

**TOPRAKLARIN AĞIR METAL İÇERİKLERİ ÜZERİNE
ÇEŞİTLİ BAKTERİ İZOLATLARININ ETKİLERİ**

Emrah YILDIRIM

**Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı
Bitki Besleme Bilim Dalı
Doç. Dr. Serdar BİLEN
2017
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TOPRAKLARIN AĞIR METALİÇERİKLERİ ÜZERİNE
ÇEŞİTLİ BAKTERİ İZOLATLARININ ETKİLERİ**

Emrah YILDIRIM

**TOPRAK BİLİMİ VE BİTKİ BESLEME ANABİLİM DALI
Bitki Besleme Bilim Dalı**

**ERZURUM
2017**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**TOPRAKLARIN AĞIR METALİÇERİKLERİ ÜZERİNE
ÇEŞİTLİ BAKTERİ İZOLATLARININ ETKİLERİ**

Doç. Dr. Serdar BİLEN danışmanlığında, Emrah YILDIRIM tarafından hazırlanan bu çalışma, / / 2017 tarihinde aşağıdaki juri tarafından Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı - Bitki Besleme Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (..../....)** ile kabul edilmiştir.

Başkan:

İmza :

Üye :

İmza :

Üye :

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu / / tarih ve / nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TOPRAKLARIN AĞIR METALİÇERİKLERİ ÜZERİNE ÇEŞİTLİ BAKTERİ İZOLATLARININ ETKİLERİ

Emrah YILDIRIM

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı
Bitki Besleme Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Serdar BİLEN

Topraklardaki ağır metal kirliliği çevresel problemlere sebep olduğu gibi, bunların eksikliği de toprak-bitki-hayvan sisteminde ciddi dengesizliklere sebep olabilmektedir. Ağır metal içeriği yüksek olan ve sorun teşkil eden tarım alanlarının ıslah çalışmaları son zamanlarda yaygın olarak araştırılmaktadır. Bu çalışmada da toprakların ağır metal içerikleri üzerine çeşitli bakteri izolatlarının etkileri araştırılmıştır. Araştırmada materyal olarak; 13 farklı bakteri izolatı ve çimento fabrikası baca dumanlarına maruz kalmış tarım topraklarından alınan toprak örnekleri kullanılmıştır. Çalışma 2 aşamada yürütülmüştür.

I. Aşamada 8 adet ağır metal (Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Ni, Cd ve Pb) ihtiva eden Nutrient Broth içerisinde 13 farklı bakteri izolatları aşılanmış, 2 saatlik inkübasyon sonrası bakteriler tarafından gerçekleştirilen metal absorbsiyon kapasiteleri belirlenmiştir.

II. Aşamada ise çimento fabrikası civarından alınan toprak örneklerine I. Aşamadan elde edilen ve etkinliği belirlenen 5 adet bakteri (*Staphylococcus cohnii*, *Sphingobium yanoikuyae*, *Vibrio hollisae*, *Xanthobacter flavus*, *Acinetobacter lwoffii*) izolatları aşılanmış, 6 haftalık inkübasyon sonrası bakterilerin absorbsiyon kapasiteleri belirlenmiştir.

Araştırmada elde edilen sonuçlara göre, *S. cohnii*'nin toprakta en fazla Pb ağır metalini, *S. yanoikuyae*'nin toprakta en fazla Al ağır metalini, *V. hollisae*'nin toprakta en fazla Al ağır metalini, *X. flavus*'un toprakta en fazla Al ağır metalini ve *A. lwoffii*'nin toprakta en fazla Al ağır metalini absorbladığı belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar yüksek oranda metal içeren toprakların bioremediasyon çalışmalarına bu çalışmadan elde edilen bakterilerin kullanımının da büyük oranda katkı sağlayacağı sonucunu ortaya koymuştur.

2017, 35 sayfa

Anahtar Kelimeler: Ağır metal absorbsiyonu, Bakteri metal absorbsiyon oranı, Toprak metal absorbsiyon oranı, Bioremediasyon.

ABSTRACT

Master Thesis

BIOLOGICAL TREATMENT OF HEAVY METAL POLLUTION IN THE SOILS

Emrah YILDIRIM

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Soil Science and Plant Nutrition
Department of Plant Nutrition

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serdar BİLEN

The heavy metal pollution in the soil causes environmental problems, and their deficiency can cause serious imbalances in the soil-plant-animal system. Rehabilitation studies of agricultural areas with high heavy metal contents and problems have been extensively investigated recently. In this study, the effects of various bacterial isolates on the heavy metal contents of soils were investigated. In the research; Thirteen different isolates of bacteria and soil samples taken from agricultural soils exposed to chimney smoke were used in the cement factory. The study was conducted in 2 stages.

In the first step, 13 different bacterial isolates were grafted into Nutrient Broth containing 8 heavy metals (Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Ni, Cd and Pb) and metal absorption capacities were determined by the bacteria after 2 hours of incubation.

In the second step *Staphylococcus cohnii*, *Sphingobium yanoikuyae*, *Vibrio hollisae*, *Xanthobacter flavus*, *Acinetobacter lwoffii* isolates were grafted to the soil samples taken from the cement factory in the stage I. The absorption capacities of the bacteria were determined after 6 weeks of incubation.

According to the results of the survey, *S. cohnii* had the highest amount of Pb heavy metal in the soil, *S. yanoikuyae* had the highest amount of Al heavy metal in the soil, the highest amount of Al heavy metal in the soil of *V. hollisae*, It was determined that Al heavy metal and *A. lwoffii* absorbed the most heavy metals in the soil. The results show that the use of bacteria obtained from this study for bioremediation studies of high-metal-containing soils will contribute greatly.

2017, 35 pages

Keywords: Heavy metal absorption, Bacterial metal absorption rate, Soil metal absorption rate, Bioremediation.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın, planlanıp yürütülmesinde bilgi birikimi ve engin tecrübelerini benimle paylaşan, yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmamın her aşamasında destek ve özverisiyle beni yönlendiren, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım danışman hocam Sayın Doç. Dr. Serdar BİLEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Yine eğitimim boyunca bilgi ve katkılarından yararlandığım Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Yıldırım CANBOLAT'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Adil AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Yine bakteri kültürlerinin sağlanmasında yardım ve emeği geçen Sayın Doç. Dr. Arzu Ala GÖRMEZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Bölümde laboratuvar araştırmalarım süresince yardımcılarını eksik etmeyen Araştırma Görevlisi Sayın Serdar SARI ve Laborant Sayın Cihan VURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi olarak desteklerini eksik etmeyen, beni yetiştiren aileme, şükranlarımı ve sevgilerimi sunarım.

Emrah YILDIRIM

Nisan, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
3. MATERİYAL ve YÖNTEM.....	8
3.1.1. Denemenin yürütüldüğü alan ve genel özelliklerı.....	8
3.1.1.a. Toprak örneğinin alındığı yer	8
3.1.1.b. Deneme alanının toprak özellikleri	8
3.1.1.c. Deneme alanının iklim özellikleri	9
3.1.1.d. Deneme alanının tarımsal yapısı	9
3.1.2. Saksı	10
3.1.3. İnkübator	10
3.1.4. Ağır metal çözeltileri.....	9
3.1.5. Bakteri kültürleri	9
3.2. Yöntem	10
3.2.1. Toprak örneklerinin analize hazırlanması	10
3.2.2. Toprak analiz yöntemleri.....	11
3.2.2.a. Toprak reaksiyonu	11
3.2.2.b. Kireç miktarı.....	11
3.2.2.c. Organik madde	11
3.2.2.d. Katyon değişim kapasitesi (KDK)	11
3.2.2.e. Değişebilir K ve Na	11
3.2.2.f. Değişebilir Ca + Mg.....	12
3.2.2.g. Elverişli fosfor.....	12
3.2.2.h. Toplam azot.....	12

3.2.2.i. Elektrik iletkenlik	12
3.2.2.j. Toprak tekstürü	12
3.2.2.k. Mikro element ve ağır metal analizleri (<i>Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Ni, Cd, Pb, B</i>)..	12
3.2.3. Biyolojik yöntemler.....	13
3.2.3.a. Metal çözeltilerinin hazırlanması	13
3.2.3.b. NB içerisinde ağır metal çözeltilerinin hazırlanması	13
3.2.3.c. Bakteri çözeltilerinin hazırlanması	14
3.2.3.d. Metal Absorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	15
3.2.3.e. Toprak Materyalindeki Bakteri ve Mantar Sayısının Tespiti:	15
3.2.3.f. Toprakların CO ₂ miktarının tespiti	15
3.2.3.g. Deneme planı.....	15
3.2.4. İstatistiksel analiz yöntemleri	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	17
4.1. Deneme Alanı Topraklarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	17
4.2. Nutrient broth çözeltisinin ağır metal içerikleri	18
4.3. Nutrient Broth Çözeltisine Ağır Metal İlavesi	18
4.4. Nutrient Broth Çözeltisine Bakteri İlavesinin Etkileri	19
4.5. Bakterilerin Toprakta Metal Absorbsiyon Kapasiteleri Üzerine Etkileri.....	21
4.5.1. <i>Staphylococcus cohnii</i> bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi	21
4.5.2. <i>Sphingobium yanoikuyaе</i> bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi.....	22
4.5.3. <i>Vibrio hollisae</i> bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi	24
4.5.4. <i>Xanthobacter flavus</i> bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi	25
4.5.5. <i>Acinetobacter lwoffii</i> bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi	27
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	29
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	35

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
Da	Dekar
dS/m	Desi Siemens/metre
g	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
me	Mili Ekivalan
mg	Miligram
mm	Milimetre
ppm	Milyonda Kısim
NB	Nutrient Broth
NA	Nutrient Agar
cfu	Cell Unit Forming
KDK	Katyon değişim Kapasitesi
cm	Santimetre
mmhos	Elektriksel-Kondaktivite
µm	Mikrometre
l	Litre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Nutrient Agar besi ortamında geliştirilen bakteri kültürleri.	14
Şekil 3.2. Nutrient Broth içerisindeki ağır metal çözeltisi.....	14
Şekil 4.1. <i>Staphylococcus cohnii</i> (Bakteri 44) bakterisinin topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları.....	22
Şekil 4.2. <i>Sphingobium yanoikuyae</i> (Bakteri 44) bakterisinin topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları..... Hata! Yer işaretini tanımlanmamış.	
Şekil 4.3. <i>Vibrio hollisae</i> (Bakteri 105) bakterisinin topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları.....	24
Şekil 4.4. <i>Xanthobacter flavus</i> (Bakteri 132) bakterisinin topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları.....	26
Şekil 4.5. <i>Acinetobacter lwoffii</i> (Bakteri 180) bakterisinin topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları.....	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kültür koleksiyonundan elde edilen ve bu araştırmada kullanılan bakterilerin listesi.	10
Çizelge 3.2. Sulama Sularında Ağır Metallerin İzin Verilebilir Değerleri	13
Çizelge 3.3. Sulama Sularında Ağır Metallerin İzin Verilebilir Değerleri tablosunun kısa süreli kullanım miktarları göz önüne alınarak hazırlanan ağır metal çizelgesi	14
Çizelge 4.1. Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	17
Çizelge 4.2. NB besiyerinin ağır metal içerikleri	18
Çizelge 4.3. NB besi ortamının ağır metal içerikleri ve ilave edilen ağır metal miktarları.	19
Çizelge 4.4. NB Besiyerine ilave edilen 13 adet bakteri izolatının inkübasyonu sonrası elde edilen ağır metal içerikleri (ppm) ve absorbsiyon oranları... Hata! Yer işaretti tanımlanmamış.	

