

## Porsuk Çayı'nda Azot Miktarı ve Nitrifikasyon Bakterilerinin Dağılımı<sup>1</sup>

Merih Kıvanç<sup>2</sup>, Kıymet Güven<sup>3</sup>, Nuray Karakaş Uçan<sup>4</sup>,  
Nalan Yılmaz Sarıözlü<sup>5</sup>, M.Burçin Mutlu<sup>6</sup>, Meral Yılmaz<sup>6</sup>

### Özet

Bu çalışmada, Porsuk Çayı'nın azot kirliliğini belirlemek için bir yıl süresince 15 istasyondan su örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerin amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) azotları ile toplam serbest klor, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOD<sub>5</sub>), pH ve sıcaklıkları tayin edilmiştir. Örneklerde *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* 'lerin sayımı yapılmış, ayrıca denitrifikant bakteriler de izole edilmeye çalışılarak Porsuk Çayı ortamında nitrifikasyon ve denitrifikasyon döngüleri araştırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nitrifikasyon bakterileri, Denitrifikasyon bakterileri, Nitrifikasyon ve denitrifikasyon döngüsü.

### Giriş

Yaşam için temel elementlerden birisi olan azot canlıların yapıtaşını oluşturan proteinlerin, amino asitlerin, nükleik asitlerin, hormonların ve vitaminlerin yapısında yer almaktadır (1). Canlıların büyümeleri için bu elementi dışarıdan almaları gerekmektedir. Azot doğada azotlu organik bileşikler, amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) gibi formlarda ve N<sub>2</sub>, NO ve N<sub>2</sub>O gibi atmosferik gaz ürünleri halinde bulunmaktadır.

Mikroorganizmalar azot döngüsünün bir çok basamağında önemli rol alırlar. *Streptomyces*, *Nocardia*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi bakterilerin organik azot varlığında nitrifikasyonu katalizledikleri gösterilmiştir. *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Paracoccus* cinsi bakteriler anaerobik şartlarda nitrat ve nitritin mikrobiyal redüksiyonu (denitrifikasyon) ile moleküler azot (N<sub>2</sub>) ve diazot oksit (N<sub>2</sub>O) oluşmasına neden olmaktadır.

<sup>1</sup> Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

<sup>2</sup> Prof. Dr., Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>3</sup> Doç. Dr., Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>4</sup> Uz. Dr., Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü, Bodrum

<sup>5</sup> Yrd. Doç. Dr., Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [nalany@anadolu.edu.tr](mailto:nalany@anadolu.edu.tr)

<sup>6</sup> Arş. Gör., Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.

İçme ve kullanma sularındaki yüksek azot içeriği insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Su ve besin zinciri yoluyla insan ve hayvan vücuduna ulaşan nitrat, nitrit formuna indirgenerek bağırsak zarlarının parçalanmasına neden olabilmekte, nitrozamin formuna dönüşerek de kanserojen etki göstermektedir (2, 3).

Ortalama debisi 10 m<sup>3</sup>/s ve 488 km uzunluğundaki Porsuk Çayı Sakarya'nın en uzun kolu olup, Eskişehir ve Kütahya'nın kentsel ve bazı sanayi kuruluşlarının atık sularını almaktadır (4). Porsuk Çayı'nı kirletici kaynaklar şu şekilde sıralanabilir: Kütahya ili kanalizasyon atıkları, Kütahya Mezbahası, Kütahya Şeker Fabrikası, Azot Fabrikası, Kümaş Manyezit Fabrikası, Sümerbank Basma Fabrikası, Tülomsaş Lokomotif Fabrikası, Eskişehir Şeker Fabrikası, Eskişehir İspirto Fabrikası, Eskişehir Mezbahası, Eskişehir organize sanayiindeki fabrikalar, Havzadaki tarım alanları. Ayrıca, sulamadan dönen sularla organik maddeler, gübre kalıntıları, pestisitler ve herbisitler de akarsuya karışmaktadır.

Yapılan bir çalışmada Porsuk Çayı'na günlük gelen azot miktarı 6007 kg olarak ölçülmüş ve bunun 4850 kg 'ının Kütahya Azot Fabrikası'ndan geldiği tespit edilmiştir. Bu da günlük yükün %80.7 sini oluşturmaktadır. Eskişehir'den Porsuk Çayı'na gelen azot yükünün ise 713 kg olduğu ve bunun %52.2 sinin evsel atıklardan, %40.2 sinin ise Eskişehir Şeker Fabrikası'ndan geldiği belirlenmiştir (4).

