

**T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**AĞIR METAL DİRENÇLİ BAKTERİLERİN AĞIR
METAL BİYODEGRADASYONU VE BİTKİ
GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Orhan YAVUZ

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Nermin SARIGÜL

BURDUR, 2024

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca **Doktora** Tezi olarak sunduğum “**Ağır Metal Dirençli Bakterilerin Ağır Metal Biyodegradasyonu ve Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

14/06/2024

Orhan YAVUZ

ÖNSÖZ

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam **Dr. Öğr. Üyesi Nermin SARIGÜL**'e teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel aşamaları gerçekleştirmem için alt yapı kullanımı ve hizmet alımı olarak gerçekleştirilen tüm analizlerde her türlü desteği veren ve kolaylıklar sağlayan **Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi** yönetimi ve mesai arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

ICP-OES cihazında gerçekleştirdiğimiz tüm analizlerde bilgi ve tecrübesi ile analizlerimizi gerçekleştiren **Prof. Dr. Hale SEÇİLMİŞ CANBAY**'a teşekkür ederim.

Tüm akademik hayatım boyunca edindiğim bilgi ve tecrübelerde büyük emeği olan ve meta-genomik analizlerinin hazırlık aşamasında büyük destek sağlayan **Uzman Biyolog Mert SUDAĞIDAN**'a teşekkürlerimi sunarım.

Meta-genomik analizlerin okunması ve biyo-informatik analizlerinin gerçekleştirilmesinde büyük emeği olan **Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP**'e teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatımın tamamında maddi ve manevi her türlü desteğini esirgemeyen sevgili amcam **Hüseyin YAVUZ**'a teşekkürü borç bilirim.

Tüm bu süreçte yanımda olan ve bana gereken her türlü desteği sağlayan kıymetli eşim **Tuğçe YAVUZ** ve varlığı ile hayatımı anlamlandıran canım kızım **Azra YAVUZ**'a teşekkürü borç bilirim.

0749-DR-21 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvancılıkta İhtisaslaşma Koordinatörlüğü ve Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bu günlere gelmem için büyük emek ve fedakarlık gösteren annem **Havva YAVUZ** ve babam **Mehmet YAVUZ**'a teşekkürü borç bilirim.

Haziran, 2024

Orhan YAVUZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Ağır Metal Kontaminasyonu ve Toksisitesi	7
2.2. Mikroorganizmalarda Ağır Metal Giderimi.....	10
2.2.1. Biyosorpsiyon	10
2.2.2. Biyoakümülyasyon.....	11
2.2.3. Biyotransformasyon	11
2.2.4. Biyomineralizasyon.....	11
2.3. Ağır Metal Biyoremediasyonunu Etkiyen Faktörler.....	12
2.4. Ağır Metal Biyoremediasyonu İçin Stratejiler.....	13
2.5. Ülkemizde Raporlanan Ağır Metal Kirliliği	14
2.6. Biyoremediasyon Uygulamaları	16
2.7. Ağır Metal Kirliliği ve Bitki Gelişimini Destekleyen Mikroorganizmalar	24
2.8. Bakteriler ve Fitoremediasyon Uygulamaları	27
2.9. Hiperakümülatör Bitkiler	28
2.10. Metabolomik Çalışmalar.....	29
2.11. Gelecekte Biyoremediasyon Uygulamaları	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Bakteri Suşları.....	32
3.1.2. Sarf Malzemeler	33
3.2. Aletler ve Cihazlar	37
3.3. Yöntem.....	38
3.3.1. Kùltürlerin Aktifleştirilmesi ve Saflık Kontrolü	38

3.3.2. Mikrobiyal Büyüme Eğrilerinin Belirlenmesi	38
3.3.3. Ağır Metal Giderimi.....	39
3.3.4. Bitki Büyüme Ortamlarında Ağır Metal Giderimi.....	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	53
4.1. Bakteri Suşlarının Büyüme Eğrisinin Belirlenmesi	53
4.2. Ağır Metal Giderimi Sonuçları	55
4.3. Bitki Gelişimi Deneyleri	66
4.3.1. Morfolojik Ölçüm Sonuçları	66
4.3.2. Torf Numunelerinden Yapılan Metal Ölçümleri.....	73
4.3.3. Bitkilerde Yapılan Metal Ölçümleri.....	80
4.3.4. Torf Numunelerinde Metagenomik Analizler.....	89
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	102
KAYNAKLAR	105

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. UV/Görünür alan Mikroplaka spektrofotometresi (BioTek Epoch).....	39
Şekil 3.2. ICP-OES cihazı (Perkin Elmer, Optima).....	40
Şekil 3.3. Çimlenmeye başlamış arpa tohumları	42
Şekil 3.4. Bitkilerde alınan uzunluk ölçümleri	43
Şekil 3.5. Bitkilerde alınan ağırlık ölçümleri.....	44
Şekil 3.6. 16S rRNA PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü	47
Şekil 3.7. Index PZR agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	49
Şekil 3.8. AmPure boncukları ile manyetik tutucu raf üzerinde temizlenmesi	50
Şekil 3.9. Metagenomik analizler için hazırlanan kartuş.....	51
Şekil 3.10. Illumina iSeq 100 cihazında analizler.....	51
Şekil 4.1. 0,5X Nutrient Broth ortamında bakterilerin büyüme eğrisi	53
Şekil 4.2. Bakır içeren 0,5X Nutrient Broth ortamında bakterilerin büyüme eğrisi.....	54
Şekil 4.3. Çinko giderimi grafiği	56
Şekil 4.4. Kadmiyum giderimi grafiği	57
Şekil 4.5. Arsenik giderimi grafiği	58
Şekil 4.6. Bakır giderimi grafiği	59
Şekil 4.7. Kurşun giderimi grafiği	60
Şekil 4.8. Cıva giderimi grafiği	61
Şekil 4.9. Ağır metallere göre gerçekleştirilen en yüksek giderim yüzdesi	66
Şekil 4.9. Saksı deneyleri sonucu karşılaştırmalı fotoğraf.....	68
Şekil 4.10. Saksı deneyleri sonucu karşılaştırmalı fotoğraf.....	68
Şekil 4.11. Bitki gövde boyları karşılaştırmalı grafiği.....	69
Şekil 4.12. Bitki kök boyları karşılaştırmalı grafiği	70
Şekil 4.13. Bitki yaş ağırlıkları karşılaştırmalı grafiği.....	71
Şekil 4.14. Çimlenen tohum sayıları karşılaştırmalı grafiği	72
Şekil 4.15. Torf numunelerinde karşılaştırmalı çinko miktarları.....	74
Şekil 4.16. Torf numunelerinde karşılaştırmalı kurşun miktarları.....	75
Şekil 4.17. Torf numunelerinde karşılaştırmalı kadmiyum miktarları	76
Şekil 4.18. Torf numunelerinde karşılaştırmalı bakır miktarları	77
Şekil 4.19. Torf numunelerinde karşılaştırmalı cıva miktarları.....	78
Şekil 4.20. Torf numunelerinde karşılaştırmalı arsenik miktarları	79

Şekil 4.21. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı çinko miktarları.....	81
Şekil 4.22. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı kurşun miktarları.....	82
Şekil 4.23. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı kadmiyum miktarları.....	83
Şekil 4.24. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı bakır miktarları	84
Şekil 4.25. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı cıva miktarları	85
Şekil 4.26. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı arsenik miktarları	86
Şekil 4.27. Şube düzeyinde dağılım grafiği	90
Şekil 4.28. Şube düzeyinde SYLVA analizi grafiği	91
Şekil 4.29. Sınıf düzeyinde dağılım grafiği	92
Şekil 4.30. Sınıf düzeyinde SYLVA analizi grafiği	93
Şekil 4.31. Takım düzeyinde dağılım grafiği	94
Şekil 4.32. Takım düzeyinde SYLVA analizi grafiği.....	95
Şekil 4.33. Cins düzeyinde dağılım grafiği.....	96
Şekil 4.34. Cins düzeyinde SYLVA analizi grafiği.....	96

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılacak bakteri suşları	32
Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılacak bakteri suşlarına ait ağır metal MİK değerleri....	33
Çizelge 3.3. Ağır metal tuzlarının moleküler ağırlıkları.....	35
Çizelge 3.4. Üretici tarafından verilen torf içeriği	36
Çizelge 3.5. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar	37
Çizelge 3.6. 16S rRNA bölgesi için kullanılan PZR primerleri	46
Çizelge 3.7. 16S rRNA bölgesi için kullanılan PZR karışımı	46
Çizelge 3.8. 16S rRNA bölgesi için kullanılan PZR programı.....	46
Çizelge 3.9. Indeks dizileri	47
Çizelge 3.10. Index PZR karışımı.....	48
Çizelge 3.11. Index PZR programı	48
Çizelge 4.1. Yayma plaka yöntemi ile koloni sayımları.....	54
Çizelge 4.2. Zamana göre çinko giderimi sonuçları	55
Çizelge 4.3. Zamana göre kadmiyum giderimi sonuçları	56
Çizelge 4.4. Zamana göre arsenik giderimi sonuçları.....	57
Çizelge 4.5. Zamana göre bakır giderimi sonuçları.....	58
Çizelge 4.6. Zamana göre kurşun giderimi sonuçları	59
Çizelge 4.7. Zamana göre cıva giderimi sonuçları	60
Çizelge 4.8. Saksı denemeleri sonucunda bitkilerin morfolojik ölçüm sonuçları	67
Çizelge 4.9. Torf numunelerinde yapılan ağır metal ölçüm sonuçları.....	73
Çizelge 4.10. Bitki numunelerinde yapılan ağır metal ölçüm sonuçları.....	80
Çizelge 4.11. Torf örneklerinden elde edilen meta-genomik okuma sayıları.....	89
Çizelge 4.12. “Shannon diversity index” hesaplama sonuçları	98

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
ACC	: 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat
As	: Arsenik
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
BİLTEKMER	: Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
Cd	: Kadmiyum
cm³	: Santimetre küp
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ (WHO)	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EPS	: Ekzopolisakkarit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
Hg	: Cıva
IAA	: İndol-3-Asetik Asit
L	: Litre
M	: Molar
MAKÜ	: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	: Mililitre
mM	: Mili molar
ng	: Nano gram
Pb	: Kurşun
PG	: Fosfojips
PGPB	: Bakteri Büyümesini Destekleyen Bakteriler
ppm	: Milyonda bir
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
Zn	: Çinko

ÖZET

Doktora Tezi

Ağır Metal Dirençli Bakterilerin Ağır Metal Biyodegradasyonu ve Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi Orhan YAVUZ

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nermin SARIGÜL

Haziran, 2024

Bu tez çalışmasında Burdur Gölü'nden izole edilen ve ağır metal dirençliliği tespit edilmiş yedi farklı bakteri suşu kullanılarak kurşun, çinko, bakır, kadmiyum, arsenik ve cıva giderimi ve bu metaller tarafından kontamine edilmiş topraklarda bitki gelişimi araştırılmıştır. Bu amaçla laboratuvar ortamında hazırlanmış ağır metal içeren besiyerlerinde bakteriler geliştirilmiş ve farklı zamanlarda alınan örneklerden ICP-OES cihazı ile ağır metal ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlere besiyeri ortamlarında çinko için %35,9 (*Pseudomonas* sp. As30), kadmiyum için %72,5 (*Delftia tsuruhatensis* As23), arsenik için %85,1 (*Delftia* sp. As37), bakır için %31,1 (*Delftia* sp. As37), kurşun için %89,4 5 (*Delftia tsuruhatensis* As23) ve cıva için %96,1 (*Delftia* sp. As37) olarak en yüksek metal miktarı düşüşü gözlemlenmiştir. Bakterilerin bitki gelişimi üzerine etkisini görmek için ağır metal ile zenginleştirilmiş torfa arpa (*Hordeum vulgare*) ekilmiş ve yedi suşun aktif kültürleri eklenmiştir. Bitki denemeleri sonunda morfolojik, kromatografik ve moleküler teknikler kullanılarak ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçüm sonuçlarına göre bakteri kültürlerinin eklenmesinin bitki gelişiminde anlamlı artışa, alınan torf numunelerinde ağır metal kirliliğinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Torflardan yapılan ölçümlerde çinko için %60 (*Pseudomonas* sp. As30), kadmiyum için %93 (MİX), arsenik için %83 (MİX), bakır için %38 (MİX), kurşun için %68 (MİX) ve cıva için %43 (*Ochrabactrum anthropi* As7) olarak en yüksek metal miktarı düşüşü gözlemlenmiştir. Metal giderimi ve bitki gelişimi parametreleri beraber değerlendirildiği zaman, *Delftia tsuruhatensis* As 23 ve *Delftia* sp. As 37 suşlarının diğer suşlara göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmuştur. Ağır metal gideriminde ve toprak kirliliği nedeni ile azalan tarım alanlarının geri kazanılmasında, verimin artırılmasında kullanım potansiyeline sahiptir.

Yapılan çalışma ile biyoteknolojik potansiyelleri ortaya çıkarılmış olan bakteri suşları dünya ve ülkemizde yaşanan ağır metal kirliliği ve bu duruma bağlı gelişen tarımsal verim problemleri için önemli bir çözüm önerisi getirecektir.

Anahtar Kelimeler: ağır metal, bakteri, biyoremediasyon, ICP-OES, *Delftia tsuruhatensis*

Hazırlanan bu Doktora tezi MAKÜ Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü tarafından 0749-DR-21 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

Investigation of the Effects of Heavy Metal Resistant Bacteria on Heavy Metal Biodegradation and Plant Development

Orhan YAVUZ

Burdur Mehmet Akif Ersoy University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Nermin SARIGÜL

June, 2024

In this thesis, the removal of lead, zinc, copper, cadmium, arsenic, and mercury, as well as plant growth in soils contaminated by these metals, were investigated using seven different bacterial strains isolated from Burdur Lake that exhibited resistance to heavy metals. To this end, bacteria were cultured in laboratory-prepared media containing heavy metals, and heavy metal concentrations were measured at various time points using ICP-OES. The analysis revealed the highest reduction rates for zinc at 35.9% (*Pseudomonas* sp. As30), cadmium at 72.5% (*Delftia tsuruhatensis* As23), arsenic at 85.1% (*Delftia* sp. As37), copper at 31.1% (*Delftia* sp. As37), lead at 89.4% (*Delftia tsuruhatensis* As23), and mercury at 96.1% (*Delftia* sp. As37). To observe the effects of bacteria on plant growth, barley (*Hordeum vulgare*) was cultivated in peat enriched with heavy metals, and active cultures of the seven strains were added. At the end of the plant trials, measurements were conducted using morphological, chromatographic, and molecular techniques. The results indicated that the addition of bacterial cultures led to a significant increase in plant growth and a reduction in heavy metal contamination in the peat samples. The highest metal reduction rates observed in the peat samples were 60% for zinc (*Pseudomonas* sp. As30), 93% for cadmium (MIX), 83% for arsenic (MIX), 38% for copper (MIX), 68% for lead (MIX), and 43% for mercury (*Ochrabactrum anthropi* As7). When evaluating the metal removal and plant growth parameters together, it was determined that *Delftia tsuruhatensis* As23 and *Delftia* sp. As37 strains showed a statistically significant difference compared to other strains. These strains hold potential for use in heavy metal remediation and the restoration of agricultural lands degraded by soil contamination, thereby enhancing productivity.

The bacterial strains identified in this study for their biotechnological potential offer a significant solution to the global and national challenges of heavy metal pollution and the associated agricultural productivity problems.

Keywords: heavy metal, bacteria, bioremediation, ICP-OES, *Delftia tsuruhatensis*

The present M.Sc./Ph.D. Thesis was supported by MAKU Scientific Research Projects Coordination Office under the Project number of 0749-DR-21

1. GİRİŞ

Ağır metal kirliliği, farklı kaynaklardan doğaya yayılan ağır metallerin birikim gerçekleştirerek oluşturduğu önemli çevre sorunlarından biridir. Bilinen en önemli ağır metal kirlilik kaynağı bilinçsiz tarımsal faaliyetlerdir. Kullanılan sentetik gübreler, pestisitler ve herbisitler önemli derecede ağır metal kirliliğine yol açmaktadır (Briffa vd., 2020). Diğer önemli ağır metal kirlilik kaynaklarından birisi madencilik faaliyetleridir. Yapılan madencilik faaliyetleri ağır metal saçılımını artırmakla beraber kullanılan liç teknikleri de ağır metal kirliliğini artırmaktadır (Shi vd., 2023). Yapılan araştırmalar belirtilen ana kaynakların yanında atık suların, evsel atıkların, yoğun trafiğin olduğu otoyolların ve çevreci uygulamalara sahip olmayan endüstriyel tesislerin ağır metal kirliliğine önemli derece etki ettiğini göstermiştir (Su vd., 2023). Çinko, kurşun, krom ve bakır gibi metallerin endüstriyel faaliyetler, hava kirliliği ve madencilik gibi faaliyetler ile doğayı kirlettiği rapor edilmiştir. Arsenik, mangan, nikel gibi metaller ise tarımsal ve endüstriyel faaliyetler kaynaklı doğayı kirletmeye devam etmektedir (Zang vd., 2022).

Doğada biriken ağır metaller arasında kurşun (Pb), cıva (Hg), bakır (Cu), demir (Fe), kadmiyum (Cd), arsenik (As), krom (Cr), çinko (Zn), nikel (Ni) yer almaktadır. Nikel ve mangan (Mn), kalıcılıkları ve potansiyel toksisiteleri açısından dikkat çekicidir (An vd., 2020; Afiyatillah vd., 2022; Assabar vd., 2023). Bu metaller biyolojik olarak parçalanamazlar ve besin zincirine girme potansiyeline sahip olup, organizmalarda biyolojik birikime neden olmakta ve biyo-magnifikasyon (Biyolojik büyütme) yoluyla insan sağlığına risk oluşturmaktadır (An vd., 2020). Kadmiyum, kurşun ve cıva gibi ağır metaller, toksik etkileri ve çevrede, özellikle çökeltilerde ve suda yaşayan organizmalarda birikme eğilimleri nedeniyle özellikle endişe vericidir (Venkateswarlu ve Venkatrayulu, 2020; Assabar vd., 2023). Dolayısıyla besin zinciri yoluyla nihai olarak en yüksek birikimle insana ulaşacaktır. Bu durumda birikimlerin etkileri açısından potansiyel olumsuzların frekansı ve yoğunluğu da artacaktır (Afiyatillah vd., 2022).

Biyolojik olarak parçalanması zor olan ağır metaller arasında As, Uranyum (U) ve Cd bulunmaktadır (Ren vd., 2021). Bu metaller organizmalarda ve çevrede hızla birikerek düşük konsantrasyonlarda bile önemli toksisite riskleri oluşturur. Cd, U ve As gibi ağır metallerin biyolojik olarak parçalanmasının çok zor olduğu, bunların besin zincirinde yoğunlaşmasına ve sonunda insan vücudunda birikmesine neden olduğu bilinmektedir (Li vd., 2023). Çoğu durumda toksinler belli aşamalardan geçirildikten sonra boşaltım

sistemleri aracılığıyla dışarı atılır. Ancak yüksek omurgalıların böbreklerinde ağır metal nanopartiküllerinin biyolojik bozunma yoluyla uzaklaştırılması zordur ve bu partiküller hayati organlarda birikme eğilimi gösterirler (Liu vd., 2022). Ağır metallerin biyolojik olarak parçalanamayan doğası, bu maddelerle kirlenen ortamların geri kazanılmasını zorlaştırmaktadır (Orji vd., 2021). Ağır metaller toprakta göç etmeleri ve biyobozunmaya karşı dirençleri ile karakterize edilir ve bir kez ortama girdikten sonra o çevrede kalırlar (Luo, 2023).

Ağır metallerle kirlenmiş arazilerin yeniden bitkilendirilmesi için umut verici bir yaklaşım olan fitoremediasyon, çevredeki kirletici maddeleri uzaklaştırmak için bitkilerin kullanılmasını, böylece ağır metal kirliliğinin azaltılmasını ve bozulmuş ekolojik ortamların eski haline getirilmesini hedefleyen biyolojik bir süreçtir (An vd., 2020; Xu vd., 2021). Bazı bitki türlerinin ağır metalleri biriktirme ve topraktan bitki organlarına aktarma yeteneği, fitoremediasyon çalışmalarında çok önemli bir rol oynamaktadır (Azab ve Hegazy, 2020).

Ağır metallerin yapraklı sebzelerde toprak ve biyolojik birikim yoluyla birikmesi, gıda kontaminasyonunu ve buna bağlı sağlık risklerini önlemek için toprak ve bitkilerdeki ağır metal seviyelerinin izlenmesinin önemini göstermektedir (Gebeyehu ve Bayissa, 2020; Tekle vd., 2023). Özellikle dip balıkları gibi su canlılarında ağır metallerin varlığı, suda yaşayan organizmalarda birikimin artmasını önlemek için ağır metallerle maruz kalma sorununun ele alınması gerektiğinin altını çizmektedir (Sagala vd., 2021).

Kompleks kirletici bileşiklerin bakteri, maya, küf ve mantarlar gibi biyolojik ajanlar kullanılarak parçalanması işlemine biyodegradasyon denir. Bir biyodegradasyon işlemi kompleks yapıda olan bileşenlerin enzimatik yöntemler kullanılarak parçalanması ve mikroorganizmalar tarafından metabolize edilmesi şeklinde gerçekleşir. Besin zincirinin devamlılığının sağlanması, madde döngülerinin işlemesi ve ekolojik dengenin sağlanması açısından biyodegradasyon çok önemlidir (Aldas-Vargas vd., 2022). Biyodegradasyon reaksiyonlarının kirlilikle mücadele işlemlerinde aktif rolü vardır. Kirleticilerin ortamdan uzaklaştırılması ve daha az zararlı bileşenlere parçalanması kirliliğin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmakta veya en aza indirmektedir. Aynı zamanda gerçekleşen proseslerinin tamamen biyolojik olması ve maliyetinin diğer uygulamalara oranla düşük olması biyodegradasyon proseslerini diğer proseslere karşı daha tercih edilebilir kılmaktadır (Sacchi vd., 2021). Biyodegradasyon proseslerinin en önemli avantajlarından birisi ise tamamen bileşiğe özgü ve seçici olmasıdır. Kirletici bir bileşiğe karşı yapılan uygulama ortamda bulunan diğer bileşiklerin konsantrasyonuna etki etmeyerek ekolojik

dengeinin korunumu sağlanmaktadır. Bu sayede kirlilikle mücadele sırasında ortamda yaşayan canlıların olumsuz etkilerden etkilenmesinin önüne geçilmiş olur (Olak-Kucharczyk vd., 2023). Biyodegradasyon uygulamaları doğal kirleticiler olduğu kadar ksenobiyotikler gibi doğal olmayan kirleticilerle mücadele açısından önem arz etmektedir. Ksenobiyotiklerin özellikle parçalanma proseslerini hızlandıran biyodegradasyon ajanları, bu bileşiklerin doğada kalma ömrünü azaltarak toksik etkilerinin maruziyet süresini kısaltır. Çok sayıda mikroorganizmanın ekstrasellüler olarak sentezlediği enzimler sayesinde ksenobiyotikler ile mücadele açısından önemi ortaya konmuştur (Shamsuri vd., 2021). Günümüzün en önemli sorunlarından biri olan plastik atıkların yönetimi stratejileri açısından biyodegradasyon prosesleri kullanışlı yöntemlerdir. Organik olarak parçalanabilen polimerlerin mikroorganizmalar yoluyla parçalanarak olumsuz etkilerinden kurtulmak bu yöntemlerle mümkündür. Bu açıdan hem doğal prosesler yoluyla bertaraf edilebilmeleri hem de sürdürülebilir uygulamalar olmaları ile biyo-plastiklerin kullanımı daha uygundur (Sánchez-Hernández vd., 2020). Mikroorganizmaların, polimer bozunmasına yardımcı olan enzimler ürettiği bulunmuştur, bu da onların polietilen gibi malzemeleri parçalamadaki rollerini vurgulamaktadır (Cassone vd., 2020; Kopecká vd., 2022). Mikroorganizmaların sadece biyoplastiklerin değil sentetik olarak imal edilen plastiklerin parçalanması ve çevreden uzaklaştırılması işlemlerinde kullanımı olumlu sonuçlar vermiştir (Siddiqua ve Mamun, 2020; Asiandu vd., 2021; Galperin ve Odencrantz, 2022). Petrol hidrokarbonları tarafından kirletilmiş ortamların temizlenmesi işlemleri için mikroorganizmalar kullanılmış ve etkili sonuçlar gözlemlenmiştir (Oyewole vd., 2022). Yapılan çalışmalarda biyodegradasyon verimliliğinin artırılması açısından ortama besin, oksijen gibi temel bileşenlerin eklenerek doğal floranın geliştirilmesi ve kirlenmiş ortamlara kirleticileri temizleyen bakteri suşlarının dışarıdan eklendiği teknikler kullanılmıştır (Kandhasamy vd., 2022). Mikroorganizmaların pestisitleri biyolojik olarak temizleme, polimerleri parçalama ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi karmaşık bileşikleri parçalama yetenekleri, onların çeşitli katabolik potansiyellerini vurgulamaktadır (Hassen vd., 2020; Aldas-Vargas vd., 2022; Galperin ve Odencrantz, 2022).

Mikroorganizmalar, hem doğal hem de insan yapımı ortamlarda ağır metallerle etkileşimde önemli bir rol oynamakta ve biyoremediasyon süreçlerine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Ağır metal kirliliği, mikroorganizmalar üzerinde seçici baskı uygulayarak, mikrobiyal toplulukların kirlenmiş ortamlarda hayatta kalma ve gelişmelerini sağlayacak adaptasyonlara yol açar (Huang vd., 2021; Shen vd., 2022).

Mikroorganizmalar, ağır metal toksisitesiyle başa çıkmak için direnç mekanizmaları geliştirmek ve çevreyi toksik bileşiklerden arındırmak için metabolik yollarını değiştirmek de dahil olmak üzere değişikliklere uğrar (Singh ve Ambawat, 2020; Tarfeen vd., 2022).

Ağır metal kirliliğinin giderilmesi amacıyla kirlenilmiş çevrelerde mikroorganizmalar kirliliğe karşı giderim ajanları olarak kullanılmaktadır (Tarekegn vd., 2020; Pande vd., 2022). Mikroorganizmalar, ağır metal kirliliği ile mücadele etmek için ortama tek bir bakteri suşu olarak, farklı mikroorganizmaların karışımı halinde ve immobilize edilmiş halde eklenmesi gibi farklı teknikler yardımıyla uygulanmıştır. Ağır metallerin giderimi ve detoksifikasyonu için mikroorganizmaların biyosorpsiyon, biyoliç, biyomineralizasyon ve biyotransformasyon mekanizmalarından yararlanılmıştır (Havryliuk vd., 2021; Pande vd., 2022). Ağır metal gideriminin daha etkin hale gelmesi ve ortama uygun mikroorganizmaların ağır metal giderimde kullanılması için genetiği değiştirilmiş mikroorganizmaların kullanımı bir çözüm olarak sunulmuştur (Pande vd., 2022). *Shewanella* türleri gösterdiği yüksek redoks potansiyeli ile ağır metal detoksifikasyonu gerçekleştirmektedir (Pan vd., 2022; Darma vd., 2022). Ekstrem çevrelerde yaşayan mikroorganizmalar (kaplıcalar, volkanik alanlar, derin deniz dipleri gibi), bu ortamlarda hayatta kalmak için geliştirdikleri mekanizmaları ağır metal detoksifikasyonu için kullanabilmektedirler. Bu yüzden ağır metal detoksifikasyonu konusunda ekstrem ortamlarda yaşayan ekstremofil mikroorganizmalar önemli kaynaklardır (Puopolo vd., 2020). Birden fazla dirençli bakterinin beraber kullanıldığı mikrobiyotaların ağır metal giderimi açısından daha başarılı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir (Volarić vd., 2021). Bunun yanında ağır metal giderimi esnasında ortam şartlarını (oksijen, besin, nem vs.) mikroorganizma lehine geliştirmek giderim kapasitesinin en üst düzeye çıkmasını sağlamaktadır (Manikandan vd., 2023).

Ağır metallerin çevreden uzaklaştırılmasını sınırlayan belirli çevresel ve biyolojik faktörler mevcuttur. Sıcaklık, pH, organik asitlerin ve hümkik asitlerin varlığı gibi çevresel faktörler, topraktaki ağır metallerin dönüşümünü, mobilitesini ve biyoyararlanımını önemli ölçüde etkiler. Biyolojik giderim ve detoksifikasyon sürecinde mikroorganizmaların başarısını etkiler (Kochiashvili vd., 2022). Ayrıca kirlenmiş alanların toprak tipi, sıcaklık, pH, besinler ve elektron donörleri ve alıcılarının mevcudiyeti gibi fizikokimyasal özellikler biyoremediasyon etkinliğini sınırlar (Demircan ve Memon, 2022). Biyofilm oluşturan bakterilerin veya bakteri konsorsiyumlarının kullanımı, artan dirençleri ve çeşitli ağır metallerin eşzamanlı olarak

uzaklaştırılmasını sağlayan çoklu metabolik yolların beraber kullanımı ile verimi üst düzeye çıkaran faktörlerdir (Volarić vd., 2021). Bunun yanında, elektro-kinetik biyolojik remediasyonun yerinde uygulanmasında, besin bulunabilirliği ve ortamın kendi mikrobiyotasının kirletici maddelere karşı direnci gibi mikroorganizmalarla ilgili faktörler de dahil belirli zorluklar bulunmaktadır (Hassan, 2021). Biyoremediasyon işleminin etkinliği aynı zamanda ağır metallerin toksik formları ve bulunan konsantrasyonları, kirlenmiş alanların fiziko-kimyasal özellikleri ve kirletici maddelerin yerel mikrobiyata tarafından kullanılabilirliği gibi faktörlerden de etkilenir (Demircan ve Memon, 2022). Bunun yanında, başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonu ve pH seviyesinin, metallerin ekzopolisakkaritler (EPS) tarafından uzaklaştırılmasını olumsuz etkilediği bilinmektedir (Wróbel vd., 2023).

Ağır metallerin çevreden başarıyla detoksifiye edilmesi için çevresel faktörlerin, mikrobiyal faaliyetlerin ve antropojenik etkilerin arasındaki etkileşimin tam olarak anlaşılması gerekmektedir. Tüm zorluklar ve kısıtlamalar göz önünde bulundurularak, yenilikçi biyolojik iyileştirme stratejileri yardımıyla bu faktörlerin değerlendirilmesi, etkili çevre remediasyonu ve toplum sağlığının korunması açısından çok önem arz etmektedir. Bilindiği gibi; Mikroorganizmalar ağır metal direnci geliştirmek için çeşitli mekanizmalar ve stratejiler geliştirmişlerdir. Çevresel ağır metal kirliliğine karşı kullanılacak mikroorganizmaların hangi direnç sistemini kullandığı bu açıdan önemlidir (Aulitto vd., 2021). Mikroorganizmalardaki ağır metal direncinin genetik temelini anlamak, onların metal stresine karşı toleransını arttırmak açısından çok önemlidir. Melatonin, oksidatif stresi ve metal birikimini azaltarak mikroorganizmalara ağır metal toleransı kazandıran bir bileşik olarak tanımlanmıştır (Yu vd., 2020). Melatonin biyosentezinden sorumlu genlerin aşırı ekspresyonunun, oksidatif stres etkilerini hafifleterek ve özellikle köklerde metal birikimini azaltarak organizmalarda ağır metal stres toleransını arttırdığı gösterilmiştir. *Bacillus* spp. gibi ağır metallerle kirlenmiş ortamlardan izole edilen mikroorganizmalar, muhtemelen dirençli faktörlerin metal basıncı altında yayılması yoluyla ağır metal toleransı göstermiştir (Fashola, 2020). Bu dirençli faktörler, mikroorganizmaların metal stresine daha hızlı adapte olmalarını sağlayarak, kirlenmiş ortamlarda hayatta kalmalarına katkıda bulunur. Ayrıca, mikroorganizmalarda ağır metal direncinin gelişimi, metal akış pompaları ile taşıma, metal geçirmeyen hücre duvarlarının üretimi, hücre içi ve hücre dışı enzimsel metal dönüşümü ve enzimatik detoksifikasyon işlemleri gibi çeşitli direnç mekanizmalarının aktivasyonunu içerebilir (Chen vd., 2021). Bu mekanizmalar, mikroorganizmaların metal

stresine karşı dirençlerini artırarak, ağır metallerle kirlenmiş ortamlarda nişlerini genişletmelerini sağlar. Bakterilerde ağır metal direnç genleri ile antibiyotik direnç genlerinin birlikte kodlandığı gözlemlenmiştir; bu durum, ağır metallere maruz kalmanın mikrobiyal popülasyonlarda antibiyotik direncinin kazanılmasına ve sürdürülmesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Longhi vd., 2022). Birlikte kodlanan genler, çevresel stres faktörlerine yanıt olarak direnç mekanizmalarının birbirine bağlı doğasının altını çizmektedir.

Genel olarak, mikroorganizmalarda ağır metal direncinin elde edilmesi, genetik karakterizasyonu, melatonin gibi spesifik bileşiklerin kullanımını, direnç mekanizmalarının aktivasyonunu ve antibiyotik direnci ile birlikte seçim dinamiklerinin anlaşılmasını içeren çok yönlü bir yaklaşımı içerir. Bu mekanizmaları açıklayarak araştırmacılar, biyoremediasyon ve çevresel restorasyon çabaları için mikroorganizmalarda ağır metal toleransını arttırmaya yönelik etkili stratejiler geliştirebilirler.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağır Metal Kontaminasyonu ve Toksisitesi

Ağır metaller, periyodik tabloda bulunan, yüksek yoğunluklara, atom ağırlıklarına veya atom numaralarına sahip bir grup inorganik elementtir (Giao vd., 2022). Pb, Hg, As, Cd gibi bu metaller, toksisiteleri ve hem çevreye hem de insan sağlığına potansiyel zararlarıyla bilinmektedirler (Negahdari vd., 2021; Singh vd., 2023). Ağır metaller kanser, böbrek ve karaciğer hasarı, cilt sorunları ve zihinsel donukluk gibi çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir (Singh vd., 2023). Tipik olarak sudan en az beş kat daha yüksek olan yoğunluklarıyla tanımlanırlar; bu da onları daha hafif metallerden ayırır (Campanale vd., 2020; Giao vd., 2022). Ağır metallerin çevrede, özellikle toprakta ve suda bulunması önemli çevre sorunları yaratmaktadır. Toprak organik maddesi, ağır metallerin tutulmasında, salınımında ve biyoyararlılığında çok önemli bir rol oynar (Lasota vd., 2020). Ağır metallerin toprakta yarattığı kirlilik bölgede gerçekleşen kirlетici faaliyet miktarı ve bölgenin coğrafi olarak ağır metal kaynaklarına olan yakınlığına göre şekillenmektedir (Pan vd., 2020; Yang vd., 2021). Toprak mikrobiyotası ve metabolik aktiviteleri, ağır metal kirliliğinden olumsuz etkilenmekte ve bu durum ciddi ekolojik sorunlara yol açmaktadır (Borozan vd., 2021). Sucul ortamda yaşanan ağır metal kirliliği suda yaşayan mikroorganizmalardan daha kompleks organizmalar olan balıklara kadar tüm canlıları olumsuz etkilemektedir (Yoon ve Yoon, 2022). Yapılan araştırmalar suda yaşanan ağır metal kirliliğinin su kalitesi ve sucul canlılar üzerinde önemli toksik etkileri olduğunu göstermiştir (Wang, 2022).

Diğеr taraftan, ağır metal kirliliğinin ortamda yaşayan bitkiler üzerinde de olumsuz etkileri olduğunu yapılan çalışmalar göstermiştir. Bitki fizyolojisi üzerinde önemli olumsuz etkiler yaratan ağır metaller bitki gelişimini sınırlandırmakla beraber bitkinin ölümüne yol açacak kadar toksik etkiler göstermektedir. Yaşanan ağır metal stresi bitkinin köklerinde kahverengileşme, fizyolojik mineral dengesinde bozulmalar ve fotosentez kapasitesinde düşüşe yol açmaktadır (Jibrin vd., 2022). Bunun yanında toksik konsantrasyonlarda ağır metallere maruz kalmak bitkilerde çimlenme, büyüme, gelişme, protein sentezi, enzim aktivitesi, terleme ve fotosentez gibi fizyolojik olayların mekanizmasını bozmakta ve sonuçta bitki veriminin önemli derecede düşmesine yol açmaktadır (Özyiğit vd., 2021). Bitki fizyolojisinin maruz kaldığı ağır metal toksisitesinin birincil sonucu olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi ve bunun sonucunda oksidatif stres meydana getirmesidir. Oluşan oksidatif stres, bitki hücrelerine zarar verir

ve fizyolojik süreçleri bozar, bu durumun ağır metallerin bitki sağlığı üzerindeki olumsuz etkisini daha da artırdığı gözlemlenmiştir (Pande vd., 2022). Ağır metaller çeşitli bitki organlarında birikerek bu organların işlevselliğini ve genel sağlığını etkilemektedir. Ağır metallerin bitki dokuları boyunca eşit olmayan dağılımı, toksisiteye yol açmaktadır ve normal metabolik süreçleri engellemektedir, sonuçta bitki büyümesini ve hayatta kalmasını etkilemektedir (Ma vd., 2021).

Ağır metaller doğal çevrelerde birikime neden olan toksik metallerdir. Yapılan hemen hemen tüm çalışmalarda; Bu kirliliğin konsantrasyonu ve toksik etkiler arasında doğru orantı gözlemlenmiştir. Ağır metal kirliliği sonucu oluşan toksisite insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Pb, Cd, As ve Hg gibi ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarına maruz kalmanın insan sağlığı üzerinde zararları rapor edilmiştir. Bu ağır metallerin devam eden maruziyet ile insan vücudunda biyolojik birikimi ve insan sağlığı üzerinde yarattığı olumsuz etkiler yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Adam vd., 2021). Kontamine su kaynakları, yiyecekler ve hava yoluyla ağır metallere kronik maruziyet, organ hasarları, nörolojik bozukluklar ve artan kanser riski dahil olmak üzere ciddi sağlık risklerine neden olmaktadır. (Adam vd., 2021; Suleman ve Amma, 2022). Tarım alanlarında ve mahsullerde ağır metal kirliliği de insan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Kontamine toprakta yetişen mahsullerin tüketilmesi, bu toksik maddelerin sindirim yolu ile vücuda alınmasına sebep olarak sağlık üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır (Du ve Zhao, 2021). Dip balıkları ve midye gibi metallerin yoğun olarak bulunduğu ortamlarda yaşayan sucul-süzücü canlılarda fizyolojik olarak yüksek miktarda kadmiyum ve kurşun gibi ağır metallerin birikimi gözlemlenmiştir. Bu ürünlerin tüketimi ile insan fizyolojisine alınan metallerin sağlık açısından olumsuz etkileri bilinmektedir (Tanhan vd., 2022). Ayrıca su kaynaklarındaki ağır metal kirliliğinin insan sağlığı üzerinde ciddi etkileri olduğu gözlemlenmiştir. Ağır metaller içeren kontamine sular, mide-bağırsak sorunları, nörolojik bozukluklar ve böbrek hasarı gibi çeşitli sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Agho vd., 2022). Sucul ekosistemlerde ağır metallerin birikimi, bu kirlenici maddelerin balıklarda ve diğer deniz ürünlerinde biyolojik olarak birikimine neden olur ve bu da insanların toksik ağır metallere maruz kalma riskini daha da artırmaktadır. Kentsel alanlarda, yeraltı suyu kaynaklarının ağır metal kirliliği, kirliliğin tüketimi yoluyla insan sağlığına risk oluşturan önemli bir sorun haline gelmiştir (Wang vd., 2022). Bununla beraber çöp sahası topraklarındaki ağır metal kirliliği, bu kirlenmiş alanların yakınında yaşayan kişiler için sağlık risklerine yol açabilir (Agho vd., 2022).

Toprakta yaşanan ağır metal kirliliği doğal ve yapay olmak üzere çeşitli nedenlerden kaynaklanmaktadır. Metal üzerine gerçekleştirilen tüm endüstriyel faaliyetlerin ağır metal kirliliğine sebep olduğu bilinmektedir (Nortjé ve Laker, 2021; Zhuang ve Li, 2022). Özellikle çevreci uygulamalara riayet etmeyen metal üzerine endüstriyel faaliyet gösteren tesislerin atıkları toprağa boşaltmaktadır. Çinko izabe tesisi bulunan bir bölgede, tarım arazisi topraklarındaki ağır metal kirliliği, kanalizasyon sularında ağır metal kirliliği, atık kalıntısı sızması ve atmosferik çökeltme ile kirlilik tespit edilmiştir (Zhuang ve Li, 2022). Ayrıca pestisit, gübre kullanımı, biyokütelerin ve kanalizasyon çamurunun uygulanması da dahil olmak üzere tarımsal uygulamaların, toprak ve yeraltı suyundaki ağır metal kirliliğine önemli oranda etki eden faktörler olduğu tespit edilmiştir (Prathima vd., 2021). Kirlilik sahalarında, Cu, Pb, Zn ve Cd gibi belirli elementlerin endüstriyel faaliyetlerden kaynaklandığı, Cr ve Ni kirliliğinden tarımsal kaynakların sorumlu olduğu bulunmuştur (Wu vd., 2022). Ayrıca, farmasötik üretim kompleksleri de ağır metal kirliliğinin kaynakları olarak da bilinmektedir. Farmasötik atık su, trafik kaynaklı emisyonlar ve tarımsal kimyasalların toprak kirliliğine önemli katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Su vd., 2023).

Sucul ortamlar ağır metal kirliliğinin ve toksisitesinin en yoğun gözlemlendiği alanlardır. Kirliliğe neden olan doğal ve antropojenik birçok kaynaktan söz edilebilir. Maden faaliyetleri, endüstriyel atık bertaraf prosesleri ve endüstriyel üretim faaliyetleri, sucul ortamlarda ağır metal kirliliğine neden olmaktadır (Saber vd., 2021; Wang vd., 2023; Chen vd., 2023). Tarımsal pestisitlerin kullanımı, ağır metallerin su kaynaklarına karışmasına neden olarak kirliliğe yol açabilir (Saber vd., 2021). Kirleticilere karşı geliştirilen birçok çevreci strateji olmasına rağmen hâlâ sulara boşaltılan endüstriyel atıklar sucul ortamları kirleten önemli faktörlerden biridir (Kadriu vd., 2020). Kullanılan gübreler ve böcek ilaçlarının büyük kısmı ağır metal içermektedir ve kullanım sonrası biriken metaller yüzey ve yeraltı sularına karışmaktadır (Prathima vd., 2021; Pule ve Barakagira, 2022). Kanalizasyon sularının, biyolojik katı atıkların ve kanalizasyon çamurunun uygun olmayan şekilde bertaraf edilmesi, ağır metallerin su kaynaklarına karışmasına ve kirliliğin artmasına neden olmaktadır (Prathima vd., 2021; Tan vd., 2021). Yaşanan doğal afetler ve erozyon gibi doğal faktörler sucul ortamlarda ağır metal kirliliğine neden olmaktadır. Fakat bu kirlilik insan kaynaklı kirlilik ile kıyaslandığı zaman önemsiz denecek seviyelerdedir (Shaganimol vd., 2022; Wang vd., 2023). Yapılan araştırmalar özellikle sucul ortamlarda sediment kısmına çöken metallerin sucul ekosistemlerin dip kısmında yoğun kirliliğe neden olduğunu göstermiştir. Dipte oluşan

hareketlenme ve bulanıklık biriken metallerin suda asılı hale geçmesine ve ikincil bir kirlilik oluşmasına neden olmaktadır (Algül ve Beyhan, 2020; Wang vd., 2022).

2.2. Mikroorganizmalarda Ağır Metal Giderimi

Mikroorganizmalar, kirlenmiş ortamlardaki ağır metallere direnç göstermek ve onları detoksifiye etmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bakteriler, mantarlar ve algler gibi mikroorganizmaların, ağır metallerle kirlenmiş habitatlarda hayatta kalabilmek için farklı detoksifikasyon mekanizmaları geliştirdikleri gözlemlenmiştir, bu durum onları biyoremediasyon çalışmaları için değerli kılmaktadır (Mandragutti vd., 2021). Ağır metallerin giderimi açısından en önemli 4 mekanizma, biyosorpsiyon, biyoakümülyasyon, biyotransformasyon ve biyomineralizasyon olarak sıralanabilir (Pande vd., 2022).

2.2.1. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon, mikroorganizmaların hücre yüzeyine salgıladıkları polimerik bileşenler yardımıyla metalleri bağlaması işlemidir. Araştırmalar hücre içi metabolizmadan bağımsız olarak hücre dışında salgılanan EPS tabakanın metalleri bağlayarak hücre içinde herhangi bir değişiklik yapılmaksızın ağır metal toksisitesinden korunan canlının aynı zamanda metalin toksik etkilerinden çevreyi koruduğu gözlemlenmiştir (Mwandira vd., 2020). Çevrede bulunan ağır metalleri hücre yüzeyine bağlayarak ortamdan uzaklaştırma kapasiteleri ile bu mekanizma biyoremediasyon uygulamaları için kullanışlı bir mekanizmadır (Oktarina ve Mukhriza, 2021; Pande vd., 2022). Bu mekanizma bakteriler, mantarlar ve algler gibi tüm mikrobiyolojik canlılarda gözlemlenmektedir ve ağır metal stresi durumunda aktivitesini artırmaktadır. Özellikle toksik metallerin etkisinin azaltılması ve ortamdan uzaklaştırılması için sıklıkla kullanılan bir mekanizmadır (Ayele ve Godeto, 2021; Baran vd., 2022) Biyosorpsiyon kolay uygulanabilir, ekolojik uyumlu ve maliyet açısından en ucuz biyoremediasyon yöntemlerinden birisidir. Bu sebeplerden dolayı toprak ve sucul ortamlarda en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (Gunjal, 2021). Canlı ve ölü mantar biyokütleleri ile yapılan çalışmalar ağır metallerin adsorblandığını ve etkin biyoremediasyon gerçekleştirdiğini göstermiştir (Ayele vd., 2021).

2.2.2. Biyoakümülyasyon

Biyoakümülyasyon, ağır metallerin metalotiyoneinler gibi proteinler ile hücre içinde bağlanarak etkisiz hale getirilmesini sağlayan mekanizmadır. Bu mekanizma çevrede bulunan metalleri hücre içerisinde bağlayarak toksik etkilerin önüne geçilmesini sağlar (Wang, 2022). Bunun yanında hücre dışında gerçekleşen metabolik aktiviteler ve dış ortamda bulunan metal konsantrasyonu metal birikimini etkileyen faktörlerdir (Oktarina ve Mukhriza, 2021). Kompleks bir mekanizma olan akümülyasyon çok fazla bağımsız değişkene göre çalışmasına rağmen biyoremediasyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Chen vd., 2021). Kirletici metalin tipine, konsantrasyonuna ve toksisitesine bağımlı çalışan bu mekanizmanın giderim çalışmalarında kullanılmadan önce daha fazla araştırma ve mekanizmanın aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Xu vd., 2021).

2.2.3. Biyotransformasyon

Mikroorganizmalarda ağır metal biyotransformasyonu, ağır metallerin daha az toksik formlara dönüştürülmesini veya mikrobiyal hücrelerde immobilizasyonu olarak tanımlanır. Bu süreç, ağır metallerin çevreye ve canlı organizmalara olan zararlı etkilerinin azaltılması açısından hayati önem taşımaktadır (Saha vd., 2021; Pande vd., 2022). Ağır metallerle kirlenmiş ortamlardaki mikrobiyal toplulukların, ağır metal biyotransformasyonu ile ilgili çeşitli mekanizmalar geliştirdiği gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmalar, mikroorganizmaların ağır metallerle kirlenmiş ortamlara nasıl uyum sağladığı ve biyolojik iyileştirme çabalarındaki rolleri hakkında değerli bilgiler sağlar (Pande vd., 2022). Genetiği değiştirilmiş mikroorganizmaların ve immobilize edilmiş mikrobiyal hücrelerin kullanımı, etkili bir biyoremediasyon için ağır metal biyotransformasyon mekanizmalarının geliştirilmesinde umut vaat etmektedir (Saha vd., 2021).

