



**ÇÖP SIZINTI SUYU VE AĞIR METAL KİRLİLİĞİ
OLAN TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN BİOREMEDİASYONDA
KULLANIM POTANSİYELLERİNİN
İNCELENMESİ**

**2023
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ**

Burak Feyyaz SAVAŞ

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan KOCAMAN**

**ÇÖP SIZINTI SUYU VE AĞIR METAL KİRLİLİĞİ OLAN
TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN
BİOREMEDİASYONDA KULLANIM POTANSİYELLERİNİN
İNCELENMESİ**

Burak Feyyaz SAVAŞ

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Ayhan KOCAMAN

T.C.

Karabük Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Çevre Bilimleri Anabilim Dalında

Yüksek Lisans Tezi

Olarak Hazırlanmıştır

KARABÜK

Ocak 2023

Burak Feyyaz SAVAŞ tarafından hazırlanan “ÇÖP SIZINTI SUYU VE AĞIR METAL KİRLİLİĞİ OLAN TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN BİOREMEDİASYONDA KULLANIM POTANSİYELLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Ayhan KOCAMAN

.....

Tez Danışmanı, Çevre Bilimleri Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından Oy Birliği ile Çevre Bilimleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 20/01/2023

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmza

Başkan : Prof. Dr. Faruk ÖZKUTLU (ODÜ)

.....

Üye : Prof. Dr. Tülay EKEMEN KESKİN (KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ayhan KOCAMAN (KBÜ)

.....

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Müslüm KUZU

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Burak Feyyaz SAVAŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇÖP SIZINTI SUYU VE AĞIR METAL KİRLİLİĞİ OLAN TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN BİOREMEDİASYONDA KULLANIM POTANSİYELLERİNİN İNCELENMESİ

Burak Feyyaz SAVAŞ

Karabük Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Ayhan KOCAMAN

Ocak 2023, 45 sayfa

Artan kentsel nüfus ve ekonomik faaliyetlere bağlı olarak düzensiz depolama alanlarının sayısı ve depolama kapasiteleri artmaya devam ettikçe, belediye çöplüklerinden sızıntı suyu üretimi daha da artmaktadır. Belediye çöp sızıntı suları farklı bileşenleri arasında bulunan çözülmüş organik maddeler, ağır metal ile bağlanma potansiyeline sahip ve biyolojik olarak parçalanmadıkları için düşük seviyede bile biyolojik sistem için toksik özellikleri ile ülkelerdeki tatlı su kütlelerinin kirlenmesine ve kullanımının azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca, sızıntı suyunun büyük bir bölümünü oluşturan ağır metaller biyobirikimli ve toksik olduğu kadar endokrin bozucu ve kanserojendir. Fakat, gelişmekte olan ülkelerin çoğunda, yanlış yönetilen açık depolama sahaları, kontrollü ve mühendislik ürünü depolama alanlarının işletme maliyetlerine bağlı olarak daha yaygın uygulanmaktadır.

Bioremediasyon süreçleri ise, çevre kirliliğini iyileştirmek veya nihai ürünlere dönüştürmek için tehlikeli maddeleri zararsız veya daha az zararlı maddelere ayırmak için mikroorganizmaları kullanan uzun vadeli arıtma süreçleridir. Bu süreç, kirleticiyi parçalayan mikropların kirleticiyle yakın temas halinde ve doğru yerde olmasını gerektirir. Bu nedenle, çevresel şartlara bağlı olarak bu çalışmada Karabük ili çevre şartlarına ve kirliliğin olduğu bölgelere uyum sağlamış ağır metal toleransı yüksek olan üç mikro organizma izole edilmiştir. Çöp sızıntı suyunun yer altı sularına sızarken ağır metal giderim verimini incelemek bakteri aşılansız ve aşılansız olacak şekilde farklı biyolojik kum filtreleri yapılmıştır. Hiç bakteri aşılansız kum filtresinde Cd %11, Ni %46, Pb %83, Cr %14, Co %20, Cu %60 ve B %38, *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* aşılansız biyolojik kum filtresinde Cd (%78, %67 ve %78), Ni (%64, %57 ve %56), Pb (%99, %75, %76), Cr (%41, %46 ve %19), Co (%45, %60 ve %40), Cu (%80, %80, %60), B (%58, %25, %23) oranlarında başlangıçtaki çöp sızıntı suyunun içerik konsantrasyonlarına ağır metal giderimi verimi sağlanmıştır. Aynı bakteriler labratuvarda 10 ppm konsantrasyonlarında Cd, Ni ve Pb içeren sıvı besiyerlerinde 24, 48, 72, 96 saatlik inkübasyon şartlarında ağır metal giderim verimleri incelenmiştir. Ni konsantrasyonunda *Enterobacter hormaechei* (%1, %15.9, %42.4 ve %45.8), *Priestia aryabhatai* (%0.1, %14.1, %25.3 ve %60.3), Cd konsantrasyonunda *Enterobacter hormaechei* (%4.5, %7.6, %17.6 ve %18.3), *Priestia aryabhatai* bakterisinde (%0.1, %0.2, %2.5 ve %3.6), Pb konsantrasyonunda *Enterobacter hormaechei* (%10.9, %21.6, %27.7 ve %42.9), *Priestia aryabhatai* (%3.8, %3.8, %7.5 ve %10.9) oranlarında azalma sağlanmıştır. Aynı bakterilerin 10 ppm konsantrasyonlarda Ni, Cd ve Pb ile kirletilmiş toprak kültürlerinde 7, 14, 21 ve 28 günlük zaman aralıklarında ağır metal absorpsiyon verimleri incelenmiş, Ni konsantrasyonunda *Enterobacter hormaechei* (%0.6, %0.6, %1.9 ve %9.5), *Priestia aryabhatai* (%0.1, %14.1, %25.3 ve %60.3), Cd konsantrasyonunda *Enterobacter hormaechei* (%0.1, %0.1, %0.2 ve %4.15), *Priestia aryabhatai* bakterisinde (%0.1, %0.3, %0.4 ve %0.7), Pb konsantrasyonunda *Enterobacter hormaechei* (%0.1, %0.2, %0.5 ve %0.9), *Priestia aryabhatai* (%0.3, %0.7, %0.8 ve %1.1) oranlarında absorpsiyon sağlanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre özellikle sızıntı sularının olduğu alanlarda yapılacak doğal biyolojik filtre sistemlerinde bu bakterilerin kullanımı ile çöp sızıntı sularının ağır metal konsantrasyonlarının azaltılmasında etkili olabileceğinin yanı sıra literatürlerde

tarımda bitki büyümesinin düzenleyici etkilerinin yanında bitkilere ağır metal ile kirlenmiş tarımsal alanlarda bitkilere topraktan ağır metal alımına etkisine de katkı sunulacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler : *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai*, ağır metal, sızıntı suyu, kirlilik, su arıtma, atık su

Bilim Kodu : 90315

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF THE USE POTENTIALS IN BIOREMEDIATION OF BACTERIA ISOLATED FROM WASTE LEAK WATER AND SOILS WITH HEAVY METAL POLLUTION

Burak Feyyaz SAVAŞ

Karabuk University

Graduate School of Education

Department of Environmental Sciences

Thesis Advisor:

Assist. Prof. Dr. Ayhan KOCAMAN

January 2023, 45 pages

As the number of domestic landfills and their storage capacities continue to increase due to the increasing urban population and economic activities, leachate production from municipal landfills is increasing. Bioremediation processes are long-term treatment processes that use microorganisms to break down hazardous substances into harmless or less harmful substances to improve environmental pollution or convert them into final products. This process requires the microbes that break down the contaminant to be in close contact with the contaminant and in the right place. Therefore, in this study, depending on environmental conditions, three microorganisms with high tolerance to heavy metals that have adapted to environmental conditions and polluted regions of Karabuk province were isolated. To examine the heavy metal removal efficiency of garbage leachate infiltrating groundwater, different biological sand filters were made in such a way that bacteria were inoculated and

uninoculated. Cd 11%, Ni 46%, Pb 83%, Cr 14%, Co 20%, Cu 60% and B 38%, *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* and *Mycobacterium sacrum* inoculated biological sand filter Cd (78%, 78%) 67% and 78%), Ni (64%, 57% and 56%), Pb (99%, 75%, 76%), Cr (41%, 46% and 19%), Co (45%, 60%) and 40%), Cu (80%, 80%, 60%), B (58%, 25%, 23%) ratios, heavy metal removal efficiency was achieved for the content concentrations of the initial garbage leachate. Heavy metal removal efficiencies of the same bacteria were investigated in the laboratory at 10 ppm concentrations in liquid media containing Cd, Ni and Pb at 24, 48, 72, 96 hours incubation conditions. *Enterobacter hormaechei* at Ni concentration (1%, 15.9%, 42.4% and 45.8%), *Priestia aryabhatai* (0.1%, 14.1%, 25.3% and 60.3%), *Enterobacter hormaechei* at Cd concentration (4.5%, 7.6%, 17.6% and 18.3%), *Priestia aryabhatai* (0.1%, 0.2%, 2.5%, and 3.6%), Pb concentration *Enterobacter hormaechei* (10.9%, 21.6%, 27.7% and 42.9%), *Priestia aryabhatai* (3.8%, 3.8%, 7.5% and 7.5%) 10.9) rates were reduced. Heavy metal absorption efficiencies of the same bacteria in soil cultures contaminated with Ni, Cd and Pb at 10 ppm concentrations at 7-, 14-, 21- and 28-days time intervals were investigated. (0.1%, 14.1%, 25.3% and 60.3%), *Enterobacter hormaechei* (0.1%, 0.1%, 0.2% and 4.15%) at Cd concentration, *Priestia aryabhatai* (0.1%, 0.3%, 0.4% and 0.7%), Pb At concentrations of *Enterobacter hormaechei* (0.1%, 0.2%, 0.5% and 0.9%), and *Priestia aryabhatai* (0.3%, 0.7%, 0.8% and 1.1%), absorption was achieved. According to the results of the study, the use of these bacteria in natural biological filter systems to be built in areas with leachate waters can be effective in reducing heavy metal concentrations of garbage leachate, as well as the regulatory effects of plant growth in agriculture in the literature, as well as contributing to the effect of heavy metal uptake from soil to plants in agricultural areas contaminated with heavy metals. is thought to be presented.

Keywords : *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai*, heavy metal, leachate, pollution, water treatment, waste water

Science Code : 90315

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, iki yıl boyunca değerli bilgilerini benden esirgemeyen, tezimin her aşamasında zamanından, ailesinden ödün vererek benim ile zaman mekân fark etmeksizin çalışan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayhan KOCAMAN'a, yine tezimin büyük bir bölümünde bilgi ve birikiminden defalarca yararlandığım ayrıca kendi laboratuvar imkanlarını sonuna kadar kullandıran Öğr. Üyesi Kâmil SARP KAYA hocama ayrıca uzmanlığından defalarca yararlandığım Dr. Derya İŞLER CEYHAN hocama teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, analiz aşamasında benden desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Âdem GÜNEŞ hocama ve Safranbolu Belediyesi Su ve Kanalizasyon İşleri Müdürlüğü çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne KBU YL-031 numaralı projemde verdikleri maddi destek için teşekkürlerimi sunarım. Çok sevgili arkadaşım Çiğdem ERGİN'e çalışmamın her aşamasında sağladığı maddi ve manevi destekler için teşekkürü borç bilirim. Gerek maddi gerek manevi bana öğrenim hayatım boyunca her zaman destek olan annem Elif SAVAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
İÇİNDEKİLER	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1. ÇEVRE KİRLİLİĞİ	1
1.2. TOPRAK KİRLİLİĞİ	2
1.3. SU KİRLİLİĞİ	4
1.3.1. Çöp Sızıntı Suları	4
1.4. AĞIR METALLERİN TOPRAK ÜZERİNDE ETKİSİ.....	7
1.5. AĞIR METALLERİN ÇEVRE VE İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ.....	8
BÖLÜM 2	10
LİTERATUR ÖZETİ.....	10
BÖLÜM 3	13
DENEYSEL PROGRAM MATERİYAL VE METOT.....	13
3.1. BAKTERİYEL KÜLTÜRLERİN ELDE EDİLMESİ.....	13
3.2. AĞIR METAL STOK ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANMASI.....	13
3.3. İZOLATLARIN AĞIR METAL TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ 14	
3.4. BAKTERİYEL İZOLATLARIN 16S RDNA GEN BÖLGESİ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU.....	14
3.5. BİYOLOJİK KUM FİLTRESİ.....	15

3.6. İZOLE BAKTERİLERİN TOPRAK KÜLTÜRÜNDE AĞIR METAL ABSORPSİYON KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ	16
3.6.1. Topraktaki Toplam Mineral Elementi İçeriği.....	17
3.7. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN SIVI BESİYERİNDE AĞIR METAL ABSORPSİYON KAPASİTESİ BELİRLENMESİ	17
3.7.1. Çöp Sızıntı Suyu ve Bakterilerin Ağır Metal İçerik Analzileri	18
3.8. İSTATİKSEL ANALİZ	18
BÖLÜM 4	19
SONUÇLAR	19
4.1. BAKTERİYEL İZOLATLARIN 16S RDNA GEN BÖLGESİ İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYON	19
4.2. ÇÖP SIZINTI SUYUNUN ELDE EDİLEN BAKTERİYEL İZOLATLAR İLE BİYOLOJİK KUM FİLTRELERİNDE BİOREMEDİASYON POTANSİYELLERİ	21
4.3. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN SIVI BESİYERİ İÇERİSİNDE AĞIR METAL BİOREMEDİASYON KAPASİTELERİ	23
4.4. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN TOPRAK KÜLTÜRÜ İÇERİSİNDEKİ AĞIR METAL BİOREMİDİASYON KAPASİTELERİ	26
BÖLÜM 5	30
TARTIŞMA	30
5.1. ÇÖP SIZINTI SUYUNDA AĞIR METAL GİDERİM VERİMLERİ	31
5.2. SIVI BESİYERİ VE TOPRAK KÜLTÜRÜNDE, İZOLE BAKTERİLERİN AĞIR METAL GİDERİM VERİMLERİ	32
5.3. ÖNERİLER	34
KAYNAKÇA	37
ÖZGEÇMİŞ	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Sızıntı suyu oluşumu ve katı atık bileşenleri	5
Şekil 1.2. Düzenli depolama alanlarında sızıntı suyu oluşumu	6
Şekil 3.1. En çok gelişme gösteren izolatlar.	14
Şekil 3.2. a) DNA izolasyon aşaması, b, c) PCR aşamaları DNA izolasyon aşaması, b,c) PCR aşamaları.	15
Şekil 3.3. Biyolojik kum filtre sistemleri.	16
Şekil 4.1. Agoroz jel elektroforez görüntüsü.	20
Şekil 4.2. 16S rDNA gen dizilerine dayanan filo-genetik ağaç.	21
Şekil 4.3. Farklı bakteriler uygulanan kum filtrelerinin çöp sızıntı suyu içeriğinde meydana gelen değişimler.	23
Şekil 4.4. <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Priestia aryabhatai</i> ve <i>Mycobacterium sacrum</i> bakterilerinin Nikel absorbe etme miktarlarının zamana bağlı değişimi. ..	24
Şekil 4.5. <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Priestia aryabhatai</i> ve <i>Mycobacterium sacrum</i> bakterilerinin Kurşun absorbe etme miktarlarının zamana bağlı değişimi.25	
Şekil 4.6. <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Priestia aryabhatai</i> ve <i>Mycobacterium sacrum</i> bakterilerinin Kadmiyum absorbe etme miktarlarının zamana bağlı değişimi.....	26

