

Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Biyolojik Olarak Parçalanması

İsmail DEMİR, Zihni DEMİRBAĞ

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 07.05.1998

Özet: Petrol ve petrol türevleri olan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)'lar, petrol dökülmesi ve fosil yakıtlarının tamamen yanmaması sonucu çevreye atılan, yaygın organik kirleticilerdir. PAH'ların çoğu çevrede uzun süre kalmaları ve birikimleri sonucu, çevre kirlenmesine sebep olurlar ve biyolojik dengeyi önemli ölçüde etkilerler. PAH'ların mikroorganizmalar tarafından yıkılımları, biyokimyasal ve genetik açılardan incelenmiştir. Bu kimyasal yolların bazılarının genleri, çoğunlukla kromozom dışı elementlerde bulunmaktadır. PAH'ları parçalayan mikroorganizmaların belirlenmesi, izolasyonu ve karakterizasyonu, çevrenin daha kısa bir sürede temizlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Kirletici özelliklerinden dolayı biyolojik dengeyi önemli ölçüde etkileyen, polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)'lardan çevrenin temizlenmesi, çevre ve uygulamalı mikrobiyoloji açısından oldukça önemlidir. Bu derleme makalede, çevreye bulaşan hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanmaları üzerinde durulacaktır.

Anahtar Sözcükler: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon, Çevre Mikrobiyolojisi, Biyolojik Parçalanma.

Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), such as petroleum and petroleum derivatives, are widespread organic pollutants entering the environment, chiefly, through oil spills and incomplete combustion of fossil fuels. Since most PAHs are persist in the environment for a long period of time and bioaccumulate, they cause environmental pollution and effect biological equilibrium dramatically. Biodegradation of some PAHs by microorganisms has been biochemically and genetically investigated. Gene locations for some of these pathways are frequently found in extrachromosomal elements. Determination, isolation and characterization of microorganisms which participate in the biodegradation of PAHs have great significance in the decontamination of the environment in shorter periods. Decontamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which cause environmental pollution and effect biological equilibrium dramatically, has also great significance for environmental and applied microbiology. In this review article, we focussed on the biodegradation of hydrocarbons which contaminates the environment.

Key Words: Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, Environmental Microbiology, Biodegradation

Giriş

Çevre sorunu dünyanın pek çok yerinde özellikle son 20 yılda güncel hayata girmiş, acilen çözüm bekleyen bir problemdir. Ormanların tahribi ve erozyon, düzensiz şehirleşme ve yeşil alan azalması, kıyıların bozulması, sanayide kullanılan kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki olumsuz etkileri, nükleer enerjili termik santraller ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)'ların ekolojik dengede yapmış oldukları tahribat sadece Türkiye'de değil, dünyada da çözümleri aranan sorunlar haline gelmiştir.

Petrol ve petrol türevi olan PAH'lar, kullanım esnasındaki hatalar ve ihmaller sonucunda, petrol dökülmesi ve fosil yakıtların tamamen yanmadan atılmalarıyla çevreye bulaşan ve sucul ve karasal ekosistemlerde uzun süre kalabilen çevresel bileşikler sınıfındadırlar. Dünyada, çoğu antropojenik kaynaklardan olmak üzere yılda, 1.7- 8.8 milyon metre ton petrol üretildiği ve bunun önemli bir miktarın da zararlı olarak ya kullanım sonucu ya da kullanılmadan çevreye döndüğü bilinmektedir (1).

Çevreye dökülen PAH kirliliğinin etkisi uzun ve kısa süreli olabilir. Uzun süreli etki henüz iyi bilinmezken, kısa süreli etki oldukça iyi aydınlatılmıştır ve bu etki de kaplama veya havasız bırakma ve zehirlenme şeklindedir. Bunlardan kaplama veya havasız bırakma ışığın geçişini azaltma, çözünmüş oksijeni azaltma, deniz kuşlarına zarar verme ve havasız bırakma şeklinde zararlı olur. Ayrıca, PAH'ların toksik, mutajen ve kanserojen özelliklerinin de olduğu bilinmektedir (2, 3).

Çeşitli kaynaklardan doğaya verilen ve sonunda okyanus ve denizlere ulaşan PAH'ların bir kısmı, çeşitli olaylar sonucu zamanla gözden kaybolur. Bu, kirlenmenin sona erdiğini göstermez. Hidrofobik özelliklere sahip olan PAH'lar suda çözünmeyip sadece dağılır ve süspanse olmuş partikülleriyle suyu sararlar (4). Su ortamlarında çökmelerinin bir sonucu olarak göl, nehir, nehir ağız ve okyanuslarda büyük PAH sedimentlerini oluştururlar. Deniz sedimentlerindeki PAH konsantrasyonları 100 ng/g'dan 100.000 ng/g sediment'e kadar değişebilir (5). Sahil ekosistemlerinde yağların varlığının anlaşılması oldukça önemlidir. Bu ekosistemlerdeki yüksek PAH seviyeleri insan sağlığını bozar ve deniz ortamındaki kurulu dengeyi de thrip eder.