2.2.4. Biyomineralizasyon

Mikroorganizmalarda biyomineralizasyon, ağır metallerin hareketsizleştirilmesine veya daha az toksik formlara dönüştürülmesine yardımcı olabilecek organizmalar tarafından inorganik parçacıklar oluşturma sürecini içerir. Mikroorganizmaların çeşitli ağır metalleri biyomineralize etme yeteneğini gösterdiği ve çevresel detoksifikasyon çabalarına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Monteil vd., 2020; Pande vd., 2022). Bu süreç genellikle mikrobiyal proteinlerin ve enzimlerin etkisi yoluyla metal iyonlarının sülfidler, fosfatlar veya karbonatlar gibi mineral formlara çökmesini içerir (Han vd.,

2020; Kushwaha ve Kashyap, 2021). Mikroorganizmaların, amorf kalsiyum karbonatı hücre içi bağlama ve nanopartiküllerinin bakteriler tarafından biyomineralizasyonu gibi farklı biyomineralizasyon mekanizmaları araştırılmıştır (Schaefer vd., 2021; Pan vd., 2022). Bu süreçler, mikroorganizmaların çevrelerindeki ağır metallerle nasıl etkileşime girdiğini ve mineral oluşumunu ve dönüşümünü etkileyebileceğini anlamak için gereklidir (Kimber vd., 2020).

2.3. Ağır Metal Biyoremediasyonunu Etkiyen Faktörler

Mikroorganizmalarda ağır metallerin biyolojik bozunmasını etkileyen faktörler çeşitli ve karmaşıktır. Sıcaklık, pH, organik asitler ve hümik asitler gibi çevresel koşulların topraktaki ağır metallerin dönüşümünü ve hareketliliğini etkilediği, bunların mikroorganizmalar tarafından biyoyararlanımını ve biyoremediasyon işlemlerinin verimliliği üzerindeki etkileri bilinmektedir (Kochiashvili vd., 2022). Ek olarak, toprağın kütle yoğunluğu ve nitrojen içeriği gibi metalik olmayan toprak faktörleri, ağır metallerin topraktaki dağılımını doğrudan etkileyerek biyolojik bozunma potansiyellerini etkileyebilir (Wu vd., 2023). Ağır metallerin yardımcı kirletici maddeler olarak varlığı, organik kirleticilerin mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanmasını engelleyebilir, dolayısıyla biyolojik parçalanma süreçlerinin genel verimliliğini etkilemektedir (Batkhuayag vd., 2021). Ağır metal kirliliğinin mikrobiyal topluluk yapılarını değiştirdiği ve kirleticilerin biyolojik bozunmasını etkilediği, ağır metaller ile mikrobiyal aktiviteler arasındaki karmaşık etkileşimlerin bulunduğu gösterilmiştir (Jiang vd., 2020). Dahası, topraklarda ağır metallerin varlığı, biyolojik bozunma süreçlerinde yer alan bakteri topluluklarının fonksiyonel genetik potansiyelini değiştirebilir (Staninska-Piğta vd., 2020). Ağır metaller ve toprak özelliklerinin, tarım arazilerindeki mikrobiyal toplulukları etkileyen temel faktörler olarak tanımlanmış olması, ağır metaller ile toprak mikroorganizmaları arasındaki etkileşimlerin anlaşılmasının önemini vurgulamaktadır (Hu vd., 2021). Ağır metal tuzlarının biyotoksisitesi, mikroorganizmaların biyolojik parçalanma yeteneklerini etkileyebilir, bu da ağır metallerin mikrobiyal aktiviteler üzerindeki etkisinin dikkate alınmasının önemini vurgulamaktadır (Sizentcov vd., 2020). Mikrobiyal toplulukların ağır metallere karşı tolerans seviyeleri, özellikle ağır metallerin ve organik kirleticilerin birlikte bulunduğu ortamlarda biyolojik bozunma potansiyellerini önemli ölçüde etkileyebilir (Zahri vd., 2021).

2.4. Ağır Metal Biyoremediasyonu İçin Stratejiler

Ağır metallerin kirlenmiş ortamlardan uzaklaştırılması için biyoremediasyon stratejileri gereklidir. Ağır metal kirliliğini etkili bir şekilde ele almak için araştırmacılar tarafından çeşitli yenilikçi yaklaşımlar araştırılmıştır. Anahtar stratejiler arasında biyosorpsiyon, biyoliç, biyomineralizasyon, biyotransformasyon ve hücre içi birikimin yanı sıra ağır metallerin uzaklaştırılması için genetiği değiştirilmiş mikropların ve hareketsizleştirilmiş mikrobiyal hücrelerin kullanımı yer alır. Biyosorpsiyon, ağır metallerin hücre yüzeyine veya mikroorganizmaların hücre dışı polimerik maddelerine bağlanmasını içerir ve ağır metallerin çevreden tutulmasını kolaylaştırır (Pande vd., 2022). Biyoliç, mikroorganizmaların cevherlerden veya katı malzemelerden metalleri çıkararak bunları uzaklaştırılmak üzere erişilebilir hale getirdiği bir süreçtir. Biyomineralizasyon, ağır metallerin immobilizasyonuna veya dönüşümüne yardımcı olarak mikrobiyal etki yoluyla sülfidler veya karbonatlar gibi mineral formlarının oluşumunu ifade eder (Tarfeen vd., 2022). Biyotransformasyon, toksik ağır metallerin daha az zararlı formlara dönüştürülmesini ve çevresel etkilerinin azaltılmasını içerir (Mandragutti vd., 2021). Hücre içi birikim, ağır metallerin mikrobiyal hücreler içinde depolanmasını ifade eder ve bunların detoksifikasyonuna katkıda bulunur (Pande vd., 2022). Ek olarak biyofilmlerin kullanımı, ağır metallerin atık sudan biyolojik olarak arıtılmasında etkili bir yöntem olarak araştırılmış ve metal giderimi için verimli ve sürdürülebilir bir yaklaşım olarak sunulmuştur (Kumar vd., 2022). Ağır metal iyonlarının giderilmesi için bir platform olarak mikrobiyal biyokütlenin uygulanması, alternatif bir biyoremediasyon yöntemi olarak umut vaat etmektedir (Dibbisa ve Wagari, 2022). Ayrıca, metal indirgeyici bakterilerin hapsedilmesinin, birden fazla ağır metalle kirlenmiş su veya atık suyun biyolojik olarak arıtılması için etkili bir strateji olduğu öne sürülmüştür (Uba vd., 2022). Biyolojik iyileştirme stratejileri, ağır metallerin kirlenmiş ortamlardan uzaklaştırılması için yenilikçi ve sürdürülebilir yaklaşımlar sunmaktadır. Mikroorganizmaların yeteneklerinden ve ileri biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılarak ağır metal kirliliğinin ekosistemler ve insan sağlığı üzerindeki etkisini azaltmak için etkili çözümler geliştirilebilir.

Ağır metallerin fitoremediasyonu, kontamine ortamlardaki metal konsantrasyonlarını azaltmak ve çevresel sürdürülebilirliği iyileştirmek için bitkilerin kullanımını içeren önemli bir araştırma alanını temsil eder. Bu konuda yapılan literatür çalışmaları, çeşitli bitki türlerinin ve düzeneklerinin kullanımı hakkında önemli bilgiler

vermektedir. Araştırmalar, metal birikimine uygun bitki türlerinin belirlenmesinde genetik çeşitliliğin kritik öneme sahip olduğunu vurgulamaktadır (Pulford ve Watson, 2003). Bu bağlamda, özellikle hiper-akümülatör bitki türleri, topraktan yüksek konsantrasyonlarda metal çıkarma kapasitesine sahip olmaları ile öne çıkmaktadır. Bitkilerin kök sistemleri, metallerin alımında ve taşınmasında önemli bir rol oynar. Bu süreç, bitkilerin topraktaki metal kirliliğini azaltma kapasitesine katkıda bulunur. Ayrıca, fito-stabilizasyon stratejileri, metal birikimini sabitleyerek toprak erozyonunu ve metal yayılımını önleyebilir. Moleküler düzeyde, çalışmalar bitki hücrelerinde metal toleransını artıran genleri ve mekanizmaları anlamaya odaklanmaktadır. Bu durum genetik mühendisliği ve seçilen türlerin ışlahı için yeni olanaklar açabilir. Bitki-mikrobiyom etkileşimleri, fito-remediasyon verimliliğini artırabilir. Bitki köklerinin etrafındaki mikroorganizmalar metal direncini artırabilir ve topraktaki metal biyoyararlanımını optimize edebilir. Fito-remediasyon, endüstriyel atıklarda, maden sahalarında ve kentsel alanlarda ağır metal kirliliği sorunlarına  z m sağlayabilir. Bununla birlikte, uygulama alanlarındaki çevresel etkilerin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi ve yönetilmesi gerekmektedir (Gavrilescu, 2022).

2.5. Ülkemizde Raporlanan Ağır Metal Kirliliği

Sarı (2009) tarafından gerçekleştirilen “Edirne ve çevresinde Otoban Kenarlarındaki Topraklarda Bazı Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması” isimli tez çalışmasında otoban kenarında bulunan topraklarda Cd, Co, Cr, Ni ve Pb kirliliği tespit edilmiştir. Tespit edilen krom miktarının örneklerin %32,4’  nde ve kurşun miktarının örneklerin %42,85’inde toksik dozu aştığı bulunmuştur (Sarı, 2009).

Kafadar ve Saygıdeğer (2010) tarafından gerçekleştirilen Gaziantep ilinde yapılan bir çalışmada ise organize sanayi bölgesi atık suları ile sulanan topraklar ve bazı tarım bitkilerinde biriken ağır metalleri tespit etmeye yönelik çalışmada ise hem toprak hem de bitki örneklerinde yıllara göre artan Pb miktarı tespit edilmiştir (Kafadar ve Saygıdeğer, 2010).

Pak (2011) tarafından gerçekleştirilen “Kırklareli Sınırları I erisindeki Otoban Kenarlarında Bulunan Tarım Arazilerinde Bazı Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması” isimli tez çalışması kapsamında Cd, Co, Cr ve Ni metallerinin kirliliğine rastlanmıştır. Bu çalışmada ise sadece Pb analizi yapılan örneklerden %2’sinin toksik dozu aştığı rapor edilmiştir (Pak, 2011).

Önder (2012) tarafından gerçekleştirilen “Atıksular ile Sulanan Zirai Alanlardaki Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması” isimli tez çalışmasında ise Konya bölgesinde arıtılmayan atık sular ile sulanan topraklarda yapılan bir ağır metal çalışması dikkat çekmektedir. Çalışmada toprak örneklerinde Pb, Cr, Cu, Cd, Zn, Ni ve Hg miktarlarının yüksek olduğu vurgulanmıştır. Yine bu çalışmaya göre analiz edilen buğday tanelerinde Pb, Cr, Cu, Zn ve Ni miktarları yüksek tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu yükselmenin atık su ile yapılan sulamadan kaynaklandığını ve buğday tanelerinde yükselen ağır metal konsantrasyonlarının insan sağlığı açısından risk olabileceği fikrini önermişlerdir (Önder, 2012).

Bilge ve Çimrin (2013) tarafından gerçekleştirilen Viranşehir-Kızıltepe karayolu yakınındaki topraklarda yapılan çalışmada ise ortalama metal kirliliği değerleri Pb 0.64-2.24, Cd 0.26-0.40, Ni 27-42, Cr 17-28 ve Cu 9.9-14.2 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar bulunan değerlerin tamamının izin verilen sınırlar içerisinde olduğunu fakat yola yakın kısımlarda bulunan toprakların uzakta bulunan topraklara oranla daha fazla kirlendiğini belirtmiştir (Bilge ve Çimrin, 2013)

Dartan ve Toröz (2013) tarafından gerçekleştirilen Balıkesir bandırma bölgesinde fosfojips (PG) depolama alanı yakınında yapılan bir çalışmada Cd, Cu, Cr, Ni ve Zn metallerinin sınır değerleri üzerinde olduğu saptanmıştır. Çalışmaya göre Cr, Cd, Cu, Zn ve Ni metalleri için izin verilen konsantrasyonlar sırasıyla 64, 1.4, 63, 200 ve 50 mg/kg’dır. Özellikle toksik olan Cd ve Cr değerlerinin PG depolama alanına yakınlıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Fosfojips materyali kimyasal gübre yapımı için sülfirik asit ile işlenen bir materyal olduğu belirtilmiştir (Dartan ve Toröz, 2013).

Daşdemir (2015) tarafından gerçekleştirilen “İstanbul Avrupa Yakası Otoban Kenarlarındaki Tarım Arazilerinde Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması” isimli tez çalışmasında yine kadmiyum, kobalt, krom, nikel ve kurşun metallerinin kirliliğine rastlanmıştır. Co analizi yapılan örneklerin %25’inde, Cr analizi yapılan örneklerin %5’inde toksik dozun üzerinde metal konsantrasyonuna rastlanmıştır (Daşdemir, 2015).

Antakya-Cilvegözü karayolu etrafında Özkan (2017) tarafından yapılan çalışmada, tarım arazilerinden elde edilen toprak örneklerinde; Pb 0,130-0,780 mg/kg, Cd 0-0,265 mg/kg, Ni 0,370-3,97 mg/kg, Cr 0-0,120 mg/kg, Co 0-1,83 mg/kg, Al 0-0,700 mg/kg, Fe 1,45-22,8 mg/kg, Cu 0,385-5,43 mg/kg, Mn 1,96-27 mg/kg Zn 0-4,26 mg/kg, bitki örneklerinde ise; Pb 0-0,155 mg/kg, Cd 0-0,105 mg/kg, Ni 0,100-3,53 mg/kg, Cr 0,0 mg/kg, Co 0,0 mg/kg, Al 0,0 mg/kg, Fe 5,60-25,0 mg/kg, Cu 0,121-4,48 mg/kg, Mn 2,35-15,4 mg/kg, Zn 0,554-6,75 mg/kg aralığında metal içeriğine rastlanmıştır. Aynı zamanda

karayoluna olan mesafenin artması ile metal konsantrasyonun azaldığı vurgulanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) bitkilerde müsaade ettiği ağır metal sınır değerleri ile karşılaştırıldığında ağır metal birikiminin kabul edilebilir sınır değeri aşmamış olduğu belirtilmiştir (Özkan, 2017).

İncelediğimiz çalışmalar için belirtilen toksik dozlar; kadmiyum için, 0,2 mg/kg; kobalt için, 0,09; krom için, 1 mg/kg; nikel için, 10 mg/kg; kurşun için 4 mg/kg üzerindeki değerlerdir.

2.6. Biyoremediasyon Uygulamaları

Sheng vd. (2008) yürüttüğü çalışmada, *Brassica napus* (kanola bitkisi) üzerindeki etkileri belirlemek amacıyla *Pseudomonas fluorescens* G10 ve *Microbacterium* sp. G16 bakteri suşlarının kullanımını kurşun içeren ortamda test etmiştir. Elde edilen sonuçlar, bitki büyümesini teşvik eden indol asetik asit (IAA), bitki stresini azaltan ACC deaminaz ve demir alımını artıran siderofor gibi önemli bileşenlerin üretildiğini göstermiştir (Sheng vd., 2008)

Chen vd. (2008) tarafından gerçekleştirilen araştırmada, *Cupriavidus taiwanensis* bakteri suşunun *Mimosa pudica* (Küstüm otu) bitkisi üzerindeki Pb, Cu ve Cd metallerinin birikimini değerlendirmek amacıyla 7 gün boyunca çözelti içinde denemeler gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda kök ve sürgünlerde biriken metal miktarlarında artış gözlemlenmiştir (Chen vd., 2008).

Wan vd. (2012) yaptığı çalışmada, *Serratia nematodiphila* LRE07 suşunun ağır metal stresi altında yetişen *Solanum nigrum* (Köpek üzümü) bitkisi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu çalışma kapsamında, bitki hidroponik ortamda Cd maruziyeti altında 28 gün boyunca yetiştirilmiştir. *Serratia nematodiphila* LRE07 suşunun uygulanmasıyla bitkide önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Bitkide antioksidan enzim aktivitesinde artış tespit edilmiş, kadmiyumun neden olduğu fotosentetik pigment kaybını hafifletmiş, bitki büyümesini teşvik etmiş ve kadmiyum birikimini artırmıştır. Bu sonuçlar, *Serratia nematodiphila* LRE07 suşunun, *Solanum nigrum* bitkisinin ağır metal stresine karşı direncini artırmada olumlu bir rol oynadığı vurgulanmıştır (Wan vd., 2012).

Luo vd. (2012) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Bacillus* sp. SLS18 bakteri suşunun Cd stresi altında yetişen *Sorghum bicolor* L. (Süpürge darısı) bitkisi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışma, kadmiyum içeren saksı denemeleri 10 hafta süreyle gerçekleştirilmiştir. Bitkide İndol-3-asetik asit (IAA), demir taşıyıcıları ve 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz aktivitesi gibi metabolitleri üretimi

artmıştır. Bu metabolitler, bitki biyokütlesinin artışı teşvik etmiş, bitki büyümesini uyarak ve ağır metal birikimini artırarak *Sorghum bicolor L.*'nin adaptasyonunu desteklemiştir. Bu çalışma, *Bacillus* sp. SLS18 bakterisinin *Sorghum bicolor L.* bitkisi üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini, biyokütle artışı teşvik ettiğini ve ağır metal birikimini artırdığını göstermiştir (Luo vd., 2012).

Babu vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada *Bacillus thuringiensis* GDB-1 bakteri suşunun ağır metal stresi altında yetişen *Alnus firma* (Kızılağaç) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Cd, Cu, Pb ve Zn içeren toprak kullanılarak 7 gün süren saksı uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Bu uygulama sonucunda bakteri, IAA üretimi, demir taşıyıcıları, ACC deaminaz aktivitesi ve çözülmüş fosfat salınımı gibi çeşitli parametrelerde etkiler göstermiştir. *Bacillus thuringiensis* GDB-1, bitki biyokütlesini arttırarak, klorofil içeriğini yükselterek ve yaprak sayısını artırarak bitki büyümesini olumlu yönde etkilemiştir (Babu vd.,2013).

Prapagdee vd. (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Micrococcus* sp. Mu1 bakteri suşunun Cd stresi altında yetişen *Helianthus annuus* (ayçiçeği) bitkisi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışma için kadmiyum içeren saksı denemeleri 4 hafta süreyle gerçekleştirilmiştir. *Micrococcus* sp. Mu1 bakterisi, ayçiçeği bitkisinde çeşitli etkiler göstermiştir. Bakteri kullanılan ortamda, bitkide IAA ve ACC deaminaz üretiminde artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, toprakta kadmiyum çözünürlüğünü artırdığı ve bitki kök uzamasını teşvik ettiği rapor edilmiştir. Bitki biyo-kütlesinin önemli derecede arttığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, *Micrococcus* sp. Mu1 bakterisinin ayçiçeği bitkisi üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini vurgulamıştır (Prapagdee vd., 2013).

He vd. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Rahnella* sp. JN6 bakteri suşunun kadmiyum, kurşun ve çinko stresi altında yetişen *Brassica napus* (Kanola) bitkisi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma, Cd, Pb ve Zn içeren saksı ortamlarında 80 gün sürede gerçekleştirilmiştir. *Rahnella* sp. JN6 bakterisi, *Brassica napus* bitkisi üzerinde çeşitli etkiler göstermiştir. IAA, demir taşıyıcıları, ACC deaminaz aktivitesi ve çözülmüş fosfat salınımı gibi metabolitlerin üretimi artmıştır. Bu metabolitler, bitkinin ağır metalleri biriktirme yeteneğini artırmıştır (He vd., 2013).

Srivastava vd. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Staphylococcus arlettae* NBRIEAG-6 bakteri suşunun arsenik stresi altında *Brassica juncea* (Hardal otu) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma, As içeren saksı ortamında 30 gün süren bir uygulamanın sonuçlarıdır. Bakteri, bitkide IAA, demir taşıyıcıları, ACC deaminaz aktivitesi ve çözülmüş fosfat salınımı gibi metabolitlerin üretimini artırarak

bitkinin ağır metalleri daha etkili bir şekilde biriktirme yeteneğini artırmıştır (Srivastava vd., 2013).

Liang vd. (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Bacillus subtilis* bakteri suşunun Cd stresi altında yetişen *Orychophragmus violaceus* bitkisi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışma için kadmiyum içeren saksı denemeleri 65 gün süreyle gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada fitoremediasyon ajanı olarak kullanılan *Orychophragmus violaceus* bitkisinde kadmiyum birikiminde artış gözlemlenmiştir. Çalışmada ayrıca *Bacillus cereus* ve *Bacillus megaterium* bakterilerinin de *Orychophragmus violaceus* bitkisi üzerinde benzer etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Bu sonuçlar, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus megaterium* bakterilerinin *Orychophragmus violaceus* bitkisi üzerinde farklı düzeylerde kadmiyum birikimini artırma yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışma etkin bir fitoremediasyon uygulamasında bakterilerin önemli rol oynayacağını göstermektedir (Liang vd., 2014).

Chen vd. (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Pseudomonas* sp. Lk9 bakteri suşunun kadmiyum stresi altında yetişen *Solanum nigrum* L. (Köpek üzümü) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma, Cd içeren saksı denemeleri 2 ay süreyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, *Pseudomonas* sp. Lk9 bakterisi, bitkide çeşitli etkiler göstermiştir. *Solanum nigrum* L. bitkisi üzerinde deneyler sonucunda ölçülen spesifik değerlere göre, biyo-kütle artışı, klorofil içeriğinde ve yaprak sayısında artış gözlemlenmiştir (Chen vd., 2014).

Jing vd. (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Enterobacter* sp. JYX7 ve *Klebsiella* sp. JYX10 bakteri suşlarının Cd ve Pb stresi altında yetişen *Brassica napus* (Kanola) bitkisi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu çalışma, Cd ve Pb içeren saksı deneyleri 80 gün sürede gerçekleştirilmiştir. *Enterobacter* sp. JYX7 ve *Klebsiella* sp. JYX10 suşları bitkide IAA, demir taşıyıcıları, ACC deaminaz aktivitesi ve çözünmüş fosfat salınımı gibi metabolitlerin üretimini artırmıştır. Bu sonuçlar, *Enterobacter* sp. JYX7 ve *Klebsiella* sp. JYX10 bakterilerinin *Brassica napus* bitkisi üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini ve bitkinin ağır metalleri daha etkili bir şekilde biriktirme yeteneğini artırdığını göstermiştir (Jing vd., 2014).

Babu vd. (2015) tarafından yapılan bir başka bir çalışmada *Pseudomonas koreensis* AGB-1 bakteri suşunun ağır metal stresi altında yetişen *Miscanthus sinensis* (Çin kılıç otu) bitkisi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Cd, Cu, Pb ve Zn içeren toprak kullanılarak 7 gün süren saksı uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Bu uygulama sonucunda,

bakteri bitkide çeşitli parametrelerde etkiler göstermiştir. Bakterinin IAA miktarı, siderofor yapısı, ACC deaminaz aktivitesi ve çözünmüş fosfat salınımı gibi fonksiyonlar üzerinde olumlu etkiler gözlemlenmiştir. *Pseudomonas koreensis* AGB-1, *Miscanthus sinensis* bitkisinde biyokütle, klorofil, protein içeriği ve enzim aktivitesinde artışa neden olmuştur. Ayrıca, organik asitler aracılığıyla ağır Cd, Cu, Pb ve Zn ağır metallerinin çözünürlüğünü arttırarak, biyolojik olarak kullanılabilir ağır metal içeriğini arttırdığı rapor edilmiştir (Babu vd., 2015).

Ma vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Bacillus pumilus* E2S2 bakteri suşunun Cd stresi altında yetişen *Sedum plumbizincicola* (Damkoruğu) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada, Cd içeren saksı denemeleri 75 gün süreyle gerçekleştirilmiştir. *Bacillus pumilus* E2S2 bakterisi, *Sedum plumbizincicola* bitkisinde çeşitli etkiler göstermiştir. Bitkide IAA, demir taşıyıcıları, ACC deaminaz aktivitesi ve çözünmüş fosfat salınımı gibi çeşitli metabolitlerin üretimi artmıştır. Bu üretimler, bitkide biyokütle artışını teşvik etmiş, bitki büyümesini uyararak ve ağır metal birikimini artırarak *Sedum plumbizincicola*'nın adaptasyonunu desteklemiştir. Bu çalışma, *Bacillus pumilus* E2S2 bakterisinin *Sedum plumbizincicola* bitkisi üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini ve ağır metal birikimini arttırdığını vurgulamıştır (Ma vd., 2015).

Adediran vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Pseudomonas brassicacearum* ve *Rhizobium leguminosarum* bakterilerinin Zn stresi altında *Brassica juncea* (Hardal otu) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma için Zn eklenen ortamda 6 haftalık bitki gelişimi deneyleri yapılmıştır. *Pseudomonas brassicacearum* bakterisinin, bitkide keleritrin ve fitoşelatin üreterek bitki büyümesini teşvik ettiğini rapor etmişlerdir. *Rhizobium leguminosarum* bakterisi, bitki büyümesini teşvik etmiş ve fitoşelatin üretimini artırmıştır. Bu sonuçlar, *Pseudomonas brassicacearum* ve *Rhizobium leguminosarum* bakterilerinin *Brassica juncea* bitkisi üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini ve bu bakterilerin bitkinin çinko içeren ortamda büyümesini ve ağır metalleri daha etkili bir şekilde biriktirme yeteneğini artırdığını vurgulamıştır (Adediran vd., 2016).

Durand vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Variovorax paradoxus* AB30 bakteri suşunun Ni stresi altında *Alyssum murale* (Seki kuduz otu) bitkisi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma, Ni içeren saksı ortamda 1 ay süren deneyler ile gerçekleştirilmiştir. Bakteri, bitkide IAA, demir taşıyıcıları ve ACC deaminaz aktivitesi üretimini artırarak bitkinin ağır metalleri daha etkili bir şekilde biriktirme yeteneğini arttırmıştır (Durand vd., 2015).

Chen vd. (2017) yaptığı çalışmada, *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 suşunun ağır metal stresi altında yetişen *Sedum alfredii* (Sedum) bitkisi üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, bitkinin hidroponik ortamda Cd maruziyeti altında 7 gün boyunca yetiştirildiği deneyler yapılmıştır. *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 suşunun uygulanması, bitkide çeşitli değişikliklere neden olmuştur. Bitki, mikrobiyal uygulama sonrasında 0.25 µM Cd birikimi sağlamıştır. Ayrıca, bakteri suşunun IAA üretimini ve bitki büyümesini teşvik ettiği gözlemlenmiştir. *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 suşunun, *Sedum alfredii* bitkisinin ağır metal stresine karşı direncini artırmada etkili olduğu gözlemlenmiştir (Chen vd., 2017).

Wiangkham ve Prapagdee (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Micrococcus* sp. ve *Arthrobacter* sp. bakterilerinin Cd stresi altında yetişen *Napier grass* (Napier otu) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma Cd içeren saksı ortamında 6 haftalık deneyler şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar sonucunda *Micrococcus* sp. ve *Arthrobacter* sp. bakterilerinin Napier otu bitkisinin köklerinde Cd bağlanmasını artırdığı gözlemlenmiştir (Wiangkham ve Prapagdee, 2018).

Akhtar vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Bacillus* sp. CIK516 bakteri suşunun nikel stresi altında yetişen *Raphanus sativus* (Turp) bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma için Ni içeren saksı denemeleri 60 gün süreyle gerçekleştirilmiştir. *Bacillus* sp. CIK516 bakterisi, *Raphanus sativus* bitkisinde çeşitli etkiler göstermiştir. Bakteri, bitkide IAA üretimini ve ayrıca klorofil ve azot içeriğini artırmıştır. Bu artışlar, bitki büyümesini teşvik ederek ve bitki besin içeriğini iyileştirerek *Raphanus sativus* bitkisinin gelişimini desteklemiştir (Akhtar vd., 2018).

Irshad vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Bacillus* sp. XZM bakteri suşunun As stresi altında yetişen *Vallisneria denseserrulata* (Deniz çayırı) bitkisi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma, As içeren saksı ortamında 20 gün süren bir deney planı ile gerçekleştirilmiştir. *Bacillus* sp. XZM bakterisi, bitkide IAA, demir taşıyıcıları ve ekstraselüler polimer gibi metabolitlerin üretimini artırarak bitkinin arseniği detoksifiye etmesine yardımcı olmuştur. Bu sonuçlar, *Bacillus* sp. XZM bakteri suşunun *Vallisneria denseserrulata* bitkisi üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini ve arseniği detoksifiye etme kapasitesini artırdığını göstermektedir. Ağır metal kirliliği ve biyoremediasyon uygulamaları için temel yaklaşımlar;

- Biyosorpsiyon
- Biyoakümülyasyon
- Biyominerazilasyon

- Biyoliç
- Biyopresipitasyon
- Biyotransformasyon

olarak tanımlanmaktadır (Jeyakumar vd., 2023).

Tez çalışmamızda kullanılacak bakteri türleri ile ilgili yapılmış bazı biyoremediasyon araştırmaları tür bazında sırasıyla verilmiştir;

Ocrobactrum anthropi, çevresel mikroorganizmalar arasında önemli yeri olan bir bakteri türüdür. Bu bakterinin ağır metal direnci, farklı ağır metallerle etkileşimlerine odaklanan çok sayıda çalışma da incelenmiştir. Araştırmalar, *Ochrobactrum anthropi* ile özellikle kurşun, cıva, kadmiyum gibi ağır metallere karşı dirençli olduğunu ortaya koymaktadır. Bu direnç mekanizmalarının genetik temeli ve bakterilerin çevresel koşullara adaptasyon stratejileri üzerindeki etkileri, kapsamlı moleküler biyoloji ve genom analizleri ile belirlenmiştir. *Ocrobactrum anthropi*'nin ağır metal direnci, özellikle endüstriyel atık sulardan veya kontamine topraklardan izole edilen suşlarda daha belirgindir. Bu, bakterinin doğal ortamlarında maruz kaldığı ağır metal stresine uyum sağlama kapasitesini vurgular. Ağır metal direncinin mekanizmalarını anlamak, yalnızca *Ocrobactrum anthropi*'nin çevresel adaptasyonunu değil, aynı zamanda ağır metallerin biyoremediasyonu için potansiyel uygulamalarını da aydınlatır. Bu bakteri türünün ağır metal direncinin araştırılması, çevresel mikroorganizmaların çeşitli koşullar altında nasıl evrimleştiklerini ve çevresel streslere nasıl tepki verdiklerini anlamak açısından literatürde önemli bir konudur (Özdemir vd., 2003).

Bacillus cereus, toprakta, suda ve çeşitli besinlerde bulunan bir tür fakültatif anaerobik bakteridir. Bu bakteri türünün ağır metal direnci çeşitli araştırmalarda ele alınmış ve mikroorganizmanın çevresel streslere adaptasyon mekanizmalarının anlaşılması amaçlanmıştır. *Bacillus cereus*'un özellikle kurşun, kadmiyum ve cıva gibi ağır metallerle etkileşiminde belirli direnç mekanizmaları incelenmiştir. Bu direnç mekanizmalarının genetik temeli, bakterilerin genom analizleri ve moleküler biyoloji çalışmaları ile ayrıntılı olarak incelenmiştir. *Bacillus cereus*'un ağır metal direncinin çeşitli kaynaklardan izole edilen suşlarda farklılık gösterebileceği belirtilmektedir. Bu durum, bakterinin doğal ortamında maruz kaldığı ağır metallerin varyasyonlarından kaynaklanıyor olabilir. Ağır metal direnci üzerine yapılan araştırmalar, bu direncin evrimine, çevresel uygulamalarına ve *Bacillus cereus*'un biyoremediasyon potansiyeline ışık tutmaktadır. Bu bakteri türünün ağır metal direncinin anlaşılması, çevresel

mikroorganizmaların çeşitli koşullarda nasıl geliştiğini ve çevresel streslere nasıl uyum sağladığını anlamak için önemli bir araştırma konusudur (Wróbel vd., 2023).

Delftia cinsinin bakterileri, biyoremediasyon alanında potansiyel uygulamaları olan mikroorganizmalardan biridir. *Delftia* türlerinin, özellikle çevre kirliliği ile ilişkili olanlar olmak üzere metallerin temizlenmesinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. *Delftia tsuruhatensis* gibi bazı türler, özellikle endüstriyel atıkların arıtılması amacıyla kullanılmıştır. Bu bakterilerin ağır metal direnci ve biyoremediasyon yetenekleri, endüstriyel atıklardan kaynaklanan çevre kirliliği sorunlarına potansiyel çözümler sunabilir. *Delftia* bakterilerinin biyoremediasyon süreçlerindeki rolü, genetik ve metabolik mekanizmaların anlaşılması yoluyla ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çalışmalar, bakterilerin çevresel koşullara uyum sağlama ve kirleticileri etkili bir şekilde uzaklaştırma kapasitesini göstermiştir. Özellikle endüstriyel atıkların arıtılması için değerlendirilen *Delftia* türleri, ağır metal direnç mekanizmaları ve biyoremediasyon potansiyelleri hakkında önemli bilgiler vermektedir. *Delftia tsuruhatensis* gibi türlerin çevre kirliliği ile başa çıkma stratejileri genetik ve metabolik düzeyde incelenmiştir. Bu çalışmalar, bakterilerin ağır metal direncine genetik adaptasyonunu ve biyoremediasyon süreçlerindeki rollerini anlamamıza katkıda bulunmuştur. *Delftia* suşlarının biyoremediasyon süreçlerindeki rolünü daha detaylı anlayabilmek için genetik, moleküler biyoloji ve çevresel mikrobiyoloji alanlarındaki çeşitli çalışmalara daha yakından bakmak gerekmektedir. Bu çalışmalar, bakterilerin çevre koşullarına uyum stratejilerinin, kirleticilerle etkileşim mekanizmalarının ve potansiyel biyoremediasyon uygulamalarının anlaşılması açısından önemlidir (Al-Mijalli vd., 2022).

Pseudomonas türleri, biyoremediasyon süreçlerinde önemli rol oynayan ve çeşitli kirleticilerin temizlenmesinde etkili olan mikroorganizmalardan biridir. Bu konuda yapılan araştırmalar, *Pseudomonas* türlerinin biyoremediasyon uygulamalarında geniş bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Birçok çalışma, *Pseudomonas aeruginosa*'nın ağır metal direnci ve biyoremediasyon yeteneklerine odaklanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının ağır metalleri, özellikle cıva ve kromatı etkili bir şekilde temizleme kapasitesi yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda bakterilerin ağır metallere direnç mekanizmaları genetik düzeyde deşifre edilmiş ve biyoremediasyon potansiyeli belirlenmiştir. *Pseudomonas fluorescens* gibi diğer türlerin endüstriyel atıklardan kaynaklanan kirleticilerin temizlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Abdelbary vd., 2019). *Pseudomonas florescens* türünün petrol türevleri ve aromatik hidrokarbonlar gibi organik kirleticileri etkili bir şekilde parçalama

yeteneğini incelenmiş ve bu bakterinin biyoremediasyon amaçlı kullanımını vurgulanmıştır. *Pseudomonas* cinsi bakterilerin biyoremediasyon süreçlerindeki etkinliğini anlamak, genetik adaptasyonlarını ve çevresel koşullara adaptasyon stratejilerini içeren moleküler düzeyde çalışmalar gerektirir. Bu tür araştırmalar, bakterilerin kirleticilerle etkileşime girdiği mekanizmaları daha iyi anlamamıza ve biyoremediasyon uygulamalarını daha etkili hale getirmemize yardımcı olabilir (Vélez vd., 2022).

Acinetobacter haemolyticus, biyoremediasyon süreçlerinde potansiyel uygulama alanına sahip mikroorganizmalardan biridir. Bu bakteri, çeşitli kirleticilerin temizlenmesinde etkili olabilecek özelliklere sahip olabilir. Birçok çalışma, *Acinetobacter* türlerinin çeşitli kirleticilere, özellikle petrol türevlerine, ağır metallere ve organik kirleticilere direnme yeteneğini incelemiştir. Bu çalışmalar, *Acinetobacter haemolyticus*'un potansiyel biyoremediasyon uygulamalarında kullanımının değerlendirilmesi için önemli bilgiler sağlamaktadır. *Acinetobacter hemolyticus*'un genetik yapısı ve metabolik özellikleri, kirleticilerle etkileşimini belirleyen kritik faktörlerdir. Bu bakterinin biyoremediasyon süreçlerindeki etkinliğini anlamak için, genetik adaptasyonlarını ve çevresel streslere adaptasyon stratejilerini içeren daha moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu bakterinin çeşitli kirleticilere karşı direnç mekanizmaları ve temizleme kapasiteleri üzerine yapılacak çalışmalar, bu bakterinin gelecekte çevre temizliği uygulamalarında nasıl etkili bir şekilde kullanılabileceğini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır (Alhashimi vd., 2023).

Paenibacillus cinsinin bakterileri, biyoremediasyon süreçlerinde potansiyel uygulamaları olan mikroorganizmalardan biridir. Bu bakteriler, çeşitli kirleticilerin uzaklaştırılmasında etkili olabilecek özelliklere sahip olabilir. Birkaç çalışma, *Paenibacillus* türlerinin kirleticilere, özellikle ağır metallere, pestisitlere ve organik kirleticilere direnci ve bunları ortadan kaldırma yeteneğini incelemiştir. Bu çalışmalar, *Paenibacillus*'un biyoremediasyon uygulamalarında kullanıma potansiyelini değerlendirmek için önemli bilgiler sağlamaktadır. Çeşitli *Paenibacillus* türleri, endüstriyel atıklardaki kirleticilerin temizlenmesinde etkili olabilir. *Paenibacillus amylolyticus*'un petrol türevleri ve aromatik hidrokarbonlar gibi organik kirleticileri temizleme yeteneği incelenmiş ve bu bakterinin biyoremediasyon açısından potansiyeli vurgulanmıştır. *Paenibacillus* türlerinin biyoremediasyon süreçlerindeki etkinliğini anlamak, genetik adaptasyonlarını ve çevresel koşullara adaptasyon stratejilerini içeren moleküler düzeyde daha fazla çalışma gerektirir. Bu tür araştırmalar, *Paenibacillus*

suşlarının kirleticilerle etkileşime girdiği mekanizmaları daha derinlemesine anlamamıza ve biyoremediasyon uygulamalarını daha etkili hale getirmemize yardımcı olacaktır (Yuan vd., 2023).

2.7. Ağır Metal Kirliliği ve Bitki Gelişimini Destekleyen Mikroorganizmalar

Ağır metal kirliliği çevre ve insan sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmakta ve mikroorganizmalar, ağır metalle kirlenmiş topraklarda bitki gelişiminin desteklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli çalışmalar, rizobakteriler, endofitik bakteriler ve bitki büyümesini teşvik eden bakteri (PGPB) gibi mikroorganizmaların bitki büyümesini arttırmadaki ve ağır metalle kirlenmiş toprakların fitoremediasyonuna yardımcı olmadaki önemini vurgulamıştır (Cho, 2020; Wang vd., 2022; Nurzhanova vd., 2022). Rizobakteriler ve endofitik bakterilerin, nitrojen, fosfor, magnezyum, demir ve kalsiyum gibi temel besin maddelerinin alımını kolaylaştırarak, bitki büyümesini teşvik eden fitohormonları biyosentezleyerek ve bitkinin kirlilik ve strese karşı toleransını artırarak bitki büyümesini desteklediği gösterilmiştir (Wang vd., 2022). PGPB türleri, ağır metal toksisitesi koşulları altında bitki büyümesini iyileştirmek ve kirlenmiş topraklardan ağır metal giderme verimliliğini artırmak için fitoremediasyon sırasında kullanılmıştır (Cho, 2020). Bitki büyümesini teşvik edici özelliklere (PGPR) sahip rizobakterilerin, nitrojen fiksasyonu, fosfor çözünmesi, siderofor üretimi, fitohormon sentezi ve ACC deaminaz enzim aktivitesi gibi mekanizmalar yoluyla bitki büyümesini teşvik ettiği bulunmuştur (Nurzhanova vd., 2022). Ağır metallerle kirlenmiş ortamlarda mikroorganizmalar ve bitkiler arasındaki etkileşimler kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Örneğin, bakterilerin bakır toksisitesi üzerindeki telafi edici etkisi ve bitki dokularında metal birikimindeki eş zamanlı artışın gözlemlenmesi, ağır metalle kirlenmiş alanlarda mikrobiyal-bitki etkileşimlerinin karşılıklı faydalarını vurgulamaktadır (Muratova vd., 2022). Mantar endofitlerinin aynı zamanda kurşunla kirlenmiş toprakta bitki büyümesini teşvik ettiği ve çim bazlı biyoremediasyon potansiyellerini ortaya koyduğu bulunmuştur (Soldi vd., 2020). Ağır metal kirliliğinin bitki büyümesi üzerinde zararlı etkileri olabilir, ancak bazı mikroorganizmaların, özellikle *Bacillus* cinsinden olanların, ağır metalle kirlenmiş ortamlarda bitki büyümesini desteklediği bulunmuştur. *Bacillus* türleri, bitki büyümesini teşvik ederek ve ağır metallerin toprakta biyolojik olarak birikmesine yardımcı olarak fitoremediasyona yardımcı olma yeteneğini göstermiştir (Wróbel vd., 2023). Ağır metal kirliliği bitki büyümesi ve ekosistem sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Çalışmalar, topraktaki ağır metal kirliliğinin kök

büyümesini, fotosentezi ve genel ürün verimini engelleyerek bitki büyümesi üzerinde zararlı etkilere sahip olabileceğini göstermiştir (Hu vd., 2021). Toprakta ağır metallerin varlığı, toprağın bileşiminde ve yapısında değişikliklere yol açarak bitkilerin normal büyümesini etkileyebilir (Shi vd., 2023). Ek olarak, ağır metal kirliliği, kirlenmiş toprak örneklerinde gözlemlendiği gibi, mısır ve sorgum gibi mahsullerin bitkisel büyümesi üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir (Ameh vd., 2020). Ağır metal kirleticilerin bitki toplulukları tarafından alımı azot ve fosforlu gübreleme gibi faktörlerden etkilenebilir. Araştırmalar, nitrojen ve fosfor gübrelemesinin bitki dokularında ağır metal birikimini artırabildiğini ve ağır metal kirliliğinin topraktan alımını teşvik edebildiğini göstermektedir (Tang vd., 2021). Üstelik ağır metallerle kirlenmiş topraklarda bitki topluluklarının yenilenmesinde fosforun nitrojenden daha etkili olduğu bulunmuştur (Huang vd., 2020).

Bacillus suşlarının bitki büyümesinin desteklenmesine ve ağır metallerin iyileştirilmesine katkıda bulunan çeşitli mekanizmalara sahip olduğu belirtilmektedir. Bu mekanizmalar, patojenik doğalarına bakılmaksızın ağır metal kirleticilerin biyolojik olarak parçalanma potansiyelini ve besin alımı yoluyla bitki büyümesini destekleme yeteneğini, bitki büyümesini teşvik eden fitohormonların biyosentezini ve kirlilik ve strese toleransı içerir (Aznardi vd., 2023). *Bacillus* türleri kirlenmiş topraklardan izole edilmiş ve ağır metal toleransı sergilediği gösterilmiştir, bu da kirli ortamlarda bitki büyümesi için faydalı olabilir (Fashola, 2020). *Bacillus cereus* gibi spesifik suşlar, ağır metal dirençleri ve kirli topraklardan ağır metal giderme potansiyelleri açısından incelenmiştir (Ayangbenro ve Babalola, 2020). *Bacillus safensis* suşlarının, *Brassica juncea* gibi türlerde kadmiyum stres toleransını teşvik etme ve bitki büyümesini desteklemedeki etkinlikleri açısından araştırılmıştır (Nazlı vd., 2021). Bu suşların bitki dokularındaki ağır metal konsantrasyonlarını azalttığı ve ağır metal stresi koşulları altında bitki büyümesini arttırdığı bulunmuştur.

Ağır metal kirliliğinin bitki büyümesi üzerindeki etkisi ve *Paenibacillus* suşlarının rolü göz önüne alındığında, bu mikroorganizmalar ile kirlenmiş ortamlardaki bitkiler arasındaki potansiyel etkileşimlerin araştırılması önemlidir. Ağır metal kirliliği bağlamında *Paenibacillus* suşları ve bitkiler arasındaki etkileşime ilişkin spesifik çalışmalar sağlanan referanslarda sınırlı olsa da, *Paenibacillus* türlerinin bilinen bitki büyümesini teşvik edici özellikleri, bunların bitki büyümesini destekleme ve ağır metallerin fitoremediasyonuna yardımcı olma potansiyellerini ortaya koymaktadır. *Paenibacillus* bakterileri, nitrojen fiksasyonu, fosfatın çözündürülmesi, bitki büyümesini

teşvik eden hormonların üretimi ve bitki stres toleransının artırılması dahil olmak üzere bitki büyümesini teşvik eden yetenekleriyle bilinmektedir. Bu özellikler, ağır metal kirliliğinin bitki sağlığı ve ekosistem sürdürülebilirliği üzerindeki etkisini azaltmaya yönelik fitoremediasyon çabalarında *Paenibacillus* türlerini değerli biyoteknolojik ajanlar haline getirmektedir. Ağır metallerle kirlenmiş topraklarda *Paenibacillus* türleri, besin alımını teşvik ederek, toprak yapısını iyileştirerek ve ağır metallerin bitkiler üzerindeki toksik etkilerini azaltarak bitki büyümesini arttırmada önemli bir rol oynayabilir. Bu bakteriler, çeşitli mekanizmalar yoluyla ağır metallerin uzaklaştırılmasını ve detoksifikasyonunu potansiyel olarak kolaylaştırabilir ve kirli ortamlardaki bitkilerin genel sağlığına ve verimliliğine katkıda bulunabilir. Bu alanda daha ileri araştırmalar, *Paenibacillus* bakterilerinin bitki sağlığına ve kirlenmiş ortamlardaki ağır metallerin iyileştirilmesine katkıda bulunduğu spesifik mekanizmalar hakkında değerli bilgiler sağlayabilir (Crovadore vd., 2020).

Ağır metal kirliliğinin bitki büyümesi üzerindeki etkisini ve *Pseudomonas* bakterisinin rolünü incelerken, bu mikroorganizmalar ile kirlenmiş ortamlardaki bitkiler arasındaki potansiyel etkileşimleri dikkate almak çok önemlidir. *Pseudomonas* türlerinin ağır metallerle kirlenmiş topraklarda çeşitli mekanizmalar yoluyla bitki büyümesini desteklemede önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. *Pseudomonas* bakterilerinin ağır metallerin bitkiler üzerindeki fitotoksik etkilerini hafifletebildiğini ve bitki büyüme parametrelerini iyileştirebildiğini göstermiştir. Örneğin, *Pseudomonas aeruginosa* türleri ile aşılamanın, ağır metal toksisitesini azalttığı ve stresli koşullar altında bitki büyümesini iyileştirdiği gösterilmiştir (Sen ve Joshi, 2022). Ek olarak *Pseudomonas* türleri, ağır metalleri tolere etme ve kirlenmiş ortamlarda bitki büyümesini destekleme yetenekleri açısından araştırılmıştır (Vélez vd., 2021). *Pseudomonas* türleri, bitki gelişimini ve ağır metal stresine karşı direnci artırabilen fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi ve indolasetik asit sentezi gibi bitki büyümesini teşvik eden özellikleri açısından incelenmiştir (Chlebek vd., 2021). *Pseudomonas* suşlarının ekzopolisakkarit üretme yeteneği, ağır metal giderme ve diğer iyileştirme stratejilerindeki rolleriyle ilişkilendirilmiş olup, çevresel uygulamalardaki potansiyelleri vurgulanmıştır (Balíková vd., 2022). Atık sudan elde edilen *Pseudomonas* izolatlarının, ekzopolisakkarit üretimi ve biyosorpsiyon mekanizmaları yoluyla kurşunu tolere edebilen biyolojik iyileştirme potansiyeli, bunların ağır metal iyileştirmedeki etkinliklerinin altını çizmektedir (Vélez vd., 2021). Bu bakterilerin, kirlenmiş ortamlardaki ağır metallerin uzaklaştırılmasına ve

detoksifikasyonuna katkıda bulunarak bitki sağlığını ve ekosistemin sürdürülebilirliğini desteklediği gösterilmiştir.