1. GİRİŞ

Toprak kirliliği, toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin insan müdahalesi sebebiyle bozulması olarak tanımlanabilir. Günümüzde endüstriyelleşmenin artması ve bu endüstriyelleşme sonucu ortaya çıkan bilinçsiz sanayi kuruluşlarının atıklarını doğaya bırakması doğaya büyük bir zarar vermektedir.

Doğaya bilinçsiz bir şekilde bırakılan bu atıklar şüphesiz toprağın altında ve üstünde bulunan organizmalara doğrudan veya dolaylı ciddi zararlar vermektedir. Dünya üzerinde bulunan topraklar birbirinden farklı oranlarda kirletilmesine karşın, en fazla risk toprağa bağlı yaşamını devam ettiren canlılar üzerine olmaktadır. Bu durum topraktaki kirlenmeye neden olan kirleticilerin meydana getirdiği riskleri bir an önce kaldırılması durumunu ortaya çıkarmaktadır.

Toprakların ağır metallerle kirlenmesi, sanayileşme ve günümüzde yoğunlaşan tarım faaliyetleri sonucunda oluşabileceği gibi, bünyesinde ağır metal iyonlarını barındıran kayaçların farklı yollarla su ve topraklara intikalı sonucunda da oluşabilmektedir. Atom ağırlıkları 63 ile 200 arasında bulunan kadmiyum, arsenik, civa, kurşun ve krom gibi metaller bu şekilde doğaya yayılabilmektedir (Anonim 2006).

Ağır metaller yer kabuğunda doğal olarak bulunurlar. Toprak içerisinde bulunan ağır metaller; 1- mikrobiyal yaşam döngüsüne, 2- toprağın fiziksel ve kimyasal yapısına, 3- biyolojik çeşitliliğine, 4- toprak üzerinden elde edilen ürünlerdeki kalitenin ve verimin azalmasına, 5- bitki doku ve organlarında birikimine, 6- bitkideki generatif ve vejetatif organların gelişimindeki bozukluklara, 7- bitkide stoma hareketleri, transpirasyon, enzim faaliyeti, fotosentez gibi birçok fizyolojik olayları olumsuz yönde etki etkilemesine ve 8- canlıların yaşam döngüsüne doğrudan veya dolaylı bir etki yaptığı için araştırılması gereken konuların başında gelmektedir (Anonim 2006).

İnsanoğlunun yüksek gelir elde etme isteği, tarım arazilerini amaç dışı kullanıma (kentleşme, sanayileşme vb.) yönlendirmiş ve bunun sonucunda bilinçsizce kurulan yapılar, çevre için büyük bir kirlilik kaynağı oluşturmuştur. Zirai faaliyetler için kullanılan; gübre, hormon ve pestisit gibi kirleticilerde çevre ve toprak kirlenmesine etki etmektedir (Karaca ve Turgay 2012).

Bu araştırma bazı bakteri izolatlarının sıvı ortamda ve toprak ortamında ağır metal absorpsiyon kapasitelerini belirlemek, yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip bakterileri izolatlarının fazla miktarda ağır metal ihtiva eden toprakların metal içeriklerinin azaltılması yönünde kullanılabilme olanakları araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ağır metaller, 6 g/cm^3 den daha büyük atomik yoğunluğa sahip metaller ve metalloidlerden oluşan elementlerdir. Ağır metallerin çevreye yayılmasında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir (DİE 2003). Bir şekilde çevreye bırakılan çeşitli kirletici atıklar doğaya ve toprağa büyük zararlar vermektedir. Atıklarının boşaltıldığı alanlarda topraklar kirlenmekte ve kirliliğin giderilmesi için yüksek maliyetli projeler geliştirilmektedir (Arhan 1986).

Kirlenmiş toprak yüzeylerinden yağmur sularının etkisiyle taşınan ağır metaller çok önemli bir kaynak olan, yeraltında bulunan içme sularını da kirletmektedir. Bu suların kirlenmesi sonucu birçok canlı organizma büyük zarar görmektedir (Freeze and Cherry 1997).

Ağır metallerin bir kısmı toprak ekolojisinde bulunan bazı canlı organizmaların yaşam döngüsünü devam ettirebilmesi için gereklidir. Bu sebeple doğada bulunan ağır metallerin diğer canlılarla etkileşimi büyük bir öneme sahiptir. Topraklarda bulunan ağır metallerin fazlalığı kirliliğe sebep olabileceği gibi, aynı zamanda bunların eksikliği hayvan-bitki-toprak ilişkisinde büyük sıkıntılarla neden olabilmektedir. Bu sebeple, ağır metallerle hayvan-bitki-toprak arasındaki dengenin sağlanması önemlidir (Türkoğlu 200

Yapılan birçok çalışmada özellikle Pb, Cr, Ar, Zn, Cd, Hg ve Ni yaygın metaller tarafından toprakların fazlası ile metal kirliliğine maruz kaldıkları ve bu ağır metallerin kimyasal ve biyolojik olarak zararlı olabilecekleri ifade edilmektedir (Wuana and Okieimen, 2011).

Topraklardaki ağır metalin uzaklaştırılmasında biyolojik faktörlerin kullanıldığı çalışmalar içinde biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve bioremediasyon metotları kullanılmaktadır (Hussein *et al.* 2004). Biyosorpsiyon; bakteri, yengeç kabukları,

fungus ve alg gibi biyomateryaller kullanılarak metal içeren düşük konsantrasyon ve yüksek hacimli atık suların iyileştirilmesi için uygun maliyetli biyoteknolojik bir yöntem olarak bilinmektedir. Biyosorpsiyonun gerçekleşmesi için en uygun şartların sağlanması gerekmektedir. Biyosorpsiyon yöntemi pH, metal iyonunun türü, sıcaklık, konsantrasyon gibi bir çok fizikokimyasal olaydan etkilenmektedir (Chubar 2004).

Biyosorpsiyon yönteminde, biyosorpsiyon kapasitesi sadece biyokütle türüne bağlı değildir. Bunun yanında metal iyonunun türü, konsantrasyonu, vb. birçok nedene bağlı olduğu da unutulmamalıdır. Metal bağlama kapasitesine sahip biyokütle türleri üzerindeki çalışmalar 1985 yılından itibaren hız kazanmıştır. Arıtma amacıyla kullanılan biokütlelerin seçiminde kolay elde edilebilirlik önemli bir faktördür. Biyokütlenin doğada kolay bulunabilen hatta atık maddelerde bulunan türleri tercih edilmelidir. Bazı biyosorbentler herhangi bir öncelik olmaksızın ağır metalleri bağlayabilmesine rağmen bazıları sadece belli tip ağır metalleri bağlayabilmektedir. Ağır metal biyosorpsiyonunda kullanılacak biyokütleler seçilirken göz önünde bulundurulması gereken en önemli faktörlerden biride biyokütlenin kökenidir. Ağır metal biyosorpsiyonunda kullanılacak biyokütleler endüstriyel atıklardan veya doğadan elde edilebilen ve hızlı üreyen mikroorganizmalardan seçilmelidir (Volesky 2003).

Adsorpsiyon ise bir çözeltide bulunan metallerin ölü biyokütle vasıtasiyla azaltılması veya temizlenmesidir. Organizmaların dış yüzeyleri negatif yükle kaplı olduğundan pozitif yüklü metal iyonlarını dış yüzeylerine adsorbe ederler (İlier and Mavituna 1991; Volesky 2004)

Bazı biyokütleler ile ağır metal giderimi çalışmalarında, ölü (ısıtlarak öldürülmiş, asit/baz veya kimyasal işlemlerle öldürülmiş) veya canlı hücrelerin metal alabilme kapasiteleri karşılaştırılmış, çoğu kez ölü durumdaki mikroorganizmanın daha yüksek adsorplama kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebinin de kirleticilerin hücreye taşınması sırasında engelleyici herhangi bir metabolik olayın gerçekleşmemesi, ölü hücre membranının geçirgenliğinin artması ve mikroorganizmanın ölümünü takiben hücre yüzey özelliklerinin değişmesi olduğu açıklanmıştır. Isıl işlem ile öldürme,

kurutma ve granül hale getirme, formaldehit, deterjan gibi organik kimyasalların kullanımı, inorganik kimyasalların (NaOH , HCl , HNO_3 , H_2SO_4 , NaHCO_3 , CaCl_2) kullanımı gibi mikroorganizma hücrelerini öldüren bazı ön işlemler yapılmaktadır. Bu ön işlemlerden, kurutma ve granül hale getirme işlemlerinin biokütlenin adsorpsiyon kapasitesini önemli ölçüde artırdığı görülmüştür (Tsezos and Volesky 1981).

Adsorpsiyon, bir katının ya da bir sıvının sınır yüzeyindeki konsantrasyon değişmesi olarak da tanımlanabilir. Katı ya da sıvı yüzeylerine değmekte olan gazlar ya da çözünen maddelerin bu yüzeylerde tutunmalarına adsorpsiyon, bu maddeleri yüzeyinde tutan faza adsorplayıcı, tutunan maddeye de adsorplanan denir (Bulut 2003).

Bioremediasyon, mikroorganizmalar kullanılarak zararlı maddeleri toksik olmayan bileşiklere dönüştüren bir işlem olup, toprak içerisindeki tehlikeli atıkların arıtılması için kullanılan ümit verici tekniklerden biridir. Bakteriler zararlı atıkları, zararsız yan ürünlerde dönüştürdükten sonra ya ölürlər ya da sayıları bakımından normal popülasyon düzeyine ulaşırlar. Böylece ekolojik denge bozulmaz. Bioremediasyon olayında kontaminant maddeleri parçalayabilen ve onları toksik olmayan yan ürünlerde dönüştüren mikroorganizmaların büyümeleri teşvik edilerek mikroorganizmaların doğal olan bu prosesinden yararlanılır. Yani bioremediasyon uygulaması atıkların döküldüğü bölgeye besin aktarımı yapılarak, toprağın bakteri kompozisyonuna göre, doğal olarak toprakta bulunan bakterilerin etkin duruma geçirilmesi ya da toprağa yeni bakteriler aktarılması şeklinde olabilir. Mikroorganizmalar kontaminantlara maruz kaldığında artan bir yetenek ile bu maddeleri parçalama yönünde bir gelişme gösterirler. Genellikle bu toksik maddeyi parçalayarak enerji elde eden strainler ön plana çıkmaktadır (Cookson 1995; Alexander 1999).

