

Atf İçin: Taşkan B, 2021. Abamectin Pestisitinin Anaerobik Arıtma Sisteminde Mikrobiyal Komünite ve Biyogaz Üretimi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(3): 1854-1865.

To Cite: Taşkan B, 2021. Investigation of Effect of Abamectin on Microbial Community and Biogas Production in Anaerobic Treatment. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(3): 1854-1865.

Abamectin Pestisitinin Anaerobik Arıtma Sisteminde Mikrobiyal Komünite ve Biyogaz Üretimi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

Banu TAŞKAN^{1*}

ÖZET: Abamectin tarım ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılan bir pestisit olup organizmalar üzerinde çoklu toksik etkilere neden olabilmektedir. Ancak söz konusu toksik etkinin mekanizması hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Abamectinin çevresel ortamlarda sürekli olarak birikmesi, özellikle su ortamlarında potansiyel ekolojik riskler oluşturabilmektedir. Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (0.25-5 mg L⁻¹) abamectinin anaerobik bir arıtma sisteminde mikroorganizmalar ve biyogaz üretimi üzerindeki etkisi detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, 2 mg L⁻¹'nin üzerindeki abamectin konsantrasyonlarının mikrobiyal ekolojiyi inhibe ederek biyogaz üretimini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Üretilen biyogaz miktarı, abamectin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak belirgin bir şekilde azalmış ve kontrol reaktörüne kıyasla 5 mg L⁻¹ abamectin içeren reaktörde üretilen biyogaz %97 oranında düşmüştür. Biyogaz üretiminin en yüksek olduğu süreçte kontrol reaktöründeki biyogazın metan (CH₄) içeriği ise yaklaşık olarak %50 iken bu oran abamectin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak önemli oranda azalmıştır ve 5 mg L⁻¹ abamectin beslemesi yapılan reaktörde üretilen biyogazın bileşiminde CH₄ bileşiğine rastlanmamıştır. Ayrıca, abamectin konsantrasyonunun artışı ile reaktör içeriğindeki bakteri canlılık oranının önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, abamectin pestisitinin anaerobik mikroorganizmalar üzerinde toksik etki yaptığı ve buna bağlı olarak reaktör içerisindeki biyodegradasyon sürecinin olumsuz bir şekilde etkilendiği tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, abamectin içeren atıksuların anaerobik prosesler ile arıtımı üzerine literatüre önemli ölçüde katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Abamectin, anaerobik arıtım, biyogaz üretimi, mikrobiyal ekoloji.

Investigation of Effect of Abamectin on Microbial Community and Biogas Production in Anaerobic Treatment

ABSTRACT: Abamectin is a widely used pesticide in agriculture and animal husbandry and can cause multiple toxic effects on organisms. However, the mechanism of this toxic effect has not been completely elucidated yet. The continuous accumulation of abamectin in environmental environments can pose potential ecological risks, especially in aquatic environments. In this study, the effect of abamectin at different concentrations (0.25-5 mg L⁻¹) on microorganisms and biogas production in anaerobic treatment was investigated in detail. The results showed that biogas production significantly reduced at abamectin concentrations above 2 mg L⁻¹ because of the inhibition of microbial community. The amount of biogas significantly reduced due to the increase in abamectin concentration and it decreased at the percentage of 97% in the reactor containing 5 mg L⁻¹ abamectin as compared to the control reactor. The CH₄ content of biogas in control reactor was approximately 50% during the highest biogas production, while it decreased significantly due to the increase in abamectin concentration, and CH₄ was not detected in biogas produced in the reactor fed 5 mg L⁻¹ abamectin. Additionally, the viability of bacteria in the reactor significantly reduced with the increase in abamectin concentration. In conclusion, it has been determined that abamectin has a toxic effect on anaerobic microorganisms, and thus, the biodegradation process in the reactor is negatively affected from toxicity of abamectin. The data obtained as a result of this study can contribute significantly to the literature on the treatment of wastewater containing abamectin by anaerobic processes.

Keywords: Abamectin, anaerobic treatment, biogas production, microbial ecology.

¹Banu TAŞKAN ([Orcid ID: 0000-0001-7751-1165](https://orcid.org/0000-0001-7751-1165)), Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Elazığ, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Banu TAŞKAN, e-mail: btaskan@firat.edu.tr

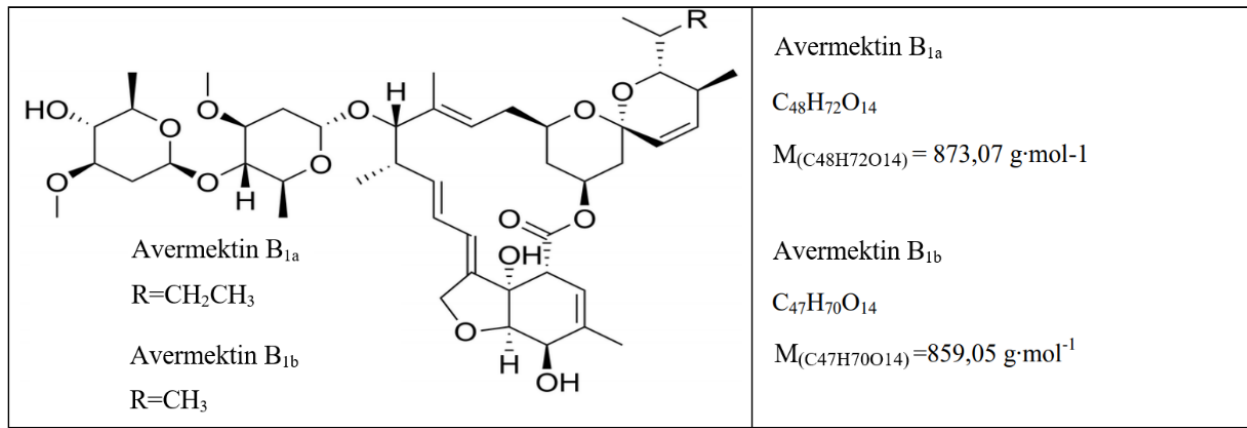
GİRİŞ

Pestisitler, yarım yüzyıldan fazla bir süredir, insanlar için bitkisel üretimi artırmak amacı ile kullanılmaktadır. Bu organik bileşikler bazen halojenli olmakla birlikte genellikle aromatik ve çok farklı kimyasal yapılara sahip olabilir. Herhangi bir kimyasalın pestisit olarak kullanımı, doğanın bu tür kimyasallara maruz kalmasına neden olmaktadır. Bu tür bir maruziyetin kapsamı ise, kimyasalın kullanım sıklığı ve kullanım miktarına, ortamdaki kalıcılığına ve uygulanması için izlenen yola bağlıdır. Kimyasalların kalıcılığı; fiziksel ve kimyasal özellikleri, sudaki ve topraktaki yarı ömrü, fotolitik kararlılığı ve toprağa bağlanma kabiliyeti ile belirlenir. Pestisitler, kullanıldıktan sonra biyolojik olarak kolayca parçalanamazlarsa kalıcı kirleticiler haline gelebilirler (Ali ve ark., 2008; Sarraute ve ark., 2019). Bu nedenle, söz konusu pestisitlerin kullanımlarının azaltılması veya en azından daha çevre dostu tarım kimyasalları seçmek gerekir (Sarraute ve ark., 2019).

