



**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERLE LİGNİN BİYODEGRADASYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

MURAT KİREÇCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAHRAMANMARAŞ



**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERLE
LİGNİN BİYODEGRADASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

MURAT KİREÇCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAHRAMANMARAŞ
Eylül-2006**

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERLE LİGNİN BİYODEGRADASYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

MURAT KİREÇCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kod No :

Bu Tez 14/09/2006 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

.....

Doç.Dr.

**Metin DIĞRAK
DANIŞMAN**

.....

Prof.Dr.

**Sadık DİNÇER
ÜYE**

.....

Yrd.Doç.Dr.

**Ahmet Doğan DUMAN
ÜYE**

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

**Prof.Dr. Özden GÖRÜCÜ
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma KSÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2005/1-15

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

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
ÖNSÖZ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ligninin Yapısı.....	2
1.2. Selüloz ve Genel Özellikleri.....	4
1.3. Hemiselüloz ve Genel Özellikleri.....	5
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL ve METOD.....	10
3.1. Materyal.....	10
3.1.1. Örnekler.....	10
3.1.1.1. Örneklerin toplandığı alanlar.....	10
3.1.1.2. Besiyerleri.....	10
3.1.1.2.1. Nutrient Broth.....	10
3.1.1.2.2. Nutrient Agar.....	10
3.1.1.2.3. Lignin Agar.....	10
3.1.1.2.4. Lignin Degradasyon Buyyon.....	11
3.1.1.2.5. Nutrient Jelatin Ortamı.....	11
3.1.1.2.6. Pseudomonas Agar F.....	11
3.1.1.2.7. Nitrat Broth.....	11
3.1.1.2.8. Üre Agar.....	12
3.1.1.2.9. Karbonhidrat Fermentasyon Ortamları	12
3.1.1.3. Çözeltiler.....	12
3.1.1.3.1. α -Naftol Çözeltisi (%5' lik).....	12
3.1.1.3.2. Sülfanilik Asit Çözeltisi.....	12
3.1.1.3.3. Nessler Çözeltisi	12

3.1.3.4. %2'lik Fenol Red Çözeltisi	13
3.1.3.5. %20' lik Üre Solüsyonu.....	13
3.1.3.6. Metilen Mavisi Çözeltisi.....	13
3.1.3.7. % 5'lik Malaşit Yeşili Çözeltisi.....	13
3.1.3.8. % 0,5'lik Safranin Çözeltisi.....	13
3.1.3.9. Kristal Viyole Çözeltisi.....	13
3.1.3.10. Safranin Çözeltisi.....	14
3.1.3.11. Gram İyodür Çözeltisi.....	14
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları.....	14
3.2. METOD.....	15
3.2.1. Ligninin elde edilişi.....	15
3.2.2. Örneklerin Alınması.....	15
3.2.3. Örneklerin Ekimi ve İzolasyonu.....	15
3.2.4. Lignin Biyodegradasyonu.....	16
3.2.5. Lignin Biyodegradasyon Oranının Belirlenmesi.....	16
3.2.6. Bakterilerin Tanımlanması.....	18
3.2.6.1. Gram Boyama.....	18
3.2.6.2. Proteolitik Aktivite.....	18
3.2.6.3. Nitrat Redüksiyonu.....	18
3.2.6.4. Üreaz Aktivitesi.....	19
3.2.6.5. Karbonhidrat Fermentasyonu.....	19
3.2.6.6. Katalaz Aktivitesi.....	19
3.2.6.7. Oksidaz.....	19
3.2.6.8. Endospor Oluşumu.....	20
3.2.6.9. Arginin Hidrolizi.....	20
3.2.6.10. Nişasta Hidrolizi.....	20
3.2.6.11. Kazein Hidrolizi.....	20
3.2.6.12. Sitrata Değerlendirme.....	20
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	21
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	25
KAYNAKLAR.....	26
EKLER.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	36

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZET

FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERLE LİGNİN
BİYODEGRADASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

MURAT KİREÇCİ

Danışman: Doç. Dr. Metin DIĞRAK

Yıl:2006 Sayfa:36

Jüri: Asoc. Prof. Dr. Metim DIĞRAK

Jüri : Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Jüri : Asist. Prof. Dr. Ahmet Doğan DUMAN

Bu çalışmada, Kahramanmaraş yöresinden alınan çeşitli toprak, su ve atık örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların lignin biyodegradasyonu üzerine olan etkisi incelenmiştir. Sonuçta *Bacillus firmus* % 64,31, *Bacillus sp.* % 36,59, *Micrococcus luteus* % 30,15, *Pseudomonas fluorescens* ise % 15,66 oranında lignin kaybına neden olduğu belirlenmiştir. *Branhamella sp.*'in ise lignin biodegradasyonu üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Lignin, bakteri, biyolojik parçalanma

**UNIVERSITY OF KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY**

**MSc THESIS
ABSTRACT**

**THE INVESTIGATION OF LIGNIN BIODEGRADATION BY
BACTERIA WHICH ISOLATED FROM EXTROMOPHILES
ENVIRONMENT**

MURAT KİREÇCİ

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Metin DIĞRAK

Year:2006 Page:36

Jury : Assoc. Prof. Dr. Metin DIĞRAK

Jury:Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Jury:Asist. Prof. Dr. Ahmet Doğan DUMAN

In this study, the effect of microorganisms isolated from water, wasted and soil samples around Kahramanmaraş, on lignin biodegradation has been examined. As a result, it has been observed that microorganism, *Bacillus firmus* , *Basillus sp.*, *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas fluoroscens* have caused lignin lose accordingly in proportion of 64,31%, 36,59%, 30,15% and 15,66%. It has also been observed that *Branhamella sp.* had no effect on lignin biodegradation.

Key words: Lignin, bacteria, biodegradation

ÖNSÖZ

Endüstriyel açıdan büyük öneme sahip olan ligninin, degradasyonu teknolojide kullanılabilirliğinin artırılmasına yönelik yapılan bu çalışma, bilimsel olarak dahada geliştirildiği taktirde ülkemizde kağıt sanayinin gelişimine büyük katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Ülkemizde kamu sektöründe ana hammaddeyi , kağıtlık odun başta olmak üzere sap,saman, göl kamışı,linter, kendir, atık kağıt ve selüloz , özel sektörün hammaddesi ise sap , saman, atık kağıt ve ithal selüloz teşkil etmektedir.Bitki biyokütlesi, lignoselülozik materyallerden başlıca üç polimerden oluşmuştur; selüloz, hemiselüloz ve lignin. Bunlara ilaveten çeşitli miktarlarda bulunan nişasta, pektin, proteinler ve çeşitli ekstraktlar veya reçineli materyalleride içermektedir.

Odunsu materyallerin en önemli bileşenlerinden birisi olan lignin, son derece kompleks bir polimerdir.Lignin'in biyolojik olarak degrades olabilmesi oldukça güç olup, hücre duvarının istenen diğer kısımlarının biyolojik olarak kullanılabilirliğini azaltmaktadır.Şimdiye kadar lignini tek karbon kaynağı olarak kullanabilen hiçbir mikroorganizma bulunamamıştır.

Ligninin mikroorganizmalarla özellikle mantarla parçalanması konusunda pek çok araştırma yapılmış olmasına rağmen bakterilerin lignin parçalaması konusunda yapılan çalışmalar oldukça azdır.

Yapılan bu çalışmada ise bakterilerin lignin biodegradasyonu üzerine olan etkileri araştırılmış ve sonuçta bazı bakterilerin lignin biyodegradasyonunu gerçekleştirebildikleri gözlenmiştir.

Bu çalışmayı tamamlamama yardımcı olan başta danışman hocam Doç. Dr. Metin DIĞRAK' a, Arş. Gör. Metin KERTMEN' e, Nurcan ERBİL ve Gülhan ÇORUK' a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Eylül 2006**Murat KİRECCİ****KAHRAMANMARAŞ**

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 4.1. Kahramanmaraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmaların fiziksel ve biyokimyasal özellikleri.....	23
Çizelge 4.2. Kahramanmaraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmaların fiziksel ve biyokimyasal özellikleri.....	23
Çizelge 4.3. Kahramanmaraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizma kolonilerinin morfolojik özellikleri.....	24
Çizelge 4.4. Kahramanmaraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen bakterilerin aşılacağı ortamda oluşan lignin kaybı.....	25

EK ŞEKİLLER DİZİNİ

Ek Şekil 1. Kağıt Fabrikası civarından örnek alınan su birikintisi.....	33
Ek Şekil 2. Örneklerin toplandığı Kağıt Fabrikası.....	33
Ek Şekil 3. Çürümekte olan bitki, kalıntıların bol bulunduğu bölge.....	33
Ek Şekil 4. Çürümekte olan bitki kalıntıların bol bulunduğu bölge.....	34
Ek Şekil 5. Kağıt Fabrikasında bulunan atık kağıtlar.....	34
Ek Şekil 6. Ağaç altlarında çürümüş bitki kalıntıların olduğu bölge.....	34
Ek Şekil 7. Odunsu yapının mikroskobik görüntüsü.....	35
Ek Şekil 8. Lignin'in mikroskobik görüntüsü.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Ligninin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 3.1. Kahramanmaraş bölgesinde farklı alanlardan toplanan örneklerde lignin biyodegradasyonu için yapılan dilüsyon ve izolasyon işlemleri.....	15
Şekil 3.2. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakteri izolasyonu ve saf kültürlerin stok işlemi.....	16
Şekil 3.3. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakteri izolasyonu ve saf kültürlerin stok işlemi.....	17
Şekil 3.4. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakterilerin lignin biyodegradasyonunun belirlenmesi.....	17
Şekil 3.5. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakteri suşlarının lignin biyodegradasyonunun belirlenme çalışmaları.....	
Şekil 4.1. Yüzde olarak degrade edilen lignin miktarları (1. <i>Pseudomonas fluorescens</i> 2. <i>Bacillus sp.</i> 3. <i>Micrococcus luteus</i> 4. <i>Bacillus firmus</i> 5. <i>Branhamella sp.</i>).....	24

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- Lb : Başlangıçtaki lignin miktarı**
Ls : Son lignin miktarı

1. GİRİŞ

Kağıt, kültürel ve sanayi alanındaki yeri ile insanlığın en önemli ihtiyaçlarından biridir. Kağıt sanayisinin gelişmesi bir ülkenin sanayi ve kültürel gelişmesi ile paraleldir. Dünyada en çok üretilen ve tüketilen maddelerden biri olan ve ülkelerdeki üretim ve tüketimindeki gelişmenin anında diğer ülkeleri etkilediği, bu yönüyle ülkeler arası entegre bir durumda olan kağıt ülkemizde de stratejik bir öneme sahiptir. Kağıt sanayinin temel hammaddesi iğne yapraklı ve geniş yapraklı orman ağaçlarının gövde ve dallarından, hububat, tütün, haşhaş, ayçiçeği, kamış, pamuk, jüt ve kendir gibi yıllık bitkilerin sap, tohum ve yapraklarından elde edilmektedir (Crawford, 1982; Hon, 1996).

Ligninin kendisi bir karbonhidrat olmasına karşın doğada daha çok selüloz ve hemiselüloz ile bir arada bulunduğundan karbonhidratlar içinde incelenir. Temel yapı taşı fenil propan bileşiği olan sinapil ve koniferil alkollerdir. Vejetasyon esnasında polisakkarit hücre membranı ve hücre arası oda dolgusu olarak depolanır. Genç bitkide selüloz fazla iken bitki yaşlanıp kartlaştığında lignin miktarı artar. Kuru ot ve samanda (%13-17) yüksek oranda ligno-selüloz kompleksi halinde bulunur. Lignin hayvanlar tarafından sindirilemez (El gammal ve ark., 1997).

Günümüzde sanayi ve endüstri gelişiminde çeşitli kimyasalların kullanılması, enerji, sürekli kontrol gerektirmesi, komplike işlemler olması ve bu süreçlerde de oluşan atıkların arıtılması ya da atıklardaki maddelerin tekrar kazanılması gibi maliyeti yüksek olan basamaklar endüstrileri daha ekonomik çözümler arayışına yöneltmiştir. Bu nedenle, gelişmiş ülkelerde ekstrem çevre koşullarında yaşayan mikroorganizmaların kullanımına yönelik araştırmalar olarak büyük miktarlarda desteklenmektedir (Aguilar, 1996). Bu araştırmalarda, yeni ürünlerin keşfi ve yeni mikroorganizmaların endüstriyel proseslerde faydalanılması çeşitli ekstrem ve moderate çevrelerden mikroorganizmaların izole edilip izleme yöntemleri ile incelenmesi esasına dayanmakta ve disiplinlerarası çalışma şeklinde yürütülmektedir.

