

## İzmir ve Aydın Yöresindeki Topraklardan İzole Edilen *Azotobacter chroococcum* (Beijerinck, 1901) İzolatlarının Tuz, Sıcaklık ve Bazı Ağır Metaller Toleranslarının Belirlenmesi<sup>1</sup>

İsmail Karaboz<sup>2</sup> , Nur Hilal Özcan<sup>3</sup>

### Özet

Aydın ve İzmir illerindeki farklı noktalardan alınan 35 toprak örneğinden yapılan ekimler sonucunda 96 izolat oluşturdukları farklı kolonilere dayanılarak seçilmiş ve 69 tanesinin *Azotobacter chroococcum* olduğu tespit edilmiştir. Seçilen *A. chroococcum* suşları; NaCl ve KCl tuzlarının 0,1-0,9 M arasındaki konsantrasyonlarına, 37-47 °C arasındaki sıcaklık derecelerine ve Pb, Zn, Ni, Cd ve Cu ağır metallerinin 0,5-5 g/l arasındaki konsantrasyonlarına maruz bırakılarak toleransları belirlenmiştir. Sonuçta; *A. chroococcum* suşlarının; 0,5 ve 0,6 M NaCl ve KCl konsantrasyonlarına tolerans gösterdikleri ve 0,6 M da her iki tuz için toleranslı suşların oranının % 37,5 olduğu, sıcaklık toleranslarının en yüksek 45 °C ve buna toleranslı suşların oranının % 37,5 olduğu, Pb, Zn, Ni, Cd ve Cu ağır metallerine en çok 4,5 g/l düzeyinde tolerans gösterdikleri, bu konsantrasyonda Cd, Zn, Cu için toleranslı suşların oranının % 33,3, Pb için % 50 ve Ni için ise % 16,6 olduğu saptanmıştır.

### Giriş

Dünyada doğal kaynakların kötü kullanım sonucu azaldığı ve bu durumun çok uzak olmayan bir gelecekte ciddi sorunlara yol açacağı bilinmektedir. Bu durum bilim adamlarını doğal kaynakları koruyucu, doğa ile dost teknoloji ve uygulamalar üzerinde çalışmaya yöneltmektedir. Organik (ekolojik) tarımın desteklenerek tarım ilaçlarının zararlı etkilerinin azaltılmaya çalışılması da söz konusu bu uygulamalardan belki de ilk akla gelenidir.

*Azotobacter* 'ler toprakta serbest olarak yaşayan ve havanın azotunu fikse eden, simbiyotik olmayan azot fikse edici bakterilerdendir. Toprağa bağladıkları azot

---

<sup>1</sup>Bu çalışma Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Prof. Dr. İsmail Karaboz danışmanlığında hazırlanıp, Eylül 2003 tarihinde tamamlanan "İzmir ve Aydın Yöresindeki Topraklardan İzole Edilen *Azotobacter chroococcum* (Beijerinck, 1901) İzolatlarının Tuz, Sıcaklık ve Bazı Ağır Metaller Toleranslarının Belirlenmesi" adlı yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır.

<sup>2</sup>Prof Dr., Ege Üniversitesi Fen Fak. Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji AbD Bornova/İzmir. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [karaboz@sci.ege.edu.tr](mailto:karaboz@sci.ege.edu.tr)

<sup>3</sup>Uzm. Biyolog, İzmir Çevre ve Orman İl Müdürlüğü Talatpaşa Bulvarı Alsancak İş Merkezi No:59 Kat:8 Alsancak/ İzmir

nedeniyle doğadaki azot çevrimine önemli katkıları vardır. Toprağa bağlanan azot “Yeşil Gübre” olarak toprak verimliliğini arttırdığı gibi bitkilerde de verim artışı sağlamaktadır (1).

Azotobacter’in çeşitli bitkilerin gelişimi üzerindeki etkileri ile ilgili ilk çalışmayı Gerlach ve Vogel yapmıştır. Bundan sonra, bazı Sovyet mikrobiyologları bitki gelişiminde Azotobacter inokulasyonunun olumlu etkilerini kanıtlamışlardır (2).