Bioremediasyonda kullanılabilecek bakteri ve mantar türleri günümüzde birçok araştırmacı tarafından araştırılmaktadır. Buna en güzel örneklerden birisi de *Geobacter metallireducens* adlı bakteridir. Bu bakterinin madencilik çalışmaları sonucunda drenaj ve yeraltı suyundaki uranyumun zararlı etkilerini ortadan kaldırabildiği ifade edilmektedir (EPA 1995).

Acinetobacter strainleri yağların parçalanmasında ve ağır metallerin ortamdan uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Rusansky et al., 1987, Boswell et al., 2001; Francisco et al., 2002). Bu bakterinin aynı zamanda zararlı atıkların yıkanması ve ortamdan uzaklaştırılmasında, toprak, temiz su, atık su ve bazı atıkların bertaraf edilmesinde önemli rolü olduğu bilinmektedir. *Acinetobacter* strainleri önemli biyolojik ürünler üretmektedir, bu nedenle tıp, çevre ve biyoteknoloji açısından fazlası ile dikkat çekmektedir (Abdel-El-Haleem, 2003).

Yapılan bazı çalışmalarda ağır metal ve PAH (poliakrilamid hidrokarbon) içerikli topraklarda mikrobiyal remediasyon materyali olarak *V. alginolyticus* izolatının kullanılabilceğini ifade edilmiştir (Daugulis and Janikowski 2002; Cunliffe and Kertesz, 2006; Wang et al. 2013).

X. flavus bakterisinin ağır metal absorbsiyon kapasitesinin mevcut olduğunu, pestisit ve herbisitlerde yaygın olarak bulunan hidrokarbonların parçalanmasında *X. flavus* bakterisinin büyük rol oynadığını ve kimyasal kirleticiler, kumlu topraklar ve atıksular için mikrobiyal parçalayıcı olduğunu ifade edene çalışmalar mevcuttur (Olaniran et al. 2001; Lee et al. 2002a; Lee et al. 2002b; Song et al. 2003).

Hardman et al. (1986) dört *Pseudomonas* ve iki *Alcaligenes* türü bakterileri topraklardan izole etmiş ve bunları alkanoik asit ihtiva eden ortamlarda geliştirdikten sonra bu bakteri türlerinin 2 veya daha fazla ağır metale (Hg, Se ve Al) karşı dayanıklı olduklarını ve ağır metal absorbe etme yeteneklerinin olduğunu ifade etmiştir (Hardman et al., 1986).

El-Hendawy et al. (2009), yaptığı bir çalışmada sırası ile maksimum tölere edilebilir 2.5 mM, 4 mM, 2.5 mM and 3.5 mM Cd, Cu, Pb ve Zn metallerinin elektron mikroskopu altında ağır metal bakteri hücresi tarafından absorbsiyonunu araştırmış ve çalışma sonunda 20% Cd, 31% Cu, 40% Pb ve 45% Zn metalinin bakteri hücre çeperi tarafından absorbe edildiğini belirlemiştir. Yapılan bu çalışmanın laboratuar ortamlarında ağır

metallerle yüklü ortamların bioremedasyonunda bu bakteri izolatlarının metal absorbsiyonuna katkıda bulunabileceğini ifade etmiştir.

Endüstriyel atık sularından metal iyonları precipitation, oxidation veya reduction metotları ile kimyasal olarak uzaklaştırılabilmektedir. Bu metodlar çok yüksek maliyetli oldukları için son zamanlarda mikroorganizmalar yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır ((Volesky, 1990; Vidali, 2001). Biosorbsiyon ve bioakümülatör gibi biyolojik metodlar kimyasal metodlara karşı alternatif bir metot olarak önerilebilirler (Kapoor and Viraraghavan, 1995).

Bosecker (2001), metalleri çözünebilir hale getirebilen mikroorganizmaların mutasyon ve seleksiyonla genetik anlamda geliştirilmesinin, bioremediasyon teknolojilerinin gelecekteki uygulamalarını artttıracağını vurgulamıştır.

Bu araştırma bioremediasyon çalışmalarına katkıda bulunacağı düşünülerek bazı bakteri izolatlarının sıvı ortamda ve toprak ortamında ağır metal absorpsiyon kapasiteleri belirlendikten sonra yüksek oranda ağır metal ihtiva eden toprakların metal içeriklerinin azaltılması için belirlenen bakteri izolatlarının kullanılabilme olanakları araştırılmıştır.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Denemede materyal olarak toprak örneği, saksı, inkübatör, ağır metal çözeltileri, çeşitli bakteri kültürleri kullanılmıştır.

3.1.1. Denemenin yürütüldüğü alan ve genel özellikler

Denemeye materyal teşkil eden toprak örneklerinin alındığı yerin özellikleri ile iklim ve tarımsal yapısı aşağıda verilmiştir.

3.1.1.a. Toprak örneğinin alındığı yer ve toprakların özellikleri

Aşkale Çimento Fabrikası civarında bulunan, rüzgar yönü ile aynı istikamette kalan ve uzun yıldır Çimento Fabrikası bacalarından salınan gazlara maruz kalmış tarım alanlarının 0-20 cm derinliğinden alınan toprak örnekleri kullanılmıştır.

3.1.1.b. Deneme alanının toprak özellikleri

Erzurum-Kars Bölümünün en batısında yer alan Aşkale, Erzurum şehrinin batısında olup, 52 km uzaklıktadır. Karasu ırmağı, Erzurum ovalarından (Daphan Ovası) çıktıktan sonra ilk vadi tabanını burada oluşturur. İklim özelliklerine bağlı olarak Karasu vadi tabanında vejetasyon formasyonu steptir. Steplerin altında ise yaygın olarak kestane renkli topraklar hakimdir (Sever, 2000).

3.1.1.c. Deneme alanının iklim özellikleri

Karasal iklimin hakim olduğu yörede yıllık ortalama sıcaklık 6.9°C dir. Donlu gün sayısı 155 gün kadardır. Yıllık ortalama yağış miktarı 393.3 mm dir. Bu yağışların % 39.7'si ilkbahar aylarında düşmektedir (Sever 2000).

3.1.1.d. Deneme alanının tarımsal yapısı

İlçede toplam alanı 1.472.650 de olan arazinin, kültür arazisi olan 198.793 de arazinin 149.095 de'lik bölümünde kuru tarım, 49.698 de'lik bölümünde sulu tarım yapılmakta, 41.218 de arazi de nadasa bırakmaktadır (Anon, 2013). İlklim şartlarının uygun olmaması nedeniyle sebze ve meyvecilik aile işletmeciliği şeklinde yapılmaktadır. Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki en büyük yatırımlardan biri olan Kuzgun Sulama Barajı, tarımda İlçenin birinci sınıf arazisini bulunduran "Daphan Ovası"nı ve İlçeye bağlı Gökçebük, Çayköy, Tazegül, Karabiyik ve Küçükgeçit köylerinin tarım arazilerini de sulamaktadır (MEB 2013). Bölge topraklarında genel olarak buğday, arpa, mısır, lahana, şeker pancarı ve patates yetişirilmektedir.

3.1.2. Ağır metal çözeltileri

İçerisinde Fe: 10 ppm, Cu: 5 ppm, Zn: 5 ppm, Mn: 20 ppm, Al: 10 ppm, Ni: 1 ppm, Cd: 0,05 ppm, Pb: 20 ppm ve B: 2 ppm ihtiva eden metal konsantrasyonları Nutrient Broth çözeltisinde hazırlanarak kullanılmıştır.

3.1.3. Bakteri kültürleri

Bu araştırmada daha önceden izole edilerek tanımlaması yapılmış kültür koleksiyonunda bulunan bakteri izolatları kullanılmıştır. Kullanılan bakterilerin listesi Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları ve kodları

No	Bakteri Adı	Bakteri Kodları
1	<i>Staphylococcus cohnii</i>	44
2	<i>Sphingobium yanoikuyae</i>	73
3	<i>Vibrio hollisae</i>	105
4	<i>Xanthobacter flavus</i>	132
5	<i>Staphylococcus hominis</i>	143
6	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	157
7	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	165
8	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	180
9	<i>Micrococcus luteus</i>	190
10	<i>Arthrobacter aurescens</i>	192
11	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	204
12	<i>Arthrobacter globiformis</i>	209
13	<i>Bacillus megaterium</i>	298

3.1.4. Saksi

Deneme, 20x18 cm ebatlarında polietilen kahverengi saksılar kullanılmıştır.

3.1.5. İnkübatör

Bakteri aşılanmış ağır metal içerikli çözeltilerin, bakteri kültürlerinin inkübasyonu için 28°C'de sıcaklığı ayarlanabilen steril kabinler kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Toprak örneklerinin analize hazırlanması

Denemede kullanılan toprak örnekleri laboratuvara getirilip havada kurutuluktan sonra 2 mm'lik elekten geçirilmiştir. Plastik kaplarda muhafaza edilen toprak örnekleri üzerinde kimyasal, fiziksel ve biyolojik analizler yapılmıştır. Saksı denemesinde ise 4 mm'lik elekten geçirilmiş toprak örnekleri kullanılarak deneme kurulmuştur.

3.2.2. Toprak analiz yöntemleri

Araştırma topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal analizleri aşağıdaki ana başlıklar altında ele alınmıştır.

3.2.2.a. Toprak reaksiyonu

Toprakların pH'ları 1:2.5'luk toprak-su oranında cam elektrotlu Beckman pH metresi ile ölçülmüştür (Handershot *et al.* 1993).

3.2.2.b. Kireç miktarı

Toprakların kireç içerikleri Scheibler Kalsimetresi ile volümetrik olarak saptanmıştır (Goh *et al.* 1993).

3.2.2.c. Organik madde

Toprakların organik madde içerikleri Smith-Weldon yöntemiyle belirlenmiştir (Tiessen and Moir 1993).

3.2.2.d. Katyon değişim kapasitesi (KDK)

Toprakların sodyum asetatla (1 N, pH=8.2) doyurulup amonyum asetatla (1 N, pH=7.0) ekstrakstrakte edilen solüsyonlarında atomik absorbsiyon spektrofotometresinde sodyum okuması yapılarak KDK değeri belirlenmiştir (Rhoades, 1982).

3.2.2.e. Değişebilir K ve Na

Toprakların değişebilir K ve Na katyonları, amonyum asetatla (1 N, pH=7.0) çalkalanıp ekstrakte edilmiş ve alev fotometresinde okunarak belirlenmiştir (Knudsen *et al.* 1982).

3.2.2.f. Değişebilir Ca + Mg

Toprakların değişebilir Ca+Mg katyonları EDTA (Etilendiamin tetraasetikasit) yöntemiyle titrasyonla tespit edilmiştir (Lanyon and Heald 1982).

