



Türkiye Topraklarından İzole Edilen *Bacillus* sp. Suşlarının Biyoremidasyonda Kullanılma Potansiyellerinin Araştırılması

Investigation of Potential Use in Bioremediation of Bacillus sp. Strains Isolated from Turkish Soils

Elif Demirkan* , Tuba Sevgi, Baran Enes Güler, Behice Zeren, Büşra Özalpar, Maoulida Abdou

Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bursa, Türkiye

Bu çalışmanın bir kısmı Ulusal Çevre, Deniz ve Kıyı Kirliliği Sempozyumu (UCEDKKS-2017-Bursa)'nda yayınlanmıştır.

Öz

Asrımızın en büyük problemlerinden biri haline gelen çevre kirliliğinde başrolü, zehirli atıklar oynamaktadır. Bu maddeler çoğu zaman petrol, kimyevi maddeler, gıda maddeleri ve kağıt fabrikaları gibi çeşitli sanayilerin atıklarıdır. Biyoremidasyon çevre kirliliğinin bertaraf edilmesi ve önlenmesinde etkili bir biyoteknolojik yaklaşım olarak gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu yaklaşım içerisinde, biyoremidasyon işlemlerinde kullanılmak üzere verimli yeni bakteriyel suşların topraktan izole edilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'deki kontamine olmamış farklı toprak örneklerinden izole edilen 600 *Bacillus* sp. suşlarının benzin ve dizel parçalama potansiyellerini araştırmaktır. *Bacillus* suşları Bushnell-Hass (BH) agar ortamında tek karbon kaynakları olarak %3,5 benzin ve %7 dizel kullanılarak petrol parçalama yetenekleri açısından taranmıştır. Tüm bakteriler 37°C'de 2-3 hafta inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda petri yüzeyinde görülen bakteriler benzin ve dizel parçalayan bakteriler olarak değerlendirilmiştir. 600 *Bacillus* sp. suşları arasında 141 *Bacillus* sp. suşları potansiyel olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus* sp., Benzin, Biyoremidasyon, Dizel, Tarama

Abstract

The leading cause of environmental pollution, which has become one of the biggest problems of our century, is hazardous wastes. These substances such as petroleum, chemical materials, foodstuffs and paper mills are often wastes of various industries. Bioremediation is becoming increasingly important as an effective biotechnological approach to the elimination and prevention of environmental pollution. In this approach, it is important to isolate new bacterial strains that are efficient for bioremediation processes. The aim of this study was to investigate the potential of benzene and diesel-degrading of 600 *Bacillus* sp. strains isolated from different non-contaminated soil samples in Turkey. These *Bacillus* sp. strains were screened for bacterial oil degradation using 3.5% benzene and 7 % diesel as sole carbon sources in Bushnell-Hass (BH) agar medium. All bacteria were incubated at 37°C for 2-3 weeks. After the incubation, the bacteria observed on the petri dish were evaluated as benzene and diesel degrading-bacteria. Among 600 *Bacillus* sp. strains, 141 *Bacillus* sp. strains were determined as potential.

Keywords: *Bacillus* sp., Benzene, Bioremediation, Diesel, Screening

1. Giriş

Petrol, taşıma ve depolama sırasındaki kayıplar, tankerlerden sızıntı, kazara dökülmeler ve atık bertarafı yoluyla çevreye girmektedir ve bu da çevre açısından kaygı yaratmaktadır (Anthony 2006). Doğal ham petrol sızıntısı miktarı yılda 600.000 ton olarak tahmin edilmesiyle beraber bu oran 200.000 ton/yıl değişkenlik göstermektedir. Kirlenmeye yol

açan petrol bileşenlerine örnek olarak hafif hidrokarbonlar (petrol, benzin, dizel) ağır hidrokarbonlar (yağlama yağları, ağır yağ, ham petrol), halojenli çözücüler ve diğer başka kompleks moleküller [polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHs), vb.] verilebilir (Chaillan vd. 2004). Ham ve rafine petrolün bitkiler hayvanlar, insanlar ve çevre üzerindeki toksik etkileri yıkıcı düzeydedir. Petrol kirliliği biyotik yaşam için en ciddi sorunlardan biri olarak kabul edilmiştir. Yüksek petrol konsantrasyonlarına maruz kalmak, böbrek ve karaciğer hastalıklarına yol açabilir, kanser vakalarının arttırılabilir ve ayrıca kemik iliğine hasar verebilir (Brewer vd.