Tarım alanındaki yaygın kullanımları nedeniyle dünya çapında artan pestisit kirliliği, çevre sağlığı ile ilgili en büyük endişelerden biri haline gelmiştir. Çünkü bu bileşikler, düşük konsantrasyonlarda bile doğaları gereği toksik ve kanserojendir (Ghalwa ve ark., 2015). Pestisitlerin çevresel etkileri ve zamanla ayrışması üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça azdır (Goodenough ve ark., 2019; Pan ve ark., 2019). Bu çalışmalarda pestisit giderimi için uygulanan bazı fiziksel ve kimyasal yöntemler pıhtılaştırma/flokülasyon, buharla sıyırma, aktif karbon/reçine adsorpsiyonu ve kimyasal oksidasyon şeklinde sıralanabilir. Ancak, bu teknolojilerin uygulanması genel olarak oldukça yüksek maliyet gerektirir. Bu nedenle alternatif olabilecek diğer yöntemler dikkate alınmalıdır. Son yıllarda araştırmacılar, pestisitlerin aerobik biyoayrışması üzerine yoğunlaşmıştır (González ve ark., 2006; Celis ve ark., 2008; Sanchis ve ark., 2013; García-Mancha ve ark., 2017). Ancak, pestisitlerin anaerobik biyolojik ayrışması şimdiye kadar çok az araştırmacı tarafından incelenmiştir (Chung ve ark., 1996; Baczynski ve ark., 2004; Lopez ve ark., 2013).

Dünyada yaygın olarak kullanılan pestisitlerden biri olan avermektinler, makrosiklik lakton bileşiklerinin bir üyesidir (Huang ve ark., 2020). Avermektinler, toprak bakterisi *Streptomyces avermitilis* tarafından fermente edilen böcek öldürücü ve antihelmintik bileşiklerdir. Bu ailenin hem mahsul koruma hem de farmasötik amaçlar için en yaygın kullanılan bileşiği olan abamektin, *Streptomyces avermitilis* bakterisi tarafından üretilen doğal bir fermentasyon ürünüdür (Errami ve ark., 2014). Abamektin, %80'den fazla avermektin B1a ve %20'den az avermektin B1b içeren avermektinlerin bir karışımıdır (Şekil 1). Bu iki bileşen, B1a ve B1b çok benzer biyolojik ve toksikolojik özelliklere sahiptir (Errami ve ark., 2014; El-Saber Batiha ve ark., 2020; Kushwaha ve ark., 2020). Bunlar; yüksek oranda lipofiliktir, suda az çözünür, ancak çoğu organik çözücüde kolayca çözünürler (Al Ghais ve ark., 2019; El-Saber Batiha ve ark., 2020). Abamektin, c-aminobütirik asit salınımını uyararak etki gösterir ve böylece felce neden olur (Turner ve Schaeffer, 1989; Omura, 2008). Hem antiparaziter bir ajan hem de etkili bir insektisit olarak kullanılan abamektin, tarımda, bitkilerin korunması ve hayvancılıkta karşılaşılan hastalıkların tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Campbell, 1989; de Oliveira Ferreira ve ark., 2019). Abamektin, böcekler, memeliler, suda yaşayan omurgasızlar ve balıklar için oldukça zehirlidir (Lankas ve Gordon, 1989; Hamed ve Abdel-Razik, 2015). Bu mikrokirletici hayvanlara uygulandıktan sonra, önemli miktarda metabolize olmayan ilaç doğrudan çevreye atılır. Bunlar; organik madde, toprak ve tortu parçacıkları tarafından kolayca emilir. Çok sayıda hayvanda sık kullanıldığı zaman, su ortamı için potansiyel risk oluşturabilirler. Şimdiye kadar yapılan birkaç çalışma, abamektin dahil olmak üzere avermektinlerin sucul türler için uzun süreli etkiye sahip ve oldukça toksik olduğunu göstermiştir (Tişler ve Erzen, 2006; Novelli ve ark., 2016; Huang ve ark., 2020). Tişler ve Erzen (2006) ve Hernando ve ark. (2006) avermektinlerin gıda zincirinde önemli rolleri olan su ve

karasal organizmaların üremesine ve hayatta kalmasına müdahale ettiğini rapor etmişlerdir. El-Shenawy (2010) tarafından yapılan çalışmada, izole sıçan hepatositleri üzerinde insektisit fenitrothion, endosülfan ve abamektinin belirgin bir sitotoksikite etkisi gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, Zhang ve ark. (2017) abamektinin insan HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini reaktif oksijen türlerinin aracılık ettiği apoptoz ile doğrulamıştır. Abamektinin çevresel ortam ve sucul organizmalar üzerindeki olası olumsuz etkileri üzerine yapılmış çalışma sayısı az (Wang ve ark., 2011) olmakla birlikte, insanlar üzerindeki toksik etkisi üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır (Karunatilake ve ark., 2012). Şu ana kadar abamektin giderimi ile ilgili çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan yöntemler; foto-fenton (Matos ve ark., 2012), adsorpsiyon (Wei ve ark., 2009; Jodeh ve ark., 2014), elektrokoagülasyon (Ghalwa ve ark., 2015) ve elektrokimyasal oksidasyon (Errami ve ark., 2014) yöntemleridir. Son yıllarda, kimyasal, elektrokimyasal ve fotokimyasal süreçleri içeren yeni atıksu arıtma yöntemleri geliştirilmiştir (Siampiringue ve ark., 2014). Ancak literatürde abamektinin biyolojik prosesler ile giderimi üzerine yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.



Şekil 1. Abamektin pestisitinin kimyasal yapısı (Errami ve ark., 2014)