Porsuk Çayı Eskişehir merkez ilçesinin kullanma suyu ihtiyacını karşılamakta olup, aynı zamanda tarım alanlarında da sulama suyu olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle de Porsuk Çayı'nın azot kirliliği ayrı bir önem taşımaktadır. Çalışmamızda Porsuk Çayı'nın amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N), nitrat azotu (NO<sub>3</sub>-N) ve nitrit azotu (NO<sub>2</sub>-N) miktarlarının seçilen istasyonlara göre aylık dağılımı bir yıl için saptanmış, bu istasyonlarda nitrifikasyon ve denitrifikasyon bakterileri sayılarak izole edilmeye çalışılmıştır.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Örneklerin Alınması**

Kütahya Azot Fabrikası girişi (1) ve çıkışı (2), Porsuk Barajı giriş (3) ve çıkışı (4), Regülatör giriş (5) ve çıkışı (6), Sümerbank Basma Fabrikası önü (7), Sarısu (8), Köprübaşı (9), Anadolu Üniversitesi Yunussemre Kampüsü önü (10), Osmangazi Üniversitesi Çamlık Kampüsü önü (11), Şeker Fabrikası giriş (12) ve çıkışı (13), Mezbaha çıkışı (14) ve Alpu (15) olmak üzere toplam onbeş istasyondan 1995 Ocak ayından itibaren her ayın son haftası birer litre su örneği steril şişeler içine alınmıştır. Yaz aylarında alınan su örnekleri laboratuvara getirilme süresi boyunca buz çantalarında muhafaza edilmiştir. İstasyonlardan kompozit örnekleri alınmamış, araştırmaya sadece su örnekleri dahil edilmiştir.

### **Nitrosomonas Bakterilerinin Sayımı ve İzolasyonu**

*Nitrosomonas* bakterilerinin sayım ve izolasyonu için Alexander (1961) (5) tarafından önerilen en muhtemel sayı (EMS) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Tüpler 28.5 °C

de bir ay süre ile inkübe edilmiştir. Griess-Ilosvay reagenti kullanarak her bir tüpün nitrat testi yapılmıştır. Nitrit varlığını gösteren pembe-kırmızı renk oluşumu pozitif olarak kaydedilmiştir. Negatif sonuç (pembe-kırmızı renk oluşmamışsa) veren tüplere nitrat testi için çok az miktarda Zn-Cu-MnO<sub>2</sub> karışımı eklenmiştir. Eğer kırmızı renk belirmiş ise, tüpler *Nitrosomonas* için pozitif olarak kaydedilmiştir.

*Nitrosomonas* 'ların izolasyonu için pozitif sonuç veren tüplere 5 ml fenol red besi ortamı ilave edilerek, 4-8 hafta 28.5 °C de karanlıkta zenginleştirme işlemi yapıldıktan sonra Griess-Ilosvay reagenti kullanarak her bir tüpün nitrat testi yapılmıştır. Testte pozitif sonuç veren tüplerden 0.5 ml örnek alınmış ve egg-albümin içeren petrilere yayma yöntemi ile ekilerek 4-8 hafta, 28.5 °C de inkübe edilmiştir. Tüpte kalan kısım ise laboratuvar şartlarında nitrat giderimi testlerinde kullanılmak üzere ayrılmıştır.

### **Nitrobakterilerin Sayımı ve İzolasyonu**

Yukarıda açıklanan yöntem nitrit-kalsiyum karbonat besi yeri kullanılarak tekrarlanmıştır. İnkübasyon sonucunda Griess-Ilosvay reagenti kullanılarak nitrit testi yapılmıştır. Eğer tüpte kırmızı renk oluşmuşsa *Nitrobacter* için negatif, eğer kırmızı renk oluşmamışsa *Nitrobacter* için pozitif olarak kaydedilmiştir.

Pozitif sonuç veren tüplere 5 ml fenol red besi ortamı ilave edilerek, 4-8 hafta 28.5 °C de karanlıkta zenginleştirme işlemi yapıldıktan sonra Griess-Ilosvay reagenti kullanarak her bir tüpün nitrit testi yapılmıştır. Testte pozitif sonuç veren tüplerden 0.5 ml örnek alınmış ve egg-albümin içeren petrilere yayma yöntemi ile ekilerek 4-8 hafta, 28.5 °C de inkübe edilmiştir. Tüpte kalan kısım ise laboratuvar şartlarında nitrit giderimi testlerinde kullanılmak üzere ayrılmıştır.