Doğada en çok bulunan biyolojik materyallerin başında selüloz ve lignin gelir. Bunların doğada mikrobiyolojik olarak sürekli bir rejenerasyonu söz konusudur. Her yıl milyonlarca ton biyolojik molekül çeşitli organizmalar tarafından kimyasal olarak yıkılmakta ve yapılmaktadır. Böyle büyük miktarlarda madde yapım ve yıkımı haricinde, doğada pek çok makromolekül de mikroorganizmalar sayesinde sürekli olarak dönüştürülür. Bu olayların biyokimyasal mekanizmalarını öğrenmek, özellikle de daha karmaşık gibi görünen yıkım mekanizmalarını kavramak, doğayı oluşturan biyolojik moleküllerin insanların yararına daha verimli bir şekilde kullanılabilmesi için çok önemli bir etken oluşturmaktadır.

Ülkemiz kamu sektöründe ana hammaddeyi, kağıtlık odun başta olmak üzere sap saman, göl kamışı, linter, kendir, atık kağıt ve selüloz, özel sektörün hammaddesini ise sap saman, atık kağıt ve ithal selüloz teşkil etmektedir (Basaglia ve ark., 1992). Bitki biyokütlesi, lignoselülozik materyallerden başlıca 3 polimerden oluşmuştur: selüloz, hemiselüloz ve lignin. Bunlara ilaveten çeşitli miktarlarda bulunan nişasta, pektin, proteinler, ve çeşitli ekstraktlar veya reçineli materyalleri de içermektedir. Lignoselülozik kaynakları oluşturan gerek iğne yapraklı ve geniş yapraklı orman ağaçları, gerekse yıllık

bitkilerin, lignoselülozik materyallerin kimyasal kompozisyonlarını, 30-95% selüloz, 2-50% hemiselüloz ve 0.9-49%'ni lignin teşkil etmektedir.

Kağıt hamuru elde etme yöntemlerin hepsindeki ortak amaç, hammadde içerisinde bulunan lifsel hücreleri birbirinden ayırıp bireysel lifler haline getirmektir. Lifleri bir arada tutan etkenlerin başında, büyük çoğunluğu orta lamelde, kısmen de primer zarda bulunan ve hücreleri birbirine yapıştırıcı bir rol oynayan ligninin bağlayıcı etkisi gelmektedir. Kompleks bir yapıya sahip olan ligninin çözündürülmesi ise kolay bir işlem olmayıp, endüstride üretim için kimyasal ve mekanik yöntemlerden yararlanılır (Bostancı ve Yalınkılıç, 1988). Odunsu materyallerin en önemli bileşenlerinden birisi olan lignin, son derece kompleks bir polimerdir (Kirk ve Haskin., 1973; Eriksson ve ark. 1990) .

Bu çalışma ile mantar türlerine göre daha hızlı gelişen dolayısıyla daha fazla biyolojik aktivite gösteren bakterilerle ligninin parçalanma durumu araştırılacaktır. Çeşitli ekstrem ve moderate çevrelerden bakterilerin izole edilmesi ve bunların lignin degradasyonundaki potansiyellerinin araştırılması ile kağıt endüstrisinin daha verimli hale getirilebilmesi için alt yapının hazırlanması amaçlanmıştır.

1.1. Ligninin Yapısı

Bitkide kök ve gövdenin odunsu yapısını oluşturan madde olarak bilinir. Odunun özünde denen su geçirmez bir yapıya sahiptir. Yaşlanmış ölü hücrelerin selüloz çeperleri üzerinde birikerek bitkiyi uygun olmayan çevre şartlarından korurlar (Martinez ve ark., 2001). Lignin bir glikozit olup kolayca glukoz ve aromatik bir alkole ayrıştırılabilmektedir. Bu glikozit koniferin olarak adlandırılır. Bu bileşikten türeyen (elde edilen) alkole de buna uygun olarak koniferil alkol denilmiştir (Strayer ve ark., 2002). Potasyum permanganat ile ligninin oksidasyonu sonucu "Hemipin Asitleri ve Türevleri" meydana gelmektedir (Sfountoulakis, 2002). İğne yapraklı ağaç odunları lignininden esas itibari ile "guayasil" kalıntısı taşıyan parçalanma ürünleri elde edilmesine karşılık, yapraklı ağaç odunu lignininden yukarıdaki ürünlerin yanı sıra aynı seri içinde "siringil" kalıntısı taşıyan ürünlerde elde edilmektedir (Elke ve ark., 1997).

Lignin bir karbonhidrat olmamakla beraber fonksiyonları bakımından karbonhidratlara yakın bir madde, kimyasal olarak fenil propan türevleridir. Hücrede sekonder çeper yapısına büyük oranda iştirak eder. Hücre çeperini oluşturan selüloz misellerin arasını amorf lignin doldurur ve böylece dokuda odunlaşma meydana gelir (Hirofimi ve ark., 1999).

Çam ağaçlarının iğnelerinde yoğun miktarda bulunan lignin, toprakta çözünmesi çürüyüp toprağa karışması uzun bir zaman aldığından çam ağaçlarının altında birikir. Bu biriken maddeler yavaş yavaş çözündükçe toprakta asit birikmesi olur. Ayrıca alt tabakadaki bitkiler oluşan bu iğne yumağının altında kaldığı için ışık alamayarak çürürler. Olgunlaşmış yoğun bir çam ormanı genelde altında çok bitki barındırmaz, bu yüzden zaten yoğun gölge yaparak alttan yetişen gölgeye dayanıksız ağaçları bastırır (Breen, 1999).

Parçalanma ürünlerinden anlaşılmaktadır ki; ligninin temel yapı taşı bir aromatik çekirdek ile bir propan zincirinden oluşmaktadır (Guiraud ve ark., 1998). Burada molekülün bazı yerlerinde çeşitli fonksiyonel gruplar bulunmaktadır. Bu guruplar

sayesinde çok çeşitli diğer birimlere bağlanabilme olasılıkları ortaya çıkmaktadır(Adosinda ve ark., 2002). Ligninin temel yapı taşı veya temel birimi fenil propan olarak adlandırılmaktadır. Fenil propan üyeleri çok çeşitli tarzlarda birbirlerine bağlanarak lignini meydana getirirler(Adosinda ve ark., 2001).

Fenil propandan iğne yapraklı ağaç odunları ya da yapraklı ağaç odunları ligninlerinin temel ögeleri olan koniferil veya sinapil alkoller oluşmaktadır. monokotiledonlarda ayrıca kumaril alkol de görülmektedir .

Ligninin kimyasal olarak polisakkaritlerle bağlı bulunduğu ortaya çıkmıştır.Bunca çalışmalara rağmen lignin hakkında yeterli bilgi elde edilememiştir.Bunun nedeni elde etme esnasında ; özütleme aşamasında maddenin doğasının bozulmasıdır.Bu yüzden kimyacılar odun özünü (lignini) doğada bulunduğu biçimiyle elde edememekte, asıl madde yerine türevlerini incelemek zorunda kalmaktadırlar.

Lignin; kağıt üretiminde kükürtdioksit, sodyum sülfid yada sodyum hidroksit gibi maddeler yardımı ile odun hamurundan ayrılır.Ayrılan bu lignin kendisinden yararlanılacak uygun bir kimyasal teknolojinin yokluğu nedeni ile çoğunlukla yakılır .

Ligninin kimyasal yapısını incelediğimizde birbirine yakın üç aromatik bileşikten meydana geldiğini görürüz. Bu maddeler koniferli alkol, sinapil alkol ve p-kumar alkoldür. Lignin asitlerle hidroliz olmaz. Bu alkoller içinde koniferli alkol esas bileşen olup, kozalaklı ağaçların lignininde %90, yayvan yapraklı ağaçların lignininde %50 oranında koniferil alkol bulunur (Chrestini ve ark., 1998).

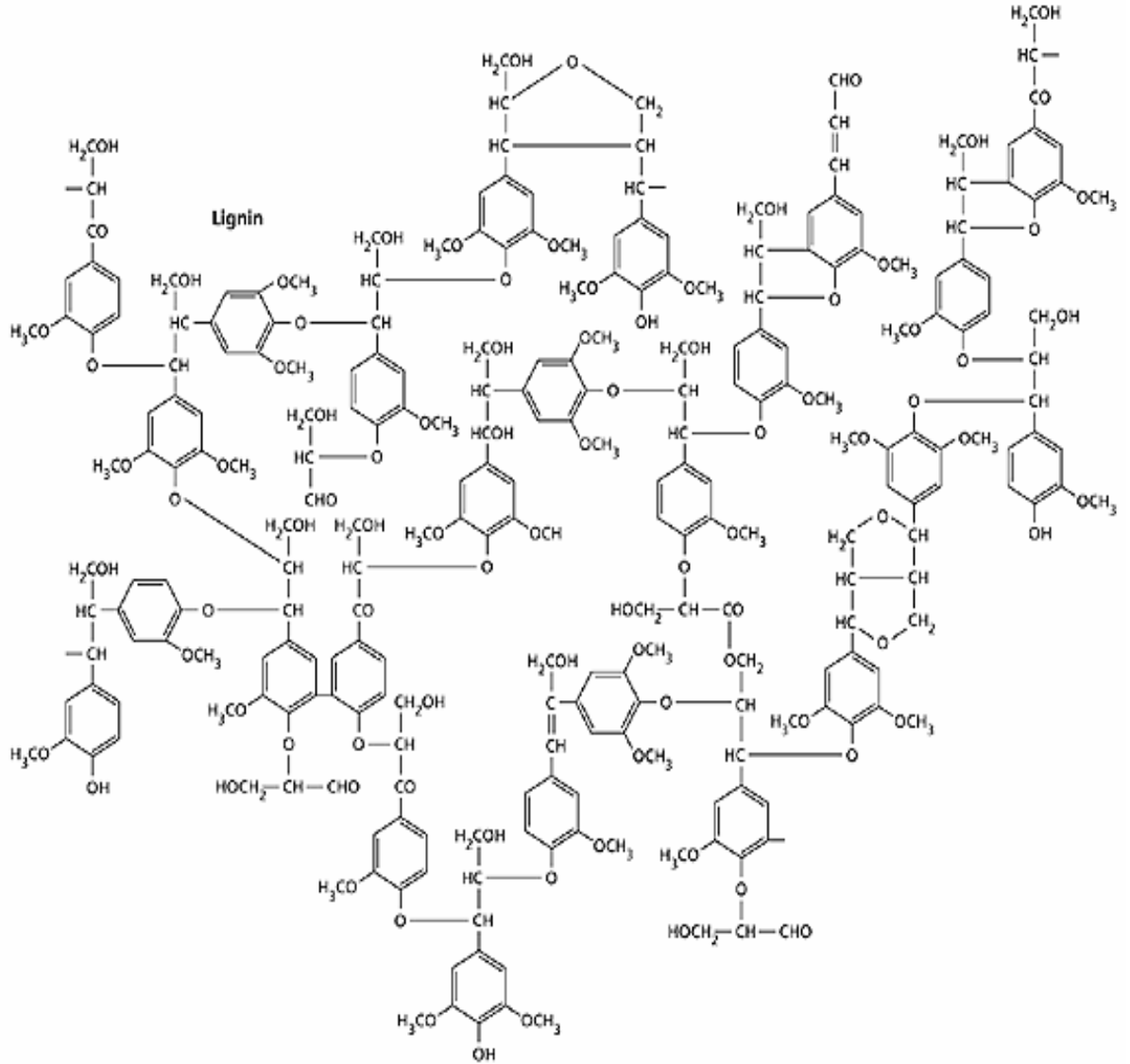
Ligninin biyolojik olarak parçalanabilmesi oldukça güç olup, hücre duvarının istenen diğer kısımlarının biyolojik olarak kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Şimdiye kadar lignini tek karbon kaynağı olarak kullanabilen hiçbir organizma bulunamamıştır. Bakteriyel ligninin degradasyonu Actinomisetler (özellikle *Streptomyces spp.* *Streptomyces viridoendosporus* ve *Streptomyces setonii*) kullanılarak geniş şekilde çalışılmıştır (Crawford, 1982; Basaglia ve ark., 1992). Lignin ve lignin model bileşiklerini parçalayabilen pek çok alkalifilik mikroorganizmalar izole edilmiştir (Kawakami ve Shumiya, 1983).