Son yıllarda çevre kirliliği, fosil yakıt tüketimindeki artış ile birlikte önemli ölçüde artmıştır. Bu artış, yenilenemeyen enerji kaynaklarının hızla tükenmesine neden olmuştur (Lotfalipour ve ark., 2010). Bu durum, temiz ve yenilenebilir enerji kaynakları üzerine yapılan araştırmaların büyük ölçüde artmasına yol açmıştır. Günümüzde alternatif enerji kaynaklarının en önemlilerinden biri biyoenerjidir. Biyoenerji, mikroorganizmalar tarafından organik maddelerin yapısında bulunan kimyasal bağ enerjisi kullanılarak üretilir. Bu enerji türü, küresel-ekonomik kalkınmayı ve insanın yaşam kalitesini iyileştirmek için ortaya çıkan temiz ve yenilenebilir bir alternatif enerji seçeneğidir (Gavrilescu, 2008). Bu bağlamda, özellikle son 10 yılda tüm dünya ülkeleri ile birlikte Türkiye'de de petrol, kömür ve doğalgaza alternatif olarak biyogaz üretiminin ön plana çıktığı gözlenmektedir (Uçar, 2018). Potansiyel bir enerji kaynağı olan biyogaz, çeşitli teknolojiler vasıtası ile enerjiye dönüştürülebilmektedir. Çevresel atıklardaki enerjinin geri kazanımına olan ilgi artışı ve aerobik arıtım sonucu üretilen çamurun fazla olması ve bunun yol açtığı çevresel problemler anaerobik biyoteknolojiye olan ilginin artmasına neden olmuştur (Lema ve Omil, 2001; Gupta ve ark., 2016). Biyolojik dönüşüm süreçlerinden biri olan anaerobik çürütme, çeşitli biyolojik olarak bozunabilir atıklardan biyogaz (metan-CH₄ ve karbondioksit-CO₂) eldesine imkân vermektedir. Bu proseste biyogaz üretimi, organik atıklar ve hidrolitik/akidojenik/asetojenik/metanojenik mikroorganizmalar kullanılarak anaerobik koşullar altında doğal bir şekilde gerçekleşir (Angelidaki ve ark., 2011; De Vrieze ve ark., 2012). Atıksuların kirlenici içeriğinin artması, arıtma sürecini daha zor ve kompleks hale getirir (Sharma ve Philip, 2014). Bu nedenle, arıtımı anaerobik prosesler ile iyileştirme yöntemlerine odaklanmak önemli ve gereklidir.

(Gupta ve ark., 2016). Bu sistemler; daha az çamur üretimi ve daha düşük enerji gereksinimi yanında biyogaz üretimine imkân vermesi açısından aerobik proseslere göre önemli avantajlara sahiptir (Gupta ve ark., 2016; Stuckey ve Oh, 2018). Ancak bu sistemler, anaerobların daha yavaş büyüme hızına ve toksik bileşiklere karşı daha yüksek duyarlılığa sahip olması gibi dezavantajları da beraberinde getirir. Anaerobik arıtımın iyileştirilmesi, mikro kirleticilerin biyolojik bozunmasını artırmak ve dolayısıyla toksisiteyi azaltmak için iyi bir seçenek olabilir (Völker ve ark., 2017).

Abamektin içeren bir atıksuyun biyolojik proseslerle giderimi veya biyolojik proseslerdeki mikroorganizmalar üzerindeki etkisine yönelik literatürde yapılmış herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı, anaerobik bir reaktör içerisindeki mikroorganizmaların metan (CH₄) üretim süreci üzerine abamektinin inhibisyon etkisini araştırmaktır. Bu sebeple, farklı abamektin konsantrasyonlarında çalışılmış ve mikrobiyal ekoloji üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Reaktörlerde üretilen toplam biyogaz miktarı ve biyogaz üretiminin en yüksek olduğu süreçte biyogazın CH₄ ve CO₂ içeriği analiz edilmiştir. Anaerobik reaktörler içerisindeki mikroorganizmaların farklı işletim şartları altındaki davranışlarını tam olarak anlayabilmek için floresan mikroskopu kullanılarak bakteriyel canlılık ve floresan in-situ hibridizasyon (FISH) analizi yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, mikrobiyal aktivite sürecinin aydınlatılması açısından son derece önemlidir. Bu açıdan bakıldığında, bu çalışmanın özgünlüğü ve literatüre katkı sağlama potansiyeli oldukça yüksektir.

MATERYAL VE METOT

İnokulum Kaynağı

Çalışmada inokulum olarak kullanılan anaerobik çamur laboratuvarımızda çalışmakta olan anaerobik membran biyoreaktör sisteminden alınmıştır. Deney başlangıcında her bir reaktördeki MLVSS içeriği 7.4 g L⁻¹ olarak ayarlanmıştır. İnokulum 1000 mg L⁻¹ KOİ içeren sentetik atıksu ile 3/5 (v/v) oranında karıştırılmıştır. Reaktörlerde kullanılan sentetik besleme suyu bileşimi: 0.66 g L⁻¹ glikoz, 0.1 g L⁻¹ et ekstraktı, 0.03 g L⁻¹ pepton, 0.81 g L⁻¹ NaHCO₃, 0.01 g L⁻¹ K₂HPO₄ ve 5 ml L⁻¹ eser metal çözeltisi içermektedir. Eser metal çözeltisi: 3 mg L⁻¹ MgSO₄.7H₂O, 0.5 mg L⁻¹ MnSO₄.H₂O, 1 mg L⁻¹ NaCl, 0.1 mg L⁻¹ FeSO₄.7H₂O, 0.18 mg L⁻¹ CoSO₄.2H₂O, 0.1 mg L⁻¹ CaCl₂.6H₂O, 0.18 mg L⁻¹ ZnSO₄.7H₂O, 0.01 mg L⁻¹ CuSO₄.5H₂O, 0.02 mg L⁻¹ Ca(SO₄)₂.12H₂O, 0.01 mg L⁻¹ H₃BO₃, 0.01 mg L⁻¹ NaMoO₄.H₂O, 0.125 mg L⁻¹ NiCl₂.6H₂O, 0.003 mg L⁻¹ NaSeO₃.5H₂O kullanılarak hazırlanmıştır.

Reaktör Kurulumu ve İşletim Şartları

Çalışmada iki kontrol olmak üzere her bir konsantrasyon için 2 anaerobik serum şişesi kullanılmış ve çalışma 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür (Şekil 2). Reaktörler ışık geçirmeyen amber cam malzemeden yapılmış olup her bir reaktörün toplam hacmi 100 ml'dir. Reaktörlerin etkin hacmi ise 80 ml (30 ml inokulum/50 ml sentetik besleme suyu) olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra, abamektin (Sigma-Aldrich, Almanya) 0.25; 0.5; 1; 2; 3; 4; 5 mg L⁻¹ konsantrasyonlarına sahip olacak şekilde anaerobik serum şişelerine eklenmiştir. Reaktör sıvısı çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak amacı ile 10 dk boyunca azot (N₂) gazından geçirilmiş ve ardından kauçuk tıpa ile kapatılmıştır. Anaerobik reaktörler 37 °C ve 150 rpm karıştırma hızında 24 gün süre ile inkübatörde (Stuart orbital incubator, SI500) tutulmuştur. Reaktörler birbirine paralel olarak tamamen aynı şartlarda işletilerek farklı abamektin konsantrasyonlarının anaerobik arıtım üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Analizler

Biyogaz miktarı, kalibre edilmiş ıslak cam şırıngalar kullanılarak ölçülürken, her bir çalışma periyodu için biyogaz üretiminin en iyi olduğu dönemde biyogazın CH₄ ve karbondioksit (CO₂) bileşimi,

termal iletkenlik detektörüne (TCD) sahip gaz kromatografisi cihazı (Shimadzu GC-2010) kullanılarak analiz edilmiştir.