Çeşitli *Azotobacter* türlerinin toprağın azot, fosfor, potasyum değerlerini geliştirerek, çeşitli tarım, endüstriyel ve orman bitkilerinde, bitkilerin farklı kısımlarında biomass artışı sağladıkları, dut fidanlarında büyüme etkisi, orman türlerinde büyüme ve biomass artışında, bitkilerde özellikle antioksidan enzim, karetenoid, klorofil pigmentleri, çözümlü protein ve kuru madde artışında etkili oldukları saptanmıştır (3, 4).

Bazı ülkelerde değişik ticari isimlerde üretilen *Rhizobium* ve *Azotobacter* türleri mevcuttur. Örneğin; *Azotobacter chroococcum* AZONİK adı altında çeşitli tahıl bitkilerinde inokulant olarak, aynı şekilde *Rhizobium* türleri de RIZONİK adı altında değişik kültür bitkilerinde biyogübre olarak üretilmiştir. Bundan başka değişik *Azotobacter* türlerinin endüstriyel bitkilerin doku kültürlerinin üretiminde inokulant olarak katıldığı çalışmalar da yapılmıştır (4 - 8).

Ayrıca, *Azotobacter* türlerinin buğday, pamuk, domates gibi endüstriyel önemi olan çeşitli bitkilerde hastalık oluşturan çeşitli fitopatojenik funguslara karşı belirli oranlarda etkili olduğu yapılan antagonistik çalışmalar sonucunda saptanmıştır (9).

Bunların yanı sıra, *Azotobacter* türlerinden *A. chroococcum* ve *A. vinelandii* ’nin catecholate, azobactin ve pioverdine gibi değişik tiplerdeki siderofor üretiminde kullanıldığı ve özellikle yetersiz metal içeren ortamlardaki siderofor biyosentezi konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır (10 - 13).

*A. chroococcum* son yıllarda mikrobiyal plastik hammaddesi olan PHB üretiminde de sıkça kullanılmış, farklı substratların üretim üzerindeki etkileri çalışılmıştır (14 - 20).

Sahip oldukları nitrogenaz enzimi sayesinde havanın azotunu simbiyotik olmayan yolla fikse edebilen *Azotobacter* ’lerin tuz, sıcaklık ve bazı ağır metallerle toleransının belirlenmesi ile tuzlu topraklarda, çeşitli endüstriler tarafından kirliliğe maruz kalan alanlarda ve sıcak iklimli alanlardaki topraklarda inokulasyon uygulamaları ile toprağın azot içeriğinin gübreleme yapılmadan doğal yollarla artırılarak tarım arazilerinde çevreci bir tarım olanağı sağlanacak, bitkilerde ürün ve kalite yönünden artışlar elde edilebilecektir. Ayrıca, söz konusu organizmanın tuz, sıcaklık ve bazı ağır metal toleranslarının belirlenmesinden sonra, toleransı yüksek olan izolatlar gen kaynağı olarak çeşitli araştırmalarda kullanılabilir.

Bütün bu bilgiler ışığında; çalışmamızda öncelikle İzmir ve Aydın yöresindeki sanayi tesis ve bölgelerinden etkilenme olasılığı yüksek bu tesislere yakın alanlardan, tuzluluğu bilinen bölgelerden alınan toprak örneklerinden *Azotobacter chroococcum* izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır. Daha sonra, alındığı toprak örneği göz önünde bulundurularak seçilen izolatlar; NaCl ve KCl tuzlarının değişik konsantrasyonları ile çeşitli sıcaklık derecelerine ve Pb, Zn, Ni, Cd ve Cu ağır

metallerinin değişik konsantrasyonlarına maruz bırakılarak toleranslarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Denemeler sonucunda; tuz, sıcaklık ya da ağır metal toleransının yüksek olduğu belirlenen her bir *A. chroococcum* straini daha sonra, ürün kalite ve veriminin arttırılmasına yönelik tarla uygulamalarında, tuzluluğa bağlı olarak kurak ve/veya yarı kurak topraklarla, endüstriyel kaynaklı olarak kirletilmiş toprakların azot içeriğinin arttırılarak tarıma daha elverişli hale getirilmesinde, ayrıca biyoteknolojik çalışmalarda gen kaynağı olarak kullanılabilirlerdir.