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Sızıntı suyu kirlenici konsantrasyonları.....	6
Çizelge 1.2. Çöp sızıntı suyunun depo yaşına göre değişimieğişimi [40].	7
Çizelge 1.3. Bazı ağır metallerin kirlilik kaynakları	8
Çizelge 4.1. NCBI GenBank aksesyon numaraları.....	19
Çizelge 4.2. Farklı bakteri aşılana biyolojik kum filtrelerinde çöp sızıntı suyu içeriğinde meydana gelen değişimleri	22
Çizelge 4.3. <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Priestia aryabhatai</i> ve <i>Mycobacterium sacrum</i> numaralı bakterileri sıvı besiyerinde Nikel absorpsiyon değerleri.	23
Çizelge 4.4. <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Priestia aryabhatai</i> ve <i>Mycobacterium sacrum</i> numaralı bakterileri sıvı besiyerinde Kurşun absorpsiyon değerleri.	24
Çizelge 4.5. <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Priestia aryabhatai</i> ve <i>Mycobacterium sacrum</i> numaralı bakterileri sıvı besiyerinde Kadiyum absorpsiyon değerleri	25
Çizelge 4.6. <i>Enterobacter hormaechei</i> bakterisinin toprak denemesinde B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd ağır metallerini absorbe etme miktarları.....	28
Çizelge 4.7. <i>Priestia aryabhatai</i> bakterisinin toprak denemesinde B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd ağır metallerini absorbe etme miktarları	28
Çizelge 4.8. <i>Mycobacterium sacrum</i> bakterisinin toprak denemesinde B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd ağır metallerini absorbe etme miktarları.....	29

KISALTMALAR DİZİNİ

TKN: Toplam Kjeldahl Azotu

NH₄-N: Amonyum Azotu

NO₂-N: Nitrit Azotu

NO₃-N: Nitrat Azotu

KOI: Kimyasal Oksijen İhtiyacı

BOI: Biyolojik Oksijen İhtiyacı

ORP: Oksitlenme - İndirgenme Potansiyeli

TN: Toplam Azot

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

rDNA: Rekombinant DNA

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

F0: Saf Çöp Sızıntı Suyu

F1: Bakteri Aşılması Olmayan Biyolojik Kum Filtresi

F2: *Enterobacter hormaechei* Aşılması Yapılan Biyolojik Kum Filtresi

F3: *Priestia aryabhatai* Aşılması Yapılan Biyolojik Kum Filtresi

F4: *Mycobacterium sacrum* Aşılması Yapılan Biyolojik Kum Filtresi

E.H.: *Enterobacter hormaechei*

P.A.: *Priestia aryabhatai*

M.S.: *Mycobacterium sacrum*

HM: Ağır Metal

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. ÇEVRE KİRLİLİĞİ

1760 yılında başlayan sanayi devrimi ile teknolojinin gelişmesi ve üretimin artması, Ayrıca, bunlara bağlı olarak enerji kullanımlarının da artması ile çevresel kirlilik büyük oranda artmıştır. Ülkeleri yönetenlerin ilk amacı ekonomi olarak büyüme gerçekleştirmektir. Bu yüzden 'de oluşabilecek çevre sorunları önemsenmemiştir. Ancak 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren iklim değişikliği ve küresel ısınma doğamızda tahribata yol açmaya başlamış ve çevre kirliliği konusu tartışılır duruma gelmiştir [1].

Artan nüfus ile şehirlerde meydana gelen düzensiz yerleşimler, gereken önlemlerin alınmadan yapılan tarım ve sanayileşme, doğal kaynakların aşırı tüketimi ile beraber hem atık miktarını artmış hem de doğanın dengesini bozarak çevreye ciddi zararlar verilmiştir [2].

Suyun, havanın ve toprağın aşırı derecede kirlenmesi ile insanlar ciddi sağlık sorunları ile karşılaşmaktadırlar. 2016 yılında yaklaşık olarak 900.000 ishale bağlı ölümler, içme suyu kirliliğinden meydana gelmiş ve bu ölümlerin 470.000'den fazlasının çocuk ölümü olduğu bildirilmiştir [3]. Birçok ağır metal ve kalıcı organik kirleticiler toprak kirliliğine sebep olduğu gibi insanlarda metal zehirlenmesine ve insan anatomisini bozucu etkilere de sahiplerdir. Buna bağlı olarakta, genç yaştaki bireylerde büyüme ve gelişim etkilenmektedir [4].

Çevre kirliliğini sınıflandıracak olursak bunlar:

- Toprak kirliliği,

- Su kirliliği,
- Hava kirliliği,
- Gürültü kirliliđidir.

1.2. TOPRAK KİRLİLİĞİ

Organik, inorganik ve kayaçların ayrışmalarından oluşan, içinde su, hava ve birçok canlı mikroorganizmaları barındıran yapıya toprak denmektedir [5, 6]. Sanayi ve teknolojinin gün geçtikçe gelişmesi ve toprağın bu sebeple kirlenmesi, toprak kirliliğin artmasına ve bunun sonucuna bağlı olarak, tarımsal üretim alanlarının azalması artmıştır [6]. Toprağı kirleten kaynaklar [6–8];

- Endüstriyel kaynaklı,
- Tarımsal kaynaklı,
- Evsel kaynaklı ve
- Nükleer tesislerden kaynaklı kirleticiler.
- Erozyon,
- Taşlılık,
- Çoraklık ve yaşlık,
- Bilinçsiz gübreleme,
- Herbisit ve pestisit kullanımı,
- Açık maden işletmeleri
- Endüstriyel ve evsel kirleticiler,
- Tarımsal bölgelerin tarım harici kullanımı.

Toprak kirliliği, toprağa karışan kirli sulardan ve toprağa önem almadan atılan atıklardan oluşmaktadır. Bu kirleticiler toprağın biyolojik çeşitliliğini, florasını ve faunasını bozmaktadırlar. Bu kirleticiler topraklar yoluyla yeraltı su kaynaklarının, akarsuların ve gllerin ayrıca denizlerin kirlenmesine yol açmaktadır [6].

Yanlış tarım uygulamaları, erozyon, evsel katı atıklar ve tarımsal bölgelerin tarım dışı kullanımını toprak ekosisteminin biyolojik, fiziksel ve kimyasal yapısında ciddi oranda bozmaktadır [6, 9].

Endüstriyel kaynaklı atıklardan sülfür dioksit, karbon monoksit, karbon dioksit ve nitrojen dioksit gibi birçok zehirli gazlar havaya yayılmaktadır. Bu tip kirletici gazların kaynağı olarak, endüstri ve motorlu araçlar gösterilebilir [6, 7]. Bu kirletici gazlardan, fosil yakıtların kullanıldığı enerji santralleri, fabrikalar, evler ve motorlu araçların kullanımını sonucu oluşan bu tip zehirli gazlar asit yağmurlarına sebep olmakta dolayısıyla hem toprağın hem de su kaynaklarının kirlenmesine yol açmaktadır. Ayrıca, bu gibi asit yağmurları toprağın pH'ını düşürmekte ve alüminyum birikmesine ve bunun sonucunda canlılar için gerekli olan kalsiyum ve magnezyum gibi besin elementlerinin yokluğuna sebep olarak bitkisel varlıklara zarar vermektedir [6, 10-12]. Sanayi kaynaklı ve evsel kaynaklı atıkların düzensiz ve gerekli önlem alınmadan toprağa bırakılması yeraltı su kaynaklarının ve nehirlerin kirlenmesine kaynak oluşturmaktadır. Ayrıca, bu suların tarımsal sulamada kullanılmasında hem toprağın yapısını hem de bitkilerin kullanması gereken makro ve mikro besin elementlerinin yapısını bozacağından bitkilerde toksisite veya besin elementi alımının azalmasına bağlı olarak verim kayıplarına neden olacaktır. Bunun sonucundan ürün kalitesi ve verimi düşmektedir. Ağır metaller ise iyon değişimi ve kolloidal adsorpsiyon ile toprak bünyesinde birikmektedirler [6, 7, 9, 13]. Bu ağır metallere örnek olarak; çinko (Zn), bakır (Cu), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve nikel (Ni) verilmektedir. Bu ağır metaller hem toprak kimyasal yapısında bozulmalara hem de bitkiye toksik etki yaratmaktadırlar [6, 14–16].

Anız yakma, orman alanlarının tahribi, tarımsal arazilerin tarım dışı kullanımı, bilinçsiz tarım ve madencilik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan her çeşit atık yine toprak kirliliğine yol açmakta ve diğer önemli etkenler olarak sayılmaktadırlar [6, 17].

1.3. SU KİRLİLİĞİ

Su kaynaklarının fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik olarak kirlenmesine su kirliliği denilmektedir [18]. Yaşamın temel unsurlarından biri olan su gerek besin ögesi olarak gerekse içerdiği mineral ve bileşikler sayesinde insan vücudundaki her türlü biyokimyasal işlemin gerçekleşmesinde de önemli rol oynamaktadır. [19–24]. Su kirliliğinin başlıca nedenleri olarak; tarımsal kaynaklı atıklar ve endüstriyel kaynaklı atıklar gösterilmektedir [25, 26]. Su içerisindeki kirleticiler aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır [27].

- Organik ve anorganik maddeler,
- Azot,
- Fosfor,
- Mikroorganizmalar ve
- Toksik maddeler (Ağır Metaller, radyoaktif maddeler ve pestisit-herbisitler)
- Çöp sızıntı suları.

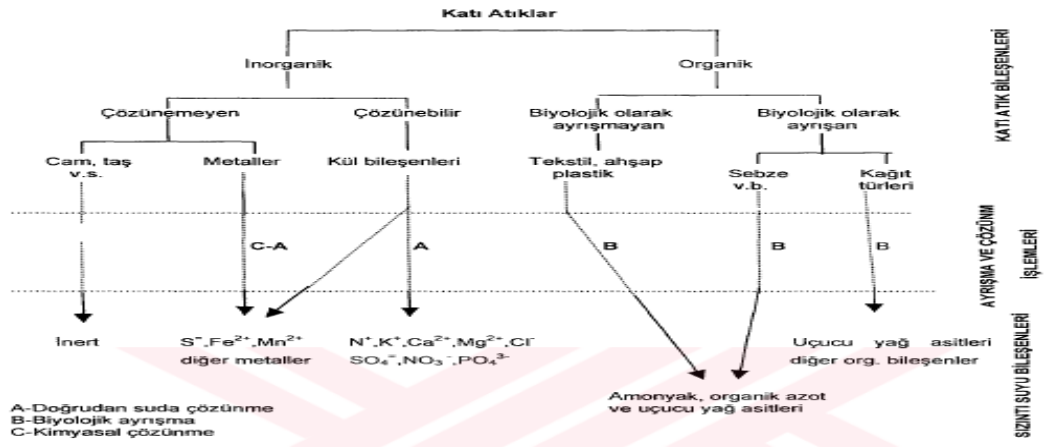
1.3.1. Çöp Sızıntı Suları

Nüfusun artması ve ekonominin hızla büyümesi ile insan faaliyetleri giderek artmaktadır. Bunun sonucunda üretilen atık miktarında özellikle de evsel atık miktarında ciddi artış gözlemlenmektedir [28–30]. Evsel atık arıtma teknolojileri, düzenli depolama, anaerobik bozunma, yakma, kompostlaştırma, piroliz ve gazlaştırmadır. Hangi yöntemler kullanılırsa kullanılsın, atık arıtmanın çevre üzerinde olumsuz etkisi olması muhtemeldir [28, 31]. Her ülke kendi ekonomik durumuna uygun maliyetli etkin teknolojileri uygulamaktadır. Şimdilik düzenli depolama sahaları birçok ülkede, özellikle de az gelişmiş ülkelerde en çok kullanılan yöntemdir [28].

Çöp sızıntı sularının yeraltı suyu üzerindeki etkisi uzun vadeli bir süreçtir. Evsel atığın yaklaşık olarak %70'i biyolojik olarak parçalanabilir ve yaklaşık olarak %10'u depolama alanını sızıntı suyu olarak terk eder [28, 32]. Sızıntı sularının yeraltı suyu üzerindeki etkileri çok karmaşıktır. Hem kirletici konsantrasyonunun hem de sızıntı

oranının önemli düzenleyici faktörler olduğu ve hem sızıntı suyu bileşiminin hem de konsantrasyonun depolama sahasının yaşam döngüsü boyunca önemli ölçüde değiştiği genel olarak kabul edilmiştir [28, 31]. Depolama sahasındaki sızıntı suyunun kirleticilerin konsantrasyonu, zamanla yağış miktarına ve depolama sahası atıklarının bileşimine göre değişmektedir [28].

Çöp sızıntı suyu, düzenli depolama sahalarında veya vahşi depolama alanlarında yağmur suları ile çöpün içeriğindeki suyun süzülmesine bağlı olarak oluşan ve içerisinde çözülmüş ve askıda katı madde barındıran sulardır [33, 34]. Bu sahalarda oluşan sızıntı suyu miktarı nüfusa ve saha özelliklerine göre değişmesine karşın bileşimi genel olarak aynı özellikler göstermektedir [33]. Bunlar organik ve inorganik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır [33, 35]. Sızıntı suyu oluşumu ve katı atık bileşenleri Şekil 1.1'de gösterilmektedir [35].

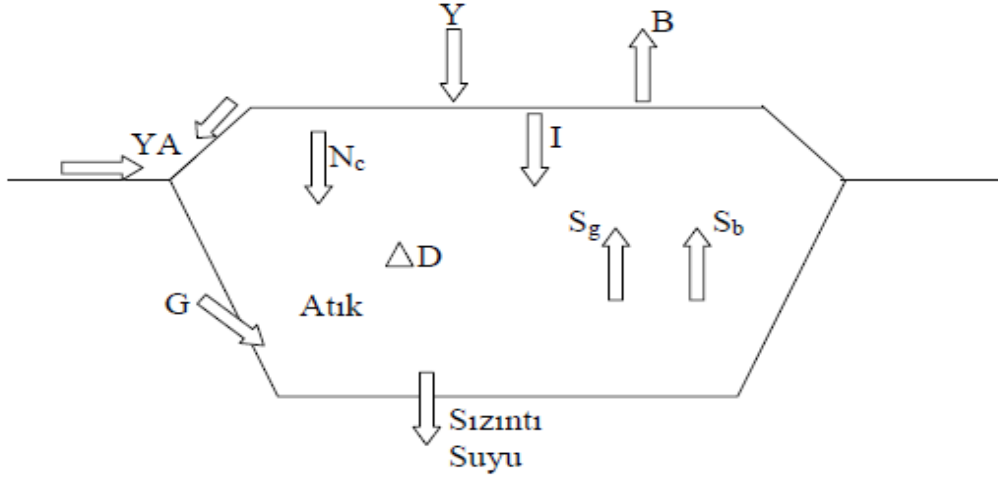


Şekil 1.1. Sızıntı suyu oluşumu ve katı atık bileşenleri [35].

Birçok farklı parametre sızıntı suyu oluşumunu etkiler. Bunlardan en önemlisi atıkların tortuya nüfuz etmesidir. Geçirgenlik birçok faktöre bağlıdır. Bu, depolama sahasının yüzey özellikleri, iklim koşulları, üst tabaka ve varsa bu tabakanın geçirgenliğidir. Sızma, yağış eksi buharlaşmalı akıştır ($I=Y-YA-B$). Diğer sızıntı suyu kaynakları, akiferlerden gelen yeraltı suyu akışı (G) ve katı atık ve kaplamadan gelen mevcut sudur (Nc). Çöpün nem içeriği olarak depolama alanına giren su miktarı, çöpün cinsine ve depolama mevsimine göre değişmektedir. Suyun bir kısmı çöplükte çöp gazı üretiminde (Sg) tüketilirken, bir kısmı da çöp gazında su buharı (Sb) olarak buharlaşır (Şekil 1.2). Su dengesi formülü (1)'dir.

$$SS = I + YA + G - N_c - S_g - S_b \pm \Delta D \quad (1.1)$$

(Y: Yağış, B: Buharlaştırma, OR: Yüzeysel akış, I: Sızma, N_c: Atık ve kaplama malzemesinin nem içeriği, G: Yeraltı suyu akışı, S_g: Depo gazı tüketim suyu, S_b: Su buharı, D: Depolama hacmi değişimi).



Şekil 1.2. Düzenli depolama alanlarında sızıntı suyu oluşumu [37].

Düzenli depolama sahalarındaki sızıntı suyunun içinde bulunan kirleticilerin konsantrasyonları Çizelge 1.1’de gösterilmiştir [36,37].

Çizelge 1.1. Sızıntı suyu kirletici konsantrasyonları [36,37].

