştir (Mahjoubi *et al.* 2019).

Gaonkar *et al.* (2019), zenginleştirilmiş kültürler tarafından organofosfat pestisitlerinden (OP), klorpirifos ve diklorvosların biyodegradasyon kinetiği ve bunun pestisit taşıma modellerine uygulanmasına yönelik çalışmışlardır. Diklorvos ile zenginleştirilmiş kültürde (DEC), *Pseudomonas aeruginosa* ve *Taonella mepensis*'in klorpirifos ile zenginleştirilmiş kültürde (CPEC) ise *P. aeruginosa* ve *Methylobacterium zatmanii* türlerini tanımlamışlardır. Elde edilen sonuçlar zenginleştirilmiş mikroorganizmaların kirlenmiş su ve toprakların *in-situ* biyolojik olarak iyileştirilmesi için uygulanabilir olduğunu kaydetmişlerdir.

Biyoremediasyon teknolojilerinin, özellikle biyo-yüzey aktif moleküllerin kullanımının, diğer geleneksel teknolojilerden daha verimli olduğu bildirilerek *Pseudomonas putida* AM-b1 suşu tarafından üretilen biyo-yüzey aktif madde moleküllerinin özelliklerinin analiz edilmesi ve ham petrol ile kontamine olmuş ortamların iyileştirilmesinde kullanım potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, hidrokarbonlarla kontamine deniz ortamından izole edilen AM-b1 suşu, karbon kaynağı olarak farklı yağlarla biyo-yüzey aktif madde üretimi ve bunun yanı sıra mikrobiyal geliştirilmiş yağ geri kazanımı (MEOR) deneyi ile ham yağ üzerindeki emülsifikasyon etkisi açısından değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, suşun biyo-yüzey aktif maddesinin pH, yüksek NaCl konsantrasyonları, daha önce ultraviyole radyasyona maruz kalma ve otoklavlama işlemleri gibi koşullar altında bile emülsifikasyon etkisini sürdürdüğünü bununla birlikte *P. putida* suşunun biyo-yüzey aktif maddesinin yağ geri kazanımında kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir (Maia *et al.* 2019).

Syed *et al.* (2019), *Flagellate poteriospumella* sp.'nin atık su arıtma ve biyolojik iyileştirme potansiyelini araştırmışlardır. Bu amaçla, Pakistan'ın kuzey bölgelerinden izole edilmiş ve 18S rRNA analizleri yapılmış *Poteriospumella* sp. tek başına ve/veya önceden karakterize edilmiş dört bakteri suşunun (*Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp.,

Citrobacter sp. ve *Enterobacter sp.*) konsorsiyumları ile kombinasyon halinde, 15 gün boyunca muamele edilmiştir. Ardından bu uygulamanın bakteri potansiyeli, yaygın olarak bulunan endemik su bazlı patojen (*Vibrio cholera*) üzerine etkisi ve ağır metal (civa (Hg)) ayırma veya uzaklaştırma potansiyelini de araştırmışlardır. Sonuç olarak, *Poteriospumella sp.*'nin atık suların fizyokimyasal özelliklerini iyileştirdiğini, Hg'ye karşı mükemmel biyoremediasyon potansiyeli olduğunu (2 hafta içinde civa iyonlarının %92-93'ünün uzaklaştırılması), *Vibrio cholerae*'yi inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Gazyağı bazlı ürünlerin yerli bir *Achromobacter aegrifaciens* kullanılarak bakteriyel biyotransformasyonunu / biyodegradasyonunu belirlemek amacıyla söz konusu bakteri eksojen bir *Lysinibacillus fusiformis* ve *Pseudomonas synaxantha* konsorsiyumu ile karşılaştırılmış, bu biyoremediasyon stratejisinin, büyük hacimli biyoreaktörler için daha da belirlenebilir olduğu ve atık şirketleri tarafından mevcut dampinge uygulanabilir bir alternatif olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Masvingwe and Jamal-Ally 2019).

Saba Rehman *et al.* (2019) çalışmalarında arseniğin biyoremediasyonunda bakteriyel hücre dışı polimerik maddenin rolünü araştırmışlardır. Bu amaçla, endüstriyel atık sulardan izole edilen, biyokimyasal olarak karakterize edilmiş biyofilm oluşturucu, arsenik redüktör bakteri suşlarından hücre dışı polimerik madde elde ederek fonksiyonel grupları incelemiştir. İzole edilen bakterilerden *Exiguobacterium profundum* PT2 ve *Ochrobactrum ciceri* SW1'de, arsenik varlığında gelişmiş hücre dışı polimerik madde üretimi belirlemiştir. Elde edilen sonuçlarla hücre dışı polimerik maddelerin polianyonik fonksiyonel grupları ile arsenik biyoremediasyonu için mükemmel bir biyosorbent olduğunu kaydetmişlerdir.

İçme suyu ve yeraltı suyu da dahil olmak üzere her türlü suda tespit edilen naproksenin biyolojik ayrışımı mantarlar, algler ve bakteriler tarafından gerçekleştirilir, ancak tam bozunması için tarif edilen tek yol naproksenin *B. thuringiensis* B1 (2015b) tarafından bozunmasıdır. Bu suş tarafından gerçekleştirilen bozulma sürecinde O-desmetilnaproksen ve salisilat naproksenin ortaya çıkan anahtar ara madde olduğu bildirilmiştir (Wojcieszynska and Guzik 2020).

Nair *et al.* (2020), minimum su değişimi veya hiç değiştirilmeden uygulanan biyolojik olarak büyütölmüş sıfır su değişimli su ürünleri üretim sistemlerinin (ZWEAPS), sistemdeki amonyak birikimini önleyerek çevresel sürdürülebilirlik ve biyogüvenliğe yol açtığını bildirmişlerdir. Biyolojik olarak büyütölmüş ZWEAPS'deki mikroorganizmaların, amonyak ve nitrit oksidasyonu yoluyla düşük amonyak seviyelerinin korunmasında önemli bir rol aldığını ifade etmişlerdir. Araştırmalarında, yüksek amonyak yükü olan çalışma alanlarında baskın popölasyon *Candidatus scalindua* olduğunu bunu da *Candidatus kuenenia'nın* izlediğini tespit etmişlerdir. Yine anammox popölasyonlarında çeşitliliğin az olmasının yanı sıra yoğunluğun gram tortu başına 10^6 ila 10^7 CFU arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bunlara ilaveten bazı fizyokimyasal faktörlerin (amonyak, nitrit, redoks potansiyeli ve toplam organik karbon gibi) anammox popölasyonunun yoğunluğu ve dağılımı ile güçlü ve pozitif bir korelasyon gösterdiğini, bu anammox topluluklarının su ürünleri yetiştiriciliği sistemlerinde amonyak giderimi için biyostimölasyon potansiyelinin olduğunu kaydetmişlerdir.

Çok boyutlu petrol hidrokarbonlarını parçalayabilen kinon-solunum yapan bir suş, seçici ortam ile izole edilmiş ve *Bacillus sp.* (C8) olarak adlandırılmıştır. Çalışmada toplam petrol hidrokarbonlarının (TPH) maksimum %76,7'si, nitrat ve elektron ara maddesi (antrakınon-2,6-disülfonat, AQDS) yardımıyla biyo-yüzey aktif madde aracılı C8 ile ayrıştırılmıştır. Bu yöntemle, TPH ve nitratın bozunmasında elektron transferinin hızlandırılabileceği, böylece nitrit birikiminin ortamdaki uzaklaştırılarak TPH'nin bozunma verimliliğinin arttırılabileceği kaydedilmiştir (Liu *et al.* 2020).

Luo *et al.* (2020) yaptıkları çalışmalarında, bir deniz yosunu olan *Gracilaria lemaneiformis'in* ağır metaller üzerindeki potansiyel biyolojik iyileştirme etkilerini incelemişlerdir. Beş farklı bölgede (Gracilaria yetiştirme bölgesi, G; Balık kültürü bölgesi, F; Kabuklu deniz ürünleri kültürü bölgesi, S; Geçiş bölgesi, T; Kontrol bölgesi, C) belirli bir zaman aralığında (Aralık 2014-Temmuz 2015) sediment örneklerini kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), bakır (Cu) ve çinko (Zn) yönünden incelemişlerdir. Elde edilen veriler, Gracilaria ekim bölgelerinde ağır metal içeriklerinin düşük seviyelerde

olduğunu ve kıyı sedimentlerinde ağır metallerin biyolojik olarak iyileştirilme potansiyelinin bulunduğunu göstermiştir.

Mikroorganizmaların çeşitli ortamlarda, toprakta, suda veya havada bulunan kirleticileri giderme kabiliyeti bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, bir biyofilm reaktörünün paketlenmiş bölgelerinden izole edilen *Klebsiella*, *Flavobacterium* ve *Stenotrophomonas* cinsi bakterilerin, bir fungusit olan karbendazim içeren ortamda seçici olarak büyüme oranları incelenmiştir. İncelenen üç bakterinin ortamda büyüebildiği ve karbendazimin bozunmasında rol oynayan ilk enzimi kodlayan mheI genini taşıdıkları bildirilmiştir (Alvarado-Gutiérrez *et al.* 2020).

Govarthanan *et al.* (2020) çalışmalarında, polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH) bozan bakterileri acı sudan izole ederek, tanımlama ve düşük/yüksek moleküler ağırlıklı PAH'lara karşı biyodegradasyon etkinliğini araştırmışlardır. Elde edilen 15 izolat arasında *Halomonas* sp.'nin deniz ekosistemindeki petrol kirliliğinin giderilmesinde kullanıma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca sükrozun, PAH'ların biyodegradasyonunu arttırmak için mükemmel bir karbon kaynağı olduğunu kaydetmişlerdir.

Atık su arıtma tesislerinde ortaya çıkan kirleticilerin (EP' ler) yayılması, özellikle yeni kaynak geri kazanımı kavramları için bir uyarı işareti haline gelmiştir. Bir çalışmada, 25 EP ile kontamine olmuş düşük N atık suları arıtan bir foto-anaerobik membran biyoreaktörün performansı analiz edilmiştir. Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), N ve P uzaklaştırma verimleri 50 - 200 ng L⁻¹ d⁻¹ arasında değişen EP' ler için stabil (sırasıyla 76 ± 8, 62 ± 15 ve %36 ± 8) olarak belirlenmiştir (de las Heras *et al.* 2020).

Akay ve Tezel (2020), bir analjezik ilacın aktif bileşeni olan asetaminofen (APAP)'ın biyolojik olarak parçalanabilir olmasına rağmen, arıtma tesisi atık sularında, yüzey sularında ve toprakta sıklıkla tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu doğrultuda, APAP'ı parçalayabilen dört bakteri türünü (*Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* ve *Sphingobium*) topraktan izole ederek biyodegradasyon oranı sabitinin yanı sıra sıcaklık,

APAP konsantrasyonu ve hücre yoğunluğunun belirlenmesi adına izolatlar üzerinde kinetik deney yapmışlardır. Tüm suşlar için spesifik APAP biyodegradasyon hızı sabitinin (k : $0.19 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$) eşit olduğunu ve biyodegradasyon hızının maksimum olduğu sıcaklığın ise 35°C olduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak, APAP biyo-bozunmasının, çevresel kinetik APAP konsantrasyonlarında çok yavaş olan sabit bir kinetikte çalışan benzer bir enzime sahip çeşitli bakteri grupları tarafından gerçekleştirildiğini ifade etmişlerdir.

Ağır metallerle kontamine su kütlelerini iyileştirmek için mikrobiyal adsorbanların kullanılması büyük ilgi görmektedir. Yapılan bir çalışmada ağır metallerle kirlenmiş topraktan kadmiyuma (Cd^{2+}) dirençli bir bakteri izole edilmiş ve biyokimyasal özelliklerine ve 16S rRNA genine dayanarakta *Pseudomonas* sp. 375 olduğu bildirilmiştir. Ardından farklı parametrelerin (başlangıç pH, temas süresi ve başlangıç Cd^{2+} konsantrasyonu gibi) Cd^{2+} alımı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. SEM-EDX analizi Cd^{2+} 'nın hücre duvarına bağlandığını, FTIR spektral analizi ise -CH₂, -OH, -SO₃, CO, N-H, C-N, fosfat veya sülfat fonksiyonel gruplarının, Cd^{2+} iyonlarının bağlanması için ana fonksiyonel bölgeler olduğunu göstermiştir. *Pseudomonas* sp. 375'in Cd^{2+} ile kirlenmiş sularda bioremediasyon için etkili bir şekilde kullanılabilir ucuz ve etkili bir biyosorbent olduğu bildirilmiştir (Xu *et al.* 2020).

Sher *et al.* (2020), endüstriyel atık sularından izole ettiği, çoklu ağır metal dirençli bakteri olan *Micrococcus luteus* suşu A S2'nin arsenite ve arsenata karşı minimum inhibitör konsantrasyonlarının 55 ve 275 mM olduğunu bildirmişlerdir. Bakteriyel suşun ayrıca arsenik dışında diğer ağır metal iyonlarına (kurşun, kadmiyum, krom, civa, nikel ve çinkoya) karşı direnç gösterdiğini de rapor etmişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu ile arsenit stresi altında bakteri hücrelerinde morfolojik değişikliklerin gözlemlendiğini, EDX'le ise bakteriyel hücrede arsenitin yüzey adsorpsiyonu olduğunu göstermişlerdir. Yine fourier transforme kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi ile de bakteri hücresinin yüzeyinde bulunan arsenit ile fonksiyonel gruplar arasında bazı etkileşimlerin olduğunu ortaya koymuşlardır. Bakteriyel biyokütlenin biyolojik iyileştirme etkinliğinin (E) 2 saat sonunda %72 ve 10 saat sonunda ise %99 olduğunu, izole edilmiş bakterinin arsenik ile

kontamine olmuş alanların iyileştirilmesinde potansiyel bir aday olduğunu bildirmişlerdir.

Mikrobiyal topluluk ile çözünmüş organik maddenin (ÇOM) arasındaki ilişki, özellikle nehir alanlarında karmaşıktır. Yapılan bir çalışmada, heterotrofik süreç sırasında mikrobiyal metabolizma ile ÇOM biyodegradasyonu arasında doğrudan bir bağlantı olduğu bildirilmiştir. Çeşitli ÇOM koşullarına yanıt olarak, mikrobiyal topluluğun taksonomik kompozisyonu ve metabolik fonksiyonu önemli farklılıklar gösterdiği ve ÇOM bileşenlerinin metabolize edilmesinde farklı taksonların bulunabileceği ifade edilmiştir. ÇOM bozunma sürecinde, ÇOM bileşenleri ile yakından ilişkili olan indikatif bakterilerden *Proteobacteria* (*Sphingomonas*)'ın mikrobiyal kullanımının önemli olduğu bildirilmiştir (Li *et al.* 2020).