Kompleks lignin polimeri, çeşitli fungusların saf kültürleri ile tamamen ayrıştırılabilmektedir (Claudiacrestini ve ark., 1998). Tamamen ligninleşmiş dokuları ayrıştırılabilen (lignin > 20%) en önemli mikroorganizmalar *Basidiomycetes*'lerin bir grubunu teşkil eden beyaz çürükçül mantarlardır (Sfountoulakis ve ark., 2002). Beyaz-çürükçül mantarlar sahip oldukları kompleks ekstraselüler enzim sistemleri selektif olarak lignin polimerini uzaklaştırır yada değiştirerek selüloz fibrelerinin elde edilmesine olanak sağlar (Michizoe ve Okazaki 2001).

Ligninin tek karbon/enerji kaynağı olarak mikroorganizmalar tarafından kullanılamaması standart zenginleştirme yöntemleri ile lignini degrade eden mikroorganizmaların izolasyonunu güçleştirmektedir (Crawford, 1981). Çeşitli çalışmalarda belirli mantarlar dışında lignin polimerini ayrıştıran mikroorganizmaların çeşitliliği günümüzde tam kesin olarak belirgin değildir. Ve belirsizlik seçilen türlerle

yetersiz ve kapsamlı çalışmaların eksik olduğunu göstermektedir. Ligninin kimyasal yapısı Şekil 1' de gösterilmiştir

Ligninin tek karbon/enerji kaynağı olarak mikroorganizmalar tarafından kullanılamaması standart zenginleştirme yöntemleri ile lignini degrade eden mikroorganizmaların izolasyonunu güçleştirmektedir (Crawford, 1981). Çeşitli çalışmalarda belirli mantarlar dışında lignin polimerini degrade eden mikroorganizmaların çeşitliliği günümüzde tam kesin olarak belirgin değildir. Ve belirsizlik seçilen türlerle yetersiz ve kapsamlı çalışmaların eksik olduğunu göstermektedir. Ligninin kimyasal yapısı Şekil 1' de gösterilmiştir



Şekil 1.1. Ligninin kimyasal yapısı

1.2. Selüloz ve Genel Özellikleri

Selüloz karasal ortamda fazla miktarda bulunan bir biyopolimerdir. Özellikle kuru bitkisel materyalin yapısında fazla miktarda bulunmaktadır (Eriksson ve ark., 1990).

Selüloz glikoz ünitelerinin β -1,4 bağları ile bağlanması sonucu oluşmuş bir homopolimerdir. Selüloz molekülünün büyüklüğü (polimerizasyon derecesi) bitki hücresinin duvarında bulunan ikincil duvarda her molekülde 500'den daha az glukoz biriminin bulunmasına bağlı olarak değişir (Ljungdal ve Eriksson, 1985).

Genellikle selülozun bitki hücre duvarındaki oranı hücre tipine ve evresine göre değişmektedir. Örneğin; birincil duvarın kuru ağırlığının %20-40 selülozdan oluşurken ikincil duvarın %40-60'ı selülozdan oluşmaktadır (Nugzar ve ark., 1997).

Pamuk tohumunun ikincil duvarının %100'ü selülozdur. İkincil hücre duvarı mikrofibrilleri birincil hücre duvarı mikrofibrillerine göre daha da yoğunudur ve daha çok selüloz kristalleri içerir .

Selüloz doğada hemen hemen hiçbir zaman tek başına bulunmaz. Genellikle diğer bitkisel maddelerle beraber bulunur. Bu selülozun doğal ortamda parçalanmasını etkilemektedir. Selüloz fibrilleri öncelikle hemiselüloz, pektin ve proteinleri dahil olduğu diğer polimerlerin matrixine gömülmüş şekildedirler. Selüloz, hücre duvarına turgor basıncına dayanabilecek gerilebilir bir kuvvet verir. Eğer hücre duvarındaki su lignin ile değiştirilirse yüksek bir kuvvet elde edilir.

Bitki dünyasında en fazla bulunan ve en basit yapıya sahip olan, aynı zamanda hücre duvarı yapısında yer alan yapısal polisakkaritlerin en önemlilerinden birisi polisakkarittir (Anonim, 1969).

Selüloz ; bütün bitki , ot ve ağaçların temel yapı taşıdır. Selülozun en önemli görevi bitkilere sağlamlık , diklik ve destek sağlamaktır. Doğada saf halde bulunmaz. Odunun ağırlıkça %40'ını , ketenin %60-85'ini pamuk liflerinin %85-90'ını selüloz oluşturur (Johansson, 1991).

Doğada birkaç çeşit selüloz bulunmaktadır. Bunların hepsinde endüstri açısından önemlidir, fakat değişik amaçlar için kullanılır. Selüloz türleri birbirinden a, b, d harfleriyle ayırt edilir. A- selüloz, pamuktaki selüloz türüdür. Bütün türler arasında en önemli olanıdır. "Hemi-selüloz" adını alan b-selüloz ve d-selüloz ise asitler ve bazlara karşı daha az dayanıklı moleküller dallanmış halde ve daha kolay kopabilme özelliğine sahiptir (Anonim, 1969).

1.3. Hemiselüloz ve Genel Özellikleri

Hemiselülozlar, odundaki selüloz olmayan başlıca polisakkaritlerdir. Hücre çeperindeki polisakkaritlerin %20-35 'ini hemiselülozlar teşkil etmektedir. Odunun üç ana bileşeni arasında ısıya en duyarlı olan hemiselülozlardır ve 200-260 °C aralığında bozunurlar (Gunnar, 2000).

Hemiselüloz, artı selüloz odundaki holoselülozu oluşturur. Hemiselülozlar, selülozdan aşağıdaki özellikleri ile ayrılır (Yoon ve ark., 2005).

Odunun diğer elemanlarından ayrıldıktan sonra seyreltik alkali çözeltisinde ve kaynayan suda çözünebilirler. Hemiselülozların kimyasal yapısı hakkında bugün çok az şey bilinmektedir. Ama şu açıkça bilinmektedir ki hemiselülozlar selülozdan daha heterojendir (Robert ve ark., 2001).

2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Benner ve ark. (1984), yaptıkları çalışmada, lignin ve polisakkarit komponentlerinden lignoselüloz ve sentetik lignin mikroflora sedimenti ile anaerobik parçalanmasını incelemiş ve sonuçta yaprak benzeri yapılarda meydana getirilen lignoselülozdan kullanılmış olan lignin komponentlerinin % 16.9'u ve polisakkarit komponentlerinin % 30'unun gazlı son ürünlere parçalandığını tespit etmişlerdir.

Beguin, 1990, *Trichoderma reesei* gibi selülotik mikroorganizmaların kristal selülozu parçalayan ve sinerjistik olarak aksiyon gösteren enzim serisi üretebildiğini belirtmişlerdir.

El-Gammal ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada lignoselülozik materyallerin, lignin ve şeker ürünlerinin, seçilen dört tane mikroorganizma ile biyodegradasyonunu incelemiş ve sonuçta *C. equisetifolia*'nın lignoselülozik yapısındaki lignin kayıpları *P. chrysoendosporium* NRRL 6359 da %84.06; *P. chrysoendosporium* NRLL 6361 de %67.66; *C. versicolor* NRLL 6102 de %62.9; *S. viridoendosporus* NRLL 2414'te %26.25 oranında gözlemlenmiştir.

B.Kurek ve ark. (1997) , Peroksidazlar ve laccasesler lignin bio-çürüme prosesinin anahtar enzimleri oldukları ve bu enzimlerin fenolik ve non-fenolik lignin bileşiklerini okside ederek fenoksi ve katyon radikallerinin oluşmasını ortaya çıkarmışlardır.

Rodriguez ve ark. (1997) , yaptıkları çalışmada kuru enzim ortamında buğday samanını farklı *Streptomyces* tarafından biyolojik bozunuma uğraması araştırılmıştır. Modifiye edilmiş ligin polimeri (Asid- polimerik ligin APPL) NaOH ve su ile karıştırılmış , proliz gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. P-hidroksi fenol guarasil syrigil içindeki belirleyici farklılıklar , kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

Tatarko ve Bumpus (1997), Azo boyalı Kongo kırmızısı wood rotting *basidiomycetes* tarafından büyük oranda indirgenildiğini yaptıkları çalışmalarda saptamışlardır.

M.Adamovicrk. (1998) , yaptıkları çalışmada *Pleurotus ostreatus* enziminin buğday samanı degradasyonu üzerindeki etkisi laboratuvar koşullarında incelenmiş ve çalışma sonucunda buğday samanının önemli ölçüde degradasyona uğradığı gözlemlenmiştir.

Crestini ve Sermanni (1998), Buğday ligninin bio-indirgenmesi sırasında yapısal değişikliklerin tespit edilmesi P-H-P homo ve hetero nükleer NMR spektroskopilerinin ortak kullanımı ile sağlanmıştır. Belirgin olarak çürümüş lignin içindeki küçük miktarlardaki fenolik hidroksi ve metoksi gruplar az miktardaki aromatik birimler için belirleyici olabileceği, fakat bunların yanı sıra karboksilik asit miktarındaki artış oksidasyon zincir reaksiyonlarının esasları ile açıklanamamıştır.

Alexander ve Ark. (1999) , yaptıkları çalışmada non-fenolik β -O-4 bağlı lignin modelinin okside olmasıyla meydana gelen üç farklı peroksil radikal üretim sistemini göstermişlerdir. Bunlar: 1- Mnp, Mn(II), linolenik asit 2- Arşidonik asit 3- Cyanvalenik

asit oldukları ve sonuç olarak biogenik peroksi radikalleri ligninin indirgenmesinde rol alan ajanlar olabileceği hipotezini ortaya atmışlardır.

A. leonowicz ve Ark. (1999) , küçük moleküler bileşiklerin ve radikallerin enzimlerle olan ilgisi çalışılmışlardır. Bu çalışmada odun çürüğü basidiomycetous mantarı oduna sızıp kolayca metabolize olmuştur. Beyaz-rot mantarı direk olarak lignin bariyerini etkileyebilmektedir. Bu enzimler tek başına ve ortak olarak fonksiyon yapabilirler.

Lars Hilden ve Ark. (2000) , yaptıkları çalışmada ekstraselüler bir enzim olan manganez peroksidazın lignini indirgediğini düşünmüşler bu indirgenmenin ise hidrojen peroksit varlığında Mn(II) 'nin Mn(III) 'e oksitlenerek etki etmesiyle mümkün olduğunu görmüşlerdir. Böylece cellobioz ve manganez peroksidaz ekstraselüler yol içinde ligninin biyolojik degradasyonunda rol almakta olduğunu görmüşlerdir.

Johansson ve ark. (2000) yaptıkları çalışma klorlama ve lignin biyodegradasyonunu incelemiş ve sonuçta klorlamanın degradasyon üzerine etkili olduğunu ve organik klorinin *P. chrysoendosporium*'un enzim sisteminin aktifleştirerek lignin biyodegradasyonuna etki ettiğini gözlemlemişlerdir.

Taumela, M. ve ark. (2000), Kağıtın lignoselülozdan üretilebildiğini ve lignoselülozunda %20 oranında lignin içerdiğiyle ilgili bir çalışma yapmışlardır.

Yamamoto, H. ve Ark. (2000), Yapmış oldukları çalışmada bazı mikroorganizmaların çapraz bağlı LPR-GA indirgenmesine neden olduğu gözlenmiştir. Lignin jelleri, organik çapraz bağlı glutareldehitin 25 derecede üç gün boyunca derişik metanol LPR resin ile etkileşiminden hazırlamıştır. Lignin jel, etanol ve su içine daldırıldığında reversibil genişleme – daralma hareketi sergiler. Bu çalışmadan şu sonuçlar elde edilmiştir: Lignin ve GA jellerinin dört *Basidiomycotia* mantarı ile indirgendiği tespit edilmiş, lignin-GA jellerinin en çok indirgenmesi bir fungus olan *Flammulina velutipes* ile sağlanmıştır.

J.C. del Rio ve M.Speranza (2001), *Eucalyptus globulus* odununun belirli basidiomycetes'ler tarafından indirgenen kısımları doğal ağaç çürütme yöntemleri ile izole ederek gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi gibi iki analitik metod ile çalışmışlar. Benzer zirve değerler, *guaiacylpropanoid* (G) ve *syringylpropanoid* (S) lignin değerleri için hesaplanmıştır. S/G lignin oranında azalma gözlenmiştir. Hem en düşük lignin/karbohidrat hemde S/G oranları *Phanerochaete crassa* ile muamele edilen odunlarda gözlenmiştir.