Parametreler	Birim	Ortalama Değer
pH		8.4±0.30
Alkalinite	mg CaCO ₃ /L	15133±58
TKN	mg N /L	3868±26
NH₄-N	mg N /L	3449±233
NO₂-N	mg N /L	0.21±0.01
NO₃-N	mg N /L	2.23±018
KOI	mg /L	3621±440
BOI₅	mg /L	425±72
Çözünmüş Katılar	mg /L	59±16

Çöp sızıntı suyunun yaşı kirletici konsantrasyonları bakımından oldukça önemlidir [36,38]. Depolama yaşı arttıkça çöp sızıntı suyu içerisindeki organik madde miktarında azalmaktadır. Dolayısıyla genç depo sahalarında bulunan çöp sızıntı suyu içindeki BOI/KOI>0,5 iken daha yaşlı çöp sızıntı sularında bu oran 0,2'den küçük olmaktadır [36,39]. Çöp sızıntı sularının depo yaşına göre değişimi Çizelge 1.2'de gösterilmiştir [40].

Çizelge 1.2. Çöp sızıntı suyunun depo yaşına göre değişimi [40].

Yaş	KOI (mg/L)	TN (mg/L)	NH ⁺ - N (mg/L)	Organik Fosfor (mg/L)	Toplam Fosfor (mg/L)	Alkalinite (mg/L)	ORP	İletkenlik (µs/cm)	Mineral Yağlar (mg/L)
2	7125.3	4368.2	4251	34.29	34.9	18162	-277	41500	8505
3	3471.3	4156	3821	21.77	41693	18379	-289	40500	5619
4	1542.8	1753.5	1564.2	17.56	17.97	8049	-307	17870	5638
6	2424	1489.8	1273.6	16041	14.83	5573	-127	15030	5309
7	1827	873.5	733.1	28642	21429	4365	-229	10630	4595
9	1015	1092	807.4	13547	41732	5227	-112	12270	5878
11	1522.5	980.1	715	27485	44378	4649	-127	12080	3007
12	695.2	428.2	238.2	0.19	0.62	1754	-104	6380	2547

1.4. AĞIR METALLERİN TOPRAK ÜZERİNDE ETKİSİ

Ağır metal: yoğunluğu 5g/cm³' den daha büyük olan metaller olarak ifade edilmektedir. Toprak biyoçeşitliliği, toprak ekosistemi ve toprakta gerçekleşen birçok faaliyet ağır metallerin varlığından olumsuz etkilenmekte ve bu olumsuz etki bütün ekosisteme zarar vermektedir [41].

Ağır metaller toprak içinde çok karmaşık yapılar oluşturup etkisini canlılar üzerinde artırmaktadırlar. Toprakta faaliyet gösteren mikroorganizma topluluğunun etkinliğini olumsuz yönde etkilemekte ve toprağın flora-faunasının bozulmasına neden

olmaktadırlar. Bunların sonucunda hem toprağın hem de o toprak üzerinde yetişen bitkilerin kalitesi ve verimi düşmektedir [41].

Birçok farklı endüstriyel üretim tesislerinin doğaya doğrudan veya dolaylı olarak yaymakta olduğu ağır metal çeşitleri Çizelge 1.3'te gösterilmiştir [42, 43]. Topraktaki ağır metallerin başlıca kaynakları şunlardır [42, 44, 45]:

- Maden işletmeleri,
- Kimyasal gübre ve tarım ilaçları
- Çöp sızıntı suları
- Demir-çelik işletmeleri
- Motorlu araçlar
- Arıtma çamurları
- Hayvan dışkıları ve
- Kanalizasyonlar

Çizelge 1.3. Bazı ağır metallerin kirlilik kaynakları [42, 43].

Üretim Sanayii / Ağır Metaller	Pb	Cd	Ni
Petrokimya Ürünleri Üretimi	+	+	-
Kâğıt Üretim Sanayii	+	-	+
Kimyasal Gübre Üretimi	+	+	+
Termik Santrallerden Enerji Üretimi	+	+	+
Tekstil Üretim Sanayii	-	+	-
Çelik, Demir ve Metal Sanayii	+	+	+

1.5. AĞIR METALLERİN ÇEVRE VE İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kurşun (Pb): İnsan vücudunda aşırı kurşun birikimi beyinde ciddi hasarlara yol açmasının yanında sinir sistemlerinin bozulmasına ve doğurganlığın azalmasına yol açtığı bilinmektedir [45, 46].

İçten yanmalı motorlarda kullanılan benzinin kalitesini ve dayanma gücünü artırmak için katkı maddesi olarak tetra etil kurşun kullanılmakta ve kirliliğin yaklaşık olarak %95'ini oluşturmaktadır [47,48]. Ayrıca dünya sağlık örgütü tarafından 2. sınıf kanserojen gruba giren kurşun hem atmosfere kolay bir şekilde yayılmakta hem de her şartta toksik etki göstermektedir [48].

Kurşun ayrıca, kablo-tel üretiminde, su borularında, kozmetik malzemelerde, sigara, pestisit üretiminde kullanılmaktadır [48, 49].

Kadmiyum (Cd): İnsan vücudunda toksik etkisi oldukça fazla olan kadmiyum özellikle böbreklerde birikmekte ve böbreklerin işleyişini bozmaktadır. Ayrıca kalsiyum yerine geçerek kemiklerin daha kırılabilir olmasına sebep olmaktadır. Ortalama 70 kg bir insan günlük olarak 25- 60 µg kadmiyum aldığı tahmin edilmektedir. Bu değer kirlenmemiş çevreler için geçerlidir [45, 46].

Nikel (Ni): Korozyona dirençli alaşım üretiminde kullanılan nikel özellikle paslanmaz çelik yapımında kullanılmaktadır. Deniz suyundan içme suyu elde edilen tesislerde bakır-nikel alaşımından yapılan tüpler kullanılmakta olup madeni para, pil ve zırh kaplamalarında da kullanılmaktadır. Ayrıca, Bitkilerde belirli dozların üzerinde toksik etkiye sebep olduğu [48,50] ve insan vücudunda kanserojen etkisi bulunduğu gibi solunum sistemine ve deride alerjik etkisi olduğu bilinmektedir [51, 52].

BÖLÜM 2

LİTERATUR ÖZETİ

Dünyada hızlı nüfus artışı ile günlük gıda, enerji, barınma vb. ihtiyaçlar ortaya çıkmakta ve bu ihtiyaçları karşılamak için sanayi devrimi hızlanmaktadır. Hızlı, çarpık kentleşme ve sanayileşme, hızlı trafik artışı, dikkatsiz madencilik, yanlış arazi kullanımı, tarım arazilerinde kimyasal gübre ve ilaç kullanımının artması, toprak erozyonu gibi sorunlar ülkemizin önemli bir sorunudur [53]. Ancak bu hızlı büyüme, doğrudan ve/veya dolaylı olarak uzun süreli çevre kirliliğine neden olan çeşitli organik ve inorganik kimyasalların büyük miktarlarda üretilmesine neden olmuştur. Bu toprağı kirleten kimyasallar, endüstriyel faaliyetlerin tipik bir yan etkisidir [54].

Ekosistemleri ve toprağı kirleten bu kimyasallardan çok azı güvenli bir şekilde bertaraf edilmektedir. Antropojenik organik bileşikler, polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH'lar), klorlu uçucu organik bileşikleri (VOC'ler) ve alkilbenzenleri (benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen, BTEX), hidrokarbonları, poliklorlu bifenilleri (PCB) ve trikloretileni (TCE) içermektedir. Toprakta bulunan kirleticilerden biridir [55]. Bu kirleticilere ek olarak, petrol endüstrisi ve petrol piyasası genişledikçe, yakıt ikmal kamyonları ve petrol tankerlerinden kaynaklanan dökülmeler, patlamalardan kaynaklanan petrol sızıntıları ve petrol atıklarının oluşumu da çevre kirliliğine neden olur [56]. Periyodik Çizelgenun üçüncü periyodu ve ötesindeki elementler (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni, Sn, Zn, vb.).

Kirleticilerin toprakta birikmesi sadece toprak verimliliğini ve ekosistem işleyişini değil aynı zamanda besin zinciri yoluyla insan ve hayvan sağlığını da etkiler [57]. En önemlisi hem nüfus artışı hem de azalan su kaynakları tarafından yönlendirilen yeni su kaynakları arayışında, kirli suyun çeşitli şekillerde arıtılması için kullanılmasıdır [58].

Biyoteknolojik yöntemlerle, dünyadaki birçok şehir kirli suları arıtmak için mikroorganizmalar kullanıyor. Ayrıca organik kimyasallar, kâğıt ve fermente ürünler üreten birçok fabrikanın atıkları da bu yöntemlerle arıtılmaktadır. Bu nedenle, biyoteknoloji uygulamaları bağlamında mikroorganizmaların kullanımı yoluyla kontaminasyon yöntemlerinde biyoremediasyonun rolü önem kazanmaktadır. Biyoteknoloji süreçlerinin endüstriye getirdiği en önemli faydalardan ikisi, yenilenebilir kaynakların kullanımı ve endüstriyel atıkların azaltılmasıdır [59]. Biyoteknoloji iyileştirme süreçlerinden biri olan bioremediasyon süreci verimli, ekonomik, çok yönlü ve çevre dostu bir çözüm olarak kendini kanıtlamıştır [59]. Ayrıca, bu yöntemin yakma ve depolama gibi geleneksel yöntemlere göre birçok avantaj sunduğuna dikkat edin [60]. Bioremediasyon, kirlenmiş toprak ve suyu daha çevre dostu bir şekilde dekontamine etmek için bitkiler, solucanlar, mantarlar ve bakteriler gibi makro ve mikro organizmaların kullanılmasıdır. Bu süreç, tehlikeli maddeleri zararsız veya daha az zararlı maddelere ayırmak için mikroorganizmaları kullanan uzun vadeli bir arıtma süreci olarak bilinir [61, 62]. Kirlenmiş alanlar ayrıca metabolizmanın ötesinde çeşitli fiziksel ve kimyasal reaksiyonları gerçekleştirmek için uygun mikropları kullanır, bu da kirleticilerin bozunmasına ve yok olmasına yol açar [63, 64]. Bioremediasyon işlemi, özellikle kirlenmiş toprak ve su kütlelerinde çevre dostu ve ekonomik olarak uygundur. Bunun nedeni, parçalanamayan toksik bileşiklerin etkili bir şekilde toksik olmayan ürünlere dönüştürülmesidir [65]. Bu yöntemi kullanarak, trikloroetan gibi klorlu maddeler de dahil olmak üzere bazı kimyasalların in vitro biyolojik olarak parçalanabilir olduğu bulunmuştur ve bazı PCB'lerin bozunmaya dirençli olduğuna inanılmaktadır [66]. Metaller de mikroplar onları parçalamadan daha az zararlı hale getirilebildikleri için bioremediasyon yöntemlerine dahil edilirler [67]. Bununla birlikte, bioremediasyonun birçok avantajına ek olarak, iki ana dezavantajı vardır. Birincisi, mantarlar, mayalar ve bakteriler, bioremediasyon önemli bir rol oynayan mikroorganizmalardır [68, 69]. Ancak bu mikropların sadece bir kısmı birçok organik maddeye saldırabilir. Bugüne kadar, doğal kimyasalların çoğunu bozan hiçbir omnivor organizma bulunamadı. İkincisi, bioremediasyonun etkileri uzun sürelidir. İklim koşullarına bağlı olarak, bioremediasyonun bir alanı eski haline getirmesi birkaç yıl veya daha uzun sürebilir [53]. Bu sınırlamanın üstesinden gelmek için çeşitli geçici çözümler geliştirilmiştir. Bu çözümler: Gelişmiş yeni çeşitler oluşturmak için genetik mühendisliği

tekniklerinin kullanımı, belirli bioremediasyon yöntemlerinde biyokimyasal iyileştirmeler ve bioremediasyon popülasyonlarını artırmanın en etkili yöntemleri. Bioremediasyonun etkili olabilmesi için mikroorganizmaların kirleticilere enzimatik olarak saldırması ve onları zararsız ürünlere dönüştürmesi gerekir. Kirleticileri parçalayan mikroorganizmalar, kirletici ile yakın temas halinde ve uygun yerlerde olmalıdır[54]. Ek olarak, bu yöntemin kirleticileri parçalayabilen ve onları toksik olmayan yan ürünlere dönüştürebilen mikroorganizmaların büyümesini teşvik ettiği söylenmektedir [70]. Mikrobiyal popülasyon yoksa veya mevcut popülasyon yetersizse, mikrobiyal popülasyonu artırmak için mikroorganizmaları kontaminantlara maruz bırakmak veya teknolojik mekanizmalar geliştirmek gerekir. Bu amaçla, kirleticilerin bulunduğu yerlere besin getirilerek stok popülasyonları korunabilir ve toprağın mikrobiyal bileşimine bağlı olarak toprakta doğal olarak bulunan mikroplar artırılabilir veya onları hareket ettirerek popülasyonu artırabilirsiniz [70]. Ek olarak, mikrobiyal metabolik aktiviteyi ve büyümeyi optimize etmek için çevresel koşullar izlenmeli ve değiştirilmelidir. Bioremediasyon kullanılırken sıcaklık, besinler (özellikle nitrojen ve fosfor), elektron alıcıları (oksijen, nitratlar, sülfatlar) ve pH gibi çevresel faktörler kontrol edilmelidir [55].

BÖLÜM 3

DENEYSEL PROGRAM MATERİYAL VE METOT

3.1. BAKTERİYEL KÜLTÜRLERİN ELDE EDİLMESİ

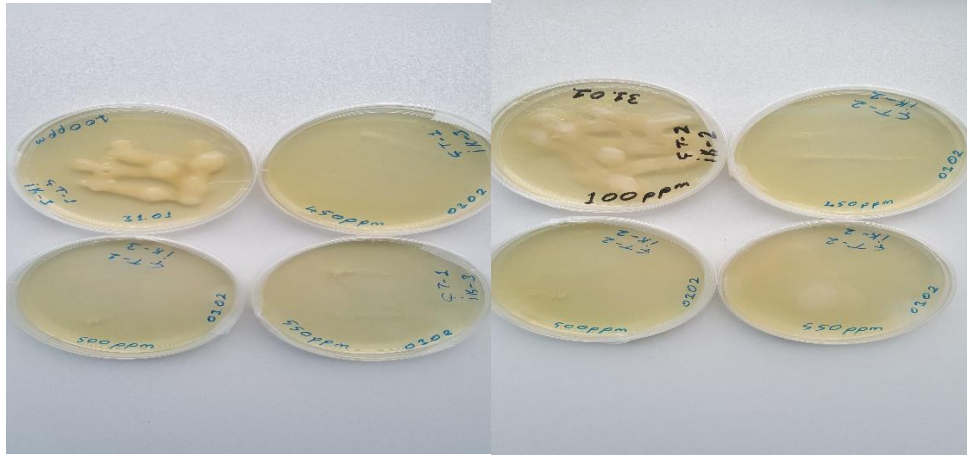
Karabük ili Demir çelik faaliyetleri sonucu oluşan atıkların ve aktif olmayan belediye çöplüklerinin depolandığı alanda (41°10'40.20" N and 32°39'9.55" E) oluşan çöp sızıntı suyundan ve etrafındaki topraklardan örnekler alındı. Örnekler, steril numune poşetlerine aktarılmıştır ve 6 saat içinde buz üzerinde laboratuvara getirildi. Bakteri türlerinin izolasyonu için toprak örneklerinden 10'ar g tartıldı ve deney tüplerinde 90 mililitre izotonik su ile 15 dakika boyunca çalkalama yapıldı. Çalkalama sonucunda toprak çözeltilerinden 10 ml alındı ve 10^{-1} 'den 10^{-5} 'e kadar seri seyreltmeler yapıldı. 10^{-3} seyreltmeden itibaren Nutrient Agar (NA) besiyerine 0.1 ml ekimler yapıldı. 37°C de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Kırk sekizinci saatin sonunda farklı gelişen kolonilerden seçildikten sonra saf kültürler elde etmek için NA besiyerine farklılık gösteren her koloniden örnekler alınarak ekimler yapıldı. Tüm bu prosedür çöp sızıntı suyundan alınan numunelerde tekrarlandı. Elde edilen saf kültürler, araştırmada kullanılmak üzere -20°C de gliserol çözeltisi içinde stoklandı.