Şekil 2. Çalışmada kullanılan inkübatör sistemi ve laboratuvar ölçekli anaerobik reaktörler

Çalışmanın sonunda her bir reaktörden numune alınarak bakteriyel canlılık ve FISH analizleri (Taşkan, 2020; Taşkan ve ark., 2020) tarafından verilen protokoller kullanılarak yapılmıştır. Bakteriyel canlılık analizleri, LIVE/DEAD™ BacLight™ Bacterial Viability Kiti (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak üretici firmanın vermiş olduğu protokole göre yapılmıştır. Biyofilm numuneleri, FISH analizi için 4 sa 4 °C'de steril fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi (130 mM NaCl, 10 mM sodyum fosfat, pH 7.2) içerisinde paraformaldehid aracılığı ile sabitlenmiştir. Bakteriyel hücreler, bir kez PBS çözeltisi ile yıkandıktan sonra PBS-saf etanol (1/1, v/v) içerisinde yeniden süspansiyon edilmiş ve 20 °C'de saklanmıştır (Harmsen ve ark., 1996). Arkea ve bütün mikrobiyal toplulukları saptamak için Arc915 (Archaea, GTGCTCCCCCG CCAATTCCT) (Amann ve ark., 1990) ve Univ1392 (Bakteriler, ACGGGC GGTGTGTAC) (Pace ve ark., 1986) problemleri kullanılmıştır. Slaytlar üzerindeki sabitlenmiş numuneler Kolukirik ve ark. (2011) göre dehidrate edilmiştir. Slaytlar üzerindeki mikroorganizmalar, bir DS-Fi1c dijital kamera ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Analysis yazılımı) ile donatılmış bir Eclipse Ni-U mikroskobu (Nikon, Japonya) kullanılarak gözlenmiştir.

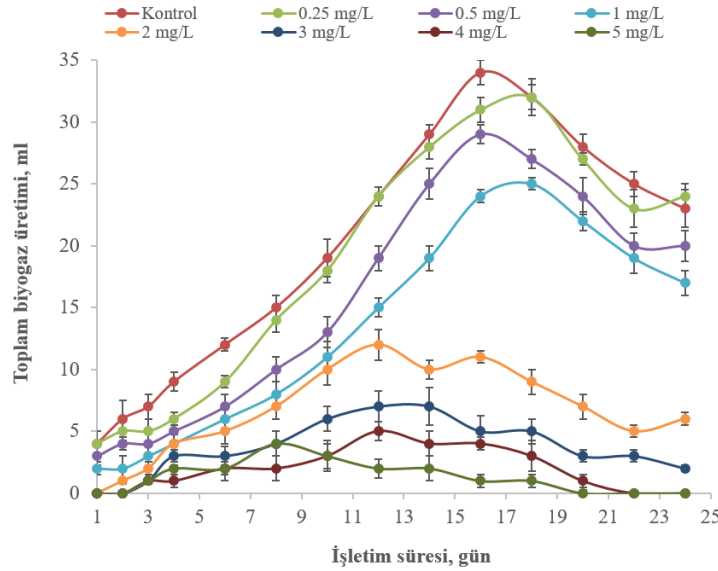
BULGULAR VE TARTIŞMA

Abamektinin Biyogaz Üretimine Etkisi

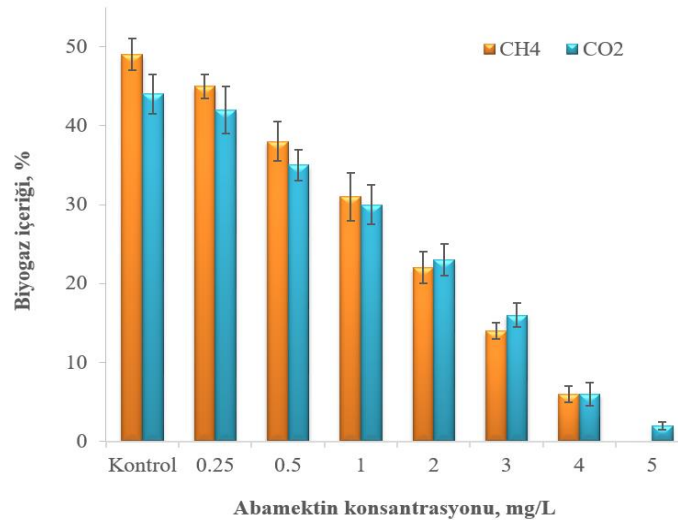
Abamektinin mikroorganizmaların fizyolojisi ve reaktör içerisindeki biyodegradasyon sürecini olumsuz bir şekilde etkilediği gözlenmiştir. Biyogaz üretiminin maksimum olduğu 16. işletim günü kontrol reaktöründe üretilen biyogaz miktarı 34 ml iken 5 mg L⁻¹ abamektin içeren reaktördeki biyogaz miktarı 2 ml olarak ölçülmüştür. 0.25 mg L⁻¹ abamektin içeren reaktörde ise bu değer 32 ml olarak belirlenmiştir. Bu durum, ortamdaki mikrobiyal ekolojinin (asetojen ve metanojenle) abamektine duyarlı olduğunu ve 0.25 mg L⁻¹ abamektin konsantrasyonunun bile biyogaz üretimi üzerinde inhibisyon etkisinin olduğunu göstermektedir. Her bir reaktörde üretilen biyogaz miktarı incelendiğinde, abamektin konsantrasyonu arttıkça üretilen biyogaz miktarının azaldığı tespit edilmiştir. 5 mg L⁻¹ abamektin konsantrasyonunda ise reaktör içerisindeki ölü mikroorganizma sayısının artışı ve mikrobiyal aktivitenin azalmasına bağlı olarak biyogaz üretiminin önemli düzeyde düştüğü belirlenmiştir (Şekil 3). Bu durum üretilen biyogaz miktarının, mikrobiyal aktivite ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermiştir. Biyogaz üretiminin en yüksek olduğu dönemde yapılan gaz analizinde üretilen biyogazın CH₄ ve CO₂ içeriği Şekil 4'te verilmiştir. Şekilden görüldüğü üzere abamektin içermeyen kontrol reaktöründeki organik

maddenin CH₄ ve CO₂'e dönüşüm oranı, abamektin içeren reaktörlere kıyasla oldukça yüksektir. Kontrol reaktörü abamektin içermediğinden dolayı ortamdaki mikroorganizmalar aktif olarak faaliyet göstermiş ve reaktör içerisindeki biyodegradasyon mekanizması etkilenmeden son ürünlerden biri olan metan üretimine kadar devam etmiştir. Biyogaz üretiminin en yüksek olduğu süreçte kontrol reaktöründeki biyogazın CH₄ içeriği yaklaşık olarak %50 civarındadır. 0.25, 2 ve 5 mg L⁻¹ abamektin içeren reaktörlerde ise üretilen biyogazın CH₄ içeriği sırası ile %46, %23, %0 olarak tespit edilmiştir. 5 mg L⁻¹ abamektin konsantrasyonunda reaktör içerisindeki metan üreten bakterilerin tamamen inhibe olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, daha yüksek abamektin konsantrasyonları denenmemiştir.