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: edemirkan@uludag.edu.tr

2013). Diğer yandan bütün denizlerdeki petrol sızıntıları, gemilerden sızan petrol kalıntıları, gemilerden kaza sonrası denize dökülen petrol deniz ekosistemi için zararlı etki yapar. Ancak bu etki petrolün miktarına, dağılımın oranına, dağılan alanın yapısına bağlı olarak değişir. Örneğin, petrol kirliliğinin balıkçılığa etkisi en çok üreme ve göç dönemlerinde ve İstanbul boğazı gibi dar boğazlarda olur. Ekolojik veya biyolojik bir koridor görevi yapan bu tür boğazlarda görülebilecek petrol yayımları örneğin Akdeniz ve Karadeniz arasında olan başta balık göçleri zamanından olursa göçler etkilenirler. Ayrıca, yayılan petrolün balık avlama takımlarına verdiği zararlar da vardır. Su canlılarının yumurta ve larvalarının petrol kirliliğine daha fazla duyarlı olduğu bilinmektedir. Diğer yandan, su kuşları petrol yayılmasından en fazla etkilenen canlılardan biridir. Petrol denizlerde ilk olarak yüzeyi kapladıkları için ışığın ve havanın suyun alt katmanlarına geçişini engeller. Oksijenin azlığında oksijen solunumu yapan canlılar yaşayamazlar özellikle sahile yakın bölgelerde toplu ölümlere neden olur, ışığın alt katmanlara ulaşamaması sonucunda su bitkileri fotosentez yapamaz ve ötrofikasyona neden olabilir. Petrol deniz kuşlarının kanatlarına yapışarak uçamamasına, balıkların solungaçlarına yapışarak solunumunu engellemesine ve canlıların bünyesine girmesiyle onları zehirleyici etkilere neden olur, hatta bu canlıları avladığımızda petrol ve türevleri bizlere kadar ulaşabilir. Ayrıca, petrol kirliliğinde su ürünlerindeki lezzet değişimi ve petrol kokusu üreticileri zor durumda bırakır (Türk Deniz Araştırmaları Vakfı, 2014).

Petrol ve türevlerinin giderilmesinde halen kullanılmakta olan yaygın teknoloji, mekanik, gömme, buharlaşma, dağılım ve yıkamayı içermektedir (Alvarez ve Vogel, 1991). Ancak bu yöntemler büyük kontaminasyon miktarlarında daha fazla maliyete yol açmaktadır (Kumari vd. 2013).

Petrol ile kirlenmiş bölgelerin temizlenmesi sürecinde kullanılan çevresel metotların kullanımına artan bir ilgi vardır. Petrol ve türevlerinin biyolojik parçalanması (Biyodegradasyon), hidrokarbonlarca kirlenmiş ortamların arındırılması süreçlerinde doğal mikroorganizma popülasyonlarının rol oynadığı bildirilmiştir (İslam vd. 2013). Doğada yaygın olarak bulunan birçok mikroorganizma petrolü, petrol hidrokarbonu karbon ve hidrojen içerdiğinden dolayı metabolik aktiviteleri için enerji kaynağı olarak kullanırlar (Adeline vd. 2009). Organik kirleticilerin çevreden mikroorganizmalar tarafından uzaklaştırılması olarak tanımlanan biyoremediasyon (biyolojik iyileştirme), toprak ve sudaki kirlenmelerinin ortadan kaldırılmasında kullanılan en iyi yöntemdir. Ayrıca verimli, ekonomik ve çevre dostu bir iyileştirme tekniğidir.

Biyoremediasyon işlemleri diğer teknolojilerle karşılaştırıldığında, doğal olarak bulunan mikroorganizmaların yeteneklerine dayandığından maliyeti ve basitliği açısından son derece verimlidir (April vd. 2000). Mikroorganizmalar kullanılarak kirliliğin ortadan kaldırılması ve detoksifikasyonu olarak tanımlanan biyoremediasyon süreçleri, kirliliğin ayrıştırılması veya dönüştürülmesinde mikrobiyal enzimatik aktivitelere dayanmaktadır. Mikroorganizmalar hidrokarbonları substrat olarak kullanarak CO₂ ve H₂O gibi toksik olmayan ürünler meydana getirirler (Toledo vd. 2006).

Biyoremediasyonda petrol kökenli hidrokarbonlar, bakteri, mantar, maya ve mikroalg gibi mikroorganizmalar tarafından ayrıştırılabilir. Ancak, bakteriler hidrokarbonların parçalanmasında büyük bir öneme sahiptir (Bundy vd. 2004, Riser-Roberts 1992). Bu bakteriler arasında *Pseudomonas*, *Micrococcus* ve *Bacillus* cinsi türleri önemli bir yer teşkil etmektedir (Heinonsalo vd. 2000).

Bu çalışmanın amacı Türkiye topraklarından izole edilen 600 *Bacillus* sp. suşunun benzin ve dizel parçalamaya yeteneklerinin belirlenmesi ve biyoremediasyon için yeni verimli *Bacillus* suşların açığa çıkarılmasıdır.