Zhang *et al.* (2020) yeraltı sularında bulunan vanadat kontaminantına karşı gaz elektron donörleri ile biyojeokimyasal dönüşümü hakkında bilgi sunmak amacıyla bir çalışma planlamışlardır. Bu doğrultuda, anaerobik metan oksidasyonu ile birlikte vanadatın biyoindirgenmesi ve nitrat azalması ile ilişkisini araştırmışlardır. Sonuçta tek elektron vericisi olarak metan kullanımını ile 7 gün içinde 1 mM vanadatın $95,8 \pm 3,1$ 'inin uzaklaştırıldığını, dört değerlikli vanadyum bileşiklerinin, yeraltı suyu ortamında doğal olarak çöken ana indirgeme ürünleri olduğunu ve nitrat eklemesi ile vanadat redüksiyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriler

Çalışmada kullanılan *Bacillus thuringiensis* strain CP-1 ve *Bacillus subtilis* strain FD-1 bakteri izolatları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir. Bu bakteri izolatları daha önce yürütülen çalışmalarda yalancı kelebek (*Ricania simulans*) ve yüzük kelebeğinden (*Malacosoma neustria*) izole edilerek (Dadasoglu *et al.* 2010; Gokturk *et al.* 2018), yağ asidi metil esterlerindeki farklılıklara göre Mikrobial İdentifikasyon Sisteminde (MIS) tanılanmış ve azotsuz besi ortamında gelişim durumuna göre azot fiksasyonu özellikleri belirlenmiştir. Bakteriler Loria Broth (LB) ve %18 gliserol içeren stok besiyerlerinde -86°C’de muhafaza edilmiştir. Bu bakteri izolatlarına ait bazı bilgiler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları

| Bakteriye Ait Bazı Bilgiler | FD-1 izolatu | CP-1 izolatu |
|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| İzole edildiği organizma | <i>Malacosoma neustria</i> | <i>Ricania simulans</i> |
| MIS tanı sonucu (% Bİ) | <i>Brevibacillus brevis</i> (%62) | <i>Brevibacillus brevis</i> (%65) |
| BIOLOG tanı sonucu (% Bİ) | <i>Bacillus subtilis</i> (%34) | <i>Bacillus subtilis</i> (%45) |
| Kaynak | Tozlu et al, 2011 | Gokturk et al, 2018 |

Bİ: Benzerlik indeksi

3.2. Metot

3.2.1. Deney düzeneklerinde kullanılan bakterilerin geliştirilmesi

Dondurulmuş bakteri kültürleri (*B. thuringiensis* strain CP-1 ve *B. subtilis* strain FD-1) NA besi ortamı içeren petrilere ekilmiş, 30°C’de inkübasyona bırakılarak 24 saatlik taze kültürleri elde edilmiştir. Gelişen taze kültürlerden öze ile saf kolonilerden alınarak Nutrient Broth (NB) besi ortamına aktarılmıştır. Yatay çalkalayıcı inkübatörde 30°C’de 24 saat geliştirilmiştir. Daha sonra vorteks cihazında karıştırılarak standart turbidity tüpüne göre turbidimetre ile konsantrasyonları 1×10^7 kob/ml’ye (koloni oluşturan birim/mililitre) ayarlanmıştır.

3.2.2. Bakterilerin 16S-23S rDNA gen dizimlerinin belirlenmesi

Bakteri izolatlarından DNeasy Tissue Kit (QIAGEN) ile DNA’lar izole edildikten sonra Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile 16S-23S rDNA bölgesi çoğaltılmıştır. Bunun için kullanılan Universal primer çifti Çizelge 3.2’de (Tyler 1995), PZR’ye ait reaksiyon karışımı ve reaksiyona ait döngü ise Moussa et al. (2013) tarafından verilen yöntemde yapılan minör değişimlerle Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan primer çiftine ait primer sekansları

| Primer ismi | Primer Sekans (5’-3’) |
|--------------|-----------------------|
| 27 Forward | AGAGTTTGATCCTGGCTCAG |
| 1492 Reverse | GGTTACCTTGTTACGACTT |

PZR ait reaksiyon karışımı ve reaksiyona ait döngü ise Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. PZR karışımı ve döngüsü

| PZR Karışımı | Miktar | PZR Döngüsü | | | |
|-----------------------|---------|-------------|------|---------|----------|
| dH ₂ O | 37,2 µl | 1 | 95°C | 2 dk | 1 döngü |
| 10X PZR tamponu | 5 µl | 2 | 94°C | 1 dk | 35 döngü |
| MgCl ₂ | 3 µl | 3 | 53°C | 1 dk | |
| dNTP mix | 0,7 µl | 4 | 72°C | 1,30 dk | |
| Forward primer | 0,8 µl | 5 | 72°C | 10 dk | 1 döngü |
| Reverse primer | 0,8 µl | 6 | 4°C | Sonsuz | |
| DNA | 2 µl | | | | |
| Taq Polimeraz (250 U) | 0,5 µl | | | | |
| Toplam | 50 µl | | | | |

PZR ürünleri, %1'lik agaroz [(1 g agaroz 100 ml TAE, 4 µl etidyum bromür (10 mg/ml)] jelde görüntülenmiştir. Donmuş jele PZR ürünleri yüklenmiş ve 90V'da 50 dakika yürütme işlemi yapılmıştır. Ticari olarak satılan PZR pürifikasyon kiti (Invitrogen) ile saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saflaştırılan örnek, Refgen Biyoteknoloji Firması'ndan (Türkiye, Ankara) sekans hizmeti alınarak yapılmıştır. Dizilen örnekler, Bioedit yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir.

3.2.3. Deney düzeneğinin tasarlanması ve bakterilerin deney düzeneğine inokülasyonu

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Biriminde rutin kullanımda olan akvaryumların halihazırda (kirli) suları aseptik şartlarda (steril malzemeler kullanılarak) alınarak oluşturulan deney düzeneklerine eşit hacimde (plastik kablara 2,7 litre olacak şekilde) aktarılmıştır. Bu amaçla toplam 15 akvaryum düzeneği kontrol ve uygulama grupları olarak tasarlanmıştır. Bu akvaryum düzeneklerine kalitatif bir biyoindikatör olarak toplam 30 adet japon balığı (*Carassius auratus*, Linnaeus

1758) her düzenekte 2 balık olacak şekilde şansa bağlı olarak dağıtılmıştır. Deneme grupları 3 tekerrürlü olarak kurgulanmış her uygulama grubu ve içeriği Çizelge 3.4 'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Deney düzeneklerinde yer alan uygulama içerikleri

| Uygulama * | Deneme Ortamı İçeriği | Kısaltma |
|-------------|--|----------|
| Bakteri 1 | <i>Bacillus thuringiensis</i> strain CP-1+ Japon balığı | Bt |
| Bakteri 2 | <i>Bacillus subtilis</i> strain FD-1 + Japon balığı | Bs |
| Bakteri 1+2 | <i>Bacillus thuringiensis</i> strain CP-1+ <i>Bacillus subtilis</i> strain FD-1 + Japon balığı | Bt+Bs |
| Kontrol | Ticari ürün ve Japon balığı | K (+) |
| Kontrol | Rutin akvaryum suyu + Japon balığı | K (-) |

* Her uygulama ve kontrol grubu 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Denemede, kontrol grupları; K (+): kirlilik kontrolünde kullanılan *Bacillus* içerikli ticari bir ürün [(BioPure, Kaelsa Ltd. Sti., Ankara)(bu ürün kullanım kılavuzu dikkate alınarak 500 ml ye 1 ölçek (6gr) olacak şekilde uygulanmıştır)], diğeri ise K (-): negatif kontrol olarak herhangi bir ürün/uygulama içermemektedir (Çizelge 3.4). Bakterilerle oluşturulan deneme gruplarında ise saf bakteriler tekli ve çoklu olarak (*Bacillus thuringiensis* strain CP-1 grubu, *Bacillus subtilis* strain FD-1 grubu ve *Bacillus thuringiensis* strain CP-1+ *Bacillus subtilis* strain FD-1 grubu) kullanılmıştır. Deney düzeneğine aktarılacak olan bu bakteriler derin dondurucudan çıkarılıp Nutrient Agar (NA) besi ortamı içeren petrilere ekilerek 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve taze kültürler elde edilmiştir. Bu kültürlerin her birisinden ayrı ayrı 250 ml'lik Nutrient Broth (NB) içeren besi ortamına taşımalar yapılarak üzerine bakterilerin izolat numaraları yazılmıştır. Yatay çalkalayıcı inkübatörde 24 saat geliştirilen bu kültürlerin ayrı ayrı biyolog türbidimetre ile absorbansları steril distil su ile 1×10^7 kob/ml konsantrasyona ayarlanmıştır.

Deney düzeneğinin içerisine hazırlanan 1×10^7 kob/ml konsantrasyondaki bakteri kültürlerinden her bir akvaryuma biyolojik ürünlerin üretiminde dikkate alınan 1/1000 aşılama kültürü oranı esas alınarak uygulama yapılmıştır. Bu uygulamada statik deney prosedürü dikkate alınarak, her 100 ml ye 1 ml, 1×10^7 kob/ml olacak şekilde bakteri içeren solüsyon uygulanmıştır.

3.2.4. Düzeneklerin deneylerle izlenmesi

Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Araştırma ve Üretim Biriminin Deneme Ünitesinde bulunan akvaryumlardan alınan su örneklerinde bakteri inokülasyonlarından önce numuneler alınarak steril şişelere aktarılmıştır. Etiketleme yapılan örnekler soğuk zincir korunarak Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarlarına getirilmiş ve +4°C’de analizler yapıncaya kadar saklanmıştır. Deneme düzeneklerilen aktarılan sularda uygulamalar yapılmadan önce tüm parametreler [Toplam aerobik bakteri sayısı (kob/ml), su kalite parametreler ve ağır metal içeriği] için analizler uygulanarak bu veriler deneme başlangıç verisi (0. gün verisi) olarak kaydedilmiş ve deneme sonu parametrelerinin değerlendirilmesi için kullanılmıştır.

3.2.4.a. Toplam aerobik bakteri düzeylerinin belirlenmesi

Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Laboratuvarlarına getirilen her bir su örneği için; 1ml su 9 ml steril peptonlu su bulunan dilüsyon tüpüne aktarılarak 10 kat seri dilüsyonlar ($10^{2-3-4-5-6-7-8-9}$) hazırlanmıştır. Dilüsyon tüpleri ayrı ayrı hafif karıştırılarak 100 µl solüsyon NA’a aktarılarak 6 petriye yayma ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler inkübasyona bırakılarak (48 saat 30°C’de aerobik koşullarda), petrilerde oluşan kolonilerin sayımları yapılmıştır. Bu işlem 2 günlük aralıklarla (2., 4., ve 6. günlerde) 3 kez yapılmıştır.

3.2.4.b. Su parametreleri analizleri

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarları ve Erzurum Büyükşehir Belediyesi Su ve Kanalizasyon İdaresi (ESKİ) Genel Müdürlüğü Arıtma Tesisleri Laboratuvarları’nda yapılmıştır.

Bu amaçla sıcaklık (°C), çözünmüş oksijen (mg/L) ve pH değerleri günlük olarak örnek alımı esnasında belirlenmiştir. İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$), bulanıklık (NTU), renk (Pt-Co), serbest klor (mg/L), toplam klor (mg/L), alkalinite ($\mu\text{g}/\text{L}$), amonyak (mg/L), toplam sülfat

(mg/L), nitrit (mg/L), nitrat (mg/L), toplam fosfor (mg/L) analizleri ise 2 günlük aralıklarla (2., 4., ve 6. günlerde) 3 kez yapılmıştır (Şenel 2013).

1. Sudaki bazı fiziko-kimyasal analizler

Deneme süresi boyunca su sıcaklığı, pH ve elektrik iletkenliği Crison/MM40 marka multiparametre aleti ile çözünmüş oksijen WTW/340İ marka oksijen metre ile ve bulanıklık Hach 2100AN türbidimetre cihazı ile günlük olarak ölçülmüştür. Sudaki serbest klor, toplam klor ve alkalinite SM 4500 Cl-G klorimetrik metoduna uygun olarak Palntest Pooltest6 hızlı test kitleriyle (0-5 ppm hassasiyet), renk analizi ise Hachlange DR500 spektrofotometre cihazı ile 465 nm’de tespit edilmiştir. Suda toplam sertlik analizi için titrimetrik yöntemde N/100 EDTA ile titrasyon yapılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır (Anonymous 1975).

$$\text{Toplam Sertlik (mg/l CaCO}_3\text{)} = A \times 10$$

Burada; A=Harcanan N/100'lük EDTA miktarı (ml)

2. Toplam azot ve fosfor analizleri

Amonyak-Azotu (NH₄): Nessler tekniği ile APHA (2010)'a göre yapılmıştır. Bu metotta Nessler reaktifinin vermiş olduğu sarı rengin derişimine bağlı renk şiddeti Backman marka spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda okunmuştur.

Nitrat-Azotu (NO₂): Brucine sülfat kullanarak APHA (2010)'a göre yapılmıştır. Bu reaksiyonda oluşan renk değişimi (sarı rengin oluşumu) 410 nm dalga boyunda tespit edilmiştir.

Nitrit-Azotu (NO₃): N-1 Naftiletilediamin kullanarak APHA (2010)'a göre yapılmıştır. Yöntemde sülfanilik asitin diazonlanması ve N-1- naphthylethylenediamine dihidroklorit

ile oluşan renk değişimi spektrofotometrede (Backman marka) 523 nm dalga boyunda okunarak saptanmıştır.

Toplam Fosfor (TP): İlk kademede (sindirme işlemi) persülfatla parçalanma tekniği kullanılmış, parçalanmayı takiben serbest hale geçen ortofosfat askorbik asit metodu ile APHA (2010)'a göre tayin edilmiştir. Sonuçlar Backman marka spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda okunmuştur.

Sülfat (SO₄): Baryum klorür kullanarak APHA (2010)'a göre yapılmıştır. Sonuçlar Backman marka spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda okunmuştur.

3. Ağır metal analizleri

Erzurum Büyükşehir Belediyesi ESKİ Genel Müdürlüğü Arıtma Tesisleri Laboratuvarları'nda sudaki her bir ağır metal [alüminyum (Al), demir (Fe), kadmiyum (Cd), krom (Cr), bakır (Cu), mangan (Mn), nikel (Ni), bor (B) ve selenyum (Se)] EPA 200.7 standardına uygun olarak ICP-OES THERMO/ ICAP 6300 DUO marka ICP-OES cihazı ile deneme sonunda yapılmıştır ve konsantrasyon değerleri µg/L cinsinden hesaplamıştır.