Delftia bakterileri ile ağır metal stresi altındaki bitkiler arasındaki etkileşimler daha önce araştırılmıştır (Bhat vd., 2022). Bu araştırma, *Delftia* cinsinin filogenetik analizine odaklanarak, onun çeşitli betaproteobakteriyel yapısını ve tarımsal ve endüstriyel ortamlardaki önemini vurgulamaktadır. Çalışma, bitki büyümesinin teşviki, hidrokarbonla kirlenmiş toprakların biyoremediasyonu ve ağır metal immobilizasyonu dahil olmak üzere *Delftia* bakterilerinin çeşitli rollerini vurgulamaktadır. *Delftia* türlerinin ekolojik uzmanlıklarını anlamak, bitkilerdeki ağır metal stresini hafifletme potansiyelleri hakkında fikir verebilir. Ayrıca Franco-Franklin vd. (2021), *Delftia* sp. gibi endofitik bakterilerin bitkilerde ağır metal toleransını arttırmadaki etkinliği hakkında bilgiler sunmaktadır. Bu meta-analiz, endofitik bakterilerin, bitkinin ağır metallere karşı toleransını iyileştirme üzerindeki etkisini araştırıyor ve bunların stresli koşullar altında bitki büyümesini destekleme yeteneklerini vurguluyor. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler, *Delftia* bakterilerinin ağır metal stresi altında bitkinin dayanıklılığını artırmaya katkıda bulunduğu mekanizmaların aydınlatılmasına yardımcı olabilir. Han vd. (2021) ağır metalle kirlenmiş toprakların bitkisel ıslahında bitkiyle ilişkili bakterilerin rolüne ilişkin önemli bulgular sağlamıştır. Bu araştırma, *Delftia* sp. dahil bakterilerin hiperakümülatörlerin büyümesini nasıl artırabildiğini ve ağır metalle kirlenmiş toprağın iyileştirilmesini dolaylı olarak nasıl etkileyebildiğini göstermiştir.

2.8. Bakteriler ve Fitoremediasyon Uygulamaları

Ağır metallerle kirlenmiş toprakların ıslahına yönelik çevre dostu bir yaklaşım olan fitoremediasyon, bitkiyle ilişkili bakterilerin kolaylaştırdığı çeşitli mekanizmaları içerir. Bu mekanizmalar, ağır metallerin bitkiler tarafından alımında, translokasyonunda ve detoksifikasyonunda önemli bir rol oynayarak fitoremediasyon proseslerinin genel başarısına katkıda bulunur. Çalışmalar fitoremediasyonda yer alan fitoekstraksiyon, fitostabilizasyon, fitovolatilizasyon, rizofiltrasyon ve fitotransformasyon gibi farklı mekanizmaları vurgulamıştır. Bitkisel ekstraksiyon, ağır metallerin bitki kökleri tarafından alınmasını, bunların bitki dokularına taşınmasını ve ardından bitki içinde birikmesini içerir. Fitostabilizasyon, topraktaki ağır metalleri immobilize etmeyi, bunların biyoyararlılığını ve sızma potansiyelini azaltmayı amaçlamaktadır. Fitovolatilizasyon, bitkilerin ağır metalleri absorbe etmesini ve terleme yoluyla atmosfere salmasını içerir. Rizofiltrasyon, ağır metalleri kirlenmiş su veya topraktan filtrelemek için

bitki köklerini kullanır. Fitotransformasyon, ağır metallerin bitki bünyesinde daha az toksik formlara dönüştürülmesini ifade eder (Ali vd., 2020; Tomar vd., 2020; Tallapragada vd., 2021). Ayrıca bitkiyle ilişkili bakterilerin fitoremediasyondaki rolü çok önemlidir. Bakteriler bitki büyümesini hızlandırabilir, besin alımını iyileştirebilir ve ağır metallerin detoksifikasyonuna yardımcı olabilir. Rizosferdeki bitkiler ve bakteriler arasındaki etkileşim, ağır metallerle kirlenmiş toprakların ıslahında önemli bir rol oynar. Bakteriler, ağır metallerin bitkiler tarafından alımını kolaylaştırabilir, metal immobilizasyonunu destekleyebilir ve bitkinin metal toksisitesine karşı direncini artırabilir (Azab ve Hegazy, 2020; Han vd., 2021). Ek olarak hümkik asit, EDTA (Etilendiamintetraasetik asit) ve fosfat ön işlemleri gibi iyileştirmelerin kullanımı fitoremediasyon işlemlerinin verimliliğini etkileyebilir. Bu değişiklikler bitki büyümesini teşvik ettiği, metal alımını artırdığı ve ağır metalle kirlenmiş toprakların genel olarak iyileştirilmesini sağladığı gözlemlenmiştir (He vd., 2020; Canal vd., 2022; İbrahim vd., 2023). He vd. (2023) yerel olarak uyarlanmış mısır çeşitlerinin mikrobiyomlarındaki kalıtsal çeşitliliği, kaynak çevre ile bir korelasyon göstererek ortaya koymaktadır (He vd., 2023). Bu çalışma, bitki adaptasyonu ve büyümesi için bitki-mikrobiyom etkileşimlerinin altında yatan genetik mekanizmaları anlamının önemini vurgulamaktadır. Gao vd. (2021) bitki mikrobiyom birleşiminde ve fonksiyonel adaptasyonda hastalık kaynaklı değişiklikleri inceleyerek hastalıkların bitki-mikrobiyom etkileşimlerini nasıl etkileyebileceğini ortaya çıkarmıştır (Gao vd., 2021). Bu değişiklikleri anlamak, bitki mikrobiyomunun sürdürülebilir tarım uygulamalarında kullanılması açısından çok önemlidir. Ayrıca sentetik biyoaşılayıcılar yoluyla sürdürülebilir tarım için faydalı bitki mikrobiyomu etkileşimlerinin kullanımını vurgulamaktadır (Suman vd., 2022). Bu biyoaşılayıcılar bitki büyümesini, kondisyonunu ve stres direncini artırarak tarımda mikrobiyom temelli yaklaşımların potansiyelini ortaya koymaktadır. Karbon nanotüplerin ve grafenin domates rizosfer mikrobiyomu üzerindeki değişen etkilerini araştırmış ve konukçu bitkinin rizosfer mikrobiyomları üzerindeki güçlü etkisi vurgulanmıştır (Pang vd., 2022; Sen vd., 2022).

2.9. Hiperakümülatör Bitkiler

Hiperakümülatör bitkiler, ağır metalleri ve metaloidleri dokularında yüksek konsantrasyonlarda biriktirme yeteneklerinden dolayı önemli ölçüde ilgi çekmiş ve kirlenmiş ortamların bitkisel ıslahı için potansiyel çözümler sunmuştur. Hiperakümülatör bitkilerin mekanizmalarını ve özelliklerini araştıran çeşitli çalışmalar, adaptasyon

stratejilerine ve metal maruziyetine verilen moleküler tepkilere ışık tutmaktadır. Kadmiyum hiperakümülatör bitkisi *Solanum nigrum* L. (Köpek üzümü) tarafından fitoremediasyonu teşvik etmek için molibden trioksit nanopartiküllerinin kullanımı araştırılmıştır. Bu çalışmada, metal şelasyonu, antioksidatif savunma aktivasyonu ve vakumlu bölümlendirme dahil hiperakümülatör türler tarafından kullanılan çeşitli detoksifikasyon mekanizmalarının etkinliği gözlemlenmiştir (Qin, 2024). Bir başka çalışma metal ligandlara ve taşıyıcılara odaklanarak hiperakümülatör bitkilerde metal birikiminin fizyolojik ve moleküler mekanizmalarının önemini vurgulamıştır (Sytar vd., 2020). Bu araştırma, hiperakümülatör bitkilerin metalleri nasıl verimli bir şekilde biriktirdiğini anlamadaki son gelişmeleri vurgulayarak, altta yatan süreçler hakkında değerli bilgiler vermektedir. Gallo vd. (2022) Hiperakümülatör bitkilerin protein analizini araştırmıştır *A. halleri* ve *N. caerulea* Cd ve Zn metallerinin nano ve iyonik formlarına maruz bırakılmıştır (Gallo vd., 2022). Araştırma, bu bitki türlerinde metal direnci ve hiper birikimden sorumlu moleküler mekanizmaları aydınlatan proteomik çalışmalarla desteklenmiştir. Selenyum hiperakümülatör mekanizmalarını ve bunların biyolojik zenginleştirme ve fitoremediasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada, hiperakümülatör bitkilerin nasıl yüksek düzeyde Se biriktirebildiği ve bu mekanizmaların çevresel ve beslenmeyle ilgili zorlukların çözümünde potansiyel uygulamalarda kullanılabilirliği gösterilmiştir (Trippe & Pilon-Smits, 2021).

2.10. Metabolomik Çalışmalar

Metabolomik çalışmalar, fitoremediasyon süreçlerine tabi tutulan bitkilerde ağır metal alımı, sekestrasyonu ve detoksifikasyonla ilgili biyokimyasal yollara dair değerli bilgiler sağlar. Yüzen su bitkilerinin kirli sudan ağır metallerin uzaklaştırılmasındaki etkinliği çalışılmıştır. Metabolomik araştırmalar, bu bitkilerde ağır metal maruziyetine yanıt olarak oluşan metabolik değişiklikleri ortaya çıkarmış ve bu bitkilerin fitoremediasyon yeteneklerini göstermiştir (Ali vd., 2020). Fitoremediasyon için kirlenmiş topraktan ağır metal alımını arttırmada şelasyon, kompleksasyon ve dönüşüm gibi biyolojik süreçler metabolomik yöntemlerle araştırılmıştır. Metabolomik çalışmalar, metal bağlanması ve tutulmasında rol oynayan spesifik metabolitleri tanımlayarak, ağır metal stresine karşı bitki tepkilerinin kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlamıştır (Sharma vd., 2023). Jüt bitkilerinin metallerin bitkisel remediasyon potansiyelini belirlemek için morfo-fizyolojik özelliklerini ve fitoremediasyon yetenekleri araştırılmıştır. Jüt bitkileri üzerinde yapılan metabolizma çalışmaları, metal birikimi ve

toleransla ilgili metabolik yollara ilişkin ayrıntılı bilgiler sunmaktadır ve jütün bir biyolojik kaynak olarak kullanıldığı fitoremediasyon stratejilerinin optimize edilmesine yardımcı olabileceği rapor edilmiştir (Saleem vd., 2020). Metabolomik çalışmalar, fitoremediasyon süreçleri sırasında ağır metallere maruz kalan bitkilerde metal alımı, sekestrasyonu ve detoksifikasyonla ilgili biyokimyasal yollara dair değerli bilgiler sağlamaktadır.

2.11. Gelecekte Biyoremediasyon Uygulamaları

Mikroorganizmalar kullanılarak ağır metallerin uzaklaştırılmasında gelecekte sağlanacak gelişmeler, çevresel iyileştirme stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük ümit vaat etmektedir. Çeşitli çalışmalar, mikroorganizmaların kirli ortamlardan ağır metalleri etkili bir şekilde ortadan kaldırma yeteneklerinden yararlanan yenilikçi yaklaşımlar ve teknolojiler üzerine yoğunlaşmıştır. Nadir toprak madenciliği alanlarında ağır metal birikiminin mikrobiyal yapı üzerindeki etkisini ve direnç genlerinin bolluğunu inceleyerek gelecekteki ekolojik iyileştirme stratejilerinin gerekliliği ortaya konulmuştur (Chen vd., 2021). Bu araştırma, etkili iyileştirme yöntemleri geliştirmek için ağır metal kirliliğine karşı mikrobiyal tepkileri anlamının önemini vurgulamaktadır. Atık sulardaki ağır metallerin sürdürülebilir şekilde azaltılmasını araştırarak, mikroorganizma bazlı iyileştirmedeki son teknolojik ilerleme vurgulanmıştır (Gaur vd., 2021). Ağır metallerin toksisitesini değerlendiren bu çalışma, mikroorganizmaların çevresel iyileştirme potansiyeline dair bilgiler sunmaktadır. Ağır metal iyonlarını ve pestisitleri ortadan kaldırmak için biyokömür ve mikroorganizmaların verimli kullanımı araştırılmış ve bu alandaki gelecekteki beklentilerin ana hatları çizilmiştir (Manikandan vd., 2023). Biyokömürü ve mikroorganizmaları entegre ederek bu çalışma, ağır metal iyileştirme süreçlerini geliştirmek için umut verici bir yaklaşım önermektedir. Bitki köklerine bağlı mikrobiyal topluluk aktivitesini artıran biyokimyasal mekanizmaları aydınlatarak mantar-bakteriyel biyofilm aracılı ağır metal rizo iyileştirmesi araştırılmıştır (Henagamage vd., 2021). Bu çalışma, ağır metalle kirlenmiş topraklarda iyileştirme faaliyetlerini artırmada biyofilm oluşumunun potansiyelini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, mikrobiyal müdahalelerin, biyofilm aracılı yaklaşımların ve ileri biyoremediasyon tekniklerinin entegrasyonu, mikroorganizmalar kullanılarak ağır metallerin uzaklaştırılmasının geleceği için umut verici bir görünüm sunmaktadır. Araştırmacılar, mikroorganizmaların metabolik aktivitelerinden ve genetik

potansiyellerinden yararlanarak, ağır metal kirliliğini azaltmak ve çevre sağığını iyileştirmek için sürdürülebilir ve etkili çözümlerin önünü açabilir.

Bu tez çalışmasında Burdur Gölü'nden izole edilen ağır metal dirençli bakteri suşları kullanılarak ağır metal giderimi ve bakteri suşlarının ağır metal kontamine ortamlarda bitki gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bakteri Suşları

Tez çalışmamızda kullanılan biyolojik ağır metal giderimi ajanları olarak Dr. Öğretim Üyesi Nermin SARIGÜL' ün "Burdur Gölünde Zor Koşullara Dayanıklı Mikroorganizmaların Araştırılması" projesi kapsamında yapılan arazi çalışmalarında Burdur Gölü'nden izole edilen ve "Burdur Gölü'nden İzole Edilen Mikroorganizmaların Ağır Metal ve Antibiyotik Dirençliliğinin Kültürel ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi" isimli yüksek lisans çalışmasında yüksek ağır metal dirençli tespit edilmiş ve moleküler yöntemler ile tür tanısı gerçekleştirilmiş 7 farklı bakteri suşu seçilmiştir. Bakteri suşları ve NCBI gen bankasına kayıt numaraları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Kullanılan suşlara ait tespit edilmiş ağır metal MİK değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılacak bakteri suşları ve NCBI GenBANK kayıt kodları

Suş Kodu	Bakteri Türü	NCBI Kayıt Numarası
As 7	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	KY741543
As 13	<i>Bacillus cereus</i>	MF353930
As 23	<i>Delftia tsuruhatensis</i>	MF353931
As 30	<i>Pseudomonas</i> sp.	MF353932
As 32	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	MF353934
As 33	<i>Paenibacillus</i> sp.	MF353933
As 37	<i>Delftia</i> sp.	MF353935

Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılacak bakteri suşlarına ait ağır metal MİK değerleri

Suş Kodu	AĞIR METAL MİK (mM)					
	Cu	Cd	Pb	Zn	Hg	As
<i>Ochrobactrum anthropi</i> As7	8	0,5	16	16	0,012	16
<i>Bacillus cereus</i> As13	4	1	16	8	0,025	16
<i>Delftia tsuruhatensis</i> As23	4	4	16	8	0,012	16
<i>Pseudomonas</i> sp. As30	4	0,5	16	2	0,012	2
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> As32	4	0,25	8	8	0,025	16
<i>Paenibacillus</i> sp. As33	4	0,25	16	8	0,012	4
<i>Delftia</i> sp. As37	4	4	16	8	0,025	16

3.1.2. Sarf Malzemeler

3.1.2.1. Kültürlerin Aktifleştirilmesinde ve Ağır Metal Gideriminde Kullanılan Besiyeriler

6 mM Na₂HAsO₄ 0,5X Nutrient Agar

Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi için kullanılmıştır.

Nutrient agar içeriği (1 L);

Et peptonu	2,5 g/L
Et ekstraktı	1,5 g/L
Agar-agar	12,0 g/L

Çalışmamız kapsamında dehidre Nutrient sıvı besiyeri 1/2 konsantrasyonda hazırlanıp agar-agar eklenmiştir. 121 °C’ de 15 dakika otoklavlandıktan sonra steril tek kullanımlık Petri kutularına dökülerek kullanılmıştır (Chang vd., 2008).

0,5X Nutrient Broth

Ağır metal giderimi deneyleri için kullanılmıştır.

Nutrient broth içeriği (1 L);

Et peptonu	2,5 g/L
Et ekstraktı	1,5 g/L

Çalışmamız kapsamında dehidre Nutrient sıvı besiyeri 1/2 konsantrasyonda hazırlanıp 121 °C’ de 15 dakika otoklavlandıktan sonra 0,45 mikron filtre edilen ağır metaller eklendikten sonra kullanılmıştır (Chang vd., 2008).

Kristal Violele Solüsyonu

Kristal violele solüsyonu içeriği (100 mL için);

Solüsyon A

Kristal violele (%90 boya içeren)	2 g
Etanol (%96 v/v)	20 mL

Solüsyon B

Amonyum okzalal	0,8 g
Deiyonize su	80 mL

A ve B solüsyonları ayrı ayrı hazırlanıp karıştırılıp filtre edildikten sonra kullanılır.

Gram İyodür Solüsyonu

Gram iyodür solüsyonu içeriği (300 mL için);

Potasyum iyodür	2g
İyot	1 g

Potasyum iyodür ve iyot bir kap içerisinde iyice ezilir ve üzerine yavaş yavaş su eklenerek 300 mL ye tamamlanır. Hazırlanan solüsyon amber renkli şişede muhafaza edilir.

Safranin Solüsyonu

Safranin solüsyonunun içeriği (110 mL için);

Safranin O	0,25 g
Etanol (%95 v/v)	10 mL
Deiyonize su	100 mL

Safranin O etanol içerisinde iyice çözülerek üzerine su eklenir. Birkaç gün dinlenen solüsyon filtre edilerek kullanılır.

Ağır Metal Stok Solüsyonları

Ağır metal gideriminin ölçülmesi için $ZnSO_4$, $CdCl_2$, $HgCl_2$, $CuSO_4$, $Pb(NO_3)_2$ ve $NaAsO_2$ metal tuzları kullanılmıştır. $HgCl_2$ 0,1M diğer metallerde 0,5 M olarak stok solüsyon hazırlanmış ve 0,45 mikron filtre ile steril edilmiştir. Metallerin moleküler ağırlığı ve tartılan gramlar Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Ağır metal tuzlarının moleküler ağırlıkları ve 50 mL için tartılan gramlar;

Ağır Metal	Moleküler Ağırlığı (g/Mol)	Tartılan Gram (50 mL için)
ZnSO ₄	287,56	7,17
CdCl ₂	183,32	4,58
HgCl ₂	271,50	1,35
CuSO ₄	159,61	3,99
Pb(NO ₃) ₂	331,21	8,28
NaAsO ₂	129,91	3,24

% 0,9 Sodyum Klorür Solüsyonu

9 gr NaCl 500 ml saf suda çözülerek 1 litreye tamamlanır ve 121 °C’ de 15 dakika otoklavlandıktan sonra kullanılmıştır. Bakterilerin inokülasyon öncesi MacFarland olarak ayarlanması ve yıkanması amaçlı kullanılmıştır.

3.1.2.2. Bitki Deneylerinde Kullanılan Sarf Malzemeler

Bitki Torfu

Green Life marka ticari olarak satılan bitki torfu kullanılmıştır. Üreticinin belirttiği torf içeriği Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Üretici tarafından verilen torf içeriği

pH	5,5
%N	1
% Organik madde	91.5
%Kül	8.5
%Nem	77
%Kuru Madde	33
%C	53
%C/N oranı	53
%P	0.018
%Ca	0.27
%Mg	0.24
K ppm	758
Fe ppm	2015
Mn ppm	103
Zn ppm	40

Arpa Tohumları

Tez çalışmamız kapsamında bitki denemeleri açısından model bitki olması ve kısa sürede yetiştirilebilmesi açısından *Hordeum vulgare* (Arpa) bitkisi seçilmiştir. Arpa tohumları yerli çiftçilerden tek tip olarak temin edilmiştir.

3.1.2.3. Metagenomik Analizlerde Kullanılan Sarf Malzemeler

Qiagen DNeasy® PowerSoil ® Kit

Bitki gelişim ortamlarında ağır metal giderimi deneyleri sonrası bitki diplerinden alınan torf örneklerinden toplam DNA izolasyonu amacı ile kullanılmıştır.

3.1.2.4. Genel Sarf Malzemeler

Corning Costar 96 kuyucuku Mikroplaka

90 mm petri kutusu

50 ml santrifüj tüpü

1,5 ml santrifüj tüpü

Etanol

3.2. Aletler ve Cihazlar

Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları Çizelge 3.5.'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

Memert IN160 İnkübatör	Kültürlerin inkübasyon işlemlerinde kullanılmıştır.
UV/Görünür alan Mikroplaka Spektrofotometresi: BioTek Epoch	Bakterilerin büyüme eğrilerinin belirlenmesi ve DNA izolasyonu sonrası saflık ve miktar ölçümlerinde kullanılmıştır.
Nanodrop Özellikli Spektrofotometre Plakası: Epoch Take 3	Toplam DNA izolasyonlarının saflık ve miktar tayininde kullanılmıştır.
MacFarland Densitometresi: BIOSAN DEN1B	Kültürlerin McFarland Densitesinin belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır.
Soğutmalı İnkübatör: Panasonic MIR-154	25 °C inkübasyonlar için kullanılmıştır.
Çalkalamalı İnkübatör: IKA KS 4000	Çalkalamalı inkübasyon işlemlerinde kullanılmıştır.
Soğutmalı Santrifüj: BECKMAN COULTER Allegra X-22R	Soğutmalı santrifüj işlemlerinde kullanmıştır
İnkübasyon Özellikli UV/Görünür alan Mikroplaka Spektrofotometresi: Varioscans LUX	Bakterilerin büyüme eğrilerinin spektrofotometrik olarak belirlenmesinde inkübasyonlu spektrofotometrik ölçümler için kullanılmıştır.
UV Biyo-Güvenik Kabini: BIOSAN UVC/T-M-AR	Kültürlerin inokülasyon işlemleri sırasında steril alan olarak kullanılmıştır.
Otoklav: HIRAYAMA HV110	Malzemelerin sterilizasyonu için kullanılmıştır.
-80 Derin Dondurucu: New Brunswick U570	Bakteri suşlarının saklanması için kullanılmıştır.
ICP-OES: Perkin ELMER OPTIMA 8000	Kültürler ve topraklarda ağır metal analizleri için kullanılmıştır.
Mikrodalga Yakma Ünitesi: MILESTONE START-D	Ağır metal analizleri öncesinde toprak ve bitki örneklerinin yakılması için kullanılmıştır.

3.3. Yöntem

3.3.1. Kültürlerin Aktifleştirilmesi ve Saflık Kontrolü

-80°C' de %20 gliserolde stoklanmış olan 7 adet bakteri suşuna ait stoklar aktifleştirilmiştir. Suşların aktifleştirilmesi için 6 mM konsantrasyonda Na₂HAsO₄ içeren 0,5X Nutrient Broth besiyeri kullanılmıştır. Gliserol içeren bakteri stoklarından %1 oranında besiyerilere inoküle edilmiştir. 25 °C sıcaklıkta 72 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir.

Aktifleştirilen bakteri suşlarından aktivasyon ortamına çizgi ekim yapılarak saflık kontrolü yapılmıştır. Tüm suşlarda agar üzerinde tek tip koloni görünümü gözlemlenmiştir. Tek düşen kolonilerden öze yardımı ile alınarak lam üzerine fiksasyon yapılarak Gram boyama testi yapılmıştır. Gram boyama testi sonucu mikroskop altında gram boyanma özelliği ve koloni morfolojileri incelenmiştir (Chang vd., 2008).

3.3.2. Mikrobiyal Büyüme Eğrilerinin Belirlenmesi

Büyüme eğrilerinin görüntülenmesi amacıyla spektrofotometrik ve kültürel yöntemlerden faydalanılmıştır. 0,5 mM CuSO₄ içeren 0,5X Nutrient Broth ve kontrol grubu olarak 0,5 X Nutrient Broth besiyerileri metal stresi altında ve normal ortamda büyüme eğrilerinin görüntülenmesi amacıyla seçilmiştir. Metal içeren ortamdaki metal konsantrasyonu 7 bakteri suşu içerisinde en düşük bakır MİK değeri baz alınarak hesaplanmıştır.

Büyüme eğrilerinin zamana karşı görüntülenmesi amaçlı önce doğrudan spektroskopik yöntem kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeriler 96 kuyucuklu düz tabanlı hücre kültürü mikrolakalarına 190 µl olarak dağıtılmıştır. Çalışma için aktifleştirilen bakteri suşları 0,5 mcFarland değeri ayarlanarak %0,09 NaCl içeren ortamda süspanse edilmiş ve 10 µl tüm besiyeri ortamlarına dağıtılmıştır. Plakanın üzeri PZR çalışmalarında kullanılan kaplama folyosu (sealing foil) ile kaplanmıştır. MAKÜ Süt Teknolojileri Araştırma ve Geliştirme Merkezi Laboratuvarı bünyesinde bulunan Varioscan LUX cihazı kullanılmıştır. 25°C sıcaklık, 60 rpm çalkalama hızında 72 saat boyunca her 15 dakikada bir 600 nm dalga boyunda ölçüm alacak şekilde cihaz programlanmış ve deney başlatılmıştır.

Doğrudan spektroskopik yöntemde alınan verilere göre kültürel yöntem şartları tayin edilmiştir. Metot doğrudan spektroskopik yöntem yerine hem spektroskopik hem de klasik yöntemlerle sayarak çalışılacak şekilde optimize edilmiştir. Taze bakteri kültürleri

0,5X NB ve 0,5 mM CuSO₄ 0,5X NB besiyeri ortamlarına toplam hacme %5 oranında olacak şekilde inoküle edilmiştir. Örnekler 25 °C sıcaklıkta 160 rpm çalkalama hızında çalkalamalı inkübatör cihazında inkübe edilmiştir. Farklı zaman aralıklarında (0, 3, 6, 8, 10, 12, 24, 27, 30, 48, 51, 54, 72, 75, 96. saat, örneklem zamanları doğrudan spektroskopik yöntem verilerine dayanarak belirlenmiştir) örneklemeler yapılmıştır. Yapılan örneklemeler mikropalakalara aktarılarak 600 nm dalga boyunda ölçümler alınmıştır. Mikroplaka spektrofotometre cihazı Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Çıkan absorbans sonuçlarına göre 24,48 ve 72. saat örneklerinden dökme plaka yöntemi kullanılarak bakteri sayımları gerçekleştirilmiştir (Diba vd., 2021).



Şekil 3.1. UV/Görünür alan Mikroplaka spektrofotometresi (BioTek Epoch)

3.3.3. Ağır Metal Giderimi

Ağır metal giderimi testleri bakır, kadmiyum, çinko, kurşun ve arsenik için 0,25 mM, civa için 0,1 mM konsantrasyonda 0,5X Nutrient Broth besiyeri ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan farklı metalleri içeren besiyeri ortamlarına toplam hacmin %5’i oranında taze bakteri kültürlerinden inokülasyon gerçekleştirilmiştir. 25 °C ve 160 rpm çalkalama hızında inkübasyon süreci başlatılmıştır. İnkübasyon süresi boyunca 0, 16, 24, 36, 48, 72 ve 96. saatlerde büyüme ortamlarından örnekleme yapılmıştır. Alınan örnekler 8000 g kuvvetinde 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant ayrılmıştır. Ayrılan süpernatant ultra saf su ile 100 kat dilüsyon (civa için bu dilüsyon kat sayısı 8 olarak uygulanmıştır) yapılarak MAKÜ BİLTEKMER bünyesinde bulunan ICP-OES cihazında (Şekil 3.2’de gösterilmiştir) hizmet alımı yöntemi ile analiz edilmiştir (Kalaimurugan vd., 2020).



Şekil 3.2. ICP-OES cihazı (Perkin Elmer, Optima)

3.3.4. Bitki Büyüme Ortamlarında Ağır Metal Giderimi

3.3.4.1. Ağır Metal İçeren Torfun Hazırlanması

Taban materyali olarak seçilen bitki torfu kontrol grubunda olduğu gibi kullanılmıştır. Deney grubu için torflar ağır metaller ile kontamine edilmiştir. Kontaminasyon işlemi için torf litre olarak hesaplanmış ve ağır metal gideriminde kullanılan konsantrasyonda ağır metaller (bakır, kadmiyum, çinko, kurşun ve arsenik için 0,25 mM, civa için 0,1 mM) stok metallerden hesaplanarak eklenmiştir. Metal eklenen torf 3 gün boyunca gün içerisinde farklı zamanlarda en az 5 defa karıştırılarak metallerin torfa homojen biçimde karışması sağlanmıştır. Torfun farklı bölümlerinden alınan örnekler ICP-OES cihazında ölçülmüştür. Yapılan ölçümler arasında anlamlı fark kalmayana kadar homojenizasyon ve metal ölçümleri devam etmiştir. Stabil hale gelen ölçümler ile homojen kabul edilen torf deneylerde kullanılmıştır (Belimov vd., 2004; Sager vd., 2007; Dell'Amico vd., 2008; Rapiut vd., 2021).

3.3.4.2. Arpa Tohumlarının Hazırlanması

Arpa tohumları %70 etanol solüsyonunda 2 dakika ve %1,2 sodyum hipoklorit solüsyonunda 10 dakika bekletildikten sonra iyi temiz su ile durulanarak ekime hazırlanmıştır (Canbolat vd., 2006).

3.3.4.3. Arpa Tohumlarının Ekimi

Bitki denemeleri için kontrol ve deney grupları oluşturulmuştur. Birinci kontrol grubu herhangi bir metal içermeyen torf ve deney boyunca deiyonize su ile sulanan gruptur. İkinci kontrol grubu ağır metal eklenmiş torf ve deney boyunca deiyonize su ile sulanmış gruptur. Üçüncü kontrol grubuna metal içermeyen torf ve ilk sulama suyuna 7 bakterinin karışımını içeren bakteri süspansiyonu verilmiştir. Deney grupları ise ağır metal içeren torflara ilk sulama suyunda 7 bakterinin saf süspansiyonlarının tek tek eklendiği ve 7 bakterinin karışımının eklendiği karışım grubu olmak üzere 8 farklı deneme grubu olarak belirlenmiştir.

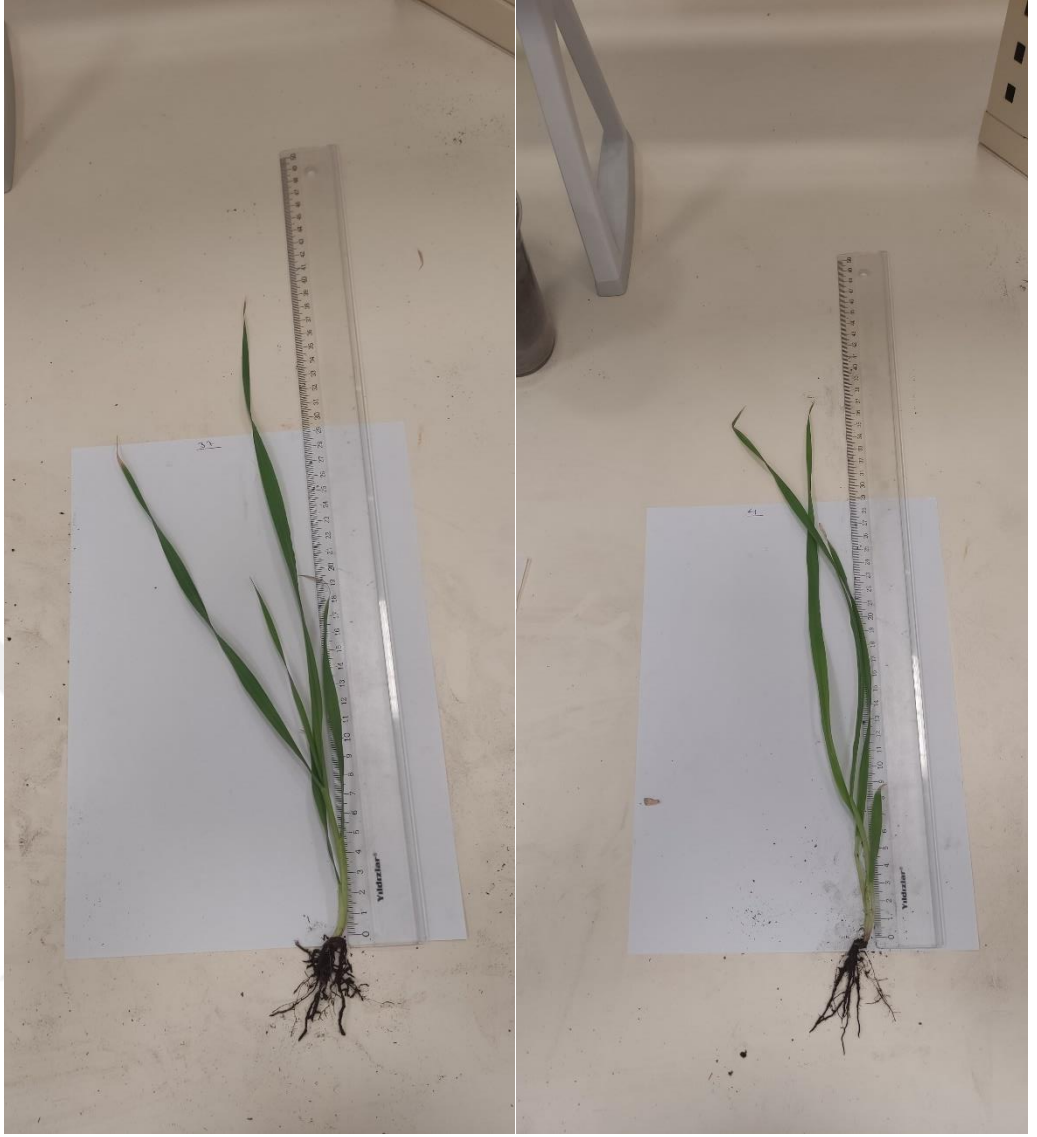
Bitki denemeleri için 350 ml hacimli bardak tipi tek kullanımlık saksılar kullanılmıştır. Torflar saksılara eklendikten sonra steril edilmiş olan arpa tohumları her saksıya 5 adet olarak ekilmiştir. Ekim sonrası saksı görünümü Şekil 3.3' de gösterilmiştir. Tüm denemeler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol 1 ve kontrol 2 grubuna ilk sulamada 40 ml deiyonize su verilmiştir. Kontrol 3 ve deney grupları için ise 7 farklı bakterinin %0,9 NaCl ortamında 0,5 McFarland (10^8 - 10^9 bakteri sayısı) olarak ayarlanmış süspansiyonları 40 ml olarak eklenmiştir. Denemeler 30 gün boyunca takip edilerek gün aşırı deiyonize su ile sulanmıştır. 30 gün sonunda morfolojik, ICP-OES ve meta-genomik analizler için örnekler alınmıştır (Wang vd., 2016; Chen vd., 2016).



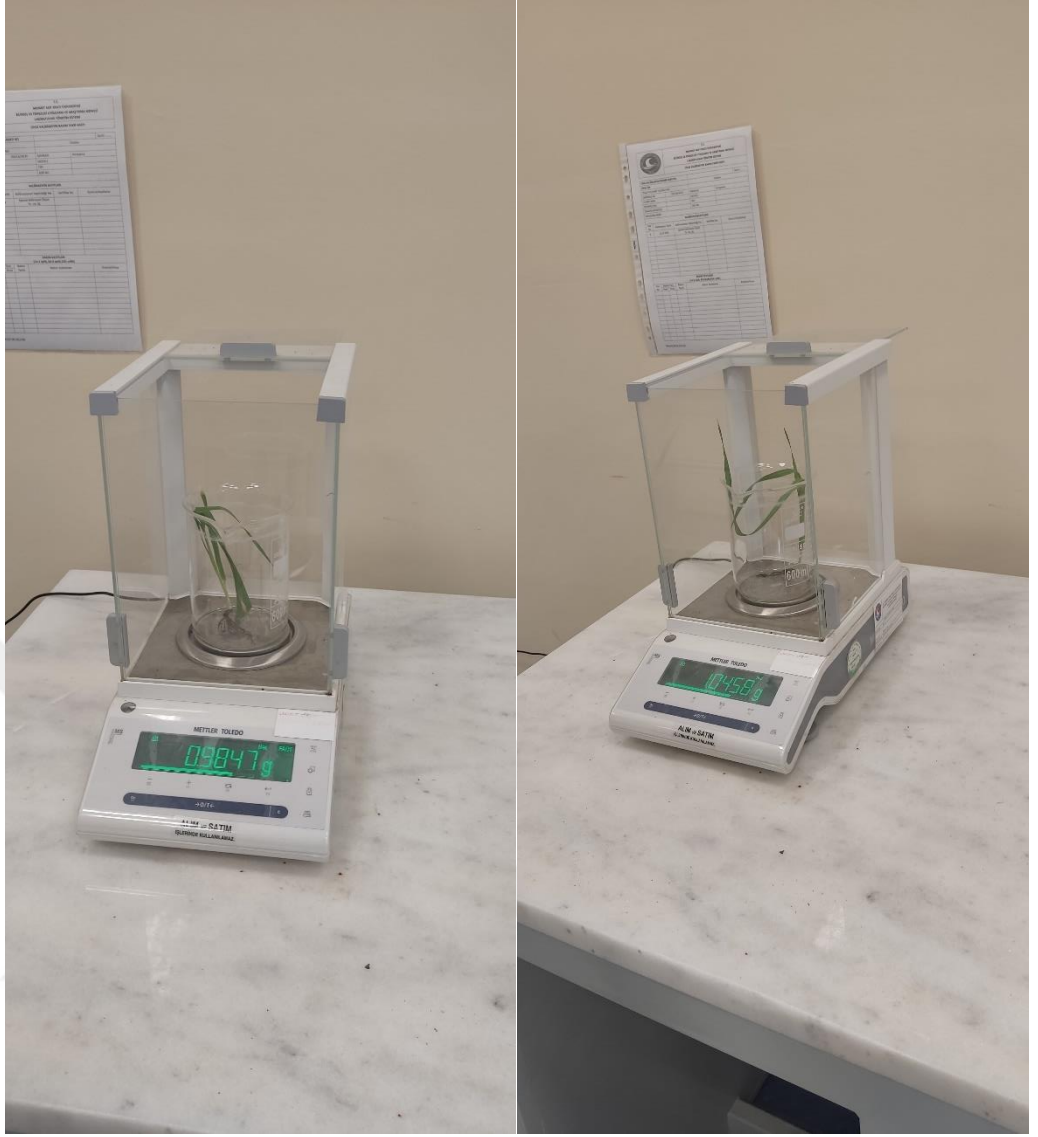
Şekil 3.3. Çimlenmeye başlamış arpa tohumları

3.3.4.4. Bitkilerin Morfolojik Ölçümleri

30 günlük deneme sonucu saksıdan özenli şekilde sökülen arpa bitkilerinin çimlenmiş tohum sayısı sayılmıştır. Kök ve gövde boyları kumpas ve cetvel yardımı ölçülmüştür. Bitkilerin yaş ağırlığı ise hassas terazide tartılmıştır. Bitkilerin morfolojik ölçümlerini gösteren fotoğraflar Şekil 3.4 ve Şekil 3.5’de verilmiştir.



Şekil 3.4. Bitkilerde alınan uzunluk ölçümleri



Şekil 3.5. Bitkilerde alınan ağırlık ölçümleri

3.3.4.5. Ağır Metal Analizleri

Kullanılan torf ve metal eklenmiş torfdan bitki denemeleri öncesi kontrol numuneleri alınmıştır. Bitki söküldükten sonra bitkinin kök kısmından torf numuneleri alınmıştır.

30 günlük denemeler sonucunda morfolojik ölçümler sonrası bitki örneklerinde ağır metal analizleri gerçekleştirilmiştir.

Alınan numuneler BİLTEKMER bünyesinde bulunan ICP-OES cihazında hizmet alımı yöntemi ile analiz edilmiştir. Yöntem genel olarak şu şekildedir,

Milestone Start D cihazı kullanılarak toprak ve bitki numunelerinin yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. 0.5 g homojenize edilen bitki ve toprak numuneleri mikrodalga yakma kaplarına alınmıştır, üzerine 9 mL 10 M HNO₃ ve 3 mL 10 M HCl eklenmiştir.

İki aşamalı yakma programı kullanılmıştır. İlk aşamada, 15 dakikada mikrodalga cihazının sıcaklığı 110°C'ye çıkmıştır. İkinci aşamada, 110°C'lik sıcaklıkta 15 dakika tutulmuştur. Sıcaklığın düşmesi beklenmiş ve soğuyan numuneler alındıktan sonra ICPOES cihazında analizler gerçekleştirilmiştir. Tüm numuneler iki tekrarlı olarak çalışılmıştır. Analiz edilen tüm elementler için derişime karşı cihazdan elde edilen şiddet değerleri kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiklerinden elde edilen formül kullanılarak kantitatif analiz gerçekleştirilmiştir. Geri kazanma deneyleri, çalışılan elementlerin bilinen farklı miktarlarının numunelere işlem görmeden önce katılıp, örnek hazırlama işleminin aynı şekilde uygulanmasıyla yapılmıştır (Canbay ve Saltan, 2015).

3.3.4.6. Meta-Genomik Analizler

30 günlük deneme sonrası bitki gelişiminin tamamlandığı torflardan alınan örneklerden QIAGEN Power-Soil kiti kullanılarak üretici firma talimatlarına göre toplam DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Toplam DNA izolasyonu sonrası saflık ve miktar tayinleri BioTek Epoch cihazında Take3 plaka kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Saflık ve miktar tayini sonrası toplam DNA örnekleri Gen Era Diagnostik, İstanbul firmasına gönderilerek hizmet alımı olarak meta-genomik analizler yaptırılmıştır. Meta-genomik analizlerin tekrarlanması ve biyoinformatik veri analizleri için Atılım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan destek alınmıştır.

Topraklardan izole edilen toplam DNA örneklerinden amplikon PZR deneyleri bakterilere özgü universal 16S rRNA V3-V4 gen bölgeleri (Çizelge 3.6'da verilmiştir) ve Illumina sekans adaptör DNA dizileri içeren primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 16S metagenomik kütüphane hazırlama protokolü kullanılmıştır (Illumina, California, ABD).

Çizelge 3.6. 16S rRNA bölgesi için kullanılan PZR primerleri

F-primer	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGN GGCWGCAG
R-primer	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHV GGGTATCTAATCC

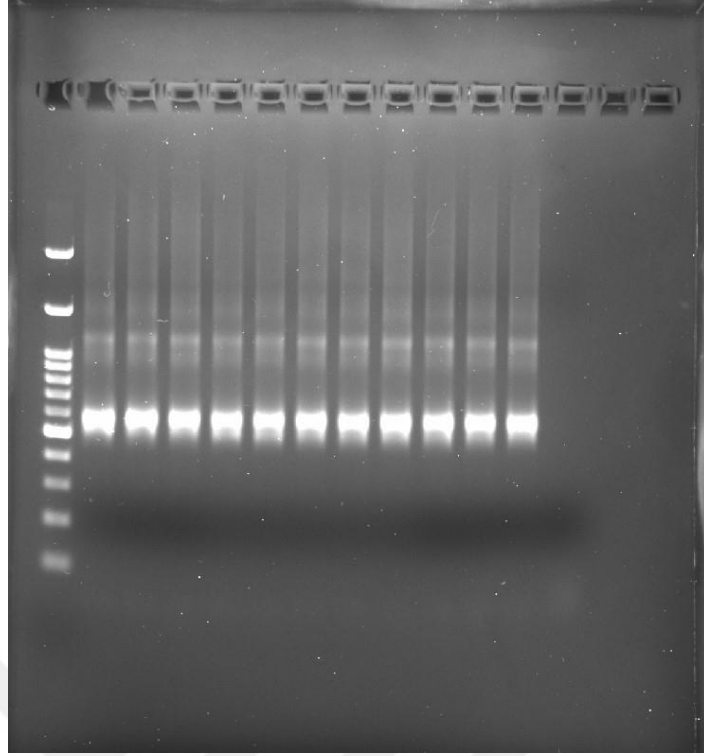
16S rRNA gen bölgesinin PZR ile çoğaltılmasında KAPA HiFi HS Mix (Roche, Almanya) kullanılmıştır. PZR kiti içeriği Çizelge 3.7’ de verilmiştir. 16S rRNA PZR programı Çizelge 3.8’de verilmiştir. 16S rRNA PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü Şekil 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.7. 16S rRNA bölgesi için kullanılan PZR karışımı

İçerik	Hacim (µl)
DNA	5
Forward Primer	5
Reverse Primer	5
KAPA master mix	12,5
Ultra saf su	22.5
Toplam hacim	50

Çizelge 3.8. 16S rRNA bölgesi için kullanılan PZR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü
95 °C	3 dakika	1
95 °C	30 saniye	30
55 °C	30 saniye	
72 °C	30 saniye	
72 °C	5 dakika	1



Şekil 3.6. 16S rRNA PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü

(* Kullanılan marker: ABM 100 bp Plus Opti-DNA Marker, Kanada)

Örneklerin Yeni Nesil DNA Dizileme sisteminde ayırt edilmesini sağlayan index PZR için Nextera® XT index Kit v2 Set-A (Illumina) kiti kullanılmıştır. Kullanılan index dizileri tabloda verilmiştir. Kullanılan indeks dizi adaptörleri Çizelge 3.9’da verilmiştir. İndeks PZR karışımı Çizelge 3.10’da verilmiştir. İndeks PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü Şekil 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.9. İndeks dizileri

Dual index	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714
S511	OY-1	OY-2	OY-3	OY-4	OY-5	OY-6	OY-7	OY-8	OY-9	OY-10	OY-11

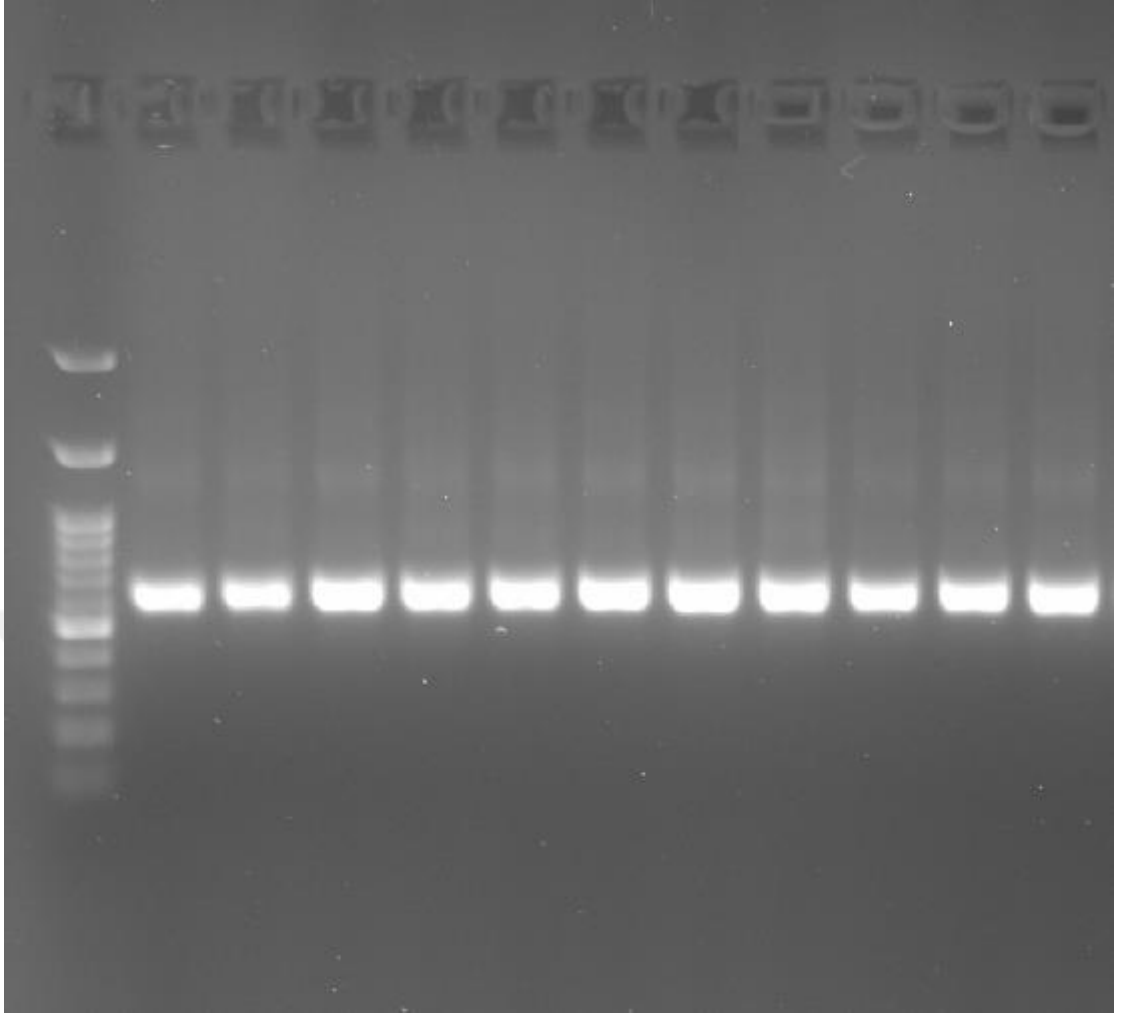
Çizelge 3.10. Index PZR karışımı

İçerik	Hacim (µl)
DNA	5
Nextera XT Index primer 1 (N7xx)	5
Nextera XT Index primer (S5xx)	5
2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix	25
Ultra saf su	10
Toplam hacim	50

Index PZR koşulları Çizelge 3.11.'de verilmiştir.