Deniz yüzeyine düşen PAH'ların yaklaşık %25'i bir gün içinde buharlaşır. Kalanın büyük bir kısmı emülsiyon haline dönüşür ve küçük tanecikler halinde suya karışır. Taneciklerin ağır metal ihtiva edenleri de dibe çökerek sedimentleri oluştururlar ve böylece, yeni bir problemin doğmasına sebep olurlar. Petrolün bir kısmı emülsiyon haline gelmeden fotolitik olarak, bir kısmı da mikroorganizmalar tarafından parçalanır. Denizlerdeki mikroorganizmalar kuvvetli PAH parçalayıcılardır.

PAH'lar fotooksidasyon ve kimyasal oksidasyon yollarıyla parçalanırlar. Ancak, biyolojik transformasyon PAH'ların doğadan temizlenmesinde hakim duruma gelmiştir. PAH'ların doğal mikroorganizma popülasyonları tarafından biyolojik olarak parçalanmaları, çevrenin petrol ve diğer hidrokarbon kirliliklerinden eliminasyonunda primer mekanizmadır (1). Hem prokaryotik hem de ökaryotik biyolojik parçalama mekanizmaları, PAH halkalarına enzimatik tutunmanın başlaması için bimoleküler oksijenin varlığına ihtiyaç duyar (6). Bununla beraber, birçok bakteri, düşük moleküler ağırlığa sahip PAH'ları karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilirler (7, 8).

PAH'ların bakteriyal parçalanmaları biyokimyasal ve genetik olarak gerçekleşmektedir (9, 10, 11). Bu yollar için ekstrakromozomal gen lokasyonları mevcuttur. Deniz, tatlısu ve toprak ekosistemlerindeki petrol ve hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanma yollarını aydınlatmaya yönelik çeşitli çalışmalar vardır. Şu ana kadar naftalen (12), fenantren (13, 14,) ve antrasen (8) gibi çeşitli PAH'ların bakteriler tarafından parçalanmaları çalışılmıştır. Naftalenin bir plazmidde mevcut olan genlerin kodladığı enzimler tarafından parçalandığı bulunmuştur (12). Çalışmaların çoğu zaman, denizlerdeki yağların degradasyonu üzerine yoğunlaştığı dikkat çekmektedir (15, 16). Çevredeki hidrokarbon kirliliklerinin biyolojik olarak parçalanma oranlarının artırılması için son zamanlarda doğal ve biyolojik esaslı temeller kullanılarak oluşturulmuş mikroorganizmaların kullanılmaları düşünülmektedir.

Hidrokarbonların Mikrobiyal Parçalanmaları

Çevreye bulaşan hidrokarbonların doğal mikroorganizma popülasyonları tarafından biyolojik olarak parçalanmaları, PAH kirliliklerinin yok edilmesinde primer mekanizmadır (1). Biyolojik olarak parçalanma, PAH bulaşmış ortamlara doğal mikroorganizmalar ekilerek hızlandırılır. Ancak, bu işi farklı mikroorganizmalar yaptığından, ekilecek mikroorganizmalar çeşitli olmalıdır. Ayrıca, dökülen PAH'ların ekilen mikroorganizmalarla birkaç gün temasta kalmaları sağanmalıdır.

PAH'ların parçalanması gibi bazı metabolik fonksiyonlar plazmidlerde kodlanan genler tarafından gerçekleştirilir (11, 17). Katabolik plazmidler, bir organizmanın büyümesi ve hayatını devam ettirmesi gibi görevler üstlenen zorunlu genetik elementler olmamasına rağmen, hücrelere, kendilerinde mevcut olmayan metabolik çok yönlülük katarlar.

PAH'ların mikrobiyal parçalanmaları değişik biyolojik faktörlerin yanı sıra, çeşitli çevresel parametrelerden de etkilenir (16).

Hidrokarbonların Yıkılımlarını Etkileyen Biyotik Faktörler

Çevreye bulaşmış PAH'lar primer olarak bakteri ve funguslar tarafından parçalanırlar (7,8). Mikroorganizmalar, hidrokarbonları yalnız başlarına, sadece sınırlı oranlarda metabolize ederler. Bu nedenle toprak, su ve deniz ortamlarında kompleks hidrokarbonları parçalayabilmek için geniş enzimatik kapasitelerinden dolayı karışık kültürler ihtiyacı duyulur.

Şu ana kadar yapılan çalışmalarda, Floodgate (18), denizde 25 hidrokarbon-parçalayan bakteri ve 27 fungus cinsini listelemiştir. Yapılan benzer bir derlemede de toprak izolatlarının 22'sinin bakteriyal, 31'inin fungal cinslere dahi olduğu belirlenmiştir (19).