## **Materyal ve Metot**

### **Toprak Örneklerinin Alınması**

Tuz, sıcaklık ile Pb, Zn, Ni, Cd ve Cu ağır metallerine toleransı belirlenecek olan *A. chroococcum* 'ların izolasyonu amacıyla Aralık 2002-Şubat 2003 tarihlerinde bölgeyi en iyi temsil edecek şekilde Aydın ve İzmir sınırları içerisindeki 35 değişik noktadan, toprağın yüzeye yakın kısmından bir miktar toprak uzaklaştırıldıktan sonra, yaklaşık 5-10 cm derinlikten alınmış ve arazide ağızları bağlı vaziyette hazırlanan etiketli torbalara konularak laboratuara getirilerek, en kısa zamanda işleme tabi tutulmuştur.

### **Topraktan *Azotobacter* İzolasyonu ve Tanımlanması**

*A. chroococcum* en yaygın türdür ve izolasyon için özel bir zenginleştirme işlemine gereksinim duyulmaz (21). *A. chroococcum* 'un izolasyonunda Nutrient Solüsyon Metodu ve Toprak Hamuru Metodu kullanılmaktadır. Bunlara ilave olarak *A. chroococcum*'un izolasyonu, saflaştırılması ve ileri kültürasyonunda *Azotobacter* Zenginleştirme Ortamının kullanımı uygundur (22). *Azotobacter* izolasyonu için toprak örneklerinden 10 gram alınarak, içinde 90 ml saf su bulunan şişelere konulmuş ve çalkalanarak iyice karıştırılmıştır. Bu şekilde elde edilen  $10^{-1}$ 'lik seyreltmeden steril petrilere 1'er ml konulduktan sonra, üzerine 121 °C, 1,1 atm basınçta, 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiş *Azotobacter* Zenginleştirme Ortamından yaklaşık 15-20 ml dökülerek ince bir film halinde plaklanması sağlanmıştır. Denemeler her toprak örneğinden 3'er petri ekilerek yapılmıştır. Bu şekilde hazırlanmış petri kapları 25 °C'de 7-14 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra petrilere üreme gösteren akıcı-cıvık, kahverengi, değişik morfolojideki koloniler seçilerek tüplere yatık olarak hazırlanmış *Azotobacter* Zenginleştirme Ortamlarına ekilerek saf kültürleri hazırlanmış ve tanıları yapıncaya kadar buzdolabında +4 °C'de stoklanmıştır.

Yatık olarak hazırlanmış *Azotobacter* Zenginleştirme Ortamlarında stoklanan saf kültürlerin, tanısı amacıyla; gram boyama, katalaz testi, nişasta kullanımı, hareketlilik testi, kapsül boyama ve kist boyamaları yapılmıştır (23, 24).

## ***Azotobacter chroococcum* İzolatlarının Tuz Toleranslarının Belirlenmesi**

*Azotobacter chroococcum* izolatlarının tuz toleransının belirlenmesi amacıyla ise; içerisine değişik konsantrasyonlarda NaCl veya KCl eklenerek modifiye edilmiş *Azotobacter* zenginleştirme ortamı: mannitol agar kullanılmıştır. Alındıkları yerler göz önünde bulundurularak seçilen izolatlar, 0,1 M; 0,2 M; 0,3 M; 0,4 M; 0,5 M; 0,6 M; 0,7 M ve 0,9 M konsantrasyonlarında NaCl ve KCl ilave edilmiş *Azotobacter* zenginleştirme ortamına, seçilen izolatların stok kültürlerinden ekim yapılarak, 25 °C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda üreme gösteren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiş olup, üremenin görülmediği konsantrasyona kadar tuz içeriği artırılarak ortam hazırlanarak, ekim yapılmaya devam edilmiştir.