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Mikroorganizma

Çalışmada Türkiye topraklarından (60 farklı şehir)(Şekil 1) izole edilen *Bacillus* sp. suşları kullanılmıştır.

2.2. Topraktan *Bacillus* sp.'lerin İzolasyonu ve Tanımlanması

Çalışmalarda kullanılacak olan *Bacillus* sp.'lerin izolasyonu için, toprakların ince kısımlarından 0.25 g tartılmış ve 10 mL steril fizyolojik tuzlu su içerisinde vorteksenerek karıştırılmıştır. Örnekler, 60°C' de 30 dakika tutularak vejetatif formların ölmesi, ortamda yalnızca sporlu bakterilerin kalması sağlanmış ve tüplerin ağızları kapatılarak soğumaya bırakılmıştır (Janda vd. 2003).

Toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin morfolojik ve fizyolojik özellikleri Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'e göre saptanarak *Bacillus* sp. olarak tanımlanmıştır (Buchanan ve Gibbons 1974). *Bacillus* cinsini tanımak için 3 adet biyokimyasal test ve 2 adet morfolojik test olmak üzere toplam 5 adet test (Hareketlilik Testi, Nişastanın Hidrolizi, Katalaz Testi, Gram Boyama, Spor Boyama) yapılmıştır. Elde edilen saf kültürler kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.

2.3. Petrol ve Türevini Parçalayan Bakterilerin İzolasyonu

Petrol ve dizel parçalayan *Bacillus* sp. suşlarının tespit edilmesi amacı ile Bushnell Haas (BH) agar besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri içeriğinde litrede, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, K_2HPO_4 1.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, $FeCl_3$ 0.05 g, NH_4NO_3 1.0 g, $CaCl_2$ 0.02 g ve agar 20 g bulunmaktadır (pH 7.0) (Bushnell ve Haas 1941).

Stoklardan alınan *Bacillus* sp.'ler nutrient brothlu besiyerinde 18 saat boyunca $37^\circ C$ ve 150 rpm'de çalkalamalı inkübatörde üretilmiştir. Üretim sonrası spektrofotometride üremeleri kontrol edilmiş ve daha sonra öze yardımı ile BH agarlı besiyerlerine çizgi ekimleri yapılmıştır. Karbon kaynağı olarak benzin %3,5 ve dizel %7 oranında ekim yapılan petrilere üzerine ayrı ayrı püskürtülmüştür. Petrilere $37^\circ C$ 'de 2-3 hafta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda petri kaplarındaki gelişebilen bakteriler petrolü parçalayabilen bakteri olarak değerlendirilmiştir (Atlas ve Richard 1946). Petrolü parçalayabilen *Bacillus* sp. suşları daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere $+4^\circ C$ 'de saklanmıştır.

3. Bulgular

Petrol ve türevleri ile kirlenmiş alanların mikroorganizmalar tarafından temizlenmesinde bakterilerin özellikle *Bacillus*

türlerinin rolleri oldukça fazladır. Bu nedenden dolayı 600 *Bacillus* sp. izolatının petrol türevlerini parçalama yetenekleri sunulan çalışmada araştırılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Ayrıca Türkiye'de geniş çaplı olarak yapılan ilk çalışma olması bakımından da bu araştırma önem taşımaktadır. İlk kez *Bacillus* sp. suşlarının benzin ve dizel parçalama potansiyelleri ortaya çıkarılmış ve haritalanmıştır.

Bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için 60 ilden alınan toprak örneklerinden 850 bakteri cinsi izole edilmiştir. Yapılan biyokimyasal ve morfolojik testler sonucunda 600 izolatın-kalın ve çomak şeklinde, filamentli ve dalgalı koloni tipi özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca nişastanın hidrolize edilmesi, hareketli olmaları, katalaz pozitif olmaları, mor menekşe bir renk gösterdiklerinden gram (+) ve spor boyamada sporların malaşit yeşili ile boyanmaları ve spor formunda görülmelerinden dolayı bu bakteriler *Bacillus* olarak değerlendirilmiştir (Şekil 2).