Yayınlanmış çalışmalardan hareketle, hem toprak hem de deniz ortamlarında en önemli hidrokarbon-parçalayan bakterilerin *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas* ve korineformlar oldukları tespit edilmiştir (16). Chesapeake Körfezi suyu ve sedimentinden alınan örneklerdeki petrol parçalayan bakterilerin nümerik sınıflandırılmasında *Pseudomona*, *Micrococcus* ve *Nocardia* *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri, aktinomisetler ve korineformların fazla miktarda oldukları bulunmuştur (20). Funguslar arasında *Aureobasidium*, *Candida*, *Rhodotorula* ve *Sporobolomyces* spp. genel deniz izolatları ve *Trichoderma* ve *Mortierella* spp. de genel toprak izolatlarıdır. Hidrokarbon-parçalayan *Aspergillus* ve *Penicillium* spp. her iki ortamdan da sıkça izole

edilmiştir. Kirk ve Gordon (21)'un çalışmalarına dayanarak, kumsal-adapta cinsler olarak *Corollospora*, *Dentryphiella*, *Lulworthia* ve *Varicosporina* da listeye ilave edilmiştir.

Bakterilerin, deniz ortamında mikrobiyal komünitenin predominant hidrokarbon-parçalama özelliği gösteren elementleri oldukları düşünülmektedir. Diğer yandan, sahile yakın bölgelerde (22), gel-git olayı sahalarında (20, 23), tuz bataklıkları ve tropik kıyılarda fungusların da sayılarında artış olduğu belirlenmiş ve bu fungusların da mikrofloranın bir bileşeni oldukları gösterilmiştir (18).

Bazı çalışmalarda, deniz ortamındaki hidrokarbonların bakteri ve funguslar tarafından parçalanma dereceleri karşılaştırılmıştır. Valke ve Colwell (24), Chesapeake Körfezi'nde 0 ve 5°C'de model bir petrolü parçalayan bakterileri belirlediklerini, 10°C'de ise flamentsiz fungusların petrol parçalanmasına yardım ettiklerini bildirmişlerdir. Hidrokarbon-parçalayan bir fungus olan *Cladosporium resinae* inokülüne ilave edildiği zaman, petrol parçalanmasının %20-40'ını meydana getirdiği gözlenmiştir. Dört ay boyunca petrol-bulaşmış sedimentlerdeki maya popülasyonunun arttığı fakat, petrol olmasına rağmen, açık-okyanus sularında azaldığı da belirlenmiştir (22). Ayrıca, Amoco Cadiz Kuzey Denizi'ne dökülen ham petrol ile birlikte yaşamaya alışmış az sayıda maya da tespit edilmiştir (25).

Su ekosistemlerindeki PAH'ların parçalanmasında fungus ve bakterilerin etkinliklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların az olduğu bilinmektedir. Mayalar, göl ve nehirlerde açık okyanuslardan daha fazla bulunur. Küflerin sayısı ise genelde tatlı su sedimentlerindeki hidrokarbon-kullanan bakterilerin, maya ve flamentli fungusların 100-katı fazla sayıda olmalarına rağmen, iki grubun biyomasları arasındaki ilişkilerin hemen hemen eşit olduğu rapor edilmiştir (26).

Bakteri ve funguslar, toprakta da fazla miktarda bulunurlar ve her iki grubun yoğunlukları PAH'la biyolojik olarak parçalanmalarını ayarlar. Hidrokarbon-kullanan bakteri ve funguslar PAH bulaşmış topraklardan kolayca izole edilebilirler. Petrol ve petrollü maddelerin toprağa inokülasyonları, ortamdaki bakteri ve fungusların sayılarının artmasına sebep olur. Topraktaki hidrokarbonların bakteri ve funguslar tarafından parçalanma oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, kum dolu bir yerde n-heksadekanın kullanımının %82'sinin bakteriler ve sadece %13'ünün funguslar tarafından yapıldığı gözlenmiştir (27).

Alg ve protozoalar da sucul ve karasal ekosistemlerin her ikisinde de bulunabilen mikrobiyal komünitenin önemli üyelerindendirler. Ancak, hidrokarbon parçalamadaki gereklilikleri kesin olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, ham petrol karışmış bir hidrokarbon substratını kullanabilen bir alg olan *Prototheca zopfii* izole edilmiştir (28). Yine benzer bir çalışmada, naftaleni okside eden 9 siyanobakter, 5 yeşil alg 1 kırmızı alg, 1 kahverengi alg ve 22 diatome tespit edilmiştir (29). Protozoaların hidrokarbon kullanmadığı bilinmektedir. Hidrokarbon-kullanan maya ve bakterilerin bulunduğu bir ortama protozoa kültürü ekildiğinde, bunun ham petrolü direkt olarak kullanmadığı belirlenmiştir (30).

Hidrokarbonların Yıkımlarını Etkileyen Abiyotik Faktörler

Yağ ve hidrokarbonların kimyasal kompozisyonları: Petrol hidrokarbonları çözünürler, aromatikler, asfaltlar (fenol, yağ asitleri, keton ve porfirin) ve rezinler (piridinler, quinolinler,

karbazoler, sülfokridler ve amidler) olmak üzere dört sınıfa ayrılırlar. Yapılarındaki bu farklılığa bağlı olarak mikrobiyal tutunma yönünden de hidrokarbonlar farklı hassasiyetlere sahiptirler. Bu hassasiyetleri n-alkanlar > dallı alkanlar > küçük moleküler ağırlıklı aromatikler > sikloalkanlar şeklinde sıralanabilir (31). Parçalanma oranlarının en yüksek çözünürlerde olduğu, bunun hafif aromatikler ve yüksek moleküler ağırlıklı aromatikler tarafından takip edildiği belirlenmiştir (32).