### **Denitrifikant Bakterilerin İzolasyonu**

Çalışmamızda su örneklerinden denitrifikant bakterilerin izolasyonu için 10 ml spesifik çift kuvvet KMC (KNO<sub>3</sub> -Selüloz-Mineral Tuz Besiyeri: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4.44 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.8 g/l, KNO<sub>3</sub> 6.0 g/l, NH<sub>4</sub>Cl 1.0 g/l, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.2 g/l, CaCl<sub>2</sub>.7H<sub>2</sub>O iz miktar, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O iz miktar, MnSO<sub>4</sub> iz miktar, amonyum demir klorür iz miktar pH 7.3) ve karışık besiyerlerine (NaCl 0.585 g/l, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0.147 g/l, KCl 0.074 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.054 g/l, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.049 g/l, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O iz miktar, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> iz miktar, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O iz miktar, ZnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0.043 g/l, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O 0.037 g/l, CuSO<sub>4</sub> 0.024 g/l, NH<sub>4</sub>Cl 0.535 g/l, NaNO<sub>2</sub> 0.300 g/l, kresol red 0.005 g/l, pH 7.8) 3'er ml ekim yapılmıştır. Ekimler ikili olarak yapılmış ve bir serisi aerobik, diğeri de anaerobik şartlarda (Gas-Pack Anaerobic Jar) 28.5 °C de 4-6 hafta inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra içinde gaz oluşumu görülen tüplerden 1 ml kültür, aynı besi yerine tekrar aşılansarak inkübasyona devam edilmiştir. Gaz oluşumu yönünden pozitif olan tüplerde bu işleme 10-15 kez devam edilerek saflık kontrolüne tabi tutulmuştur. Saf olmayanlarda aşılama işlemine devam edilmiştir.

## **Örneklerde Amonyak Azotu (NH<sub>3</sub>-N), Nitrat Azotu (NO<sub>3</sub>-N), Nitrit Azotu (NO<sub>2</sub>-N) ve Toplam Serbest Klor (Cl) Tayini**

Hach Dr 2000 su analiz cihazı ile Mineral Stabilizer (23766-26), Polyvinil Alcohol Dispersing Agent (23765-26) ve Nessler Reagent (21194-49) kullanılarak örneklerdeki NH<sub>3</sub>-N miktarı tayin edilmiştir. Nitrat azotu tayini için NitraVer 5 Nitrate Reagent Powder Pillow (14034-66), nitrit azotu tayini için NitriVer 2 Nitrite Reagent Powder Pillow (2219-66), ve toplam serbest klor tayini için DPD Total Chlorine Powder Pillow (14064-99) aynı cihazda üreticinin tavsiye ettiği şekilde kullanılmıştır.

## **Örneklerin pH Analizi**

Hanna Instrumentes HI 8314 membran pH metre kullanılarak pH tayini yapılmıştır.

## **Örneklerin Sıcaklık Tayini**

Su örneklerinin sıcaklık tayini istasyonlarda su alındığı anda su termometresi kullanılarak yapılmıştır.

## **Örneklerin BOD<sub>5</sub> Tayini**

Su örneklerinin BOD<sub>5</sub> tayini WTW OXI 537 Microprocesor oximeter kullanılarak yapılmıştır (6).

## **İstatistik Analizler**

SPSS 7.5 paket programında Pearson korelasyon katsayısı ve tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır.

## **Bulgular ve Tartışma**

Bir yıl boyunca (1995-1996) 15 istasyondan alınan su örneklerindeki amonyak (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), nitrat (NO<sub>3</sub>), BOD<sub>5</sub>, pH, sıcaklık ve toplam serbest klor miktarının ortalama değerleri ve standart hatası Tablo 1 de verilmiştir. Amonyak (NH<sub>3</sub>-N), nitrat (NO<sub>3</sub>-N), nitrit (NO<sub>2</sub>-N), BOD<sub>5</sub> miktarları istasyonlara ve aylara göre büyük ölçüde değişmiştir.

Tablo 1. Porsuk Çayı' na ait 15 istasyondan toplanan bazı parametrelerin istatistiksel değerlendirilmesi.