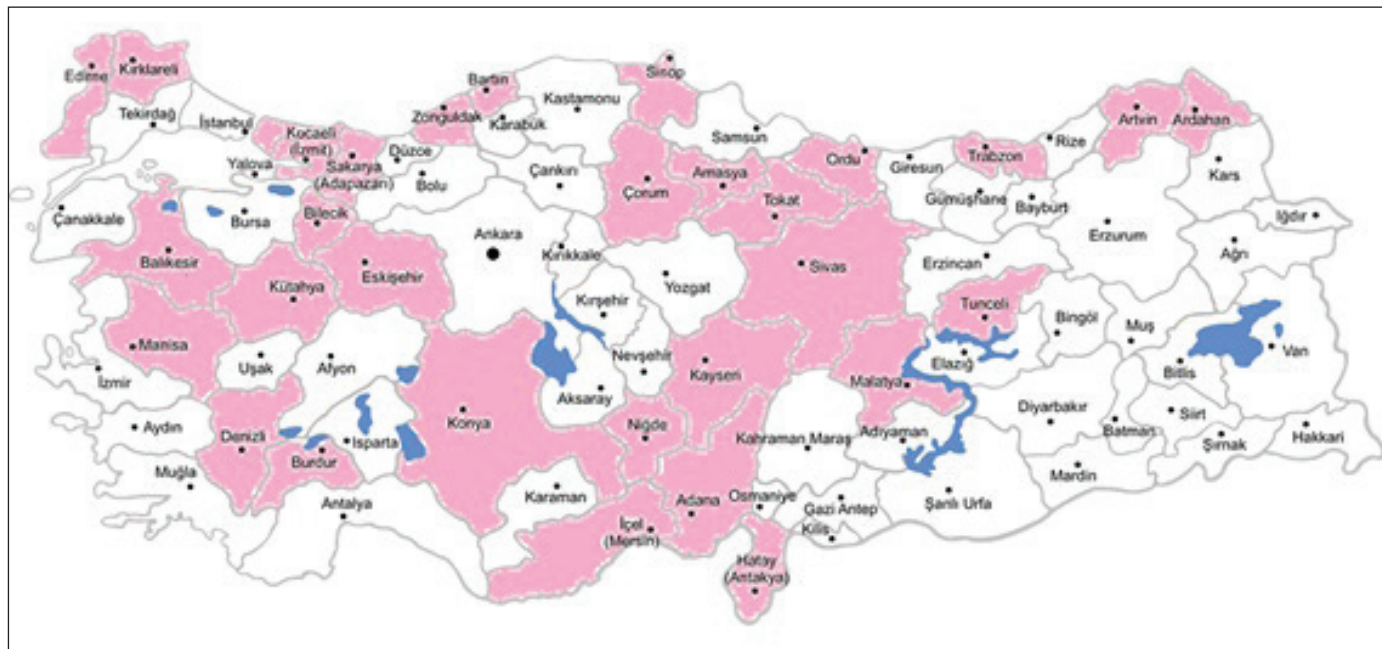
Daha sonra 600 *Bacillus* sp. suşu benzin ve dizel parçalama yetenekleri bakımından taranmıştır. Bazı bakteriler 1 haftada petri üzerinde üreme gösterirken bazılarının 2 haftada üreme gösterdiği saptanmıştır. Aldisi vd. 2016, İslam vd. 2013 yaptıkları çalışmada *Bacillus* suşlarının 2 ila 3 haftada üreme gösterdiğini rapor etmişlerdir.



Şekil 1. Toprak alınan iller (Adana, Adıyaman, Afyon, Amasya, Ankara, Antalya, Ardahan, Artvin, Balıkesir, Bartın, Bayburt, Bilecik, Bolu, Burdur, Bursa, Çorum, Denizli, Diyarbakır, Düzce, Edirne, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, Gaziantep, Giresun, Hatay, Iğdır, İçel, İstanbul, İzmir, Karaman, Kastamonu, Kayseri, Kırklareli, Kırşehir, Kocaeli, Konya, Kütahya, Karabük, Kilis, Malatya, Manisa, K.maraş, Mardin, Muğla, Muş, Niğde, Ordu, Osmaniye, Rize, Sakarya, Samsun, Sinop, Sivas, Şırnak, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Tunceli, Zonguldak).



Şekil 2. *Bacillus* cinsinin karakteristik özelliklerini gösteren biyokimyasal ve morfolojik testler.



Şekil 3. Benzin ve dizel parçalama potansiyeline sahip *Bacillus* sp. suşlarının illere göre haritalandırılması.

BH agarlı besiyerlerine bakterilerin çizgi ekimi yapıldıktan sonra %3,5 benzin ve %7 dizel ayrı ayrı püskürtüldü. İki hafta 37°C'de inkübasyona bırakıldı 71 bakterinin benzini, 136 bakterinin ise dizeli parçalayabildiği belirlendi (Çizelge 1). Türkiye'de ilk kez *Bacillus* sp. suşlarının benzin ve dizel parçalama potansiyelleri ortaya çıkarıldı ve haritalandı (Şekil 3).

600 *Bacillus* sp. izolatından 66 izolatın hem benzin hem de dizeli, 5 izolatın sadece benzini, 70 izolatında sadece dizeli parçalayabildiği tespit edilmiştir. Toplamda parçalama kapasitesine sahip 141 bakteri saptanmıştır. Çalışmalarda genellikle petrol ile kirlenmiş alanlardan bakteri izole edilmektedir, bu çalışmada petrol ile kirlenmemiş topraklardan petrol türevlerini parçalama yeteneğinde olan bakteriler izole edilmesi ilk kez rapor edilmiştir.