Andre ferraz ve Ark.(2001), demir şelat bileşikleriyle yaptıkları lignin degradasyon çalışmasında , ligninin belirli oranlarda ayrıştığını görmüşlerdir .

Kumar ve ark., (2001), *B.catarrhais*, *Brohotrix* türleri, *micrococcus luteus* ve *Bacillus* türleriyle yaptığı lignin biyodegradasyonu çalışmasında *micrococcus luteus*'un %11,7 oranında lignini degrade ettiğini belirtmiş ama *Branhamella sp.* 'nin ise degrade işlemi başarılı olmadığını kanıtlamıştır.

M.S. Fountoulakis ve Ark. (2002) , zeytin imalathane atıklarının degradasyonu, liginin degradasyonu ile benzerlik gösterdiği için bununla ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada birçok mikroorganizmayı kullanmışlar.Ama sonuç olarak hiçbir mikro organizmanın white-rot-*basidiomycetes* kadar biodegradasyon yapabilme kabiliyetinin olmadığı gözlenmiştir.

M.Tuomela, P.Oivanen ve A. Hattaka (2002), Yaptıkları çalışmada sentetik ligninin çeşitli beyaz çürükçül mantarlar ile degradasyonunu araştırmışlardır.Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar, *Abortiporus biennis* , *Bjerkandera adusta*, *Dichomitus squalens* , *Phanero chrysosporium*, *Phanerochate sordida* , *Trametes hirsuta* dır.

T.Watanabe,H. Teranishi ve Ark. (2002), Yaptıkları bu çalışmada 1-nanodecene-2,3 dikarboksilik asid (ceriporik acid) üretiminin OH radikali ile inhibe edilerek Fenton reaksiyonlarına direkt olarak etkisi araştırılmıştır.Aktif oksijen türlerinden biri olan hidroksil radikali ağaç hücre duvarlarının erozyununda baş rol oynamaktadırlar ve bu tahribatı gerçekleştiren mikroorganizmalar ise beyaz ve kahverengi-rot mantarlarıdır .

Viikari ve ark.,(2004) *Trichoderma reesei* tarafından selülaz enzimi üretimi olduğunu ortaya koymuşlar.

Grigorevski De Lima ve ark., (2005) *Streptomyces drozdowiczii* tarafından üretilen selülaz enziminin aktivitesini bulmak için , mikroorganizma 30 C’de temel karbon kaynakları ve temel nitrojen kaynaklarının bulunduğu kültürde üretilmiş süpernatant da maksimum CMSase aktivitesinin 50 C’de pH -5 de olduğu gösterilmiştir.

Kudanga ve Mwenje (2005), yapmış oldukları çalışmalarında *Aureobadium pullulans*’dan selülaz üretimi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Wen ve ark., (2005) *Trichoderma reesei*, *Aspergillus phoenicis* ‘den selülaz enzimi üretimi üzerine çalışmışlardır.Çalışmalar sırasında *T. Reesei* ve *A. Phoenicis*’in ise enzim üretiminin optimal olduğunu belirtmişlerdir.Her iki mantarın bulunduğu karışık kültürde ise optimal sıcaklık değerlerinin 27 C ve pH ‘ın 5.5 olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yoon ve Kim ,(2005) *Fomitopsis palustris* mantarlarından üç temel selülazın (ekzoglulanaz, endoglukanaz beta-glukanaz) üretimi olduğunu bildirmişlerdir.

Sehnam ve ark., (2006) *Penicillium echinulatum* 9A02S1’den selülaz üretimi olduğunu bildirmişlerdir ve enzim üretimi üzerine laktozun etkisini ise aktiviteyi artırıcı yönde olduğunu göstermişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD**3.1. Materyal****3.1.1. Örnekler**

Çalışmalarımızda bakteri izolasyonu için kullanılan örnekler Kahramanmaraş çevresindeki ekstrem alanlardan toplanmıştır.

3.1.1.1. Örneklerin toplandığı alanlar;

- a. Kahramanmaraş Kağıt Fabrikası atıkları
- b. Kahramanmaraş Kağıt Fabrikası atık suları
- c. Kahramanmaraş Kağıt Fabrikası çevresinden toplanan toprak örnekleri
- d. Çürümekte olan bitki kalıntılarının bol olduğu bölgelerden alınan toprak örnekleri
- e. Sanayi Bölgesi Ağaç İşleri Bölgesindeki toprak örnekleri

3.1.2. Besiyerleri**3.1.2.1. Nutrient Broth**

Et peptonu	7.8 g
Kazein peptonu	7.8 g
Maya ekstraktı	2.8 g
NaCl	5.6 g
D(+)-Glikoz	1.0 g
Destile su	1000 ml
pH	7.5

Maddeler distile suda eritilmiş otoklavda 121°C'de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

3.1.2.2. Nutrient Agar

Nutrient Broth'daki maddelere 15.0 g Agar-agar ilave edilerek hazırlanmıştır

3.1.2.3. Lignin Agar

Lignin	5.0 g
Agar-agar	17,3 g
Fizyolojik tuzlu su	1000 ml

Maddeler distile suda eritilmiş otoklavda 121°C'de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

3.1.2.4. Lignin Degradasyon Buyyon

KH ₂ PO ₄	1,0 g
NaHPO ₄	4,0 g
NaCl	0.2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂	0.05 g
Maya ekstraktı	2,0 g
Lignin	5,0 g
Distile su	1000 ml

Maddeler distile suda eritilmiş otoklavda 121°C’de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

3.1.2.5. Nutrient Jelatin Ortamı

Nutrient broth	23 g
Jelatin	40 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Maddeler distile suda eritilmiş otoklavda 121°C’de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

3.1.2.6. Pseudomonas Agar F

Tryptone	10,0 g
Peptone	10,0 g
Dipotassium phosphate	1,5 g
Magnesium sulfate	1,5 g
Agar	15,0 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Ortam 121°C’de ve 1,1 atmosfer basınç altında sterilize edilerek hazırlanmıştır. Bu ortam *Pseudomonas* genusunun izolasyonunda kullanılmıştır (Anonim, 1984).

3.1.2.7. Nitrat Broth

Nutrient Broth	13,0 g
KNO ₃ veya NaNO ₃	5,0 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Ortam 121°C’de ve 1,1 atmosfer basınç altında sterilize edilerek hazırlanmıştır.

3.1.2.8. Üre Agar

Pepton	1,0 g
NaCl	5,0 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g
Fenol Red (%2 'lik)	6,0 ml
Agar	10,0 g
Distile su	1000 ml
pH	6,9

Ortam 121°C'de ve 1,1 atmosfer basınç altında sterilize edilerek hazırlanmıştır.

3.1.2.9. Karbonhidrat Fermentasyon Ortamları**Glukoz, Sakaroz, Son konsantrasyonunda % 1,Laktoz, Maltoz vb..**

Beef extract	1,0 g
Peptone	10,0 g
NaCl	5,0 g
Phenol red	0,0018 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Ortam 121°C'de ve 1,1 atmosfer basınç altında sterilize edilerek hazırlanmıştır.

3.1.3. Çözeltiler**3.1.3.1. α -Naftol Çözeltisi (%5' lik)**

α -Naftol	5,0 g
Etil alkol	100,0 ml

α -Naftol 80 ml metil alkol içerisinde çözülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti, MR-VP brothda nötral ürünlerin varlığını belirlemek için kullanılmıştır. Nitrit indirgeme testinde nitritlerin varlığının belirlenmesinde de kullanılmıştır (Özçelik, 1998).

3.1.3.2. Sülfanilik Asit Çözeltisi

Sülfanilik asit	5,0g
Asetik asit(5N)	1000ml

Nitrat broth'da nitrit oluşumunun tespit edilmesinde kullanılmıştır (Bradshaw, 1992).

3.1.3.3. Nessler Çözeltisi

50g KI, 35 ml soğuk suda çözülmüş ve hafif bir çökelti kalıncaya kadar doymuş çözelti elde edilmiştir. Daha sonra KOH'nın %50'lik solüsyonundan 400 ml eklenmiş,

hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır ve üstte kalan sıvı kısmı kullanılmıştır. Nessler çözeltisi nitrat broth'da amonyanın varlığının belirlenmesinde kullanılmıştır (Şentürk, 1993).

3.1.3.4. %2'lik Fenol Red Çözeltisi

Fenol Kırmızısı	0,1 g
Etanol (% 95'lik)	250 ml
Distile su	250 ml

Fenol red %95'lik etil alkol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Bu çözeltisi üreaz testinde kullanılmıştır (Şentürk, 1993; Gücin ve Dülger, 1995).

3.1.3.5. %20' lik Üre Solüsyonu

20 g üre, 100 ml deiyonize suda çözülmüştür. Ürenin yapısının bozulmaması için filtrasyon veya tindalizasyon ile sterilize edilmiştir. Yine bu solüsyon mikroorganizmaların üreaz aktivitesinin tespitinde kullanılmıştır (Şentürk, 1993; Gücin ve Dülger, 1995).

3.1.3.6. Metilen Mavisi Çözeltisi

Metilen mavisi	1,0 g
Fenol	0,50 g
Disitile su	100 ml

Bu çözelti izole edilen mikroorganizmaların endospor boyama testinde kullanılmıştır (Gücin ve Dülger, 1995).

3.1.3.7. % 5'lik Malaşit Yeşili Çözeltisi

Malaşit Yeşili	5,0 g
Distile su	100 ml

Malaşit yeşili çözeltisi endospor boyamada kullanılmıştır (Gücin ve Dülger, 1995).

3.1.3.8. % 0,5'lik Safranin Çözeltisi

Safranin	0,50 g
Distile su	100 ml

% 0,5'lik safranin çözeltisi endospor boyamada kullanılmıştır (Gücin ve Dülger, 1995).

3.1.3.9. Kristal Viyole Çözeltisi

Kristal viyole	2,0 g
Etil alkol(% 95'lik)	200 ml
Amonyum okzalat	0,80 g
Distile su	80 ml

20 ml Etanolde 2 g Kristal viole çözülmüştür. 80 ml distile suda 0,8 g amonyum oksalat çözülmüş ve bu çözelti alkolde çözülmüş olan Kristal viole ilave edilmiştir. Bu çözelti Gram (Gr) boyama testinde kullanılmıştır (Gücin ve Dülger, 1995; Özçelik, 1998).

3.1.3.10. Safranin Çözeltisi

Safranin	0,25 g
Etanol (% 95'lik)	10 ml
Distile su	100 ml

Safranin etanolde çözülmüştür, distile su ilave edilip iyice karıştırılarak hazırlanmıştır. Bu çözelti gram boyama yönteminde kullanılmıştır (Gücin ve Dülger, 1995; Özçelik, 1998).

3.1.3.11. Gram İyodür Çözeltisi

İyot	1,0 g
KI	2,0 g
Distile su	300 ml

İyot ve KI havanda iyice karıştırılarak toz haline getirilmiştir. Ve üzerine yavaş yavaş distile su ilave edilerek hazırlanmıştır. Bu çözelti gram boyama metodu için kullanılmıştır (Gücin ve Dülger, 1995; Özçelik, 1998).

3.1.4.Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları

Hassas Terazi: 0.0001-220 gr arasında ölçüm yapabilme özelliğine sahiptir.

İnkübatör: Lignini degrade edebilen mikroorganizmaların geliştirilmesinde kullanılmıştır.

Mikroskop: Mikroorganizmaların morfolojilerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Cam malzemeler:100,150 ve 250 ml 'lik erlen ve 250 ml'lik beherler kullanılmıştır.

Steril kabin: Çalışmada kullanılan bakterilerin besiyerlerine aşılmasında saf kültüre başka mikroorganizmaların kontaminasyonunun engellenmesi amacı ile kullanılmıştır.

Öze:Petri kablarna bakterilerin aşılmasında kullanılmıştır.

Otoklav:Ekimler yapılan besiyerlerinin sterilizasyonunda ve genel sterilizasyonda kullanılmıştır.

Pasteur fırını:Cam malzemelerinin kuru sterilizasyonlarında kullanılmıştır.