### **A. *chroococcum* İzolatlarının Sıcaklık Toleranslarının Belirlenmesi**

*A. chroococcum* izolatlarının sıcaklık toleranslarının belirlenmesi amacıyla; alındıkları yerler göz önünde bulundurularak seçilen izolatlar, *Azotobacter* zenginleştirme ortamına ekilmiş ve 37 °C den başlanarak giderek artan sıcaklıklara ayarlanmış etüvlerde inkübasyona bırakılmıştır. Tüm ekimler çift paralelli olarak yapılmıştır. İnkübasyon sonucunda üreme gösteren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiş, üremenin görülmediği sıcaklığa kadar ortam hazırlanarak, ekim yapılmaya devam edilmiştir.

### **A. *chroococcum* İzolatlarının Bazı Ağır Metal Toleranslarının Belirlenmesi**

*Azotobacter chroococcum* izolatlarının ağır metal toleranslarının belirlenmesi amacıyla; alındıkları yerler göz önünde bulundurularak seçilen izolatlar, değişik konsantrasyonlarda Pb, Zn, Ni, Cd ve Cu ilave edilmiş nutrient agara çift paralelli olarak ekilmiş ve 25 °C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Ağır metallerin Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, NiCl<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O, CdCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O ve CuCl<sub>2</sub> formları kullanılmıştır. İnkübasyon sonucunda üreme gösteren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiş, üremenin görülmediği ağır metal konsantrasyonuna kadar, ağır metal konsantrasyonu artırılarak ortam hazırlanarak, ekim yapılmaya devam edilmiştir.

## **Araştırma Sonuçları ve Tartışma**

*Azotobacter* izolasyonunda kullanılan “*Azotobacter* Zenginleştirme Ortamı” iyi sonuç vermiş ve incelemeye alınan 35 toprak örneğinin 30 tanesinden *Azotobacter* elde edilmiştir. *Azotobacter* Zenginleştirme Ortamı halen birçok araştırmacı tarafından önerilen ortamlar arasında yer almaktadır (22).

*Azotobacter* kolonisi gözlenen 30 örnekten seçilen 96 izolata gram boyama, kapsül ve kist boyama yapılmış, karbon kaynağı olarak sadece nişasta içeren ortama ekilerek nişasta kullanımına, yarı katı ortama ekilerek hareketliliğine ve katalaz enzimlerinin bulunup bulunmadığına bakılmıştır. İzolasyonu ve tanısı yapılan 96 izolattan, yapılan morfolojik ve biyokimyasal testler sonucunda 69 tanesinin *Azotobacter chroococcum* olduğu belirlenmiştir. Söz konusu 69 izolattın alındıkları

yerler göz önünde bulundurularak tuz, sıcaklık ve ağır metal denemelerinde kullanılacak olan izolatlar tespit edilmiştir.

Buna göre; 8 izolat sıcaklık toleransının belirlenmesinde, yine 8 izolat tuz toleransının belirlenmesinde ve 6 izolat da ağır metal toleransının belirlenmesinde kullanılmıştır.

Tuz konsantrasyonu (kloridler, sülfatlar ve diğerleri), tuzlu toprak ve sularda düşük ya da yüksek tuz konsantrasyonu ile mikroorganizmaların canlılığını etkileyen ana ekolojik faktörü oluşturur (25).

*A. chroococcum* strainlerinin tuz toleransının belirlenmesi amacı ile; NaCl ve KCl tuzlarının 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.9 M konsantrasyonları kullanılmıştır. Sonuçta; seçilen *A. chroococcum* strainlerinin tamamı her iki tuzunda 0.4 M konsantrasyonuna tolerans göstermiş, 0.5 M NaCl'de toleranslı strain oranı % 87.5, 0.6 M da % 37.5 olarak; 0.5 M KCl'de toleranslı strain oranı % 75, 0.6 M da ise % 37.5 olarak tespit edilmiştir. Her iki tuz içinde, gelişmenin görülmediği konsantrasyon 0.7 M olarak tespit edilmiştir. Bu değer NaCl için; 4.095 g/100 ml'ye, KCl için ise; 5.215 g/100 ml'ye karşılık gelmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. *Azotobacter chroococcum* strainlerinin uygulanan NaCl ve KCl konsantrasyonları ve strainlerin bu konsantrasyonlardaki büyüme oranları