Kırklareli, Manisa, Hatay ve Edirne ilinden izole edilen 25 *Bacillus* sp. suşu hem benzin hem de dizel içeren ortamda *çok yüksek* üreme göstermiştir.

Suşların dizel ve benzin püskürtülmüş BH agarlı besiyerin-deki görüntüleri Şekil 4'de gösterilmiştir.

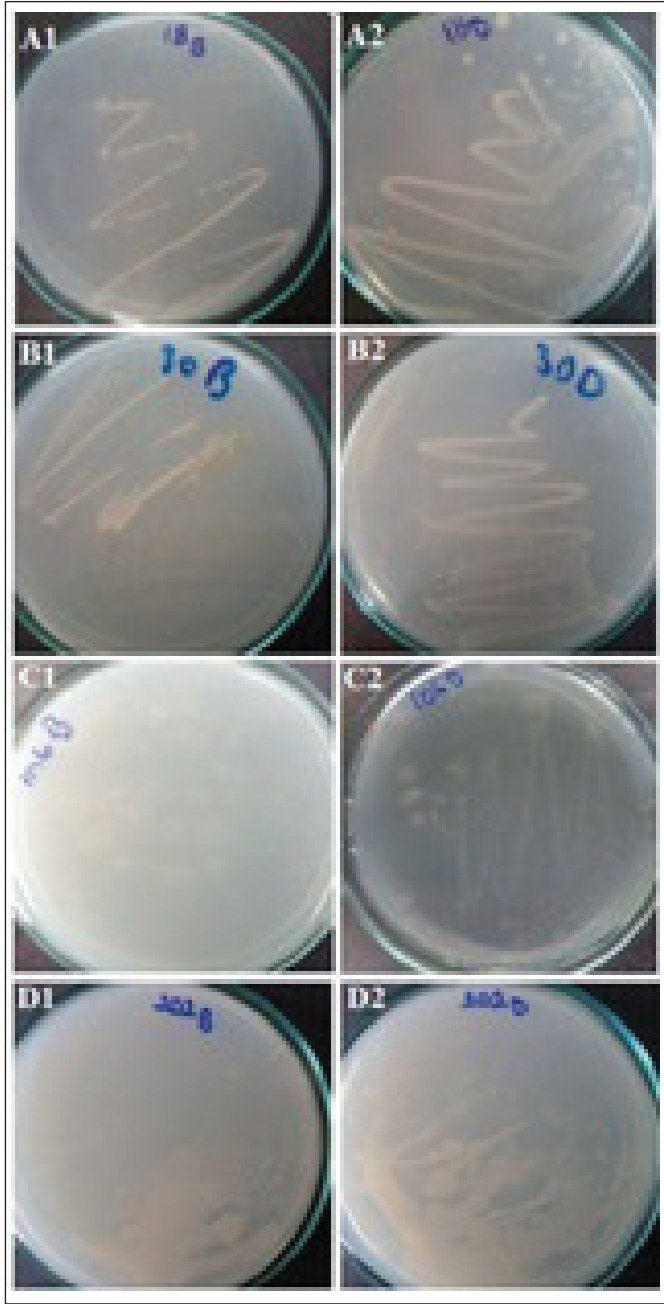
4. Tartışma

Aldisi vd. 2016 petrol ile kirlenmiş topraktan %10 oranında petrol ve dizeli parçalama yeteneğindeki mikroorganizmaların izolasyonu sonucu en iyi verimli bakteri olarak *Pseudomonas aeruginosa* bakterisini saptamışlardır. Geetha vd. 2013 petrole kirlenmiş bölgeden alınan topraklarda bakteri izolasyonları sonucunda, %1 oranında petrol ve dizeli kullanma yeteneğinde olan 14 farklı bakteri elde etmişlerdir. Nelson vd. 2002, Golyshin vd. 2003 ve

Çizelge 1. Karbon kaynağı olarak benzin ve dizel bulunan ortamda bakterilerin üreme potansiyelleri.

