

Topraktaki Ağır Metallerin Absorbsiyonu Üzerine Bakteri İzolatlarının Etkisi*

Serdar BİLEN*, Emrah YILDIRIM

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, 25240 Erzurum, Türkiye.

*Sorumlu yazar: sbilen@atauni.edu.tr

Geliş Tarihi: 17.02.2017

Düzeltilme Geliş Tarihi: 30.03.2017

Kabul Tarihi: 10.04.2017

Özet

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 besiyeri içerisine 13 farklı bakteri izolatları ilave edilmiş, 2 saatlik inkübasyon sonrası bakteriler tarafından gerçekleştirilen metal absorpsiyon kapasiteleri belirlenmiştir. II. Aşamada ise toprak örneklerine I. Aşamadan elde edilen ve etkinliği belirlenen 5 farklı bakteri (*Staphylococcus cohnii*, *Sphingobium yanoikuyae*, *Vibrio hollisae*, *Xanthobacter flavus*, *Acinetobacter lwoffii*) izolatları topraklara aşılanmış, 6 haftalık inkübasyon sonrası bakterilerin topraktaki metal absorpsiyon kapasiteleri belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, *S. cohnii* izolatının toprakta en yüksek oranda Pb metalini, *S. Yanoikuyae*, *V. Hollisae*, *X. flavus* ve *A. lwoffii* izolatının en yüksek oranda Al metalini absorbe ettikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ağır metal içeren toprakların biyoremediasyon çalışmalarında bazı bakterilerin kullanımının büyük oranda katkı sağlayacağı sonucunu ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Metal absorpsiyonu, bakteri metal absorpsiyon oranı, biyoremediasyon

Effects of Bacterial Isolates on Absorption of Heavy Metals in Soil

Abstract

In this study, the effects of various bacterial isolates on the 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 media 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 study, *S. cohnii* has the highest absorpsion capacity of Pb metal in the soil, *S. Yanoikuyae*, *V. Hollisae*, *X. Flavus* and *A. lwoffii* have the highest absorpsion capacity of Al metal in the soil. The results show that the use of bacteria obtained from this study for bioremediation studies of metal containing soils will contribute greatly.

Key words: Metal absorption, bacterial metal absorption rate, bioremediation

Giriş

Ağır metaller, 6 g cm⁻³ den daha büyük atomik yoğunluğa sahip metaller ve metaloitlerden oluşan elementlerdir. Ağır metallerin çevreye yayılmasında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi,

termik santraller, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir (D.İ.E. 2003).

Ağır metaller yer kabuğunda doğal olarak bulunurlar. Toprak içerisinde bulunan ağır metaller; toprağın biyolojik çeşitliliğine, canlıların yaşam döngüsüne, toprağın fiziksel ve kimyasal yapısına,

✉: Bu çalışma, Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

toprak üzerinden elde edilen ürünlerin kalite ve verimine, bitkideki fizyolojisi ve bitki gelişimine doğrudan veya dolaylı olarak etki yapmaktadırlar (Anonim 2006). Özellikle Pb, Cr, Ar, Zn, Cd, Hg ve Ni gibi metallerin topraklarda metal kirliliği oluşturdukları ve bu metallerin kimyasal ve biyolojik yollarla canlı hayatına zararlı olabilecekleri ifade edilmektedir (Freeze ve Cherry 1997; Wuana ve Okieimen, 2011).

Topraklardaki ağır metallerin uzaklaştırılmasında biyolojik faktörlerin etkin olduğu biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve bioremediasyon metotları kullanılmaktadır (Hussein ve ark., 2004). Biyosorpsiyon; bakteri, yengeç kabukları, fungus ve alg gibi biyomateryaller kullanılarak ağır metal içeren atık suların iyileştirilmesi için kullanılan ve ekonomik olan biyoteknolojik bir yöntemdir (Chubar ve ark., 2004). Biyosorpsiyonunda kullanılacak biokütleler endüstriyel atıklardan veya doğadan elde edilebilen ve hızlı üreyen mikroorganizmalardan seçilmektedir (Volesky, 2003).

Adsorpsiyon; bir çözeltide bulunan metallerin ölü biyokütle vasıtasıyla azaltılması veya temizlenmesidir. Negatif yükü taşıyan organik maddelerin dış yüzeyleri, pozitif yüklü metal iyonlarını dış yüzeylerine adsorbe etme özelliğine sahiptirler (Ilier ve Mavituna, 1991; Volesky, 2004).

Bioremediasyon, mikroorganizmalar kullanılarak zararlı maddeleri toksik olmayan bileşiklere dönüştüren bir işlemdir. Bioremediasyonda atıkların bulunduğu alana besin maddesi ilavesi yapılarak, doğal olarak toprakta bulunan bakterilerin etkin duruma geçirilmesi ya da toprağa yeni bakteriler aktarılması şeklinde yapılmaktadır. Genellikle bu işlemde toksik maddeyi parçalayarak enerji elde eden strainler yaygın olarak kullanılmaktadır (Cookson, 1995; Alexander, 1999).