3.2. AĞIR METAL STOK ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANMASI

Stok çözeltileri hazırlamak için kuşun (II) klorür ($PbCl_2$), Kadmiyum klorür hemipentahidrat ($CdCl_2 \cdot 2,5H_2O$) ve nikel klorür heksahidrat ($NiCl_2 \cdot 6H_2O$) kullanıldı. Stok çözeltiler hazırlanırken öncelikle gerekli olan Pb, Cd ve Ni miktarları istenilen konsantrasyonlara göre belirlendi. Miktarlar belirlenirken şu hesaplama ($ppm = \frac{\text{Çözünen miktarı (mg)}}{\text{Çözelti hacmi (L)}}$) kullanıldı. Çözeltiler bu elementlerin saf hallerinden değil klor ile oluşturdukları bileşiklerden hazırlandı. Bu nedenle basit bir oran orantı yöntemi ile bu bileşiklerden ne kadar gerekli olduğu bulundu [56].

3.3. İZOLATLARIN AĞIR METAL TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ

Saf bakteri kültürleri, 100, 200, 400, 550 ve 600 ppm Pb, Ni ve 0.5, 1, 2, 3, 4 ve 5 ppm Cd çözeltisi bulunan NA besiyerine inoküle edildi ve 37°C de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu işlem petri kaplarında 3 tekrarlı olarak yapıldı. 48 saat inkübasyon süresi sonunda, en yüksek ağır metal konsantrasyonlarındaki çoğalma gösteren bakteriler tespit edildi.

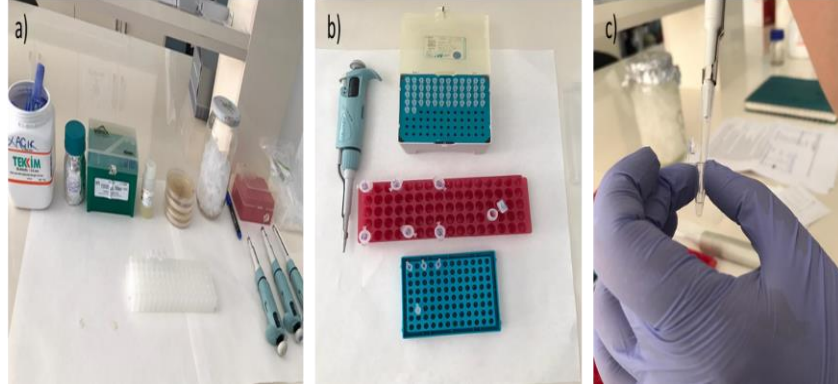


Şekil 3.1. En çok gelişme gösteren izolatlar.

3.4. BAKTERİYEL İZOLATLARIN 16S rDNA GEN BÖLGESİ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

DNA izolasyonu için bakteriyel izolatlar NA besiyerinde 30⁰ C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonrası her bir saf kültürden, DNA İnvitrogen izolasyon kitinde belirtilen talimatlara göre DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen Genomik DNA'lardan 16S rDNA bölgelerini çoğaltmak için 16S rDNA primerleri (27F5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG ve 1492R5'-GGTTACCTTGTTACGACTT) kullanıldı [57] PCR reaksiyonu total hacmi 30 µl olarak ayarlandı. Buna göre, 3 µL 10x Buffer, 25 mM MgCl₂ (3 µL), 2 mM dNTP (3 µL), 10 pmol ileri Primeri (1,5 µL), 10 pmol geri Primeri (1,5 µL), 1,2 µL Tag DNA polimeraz ve 2 µL DNA kullanıldı. PCR şartları, başlangıç denatürasyonu 94°C'de 3 dak. olacak şekilde 94 °C'de 30 sn., 55 °C'de 30 sn. 72 °C'de 1.5 dakika 35 döngü ile son uzama 72 °C'de 10 dakika olarak gerçekleştirildi. PCR sonucunda elde edilen

yaklaşık 1400 bp uzunluğundaki gen bölgesi Agoroz jel elektroforezinde görüntüledikten (Şekil 3.4.a, b, c) sonra, dizi analizi iki yönlü olacak şekilde sekans hizmeti alındı.



Şekil 3.2. a) DNA izolasyon aşaması, b, c) PCR aşamaları DNA izolasyon aşaması, b,c) PCR aşamaları.

3.5. BİYOLOJİK KUM FİLTRESİ

Biyolojik kum filtreleri 50 cm uzunluğunda 20 cm genişlikte PVC boru içine yapılmıştır. Borunun en altında en ince filtre malzemesi olacak şekilde planlama yapılmıştır. En alttan 15 cm yükseklikte kuvars filtre kumu (1.5- 3mm), sonrasında 10 cm yükseklikte çakıl taşı (5-12 mm), ardından 10 cm yükseklikte daha büyük taneli çakıl taşı (18-20mm) kullanıldı. 15 cm ise toprak ile doldurulmuştur. Filtre de kullanılan toprak ve diğer tüm materyaller otoklavda 150⁰ C'de 2 saat boyunca otoklavda steril edildi. Sonrasında seçmiş olduğumuz 3 izolat ayrı ayrı 3 tekerrür olacak şekilde toprak örneklerine steril bir karıştırıcı ile karıştırılarak birinci gün ve ikinci günde 10⁻³ mikrobiyal yükte 50 ml su ile püskürtme yapıldı. Her ekimden sonra örnekler toplam 48 saat olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. Toprak örnekleri 48 saat inkübasyon sonunda filtre sistemlerinin en üst kısmına eklendi. Çöp sızıntı suyu 10 saniyede 1 damla olacak şekilde üstten homojen olarak damlatılmaya başlandı. 24 saat sonunda kum filtrelerinin alt kısmına sızan su örnekleri alınarak Ağır metal içerikleri analiz edildi.



Şekil 3.3. Biyolojik kum filtre sistemleri.

3.6. İZOLE BAKTERİLERİN TOPRAK KÜLTÜRÜNDE AĞIR METAL ABSORPSİYON KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Toprak denemesinde kullanacağımız toprakları 150⁰C’de 2 saat boyunca otoklavda steril ettikten sonra toprağı 10 ppm Ni, Pb ve Cd doyurma işlemi yapıldı. Sonrasında fazla nemin azalması için 24 saat 70⁰C’de etüvde kurumaya bırakıldı. Daha sonra izole etmiş olduğumuz üç bakteriyi 3 tekrar olacak şekilde toprak numunelerine inoküle edildi. Bakterilerin tam gelişimi sağlamak için 24 saat 37⁰C’de inkübasyona bırakıldı. Ardından birinci, yedinci, on dördüncü ve yirmi birinci günlerde topraklardan 10 gram örnekler alıp 90 ar ml izotonik su ile karıştırıldı ve bakterilerin toprak kültüründen

izotonik suya geçmesini sağlandı. Sonrasında 50 şer ml örnek alıp 10 dk 3000 rpm de santrifüj işlemi gerçekleştirildi ve peletler steril numune kabına alınıp analize gönderildi.

3.6.1. Topraktaki Toplam Mineral Elementi İçeriği

Numunelerin B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd içerikleri Erciyes Üniversitesi'nden hizmet alımı ile belirlendi. Nitrik asit-hidrojen peroksit (2:3) asit ile 3 farklı adımda:

- 145 °C'de %75 mikrodalga gücün de 5 dakika,
- 180 °C'de %90 mikrodalga gücün de 10 dakika
- 100 °C'de %40 mikrodalga gücün de 10 dakika 40 bar basınca dayanıklı mikrowave ıslak yakma ünitesinde (speedwave MWS-2 Berghof products + Instruments Harresstr.1. 72800 Enien Germany) tabi tutuldu (Mertens 2005a).

Sonrasında ICP OES spektrofotometresinde (Inductively Couple Plasma spectrophotometer) (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) okunmak suretiyle belirlendi.

3.7. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN SIVI BESİYERİNDE AĞIR METAL ABSORPSİYON KAPASİTESİ BELİRLENMESİ

İzole edilen 3 bakterinin zaman bağılı olarak ağır metal absorpsiyon kapasitelerini belirlemek için 100'er ml'lik içerisinde 10'ar ppm Ni, Pb ve Cd bulunan sıvı besiyerleri hazırlandı. İzole edilen üç bakteri 3 tekrarlı olarak sıvı besiyerlerine aşılandı ve 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Her 24 saat sonrasında (24, 48, 72, 96) saatlerin sonunda sıvı besiyerlerinden 50'şer ml örnekler alındı. 10 dk 3000 rpm de santrifüj işlemi yapıldı. Santrifüj işlemi sonucunda oluşan peletler steril numune kabın alındıktan sonra alıp analiz edildi. Bakterilerin ağır metal içerikleri analizleri Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezin' den yapıldı.

3.7.1. Çöp Sızıntı Suyu ve Bakterilerin Ağır Metal İçerik Analizleri

Biyolojik kum filtreleri bakteri ekimi yapılmayan sadece steril toprak kullanılan (F1), *Enterobacter hormaechei* inoküle edilen toprak örneğinin kullanıldığı filtre (F2), *Priestia aryabhatai* inoküle edilen toprak örneğinin kullanıldığı filtre (F3) ve *Mycobacterium sacrum* inoküle edilen toprak örneğinin kullanıldığı filtre (F4) lerden geçen çöp sızıntı suları hem kendi aralarında hem de filtre edilmeyen başlangıçtaki (F0) çöp sızıntı suyunun ağır metal içerikleri ve sıvı besiyerlerinden santrifüj ile elde edilen bakteri peletlerindeki ağır metal içerikleri analizlerinde 1 ml çöp sızıntı suyu numuneleri 3 ml HNO₃ +9 ml HCl 3 farklı adımda yakılarak analize hazırlanmıştır. İlk adım; (%75 mikrodalga gücünde 145 °C'de 5 dakika), ikinci Adım; (%90 mikrodalga gücünde 180 °C'de 10 dakika) ve üçüncü adım (%40 mikrodalga gücünde 100 °C'de 10 dakika) 40 bar'a dayanıklı yakma ünitesinde (speedwave MWS-2 Berghof ürünleri + Instruments Harreststr) bir mikrodalgada tutuldu. (1.72800 Enien Almanya) (Mertens, 2005). Numuneler analize hazırlandıktan sonra ağır metal içeriğini belirlemek için ICP OES spektrofotometresi (Perkinelmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, ABD) kullanıldı. aynı işlem santrifüjlenen bakteri peletlerinde yapılmıştır.

3.8. İSTATİKSEL ANALİZ

Tüm veriler ANOVA'nın SPSS 22 yazılımı ile incelendi. Ortalamalardaki önemli farklılıkları belirlemek için Duncan testi yapıldı (p <.05).

BÖLÜM 4

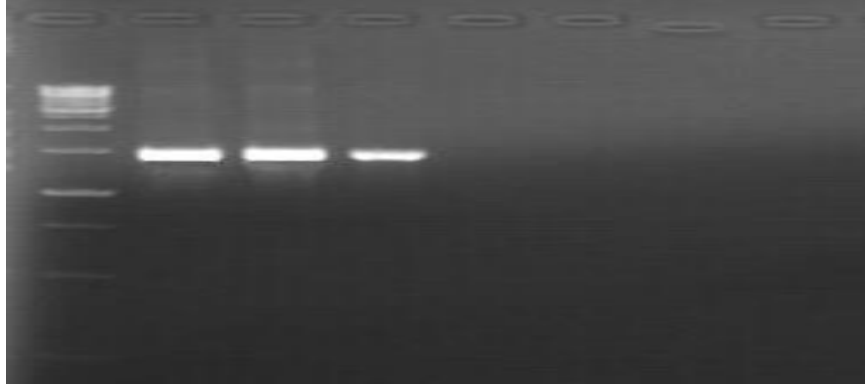
SONUÇLAR

4.1. BAKTERİYEL İZOLATLARIN 16S rDNA GEN BÖLGESİ İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYON

Çalışma alanlarından elde edilen izolatların moleküler tür tayini için, 16S rDNA gen bölgesinden yaklaşık 1000-1400 bp uzunluğunda bantlar elde edilerek (Şekil 4.1) analizleri yapıldı. İleri ve geri primerleri ile elde edilen sekans sonuçları, grafik görüntüleyici FinchTV programında değerlendirildi. Sekans sonuçları Seqtrace.exe programında karşılaştırıldı ve sonuçta FASTA formatında tek bir dizi elde edildi. FASTA formatında sonuçlar NCBI (National Center for Biotechnology Information) Nucleotide BLAST programı kullanılarak, Gen Bankası'nda kayıtlı bulunan bakteri suşlarının nükleotid dizileri ile karşılaştırıldı ve eşleştirmeleri yapıldı. Eşleştirmeler sonucu 1 nolu izolatımızın *Enterobacter hormaechei*, 8 nolu izolatımızın *Priestia aryabhatai* (Syn: *Bacillus aryabhatai*) ve 9 nolu izolatımızın ise *Mycobacterium sacrum* türleri olduğu belirlendi (Çizelge 4.1.).

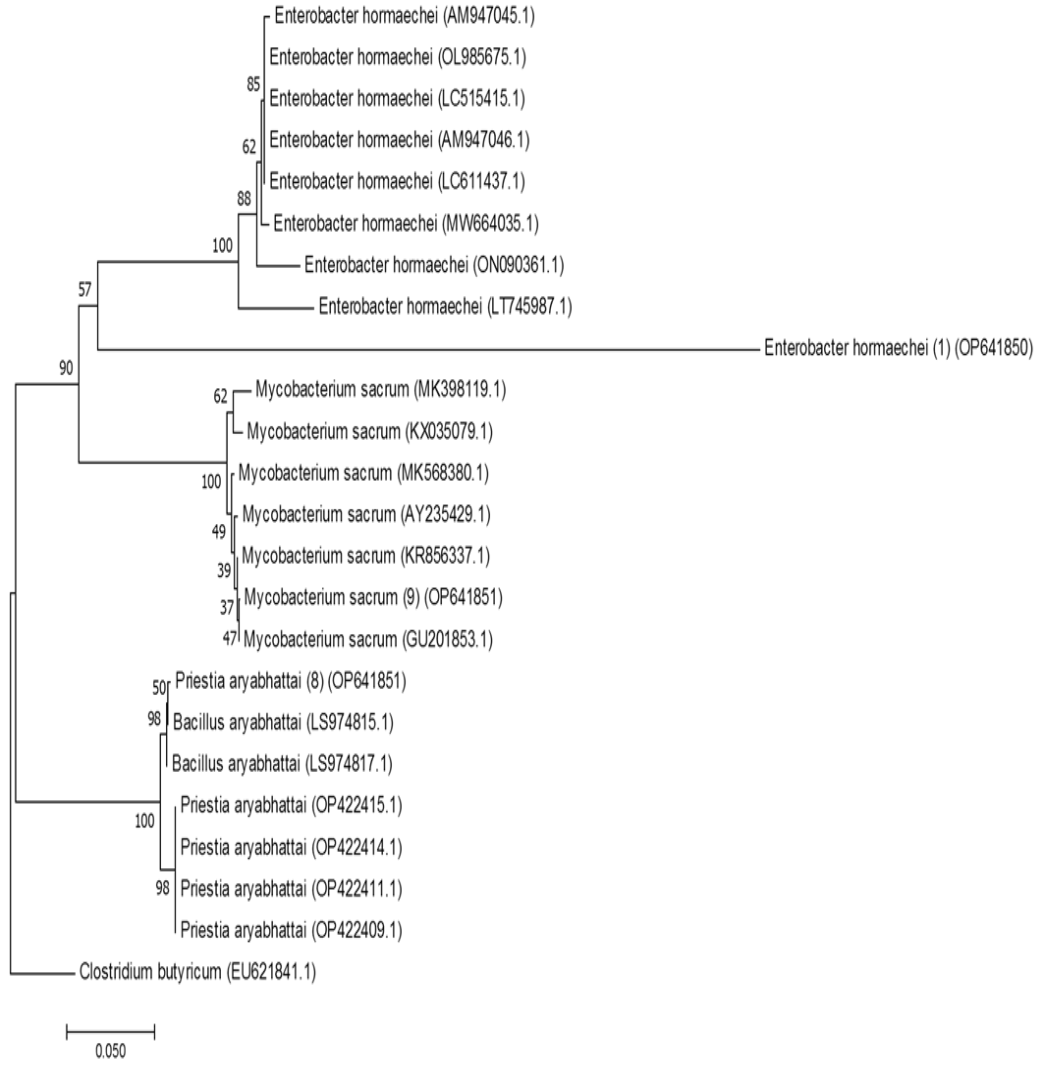
Çizelge 4.1. NCBI GenBank aksesyon numaraları.