3.2.2.g. Elverişli fosfor

Toprakların fosfor içerikleri molibdofosforik mavi renk yöntemine göre spektrofotometrede okunarak belirlenmiştir (Olsen and Sommers 1982).

3.2.2.h. Toplam azot

Toprak örneklerinin azot içeriği, Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir (Mc Gill and Figueiredo 1993).

3.2.2.i. Elektrik iletkenlik

Toprakların elektrik iletkenlikleri hazırlanan saturasyon macunlarından elde edilen ekstraksiyon çözeltilerinde elektrik kondüktivite aleti ile mmhos/cm olarak belirlenmiştir (Demiralay 1993).

3.2.2.j. Toprak tekstürü

Deneme toprağının kum, silt ve kil içerikleri, Bouyoucos Hidrometre yöntemiyle, tekstür sınıfı ise tekstür üçgeninde belirlenmiştir (Gee ve Bauder, 1986).

3.2.2.k. Mikro element ve ağır metal analizleri

Toprakların ağır metal içerikleri DTPA (dietilentriamin pentaasetikasit) yöntemine göre ekstrakte edilen süzüklerde (Sağlam, 1994; Aydın ve Sezen, 1995) ICP OES spektrofotometresinde (Inductively Couple Plasma spectrophotometer) (Perkin-Elmer,

Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) direk olarak okunmak suretiyle belirlenmiştir (Mertens 2005).

3.2.2.1. Metal çözeltilerinin hazırlanması

Çizelge 3.1.'deki bakterilerin ağır metal çözeltisi içerisindeki absorbsiyon oranlarını bulabilmek için 9 adet ağır metal ihtiva eden metal çözeltisi hazırlanmıştır.

3.2.3. Biyolojik yöntemler

3.2.3.a. NB içerisinde ağır metal çözeltilerinin hazırlanması

Denemenin I. aşamasında kullanılmak üzere Çizelge 3.2'de sulama sularında ağır metallerin izin verilebilir değerleri (Anonim, 1994) tablosundan kısa süreli kullanım için belirlenen ağır metal konsantrasyonları dikkate alınarak 2 L'lik Nutrient Broth içerisinde ağır metal (Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Ni, Cd ve Pb) çözeltileri hazırlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2. Sulama Sularında Ağır Metallerin İzin Verilebilir Değerleri (Anonim 1994).

Parametre, mg/L	Sürekli Kullanım	Kısa Süreli Kullanım
Demir(Fe), Alüminyum (Al)	1.00	10
Bakır (Cu), Çinko (Zn)	0.20	5
Berilyum (Be), Nikel (Ni)	0.50	1
Kadmiyum (Cd), Molibden (Mo)	0.005	0.05
Krom (Cr), Kurşun (Pb)	5.00	20
Mangan (Mn)	2.00	20
Selanyum (Se)	0.05	0.05
Vanadyum (Va)	10.0	10
Çinko (Zn), Lityum (Li)	5.00	5
Bor (B)	0.75	2

Sürekli kullanım: Arazi denemeleri

Kısa Süreli Kullanım: Saksı denemeleri

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ağır metal çözeltisinin ağır metal konsantrasyonları.

Ağır Metal	Kullanılan miktar, ppm
Demir (Fe)	10
Bakır (Cu),	5
Çinko (Zn),	5
Mangan (Mn)	20
Alüminyum (Al)	10
Nikel (Ni)	1
Kadmiyum (Cd),	0,05
Kurşun (Pb)	20

3.2.3.b. Bakteri çözeltilerinin hazırlanması

Aşılama materyali olarak elimizde bulunan bakteri türlerinden, Nutrient Agar besi ortamında 28°C'de geliştirilen 48 saatlik saf bakteri kültürleri hazırlanmıştır (Şekil 3.1.) Nutrient agar besiyerinde geliştirilen bakterilerin NB ortamında çoğaltılması gerçekleştirılmıştır. NB besiyerinde (Şekil 3.2) bakteri konsantrasyonlarının mililitresinde yaklaşık 1.0×10^8 cfu/ml bakteri sayısına eşit olması için turbüdimetrede absorbans değeri 0,6 değeri baz alınarak çözeltiler hazırlanmıştır. Bu değerin üzerindeki bakteri solüsyonlarını 10^8 cfu/ml bakteri sayısına eşitemek için NB ile sulandırma yoluna gidilmiştir (Somasegaran and Hoben 1985; Saygılı 1995).



Şekil 3.1. Nutrient Agar besi ortamında geliştirilen bakteri kültürleri.



Şekil 3.2. Nutrient Broth içerisindeki ağır metal çözeltisi

3.2.3.c. Metal Absorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Analiz sonucunda elde edilen değerler toprak başlangıç analizinin ağır metal içerikleri ile karşılaştırılarak her bir bakterinin absorbsiyon kapasitesi % olarak belirlenmiştir.

3.2.3.d. Toprak Materyalindeki Bakteri ve Mantar Sayısının Tespiti:

Toprak materyalindeki bakteri ve mantar sayımı dilüsyon metoduna göre yapılmıştır. Bakteri sayımı yapılacak 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dilüsyon örnekleri hazırlandı. Bakteri sayımı yapılacak örnekler steril Nutrient Agar (NA) besiyerine, mantar sayımı yapılacak örnekler ise steril Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerine inoküle edildi. İnkübatorde 28°C 'de 3-5 gün bekletildikten sonra besiyeri üzerinde gelişen bakteri ve mantarların petri kutularının arkasından koloni sayımı yapılarak topraktaki mevcut toplam bakteri ve fungus sayısı belirlenmiştir (Germida 1993; Kızılıoğlu ve Bilen 1997).

3.2.3.e. Toprakların CO₂ miktarının tespiti

Toprak verimliliğinin göstergesi olan toprak solunumunun ölçülmesi toprak örneğinden aşağı çıkan CO₂ gazının NaOH içerisinde biriktirilmesi, NaHCO₃'ın oluşturulması ve BaCl ilavesinden sonra BaCO₃'ın çökmesi sonucu H₂SO₄ ve CO₂ ile doymayan NaOH miktarının titrasyonla belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Elde edilen sonuç ekivalan değer ve asidin normalitesi ile çarpılıp mg olarak toprağın C ve CO₂ miktarı belirlenmiştir (Anderson 1982).

3.2.3.f. Deneme planı

Deneme 2 aşamada gerçekleştirilecektir.

I. Aşamada;

Nutrient Broth ortamında bakterilerin ağır metal absorbsiyon kapasitesinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Nutrient broth içerisine konulan 8 adet ağır metal ilavesinden sonra ağır

metal çözeltisine bakteri izolatları ilave edilmiştir. Denemenin bu aşamasında; 1 adet Ağır Metal Çözeltisi (Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Ni, Cd ve Pb ihtiva eden) x 13 adet Bakteri İzolatları (Çizelge 3.1) x 3 Tekerrür olmak üzere toplam 39 adet bakteri aşılı ağır metal çözeltisi kullanılmıştır. Bu çözeltilerde ağır metallerin analizleri yapılarak bakterilerin absorbsiyon kapasitesi belirlenmiş ve en yüksek oranda absorbsiyon kapasitesi belirlenen 5 bakteri izolatı denemenin II. aşamasında kullanılmak üzere tespit edilmiştir.

II. Aşamada;

NB sıvı ortamında absorbsiyon kapasitesi en yüksek oranda absorbsiyon kapasitesine sahip 5 bakteri izolatı seçilerek topraklara uygulanmış ve 6 haftalık inkübasyon sonrası topraktaki ağır metal konsantrasyonu belirlenmiştir. Denemenin II. Aşamasında;

1 adet Toprak x 5 adet Bakteri İzolatı x 6 Haftalık İnkübasyon x 3 Tekerrür olmak üzere toplam 90 adet saksı kullanılmıştır.

3.2.4. İstatistiksel analiz yöntemleri

Denemededen elde edilen analiz sonuçları, Statistika programı kullanılarak ortalamalar arasındaki farklar belirlenmiştir (Yıldız ve Bircan 1991).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Deneme Alanı Topraklarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Deneme alanının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini ortaya koymak amacı ile deneme alanını temsil edecek şekilde 0-20 cm derinliğinden alınan toprak örnekleri üzerinde rutin toprak analizleri yapılmış ve analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellik	Değer	
pH (1:2.5)	7,84	
Organik madde (%)	2,93	
Kireç, CaCO ₃ , (%)	3,99	
EC x 10 ³ mmhos/cm (dS m ⁻¹)	0,519	
Toplam N (%)	0,006	
Elverişli P (P ₂ O ₅ kg da)	2,10	
K.D.K. (me 100 g ⁻¹)	42,30	
Değişebilir Katyonlar (me 100 g ⁻¹)	Ca	16,96
	Mg	10,4
	K	9,65
	Na	0,71
Mikro elementler(ppm)	Fe	4,16
	Cu	1,00
	Zn	0,40
	Mn	5,81
Tane büyüklik dağılımı	Kum, %	25
	Silt, %	26
	Kil, %	49
Tekstür Sınıfi	Killi	
Total bakteri sayısı, cfu/ml	4,5x10 ⁷	
Total mantar sayısı, cfu/ml	4,2x10 ⁵	
Toprak CO ₂ miktarı, mg CO ₂ m ⁻² h ⁻¹	20,90	

Deneme alanı toprakları killi-tınlı bünyeli, kireç bakımından kireçli ve hafif alkali karakterdedir. Yarayışlı potasyum bakımından zengin olan deneme alanı organik madde ve yarayışlı fosfor bakımından yetersiz durumdadır. Tuzluluk probleminin olmadığı deneme alanı, demir, çinko, mangan ve bakır gibi mikro elementler bakımından yeterli durumdadır (Çizelge 4.1).

4.2. Nutrient broth çözeltisinin ağır metal içerikleri

Nutrient Broth (NB) besi ortamında bakterilerin ağır metal absorbsiyon kapasitelerini belirlemeden önce NB çözeltisinin ağır metal içerik analizi yapılmıştır.

Piyasadan temin edilen NB besi ortamı, 25 g/Lt olacak şekilde saf suda hazırlanmış ve 121°C'de 20 dk. steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası NB içerisinde bulunan ağır metal konsantrasyonu ICP cihazında analiz edilmiştir. Analiz sonrası NB besi ortamının ağır metal içerikleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. NB besi ortamının ağır metal içerikleri

Element	NB Ağır Metal İçeriği, ppm
Fe	8,8646
Cu	4,8971
Mn	13,233
Zn	2,0463
Ni	2,1118
Cd	0,0568
Pb	20,949
Al	12,494

4.3. Nutrient Broth Çözeltisine Ağır Metal İlavesi

Yukarıda belirtilen talimatlara göre hazırlanan steril NB besi ortamı üzerine 9 adet ağır metal ihtiva eden çözeltinin ilavesi sonrasında aşağıda tabloda belirtilen konsantrasyonlarda Nutrient Broth çözeltisi hazırlanmıştır. Bu işlem sonrasında elde

edilen çözeltide NB içerisinde bulunan ağır metal miktarı + İlave edilen Ağır metal Miktarı hesabından toplam ağır metal içerikleri bulunmuştur.