Yağ ve hidrokarbonların fiziki durumu: Suya dökülen yağ dağınık ve yüzeyde bir tabaka oluşturur. Rüzgar ve dalga hareketleri sonucu su-yağ karışımı meydana gelir. Bu emülsiyonun oluşumu, yağ yüzeyinde artış meydana getirir. Böylece, mikrobiyal saldırı için geniş bir yüzey oluşmuş olur (33).

Yağ ve hidrokarbonların konsantrasyonları: Sıvı ekosistemlerde birçok organik bileşiğin kullanıma ve yıkım oranları, Michaelis-Menten kinetiklerine uygun olarak bileşiklerin konsantrasyonlarıyla orantılıdır (34). Naftalen ve fenantren gibi yüksek moleküler ağırlıklı polisiklik aromatik hidrokarbonların kullanıma oranları toplam madde konsantrasyonundan ziyade suda çözölmeleriyle ilişkili oldukları belirlenmiştir (35).

Sıcaklık: Sıcaklık, petrolün kimyasal kompozisyonu ve fiziksel yapısını, mikroorganizmalar tarafından metabolize olma oranını ve mikrobiyal komünitelerin yapısını etkilemesi yönleriyle hidrokarbonların biyolojik parçalanmalarını etkiler. Düşük sıcaklıklarda, yağın viskozitesi artar. Kısa zincirli alkanların buharlaşma oranları azalır. Bunlara bağlı olarak hidrokarbonların suda çözünürlüğü de artar. Biyolojik parçalanma oranları genellikle sıcaklığın azalmasıyla azalır. Bunun, primer olarak enzimatik aktivitenin veya "Q10" etkisinin azalmasıyla azalır. Bununla beraber, termofilik hidrokarbon kullanan bakterilerin de mevcut olduğu bilinmektedir (38).

Oksijen: Alifatik (39), siklik (31) ve aromatik (8) hidrokarbonların bakteri ve funguslar tarafından katabolizmalarının ilk adımı, substratın oksijenazlar aracılığıyla oksidasyonudur. Oksijenazlar substrata tutunmak için moleküler oksijene ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle çevredeki hidrokarbonların mikrobiyal oksidasyonu için aerobik şartlar gereklidir. Deniz ve tatlısu ortamlarında suyun üst yüzeylerinde normal olarak oksijen sınırlayıcı şartlar oluşmaz. Ancak, sucul ortamlarda sedimentler yüzeyindeki ince bir tabaka hariç genellikle anaerobiktir (40). Oksijenin topraktaki varlığı ise oksijenin mikrobiyal kullanıma oranına, toprak derinliğine, toprağın suya doyup doymamasına ve oksijen tüketimine yol açabilen madde parçalanmalarına bağlıdır (19).

Besinler: Hidrokarbonların düşük konsantrasyonlarda inorganik besin ihtiva eden sucul ortamlara salınımları, mikrobiyal büyüme için zararlı olan karbon/azot veya karbon/fosfor bileşiklerinin meydana gelmesine sebep olur (41). Nehir, deniz ve göl ve bunların sedimentleriyle birlikte yeraltı sularında azot ve fosforun bulunması hidrokarbonların mikrobiyolojik parçalanmalarını sınırlar (42, 43).

Tuzluluk : Hidrokarbonların mikrobiyal parçalanmaları üzerine tuzluluğun etkisinden bahseden birkaç çalışma vardır. Bunların birinde, Shiaris (15) nehir ağızı sedimentinde naftalen ve fenantren kullanma oranları ve tuzluluk arasında genellikle pozitif bir korelasyon olduğunu rapor etmiştir.

Basınç : Hidrokarbonların biyolojik parçalanmasında bir değişken olarak basıncın önemi daha çok derin-deniz ortamlarında ortaya çıkmaktadır. Basıncın etkisi Schwarz ve arkadaşları (44) tarafından, derin-deniz bakterilerini kullanarak tetradekan, heksadekan ve karışık hidrokarbonların parçalandığı çalışmalarla belirlenmiştir.

Su aktivitesi : Toprağın su potansiyeli veya su aktivitesi 0.0'dan 0.99'a kadar değişebilir. Karasal ekosistemlerdeki hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanmaları, mikrobiyal büyüme ve metabolizma için topraktaki su tarafından sınırlanabilir. Dibble ve Bartha (45), yağ çamurunda yaptıkları bir çalışmada %90 su doymuşluğunda parçalanmanın optimal olduğunu bulmuşlar.

pH : Toprak pH'ı toprağın ihtiva ettiği maddelere bağlı olarak 2.5'ten 11.0'a kadar değişebilir (19). Çoğu heterotrofik bakteri ve funguslar nötraliteye yakın bir pH'ı tercih ederler (46). Bazı topraklarda olduğu gibi ekstrem şartların, mikrobiyal popülasyonların hidrokarbon parçalama özellikleri üzerinde negatif bir uyarım meydana getirmesi beklenmektedir. Verstraete ve arkadaşları (47), pH'ı 7.4'e ayarlayarak bir asidik (pH4.5) topraktaki gaz yağının parçalanma oranının iki katına çıktığını buna ilave olarak, pH'ın 8.5'e yükseltilmesi durumunda oranın önemli ölçüde azaldığını tespit edilmiştir.