No	Şehir	Bak tet. No	Benzin (%3,5)	Dizel (%7)	No	Şehir	Bak tet. No	Benzin (%3,5)	Dizel (%7)	No	Şehir	Bak tet. No	Benzin (%3,5)	Dizel (%7)
1	Kırklareli	17	***	***	48	Hatay	83	**	**	95	Sakarya	93	-	***
2	Niğde	48	*	***	49	Ordu	74	*	***	96	Hatay	87	-	***
3	Kütahya	36	***	***	50	Edirne	106	****	****	97	Burdur	65	-	*
4	Kayseri	22	*	-	51	Bartın	100	***	***	98	Edirne	108	-	***
5	Adana	42	*	*	52	Ordu	73	**	***	99	Edirne	107	-	***
6	Amasya	8	*	***	53	Balıkesir	80	*	**	100	Balıkesir	78	-	***
7	Kütahya	38	***	***	54	Tunceli	62	*	-	101	Edirne	111	-	***
8	Kayseri	24	*	*	55	Edirne	104	***	***	102	Burdur	68	-	***
9	Kayseri	23	***	*	56	Bartın	101	*	***	103	Tunceli	63	-	***
10	Kütahya	40	***	*	57	Burdur	67	*	***	104	Tunceli	64	-	***
11	Amasya	5	***	***	58	Ardahan	97	*	***	105	Hatay	89	-	***
12	Bilecik	9	*	***	59	Bartın	102	*	***	106	Burdur	66	-	***
13	Kırklareli	18	****	****	60	Ordu	77	***	***	107	Edirne	112	-	***
14	Trabzon	53	***	***	61	Ordu	75	***	-	108	Bartın	103	-	***
15	Tunceli	59	*	***	62	Sakarya	94	***	***	109	Tunceli	62	-	***
16	Kütahya	39	***	***	63	Ordu	72	*	***	110	Konya	173	-	***
17	Trabzon	54	*	***	64	Hatay	85	***	***	111	Mersin	136	-	***
18	Bilecik	11	*	***	65	Edirne	110	***	***	112	Sivas	133	-	***
19	Bilecik	13	*	*	66	Ordu	76	***	***	113	Sinop	117	-	***
20	Manisa	35	*	***	67	Tunceli	60	***	***	114	Kocaeli	167	-	***
21	Manisa	30	****	****	68	Malatya	129	***	***	115	Mersin	141	-	***
22	Bilecik	12	*	***	69	Artvin	148	***	***	116	Zonguldak	144	-	***
23	Kırklareli	21	*	***	70	Niğde	191	***	***	117	Eskişehir	160	-	***
24	Amasya	7	*	***	71	Hatay	202	****	****	118	Kocaeli	162	-	***
25	Adana	43	***	***	72	Adana	45	-	*	119	Mersin	139	-	***
26	Niğde	47	***	***	73	Kütahya	41	-	***	120	Malatya	124	-	***
27	Adana	46	*	-	74	Niğde	49	-	***	121	Mersin	140	-	***
28	Niğde	51	*	***	75	Bilecik	10	-	***	122	Eskişehir	157	-	***
29	Kırklareli	14	*	*	76	Manisa	34	-	*	123	Zonguldak	145	-	***
30	Adana	44	***	***	77	Kırklareli	16	-	***	124	Malatya	130	-	***
31	Amasya	3	*	***	78	Amasya	1	-	*	125	Malatya	125	-	***
32	Amasya	6	***	***	79	Manisa	29	-	***	126	Kocaeli	163	-	***
33	Kırklareli	19	*	***	80	Kırklareli	15	-	***	127	Kocaeli	165	-	***
34	Kütahya	37	*	***	81	Manisa	31	-	***	128	Denizli	170	-	***
35	Tunceli	58	*	***	82	Bilecik	9	-	***	129	Zonguldak	147	-	***
36	Ardahan	98	**	***	83	Amasya	4	-	*	130	Mersin	138	-	***
37	Balıkesir	82	**	*	84	Kütahya	40	-	*	131	Tokat	151	-	***
38	Ardahan	96	***	**	85	Manisa	33	-	*	132	Edirne	204	-	***
39	Hatay	84	**	***	86	Balıkesir	78	-	*	133	Eskişehir	219	-	***
40	Burdur	69	*	***	87	Sakarya	95	-	**	134	Mersin	210	-	***
41	Sakarya	92	**	-	88	Hatay	88	-	***	135	Artvin	216	-	***
42	Balıkesir	79	*	*	89	Hatay	84	-	***	136	Kayseri	186	-	***
43	Burdur	71	*	***	90	Ardahan	99	-	***	137	Kayseri	185	-	***
44	Tunceli	61	**	***	91	Edirne	109	-	***	138	Kocaeli	222	-	***
45	Hatay	91	*	**	92	Manisa	32	-	***	139	Amasya	184	-	***
46	Hatay	86	*	***	93	Balıkesir	79	-	*	140	Hatay	203	-	***
47	Balıkesir	81	*	***	94	Burdur	70	-	**	141	Konya	178	-	***

**** çok yüksek üreme, *** yüksek üreme, ** orta üreme, * az üreme, - üreme yok



Şekil 4. Hem benzin hem dizel parçalayabilen 4 *Bacillus* sp. suşunun BH agardaki görüntüleri. A1-18 (B) , A2-18 (D) , B1-30 (B) , B2-30 (D) , C1-106 (B) , C2-106 (D) , D1-202 (B) , D2-202 (D), B: Benzin, D: Dizel.