3.2.5. İstatistikî analizler

Bu çalışmada, bazı su kalite parametrelerine ait veriler arasında farklılık olup olmadığı IBM SPSS 20 paket programında, faktöriyel düzende iki faktörlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edilmiş, gruplar arası farklılığın önem düzeyinin belirlenmesinde DUNCAN testi uygulanmış ve $p < 0,05$ 'de önem seviyeleri belirlenmiştir. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak tablolara aktarılmıştır. Bakteri sayım sonuçları ise üçer defa yapılmış ve sonuçlar ortalama olarak yansıtılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bakterilerin tanı sonuçları

Çalışmada kullanılan bakterilerin 16S-23S rDNA gen dizilimlerine göre tanı sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Sekans sonuçlarına göre FD-1 izolatı %98,8 benzerlik oranıyla *Bacillus subtilis*, CP-1 izolatı ise %81,1 benzerlik oranıyla *Bacillus thuringiensis* olarak tanılanmıştır.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının sekans tanı sonuçları

| Tanı ve Karakterizasyon | FD-1 | CP-1 |
|--------------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Sekans Tanı Sonucu | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Bacillus thuringiensis</i> |
| Sekans Benzerlik İndeksi (%) | 98,8 | 81,1 |

Bacillus thuringiensis CP-1 ve *Bacillus subtilis* FD-1 izolatı için 16S-23S rDNA gen dizilim sonuçları Şekil 4.1’de verilmiştir.

Bacillus thuringiensis CP-1 izolatu için 16S-23S rDNA gen dizilim sonuçları

gcagtcgagcgtggtgaaagcttgctctcttggttagagggggacaggggagtaacatatgggtaacctggccctat
aactgggattactcccggaaaccaggggttaaaccggataacattctgaacgggaagggggggattgaaaggcctct
tcctatgtcacttatggatggaccattatctcattggcggggtggtgaggaacggctcacaatccaacgatggttgccag
gatgaccagggatgctgggactgagacaactgacacactcccctgactcctaccggaggggaattttrgaatctccgga
aacstgaaaktctgaccagcaactccatgtgatgaaggcttcgggtctaaactactctgttgwaaaggaata
aaaagatctagtattgctagttagctaggctggcacctgagcggtagcctaaccrgaaagcmccgtaactaacgtgc
caagcaatmcgcggaatatgmwtagggtggcaagcaatwatccgraattawtgggctgaaagtgcagcgcctcagt
gtggttcttagtaawgatgagaaagcccwctgctcactmattcwgggtcattggaaactgggatacytgagtgcag
gtagawtaaagkgaattccatgtgatgcggtagmaatgcgtagagaatatgcraggacmmccagtggccmaa
gtgaggactactygygtctgtaactkmacactgagcgtgcmagcrtgaggagcgaacacwagcgaytgag
aatacccctggctagtaccagwccgtaaacratgtagwtgctmagctgttagragggttccgcccctctwtatgctgt
aragttamascattawgcamtscagcctggggaggaaggmrcgtaaggactgaataactcaaaggaactggacgg
gggcccgcatacaagctggtggagcatgtggttaattcraaagcaacgcaagaacctaccctaggcttgacatcctc
tagaaaaccctagagataggrcttwccttcgggagcagagtacagggtggwgcaggtgtgctcagctcgtgctgga
gatgtgggtaagttaagtcgagcgaaccctgtatcttagtgccatcattaagttgggactcctaaggtgactgccg
gtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgcaaatcatcatgcccctatgacctgggctcacacgtacatacaatgg
tcgggacaaagagttgcaagcccgcgagggggagctaattcataaacctttttagtccgattgctggtgcaaattgc
ctacaggaaagtgggaatgcttggtattgggattaacaaggcgcggggaaaaagttccgggctcttgacaccccc
ccgccccccataggagtgttatatcaccagaagtaggtgagcgcctaaccggctatcg

Bacillus subtilis FD-1 izolatu için 16S-23S rDNA gen dizilim sonuçları

ggacagaatgggagcttgctccctgatggttagcggcgagcgggtgagtaaacagctgggtaacctgcctgtaagactgag
ataactccgggaaaccgggggtaataaccggatgctgtttgaaccgcatggtcaaacataaaaggtggcttcggctacc
acttacagatggaccgcgccgacattagctagtgtgaggaatggctaccaaggcaacgatgcgtagccgacctga
gagggatgacggccacactgggactgagacacggcccagactcctaccggaggcagcagtagggaatctccgcaat
ggacgaaagtctgacggagcaacgcccgtgagtgatgaaggtttcggatcgtaaagctctgtgttagggaagaaca
agtgccgttcaaatagggcgccacctgacggtacctaaccagaaagccacggtaactacgtgccagcagccgcg
taatacgtagggtgcaagcgtgtccggaattattggcgtaaaagggctcgcaggcgggttcttaagtctgatgtgaaagc
ccccggctcaaccggggagggctattggaaactggggaactgagtgacagaagaggagagtggaattccacgtgtag
cggtgaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaaaggcactcctggtctgtaactgacgctgaggagcg
aaagcgtggggagcgaacaggattagataccctgggtagtccacgcccgtaaacgatgagtgtaagtgttaggggg
ttyccgccccttagtctgacgtaacgcattaagcactccgctggggagtasggtcgcaagactgaaacctcaaag
gaattgacggggggcccgcacaagcgggtggagcatgtggttaattmgaagcaacgcaagaacctaccaggtcttg
acatcctctgacaacctagagataagggctcccccttcggggggcagagtacaggtgggtcatggtgtcgtcagct
cgtgctgtagatgtgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagttgccagcattcagttgggactcctaag
gtgactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcccctatgacctgggctacacacgt
gctacaatggacagaacaaagggcagcagaccgaggttaagccaatcccacaatctgttctcagttcggatcgt
agtctgcaactcgactgctgaaagctggaatcgtagtaatcgggatcagcatgccgaggtgaatacgttcccgggct
tgtacacaccgcccgtcacaccacgagagtttgaacaccgaagtcggtgaggttacggcga

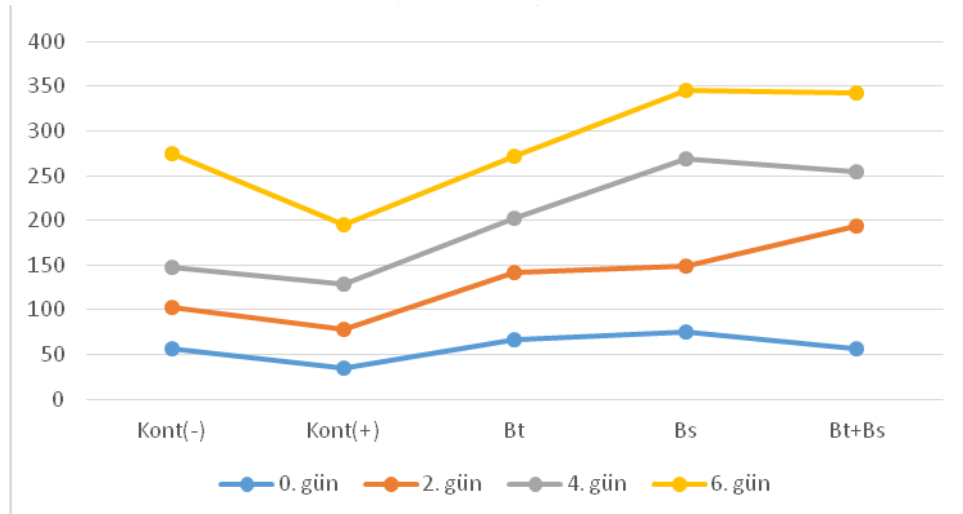
Şekil 4.1. Bacillus izolatlarının dizi analizi sonuçları

Bu bakterilerin her ikisi de böceklerden izole edilmiş olup daha önce yürütülen çalışmalarda *B. thuringiensis* strain CP-1 izolatının entomopatojen özelliğinin olduğu (Sarac vd 2011; Tozlu vd 2011; Dadaşoğlu vd 2013; Tozlu vd 2019a) ve *B. subtilis* strain FD-1 izolatının ise antifungal özelliklere de sahip olduğu belirtilmiştir (Tozlu vd 2019b; Tekiner vd 2019). *B. thuringiensis* strain CP-1 izolatının sivrisinek larvalarında (*Culex pipiens*) 8×10^8 kob/ml’de % 52 oranında ölüme sebep olduğu, azotsuz besi ortamında iyi geliştiği, tuza toleransının yüksek olduğu ancak antibiyotiklere karşı dayanıklı olmadığı tespit edilmiştir (Dadaşoğlu vd 2013). Aynı çalışmada yapılan antibiyotik dayanıklılık test sonuçlarında amikacin (30 µg/disk), kanamycin (30 µg/disk), penicilin (10 µg/disk), tobramycin (10 µg/disk), ofloxacin (5 µg/disk) ve sulphamethoxazole (25 µg/disk) antibiyotiklerine karşı dayanıklı olmadıkları 20 ile 34 mm arasında inhibasyon zonu oluştuğu görülmüştür (Dadaşoğlu vd 2013). Laboratuvar koşullarında yürütülen bir başka çalışmada ise; *B. thuringiensis* strain CP-1 izolatının *Halyomorpha halys* (Stal, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae)’in nimflerinde %95 oranında ölümlere sebep olduğu tespit edilmiştir (Tozlu vd 2019a).

B. subtilis strain FD-1 izolatı ile de daha önce bazı çalışmalar yürütülmüştür. Bu bakteri izolatının önemli bitki patojeni funguslardan *Alternaria alternata* (Kessler)’yı petri ortamında %51 oranında (Tekiner *et al.* 2019), bir başka bitki patojeni olan *Colletotrichum gloesporoides*’i ise yine petri ortamında % 53 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu bakterinin turuncgillerde depo koşullarında sorun olan birçok patojen fungusa karşı biyopestisit olarak kullanılabilceği belirtilmiştir (Tozlu 2019b).

4.2. Bakteriyolojik sayım sonuçları

Statik yöntemle uygulanan bakteri inokülasyonları sonucunda kontrol ve deneme gruplarında belirlenen zaman aralıklarında (0., 2., 4., ve 6. günde) yapılan bakteriyolojik analizlerle su örneklemelerine ait toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (kob/ml) Şekil 4.2’de verilmiştir.



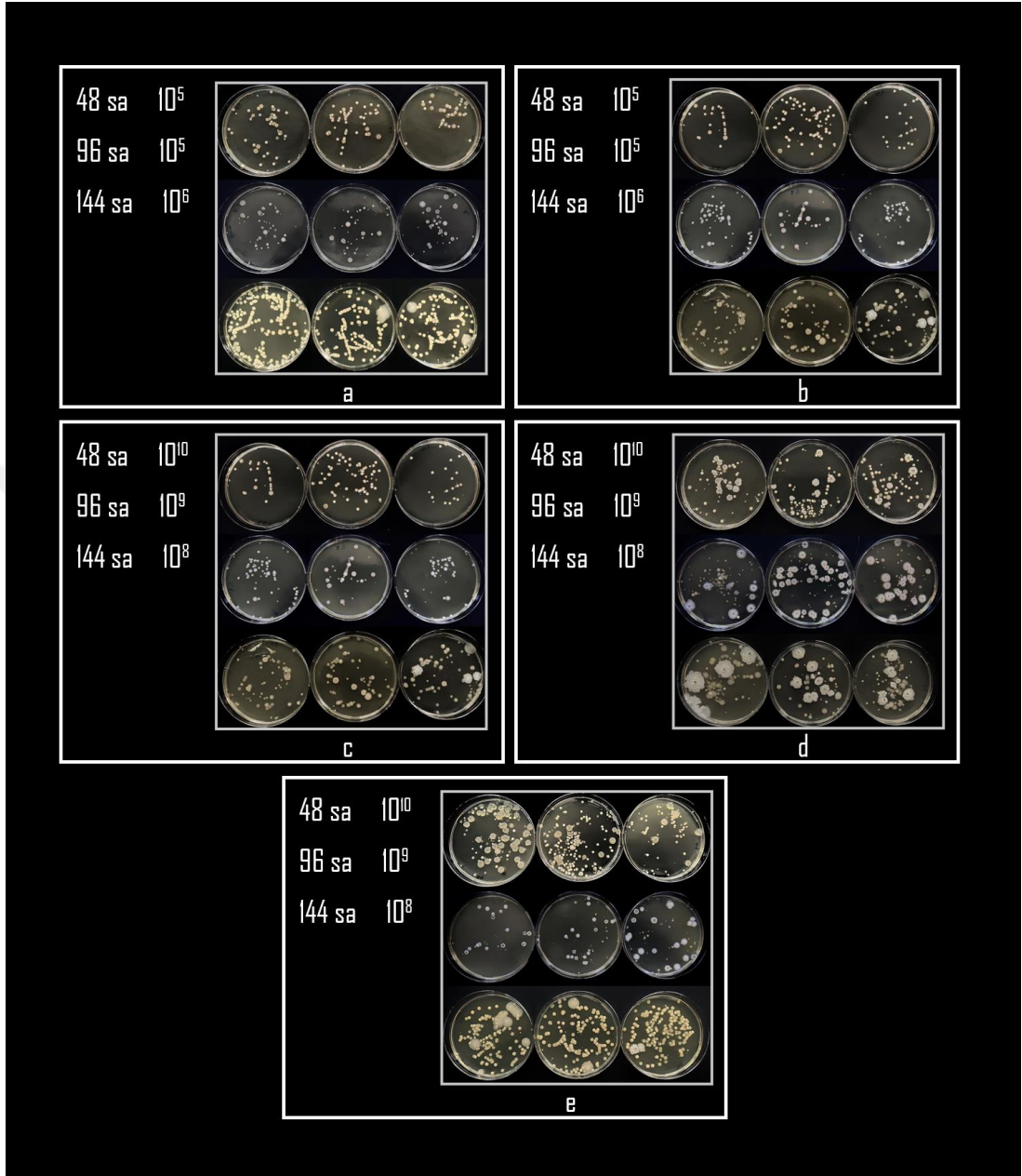
Şekil 4.2. Bakteri uygulaması yapılan akvaryumlara ait toplam bakteri sayım sonuçları
K(-): Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, K(+): Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, Bt: *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, Bs: *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu, Bt+Bs: *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu.