Parametreler	N	Sınırlar	Ortalama	Standart sapma
pH	186	6-8.94	-	-
Sıcaklık (°C)	155	0-26.50	13.7948	5.4539
BOD <sub>5</sub> (mg/l)	103	0-20.40	5.8748	5.0080
Serbest toplam klor (mg/l)	186	0-0.24	3.90	3.84
Nitrit (mg/l)	186	0-28.0	2.5941	3.4879
Nitrat (mg/l)	186	0-241.6	3.3820	18.8951
Amonyak (mg/l)	186	0-24.50	2.3140	3.7213
<i>Nitrosomonas</i> sayısı (log hücre/ml)	185	0-3.20	1.5298	0.8564
<i>Nitrobacter</i> sayısı (log hücre/ml)	189	0-3.20	1.3806	1.0908

Saptanan BOD<sub>5</sub> değerleri dikkate alındığında, Porsuk Çayı Resmi Gazetede (1988) yapılan sınıflandırmaya göre 2. ve 3. sınıf sular kategorisine girmektedir. pH değerlerine göre ise, 3. ve 4. sınıf sular kategorisine girmektedir. Malkoçoğlu (7) tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada NO<sub>3</sub>-N miktarları 0.39-2.23 mg/l, NO<sub>2</sub>-N miktarları ise 0.002-0.09 mg/l arasında bulunmuştur. Yine Eskişehir Devlet Su İşleri 3. Bölge Müdürlüğü tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada NO<sub>2</sub>-N miktarları 0.005-0.330 mg/l (ortalama 0.084 mg/l), NO<sub>3</sub>-N miktarları ise 1.50-6.40 mg/l (ortalama 3.18 mg/l), NH<sub>3</sub>-N miktarı 0-4.65 mg/l (ortalama 0.78 mg/l) olarak bildirilmiştir (8). 4 Eylül 1988 yılı 19919 sayılı Resmi Gazeteye göre kıta içi sularında NH<sub>3</sub>-N miktarının 0.02 mg/l'yi geçmemesi bildirilmiştir. Aynı Resmi Gazetede NO<sub>2</sub>-N ve NO<sub>3</sub>-N açısından sular kalite sınıflarına ayrılmıştır. Bu sınıflamaya göre suların birinci sınıfa girebilmesi için 5 mg/l NO<sub>3</sub>-N'i, 0.002 mg/l NO<sub>2</sub>-N'i geçmemesi gerekmektedir. Resmi Gazetede belirtilen NH<sub>3</sub>-N değerlerine göre, bütün istasyonlarda örnek alma periyodu süresince çok yüksek sayılar saptanmış. NO<sub>2</sub>-N miktarı ise birkaç istasyonda bazı aylar dışında Resmi Gazetede belirtilen değerlerin çok üstünde bulunmuş olup çok kirli sular sınıfına dahil edilebilir. NO<sub>3</sub>-N bakımından birkaç ekstrem durum dışında genel olarak Resmi Gazetede belirtilen değerlerin altındadır. Erdur (1990) (9) tarafından yapılan bir çalışmada İzmir İç Körfeze dökülen Melez Çayı'nda bulunan NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N ve NH<sub>3</sub>-N miktarlarının çok yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda bazı istasyonlarda Temmuz, Kasım ve Aralık aylarında amonyak (NH<sub>3</sub>-N) miktarları yüksek olduğu halde nitrit (NO<sub>2</sub>-N) ve nitrat azotu (NO<sub>3</sub>-N) saptanamamıştır. Bunun nedeni ortamdaki BOD<sub>5</sub> değerlerinin oldukça yüksek olması ve anoksijenik ortamın nitrifikasyonu inhibe etmesi olabilir. Bir istasyonda ise Haziran ve Aralık ayında alınan örneklerde nitrit birikimi görülmüştür. Amonyakın nitrit ve nitrate ototrofik dönüşümü oksijen varlığında oluşmaktadır. Nitrifikasyon işlemi ile sucul ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı azalmakta ve oluşan azot ortamdaki alg büyümesinin artmasına neden olmaktadır. Ancak, ortamdaki amonyak konsantrasyonu  $\geq 2.0$  mM ve pH değeri  $\geq 8.1-8.2$  olduğu zaman algal fotosentez engellenmekte ve ortam yetersiz oksijen içeriği nedeniyle yavaş yavaş

anoksijenik duruma dönüşmektedir. Bu nedenle de durgun su içeren rezervuarlarda anoksijenik hipolimnion tabakada nitrifikasyon işlemi olmadığı kaydedilmiştir (10).