Çizelge 3.11. Index PZR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü
95 °C	3 dakika	1
95 °C	30 saniye	8
55 °C	30 saniye	
72 °C	30 saniye	
72 °C	5 dakika	1



Şekil 3.7. Index PZR agaroz jel elektroforez görüntüsü

(* Kullanılan marker: ABM 100 bp Plus Opti-DNA Marker, Kanada)

DNA örneklerinin temizlenmesinde AMPure XP yıkama boncuğu (Beckman Coulter, ABD) üretici firma talimatlarına göre kullanılmıştır. Temizleme işlemine ait bir fotoğraf Şekil 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.8. PZR ürünlerinin AmPure boncukları ile manyetik tutucu raf üzerinde temizlenmesi

İndex takılmış amplikon PZR ürünleri temizlendikten sonra %1,5 agaroz jelinde yürütülerek boyutları kontrol edilmiştir. DNA miktarları jel görüntüleri baz alınarak ve marker DNA ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. ng/µl konsantrasyondan hesaplanan ürünlerin konsantrasyonları nM değerine çevrilmiştir. Bu amaçla aşağıdaki formül kullanılmıştır,

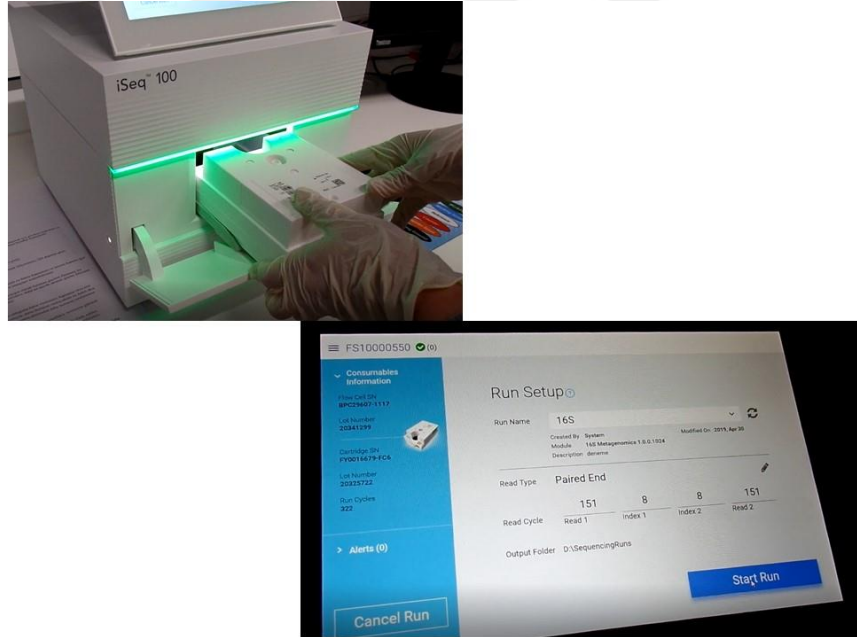
$$\left(\frac{\text{Konsantrasyon (ng/}\mu\text{l)}}{660 \text{ g/mol}} \times \text{ortalama kütüphane boyutu} \right) \times 10^6 = \text{Konsantrasyon (nM)}$$

formülü kullanılarak ölçülen ng/µl değeri 2,405 ile çarpılarak nM değeri bulunmuştur. Tüm örnekler steril su ile 10 nM olacak şekilde dilüe edilmiş ve ardından her birinden 5 µl alınarak tek tüpte kütüphane birleştirilmiştir. Ardından kütüphane 1 nM ve 35 pM sıra ile su ile dilüe edilmiş ve üzerine 5 µl 35 pM PhiX kontrol DNA örneği eklenmiştir. Elde edilen son konsantrasyondan 20 µl alınarak önceden 9 saat oda sıcaklığında çözündürülen iSeq 100 kartuşuna yüklenmiştir. Kartuşa ait görüntü Şekil 3.9’ da verilmiştir. 15 dakika önceden oda sıcaklığına getirilen Flow cell kartuşa takılarak iSeq100 cihazına yüklenmiştir. Sekans cihazına ait bir görüntü Şekil 3.10’da verilmiştir. Sekans işlemi en az 16 saat sürmüştür ve Local Run Manager programı üzerinden sekans

işlemini süreci takip edilmiştir. Elde edilen veriler Silva NGS programı ile analiz edilmiştir.



Şekil 3.9. Metagenomik analizler için hazırlanan kartuş



Şekil 3.10. Illumina iSeq 100 cihazında analizler

3.3.4.7. İstatistiksel Analizler

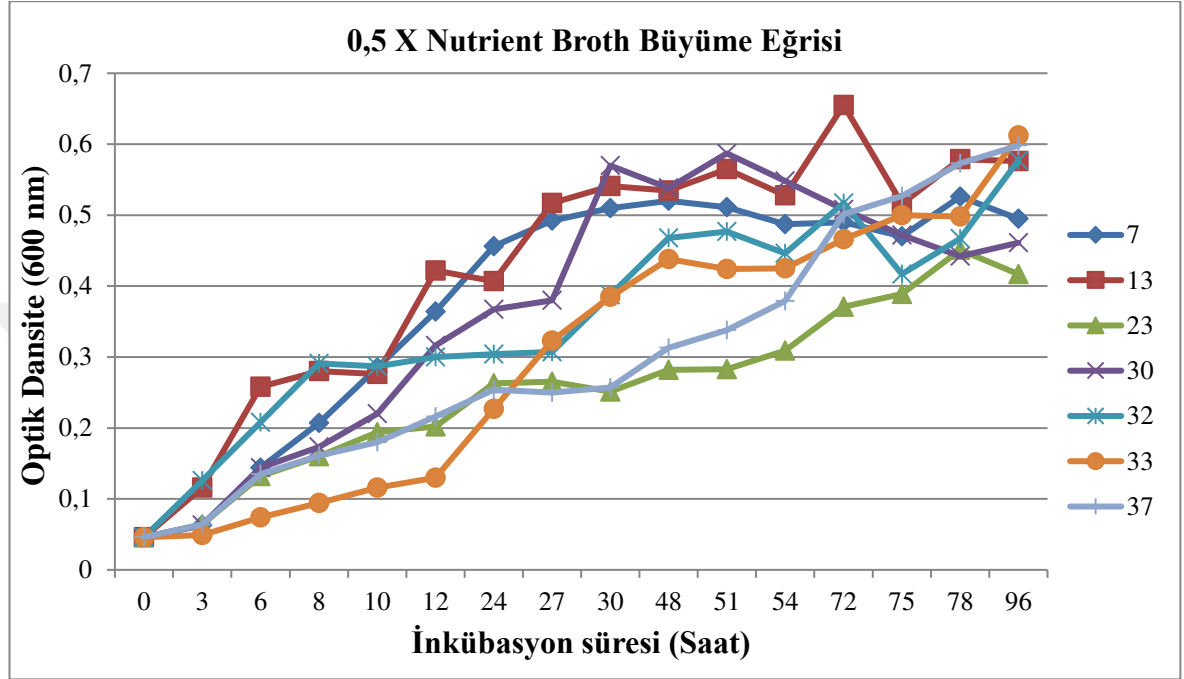
Deney sonuçlarında elde edilen verilerin istatistiksel analizleri “IBM SPSS Statistics Version 29.01.0” programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki ve topraklarda yapılan ölçüm sonuçlarının gruplar arasında birbirinden farklı olup olmadığı tek yönlü varyans (One-Way ANOVA) analizi ile varsa gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi ise bir çoklu karşılaştırma testi olan Duncan testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



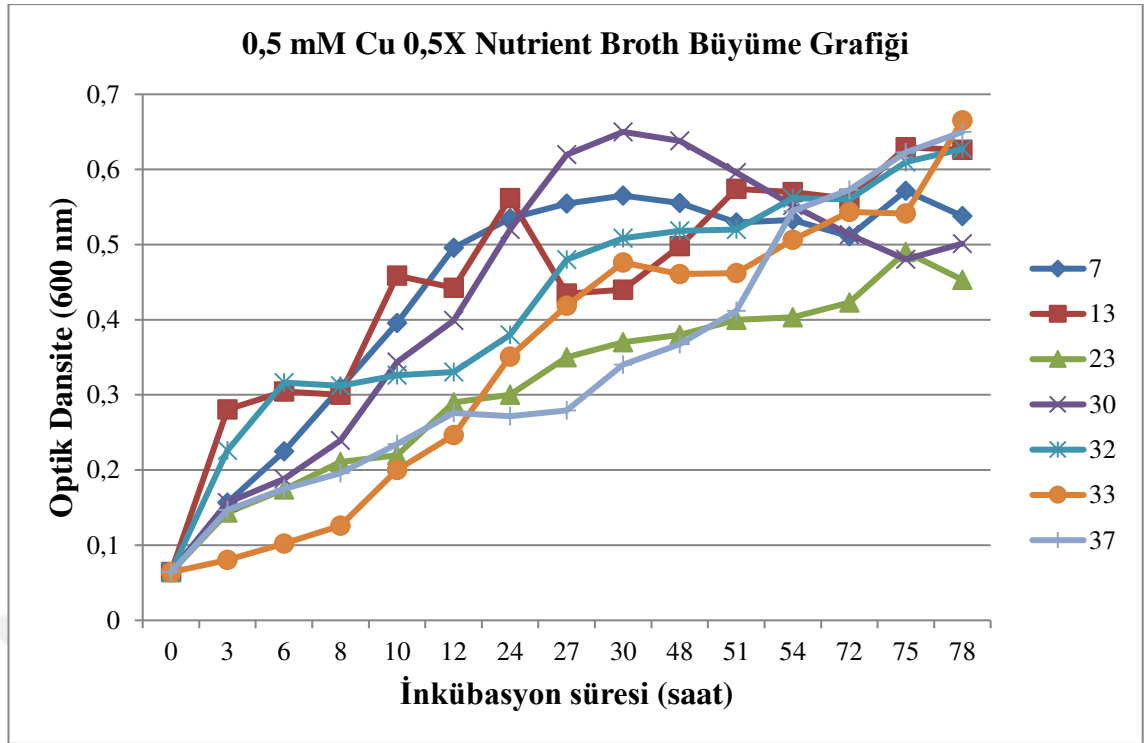
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bakteri Suşlarının Büyüme Eğrisinin Belirlenmesi

Ağır metal içermeyen ve ağır metal içeren ortamlarda yapılan spektrofotometrik büyüme ölçümleri Şekil 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1. 0,5X Nutrient Broth ortamında bakterilerin büyüme eğrisi



Şekil 4.2. 0,5 mM bakır içeren 0,5X Nutrient Broth ortamında bakterilerin büyüme eğrisi

Spektrofotometrik ölçümlerin doğrulanması amaçlı yayma plaka ile yapılan bakteri sayımları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yayma plaka yöntemi ile koloni sayımları (KOB/ml)

	0,5X 0,5 Cu NB			0,5 X NB		
Suş Kodları	24. saat	48. saat	72. saat	24. saat	48. saat	72. saat
7	$1,14 \pm 0,31 \times 10^5$	$1,95 \pm 0,28 \times 10^8$	$5,95 \pm 1,15 \times 10^4$	$1,09 \pm 0,13 \times 10^5$	$2,36 \pm 0,21 \times 10^8$	$8 \pm 0,7 \times 10^4$
13	$1,64 \pm 0,22 \times 10^5$	$7,8 \pm 1,9 \times 10^7$	$8,8 \pm 1,4 \times 10^4$	$2,38 \pm 0,4 \times 10^5$	$3,05 \pm 0,45 \times 10^7$	$3,15 \pm 0,07 \times 10^4$
23	$5 \pm 0,6 \times 10^4$	$8,6 \pm 0,3 \times 10^7$	$5,4 \pm 0,4 \times 10^6$	$7,55 \pm 2,25 \times 10^4$	$4,35 \pm 1,05 \times 10^7$	$5,1 \pm 1,2 \times 10^4$
30	$2,68 \pm 0,23 \times 10^5$	$1,51 \pm 0,75 \times 10^7$	$3,35 \pm 0,65 \times 10^4$	$2,65 \pm 0,85 \times 10^5$	$1,2 \pm 0,19 \times 10^8$	$5,7 \pm 0,9 \times 10^4$
32	$1,84 \pm 0,19 \times 10^5$	$8,25 \pm 1,35 \times 10^7$	$7,7 \pm 0,7 \times 10^4$	$1,71 \pm 0,18 \times 10^5$	$1,64 \pm 0,32 \times 10^8$	$4,15 \pm 1,25 \times 10^4$
33	$2,85 \pm 0,45 \times 10^5$	$7,6 \pm 1,2 \times 10^7$	$4,15 \pm 0,95 \times 10^4$	$2,54 \pm 0,34 \times 10^5$	$5,15 \pm 0,11 \times 10^7$	$5,25 \pm 0,35 \times 10^4$
37	$1,59 \pm 0,02 \times 10^5$	$1,05 \pm 0,23 \times 10^8$	$5,45 \pm 1,25 \times 10^5$	$1,68 \pm 0,29 \times 10^5$	$1,01 \pm 0,23 \times 10^8$	$1,58 \pm 0,26 \times 10^5$

Suşların izole edildiği çalışmada, izole edilirken yapılan çalışmalara göre optimum büyüme zamanı olarak 48 saat belirlenmiştir. Suşların tamamının Minimum İnhibisyon testleri 48 saatte gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında daha detaylı olarak spektrofotometrik ve kültürel yöntemler ile bu testler tekrar edilmiştir. 0,5X NB ortamı

ve 0,5 mM bakır içeren 0,5X NB ortamında yapılan büyüme eğrileri birbirine benzerlik göstermiştir. Bakteriler için logaritmik fazın sonu ve durağan faza geçiş zamanları belirlenmiştir. Bu zaman 7, 13, 32 ve 33 numaralı suşlar için 48 saat, 30 numaralı suş için 30 saat, 23 ve 37 numaralı suşlar 72 saat olarak belirlenmiştir. Yapılan sayımlar sonucu ise tüm bakteriler en fazla 10^8 seviyesinde üreme göstermişlerdir. Yapılan büyüme eğrisi çalışmaları ağır metal giderim miktarı açısından 36., 48. ve 72. Saatlerin kritik önem taşıdığını göstermiştir. Ağır metal giderim testleri için bu saatler dikkate alınarak 0, 16, 24, 36, 48 ve 96. saatlerde örnekleme yapılması planlanmıştır.

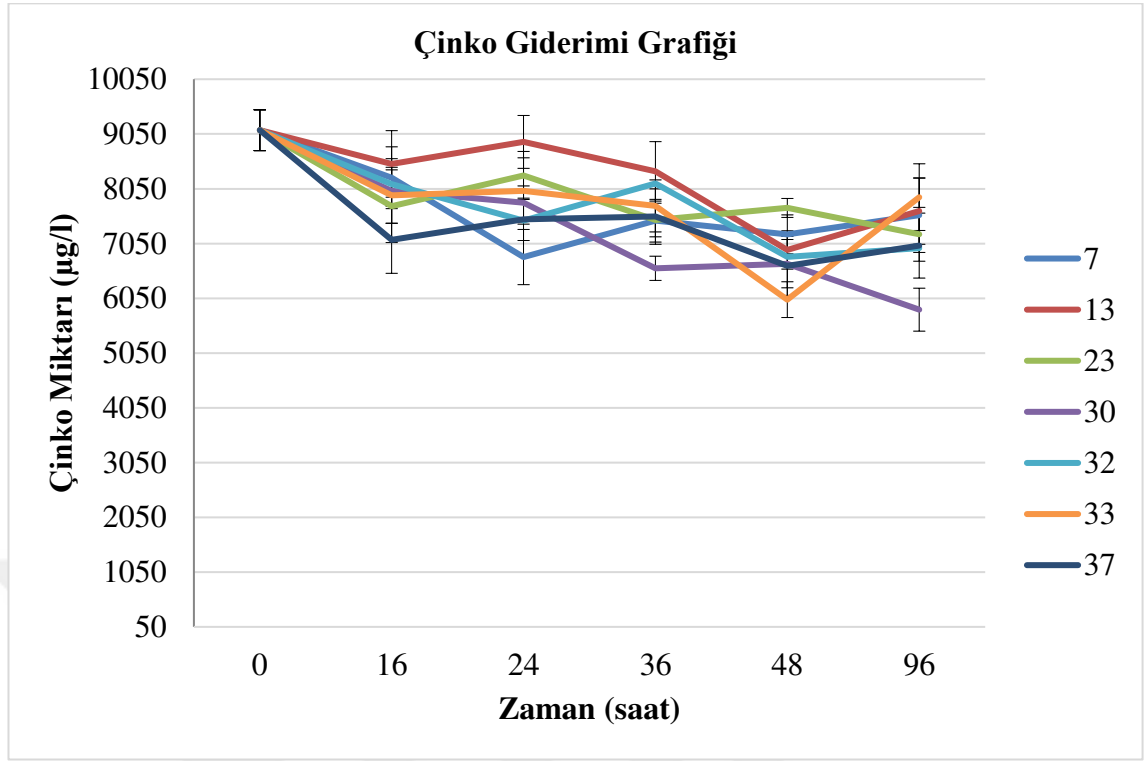
Diba vd. (2021), yaptıkları ağır metal giderimi çalışmalarında kinetik büyüme eğrilerinde spektrofotometrik yöntem kullanmışlardır. *Bacillus* sp., *Oceanobacillus* sp., ve *Salinicoccus* sp. Bakteri suşları kullanarak 600 nm dalga boyunda ölçüm yaparak kinetik büyüme eğrileri belirlenmiştir. Kinetik büyüme eğrilerinin belirlenmesi için kontrol grubu, kurşun içeren besiyeri ve nikel içeren besiyeri ortamlarda büyüme kinetiği çalışmaları gerçekleştirmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda 3 bakteri suşunun tamamı için kontrol ve ağır metal içeren gruplar için büyüme zamanları birbirine benzer tespit edilmiştir. Tez çalışmamızda yapılan spektrofotometrik ve kültürel sayımlarda ağır metal içeren ortam ve içermeyen ortamda büyüme eğrilerinin benzer olduğu gözlemlenmiştir.

4.2. Ağır Metal Giderimi Sonuçları

Besiyeri ortamlarında ölçülen çinko miktarlarının zamana karşı değişimi Çizelge 4.2’de ve Şekil 4.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Zamana göre çinko giderimi sonuçları ($\mu\text{g/L}$)

Bakteri kodu	Zaman (saat)					
	0	16	24	36	48	96
7	9120±373	8251±565	6803±504	7467±389	7217±355	7566±679
13	9120±373	8504±607	8906±483	8368±542	6933±349	7642±605
23	9120±373	7731±663	8293±439	7479±307	7700±173	7219±492
30	9120±373	8010±589	7796±305	6598±221	6682±441	5843±392
32	9120±373	8134±675	7470±287	8144±439	6807±255	6967±474
33	9120±373	7931±512	8010±605	7736±475	6025±326	7897±608
37	9120±373	7119±613	7492±387	7542±506	6642±539	7013±593



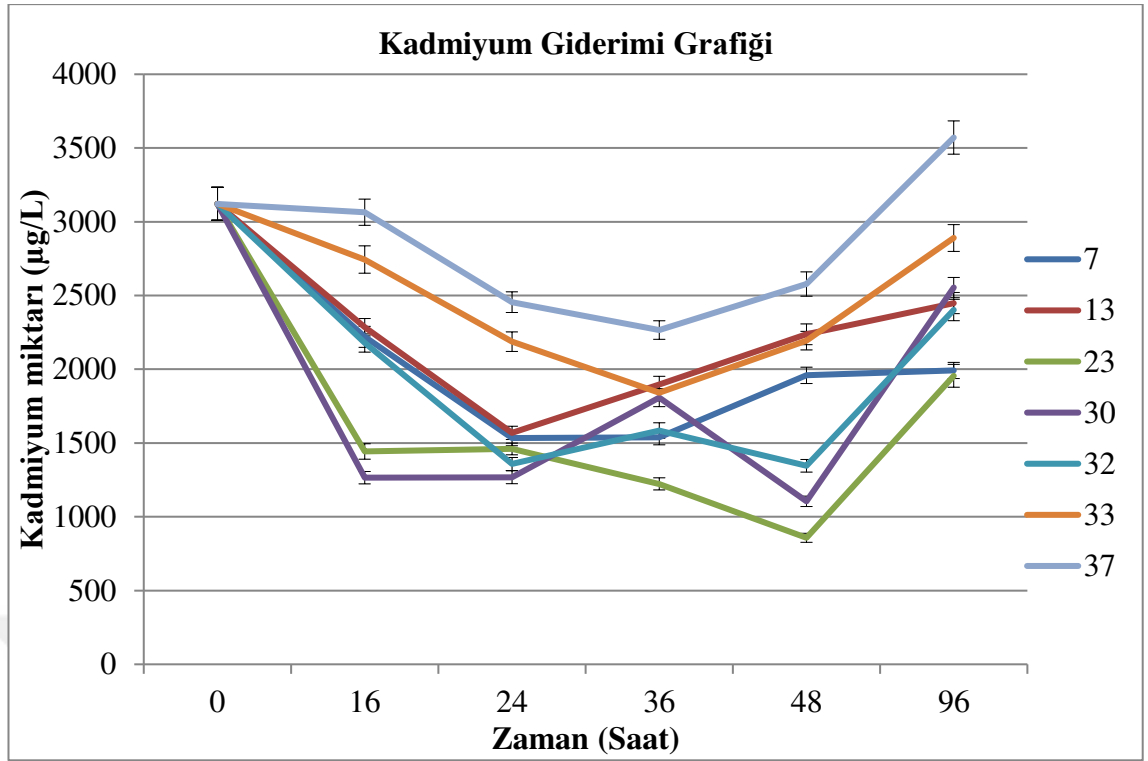
Şekil 4.3. Çinko giderimi grafiği

En düşük miktar baz alınarak suşlar arasında çinko giderimi açısından bir sıralama yapılacak olursa; 30>33>37>7>32>13>23 olarak sıralanmaktadır.

Besiyeri ortamlarında ölçülen kadmiyum miktarlarının zamana karşı değişimi Çizelge 4.3’de ve Şekil 4.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Zamana göre kadmiyum giderimi sonuçları (µg/L)

Bakteri Kodu	Zaman (saat)					
	0	16	24	36	48	96
7	3122±112	2220±71	1534±52	1538±50	1959±56	1992±55
13	3122±112	2285±59	1569±45	1898±55	2237±70	2449±72
23	3122±112	1443±52	1460±40	1223±41	858±31	1956±77
30	3122±112	1265±42	1268±44	1808±61	1105±35	2554±69
32	3122±112	2178±61	1358±44	1585±52	1346±43	2402±73
33	3122±112	2744±93	2187±66	1841±56	2194±63	2890±91
37	3122±112	3065±89	2455±70	2266±63	2578±82	3571±113



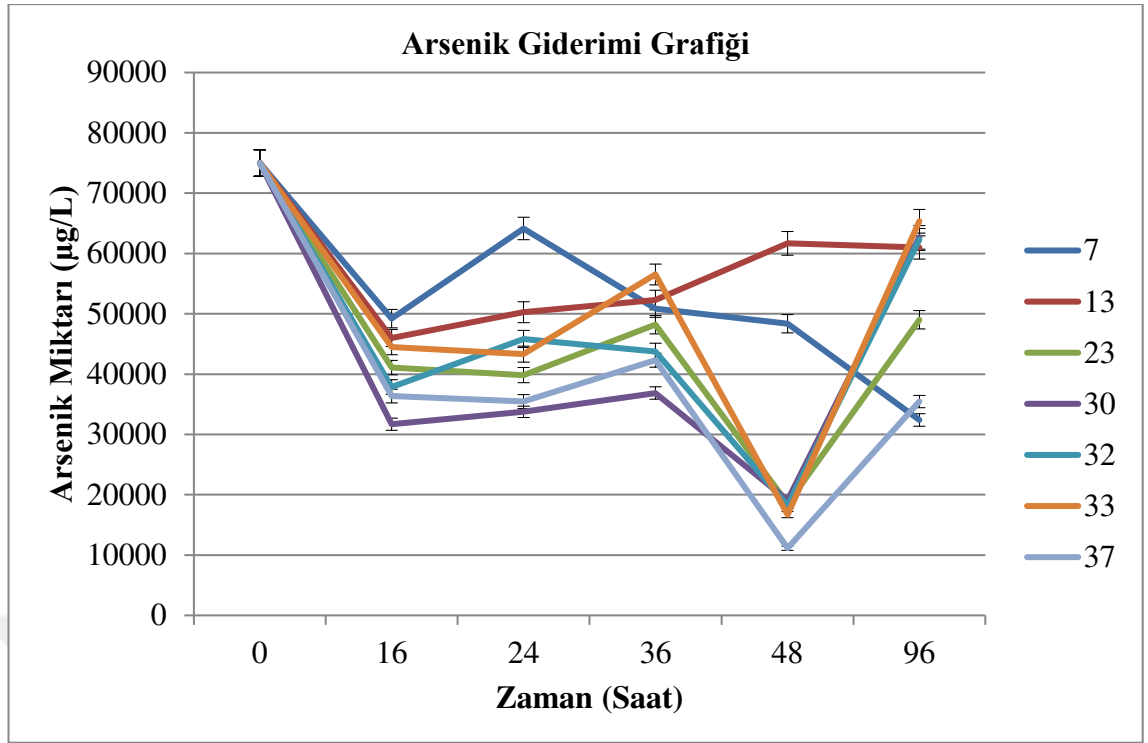
Şekil 4.4. Kadmiyum giderimi grafiği

En düşük miktar baz alınarak suşlar arasında kadmiyum giderimi açısından bir sıralama yapılacak olursa; 23>30>32>7>13>33>37 olarak sıralanmaktadır.

Besiyeri ortamlarında ölçülen arsenik miktarlarının zamana karşı değişimi Çizelge 4.4'te ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Zamana göre arsenik giderimi sonuçları (µg/L)

Bakteri Kodu	Zaman (saat)					
	0	16	24	36	48	96
7	75010±2199	49200±1532	64150±1866	50880±1456	48350±1521	32400±1034
13	75010±2199	45990±1405	50260±1731	52290±1624	61680±1964	61000±1915
23	75010±2199	41080±1199	39840±1264	48190±1525	18540±652	49010±1526
30	75010±2199	31700±1013	33750±945	36870±1024	19100±556	62680±1953
32	75010±2199	37870±1209	45830±1424	43730±1401	18210±523	62330±1821
33	75010±2199	44510±1296	43320±1325	56520±1735	16700±504	65350±1957
37	75010±2199	36360±1142	35450±1152	42310±1153	11140±358	35450±1020



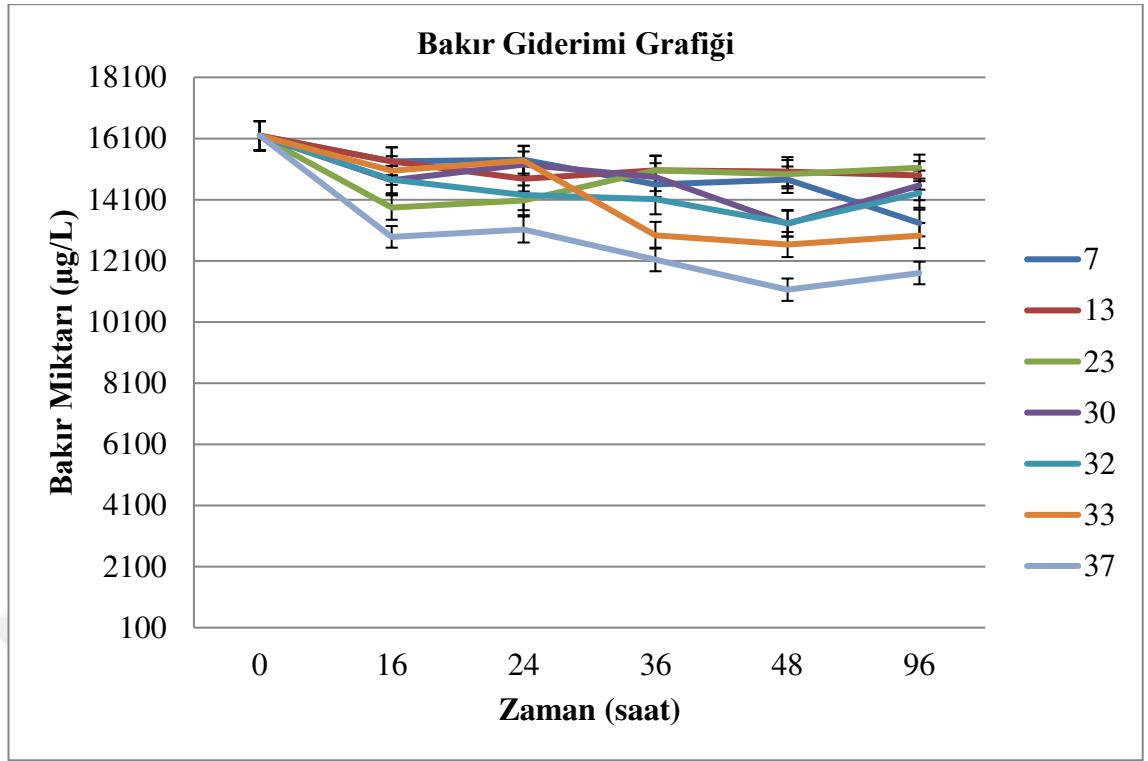
Şekil 4.5. Arsenik giderimi grafiği

En düşük miktar baz alınarak suşlar arasında arsenik giderimi açısından bir sıralama yapılacak olursa; 37>33>32>30>23>7>13 olarak sıralanmaktadır.

Besiyeri ortamlarında ölçülen bakır miktarlarının zamana karşı değişimi Çizelge 4.5'te ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Zamana göre bakır giderimi sonuçları (µg/L)

Bakteri Kodu	Zaman (saat)					
	0	16	24	36	48	96
7	16191±479	15350±456	15403±449	14599±415	14752±432	13336±438
13	16191±479	15354±463	14783±416	15057±470	15014±475	14893±466
23	16191±479	13841±400	14077±486	15058±487	14932±463	15139±434
30	16191±479	14734±469	15251±422	14836±457	13313±424	14565±485
32	16191±479	14756±446	14252±497	14119±499	13329±434	14312±477
33	16191±479	15053±469	15375±490	12937±437	12632±411	12927±413
37	16191±479	12882±354	13123±426	12142±386	11155±366	11701±369



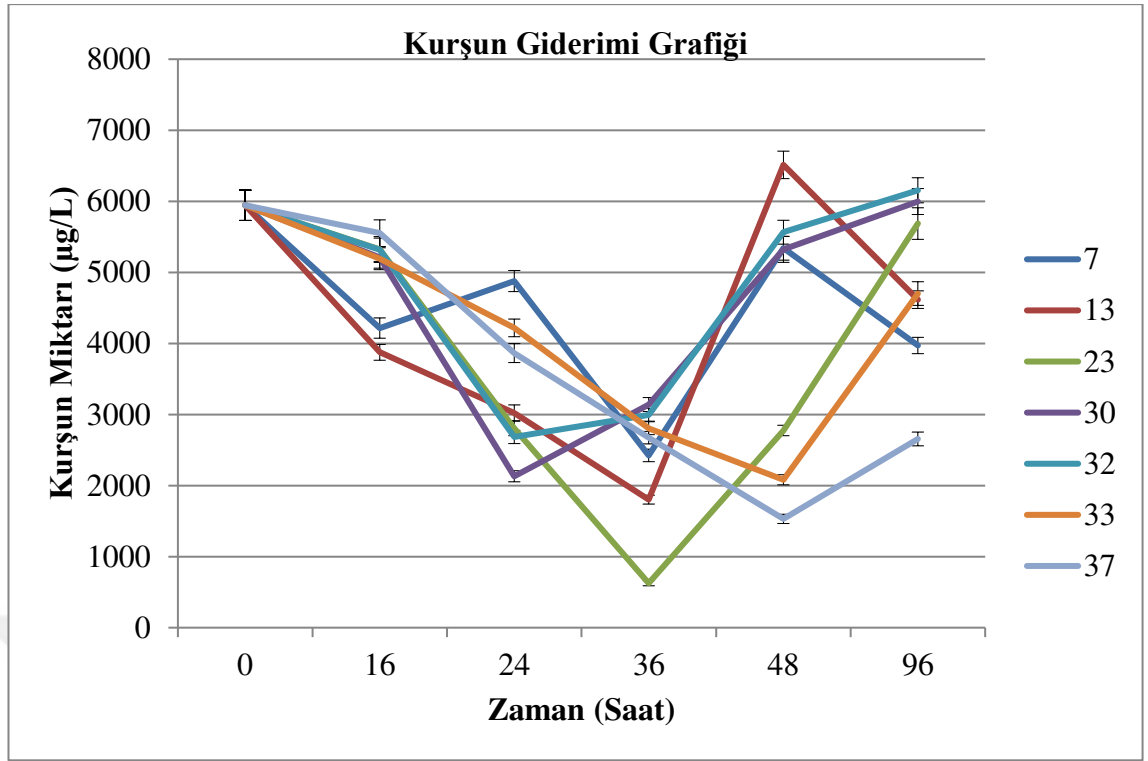
Şekil 4.6. Bakır giderimi grafiği

En düşük miktar baz alınarak suşlar arasında bakır giderimi açısından bir sıralama yapılacak olursa; 37>33>30>32>7>23>13 olarak sıralanmaktadır.

Besiyeri ortamlarında ölçülen kurşun miktarlarının zamana karşı değişimi Çizelge 4.6'da ve Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Zamana göre kurşun giderimi sonuçları (µg/L)

Bakteri Kodu	Zaman (saat)					
	0	16	24	36	48	96
7	5945±214	4216±142	4878±149	2424±88	5340±167	3971±115
13	5945±214	3875±111	3023±111	1802±62	6513±194	4616±123
23	5945±214	5322±182	2804±102	625±36	2775±74	5687±222
30	5945±214	5210±150	2130±78	3140±98	5324±183	5997±183
32	5945±214	5319±165	2684±94	2996±90	5566±168	6155±176
33	5945±214	5192±154	4219±125	2807±91	2081±72	4702±166
37	5945±214	5551±187	3864±133	2674±88	1531±65	2656±98



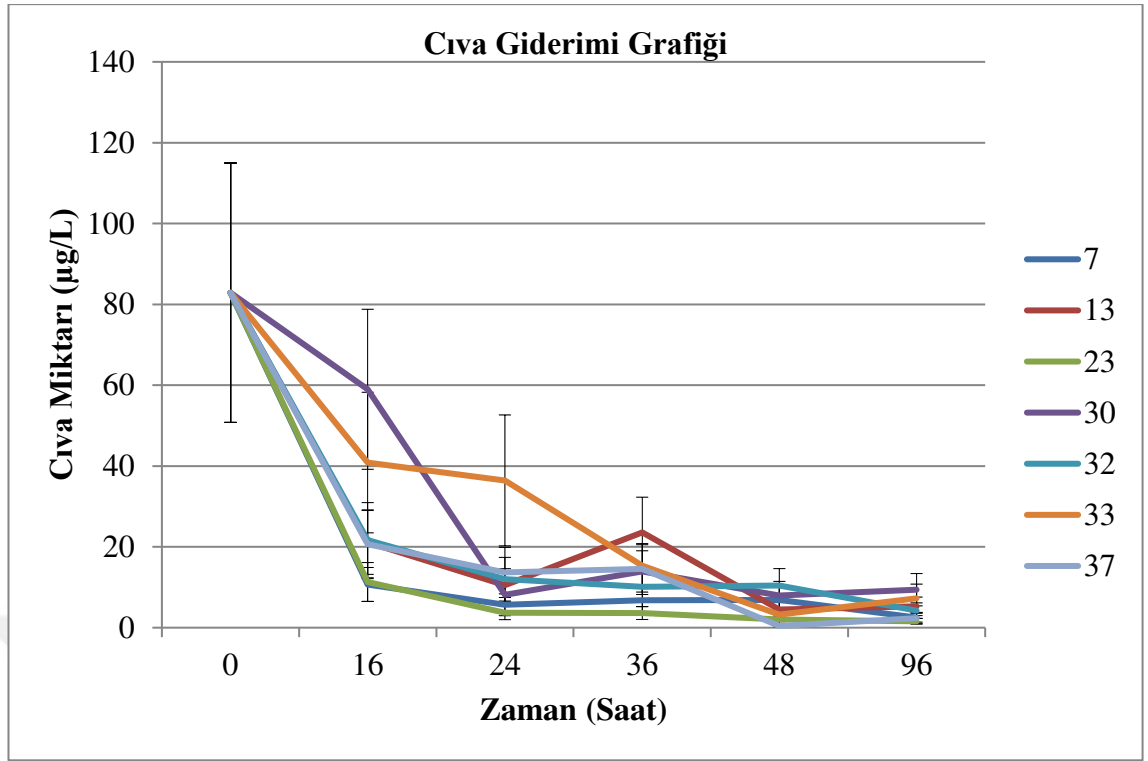
Şekil 4.7. Kurşun giderimi grafiği

En düşük miktar baz alınarak suşlar arasında kurşun giderimi açısından bir sıralama yapılacak olursa; 23>37>13>33>30>7>32 olarak sıralanmaktadır.

Besiyeri ortamlarında ölçülen cıva miktarlarının zamana karşı değişimi Çizelge 4.7’de ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Zamana göre cıva giderimi sonuçları (µg/L)

Bakteri Kodu	Zaman (saat)					
	0	16	24	36	48	96
7	82,9±32,1	10,7±4,2	5,6±2,7	6,7±3,1	6,9±3,2	2,5±1,1
13	82,9±32,1	21,1±7,9	10,5±4,1	23,6±8,7	4,5±1,9	5,3±2,3
23	82,9±32,1	11,3±4,8	3,7±1,7	3,6±1,6	2±0,9	1,6±0,7
30	82,9±32,1	59±19,8	8,1±2,9	13,9±5,1	8±3,5	9,4±4
32	82,9±32,1	21,6±9,3	12±5,4	10,1±4,9	10,4±4,2	4,2±1,9
33	82,9±32,1	40,9±17,4	36,4±16,2	15,3±5,2	3,2±1,2	7,3±3,5
37	82,9±32,1	20,6±8,5	13,7±6,2	14,5±6,3	0,4±0,2	2,4±1,3



Şekil 4.8. Cıva giderimi grafiği

En düşük miktar baz alınarak suşlar arasında cıva giderimi açısından bir sıralama yapılacak olursa; 37>23>7>33>32>13>30 olarak sıralanmaktadır.

Keloğlu (2017), yaptığı “Atık Sulardan İzole Edilen *Pseudomonas* spp. suşları ile Kurşun(II) Ve Nikel(II) Ağır Metallerinin Giderimi” isimli yüksek lisans tezinde *Pseudomonas aeruginosa* kullanarak 204,3 ppm kurşun içeren besiyeri ortamında 24 saatlik inkübasyon sonunda 171,61 ppm kurşunun mikroorganizma tarafından giderildiğini tespit etmiştir. Ortama ilave edilen kurşun miktarının %84 oranında giderilmesini sağlayarak başarılı sonuç elde etmiştir. Ayrıca yaptığı çalışmada toplam kurşun miktarının %56 oranında hücre yüzeyinde tutulduğunu, %28 oranında hücre içinde tutulduğunu ve %16 oranında ortamda kaldığını tespit etmiştir. Araştırmacı aynı bakteri suşu ile yaptığı nikel giderim çalışmasında ise ortama ilave edilen toplam nikel miktarının %47 oranında hücre yüzeyinde tutulduğunu, %29 oranında hücre içinde tutulduğunu ve %24 oranında ortamda kaldığını tespit etmiştir. Tez çalışmamıza benzer şekilde kurşun giderimi çalışılmıştır. Yaptığımız kurşun giderimi çalışmalarında en yüksek verimi %89,5 oranında kurşun giderimi ile *Delftia tsuruhatensis* As23 bakteri suşu ile gerçekleştirildi. Bu çalışma ile diğer ortak nokta olan *Pseudomonas* sp. As30 bakteri suşu %65 oranında ağır metal giderimi gerçekleştirmiştir. Örnek çalışma ve tez çalışmamızın ortak sonucu olarak *Pseudomonas* sp. türünün iyi bir ağır metal giderim ajanı olduğudur.

Topaloğlu (2023), yaptığı “Atıksulardan Canlı Mikroorganizmalar Yardımıyla Ağır Metal Biyoremediasyonu” isimli yüksek lisans tezinde *Penicillium Jensenii* ve *Penicillium frequentans* suşlarını kullanarak demir bakır ve alüminyum ağır metalleri üzerine metal giderimi çalışmaları yapmıştır. Yaptığı çalışmalarda bizim tez çalışmamızda yer alan bakır için 100 mg/L düzeyinde hazırladığı besiyeri ortamında en düşük bakır seviyesini 7. gün sonunda 40 mg/L seviyesinde ölçmüştür. Bu sonuçlara göre %59 oranında bir bakır giderimi sağlamıştır. Çalışmamızda tespit edilen en yüksek bakır giderim seviyesi *Delftia sp.* As37 kodlu bakteri suşu ile %31,1 seviyesinde gerçekleşmiştir. Hem başlangıç konsantrasyonu hem de ağır metal giderim yüzdesi ile tez çalışmamıza oranla çok yüksek sonuçlar bulunmuştur. Bu farkın en büyük sebebinin fungi ve bakteri kullanılmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Literatürde birçok çalışma ağır metal giderimi testlerini optimum büyüme zamanında ölçüm alarak gerçekleştirmiştir. Bu çalışma ve bizim çalışmamız optimum büyüme sonrası ölçümlere devam etmiştir. Her iki çalışmada benzer şekilde optimum büyüme zamanı sonrası ortamlardan ölçülen metal miktarları artmıştır. Yine çalışmamıza benzer şekilde optimum süre olan 7 günden sonraki periyotta ortamlardaki metal miktarlarında artış gözlemlenmiştir.

Kang vd. (2016), *Viridibacillus arenosi*, *Sporosarcina soli* ve *Enterobacter cloacae* bakteri suşlarının karışımı ile yaptığı ağır metal giderim çalışmasında bakır, kurşun ve kadmiyum metallerinin giderimi üzerine çalışmalar yapmıştır. Bakır, kurşun ve kadmiyum için 2 mM ağır metal içeren besiyeri ortamı ile testler yapılmıştır. 48 saat sonunda kurşun için %98,25, kadmiyum için %85,39 ve bakır için %5,56 metal giderimi tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında kullanılan bakteri suşları ve çalışmamız kapsamında kullanılan bakteri suşları tamamen farklıdır. Tez çalışmamızda kurşun için %89,4, kadmiyum için %72,5 ve bakır için %31,1 giderim miktarları hesaplanmıştır. Kurşun ve kadmiyum açısından nispeten benzer sonuçlar olsa bile bakır giderimi açısından ciddi oransal fark vardır. Farklı türlerin benzer giderimler yapabileceği gibi bazı metaller için durumun farklı olabileceği gözlemlenmiştir.

Guo vd. (2010); *Bacillus sp.* türü bakteri kullanarak yaptığı ağır metal giderim çalışmasında 10 mg/L konsantrasyonda kadmiyum, kurşun ve bakır içeren ortamlarda giderim testleri yapmışlardır. 24 saat sonunda kadmiyum için % 48,9, kurşun için %33,3, bakır için %8,03 oranında ağır metal giderimi tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile tez çalışmamızın en büyük ortak yanı *Bacillus sp.* türlerinin kullanılmasıdır. Çalışmamızda kullanılan *Bacillus cereus* As13 suşu kurşun için %69,7, kadmiyum için 49,7 ve bakır

için %8,7 metal giderimi gerçekleştirmiştir. Her ne kadar başlangıç miktarları aynı olmamasına rağmen yapılan çalışma ve tez çalışmamız oranlar açısından benzerlik göstermektedir.

Oziegbe vd. (2021), çöp sahalarında izole ettikleri bakteriler (*Klebsiella edwardsii*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*) ile farklı koşullar altında kurşun ve kadmiyum metallerinin giderimi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Tüm çalışmalar sonucunda kadmiyum için en yüksek %81,56 ve kurşun için en yüksek %92,41 ağır metal giderimi tespit etmişlerdir. Çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* kullanılmasının yanında kadmiyum ve kurşun metallerinin kullanılması ile tez çalışmamıza benzeyen bir çalışmadır. Nitekim yapılan çalışmada alınan sonuçlar ve tez çalışmamız kapsamında alınan sonuçlar benzerlik göstermiştir.

Imron vd. (2021), *Pseudomonas aeruginosa* kullanarak yaptığı 5mg/L seviyesinde cıva içeren test ortamını %1 tuz içerecek şekilde hazırlayarak 72 saatlik inkübasyon sonucunda %99,7 cıva giderimi tespit etmiştir. Buna karşılık tuz içermeyen tatlı sularda aynı testi yaptığı zaman cıva gideriminin %54 seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde *Pseudomonas aeruginosa* kullanılan bu çalışmanın en büyük farkı kullanılan metal konsantrasyonudur. Tez çalışmamız ve bu çalışma kapsamında kullanılan konsantrasyonlar arasında 50 kat fark vardır. Yapılan çalışmada kullanılan bakteri suşunun çok yüksek MİK değeri olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda *Pseudomonas aeruginosa* için ortamda tuz varlığının cıva giderim performansını artırdığı rapor edilmiştir.

Jalilvand vd. (2020), üreaz aktivitesi tespit ettiği *Variovorax boronicumulans* ve *Stenotrophomonas rhizophila* bakterileri ile çinko kadmiyum ve kurşun giderimi üzerine denemeler yapmıştır. Yaptığı denemeler sonucunda 2 mM metal içeren ortamda 72 saat sonucunda %77,51 çinko, %80,63 kadmiyum ve %96,96 kurşun giderimi tespit etmiştir. Yapılan çalışmada üreaz aktivitesi olan bakteri suşları kullanılmıştır. Tez çalışmamızda kullanılan bakteri suşları üreaz aktivitesi göstermektedir ve benzer düzeyde metal giderimi gerçekleştirmiştir.

Rani vd. (2010), immobilize edilmiş bakteri hücreleri ile yaptığı çalışmada 24 saat inkübasyon sonucu *Bacillus* sp. bakterisini kullanarak %69,34 bakır giderimi, *Pseudomonas* sp. bakterisini kullanarak %90,41 kadmiyum giderimi, *Micrococcus* sp. bakterisini kullanarak %84,27 kurşun giderimi sağlamıştır. Tez çalışmamıza benzer suşların kullanıldığı çalışmada bakır giderim, hariç benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışma kapsamında metal giderim verimini artırmak amaçlı immobilize hücreler

kullanılmıştır. İmmobilize edilmiş hücrelerin bakır giderim verimi artırdığı gözlemlenmiştir.

Benmalek ve Fardeu (2016), *Micrococcus* sp. türü bakterileri kullanarak yaptığı çalışmalarda bakır, nikel ve çinko için sırasıyla %78,81, %59,55 ve % 78,9 oranlarında ağır metal giderimi tespit etmişlerdir.

Marzan vd. (2017), *Gemella* sp., *Micrococcus* sp., ve *Hafnia* sp. olarak tanımladığı bakteri suşları ile kurşun krom ve kadmiyum metallerinin giderimini çalışmıştır. 1000 µg/L konsantrasyon ile başladığı ağır metal giderimi çalışmalarında kurşun için en yüksek %55,16 ve kadmiyum için en yüksek %50,99 metal giderimi *Gemella* sp. bakterisinde tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bulunan kurşun ve kadmiyum giderimleri daha düşük konsantrasyon kullanılmasına rağmen çalışmamıza oranla daha düşük kalmıştır. Çalışmamızda kullanılan bakteri suşlarının bu çalışmaya oranla daha verimli olduğu gözlemlenmiştir.