Deneme başlangıcında (0. gün) tüm deney gruplarında belirlenen bakteri sayısı yaklaşık $55-75 \times 10^4$ kob/ml düzeyinde belirlenmiştir. Deneme sonunda en yüksek bakteri düzeyi Bs, Bs+Bt gruplarında belirlenmiştir. Kontrol grupları bakteriyolojik sayımlarında koloni oluşturan bakteriler toplam aerobik mezofilik bakteriler olarak kaydedilmiştir. Deneme süresince yapılan toplam sayımlarda belirlenen bakteri sayım sonuçları Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

Son zamanlarda mikrobiyal enzimler önemli araştırma konusu olmuşlardır. Bu eğilimdeki gerekçelerden biri endüstriyel olarak kullanılan enzimlerin çoğunun mikrobiyal kökenli olmasıdır (Ortakaya ve Fincan 2019). Özellikle *Bacillus* cinsine ait türler bu enzimlerin sentezlenmesinde önemli rol oynarlar. Amilaz, selülaz ve antibiyotik üretme yeteneği yüksek olan Gram pozitif organizmalar arasında *Bacillus stearothermophilus*, *Zymomonas mobilis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* ve *Thermoactinomyces sp.* bu özelliğe sahip mikroorganizmalardır (Şensoy Karaoğlu 2013; Ortakaya ve Fincan 2019). Yaptığımız çalışmada 6. günde bakteri uygulanan gruplardaki azalmalarda kültür ortamından alınan bakterilerin deney ortamından etkilenerek canlılıklarını kaybetmesinden kaynaklandığını söyleyebiliriz (Dere ve Sıvacı 2003). Gram-pozitif, çürükçül bir bakteri olan *B. subtilis* doğadaki besin döngüsüne katkıda bulunur. Bu

bakteriler her ne kadar oksijen varlığında büyüse de nitrat varlığında havasız ortamlarda da büyüme gerçekleşebilir. Sıcak ve kurak evrelerde *B. subtilis* endosporlar oluşturarak canlılığını koruyabilir. Büyüme evresindeki metabolik faaliyetler süresince *B. subtilis* çeşitli maddeler ve enzimler salgılayarak ortamdaki diğer mikroorganizmaları baskılar, besin maddelerinden kendisi yararlanır ve bulunduğu ortama dominant olur (Yonsel 2010). Araştırma bulgularımız mevcut veri ile uyumludur. *B. subtilis* FD-1 ve *B. thuringiensis* CP-1 uygulanan akvaryumlardaki yüksek bakteri sayılarında *Bacillus* 'larn farklı metabolik özelliklerinin yanı sıra geniş fizyolojik yeteneklerinin (psikrofilikten termofiliğe; asidofilikten alkalifiliğe; halotoleranttan halofiliğe geniş bir yelpazeye sahiptir) etkili olduğu düşünülmektedir (Uzunalioglu, 2015). Yine bakteriler arasında belirlenen artışlardaki farklılıkların NO_3^- -N uzaklaştırılmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (Li *et al.* 2019).

B. subtilis'in doğal ortamda sıcaklık, nem, UV ışınları gibi koşullardan çok az etkilendiği ve canlılığını koruyabildiği bilinmektedir. Bu duruma istinaden yapılan bir çalışmada havasız ve havalı ortamlarda *B. subtilis*'in ürettiği bakteriyositlerle birçok fungus ve diğer bakterileri baskıladığını, kötü koku ve pH değerlerini azalttığını ve asiditeyi artırarak sağlıklı koşullar oluşturabildiği ifade edilmiştir (Yonsel 2010). Bu durum çalışmamızda, uygulama gruplarındaki toplam bakteri yükünün kontrole oranla az olmasını açıklamaktadır. Çalışmamızda *B. subtilis* FD-1 ve *B. subtilis* FD-1 + *B. thuringiensis* CP-1 uygulanan gruplarda 2 ve 4. günlerdeki bakteri artışlarında ise *B. subtilis* FD-1 bakterilerinin uygulandıkları ortamlardaki hızlı çoğalmalarına atfedebiliriz (Yonsel 2010). Deneme süresi sonunda her iki bakterinin tekli ve kombinasyonlu kullanıldığı grupların tamamında belirlenen azalmalar ortama kirletici kaynağın dahil olmasından dolayı söz konusu bakterilerin koruyucu etkisinin azalması ve diğer bakterilerin ortama dahil olması ile açıklanabilir.



Şekil 4.3. Deneme ortamlarından alınarak farklı dilusyonlarda hazırlanan su örneklerinde NA besiyerinde inkübasyon sonrası üreyen bakteri kolonilerinin görünümü a: K(-); Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, b: K(+); Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, c: Bs; *Bacillus subtilis* FD-1, d: Bt; *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, e: Bt+Bs; *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde uygulama bakterilerinin ortamda yoğun bulunmasında bakterilerin ortamlarındaki değişikliklere hızla adapte olması düşünülebilir. Bakterilerin adaptasyon yeteneklerinin biyoremediasyon çalışmaları için bir fırsat olduğu biyoremediasyon uygulamalarında etkili bir şekilde kullanılabileceği bilinmektedir (Türetken vd 2019).

Yapılan çalışmalar bakterilerin, doğal ortamlarında ksenobiyotik maddelerle (ağır metaller, antibiyotikler ve pestisitler gibi) karşılaşmadıkları sürece, bunlara karşı direnç geliştirmelerinin gereksiz olduğunu ifade etmektedir. Çevresel faktörlere bağlı olarak, sucul ortamlara kirlilik kaynaklarının girişi sonucunda, bakteriler ksentebiyotiklere karşı direnç geliştirirler ve özellikle dirençle ilgili bazı enzimler üretirler. Bu durumun sürekliliğinde (kirliliğin devam etmesi) ise bakteriler bu maddelere karşı birikme veya kompleksleşme, metal iyonlarının oksidasyonu, ekzopolisakkarit üretimi ve hücrel mutasyonlar gibi direnç mekanizmaları oluştururlar (Uzunaliöglu 2015; Ayangbenro and Babalola 2017; Keloöglu, 2017; Marinescu *et al.* 2017; Çiftçi Türetken *et al.* 2019; Akay ve Tezel 2020).

4.3. Su kalite parametreleri

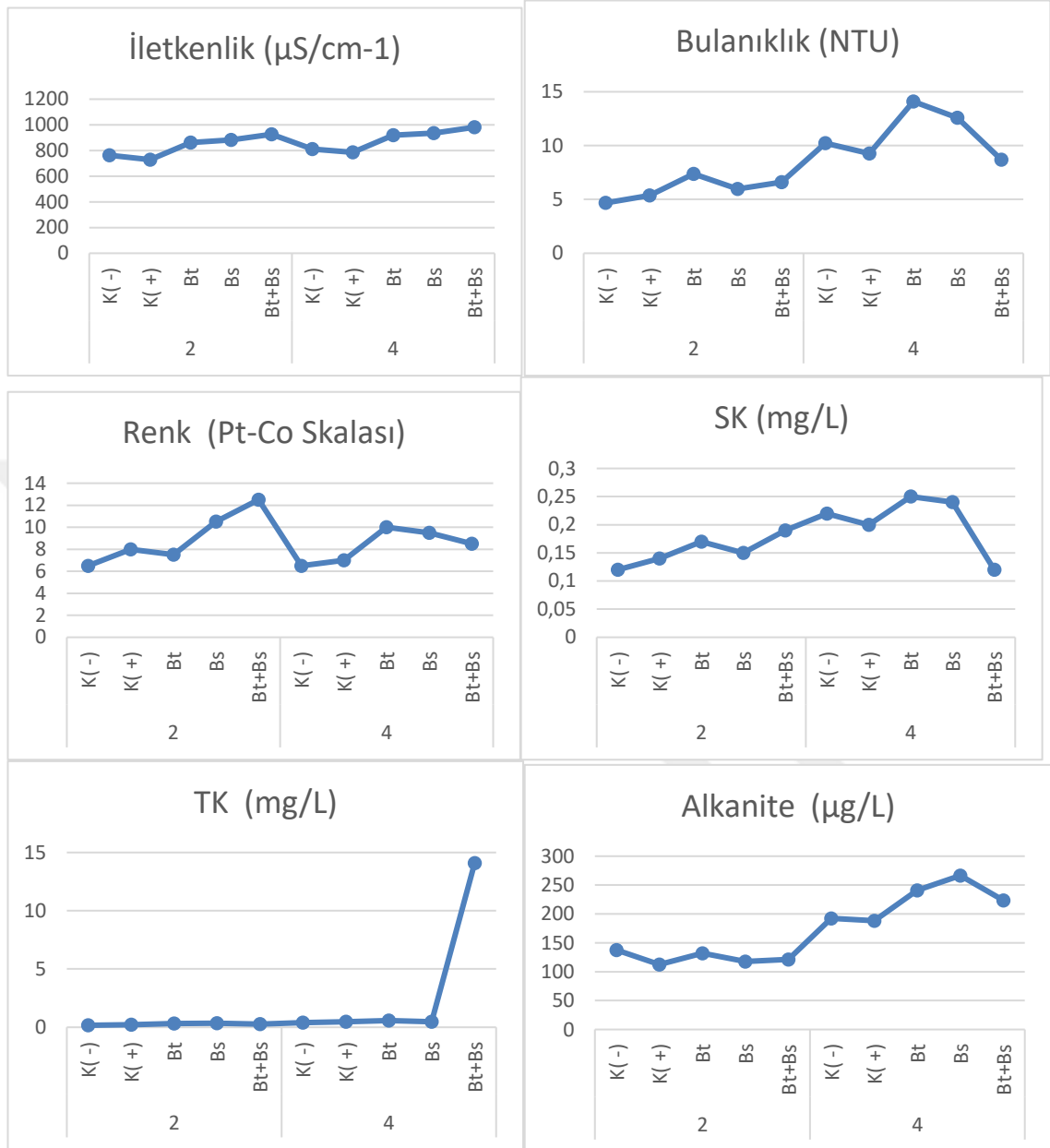
Kurulan düzeneklerden alınan su numunelerinde yapılan analizlerde fiziko-kimyasal analizler, azot fraksiyonları ve toplam fosfor ile ağır metal içerikleri 2 günlük aralıklarla belirlenmiştir. Değerlendirilen parametrelerde uygulama grupları arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Elde edilen fiziko-kimyasal parametreler toplam azot, fosfor, sülfat ve ağır metal besin tuzları ve ağır metal içerikleri ortalama \pm standart sapma ($\bar{X} \pm SS$) olarak aşğıdaki çizelgeler (4.2 - 4.4) ve şekillerde (4.4 ve 4.5) verilmiştir.

4.3.1. Sudaki bazı fiziko-kimyasal analizler

Çözünmüş oksijen, pH, su sıcaklığı, elektrik iletkenliği, bulanıklık, renk, serbest klor (SK), toplam klor (TK), alkanite ve toplam sertlik (TS) değerlerinin tamamında

değişimler belirlenmiş ve gruplar arası farklar $p < 0,05$ seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4). Çalışma verilerine baktığımızda çözünmüş oksijen değerleri gruplar arasında önemli farklılıklar göstermiş ve artan sıcaklığa bağlı olarak oksijen miktarı azalmıştır. Çalışma bulgularımızla paralel olarak yüksek su sıcaklıklarında daha az çözünmüş oksijen bulunduğu bilinmektedir (Yavuzcan 2013). Düşük çözünmüş oksijen konsantrasyonu bir kirlilik göstergesi olarak suyun normal amaçlar doğrultusunda kullanımını kısıtlar (Pulatsü vd 2014). Çözünmüş oksijenin sudaki fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal aktivitelere bağlı olarak ortamdaki konsantrasyonları değişim göstermekle birlikte sıcaklık ve tuzlulukla ters orantılı bir ilişki bulunmaktadır (Yalçın ve Gürü 2002). Bu araştırmada elde edilen düşük oksijen konsantrasyonlarının sebebi olarak sıcaklık ve ortamda bulunan bakterilerin faaliyetleri (varlıkları/çoğalmaları ve enerji üreten geresinimleri gibi) sonucu oksijeni aşırı tüketmesi olarak düşünülebilir. Bilinen bir durum olarak sucul ortamdaki yaşayan bitkiler (gündüzleri fotosentez) ve organizmalar (bakteri, balık gibi) önemli miktarda oksijen tüketimine neden olurlar (Jonnalagadda and Mhere 2001).

Araştırmamızda tüm uygulama grupları arasında en düşük pH değerleri sırasıyla *B. subtilis* FD-1, *B. subtilis* FD-1 + *B. thuringiensis* CP-1 ve *B. thuringiensis* CP-1 gruplarında belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Kontrol gruplarına kıyasla daha asidik olan bu gruplara ait su numunelerinde Bacillus'un metabolik faaliyeti neticesinde pH değerinin azaldığı düşünülmektedir (Yonsel 2010). Araştırma bulgularımıza benzer olarak fosfat çözündürücü *B. subtilis* SJ-101'in inoküle edilmesi sonucunda mevcut ortamda pH değerlerinde önemli düşüşlerin (7.5'dan 4.8'e) olduğu ve bu durumda metallerin çözünürlüğünün de etkili olabileceği bildirilmiştir (Uzunalioglu 2015).



Şekil 4.4. Deneme ortamlarına ait 2. ve 4. gün bazı fizikokimyasal su parametre değişimleri

K(-): Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, K(+): Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, Bt: *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, Bs: *Bacillus subtilis* FD-1, Bt+Bs: *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu. SK: Serbest klor, TK: Toplam klor

Alkalinite ile pH arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu ve 8,3 pH değerinde 50 mg/L CaCO₃ alkalinite değeri olması gerektiği bildirilmiştir (Boyn and Tucker 1998).

Araştırmamızda ortalama elektrik iletkenliği değeri 872 ± 30 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak ölçölmüştür. Suda iyon ya da toplam çözünmüş katı madde konsantrasyonu ne kadar yüksekse, elektriksel iletkenlik de o derece yüksek olmaktadır (Metcalf and Eddy 2002). Bu çalışmada renk değeri bütün gruplarda en yüksek 6. günde (13.50-18.00) saptanmıştır. Bu değerler K(-) ve K(+) için sırasıyla $18,00\pm2,31$ Pt-Co ve $17,00\pm1,16$ Pt-Co olarak ölçölmüştür.

Sertlik, suların kullanım amacında (içme, kullanma ve endüstri) önemli bir parametre olup kalsiyum ve magnezyum tuzlarından meydana gelmektedir. Çalışmamızda incelenen tüm akvaryum suları $16-36$ CaCO_3 (mg/l) aralığında tespit edilmiş ve yumuşak sular ($0-75$ mg/l CaCO_3) sınıfında belirlenmiştir (Lawson 1995).