Sonuç olarak, abamektin konsantrasyonu arttıkça, üretilen biyogaz miktarı ve içeriğindeki metan yüzdesi belirgin bir şekilde düşmüştür. Bu sonuç, abamektinin anaerobik mikroorganizmalar üzerinde toksik etki yaptığı, mikroorganizmaların fizyolojisini bozduğu ve buna bağlı olarak reaktör içerisindeki biyodegradasyon sürecinin olumsuz bir şekilde etkilendiği varsayımını güçlü bir şekilde desteklemektedir. Ayrıca, biyogaz üretimindeki azalma, asetojen ve/veya metanojenlerin doğrudan inhibisyonundan veya biyogaz üretim sürecinde aktif rol alan mikrobiyal topluluğun canlılık oranının azalmasından kaynaklanmış olabilir.



Şekil 3. Çalışmada kullanılan reaktörlerde üretilen biyogaz miktarı

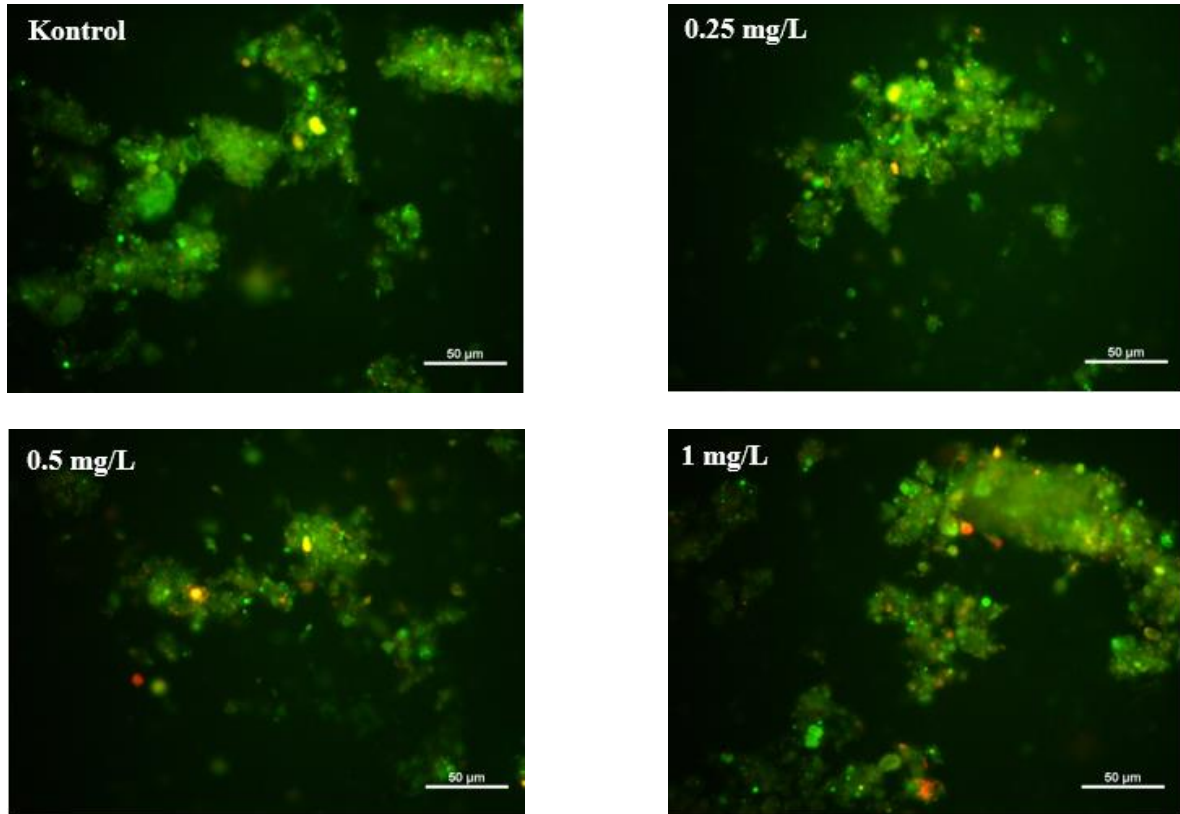


Şekil 4. Biyogaz üretiminin en yüksek olduğu süreçte biyogazın CH₄ ve CO₂ içeriği

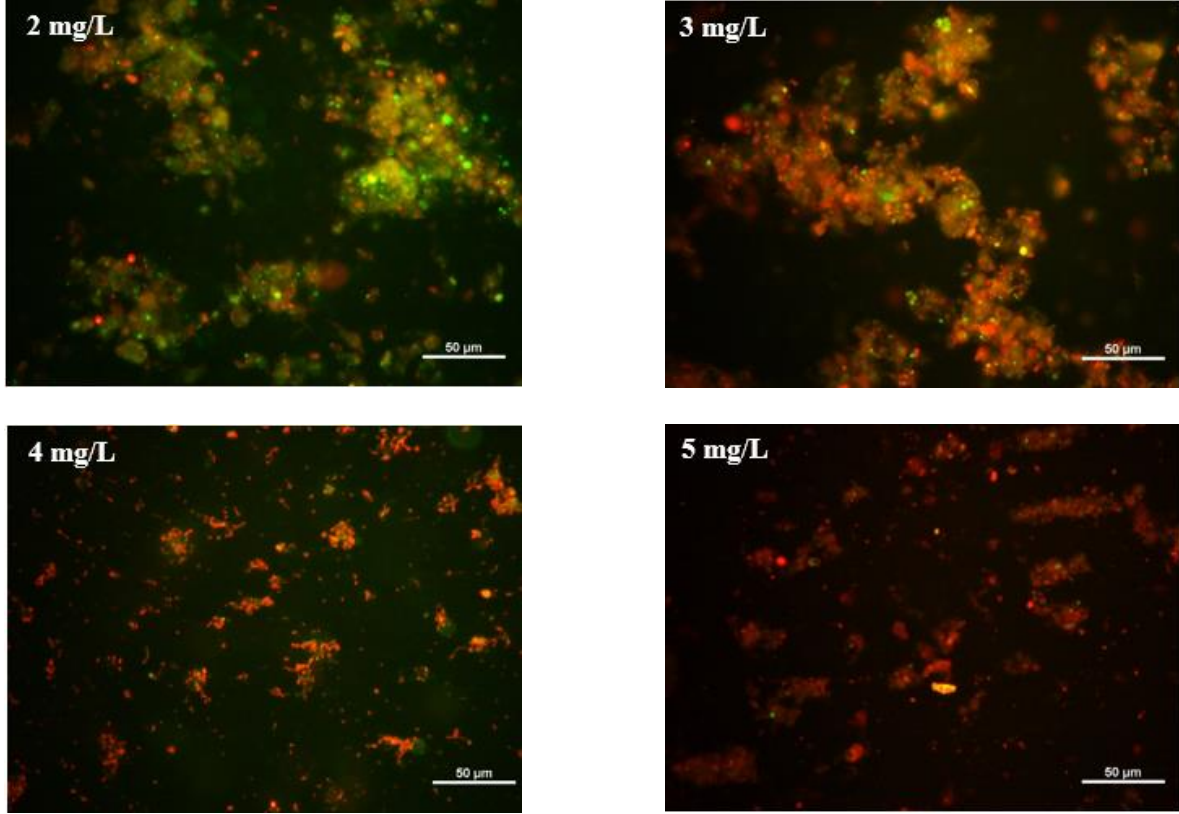
Abamektinin Mikrobiyal Komünite Üzerine Etkisi