3.2. METOD

3.2.1. Ligninin elde edilişi

Siyah kavak'ın (*Populus nigra*) odun parçaları, etanol-su karışımı [180 ml; 60:40(v/v)] ve 0.02N H₂SO₄ (katalizlemek için; % 0.2 karışımın üzerine ilave edilir) içeren ortamda 75 °C'de 2 saat bekletilmiştir. Elde edilen karışım sulandırılmış ve filtre edilmiştir. Bekleme sonunda üstte kalan partikülün içeriği ilk önce organik çözücü [60:40(v/v)] ile ve daha sonra ise distile su ile yıkanmıştır. Filtrat 40°C'de, azaltılmış basınç altında yoğunlaştırılmıştır. Alkol-su karışımı içerisinde kalan lignin (koyu kahve renkli) HCl ile sulandırılarak çökeltilmiş ve 40°C'de 24 saat kurutulmuştur (Fengel ve Wegener, 1984).

3.2.2. Örneklerin Alınması

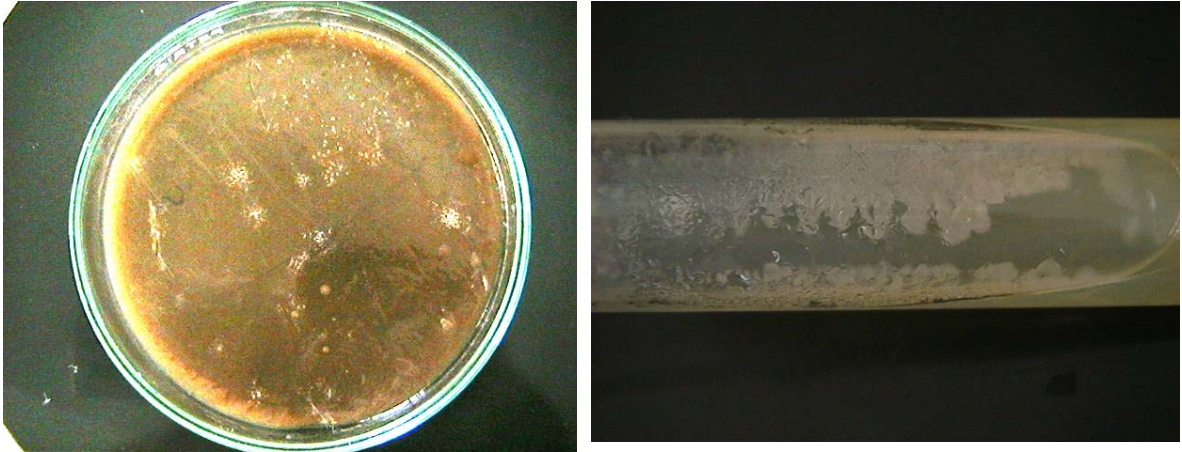
Su, toprak ve atık örnekleri steril kavanoz ve polietilen torbalara alınmış ve örneklerin toplandığı alanlar kaydedilerek laboratuara taşınmıştır. Örnekler toplandıktan sonra analiz yapıncaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir (Özçelik, 1998; Malloch, 1981; Brock, 1979)

3.2.3. Örneklerin Ekimi ve İzolasyonu

Toplanan örneklerden 10⁻¹'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu dilüsyonlar Nutrient Broth ortamına ekilerek Bakterilerin gelişmesi için 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir (Collins ve ark., 1989; Buchanon ve Gibbons, 1984). Süre sonunda aktivite kazanan mikroorganizmalar içerisinde lignin parçalayabilenlerin belirlenmesi için Lignin Agar'a çizme ve sürme yöntemiyle ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan plaklar 37 °C'de 15 gün süre ile inkübe edilmiştir. Lignin Agar'da geliştiği gözlenen mikroorganizmaların koloni morfolojilerinin belirlenmesi amacı ile Nutrient Agar'a transfer edilmiş ve sürme yöntemiyle saf kültür eldesi için ekimi yapılmıştır (Şekil 2-4). Plaklar 37 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir (El-Gammal ve ark., 1998).



Şekil 3.1. Kahramanmaraş bölgesinde farklı alanlardan toplanan örneklerde lignin biyodegradasyonu için yapılan dilüsyon ve izolasyon işlemleri



Şekil 3.2. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakteri izolasyonu ve saf kültürlerin stok işlemi(Kumar, 2001)



Şekil 3.3. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakteri izolasyonu ve saf kültürlerin stok işlemi(Kumar, 2001)

3.2.4. Lignin Biyodegradasyonu

Koloni morfolojisi farklı olarak belirlenen izolatların lignini parçalayabilme durumlarını belirlemek amacıyla Nutrient Broth ortamına ekimi yapılarak aktivasyonu sağlanmıştır. Nutrient Broth'da zenginleştirilen bu izolatlar daha sonra, Lignin Degradasyon Buyyon'a aşılacak ve 37 °C'de 8 hafta süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak bakteri aşılmayan ve kültür ortamında gelişen bakterilerin ağırlığını belirlemek için bakteri aşılacak fakat lignin içermeyen ortamlar kullanılmıştır (El-Gammal ve ark., 1997).

3.2.5. Lignin Biyodegradasyon Oranının Belirlenmesi

Sekiz haftalık süre sonunda bakteri aşılacak ve 37 °C'de inkübe edilmiş olan Lignin Degradasyon Buyyon otoklavda steril edildikten sonra, kurutulmuş ve ağırlıkları

kaydedilmiş olan filtre kağıtlarından süzölmüştür. Süzme işleminden sonra filtre kağıtlarının üzerinde kalan lignin Pastör fırınında tekrar kurutulmuştur. Bu işlemin ardından tartım işlemi tekrarlanmış ve kağıdın kaydedilen ilk ağırlığı son ağırlığından çıkarılmıştır. Böylece oluşan fark filtre kağıdı üzerinde kalan lignin ağırlığı olarak belirlenmiştir (Şekil 5, 6) (El-Gammal ve ark., 1998). Degradasyona uğrayan ligninin miktarı ise aşağıda verilen formöl ile hesaplanmıştır.

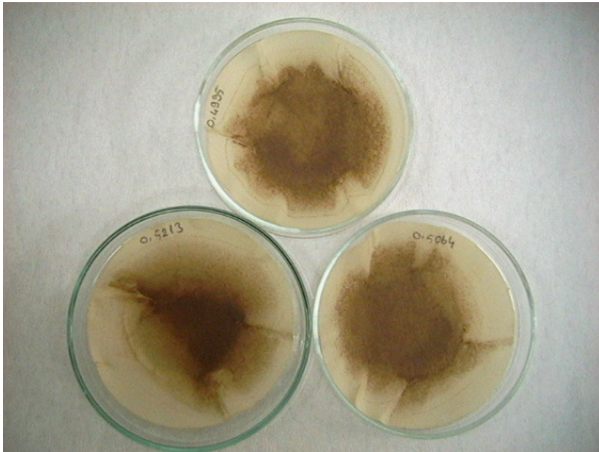
$$\% \text{ Degrede Lignin} = \frac{L_B - L_S}{L_B} \times 100$$

L_B =Başlangıçtaki lignin miktarı

L_S = Son lignin miktarı



Şekil 3.4. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakterilerin lignin biyodegradasyonunun belirlenmesi



Şekil 3.5. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden bakteri suşlarının lignin biyodegradasyonunun belirlenme çalışmaları

3.2.6. Bakterilerin Tanımlanması

Lignin agarda gelişen izolatların tanımlanması için izolatların gram boyama, katalaz aktivitesi, hareketlilik, morfoloji, endospor oluşumu, oksidaz, fluorasan pigmenti, jelatin, arjinin, nişasta ve kazein hidrolizi, nitrat oluşumu, 4, 42, 50 ve 60 °C’de gelişme, üreaz, glikoz, sakaroz, ksiloz, manitol, laktoz, fruktoz ve maltozdon asit oluşumu, Voges Proskauer testi gibi özelliklerine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlar dikkate alınarak (Collins ve ark., 1989; Horikoshi ve ark., 1996’nin belirlediği metotlara göre bakterilerin teşhisi yapılmıştır. Teşhis için yapılan bazı kültürel, biyokimyasal ve fizyolojik testler şunlardır:

3.2.6.1. Gram Boyama

İzolasyonu yapılan saf koloni bir damla fizyolojik tuzlu su içinde ezilerek bir lam üzerine yayıldı. Havada kurutulup alevden bir kaç defa geçirilmek suretiyle tespit edildi. Daha sonra kristal viyole boyası ile 2,5 dakika boyanıp lügol solüsyonuyla 1 dakika beklendikten sonra %95 alkol ile renksizleştirme işlemi yapıldı ve fuksin boyası ile 15 sn boyandıktan sonra kurutulmuş ve immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta incelenmiştir (Collins ve ark. 1989; Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.2. Proteolitik Aktivite

Nutrient Jelatin ortamı mikroorganizmaların proteolitik ekzoenzimlere sahip olup olmadıklarını belirlemek için kullanılmıştır. Ortam 121°C’ de ve 1,1 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edildikten sonra dik bir şekilde dondurulmuştur. Öze ile dik bir şekilde mikroorganizmaların ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan izolatlar 22 C° de iki gün süre ile inkübe edilmiştir. Bu nedenle inkübasyon 20-25°C’de 7 gün süre ile yapılmıştır. İnkübasyon sonucunda ekim yapılan çizginin etrafında sıvılaşma var ise bu proteolitik ekzoenzimlerin varlığı için pozitif, sıvılaşma yoksa sonuç negatif kabul edilmiştir (Gücin ve Dülger,1995).

3.2.6.3. Nitrat Redüksiyonu

Ortam durham tüplü olarak deney tüplerinde hazırlanmıştır. 121°C’de ve 1,1 atmosfer basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Bu ortam nitratların-nitrite, nitritlerin-amonyağa, amonyağın-N₂ gazına indirgenmesinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Deney tüpleri mikroorganizmalarla inokülasyondan sonra 37°C’de 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmış ve ikinci günden itibaren her gün kontrol edilmiştir. Temiz test tüpleri içerisine üremenin olduğu deney tüplerinden steril pipetlerle 1’er ml transfer edilmiştir. Bunların üzerine sülfanilik asit çözeltisinden 3 damla ve α-Naftol çözeltisinden 2 damla ilave edilmiştir. Ortamda nitrit mevcut ise nitritlerle bu iki çözeltinin karışımı pembemsi-kırmızımsı bir bileşik oluşturacaktır. Bu rengin oluşumu nitrit varlığı için pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Nitritler için pozitif sonuç veren deney tüpleri NH₃ oluşumunu saptamak için yine birkaç gün inkübasyona bırakılmıştır. Yine test tüplerine kültürlerden 1’er ml transfer edilerek, üzerlerine birkaç damla Nessler çözeltisi damlatılmıştır. Ortamda NH₃ mevcut ise sarımsı-turuncu renk oluşur ve bu da NH₃ varlığı için pozitif sonuca işaretler. Yine bu yedi günlük periyot içerisinde ortamda N₂ gazının varlığı da durham tüplerinde gaz birikimine bakılarak tespit edilmiştir (Bradshaw, 1992; Şentürk, 1993; Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.4. Üreaz Aktivitesi

Ortam deney tüplerinde hazırlanmış ve 121°C’de ve 1,1 atmosfer basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Daha önce tinalizasyon yöntemi ile sterilize edilmiş ürenin %20’lik solüsyonundan, erimiş ortamdaki final konsantrasyon %2 olacak şekilde aseptik koşullarda, bazal ortama ilave edilmiştir. Bu besiyeri üreaz enzimine sahip olan izolatların belirlenmesinde kullanılmıştır.