Mikroorganizmaların Hidrokarbonlara Adaptasyonu

Mikroorganizmaların Önceden Hidrokarbonlara Maruz Kalmalarının Adaptasyondaki Rolü

Bir mikrobiyal komünitenin, hidrokarbonlara önceden maruz kalması, hidrokarbonların hızlı bir şekilde nasıl parçalanabildiğinin aydınlatılmasında önemlidir. Komünitenin, hidrokarbon-okside etme potansiyelinde artış meydana getiren bu hadise adaptasyon olarak bilinir. Adaptasyon ile ilgili üç mekanizma bilinmektedir. Bunlar; (i) spesifik enzimlerin uyarılmaları ve/veya baskılanmaları, (ii) yeni metabolik özellikler ile sonuçlanan genetik değişiklikler ve (iii) ilgili bileşiklerin transform olabildiği organizmaların seçici olarak zenginleştirilmesidir. Seçici zenginleştirme, çevrede hidrokarbon ve petrol parçalanması çalışmalarında geniş bir şekilde ele alınmıştır. Floodgate (18), Bossert ve Bartha (19), Walker ve Colwell (24), Atlas (49) ve Cooney (33) tarafından derlenen çalışmalar, genel olarak ekosistemin kontaminasyon derecesini yansıtan hidrokarbon-kullanan mikroorganizmaların seviyelerini göstermiştir. Bazı çalışmalar, çeşitli heterotrofik popülasyonların değişmediğini ancak, bazı durumlarda ortamlarda hidrokarbon-parçalayan yeni birkaç cinsin varlığını göstermiştir. Hidrokarbon bulaşmasının mikrobiyal komünitenin genetik kompozisyonu üzerine olan etkisinin çevresel veya lokal şartlara bağımlılık gösterdiği sanılmaktadır.

Mikrobiyal Komünitenin Genetik Kompozisyonunun Değişmesiyle Adaptasyon

Mikrobiyal komünitelerin kimyasal kontaminantlara adaptasyonu enzim baskılanması veya uyarılması, genetik değişiklik ve seçici zenginleştirme şeklinde olmaktadır. Bu mekanizmalarından sadece üçüncüsü ayrıntılı şekilde incelenmiştir.

Mikrobiyal komünitenin adaptasyonu için asıl genetik mekanizma, seçici zenginleştirme ve gen transferi ve mutasyon yöntemleriyle kimyasal kontaminantların metabolizmasını kodlayan genlerin çoğaltılmasıdır. Son yıllarda, bu işlemin direkt takip edilmesinde hidrokarbon-katalitik yolları kodlayan genler için özel DNA problemleri geliştirilmiştir. Sayler ve arkadaşları (48), koloni

hibridizasyon tekniğini kullanarak, petrol-bulaşmış sedimetlerdeki PAH mineralizasyon oranlarının arttırılmasına yönelik çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Çevresel örneklerden izole edilen ve sonra prob haline getirilen DNA örneklerinde dot blot hibridizasyonu yöntemi, organizmanın kültürü ve izolasyonuna ihtiyaç duymaksızın özel DNA sıralarının tanınmasında kullanılmıştır (49, 50). Yeni tanımlanmakta olan polimeraz zincir reaksiyon (PCR) tekniği dot blot hibridizasyon metodunun hassasiyetini arttırmayı başarmıştır (51).

Plazmidlerin Adaptasyondaki Rolü

Transformasyon veya kojugasyon yoluyla transfer edilebilen ve alıcı organizmaya, hidrokarbon-okside etme özelliği (yeni bir fenotip) kazandırabilen yüksek düzeyde hareketli bir DNA formu olan plazmid DNA'sı genetik adaptasyonda özel bir öneme sahiptir. *Pseudomonas* spp'de naftalen, salisilat, kamfor, oktan, ksilen ve toluen'i parçalama özelliklerinin plazmidler üzerinde kodlandığı gösterilmiştir (17, 29). Petrol ve diğer hidrokarbonlar için doğal mikrobiyal popülasyonların ortaya çıkması, hidrokarbon metabolizması için gerekli enzimleri kodlamakta olan plazmidlere sahip suşlara ihtiyaç duyar.