Jung vd. 2010 petrol ve dizel parçalayan bakteriler olarak *Arthrobacter*, *Citrobacter*, *Bacillus* ve *Klebsiella* türlerini rapor etmişlerdir. Kumari vd. 2013 topraktan izole ettikleri bakterileri %1 ham petrol içeren ortamda ürettiklerinde 8 tane yeni izolat bulduklarını belirtmişlerdir. Panda vd. (2013) karbon kaynağı olarak %0,5 dizel varlığında 15

gün sonra *Pseudomonas* sp. bakteri suşunu izole ettiklerini rapor etmişlerdir. İslam vd. 2013 petrole kirlenmiş toprak ve sudan izole ettikleri bakterileri %7 petrol varlığında üretmişler ve 2-3 hafta sonra besiyerinde gelişen bakterileri biyokimyasal ve morfolojik olarak tanımladıklarında *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella* ve *Corynebacterium* olarak adlandırmışlardır. Erdoğan vd. (2013) tarafından Adana, Batman ve Adıyaman illerinin petrol ile kirlenmiş topraklarından 33 bakteri izole edilmiştir. %1 ham petrolü ortamda en iyi gelişmeyi gösteren ve ham petrolü parçalama düzeyleri en yüksek olan 6 bakteri suşu *Pseudomonas aeruginosa* (2 suş), *Pseudomonas putida* (2 suş), *Citrobacter amalonaticus*, *Acinetobacter genomospecies* rapor edilmiştir. Prakash vd. 2014 petrole kirlenmiş alanlardan 59 bakteri izole etmişler ve bunlar arasında %1 ham benzin içeren ortamda en iyi gelişme gösteren bakteriler olarak 1 *Bacillus* türü, 2 *Pseudomonas* türü ve 1 *Micrococcus* türünü saptamışlardır. Subathra vd. 2013 topraktan izole ettikleri 113 bakterinin petrol parçalama yeteneğini araştırdıklarında karbon kaynağı olarak %1 ham petrol varlığında en iyi gelişme gösteren bakteriler olarak *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* türlerini rapor etmişlerdir.

Çevre kirlenmesinde olumsuz etkisi oldukça fazla olan petrol ve türevlerinin kirlenmiş sahadan uzaklaştırılmasında fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatif bir çözüm olan bakterilerin biyoremediasyonda kullanımları önem taşıdığından bu konu daha ayrıntılı olarak ele alınabilir. Ülkemizde ilk kez gerçekleştirilmiş bu çalışma ile petrol ile kirlenmemiş bölgelerden de petrol ve dizeli parçalayan *Bacillus* sp. suşlarının eldesi tespit edilmiştir. Bu çalışmada tek karbon kaynakları olarak %3,5 benzin ve %7 dizelli besiyerinde iyi bir gelişme gösteren yeni izolatların biyoremediasyonda kullanılabileceğini ortaya çıkarmıştır. Dolayısıyla, petrol ve türevlerini parçalayan bu bakteriler ile büyük çapta çevresel uygulamalara gidilerek petrol ile kirlenmiş sahaların temizlenmesinde doğayla dost bir biyolojik yaklaşımın olabileceği düşünülmektedir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi HDP(F)2016/57 nolu proje kapsamında yürütülmüştür.

6. Kaynaklar

Adeline, SYT., Carol, HCT., Aw, CS. 2009. Hydrocarbon-degradation by isolate *Pseudomonas lundensis* UTAR FPE2, *Malaysia. J. Microbiol.*, 5(2): 104-108.