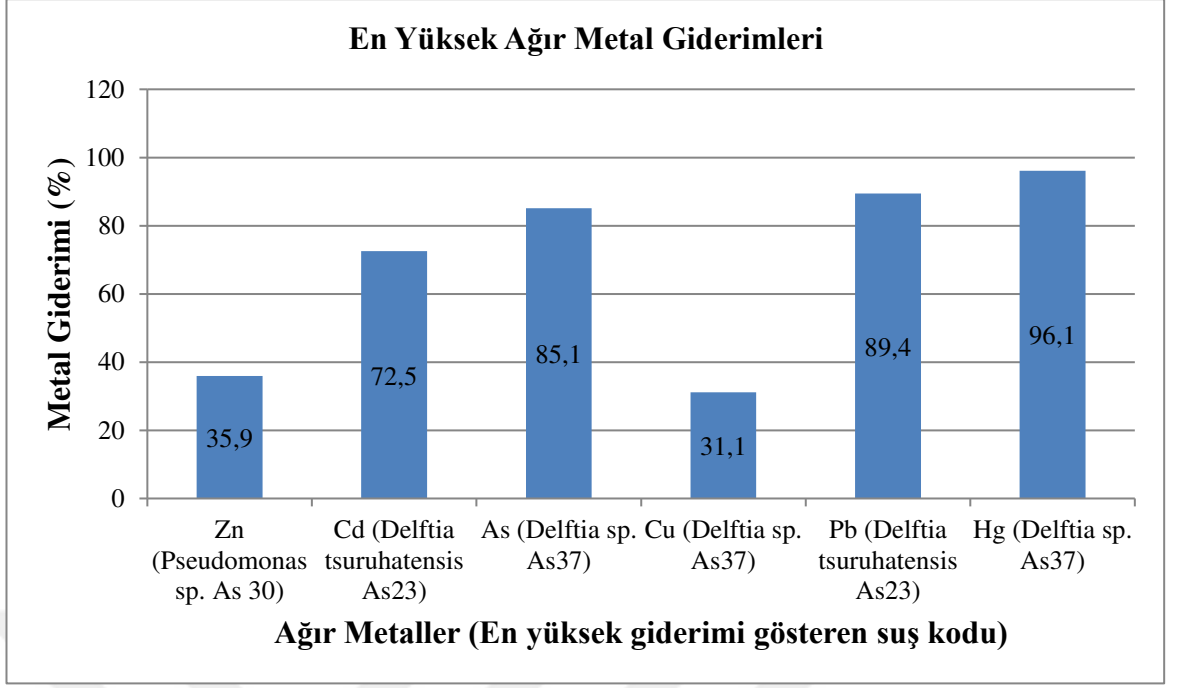
Diba vd. (2021), *Bacillus*, *Oceanobacillus* sp. ve *Salinicoccus* sp. türü bakterileri kullanarak kurşun giderimi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Deney ortamının 30. saatinde yapılan ölçümlerde en yüksek kurşun giderimi %98,8 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca aynı zamanda yaptıkları nikel çalışmasında %76 oranında nikel giderimi tespit etmişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde *Bacillus* cinsine ait suşların kullanıldığı çalışmanın sonuçları kurşun açısından benzerlik göstermiştir. Tez çalışmamız kapsamında olmayan nikel giderimi bu çalışma kapsamında yüksek oranda tespit edilmiştir. Tez çalışmamız dahilinde kullanılan suşların nikel açısından giderim potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. İlerleyen çalışmalarda nikel giderimi açısından testler yapılması planlanmaktadır.

Kumaran vd. (2011), *Pseudomonas* sp. türü bakteri kullanarak yaptığı ağır metal giderimi çalışmasında 24 saat inkübasyon süresi sonunda, %41 kadmiyum, %62,8 demir, %87,9 paladyum, %53 nikel ve %49,8 çinko giderimi bildirmiştir. Tez çalışmamıza benzer şekilde *Pseudomonas* sp. kullanılan bu çalışmada kadmiyum verimi çalışmamıza oranla düşük kalırken, çinko açısından çalışmamızdan daha yüksek giderim sonuçları elde edilmiştir. Tez çalışmamızda olmayan demir, paladyum ve nikel metallerinin giderimi tespit edilmiştir. Kullandığımız suşların bu metaller açısından giderim kapasitesi ilerleyen çalışmalar kapsamında test edilmelidir.

Bhakta vd. (2012), probiyotik laktik asit bakterileri olan *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus dextrinicus*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus hirae* ve *Enterococcus faecium* türleri ile yaptığı çalışmalarda

başlangıç konsantrasyonu olarak 99,78-870µg/L aralığında kadmiyum ve 139-3425 µg/L aralığında kurşun kullandığı ağır metal giderimi testlerinde %44' e varan kadmiyum giderimi ve %50' ye varan kurşun giderimi rapor etmiştir. Tez çalışmamızda olduğu gibi kurşun ve kadmiyum metallerinin gideriminin araştırıldığı çalışmada probiyotik laktik asit bakterileri kullanılmıştır. Kullanılan başlangıç konsantrasyonları çalışmamız ile kıyaslanınca düşük kalmasına rağmen giderim oranları da düşük kalmıştır. Bu çalışma diğerlerinden farklı olarak laktik asit bakterileri ile yapılmıştır. Yapılan çalışma her bakteri ile giderim yapılabileceğini göstermektedir.

Oyewole vd. (2019), çeşitli fungi (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium notatum*) ve bakteri (*Bacillus lentus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus roseus*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus* sp.) suşları kullanarak yaptığı araştırmada krom, bakır, nikel ve kadmiyum giderimi üzerine çalışmıştır. 20 ppm seviyesinde başladığı ağır metal giderim ortamlarında bakteriler arasında en fazla giderimi %45,59 krom giderimi ve 42,69 bakır giderimi ile *Pseudomonas aeruginosa* suşunda tespit etmiştir. Fungi olarak ise %43,69 nikel giderimi ile *Aspergillus niger* ve %38,81 kadmiyum giderimi ile *Penicillium notatum* öne çıkmıştır. Tez çalışmamıza benzer bakteri suşlarının kullanıldığı çalışmada farklı olarak fungi türleri de test edilmiştir. Çalışmamıza oranla daha yüksek metal miktarları ile başlayan araştırma yüzdesel giderim oranı olarak daha düşük seviyelerde kalmıştır. Yapılan araştırma sonuçlarına göre bakteri ve fungi suşları arasında öne çıkanlar olsa dahi genel olarak benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ağır metal gideriminin en yüksek yüzdeleri Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Ağır metallere göre gerçekleştirilen en yüksek giderim yüzdesi

Sonuç olarak bu tez çalışmasında; besiyeri ortamlarında çinko için %35,9, kadmiyum için %72,5, arsenik için %85,1, bakır için %31,1, kurşun için %89,4 ve cıva için %96,1 olarak en yüksek metal miktarı düşüşü gözlemlenmiştir. Burada cıva başlangıç miktarının diğer metallere göre çok düşük olması ve daha düşük dilüsyon faktörü sonucun bu kadar etkili görünmesini sağlamıştır. Yapılan ağır metal giderimi çalışmalarının sonucunda *Delftia tsuruhatensis* As23, *Pseudomonas* sp. As30 ve *Delftia* sp. As37 suşları farklı metallerde en yüksek ağır metal giderim sıralamalarında birinci sırayı alan bakteri suşları olarak öne çıkmıştır.

4.3. Bitki Gelişimi Deneyleri

4.3.1. Morfolojik Ölçüm Sonuçları

Yapılan morfolojik ölçüm sonuçları Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Saksı denemeleri sonucunda bitkilerin morfolojik ölçüm sonuçları

Örnek Kodu	Gövde boyu	Kök boyu	Yaş ağırlık	Çimlenmiş tohum sayısı
K1	35,17±4,25 ^a	5,97±0,45 ^{bcd}	1,79±0,23 ^b	3,33±0,58 ^{bc}
K2	24,9±2,33 ^b	4,87±0,55 ^d	0,67±0,21 ^e	2,33±0,58 ^{cd}
7	30,5±0,61 ^{ab}	7,13±0,5 ^b	1,27±0,23 ^{cd}	2,67±0,58 ^{bcd}
13	34,43±4,11 ^a	9,83±1,22 ^a	2,08±0,3 ^{ab}	4,67±0,58 ^a
23	38,03±3,5 ^a	6±0,7 ^{bcd}	2,33±0,43 ^a	3,33±0,58 ^{bc}
30	30,77±2,97 ^{ab}	5,47±0,47 ^{cd}	1±0,19 ^{de}	2,67±0,58 ^{bcd}
32	37,13±1,88 ^a	5,37±0,15 ^{cd}	1,76±0,34 ^b	2±1 ^d
33	26,47±9,2 ^b	6,43±1,37 ^{bc}	0,98±0,18 ^{de}	2,67±0,58 ^{bcd}
37	36,2±3,64 ^a	6,67±1,12 ^{bc}	1,68±0,31 ^{bc}	2±0 ^d
MİX	23,97±1,31 ^b	5,47±0,25 ^{cd}	0,64±0,11 ^e	1,67±0,58 ^d
K3	34,93±1,37 ^a	6,03±0,21 ^{bcd}	1,69±0,12 ^{bc}	3,67±0,58 ^{ab}

*Duncan, p<0,05, Farklı harfleri taşıyan sonuçlar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur

Her deneme saksısına 5 adet arpa tohumu ekilmiş ve bunlardan çimlenen tohumlar tespit edilmiştir. Saksı denemelerini gösteren fotoğraflar Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir. Ağır metal içermeyen K1 kontrol grubunda saksıların ortalaması olarak 3,33 tohum, ağır metal içeren K2 kontrol grubunda saksıların ortalaması olarak 2,33 tohum çimlenmiştir. Ağır metal stresi çimlenen tohum sayıları arasında yaklaşık %30 oranında verim kaybı olarak kendini göstermiştir. Deney grupları arasında 13 ve 23 kodlu bakterileri içeren deney grupları bu verim kaybının tamamen önüne geçmiştir. Diğer deney grupları ve K2 grubu arasında anlamlı farklar oluşmamıştır. Ağır metal içermeyen ve tüm bakterilerin karışımı olarak eklenen K3 kontrol grubu ve K1 kontrol grubu arasında anlamlı fark oluşmamıştır. Çimlenen tohum sayılarında K1 grubu değerlerinin üzerinde değerler ile öne çıkan bakteri suşları *Bacillus cereus* As13 ve *Delftia tsuruhatensis* As23 olmuştur.



Şekil 4.9. Saksı deneyleri sonucu karşılaştırmalı fotoğraf

*: Soldan sağa, K1, K2 ve As13



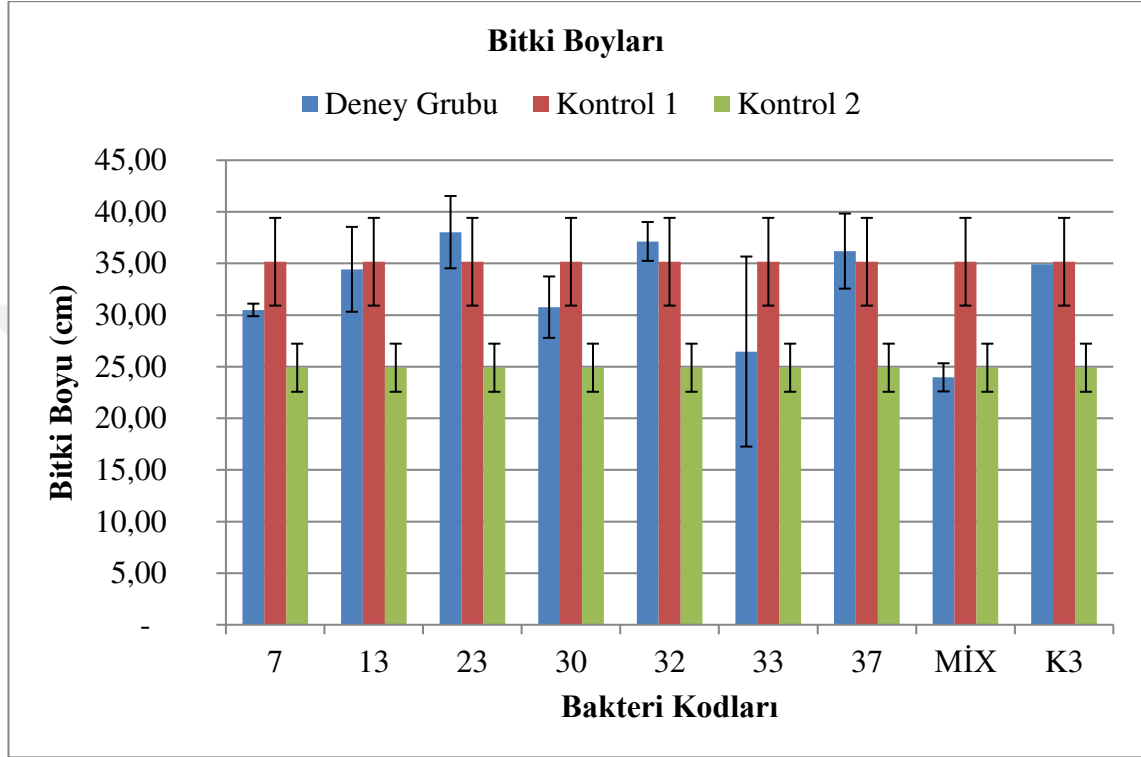
Şekil 4.10. Saksı deneyleri sonucu karşılaştırmalı fotoğraf

*: Soldan sağa, K1, K2 ve As32

Tüm denemeler sonucunda ağır metal stresi oluşturulan grubun normal şartlarda olan deneme grubuna göre incelediğimiz 4 farklı parametre açısından verim kaybı yaşadığı istatistik analizler ile ortaya çıkmıştır. Tüm deneyler açısından genel bir değerlendirme yapıldığı zaman en az iki parametre açısından değerlendirecek olursak *Bacillus cereus* As13, *Delftia tsuruhatensis* As23 ve *Paenibacillus* sp. As33 bakterilerinin yer aldığı deney gruplarının verim açısından öne çıktığı gözlemlenmiştir. Tüm bakterilerin karışımını içeren ve ağır metal ortamında test edilen MİX deney grubundan kök boyları harici anlamlı verim artışı sağlanamamıştır. Tüm bakterilerin karışım olarak eklendiği ve ağır metal içermeyen ortamda büyütüldüğü K3 ortamında ise bitkinin normal

şartlarda büyüdüğü K1 ortamına göre anlamlı fark elde edilememiştir. Buradan bakterilerin baskın olarak floraya yerleşememesi ve gruplar arasında negatif yönde antogonistik etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Bitki boylarının kontrol grupları ile karşılaştırmalı grafikleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

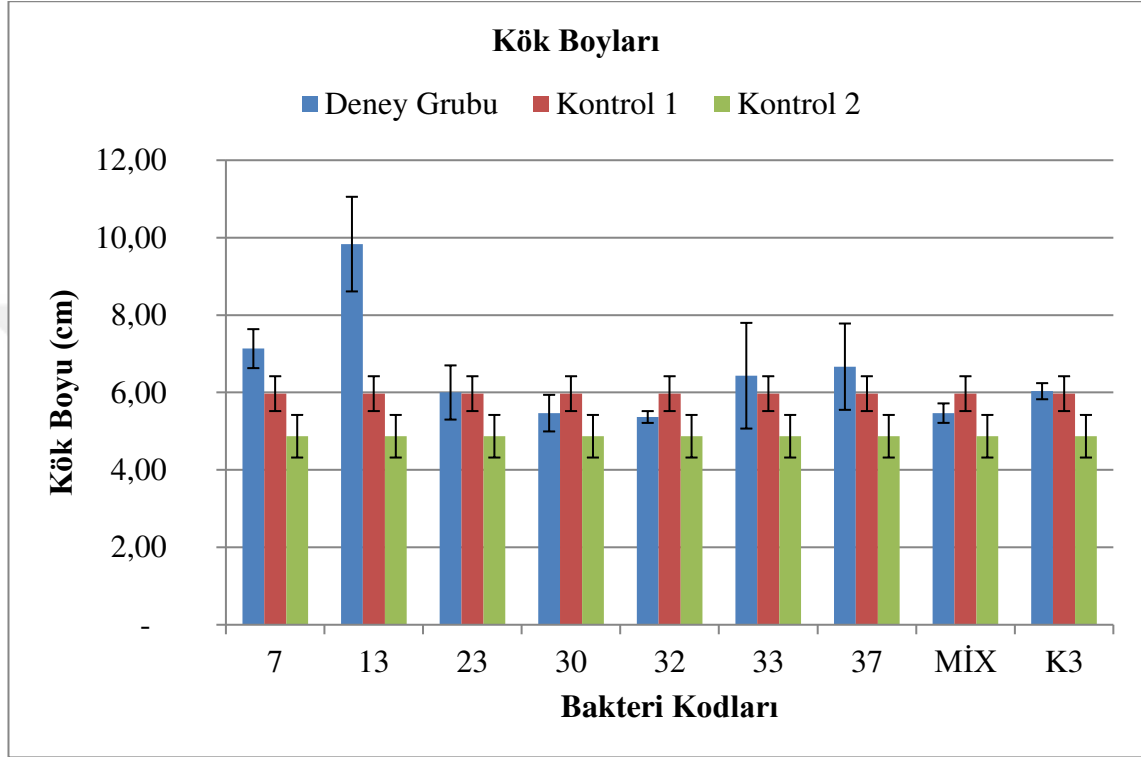


Şekil 4.11. Bitki gövde boyları karşılaştırmalı grafiği

Ağır metal içermeyen K1 kontrol grubunda 35,17 cm gövde boyu ölçülürken, ağır metal içeren K2 kontrol grubunda ortalama 24,9 cm gövde boyu ölçülmüştür. Ağır metal stresi arpa bitkisi üzerinde yaklaşık olarak %30 oranında bir verim kaybına neden olmuştur. Bakterilerin eklendiği deney gruplarından 23, 32 ve 37 numaralı bakterilerin eklendiği ortamlarda bu verim kaybı tamamen ortadan kalkmıştır. 7, 13, 30 ve 33 kodlu bakterilerin eklendiği deney gruplarında K2 kontrol grubuna oranla ise %6 ile %38 arasında değişen verim artışı sağlanmıştır. Tüm bakterilerin karışım olarak eklendiği MİX deney grubunda ise K2 kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlenememiştir. Bakterilerin karışım olarak eklendiği ve ağır metal içermeyen K3 deney grubu ile karşılaştırıldığı K1 deney grubu arasında anlamlı fark gözlemlenememiştir. Bitkilerin gövde boyları açısından yapılan istatistik analizlerde tüm bakterilerin eşit karışım halinde eklendiği MİX deney grubu harç tüm gruplar gövde boyu açısından anlamlı farklar elde

etmemizi sağlamıştır. Kontrol grubundan daha yüksek verim sağlayarak dikkat çeken 3 bakteri suşu *Delftia tsuruhatensis* As23, *Pseudomonas* sp. As30 ve *Paenibacillus* sp. As33 olmuştur.

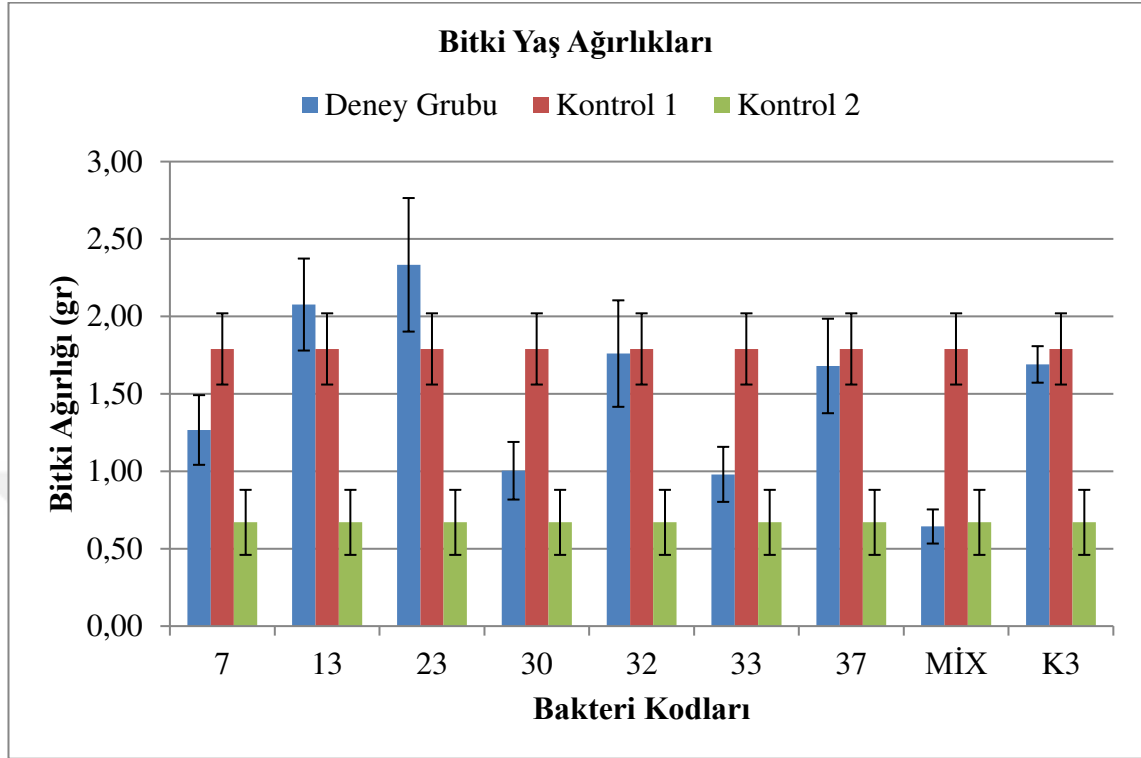
Bitki kök boylarının kontrol grupları ile karşılaştırmalı grafikleri Şekil 4.12’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Bitki kök boyları karşılaştırmalı grafiği

Ağır metal içermeyen K1 kontrol grubunda 5,97 cm kök boyu ölçülürken, ağır metal içeren K2 kontrol grubunda ortalama 4,87 cm kök boyu ölçülmüştür. Ağır metal stresi arpa bitkisi üzerinde yaklaşık olarak %18,5 oranında bir verim kaybına neden olmuştur. Bakterilerin eklendiği deney gruplarından 7, 13, 23, 33 ve 37 numaralı bakterilerin eklendiği ortamlarda bu verim kaybı tamamen ortadan kalkmıştır. 30, 32 ve MİX kodlu bakterilerin eklendiği deney gruplarında K2 kontrol grubuna oranla ise %10 ile %12 arasında değişen verim artışı sağlanmıştır. Bitkilerin kök boyları açısından yapılan istatistik analizlerde tüm deney grupları K2 grubuna göre kök boyu açısından anlamlı farklar elde etmemizi sağlamıştır. Kontrol grubundan daha yüksek verim sağlayarak dikkat çeken 5 bakteri suşu *Ochrobactrum anthropi* As7, *Bacillus cereus* As13, *Delftia tsuruhatensis* As23, *Paenibacillus* sp. As33 ve *Delftia* sp. As37 olmuştur.

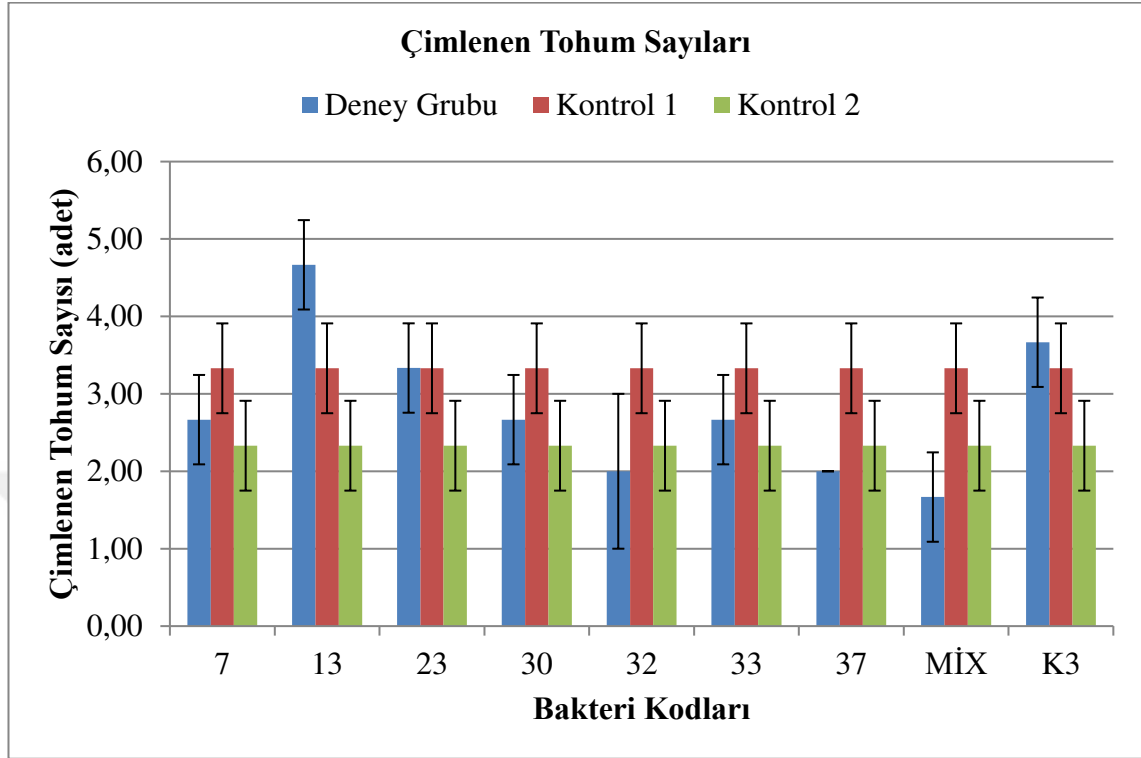
Bitki yaş ağırlıklarının kontrol grupları ile karşılaştırmalı grafikleri Şekil 4.13'te gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Bitki yaş ağırlıkları karşılaştırmalı grafiği

Ağır metal içermeyen K1 kontrol grubunda 1,79 gram bitki yaş ağırlığı ölçülürken, ağır metal içeren K2 kontrol grubunda ortalama 0,67 gram bitki yaş ağırlığı ölçülmüştür. Ağır metal stresi arpa bitkisi üzerinde yaklaşık olarak %63 oranında bir verim kaybına neden olmuştur. Bakterilerin eklendiği deney gruplarından 13 ve 23 numaralı bakterilerin eklendiği ortamlarda bu verim kaybı tamamen ortadan kalkmıştır. 7, 30, 32, 33 ve 37 kodlu bakterilerin eklendiği deney gruplarında K2 kontrol grubuna oranla ise %46 ile %162 arasında değişen verim artışı sağlanmıştır. Tüm bakterilerin karışım olarak eklendiği MIX deney grubunda ise K2 kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlenememiştir. Bakterilerin karışım olarak eklendiği ve ağır metal içermeyen K3 deney grubu ile karşılaştırıldığı K1 deney grubu arasında anlamlı fark gözlemlenememiştir. Bitkilerin yaş ağırlığı açısından yapılan istatistik analizlerde tüm bakterilerin eşit karışım halinde eklendiği MIX deney grubu harç tüm gruplar yaş ağırlık açısından anlamlı farklar elde etmemizi sağlamıştır. Kontrol grubundan daha yüksek verim sağlayarak dikkat çeken 2 bakteri suşu *Bacillus cereus* As13 ve *Delftia tsuruhatensis* As23 olmuştur.

Çimlenen tohum sayıları kontrol grupları ile karşılaştırmalı grafikleri Şekil 4.14’de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Çimlenen tohum sayıları karşılaştırmalı grafiği

Her deneme saksısına 5 adet arpa tohumu ekilmiş ve bunlardan çimlenen tohumlar tespit edilmiştir. Ağır metal içermeyen K1 kontrol grubunda saksıların ortalaması olarak 3,33 tohum, ağır metal içeren K2 kontrol grubunda saksıların ortalaması olarak 2,33 tohum çimlenmiştir. Ağır metal stresi çimlenen tohum sayıları arasında yaklaşık %30 oranında verim kaybı olarak kendini göstermiştir. Deney grupları arasında 13 ve 23 kodlu bakterileri içeren deney grupları bu verim kaybının tamamen önüne geçmiştir. Diğer deney grupları ve K2 grubu arasında anlamlı farklar oluşmamıştır. Ağır metal içermeyen ve tüm bakterilerin karışımı olarak eklenen K3 kontrol grubu ve K1 kontrol grubu arasında anlamlı fark oluşmamıştır. Çimlenen tohum sayılarında K1 grubu değerlerinin üzerinde değerler ile öne çıkan bakteri suşları *Bacillus cereus* As13 ve *Delftia tsuruhatensis* As23 olmuştur.

Tüm denemeler sonucunda ağır metal stresi oluşturulan grubun normal şartlarda olan deneme grubuna göre incelediğimiz 4 farklı parametre açısından verim kaybı yaşadığı istatistik analizler ile ortaya çıkmıştır. Tüm deneyler açısından genel bir değerlendirme yapıldığı zaman en az iki parametre açısından değerlendirecek olursak

Bacillus cereus As13, *Delftia tsuruhatensis* As23 ve *Paenibacillus* sp. As33 bakterilerinin yer aldığı deney gruplarının verim açısından öne çıktığı gözlemlenmiştir. Tüm bakterilerin karışımını içeren ve ağır metal ortamında test edilen MIX deney grubundan kök boyları harici anlamlı verim artışı sağlanamamıştır. Tüm bakterilerin karışım olarak eklendiği ve ağır metal içermeyen ortamda büyütüldüğü K3 ortamında ise bitkinin normal şartlarda büyüdüğü K1 ortamına göre anlamlı fark elde edilememiştir. Buradan bakterilerin baskın olarak floraya yerleşemediği ve gruplar arasında negatif yönde anto-gonostik etki gösterdiği yorumu yapılabilir.

4.3.2. Torf Numunelerinden Yapılan Metal Ölçümleri

Bitki gelişimi deneyleri sonucunda torf Numunelerinde ölçülen ağır metal miktarları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Saksı denemeleri sonucunda torf numunelerinde yapılan ağır metal ölçüm sonuçları

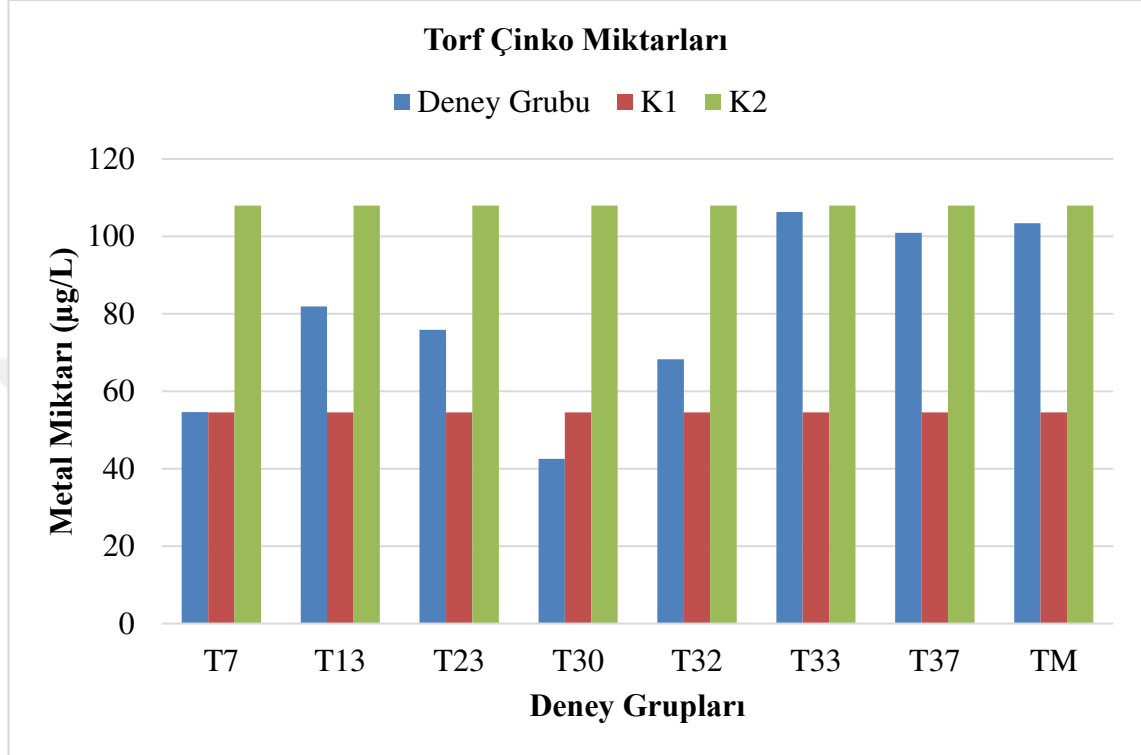
Örnek kodu	Çinko	Kurşun	Kadmiyum	Bakır	Cıva	Arsenik
TK1	54,5±1,86 ^g	94,37±3,32 ^f	3,433±0,2 ^f	36,37±1,35 ^f	1,5±0,04 ^b	13,7±0,43 ^f
TK2	108,2±3,49 ^a	356,7±12,05 ^a	32,7±1,29 ^a	109±3,59 ^a	1,99±0,05 ^a	59,75±1,96 ^a
T7	54,6±1,81 ^g	251,6±8,22 ^d	19,47±0,76 ^e	94,98±2,56 ^b	1,14±0,03 ^e	22,86±0,60 ^c
T13	81,88±2,08 ^d	262,8±6,42 ^{cd}	18,99±0,49 ^e	76,79±2,27 ^{cd}	1,46±0,05 ^b	12,51±0,39 ^{fg}
T23	75,88±2,56 ^e	336,8±7,63 ^b	21,52±0,78 ^d	80,39±2,08 ^c	1,47±0,04 ^b	18,08±0,52 ^e
T30	42,52±1,45 ^h	273,4±8,88 ^c	22,09±0,49 ^d	92,67±2,63 ^b	1,36±0,05 ^c	26,07±0,82 ^b
T32	68,28±1,88 ^f	269,7±6,84 ^c	25,3±0,87 ^c	76,65±2,15 ^{cd}	1,37±0,05 ^c	21,39±0,72 ^d
T33	106,3±3,67 ^{ab}	270,5±7,24 ^c	25,56±0,59 ^c	76,37±2,82 ^{cd}	1,15±0,03 ^e	18,8±0,50 ^e
T37	100,9±2,86 ^c	255,5±8,67 ^d	27,45±0,45 ^b	75,06±2,38 ^d	1,28±0,04 ^d	12,06±0,35 ^g
TM	103,4±3,46 ^{bc}	115,22±4,38 ^e	2,315±0,05 ^f	67,62±1,86 ^e	1,26±0,04 ^d	10,32±0,28 ^h

*Duncan, p<0,05, Farklı harfleri taşıyan sonuçlar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur

Bitki denemeleri sonucunda bitkinin yetiştiği kök civarından alınan torf numunelerinde yapılan ağır metal analizler Çizelge 4.3.’ de verilmiştir. Bu sonuçlara bakarak ağır metal ile kontamine edilmemiş olan K1 grubunda doğal olarak ağır metal varlığına rastlanmıştır. Bu sonuçlara göre K1 grubunda kullanılan metal eklenmemiş torf numunesinde 54,6 ppb çinko, 94,37 ppb kurşun, 3,433 ppb kadmiyum, 36,37 ppb bakır, 1,5 ppb cıva ve 13,7 ppb arsenik tespit edilmiştir. Ağır metallerce kontamine edilen K2 grubunda ise 108,2 ppb çinko, 356,7 ppb kurşun, 32,7 ppb kadmiyum, 109 ppb bakır, 1,99 ppb cıva ve 59,75 ppb arsenik tespit edilmiştir. Deney gruplarında ise K2 kontrol grubuna oranla daha düşük ağır metal miktarlarına rastlanmıştır. Bu değerler yapılan

istatistik analizlerde K2 grubuna oranla anlamlı fark oluşmuştur. Kontrol grubuna oranla oluşan farklılıklar şekillerle gösterilmiştir.

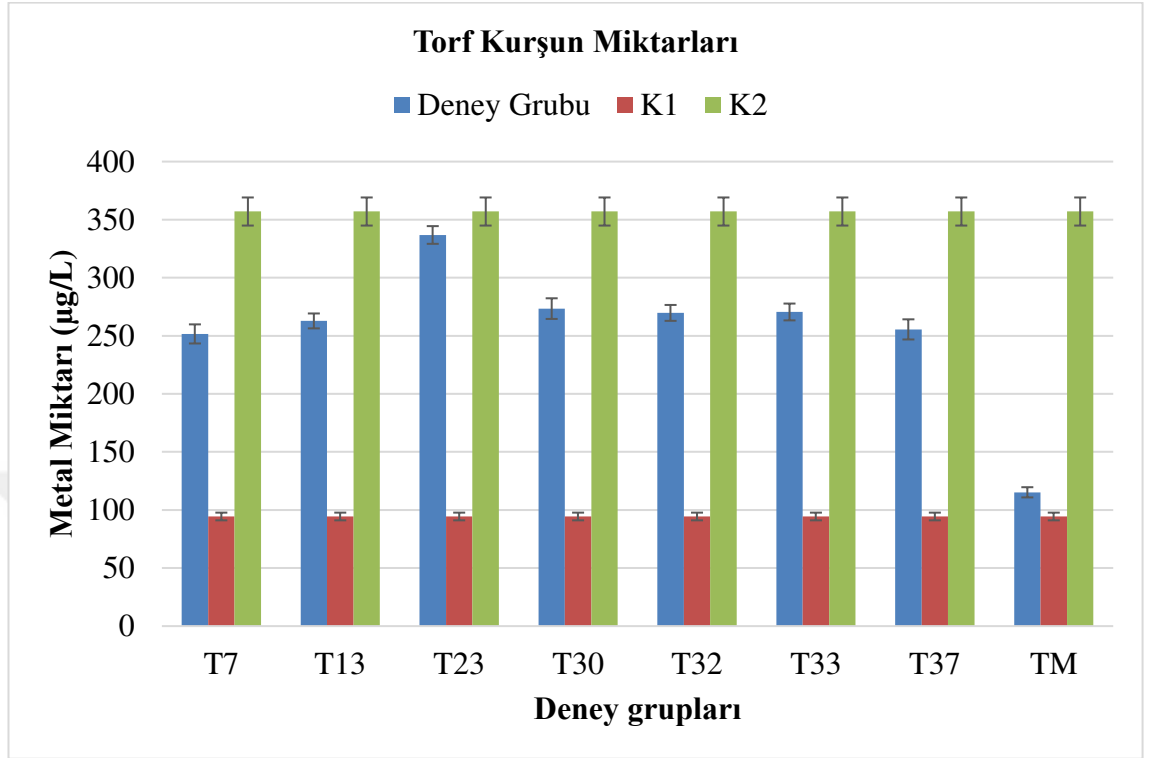
Torflarda ölçülen çinko miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.15'te gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Torf numunelerinde karşılaştırmalı çinko miktarları

Torflardan yapılan çinko analizlerinde en yüksek düşüş % 60 oranla 30 numaralı bakterinin kullanıldığı deney grubudur. Çinko miktarındaki düşüş oranları yüksekten düşüğe doğru sıralandığı zaman 30>7>32>23>13>37>MİX>33 şeklinde oluşmuştur. 37, MİX ve 33 numaralı örneklerde K2 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmamıştır. Diğer tüm deneme grupları K2 kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. K1 kontrol grubu seviyesinin altında metal miktarı ölçümü ile *Pseudomonas* sp. As30 bakterisini içeren deney grubu dikkat çekmiştir.

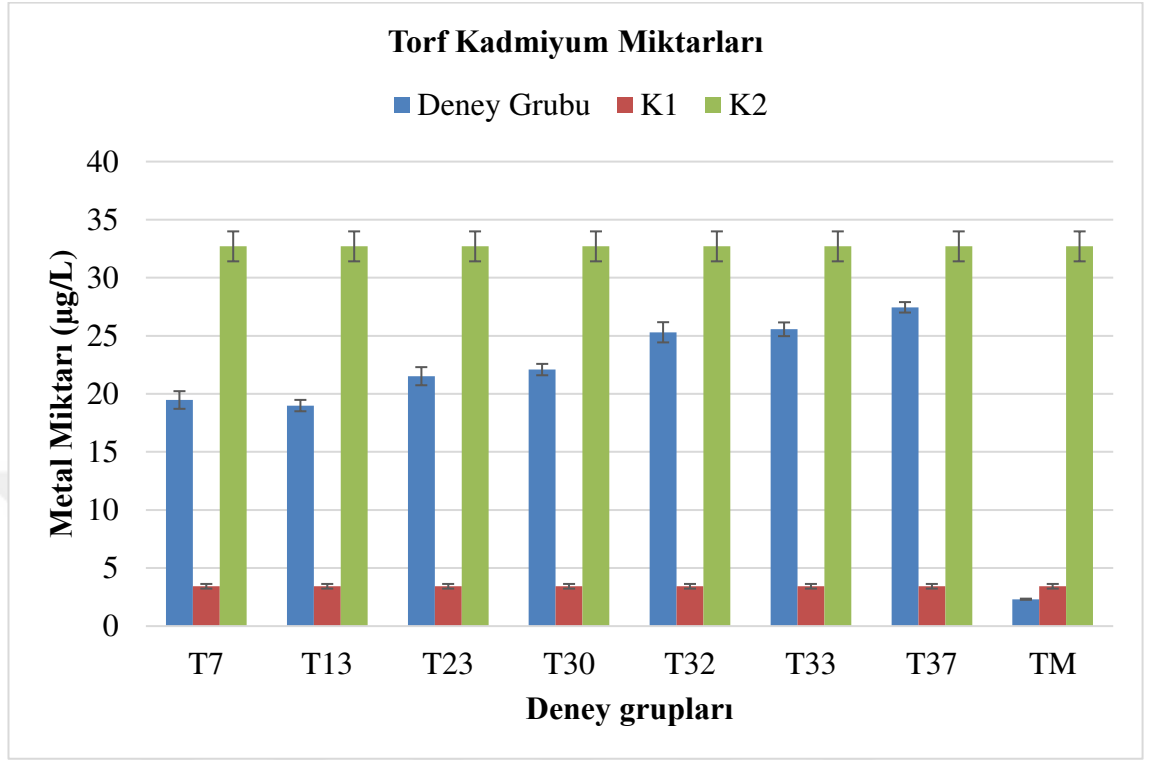
Torflarda ölçülen kurşun miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.16’da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Torf numunelerinde karşılaştırmalı kurşun miktarları

Torflardan yapılan kurşun analizlerinde en yüksek düşüş % 68 oranla MİX kodlu tüm bakterilerin eşit karışımının bakterinin deney grubudur. Kurşun miktarındaki düşüş oranları yüksekten düşüğe doğru sıralandığı zaman MİX>7>37>13>32>33>30>23 şeklinde oluşmuştur. Tüm deneme grupları K2 kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. K1 kontrol grubu seviyesine en metal miktarı ölçümü ile 7 bakteri suşunun karışımını içeren MİX deney grubu dikkat çekmiştir.

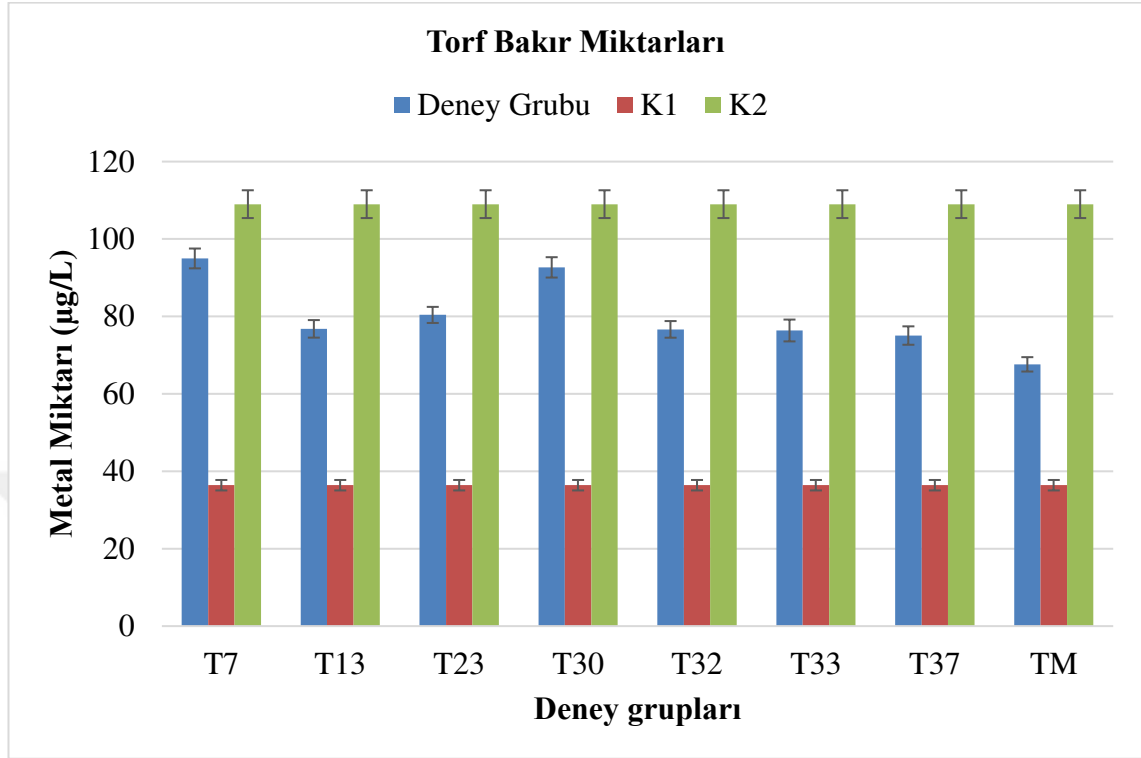
Torflarda ölçülen kadmiyum miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Torf numunelerinde karşılaştırmalı kadmiyum miktarları

Torflardan yapılan kadmiyum analizlerinde en yüksek düşüş yaklaşık % 93 oranla MİX kodlu tüm bakterilerin kullanıldığı deney grubudur. Kadmiyum miktarındaki düşüş oranları yüksekten düşüğe doğru sıralandığı zaman MİX>13>7>23>30>32>33>37 şeklinde oluşmuştur. Tüm deneme grupları K2 kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. K1 kontrol grubu seviyesinin altında metal miktarı ölçümü ile 7 bakteri suşunun karışımını içeren MİX deney grubu dikkat çekmiştir.

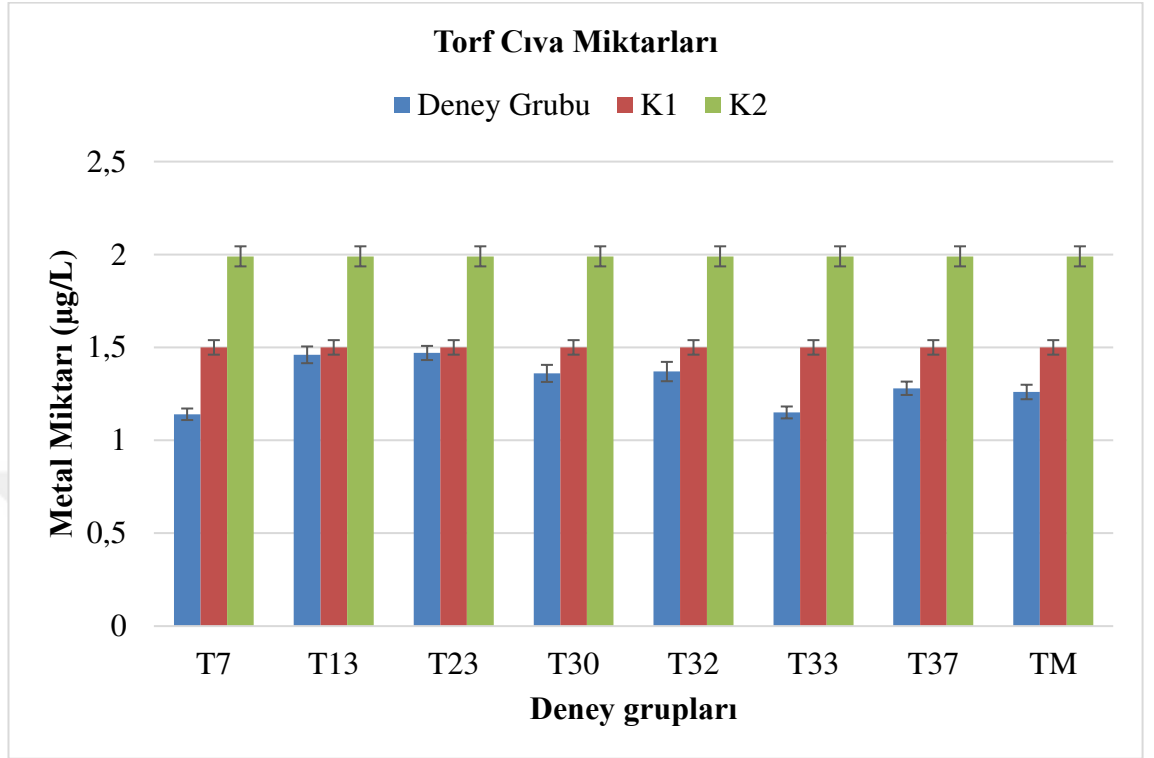
Torflarda ölçülen bakır miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Torf numunelerinde karşılaştırmalı bakır miktarları

Torflardan yapılan bakır analizlerinde en yüksek düşüş yaklaşık %38 oranla MİX kodlu tüm bakterilerin kullanıldığı deney grubudur. Bakır miktarındaki düşüş oranları yüksekten düşüğe doğru sıralandığı zaman MİX>37>33>32>13>23>30>7 şeklinde oluşmuştur. Tüm deneme grupları K2 kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. K1 kontrol grubu seviyesinin altında metal miktarı ölçümü ile 7 bakteri suşunun karışımını içeren MİX deney grubu dikkat çekmiştir.