Hidrokarbonlara adaptasyonda plazmidlerin rolleri için dolaylı delil, hidrokarbon ile bulaşmış ortamdan izole edilen bakteriler arasında plazmid ihtiva etme sıklığının belirlendiği bazı çalışmalar sayesinde ortaya çıkarılmıştır. Hada ve Sizemore (52), aktif petrol bölgeleri (Meksika Körfezi)'nden alınan örneklerde 440 *Vibrio* izolatını taradı ve bunların yüksek oranda plazmid taşıdıklarını buldular. Aynı körfezin Campeche Bank bölgesindeki sedimentlerden izole edilen bakteriler üzerinde yapılan bir çalışmada ise plazmid sıklığı ve petrol alanına yakınlık arasında açık bir ilişkinin olmadığı fakat, sediment örneklerinin alındığı derinlik ile pozitif bir korelasyon olduğu sonucuna varılmıştır (53). Petrol alanında plazmid-taşıyan bakterilere yüksek derecede rastlamama, çalışma zamanında bölgedeki petrol bulaşmasının düşük seviyede olmasına bağlanmıştır. Evsel ve endüstriyel atıkların bırakıldığı bir nehir sedimentinden izole edilen bakterilerin %15'inin, kirlenmemiş bir bölgeden alınan bakterilerin de %10'unun plazmid taşıdıkları rapor edilmiştir (54). Diğer bir çalışmada ise uzun zaman önce hidrokarbon ile kontamine olmuş bir yerde, bozulmamış bir yere göre daha yüksek bir sıklıkla plazmid ihtiva eden bakterilerin izole edildiği gözlenmiştir (55). Fredrickson ve arkadaşları (56), karasal sedimentlerin derin tabakalarından (29-260 m) elde edilen bakteriyal izolatlarda, yüzey veya sığ yerlerdekilere göre daha yüksek sıklıkla plazmidde rastlandığını belirtmişlerdir. Bu bilim adamları, plazmidlerin bazılarının aromatik bileşikler katabolize eden genleri taşıdığını ve bunların TOL plazmid probuna hibritleşebildiği hipotezini ileri sürmüşlerdir. Schutt (57), yüksek konsantrasyonda humuslu bileşikler içeren bir distrofik gölden alınan bakteriyal izolatlar arasından plazmid taşıyanların benzer özellikler gösterdiklerini tespit etmiştir. Adaptasyon esnasında mikrobiyal komünitenin genetik değişikliğine plazmid DNA'sının iştirakini ispatlamak için, hidrokarbon ihtiva eden çevrelerdeki doğal bakterilerin ihtiva ettiği plazmidlerin fonksiyonlarının tanımlanmalarıyla ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç

Uğruna yıllarca savaşların yapıldığı "kara inci" (petrol) ve türevlerinin çevreye dökülmeleri, çevre kirliliği oluşturmaları yönünden de bunları dünya gündeminde birinci sıraya yükseltmiştir.

Endüstriyel gelişme ve düzensiz ve kontrolsüz kullanım sonucu doğaya bulaşan polisiklik aromatik hidrokarbonlar çok büyük tehlikeler ve olumsuzluklar meydana getirirler.

Polisiklik aromatik hidrokarbon ile kirlenmiş ortamlardan izole edilecek PAH parçalayan bakterilerin, hidrokarbon bulaşmış ortamlara ekilmeleri, ekosistem dengelerinin yeniden kurulmasına büyük katkılar sağlayacaktır. Ayrıca, polisiklik aromatik hidrokarbon parçalayan plazmid veya gen fragmentlerinin, PAH parçalama özelliği olmayan bakterilere transferi, çevrenin daha kısa sürede temizlenmesi için, çevreci fenotipik karakterlere sahip yeni suşların ortaya çıkmasına katkıda bulunacaktır.

Rekombinant DNA teknolojisinin büyük nimetleri olarak “petrol yiyen bakteri”lerin geliştirilmeleri, uygulamalı çevre bilimleri ve çevrenin hidrokarbonlardan temizlenmesi yönünden de oldukça önemlidir.