Kod	Bakteri Türü	NCBI Genbank No
1	<i>Enterobacter hormaechei</i>	OP641850
8	<i>Priestia aryabhatai</i>	OP641851
9	<i>Mycobacterium sacrum</i>	OP641852



Şekil 4.1. Agoroz jel elektroforez görüntüsü.

Moleküler tür tayini belirlenen izolatların MEGA7'de [58] filogenetik analizleri yapıldı. Neighbor-Joining istatistiksel yöntemi kullanılarak evrimsel tarih, bootstrap konsensüs (1000 tekrar) ile oluşturuldu [59,60] evrimsel mesafeler p-mesafe yöntemi ile [61]. Filogenetik ağaçta *Clostridium butyricum* (EU621841.1) dış grup olarak alındı. Çalışmamız kapsamında elde ettiğimiz suşlardan *Priestia aryabhatai* (8) (OP641851) ve *Mycobacterium sacrum* (9) (OP641851)'un NCBI'da bulunan referans suşlar ile karşılaştırmalı filogenetik ağaçta, aynı grup içerisinde yer alırken, *Enterobacter hormaechei* (1) (OP641850), NCBI'da bulunan referans suşlar ile ayrı bir grup oluşturduğu belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. 16S rDNA gen dizilerine dayanan filo-genetik ağaç.

4.2. ÇÖP SIZINTI SUYUNUN ELDE EDİLEN BAKTERİYEL İZOLATLAR İLE BİYOLOJİK KUM FİLTRELERİNDE BİOREMEDIASYON POTANSİYELLERİ

3 farklı izole edilen bakterilerin kullanıldığı biyolojik kum filtrasyonu (F2, F3 ve F4) ve bakteri kullanılmayan biyolojik kum filtresinden (F1) geçirilen çöp sızıntı suyu ile herhangi bir biyolojik arıtma prosesi uygulanmayan (F0) çöp sızıntı suyunun Cd içerikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oldu ($p < 0.05$) (Çizelge 4.2).

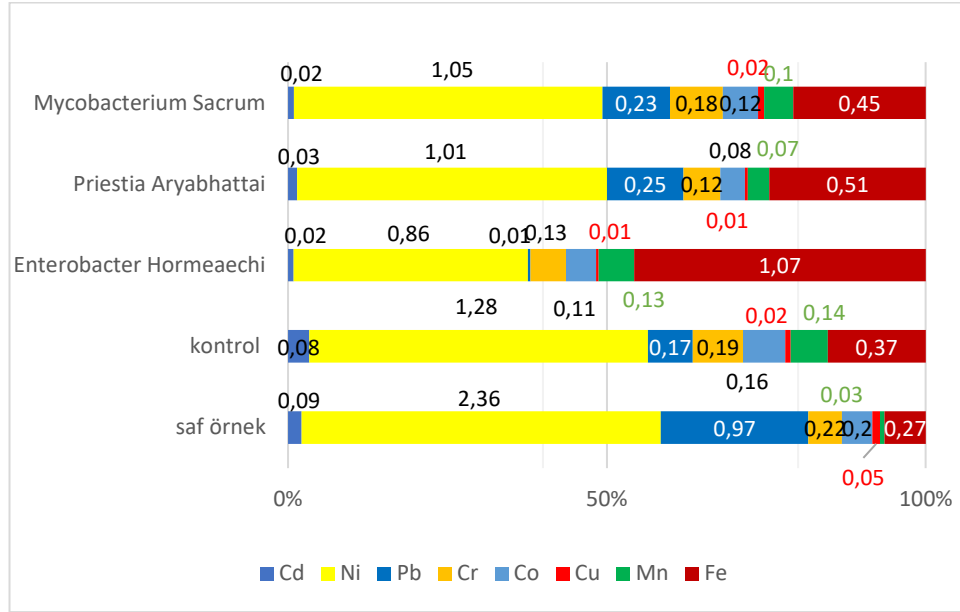
Çizelge 4.2. Farklı bakteri aşılanan biyolojik kum filtrelerinde çöp sızıntı suyu içeriğinde meydana gelen değişimleri

Kum filtreleri	Cd	Ni	Pb	Cr	Co	Cu	Mn	Zn	Fe	B
F0	0.09± 0.01b	2.36± 0.01d	0.97± 0.01d	0.22± 0.01c	0.2±0 .01d	0.05± 0.01b	0.03± 0.01a	0.28± 0.01a	0.27±0 .01a	23.14 ±0.01 e
F1	0.08± 0.01b	1.28± 0.01c	0.17± 0.01b	0.19± 0.01b	0.16± 0.01c	0.02± 0.01a	0.14± 0.01d	1.44± 0.01b	0.3733 ±0.01b	14.43 ±0.01 b
F2	0.02± 0.01a	0.86± 0.01a	0.01± 0.01a	0.13± 0.01a	0.11± 0.01b	0.01± 0.01a	0.13± 0.01d	4.6±0 .01d	1.07±0 .01e	9.86± 0.01a
F3	0.03± 0.01a	1.01± 0.01b	0.25± 0.01c	0.12± 0.01a	0.08± 0.01a	.01±0 .01a	0.07± 0.01b	4.67± 0.01d	0.51±0 .01d	17.5± 0.01c
F4	0.02± 0.01a	1.05± 0.01b	0.23± 0.01c	0.18± 0.01b	0.12± 0.01b	0.02± 0.01a	0.1±0 .01c	3.32± 0.01c	0.45±0 .01c	17.97 ±0.01 d

Duncan^{a,b} p<0.05

Çöp sızıntı suyundaki (F0) Cd konsantrasyonu 0.09±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.08±0.01- 0.02±0.01- 0.03±0,01- 0.02±0,01 ppm Ni konsantrasyonu 2.36±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 1.28±0.01- 0.86±0.01- 1.01±0.00- 1.05±0.01 ppm, Pb içeriği 0.97±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.17±0.01- 0.01±0.01 - 0.25±0.00 - 0.23±0.01 ppm Cr içeriği 0.22±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.19±0.01- 0.13±0.01- 0.12±0.00- 0.18±0.01 ppm, Co içeriği 0.20±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.16±0.01- 0.11±0.01- 0.08±0.00- 0.12±0.01 ppm, Cu içeriği 0.05±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.02±0.01- 0.01±0.01- 0.01±0.00- 0.02±0.01 ppm Mn içeriği 0.03±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.14±0.01- 0.13±0.01- 0.07±0.00- 0.1±0.01 ppm Zn içeriği 0.28±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 1.44±0.01- 4.6±0.01- 4.67±0.00- 3.32±0.01 ppm, Fe içeriği 0.27±0,01 ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla 0.3733±0.01- 1.07±0.01- 0.51±0.00 - 0.45±0.01

ppm B içeriği $23.14 \pm 0,01$ ppm iken, F1, F2, F3, F4 biyolojik kum filtrelerinde sırasıyla $14.43 \pm 0,01$ - $9.86 \pm 0,01$ - $17.5 \pm 0,00$ - $17.97 \pm 0,01$ ppm olarak analiz edildi (Şekil 4.2).



Şekil 4.3. Farklı bakteriler uygulanan kum filtrelerinin çöp sızıntı suyu içeriğinde meydana gelen değişimler.

4.3. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN SIVI BESİYERİ İÇERİSİNDE AĞIR METAL BİOREMEDİASYON KAPASİTELERİ

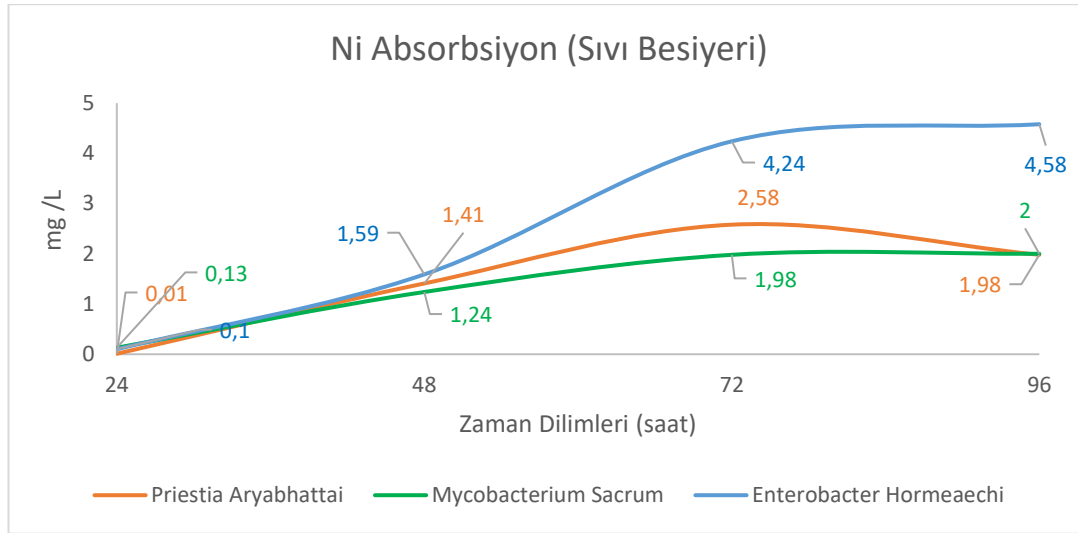
Ni konsantrasyonu 10 ppm olan Sıvı besiyerlerinde izole edilen E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin Ni absorpsiyonları bakteri türlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklar oldu ($p < 0,05$) (Çizelge 4.3.)

Çizelge 4.3. Enterobacter hormaechei, Priestia aryabhatai ve Mycobacterium sacrum numaralı bakterileri sıvı besiyerinde Nikel absorpsiyon değerleri.

Nikel (Sıvı Besiyeri)			
Zaman (saat)	<i>Enterobacter hormaechei</i>	<i>Priestia aryabhatai</i>	<i>Mycobacterium sacrum</i>
24	$0.10 \pm 0.02d$	$0.01 \pm 0.001d$	$0.13 \pm 0.01c$
48	$1.59 \pm 0.01c$	$1,41 \pm 0.01c$	$1.24 \pm 0.013b$
72	$4.24 \pm 0.01b$	$2.58 \pm 0.01a$	$1.98 \pm 0.05a$
96	$4.58 \pm 0.01a$	$6.03 \pm 0.01b$	$2.00 \pm 0.01a$

Duncan^{a,b} $p < 0,05$

24 saat sonunda *Enterobacter hormaechei* , *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* numaralı bakterilerin absorbe ettikleri Ni konsantrasyonları sırasıyla (0.10±0.02, 0.01±0.01, 0.13±0.01) ppm, 48. saatte (1.59±0.01, 1.41±0.01, 1.24±0.013) ppm, 72. Saat te (4.24±0.01, 6.03±0.01, 2.00±0.05) ppm, 96.saat te (4.58±0.01, 2.58±0.01, 1.98±0.01) ppm dir (Şekil 4.3).



Şekil 4.4. *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* bakterilerinin Nikel absorbe etme miktarlarının zamana bağlı değişimi.

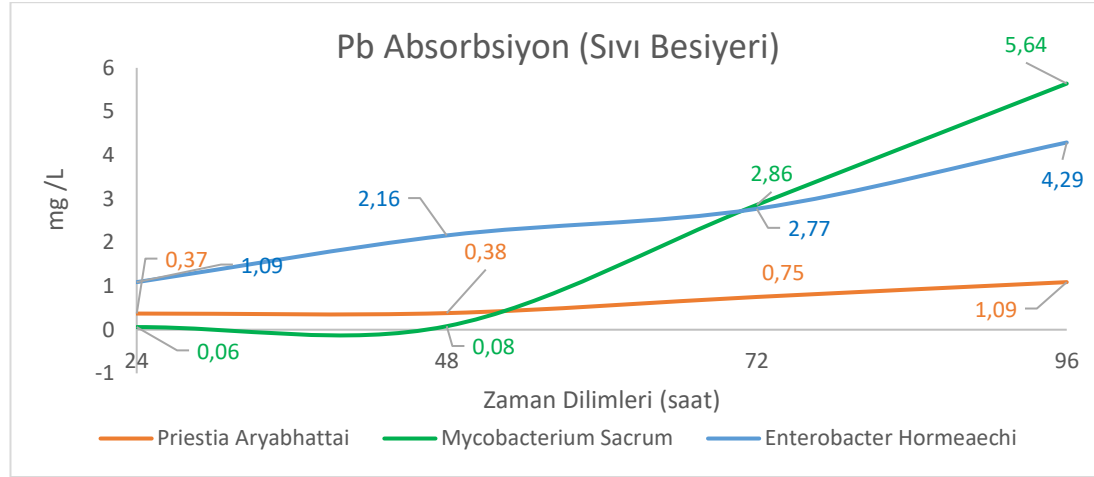
Pb konsantrasyonu 10 ppm olan Sıvı besiyerlerinde izole edilen E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin Pb absorpsiyonları bakteri türlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklar oldu ($p < 0.05$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* numaralı bakterileri sıvı besiyerinde Kurşun absorpsiyon değerleri.

Kurşun (Sıvı Besiyeri)			
Zaman (saat)	<i>Enterobacter hormaechei</i>	<i>Priestia aryabhatai</i>	<i>Mycobacterium sacrum</i>
24	1.09±0.01c	0.37±0.05c	0.06±0.01c
48	2.16±0.01b	0.38±0.06b	0.08±0.01c
72	2.77±0.01a	0.75±0.04c	2.86±0.04b
96	4.29±0.01d	1.09±0.01a	5.64±0.04a

Duncan^{a,b} $p < 0.05$

24 saat sonunda *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* numaralı bakterilerin absorbe ettikleri Pb konsantrasyonları sırasıyla (1.09±.01, 37±.05, 06±.01) ppm, 48. saatte (2.16±.01, 0.38±0.06, 0.08±0.01) ppm, 72. Saat te (2.77±0.01, 0.75±0.04, 2.86±0.04) ppm, 96.saat te (4.29±0.01, 1.09±0.01, 5.64±0.04) ppm dir (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* bakterilerinin Kurşun absorbe etme miktarlarının zamana bağlı değişimi.

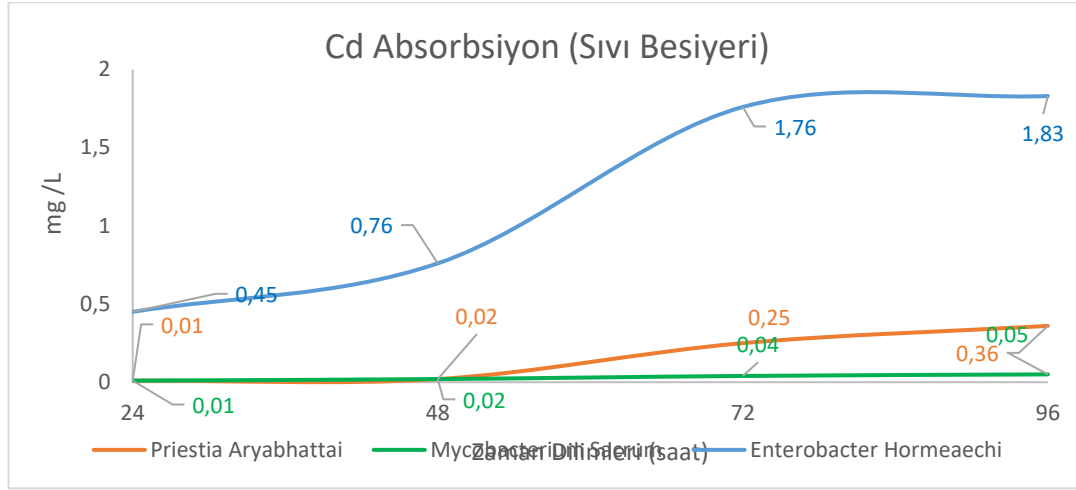
Cd konsantrasyonu 10 ppm olan Sıvı besiyerlerinde izole edilen E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin Cd absorpsiyonları bakteri türlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklar oldu ($p < 0.05$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* numaralı bakterileri sıvı besiyerinde Kadmium absorpsiyon değerleri

Kadmium (Sıvı)			
Gün	<i>Enterobacter hormaechei</i>	<i>Priestia aryabhatai</i>	<i>Mycobacterium sacrum</i>
1	0.45±0.01c	0.01±0.002c	0.01±0.003b
2	0.76±0.05c	0.02±0.01c	0.02±0.01b
3	1.76±0.05b	0.25±0.01b	0.04±0.01a
4	1.83±0.03a	0.36±0.06a	0.05±0.01a

Duncan^{a,b} $p < 0.05$

24 saat sonunda *Enterobacter hormaechei* , *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* numaralı bakterilerin absorbe ettikleri Cd konsantrasyonları sırasıyla (0.45±0.01, 0.01±0.00, 0.01±0.,00) ppm, 48. saatte (0.76±0.05, 0.02±0.01, 0.02±0.01) ppm, 72. Saat te (1.76±0.05, 0.25±0.01, 0.04±0.01) ppm, 96.saat te (1.83±0.03, 0.36±0.06, 0.05±0.01) ppm dir (Şekil 4.5).