Tuz	M	g/100 ml	Büyüme oranı(%)
NaCl	0,1	0,585	100
	0,2	1,17	100
	0,3	1,755	100
	0,4	2,34	100
	0,5	2,925	87,5 (7)*
	0,6	3,51	37,5 (3)*
	0,7	4,095	0
	0,9	5,265	0
KCl	0,1	0,745	100
	0,2	1,49	100
	0,3	2,235	100
	0,4	2,98	100
	0,5	3,725	75 (6)*
	0,6	4,47	37,5 (3)*
	0,7	5,215	0
	0,9	6,705	0

\* Belirtilen konsantrasyonlarda gelişme gösteren strain sayısı parantez içinde verilmiştir.

*Azotobacter* 'ler mezofilik bakterilerdir. Krasilnikov "Actinomycetler ve Bakterilerin El Kitabı" nda çeşitli *Azotobacter* türlerinin gelişimi için optimum sıcaklığı 25 °C olarak vermektedir. Fakat, çeşitli *A. chroococcum* strainlerinin gelişimi için optimal sıcaklık bazı literatürde farklıdır (25).

Araştırmamızda *A. chroococcum* strainlerinin sıcaklık toleransının belirlenmesi amacı ile; *Azotobacter* Zenginleştirme Ortamına ekim yapılarak farklı sıcaklık derecelerinde inkübasyona bırakılmış ve üremenin görülmediği sıcaklığa kadar, inkübasyon sıcaklığı artırılarak devam edilmiştir. Sonuçta; 37 °C ve 40 °C'ye tüm izolatlar

tolerans göstermiştir. 42 °C'ye tolerans gösteren strainlerin oranı % 62,5, 45 °C'ye toleranslı strainlerin oranı ise % 37,5 olarak belirlenmiştir. 45 °C'de 3 izolat zayıfta olsa gelişme göstermesine rağmen, 47 °C' de hiçbir strainin gelişme göstermediği tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. *Azotobacter chroococcum* strainlerine uygulanan sıcaklık dereceleri ve strainlerin bu sıcaklıklardaki büyüme oranları

İzolatların büyüme oranları (%)	Uygulanan Sıcaklık Dereceleri (°C)				
	37	40	42	45	47
	100	100	62,5 (5)*	37,5 (3)*	0

\* Belirtilen sıcaklık derecelerinde gelişme gösteren strain sayısı parantez içinde verilmiştir.

Söz konusu sıcaklıklar mezofilik bakterilerin gelişimi için yüksek sıcaklıklar olmasına rağmen; benzer sonuçların bulunduğu çalışmalar çeşitli kaynaklarda yer almaktadır.

Çevrede bulunan çeşitli formlardaki ağır metaller mikroorganizmalar ve onların aktivitelerini üzerinde hatırı sayılır modifikasyonlara sebep olmaktadır. Ağır metaller genellikle ya essensiyal metal iyonlarının yerine geçerek ya da biyolojik moleküllerinin aktif konformasyonunu modifiye ederek, essensiyal fonksiyonel grupları bloke etmek suretiyle mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici rol oynarlar. Fakat, bazı metallerin düşük konsantrasyonları metaloproteinler ve enzimler için co-faktör olarak gerekli olduklarından mikroorganizmalar için essensiyaldirler. Ağır metallerle çevrenin kirlenmesi endüstri bölgelerindeki toprak ve sularda ağır metallere rezistant mikroorganizmaların görülmesine neden olmuştur. Bakterilerdeki metal rezistansı sıklıkla plasmidler ve tranpozonlar üzerinde bulunan genlerle kodlanır ve yine sıklıkla genlerarası ve türlerarası transfer edilir (26).