Biolojik ürünler üreten *Acinetobacter* strainlerinin; toprak, atık maddeler ve atık su içerisinde bulunan zararlı metallerin ortamdan uzaklaştırılmasında, yağların parçalanmasında etkili olduğu, bu yüzden tıp, çevre ve biyoteknoloji açısından büyük öneme sahip olduğu ifade edilmektedir (Rusansky ve ark., 1987, Boswell ve ark., 2001; Francisco ve ark., 2002; Abdel-El-Haleem, 2003). *X. flavus* bakterisinin metal adsorpsiyon kapasitesinin bulunduğu, pestisit ve herbisitlerde yaygın olarak bulunan hidrokarbonların parçalanmasında etkin rol oynadığı ve kimyasal kirleticiler, kumlu topraklar ve atık sular için mikrobiyal parçalayıcı olduğu ifade edilmektedir (Olaniran ve ark., 2001; Lee ve ark.,

2002; Song ve ark., 2003). Hardman ve ark (1986) topraklardan izole edilen dört *Pseudomonas* ve iki *Alcaligenes* türü bakterilerinin Hg, Se ve Al metallerine karşı dayanıklı olduklarını ve metal absorbe etme yeteneklerinin bulunduğunu ifade etmiştir. El-Hendawy ve ark (2009), yaptığı bir çalışmada tölere edilebilir miktarda Cd, Cu, Pb ve Zn metallerini bakteri hücresine uygulamış ve *V. alginolyticus* bakteri hücreleri tarafından %20 Cd, %31 Cu, %40 Pb ve %45 Zn oranında metallerin absorbe edildiğini belirlemiştir.

Bosecker (2001), metalleri çözünebilir hale getirebilen mikroorganizmaların mutasyon ve seleksiyonla genetik anlamda geliştirilmesi ile bioremediasyon teknolojilerinin gelecekteki uygulamalarının arttıracağını ifade etmektedir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Deneme alanı ve toprak özellikleri

Bu çalışmada; Aşkale Çimento Fabrikası civarında bulunan, hakim rüzgâr yönü ile aynı istikamette kalan ve uzun yıllardır Çimento Fabrikası bacalarından salınan gazlara maruz kalmış 0-20 cm derinliğinden ve 1, 2, 4, 8, 12 ve 16 km mesafelerde bulunan tarım alanlarından alınan toprak örnekleri kullanılmıştır. Deneme alanı toprakları Toprak Taksonomisine (USDA Soil Survey Staff 1999) göre büyük toprak grubu olarak Ustorthent olarak sınıflandırılmıştır.

Ağır metal çözeltisi

NB besiyeri içerisinde 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 çözeltisi kullanılmıştır. Ağır metal çözeltisinin hazırlanmasında Sulama Sularında Ağır Metallerin İzin Verilebilir Değerlerinden (Çizelge 1) kısa süreli kullanım için belirlenen metal konsantrasyonları referans alınarak hazırlanmıştır.

Bakteri kültürleri, hazırlanması ve bakteri aşılması

Çalışmada, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından yürütülen "Kimi *Brassicaea* Türlerinin Nikel ve Kadmiyum Biriktirme Özelliklerinin Belirlenmesi" başlıklı (2006 yılı No: 105-0-635) TÜBİTAK proje çalışmasından elde edilen ve laboratuvarımızda bulunan kültür koleksiyonundan izole edilen bakteriler kullanılmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 1. Sulama sularında ağır metallerin izin verilebilir değerleri (Anonim 1994)

Parametre, mg/L	*Sürekli Kullanım	†Kısa Süreli Kullanım
Demir(Fe), Alüminyum (Al)	1.00	10.0
Bakır (Cu), Çinko (Zn)	0.20	5.0
Berilyum (Be), Nikel (Ni)	0.50	1.0
Kadmiyum (Cd), Molibden (Mo)	0.005	0.05
Krom (Cr), Kurşun (Pb)	5.00	20.0
Mangan (Mn)	2.00	20.0
Selanyum (Se)	0.05	0.05
Vanadyum (Va)	10.0	10.0
Çinko (Zn), Lityum (Li)	5.00	5.0
Bor (B)	0.75	2.0

*Sürekli kullanım: Arazi denemelerinde †Kısa Süreli Kullanım: Saksı denemelerinde

Çizelge 2. 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 aureescens</i>	192
11	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	204
12	<i>Arthrobacter globiformis</i>	209
13	<i>Bacillus megaterium</i>	298

Yöntem

Toprak örneklerinin analize hazırlanması

Denemede kullanılan toprak örnekleri havada kurutulmuş, 2 mm'lik elekten geçirilmiştir ve kimyasal, fiziksel ve biyolojik analizler yapılmıştır. Saksı denemesinde 4 mm'lik elekten geçirilmiş toprak örnekleri kullanılmıştır. Deneme topraklarının toprak reaksiyonu; Beckman pH metresi ile (Handershot ve ark., 1993), kireç miktarı; Scheibler Kalsimetresi ile (Goh ve ark., 1993), organik madde; Smith-Weldon yöntemi ile (Tiessen ve Moir 1993), katyon değişim kapasitesi (KDK); atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile (Rhoades, 1982), değişebilir katyonlar (Ca, Mg, Na ve K); alev fotometresinde ile (Knudsen ve ark., 1982), elverişli fosfor; molibdofosforik mavi renk yöntemine göre spektrofotometre ile (Olsen ve Sommers 1982), toplam azot; Kjeldahl yöntemi ile (Mc Gill ve Figueiredo 1993), elektrik iletkenlik; elektriki kondüktivite aleti ile (Demiralay, 1993), toprak tekstürü; Bouyoucos Hidrometre yöntemi ile (Gee ve Bauder, 1986), ağır metal; DTPA (diethylentriamin pentaasetik asit) yöntemi ile ICP OES spektrofotometresinde (Inductively Couple Plasma Spectrophotometer) (Perkin-Elmer, Optima 2100

DV, ICP/OES) direk olarak okunarak (Mertens 2005) belirlenmiştir.