Bakteriyel canlılık gözlemleri, ortamdaki canlı bakteri miktarının abamektin konsantrasyonu 2 mg L^{-1} 'ye ulaşana kadar önemli ölçüde değişmediğini, ancak 2 mg L^{-1} ve üzeri abamektin konsantrasyonlarında ortamdaki canlı bakteri sayısının belirgin bir şekilde azaldığını göstermiştir. Şekil 5 dikkatle incelendiğinde, 5 mg L^{-1} abamektin konsantrasyonunda ortamdaki ölü bakteri miktarının diğer çalışma periyotlarına kıyasla oldukça fazla olduğu analiz edilmiştir. Abamektin konsantrasyonu arttıkça ortamdaki canlı bakteri miktarının azalmasıyla ölü bakteri miktarının artması, bakteriler üzerinde abamektinin toksik etki yaptığını göstermiştir. Dolayısıyla organik maddenin biyogaza dönüşüm oranı, abamektin konsantrasyonu artışına bağlı olarak azalmıştır.

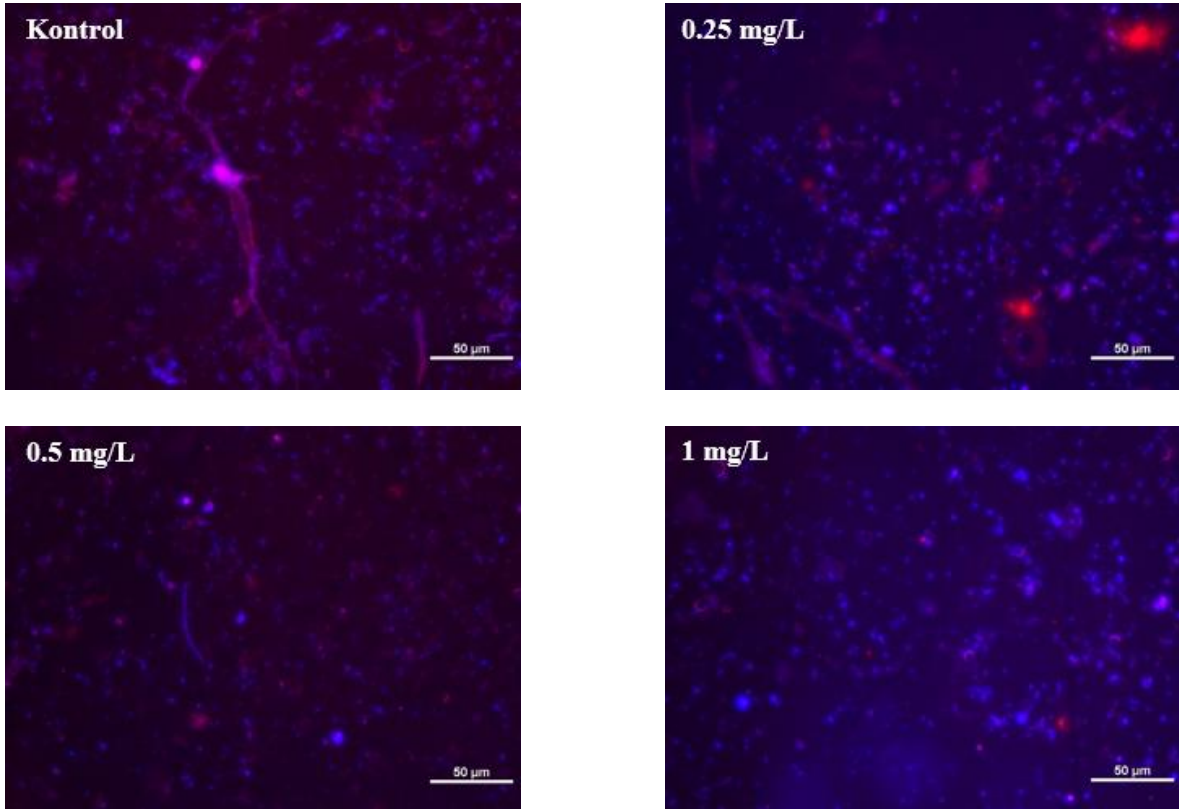
FISH görüntüleri, reaktör içerisinde hem arkeaların (kırmızı) hem de bakterilerin (mavi) varlığını göstermektedir (Şekil 6). Bilindiği üzere, metanojenik arkeler anaerobik ortamda yaşarlar. Şekilden görüldüğü üzere kontrol reaktöründe reaktör içerisindeki toplam bakteri (mavi) ve metanojenik bakteri (kırmızı) yoğunluğu, diğer reaktörlere kıyasla yüksektir. Abamektin konsantrasyonu arttıkça ortamdaki metanojenik arkea miktarının belirgin oranda azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, bakteriyel canlılık tayini ve biyogaz üretimi sonuçları ile uyumludur. Özellikle 2 mg L^{-1} 'nin üzerindeki abamektin konsantrasyonlarında ortamdaki metan üreten arkeaların miktarında gözlemlenen düşüş, değişen işletim şartlarının mikroorganizmalar üzerinde toksik etki yaptığının göstergesidir.



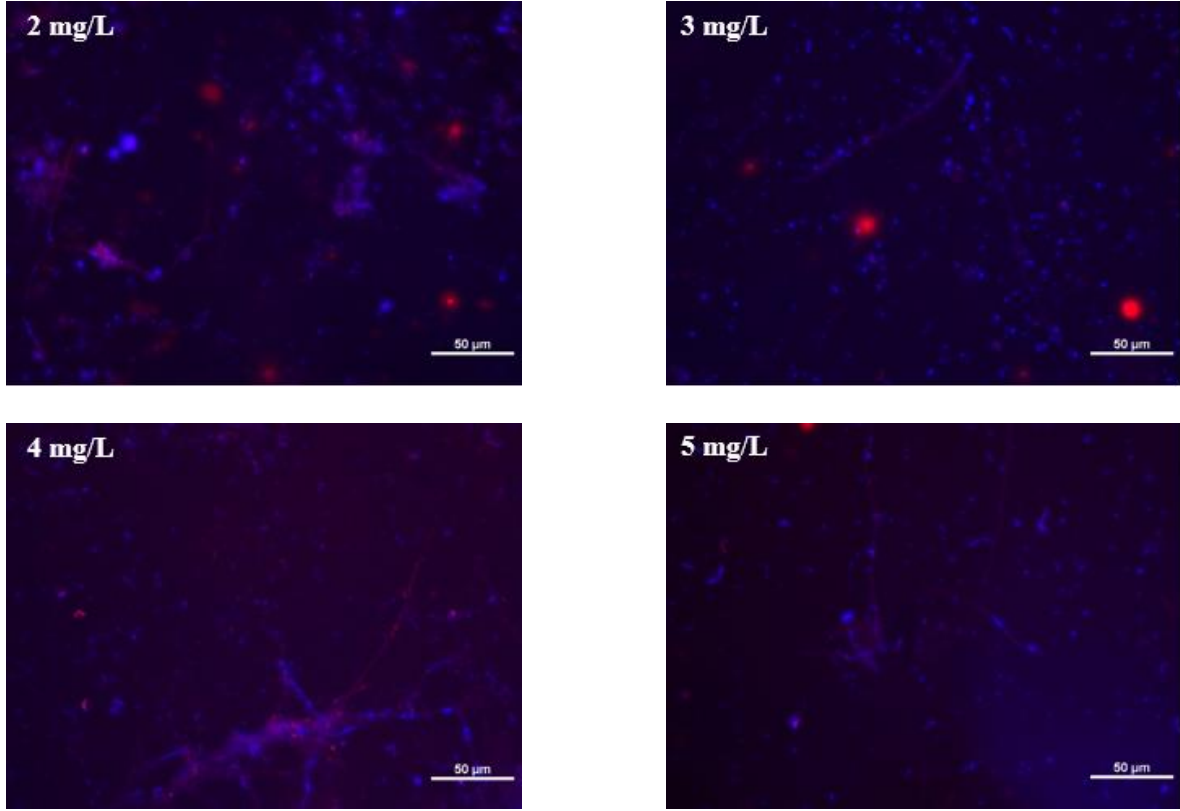
Şekil 5. Anaerobik reaktörler içerisindeki canlı-ölü bakteri miktarını gösteren bakteriyel canlılık analizi