Çizelge 4.2. Deneme ortamlarına ait fiziko-kimyasal özelliklerin değişimleri

| Zaman (gün) | Uygulama | ÇO (mg/l) | pH | Sıcaklık (°C) | İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$) | Bulanıklık (NTU) | Renk (Pt-Co Skalası) | SK (mg/L) | TK (mg/L) | Alkanite ($\mu\text{g}/\text{L}$) | TS (mg/L CaCO_3) |
|-------------|----------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---|-------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 0 | K(-) | 5,47±0,20 | 7,89±0,04 | 19,15±0,40 | 790,0±3 | 1,51±0,03 | 7,00±2,31 | 0,03±0,00 | 0,36±0,00 | 79,50±2,887 | 16,02±0,1 |
| 6 | K(-) | 2,89±0,10 ^a | 8,03±0,08 ^a | 17,85±0,06 ^{ab} | 893,00±4,62 ^c | 13,80±4,16 ^b | 18,00±2,31 ^a | 0,27±0,09 ^c | 0,63±0,08 ^b | 424,50±46,76 ^a | 35,65±2,5 ^a |
| | K(+) | 2,70±0,46 ^{ab} | 7,99±0,03 ^{ab} | 17,90±0,12 ^{ab} | 829,00±6,93 ^d | 27,90±9,58 ^a | 17,00±1,16 ^{ab} | 0,32±0,04 ^c | 0,49±0,14 ^b | 364,50±25,9 ^{bc} | 36,00±5,8 ^a |
| | Bt | 2,36±0,10 ^{bc} | 7,97±0,06 ^{ab} | 17,85±0,06 ^{ab} | 974,50±16,74 ^b | 33,75±3,06 ^a | 16,50±1,73 ^{ab} | 0,48±0,07 ^b | 0,75±0,05 ^a | 325,50±6,35 ^c | 28,00±0,0 ^{bc} |
| | Bs | 2,21±0,18 ^c | 7,94±0,02 ^b | 17,75±0,29 ^b | 989,00±1,16 ^{ab} | 28,00±6,47 ^a | 14,50±1,73 ^{bc} | 0,64±0,02 ^a | 0,85±0,15 ^a | 342,50±13,28 ^c | 26,50±0,6 ^c |
| | Bt+Bs | 2,14±0,06 ^c | 7,94±0,01 ^b | 18,05±0,06 ^a | 1028,50±5,71 ^a | 17,30±4,97 ^b | 13,50±0,58 ^c | 0,33±0,03 ^c | 0,76±0,23 ^a | 389,50±32,9 ^{ab} | 31,50±1,7 ^{ab} |

K(-): Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, K(+): Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, Bt: *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, Bs: *Bacillus subtilis* FD-1, Bt+Bs: *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu. ÇO: Çözünmüş oksijen, SK: Serbest klor, TK: Toplam klor, TS: Toplam sertlik. Aynı sütun ve aynı günler arasında farklı harflerle (a,b,c,d) gösterilen parametrede gruplar arası fark bulunmaktadır.

4.3.2. Toplam azot, fosfor ve sülfat değerleri

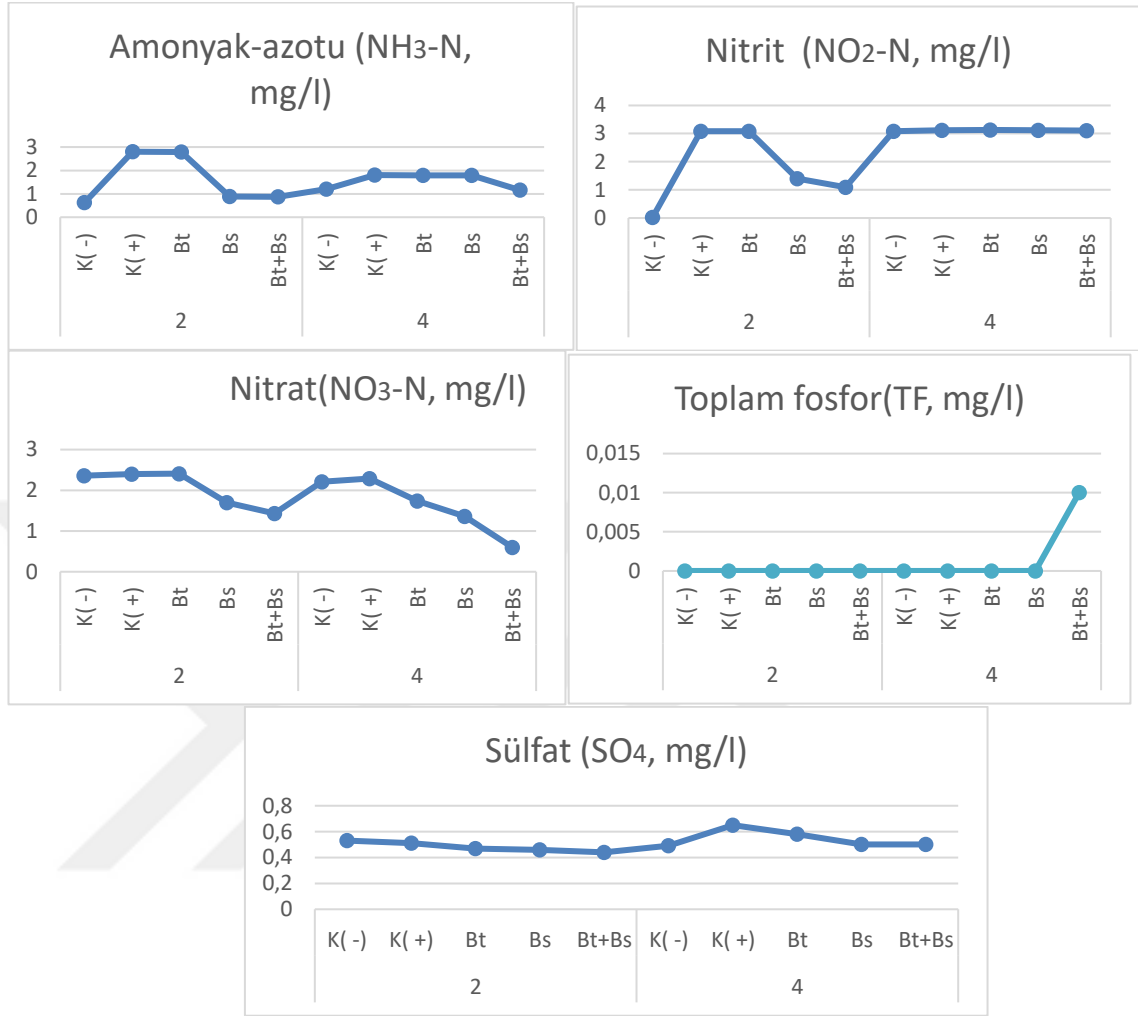
Deneme gruplarında günlere paralel olarak amonyak azotu seviyesi tüm gruplarda artış göstermiş ve denemede kullanılan balıklarda 5. günden itibaren ölümler gözlemlenmiş olsada *B. subtilis* FD-1+ *B. thuringiensis* CP-1 uygulamalarında deneme grupları ve günleri açısından en düşük değerler kaydedilmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5). Toplam amonyak seviyesinde %4 toplam nitrit oranında ise yaklaşık %81 düzeyinde bir iyileşme belirlenmiştir. Ticari ürün kullanılan deneme ortamlarında (K+) ise kontrole (K-) oranla toplam amonyak seviyesi %32 artmış, nitrit seviyesi ise % 2 azalmıştır. Muamele gruplarına oranla *Bacillus* uygulamalarında elde edilen düşük amonyak konsantrasyonlarında, bu bakteri sporlarının uygulandıktan sonra ortamda hızla gelişmesi ve metabolik faaliyetleri dolayısıyla da buldukları ortamlarda pH değerinin azalmasına neden olmasından dolayı, amonyumun amonyak gazı formuna dönüşmesi ile amonyak emisyonu engellemesinin neden olduğu düşünülmektedir (Yonsel 2010). Konohana *et al.* (2000), *Bacillus licheniformis*'in aerobik koşullar altında NO_3 ve NH_4^{+1} ortamdan uzaklaştırdığını bildirmişlerdir.

Çizelge 4.3. Deneme ortamlarına ait azot fraksiyonları ve toplam fosforun değişimi

| Zaman (gün) | Uygulama | Amonyak-azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$, mg/l) | Nitrit ($\text{NO}_2\text{-N}$, mg/l) | Nitrat ($\text{NO}_3\text{-N}$, mg/l) | Toplam fosfor (TF, mg/l) | Sülfat (SO_4 , mg/l) |
|-------------|----------|--|---|---|--------------------------|--------------------------------|
| 0 | K(-) | 0,76±0,08 | 0,00±0,00 | 1,70±0,03 | 0,00±0,00 | 0,47±0,03 |
| 6 | K(-) | 1,35±0,28 ^b | 3,12±0,00 ^b | 1,17±0,91 ^c | 0,02±0,01 ^c | 0,52±0,02 ^c |
| | K(+) | 1,78±0,00 ^a | 3,06±0,00 ^a | 0,01±0,01 ^a | 0,93±0,15 ^a | 0,67±0,04 ^a |
| | Bt | 1,78±0,00 ^a | 1,65±0,50 ^b | 0,00±0,00 ^b | 0,81±0,08 ^b | 0,60±0,03 ^b |
| | Bs | 1,77±0,00 ^a | 1,68±0,48 ^b | 0,00±0,00 ^b | 0,93±0,04 ^a | 0,60±0,05 ^b |
| | Bt+Bs | 1,29±0,52 ^b | 0,60±0,03 ^c | 0,00±0,00 ^b | 0,43±0,15 ^c | 0,52±0,03 ^c |

K(-): Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, K(+): Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, Bt: *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, Bs: *Bacillus subtilis* FD-1, Bt+Bs: *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu. Aynı sütun ve aynı günler arasında farklı harflerle (a,b,c,d) gösterilen parametrede gruplar arası fark bulunmaktadır.

Moleküler oksijenin bulunmadığı ve son elektron alıcısı olarak nitratın kullanıldığı anoksik süreçlerde biyolojik denitrifikasyon gözlemlenir. Her biri ayrı enzim sistemi tarafından katalizlenen dönüşümlerde sırasıyla $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ adımları gerçekleşir (Türk ve Onay 2017). Bu adımların gerçekleşmesinde *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Chromobacter*, *Corynebacterium*, *Halobacterium*, *Methanomonas*, *Moraxella*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Spirillum*, *Thiobacillus*, ve *Xanthomonas* en bilinen denitrifikasyon mikroorganizmaları olarak ortaya çıkar (Koenig *et al.* 2005; Zhao *et al.* 2011; He *et al.* 2018). Yaptığımız çalışmada nitrat varlığında *B. subtilis*in daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Araştırma bulgularımıza paralel olarak yapılan bir çalışmada *B. subtilis*, *B. licheniformis* ve *E. coli* bakterilerinin nitrat içeren ortamda anaerobik büyümesi gözlemlenmiş ve büyütülen bakterileri yoğunluklarında sırasıyla %5, %6 ve %16 oranında gelişim belirlemiştir. Yine nitrat solunumu sırasında *B. subtilis* tarafından ulaşılan maksimum optik yoğunluğun *E. coli* tarafından ulaşılandan yaklaşık 5,7 kat daha az olduğu bildirilmiştir (Clements *et al.* 2002). Nitrat konsantrasyonu açısından incelediğimizde bakteri uygulama gruplarında kontrole oranla %100 oranında iyileştirmenin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Sonuçlarımıza paralel olarak Tang *et al.* (2018) yaptıkları çalışmalarında su ürünleri yetiştiriciliğinde atık sulardan nitratın arıtımında *Bacillus sp.* kullanımının etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yine fiziko-kimyasal parametrelerde gözlemlenen pH artışlarında nitratın denitrifikasyonunun etkili olduğu düşünülmektedir. Bu durumda nitrat tükendikçe pH artışı ortaya çıkmaktadır (Rajta *et al.* 2019).



Şekil 4.5. Deneme ortamlarına ait 2. ve 4. gün toplam azot, fosfor ve sülfat değişimleri
 K(-): Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, K(+): Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, Bt: *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, Bs: *Bacillus subtilis* FD-1, Bt+Bs: *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu.

Canlılar için azottan sonra başlıca besin elementi fosfor (P) olup bütün organizmaların DNA yapıları için önemli bir kimyasal elementtir. Bu elementin farklı anyon reaktifleri bazı katyonik metallere (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , Mg^{+2} ve Al^{+3}) hareket olanakları açısından ilişkilidir. Bu durumlarda fosforun mineralizasyonunda laktik asit, glukonik asit, asetik asit, formik asit, okzalik asit, tartarik asit, fumarik asit ve sukkinik asit gibi organik ve fosforik asitlerin varlığına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu asitlerin üretiminde ise *Bacillus polymyxa*, *B. megatarium*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. firmus*, *Pseudomonas striata*, *P. rathonia*, *Rhizobium leguminosarum* ve *R. meliloti*

bakterilerileri etkindir. Özellikle *Bacillus* türlerinin laktik, izovalerik, izobütirik ve asetik asit grubunun karışımını üretebildiği bildirilmiştir (İmriz *et al.* 2014.) Bu araştırmada 6. günde toplam fosfor değerinin arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.3), toplam fosfor düzeyi gün içinde pH, çözünmüş oksijen veya diğer su kalite değerlerine göre değişim göstermediğinden (Pulatsü vd 2014) son günde bakterilerin ölümlerinin gerçekleşmesiyle fosfor değerinin arttığı düşünülmektedir. Deneme süresi sonunda kontrole (K-) oranla toplam sülfat seviyesi K(+) grubunda % 28 artarken bakteri uygulanan gruplarda bu oran % 15 olarak belirlenmiştir.