- Aldisi, Z., Jaoua, S., Al-Thani, D., Almeer, S., Zouari, N. 2016.** Isolation, screening and activity of hydrocarbon-degrading bacteria from harsh soils, *Proceedings of the World Congress on Civil, Structural, and Environmental Engineering*, Prague, Paper No. AWSPT 104.
- Alvarez, PJJ., Vogel, TM. 1991.** Substrate interactions of benzene, toluene and para-xylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(10): 2981-2985.
- Anthony, OI. 2006.** Biodegradation alternative in the cleanup of petroleum hydrocarbon pollutants, *Biotech. Mol. Bio. Rev.*, 1(2): 38-50.
- April, TM., Foght, JM., Currah, RS. 2000.** Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. *Canadian J. Microbiol.*, 46(1): 38-49.
- Atlas, MR., Richard, B. 1946.** Microbiology ecology, fundamentals and application. *Microbiol. Inter. Xenobio. Inorg. Pollut.*, 13(511): 517-529.
- Brewer, R., Nagashima, J., Kelley, M., Heskett, M., Rigby, M. 2013.** Risk-based evaluation of total petroleum hydrocarbons in vapor intrusion studies. *I. J. Environ. Res. Pub. Heal.* 10(6): 2441-2467.
- Buchanan, RE., Gibbons, NE. 1974.** *Bergey's manual of determinative bacteriology*, eighth edition, The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Bundy, JG., Paton, GI., Campbell, CD. 2004.** Combined microbial community level and single species biosensor responses to monitor recovery of oil polluted soil, *Soil Bio. Biochem.*, 36(7): 1149-1159. doi:10.1016/j.soilbio.2004.02.025
- Bushnell, LD., Haas, HF. 1941.** The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms, *J. Bacteriol.* 41(5): 653-653.
- Chaillan, F., Le-Fleche, A., Bury, E., Phantavong, Y., Grimont, P., Saliot, A., Oudot, J. 2004.** Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms, *Res. Microbiol.*, 155(7): 587-595.
- Erdogan, E., Namlı, A., Şahin, F. 2013.** Isolation, characterization and determination of petroleum hydrocarbon degrading metabolic capabilities of indigenous microorganisms in Turkey. *DEÜ Müh. Fak. Müh. Bil. Derg.*, 15(3).
- Geetha, SJ., Sanket, J., Kathrotiya, J., Kathrotiya, S. 2013.** Isolation and characterization of hydrocarbon degrading bacterial isolate from oil contaminated sites, *APCBEE Procedia*. 5: 237-241. doi:10.1016/j.apcbee.2013.05.041
- Golyshin, P., Santos, M.D., Kaiser, O., Ferrer, M., Sabirova, Y., Lünsdorf, H., Chernikova, T. 2003.** Genome sequence completed of *Alcanivorax borkumensis*, a hydrocarbon-degrading bacterium that plays a global role in oil removal from marine systems, *J. Biotechnol.*, 106(3): 215-220.
- Heinonsalo, J., Jorgensen, K.S., Haahtela, K., Sen, R. 2000.** Effects of *Pinus sylvestris* root growth and mycorrhizosphere development on bacterial carbon source utilization and hydrocarbon oxidation in forest and petroleum contaminated soils, *Canadian J. Microbiol.*, 46(5): 451-464.
- İslam, TH., Ghosh, B., Magnet, MH., Fatema, K., Akter, S., Khan, AR., Datta, S. 2013.** Isolation and identification of petroleum degrading bacteria from oil contaminated soil & water and assessment of their potentiality in bioremediation, *IOSR J. Environ. Sci., Toxic. Food Techn.*, 5(2): 55-58.
- Janda, WM., Knapp, JS. 2003.** *Neisseria* and *Moraxella catarrhalis*, p. 585-608. In Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.C., Tenover, R.H. (eds), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed, ASM Press, Washington, D.C
- Jung, J., Baek, JH., Park, W. 2010.** Complete genome sequence of the diesel-degrading *Acinetobacter* sp. strain DR1. *J. Bacteriol.* 192(18): 4794-4795.
- Kumari, N., Vashishtha, A., Saini, P., Menghani, E. 2013.** Isolation, identification and characterization of oil degrading bacteria isolated from the contaminated sites of Barmer, Rajasthan. *I. J. Biotechn. Bioengin. Res.*, 4(5): 429-436.
- Nelson, KE., Weinel, C., Paulsen, IT., Dondson, RJ., Hilbert, H., Martins dos Santos, VA., Fouts, DE., Gill, SR. 2002.** Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ. Microbiol.*, 4(12): 799-808.
- Panda, SK., Kar, RN., Panda, CR. 2013.** Isolation and identification of petroleum hydrocarbon degrading microorganisms from oil contaminated environment. *I. J. Environ. Sci.*, 3(5): 1314-1321.
- Prakash, A., Bisht, S., Singh, J., Teotia, P., Kela, R., Kumar, V. 2014.** Biodegradation potential of petroleum hydrocarbons by bacteria and mixed bacterial consortium isolated from contaminated sites. *Turk. J. Engin. Environ. Sci.*, 38: 41-50.
- Riser-Roberts, E. 1992.** *Bioremediation of Petroleum Contaminated Sites*. Boca Raton (FL): CRC Press Inc.
- Subathra, M.K., Immanuel, G., Suresh, A.H. 2013.** Isolation and Identification of hydrocarbon degrading bacteria from Ennore creek. *Bioinform.*, 9(3): 150-157.
- Toledo, F.L., Calvo, C., Rodelas, B., Lopez, J.G. 2006.** Selection and identification of bacteria isolated from waste crude oil with polycyclic aromatic hydrocarbons removal capacities. *Syst. Appl. Microbiol.*, 29: 244-252.
- Türk Deniz Araştırmaları Vakfı (TÜDAV), 2014.** Petrol Kirliliği (<http://www.tudav.org/index.php/tr/petrol-kirliligi>).