Şekil 4.6. *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* bakterilerinin Kadmiyum absorbe etme miktarlarının zamana bağlı değişimi.

4.4. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN TOPRAK KÜLTÜRÜ İÇERİSİNDEKİ AĞIR METAL BİOREMİDİASYON KAPASİTELERİ

Saksı denemelerinde saksı içerisine 10 ppm konsantrasyonda Ni ile kirlenmiş toprağa aşıl原因 E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin Ni absorpsiyon potansiyelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olmuştur ($p < 0.05$). Yirmi dört (1.gün) saat sonrasında bakterinin absorbe ettiği Ni konsantrasyonu sırasıyla (0.19±0.27, 0.02±0.01, 0.04±0.01 ppm), yedinci günde (0.06±0.01, 0.07±0.01, 0.04±0.01 ppm) 14. günde (0.06±0.01, 0.05±0.01, 0.07±0.01 ppm), 21. günde (0.95±0.02, 2.09±0.01, 1.31±0.01 ppm) oldu.

Saksı denemelerinde saksı içerisine 10 ppm konsantrasyonda Pb ile kirlenmiş toprağa aşıl原因 E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin Pb absorpsiyon potansiyelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar oldu ($p < 0.05$). Yirmi dört (1.gün) saat sonrasında bakterinin absorbe ettiği Pb konsantrasyonu sırasıyla (0.01±0.001, 0.07±0.01,

0.01±0.00 ppm), yedinci günde (0.02±0.01, 0.07±0.01, 0.05±0.01ppm) 14. günde (0.05±0.01, 0.08±0.01, 0.05±0.01 ppm), 21. günde (0.09±0.01, 0.11±0.01, 0.08±0.01 ppm) oldu.

Saksı denemelerinde saksı içerisine 10 ppm konsantrasyonda Cd ile kirletilmiş toprağa aşıl原因 E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin Cd absorpsiyon potansiyelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olmuştur (p<0.05). Yirmi dört (1.gün) saat sonrasında bakterinin absorbe ettiği Cd konsantrasyonu sırasıyla (0.04±0.06, 0.01±0.00, 0.01±0.00 ppm), yedinci günde (0.01±0.00, 0.03±0.01, 0.01±0.00 ppm) 14. günde (0.01±0.00, 0.04±0.01, 0.02±0.01 ppm), 21. günde (0.02±0.01, 0.07±0.01, 0.03±0.01ppm) oldu.

Saksı denemelerinde saksı toprağının mineral besin elementi içeriğinde saksı topraklarına aşıl原因 E.H., P.A. ve M.S. bakterilerinin besin elementi absorpsiyon potansiyelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar oldu (p<0.05).

Toprak denemesinde bulunan B konsantrasyonunda sırasıyla birinci günde (1.65±0.02, 1.68±0.01, 1.65±0.01 ppm), yedinci günde (1.48±0.01, 1.54±0.01, 1.53±0.01 ppm), 14. günde (1.44±0.01, 1.52±0.01, 1.52±0.01 ppm), 21. günde (1.44±0.02, 1.43±0.02, 1.48±0.01 ppm) absorpsiyon oldu.

Zn konsantrasyonunda, birinci günde (0.27±0.01, 0.13±0.01, 0.18±0.01 ppm), yedinci günde (0.05±0.01, 0.13±0.01, 0.18±0.01 ppm), 14. (0.05±0.01, 0.13±0.01, 0.11±0.01 ppm), 21. günde (0.01±0.00, 0.06±0.01, 0.08±0.01 ppm) absorpsiyon oldu.

Cu konsantrasyonunda, birinci günde (0.03±0.01, 0.02±0.01, 0.03±0.01ppm), yedinci günde (0.02±0.01, 0.03±0.01, 0.02±0.01 ppm), 14. günde (0.02±0.01, 0.01±0.01 0.01±0.02 ppm), 21. günde (0.041±0.05, 0.01±0.01, 0.01±0.01 ppm) absorpsiyon oldu.

Fe konsantrasyonunda, birinci günde (2.01±.01, 9.28±0.01, 11.53±0.01 ppm), yedinci günde (1.97±0.01, 8.93±0.01, 5.45±0.01 ppm), 14. günde (0.64±0.01, 1.56±0.00, 0.05±0.01 ppm), 21. günde (0.54±0.01, 0.36±0.02,0.01±0.00 ppm) absorpsiyon oldu.

Mn konsantrasyonunda, birinci günde (0.12±0.01, 0.15±0.01, 0.18±0.01 ppm), yedinci günde (0.04±0.01, 0.07±0.01, 0.05±0.01 ppm), 14. günde (0.64±0.01, 0.04±0.01, 0.05±0.01 ppm), 21. günde (0.01±0.00, 0.02±0.01, 0.01±0.00 ppm) absorpsiyon oldu (Çizelge 4.6, 4.7 ve 4.8).

Çizelge 4.6. *Enterobacter hormaechei* bakterisinin toprak denemesinde B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd ağır metallerini absorbe etme miktarları

Gün	B	Zn	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Cd
1	1.65±0.02a	0.27±0.01a	0.04±0.05a	2.01±0.01a	0.12±0.01a	0.06±0.01b	0.01±0.00c	0.01±0.006a
7	1.48±0.01b	0.05±0.01b	0.03±0.01a	1.97±0.01b	0.04±0.01b	0.06±0.01b	0.02±0.01c	0.01±0.00a
14	1.44±0.01c	0.02±0.01c	0.02±0.01a	0.64±0.01c	0.01±0.0001c	0.19±0.01b	0.05±0.01	0.02±0.00a
21	1.44±0.02c	0.01±0.00c	0.02±0.01a	0.54±0.01d	0.01±0.0001c	0.95±0.02a	0.09±0.01a	0.42±0.01a

Duncan^{a,b} p<0.05

Çizelge 4.7. *Priestia aryabhatai* bakterisinin toprak denemesinde B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd ağır metallerini absorbe etme miktarları

Gün	B	Zn	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Cd
1	1.68±0.01a	0.34±0.01a	0.03±0.01a	9.28±0.01a	0.15±0.01a	0.02±0.01d	0.03±0.01c	0.01±0.0001c
7	1.54±0.01b	0.13±0.01b	0.02±0.01ab	8.93±0.01b	0.07±0.01b	0.05±0.01b	0.07±0.01b	0.03±0.01b
14	1.52±0.01b	0.08±0.01c	0.01±0.01b	1.56±0.01c	0.04±0.01c	0.07±0.01c	0.08±0.01b	0.04±0.01b
21	1.43±0.02c	0.06±0.01d	0.01±0.01b	0.36±0.02d	0.02±0.01d	2.09±0.01a	0.11±0.01a	0.07±0.01a

Duncan^{a,b} p<0.05

Çizelge 4.8. *Mycobacterium sacrum* bakterisinin toprak denemesinde B, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Cd ağır metallerini absorbe etme miktarları

Gün	B	Zn	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Cd
1	1.65±0. 01a	0.20± 0.01a	0.03 ±0.0 1a	11.53± 0.01a	0.18±0. 01a	0.04±0. 01c	0.01± 0.001 c	0.01±0.0 002b
7	1.53±0. 01b	0.18± 0.01b	0.02 ±0.0 1ab	5.45±0. 01ab	0.05±0. 01b	0.05±0. 01c	0.05± 0.01b	0.01±0.0 001b
14	1.52±0. 01b	0.11± 0.01c	0.01 ±0.0 2b	0.80±0. 1b	0.05±0. 01b	0.07±0. 01b	0.05± 0.01b	0.02±0.0 1ab
21	1.48±0. 01c	0.08± 0.01d	0.01 ±0.0 1b	0.33±0. 01b	0.01±0. 0001c	1.31±0. 01a	0.08± 0.01a	0.03±0.0 1a

Duncan^{a,b} p<0.05

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Çevre dostu bir teknik olarak Bioremediasyon, kirlenmiş toprak ve sudan ağır metallerin toksisitesini temizleme konusunda yüksek bir potansiyele sahiptir. Bakteriler, çeşitli bioremediasyon yaklaşımlarının temeli olarak da hizmet eden, hücre zarları boyunca taşıma, bu hücre duvarı üzerinde edinim, hücreler arası ve hücre dışı yakalama, kompleks oluşturma ve redoks reaksiyonu dahil olmak üzere metal toleransı için çeşitli adımlar geliştirilmeye devam etmektedir. Bu tür dirençlerin çoğu için genetik faktörler plazmitlerde bulunur, ancak bazıları kromozomlarda da bulunabilmektedir. Bakteriler hem ATP'ye bağımlı hem de bağımsız mekanizmalar yoluyla ağır malzemeleri alabilmektedir [62]. Bakteriler tarafından da hücre duvarlarında bulunan toksik elementler esastır. Gram-pozitif bakteriler, hücre dışı matrislerinde metal-negatif bakterilere göre önemli ölçüde daha fazla metal iyonu kazanmaktadır. Mikrobiyal metalotiyoninlerin (MT'ler) metal metabolizmasında önemli bir rol oynadığı ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, metal iyonlarına toleranslı mikroorganizmalar, yüksek düzeyde spesifik toksik metal içeren alanlardan kaynaklanan ağır metal kontaminasyonunun biyoremediasyonun için kritik öneme sahiptir [63]. Bakteriyel bioremediasyon işlemi, adsorpsiyon, absorpsiyon, sekestrasyon, detoksifikasyon, biyolojik olarak kullanılabilir veya daha az toksik veya daha az çözünür form olarak dönüştürme gibi çeşitli mekanizmalarla çevredeki kirleticileri iyileştirebilmektedir [64]. Bir diğer önemli mekanizma, inorganığı organik formlara dönüştürmek için solunum yolu ile çalışan redoks dönüşümüdür [65]. Bakteriler ayrıca sorpsiyon ve biyobirikim yoluyla metalleri hareketsiz hale getirebilmektedir [64].

5.1. ÇÖP SIZINTI SUYUNDA AĞIR METAL GİDERİM VERİMLERİ

Bu çalışmada, doğal ortamdan izole edilen sırasıyla *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* bakteri türlerinin su ve topraklardaki ağır metal içeriklerine etkisi araştırılmıştır. Biyolojik kum filtresinden geçirilen çöp sızıntı suyunda bakteri aşılınmayan F1 hızlı kum filtresinde orijinal çöp suyunun başlangıç değerlerine göre Cd konsantrasyonunda %11 oranında azalma sağlanmıştır. Bu durum *Enterobacter hormaechei* aşılınan (F2) biyolojik filtrede %78, *Priestia aryabhatai* bakterisi aşılınan (F3) biyolojik filtrede %67, *Mycobacterium sacrum* bakterisi aşılınan (F4)'biyolojik filtrede %78 oranında de Cd giderimi sağlanmıştır.

Kullanılan biyolojik filtrelerde çöp sızıntı suyunun başlangıç değerlerine göre Ni konsantrasyonlarında sırasıyla F1, F2, F3 ve F4 biyolojik filtrelerden geçirilen çöp sızıntı suyunda (%46, %64, %57 ve %56), Pb konsantrasyonunda sırasıyla (%83, %99, %75, %76), Cr konsantrasyonunda (%14, %41, %46 ve %19), Co konsantrasyonunda (%20, %45, %60 ve %40), Cu konsantrasyonunda (%60, %80, %80, %60), B konsantrasyonunda (%38, %58, %25, %23) oranlarında azalmalar görüldü. Çöp sızıntı suyundan izole edilen *Enterobacter hormaechei* bakterisinin çöp sızıntı suyunda ağır metal gideriminde diğer bakterilere göre daha yüksek bir giderim sağladığı görüldü. Sonuç olarak doğal ortamından izole edilen bu bakterinin diğer bakterileri göre daha yüksek giderim verimi oluşturması özellikle çöp sızıntı ve diğer atık sularında kullanılabileceğini göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalarda bu bakterinin özellikle atık suların arıtılmasında kullanılmasını önermektedirler. Kim, S.H ve arkadaşlarının [66], yaptığı bir çalışmada *E. hormaechei* JH, biyolojik koku giderici sistemlerin giderim verimliliğini artırmak için etkili olabileceği, bu nedenle, *E. hormaechei* JH'nin biyolojik koku gidermede kullanım için olası bir aday olduğunu ve diğer bakterilerle uygun bir kombinasyon oluşturulursa biyolojik koku giderme sistemlerinde etkili olma potansiyeline sahip olduğunu önermektedirler. Yine Nitrat kirliliği olan sularda yapılan çalışmada *Enterobacter hormaechei*, sodyum süksinat varlığında metanole kıyasla 3.0 C/N oranında denitrifikasyon oranı (%98.7) ile çok yüksek verim sağladığı ve atık suyun biyodenitrifikasyonunda güçlü aday olarak kabul edilebileceğini bildirmiştir [67]. Yapılan başka bir çalışmada, *E. coli*'de yapay olarak indüklenen mutasyonun mükemmel Cd metal toleransı gösterdiğini ve biyoremediasyon sürecinin

kısa süresi boyunca Cd'yi etkili bir şekilde emdiğini belirtmiştir [68]. *Priestia aryabhatai* ile yapılan bir çalışmada organofosfor ile kirlenmiş toprak ve suların arıtımında bu mikroorganizmanın etkili olacağı bildirilmiştir [69]. *Mycobacterium*, kendi ailesi olan *Mycobacteriaceae* göz önüne alındığında, *Actinomycetota*'nın bir cinsidir. Bu cinste 190'dan fazla tür tanınmaktadır [70]. Bu cins, insanlarda tüberküloz (*Mycobacterium tuberculosis*) ve cüzzam (*Mycobacterium leprae*) dahil olmak üzere memelilerde ciddi hastalıklara neden olduğu bilinen patojenleri içermektedir [71]. Bu nedenle bu mikroorganizmanın toprak ve suların remediasyonunda kullanımının insan ve canlı sağlığı açısından ciddi riskler oluşturabilecek olması nedeniyle kullanımı tavsiye edilmemektedir.

5.2. SIVI BESİYERİ VE TOPRAK KÜLTÜRÜNDE, İZOLE BAKTERİLERİN AĞIR METAL GİDERİM VERİMLERİ

10 ppm konsantrasyonunda Ni içeren sıvı besiyerine aşıl原因 *Enterobacter hormaechei* bakterisinin 24, 48, 72 ve 96 saatlerdeki ağır metal absorpsiyonları %1, %15.9, %42.4 ve %45.8 oranında olurken, toprak kültüründe 7, 14, 21 ve 28 gün sonunda ise %0.6, %0.6, %1.9 ve %9.5 oranında Ni absorpsiyonu olmuştur. Bu durum *Priestia aryabhatai* bakterisinde sıvı besiyerinde sırasıyla (%0.1, %14.1, %25.3 ve %60.3) toprak kültüründe (%0.2, %0.5, %0.7 ve %20.9), *Mycobacterium sacrum* bakterisinde sıvı besiyerinde (%1.3, %12.4, %19.8 ve %20) toprak kültüründe (%0.4, %0.5, %0.7 ve %13.1) olarak belirlendi.