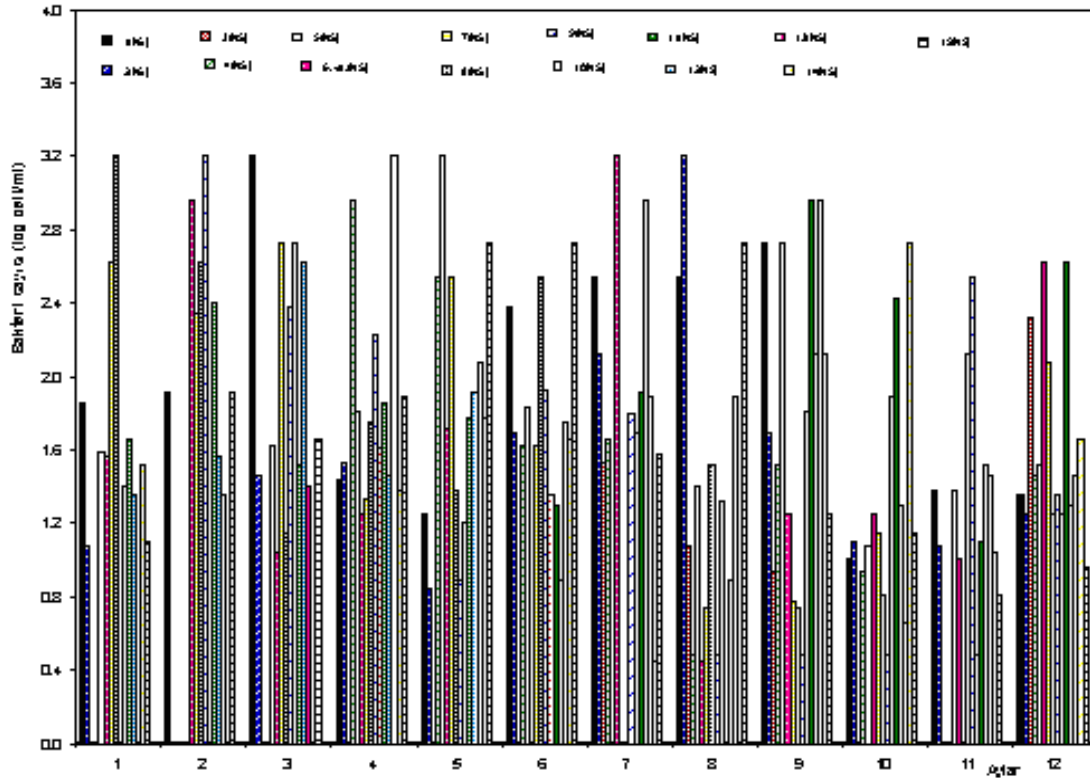
Onbeş istasyondan ölçülen su sıcaklıkları genellikle 25 °C' nin altında bulunmuş olup, istasyonlarda saptanan su sıcaklığı ile mevsim şartları arasında genel bir ilişki gözlenmiştir.

Ölçülen toplam serbest klor miktarları istasyonlara ve aylara göre düşüktür. Bakteriyal nitrifikasyonun kloraminlerin hızlı parçalanmasına neden olduğu bilinmekle birlikte bunun mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (11). Bizim çalışmamızda, toplam serbest klor miktarları çok düşük olduğundan sudaki bakterilerin sayısına olumsuz etki yapmadığı düşünülmektedir.