4.3.3. Sudaki ağır metallerin derişimi

Atıksular sadece yüksek nitrat ve nitrit içermez aynı zamanda Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{6+} , Ni^{2+} ve diğer ağır metal iyonlarını da içerir (Rajta *et al.* 2019). Anaerobik koşullar altında, nitrat, sülfat, Mn^{4+} veya Fe^{3+} indirgeyiciler oksijeni elektron alıcı olarak kullanabilirler (Liu *et al.* 2020). Teknolojik önemleri nedeniyle ağır metaller çeşitli endüstrilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat kullanıldığı alanların atık sularında bu metaller kalıcı toksik etkilere neden olabilmektedir. Araştırma verilerimiz dikkate alındığında deneme süresi sonunda uygulama gruplarındaki ağır metal konsantrasyonlarındaki değişimler incelendiğinde (Çizelge 4.4.) *B. thuringiensis* ve *B. subtilis*'in tekli ve ikili kullanımlarında bu bakteri izolatlarının Ni, Cr, Se, Al, Cd, Mn, Fe ve B için sırasıyla büyükten küçüğe % olarak 57, 50, 50, 43, 40, 23, 5 ve 2 oranlarında metal giderimi yaptığı özellikle Al, Cd, Ni ve Se seviyelerinin azaltılmasında *B. thuringiensis*'in Fe, Cr ve B metallerinde ise *B. subtilis*'in daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma ile *Bacillus* türü bakterilerin deneme ortamlarında ağır metal konsantrasyonlarında metal türüne bağlı olarak etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada toprak ve atık sularda bulunan ağır metallere (bakır, krom ve demir gibi) karşı *Bacillus*'ların yüksek oranda direnç gösterdiği bildirilmiştir (Karaoğlu 2013). Çalışma bulgularımızda elde edilen Bt uygulama gruplarında belirlenen Al, Cd ve Ni metallerinin düşük konsantrasyonları dikkate alındığında, elde ettiğimiz verilerle uyumlu olarak Uzunaliöglü (2015) *Bacillus thuringiensis* MP7B suşunun (besi ortamına eklenen kurşunu) kurşunu kullanabildiğini kaydederek ağır metalle kirlenmiş ortamların

iyileştirilmesinde *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* ve *Enterobacter cloacae* özellikle tercih edilen bakteriler olduğunu bildirmiştir ve yapılan farklı çalışmalarla da özellikle *Bacillus subtilis* türünün ağır metal kirliliğinde kullanılabileceği kaydedilmiştir (Kanamarlapudi and Muddada 2019; Zhao *et al.* 2019).

Deneme gruplarında selenyum ve bor açısından genel anlamda en düşük değerler sırasıyla Bt (*B. thuringiensis*) ve Bs (*B. subtilis*) gruplarında elde edilmiştir. *B. subtilis*'in Se azalttığı Uzunaliolu (2015) tarafından belirtilmiştir ve bu durum sonuçlarımızla uyum göstermemektedir. Yaptığımız çalışmada, alüminyum (Al) denemenin son gününde bakterilerin birlikte kullanıldığı gruplarda (Bt+Bs) yüksek miktarda gözlemlenmiştir. Bu metalin deney ortamları içerisindeki yoğunluğunu dikkate aldığımızda kullanılan bakterilerin fonksiyonel protein gruplarının söz konusu metale bağlanma yeteneğine atfedebiliriz (Keloğlu, 2017). Bilinen bir durum olarak biyomateryallerin metal tercihini etkileyen en önemli hususlar özellikle elektronegativite ve iyonik radyan gibi fizikokimyasal özellikleridir. Bu değerler ne kadar yüksekse bağlanma yeteneği de o kadar yüksek olabilmektedir (Akçael ve Kutsal 2002; Bueno *et al.* 2008).

Deney ortamlarından elde edilen sonuçlarda bazı metal gruplarında kontrole (K-) oranla genellikle azalışlar kaydedilmiştir. Bu farklılıklarda bakteriler tarafından ağır metallerin hücre içine alınması veya hücre yüzeyinde bağlanmasında yani detoksifikasyonunda proteinlerin, bakteri türünün ve ortam pH'sının etkili olduğu bilinmektedir. Yine sucul ortamlarda bakteriler tarafından ağır metallerin giderilmesinde bazı faktörler (mikroorganizmanın özgün özellikleri, hücre metabolizması ve çevrenin etkisi gibi) etkilidir (Keloğlu, 2017).

Deneme gruplarımızda, kontrole göre yüksek oranlarda belirlenen bazı metal iyon konsantrasyonlarında ortam pH değerinin düşük olması etkili olmuştur. Yapılan bir çalışmada, bakteriler tarafından en iyi nikel (Ni) alınımının sırasıyla pH 6 ve 7'de olduğu ifade edilmiştir (Gabr *et al.* 2008). Çalışmamızdaki pH değerleri, belirtilen değerlerin çok altında olup asidik bir ortam söz konusudur. Ortam şartlarının nötrale yaklaşması bakterilerin metal alınımını daha da hızlandırmaktadır. Aksi durum olarak asidik pH'lar

metalın hücre içine alınımında rol oynayan taşıyıcı proteinlerin ve detoksifikasyon mekanizmasında (ağır metalin hücre dışına atılması, katyonların özellikle kükürt seven katyonların tiol ihtiva eden moleküller aracılığıyla kompleks birleşiklere dönüştürülmesi ve bazı metal iyonlarının indirgenerek daha az toksik bileşiklere dönüştürülmesi) rol alan enzimlerin aktivitelerini etkileyebilmektedir (Uzunaliöglu 2015; Keloöglu, 2017).

Yapılan başka bir çalışmada, *B. thuringiensis*'in yüksek konsantrasyonda ağır metal içeren ortamda geliştiöi fakat Cr (VI) metalini ortamdan uzaklaştıramadıöı bildirilmiştir. Bu durumun açıklaması olarak ta *B. thuringiensis* bakterisinin istenmeyen koşullarda yüzey tabaka proteinlerinin yüksek konsantrasyonda üreterek kendini koruma altına aldığı ağır metali bu tabakaya baöıladıöı ifade edilmiştir. Yine deneme sonunda söz konusu bakteride yüzey tabaka proteinlerinin bulunduöu ancak taşıyıcı proteinlerin (ağır metalleri baöılayan) olmadığı belirlenmiştir. Buradaki mekanizma; metal stresörüne cevaben bakterinin protein sentezini artırması ile açıklanabilir (Kılıç 2008). Yine bakterilerin en yaygın stratejilerden biri de düşük moleköl aöırlıklı demir şelatörleri olan siderofor üretimidir. Siderofor proteinler Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb ile kararlı kompleksler oluşturabilirken özellikle Fe eksikliöinde minerallerden veya organik bileşiklerden yüksek oranlarda demir kompleksleri koparabilme yeteneöine sahiptir. Bu proteinlerin üretimi asidik pH'larda yaygındır ve mikroorganizmalar tarafından hidroksamat siderofor sentezi için düşük pH deöeri tercihi edilmektedir (Uzunaliöglu 2015). *Bacillus sp*'nin 0,5 mmol l⁻¹ Fe²⁺ varlıöında amonyum ve nitrat iyonlarının kullanımını arttırdıöı ifade edilmiştir (Takenaka *et al.* 2007). Bu durum amonyum-nitrat sonuçlarımızı desteklemektedir.

Çizelge 4.4. Deneme süresince akvaryum ortamlarının metal içerikleri

| Zaman (gün) | Uygulama | Al (µg / L) | Fe (µg / L) | Cd (µg / L) | Cr (µg / L) | Cu (µg / L) | Mn (µg / L) | Ni (µg / L) | B (µg / L) | Se (µg / L) |
|-------------|----------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 0 | K(-) | 8,46±2,07 | 2,43±0,14 | 0,65±0,09 | 1,08±0,05 | 8,57±0,01 | 2,01±0,04 | 0,66±0,15 | 31,85±0,63 | 2,90±0,46 |
| 6 | K(-) | 2,42±0,32 ^a | 1,39±0,06 ^b | 0,30±0,00 ^a | 0,28±0,01 ^a | 1,16±0,15 ^b | 15,60±0,46 ^a | 0,53±0,13 ^a | 26,10±0,693 ^b | 1,68±0,09 ^{ab} |
| | K(+) | 1,84±0,98 ^b | 0,71±0,00 ^c | 0,35±0,05 ^a | 0,15±0,00 ^b | 1,58±0,00 ^a | 11,38±0,14 ^d | 0,51±0,06 ^a | 24,75±0,751 ^c | 1,52±0,20 ^b |
| | Bt | 1,38±0,11 ^c | 1,61±0,31 ^{ab} | 0,18±0,02 ^b | 0,30±0,06 ^a | 1,37±0,14 ^{ab} | 12,95±0,28 ^b | 0,23±0,08 ^b | 26,05±0,635 ^b | 0,84±0,15 ^c |
| | Bs | 1,63±0,09 ^{bc} | 1,32±0,23 ^b | 0,31±0,10 ^a | 0,25±0,04 ^a | 1,52±0,09 ^a | 12,05±0,17 ^c | 0,60±0,11 ^a | 25,65±0,289 ^b | 1,80±0,05 ^a |
| | Bt+Bs | 2,43±0,18 ^a | 1,89±0,25 ^a | 0,36±0,05 ^a | 0,14±0,01 ^b | 1,37±0,19 ^{ab} | 12,00±0,46 ^c | 0,64±0,05 ^a | 27,50±0,346 ^a | 1,63±0,08 ^{ab} |

K(-): Herhangi bir uygulama olmayan akvaryum suyu, K(+): Ticari ürün kullanılan akvaryum suyu, Bt: *Bacillus thuringiensis* CP-1 içeren akvaryum suyu, Bs: *Bacillus subtilis* FD-1, Bt+Bs: *Bacillus thuringiensis* CP-1 + *Bacillus subtilis* FD-1 içeren akvaryum suyu. Aynı sütun ve aynı günler arasında farklı harflerle (a,b,c,d) gösterilen parametrede gruplar arası fark bulunmaktadır.

5. SONUÇ

Bacillus türleri doğada oldukça farklı alanlarda (çürüten organik materyalde, toz, toprak, yeşil sebze, su ve bazı türlerde de normal vücut florasında) bulunabilirler. *B. thuringiensis*'in güvenilirliğinin test edildiği çalışmalarda hayvan ve insan sağlığının yanı sıra hedef dışı canlılar için de toksik olmadığı belirlenmiştir (Uzunalioglu 2015). Bu yaklaşımla önemli seviyede biyosidal ve biyopestisit özellikleri bulunan bu bakteri izolatlarının aynı zamanda biyolojik arıtmada kullanılma potansiyelinin araştırılması yeşil tarım uygulamaları adına çok önemli bir artı olarak düşünülebilir. Bununla birlikte yerli bakteri izolatları ile yapılan çalışmaların azlığı, biyoremediasyonda kullanılan ticari ürünlerin yurtdışından temin edilmesi (ciddi bir döviz kaybı söz konusudur) ve/veya bu ürünlerin yetersizliği gibi bazı dezavantajlar gözlenmiştir.

Bu doğrultuda yaptığımız çalışmada, yetiştiricilik ortamlarında farklı kökenlerden (yem atığı, dışkı v.b) gelen kirlilik etmenlerinin giderilmesinde yerli izolatlar olan *Bacillus thuringiensis* CP-1 ve *Bacillus subtilis* FD-1 bakterilerinin kontrollü ortamlarda biyolojik iyileştirme potansiyelleri araştırılmıştır. Bu amaçla kullanılmış akvaryum suları ile oluşturulan deney düzeneklerine *Bacillus thuringiensis* CP-1 ve/veya *Bacillus subtilis* bakterileri tekli ve çoklu olarak inoküle edilmiş ve ticari bir ürüne karşı 7 gün (0.,2.,4., ve 6.,) boyunca statik deney prosedüründe bazı su kalite parametreleri ve ağır metal seviyeleri yönünden remediasyon seviyeleri araştırılmıştır. Yerli izolatları kullanarak ileride yapılacak biyolojik formülasyon ve akuatik kirliliğin giderimine yönelik çalışmalar için ticari bir ürüne dönüştürmeyi planladığımız bu çalışmamızda elde edilen araştırma bulgularımız aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

17-20±0,05° C sıcaklık, 5,1-8.1 pH, 2-4,6 mg/l çözülmüş oksijen değerlerine sahip statik uygulama ortamında 6 gün sonunda elde edilen sonuçlarda;

1. Akvaryum ortamlarında yapılan bakteriyolojik sayımlarda her iki bakteri türünün de (*Bacillus thuringiensis* CP-1 ve/veya *Bacillus subtilis* FD-1) 2. ve 4. günlerde yüksek seviyelere ulaştığı, denemenin 6. gününde ise en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir.

2. Bakteri izolatlarının amonyak, nitrit ve nitrat azotunu sırasıyla % 4, 80 ve 100 seviyesinde iyileştirdiği, Bt+Bs uygulamasının toplam azot seviyesinin biyolojik remediasyonunda daha etkili olduğu bulunmuştur.
3. Bakteri uygulamaları sonucunda deney ortamlarının pH değerindeki asidite oranı ortamda fazla nitrit birikimine sebep olmuştur.
4. Metallerin uzaklaştırılmasında, metalin ve bakteri türünün etkili olduğu gözlenmiş, özellikle *B. thuringiensis* CP-1'in *B. subtilis*'ten daha etkili olduğu ve özellikle Al, Cd, Ni ile Se uzaklaştırılmasında oldukça başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma döneminde, kullanılan bakteri türlerinin kirlilik kontrolünde pozitif yönde potansiyelleri belirlenmiş olsa da kirliliğin tamamen kontrol altına alınamadığı gözlenmiştir. Bu durum için;

1. Uzun vadeli izleme çalışmaları ile farklı deney ortamları ve şartlarında çalışmaların yapılması,
2. Bakterilere ait optimum gelişme koşullarının belirlenerek uygun taşıyıcı formülasyonları ile farklı ortam koşullarında ve kirlilik tiplerinde kullanılması,
3. Daha fazla çalışmayla su ürünleri yetiştiriciliğinde atık suların biyoremediasyonunda bu bakterilerin potansiyellerini daha iyi tanımlayabilmek adına, fonksiyonel yeteneklerinin irdelenmesi,
4. Doğru ve kesin bir fikir edinmek için bakterilere ait ilgili moleküler mekanizmalara odaklanması,
5. Sucul organizmalar açısından kullanımlarını daha sağlıklı hale getirmek adına özellikle pH azalmasına bağlı olarak artan nitrit seviyesinin kontrol altına alınmasına yönelik; ya pH'yı nötre yaklaştıracak uygulamalar ya da ortama sürekli oksijen salınımı yapacak, suyun hareketlendirilmesini sağlayacak ekipman/düzeneklerin oluşturulması önerilmektedir.