NB çözeltisinde metal absorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Nutrient Agar (NA) besi ortamında 28°C'de 48 saat boyunca yoğun olarak geliştirilen 13 farklı saf bakteri kültürleri ayrı ayrı 8 farklı ağır metal ihtiva eden 50 ml NB besi ortamına aktarılmıştır. NB besi ortamındaki bakterilerin hücre sayısının eşit olması için türbüdometrede çözeltilerin absorpsiyon değeri 0.6 değerine ayarlanmış ve bütün besi ortamında bakterilerin hücre sayısı 1.0×10^7 cfu ml⁻¹ değerine eşitlenmiştir (Saygılı 1995). İki saatlik inkübasyondan sonra filtre edilen ve bakterilerden izole edilen NB çözeltisindeki ağır metal miktarları ICP cihazında okunmuş ve ağır metal ihtiva etmeyen (kontrol) NB çözeltisine göre bakterilerin gerçekleştirdiği metal absorpsiyon kapasitesi % olarak hesaplanmıştır.

Toprakta metal absorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Denemenin I. aşamasında NB içerisinde en yüksek metal absorpsiyon kapasitesine sahip 5 farklı bakteri petri kaplarında NA besi ortamında yoğun

olarak çoğaltılmıştır. Gelişen bakteriler steril spatula ile besi ortamının yüzeyinden toplanmış, toprakların tarla kapasitesindeki nem miktarına eşdeğer miktarda steril fizyolojik tuzlu su (FTS: %0,08 NaCl) içerisine bakteri yoğunluğu 10^8 cfu ml⁻¹ konsantrasyona gelene kadar ilave edilmişlerdir. Hazırlanan bakteri çözeltisi topraklara sulama suyu olarak verilmiştir. İlk sulama suyunun verildiği andan itibaren 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 gün süre ile saksı toprakları inkübasyona tabi tutulmuş ve topraklardaki ağır metal içerikleri 1'er haftalık inkübasyon periyodu sonrasında analiz edilmiştir. Inkübasyon süresince toprakların nem içerikleri tarla kapasitesi nem seviyesinde tutulmuş ve sulamalar steril saf su ile yapılmıştır. Inkübasyon süreleri sonunda yalnızca ağır metal çözeltisi ihtiva eden kontrol toprağına göre bakteriler tarafından gerçekleştirilen metal absorpsiyon kapasiteleri % olarak hesaplanmıştır.

Toprak materyalindeki bakteri ve mantar sayısının tespiti

Toprak materyalindeki bakteri ve mantar sayımı dilüsyon metoduna göre 10^{-5} dilüsyon oranında yapılmıştır. Bakteri sayımı Nutrient Agar (NA), mantar sayımı Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri üzerinde, 28°C'de 48 sa süre ile gelişen bakteri ve mantarların koloni sayımı yapılmıştır (Germida 1993; Kızıloğlu ve Bilen 1997).

Toprakların CO₂ miktarının tespiti (Bazal respirasyon)

Toprak örneğinden açığa çıkan CO₂ gazının 20 gün süre ile 25±1°C karanlıkta NaOH içerisinde inkübasyona bırakılmış, inkübasyon sonunda ortama BaCl ilave edilmiş ve BaCO₃'ün çöktürülerek çözelti HCl ile titre edilmiştir. Titrasyon sonucu elde edilen değerden BR Oranı (mg CO₂ kg toprak⁻¹) = (CO₂ toprak - CO₂ air)/20 gün formül yardımı ile toprağın C ve CO₂ miktarı belirlenmiştir (Islam ve Weil, 2000).

Deneme planı

Deneme 2 aşamada yürütülmüştür;

I. Aşamada; NB besiyerinde bakterilerin metal absorpsiyon kapasitesini belirlemek için 8 farklı ağır metal (Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Ni, Cd ve Pb) içeren NB çözeltisi hazırlanmış, çözeltiye ayrı ayrı 13 farklı bakteri izolatu ilave edilmiş ve inkübasyona bırakılmışlardır. Denemenin I. aşamasında; 1 adet Metal Çözeltisi x 13 adet Bakteri İzolatu x 3 Tekerrür olmak üzere toplam 39 adet NB çözeltisinde ağır metal analizleri yapılmıştır.

II. Aşamada; I. aşamadan belirlenen absorpsiyon kapasitesi yüksek 5 bakteri izolatu çoğaltılmış, topraklara aşılansmış ve 6 hafta inkübasyona bırakılmışlardır. Bu aşamada 1 adet Toprak x 5 adet Bakteri İzolatu x 6 Haftalık Inkübasyon x 3 Tekerrür olmak üzere toplam 90 adet saksı toprağında ağır metal analizleri yapılmıştır.

İstatistiksel analiz yöntemleri

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

Bulgular ve Tartışma

Deneme alanı topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Deneme alanından 0-20 cm derinlikten alınan toprak örnekleri üzerinde bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik analizler yapılmış ve analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir.

Deneme alanı toprakları killi bünyeli, kireç bakımından kireçli ve hafif alkali karakterdedir. Yarayışlı potasyum bakımından zengin, organik madde ve yarayışlı fosfor bakımından yetersiz durumdadır. Tuzluluk problemi yok ve demir, çinko, mangan ve bakır gibi mikro elementler bakımından yeterli durumdadır (Çizelge 3).