Kaynaklar

1. Oil in the Sea-inputs, Fates, and Effects. National Academy of Sciences, National Academy Press, Washington, D.C., 1985.
2. Baker, J.M. (ed.): Marine Ecology and Oil Pollution. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1976.
3. Wolfe, D.E. (ed.): Fates and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Organism and Ecosystems. Pergamon Press, Inc., Elmsford, New York, 1977.
4. Means, J.C., Hasett, J.J., Wood, S.G. ve Banwart, W.L., Sorption properties of polynuclear aromatic hydrocarbons by sediments and soils. Environ. sci. Technol., 14: 1524-1528, 1980.
5. Shiaris, M.P. ve Jambard-Sweet, D., Polycyclic aromatic hydrocarbons in surficial sediments of Boston Harbour. Massachusetts, U.S.A. Mar. Pollut. Bull., 17: 469-472, 1986.
6. Gibson, D.T., Microbial degradation of aromatic compounds. Science, 161: 1093-1097, 1968.
7. Cerniglia, C.E.: Aromatic hydrocarbons: Metabolism by bacteria, fungi, and algae. In: Hodgson, E., Bend, J.R. and Philpot, R.M. (ed.), Reviews in Biochemical Toxicology, Elsevier/North Holland Publishing Co., New York, 1981.
8. Cerniglia, C.E.: Microbial transformation of aromatic hydrocarbons. In: Atlas, R. M. (ed.), Petroleum Microbiology. Macmillan Publishing Co., New York, 1984, pp: 99-128.
9. Feriello, D.A., Mylroie, J.R., Gibson, D.T., Rogers, J.E. ve Chakrabarty, A.M., XYL a nonconjugative xylene-degradative plasmid in *Pseudomonas* Pxy. J. Bacteriol., 127: 1217-1224, 1976.
10. Kanemitsu, H., Fukuda, M. ve Yano, K., Plasmid-borne biodegradation of toluene and ethylbenzene in a pseudomonad. J. Ferment. Technol., 58: 175-181, 1980.
11. Yano, K. ve Nishi, T., pKJ1 a naturally occurring conjugative plasmid coding for toluene degradation and resistance to streptomycin and sulfonate. J. Bacteriol., 145: 552-560, 1980.
12. Davies, J.I. ve Evans, W.C., Oxidation metabolism of naphthalene by soil pseudomonad: The ring-fission mechanism. J. Biochem., 91: 251-261, 1964.
13. Jerina, D.M., Selander, H., Yagi, H., Wells, M.C., Davey, J.F., Mahadevan, V. ve Gibson, D.T., Dihydrodiols from anthracene and phenanthrene. J. Am. Chem. Soc., 98: 5988-5996, 1976.
14. Kiyohara, H., Nagao, K. ve Nomi, R., Degradation of phenanthrene through o-phthalate by an *Aeromonas* sp. Agric. Biol. Chem., 40: 1075-1081, 1976.
15. Shiaris, M.P., Seasonal biotransformation of naphthalene, phenanthrene, and benzo[a]pyrene in surficial estuarine sediments. Appl. and Environ., 55: 1391-1899, 1989.

16. Leahy, J.G. ve Covell, R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.*, 54: 305-315, 1990.
17. Williams, P.A. ve Murray, K., Metabolism of benzoate and the methylbenzoate by *Pseudomonas putida* (arvilla) mt-2: evidence for the existence of a TOL plasmid. *J. Bacteriol.*, 127: 1217-1224, 1974.
18. Floodgate, G.: The fate of petroleum in marine ecosystems. In: Atlas, R. M. (ed.), *Petroleum Microbiology*, Macmillan Publishing Co., New York, 1984.
19. Bossert, I. ve Bartha, R.: The fate of petroleum in soil ecosystems. In: Atlas, R.M. (ed.), *Petroleum Microbiology*, Macmillan Publishing Co., New York, 1984.
20. Austin, B., Calomiris, J.J., Walker, J.D. ve Colwell, R.R., Numerical taxonomy and ecology of petroleum-degrading bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34: 60-68, 1977.
21. Kirk, P.W. ve Gordon, A.S., Hydrocarbon degradation by filamentous marine higher fungi. *Mycology*, 80: 776-782, 1988.
22. Ahearn, D.G. ve Meyers, S.P.: The role of fungi in the decomposition of hydrocarbons in the marine environment. In: Walters, A.H. and Hueck-van der Plas, E.H. (ed.), *Biodegradation of materials*. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1972.
23. Pugh, G.J.F., Fungi in intertidal regions. *Veroeff. Inst. Meeresforsch., Bremerhaven Suppl.*, 5: 403-418, 1974.
24. Valke, J.D. ve Colwell, R.R., Microbial degradation of model petroleum at low temperatures. *Microb. Ecol.*, 1: 63-95, 1974.
25. Ahearn, D.G. ve Crow, S.A.: Fungi and hydrocarbons in the marine environment. In: Moss, S.T. (ed.), *The biology of marine fungi*, Cambridge University Press, Cambridge, 1986.
26. Cooney, J.J. ve Summers, R.J.: Hydrocarbon-using microorganisms in three fresh-water ecosystems. In: Sharpley, J.M. and Kaplan, A.M. (ed.), *Proceeding of the 3rd International Biodegradation Symposium*, Appl. Science Publishers Ltd., London, 1976.
27. Song, H.G., Pedersen, T.A. ve Bartha, R., Hydrocarbon mineralization in soil: relative bacterial and fungal contribution. *Soil. Biol. Biochem.*, 18: 109-111, 1986.
28. Valke, J.D., Colwell, R.R., Vaituzis, Z. ve Meyers, S.A., Petroleum-degrading achlorophyllous algae *Prototheca zopfii*. *Nature (London)*, 254: 423-424, 1975.
29. Cerniglia, C.E., Gibson, D.T. ve van Baalen, C., Oxidation of naphthalene by cyanobacteria and microalgae. *J. Gen. Microbiol.*, 116: 495-500, 1980.
30. Rogerson, A. ve Berger, J., Effect of crude oil and petroleum-degrading microorganisms on the growth of fresh-water and soil protozoa. *J. Gen. Microbiol.*, 124: 53-59, 1981.
31. Perry, J.J.: Microbial metabolism of cyclic alkanes. In: Atlas, R.M. (ed.), *Petroleum microbiology*. Macmillan Publishing co., New York, 1984, pp: 61-98.
32. Jobson, A., Cook, F.D. ve Westlake, D.W.S., Microbial utilization of crude oil. *Appl. Microbiol.*, 23: 1082-1089, 1972.
33. Cooney, J.J.: The fate of petroleum pollutants in fresh-water ecosystems. In: Atlas, R.M. (ed.), *Petroleum microbiology*. Macmillan Publishing co., New York, 1984, pp: 399-434.
34. Pfaender, F.K. ve Bartholomew, G.W., Measurement of aquatic biodegradation rates by determining heterotrophic uptake of radiolabeled pollutants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44: 159-164, 1982.
35. Thomas, J.M., Yordy, J.R., Amador, J.A. ve Alexander, M., Rates of dissolution and biodegradation of water-insoluble organic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52: 290-296, 1986.
36. Atlas, R.M. ve Bartha, R., Biodegradation of petroleum in seawater at low temperature. *Can. J. Microbiol.*, 18: 1851-1855, 1972.