NB besi ortamının ağır metal içerikleri ve ilave edilen ağır metal içerikleri Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. NB besi ortamının ağır metal içerikleri ve ilave edilen ağır metal miktarları.

Ağır Metal	Nutrient Broth Ağır Metal İçeriği, ppm	Nutrient Broth Besiyerine İlave Edilen Ağır Metal Miktarı, ppm	Toplam Ağır Metal
Fe	8,8646	10.0	18,864
Cu	4,8971	5.0	9,897
Mn	13,233	20.0	33,233
Zn	2,0463	5.0	7,046
Ni	2,1118	1.0	3,111
Cd	0,0568	0,05	0,106
Pb	20,949	20.0	40,948
Al	12,494	10.0	22,494

4.4. Nutrient Broth Çözeltisine Bakteri İlavesinin Etkileri

İçeriğinde ağır metal ihtiva eden NB besiyerine 13 adet bakteri izolatı ayrı ayrı ilave edilmiştir. İki saatlik inkübasyondan sonra filtre edilen ve bakterilerden izole edilen NB çözeltisindeki ağır metal miktarları ve % değişim oranları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Ağır metal ihtiva eden NB Besiyerinin ağır metal içeriği (ppm) ve inkübasyon sonrası bakterilerin ağır metal absorbsiyon oranları

	Fe	Cu	Mn	Zn	Ni	Cd	Pb	Al	Ort
NB	18,86	9,89	33,23	7,04	3,11	0,11	40,95	22,49	
İzolat 44 + NB	2,83	3,45	6,98	1,11	1,95	0,04	1,61	1,33	
A.O. %	84,95	65,09	78,99	84,21	37,30	61,77	96,06	94,06	70,98
İzolat 73+ NB	2,94	3,77	6,69	0,94	1,75	0,04	1,77	1,31	
A.O. %	84,40	61,83	79,86	86,53	43,60	63,97	95,65	94,18	72,58
İzolat 105 + NB	2,46	2,97	8,68	0,99	1,72	0,03	0,83	2,02	
A.O. %	86,92	69,97	73,85	85,88	44,60	67,50	97,95	91,02	73,57
İzolat 132 + NB	3,47	2,23	9,36	1,49	1,88	0,03	3,01	2,04	
A.O. %	81,57	77,37	71,81	78,75	39,55	69,22	92,63	90,91	70,98
İzolat 143 + NB	3,47	3,33	8,91	1,75	1,94	0,04	3,49	1,60	
A.O. %	81,58	66,30	73,17	75,15	37,62	54,13	91,45	92,88	67,47
İzolat 157 + NB	3,03	3,19	7,51	1,22	1,96	0,04	2,23	1,37	
A.O. %	83,89	67,69	77,39	82,55	37,01	66,21	94,54	93,91	70,29
İzolat 165 + NB	7,48	4,07	12,32	2,38	2,14	0,05	16,33	10,94	
A.O. %	60,30	58,83	62,92	66,18	31,14	47,81	60,11	51,32	53,34
İzolat 180 + NB	2,38	2,13	6,82	0,93	1,72	0,02	1,76	1,80	
A.O. %	87,37	78,48	79,41	86,73	44,59	74,95	95,68	91,99	75,93
İzolat 190 + NB	4,05	3,150	9,615	1,78	1,94	0,05	4,371	1,923	
A.O. %	78,51	68,17	71,06	74,61	37,44	49,95	89,32	91,45	65,85
İzolat 192 + NB	3,68	2,794	9,303	1,66	1,91	0,04	3,678	1,760	
A.O. %	80,44	71,76	72,00	76,31	38,39	56,66	91,01	92,17	67,98
İzolat 204 + NB	3,42	3,72	7,28	1,39	1,87	0,04	2,99	0,87	
A.O. %	81,86	62,39	78,07	80,20	39,67	58,52	92,69	96,09	69,49
İzolat 209 + NB	3,64	2,79	9,06	1,67	1,86	0,04	3,96	1,80	
A.O. %	80,67	71,79	72,71	76,18	40,20	53,78	90,33	91,95	68,28
İzolat 298 + NB	3,56	2,30	9,03	1,64	1,84	0,04	3,78	2,01	
A.O. %	81,08	76,75	72,82	76,64	40,74	60,68	90,75	91,04	69,95

Çizelge 4.4'den görüldüğü üzere 13 bakteri izolatı içerisinde ağır metal absorbsiyon oranlarının ortalaması baz alınarak yapılan sıralamaya göre en yüksek ortalama absorbsiyon kapasitesi 44, 73, 105, 132 ve 180 No'lu bakterilerde gözlemlenmiştir.

4.5. Bakterilerin Toprakta Metal Absorbsiyon Kapasiteleri Üzerine Etkileri

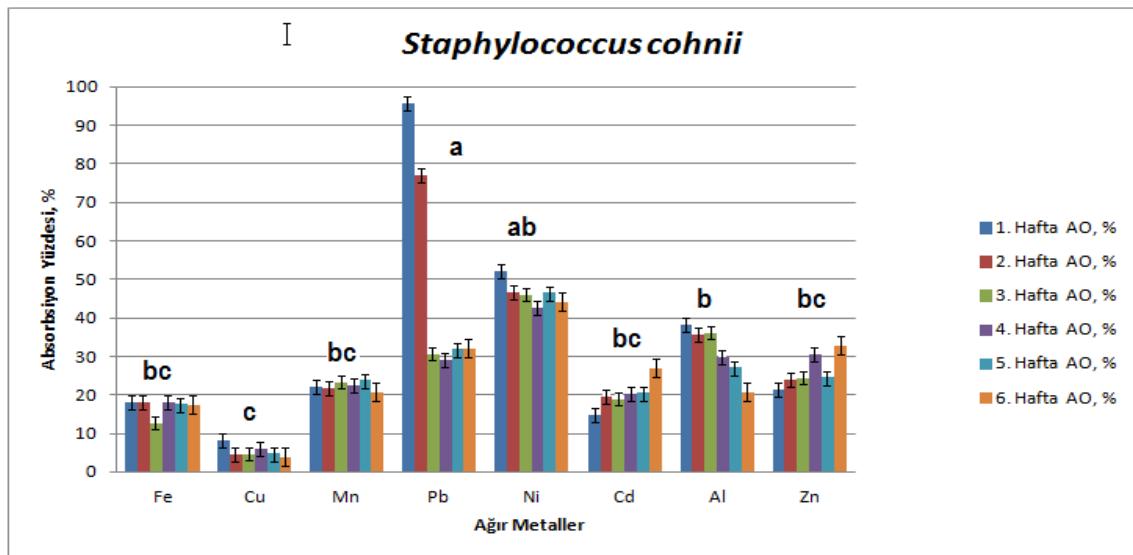
Bu aşamada, ağır metal ihtiva eden NB besiyeinden elde edilen veriye dayanarak, 5 adet en yüksek metal absorbsiyon kapasitesine sahip 44, 73, 105, 132 ve 180 kodlu bakteri izolatları denemenin II. Aşaması için topraklara uygulanmıştır. NA besiyeinde geliştirilen bakteriler toprakların tarla kapasitesindeki nem miktarları kadar su ihtiva eden NB çözeltisine aktarılmış ve inkübasyon sonucu 10^8 cfu/ml konsantrasyonuna getirilmiştirlerdir. Daha sonra bakteri ihtiva eden NB çözeltisi filtre edilerek bakteriler ayrı ayrı izole edilmiş ve filtrasyon sonrası geriye kalan bakteriler tarla kapasitesindeki su miktarı kadar steril saf su içeresine aktarılmıştır.

Elde edilen solüsyonun topraklara ilavesinin yapıldığı andan itibaren 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 gün süre ile inkübasyona tabi tutulan topraklardaki ağır metal içerikleri 1'er haftalık inkübasyon sonrasında analiz edilmiştir. Bakteri izolatı ihtiva etmeyen kontrol toprak denemesi de kurulmuş ve sonuçlar kontrol toprağına göre değerlendirilmiştir. Kontrol toprağı olarak bakteri ve ağır metal çözeltisi ilave edilmemiş toprak örneği kullanılmıştır.

4.5.1. *Staphylococcus cohnii* bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi

S. cohnii (44 No'lu) izolatının topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları ve ortalama değerler arasındaki farkları gösteren varyans analiz sonuçları Şekil 4.1'de verilmiştir.

Şekil 4.1'den görüldüğü gibi, *S. cohnii* izolatının topraklara uygulaması sonucu toprakların ağır metal içeriklerinde her metal için farklı absorbsiyon oranları belirlenmiş ve ortalama absorbsiyon oranları arasında önemli ($p <0.01$) farklılıklar gözlenmiştir. İnkübasyon sürelerinin artışına bağlı olarak *S. cohnii* izolatının ağır metal absorbsiyon oranları farklı oranlarda gerçekleşmiştir. Sırası ile bu ağır bakterisinin toprakta ağır metal absorbsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Pb, Ni, Al, Zn, Mn, Cd, Fe ve Cu sıralaması şeklinde olmuştur.



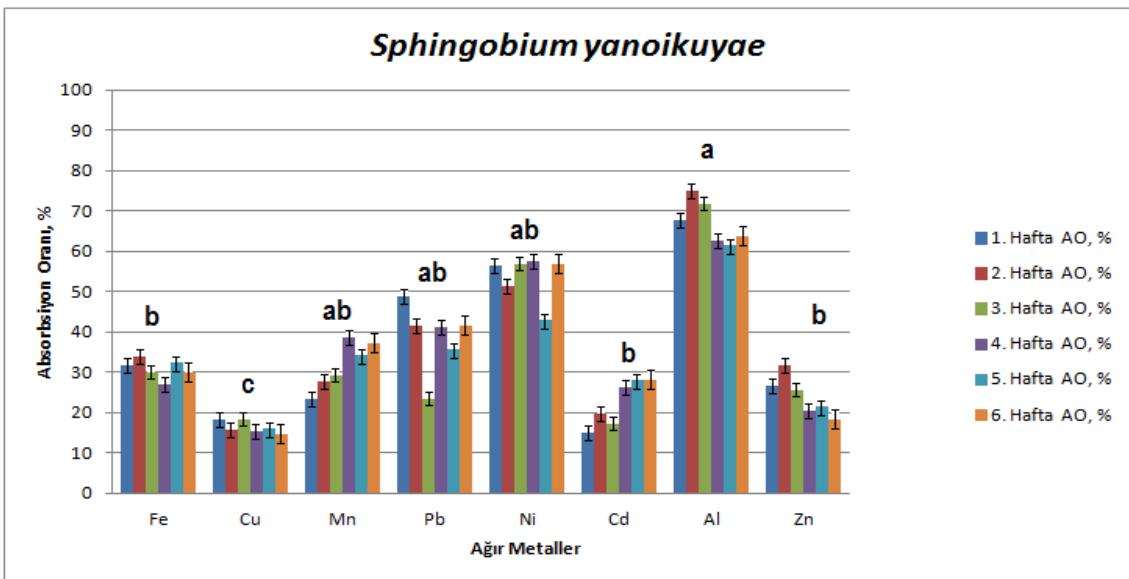
Şekil 4.1. *S. cohnii* (44 No'lu) izolatının toprakta ağır metal absorbsiyon kapasitesine bağlı % değişim oranları.