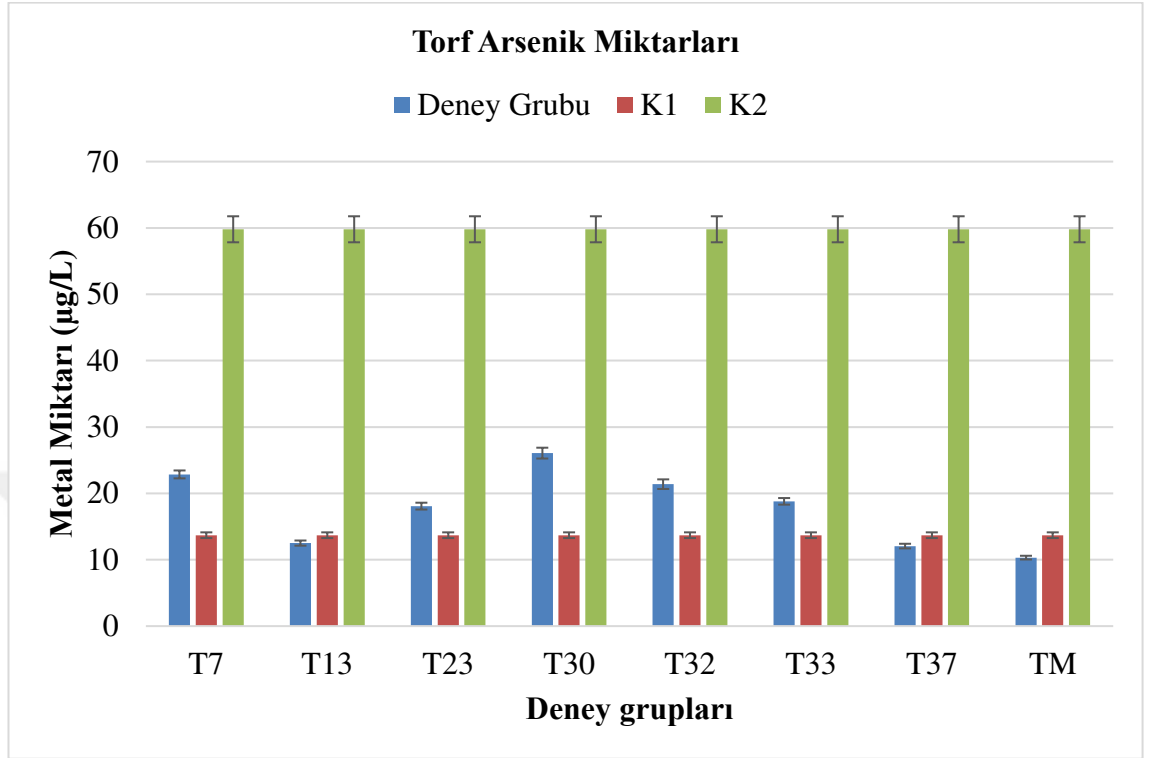
Torflarda ölçülen cıva miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.19’da gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Torf numunelerinde karşılaştırmalı cıva miktarları

Torflardan yapılan cıva analizlerinde en yüksek düşüş yaklaşık % 43 oranla 7 numaralı bakterinin kullanıldığı deney grubudur. Cıva miktarındaki düşüş oranları yüksekten düşüğe doğru sıralandığı zaman 7>33>MIX>37>30>32>13>23 şeklinde oluşmuştur. Tüm deneme grupları K2 kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. K2 metal grubuna göre istatistiksel olarak en yüksek giderimi yapan *Ochrabactrum anthropi* ve *Paenibacillus* sp. As33 suşlarını içeren deney grupları dikkat çekmiştir.

Torflarda ölçülen arsenik miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.20’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Torf numunelerinde karşılaştırmalı arsenik miktarları

Torf numunelerinde yapılan Arsenik analizlerinde en yüksek düşüş yaklaşık %83 oranla MİX kodlu tüm bakterilerin kullanıldığı deney grubudur. Arsenik miktarındaki düşüş oranları yüksekten düşüğe doğru sıralandığı zaman MİX>37>13>23>33>32>7>30 şeklinde oluşmuştur. Tüm deneme grupları K2 kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. K1 kontrol grubu seviyesinin altında metal miktarı ölçümü ile 7 bakteri suşunun karışımını içeren MİX deney grubu dikkat çekmiştir.

Genel olarak torf numunelerinde yapılan metal giderimi testleri sonuçlarına bakıldığı zaman 4 farklı metal ölçümünde MİX grubu dikkat çekmiştir. Bitki verimliliğinin aksine torf yapısındaki metali en fazla gideren grup MİX grubu olmuştur.

4.3.3. Bitkilerde Yapılan Metal Ölçümleri

Bitki gelişimi sonucunda arpa numunelerinden yapılan ağır metal ölçümleri Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

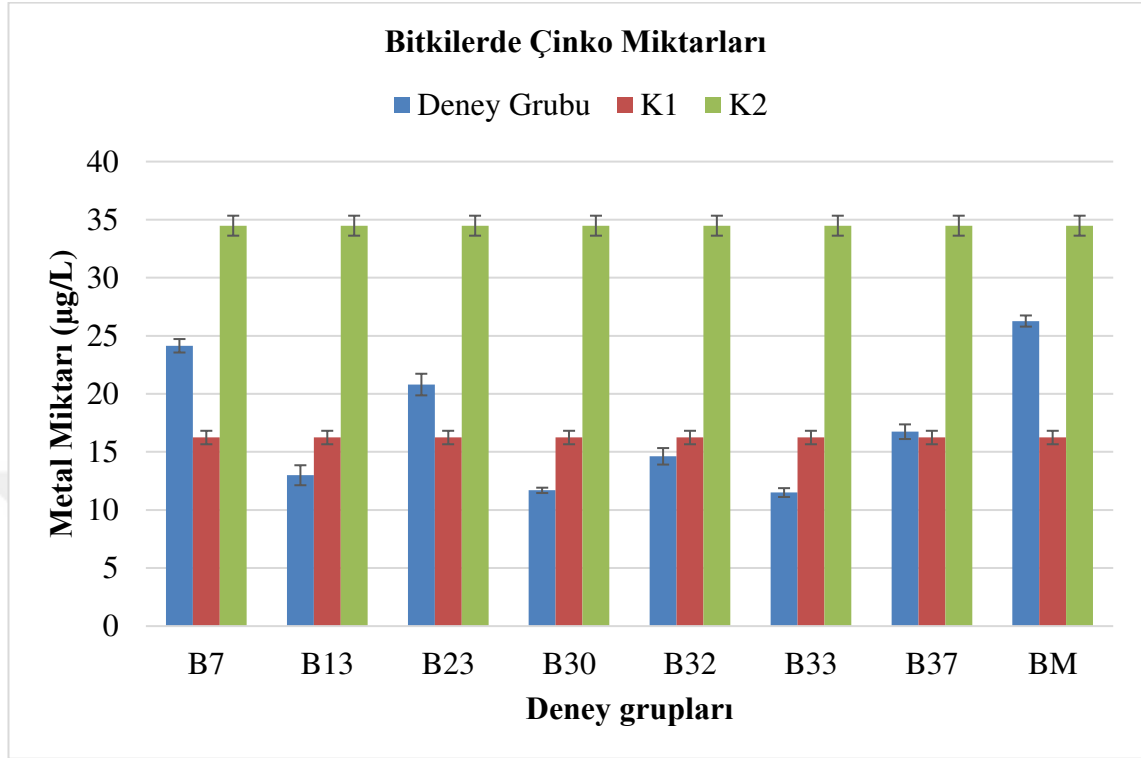
Çizelge 4.10. Saksı denemeleri sonucunda bitki numunelerinde yapılan ağır metal ölçüm sonuçları

Sütun1	Çinko	Kurşun	Kadmiyum	Bakır	Cıva	Arsenik
BK1	16,24±0,58 ^c	4,14±0,17 ⁱ	1,12±0,05 ⁱ	19,5±0,5 ^g	0,091±0,003 ^h	5,895±0,19 ^g
BK2	34,48±0,86 ^a	43,8±1,12 ^a	9,68±0,23 ^a	40,4±1,08 ^b	0,29±0,008 ^a	76,28±2,15 ^a
B7	24,14±0,93 ^c	10,07±0,24 ^g	4,491±0,15 ^f	24,7±0,95 ^f	0,10±0,004 ^g	19,98±0,53 ^e
B13	12,99±0,23 ^g	9,404±0,34 ^g	6,841±0,25 ^b	30,1±0,79 ^e	0,19±0,004 ^b	28,77±0,84 ^d
B23	20,8±0,71 ^d	21,34±0,54 ^e	3,925±0,09 ^g	30,4±0,99 ^e	0,17±0,006 ^d	32,18±0,94 ^c
B30	11,69±0,38 ^h	7,772±0,36 ^h	5,005±0,23 ^e	44±1,46 ^a	0,14±0,004 ^e	14,53±0,47 ^f
B32	14,62±0,63 ^f	16,2±0,65 ^f	6,029±0,17 ^c	25,8±0,89 ^f	0,12±0,003 ^f	57,74±1,47 ^b
B33	11,5±0,48 ^h	24,14±0,88 ^d	3,099±0,07 ^h	33,1±0,86 ^d	0,09±0,002 ^h	13,42±0,46 ^f
B37	16,74±0,63 ^e	31,26±1,12 ^c	5,516±0,23 ^d	37±1,09 ^c	0,18±0,006 ^c	3,631±0,10 ^h
BM	26,27±1,02 ^b	38,82±0,96 ^b	4,46±0,16 ^f	35,3±1,19 ^c	0,11±0,003 ^g	3,499±0,14 ^h

*Duncan, p<0,05, Farklı harfleri taşıyan sonuçlar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur.

Bitki denemeleri sonucunda morfolojik ölçümleri tamamlanmış bitkilerinden yapılan ağır metal analizler çizelgede verilmiştir. Bu sonuçlara bakarak ağır metal ile kontamine edilmemiş olan torf üzerinde yetişen K1 grubunda doğal olarak ağır metal varlığına rastlanmıştır. Bu sonuçlara göre K1 grubu olan metal eklenmemiş torf numunesinde, 16,24 ppb çinko, 4,14 ppb kurşun, 1,12 ppb kadmiyum, 19,5 ppb bakır, 0,091 ppb cıva ve 5,895 ppb arsenik tespit edilmiştir. Ağır metallerce kontamine edilen torf üzerinde yetişen K2 grubunda ise 34,48 ppb çinko, 43,8 ppb kurşun, 9,68 ppb kadmiyum, 40,4 ppb bakır, 0,29 ppb cıva ve 76,28 ppb arsenik tespit edilmiştir. Deney gruplarında ise K2 kontrol grubuna oranla daha düşük ağır metal miktarlarına rastlanmıştır. Bu değerler yapılan istatistik analizlerde K2 grubuna oranla anlamlı fark oluşmuştur. Kontrol grubuna oranla oluşan farklılıklar grafiklerle gösterilmiştir.

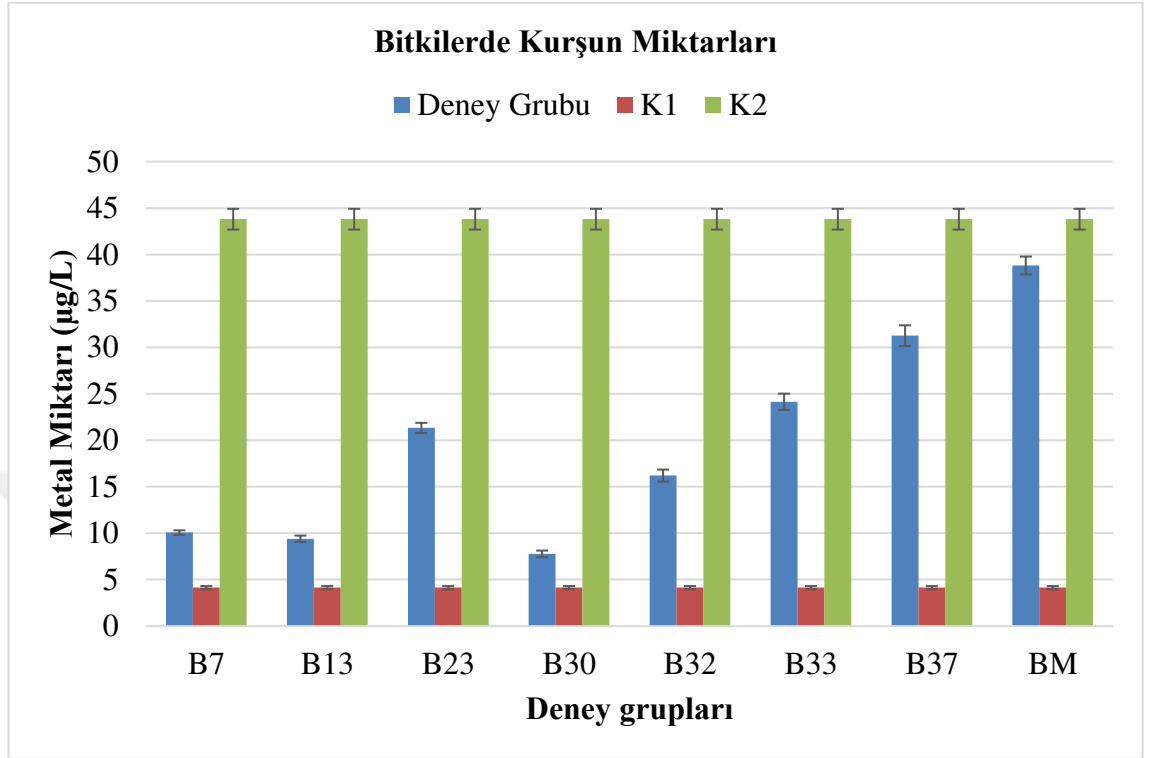
Bitkilerde ölçülen çinko miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



Şekil 4.21. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı çinko miktarları

Bitkilerden yapılan ağır metal analizlerinde en yüksek çinko giderimi K2 kontrol grubuna göre yaklaşık %67 düşüş gösteren 33 numaralı deney grubu olmuştur. Çinko giderimi oranlarına göre en yüksekten düşüğe doğru sıralayacak olursak 33>30>13>32>37>23>7>MIX deney grupları olarak sıralanmıştır. Yapılan istatistik analizlere göre deney gruplarının tamamı metal içeren kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. *Paenibacillus* sp. As33, *Pseudomonas* sp. As30, *Bacillus cereus* As13, *Acinetobacter haemolyticus* As32 ve *Delftia* sp. As37 suşları K1 kontrol grubu seviyesinde çinko giderimi yaparak dikkat çekmiştir.

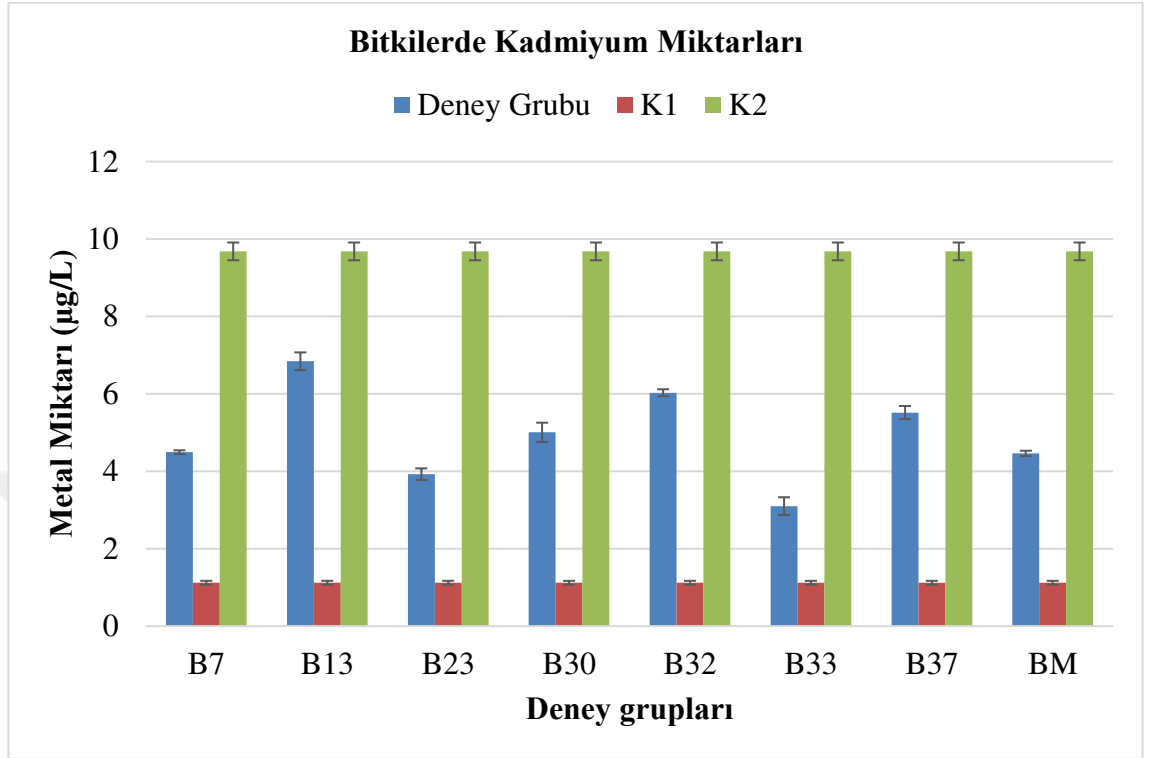
Bitkilerde ölçülen kurşun miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.22’de gösterilmiştir.



Şekil 4.22. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı kurşun miktarları

Bitkilerden yapılan ağır metal analizlerinde en yüksek kurşun giderimi K2 kontrol grubuna göre yaklaşık %83 düşüş gösteren 30 numaralı deney grubu olmuştur. Kurşun giderimi oranlarına göre en yüksekten düşüğe doğru sıralayacak olursak 30>13>7>32>23>33>37>MIX deney grupları olarak sıralanmıştır. Yapılan istatistik analizlere göre deney gruplarının tamamı metal içeren kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. *Pseudomonas* sp. As30, *Bacillus cereus* As13 ve *Ochrabactrum anthrophi* As7 suşları istatistiksel olarak K1 grubuna en yakın grupta yer alarak dikkat çekmektedir.

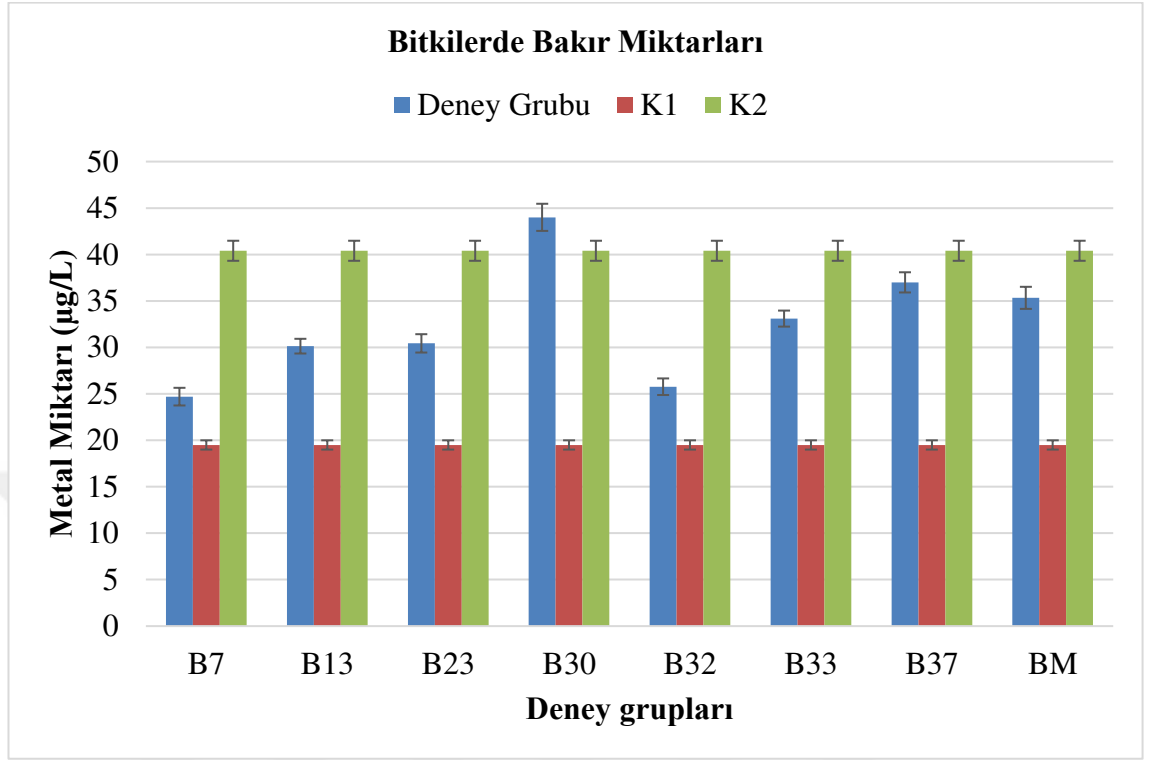
Bitkilerde ölçülen kadmiyum miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.23'te gösterilmiştir.



Şekil 4.23. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı kadmiyum miktarları

Bitkilerden yapılan ağır metal analizlerinde en yüksek kadmiyum giderimi K2 kontrol grubuna göre yaklaşık %68 düşüş gösteren 33 numaralı deney grubu olmuştur. Kadmiyum giderimi oranlarına göre en yüksekten düşüğe doğru sıralayacak olursak 33>23>MIX>7>30>37>32>13 deney grupları olarak sıralanmıştır. Yapılan istatistik analizlere göre deney gruplarının tamamı metal içeren kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. *Paenibacillus* sp. As33 suşu istatistiksel olarak K1 grubuna en yakın grupta yer alarak dikkat çekmektedir.

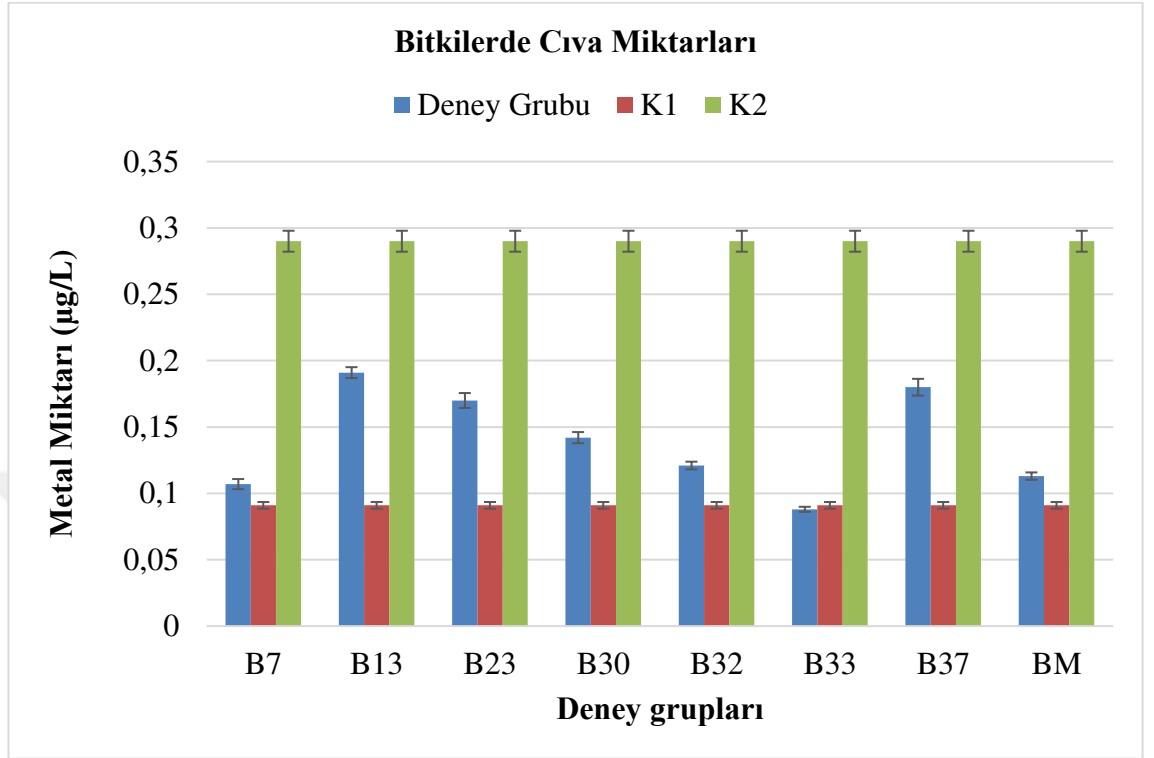
Bitkilerde ölçülen bakır miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.24’de gösterilmiştir.



Şekil 4.24. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı bakır miktarları

Bitkilerden yapılan ağır metal analizlerinde en yüksek bakır giderimi K2 kontrol grubuna göre yaklaşık %39 düşüş gösteren 7 numaralı deney grubu olmuştur. Bakır giderimi oranlarına göre en yüksekten düşüğe doğru sıralayacak olursak 7>32>13>23>33>MIX>37>30 deney grupları olarak sıralanmıştır. Yapılan istatistik analizlere göre 30 numaralı deney grubu hariç tüm deney grupları metal içeren kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. *Ochrabactrum anthropi* As7 ve *Acinetobacter haemolyticus* As32 suşları istatistiksel olarak K1 grubuna en yakın grupta yer alarak dikkat çekmektedir.

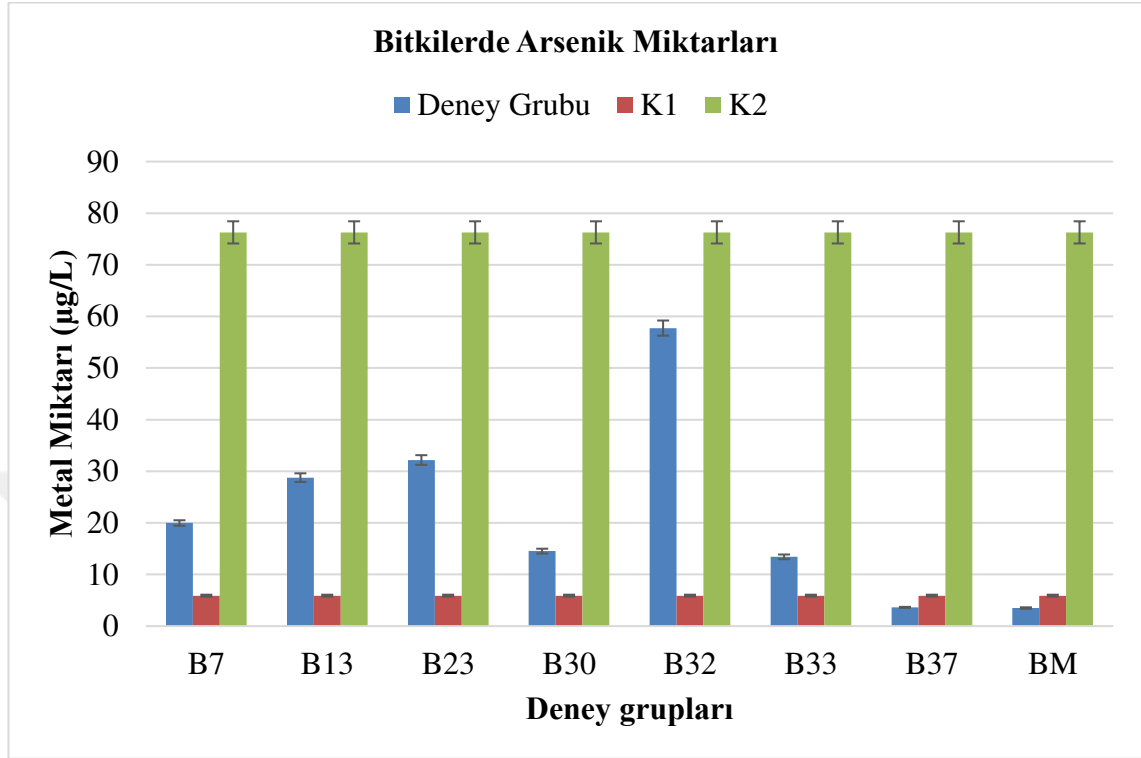
Bitkilerde ölçülen cıva miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.25'te gösterilmiştir.



Şekil 4.25. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı cıva miktarları

Bitkilerden yapılan ağır metal analizlerinde en yüksek cıva giderimi K2 kontrol grubuna göre yaklaşık %70 düşüş gösteren 33 numaralı deney grubu olmuştur. Cıva giderimi oranlarına göre en yüksekten düşüğe doğru sıralayacak olursak 33>7>MIX>32>30>23>37>13 deney grupları olarak sıralanmıştır. Yapılan istatistik analizlere göre 30 numaralı deney grubu hariç tüm deney grupları metal içeren kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. *Paenibacillus* sp. As33 suşu istatistiksel olarak K1 grubuna en yakın grupta yer alarak dikkat çekmektedir.

Bitkilerde ölçülen arsenik miktarı kontrol gruplarına oranla Şekil 4.26'da gösterilmiştir.



Şekil 4.26. Bitki numunelerinde karşılaştırmalı arsenik miktarları

Bitkilerden yapılan ağır metal analizlerinde en yüksek arsenik giderimi K2 kontrol grubuna göre yaklaşık %95 düşüş gösteren MİX kodlu deney grubu olmuştur. Arsenik giderimi oranlarına göre en yüksekten düşüğe doğru sıralayacak olursak MİX>37>33>30>7>13>23>32 deney grupları olarak sıralanmıştır. Yapılan istatistik analizlere göre tüm deney grupları metal içeren kontrol grubuna oranla anlamlı fark göstermiştir. 7 bakteri suşunun karışımı olan MİX deney grubu ve *Delftia* sp. As37 suşu istatistiksel olarak K1 grubuna en yakın grupta yer alarak dikkat çekmektedir.

Shilev vd. (2019), kurşun, çinko ve kadmiyum ile kontamine edilmiş topraklarda yaptıkları çalışmalarda *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus thuringiensis* ve *Pseudomonas synxantha* türlerini kullanmışlardır. Bitkilerin gelişim morfolojisinde önemli bir verim artışı ve bitki metabolizmasında biriken kurşun, çinko ve kurşun miktarlarında önemli düşüş keşfetmişlerdir.

Desoky vd. (2020), *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*, *Paenibacillus jamilae* ve *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanımladıkları ağır metal dirençli bakteri suşlarını kullanarak kontamine toprakta ıspanak yetiştirmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda

bitkinin yaş ağırlığı, kuru ağırlığı, klorofil-a, klorofil-b, karotenoidler, fotosentez oranı, terleme oranı ve stoma iletkenliği açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark elde etmişlerdir. Bitkinin kök ve yapraklarından ölçtükleri kurşun ve kadmiyum değerlerinde anlamlı azalma tespit ederek bakterilerin yüksek biyoremediasyon kapasitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Rajkumar ve Freitas (2008), *Pseudomonas* sp. ve *Pseudomonas jessenii* türlerini kullanarak hint yağı bitkisi üzerinde (*Ricinus communis*) ağır metal stresinin etkilerini düşürmek amaçlı bir araştırma yapmıştır. Yapılan araştırma sonucunda yapılan morfolojik ölçümler sonucu bakteri içeren deney gruplarının kontrol grubuna oranla daha yüksek gelişim gösterdiği gözlemlenmiştir. Bakteri suşlarında yapılan biyo-sorpsiyon çalışmalarında tespit edilmesine rağmen bitkinin farklı dokularından yapılan nikel, bakır ve çinko analizlerinde anlamlı bir azalmaya rastlanmamıştır.

Efe (2020), Gümüşhane’de bulunan çinko-kurşun yataklarından aldığı örneklerden izole ettiği ağır metal dirençli bakterilerin bitki büyüme parametreleri üzerine etkilerini test etmiştir. İzole ettiği bakterilerden 8 tanesini *Bacillus* sp. ve 1 tanesini de *Enterococcus mundtii* olarak tespit etmiştir. Bakır, çinko ve kurşun için yaptığı minimum inhibisyon konsantrasyonu testlerinde bakterileri ağır metal dirençli tespit etmiştir. İndol asetik asit üretimi, siderofor üretimi, azot fiksasyonu ve fosfat çözündürme testlerinde bakterilerden olumlu sonuçlar almıştır.

Kuffner vd. (2009), keçi söğüdü (*Salix caprea*) bitkisinin ağır metal stresi altında gelişimini artırmak amacı ile ağır metal dirençli tespit ettikleri *Microbacterium* sp. ve *Burkholderia* sp. suşlarını kullanmıştır. Yapılan çalışmalarda bitki büyümesinde istatistiksel olarak anlamlı artış ve bitki dokularından yapılan metal ölçümlerinde kadmiyum ve çinko miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı düşüşler tespit edilmiştir.

Jiang vd. (2008), ağır metal dirençli tespit ettikleri *Burkholderia* sp. Suşunu kullanarak yaptıkları çalışmada ağır metal stresi altında hardal otu, mısır ve domates gelişimini incelemişlerdir. Mısır bitkisinin kök kuru ağırlığında %75 artış ve domates bitkisinin kök kuru ağırlığında %54 artış tespit edilmiştir. Hardol otu bitkisi için kayda değer bir farka rastlanmamıştır.

El-Meihy vd. (2019), *Alcaligenes faecalis* ve *Bacillus cereus* suşları ile yaptığı biyoremediasyon çalışmasında *Sorghum* bitkisinin gelişimine olan etkileri test edilmiştir. 6 hafta süren denemelerin sonucunda bitki boyunda, yaprak sayısında, gövde ve kökün yaş ve kuru ağırlıklarında anlamlı düzeyde verim artışı gözlemlenmiştir. Yine yapılan ağır metal ölçümlerinde bakır, kadmiyum, kurşun, çinko ve tüm metallerin karışık olarak

eklendiği test ortamlarında bitki organlarında tüm metallerin daha düşük birikim gösterdiği gözlemlenmiştir.

Mesa-Marin vd. (2020), *Vibrio neocaledonicus*, *Thalassospira australica* ve *Pseudarthrobacter oxydans* suşlarını kullanarak mor cam otu (*Salicornia ramosissima*) bitkisinin ağır metal stresi altında gelişimini gözlemlemiştir. Araştırmacılar iki farklı kontamine toprak ile yapılan 30 günlük deneme sonunda bitki gelişim katsayısı ve bitki kök gelişimi açısından anlamlı verim artışı tespit etmişlerdir. Fakat bu çalışma kapsamında bitki organlarından yapılan metal analizleri sonucunda kontrol grubuna oranla anlamlı metal miktarı düşüşüne rastlanmamıştır.

Guo vd. (2020), iki farklı *Burkholderia* sp. suşu ve EDTA kullanarak oluşturduğu farklı kombinlerde test grupları ile *Sedum alfredii* Hance bitkisinin ağır metal içeren ortamda gelişimini gözlemlemiştir. Yapılan çalışmalar sonucu sadece EDTA kullanılan grupta bitki biyo-kütlesinde azalma gözlemlenirken, EDTA ve bakteri suşlarının beraber kullanıldığı test ortamlarında anlamlı biyo-kütle artışı gözlemlenmemiştir. Hiper-akümülatör bitki olarak bilinen *Sedum alfredii* Hance bitkisinin gövde ve köklerinden yapılan ağır metal analizlerine göre, kontrol grubuna göre kadmiyum konsantrasyonlarında anlamlı bir artış, kurşun konsantrasyonlarında anlamlı bir düşüş gözlemlenirken, çinko konsantrasyonlarında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

Singh vd. (2019), *Bacillus thuringiensis* ve *Azotobacter chroococcum* bakteri suşlarını kullanarak bezelye (*Pisum sativum*) bitkisinin ağır metal içeren ortamda gelişimini incelemiştir. Yapılan çalışmada 15, 30 ve 60. günler örneklemeler yapılmıştır. Bitkinin net ağırlığı, yaprak sayısı, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, toplam uzunluk, nod sayısı, internod sayısı, pod sayısı ve çiçek sayısı olarak ölçülen tüm parametrelerde *Azotobacter chroococcum* içeren test grubu ve iki bakterinin karışımını içeren test grubunda verim açısından olumlu yönde anlamlı fark tespit edilmiştir.

Andrey vd. (2019), mangan, çinko, krom, bakır, kurşun, nikel ve kadmiyum metalleri ile kontamine ettiği toprak numunelerinde *Bacillus* cinsine ait bakteriler ve çam ağacından elde ettiği biyoçar kullanarak araştırmalar yapmıştır. Yaptığı çalışma sonucunda kontrol grubuna oranla bakteri kullandığı topraklarda verim artışı kaydetmiştir. Tez çalışmamızın verileri ile bu çalışmada elde edilen verim artışı benzerlik göstermektedir. Fakat biyoçar ve bakteri kullandığı deney grubunda sadece bakterinin olduğu deney grubuna oranla daha yüksek verim elde etmiştir.

Rajput vd. (2021), mangan, bakır, çinko, krom, kurşun ve nikel metalleri ile kontamine ettiği topraklarda *Bacillus cereus*, *B. pumilus* ve *B. atrophaeus* bakterileri

suşlarını kullanarak bitki gelişimini araştırmıştır. Kontrol grupları, bakteri deney grubu ve ağaç biyoçarı ve bakteri karışımından oluşan deney grupları oluşturmuştur. Yapılan çalışmalar sonucundan tez çalışmamıza benzer şekilde bakteri eklenen gruplarda anlamlı morfolojik verim artışları gerçekleşmiştir. Yine bir önceki çalışmada olduğu gibi biyoçar ve bakteri karışımı en yüksek verim oranlarına ulaşmıştır. Arpa bitkisinin dokularından yaptığı metal analizlerinde ise çalışmamıza benzer şekilde metal miktarlarının azaldığını gözlemlemiştir.

Tüm bitki denemeleri sonucunda bakteri eklediğimiz deney gruplarının morfolojik verim artışı sağladığı, bitki torfunda metal giderimi yaptığı ve bitki organlarına biriken metal miktarlarının düştüğü gözlemlenmiştir. Tez çalışmamız kapsamında, arpa ve farklı bitkiler ile farklı bakteriler kullanılarak yapılan birçok araştırmaya benzer sonuçlar elde edilmiştir. Burdur Gölü'nden izole edilen ağır metal dirençli bakterilerin bilinen ağır metal giderici diğer bakteriler kadar verimli sonuçları olduğu ortaya konulmuştur.

4.3.4. Torf Numunelerinde Metagenomik Analizler

Bitki gelişimi deneyleri sonucu yapılan metagenomik analiz sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Torf örneklerinden elde edilen meta-genomik okuma sayıları

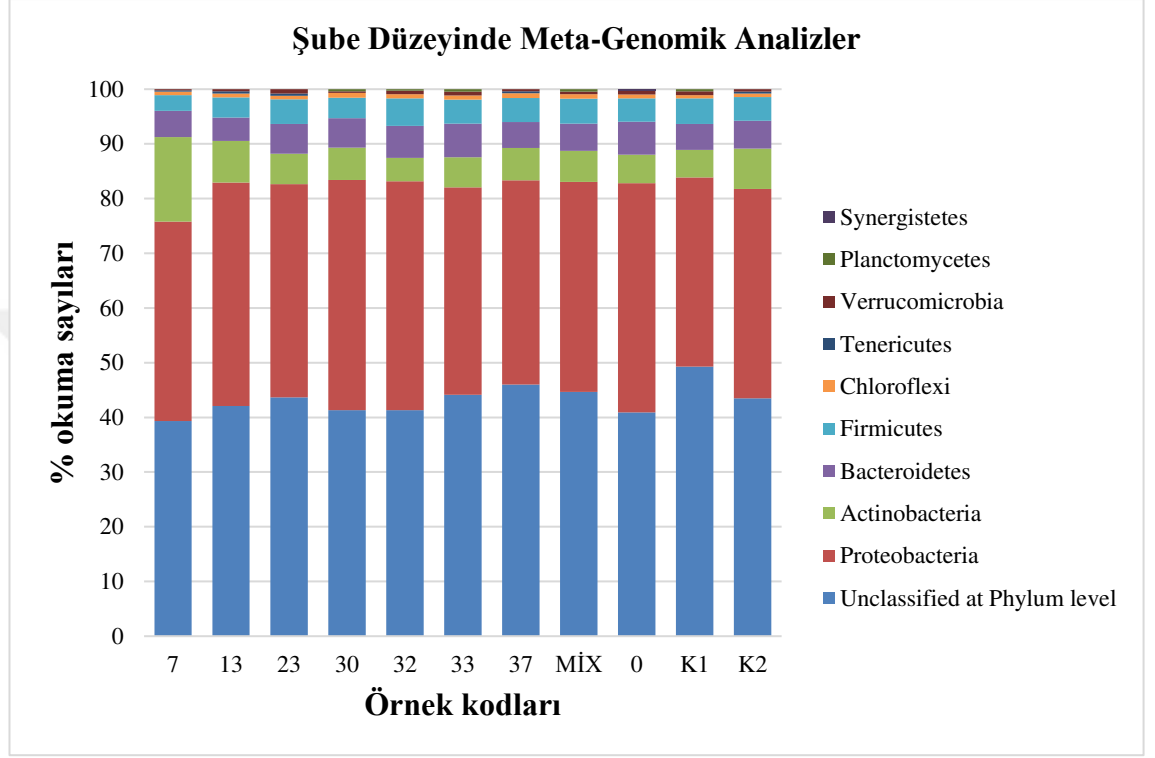
Toplam Okuma Sayıları					
Örnek Kodu	Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins
7	11589	11279	10732	9218	8917
13	8441	8117	7462	6676	6645
23	14554	13891	13001	11608	11293
30	9736	9316	8774	7929	7705
32	5586	5340	4967	4551	4445
33	14541	13852	13040	11708	11340
37	11966	11758	10939	9882	9759
MIX	11186	10698	10006	9032	8819
0	9033	8634	8003	7240	7079
K1	7137	6812	6357	5806	5703
K2	3333	3238	3064	2698	2632

Tüm örneklerle ait farklı taksonomik düzeyde yapılan okuma sayıları tabloda verilmiştir. Burada en dikkat çekici veri tüm DNA izolasyonları eşit miktarda toprak içeren numunelerden yapılmasına rağmen ağır metal ile kontamine edilmiş K2 grubunda okuma sayıları diğer örneklerle oranla çok düşük kalmıştır. Benzer çalışmalarda olduğu

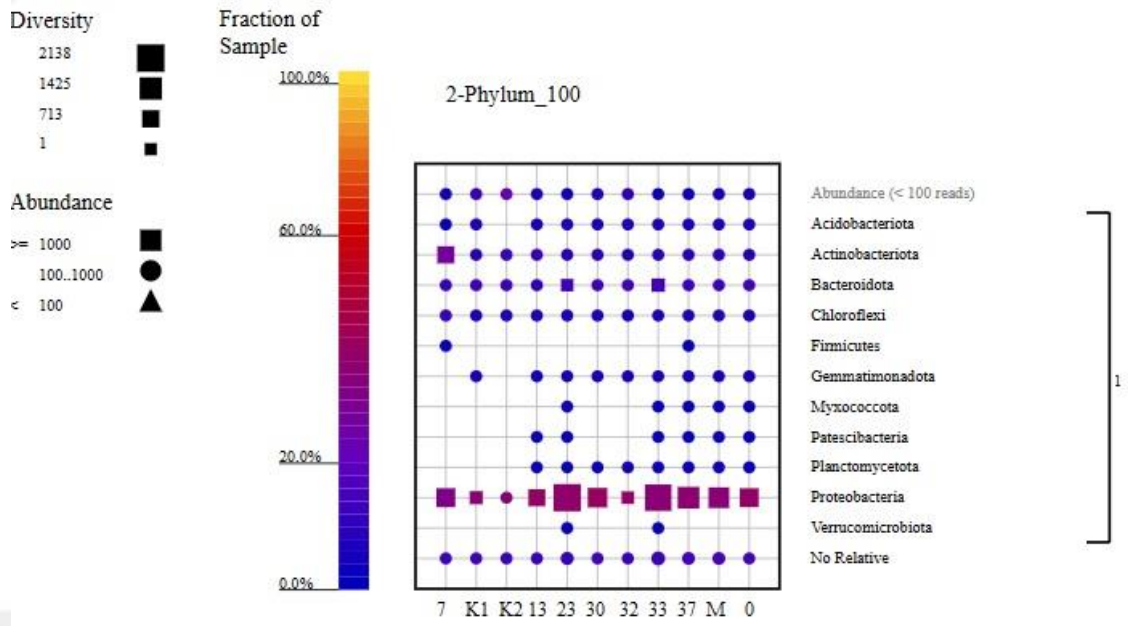
gibi ağır metal toksisitesinin bakteri gelişimini azalttığı ve buna oranla toplam DNA miktarında düşüş gözlemlendiği sonucuna varılmıştır (Chen vd., 2018).

4.3.4.1. Şube Düzeyinde Metagenomik Analizler

Şube düzeyinde meta-genomik analizler Şekil 4.27 ve Şekil 4.28’de gösterilmiştir.