37. Gibbs, C.F., Pugh, K.B ve Andrews, A.R., Quantitative studies on marine biodegradation of oil. II. Effect of temperature. *Proc. R. Soc., London, Ser. B*, 188: 83-94, 1975.
38. Mateles, R.I., Baruah, J.N. ve Tannebaum, S.R., Growth of a thermophilic bacterium on hydrocarbons: a new source of single cell protein. *Science*, 157: 1322-1323, 1967.
39. Singer, M.E. ve Finnerty, W.R.: Genetics of hydrocarbon-utilizing microorganisms. In: Atas, R.M. (ed.), *Petroleum microbiology*. Macmillan Publishing Co., New York, U.S.A., 1984, pp: 299-354.
40. Hambrick, G.A., DeLaune, R.D. ve Patrick, W.H., Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40: 365-369, 1980.
41. Atlas, R.M., Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.*, 45: 180-209, 1981.
42. Atlas, R.M. ve Bartha, R., Degradation and mineralization of petroleum in seawater: limitation by nitrogen and phosphorus. *Biotechnol. Bioeng.*, 14: 309-317, 1972.
43. Cooney, J.J., Silver, S.A. ve Beck, E.A., Factors influencing hydrocarbon degradation in three freshwater lakes. *Microb. Ecol.*, 11: 127-137, 1985.
44. Schwarz, J.R., Walker, J.D. ve Colwell, R.R., Deep-sea bacteria: growth and utilization of n-hexadecane at in situ temperature and pressure. *Can. J. Microbiol.*, 21: 682-687, 1975.
45. Dibble, J.T. ve Bartha, R., Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37: 729-739, 1979.
46. Atlas, R.M.: *Microbiology-fundamentals and applications*, 2nd (ed.), Macmillan Publishing Co. New York, 1988, pp: 352-353.
47. Verstraete, W., Vanloocke, R., DeBorger, R. ve Verlinde, A.: Modelling of the breakdown and the mobilization of hydrocarbons in unsaturated soil layers. In: Sharpley, J.M. and Kaplan, A.M. (ed.), *Proceeding of the 3rd International Biodegradation Symposium*. Applied Science Publishers Ltd., London, 1976, pp: 99-112.
48. Sayler, G. S., Shieds, M. S., Tedford, E.T., Breen, A., Hooper, S.W., Sirotkin, K.M. ve Davis, J.W., Application of DNA-DNA colony hybridization to the detection of catabolic genotypes in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 1295-1303, 1985.
49. Ogram, A., Sayler, G.S. ve Barkay, T., The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *J. Microbiol. Methods*, 7: 57-66, 1987.
50. Holben, W.E., Jansson, J.K., Chelm, B.K. ve Tiedje, J.M., DNA probe method for the detection of specific microorganisms in the soil bacterial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 703-711, 1988.
51. Trevors J.T., DNA probes for the detection of specific genes in bacteria isolated from the environment. *Trends Biotechnol.*, 3: 291-293, 1985.
52. Hada, H.S. ve Sizemore, R.K., Incidence of plasmids in marine *Vibrio* spp. isolated from an oil field in the North-Western Gulf of Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41: 199-202, 1981.
53. Leahy, J.G., Somerville, C.C., Cunningham, K.A., Adamantiades, G.A., Byrd, J.J ve Colwell, R.R., Hydrocarbon mineralization in sediments and plasmid incidence in sediment bacteria from the Campeche Bank. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 1565-1570, 1990.
54. Burton, N.F., Day, M.J. ve Bull, A.T., Distribution of bacterial plasmids in clean and polluted sites in a South Wales River. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44: 1026-1029, 1982.
55. Ogunseitan, O.A., Tedford, E.T., Pacia, D., Sirotkin, K.M. ve Sayler, G.S., Distribution of plasmids in groundwater bacteria. *J. Ind. Microbiol.*, 1: 311-317, 1987.
56. Fredrickson, J.K., Hicks, R.J., Li, S.W. ve Brockman, F.J., Plasmid incidence in bacteria from deep subsurface sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 2916-2923, 1988.
57. Schutt C., Plasmids in the bacterial assemblage of a dystrophic Lake: evidence for plasmid-encoded nickel resistance. *Microb. Ecol.*, 17: 49-62, 1989.