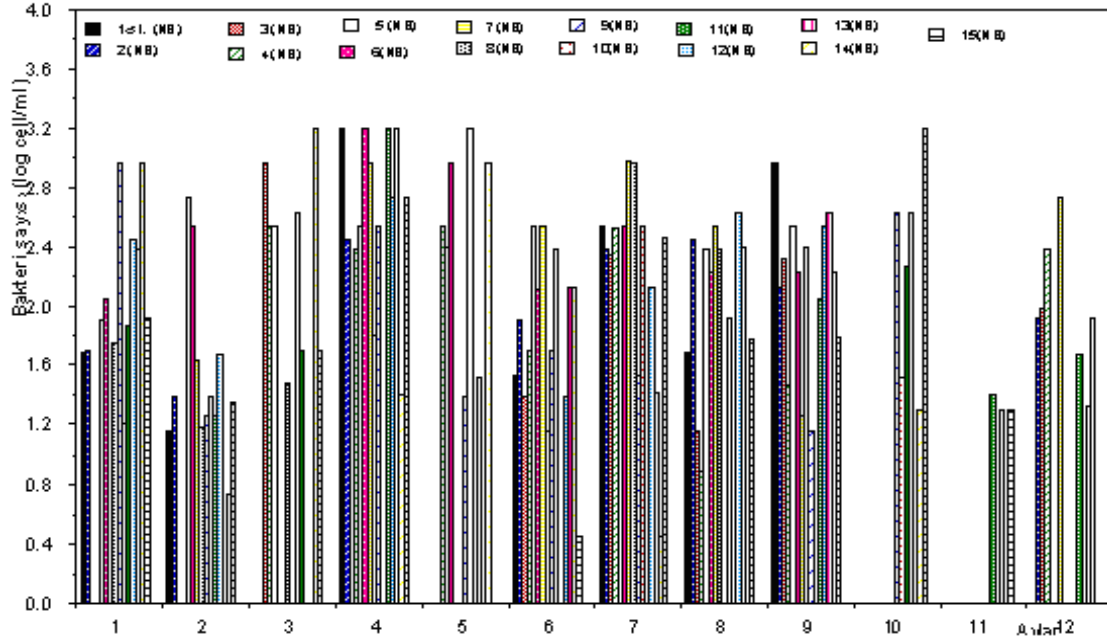
Çalışmamızda onbeş istasyondaki *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* bakteri sayılarının bir yıl içinde aylara göre dağılımları Şekil 1 ve 2 de verilmiştir.

Şekil 1. *Nitrosomonas* bakterilerinin istasyonlara göre aylık dağılımı

NS: *Nitrosomonas*



Yıl boyunca alınan su örneklerinde *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* sayıları aylara ve istasyonlara göre büyük ölçüde değişmiştir (Şekil 1 ve Şekil 2). Ancak sayıları genellikle düşük olarak saptanmıştır. Benzer olarak yapılan bir çalışmada da amonyağın nitrit ve nitrate biyolojik dönüşümünü sağlayan *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* 'lerin sucul ortamlarda hemen her zaman ancak oldukça düşük sayıda ( $10^2$ - $10^3$  bakteri/ml) bulunduğu bildirilmiştir (10). Oldukça yavaş büyüyen *Nitrosomonas* bakterilerinin ortamdaki pH, sıcaklık ve bazı toksik bileşenlere (12) ve oksijen miktarına (13) oldukça hassas olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, *Nitrosomonas* bakteri sayısı ile amonyak miktarı arasında  $p=0.032 < p=0.05$  olduğundan önemli bir korelasyon bulunmuştur. *Nitrosomonas* bakteri sayısı ile diğer parametreler arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.



Şekil 2. *Nitrobacter* 'lerin istasyonlara göre aylık dağılımı  
NB: *Nitrobacter*

*Nitrobacter* 'in değişik ortam şartlarına adaptasyonun da uzun zaman aldığı bildirilmiştir. Çalışmamızda nitrifikasyon bakterilerinin izole edilememesinin bir nedeni de sadece su örneklerinin incelenmesi olabilir. Çünkü nitrifikasyon bakterileri popülasyonunun sucul ortama oranla katı-faz (toprak, sediment) ortamlarında daha yoğun olduğu da kaydedilmiştir (14). Yine bir çok araştırmacı tarafından, amonyak ve nitrit oksitleyici bakterilerin mavi ışığa ve ultraviyole ışığa yakın ışığa hassas oldukları bildirilmekle birlikte karışık bulgular da vardır (15, 16). Çalışmamızda aldığımız su örnekleri 1-30 cm 'den alındığı için ışık, nitrifikasyon bakterilerini olumsuz yönde etkilemiş olabilir. Abeliovich ve Vonshak (10) durgun ve belli ortam şartlarına sahip bir havuzda yüzeyden alınan 5 örneğin dördü ile dipten alınan 5 örneğin üçünde ışığın, eksponansiyel büyüme fazındaki hücrelerin nitrifikasyon yeteneği üzerine çok kuvvetli inhibitör etki yaptığını gözlemişlerdir. Araştırmacılar, nitrifikasyon oranı ile canlı nitrifikasyon bakteri sayısı arasında direk korelasyon olmadığını, bunun yerine bakterilerle fiziksel ortam arasındaki etkileşimin bu konuda etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Bizim istasyonlarımız da oldukça geniş bir coğrafya üzerinde dağılmış durumdadır ve her birinin fiziksel şartı diğerlerinden farklı özellikleri taşımaktadır.