Şekil 4.27. Şube düzeyinde dağılım grafiği

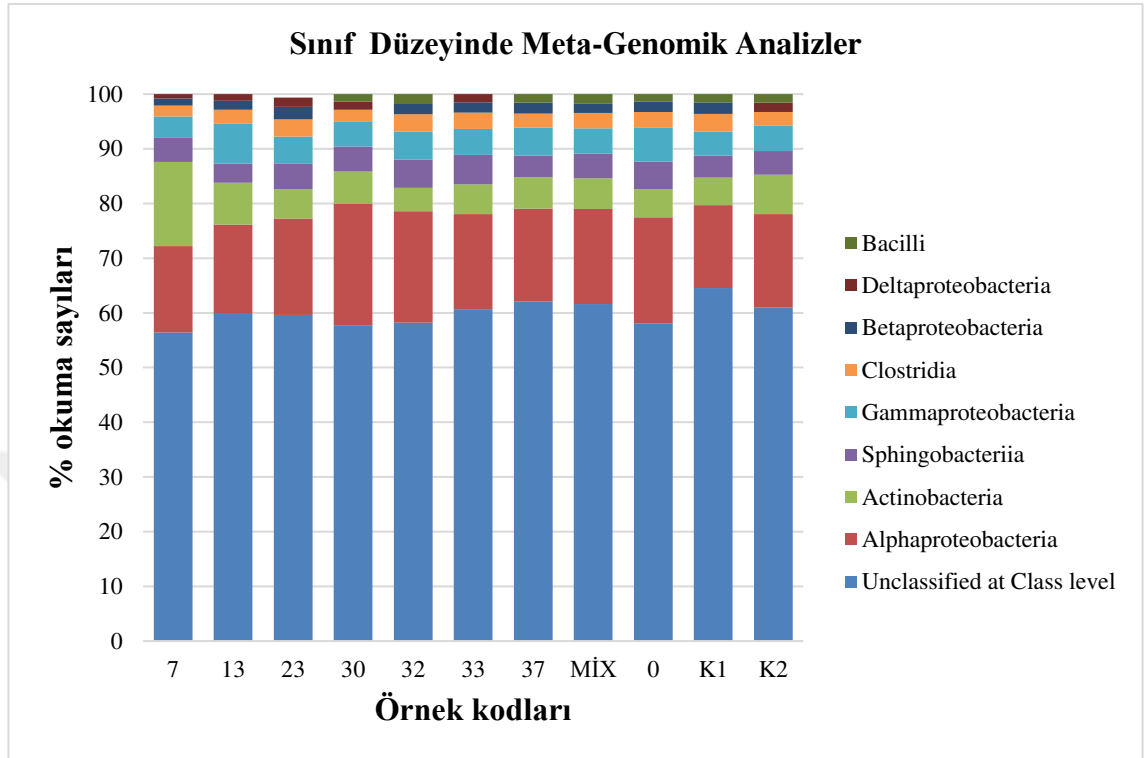


Şekil 4.28. Şube düzeyinde SYLVA analizi grafiği

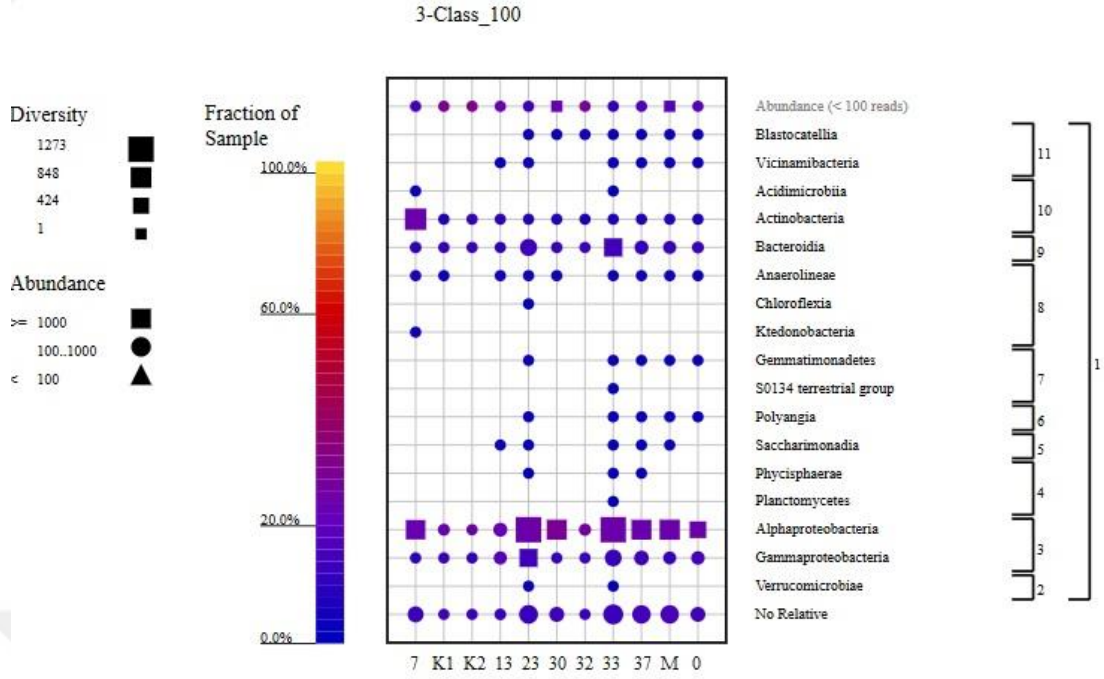
Şube düzeyinde yapılan meta-genomik analiz sonuçları okuma yüzdeleri olarak bar grafiklere dağıtılmış ve SYLVA programı kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre baskın olarak *Proteobacteria* şubesine (>%34) rastlanmıştır. SYLVA analizlerine göre çeşitlilik ve sayı olarak 23 ve 33 numaralı örnekler *Proteobacteria* sınıfı açısından en yüksek sonuçları vermiştir. 7 numaralı deney grubunda artan *Actinobacteria* (%15) şubesi dikkat çekmektedir.

4.3.4.2. Sınıf Düzeyinde Meta-Genomik Analizler

Sınıf düzeyinde meta-genomik analizler Şekil 4.29 ve Şekil 4.30’da gösterilmiştir.



Şekil 4.29. Sınıf düzeyinde dağılım grafiği

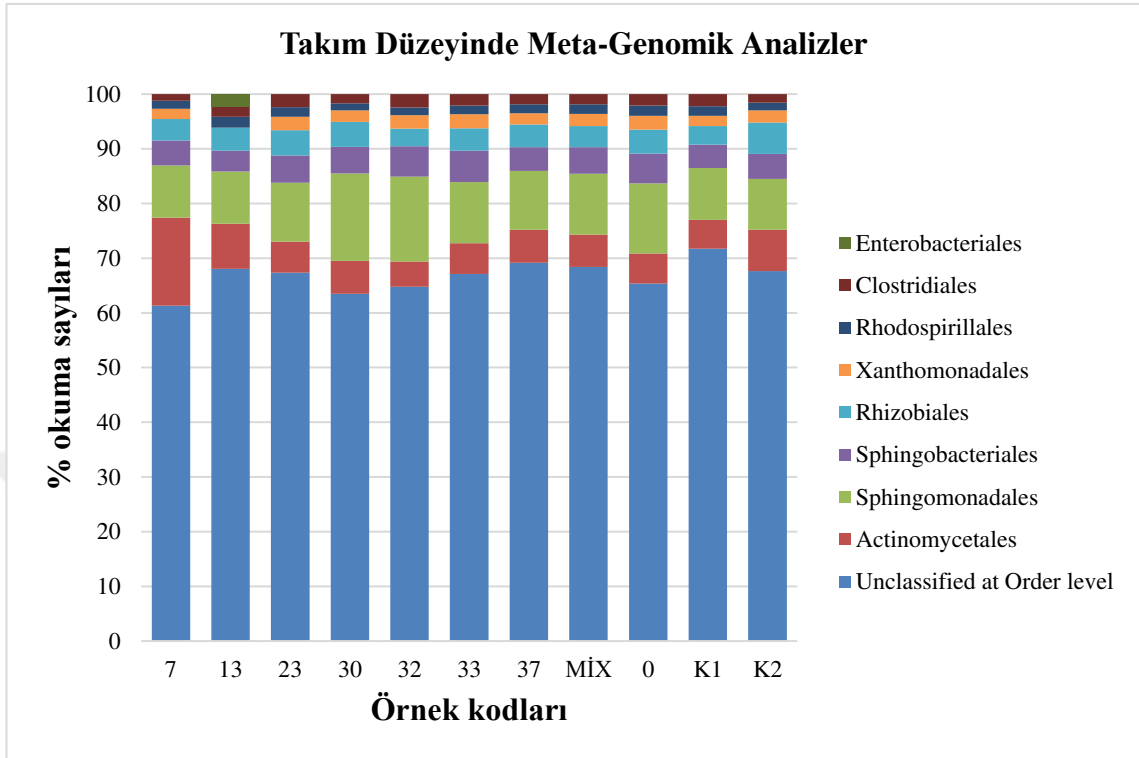


Şekil 4.30. Sınıf düzeyinde SYLVA analizi grafiği

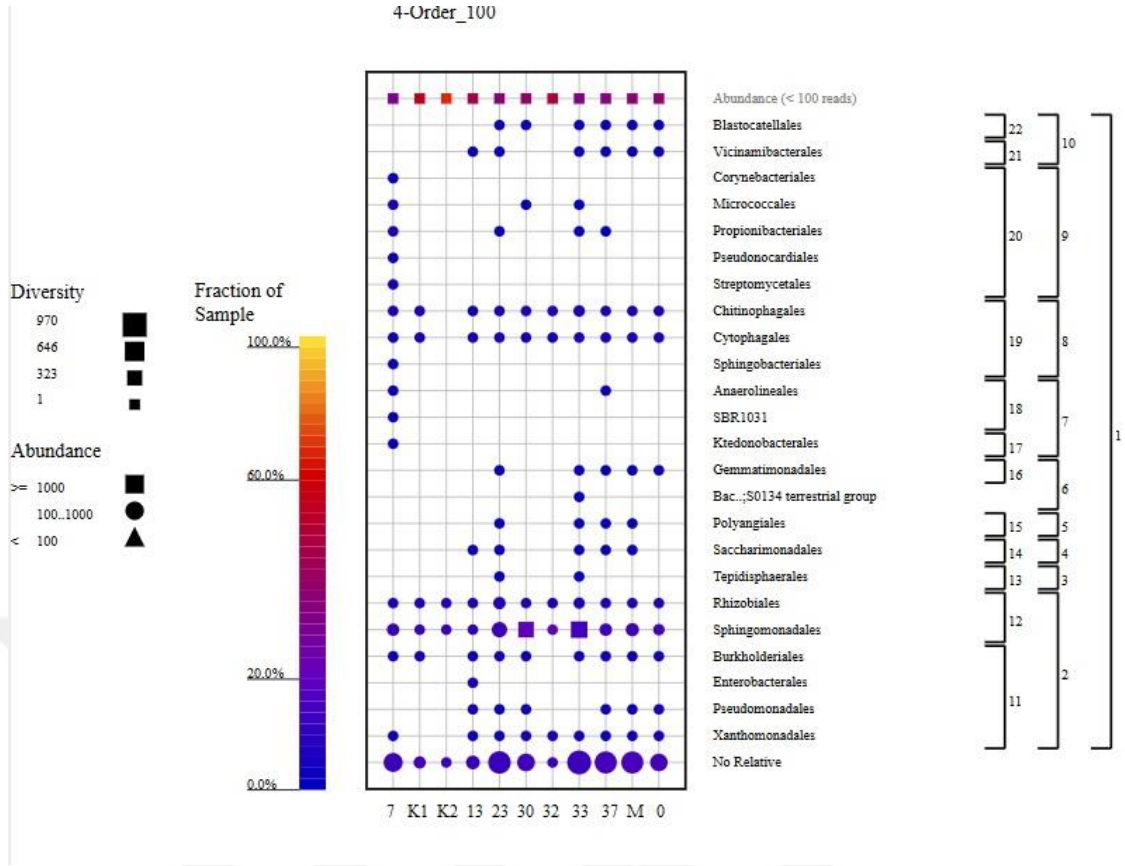
Sınıf düzeyinde yapılan meta-genomik analiz sonuçları okuma yüzdeleri olarak bar grafiklere dağıtılmış ve SYLVA programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sınıf düzeyinde yapılan meta-genomik analizler sonucu *Alphaproteobacteria* sınıfı (>%14) tüm örneklerde baskın olarak gözlemlenmiştir. SYLVA sonuçlarına göre 23 ve 33 numaralı örneklerde *Alphaproteobacteria* sınıfı en yüksek çeşitliliği göstermiştir. 7 numaralı örnekte artan *Actinobacteria* çeşitliliği ve 33 numaralı örnekte artan *Bacteroidetes* çeşitliliği dikkat çekmektedir.

4.3.4.3. Takım Düzeyinde Meta-Genomik Analizler

Takım düzeyinde meta-genomik analizler Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de gösterilmiştir.



Şekil 4.31. Takım düzeyinde dağılım grafiği

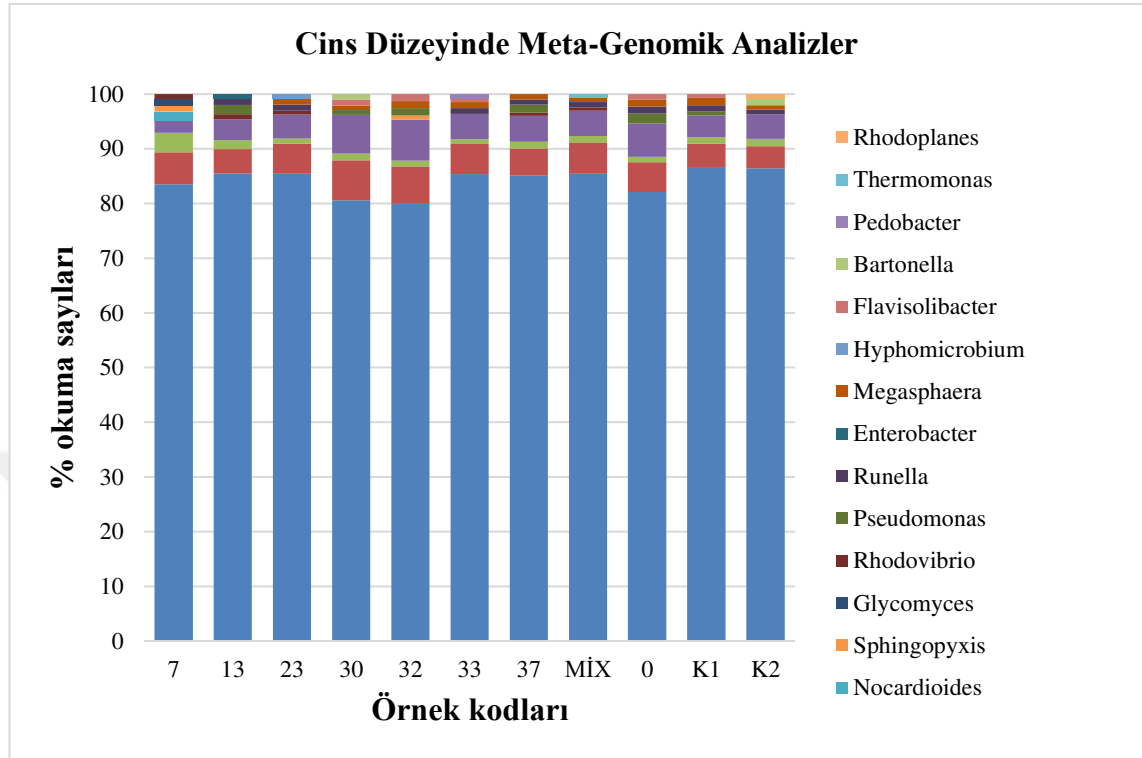


Şekil 4.32. Takım düzeyinde SYLVA analizi grafiği

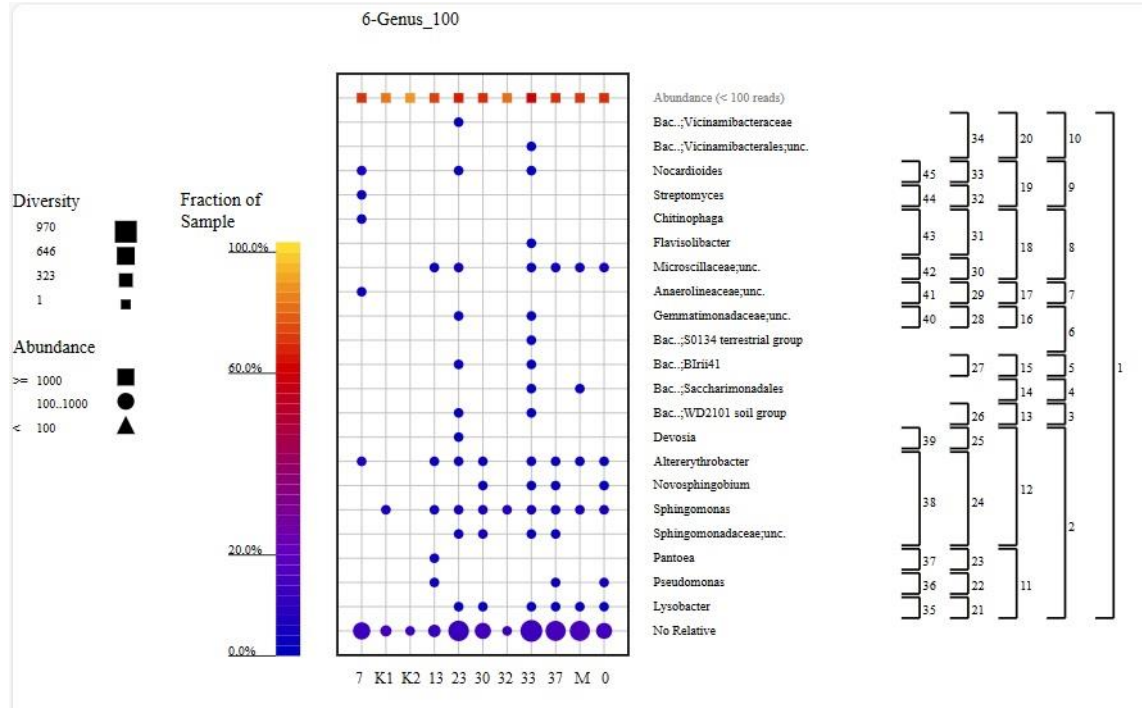
Takım düzeyinde yapılan meta-genomik analiz sonuçları okuma yüzdeleri olarak bar grafiklere dağıtılmış ve SYLVA programı kullanılarak analiz edilmiştir. 7 numaralı örnek için *Actinomycetales*, diğer tüm örnekler için (>%8) *Sphingomonadales* takımı baskın olarak tespit edilmiştir. SYLVA analizlerinde 30 ve 33 numaralı örneklerde artan *Sphingomonadales* çeşitliliği dikkat çekmektedir.

4.3.4.4. Cins Düzeyinde Meta-Genomik Analizler

Cins düzeyinde meta-genomik analizler Şekil 4.33 ve Şekil 4.24'te gösterilmiştir.



Şekil 4.33. Cins düzeyinde dağılım grafiği



Şekil 4.34. Cins düzeyinde SYLVA analizi grafiği

Cins düzeyinde yapılan meta-genomik analiz sonuçları okuma yüzdeleri olarak bar grafiklere dağıtılmış ve SYLVA programı kullanılarak analiz edilmiştir. Yapılan analizlere göre 7 (%6), 13 (%4), 23 (%5) ve MIX (%6) kodlu örneklerde *Novosphingobium* cinsi baskın olarak tespit edilmiştir. 32 (%8), 0. Zaman örneği (%6) ve K2 (%5) *Sphingomonas* cinsi baskın cins olarak gözlemlenmiştir. 30 (%7-7), 33 (%5-5) ve K1 (%4-4) örneklerinde *Novosphingobium* ve *Sphingomonas* cinsleri eşit derecede baskın gelmiştir. SYLVA sonuçları incelendiği zaman K2 deney grubunda herhangi bir cins anlamlı seviyede okuma sayısına ulaşamamıştır. Deney başlangıcında eklenen bakteri suşları cins düzeyinde gözlemlenememiştir. Yapılan meta-genomik okuma sayısının daha üst teknolojiler kullanılarak artırılması gerekmektedir.

Meta-genomik analiz sonuçları kullanılarak “Shannon Diversity Index” hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Çeşitlilik endeksini gösteren tablo Çizelge 4.12’de verilmiştir. Çeşitlilik indeksi ne kadar yüksek ise toprak mikrobiyal çeşitliliği o kadar yüksektir. Gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre şube, sınıf ve takım taksonomik basamaklarda istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenememiştir. Fakat cins düzeyinde gerçekleştirilen analizler anlamlı farklar içermektedir. Bu analizlere göre 0. zamanda doğrudan topraktan alınan numune ile K1 ve K2 kontrol grupları (ağır metal eklemesi yapıp uzun süre karıştırma prosesine tabi tutulan torf numuneleri) arasında anlamlı farklar oluşmuştur. Yani toprakta bitki gelişimi ve metal stresi ayrı ayrı mikrobiyal çeşitliliği değiştiren parametreler olmuştur. Fakat deney gruplarından 7, 30 ve 32 numaralı bakterilerin eklendiği deney grupları kontrol gruplarına göre anlamlı farklar içermektedir. Özellikle 32 numaralı deney grubunda çeşitlilik indeksi en yüksek skoru alarak önemli fark göstermiştir.

Çizelge 4.12. “Shannon diversity index” hesaplamalarının farklı taksonomik düzeylerde sonuçları

Örnek Kodu	Cins	Takım	Sınıf	Şube
7	0,732479 ^b	1,33096 ^a	1,339925 ^a	1,33096 ^a
13	0,668571 ^c	1,260333 ^a	1,321093 ^a	1,260333 ^a
23	0,647235 ^c	1,281457 ^a	1,329384 ^a	1,281457 ^a
30	0,784332 ^{ab}	1,256567 ^a	1,304884 ^a	1,256567 ^a
32	0,810493 ^a	1,267268 ^a	1,33556 ^a	1,267268 ^a
33	0,647245 ^c	1,292938 ^a	1,309901 ^a	1,292938 ^a
37	0,666113 ^c	1,257228 ^a	1,278706 ^a	1,257228 ^a
MIX	0,640314 ^c	1,269442 ^a	1,286597 ^a	1,269442 ^a
0	0,766902 ^{ab}	1,2585 ^a	1,344425 ^a	1,273567 ^a
K1	0,618674 ^c	1,239883 ^a	1,240737 ^a	1,239883 ^a
K2	0,625069 ^c	1,286109 ^a	1,297562 ^a	1,286109 ^a

*Duncan, p<0,05, Farklı harfleri taşıyan sonuçlar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur

Boros-Lajszner vd. (2021), Kadmiyum bakır ve nikel metalleri ile toprağı kontamine ederek kolza bitkisi yetiştirmişler ve mikrobiyota üzerindeki değişimleri incelemişlerdir. Yapılan meta-genomik çalışmalarda bitki kök bölgesinden alınan topraklar analiz edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre mikrobiyal çeşitlilik üzerinde ciddi bir azalma tespit edilmiştir. Özellikle *Actinobacteria* şubesi üzerinde çeşitlilik düşüşü en üst seviyede gözlemlenmiştir. Diğer taraftan *Arthrobacter*, *Devosia*, *Kaistobacter*, *Paenibacillus*, *Phycococcus*, *Rhodoplanes* ve *Thermomonas* cinsi bakteriler kontamine edilmiş ve edilmemiş alanlarda gözlemlenmiştir. Çalışmamızda bu çalışmaya benzer olarak ağır metal dirençli olarak tespit edilmiş *Paenibacillus* sp. suşu kullanılmıştır. Yapılan çalışmada *Actinobacteria* şubesinde görülen azalma çalışmamızda benzer şekilde gözlemlenmemiştir. Ancak 7 numaralı deney grubu *Actinobacteria* şubesinde artış sağlamıştır.

Fajardo vd. (2019), Kurşun, kadmiyum ve çinko ile kontamine ettikleri toprakta zamana karşı mikrobiyota üzerindeki değişimleri gözlemlenmişlerdir. Bu amaçla kontamine ettikleri toprak numunesinden 0., 40., 55. ve 160. Gün sonunda numuneler olarak metagenomik analizler gerçekleştirmişlerdir. Yapılan analizlerde şube düzeyinde kontrol grubunda %15 olan *Firmicutes* şubesi T1, T2 ve T3 zamanlarında artış göstermiş (%32, %51, %77) ve T4 zamanında biraz düşmüştür (%65). Zamana göre *Proteobacteria*, *Actinobacteria* ve *Verromicrobia* şubeleri ise giderek azalmıştır. Yapılan sınıf düzeyinde metagenomik çalışmalarda ise artan *Firmicutes* Şubesi ile beraber *Bacilli* sınıfında önemli artış gözlemlenmiştir. Araştırmacılar durumu *Bacilli* sınıfının endospor yapısı ve ağır

metal dirençli bilinen bir sınıf olmasına bağlamıştır. Tez çalışmamızda mevcut çalışmada önerilen *Bacilli* sınıfına ait *Bacillus cereus* As13 ve *Paenibacillus* sp. As30 bakteri suşları kullanılmıştır. Söz konusu araştırma ve araştırmamız arasında ağır metal içeren K2 kontrol grubu şubelerdeki azalma açısından benzerlik göstermektedir. Fakat deney gruplarında *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* şubeleri açısından K1 kontrol grubuna göre artış gözlemlenmiştir.

Zadel vd. (2020), ağır metal stresi altında bitki gelişimi ve topraktaki mikrobiyota değişimini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada *Miscanthus x giganteus* bitkisi kurşun, çinko ve kadmiyum metallerini içeren solüsyonlarla kirletilmiş topraklarda yetiştirilmiştir. Yapılan meta-genomik analizler sonucunda en zengin mikrobiyota bitkinin rizosfer kısmında gözlemlenirken, en düşük mikrobiyota çeşitliliği ise endosfer kısmında gözlemlenmiştir. Endosfer bölgesinin daha spesifik türler için uygun bir bölge olması bunun ana sebebi olarak gösterilmiştir. Rizosfer bölgesi ise bitki ve toprak mikrobiyotası arasında ilişkinin en kuvvetli olduğu bölge olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bitki gelişimi açısından en önemli cinslerin *Luteolibacter* ve *Micromonospora* cinsleri olduğu vurgulanmıştır. Tez çalışmamıza oldukça benzeyen bu çalışmada oldukça benzer sonuçlara rastlanmıştır. Bitki kökleri etrafından yapılan örneklemelerde benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Burada en büyük fark bambu benzeri büyük bir bitki karşısında bizim çalışmamızda otsu formda bir bitki olan arpa kullanmamızdır. Farklı bitkilerde yapılan çalışmalar benzer sonuçlar vermiştir.

Chen vd. (2018), Çin’de bulunan nehir yataklarından aldıkları sediment numunelerinde ağır metal kirliliği ve mikrobiyota çeşitliliği üzerine araştırmalar yapmıştır. Yaptıkları araştırmada birbirine yakın olan 3 nehirden aldıkları sedimentleri BY, DGG ve MQ olarak kodlayarak 3 çalışma grubu halinde araştırmalar yapmıştır. Her üç sediment örneğinde çinko, arsenik ve kadmiyum miktarları kabul edilebilir sınırların üzerinde çıkmıştır ve MQ ve DGG kodlu sedimentleri diğer sedimente göre daha kirli olarak tespit etmişlerdir. Yapılan meta-genomik analizlerde ise ağır metal kirliliğine paralel olarak MQ ve DGG kodlu sediment örneklerinde okuma sayıları daha düşük çıkmıştır. Tüm sediment örneklerinde baskın şube olarak *Proteobacteria* tespit edilmiştir. DGG kodlu örnek ağır metal kirliliği yüksek olmasına rağmen çeşitlilik açısından yüksek skorlar vermiştir. Yapılan bir diğer meta-genomik çalışmada fonksiyonel genler açısından (mercuryII-reductase, arsenite-transpostingATPase vs.) DGG kodlu örnek diğer örneklerle göre yüksek sonuçlar vermiştir. Ağır metal direnci ve adaptasyondan sorumlu genleri bulunduran mikroorganizmaların ağır metal stresi altında yaşamını ve çeşitliliğini

sürdürebileceği vurgulanmıştır. Sediment örneklerinde yapılan çalışmalarda tez çalışmamıza benzer şekilde baskın şube olarak *Proteobacteria* şubesi bulunmuştur. Çalışma sonuçları tez çalışmamıza benzer şekilde ağır metal kontaminasyonun mikrobiyota üzerinde olumsuz etkilerini ortaya koymuştur. Ağır metal dirençli bakterilerin kullanımının mikrobiyotanın çeşitlilik ve büyüklüğü açısından önemini gösteren bu çalışma, tez çalışmamızda deneylerde kullandığımız bakteri suşlarının önemini vurgulamaktadır. Ağır metal biyoremediasyonu yapan suşlar toprak yapısındaki toksisiteyi azaltarak mikrobiyotanın normale dönmesi açısından büyük katkı sağlamaktadır. Biyoremediasyon uygulamaları, sadece tarım gibi uygulamalarda verim artışının yanında ekolojik dengemin devamlılığını sağlama sorununa çözüm olacak uygulamalardır.

Frossard vd. (2017), toprakta artan cıva miktarının bakteriyel ve fungal mikrobiyota üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Yapılan çalışmada toprak numunelerine 0.32, 3.2 ve 32 µg/g seviyesinde cıva eklenmiştir. 30 günlük çalışma sonunda yapılan meta-genomik analizler sonunda artan cıva miktarının bakteriyel ve fungal mikrobiyota çeşitliliği ve sayıları üzerinde düşüşe yol açtığını gözlemlemiştir. Aynı zamanda artan cıva miktarının cıva direncinden sorumlu genlerin ifadesinin artışı kantitatif PZR yöntemi ile tespit edilmiştir. Tez çalışmamıza benzer şekilde ağır metal stresinin mikrobiyota açısından olumsuz etkileri bakteriyel ve fungal olarak ele alınmıştır. Sonuçlar ve tez çalışmamızın sonuçları benzerlik göstermektedir. Burada fonksiyel genler olarak bahsedilen ağır metal direnç mekanizmalarından sorumlu genlerden bir kısmı deney gruplarında kullandığımız bakteri suşlarında tespit edilmiştir. Bu genler tarafından kontrol edilen mekanizmaların ağır metal stresi altında ne kadar önemli olduğu çalışma tarafından ortaya konmuştur.

Bitki denemelerinde kullanılan torf numunelerinden yapılan meta-genomik analizlerin okuma sonuçları ağır metal stresi olan torf numunesinde bakteri sayısının ağır metal stresi olmayan torf numunesine oranla %54 azaldığını göstermiştir. 32 numaralı deney grubu hariç tüm deney gruplarından elde edilen okuma sayıları ise ağır metal stresi olmayan deneme grubundan yüksek bakteri sayıları vermiştir. Burada ortama adapte olan ağır metal dirençli bakterilerin etkisinin yanında bitki-bakteri simbiyotik ilişkisinin önemi göz ardı edilmemelidir. Cins düzeyinde yapılan analizler sonucunda deney gruplarına eklenen bakteriler mikrobiyotada baskın olarak tespit edilememiştir. Eklenen bakteriler mikrobiyotada baskın olarak gözlemlenmese bile farklı cins bakterilerin artışı ve varlığı gözlemlenmiştir. Özellikle *Ochrabactrum anthropi* As7, *Delftia Tsuruhatensis* As23,

Paenibacillus sp. As33 ve *Delftia* sp. As37 suşlarının eklendiği deney grupları 10000 üzerinde okuma sayıları ile dikkat çekmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çağımızda giderek artan ağır metal kirliliği ekolojik denge, insan ve hayvan sağlığı, tarım ürünlerinin verimi ve kalitesi, deniz ürünlerinin kalitesi gibi birçok hayati alanda tehdit haline gelmiştir. Gelişmiş ülkeler bu sorunu önleme çalışmalarının ve mevcut kirliliği gidermek amaçlı doğal yollara ilgi duymaktadır. Şüphesiz bu yöntemler arasında son zamanlar da en popüler olanı biyoremediasyon teknikleridir. Ülkemizde rapor edilen ağır metal kirliliği çalışmaları incelendiği zaman özellikle sanayi bölgelerinde rapor edilen metal kirliliği tehlike limitlerine ulaşmıştır. Tez çalışmamızda özellikle verimi düşen tarım arazileri göz önünde bulundurularak ağır metal dirençli bakterilerin biyoremediasyon potansiyelleri araştırılmıştır.

Bakterilerin ağır metal giderim kapasitelerini test etmek amaçlı besiyeri ortamında yapılan testlerde, çinko için %35,9, kadmiyum için %72,5, arsenik için %85,1, bakır için %31,1, kurşun için %89,4 ve cıva için %96,1 oranlarında ağır metal giderimi tespit edilmiştir. Bakterilerin yüksek biyoremediasyon kapasiteleri çalışmanın devamı açısından önemli sonuçlar vermiştir. Deneylerde kullanılan 7 bakteri suşu arasında *Delftia tsuruhatensis* As23, *Pseudomonas* sp. As30 ve *Delftia* sp. As37 suşları metal giderim düzeyleri açısından diğer bakteri suşları açısından daha yüksek sonuçlar göstermiştir.

Bitki verimini test etmek açısından yaptığımız testlerde ağır metallerle kontamine edilmiş olan bitki torfunda hem gıda ve yem olarak kullanılan arpa bitkisi yetiştirilmiştir. Kontrol grubuna oranla literatürde bahsedildiği gibi bitki boyu, kök uzunluğu, yaş ağırlık ve çimlenen tohum sayısı parametreleri değerlendirildiğinde bitki veriminde önemli düşüş gözlemlenmiştir. Biyoremediasyon amaçlı ilk sulama suyuna eklenen bakterilerin olduğu deney gruplarının bazıları ağır metal kaynaklı verim kaybını tamamen ortadan kaldırırken bazıları ağır metal stresi uygulanan kontrol grubuna göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu denemeler sonucunda *Bacillus cereus* As13, *Delftia tsuruhatensis* As23 ve *Paenibacillus* sp. As33 bakteri suşlarının eklendiği deney grupları istatistiksel olarak diğer deney gruplarına oranla daha yüksek etki göstermiştir. Saksı denemeleri sonucunda bitki kökü çevresinden alınan torf numunelerinde yapılan metal analizlerinde sonuçlar şaşırtıcı bir görüntü vermiştir. Verim açısından istatistiksel olarak fark gösteremeyen MIX grubu ağır metal giderimi açısından diğer bakteri suşlarının olduğu deney gruplarına göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Burada kullanılan ağır metal dirençli 7 farklı bakteri suşunun karışımı toprakta metal giderimi açısından başarılı olmuştur. Fakat bitki ve

bakteri arasındaki simbiyotik ilişki sağlanamamış ve verim açısından etkili olmamıştır. Bir karışım olan MİX grubu bitki verimi yönünden olmasa da ağır metal giderimi gereken durumlarda kullanılabilir olduğunu göstermiştir. Saksı denemeleri sonucunda bitkilerde yapılan ağır metal analizleri ise topraktaki sonuçlardan daha farklıdır. Toprakta en yüksek giderim yüzdelere sahip olan MİX grubu bu defa birçok metal açısından son sırada yer almıştır. Bu durum bir önceki paragrafta bahsettiğimiz bitki-bakteri simbiyotik ilişkisinin kurulamadığını doğrular niteliktedir. Sonuçlara göre farklı metallerde farklı bakteriler diğerlerinden farklı sonuçlar verse de genel olarak bitki organlarında biriken metal miktarları kontrol grubuna göre önemli düşüş göstermiştir. Torf numunelerinde yapılan meta-genomik analizlere göre okuma sayıları kontrol grubuna oranla deney gruplarında daha fazla bakteri yükü olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda farklı taksonomik düzeyde yapılan analizlerde deney gruplarında mikrobiyota çeşitliliği açısından olumlu sonuçlar vermiştir.

Tez çalışmamız literatürde yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığı zaman 7 bakteri suşu ve 6 farklı ağır metal kullanılarak yapılan denemeler ile kapsamlı bir çalışma olmuştur. Ayrıca Burdur Gölü'nden izole edilen bakteriler kullanılarak yapılan tek çalışmadır. Bu kapsamda yapılan çalışmamız literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

Tüm bu sonuçlara bakarak bakteri suşlarının yüksek biyoremediasyon potansiyeline sahip olduğunu söyleyebiliriz. Burdur Gölü'nden izole edilen bakterilerin bölgenin madencilik ve arıtma kaynaklı sorunlarına çözüm olma potansiyeli ortaya çıkmıştır. Tez çalışması sonrasında bakteri suşları için saha denemeleri ve daha derin araştırmalar planlanmaktadır.

Çalışmamız sonuçları Burdur Gölü'nün bölge ve ülkemiz açısından ne kadar önemli bir habitat olduğunu tekrar göstermiştir. Deneylerde kullanılan bakteri suşlarının tamamı Burdur Gölü'nden izole edilmiştir. Biyoremediasyon gibi önemli bir biyoteknolojik işlem için önemli suşlar bu kaynaktan izole edilmiştir. Çalışmamız sonuçları Burdur Gölü'nün biyoteknolojik açıdan önemli bir bakteri ve gen havuzu olduğunu ortaya koymuştur. Gelecekte yapılacak daha kapsamlı çalışmalar ile gölden daha önemli suşların elde edilme potansiyeli vardır. Bu açıdan gölün korunması için gerekli tedbir ve uygulamaların yapılması önem arz etmektedir.

Nüfus artışı ve gıdaya ulaşım açısından yaşanan sorunların en efektif çözümlerden bir tanesi muhakkak verimsiz arazilerin üretime kazandırılması olacaktır. Tez çalışmamız bu açıdan önemli sonuçlar elde etmiştir. Biyoremediasyon uygulanabilirliği laboratuvar şartlarında test edilmiş bakteri suşları saha denemeleri sonucu özellikle sanayi ve otoyol

kenarında yer alan tarım arazilerinin verimini artırmak için önemli çözüm önerisi sunmaktadır.

Tarım arazilerinin yanında ağır metaller tarafından en çok tehdit edilen unsur ise su kaynakları ve sucul ortamlardır. Ağır metal giderim kapasitesi tespit edilen bakteri suşları bu yönde yapılacak araştırmalar için materyal sağlamaktadır.

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bölgesel Kalkınma Amaçlı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması kapsamında “Burdur ili sektörel rekabet gücünün artırılması: tarım ve hayvancılıkta farklılaşarak bütünleşik kalkınma” isimli önemli bir misyon edinmiştir. Bu proje kapsamında tez projemiz ek bütçe ile desteklenmiştir. Tez projemiz önemli bir yem bitkisi olan arpada verim artışı sağlamıştır. Hayvancılık sektöründe yaşanan yem sorunları açısından önemli çözümler vaad etmektedir.

Biyoremediasyon açısından incelenen bakteri suşlarımız sadece biyoremediasyon değil fitoremediasyon çalışmaları için de önemlidir. Fitoremediasyon işlemlerinde bitkiler ile beraber kullanılan bakterilerin remediasyon verimini artırdığı gözlemlenmiştir.

Ülkemizde henüz yaygın olmayan biyoremediasyon uygulamaları yakın gelecekte zaruri hale gelecektir. Bu zaruriyet durumu için ülkemizin imkanlar ile elde edilen bakteri suşları önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelbary, S., Elgamal, M. S., ve Farrag, A. (2019). Trends in heavy metals tolerance and uptake by *Pseudomonas aeruginosa*. Dinesh Sriramulu (Ed.), *Pseudomonas Aeruginosa-An Armory Within* (1-12). Londra: IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.77869>
- Adam, A., Saad, H., Atta, A., Alsawat, M., Hegab, M., Altalhi, T. ve Refat, M. (2021). An environmentally friendly method for removing hg(ii), pb(ii), cd(ii) and sn(ii) heavy metals from wastewater using novel metal-carbon-based composites. *Crystals*, 11(8), 882. <https://doi.org/10.3390/cryst11080882>
- Adediran, G. A., Ngwenya, B. T., Mosselmans, J. F. W. ve Heal, K. V. (2016). Bacteria-zinc co-localization implicates enhanced synthesis of cysteine-rich peptides in zinc detoxification when *Brassica juncea* is inoculated with *Rhizobium leguminosarum*. *New Phytologist*, 209(1), 280-293. <https://doi.org/10.1111/nph.13588>
- Afiyatillah, G., Wang, L., Hariyadi, S., Simanjuntak, C., Riani, E., Rostika, R. ve Kleinertz, S. (2022). Heavy metals (hg, cd, pb, cu) in greenback mullets (*planiliza subviridis valenciennes*, 1836) from bojonegara coastal waters, banten bay, indonesia. *Ilmu Kelautan Indonesian Journal of Marine Sciences*, 27(2), 169-180. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.27.2.169-180>
- Agho, T., Okpara, B. ve Akubuiro, P. (2022). Concentration and toxicological risk assessment of heavy metal pollution in dumpsite soils within benin city, nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 25(11), 1859-1868. <https://doi.org/10.4314/jasem.v25i11.3>
- Akhtar, M. J., Ullah, S., Ahmad, I., Rauf, A., Nadeem, S. M., Khan, M. Y. ve Bulgariu, L. (2018). Nickel phytoextraction through bacterial inoculation in *Raphanus sativus*. *Chemosphere*, 190, 234-242. <http://dx.doi.org/10.14710/ik.ijms.27.2.169-180>
- Aldas-Vargas, A., Poursat, B., ve Sutton, N. (2022). Potential and limitations for monitoring of pesticide biodegradation at trace concentrations in water and soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(12). <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03426-x>
- Algül, F. ve Beyhan, M. (2020). Concentrations and sources of heavy metals in shallow sediments in lake bafa, turkey. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68833-2>
- Alhashimi, I. S., Abdul-Jabbar, R. A., ve Issa, S. K. (2023). The ability of *Acinetobacter haemolyticus* isolated from soil removes heavy elements (Cd, Pb, Zn, Ni). *Materials Today: Proceedings*, 80, 2448-2457. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2021.06.382>

- Ali, S., Abbas, Z., Rizwan, M., Zaheer, I., Yavaş, İ., Ünay, A., Abdel-DAIM, M.M., Bin-Jumah, M., Hasanuzzaman, M. ve Kalderis, D. (2020). Application of floating aquatic plants in phytoremediation of heavy metals polluted water: a review. *Sustainability*, 12(5), 1927. <https://doi.org/10.3390/su12051927>
- Al-Mijalli, S. H. (2022). Bioadsorptive removal of the pollutant Zn (II) from wastewater by *Delftia tsuruhatensis* biomass. *Applied and Environmental Soil Science*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/4316954>
- Ameh, G., Nwamba, H., Nwani, C., ve Ofordile, E. (2020). Effects of heavy metals on agronomic attributes of some selected cereal crops (zea mays and sorghum bicolor). *Journal of Applied Life Sciences International*, 24-30. <https://doi.org/10.9734/jalsi/2020/v23i930184>
- An, Y., Wang, Y., Tan, S., Yusof, M., Ghosh, S. ve Chen, Z. (2020). Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00359>
- Andrey, G., Rajput, V., Tatiana, M., Saglara, M., Svetlana, S., Igor, K. Grigoryeva, T., Vasily, C., Iraida, A., Vladislav, Z., Elena, F. ve Hasmik, M. (2019). The role of biochar-microbe interaction in alleviating heavy metal toxicity in *Hordeum vulgare* L. grown in highly polluted soils. *Applied Geochemistry*, 104, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.03.017>
- Asiandu, A., Wahyudi, A., ve Sari, S. (2021). Aquatic plastics waste biodegradation using plastic degrading microbes. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*, 11(5) e3724. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.3724>
- Assabar, N., Lahmidi, I. ve Jabrane, R. (2023). Assessment of heavy metals contamination in spoil heaps of ain aouda mine (taza, morocco). *Journal of Ecological Engineering*, 24(3), 224-231. <https://doi.org/10.12911/22998993/157519>
- Aulitto, M., Gallo, G., Puopolo, R., Mormone, A., Limauro, D., Contursi, P., Piochi, M., Bartolucci, S. ve Fiorentino, G. (2021). Genomic insight of *alicyclobacillus mali* fl18 isolated from an arsenic-rich hot spring. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.639697>
- Ayangbenro, A. ve Babalola, O. (2020). Genomic analysis of *bacillus cereus* nwuab01 and its heavy metal removal from polluted soil. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75170-x>
- Ayele, A. ve Godeto, Y. (2021). Bioremediation of chromium by microorganisms and its mechanisms related to functional groups. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-21. <https://doi.org/10.1155/2021/7694157>
- Azab, E. ve Hegazy, A. (2020). Monitoring the efficiency of *rhazya stricta* l. plants in phytoremediation of heavy metal-contaminated soil. *Plants*, 9(9), 1057. <https://doi.org/10.3390/plants9091057>

- Aznardi, S., Madduppa, H. ve Ismet, M. (2023). Concentration of heavy metals in green mussels (*perna viridis*) of lampung bay and their symbione bacterial resistance. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 14(3), 395-404. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v14i3.38946>
- Babu, A. G., Kim, J. D. ve Oh, B. T. (2013). Enhancement of heavy metal phytoremediation by *Alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1. *Journal of Hazardous Materials*, 250, 477-483. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.02.014>
- Babu, A. G., Shea, P. J., Sudhakar, D., Jung, I. B. ve Oh, B. T. (2015). Potential use of *Pseudomonas koreensis* AGB-1 in association with *Miscanthus sinensis* to remediate heavy metal (loid)-contaminated mining site soil. *Journal of Environmental Management*, 151, 160-166. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.045>
- Balíková, K., Vojtková, H., Duborská, E., Kim, H., Matúš, P. ve Urik, M. (2022). Role of exopolysaccharides of *pseudomonas* in heavy metal removal and other remediation strategies. *Polymers*, 14(20), 4253. <https://doi.org/10.3390/polym14204253>
- Baran, M., Düz, M., Baran, A., Keskin, C. ve Aktepe, N. (2022). Removal of heavy metals in water with biosorbption method using different biosorbents. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(3), 449-458. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.941201>
- Batkhuu, N., Matyakubov, B., Mang, N. ve Lee, T. (2021). Additive inhibitory effects of heavy metals on phenol-utilizing microorganism. *Environmental Engineering Research*, 27(5), 210342-0. <https://doi.org/10.4491/eer.2021.342>
- Belimov, A. A., Kunakova, A. M., Safronova, V. I., Stepanok, V. V., Yudkin, L. Y., Alekseev, Y. V. ve Kozhemyakov, A. P. (2004). Employment of rhizobacteria for the inoculation of barley plants cultivated in soil contaminated with lead and cadmium. *Microbiology*, 73(1), 99-106. <http://dx.doi.org/10.1023/B:MICL.0000016377.62060.d3>
- Benmalek, Y. ve Fardeau, M. L. (2016). Isolation and characterization of metal-resistant bacterial strain from wastewater and evaluation of its capacity in metal-ions removal using living and dry bacterial cells. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13, 2153-2162. <http://dx.doi.org/10.1007/s13762-016-1048-6>
- Bhakta, J. N., Ohnishi, K., Munekage, Y., Iwasaki, K. ve Wei, M. Q. (2012). Characterization of lactic acid bacteria-based probiotics as potential heavy metal sorbents. *Journal of Applied Microbiology*, 112(6), 1193-1206. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05284.x>
- Bhat, S., Maughan, H., Cameron, A. ve Yost, C. (2022). Phylogenomic analysis of the genus *delftia* reveals distinct major lineages with ecological specializations. *Microbial Genomics*, 8(9). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000864>

- Bilge, U. ve Çimrin, K. M. (2013). Viranşehir-Kızıltepe karayolu kenarındaki topraklarda motorlu taşıtlardan kaynaklanan ağır metal kirliliği. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 19(2013), 323-329.
- Boros-Lajszner, E., Wyszowska, J., Borowik, A. ve Kucharski, J. (2021). The response of the soil microbiome to contamination with cadmium, cobalt and nickel in soil sown with brassica napus. *Minerals*, 11(5), 498. <http://dx.doi.org/10.3390/min11050498>
- Borozan, A., Misca, C., Morar, A., Obistioiu, D., Raba, D., Pîrvulescu, L., Raba, D.N., Obistioiu, D., Morar, A., Misca, C.D. ve Petcu, C. (2021). Soil pollution with heavy metals and bioremediation methods. *Agrolife Scientific Journal*, 10(1), 54-66. <https://doi.org/10.17930/agl202115>
- Briffa, J., Sinagra, E. ve Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), e04691. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
- Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V. ve Uricchio, V. (2020). A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1212. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041212>
- Canal, S. B., Bozkurt, M. A. ve Yilmaz, H. (2022). Effects of Humic Acid and EDTA on Phytoremediation, Growth and Antioxidant Activity in Rapeseed (*Brassica napus* L.) Grown under Heavy Metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(5), 4051-4060. <https://doi.org/10.15244/pjoes/148120>
- Canbay, H. S. ve Saltan, F. Z. (2015). Eskişehir'de Halk Arasında Kullanılan Bazı Bitkilerdeki Ağır Metal ve Besin Elementlerinin Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(1), 83-90. <https://doi.org/10.19113/sdufbed.63091>
- Canbolat, M. Y., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F. ve Aydın, A. (2006). Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils*, 42(4), 350-357. <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-005-0034-9>
- Cassone, B., Grove, H., Elebute, O., Villanueva, S. ve LeMoine, C. (2020). Role of the intestinal microbiome in low-density polyethylene degradation by caterpillar larvae of the greater wax moth, galleria mellonella. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 287(1922), 20200112. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0112>
- Chang, J. S., Kim, Y. H. ve Kim, K. W. (2008). The ars genotype characterization of arsenic-resistant bacteria from arsenic-contaminated gold-silver mines in the Republic of Korea. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(1), 155-165. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-008-1524-0>
- Chen, B., Luo, S., Wu, Y., Ye, J., Wang, Q., Xu, X., Pan, F., Khan, K.Y., Feng, Y. ve Yang, X. (2017). The effects of the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens*