Şekil 5. Anaerobik reaktörler içerisindeki canlı-ölü bakteri miktarını gösteren bakteriyel canlılık analizi (devam)



Şekil 6. Anaerobik reaktörlerde arkeaların (kırmızı) ve bakterilerin (mavi) varlığını gösteren FISH görüntüleri



Şekil 6. Anaerobik reaktörlerde arkeaların (kırmızı) ve bakterilerin (mavi) varlığını gösteren FISH görüntüleri (devam)

SONUÇ

Günümüzde pestisitlerin çevresel ortam ve sucul organizmalar üzerindeki olası olumsuz etkilerini araştırmak ve bu probleme çözüm bulmak büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, abamektin pestisitinin anaerobik procesteki mikroorganizmalar ve biyogaz üretimi üzerindeki etkisi detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Sonuçlar, anaerobik ayrışma işleminin 1 mg L^{-1} abamektin konsantrasyonu altında iyi performans gösterdiğini, bu değerin üzerindeki konsantrasyonlarda ise mikrobiyal aktivite ve biyogaz üretimi üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Abamektin konsantrasyonunun artışı, anaerobik sistemdeki organik maddenin biyogaza dönüşüm oranı ve üretilen biyogazın CH_4 içeriğini belirgin oranda azaltmıştır. Bakteriyel canlılık ve FISH görüntüleri, anaerobik reaktördeki mikrobiyal topluluğun morfolojisi üzerine artan abamektin konsantrasyonlarının toksik etkide bulunduğunu göstermiştir. Reaktör içerisindeki mikroorganizmaların toksik etkiye maruz kalması ortamdaki organik bileşiklerin biyodegradasyonunu önemli ölçüde etkilemiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, özellikle zirai amaçla yaygın bir şekilde kullanılan abamektinin anaerobik reaktörlerdeki mikrobiyal topluluğun yapısı, işleyişi ve aktivitesi üzerine toksik etkide bulunarak reaktör performansının önemli ölçüde düşmesine neden olduğunu göstermiştir. Abamektin pestisitinin biyolojik prosesler ile arıtımı ve biyolojik proseslerdeki mikroorganizmalar üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmadığından dolayı bu çalışmada elde edilen verilerin bu alanda yapılacak diğer çalışmalara ışık tutma potansiyeli oldukça yüksektir.

KAYNAKLAR

- Al Ghais SM, Varadharajulu S, Kumbhar P, 2019. Effects of Abamectin on *Tilapia mossambica* peters changes in reduced glutathione (GSH) and protein content. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(4): 280-284.
- Ali I, Singh P, Rawat M, Badoni A, 2008. Analysis of organochlorine pesticides in the Hindon river water, India. *Journal of Environmental Protection Science*, 2: 47-53.
- Amann RI, Krumholz L, Stahl DA, 1990. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *Journal of Bacteriology*, 172(2): 762-770.
- Angelidaki I, Karakashev D, Batstone D, Plugge C, Stams A, 2011. *Biomethanation and Its Potential In: Methods in Enzymology*, Academic Press, San Diego, USA.
- Baczynski TP, Grotenhuis T, Knipscheer P, 2004. The dechlorination of cyclodiene pesticides by methanogenic granular sludge. *Chemosphere*, 55(5): 653-659.
- Campbell W, 1989. *Ivermectin and abamectin*. Springer Verlag, New York (1989)
- Celis E, Elefsiniotis P, Singhal N, 2008. Biodegradation of agricultural herbicides in sequencing batch reactors under aerobic or anaerobic conditions. *Water Research*, 42(12): 3218-3224.
- Chung K, Ro K, Roy D, 1996. Fate and enhancement of atrazine biotransformation in an anaerobic wetland sediment. *Water Research*, 30(2): 341-346.
- de Oliveira Ferreira F, Porto RS, Rath S, 2019. Aerobic dissipation of avermectins and moxidectin in subtropical soils and dissipation of abamectin in a field study. *Ecotoxicology and environmental safety*, 183: 109489.
- De Vrieze J, Hennebel T, Boon N, Verstraete W, 2012. *Methanosarcina*: the rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation. *Bioresource Technology*, 112: 1-9.
- El-Saber Batiha G, Alqahtani A, Ilesanmi OB, Saati AA, El-Mleeh A, Hetta HF, Magdy Beshbishy A, 2020. Avermectin derivatives, pharmacokinetics, therapeutic and toxic dosages, mechanism of action, and their biological effects. *Pharmaceuticals*, 13(8): 196.
- El-Shenawy NS, 2010. Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 24(4): 1148-1157.
- Errami M, Salghi R, Ebenso EE, Messali M, Al-Deyab S, Hammouti B, 2014. Anodic destruction of abamectin acaricide solution by BDD-anodic oxidation. *International Journal of Electrochemical Science*, 9: 5467-5478.
- García-Mancha N, Monsalvo V, Puyol D, Rodriguez J, Mohedano A, 2017. Enhanced anaerobic degradability of highly polluted pesticides-bearing wastewater under thermophilic conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 339: 320-329.
- Gavrilescu M, 2008. Biomass power for energy and sustainable development. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 7(5): 617-640.
- Ghalwa A, Nasser M, Farhat N, 2015. Removal of abamectin pesticide by electrocoagulation process using stainless steel and iron electrodes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2 (3): 134.
- González S, Müller J, Petrovic M, Barceló D, Knepper TP, 2006. Biodegradation studies of selected priority acidic pesticides and diclofenac in different bioreactors. *Environmental Pollution*, 144(3): 926-932.
- Goodenough AE, Webb JC, Yardley J, 2019. Environmentally-realistic concentrations of anthelmintic drugs affect survival and motility in the cosmopolitan earthworm *Lumbricus terrestris* (Linnaeus, 1758). *Applied Soil Ecology*, 137: 87-95.
- Gupta P, Ahammad S, Sreekrishnan T, 2016. Improving the cyanide toxicity tolerance of anaerobic reactor: microbial interactions and toxin reduction. *Journal of Hazardous Materials*, 315: 52-60.
- Hamed N, Abdel-Razik R, 2015. Biochemical alterations induced by abamectin in albino rats, *Rattus norvegicus*. *Agricultural Research Center (ARC), Alexandria, Egypt*, 36: 267-272.
- Harmsen H, Kengen H, Akkermans A, Stams A, De Vos W, 1996. Detection and localization of syntrophic propionate-oxidizing bacteria in granular sludge by in situ hybridization using 16S rRNA-based oligonucleotide probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5): 1656-1663.