Bakteri uygulamasının NB çözeltisinin ağır metal içeriğine etkileri

İçerisine ağır metal ilave edilmeyen NB çözeltisinin başlangıç ağır metal içerikleri ve daha sonra metal ilavesi yapılan NB çözeltisinin toplam metal içerikleri analiz edilmiş ve elde edilen değerler Çizelge 4'de verilmiştir.

Ağır metal ilavesi yapılmış NB besi ortamına ayrı ayrı bakterilerin aşılansması yapılmış ve 2 saatlik inkübasyon sonrası bakteri ihtiva eden ve etmeyen çözeltideki ağır metal konsantrasyonu ve bakterilerin absorpsiyon oranları hesaplanmıştır (Çizelge 5).

Çizelge 5'e göre, NB besi ortamının ve NB besi ortamına ilave edilen 13 bakteri izolatusunun 2 saatlik inkübasyon sonrası belirlenen ağır metal içerikleri ve buna bağlı olarak bakterilerin metal absorpsiyon oranları birbirlerinden farklılık göstermiş. Tüm metal absorpsiyon oranlarının ortalama değerleri göz önüne alınarak yapılan sıralamaya göre absorpsiyon kapasitesi en yüksek olan 5 bakteri sırası ile; *S. Cohnii* (%70,98), *S. Yanoikuyae* (%72,58), *V. Hollisae* (%73,57), *X. flavus* (%70,98) ve *A. Iwoffii* (%75,93) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3. 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	Mg	Na	K				
	16.96	10.40	9.65	0.71				
Mikro elementler, ppm	Fe	Cu	Zn	Mn	Ni	Cd	Pb	Al
	4.16	1.00	1.40	5.81	120	1.2	18	180
Tane büyüklük dağılımı	Kum	Silt	Kil					
	25	26	49					
Tekstür Sınıfı	Killi							
Total bakteri sayısı, cfu ml ⁻¹	4.5x10 ⁷							
Total mantar sayısı, cfu ml ⁻¹	4.2x10 ⁵							
CO ₂ miktarı, mg CO ₂ m ⁻² h ⁻¹	20.90							

Çizelge 4. NB besi ortamının ağır metal içerikleri ve ilave edilen ağır metal miktarları

Ağır Metaller	NB Ağır Metal İçeriği, ppm	NB Besiyerine İlave Edilen Ağır Metal Miktarı, ppm	Toplam Ağır Metal Miktarı, ppm
Fe	8,864	10.0	18,864
Cu	4.897	5.0	9.897
Mn	13.233	20.0	33.233
Zn	2.046	5.0	7.046
Ni	2.112	1.0	3.111
Cd	0.056	0,05	0.106
Pb	20.949	20.0	40.948
Al	12.494	10.0	22.494

Bakteri uygulamasının toprakların ağır metal içeriğine etkileri

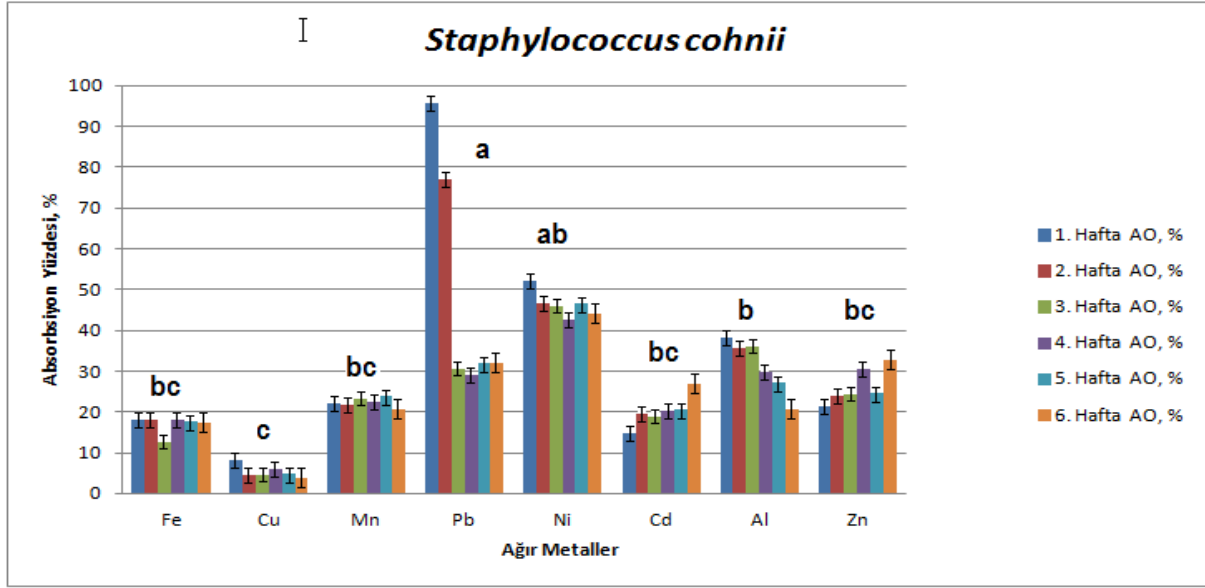
S. cohnii, *S. yanoikuyae*, *V. hollisae*, *X. flavus* ve *A. lwoffii* izolatlarının topraklara uygulanmasını takiben 6 haftalık inkübasyon sonunda toprakların ağır metal miktarlarına bağlı % absorpsiyon kapasiteleri ve ortalama değerler arasındaki farkları gösteren varyans analiz sonuçları Şekil 1, 2, 3, 4 ve 5'de verilmiştir.