Ağır metallerde en yüksek oranda ortalama ağır metal absorbsiyonu Pb elementinde gözlenirken (% 49,37), en düşük ağır metal absorbsiyonu Cu elementinde (% 5,30) gözlenmiştir (Şekil 4.1).

Bu sonuçlara göre *S. cohnii* izolatının Pb elementini yüksek derecede absorbe ettiği belirlenmiştir. Özellikle Pb, Ni ve Al içeriği yüksek olan topraklarda kullanılabilecek bir izolat olduğu sonucuna varılmıştır. Bu konuda yapılan araştırmalarda da söz konusu izolatın ağır metal absorbsiyon kapasitesinin yüksek olduğunu ve ağır metal iyonları ile polirezistant straini olarak görev yaptıklarını ifade eden çalışmalar bizim bulduğumuz sonuçları desteklemektedir (Laukova, 1994; Bai and Bartkiewicz, 2009; Singanam, 2011).

4.5.2. *Sphingobium yanoikuyae* bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi

S. yanoikuyae (73 No'lu) izolatının topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları ve ortalama değerler arasındaki farkları gösteren varyans analiz sonuçları Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. *S. yanoikuyae* (73 No'lu) izolatının toprakta ağır metal absorbsiyon kapasitesine bağlı % değişim oranları.

Şekil 4.2'den görüldüğü gibi, *S. yanoikuyae* izolatının topraklara uygulanması sonucu toprakların ağır metal içeriklerinde her metal için farklı absorbsiyon oranları belirlenmiş ve ortalama absorbsiyon oranları arasında önemli ($p <0.01$) farklılıklar gözlenmiştir. İnkübasyon sürelerinin artışına bağlı olarak *S. yanoikuyae* bakterisinin ağır metal absorbsiyon oranları farklı oranlarda gerçekleşmiştir. Sırası ile ağır metal absorbsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Ni, Pb, Mn, Fe, Zn, Cd, ve Cu sıralaması şeklinde olmuştur.

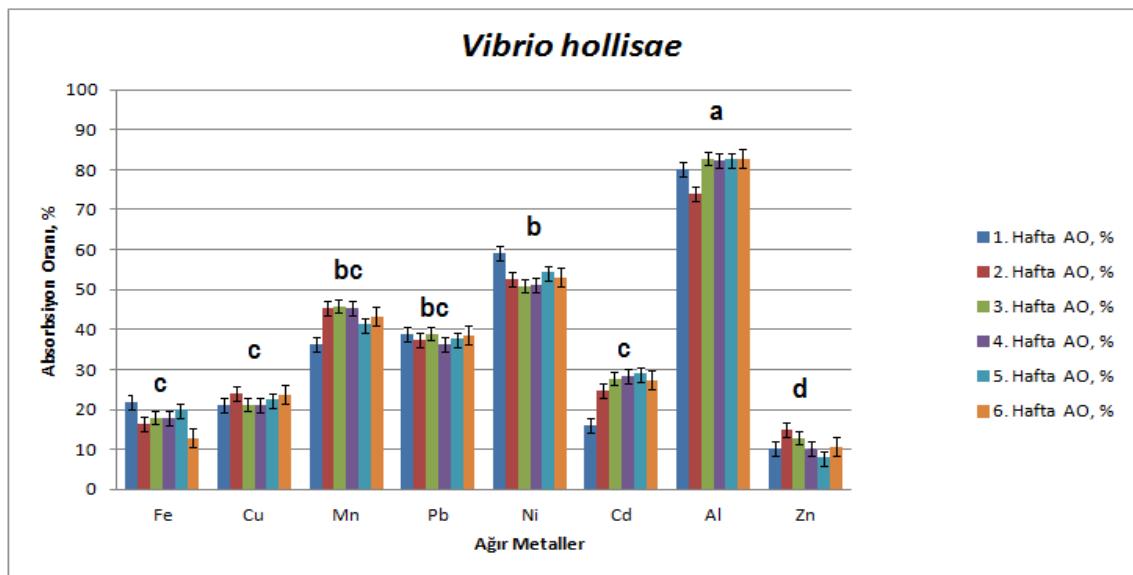
Ağır metaller içerisinde en yüksek oranda ortalama ağır metal absorbsiyonu Al elementinde gözlenirken (% 67.07), en düşük ağır metal absorbsiyonu Cu elementinde (% 16.43) gözlenmiştir (Şekil 4.2).

Bu sonuçlara göre *S. yanoikuyae* izolatının, Al elementini yüksek derecede absorbe ettiği belirlenmiştir. Özellikle Al, Ni ve Pb içeriği yüksek olan topraklarda kullanılabilen bir izotip olduğu sonucuna varılmıştır. Bu konuda yapılan araştırmalarda *Sphingobium* sp izolatının pH 7 değerinde Cu, Zn ve Cd ihtiyaç eden sıvı faz içerisinde 20 saatlik inkübasyon sonrasında Cu elementinin bakteri üzerinde toksik etkide bulunduğu ancak, Zn ve Cd iyonlarına karşı bakterinin toleransının daha

yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar ağır metal ve PAH (poliakrilamid hidrokarbon) içerikli topraklarda mikrobiyal remediasyon materyali olarak bu bakteri izolatının kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (Daugulis and Janikowski 2002; Cunliffe and Kertesz, 2006; Wang *et al.* 2013). Mevcut çalışma sonuçları bizim sonuçlarımızla ile benzerlik göstermektedir.

4.5.3. *Vibrio hollisae* bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi

V. hollisae (105 No'lu) izolatının topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları ve ortalama değerler arasındaki farkları gösteren varyans analiz sonuçları Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3. *V. hollisae* (105 No'lu) izolatının toprakta ağır metal absorbsiyon kapasitesine bağlı % değişim oranları.

Şekil 4.3'den görüldüğü gibi, *V. hollisae* bakterisinin topraklara uygulanması sonucu toprakların ağır metal içeriklerinde her metal için farklı absorbsiyon oranları belirlenmiş ve ortalama absorbsiyon oranları arasında önemli ($p < 0.01$) farklılıklar gözlenmiştir. İnkübasyon sürelerinin artışına bağlı olarak *V. hollisae* bakterisinin ağır metal

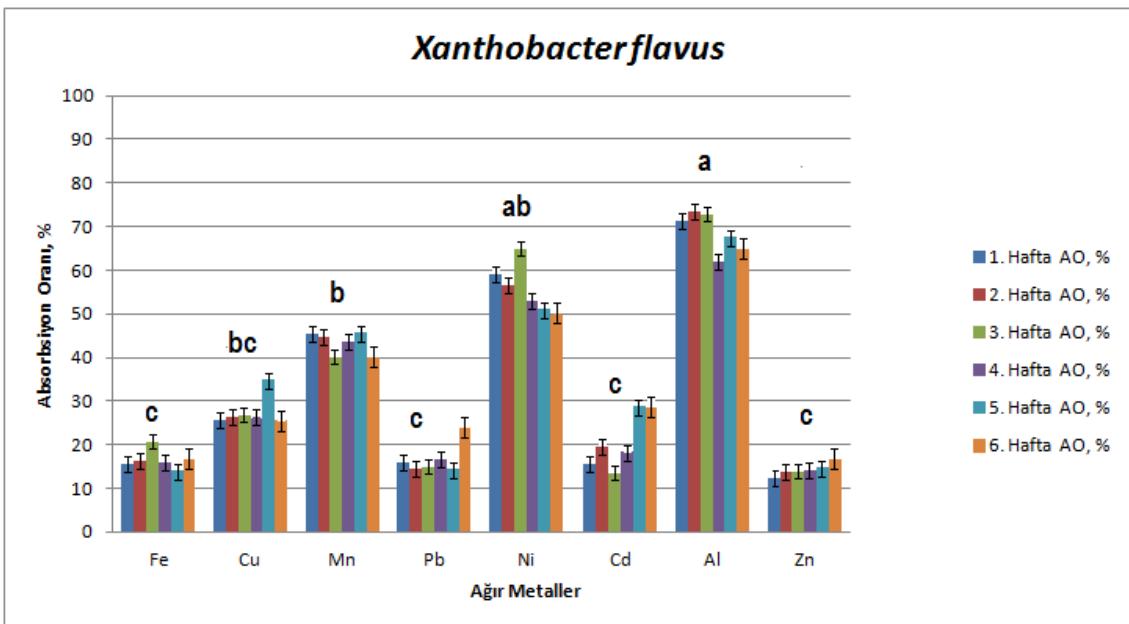
absorbsiyon oranları farklı oranlarda gerçekleşmiştir. Sırası ile ağır metal absorbsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Ni, Mn, Pb, Cd, Cu, Fe ve Zn, ve sıralaması şeklinde olmuştur.

Ağır metaller içerisinde en yüksek oranda ortalama ağır metal absorbsiyonu Al elementinde gözlenirken (% 80,77), en düşük ağır metal absorbsiyonu Zn elementinde (% 11,06) gözlenmiştir (Şekil 4.3).

Bu sonuçlara göre *V. alginolyticus* izolatının, Al elementini yüksek derecede absorbe ettiği belirlenmiştir. Özellikle Al, Ni ve Mn içeriği yüksek olan topraklarda kullanılabilen bir izolat olduğu sonucuna varılmıştır. Bu konuda yapılan araştırmalarda Cd, Cu, Pb ve Zn ağır metalleri ile kontamine olmuş su, toprak ve sedimentlerde *V. alginolyticus* bakterisinin ortamındaki Cd metalinin % 20, % 31 Cu, % 40 Pb ve % 45 Zn ağır metallerinin miktarında azalma meydana getirdiğini bilfdirmiştir. Bu sebeple bu bakterinin ağır metallerle kirlenmiş su, toprak ve sedimentlerde bioakümülatör olarak kullanılabileceği daha önce yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Roane 1999; Ansari and Malik 2007; Smith and Collins, 2007; El-Hendawy *et al.* 2009).

4.5.4. *Xanthobacter flavus* bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi

X. flavus (132 No'lu) izolatının topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları ve ortalama değerler arasındaki farkları gösteren varyans analiz sonuçları oranları Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. *X. flavus* (Bakteri 132) izolatının toprakta ağır metal absorbsiyon kapasitesine bağlı % değişim oranları.