- Hernando MD, Mezcuca M, Fernández-Alba AR, Barceló D, 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69(2): 334-342.
- Huang Y, Hong Y, Huang Z, He H, 2020. Cytotoxicity induced by abamectin exposure in haemocytes of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 77: 103384.
- Jodeh S, Khalaf O, Obaid AA, Hammouti B, Hadda TB, Jodeh W, Haddad M, Warad I, 2014. Adsorption and kinetics study of abamectin and imidacloprid in greenhouse soil in Palestine. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(2): 571-80.
- Karunatilake H, Amarasinghe S, Dassanayake S, Saparamadu T, Weerasinghe S, 2012. Partial ptosis, dilated pupils and ataxia following abamectin poisoning. *Ceylon Medical Journal*, 57(3): 125-126.
- Kolukirik M, Ince O, Cetecioglu Z, Celikkol S, Ince B, 2011. Spatial and temporal changes in microbial diversity of the Marmara Sea Sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 62(11): 2384-2394.
- Kushwaha S, Anerao I, Rajput S, Bhagriya P, Roy H, 2020. Evaluation of abamectin induced hepatotoxicity in *Oreochromis mossambicus*. *Cogent Biology*, 6(1): 1761277.
- Lankas G, Gordon L, 1989. Toxicology. Ivermectin and Abamectin. WC Campbell. Springer-Verlag Inc., New York 1989; 89–112.
- Lema J, Omil F, 2001. Anaerobic treatment: a key technology for a sustainable management of wastes in Europe. *Water Science and Technology*, 44(8): 133-140.
- Lopez J, Monsalvo V, Puyol D, Mohedano A, Rodriguez J, 2013. Low-temperature anaerobic treatment of low-strength pentachlorophenol-bearing wastewater. *Bioresource Technology*, 140: 349-356.
- Lotfalipour MR, Falahi MA, Ashena M, 2010. Economic growth, CO2 emissions, and fossil fuels consumption in Iran. *Energy*, 35(12): 5115-5120.
- Matos TAdF, Dias ALN, Reis ADP, Silva MRAd, Kondo MM, 2012. Degradation of abamectin using the photo-fenton process. *International Journal of Chemical Engineering*, 2012.
- Novelli A, Vieira BH, Braun AS, Mendes LB, Daam MA, Espíndola ELG, 2016. Impact of runoff water from an experimental agricultural field applied with Vertimec® 18EC (abamectin) on the survival, growth and gill morphology of zebrafish juveniles. *Chemosphere*, 144: 1408-1414.
- Omura S, 2008. Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31(2): 91-98.
- Pace NR, Stahl DA, Lane DJ, Olsen GJ, 1986. The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. in: *Advances in Microbial Ecology*, Springer, pp. 1-55.
- Pan ZZ, Xu L, Zheng YS, Niu LY, Liu B, Fu NY, Shi Y, Chen QX, Zhu YJ, Guan X, 2019. Synthesis and Characterization of Cry2Ab–AVM Bioconjugate: Enhanced Affinity to Binding Proteins and Insecticidal Activity. *Toxins*, 11(9): 497.
- Sanchis S, Polo AM, Tobajas M, Rodriguez JJ, Mohedano AF, 2013. Degradation of chlorophenoxy herbicides by coupled Fenton and biological oxidation. *Chemosphere*, 93(1): 115-122.
- Sarraute S, Husson P, Gomes M, 2019. Effect of the diffusivity on the transport and fate of pesticides in water. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(4): 1857-1872.
- Sharma NK, Philip L, 2014. Effect of cyanide on phenolics and aromatic hydrocarbons biodegradation under anaerobic and anoxic conditions. *Chemical Engineering Journal*, 256: 255-267.
- Siampiringue M, Wong Wah Chung P, Koriko M, Tchangbedji G, Sarakha M, 2014. Clay and soil photolysis of the pesticides mesotrione and metsulfuron methyl. *Applied and Environmental Soil Science*, 2014.
- Stuckey DC, Oh S, 2018. Effect of ciprofloxacin on methane production and anaerobic microbial community. *Bioresource Technology*, 261: 240-248.
- Taşkan B, 2020. Increased power generation from a new sandwich-type microbial fuel cell (ST-MFC) with a membrane-aerated cathode. *Biomass and Bioenergy*, 142: 105781.
- Taşkan B, Taşkan E, Hasar H, 2020. Electricity generation potential of sewage sludge in sediment microbial fuel cell using Ti–TiO2 electrode. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, e13407.
- Tişler T, Eržen, NK, 2006. Abamectin in the aquatic environment. *Ecotoxicology*, 15(6): 495-502.

- Turner J, Schaeffer M, 1989. Mode of action of ivermectin. In: Campbell WC, editor. Ivermectin and Abamectin, New York: Springer Verlag.
- Uçar D, 2018. Biyokütleden Elde Edilebilen Biyoenerji Türleri: Biyogaz, Biyodizel, Biyoetanol Ve Biyohidrojen. in: Şımak Enerji ve Maden Potansiyeli, pp. 143.
- Völker J, Vogt T, Castronovo S, Wick A, Ternes TA, Joss A, Oehlmann J, Wagner M, 2017. Extended anaerobic conditions in the biological wastewater treatment: Higher reduction of toxicity compared to target organic micropollutants. *Water Research*, 116: 220-230.
- Wang X, Xing H, Li X, Xu S, Wang X, 2011. Effects of atrazine and chlorpyrifos on the mRNA levels of IL-1 and IFN- γ 2b in immune organs of common carp. *Fish & Shellfish Immunology*, 31(1): 126-133.
- Wei G, Sun CJ, Qi L, Cui HX, 2009. Adsorption of avermectins on activated carbon: Equilibrium, kinetics, and UV-shielding. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 19: 845-850.
- Zhang Y, Wu J, Xu W, Gao J, Cao H, Yang M, Wang B, Hao Y, Tao L, 2017. Cytotoxic effects of Avermectin on human HepG2 cells in vitro bioassays. *Environmental Pollution*, 220: 1127-1137.