NH₃ oluşumu indikatörün rengini bazık hale getirmektedir. Böylece fenol red indikatörünün sarı olan rengi kırmızıya dönüşmektedir. Bu sonuç üreaz enziminin varlığının pozitif olduğunu göstermektedir (Anonim, 1984; Şentürk, 1993, Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.5. Karbonhidrat Fermentasyonu

Deney tüplerine durham tüpü yerleştirildikten sonra, ortam tek bir şeker içerecek şekilde hazırlanmıştır. Ksiloz ve fruktoz içeren ortamlar tinalizasyon yöntemi ile, glukoz, sakkaroz, maltoz ve laktoz 115°C’de 10 dakika süre sterilize edilmiştir (Bradshaw, 1992). Bu ortam yukarıda bahsedilen şekerlerin mikroorganizmalar tarafından fermentasyon yoluyla kullanılabilirliğini belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Fermentasyon sonucunda ortamda asit veya hem asit hem de gaz gözlenecektir. Ortamdaki indikatörün kırmızı olan rengi asit oluşumu durumunda sarıya dönecektir ki bu da asit oluşumu için pozitif sonuçtur. Yine Durham tüpleri içerisinde gaz birikimi de fermentasyon sonucunda gaz oluşumu için pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir (Anonim, 1984; Bradshaw, 1992; Şentürk, 1993, Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.6. Katalaz Aktivitesi

Katalaz enzimi, Hidrojen peroksiti (H₂O₂) ayrıştırarak O₂ ve H₂O’yu meydana getirmektedir. Taze bakteri kültürüne H₂O₂ ilave edildiğinde O₂ kabarcıklarının çıkması katalazın varlığını kanıtlamaktadır. Test edilecek bakteri kültürü Tryptose Agar besiyerine platin öze yardımıyla inoküle edilmiştir. 30°C’de 1-7 gün inkübasyondan sonra besiyerine %3’lük H₂O₂’den 3 damla damlatıldığında kabarcık oluşumu pozitif bir reaksiyon olarak kabul edilmiştir (Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.7. Oksidaz

Bu test *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Neisseria*, *Alcaligenes* gibi mikroorganizmaları diğer mikroorganizmalardan ayırmak için kullanılır. Örneklerden izole edilen bakteri kolonileri nutrient broth ortamında 37°C’de 24 saat süre ile inkübe edildi. Süre sonunda bakteri süspansiyonu üzerine tetrametil-p-fenilendiamin hidroklorit’in % 1’lik sulu çözeltisinden bir miktar damlatıldı. Oksidaz pozitif kolonilerde pembe renk oluşumu görülmüştür (Seeley ve VanDemark, 1981)

3.2.6.8. Endospor Oluşumu

Endospor oluşturan bakteriler PCA (Plate Count Agar) besiyerinde belirlendi. Nutrient broth ortamında aktiveleştirilen izolatlar 80 °C'de 20 dakika tutulduktan sonra hemen soğutuldu ve 0,1 ml örnek, steril petri kutularında 40-45 °C deki yaklaşık 10 ml besiyeri ile karıştırılarak, petriyerler 37±1.0 °C'deki etüvde 48 saat süreyle inkübe edildi (Collins ve ark, 1989, Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.9. Arginin Hidrolizi

Bakteri izolatları Arginin Buyyona ekilmiş ve tüpler 30°C'de 2-7 gün süre ile inkübe edilmiştir. Kültür üzerine belirtilen süre sonunda Nessler ayırıcı damlatılarak arginin hidrolizi gözlenmiştir. Argininin hidroliz edilmesi durumunda ayırıcının portakal rengine dönüştüğü görülmüştür (Seeley ve VanDemark, 1981).

3.2.6.10. Nişasta Hidrolizi

Bakteri izolatu Nişasta Agarlı petri kutusuna çizgi yöntemiyle ekilmiş ve 37°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Kültür üzerine belirtilen süre sonunda Lugol ayırıcı damlatılarak nişasta hidrolizi gözlenmiştir. Nişastanın hidroliz edilmesi durumunda kültür ortamının maviye boyanmadığı gözlenmiştir (Seeley ve VanDemark, 1981; Collins ve ark., 1989, Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.11. Kazein Hidrolizi

Bakteri izolatu Skim Milk Agar dökülmüş petri kutusuna çizgi yöntemiyle ekilmiş ve 37°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda kazeinin hidroliz edilmesi durumunda bakteri kolonisinin etrafında açık bir zon gözlenmiştir. (Seeley ve VanDemark, 1981, Collins ve ark., 1989, Gücin ve Dülger, 1995).

3.2.6.12. Sitrata Değerlendirme

Bakteri izolatu Sitrata besiyerine ekilmiş 37°C'de dört gün inkübe edilmiştir. Süre sonunda kazeinin hidroliz edilmesi durumunda bakteri kolonisinin etrafında açık bir zon gözlenmiştir. (Seeley ve VanDemark, 1981, Collins ve ark., 1989, Gücin ve Dülger, 1995).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Yukarıda belirtilen çalışma alanlarından toplanan örneklerden nutrient agar ortamında gelişme gösteren ve morfolojik yapıları farklı olan toplam 87 izolat elde edilmiştir. Bunlardan Kahramanmaraş Kağıt Fabrikası atıklarından izolasyonu yapılan 16 adet izolattan sadece 1 örnek, Kahramanmaraş Kağıt Fabrikası atık sularından izole edilen 21 izolattan 2 örnek, çürümekte olan bitki kalıntılarının bol olduğu bölgelerden alınan toprak örneklerinden izole edilen 19 izolattan ise 2 örnek lignin agarda gelişme göstermiştir. Diğer bölgelerden alınan örneklerden izole edilen 31 adet izolattan ise lignin agarda gelişme gösteren olmamıştır. İzolatlara ait bazı fiziksel, biyokimyasal ve morfolojik özellikler Çizelge 1, Çizelge 2 ve Çizelge 3'te gösterilmiştir.

Konu ile ilgili olarak önceki yıllarda yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde, genel olarak mantarlar üzerine çalışıldığı ve bu mantar türlerinden bazılarının lignini degrades edebilecek enzimlere sahip olduğu görülmüştür. El-Gammal ve ark. (1998) lignin degradasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, bazı mantar türlerinin *P. crhysoendosporium*, *C. versicolor* ve *S. viridoendosporus*'un lignini degrades edebileceğini gözlemlemiş ve bunlardan en fazla degradasyona sebep olanın % 84.06 oranında *P. crhysoendosporium* ve en az degradasyona sebep olanın ise % 26.25 oranında *S. viridoendosporus* olduğunu tespit etmişlerdir. *C. versicolor* ise % 62.9 oranında degradasyona sebep olabilmektedir. Adamovic ve ark. (1998) ise yaptıkları çalışmalarda lignin biyodegradasyonunda *Pleurotus ostreatus*'un oldukça etkili enzimlere sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Araştırmada elde edilen izolatlara ait bazı özellikler şu şekilde irdelenmiştir. Çalışmada kullanılan bir nolu izolat +4 °C de üreme göstermezken +42 °C de üreme göstermektedir. Gram boyama, hareketlilik testi, endospor oluşumu, oksidaz, fluorasan pigmenti, üreaz aktivitesi, sakaroz, ksiloz, manitol ve maltozdan asit oluşumu için negatif, katalaz, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, laktoz ve fruktozdan asit oluşumu için ise pozitif sonuç vermiştir. Ayrıca morfolojik olarak kok şeklinde gözlenmiş olup, arginin hidrolizi test edilmemiştir. Belirtilen bu özellikleri taşıyan bir mikroorganizma Collins ve ark. (1989) tarafından *Branhamella sp.* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.1. Kahramanmaraş yöresindeki farklı ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmaların fiziksel ve biyokimyasal özellikleri .

İzolat No	1	2	3	4	5	
Gram	-	+	+	+	-	
Katalaz	+	+	+	+	+	
Voges Proskauer	T	T	T	+	T	
Citrat Kullanımı	T	T	T	+	T	
Hareket	-	+	-	+	+	
Morfoloji	k	c	K	ç	kç	
Endospor oluşumu	-	+	-	+	-	
Oksidaz	-	+	V	v	v	
Fluorosan pigmenti	-	-	-	-	+	
Jelatin Hidrolizi	+	+	+	-	+	
Arginin Hidrolizi	T	T	T	T	+	
Nişasta Hidrolizi	T	T	T	+	T	
Kazein Hidrolizi	T	T	T	+	T	
Nitrat redüksiyonu	+	+	+	v	+	
Anaerobik Gelişme	T	T	T	+	T	
Gelişme	+4 °C	-	-	-	+	+
	+42 °C	+	+	+	+	-
	50 °C	T	T	T	-	T
	60°C	T	T	T	-	T
%7 NaCl gelişme	T	T	T	+	T	
Üreaz	-	v	-	-	v	

k: Kok ç: Çubuk kç: Kısa Çubuk T: Test Edilmedi v:Değişken

İki nolu izolatta +4 °C de gelişme gözlenmezken +42 °C gelişme gözlenmektedir. Morfolojik olarak çubuk olarak belirlenen bu mikroorganizma Gram (+) olup, katalaz, hareketlilik, endospor oluşumu, oksidaz, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, sakkaroz, ksiloz, laktozdan asit oluşumu bakımından pozitif; fluorosan pigmenti ve fruktozdan asit oluşumu bakımından negatif sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Arginin hidrolizi, maltoz ve manitolden asit oluşumu test edilmemiş olup, üreaz aktivitesi yönünden değişkenlik göstermektedir. Bu mikroorganizma yukarıda belirtilen özellikleri itibari Collins ve ark.(1989) tarafından *Bacillus sp.* olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Kahramanmaraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmaların fiziksel ve biyokimyasal özellikleri

İzolat	Asit Oluşumu						
	Glikoz	Sakkaroz	Ksiloz	Manitol	Laktoz	Fruktoz	Maltoz
1	+	-	-	-	+	+	-
2	+	+	+	T	+	-	T
3	+	+	-	v	+	v	+
4	-	+	-	v	-	-	-
5	+	-	-	+	+	-	+

T: Test Edilmedi v: Değişken

Yapılan gözlemlerde üç nolu izolatin ise 4 °C de gelişme göstermeyip, 42 °C de gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Bu mikroorganizma arginin hidrolizi yönünden tespit edilmeyip, manitol ve fruktozdan asit oluşumu ve oksidaz aktivitesi yönünden değişiklik göstermektedir. Gram (+) olan bu mikroorganizma, morfolojik yönden kok olarak belirlenmiştir. Katalaz aktivitesi, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, sakkaroz, laktoz ve maltozdan asit oluşumu yönünden pozitif sonuç verirken; ksilozdan asit oluşumu, hareketlilik, endospor oluşumu, fluorosan pigmenti ve üreaz aktivitesi yönünden negatif sonuç vermiştir. Belirtilen özellikler itibari ile bu mikroorganizma, Collins ve ark.(1989) kaynak alınarak *Micrococcus luteus* olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Kahramanmaraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizma kolonilerinin morfolojik özellikleri

İzolat No	Renk	Koloni Şekli	Kenar	Yükselti	Yüzey
1	Sarı	Nokta	Düz	Kubbeli	Parlak
2	Beyaz	Dairesel	Dalgalı	Konveks	Parlak, Düz
3	Sarı	Dairesel	Dalgalı	Konveks	Pürüzlü
4	Kirli Beyaz	Gayrimuntazam	Loblu	Yükselmiş	Parlak, Düz
5	Beyaz	Dairesel	Düz	Yükselmiş	Düz

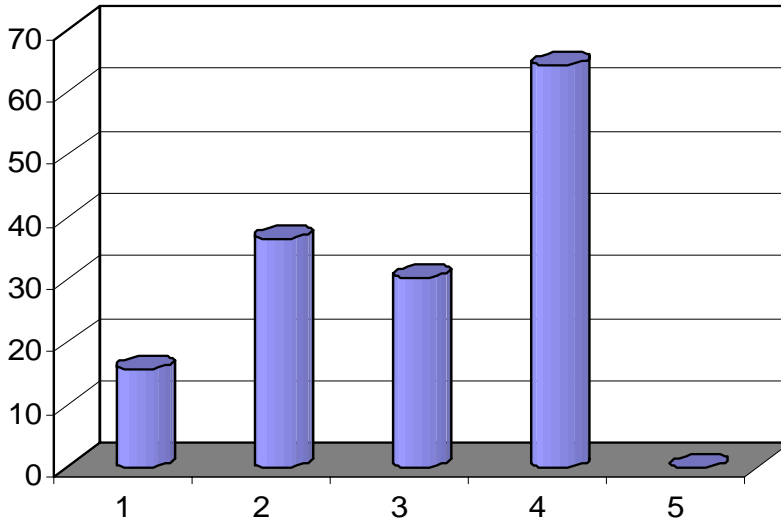
Gram (+) özellik gösteren dört nolu izolat endospor oluşturmaktadır. İzolat 4 °C de ve 42 °C de gelişme göstermekte olup, 50 ve 60 °C'de gelişme göstermemektedir. Morfolojik olarak çubuk şeklinde ve hareketlidir. Oksidaz aktivitesi değişkenlik göstermekte olup, arginin hidrolizi tespit edilememiştir. Ayrıca, katalaz aktivitesi pozitif, jelatin hidrolizi negatif ve nitrat redüksiyonu değişken olarak tespit edilmiştir. Sakarozdan asit oluşumu pozitif ve glikozdan asit oluşumu yönünden ise negatiftir. Fluorosan pigmenti, üreaz aktivitesi, laktaz, fruktoz ve maltozdan asit oluşumu yönünden ise negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Amilaz enzimine sahip olan 4 nolu izolat citratı ve kazeini değerlendirmekte ve %7 NaCl içeren ortamda gelişme göstermektedir. Ayrıca, anaerobik ortamda da gelişme gösterebilmektedir. Özellikleri belirtilen bu mikroorganizmanın Collins ve ark. (1987)'ye göre *Bacillus* cinsine ait olduğu, Claus ve Berkeley (1986)'in verilerine göre *Bacillus firmus* olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada kullanılan beş nolu izolat *Pseudomonas Selective Agar* ortamında gelişme göstermiş ve fluorosans özelliği göstermiştir. Gram (-) olup, morfolojik olarak kısa çubuk şeklinde olduğu gözlenmiştir. 4 °C de gelişmekte olup, +42 °C de gelişmemektedir.