*A. chroococcum* strainlerinin ağır metal toleranslarının belirlenmesi amacı ile; strainler Pb, Zn, Ni, Cd ve Cu ağır metallerinin Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, NiCl<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O, CdCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, CuCl<sub>2</sub> formlarının değişik konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve gelişmenin görülmediği konsantrasyona kadar ağır metal içeriği artırılarak, denemelere devam edilmiştir. Sonuçta; tüm ağır metallerin 0.5-2 g/l konsantrasyonuna bütün strainler tolerans göstermiştir. Cd, Zn ve Ni için inhibisyon 2.5 g/l'den itibaren, Cu için ise 3 g/l'den itibaren başladığı ve strainlerde en geç Pb dan etkilenmenin görüldüğü ve inhibisyonun 3,5 g/l den itibaren başladığı tespit edilmiştir. Pb için; 3.5 ve 4 g/l'ye direnç gösteren strainlerin oranı, % 83.3, 4.5 g/l'ye ise % 50 dir. Cd ve Zn için; 2.5 g/l'ye direnç gösteren strainlerin oranı % 83.3 iken, 3 ve 3.5 g/l'ye % 66.6, 4 g/l'ye % 50, 4.5 g/l'ye de % 33.3 tür. Cu için; 3 g/l'ye direnç gösteren strainlerin oranı % 83.3, 3.5 g/l'ye % 66.6, 4 g/l'ye % 50, 4.5 g/l'ye ise %33.3 tür. Ni için direnç oranlarına bakacak olursak; 2.5 g/l de % 83.3, 3 ve 3.5 g/l de % 66.6, 4 g/l de % 50 ve 4.5 g/l de de % 16.6 olduğu görülmektedir.

Denememizde kullanılan tüm ağır metaller için seçilen izolatların direnç gösterdikleri en yüksek konsantrasyon 4.5 g/l dir. Bu konsantrasyonda Pb için 3; Cd için 2; Zn için 2; Cu için 2 ve Ni için 1 izolat direnç göstermiştir. Pb, Cd ve Zn ağır metallerinin 4.5 g/l konsantrasyonunda büyüme göstererek, 3 ağır metale strainlerden birinin direnç gösterdiği görülmüştür. Bunun yanısıra, diğer 3 izolatta sırasıyla Ni, Pb; Zn, Cu ve

Cd, Cu ağır metallerinin 4.5 g/l konsantrasyonlarında gelişme göstererek, ikişer ağır metale karşı direnç göstermişlerdir. 1 izolat ise sadece Pb'nun 4.5 g/l konsantrasyonlarına karşı direnç göstermiştir. Söz konusu ağır metallerin 5 g/l (5000 µg/ml) konsantrasyonunda ise hiçbir strainin gelişemediği görülmektedir (Tablo 3).

Tablo 3. *Azotobacter chroococcum* strainlerine uygulanan ağır metal konsantrasyonları ve strainlerin bu konsantrasyonlardaki büyüme oranları

Ağır Metal	Uygulanan Ağır Metal Konsantrasyonları (g/l) ve Strainlerin Bu Konsantrasyonlardaki Büyüme Oranları (%)									
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
Pb	100	100	100	100	100	100	83,3(5)*	83,3(5)*	50(3)*	0
Cd	100	100	100	100	83,3(5)*	66,6(4)*	66,6(4)*	50(3)*	33,3(2)*	0
Zn	100	100	100	100	83,3(5)*	66,6(4)*	66,6(4)*	50(3)*	33,3(2)*	0
Cu	100	100	100	100	100	83,3(5)*	66,6(4)*	50(3)*	33,3(2)*	0
Ni	100	100	100	100	83,3(5)*	66,6(4)*	66,6(4)*	50(3)*	16,6(1)*	0

\* Belirtilen ağır metal ve konsantrasyonunda gelişme gösteren strain sayısı parantez içinde verilmiştir.