Bazı araştırmacılar ortamda bulunan amonyak azotu miktarının nitrifikasyon oranı üzerine etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Abeliovich ve Vonshak (10) iyi bir elektron vericisi olan  $\text{NH}_2\text{OH}$  kullanarak yaptıkları çalışmada,  $\geq 0.5$  mM  $\text{NH}_2\text{OH}$  konsantrasyonunda hem karanlıkta hem de ışıkta 1 saat süreyle *Nitrosomonas* bakterilerini inkübe ettikleri zaman, amonyağın nitrite dönüştürülmediğini gözlemişlerdir. Liu ve Capdeville (17) ise, nitritin nitrate dönüşümünü inceleyen bir çalışmada, 0.1 mg/l serbest amonyum ( $\text{NH}_4^+$ ) konsantrasyonunun *Nitrobacter* aktivitesini engellediğini ve nitrit nitrate oksitlenemediği için ortamda nitrit birikimi oluştuğunu kaydetmişlerdir. Aynı araştırmacılar, ortamdaki amonyum ( $\text{NH}_4^+$ ) konsantrasyonu 0.1 mg/l den daha az olduğu zaman *Nitrobacter* 'lerin metabolik aktivitelerini tekrar kazandıklarını ve nitritin nitrate oksidasyonu işlemini tamamladıklarını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda, *Nitrobacter* 'lerin istasyonlara göre izole edilme oranı *Nitrosomonas* 'lara göre daha düşük olmuştur. Ekim (10. ay) ve Kasım (11. ay) da pek çok istasyondan *Nitrobacter* izole edilememiştir. Bunun nedeni bu aylarda istasyonların bir çoğunda  $\text{NH}_3\text{-N}$  miktarının 0.1 mg/l'den daha yüksek olması olabilir. Çalışmamızda, *Nitrobacter* sayısı ile sıcaklık arasında önemli bir korelasyon saptanmıştır ( $p=0.026 < p=0.05$  ). *Nitrobacter* sayısı ile diğer parametreler arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Bizim çalışmamızda da *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* sayıları oldukça düşük olup, *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* 'ler saf kültür halinde izole edilememiştir. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi doğal ortamlarda dahi çok az sayıda bulunmaları, zenginleştirme işleminin çok uzun sürmesi ve ortamda heterotrof ve mikсотrof bakterilerin bulunmaları *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* 'lerin rekabet gücünü azaltmaları bunun nedeni olabilir. Çünkü nitrifikasyon bakterilerinin ortama verdikleri metabolizma ürünü organik bileşikler heterotrof bakterilerin gelişmesini teşvik ederler (13).

İzmir Körfezi'ne dökülen Melez Çayı 'nda yapılan benzer bir çalışmada (18) amonifikasyon ve denitrifikant bakterilerin yüksek sayıda ( $10^5\text{-}10^7$  hücre/100 ml) bulunduğu, buna bağlı olarak ta Melez Çayı'nda azot çevrimi olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada denitrifikant bakterilerin çokluğu ile bu çayda anaerobik koşullarda denitrifikasyon işleminin gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Yaptığımız çalışmada Porsuk Çayı'nda denitrifikant bakterilerin izolasyonu gerçekleştirilememiştir. Bunun nedeni denitrifikant bakterilerin daha ziyade dip çamurları üzerinde bulunması ve örneklerimizde dip çamurlarının yer almayışı olabilir. Ayrıca gerek amonifikasyon-nitrifikasyon bakterilerinin düşük sayıda bulunması ve gerekse hiç denitrifikant bakteri izole edilememesi nedeniyle Porsuk Çayı'nda bakteriler tarafından gerçekleştirilen azot çevriminin sağlıklı bir şekilde yürümediğini görmekteyiz.

Sonuç olarak, son yıllara kadar Porsuk Çayı'na birçok sanayi kuruluşu atıklarını bırakmaktadır. Bunun yanında aşırı ve bilinçsiz gübreleme, tarla zararlılarına karşı çeşitli kimyasal ilaçların kullanılması da Porsuk Çayı'nın kirlenmesinde rol oynamaktadırlar. Yücel ve ark. (11), Porsuk Çayı'nda ağır metallerin yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir. Porsuk Çayı'nın organik azot yönünden oldukça kirli olması ve bu azotun diğer kirleticilerle



etkileşimde bulunması, çalışmamızda kullanılan su örneklerinin yüzeyden (1-30 cm) alınmış olması da mikrobiyolojik azot döngüsünü etkilemiş olabilir. Ortamda bulunan yüksek konsantrasyondaki azot da bakterilerin aktivitesini azaltmıştır. Bu nedenle Porsuk Çayı'nda amonifikasyon ve nitrifikasyon bakterileri mevcut olduğu halde bu döngü tam olarak saptanamamıştır.