KAYNAKÇA

- Ackefors, H., Enell, M., 1994. The release of nutrients and organic matter from aquaculture systems in nordic countries. *Journal of Applied Ichthyology*, 10(4), 225-241.
- Adams, G. O., Fufeyin, P. T., Okoro, S. E., Ehinomen, I. 2015. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: A review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3 (1), 28-39.
- Akay, C., Tezel, U., 2019. Biotransformation of acetaminophen by intact cells and crude enzymes of bacteria: A comparative study and modelling. *Science of the Total Environment*, 134990.
- Alak, G., Kocaman, E. M., 2008. Sağlıklı beslenmede su ürünlerinin yeri. 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum, Türkiye.
- Altuğ G., Bayrak, Y., 2003. The contribution of capsulated bacteria to the total bacterial community in the water column of the Northern Marmara Sea, Kucukcekmece Lagoon and Strait of İstanbul. *Turkish Journal of Marine Sciences.*, 9, 111-120.
- Altuğ, G., İçöz, I. O., 2005. Antibiotic resistant strains and bacterial metabolic activity in the Western Black Sea, Turkey. 1st Biannual Scientific Conference Black Sea Ecosystem, 8-10 Mayıs, İstanbul, Türkiye, 1, 405-413.
- Altuğ, G., Yardımcı, C. H., Okgerman, H., Tarkan, S. A., 2006. Levels of bacterial metabolic activity, indicator (coliform, *Escherichia coli*) and pathogen bacteria (*Salmonella spp.*) in the surface water of Sapanca Lake, Turkey. *Journal of Black Sea, Mediterranean Environment*, 12, 67-77.
- Altuğ, G., Okgerman, H., 2008. Levels of some toxic elements in the surface sediment and some biota from the Sapanca Lake, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(1), 24- 28.
- Altuğ, G., 2008. The bacteriological pollution and bacteriological metabolic activity in Lake Sapanca. *Scientific overview of Sapanca Lake. Turkish Marine Research Foundation.*, 28, 132- 139.
- Altuğ G., 2016. Türkiye denizlerinden izole edilen bakterilerin biyoteknolojik kullanım potansiyelleri. *Türkiye Denizleri Bakterilerinin Biyoteknolojik Kullanımı Çalıştayı*, 20 Ekim, ss.7-20, İstanbul, Türkiye.
- Alvarado-Gutiérrez, M. L., Ruiz-Ordaz, N., Galíndez-Mayer, J., Curiel-Quesada, E., Santoyo-Tepole, F., 2020. Degradation kinetics of carbendazim by *Klebsiella oxytoca*, *Flavobacterium johnsoniae*, and *Stenotrophomonas maltophilia* strains. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-9.
- Anonim, 2020, <https://www.sabah.com.tr/Ekonomi/2017/11/20/Turk-Kultur-Balickiligi-Ihracat-Rekoru-Kirdi> (14.01.2020).
- Anonim, 2020a, <http://Akuatark.Com/2010/09/Akvaryum-Sektoru/> (16.01.2020).
- Anonymous 1975. Standart methods for the examination of water and wastewater. John D., Ducas Co., p.1-1193, USA.
- APHA 2010. Su ve Atık Su Sınav İçin Standart Yöntemleri. Amerikan Halk Sağlığı Birliği, Washington, DC.

- Axler, R., Larsen, C., Tikkanen, C., McDonald, M., Yokom, S., Aas, P., 1996. Water quality issues associated with aquaculture: A case study in mine pit lakes. *Water Environment Research*, 68(6), 995-1011.
- Ayangbenro, A. S., Babalola, B. B., 2017. A new strategy for heavy metal polluted environments: A review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14, 94.
- Aydın, B., 2018. Knowledge and attitudes of college students about buying aquarium fish. *Su Ürünleri Dergisi*, 35(4), 447-454.
- Barlas Turan, N., Altuğ, G., 2011. Remediation effects of adapted bacteria cultures on water quality: An example of petrochemical industry. *Journal of Black Sea /Mediterranean Environment*, 17, 203–215.
- Boran, Ş., 2018. Su ürünleri sektör raporu. İzmir Ticaret Odası, Ar-Ge Bülten, Eylül-Ekim.
- Boyn, C.E., Tucker, C.S., 1998. Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publishers, 698p., USA.
- Brune, D.E., Schwartz, G., Eversole, A.G., Collier, J.A., Schwedler, T.E., 2003. Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. *Aquac Eng.*, 28(1), 65–86.
- BSGM, 2018, (Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü).
- BSGM, 2019, (Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü).
- Bueno, B. Y. M., Torem, M. L., Molina, F., de Mesquita, L. M. S., 2008. Biosorption of lead(II), chromium (III) and copper (II) by *R.opacus*: Equilibrium and kinetic studies, *Miner. Eng.*, 21, 65–75.
- Buhmann A., Papenbrock J., 2013. Biofiltering of aquaculture effluents by halophytic plants: basic principles, current uses and future perspectives. *Environ. Exp. Bot.* 92, 122–133.
- Ceyhan, N., Esmeray, E., 2012. Petrol kirliliği ve biyoremediasyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1), 95-101.
- Chandrasekaran, R., Revathi, K., Jayanthi, S., 2015. Combined effect of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* against *Helicoverpa armigera*. *Int. J. Curr. Microbiol. App Sci.*, 4(7), 127-141.
- Chang, B. V., Chang, Y. T., Chao, W. L., Yeh, S. L., Kuo, D. L., Yang, C. W., 2019. Effects of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-degrading bacteria on water quality and microbial communities in milkfish ponds. *Environmental Pollution*, 252, 305-316.
- Chen, J., Wang, P. F., Wang, C., Miao, H. C., Wang, X., 2018. How wastewater with different nutrient levels influences microbial degradation of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in anaerobic sediments. *Chemosphere*, 211, 128-138.
- Colberg, P.J.S., Young, L.Y., 1995. Anaerobic degradation of nonhalogenated homocyclic aromatic compounds coupled with nitrate, iron, or sulfate reduction. In *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals*, 307–330, Wiley-Liss, New York.
- Colonnella, M. A., Lizarraga, L., Rossi, L., Peña, R. D., Egoburo, D., López, N. I., Iustman, L. J. R., 2019. Effect of copper on diesel degradation in *Pseudomonas extremaustralis*. *Extremophiles*, 23(1), 91-99.

- Çardak, M., Altuğ, G., 2014. Species distribution and heavy metal resistance of *Enterobacteriaceae* members isolated from Istanbul Strait. *Fresenius Environmental Bulletin*, 23, 2620–2626.
- Dadaşoğlu, F., Karagöz, K., Kotan, R., Sarihan, F., Yildirim, E., Sarac, S., Harmantepe, F. B., 2013. Biolarvicidal effects of nine *Bacillus* strains against larvae of *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) and nontarget organisms. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 23(1), 35.
- De Las Heras, I., Molina, R., Segura, Y., Hülsen, T., Molina, M. C., Gonzalez-Benítez, N., Puyol, D., 2020. Contamination of N-poor wastewater with emerging pollutants does not affect the performance of purple phototrophic bacteria and the subsequent resource recovery potential. *Journal of Hazardous Materials*, 385, 121617.
- Dere, Ş., Sıvacı, E.R., 2003. Bazı pestisitlerin farklı dozlarının (*Monoraphidium contortum* (thur) komârk-legn) türünün populasyon yoğunluğuna etkisi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(1), 93-100.
- Dikel, S., Demirkale, İ., 2019. Su ürünleri yetiştiriciliğinde taurin kullanımı. *International Science and Research Congress*. 08-10 February, Antalya, Türkiye
- Dindar, E., Şağban, F.O.T., Başkaya, H. S., 2010. Kirlenmiş toprakların biyoremediasyon ile ıslahı. *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*, 15(2), 126-133.
- Ergüven, G. Ö., 2019. *Bacillus Subtilis* bakterisi ile metribuzin herbisitinin biyoyıslahının yapay tarla düzeneğinde araştırılması. *International Journal of Pure And Applied Sciences*, 5(1), 46-52.
- FAO, 2018. Gıda ve Tarım Örgütü.
- Fruzińska, R., 2011. Accumulation of iron in the soil-plant system in a metal industry area. *Civil Environ Eng Reports*, 7, 59–68.
- Gabr, R.M., Hassan, S.H.A., Shoreit A.A.M., 2008. Biosorption of lead and nickel by living and non-living cells of *Pseudomonas aeruginosa* ASU 6a, *Int. Biodeteri. and Biodeg.*, 62, 195-203.
- Gaonkar, O., Nambi, I. M., Suresh Kumar, G., 2019. Biodegradation kinetics of dichlorvos and chlorpyrifos by enriched bacterial cultures from an agricultural soil. *Bioremediation Journal*, 23(4), 259-276.
- Górny, D., Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., Wojcieszynska, D., 2019. A new pathway for naproxen utilisation by *Bacillus thuringiensis* B1 (2015b) and its decomposition in the presence of organic and inorganic contaminants. *Journal of Environmental Management*, 239, 1-7.
- Gou, Y., Zhao, Q., Yang, S., Wang, H., Qiao, P., Song, Y., Li, P., 2020. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and the response of indigenous bacteria in highly contaminated aged soil after persulfate oxidation. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 190, 110092.
- Govarthanan, M., Khalifa, A.Y., Kamala-Kannan, S., Srinivasan, P., Selvankumar, T., Selvam, K., Kim, W., 2020. Significance of allochthonous brackish water *Halomonas sp.* on biodegradation of low and high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*, 243, 125389.
- Gowen, R. J., Bradbury N. B., 1987. The ecological impact of salmonid farming in coastal waters: A review. *Oceanogr Mar Biol*, 25, 563–575.

- Gokturk, T., Tozlu, E., Kotan, R., 2018. Prospects of entomopathogenic bacteria and fungi for biological control of *Ricania simulans* (Walker 1851)(Hemiptera: Ricaniidae). Pakistan Journal of Zoology, 50(1), 75-82.
- Gül, Ü. D., Yavuz, Ş. A., (2018). Pestisitlerle kirlenmiş ortamların biyoremediasyonu. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 11(1), 07-17.
- He, T., Ye, Q., Sun, Q., Cai, X., Ni, J., Li, Z., Xie, D., 2018. Removal of nitrate in simulated water at low temperature by a novel psychrotrophic and aerobic bacterium, *Pseudomonas taiwanensis* strains. J. Biomed Research International. <https://doi.org/10.1155/2018/4984087>
- Holmer, M., Duarte, C.M., Heilskov, A., Olesen, B., Terrados, J., 2003. Biogeochemical conditions in sediments enriched by organic matter from net-pen fish farms in the bolinao area, Philippines. Mar Pollut Bull, 46, 1470–1479.
- Inatsu, Y., Nakamura, N., Yuriko, Y., Fushimi, T., Watanasiritum, L., Kawamoto, S., 2006. Characterization of *Bacillus subtilis* strains in *Thua nao*, a traditional fermented soybean food in northern Thailand. Letters in Applied Microbiology, 43(3), 237-242.
- Jones, A. B., Dennison, W.C., Preston, N. P., 2001 integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: A laboratory scale study. Aquaculture. 193(1-2), 155–178.
- Jonnalagadda, S.B., Mhere, G., 2001. Water quality of the Odzi River in the Eastern Highlands of Zimbabwe. Water Research, 35(10), 2371-2376.
- Kalantzi, I., Karakassis, I., 2006. Benthic impacts of fish farming: meta-analysis of community and geochemical data. Marine Pollution Bulletin, 52(5), 484-493.
- Kanamarlapudi, S. L. R. K., Muddada, S., 2019. Structural changes of *Bacillus subtilis* biomass on biosorption of iron (II) from aqueous solutions: Isotherm and kinetic studies. Polish Journal of Microbiology, 68(4), 549-558.
- Kang, W., Zheng, J., Bao, J., Wang, Z., Zheng, Y., He, J.Z., Hu, H.W., 2019. Characterization of the copper resistance mechanism and bioremediation potential of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain isolated from copper mine sludge. Environmental Science and Pollution Research, 1-12.
- Keloğlu, B., 2017. Atık sulardan izole edilen *Pseudomonas spp.*'lar ile kurşun (II) ve nikel (II) ağır metallerinin giderimi. Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi.
- Koca, S.B., Terzioğlu, S., Didinen, B.I., Yiğit, N.Ö., 2011. Sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliğinde çevre dostu üretim. Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi, 3(1), 107-114.
- Koenig, A., Zhang T., Liu L. H., Fang H. H., 2005. Microbial community and biochemistry process in autotrophic denitrifying biofilm. Chemosphere, 58(8), 1041-1047.
- Konohana, T., Aoki, K., Nanmori, T., Yasuda, T., 2000. Simultaneous uptake of ammonium and nitrate salts by an aerobic culture of *Bacillus licheniformis*. J. Biosci Bioeng, 89, 210–211.
- Kömürlü, U., Atar, H. H., 2019. Su ürünlerinde kredi uygulamaları. Third Sector Social Economic Review, 54(3), 1300-1318.
- Kristensen, E., 2001. Impact of polychaetes (nereis and arenicola) on sediment biogeochemistry in coastal areas: Past, present, and future developments. Abstract of Papers of the American Chemical Society, 221, U538–U538.

- Küçükosman, N., 2019. Karanfil (*Eugenia caryophyllata*), nane (*Menta piperita*) ve lavanta (*Lavandula angustifolia*) bitkilerinden elde edilen esansiyel yağların japon balıklarında (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758) anestezi etkilerinin araştırılması ve uygun dozun belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Lalonde, K., Mucci A., Ouellet A., Gélinas Y., 2012. Preservation of organic matter in sediments promoted by iron. *Nature*, 483(7388), 198–200.
- Lawson, T. B., 1995. *Fundamentals of aquacultural engineering*. Chapman and Hall, Dept. BC, One Pem Plaza, New York, 355 p.
- Lee, S. A., Lee, N., Oh, H. M., Ahn, C. Y., 2019. Enhanced and balanced microalgal wastewater treatment (COD, N, and P) by interval inoculation of activated sludge. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(9), 1434-1443.
- Li, S., Zhang, Y., Qian, H., Deng, Z., Wang, X., Yin, S., 2019. Removal characteristics of a composite active medium for remediation of nitrogen-contaminated groundwater and metagenomic analysis of degrading bacteria. *Environmental Pollution*, 254, 113053.
- Li, Y., Xu, C., Zhang, W., Lin, L., Wang, L., Niu, L., Wang, C., 2020. Response of bacterial community in composition and function to the various DOM at river confluences in the urban area. *Water Research*, 169, 115293.
- Lu, Q., Chen, K., Long, Y., Liang, X., He, B., Yu, L., Ye, J., 2019. Benzo (a) pyrene degradation by Cytochrome P450 hydroxylase and the functional metabolism network of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Hazardous Materials*, 366, 329-337.
- Lukwambe, B., Zhao, L., Nicholaus, R., Yang, W., Zhu, J., Zheng, Z., 2019. Bacterioplankton community in response to biological filters (clam, biofilm, and macrophytes) in an integrated aquaculture wastewater bioremediation system. *Environmental Pollution*, 254, 113035.
- Luo, H., Wang, Q., Liu, Z., Wang, S., Long, A., Yang, Y., 2020. Potential bioremediation effects of seaweed *Gracilaria lemaneiformis* on heavy metals in coastal sediment from a typical mariculture zone. *Chemosphere*, 245, 125636.
- Mahjoubi, M., Aliyu, H., Cappello, S., Naifer, M., Souissi, Y., Cowan, D.A., Cherif, A., 2019. The genome of *Alcaligenes aquatilis* strain BU33N: Insights into hydrocarbon degradation capacity. *Plos One*, 14(9).
- Maia, M., Capão, A., Procópio, L., 2019. Biosurfactant produced by oil-degrading *Pseudomonas putida* AM-b1 strain with potential for microbial enhanced oil recovery. *Bioremediation Journal*, 23(4), 302-310.
- Mandario, M.A.E., Alava, V.R., Añasco, N.C., 2019. Evaluation of the bioremediation potential of mud polychaete *Marphysa sp.* in aquaculture pond sediments. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(29), 29810-29821.
- Margesin, R., Schinner, F., 2001. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(5-6), 650-663.
- Marinescu, F., Chifiriuc, M.C., Măruțescu, L., Ilie, M., Savin, I., Anghel, A.M., Marcus, J., Tociu, C., Marcu, E., 2017. Prevalence of heavy metal and antibiotic resistance in bacterial isolates from wastewater and receiving aquatic environments. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 7(5), 2140–2144.