## Sonuç

Çalışmamızda elde edilen *Azotobacter chroococcum* strainlerinin genel olarak tuz, sıcaklık ve ağır metal dirençlerinin yüksek olması sebebi ile ileride yapılabilecek ürün kalite ve veriminin artırılmasına yönelik tarla uygulamalarında, tuzluluğa bağlı olarak kurak ve/veya yarı kurak topraklarla, endüstriyel kaynaklı olarak kirletilmiş toprakların azot içeriğinin artırılarak tarıma daha elverişli hale getirilmesinde, ayrıca çeşitli biyoteknolojik çalışmalarda gen kaynağı olarak kullanılabilirlerdir.

Sıcaklığa dirençli strainler tarla koşullarında genellikle daha iyi bitki gelişimi ve ürün sağlamaktadır (27). Sadece sıcaklık toleransı yüksek strainlerin değil, tuz ve ağır metal toleransı yüksek strainlerinde tarla koşullarında ve uygulamalarda daha iyi sonuçlar vereceği düşünülmektedir. Ancak, söz konusu çalışmalarda laboratuvar şartları ile in vivo koşulların her zaman aynı sonuçları vermediği göz önünde bulundurularak, toleransı yüksek olarak belirlenen strainlere yönelik in vivo çalışmaların yapılarak, en iyi sonucu sağlayanların kullanılması daha faydalı olacaktır.

## Kaynaklar

- Öner, M., 1996, Genel Mikrobiyoloji 3. baskı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 94, Bornova-İzmir
- Metting, Jr., F.B., 1993, Soil Microbial Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management, Marcel Dekker, Inc., II. Series, New York, USA, P. 309
- Sanhita, Gupta, Dilip, K., Arora and Alok K. Srivastova, 1995, Growth Promotion of Tomato Plants by *Rhizobacteria* and Imposition of Energy Stress on *Rhizoctonia soloni*, Soil Biology and Biochemistry, V.27, I.8, p. 1051-1058

4. Mrkovackii, N., Mezei, S., Versboranji, L., Saric, Z., Kovacev, L., 1997, Associations of Sugar Beet and Nitrogen-fixing Bacteria in vitro, *Biologia Plantarum*, V.39, I.3, P.419-425
5. Mezei, S., Popovic, M., Kovacev, L., Mrkovecki, N., Nagi, N., Malancic, D., 1998, Effects of *Azotobacter* strains on Sugar Beet Callus Proliferation and Nitrogen Metabolism Enzymes, *Biologia Plantarum*, V. 40,I.2, P. 277-283
6. Sanjay, A., Sher, S., Kumar, S., Rangpel, S., 1998, Role of Bioagents and Physical Methods of Seed Treatment in Controlling Flag Smut of Wheat, *Crop Research Hisar*, 15(2-3): 275-278
7. Pandey, A., Sharma, E., Palni, L.M.S., 1998, Influence of Bacterial Inoculation on Maize in up-Ind Farming Systems of the Sikim Himalaya, *Soil Biology and Biochemistry*, V. 30, I.3, p. 379-384
8. Jadhva, A.C., Nimbalkar, R.D., Salke, S.R., Pawar, N.B., 1999, Effects of Bioagents on Control of Seeding Wilt of Cotton Caused by *Fusarium sp.*, *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*, 24 (3):330-331
9. Türkmen, E., 2001, İzmir'deki Çeşitli Sera Topraklarından *Azotobacter chroococcum* İzolasyonu, Tanımlanması ve Bazı Fitopatogen Funguslara Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi, Ege Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64s.
10. Bezbaruah, B., Saikia, N., 1998, Influence of Metals on Siderophore Production by *Azotobacter chroococcum RRLJ 203*, *Indian Journal of Experimental Biology*, 36(7), 680-687
11. Cornish, A.S. and Page, W.J., 2000, Role of Molydane and Other Transition Metals in the Accumulation of Protochelin by *Azotobacter vinelandii*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(4), 1580-6
12. Tindale, A.E., Mehrotha, M.; Ottem, D., Page, W.J., 2000 Dual Regulation of Catecholote Siderophore Biosynthesis in *Azotobacter vinelandii* by Iron and Oxidative Stress, *Microbiology*, 146(p+7):16,17-26
13. Sunita, S., Lakshminarayana, K., Gupta, P.P., Suneja, S., 1994, Role of *Azotobacter chroococcum* Siderophores in Control of Bacterial Rot and Sclerotinia rot of Mustard, *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 24:3, 202-205, 5 ref
14. Ateş, M. ve Ekmekçi, S., 2001, Pancar Melası Kültüründe *Pseudomonas extorquens DSM 1337* ve *Azotobacter chroococcum* (TEM)'dan PHB Üretimi, *Biyoteknoloji Dergisi*, 25:3, S.61-70, Ankara
15. Kim, B.S., May, S.W., 2000, Production of Poly(3-hydroxybutyrate) from Inexpensive Substrates, Nith European Longress on Biotechnology (ECB9), Brussels, Belgium, 27:10, 774-777, 17 ref.
16. Quigliano, J.C., Miyazaki, S.S., 1999, Biosynthesis of Poly-B-Hydroxybutyrate and Exopolysaccarides on *Azotobacter chroococcum* strain 6B Utilizing Simple and Complex Carbon Sources, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 82(3):199-208
17. Kizlo, Z., Savenkova, L., Genberya, Z., Kalnis, M., 1999, Polyhydroxybutyrate Biosynthesis by *Azotobacter chroococcum* from Renewable Unrefined Carbon Sources, *Proceedings of the Latuian Academy of Sciences Section Natural Exact and Applied Sciences*, 53(2), 117-120
18. Pal, S., Manna, A., Paul, A.K., 1998, Nutritional and Culturel Conditions for Production of poly-3-hydroxybutyric acid by *Azotobacter chroococcum*, *Folia Microbiologica*, 43 (2) 177-181
19. Kim, B.S., Chang, H.N., 1998, Production of Poly (3-hydroxybutyrate) from Starch by *Azotobacter chroococcum*, *Biotechnology Letters*, 20 (2): 109-112