Katalaz, hareketlilik, fluoresan pigmenti, jelatin hidrolizi, arginin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, manitol, laktoz ve maltozdan asit oluşumu açısından pozitif; endospor oluşumu, sakaroz, ksiloz ve fruktozdan asit oluşumu açısından ise negatif özellik gösterdiği belirlenmiştir. Oksidaz aktivitesi yönünden ise değişiklik göstermektedir. Bu belirtilen özellikleri taşıyan bir mikroorganizmanın *Pseudomonas flouroscens* olacağı Collins ve ark. (1989) ve Horikoshi ve Akiba (1982) tarafından bildirilmiştir.

Çizelge 4.4. Kahraman Maraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen bakterilerin aşılacağı ortamda oluşan lignin kaybı

İzolat No ve Adı	Kontrol Ağırlık Kaybı,%	Lignin Ağırlık Kaybı,%
1 <i>Pseudomonas fluoroscens</i>	0	15.66
2 <i>Bacillus sp.</i>	0	36.59
3 <i>Micrococcus luteus</i>	0	30.15
4 <i>Bacillus firmus</i>	0	64.31
5 <i>Branhamella sp.</i>	0	0



Şekil 4.1. Yüzde olarak degrade edilen lignin miktarları (1. *Pseudomonas fluoroscens* 2. *Bacillus sp.* 3. *Micrococcus luteus* 4. *Bacillus firmus* 5. *Branhamella sp.*)

Yukarıda çizelge 4'te de görüldüğü gibi Kahraman Maraş bölgesindeki farklı alanlardan toplanan örneklerden izole edilen bakteriler Lignin Broth ortamında bulunan lignin miktarı *Bacillus firmus* olarak teşhis edilen dört nolu izolatta % 64.31 oranında en fazla azalma gösterirken, *Pseudomonas flouroscens*'te % 15.66 oranında en az azalma göstermektedir. *Branhamella sp.* ise geliştiği Lignin Broth ortamındaki lignin miktarında herhangi bir azalma meydana getirmemiştir.

Konuyla ilgili önceki yıllarda yapılan çalışmalar incelenmiş ve Kumar ve ark. (2001)'nin kirli topraklardan izole edilen bakteriler ile lignin biyodegradasyonunu incelemişler ve sonuçta *Brochothrix species*, *Micrococcus luteus* ve *Bacillus firmus* tarafından lignin biyodegradasyonun gerçekleştirilebildiği tespit edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada da *Micrococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait türler izole edilmiş ve kültür ortamındaki lignin miktarında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalara uygunluk sağladığı gözlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye, doğal kaynaklar yönünden dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Hem ekstrem hem de moderate çevreler yönünden oldukça zengin bir potansiyele sahiptir. Bu çevrelerde yaşayan mikroorganizmaların çeşitliği ve bunların endüstride kullanılabilirliği konusunda yapılan bu çalışmaların ülke ekonomisini ve insan sağlığını tehlikeye sokacak çevre kirliliğine çözüm sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca izolasyonu tanımlaması yapılan bakterilerde bulunan ve lignin parçalayan enzimlerin etkisi, karakterizasyonu, üretilme hızı ve kullanma potansiyeli değerlendirildikten sonra, etkili olan bakterilerden enzim eldesi ve ekonomik olarak endüstrinin çeşitli alanlarında (kağıt fabrikaları gibi) kullanılabilme imkanlarının araştırılmasının yararlı olacağı kanısındayız.

Kağıt atıklarının tekrar dönüştürülmesinin endüstriyel açıdan öneminden dolayı yapılan bu çalışma, farklı yerlerden alınan toplam 87 farklı izolattan elde edilmiştir. Nutrient Agar besiyerlerine ekimleri yapılan bu izolatlardan, Kahramanmaraş kağıt Fabrikası artıklarından izole edilen 16 izolattan sadece 1 örnek, Kahramanmaraş kağıt Fabrikası atık sularından izole edilen 21 izolattan 2 örnek, çürümekte olan bitki kalıntılarının bol olduğu bölgelerden alınan toprak örneklerinden izole edilen 19 izolattan ise 2 örnek lignin agarda gelişme göstermiştir. Diğer bölgelerden alınan örneklerden izole edilen 31 adet izolat lignin agarda gelişme gösterememiştir.

Bakteriler kültür ortamında mantarlardan daha kısa süreli bir generasyona sahip olduğu için, istenilen ürünleri daha kısa zamanda ve fazla miktarda üretebilme kapasitesine sahip olmaktadır. Böylece endüstriyel ürünlerin eldesi ve kazanımı daha verimli olmaktadır. Mantarların gelişmesi ise yavaş olduğu için daha uzun sürede gelişebilmekte ve istenilen ürünleri daha geç verebilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda bakteri izolasyonuna ağırlık verilmiştir.

Üzerlerinde çalışılan bu mikroorganizmaların fiziksel, biyokimyasal ve morfolojik özelliklerine bakılarak identifikasyonları yapılmıştır ve gerekli laboratuvar çalışmalarının ardından degrade edebildikleri lignin miktarları tespit edilmiş ve tablolarda belirtilmiştir. Buna göre *Pseudomonas fluorescens*'un sebep olduğu lignin ağırlık kaybı %15.66, *Bacillus sp.*'nin sebep olduğu lignin ağırlık kaybı %36.59, *Micrococcus luteus*'un %30.15, *Bacillus firmus*'un da %64.31 oranında ağırlık kaybına neden olduğu tespit edilmiş ama *Branhamella sp.*'nin degradasyon olayına hiçbir katkıda bulunmadığı belirlenmiştir.

Ülkemiz doğal kaynaklar yönünden oldukça zengin bir ülkedir. Daha öncede belirtildiği gibi bu tür atık ürünleri mikroorganizmaların enzimleri vasıtasıyla geriye dönüştürülüp tekrar ekonomiye kazandırılma çalışmaları, hem ülke ekonomisi, hem de insan sağlığının korunması açısından büyük öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- ADAMOVIĆ, M., GRUBIĆ, G., MILENKOVIĆ, I., JOHANOVIĆ, R., PROTIĆ, R., SRETENOVIĆ, L., STOICEVIĆ, L., 1998. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Animal Feed Science Technology*. 71:357-362.
- ADOSINDA, M., MARTINS, M., FERREIRA, ISABEL, C., 2001. Biodegradation of bioaccessible textile azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Biotechnology* 89, 91-98.
- AGUILAR, A. 1996. Extremophile research in the European Union: from fundamental aspects to industrial expectations. *FEMS Microbiology Reviews*. 18: 89-92.
- ALEXANDER ve Ark., 1999. Peroxyl radicals are potential agents of lignin biodegradation. *FEBS Letters* 461:115-119.
- AMIRA A. EL-GAMMAL, ZEINAT KAMEL, 1997. Biodegradation of ligno cellulosic substances and production of sugars and lignin degradation intermediates by four selected microbial strains. *Polymer degradation and stability* 61:535-542.
- ANDRE F., CAROLINA P., JUANITA F., 2001. Occurrence of iron-reducing compounds in biodelignified 'palo podrido' wood samples. *International Biodeterioration & Biodegradation* 47:203-208.
- ANDRZEJ L., ANNA M., LOLANTA L., 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi 175-185.
- ANONIM, 1984. Difco Manuel, Dehydrate Culture Media and Reagents for Microbiology. Detroit, Michigan USA, pp. 1155.
- BASAGLIA, M. G., CONCHERI, S., CARDINALI, M. B., PASTI-GRIGSBY, NUTI, M. P. 1992. Enhanced degradation of ammonium-pretreated wheat straw by lignocellulolytic *Streptomyces spp.* *Canadian Journal of Microbiology*. 38(10): 1022-1025.
- BEGUIN, P., 1990. Molecular Biology of cellulose degradation. *Annu Rev microbiol*, 44: 219-248
- BENNER, R., MACCUBBIN, A.E., HODSON, R.E., 1984. Anaerobic biodegradation of the lignin and polysaccharide components of lignocellulose and synthetic lignin by sediment microflora. *Applied and Environmental Microbiology*. p. 998-1004.
- BOSTANCI, Ş. ve YALINKILIÇ, M. K. 1988. *Pleurotus ostreatus* Jac. (oyster mushroom) mantarının bazı selülozik hammaddelerde yaptığı biyolojik degradasyon. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 26:288-296.

- BRADSHAW, L.J., 1992. Laboratory Microbiology. Fourth Edition, Printed in USA, pp. 435.
- BREEN, A. ve SIGLETON, F. L., 1999. Fungi in lignocellulose and biopulping. Current Opinion in Biotechnology. 10 (3): 252-258.
- BROCK. T.D., 1979. Biology of Microorganisms. 3 rd. Edition, Perntice-Hall inc. Englewood Clifss, Newjersey, 07632, pp. 235-271.
- BUCHANON, R.E., GIBBONS, M.E., 1984. Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology. 8 th Edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, pp. 1094.
- CAMARERO, S., FRANCISCO, J., RUIZ-DUENAS, 2000. The coloning of a new peroxidase found in lignocellulose cultures of *Pleurotus eryngii* and sequence comparison with other fungal peroxidases. FEMS Microbiology Letters 191:37-43.
- CHRESTINI, C., SERMANNI, G.G., ARGYROPOULOS, D.S., 1998. Structural modifications induced during biodegradation of wheat lignin by *Lentinula edodes*. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 6: 957-973.
- CLAUDIACRESTINI and ARGYROPOULUS, DIMITRIS S. 1998, The early oxidative Biodegradation Steps of Residual Kraft Lignin Models with Laccase. Bioorganic&Medicinal Chemistry 6: 2161-2169.
- CLAUDIACRESTINI, G., GIOVONNOZZI, S., ,DIMITRIS S.A., 1998. Structural Modifications Induced During Biodegradation of Wheat Lignin by *Lentinula edodes*, . Bioorganic&Medicinal Chemistry. Bioresorce Technology, 967-973.
- CLAUS, D., BERKELEY, RCW., 1986. Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174AL. p. 1105. In Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore, 1986
- COLLINS, C.H., LYNE, P.M., GRANGE, J.M. 1989. Microbiological Methods. Butterworths & Co. Ltd., London, pp. 410.
- CRAWFORD, D. L., BARDER, M. J., POMETTO, A. L., III., CRAWFORD, R. L., 1982 Chemistry of softwood lignin degradation of softwood lignin degradation by *Streptomyces viridoendosporus*. Arch. Microbiol. 131: 140-145.
- DEL RIO, J.C., 2002, Lignin attack during eucalyp wood decay byselected *basidiomycetes*: a Py-GC/MS study Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 64 : 421-431
- DEL RIO, J.C., SPERANZA, M., 2001, Lignin attack during eucalypt wood decay by selected *basidiomycetes*:a Py-GC/MS study. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 64: 421-431.