10 ppm konsantrasyonunda Cd içeren Sıvı besiyerine aşıl原因 *Enterobacter hormaechei* bakterisinin 24, 48, 72 ve 96 saatlerdeki ağır metal absorpsiyonları %4.5, %7.6, %17.6 ve %18.3) oranında olurken, toprak kültüründe 7, 14, 21 ve 28 gün sonunda ise (%0.1, %0.1, %0.2 ve %4.15) oranında Cd absorpsiyonu olmuştur. Bu durum *Priestia aryabhatai* bakterisinde sıvı besiyerinde sırasıyla (%0.1, %0.2, %2.5 ve %3.6) toprak kültüründe (%0.1, %0.3, %0.4 ve %0.7), *Mycobacterium sacrum* bakterisinde sıvı besiyerinde (%0.1, %0.2, %0.4 ve %0.5) toprak kültüründe (%0.1, %0.1, %0.2 ve %0.3) olarak belirlendi.

10 ppm konsantrasyonunda Pb içeren Sıvı besiyerine aşıl原因 *Enterobacter hormaechei* bakterisinin 24, 48, 72 ve 96 saatlerdeki ağır metal absorpsiyonları (%10.9, %21.6, %27.7 ve %42.9) oranında olurken, toprak kültüründe 7, 14, 21 ve 28 gün sonunda ise (%0.1, %0.2, %0.5 ve %0.9) oranında Pb absorpsiyonu olmuştur. Bu durum *Priestia aryabhatai* bakterisinde sıvı besiyerinde sırasıyla (%3.8, %3.8, %7.5 ve %10.9) toprak kültüründe (%0.3, %0.7, %0.8 ve %1.1), *Mycobacterium sacrum* bakterisinde sıvı besiyerinde (%0.6, %0.8, %28.6 ve %56.4) toprak kültüründe (%0.1, %0.5, %0.5 ve %0.8) olarak belirlendi. Hem sıvı besiyerinde hemde toprak kültüründe yapılan denemelerde Ni, Cd ve Pb gideriminde sırasıyla *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai*, ağır metal gideriminde *Mycobacterium sacrum* e göre daha yüksek ağır metal absorpsiyonları ve performans gösterdi. Ayrıca, Cd absorpsiyonlarında bu 3 izole bakteri suşu Ni ve Pb kadar yüksek absorpsiyon kapasitelerine sahip olmamıştır. Buna neden olarak Cd un toksik etkisinden kaynaklanması olabilir. Sonuç olarak *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* bioremediasyonda kullanılma potansiyellerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada izole edilen *S. melonis* ve *E. hormaechei*'ye benzer izole suşların büyüme hızı ve bioremediasyon potansiyelleri Ni, Cu, Pb ve Cd ortamlarında ve dört metal karışımı altında ve farklı pH larda denenmiş ve pH 6 da 48 saat sonucunda en yüksek ağır metal giderimine ulaştıkları bildirilmiştir [72]. Önceki sonuçlar, *Sphingomonas* cinsi suşların, pentaklorofenol [73] ve Cd [74] gibi tehlikeli bileşenleri [72] iyileştirebileceğini de ortaya koymuştur. Ağır metale dirençli bakteriler, metallerin toksisitesini azaltmak için çeşitli mekanizmalar kullanmaktadırlar. Bakteri hücre duvarının bileşenleri, ağır metallerin alınmasında kilit rol üstlenmektedir [75]. *Enterobacter*, hücre duvarlarında metalleri bağlayabilen lipopolisakaritler ve lipoproteinler içeren gram negatif bakteridir. Hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakteri suşlarının hücre duvarının bileşenleri, ağır metallerin hücre zarı boyunca dönüşümünü düzenlemektedir [76]. Gram-negatifte, fosfat grupları, metal bağlanmasında kritik bir rol üstlenmektedir [77]. Fosfat gruplarının katıldığı bulunmuştur. Pb ve Ni'nin *Pseudomonas aeruginosa* ASU6a gibi gram-negatif bakterilerin hücre duvarına bağlanmaktadır [78]. *E. hormaechei* suşları, kirlenmiş topraklar için potansiyel biyolojik iyileştirici maddeler olarak uygun olduğu ayrıca tarımda PGPR ve fosfat çözücü bakteri olarak da kullanılabilirliğini bildirmişleridir[79]. Çalışmada kullanılan ve ağır metal iyileştirme özelliği olan

Priestia aryabhatai bakterisi kirlenmiş toprak ve sulardan izole edilmiş ve arsenik remediasyonunda potansiyel sahip olduğu [80] bildirilmiş gram pozitif bir bakteridir. Karadeniz'e taşınan sedimantasyonlardan izole edilen bakterilerden *Priestia megaterium* izolatının bazı ağır metal tuzları ile yapılan çalışmada bioremediasyon ve biyoteknolojik yaklaşımlar için potansiyel izolatlar hakkında önemli ipuçları verdiğini bildirmiştir [81]. *Prestia megaterium* ATCC 19213 suşunun Al alımında [82] ve fosfat çözücü etkisinin [83], Se toleransının olduğunu bildirmişlerdir [84]. Ayrıca çalışmalarda *Priestia aryabhatai*'nin PGPR etkilerinden bahsedilmiştir [69,85,86]. Ağır metallerin neden olduğu toprak kirliliği ve su kirliliği dünyanın en ciddi tarımsal ve çevresel sorunlarından biridir [87]. Kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), Nikel (Ni), civa (Hg) ve diğerlerini içeren ağır metallerin tarım topraklarında ve su kaynaklarında birikmesi, insanlar, toprak, su ve ekosistemler için ciddi sağlık riskleri oluşturabilmektedir. Birkaç çalışma, farklı bitki organlarından izole edilen endofitik bakterilerin çeşitli mekanizmaları düzenleyerek bitki gelişimine yardımcı olabileceğini ve ağır metal alımını artırabileceğini bulmuştur [88-90]. Ek olarak, endofitik bakterilerin çoğu, indol-3-asetik asit (IAA) ve sideroforlar üretir ve mineralleri çözümler; bunların tümü, bitki büyümesinin desteklenmesi ve HM'lere karşı tolerans için potansiyel faydalarına işaret etmektedir. Sonuç olarak, bu çalışmanın amacı, buğday konakçısı ile bağlantılı endofitik suşların HM toleransını incelemektir. Mevcut bulgular, bitki büyümesinin desteklenmesinde ve HM kirliliğinin iyileştirilmesinde endofitik mikroorganizmaların önemli rolünü göstermiştir [91,92].

5.3. ÖNERİLER

Belediye çöp sızıntı sularının yeraltısuyu kaynakları üzerindeki etkisi, ülkelerdeki tatlı su kütlelerinin kirlenmesine bağlı olarak özellikle çoğu kurak ülkelerde küresel ilgi haline gelmiştir. Artan kentsel nüfus ve ekonomik faaliyetlere bağlı olarak bu depolama alanlarının sayısı ve depolama kapasiteleri artmaya devam ettikçe, belediye çöplüklerinden sızıntı suyu üretimi daha da artmaktadır. Depolama sahası sızıntı suyunun farklı bileşenleri arasında bulunan çözünmüş organik maddeler, ağır metal ile bağlanma potansiyeline sahiptir ve biyolojik olarak parçalanmadıkları için düşük seviyede bile biyolojik sistem için toksik özellikleri ile yüzey ve yeraltısuyu kalitesini bozabilirler. Ayrıca, sızıntı suyunun büyük bir bölümünü oluşturan ağır metaller

biyobirikimli ve toksik olduğu kadar endokrin bozucu ve kanserojendir. Bu nedenle Yüksek konsantrasyon içerikli sızıntı sularının ağır metal ve toksisite özellikleri göz önüne alındığında, toprak ve yeraltısuyu akiferlerine sızması halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Fakat, gelişmekte olan ülkelerin çoğunda, yanlış yönetilen açık depolama sahaları, kontrollü ve mühendislik ürünü depolama alanlarının işletme maliyetlerine bağlı olarak daha yaygın uygulanmaktadır.

Bioremediasyon işlemi, kirleticileri zararsız veya daha az zararlı maddelere ayırmak için mikroorganizmaları kullanan uzun vadeli bir arıtma işlemidir. Bu işlemlerde; mikroorganizmalar çevresel kirleticileri fikse etme veya nihai ürünlere dönüştürme yeteneğine sahiptir. Bu yöntem, yalnızca çevresel koşullar mikrobiyal büyüme ve aktiviteye izin veriyorsa işe yarar. Kirleticileri parçalayan mikroorganizmalar, kirletici ile yakın temas halinde ve doğru yerde olmalıdır.

Çevresel şartlara bağlı olarak bu çalışmada Karabük ili çevre şartlarına ve kirliliğın olduğu bölgelere adapte olmuş mikro organizmalardan izole edilen 3 bakteriden *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* bakterileri bioremediasyonda kullanılma potansiyelleri hem kirlı suların hem de ağır metal kirliliğı bulunan topraklarda ağır metal gideriminde yüksek giderim verimi sağlayacağını sonucuna ulaşıldı. İzole edilen *Enterobacter hormaechei* ve *Priestia aryabhatai* bakterilerin organik kirleticilerin gideriminde çalışmalara söz konusu olmuş olup, atık sulardaki ağır metallerin giderim verimlerinde literatürde çok konu edilmemiş olması bu çalışmayı bu yönüyle özgünleştirdiğı düşünülmektedir.

Karabük ili kentsel çöp atıklarının depolandığı vahşi depolama alanınının çöp sızıntı suları Kızılcaören yerleşkesinin çok yakınında geçerek soğanlı çayına yüzey akışları ile ulaşmaktadır. Bu nedenle bu toksik çöp sızıntı suyu hem soğanlı çayının kirletici konsantrasyonu artırmakta hemde yerleşkenin yeraltısularına sızması ile de toplum sağlığını tehdit edici boyutta olabilmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre çevresel kirletici çöp sızıntı sularının birikmiş olduğu alandan izole edilen *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* bakterilerin de bulunduğu bio ve fito remediasyon metotlarının birlikte uygulandığı düşük maliyetli biyolojik su filtreleme tesisleri ile ıslah çalışmalarını yapılmasınının çöp sızıntı sularının yer altı ve yer üstü sularına

karışarak zararlı etkilerinin azaltılabileceğini göstermektedir. Ayrıca İsrail ve İspanya gibi ülkelerde yapılan çalışmalar bu atık suların yeniden kullanım olanaklarını varlığını göstermektedir. Buna ek olarak bu çalışma sonucunda çevresel şartlara adapte olmuş izole edilen bu mikroorganizmaların bioremediasyon çalışmalarına entegre edilerek sızıntı sularının tekrar kullanılabilir seviyelere getirilebileceği öngörülmektedir.

Bu kapsamda ortaya koyduğumuz sonuçların geçerlilik sınırlarının ve iyileştirme verimlerinin detaylı çalışmalar ile ortaya konulmasının konunun belirsizliğinin ortadan kaldırılması açısından önemli olacağı ve ileriki bioremediasyon çalışmalarına katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Buna ek olarak yapmış olduğumuz çalışmada çöp sızıntı sularında ağır metal giderim verimleri incelenen bu bakterilerin atık sulardaki diğer kirletici parametrelerin giderim verimlerinde yeni çalışmalara konu edilmesinin önemli olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, İzole edilen bu iki bakteri tarım alanlarında bitki büyümeyi düzenleyici organizmalar olarakta literatürlerde yer almaktadır. Bu nedenle bu bakterilerin, bitki büyüme düzenleyici rollerinin yanında Cd ile kirlenmiş tarımsal alanlarda bitkilerdeki ağır metal alımına etkisinin incelenmesinde bu çalışma ışık tutacaktır.

KAYNAKÇA

1. ARTAN, S., "TÜRKİYE'DE ÇEVRE KİRLİLİĞİ, DIŞA AÇIKLIK VE EKONOMİK BÜYÜME İLİŞKİSİ", *Journal Of Management And Economics Research*, 13 (1): (2015).
2. Öztürk Özgül, "Çevre kirliliği ve hukuki sorumluluk", (2017).
3. World Health Organization, "World Health Statistics 2016: Monitoring Health for the SDGs Sustainable Development Goals", *World Health Organization*, (2016).
4. Mielkel, H. W. and Reagan, P. L., "Soil Is an Important Pathway of Human Lead Exposure", (1998).
5. Ergene, A., "Toprak Biliminin Esasları", (1982).
6. Tülay, F., Algan, K., Bilen, S., Üniversitesi, A., Fakültesi, Z., and Bölümü - Erzurum, T., "Toprak Kirlenmesi ve Biyolojik Çevre", *Atatürk Üniv. Zir.Fak.Derg*, 36 (1): 83–88 (2005).
7. Sawidis, T., Marnasidis, A., Zachariadis, G., and Stratis, J., "A study of air pollution with heavy metals in Thessaloniki city (Greece) using trees as biological indicators", *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology*, 28 (1): 118–124 (1995).
8. Güler Zakir Çobanoğlu Ankara, Ç., "Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi: 40 TOPRAK KİRLİLİĞİ", (1997).
9. Haktanır, K., "Toprak Kirliliği ve Amaç Dışı Tarım Toprağı Kullanımı", *TMMOB. Ziraat Mühendisleri Odası Yayın Organı, Tarım Ve Mühendislik*, (33): 12–16 (1989).
10. Feger, K. H., "Nitrogen cycling in two Norway spruce (*Picea abies*) ecosystems and effects of a (NH₄)₂SO₄ addition", *Water, Air, And Soil Pollution*, 61 (3): 295–307 (1992).
11. Yücel, M., "Çevre Sorunları, Çukurova Üniv", *Zir. Fak. Yay*, (109): (1995).
12. Necmettin Çepel, "Çevre ve İnsan ", (1998).
13. Kızıloğlu, F. T. and Bilen, S., "Çevre Kirliliği, Atatürk Üniv", *Zir. Fak. Yay*, (220): (2000).

14. Cook, C. M., Sgardelis, S. P., Pantis, J. D., and Lanaras, T., "Concentrations of Pb, Zn, and Cu in *Taraxacum* spp. in relation to urban pollution", *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 53 (2): 204–210 (1994).
15. Moreno, A. M., Perez, L., and Gonzalez, J., "Soil parameters contributing to heavy metal dynamics in perimetropolitan farmland areas", *Geomicrobiology Journal*, 11 (3–4): 325–332 (1993).
16. Diatta, J. B., Grzebisz, W., and Apolinarska, K., "A study of soil pollution by heavy metals in the city of Poznań (Poland) using dandelion (*Taraxacum officinale* WEB) as a bioindicator", *Electronic Journal Of Polish Agricultural Universities*, 6 (2): (2003).
17. Görmez, K., "Çevre Sorunları Ve Türkiye, Gazi Kitapevi, 2", *Baskı, Ankara*, 125–127 (1997).
18. Gazete, R., "Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği", *Başbakanlık Basımevi*, 25687: (2004).
19. Mutluhan, A. and Galip, A., "SUYUN ÖNEMİ, TÜRKİYE'DE SU POTANSİYELİ, SU HAVZALARI VE SU KİRLİLİĞİ", *Ankara Üniversitesi Dil Ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 47 (2): 105–118 (2007).
20. Baysal, A., "Genel beslenme bilgisi. 5", *Baskı, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 189s*, (1989).
21. Himes, J. H., "Anthropometric Assessment of Nutritional Status", *Wiley-Liss*, (1991).
22. Benjamin, C. L., Garman, G. R., and Funston, J. H., "Human Biology", *WCB McGraw-Hill*, (1997).
23. Akın, G., Güleç, E., Sağır, M., Gültekin, T., and Bektaş, Y., "Yaşlanma ve yaşlanmayı geciktiren çevresel etmenler. III", *Ulusal Yaşlılık Kongresi*, 16–19 (2005).
24. Atabey, E., "Tıbbi Jeoloji", *TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları*, (2005).
25. Polat, H. E. and Olgun, M., "Hayvancılık işletmelerindeki atık yönetimi uygulamalarının su kirliliği üzerine etkileri", *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2009 (2): 71–80 (2009).
26. Kaplan, M., Sönmez, S., and Tokmak, S., "Antalya-Kumluca yöresi kuyu sularının nitrat içerikleri", *Turkish Journal Of Agriculture And Forestry*, 23 (3): 309–313 (1999).
27. Sağlam, M. T. and Bellitürk, K., "Su kirliliği ve toprak üzerindeki etkisi", *Alatarım*, 2 (1): 46–49 (2003).