- Masvingwe, N.P., Jamal-Ally, S.F., 2019. Determination of bacterial intracellular and extracellular biotransformation compounds and biodegradation of kerosene based industrial rolling oils via gas chromatography-mass spectrometry. *Bioremediation Journal*, 23(3), 154-174.
- Metcalf, E., Eddy, M., 2002. *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery*. 4th edition. Mic Graw-Hill, pp. 1816, USA .
- Mo, W.Y., Choi, W.M., Man, K.Y., Wong, M.H., 2020. Food waste-based pellets for feeding grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*): Adding baker's yeast and enzymes to enhance growth and immunity. *Science of The Total Environment*, 707, 134954.
- Nair, R.R., Rangaswamy, B., Sarojini, B.S.I., Joseph, V., 2020. Anaerobic ammonia-oxidizing bacteria in tropical bioaugmented zero water exchange aquaculture ponds. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12.
- Navon, A., 2000. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection reality and prospects. *Crop Prot.*, 19, 669-676.
- Nie, J., Sun, Y., Zhou, Y., Kumar, M., Usman, M., Li, J., Tsang, D. C., 2020. Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: Mechanisms, methods, and prospects for future research. *Science of The Total Environment*, 707, 136080.
- OATA, (Ornamental Aquatic Trade Association), 2017. European ornamental fish import and export statistics: 2016. Wiltshire, United Kingdom.
- Ortakaya, V., Fincan, S. A., 2019. Amylase production of *Bacillus subtilis* isolated from soil by SmF method. *Biological Diversity and Conservation*, 12(3), 57-64.
- Oualha, M., Al-Kaabi, N., Al-Ghouti, M., Zouari, N., 2019. Identification and overcome of limitations of weathered oil hydrocarbons bioremediation by an adapted *Bacillus sorensis* strain. *Journal of Environmental Management*, 250, 109455.
- Özbucak, T., Ertürk, Ö., Akçin, Ö. E., Polat, G., Özbucak, S., 2018. Maden yataklarında bulunan bazı bakterilerin ağır metallerin biyoremediasyonunda kullanılabilir potansiyellerinin belirlenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8(1), 114-124.
- Özer, G., 2011. Kırıkkale-Kızılırmak'tan izole edilen gümüş ve stronsiyum dirençli bakterilerin biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi.
- Palmer, P.J., 2010. Polychaete-Assisted sand filters. *Aquaculture*, 306(1-4), 369–377.
- Piggot, P. J., Hilbert, D. W. 2004. Sporulation of *Bacillus subtilis*. *Current Opinion in Microbiology*, 7(6), 579-586.
- Pradhan, C., Giri, S.S., Mohanty, T.K., Mohanty, S.N., 2020. Influence of a diet containing plant ingredients at different levels on growth performance, carcass biochemical composition, and blood parameters in indian major carps grown in polyculture earthen ponds. *Tropical Animal Health and Production*, 1-9.
- Prasetyo, R.A., Pertiwinigrum, A., Erwanto, Y., Yusiati, L.M., Fitriyanto, N.A., 2018. Characterization of *Pseudomonas sp.* LS3K as nitrate removal agent at different C/N ratios under aerobic condition. In *Proceeding of the 2nd International Conference on Tropical Agriculture*, 185–194.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., 2002. *Microbiology*, 5th Edition, McGrawHill, New York, pp. 1014.

- Pulatsü, S., Topçu, A., Atay, D., 2014. Su kirlenmesi ve kontrolü. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Qian, X., Chen, L., Sui, Y., Chen, C., Zhang, W., Zhou, J., Ochsenreither, K., 2019. Biotechnological potential and applications of microbial consortia. *Biotechnology Advances*, 107500.
- Read, P., Fernandes, T., 2003. Management of environmental impacts of marine aquaculture in Europe. *Aquaculture*, 226(1-4), 139-163.
- Saba Rehman, Y., Ahmed, M., Sabri, A. N., 2019. Potential role of bacterial extracellular polymeric substances as biosorbent material for arsenic bioremediation. *Bioremediation Journal*, 1-10.
- San Diego-McGlone, M.L., Azanza, R. V., Villanoy, C. L., Jacinto, G. S., 2008. Eutrophic waters, algal bloom and fish kill in fish farming areas in Bolinao, Pangasinan, Philippines, *Mar Pollut Bull*, 57(6), 295–301.
- Santos, K.O., Costa-Filho, J., Riet, J., Spagnol, K.L., Nornberg, B.F., Kütter, M.T., Marins, L.F., (2019). Probiotic expressing heterologous phytase improves the immune system and attenuates inflammatory response in zebrafish fed with a diet rich in soybean meal. *Fish & Shellfish Immunology*, 93, 652-658.
- Sarac, S., Kotan, R., Dadasoglu, F., Karagoz, K., Harmantepe, F. B., Sinav, M., Yildirim, E., 2011. Insecticidal effects of ten *Bacillus* strains against larvae of *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae). III. International Entomopathogens and Microbial Control Symposium. İstanbul, Turkey, 41.
- Selenska-Pobell, S., Panak, P., Miteva, V., Boudakov, I., Bernhard, G., Heino, N., 1999. Selective accumulation of heavy metals by three indigenous *Bacillus strains*, *B. cereus*, *B. megaterium* and *B. sphaericus* from drain waters of a uranium waste pile. *FEMS Microbiology Ecology*, 29, 59-67.
- Sher, S., Hussain, S.Z., Rehman, A., 2020. Phenotypic and genomic analysis of multiple heavy metal-resistant *Micrococcus luteus* strain AS2 isolated from industrial waste water and its potential use in arsenic bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1-12.
- Soto, D., 2009. Integrated mariculture: A global review. Fao fisheries and aquaculture technical paper, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 529, Rome.
- Sun, Z., Pang, B., Xi, J., Hu, H. Y., 2019. Screening and characterization of mixotrophic sulfide oxidizing bacteria for odorous surface water bioremediation. *Bioresource Technology*, 290, 121721.
- Syed, T., Batool, U., Aslam, M., Noreen, Z., Farheen, I., Gondal, A., Shah S., Sandra P., Bokhari, H., 2019. Bioremediation and decontamination potential of flagellate *Potteriospumella sp.* *Bioremediation Journal*, 23(3), 142-153.
- Şahin, S., 2018. Geçmiş, günümüz ve gelecekte nüfus gerçeği. *Pegem Atıf İndeksi*, 001-216.
- Şenel, M., 2013. Tortum Gölü'nün (Erzurum) azot fraksiyonları ile demir ve bakır konsantrasyonlarının mevsimsel ve yersel değişimi. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Atatürk Üniversitesi.
- Şensoy Karaoğlu, Ş., 2013. Rize ili topraklarından izole edilen *Bacillus* türlerinin bakteriyosin içeriklerinin, aktarılabılır antibiyotik ve ağır metal dirençlerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi.

- Tacon, A. G. J., 2012. The role of rendered products in aquaculture feeds. *All About Feed*, 20(3), 29-30.
- Tacon, A. G. J., A., Kaushik, S. J., Ng, W.K., Suresh, V. Viana, M.T., 2012. Aquaculture feeds: addressing the long term sustainability of the sector. In *Global Conference in Aquaculture*, Phuket, Thailand.
- Takenaka, S., Zhou, Q., Kuntiya, A., Seesuriyachan, P., Murakami, S., Aoki, K., 2007. Isolation and characterization of thermotolerant bacterium utilizing ammonium and nitrate ions under aerobic conditions. *Biotechnol Lett.*, 29, 385–390.
- Tang, Y., Li, M., Xu, D., Huang, J., Sun, J., 2018. Application potential of aerobic denitrifiers coupled with a biostimulant for nitrogen removal from urban river sediment. *Environ Sci Pollut Res*, 25, 5980–5993.
- Tekiner, N., Kotan, R., Tozlu, E., Dadaşoğlu, F., 2019. Determination of some biological control agents against alternaria fruit rot in quince. *Alınteri Ziraı Bilimler Dergisi*, 34(1), 25-31.
- Tozlu, E., Dadaşoğlu, F., Kotan, R. and Tozlu, G., 2011. Insecticidal effect of some bacteria on *Bruchus dentipes* Baudi (Coleoptera: Bruchidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 20(4), 918-923.
- Tozlu, E., Saruhan, İ., Tozlu, G., Kotan, R., Dadasoğlu, F., Tekiner, N., 2019a. Potentials of some entomopathogens against the brown marmorated sting bug, *Halyomorpha halys* (Stal, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29-76.
- Tozlu, E., Kotan, M. Ş., Tekiner, N., Dikbaş, N., Kotan, R., 2019b. Biological control of postharvest spoilage in fresh Mandarins (*Citrus Reticulata Blanco*) fruits using bacteria during storage. *Erwerbs-Obstbau*, 61 (2), 157-164.
- TÜİK, (2018), Türkiye İstatistik Kurumu.
- Türetken, P. S. Ç., Altuğ, G., Çardak, M., Güneş, K., 2019. Bacteriological quality, heavy metal and antibiotic resistance in Sapanca Lake, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(7), 469.
- Türkmen, G., Aktuğ, A. M., 2011. İzmir ilinde deniz akvaryumu sektörü ve ele alınan ithal balık türlerinin araştırılması. *Su Ürünleri Dergisi*, 28(2), 59-64.
- Tyler, S.D., Strathdee, C.A., Rozee, K.R., Johnson, W.M., 1995. Oligonucleotide primers designed to differentiate pathogenic *Pseudomonas* on the basis of the sequencing of genes coding for 16S-23S rRNA internal transcribed spacers. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 2, 448-453.
- Uzunalioğlu, E., 2015. Bitki kökenli *Bacillus*'ların biyoremidant özelliklerinin belirlenmesi ve kurşun varlığında *Zea mays*'ın gelişimine etkisi, Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi.
- Vera, L.M., Lock, E.J., Hamre, K., Migaud, H., Leeming, D., Tocher, D. R., Taylor, J. F., 2019. Enhanced micronutrient supplementation in low marine diets reduced vertebral malformation in diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr, and increased vertebral expression of bone biomarker genes in diploids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 237, 110327.
- Vidali, M., 2001. Bioremediation. An overview. *Pure And Applied Chemistry*, 73(7), 1163-1172.

- Vural, A., Demir, S., Boyno, G., 2018. Biyoremediasyon ve fungusların biyoremediasyonda kullanılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(4), 490-501.
- Wojcieszńska, D., Guzik, U., 2020. Naproxen in the environment: its occurrence, toxicity to nontarget organisms and biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 1849–1857.
- Wu, P., Mo, W., Wang, Y., Wu, Y., Zhang, Y., Chen, Z., Li, N., 2019. Effluent containing *rubrivivax gelatinosus* promoting the yield, digestion system, disease resistance, mtor and nf-kb signaling pathway, intestinal microbiota and aquaculture water quality of crucian carp. *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 166-174.
- Xu, S., Xing, Y., Liu, S., Hao, X., Chen, W., Huang, Q., 2020. Characterization of Cd²⁺ biosorption by *Pseudomonas sp.* strain 375, a novel biosorbent isolated from soil polluted with heavy metals in Southern China. *Chemosphere*, 240, 124893.
- Yalçın, H., Gürü, M., 2010. Su teknolojisi. Palme Yayıncılık. 504 s. Ankara.
- Yavuzcan, H., Kırkağaç, M., Pulatsü, S., Atar, H., Berkcan, S., Demir, N., Korkmaz, Ş., 2013. Su Ürünleri. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2243.
- Yavuzcan, H., Korkmaz, Ş., Doğankaya, L., Altan, Ö., 2015. Su ürünleri üretim ve tüketim projeksiyonları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi. 12-16 Ocak, Ankara, Türkiye.
- Yıldırım, Ö., Korkut, A.Y., 2004. Su ürünleri yemlerinin çevreye etkisi. *Su Ürünleri Dergisi*, 21(1-2), 167-172.
- Yılmaz, A., 2012. Sınırlı ve döngüsel yemleme stratejisinin japon balığı (*Carassius Auratus*, *Linnaeus* 1758) yavrularında büyümeye etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi.
- Yonsel, Ş., 2010. *Bacillus subtilis* içeren küf ve bakterilere karşı koruyucu biyosidal ürün. 1. *Ulusal Biyosidal Kongresi*, 4-7 Kasım, Antalya, Türkiye.
- Zhang, B., Jiang, Y., Zuo, K., He, C., Dai, Y., Ren, Z. J., 2020. Microbial vanadate and nitrate reductions coupled with anaerobic methane oxidation in groundwater. *Journal of Hazardous Materials*, 382, 121228.
- Zhang, N., Chen, H., Lyu, Y., Wang, Y., 2019. Nitrogen removal by a metal-resistant bacterium, *Pseudomonas putida* ZN1, capable of heterotrophic nitrification–aerobic denitrification. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(4), 1165-1175.
- Zhao, Y., Feng, C., Wang, Q., Yang, Y., Zhang, Z., Sugiura, N., 2011. Nitrate removal from groundwater by cooperating heterotrophic with autotrophic denitrification in a biofilm electrode reactor. *Journals of Hazardous Materials*, 192(3), 1033-1039.
- Zhao, X., Yan, L., Xu, X., Zhao, H., Lu, Y., Wang, Y., Jiang C., Shao, D., Zhu, J., Shi, J., 2019. Synthesis of silver nanoparticles and its contribution to the capability of *Bacillus subtilis* to deal with polluted waters. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(15), 6319-6332.

ÖZGEÇMİŞ

06.07.1994 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2012 yılında girdiği Erzurum Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünden 2016 yılında mezun oldu. 2017 yılında Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde yüksek lisans eğitimine başladı ve Erzurum Büyükşehir Belediyesi ESKİ Genel Müdürlüğü İçme Suyu Arıtma Tesisinde başladığı işine halen devam etmektedir.