Bakteri izolatlarının topraklara uygulaması ile toprakların ortalama ağır metal absorpsiyon oranları arasında önemli ($p < 0.01$) farklılıklar gözlenmiştir. Inkübasyon süreleri ile bakterilerin metal absorpsiyon oranları farklı oranlarda gerçekleşmiş fakat aralarında önemli ilişki ($p < 0.01$) belirlenememiştir (Şekil 1, 2, 3, 4 ve 5).

***S. cohnii* izolatının toprak ağır metal içeriğine etkisi**

S. cohnii izolatının toprakta metal absorpsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Pb, Ni, Al, Zn, Mn, Cd, Fe ve Cu sıralaması şeklinde olmuştur. *S. cohnii* izolatı en yüksek oranda Pb elementinde (%49.37). en düşük oranda ise Cu elementinde (%5.30) absorpsiyon oranı değeri göstermiştir (Şekil 1).

Yapılan çalışmalarda *S. cohnii* izolatının metal absorpsiyon kapasitesinin yüksek olduğu ve bu strainin metal iyonları ile polirezistant straini olarak görev yaptıkları ifade edilmektedir (Laukova, 1994; Bai ve Bartkiewicz. 2009).



Şekil 1. *S. cohnii* (44 No'lu) izolatının toprakta metal absorpsiyon kapasitesi

Çizelge 5. NB çözeltilisinin ağır metal içeriği ve bakterilerin metal absorpsiyon oranları

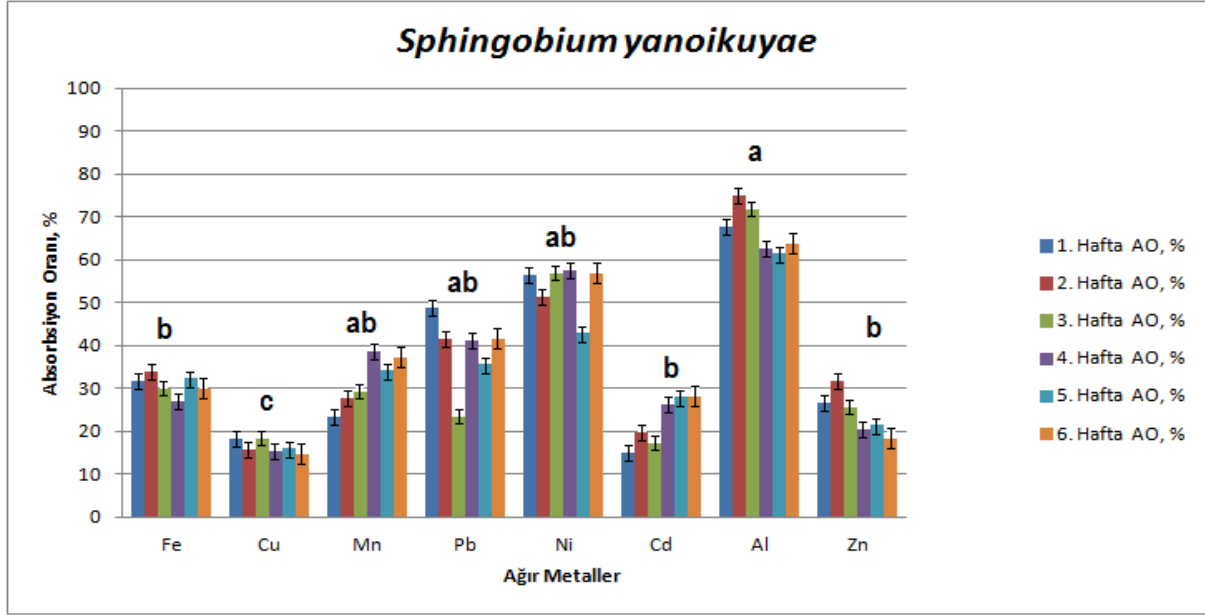
	Ağır metal içerikleri, ppm								Ort A.O
	Fe	Cu	Mn	Zn	Ni	Cd	Pb	Al	
NB	18.86	9.89	33.23	7.04	3.11	0.11	40.95	22.49	
İzolot44 + NB	2.83	3.45	6.98	1.11	1.95	0.04	1.61	1.33	
A.O. %	84.95	65.09	78.99	84.21	37.30	61.77	96.06	94.06	70.98
İzolot 73+ NB	2.94	3.77	6.69	0.94	1.75	0.04	1.77	1.31	
A.O. %	84.40	61.83	79.86	86.53	43.60	63.97	95.65	94.18	72.58
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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
İzolot 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

A.O.; Absorpsiyon Oranı

***S. yanoikuyae* izolatının toprak ağır metal içeriğine etkisi**

S. yanoikuyae izolatının toprakta metal absorpsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Ni, Pb, Mn, Fe, Zn, Cd, ve Cu sıralaması şeklinde olmuştur. *S. yanoikuyae* izolatı en yüksek metal absorpsiyon oranı değerini Al elementinde (%67.07). en düşük metal absorpsiyon oranı değerini ise Cu elementinde (%16.43) göstermiştir (Şekil 2).