- Sasm05 and IAA on the plant growth and cadmium uptake of *Sedum alfredii* Hance. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2538. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.02538>
- Chen, H., Jiang, H., Nazhafati, M., Li, L. ve Jiang, J. (2023). Biochar: an effective measure to strengthen phosphorus solubilizing microorganisms for remediation of heavy metal pollution in soil. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1127166>
- Chen, J. (2022, December). Evaluation of Heavy Metal Pollution in Soil A Mathematical Method for Determining the Source of Pollution. In *2022 International Conference on mathematical statistics and economic analysis (MSEA 2022)* (pp. 406-412). Atlantis Press. https://doi.org/10.2991/978-94-6463-042-8_59
- Chen, L., He, L. Y., Wang, Q. ve Sheng, X. F. (2016). Synergistic effects of plant growth-promoting *Neorhizobium huautlense* T1-17 and immobilizers on the growth and heavy metal accumulation of edible tissues of hot pepper. *Journal of Hazardous Materials*, 312, 123-131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jagee.2016.05.006>
- Chen, L., Luo, S., Li, X., Wan, Y., Chen, J. ve Liu, C. (2014). 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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.021>
- Chen, M., Jiang, X., Mi, Z., Li, Y., Wang, Z., Xu, X. ve Zheng, C. (2021). Heavy metal accumulation affects the structure of microorganisms and increases abundance of resistance genes in rare earth mining areas. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-639794/v1>
- Chen, S., Wu, P., Zha, X., Zhou, B., Liu, J. ve En, L. (2023). Arsenic and heavy metals in sediments affected by typical gold mining areas in southwest china: accumulation, sources and ecological risks. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(2), 1432. <https://doi.org/10.3390/ijerph20021432>
- Chen, W. M., Wu, C. H., James, E. K. ve Chang, J. S. (2008). Metal biosorption capability of *Cupriavidus taiwanensis* and its effects on heavy metal removal by nodulated *Mimosa pudica*. *Journal of Hazardous Materials*, 151(2-3), 364-371. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.082>
- Chen, X., Jiang, W., Tong, T., Chen, G., Zeng, F., Jang, S., Gao, W., Li, Z., Mak, M., Deng, F. ve Chen, Z. (2021). Molecular interaction and evolution of jasmonate signaling with transport and detoxification of heavy metals and metalloids in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.665842>
- Chlebek, D., Płociniczak, T., Gobetti, S., Kumor, A., Hupert-Kocurek, K. ve Pacwa-Płociniczak, M. (2021). Analysis of the genome of the heavy metal resistant and hydrocarbon-degrading rhizospheric *pseudomonas qingdaonensis* zcr6 strain and assessment of its plant-growth-promoting traits. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 214. <https://doi.org/10.3390/ijms23010214>

- Cho, K. (2020). Plant growth-promoting bacteria for remediation of heavy metal contaminated soil: characteristics, application and prospects. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48(4), 399-421. <https://doi.org/10.48022/mbi.2008.08015>
- Crovadore, J., Cochard, B., Chablais, R., Haenzi, M., Raffini, F. ve Lefort, F. (2020). Draft genome sequences of pseudomonas korensis strain uasws1668, bacillus megaterium strain uasws1667, an paenibacillus sp. strain uasws1643, considered potential plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiology Resource Announcements*, 9(33). <https://doi.org/10.1128/mra.00768-20>
- Darma, A., Yang, J., Zandi, P., Liu, J., Mozdzeń, K., Xia, X., Sani, A., Wang, Y. ve Schnug, E. (2022). Significance of shewanella species for the phytoavailability and toxicity of arsenic—a review. *Biology*, 11(3), 472. <https://doi.org/10.3390/biology11030472>
- Dartan, G. ve Toröz, İ. (2013). Güney Marmara Bölgesinde Tarım Topraklarında Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 25(1), 24-40. <https://doi.org/10.7240/mufbed.v25i1.024>
- Daşdemir, A. (2015). İstanbul Avrupa yakası otoban kenarlarındaki tarım arazilerinde ağır metal kirliliğinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Dell'Amico, E., Cavalca, L., ve Andreoni, V. (2008). Improvement of Brassica napus growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 74-84. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.024>
- Demircan, O. ve Memon, A. (2022). Bioremediation of heavy metals by use of bacteria. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(2), 134-141. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i2.134-141.4530>
- Desoky, E. S. M., Merwad, A. R. M., Semida, W. M., Ibrahim, S. A., El-Saadony, M. T. ve Rady, M. M. (2020). Heavy metals-resistant bacteria (HM-RB): Potential bioremediators of heavy metals-stressed Spinacia oleracea plant. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 198, 110685. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110685>
- Diba, H., Cohan, R. A., Salimian, M., Mirjani, R., Soleimani, M., ve Khodabakhsh, F. (2021). Isolation and characterization of halophilic bacteria with the ability of heavy metal bioremediation and nanoparticle synthesis from Khara salt lake in Iran. *Archives of microbiology*, 203, 3893-3903. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02380-w>
- Dibbisa, D. ve Wagari, G. (2022). In silico study of mercury resistance genes extracted from pseudomonas spp. involved in bioremediation: understanding the promoter regions and regulatory elements. *International Journal of Genomics*, 2022, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2022/6185615>
- Du, X. ve Zhao, M. (2021). Preparation and characterization of manganese-containing biochars and their lead ion adsorption mechanism. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 99(S1). <https://doi.org/10.1002/cjce.23998>

- Durand, A., Piutti, S., Rue, M., Morel, J. L., Echevarria, G. ve Benizri, E. (2016). Improving nickel phytoextraction by co-cropping hyperaccumulator plants inoculated by plant growth promoting rhizobacteria. *Plant and Soil*, 399, 179-192.
- Efe, D. (2020). Potential plant growth-promoting bacteria with heavy metal resistance. *Current Microbiology*, 77(12), 3861-3868. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02208-8>
- El-Meihy, R. M., Abou-Aly, H. E., Youssef, A. M., Tewfike, T. A. ve El-Alkshar, E. A. (2019). Efficiency of heavy metals-tolerant plant growth promoting bacteria for alleviating heavy metals toxicity on sorghum. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 295-301. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.03.005>
- Fajardo, C., Costa, G., Nande, M., Botías, P., García-Cantalejo, J. ve Martín, M. (2019). Pb, Cd, and Zn soil contamination: monitoring functional and structural impacts on the microbiome. *Applied Soil Ecology*, 135, 56-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.10.022>
- Fashola, M. (2020). Heavy metal tolerance bacillus spp isolated from crude oil polluted soil. *Journal of Research and Review in Science*, 7(1). <https://doi.org/10.36108/jrrslasu/0202.70.0180>
- Franco-Franklin, V., Moreno-Riascos, S. ve Ghneim-Herrera, T. (2021). Are endophytic bacteria an option for increasing heavy metal tolerance of plants a meta-analysis of the effect size. *Frontiers in Environmental Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.603668>
- Frossard, A., Hartmann, M. ve Frey, B. (2017). Tolerance of the forest soil microbiome to increasing mercury concentrations. *Soil Biology and Biochemistry*, 105, 162-176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.11.016>
- Gallo, V., Serianni, V., Imperiale, D., Zappettini, A., Villani, M., Marmiroli, M. ve Marmiroli, N. (2022). Protein analysis of a. halleri and n. caerulescens hyperaccumulators when exposed to nano and ionic forms of cd and zn. *Nanomaterials*, 12(23), 4236. <https://doi.org/10.3390/nano12234236>
- Galperin, Y. ve Odencrantz, J. (2022). Biodegradation dynamics disparity between n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in the vadose zone: a critical review. *Remediation Journal*, 32(1-2), 119-128. <https://doi.org/10.1002/rem.21712>
- Gao, M., Xiong, C., Gao, C., Tsui, C., Wang, M., Zhou, X., Zhang, A. ve Cai, L. (2021). Disease-induced changes in plant microbiome assembly and functional adaptation. *Microbiome*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01138-2>
- Gaur, V., Sharma, P., Gaur, P., Varjani, S., Ngo, H., Guo, W., Chaturvedi, P. ve Singhania, R. (2021). Sustainable mitigation of heavy metals from effluents: toxicity and fate with recent technological advancements. *Bioengineered*, 12(1), 7297-7313. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1978616>

- Gebeyehu, H. ve Bayissa, L. (2020). Levels of heavy metals in soil and vegetables and associated health risks in mojo area, ethiopia. *Plos One*, 15(1), e0227883. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227883>
- Giao, N., Nhien, H. ve Anh, P. (2022). Evaluating ecological risk associated with heavy metals in agricultural soil in dong thap province, vietnam. *Environment and Natural Resources Journal*, 20(6), 1-13. <https://doi.org/10.32526/ennrj/20/202200114>
- Gunjal, A. (2021). Study of langmuir kinetics for removal of heavy metals by the fungal biomass. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 87(1), 107-109. <https://doi.org/10.1007/s43538-021-00011-y>
- Guo, H., Luo, S., Chen, L., Xiao, X., Xi, Q., Wei, W., Zeng, G., Liu, C., Wan, Y., Chen, J. ve He, Y. (2010). Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulaor endophytic bacterium *Bacillus* sp. L14. *Bioresource Technology*, 101(22), 8599-8605. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.085>
- Guo, J., Lv, X., Jia, H., Hua, L., Ren, X., Muhammad, H., Wei, T. ve Ding, Y. (2020). Effects of EDTA and plant growth-promoting rhizobacteria on plant growth and heavy metal uptake of hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Environmental Sciences*, 88, 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.10.001>
- Han, M., Yang, H., Ding, N., You, S. ve Yu, G. (2021). The role of plant-associated bacteria in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *E3s Web of Conferences*, 261, 04006. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202126104006>
- Han, Y., Sun, B., Yan, H., Tucker, M., Zhao, Y., Zhou, J., Zhao, Y. ve Zhao, H. (2020). Biomineralization of carbonate minerals induced by the moderate halophile *staphylococcus warneri* yxy2. *Crystals*, 10(2), 58. <https://doi.org/10.3390/cryst10020058>
- Hassan, I. (2021). Applications of electrokinetic remediation in environmental restoration. *Proceedings of the 6th World Congress on Civil, Structural, and Environmental Engineering (CSEE'21)* Lisbon, Portugal Virtual Conference – June 21 – 23, 2021 Paper No. ICEPTP 103. <https://doi.org/10.11159/iceptp21.lx.103>
- Havryliuk, O., Hovorukha, V., Sachko, A., Gladka, G., Bida, I. ve Tashyrev, O. (2021). Bioremoval of hazardous cobalt, nickel, chromium, copper and cadmium compounds from contaminated soil by *nicotiana tabacum* plants and associated microbiome. *Biosystems Diversity*, 29(2), 88-93. <https://doi.org/10.15421/012112>
- He, H., Ye, Z., Yang, D., Yan, J., Xiao, L., Zhong, T., Ming, Y., Cai, X., Fang, Z. ve Jing, Y. (2013). Characterization of endophytic *Rahnella* sp. JN6 from *Polygonum pubescens* and its potential in promoting growth and Cd, Pb, Zn uptake by *Brassica napus*. *Chemosphere*, 90(6), 1960-1965. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.10.057>
- He, J., Strezov, V., Zhou, X., Kan, T. ve Kumar, R. (2020). Effect of phosphate pretreatments on properties of pyrolytic products from heavy-metal-contaminated

biomass. *Energy & Fuels*, 34(12), 15322-15331.
<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c02296>

He, X., Wang, D., Jiang, Y., Li, M., Delgado-Baquerizo, M., McLaughlin, C., Marcon, C., Guo, L., Baer, M., Moya, Y., Wirén, N., Deichmann, M., Schaaf, G., Piepho, H.P., Yang, Z., Yang, J., Yim, B., Smalla, K., Goormachtig, S., Vries, F., Hüging, H., Sawers, R.J.H., Reif, J.C., Hochholdinger, F., Chen, X. ve Yu, P. (2023). Heritable microbiome variation is correlated with source environment in locally adapted maize varieties. *Nat Plants*, 10(4):598-617.
<https://doi.org/10.1101/2023.01.10.523403>

Henagamage, A. P., Seneviratne, G. ve Abayasekera, C. L. (2021). Effect of biofilmed biofertilizers on potato yield through induced soil-plant interaction. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 58(6), 1711-1719.
<http://dx.doi.org/10.21162/PAKJAS/21.1413>

Hu, Y., You, M., Liu, G. ve Zhou, D. (2021). Characteristics and potential ecological risks of heavy metal pollution in surface soil around coal-fired power plant. *Environmental Earth Sciences*, 80(17). <https://doi.org/10.1007/s12665-021-09887-x>

Huang, C., Liang, C., Yang, T., Chen, J. ve Wang, W. (2021). Shift of bacterial communities in heavy metal-contaminated agricultural land during a remediation process. *Plos One*, 16(7), e0255137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255137>

Huang, J., Wang, C., Qi, L., Zhang, X., Tang, G., Lei, L., Guo, J., Jia, Y., Dou, X. ve Meng, L. (2020). Phosphorus is more effective than nitrogen in restoring plant communities of heavy metals polluted soils. *Environmental Pollution*, 266, 115259. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115259>

Ibrahim, M., Hashim, M. ve Okash, A. (2023). The efficiency of phytoremediation of the big-sage plant in accumulating some heavy metals in their tissues in vitro. *In Heavy Metals-Recent Advances*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109640>

Imron, M. F., Kurniawan, S. B. ve Abdullah, S. R. S. (2021). Resistance of bacteria isolated from leachate to heavy metals and the removal of Hg by *Pseudomonas aeruginosa* strain FZ-2 at different salinity levels in a batch biosorption system. *Sustainable Environment Research*, 31, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s42834-021-00088-6>

Irshad, S., Xie, Z., Wang, J., Nawaz, A., Luo, Y., Wang, Y. ve Mehmood, S. (2020). Indigenous strain *Bacillus XZM* assisted phytoremediation and detoxification of arsenic in *Vallisneria denseserrulata*. *Journal of Hazardous Materials*, 381, 120903. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120903>

Jalilvand, N., Akhgar, A., Alikhani, H. A., Rahmani, H. A. ve Rejali, F. (2020). Removal of heavy metals zinc, lead, and cadmium by biomineralization of urease-producing bacteria isolated from Iranian mine calcareous soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 206-219. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00121-z>

- Jeyakumar, P., Debnath, C., Vijayaraghavan, R., ve Muthuraj, M. (2023). Trends in bioremediation of heavy metal contaminations. *Environmental Engineering Research*, 28(4). <https://doi.org/10.4491/eer.2021.631>
- Jiang, D., Tan, M., Guo, Q. ve Yan, S. (2020). Transfer of heavy metal along food chain: a mini-review on insect susceptibility to entomopathogenic microorganisms under heavy metal stress. *Pest Management Science*, 77(3), 1115-1120. <https://doi.org/10.1002/ps.6103>
- Jibrin, M., Abdulhameed, A., Nayaya, A. ve Ezra, A. (2022). Health risk effect of heavy metals from pesticides in vegetables and soils: a review. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*, 7(3b), 24-32. <https://doi.org/10.4314/dujopas.v7i3b.3>
- Jing, Y. X., Yan, J. L., He, H. D., Yang, D. J., Xiao, L., Zhong, T., Yuan, M., Cai, X.D. ve Li, S. B. (2014). Characterization of bacteria in the rhizosphere soils of *Polygonum pubescens* and their potential in promoting growth and Cd, Pb, Zn uptake by *Brassica napus*. *International Journal of Phytoremediation*, 16(4), 321-333. <https://doi.org/10.1080/15226514.2013.773283>
- Kadriu, S., Sadiku, M., Kelmendi, M. ve Sadriu, E. (2020). Studying the heavy metals concentration in discharged water from the trepça mine and flotation, kosovo. *Mining of Mineral Deposits*, 14(4), 47-52. <https://doi.org/10.33271/mining14.04.047>
- Kafadar, F. ve Saygıdeğer, S. (2010). Gaziantep ilinde organize sanayi bölgesi atık suları ile sulanan bazı tarım bitkilerinde kurşun (Pb) miktarlarının belirlenmesi. *Ekoloji*, 19(75), 41-48. <http://dx.doi.org/10.5053/ekoloji.2010.756>
- Kalaimurugan, D., Balamuralikrishnan, B., Durairaj, K., Vasudhevan, P., Shivakumar, M. S., Kaul, T., Chang, S.W., Ravindran, B. ve Venkatesan, S. (2020). Isolation and characterization of heavy-metal-resistant bacteria and their applications in environmental bioremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(3), 1455-1462. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02563-5>
- Kandhasamy, S., Sudha, B., Kanagaraj, S. ve Sumathi, S. (2022). Microbial degradation of pharmaceuticals. *Preprints* 2022, 2022060014. <https://doi.org/10.20944/preprints202206.0014.v1>
- Kang, C. H., Kwon, Y. J. ve So, J. S. (2016). Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. *Ecological Engineering*, 89, 64-69. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>
- Keloğlu, B. (2017). Atık sulardan izole edilen *Pseudomonas* spp.'lar ile kurşun (II) ve nikel (II) ağır metallerinin giderimi (Yüksek Lisans Tezi). Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Nevşehir.
- Kimber, R., Bagshaw, H., Smith, K., Buchanan, D., Coker, V., Cavet, J. ve Lloyd, J. (2020). Biomineralization of Cu_2S nanoparticles by *Geobacter sulfurreducens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(18). <https://doi.org/10.1128/aem.00967-20>

- Kochiashvili, K., Uridia, R., Stephanishvili, M., Dolidze, L., Dgebuadze, T., Japaridze, M. ve Kavtaradze, N. (2022). Elaboration of complex purification method of soils contaminated with heavy metals. *Georgian Scientists* 4(5), 49–53. <https://doi.org/10.52340/gs.2022.04.05.07>
- Kopecká, R., Kubínová, I., Sovová, K., Mravcová, L., Vítěz, T. ve Vítězová, M. (2022). Microbial degradation of virgin polyethylene by bacteria isolated from a landfill site. *Sn Applied Sciences*, 4(11). <https://doi.org/10.1007/s42452-022-05182-x>
- Kuffner, M., De Maria, S., Puschenreiter, M., Fallmann, K., Wieshammer, G., Gorfer, M., Strauss, J., Rivelli, A.R. ve Sessitsch, A. (2010). Culturable bacteria from Zn- and Cd-accumulating *Salix caprea* with differential effects on plant growth and heavy metal availability. *Journal of Applied Microbiology*, 108(4), 1471-1484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04670.x>
- Kumar, A., Shivani, S., Krishan, B., Samtiya, M. ve Dhewa, T. (2022). Ex-situ biofilm mediated approach for bioremediation of selected heavy metals in wastewater of textile industry. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 85-90. <https://doi.org/10.7324/jabb.2022.10s209>
- Kumaran, N., Sundaramanickam, A. ve Bragadeeswaran, S. (2011). Absorption Studies On Heavy Metals By Isolated Bacterial Strain (*Pseudomonas* Sp.) From Uppanar Estuarine Water, Southeast Coast Of India. *Journal of applied sciences in environmental sanitation*, 6(4).
- Kushwaha, P. ve Kashyap, P. (2021). A review of advances in bioremediation of heavy metals by microbes and plants. *Journal of Natural Resource Conservation and Management*, 2(1), 65. <https://doi.org/10.51396/anrcm.2.1.2021.65-80>
- Lasota, J., Błońska, E., Łyszczarz, S. ve Tibbett, M. (2020). Forest humus type governs heavy metal accumulation in specific organic matter fractions. *Water Air & Soil Pollution*, 231(2). <https://doi.org/10.1007/s11270-020-4450-0>
- Li, Y., Liu, Z., Zhao, B. ve Xiao, Y. (2023). Study on the effect of modified porous materials on heavy metal remediation in agricultural fields. *Academic Journal of Management and Social Sciences*, 2(1), 6-8. <https://doi.org/10.54097/ajmss.v2i1.5403>
- Liang, X., Chi-Quan, H. E., Gang, N. I., TANG, G. E., Xue-Ping, C. H. E. N. ve Yan-Ru, L. E. I. (2014). Growth and Cd accumulation of *Orychophragmus violaceus* as affected by inoculation of Cd-tolerant bacterial strains. *Pedosphere*, 24(3), 322-329. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(14\)60018-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(14)60018-7)
- Liu, X., Gong, D., Ke, Q., Yin, L., Wang, S. ve Gao, T. (2023). Meta-analysis of the effect of nitric oxide application on heavy metal stress tolerance in plants. *Plants*, 12(7), 1494. <https://doi.org/10.3390/plants12071494>
- Liu, X., Wu, M., Li, C., Peng, Y., Feng, S., Li, Y. ve Zhang, Q. (2022). Interaction structure and affinity of zwitterionic amino acids with important metal cations

- (cd²⁺, cu²⁺, fe³⁺, hg²⁺, mn²⁺, ni²⁺ and zn²⁺) in aqueous solution: a theoretical study. *Molecules*, 27(8), 2407. <https://doi.org/10.3390/molecules27082407>
- Longhi, C., Maurizi, L., Conte, A., Migliori, M., Comanducci, A., Nicoletti, M. ve Zagaglia, C. (2022). Extraintestinal pathogenic escherichia coli: beta-lactam antibiotic and heavy metal resistance. *Antibiotics*, 11(3), 328. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030328>
- Luo, N. (2023). Methods for controlling heavy metals in environmental soils based on artificial neural networks. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3047044/v1>
- Luo, S., Xu, T., Chen, L., Chen, J., Rao, C., Xiao, X., Wan, Y., Zeng, G., Long, F., Liu, C. Ve Liu, Y. (2012). Endophyte-assisted promotion of biomass production and metal-uptake of energy crop sweet sorghum by plant-growth-promoting endophyte *Bacillus* sp. SLS18. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 1745-1753. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3483-0>
- Ma, Y., Oliveira, R. S., Nai, F., Rajkumar, M., Luo, Y., Rocha, I. ve Freitas, H. (2015). The hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola* harbors metal-resistant endophytic bacteria that improve its phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 156, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.03.024>
- Ma, Y., Wang, G., Wang, Y., Dai, W. ve Luan, Y. (2021). Mercury uptake and transport by plants in aquatic environments: a meta-analysis. *Applied Sciences*, 11(19), 8829. <https://doi.org/10.3390/app11198829>
- Mandragutti, T., Dokka, M., Panchagnula, B. ve Gódi, S. (2021). Molecular characterization of marine bacterial isolates of visakhapatnam coast—efficacy in dye decolorization and bioremediation of cadmium. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00189-0>
- Manikandan, S., Pallavi, P., Shetty, K., Bhattacharjee, D., Giannakoudakis, D., Katsoyiannis, I. ve Nair, V. (2023). Effective usage of biochar and microorganisms for the removal of heavy metal ions and pesticides. *Molecules*, 28(2), 719. <https://doi.org/10.3390/molecules28020719>
- Marzan, L. W., Hossain, M., Mina, S. A., Akter, Y. ve Chowdhury, A. M. A. (2017). Isolation and biochemical characterization of heavy-metal resistant bacteria from tannery effluent in Chittagong city, Bangladesh: Bioremediation viewpoint. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 43(1), 65-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.11.002>
- Mesa-Marín, J., Pérez-Romero, J. A., Redondo-Gómez, S., Pajuelo, E., Rodríguez-Llorente, I. D. ve Mateos-Naranjo, E. (2020). Impact of plant growth promoting bacteria on *Salicornia ramosissima* ecophysiology and heavy metal phytoremediation capacity in estuarine soils. *Frontiers in Microbiology*, 11, 553018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.553018>

- Monteil, C., Benzerara, K., Menguy, N., Bidaud, C., Michot-Achdjan, E., Bolzoni, R., Mathon, F.P., Coutaud, M., Alonso, B., Garau, C., Jézéquel, D., Viollier, E., Ginet, N., Floriani, M., Swaraj, S., Sachse, M., Busigny, V., Duprat, E., Guyot, F. ve Lefèvre, C. (2020). Intracellular amorphous ca-carbonate and magnetite biomineralization by a magnetotactic bacterium affiliated to the alphaproteobacteria. *The Isme Journal*, 15(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00747-3>
- Muratova, A., Lyubun, E., Golubev, S. ve Turkovskaya, O. (2022). Effect of copper ions on the associations of <i>azospirillum</i> bacteria with wheat seedlings. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 26(5), 477-485. <https://doi.org/10.18699/vjgb-22-58>
- Mwandira, W., Nakashima, K., Kawasaki, S., Arabelo, A., Banda, K., Nyambe, I., Chirwa, M., Ito, M., Sato, T., Igarashi, T., Nakata, H., Nakayama, S. ve Ishizuka, M. (2020). Biosorption of pb (ii) and zn (ii) from aqueous solution by oceanobacillus profundus isolated from an abandoned mine. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78187-4>
- Nazli, F., Wang, X., Ahmad, M., Hussain, A., Dar, A., Nasim, M., Jamil, M., Panpluem, N. ve Mustafa, A. (2021). Efficacy of indole acetic acid and exopolysaccharides-producing bacillus safensis strain fn13 for inducing cd-stress tolerance and plant growth promotion in brassica juncea. *Applied Sciences*, 11(9), 4160. <https://doi.org/10.3390/app11094160>
- Negahdari, S., Sabaghan, M., Pirhadi, M., Alikord, M., Sadighara, P., Darvishi, M. ve Nazer, M. (2021). Potential harmful effects of heavy metals as a toxic and carcinogenic agent in marine food-an overview. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 52(3), 379-385. <https://doi.org/10.21608/ejvs.2021.83716.1245>
- Nortjé, G. ve Laker, M. (2021). Factors that determine the sorption of mineral elements in soils and their impact on soil and water pollution. *Minerals*, 11(8), 821. <https://doi.org/10.3390/min11080821>
- Nurzhanova, A., Muratova, A., Berzhanova, R., Pidlisnyuk, V., Nurmagambetova, A. ve Mamirova, A. (2022). Rhizosphere microorganisms: increasing phytotechnology productivity and efficiency a review. *Reports*, 3(343), 34-58. <https://doi.org/10.32014/2022.2518-1483.158>
- Oktarina, H. ve Mukhriza, T. (2021). A review on the impact of silver nanoparticles on soil microorganisms and bioremediation as heavy metal removal technology. *Jurnal Serambi Engineering*, 6(2). <https://doi.org/10.32672/jse.v6i2.2892>
- Olak-Kucharczyk, M., Festinger, N. ve Smulek, W., (2023). Application of ozonation-biodegradation hybrid system for polycyclic aromatic hydrocarbons degradation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(7), 5347. <https://doi.org/10.3390/ijerph20075347>

- Canal, S. B., Bozkurt, M. A. ve Yilmaz, H. (2022). Effects of Humic Acid and EDTA on Phytoremediation, Growth and Antioxidant Activity in Rapeseed (brassica napus) Grown Under Heavy Metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(5), 4051-4060. <https://doi.org/10.15244/pjoes/148120>
- Orji, O., Awoke, J., Aja, P., Aloke, C., Obasi, O., Alum, E., Udu-Ibiam, O.E. ve Oka, G. (2021). Halotolerant and metalotolerant bacteria strains with heavy metals bioremediation possibilities isolated from uburu salt lake, southeastern, nigeria. *Heliyon*, 7(7), e07512. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07512>
- Oyewole, O. A., Zobeashia, S. S. L. T., Oladoja, E. O., Raji, R. O., Odiniya, E. E. ve Musa, A. M. (2019). Biosorption of heavy metal polluted soil using bacteria and fungi isolated from soil. *SN Applied Sciences*, 1, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0879-4>
- Oyewole, O., Olusanya, C., Akinlade, O., Abdulwasiiu, Y., Kelechi, A. ve Okoro, M. (2022). Biodegradation of selected petroleum hydrocarbons using indigenous microorganisms. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1267852/v1>
- Özdemir, G., Ozturk, T., Ceyhan, N., Isler, R. ve Cosar, T. (2003). Heavy metal biosorption by biomass of *Ochrobactrum anthropi* producing exopolysaccharide in activated sludge. *Bioresource Technology*, 90(1), 71-74. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(03\)00088-9](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(03)00088-9)
- Oziegbe, O., Oluduro, A. O., Oziegbe, E. J., Ahuekwe, E. F. ve Olorunsola, S. J. (2021). Assessment of heavy metal bioremediation potential of bacterial isolates from landfill soils. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3948-3956. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.072>
- Özyiğit, I., Baktibekova, D., Hocaoglu-Ozyigit, A., Kurmanbekova, G., Chekirov, K. ve Yalcin, I. (2021). The effects of cadmium on growth, some anatomical and physiological parameters of wheat (*triticum aestivum* L.). *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(2), 235-253. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.833553>
- Önder, S. (2012). Atıksular ile sulanan zirai alanlardaki ağır metal kirliliğinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Özkan, A. (2017). Antakya-Cilvegözü karayolu etrafındaki tarım arazilerinde ve bitkilerdeki ağır metal kirliliği. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 32(3), 9-18. <http://dx.doi.org/10.21605/cukurovaummfd.357176>
- Pak, O. (2011). Kırklareli sınırların içerisindeki otoban kenarlarında bulunan tarım arazilerinde bazı ağır metal kirliliğinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Pan, C., Yu, F., Xiao, T., Guo, J. ve Yu, Y. (2020). Contamination, spatial distribution and source analysis of heavy metals in surface soil of anhui chaohu economic development zone, china. *Sustainability*, 12(19), 8117. <https://doi.org/10.3390/su12198117>

- Pan, T., Li, C., Zheng, D., Sun, Y. ve Zhang, X. (2022). Double bacteria synergistic catalytic reduction system for heavy metal detoxification treatment. *Nano Letters*, 22(13), 5575-5583. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.2c01907>
- Pande, V., Pandey, S., Sati, D., Bhatt, P. ve Samant, M. (2022). Microbial interventions in bioremediation of heavy metal contaminants in agroecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.824084>
- Prapagdee, B., Chanprasert, M. ve Mongkolsuk, S. (2013). Bioaugmentation with cadmium-resistant plant growth-promoting rhizobacteria to assist cadmium phytoextraction by *Helianthus annuus*. *Chemosphere*, 92(6), 659-666. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.082>
- Prathima, B., Sughosh, P. ve L, S. (2021). Study of heavy metals transport in the vadose zone of contaminated soil. *Japanese Geotechnical Society Special Publication*, 9(7), 369-373. <https://doi.org/10.3208/jgssp.v09.cpeg129>
- Pule, S. ve Barakagira, A. (2022). Heavy metal assessment in domestic water sources of sikuda and western division located in busia district, uganda. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 1-13. <https://doi.org/10.9734/cjast/2022/v4i1464019>
- Puopolo, R., Gallo, G., Mormone, A., Limauro, D., Contursi, P., Piochi, M., Bartolucci, S. ve Fiorentino, G. (2020). Identification of a new heavy-metal-resistant strain of *geobacillus stearothermophilus* isolated from a hydrothermally active volcanic area in southern italy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(8), 2678. <https://doi.org/10.3390/ijerph17082678>
- Qin, M. (2024). Molybdenum trioxide nanoparticles as promising stimulators for facilitating phytoremediation by cd hyperaccumulator *solanum nigrum* l. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 12(11), 4767-4778. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.4c00385>
- Rajkumar, M. ve Freitas, H. (2008). Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 71(5), 834-842. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.11.038>
- Rajput, V. D., Gorovtsov, A. V., Fedorenko, G. M., Minkina, T. M., Fedorenko, A. G., Lysenko, V. S., Sushkova, S., Mandzhieva, S. ve Elinson, M. A. (2021). The influence of application of biochar and metal-tolerant bacteria in polluted soil on morpho-physiological and anatomical parameters of spring barley. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(4), 1477-1489. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00505-1>
- Rani, M. J., Hemambika, B., Hemapriya, J. ve Kannan, V. R. (2010). Comparative assessment of heavy metal removal by immobilized and dead bacterial cells: a biosorption approach. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 4(2).

- Ren, G., Han, H., Wang, Y., Liu, S., Zhao, J., Meng, X. ve Li, Z. (2021). Recent advances of photocatalytic application in water treatment: a review. *Nanomaterials*, 11(7), 1804. <https://doi.org/10.3390/nano11071804>
- Saber, M., Saod, W. ve Al-Heety, E. (2021). Vertical and lateral distribution of heavy metals in the euphrates river sediments between heet and fallujah, western iraq. *Iraqi Geological Journal*, 54(2A), 112-125. <https://doi.org/10.46717/igj.54.2a.9ms-2021-07-30>
- Sacchi, M., Marcicano, J. ve Vasconcelos, F. (2021). Biodegradable polyamide 6.6 for textile application. *Journal of Management and Sustainability*, 11(2), 100. <https://doi.org/10.5539/jms.v11n2p100>
- Sagala, L., Wang, L. ve Batu, D. (2021). Heavy metal contents of hg, cd, pb, and cu in splendid ponyfish eubleekeria splendens (cuvier, 1829) meat in banten bay, indonesia. *E3s Web of Conferences*, 322, 01022. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202132201022>
- Sager, M., Park, J. H. ve Chon, H. T. (2007). The effect of soil bacteria and perlite on plant growth and soil properties in metal contaminated samples. *Water, Air, and Soil Pollution*, 179(1), 265-281. <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9230-y>
- Saha, L., Tiwari, J., Bauddh, K. ve Ma, Y. (2021). Recent developments in microbe–plant-based bioremediation for tackling heavy metal-polluted soils. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.731723>
- Saleem, M., Ali, S., Rehman, M., Hasanuzzaman, M., Rizwan, M., Irshad, S., Shafiq, F., Iqbal, M., Alharbi, B.M., Alnusaire, T.S. ve Qari, S. (2020). Jute: a potential candidate for phytoremediation of metals—a review. *Plants*, 9(2), 258. <https://doi.org/10.3390/plants9020258>
- Sánchez-Hernández, J., Capowiez, Y. ve Ro, K. (2020). Potential use of earthworms to enhance decaying of biodegradable plastics. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(11), 4292-4316. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b05450>
- Sarı, T. (2009). Edirne ve çevresinde otoban kenarlarındaki topraklarda bazı ağır metal kirliliğinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Schaefer, S., Steudtner, R., Hübner, R., Krawczyk-Bärsch, E. ve Merroun, M. (2021). Effect of temperature and cell viability on uranium biomineralization by the uranium mine isolate penicillium simplicissimum. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.802926>
- Sen, M. ve Joshi, H. (2022). Alleviation of phytotoxic effect of heavy metals on wheat by multiple heavy metal tolerant *pseudomonas aeruginosa* hmt 7. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1190413/v1>

- Shaginimol, C., Manojkuma, B. ve S.Kaliraj, N. (2022). Spatial distribution of heavy metals in surface water from coastal areas of ernakulam district, kerala, south west coast of india. *Ecology Environment and Conservation*, 28, 151-159. <https://doi.org/10.53550/eec.2022.v28i07s.026>
- Shamsuri, A., Jamil, S. ve Abdan, K. (2021). A brief review on the influence of ionic liquids on the mechanical, thermal, and chemical properties of biodegradable polymer composites. *Polymers*, 13(16), 2597. <https://doi.org/10.3390/polym13162597>
- Sharma, J., Kumar, N., Singh, N. ve Santal, A. (2023). Phytoremediation technologies and their mechanism for removal of heavy metal from contaminated soil: an approach for a sustainable environment. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1076876>
- Shen, Z., Wang, F., Liang, Y., Li, Y., Liu, Q. ve Liu, F. (2022). Diversity and functions of microbes in surface sediments under heavy metal pollution of western chao hu lake. *Letters in Applied Microbiology*, 75(5), 1093-1102. <https://doi.org/10.1111/lam.13627>
- Sheng, X. F., Xia, J. J., Jiang, C. Y., He, L. Y. ve Qian, M. (2008). Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (Brassica napus) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*, 156(3), 1164-1170. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.04.007>
- Shi, J., Qian, W., Jin, Z., Zhou, Z., Wang, X. ve Yang, X. (2023). Evaluation of soil heavy metals pollution and the phytoremediation potential of copper-nickel mine tailings ponds. *Plos One*, 18(3), e0277159. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277159>
- Shilev, S., Babrikova, I. ve Babrikov, T. (2020). Consortium of plant growth-promoting bacteria improves spinach (Spinacea oleracea L.) growth under heavy metal stress conditions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(4), 932-939. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.6077>
- Siddiqua, S. ve Mamun, A. (2020). An inclusive review on recent status of plastic biodegradation. *International Journal of Advanced Research*, 8(8), 42-54. <https://doi.org/10.21474/ijar01/11463>
- Singh, S. ve Ambawat, S. (2020). Microbial diversity analysis and bioremediation to evade heavy metal toxicity. *International Journal of Chemical Studies*, 8(4), 3269-3274. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i4ao.10155>
- Singh, S., Kumar, V., Sidhu, G. K., Datta, S., Dhanjal, D. S., Koul, B., Janeja, H.S. ve Singh, J. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria from heavy metal contaminated soil promote growth attributes of Pisum sativum L. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 17, 665-671. <http://dx.doi.org/10.1080/15226514.2020.1859988>

- Singh, V., Singh, N., Nand, S., Kumar, A., Singh, A., Singh, M., Sahoo, A., Shekhar, S., Vamanu, E. ve Mishra, V. (2023). Heavy metal contamination in the aquatic ecosystem: toxicity and its remediation using eco-friendly approaches. *Toxics*, 11(2), 147. <https://doi.org/10.3390/toxics11020147>
- Sizentcov, A., Salnikova, E., Барышева, E., Sizentcov, Y. ve Sal'nikova, V. (2020). Biototoxicity of heavy metal salts to bacillus subtilis and their sorption properties. *E3s Web of Conferences*, 157, 02012. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015702012>
- Soldi, E., Casey, C., Murphy, B. ve Hodkinson, T. (2020). Fungal endophytes for grass based bioremediation: an endophytic consortium isolated from agrostis stolonifera stimulates the growth of festuca arundinacea in lead contaminated soil. *Journal of Fungi*, 6(4), 254. <https://doi.org/10.3390/jof6040254>
- Srivastava, S., Verma, P. C., Chaudhry, V., Singh, N., Abhilash, P. C., Kumar, K. V., Sharma, N. ve Singh, N. (2013). Influence of inoculation of arsenic-resistant Staphylococcus arlettae on growth and arsenic uptake in Brassica juncea (L.) Czern. Var. R-46. *Journal of Hazardous Materials*, 262, 1039-1047. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.019>
- Staninska-Pięta, J., Czarny, J., Piotrowska-Cyplik, A., Juzwa, W., Wolko, Ł., Nowak, J. ve Cyplik, P. (2020). Heavy metals as a factor increasing the functional genetic potential of bacterial community for polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation. *Molecules*, 25(2), 319. <https://doi.org/10.3390/molecules25020319>
- Su, Q., Zhang, X., Zhang, Y., Sun, G., Li, Z., Xiang, L. ve Cai, J. (2023). Risk assessment of heavy metal pollution in agricultural soil surrounding a typical pharmaceutical manufacturing complex. *Frontiers in Environmental Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.1105910>
- Suleman, R. ve Amma, Y. (2022). Identification of cyanide in sediment of river in hulawa village. *Journal of Noncommunicable Disease*, 2(1), 15. <https://doi.org/10.52365/jond.v2i1.409>
- Suman, A., Govindasamy, V., Ramakrishnan, B., Aswini, K., SaiPrasad, J., Sharma, P., Pathak, D. ve Annapurna, K. (2022). Microbial community and function-based synthetic bioinoculants: a perspective for sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.805498>
- Sytar, O., Ghosh, S., Malinská, H., Živčák, M. ve Brestič, M. (2020). Physiological and molecular mechanisms of metal accumulation in hyperaccumulator plants. *Physiologia Plantarum*, 173(1):148-166. <https://doi.org/10.1111/ppl.13285>
- Tallapragada, S., Lather, R. ve Singh, G. (2021). Scope and future perspectives of phytoremediation. *International Journal Plant Sciences*, 16(AAEBSSD), 77-85. <https://doi.org/10.15740/has/ijps/16.auebssd/77-85>

- Tan, Y., Wei, Q., Zhang, B., Zheng, Z., Guo, J., Fan, F. ve Peng, Y. (2021). Evaluation of soil and irrigation water quality in caohai lakeside zone. *Sustainability*, 13(22), 12866. <https://doi.org/10.3390/su132212866>
- Tang, G., Zhang, X., Qi, L., Wang, C., Li, L., Guo, J., Dou, X., Lu, M. ve Huang, J. (2021). Nitrogen and phosphorus fertilization increases the uptake of soil heavy metal pollutants by plant community. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-413625/v1>
- Tanhan, P., Lansubsakul, N., Phaochoosak, N., Sirinupong, P. ve Yeesin, P. (2022). Human health risk assessment of heavy metal concentration in seafood collected from pattani bay, thailand. *Toxics*, 11(1), 18. <https://doi.org/10.3390/toxics11010018>
- Tarekegn, M., Salilih, F. ve Ishetu, A. (2020). Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1783174. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1783174>
- Tarfeen, N., Nisa, K., Hamid, B., Bashir, Z., Yatoo, A., Dar, M., Mohiddin, F.A., Amin, Z., Ahmad, R.A. ve Sayyed, R. (2022). Microbial remediation: a promising tool for reclamation of contaminated sites with special emphasis on heavy metal and pesticide pollution: a review. *Processes*, 10(7), 1358. <https://doi.org/10.3390/pr10071358>
- Tekle, H., Sbhatu, D. ve Gebreyohannes, G. (2023). Assessment of concentrations of heavy metals in three leafy vegetables irrigated with wastewater in hadnet district, mekelle, ethiopia. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2505020/v1>
- Tomar, P., Chapadgaonkar, S., Panchal, V. ve Ghosh, A. (2020). Heavy metal phytoremediation: potential and advancement. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 81-93. <https://doi.org/10.35118/apjmbb.2020.028.4.07>
- Trippe, R. ve Pilon-Smits, E. (2021). Selenium transport and metabolism in plants: phytoremediation and biofortification implications. *Journal of Hazardous Materials*, 404, 124178. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124178>
- Uba, G., Shukor, M. ve Yakasai, H. (2022). Entrapment of mo-reducing bacterium increase its resistance towards mercury. *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology*, 5(2), 36-39. <https://doi.org/10.54987/jebat.v5i2.764>
- Vélez, J., Martínez, J., Ospina, J. ve Agudelo, S. (2021). Bioremediation potential of pseudomonas genus isolates from residual water, capable of tolerating lead through mechanisms of exopolysaccharide production and biosorption. *Biotechnology Reports*, 32, e00685. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00685>
- Venkateswarlu, V. ve Venkatrayulu, C. (2020). Bioaccumulation of heavy metals in edible marine fish from coastal areas of nellore, andhra pradesh, india. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 018-024. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2020.10.1.0244>

- Volarić, A., Svirčev, Z., Tamindžija, D. ve Radnović, D. (2021). Microbial bioremediation of heavy metals. *Hemijska Industrija*, 75(2), 103-115. <https://doi.org/10.2298/hemind200915010v>
- Wan, Y., Luo, S., Chen, J., Xiao, X., Chen, L., Zeng, G., Liu, C. ve He, Y. (2012). Effect of endophyte-infection on growth parameters and Cd-induced phytotoxicity of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Chemosphere*, 89(6), 743-750. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.07.005>
- Wang, F. ve Hao, R. (2020). Environmental pollution in pearl river delta, china: status and potential effects. *Journal of Environmental Informatics Letters*, 110-123. <https://doi.org/10.3808/jeil.202000033>
- Wang, J., Ge, J., Yang, X., Cheng, D., Yuan, C., Liu, Z., Yang, S., Guo, Y. ve Gu, Y. (2022). Distribution and ecological risk assessment of heavy metals in sediments of dajiuhu lake wetland in shennongjia, china. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(10), 25999-26011. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23952-3>
- Wang, J., Long, Y., Yu, G., Wang, G., Zhou, Z., Li, P., Zhang, Y., Yang, K. ve Wang, S. (2022). A review on microorganisms in constructed wetlands for typical pollutant removal: species, function, and diversity. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.845725>
- Wang, L., Tao, Y., Su, B., Wang, L. ve Liu, P. (2022). Environmental quality and human health risk of urban groundwater sources based on hydrochemical analysis: a case study of suzhou, china. *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(6), 5519-5532. <https://doi.org/10.15244/pjoes/152377>
- Wang, Q., Chen, L., He, L. Y. ve Sheng, X. F. (2016). Increased biomass and reduced heavy metal accumulation of edible tissues of vegetable crops in the presence of plant growth-promoting *Neorhizobium huautlense* T1-17 and biochar. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 228, 9-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.05.006>
- Wiangkham, N. ve Prapagdee, B. (2018). Potential of Napier grass with cadmium-resistant bacterial inoculation on cadmium phytoremediation and its possibility to use as biomass fuel. *Chemosphere*, 201, 511-518. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.039>
- Wróbel, M., Śliwakowski, W., Kowalczyk, P., Kramkowski, K. ve Dobrzyński, J. (2023). Bioremediation of heavy metals by the genus bacillus. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(6), 4964. <https://doi.org/10.3390/ijerph20064964>
- Wróbel, M., Śliwakowski, W., Kowalczyk, P., Kramkowski, K. ve Dobrzyński, J. (2023). Bioremediation of heavy metals by the genus bacillus. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(6), 4964. <https://doi.org/10.3390/ijerph20064964>

- Wu, D., Liu, H., Wu, J., Gao, X., Nyasha, N., Cai, G. ve Zhang, W. (2022). Bi-directional pollution characteristics and ecological health risk assessment of heavy metals in soil and crops in wanjiang economic zone, anhui province, china. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(15), 9669. <https://doi.org/10.3390/ijerph19159669>
- Wu, Y., Tian, X., Wang, R., Zhang, M. ve Wang, S. (2023). Effects of vegetation restoration on distribution characteristics of heavy metals in soil in karst plateau area of guizhou. *Peerj*, 11, e15044. <https://doi.org/10.7717/peerj.15044>
- Xu, M., Cui, Y., Beiyuan, J., Wang, X., Duan, C. ve Fang, L. (2021). Heavy metal pollution increases soil microbial carbon limitation: evidence from ecological enzyme stoichiometry. *Soil Ecology Letters*, 3(3), 230-241. <https://doi.org/10.1007/s42832-021-0094-2>
- Xu, S., Zhao, Q., Qin, C., Qin, M., Lee, J., Li, C., Li, Y. ve Yang, J. (2021). Effects of vegetation restoration on accumulation and translocation of heavy metals in post-mining areas. *Land Degradation and Development*, 32(5), 2000-2012. <https://doi.org/10.1002/ldr.3861>
- Yang, L., Kai, L., Su, Z., Wu, Y., Xiao, W., Qin, M., Lin, J., Zhang, S., Zhang, Y., Jiang, Y., Peng, B., Guo, Y. ve Wang, X. (2021). Impact imposed by urbanization on soil heavy metal content of lake wetland and evaluation of ecological risks in east dongting lake in china. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-339557/v1>
- Topaloğlu, Y.E. (2023) Atıksulardan Canlı Mikroorganizmalar Yardımıyla Ağır Metal Biyoremediasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Yavuz, O. ve Sarıgül, N. (2016). Toprak ve sucul ortamlardaki ağır metal kirliliği ve ağır metal dirençli mikroorganizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 44-51. <http://dx.doi.org/10.29048/makufebed.206609>
- Yavuz, O. (2017) Burdur Gölü'nden İzole Edilen Mikroorganizmaların Ağır Metal ve Antibiyotik Dirençliliğinin Kültürel ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur.
- Yoon, H. ve Yoon, J. (2022). The impact evaluation of acid mine drainage on zebrafish (danio rerio) and water fleas (daphnia magna) in the vicinity of the geum river basin in korea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(24), 16470. <https://doi.org/10.3390/ijerph192416470>
- Yu, B., Li, D., Zhang, R., He, H., Li, H. ve Chen, G. (2020). Effects of heavy metals (cd, pb, cu, zn, and ni) on *ipomoea aquatica* forsk. growth in soil containing metal-biochar application. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(4), 2513-2524. <https://doi.org/10.15244/pjoes/112057>
- Yu, Y., Teng, Z., Mou, Z., Lv, Y., Li, T., Chen, S., Zhao, D. ve Zhao, Z. (2020). Melatonin confers heavy metal tolerance of a dark septate endophyte (dse) *exophiala pisciphila* via lowering oxidative stress and heavy metal accumulation in *Exophiala pisciphila*,

a dark septate endophyte (DSE). *BMC Microbiol* 21(1):40.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-54820/v1>

Yuan, P., Chen, Z., Xu, M., Cai, W., Liu, Z. ve Sun, D. (2023). Microbial cell factories using *Paenibacillus*: status and perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-17. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2289342>

Zadel, U., Nesme, J., Michalke, B., Vestergaard, G., Płaza, G. A., Schröder, P., Radl, V. ve Schloter, M. (2020). Changes induced by heavy metals in the plant-associated microbiome of *Miscanthus x giganteus*. *Science of the Total Environment*, 711, 134433. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134433>

Zahri, K., Gomez-Fuentes, C., Sabri, S., Zulkharnain, A., Khalil, K., Lim, S. ve Ahmad, S. (2021). Evaluation of heavy metal tolerance level of the antarctic bacterial community in biodegradation of waste canola oil. *Sustainability*, 13(19), 10749. <https://doi.org/10.3390/su131910749>

Zang, H., Zhang, Y., Yao, J. ve Ma, H. (2022). Source analysis of heavy metal pollution using unmix and pmf models in soils along the shuimo river in urumqi, china. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(22), 14794. <https://doi.org/10.3390/ijerph192214794>

Zhuang, S. ve Li, X. (2022). Determining environmental risk and source of heavy metal(loid)s in the surrounding farmland soil of a zinc smelter in water source area, northwest china. *Environmental Earth Sciences*, 81(3). <https://doi.org/10.1007/s12665-022-10203-4>