Porsuk Çayı'nın kendi kendini temizleyebilir hale gelmesi için öncelikle, suya verilen kirleticilerin durdurulması gerekmektedir. Porsuk Çayı kıyısındaki tarlaların gübreleme ve ilaçlama işleminin kontrollü bir şekilde yapılması sağlanmalıdır. Porsuk Çayı'nın Eskişehir'e kullanma suyu sağladığı düşünülürse bu tedbirlerin acilen alınması gerekliliği ortadadır. Bu tedbirler kısa dönemde alınmazsa yapılacak bir diğer işlem de, ya Regülatör Arıtma tesislerine azot giderici bir sistem ilave etmek ya da yeni kullanma suyu kaynakları aramaktır.

## Kaynaklar

1. Kocataş, A. 1992. Ekoloji ve Çevre Biyolojisi. Ege Üniv. Basımevi, Bornova-İzmir. 327.
2. Schlatter, Ch. 1984. Wieviel Nitrat Vertragt der Mensch. Forsch. 37:1-15.
3. Neuss, Th. P. 1986. Nitrat im Trinkwasser. GIT Supplement. Umwelt 1:15-19.
4. Mutlu, H. 1980. DSİ III. Bölge Müdürlüğü Su Kalitesi Gözlem Çalışmaları ve Uygulamalar. Eskişehir.
5. Alexander, M. 1961. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley and Sons Ltd., New York. 272-292.
6. Şentürk, F., Sayman, Y. Yalçın, H., Dumlu, G. 1975. Kirlisu El Kitabı. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü Araştırma Dairesi Başkanlığı, Yayın no. 582, Ankara.
7. Malkoçoğlu, B. 1993. Eskişehir'de Porsuk Çayı ile Sulanan Bazı Sebzelerde Meydana Gelen Mikrobiyal Nitrit Miktarının Belirlenmesi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
8. Anonymous 1984. Eskişehir Devlet Su İşleri 3. Bölge Müdürlüğü Su Kalitesi Gözlem Yıllığı, Teknik Araştırma ve Kalite Kontrol Şube Müdürlüğü, Eskişehir.
9. Erdur, D. 1990. İzmir Körfezine Dökülen Nehir ve Derelerdeki Azot Kirliliği, Dokuz Eylül Üniversitesi Müh. Mim. Fak. Çevre Müh. Böl., Bitirme Tezi, Bornova-İzmir.
10. Abeliovich, A., Vonshak, A. 1993. Factors Inhibiting Nitrification of Ammonia in Deep Wastewater Reservoirs. Wat. Res. 27:1585-1590.
11. Yücel, E. Doğan, F., Öztürk, M. 1995. Porsuk Çayı'nda Ağır Metal Kirlilik Düzeyleri ve Halk Sağlığı İlişkisi. Ekoloji Çevre Dergisi 17:29-32.
12. Fang H-Y., Chou, M-S., Huang, C-W. 1993. Nitrification of Ammonia-Nitrogen in Refinery Wastewater. Wat. Res. 27:1761-1765.
13. Wolfe, R. L., Means III, E. G., Davis, M.K., Barrett, S. E. 1988. Biological Nitrification in Covered Reservoirs Containing Chloraminated Water. J. Am. Water Works Assoc., 80:109-114.
14. Matulewich, V. A., Finstein, M. S. 1978. Distribution of Autotrophic Nitrifying Bacteria in a Polluted River (the Passaic). Appl. and Environ. Microbiol. 35:67-71.

15. Allerman, J. E., Keramidan, V., Pantea-Kiser, L. 1987. Light Induced *Nitrosomonas* Inhibition. *Wat. Res.* 21:499-501.
16. Shears, J. H., Wood, P. M. 1985. Spectroscopic Evidence for a Photosensitive Oxygenated State of Ammonia Monooxygenase. *Biochem. J.* 226:499-507.
17. Liu, Y., Capdeville B. 1994. Some Observations on Free Ammonia Inhibition to *Nitrobacter* in Nitrifying Biofilm Reactor. *Biotechnology Letters* 16:309-314.
18. Özdemir, G. 1992. Melez Çayı'nda Bazı Kirlilik Parametrelerinin Saptanması ve Nitrit, Nitrat Bakterileri ile Sülfür Oksitleyen Bakterilerin İzolasyonu. Ege Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.