Şekil 4.4'den görüldüğü gibi, *X. flavus* izolatının topraklara uygulanması sonucu toprakların ağır metal içeriklerinde her metal için farklı absorbsiyon oranları belirlenmiş ve ortalama absorbsiyon oranları arasında önemli ($p <0.01$) farklılıklar gözlenmiştir. İnkübasyon sürelerinin artışına bağlı olarak *X. flavus* bakterisinin ağır metal absorbsiyon oranları farklı oranlarda gerçekleşmiştir. Sırası ile ağır metal absorbsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Ni, Mn, Cu, Cd, Pb, Fe ve Zn sıralaması şeklinde olmuştur.

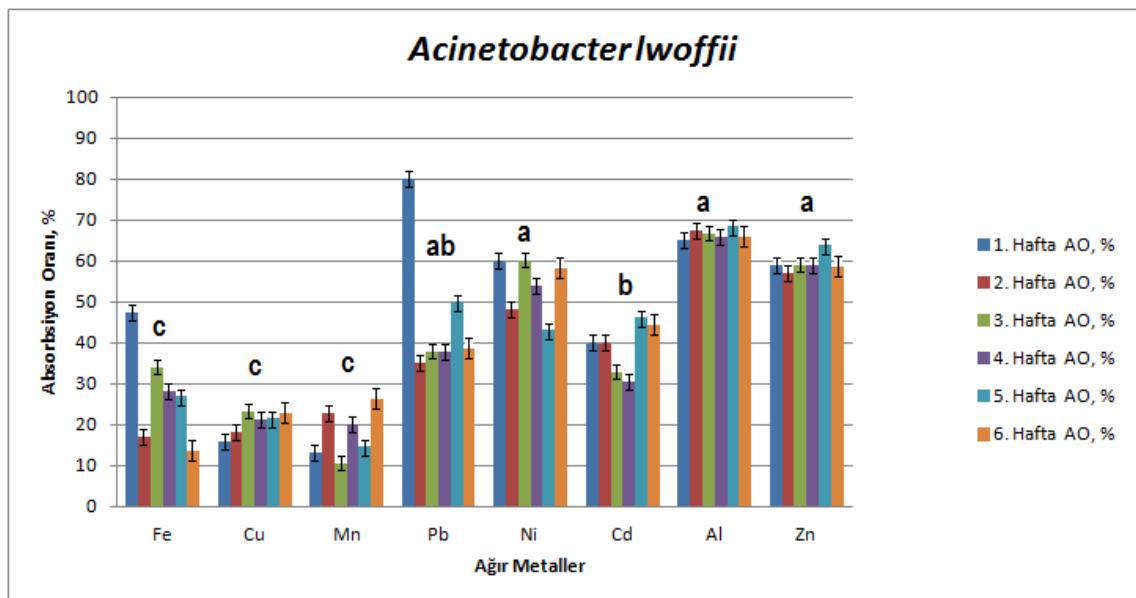
Ağır metaller içerisinde en yüksek oranda ortalama ağır metal absorbsiyonu Al elementinde gözlenirken (% 68,60), en düşük ağır metal absorbsiyonu Zn elementinde (% 14,10) gözlenmiştir (Şekil 4.4).

Bu sonuçlara göre *X. flavus* bakterisi Al elementini yüksek derecede absorbe ettiği belirlenmiştir. Özellikle Al, Ni ve Mn içeriği yüksek olan topraklarda kullanılabilecek bir izolat olduğu sonucuna varılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarında da *X. flavus* bakterisinin ağır metal absorbsiyon kapasitesinin mevcut olduğunu, pestisit ve

herbisitlerde yaygın olarak bulunan hidrokarbonların parçalanmasında *X. flavus* bakterisinin büyük rol oynadığını ve kimyasal kirleticiler, kumlu topraklar ve atıksular için mikrobiyal parçalayıcı olduğunu ihtiva eden çalışmalar bizim sonuçlarımız ile paralellik göstermektedir (Olaniran *et al.* 2001; Lee *et al.* 2002a; Lee *et al.* 2002b; Song *et al.* 2003).

4.5.5. *Acinetobacter lwoffii* bakterisinin toprak ağır metal içeriğine etkisi

A. lwoffii (Bakteri 180) bakterisinin topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyona bırakılan toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % değişim oranları ve ortalama değerler arasındaki farkları gösteren varyans analiz sonuçları Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. *Acinetobacter lwoffii* (Bakteri 180) izolatının toprakta ağır metal absorbsiyon kapasitesine bağlı % değişim oranları.

Şekil 4.5'den görüldüğü gibi, *A. lwoffii* bakterisinin topraklara uygulaması sonucu toprakların ağır metal içeriklerinde her metal için farklı absorbsiyon oranları belirlenmiş ve ortalama absorbsiyon oranları arasında önemli ($p < 0.01$) farklılıklar gözlenmiştir.

İnkübasyon sürelerinin artışına bağlı olarak *A. lwoffii* bakterisinin ağır metal absorbsiyon oranları farklı oranlarda gerçekleşmiştir. Sırası ile ağır metal absorbsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Zn, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu ve Mn sıralaması şeklinde olmuştur.

Toprak ağır metalleri içerisinde en yüksek oranda ortalama ağır metal absorbsyonu Al elementinde gözlenirken (% 66,57), en düşük ağır metal absorbsyonu Mn elementinde (% 17,93) gözlenmiştir (Şekil 4.5).

Bu sonuçlara göre *A. lwoffii* izolatının Al elementini yüksek derecede absorbe ettiği belirlenmiştir. Özellikle Al, Zn ve Ni içeriği yüksek olan topraklarda kullanılabilecek bir izolat olduğu sonucuna varılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarında da Bakteri 180'ün ağır metal absorbsyon kapasitesinin mevcut olduğunu ve *Acinetobacter* bakterisinin toprakta, taze sularda, atık sularda ve katı atıklarda biodegradasyona ve organik ve inorganik zararlı atıklardaki ağır metallerin uzaklaştırılmasında önemli bir rolü olduğunu ifade eden çalışmalar bizim sonuçlarımızı desteklemektedir (Bossert and Bartha 1984; Boswell *et al.* 2001; Abdel-El-Haleem 2003).

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yapılan araştırma sonuçlarına göre; ağır metal (Al, Zn, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu ve Mn) ihtiva eden NB besiyeri ve bu besiyeri üzerine ilave edilen 13 adet bakteri izolatının metaller üzerindeki absorbsiyon kapasiteleri farklı seviyelerde gözlemlenmiştir. Özellikle 5 adet bakteri izolatı (44, 73, 105, 132 ve 180 No'lu bakteriler) en yüksek oranda metal absorbsiyonu yapmışlardır.

Absorbsiyon kapasitesi bakımından etkinliği en yüksek değer gösteren 5 adet bakteri izolatı (44, 73, 105, 162 ve 180 No'lu) toprakta ağır metal kirliliğini azaltmak için topraklara ilave edilmişlerdir. Topraklara bakteri ilavesinden 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 gün sonra bakterilerin absorbsiyon kapasiteleri karşılaştırıldığında;

S. cohnii izolatının ağır metaller içerisinde sırası ile en yüksektan en düşüğe doğru Pb, Ni, Al, Zn, Mn, Cd, Fe ve Cu sıralaması şeklinde absorbsiyon gücüne sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bakteri; en yüksek oranda Pb elementi (%49,37), en düşük oranda ise Cu elementi (%5,30) üzerine absorbsiyon kapasitesi göstermiştir.

S. yanoikuyae izolatının ağır metaller içerisinde sırası ile en yüksektan en düşüğe doğru Al, Ni, Pb, Mn, Fe, Zn, Cd ve Cu sıralaması şeklinde absorbsiyon gücüne sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bakteri; en yüksek oranda Al elementi (%67,07), en düşük oranda ise Cu elementi (%16,43) üzerine absorbsiyon kapasitesi göstermiştir.

V. hollisae izolatının ağır metaller içerisinde sırası ile en yüksektan en düşüğe doğru Al, Ni, Mn, Pb, Cd, Cu, Fe ve Zn sıralaması şeklinde absorbsiyon gücüne sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bakteri; en yüksek oranda Al elementi (%80,77), en düşük oranda ise Zn elementi (%11,06) üzerine absorbsiyon kapasitesi göstermiştir.

X. flavus izolatının ağır metaller içerisinde sırası ile en yüksektan en düşüğe doğru Al, Ni, Mn, Cu, Cd, Pb, Fe ve Zn sıralaması şeklinde absorbsiyon gücüne sahip olduğu

gözlenmiştir. Bu bakteri; en yüksek oranda Al elementi (% 68,60), en düşük oranda ise Zn elementi (%14,10) üzerine absorbsiyon kapasitesi göstermiştir.

A. lwoffii izolatının ağır metaller içerisinde sırası ile en yüksektende düşüğe doğru Al, Zn, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu ve Mn sıralaması şeklinde absorbsiyon gücüne sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bakteri; en yüksek oranda Al elementi (%66,57), en düşük oranda ise Mn elementi (%17,93) üzerine absorbsiyon kapasitesi göstermiştir.

Öneriler

Yapılan araştırma sonucuna bağlı olarak;

- 1-** Bakteriler içerisinde *S. Cohnii*, *S. Yanoikuyae*, *V. Hollisae*, *X. Flavus* ve *A. Lwoffii* izolatlarının ağır metallerle (Al, Zn, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu ve Mn) kirlenmiş toprakların veya sedimentlerin ağır metallerinin uzaklaştırılmasında önerilebilir.
- 2-** Yoğun olarak Pb, Ni ve Al gibi ağır metallerle kirlenmiş toprakların ıslahında *S. Cohnii* ve *S. Yanoikuyae* izolatlarının kullanımı önerilebilir.
- 3-** Al, Ni ve Mn gibi ağır metallerle kirletilmiş toprakların ıslahında *V. Hollisae* ve *X. Flavus* izolatlarının kullanımı önerilebilir.
- 4-** Al, Zn ve Ni gibi ağır metallerle kirletilmiş toprakların ıslahında *A. Lwoffii* izolatının kullanımı önerilebilir.