Sıvı faz içerisinde *Sphingobium sp* izolatı üzerine Cu elementinin toksik etki gösterdiğini, ancak; Zn ve Cd iyonlarına karşı toleransının daha yüksek olduğu ve metal içerikli topraklarda mikrobiyal remediasyon materyali olarak bu bakteri izolatının kullanılabilceğini ifade eden çalışmalar mevcuttur (Daugulis ve Janikowski 2002; Cunliffe ve Kertesz. 2006; Wang ve ark., 2013).

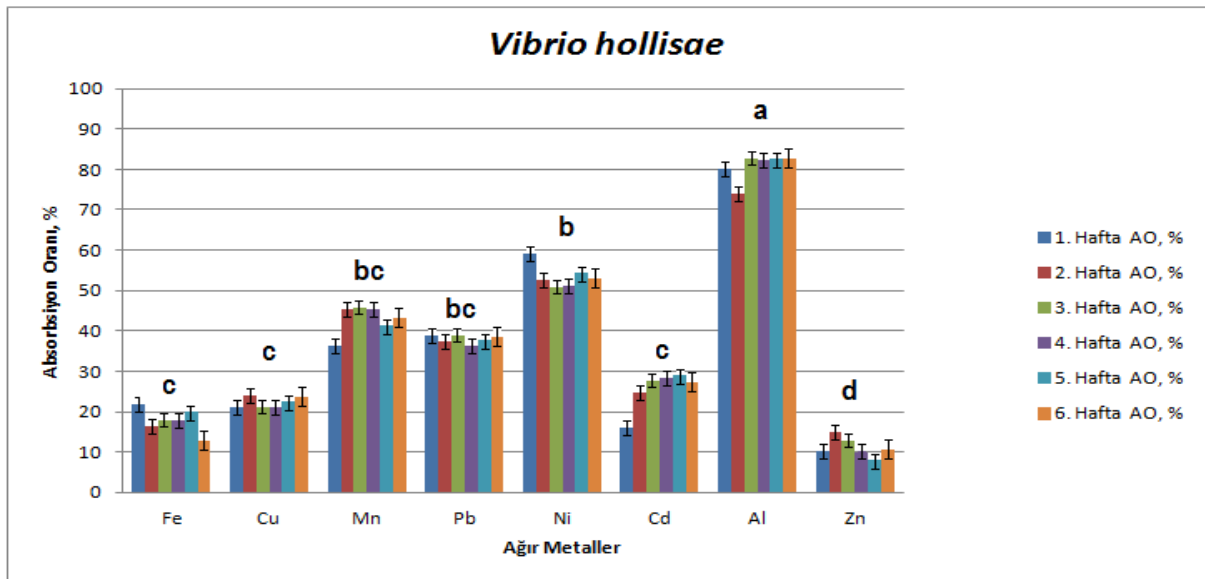


Şekil 2. *S. yanoikuyae* (73 No'lu) izolatının toprakta metal absorpsiyon kapasitesi

***V. hollisiae* izolatının toprak ağır metal içeriğine etkisi**

V. hollisiae izolatının toprakta metal absorpsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Ni, Mn, Pb, Cd, Cu, Fe ve Zn sıralaması şeklinde

olmuştur. *V. hollisiae* izolatı en yüksek oranda metal absorpsiyon oranı değerini Al elementinde (%80.77). en düşük metal absorpsiyon oranı değerini ise Zn elementinde (%11.06) göstermiştir (Şekil 3).

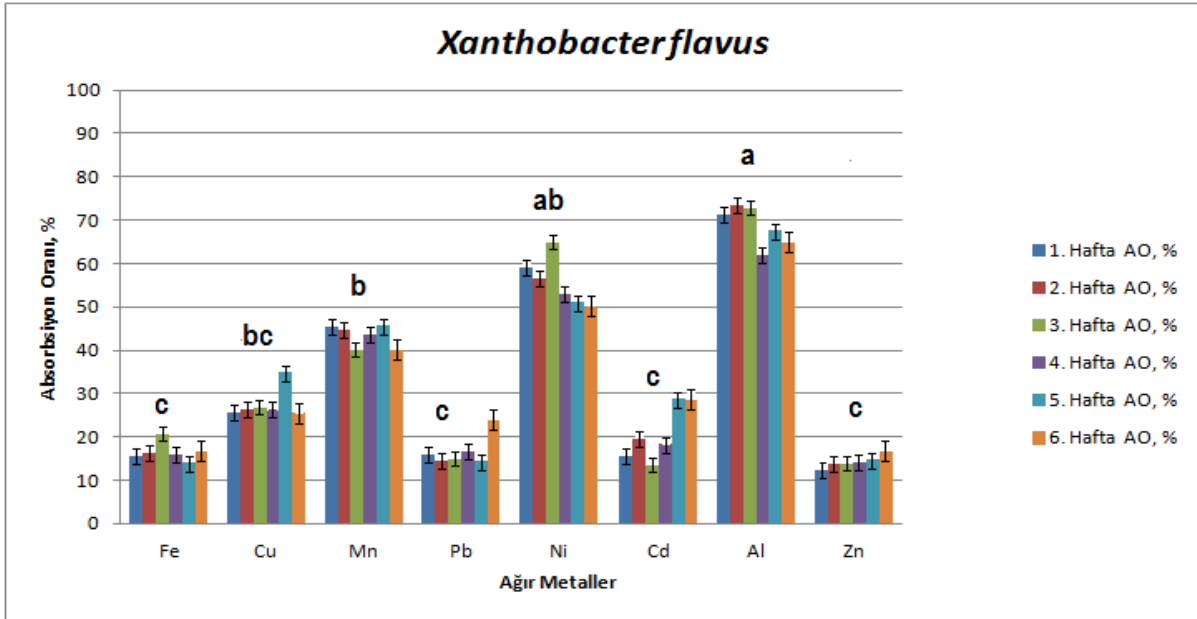


Şekil 3. *V. hollisiae* (105 No'lu) izolatının toprakta metal absorpsiyon kapasitesi