20. Martinez, T.M.V., Gonzales, L.J., Rodelas, B., Pozo, C., Salmeron, V., 1995, Production of poly-beta-hydroxybutyrate by *Azotobacter chroococcum* H23 in chemically defined medium and alpechin medium, *Journal of Applied Bacteriology*, 78 (4): 413-418
21. Tchan, Y.T., 1984, Family II Azotobacteraceae Pribran 1933, 5AL in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1 (Eds. Krieg and Holt) P.219-234, Williams and Wilkins Baltimore
22. Becking, J.H., 1992, The Family Azotobacteraceae in the Prokaryotes, Second Edition Volume IV, (Eds-Balaustruper, Dworking, Harder, Schlerfer), Springer-Verlag
23. Norris, J.R. and Chapman, H.M., 1974, Classification of Azotobacters in Identification Method for Microbiologists (Eds. Gibbs and Shapton), Academic Pres, London
24. Karaboz, İ., 1988, Toprak Mikrobiyolojisi Laboratuar Kılavuzu, E.Ü. Teksirler Serisi No:82, 42s.
25. Rubenchik, L.I., 1963, Azotobacter and Its Use in Agriculture, Academy of Sciences of the Ukrainian S.S.R. Microbiological Institute im. D.K. Zabolotnyi, Israel Program for Scientific Translations Ltd., Jerusalem
26. Alem, A., Isar, J., Malik, A., 2003, Impact of Long-term application of industrial wastewater on the emergence of resistance traits in *Azotobacter chroococcum* isolated from rhizospheric soil, *Bioresource Technology* 86 (2003) 7-13
27. Anand, R.C., Verma, O.P.S., Kukreja, K., Suneja, S., Narula, N., Lakshminarayana, K., 1998, Effect of high temperature resistant mutant of *Azotobacter chroococcum* on pearl millet (*Pennisetum glaucum*) yield, *Indian Journal of Agriculture Sciences*, 68:11, 736-738; 9 ref.