Yapılan çalışmadan belirlenen bakteri izolatlarının ağır metal kirliliğini giderme yönünde yapılacak olan bioremediasyon çalışmalarında katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abdel-El-Haleem, D., 2003. *Acinetobacter*: environmental and biotechnological applications. African Journal of Biotechnology Vol. 2 (4), pp. 71-74.
- Alexander, M. 1999. Biodegradation and bioremediation second edition, Academic Press New York.
- Anderson, J.P.E., 1982.. Soil Respiration. Soil Sampling and Methods of Analysis. Chapter 2. Chemical and Microbiological Properties. Am. Soc. Agron. Madison, Wisconsin USA. pp: 838-845.
- Anonim, 1994. DSİ Teknik Bülteni. Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, No: 80, Ankara.
- Anonim, 2006. Kirleticiler-1, Ağır Metaller, Çevre için hekimler Derneği, (www.cevrehekim.org).
- Ansari, M. I. and Malik, A., 2007. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial waste water> bioresource Technology. 98 (16): 3149-3153.
- Arhan, Y., 1986. About ECRA. Invironmental Management for Developing Countries, Preprints of the Third Symposium, İstanbul, Envitek. A.Ş. Ağustos 6 – 12, 1986.
- Aşkale'nin Tarihi. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı. Erzurum / Aşkale - Aşkale Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi.
http://askalemtal.meb.k12.tr/meb_iys_dosyalar/25/02/965570/icerikler/askalenin_tarihi_288435.html
- Aydın, A. ve Sezen, Y., 1995. Toprak kimyası laboratuar kitabı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No:174, Erzurum.
- Bai, Y. and Bartkiewicz, B., 2009. Removal of cadmium from wastewater using ion exchange resin amberjet 1200H columns. Pol. J. Environ. Stud. 18, 1191.
- Bosecker, K., 2001. Microbial leaching in environmental clean-up programmes, *Hydrometallurgy*, 59, 245-248.
- Bossert, I. and Bartha, R., 1984. The fate of petroleum in the soil ecosystems,. In R. M. Atlas (ed.), Petroleum microbiology. Macmillan, New York, N.Y. pp. 435-473.
- Boswell, C.D, Dick, R.E, Eccles, H, Macaskie, L.E., 2001. Phosphate uptake and release by *Acinetobacter johnsonii* in continuous culture and coupling of phosphate release to heavy metal accumulation. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 26:333-340
- Bulut, Y., 2003 Çeşitli Bitkisel Atıklar Üzerinde Ağır Metal Adsorpsiyon Kinetiği ve Dengesinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır
- Chubar, N., Carvalho, J., Correia, M., 2004. Heavy metals biosorption on cork biomass: effect of the pre-treatment, Physicochem. Eng. Aspects 238:51-58,
- Cookson, J.T., 1995. Bioremediation engineering: Design and Applications. Mc Graw Hill, New York. c1995 xv, 524 p.
- Cunliffe, M. and Kertesz, M.A., 2006. Effect of *Sphingobium yanoikuyae* B1 inoculation on bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in aged and freshly PAH-contaminated soils. Environ Pollut 144(1):228–237.

- Daugulis, A.J. and Janikowski, T.B., 2002. Scale-up performance of a partitioning bioreactor for the degradation of polyaromatic hydrocarbons by *Sphingomonas aromaticivorans*. *Biotechnol Lett* 24:591–594
- Demiralay, İ., 1993. Toprak fiziksel analizleri, Atatürk Univ. Ziraat Fak. Yay. No:143, Erzurum.
- DİE, Devlet istatistik Enstitüsü, 2003, 14 Mayıs 2001 Yılına Ait Belediye Katı Atık İstatistikleri Anketinin Geçici Sonuçları, Ankara.
- El-Hendawy, H.H., Dena, A., El-Shatoury, E.H., Ghanem, S.M., 2009. Bioaccumulation of heavy metals by *Vibrio alginolyticus* isolated from wastes of Iron and Steel Factory, Helwan, Egypt. *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, 1(1): 23-28.
- EPA., 1995. Contaminants and remedial options at select metals-Contaminated Sites, EPA/540/R-95/512.6.
- Francisco R, Alpoim MC, Morais PV (2002). Diversity of chromium-resistant and -reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. *J. Appl. Microbiol.* 92:837-43.
- Freeze, R.A. and Cherry, J.A., 1997. Groundwater Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A.
- Gee, G.W. and Bauder, J.W., 1986. Practice-size analysis. Methods of soil analysis Part I. Physical and Mineralogical Methods, Second Edition. American Society of Agronomy, Soil Sci. Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 383-409.
- Germida JJ (1993). Cultural methods for soil microorganisms. In: Martin RC, editor. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Boca Raton, FL, USA: Lewis Publishers, pp. 263–275.
- Goh, T. Boon., Arnaud, R.J.St., Mermut, A.R., 1993. Carbonators. Chapter 20, Soil sampling and methods of analysis. Edited by: Martin R. Carter. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 177-185.
- Hardman, D.J., P.C. Gowland, and J.H. Slater. 1986. Large plasmids from soil bacteria enriched on halogenated alkanoic acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 44-51.
- Hendershot, W.H., Lalande, H., Duquette, M., 1993. Soil reaction and exchangeable acidity. Chapter 16, *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Edited by: Martin R. Carter. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 141-145.
- Hussein, H., Ibrahim, S.F., Kandeel, K., Moawad, H., 2004. Biosorption of heavy metals from wastewater using *Pseudomonas* sp. *Electron J Biotechn*, 7: 38-46.
- İlier, R. and Mavituna, F., 1991. Biosorption of copper from aqueous solutions by immobilised *Rhizopus arrhizus*. In: 1.st International Symposium on Environmental Pollution, June, 1: 74-79, İzmir-Türkiye. 1991.
- Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Güven A., Timur S., (2004), "Metallerin Çevresel Etkileri-I", Metalurji Dergisi, s. 47-53, 136 p.
- Karaca, A. ve Turgay, O.C., 2012. Toprak Kirliliği. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi. 1(1):13-19.
- Kızıloğlu, F.T. ve Bilen, S., 1997. Toprak mikrobiyolojisi laboratuvar uygulamaları. Atatürk. Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları No:193, Atatürk Üni.Zir.Fak. Ofset Tes. Erzurum.
- Knudsen, D., Peterson, G.A., Pratt, P.F., 1982. Lithium, sodium and potassium. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties Second

- Edition. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 225-245.
- Lanyon, L.E. and Heald, W.R., 1982. Magnesium, calcium, strontium and barium. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 247-260.
- Laukova, A., 1994. Resistance to heavy metals in ruminal staphylococci. *Vet Med (Praha)*. 1994;39(7):389-95.
- Lee, S.Y., M.S. Song, K.M. You, B.H. Kim, S.H. Bang, I.S. Lee, C.K. Kim, Y.K. Park. 2002b. Monitoring 4-chlorobiphenyldegrading bacteria in soil microcosms by competitive quantitative PCR. *J. Microbiol.* 40, 274-281.
- Lee, W.S., Park, C.S., Kim, J.E., Yoon, B.D., Oh, H.M., 2002a. Characterization of TCE degrading bacteria and their application to wastewater treatment. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12, 569- 575.
- Mc Gill, W.B. and Figueiredo, C.T., 1993. Total nitrogen. Chapter 22. Soil Sampling and Methods of Analysis. Edited by: Martin R.Carter. Canadian Society of Soil Sci. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 201-211.
- MEB, 2013. Aşkale'nin tarihi. T.C. millî eğitim bakanlığı. Erzurum / Aşkale - Aşkale Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi. http://askalemtal.meb.k12.tr/tema/icerikler/askalenin-tarihi_288435.html
- Mertens, D., 2005. AOAC Official Method 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. Official Methods of Analysis, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp 3-4, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA
- Olaniran, A.O., Babalola, G.O. Okoh, A.I., 2001. Aerobic dehalogenation potentials of four bacterial species isolated from soil and sewage sludge. *Chemosphere* 45, 45-50.
- Olsen, S.R. and Sommers, L.E., 1982. Phosphorus. Methods of Soil Analysis Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. American Society of Agronomy. Soil Sci. Society of Amerika-Madison, Wisconsin, USA, 403-427.
- Rhoades, J.D., 1982. Cation exchange capacity. Methods of Soil Analysis Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Second Edition American Soci. Of Argon. Soil Science Society of Amerika-Madison, Wisconsin, USA, 149-157.
- Roane, T.M., 1999. Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metalcontaminated soils. *Microb. Ecol.* 37:218-224.
- Rusansky S, Avigad R, Michaeli S, Gutnick DL (1987). Involvement of a plasmid in growth on and dispersion of crude oil by *Acinetobacter calcoaceticus* RA57. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:1918-1923.
- Sağlam, T., 1994. Toprak ve suyun kimyasal analiz yöntemleri. Trakya Üni. Tekirdağ Ziraat Fak. Yay., No:189.
- Saygılı, H., 1995. Fitobakteriyoloji, Ege Üni.Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Ders Kitabı, Doğruluk Matbaası, Bornova-İzmir.
- Sever, R., 2000. Aşkale Yöresinin Hidrografik Özellikleri ve Buna İlişkin Bazı Sorunlar. Doğu Coğrafya Dergisi, 6 (1), 187-199.
- Smith, J.L. and Collins, H.P., 2007. Management of organisms and their processes in soils,. In *Soil Microbiology, ecology and biochem.*, ed by Eldor A.P.. Elsevier Inc., Bulington, USA pp.389-430.

- Soil Survey Staff., 1999. Soil Taxonomy a Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys 2nd ed. US Dept. Agric. Soil Conservation Service Washington.
- Somasegaran, P. and Ben Bohlool, B., 1990. Singke-strain versus multistrain inoculation. Effect of soil mineral nitrogen availability on rhizobial strain effectiveness and competition for nodulation on chickpea, soybean and dry bean. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (11), 3298-3303.
- Song, J.S., Lee, D.H., Lee K., Kim, C.K., 2003. Characteristics of Several Bacterial Isolates Capable of Degrading Chloroaliphatic Compounds via Hydrolytic Dechlorination. *The Journal of Microbiology*, December 2003, p.277-283.
- Tiessen, H. and Moir, J.O., 1993. Total organic carbon. Chapter 21. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Edited by: Martin R.Carter. Canadian Soc. of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 187-199.
- Tsezos ve Volesky, "Biosorption of Uranium and Thorium", Biotech. And Bioeng 23:583-604, 1981
- Türkoğlu B., 2006, Toprak kirlenmesi ve kirlenmiş toprakların ıslahı, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Volesky B., 2003. Sorption and Biosorption. Montreal, Kanada: BV Sorbex, Inc, 316.
- Volesky B., 2004. Sorption and Biosorption. St. Lambert, Quebec: BV Sorbex, Inc, 103-28.
- Wang, C., Wang, F., Hong, Q., Zhang, Y., Kengara, F.O., Li, Z., Jiang, X., 2013. Isolation and characterization of a toxic metal-tolerant Phenanthrene-degrader *Sphingobium sp.* in a two-liquid-phase partitioning bioreactor (TPPB). *Environmental Earth Sciences*, Volume 70, Issue 4, pp 1765–1773.
- Wuana, A.R. and Okieimen, F. E., 2011. HeavyMetals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. International Scholarly Research Network ISRN Ecology, Article ID 402647, 20 pages.
- Yıldız, N. ve Bircan, H., 1991. Araştırma ve deneme metotları, Atatürk Univ. Yay., No:697, Zira. Fak. Yay. No:305, Ders Kitapları Serisi No:57, Erzurum.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Fatih/İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini tamamladıktan sonra, 2009 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimine başladı. Aynı bölümde 2013 yılında Biyolog olarak mezun oldu. 2013 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Besleme ve Toprak Ana Bilim Dalı'nda 1 yıllık bilimsel hazırlık eğitiminden sonra yüksek lisans eğitimi'ne başladı.