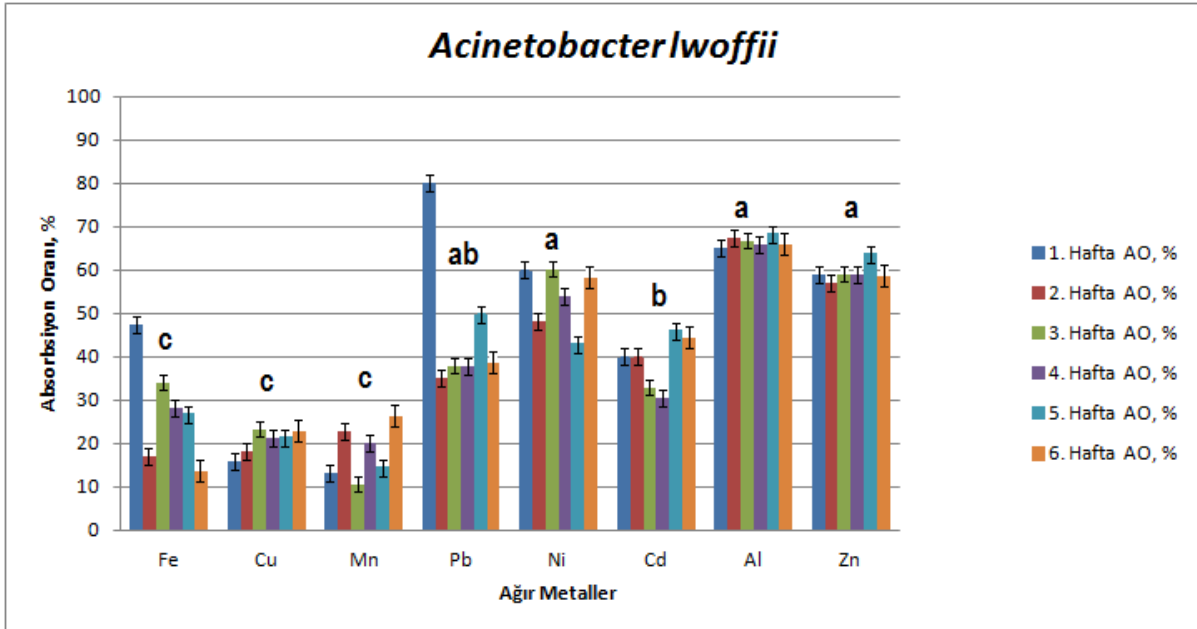
Cd, Cu, Pb ve Zn ağır metalleri ile kontamine olmuş su toprak ve sedimentlerde *V. alginolyticus* bakterisinin ortamdaki Cd, Cu, Pb ve Zn metallerini absorbe ettiği bu bakterinin metallerle kirlenmiş su toprak ve sedimentlerde bioakümülatör olarak kullanılabileceği bazı çalışmalarda ifade edilmektedir (Roane 1999; Ansari ve Malik 2007; Smith ve Collins. 2007; El-Hendawy ve ark., 2009).

X. flavus izolatinın toprak ağır metal içeriğine etkisi

X. flavus izolatinın toprakta metal absorpsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Zn, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu ve Mn sıralaması şeklinde olmuştur. *X. flavus* izolatu en yüksek oranda metal absorpsiyon oranı değerini Al elementinde (%68.60). en düşük metal absorpsiyon oranı değerini ise Zn elementinde (%14.10) göstermiştir (Şekil 4).



Şekil 4. *X. flavus* (132 No'lu) izolatinın toprakta metal absorpsiyon kapasitesi



Şekil 5. *A. lwoffii* (180 No'lu) izolatinın toprakta metal absorpsiyon kapasitesi

X. flavus bakterisinin metal absorpsiyon kapasitesinin bulunduğunu. pestisit ve herbisitlerde yaygın olarak bulunan hidrokarbonların

parçalanmasında etkin olduğunu ve kimyasal kirlenimci, kumlu topraklar ve atıksular için mikrobiyal parçalayıcı olarak kullanılabileceğini

ihativa eden çalışmalar mevcuttur (Olaniran ve ark., 2001; Lee ve ark., 2002; Song ve ark., 2003).

A. *Lwoffii* izolatının toprak ağır metal içeriğine etkisi

A. Lwoffii izolatının toprakta metal absorpsiyon oranları büyükten küçüğe doğru Al, Zn, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu ve Mn sıralaması şeklinde olmuştur. *A. Lwoffii* izolatı en yüksek oranda Al elementinde (%66.57), en düşük oranda ise Mn elementinde (%17.93) absorpsiyon oranı değeri göstermiştir (Şekil 5).

Acinetobacter bakterisinin metal absorpsiyon kapasitesinin bulunduğunu, 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 (Boswell ve ark., 2001; Abdel-El-Haleem, 2003) mevcut olup yapılan çalışmalar bizim sonuçlarımızı desteklemektedirler.