- EL-GAMMAL, A.A., KAMEL, Z., ADEEB, Z., HELMY, S.M., 1997. Biodegradation of lignocellulosic substances and production of sugars and lignin degradation intermediates by four selected microbial strains. *Polymer Degradation and Stability*. 61: 535-542.
- ELKE L, KLEEBERG, I. & ZADRAZIL, F., 1997, Competition of *Pleurotus* sp. And *Dichomitus squalens* with soil microorganisms during lignocellulose decomposition. *Bioresource Technology* 60: 95-99.
- ERIKSSON, K. E., BLANCHETTE, R. A. ve ANDER P., 1990 Biodegradation of lignin. In *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*, p. 225-333. Springer-Verlag KG, Berlin.
- FOUNTULAKIS, M.S., 2002, Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the *Water Research* 36 :4735–4744
- FENGEL, D., WEGENER, G., 1984. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter, Berlin, pp. 56-57.
- FERRAZ, A., PARRA, C., 2001, Occurrence of iron-reducing compounds in biodelignified “palo podrido” wood samples *International Biodeterioration & Biodegradation* 47 :203–208
- GRIGOREVSKI DE LIMA, AL., 2005. *Streptomyces drozdoviczii* Cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme and Microbial Technology*, 272-277p.
- HERNANDEZ, P. G., GOMA, G., 1998. Degradation of lignosulfonated compounds by *Streptomyces viridosporus*: effect of the culture medium and the nature of the lignosulfonate molecule . *Wat.Res. Vol. NO.8* 1837-1844.
- GORSKA, E., 2001. Degradation of cellulose by nitrogen –fixing strain of *Bacillus polymyxa*. *Acta Microbiol Pol.* 50(2): 129-137
- GUCİN, F., DÜLGER, B. 1995. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu. Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Ders Notları, Yayın No: 3, Bursa, s.155.
- GUIRAUD, P., STEIMAN, L. AIT-LAYDI, M., 1998. degradation of phenolic and chloroaromatic compounds by *Coprinus* spp. *Chemosphere*, 2775-2789
- HENRIKSSON, G., ZHANG, L., 2000. Is cellobiose dehydrogenase from *Phanerochaete chrysosporium* a lignin degrading enzyme? *Biochimica et Biophysica Acta* 1480, 83-91.

- HILDEN, L., ve Ark., 2000. Do the extracellular enzymes cellobiose dehydrogenase and manganese peroxidase form a pathway in lignin biodegradation? FEBS Letters 477 : 79-83
- PEREZ, H., GOMA, G., 1998. Degradation of lignosulfonated compounds by *Streptomyces viridosporus*: effect of the culture medium and the nature of the lignosulfonate Wat. Res. Vol. 33, No. 8, pp. 1837-1844
- HILDEN, L., JOHANSSON, G., 2000. Do the extracellular enzymes cellobiose dehydrogenase and manganese peroxidase form a pathway in lignin biodegradation? FEBS Letters 477: 79- 83.
- HIROFIMI HIRARI, TAKONORI ITOH, RYUICHIRO KONDO, 1999. ,Intracellular ferrereductase involved in Mn(IV)reducing enzyme system to supply Mn(II) for lignin biodegradation by white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. Enzyme and Microbial Technology 30 :467-473.
- HIROYUKI Y., MASATO A., HIDEKI S., 1990. Gel formation of lignin and biodegradation of the lignin gels by microorganisms 143-147.
- HON, D. N. S., 1996. Functional natural polymers: A new dimensional creativity in lignocellulosic chemistry. In Chemical Modification of Lignocellulosic Materials. Ed by Hon, D. N. S. Marcel Dekker Inc., New York. 122-127
- HORIKOSHI, K., 1996. Alkaliphiles-from an industrial point of view. FEMS Microbiology Reviews. 18: 259-270.
- HORIKOSHI, K., AKIBA, T., 1982. Alcalophilic Microorganisms. Japan Scientific Societies Pres. Tokyo, pp. 468.
- JOHANSSON, E., KRANTZ-RULCKER, C., ZHANG, B.X., OBERG, G., 2000. Chlorination and biodegradation of lignin. Soil Biology & Biochemistry. 32: 1029-1032.
- JOHANSSON, E. KRANTZ-RULTCKER C., ZHANG, B. X., 1999. Chlorination and biodegradation of lignin . Soil Biology & Biochemistry, 1029-1032.
- KAPICH N. ALEXANDER ,KENNETH A. JENSEN, 1999. Peroxyl radicals are potential agents of lignin biodegradation 115-119.
- KAWAKAMI, H. ve SHUMIYA, S., 1983. Degradation of lignin-related compounds and lignins by alkalophilic bacteria. In Recent Advances in Lignin Biodegradation Research. Uni. Publishers Co., Ltd. Tokyo, Japan, pp. 64-77.
- KIRK, T. K. ve FARRELL, R. L., 1987. Enzymatic Combustion: The Microbial Degradation of Lignin^{1,2}. Ann. Rev. Microbiol. 41: 465-505.

- KIRK, T. ve HASKIN, J. M., 1973. Lignin biodegradation and the bioconversion of wood. American Society of Chemical Engineering Symposium Series. 69: 124-126.
- KUREK, B., MARTINEZ-INIGO, M.J., ARTAUD, I., ARTAUD, B.R. HAMES, C. LEQUART & B. MONTIES 1997. Structural features of lignin determining its biodegradation by oxidative enzymes and related systems. Polymer Degradation and Stability, 359-364.
- KUDANGA, T., 2005. Extracellular cellulase production by tropical isolates of *Aureobasidium pullulans*. Can J. Microbiol. 51(9):773-6
- KUMAR, L., RATHORE, V., SRIVASTAVA, H., 2001. 14C-(lignin)-lignocellulose biodegradation by bacteria isolated from polluted soil. Indian J Exp Biol., 39,6,584-589
- LEONOWICZ, A., MATUSZEWSKA, A., 1999. Biodegradation of lignin by white-rot fungi. Fungal Genetics and Biology 27:175-185.
- LJUNGDAHL, L.G., ERIKSSON, K.E., 1985. Ecology of microbial Cellulose Degradation. Adv. Microbiology Ecology, 8: 237-299.
- M. ADOSINDA, MARTINS, M., 2000. Relationship of chemical structures of textile dyes on the pre-adaptation medium and the potentialities of their biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. Research in Microbiology 153 :361-368.
- MALLOCH, D., 1981. Moulds, Their Isolation, Cultivation and Identification. University of Toronto Press.
- MARTINEZ, A.T., CAMERERO, S., GUTIERREZ, A., 2001. Studies on wheat lignin degradation by *Pleurotus* species using analytical pyrolysis. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 59: 401-411.
- MICHIZOE, J., OKAZAKI, S., 2001. Catalytic properties of lignin peroxidase ALIP-P3 hosted in reversed micelles. Biochemical Engineering Journal 8, 129-134.
- NUGZAR N. NUTSUBIDZE, SARKANEN, S., 1997. Consecutive polymerization and depolymerization of kraft lignin by *trametes cingulata*. Phytochemistry, vol.49: 1203-1212.
- ÖZÇELİK, S. 1998. Genel Mikrobiyoloji. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 1, İkinci Basım, Isparta, s. 91.
- PILON, L. M., BARBIE, C., DESCROCHERS, M., ve JURASEK, L. 1982. Fungal treatment of mechanical pulp- Its effect on paper properties. Biotechnol. Bioeng. 24: 2063-2076.

- ROBERT F.H. DEKKER, ANELİ M. BARBOSA, 2001. The effect of lignin-related compounds on the growth and production of laccases by the *ascomycete* , *Botryosphaeria* sp. *Enzyme and Microbial Technology* 30:374-380.
- RODRIGUEZ, J., HERNANDEZ-CORONADO, M.J., 1997. Chemical charecterization by pyrolysis/gas chromatography/ mass spectrometry of acid-precipiable polymeric lignin (APPL) from wheat straw transformed by selected *streptomyces* strains. *Analytica Chimica Acta* 345:121-129.
- SARI GALKIN, M.M., HATAKKA, A., 2002, Production of organic acids and oxalate decarboxylase in lignin-degrading white rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology* 30 : 542-549.
- SEELEY, H. W., WANDEMARK, P. J., 1981. *Microbes in Action A Laboratory Manual of Microbiology*, W.H. Freeman and Company, New York, pp. 385.
- SFOUNTOULAKIS, M., DOKIANAKIS, S.N., 2002. Removal of Phenolics in olive mill wastewaters using the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* *Water Research* 36: 4735-4744.
- STRAYER, R.F., FINGER, B.W., ALAZRKİ, M.P., COOK, K., GARLAND, J.L, 2002. Recovery of resources for advanced life support space applications: effect of retention time on biodegradation of two crop residues in a fed-batch, continuous stirred tank reaktor 119-127.
- SEHNEM , NT. , 2006. Cellulase production by *Penicillum echinulatum* on Lactose. *Appl Microbial Biotechnol.* 1-5.
- ŞENTÜRK, S. 1993. Alkali Toprak ve Su Örneklerinden Alkalofilik, Alkalotolerant Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, s. 67.
- TATARKO, M. and JA., BUMPUS J.A., 1997. biodegradation of vongo red by *Pharochaete chrysosporium*. *Wat. Res.* Vol. 32 , No.5 , 1713-1717.
- TOMELA, M., VIKMANA, HATAKKA, M., 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review . *Bioresource Technology* 72: 169-183.
- TOUMELA, M. ,OIVANEN, P., HATAKKA, A., 2002. Degradation of synthetic 14-C-lignin by various white-rot fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 22 :138-142
- VIKARI, L., 2004. Impact of binding domains in cellulase activity assay and in hydrolysis of crystalline cellulase. Department of applied chemistry and microbiology. FN-00014 University of Helsinki. Finland 327-332.
- WATANABE, T., TERANISHI, H., HONDA, Y., 2000. A selective lignin-degrading fungus, *Ceriporiopsis subvermispota* , produces alkylitaconates that inhibit the

production of a cellulolytic active oxygen species, hydroxyl radical in the presence of iron and Hydrogen-peroxyde. Biochemical and Biophysical Research Communications 297:918-922.

WATANABE, T., 2002. A selective lignin-degrading fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*, produces alkylitaconates that inhibit the production of a cellulolytic active oxygen species, hydroxyl radical in the presence of iron and H₂O₂ Biochemical and Biophysical Research Communications 297 :918–923

WEN, Z., 2005. Production of cellulase by *Trichoderma reesei* from dairy manure .Bioresource technology 491-499

YAMAMATO, H., AMAIKE, M., SAITOH, H., SANO, Y., 2000. Gel formation of lignin and biodegradation of the lignin gels by microorganism. Materials Science and Engineering. C7, 143-147.

YOON, J.J., KIM, YL., 2005, Degradation of crystalline cellulose by Brown-Rot *Basidiomycete Fomitopsis palustris*. J. Microbial . 43(6):487-492.



Ek Şekil 1. Kağıt Fabrikası civarından örnek alınan su birikintisi



Ek Şekil 2. Örneklerin toplandığı Kağıt Fabrikası



Ek Şekil 3. Çürümekte olan bitki, kalıntılarının bol bulunduğu bölge



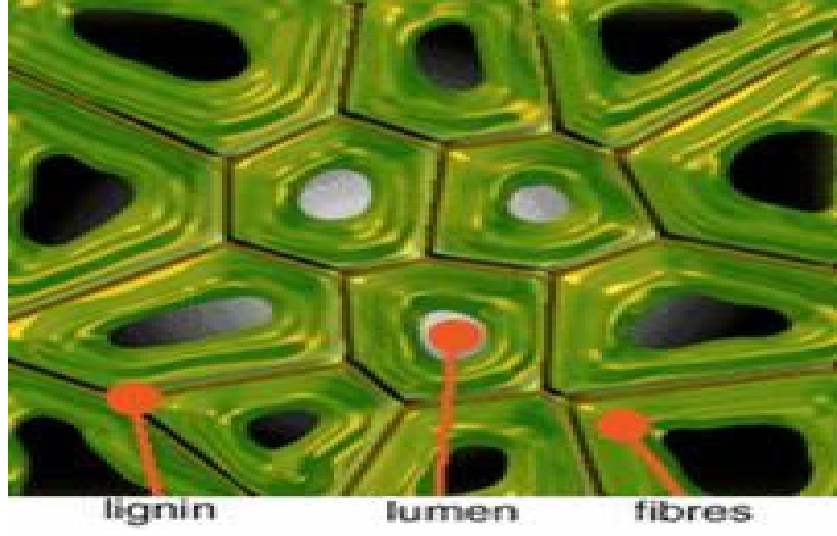
Ek Şekil 4. Çürümekte olan bitki kalıntılarının bol bulunduğu bölge



Ek Şekil 5. Kağıt Fabrikasında bulunan atık kağıtlar



Ek Şekil 6. Ağaç altlarında çürümüş bitki kalıntılarının olduğu bölge



Ek Şekil 7. Odunsu yapının mikroskobik görüntüsü



Ek Şekil 8. Lignin'in mikroskobik görüntüsü

ÖZGEÇMİŞ

01.06.1977 tarihinde Kahramanmaraş'da doğmuştur. İlk ve orta eğitimini Kahramanmaraş'ta tamamlamıştır. 1997-1999 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Bölümünde ön lisans eğitimi, 1999-2003 tarihleri arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi , Biyoloji Bölümünde lisans eğitimi almıştır. Yüksek lisansına aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana bilim Dalı'nda 2003 yılında başlamıştır ve eğitimini halen sürdürmektedir.