28. Zhang, J., Zhang, J. min, Xing, B., Liu, G. dong, and Liang, Y., "Study on the effect of municipal solid landfills on groundwater by combining the models of variable leakage rate, leachate concentration, and contaminant solute transport", *Journal Of Environmental Management*, 292: 112815 (2021).
29. Alam, O. and Qiao, X., "An in-depth review on municipal solid waste management, treatment and disposal in Bangladesh", *Sustainable Cities And Society*, 52: 101775 (2020).
30. Yang, W.-L., Zhou, W.-Y., Wan, W.-X., Gou, S.-Z., Zhang, J., Deng, S.-H., Shen, F., Wang, Y.-J., Yang, H., and Luo, L., "Assessing soil environmental capacity on different land uses in a suburban area of Chengdu, China", *Environment Protection Engineering*, 45 (2): (2019).
31. Khandelwal, H., Dhar, H., Thalla, A. K., and Kumar, S., "Application of life cycle assessment in municipal solid waste management: A worldwide critical review", *Journal Of Cleaner Production*, 209: 630–654 (2019).
32. Józwiak, M. A., Józwiak, M., Kozłowski, R., and Żelezik, M., "Zooremediation of leachates from municipal waste using *Eisenia fetida* (SAV.)", *Environmental Pollution*, 254: 112871 (2019).
33. Bilgili, M. S., "Katı atık düzenli depo sahalarında atıkların aerobik ve anaerobik ayrışması üzerine sızıntı suyu geri devrinin etkileri", (2006).
34. Nordin, N. I. A. B. A., "LEACHATE TREATMENT USING CONSTRUCTED WETLAND WITH MAGNETIC FIELD", (2006).
35. Tüylüoğlu, B. S., "Evsel katı atık sızıntı sularının havasız çamur yataklı reaktörle arıtımı", (2001).
36. ÖZTÜRK, M., POLAT, A., TOPÇU, U. S., and ASLAN, Ş., "KATI ATIK SIZINTI SUYUNUN İLERİ OKSİDASYON YÖNTEMLERİYLE ARITIMI", .
37. Nhat, P. T., Biec, H. N., Mai, N. T. T., Thanh, B. X., and Dan, N. P., "Application of a partial nitrification and anammox system for the old landfill leachate treatment", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95: 144–150 (2014).
38. Ghazi, N. M., Lastra, A. A., and Watts, M. J., "Hydroxyl radical (OH) scavenging in young and mature landfill leachates", *Water Research*, 56: 148–155 (2014).
39. Öztürk Filiz, "Katı Atık Sızıntı Suyu Miktarını Azaltıcı Yönetim Stratejileri", (2011).
40. Shalini, S. S. and Joseph, K., "Nitrogen management in landfill leachate: Application of SHARON, ANAMMOX and combined SHARON–ANAMMOX process", *Waste Management*, 32 (12): 2385–2400 (2012).

41. Yerli, C., ÇAKMAKCI, T., SAHİN, U., and Tüfenkçi, Ş., "Ağır metallerin toprak, bitki, su ve insan sağlığına etkileri", *Türk Doğa Ve Fen Dergisi*, 9 (Özel Sayı): 103–114 (2020).
42. İpek Aslıhan, "BAZI TARIM BİTKİLERİ KULLANILARAK KURŞUN KİRLİLİĞİNİN ŞELAT DESTEKLİ FİTOREMEDİASYON YÖNTEMİYLE GİDERİLMESİ", (2019).
43. Alexander, R., "Entwicklung und Charakterisierung wasserlöslicher Benzoylthioharnstoff-funktionalisierter Polymere zur selektiven Abtrennung von Schwermetallionen aus Abwässern und Prozesslösungen", *Die Dissertation*, (2002).
44. MORI, M., GOMI, M., MATSUMUNE, N., NIIZEKI, K., and SAKAGAMI, Y., "Biofilm-Forming Activity of Bacteria Isolated from Toilet Bowl Biofilms and the Bactericidal Activity of Disinfectants against The Isolates", *Biocontrol Science*, 18 (3): 129–135 (2013).
45. Bağdatlı Cüneyt M., "Pb, Cd, Sb ve Ni KİRLİLİĞİNE MARUZ KALMIŞ TARIM TOPRAKLARININ YONCA (MEDICAGO SATIVA L.) BİTKİSİ KULLANILARAK DOĞAL ARITIMI", (2019).
46. Florea, A.-M. and Büsselberg, D., "Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds", *Biometals*, 19 (4): 419–427 (2006).
47. HAKTANIR, K., ARCAK, S., ERPUL, G., and TAN, A., "Yol kenarındaki topraklarda trafikten kaynaklanan ağır metallerin birikimi", *Turkish Journal Of Engineering And Environmental Sciences*, 19 (6): 423–431 (1995).
48. TANÇ Süheyla FAKIOĞLU, "KAYSERİ ÇÖP DEPOLAMA SAHASINDAN ALINAN ÇÖP SIZINTI SULARINDAN BİTKİSEL YOLLA AĞIR METAL GİDERİMİNİN TESPİTİ", (2016).
49. Burns, R. G. and Dick, R. P., "Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications", *CRC Press*, (2002).
50. Habashi, F., "Handbook of Extractive Metallurgy", *Wiley-Vch*, (1997).
51. Emre Mesut, "Nikelli Ve Nikelsiz Altın Alamlarının Geni Bir Bileim Aralında Fiziksel, Kimyasal, Mekanik Ve Alerjen Özelliklerinin Belirlenmesi", (2000).
52. Güngör Orçun, "AĞIR METALLERLE KİRLENMİŞ ÇEVRELERDEN İZOLE EDİLEN ASKOMİSETİK MAYALARIN BAKIR VE NİKEL AĞIR METALLERİNE KARŞI DİRENÇLERİNİN ARAŞTIRILMASI", (2009).
53. Chowdhury, S., Bala, N. N., and Dhauria, P., "Bioremediation—a natural way for cleaner environment", *International Journal Of Pharmaceutical, Chemical And Biological Sciences*, 2 (4): 600–611 (2012).

54. Dindar, E., ŞAĞBAN, F. O. T., and Başkaya, H. S., "Kirlenmiş toprakların biyoremediasyon ile Islahı", *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 15 (2): (2010).
55. Baker, K. H. and Herson, D. S., "Microbiology and biodegradation.", *Bioremediation.*, 9–60 (1994).
56. Milli Eğitim Bakanlığı, "Çözelti Hazırlama", (2015).
57. Bal, M., "Double Exposures: The Practice of Cultural Analysis", *Routledge*, (2012).
58. Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K., "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets", *Molecular Biology And Evolution*, 33 (7): 1870–1874 (2016).
59. Felsenstein, J., "Phylogenies and the Comparative Method", *The American Naturalist*, 125 (1): 1–15 (1985).
60. Saitou, N. and Nei, M., "The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees.", *Molecular Biology And Evolution*, 4 (4): 406–425 (1987).
61. Nei, M. S. K. and Sudhir Kumar, "Molecular Evolution and Phylogenetics", (2000).
62. Ajmal, A. W., Saroosh, S., Mulk, S., Hassan, M. N., Yasmin, H., Jabeen, Z., Nosheen, A., Shah, S. M. U., Naz, R., and Hasnain, Z., "Bacteria isolated from wastewater irrigated agricultural soils adapt to heavy metal toxicity while maintaining their plant growth promoting traits", *Sustainability*, 13 (14): 7792 (2021).
63. Yetunde Mutiat, F.-B., Gbolahan, B., and Olu, O., "A comparative study of the wild and mutated heavy metal resistant *Klebsiella variicola* generated for cadmium bioremediation", *Bioremediation Journal*, 22 (1–2): 28–42 (2018).
64. Zhang, H., Yuan, X., Xiong, T., Wang, H., and Jiang, L., "Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: Influence factors, mechanisms and evaluation methods", *Chemical Engineering Journal*, 398: 125657 (2020).
65. Wasmund, K., Mußmann, M., and Loy, A., "The life sulfuric: microbial ecology of sulfur cycling in marine sediments", *Environmental Microbiology Reports*, 9 (4): 323–344 (2017).
66. Kim, S.-H., Kim, I. H., Lee, W. J., and Lee, J.-H., "Characterization of thiosulfate-oxidizing *Enterobacter hormaechei* JH isolated from barnyard manure", *Korean Journal Of Chemical Engineering*, 25 (5): 1131–1135 (2008).

67. Kebabi, B., Aissaoui, S., Sifour, M., Ouled, H., Bougherara, H., and Aouati, M. K., "Heterotrophic denitrification by *Enterobacter hormaechei* collected from wastewater treatment plant in presence of methanol and sodium-succinate", (2018).
68. Kaur, S. and Roy, A., "Bioremediation of heavy metals from wastewater using nanomaterials", *Environment, Development And Sustainability*, 23 (7): 9617–9640 (2021).
69. Le, T. H., Hoang, Q. C., Vu, D. D., and Vo, T. H. T., "Biodegradation of organophosphorus insecticide methyl parathion by soil microorganisms", (2021).
70. King, H. C., Khera-Butler, T., James, P., Oakley, B. B., Erenso, G., Aseffa, A., Knight, R., Wellington, E. M., and Courtenay, O., "Environmental reservoirs of pathogenic mycobacteria across the Ethiopian biogeographical landscape", *PLOS ONE*, 12 (3): e0173811 (2017).
71. Hussain, T., "Leprosy and Tuberculosis: An Insight-Review", *Critical Reviews In Microbiology*, 33 (1): 15–66 (2007).
72. Heidari, P., Sanaeizade, S., and Mazloomi, F., "Removal of nickel, copper, lead and cadmium by new strains of *sphingomonas melonis* e8 and *enterobacter hormaechei* ww28", *Journal Of Applied Biotechnology Reports*, 7 (4): 208–214 (2020).
73. Yang, C.-F. and Lee, C.-M., "Pentachlorophenol contaminated groundwater bioremediation using immobilized *Sphingomonas* cells inoculation in the bioreactor system", *Journal Of Hazardous Materials*, 152 (1): 159–165 (2008).
74. Tangaromsuk, J., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M., and Upatham, E. S., "Cadmium biosorption by *Sphingomonas paucimobilis* biomass", *Bioresource Technology*, 85 (1): 103–105 (2002).
75. Vickers, N. J., "Animal communication: when i'm calling you, will you answer too?", *Current Biology*, 27 (14): R713–R715 (2017).
76. Tiquia-Arashiro, S. M., "Lead absorption mechanisms in bacteria as strategies for lead bioremediation", *Applied Microbiology And Biotechnology*, 102 (13): 5437–5444 (2018).
77. Gadd, G. M., "Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment", *Journal Of Chemical Technology & Biotechnology: International Research In Process, Environmental & Clean Technology*, 84 (1): 13–28 (2009).
78. Gabr, R. M., Hassan, S. H. A., and Shoreit, A. A. M., "Biosorption of lead and nickel by living and non-living cells of *Pseudomonas aeruginosa* ASU 6a", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62 (2): 195–203 (2008).

79. Fahsi, N., Mahdi, I., Mesfioui, A., Biskri, L., and Allaoui, A., "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria isolated from the Jujube (*Ziziphus lotus*) plant enhance wheat growth, Zn uptake, and heavy metal tolerance", *Agriculture*, 11 (4): 316 (2021).
80. Kumar, P., Dash, B., Suyal, D. C., Gupta, S. B., Singh, A. K., Chowdhury, T., and Soni, R., "Characterization of arsenic-resistant *Klebsiella pneumoniae* RnASA11 from contaminated soil and water samples and its bioremediation potential", *Current Microbiology*, 78 (8): 3258–3267 (2021).
81. Kalkan, S., "Heavy metal resistance of marine bacteria on the sediments of the Black Sea", *Marine Pollution Bulletin*, 179: 113652 (2022).
82. Hu, X. and Boyer, G. L., "Siderophore-Mediated Aluminum Uptake by *Bacillus megaterium* ATCC 19213", *Applied And Environmental Microbiology*, 62 (11): 4044–4048 (1996).
83. Li, Q., Zhou, S., and Liu, N., "Diversity of endophytic bacteria in *Cardamine hupingshanensis* and potential of culturable selenium-resistant endophytes to enhance seed germination under selenate stress", *Current Microbiology*, 78 (5): 2091–2103 (2021).
84. Lin, X.-R., Chen, H.-B., Li, Y.-X., Zhou, Z.-H., Li, J.-B., Wang, Y.-Q., Zhang, H., Zhang, Y., Han, Y.-H., and Wang, S.-S., "Priestia sp. LWS1 Is a Selenium-Resistant Plant Growth-Promoting Bacterium That Can Enhance Plant Growth and Selenium Accumulation in *Oryza sativa* L.", *Agronomy*, 12 (6): (2022).
85. Shahid, M., Zeyad, M. T., Syed, A., Singh, U. B., Mohamed, A., Bahkali, A. H., Elgorban, A. M., and Pichtel, J., "Stress-tolerant endophytic isolate *Priestia aryabhatai* BPR-9 modulates physio-biochemical mechanisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) for enhanced salt tolerance", *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 19 (17): 10883 (2022).
86. Moturu, U. S., Nunna, T., Avula, V. G., Jagarlamudi, V. R., Gutha, R. R., and Tamminana, S., "Investigating the diversity of bacterial endophytes in maize and their plant growth-promoting attributes", *Folia Microbiologica*, 1–11 (2022).
87. Zeyad, M. T., Ansari, W. A., Aamir, M., Krishna, R., Singh, S. K., Atri, N., and Malik, A., "Heavy metals toxicity to food crops and application of microorganisms in bioremediation", *Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants*, *Elsevier*, 421–434 (2021).
88. Chen, L., Luo, S., Li, X., Wan, Y., Chen, J., and Liu, C., "Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake", *Soil Biology And Biochemistry*, 68: 300–308 (2014).
89. Fan, M., Liu, Z., Nan, L., Wang, E., Chen, W., Lin, Y., and Wei, G., "Isolation, characterization, and selection of heavy metal-resistant and plant growth-promoting endophytic bacteria from root nodules of *Robinia pseudoacacia* in a Pb/Zn mining area", *Microbiological Research*, 217: 51–59 (2018).

90. Jan, R., Khan, M. A., Asaf, S., Lee, I.-J., and Kim, K. M., "Metal resistant endophytic bacteria reduces cadmium, nickel toxicity, and enhances expression of metal stress related genes with improved growth of *Oryza sativa*, via regulating its antioxidant machinery and endogenous hormones", *Plants*, 8 (10): 363 (2019).
91. Sharma, P. and Kumar, S., "Bioremediation of heavy metals from industrial effluents by endophytes and their metabolic activity: Recent advances", *Bioresource Technology*, 339: 125589 (2021).
92. Chen, J., Li, N., Han, S., Sun, Y., Wang, L., Qu, Z., Dai, M., and Zhao, G., "Characterization and bioremediation potential of nickel-resistant endophytic bacteria isolated from the wetland plant *Tamarix chinensis*", *FEMS Microbiology Letters*, 367 (12): fnaa098 (2020).

ÖZGEÇMİŞ

Burak Feyyaz SAVAŞ; ilk ve orta aynı şehirde tamamladı; Karabük Kıymet ve Mustafa Yazıcı Anadolu Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2014 yılında KBÜ Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği bölümüne girdi; 2020'de mezun olduktan sonra aynı sene KBÜ'de lisansüstü eğitimine başladı. Halen 2020 yılında KBÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri Anabilim Dalı'nda başlamış olduğu yüksek lisans programını, Karabük Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri Anabilim Dalı altında sürdürmektedir.