Sonuç ve Öneriler

Araştırma sonuçlarına göre; ağır metal ihtiva eden NB besiyeri ve bu besiyeri üzerine ilave edilen 13 adet bakteri izolatının metaller üzerindeki absorpsiyon kapasiteleri farklı seviyelerde gözlemlenmiştir. Özellikle 5 adet bakteri izolatı (*S. cohnii*, *S. yanoikuyae*, *V. hollisae*, *X. flavus* ve *A. Lwoffii*) NB içerisinde en yüksek oranda ağır metal absorpsiyonu gerçekleştirmişleridir.

Toprak ortamında en yüksek oranda *S. cohnii* izolatının sırası ile Pb, Ni ve Al metallerini, *S. yanoikuyae* izolatının Al, Ni ve Pb ağır metallerini, *V. hollisae* izolatının Al, Ni ve Mn ağır metallerini, *X. flavus* izolatının Al, Ni ve Mn ağır metallerini ve *A. Lwoffii* izolatının Al, Zn ve Ni ağır metallerini absorbe ettiği belirlenmiştir.

Pb, Ni ve Al gibi ağır metallerle kirlenmiş toprakların ıslahında *S. Cohnii* ve *S. Yanoikuyae* izolatların kullanımının, Al, Ni ve Mn gibi ağır metallerle kirlenmiş toprakların ıslahında *V. Hollisae* ve *X. Flavus* izolatların kullanımının, Al, Zn ve Ni gibi ağır metallerle kirlenmiş toprakların ıslahında *A. Lwoffii* izolatının kullanımının toprakların ağır metal kirliliğini giderme yönünde yapılacak olan bioremediasyon çalışmalarında katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Yüksek Lisans Tezi olarak yapılan bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Abdel-El-Haleem, D. 2003. *Acinetobacter*: environmental and biotechnological applications. African Journal of Biotechnology Vol. 2(4): 71-74.
- Alexander, M. 1999. Biodegradation and bioremediation second edition, Academic Press New York.
- 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.
- 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. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 26: 333-340
- Bosecker, K. 2001. Microbial leaching in environmental clean-up programmes, *Hydrometallurgy*, 59: 245-248.
- Bai, Y., Bartkiewicz, B. 2009. Removal of cadmium from wastewater using ion exchange resin amberjet 1200H columns. Pol. J. Environ. Stud. 18: 1191.
- 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. 524 p.
- Cunliffe, M., 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. *Environment Pollution* 144(1): 228-237.
- Daugulis, A.J., 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 Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayın No: 143, Erzurum.
- D.İ.E., Devlet İstatistik 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.
- Francisco, R., Alpoim, M.C., Morais, P.V. 2002. Diversity of chromium-resistant and reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. *J. Appl. Microbiol.* 92:837-43.
- Freeze, R.A., Cherry, J.A. 1997. Groundwater Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A.
- Gee, G.W., Bauder, J.W. 1986. Particle-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, J.J. 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. Carbonates. 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., Gowland, P.C., Slater. J.H. 1986. Large plasmids from soil bacteria enriched on halogenated alkanolic acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 44-51.
- Hendershot, W.H., Lalonde, 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. Biotechnol.* 7: 38-46.
- Ilier, R., 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.
- Islam, K.R., Weil, R.R. 2000. Land use effect on soil quality in tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agric. Ecosyst. Environ.* 79:9-16.
- Kızıloğlu, F.T., Bilen, S. 1997. Toprak mikrobiyolojisi laboratuvar uygulamaları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 193, 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.
- Laukova, A. 1994. Resistance to heavy metals in ruminal staphylococci. *Vet. Med. (Praha)*. 39(7): 389-95.
- Lee, W.S., Park, C.S., Kim, J.E., Yoon, B.D., Oh, H.M. 2002. Characterization of TCE degrading bacteria and their application to wastewater treatment. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12: 569-575.
- Mc Gill, W.B., 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.
- Mertens, D. 2005. AOAC Official Method 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., Latimer, G.W. (Eds). Chapter 3, pp 3-4, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA
- Olaniran, A.O., Babalola, G.O. Okoh, A.I. 2001. Aerobic dehalogenation potentials of 4 bacterial species isolated from soil and sewage sludge. *Chemosphere* 45: 45-50.
- Olsen, S.R., 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 America-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 Agron. Soil Science Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 149-157.
- Roane, T.M. 1999. Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metal contaminated soils. *Microb. Ecol.* 37: 218-224.
- Rusansky, S., Avigad, R., Michaeli, S., Gutnick, D.L. 1987. Involvement of a plasmid in growth on and dispersion of crude oil by *Acinetobacter calcoaceticus* RA57. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1918-1923.
- Saygılı, H. 1995. Fitobakteriyoloji, Ege Üni. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Ders Kitabı, Doğruluk Matbaası, Bornova-İzmir.
- Smith, J.L., 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.
- 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, p.277-283.
- Tiessen, H., 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.
- USDA, 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.
- 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., Okieimen, F.E. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. International Scholarly Research Network ISRN Ecology, Article ID 402647, p.20.
- Yıldız, N., Bircan, H. 1991. Araştırma ve Deneme Metotları, Atatürk Üniv. Yay. No: 697, Zira. Fak. Yay. No: 305, Ders Kitapları Serisi No:57, Erzurum.