



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**AĞIR METALLERİN TOPRAKTAKİ  
AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Büşra Cemile DİL  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Ağustos-2022  
KONYA  
Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Büşra Cemile Dil tarafından hazırlanan Ağır Metallerin Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerine Etkileri adlı tez çalışması 01/...08/2022... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Prof. Dr. Senar AYDIN

.....

#### Danışman

Doç. Dr. Fatma BEDÜK

.....

#### Üye

Doç. Dr. Muhammed Kamil ÖDEN

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../20.. gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim KALAYCI  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması NEÜ BAP tarafından 211319017 nolu proje ile desteklenmiştir.

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## **DECLARATION PAGE**

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Büşra Cemile DİL

Tarih:

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## AĞIR METALLERİN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Büşra Cemile DİL

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Çevre Mühendisliği Bölümü Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatma BEDÜK

2022, 50 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Fatma BEDÜK

Prof. Dr. Senar AYDIN

Doç. Dr. Muhammed Kamil ÖDEN

Çevresel birçok kirletici topraktaki nitrifikasyon sürecini olumsuz yönde etkileyerek toprak verimliliğini düşürebilmektedir. Bu çalışmada toksik ağır metallere bir olan kadmiyumun (Cd) topraktaki nitrifikasyon bakterileri üzerine olan inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Cd ile birlikte topraktaki bulunabilecek olan ağır metallere Nikel (Ni) ve kurşunun (Pb) oluşturabileceği sinerjik etki tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan amonyum oksidasyon toksisite testi, toprak içinde bulunan birçok bakteri türünden biri olan nitrifikasyon bakterilerinin (*nitrosomonas*, *nitrobakter*) varlığını ve sağlıklı bir şekilde bu işlemi yapıp yapmadığını belirleyen bir akut toksisite testidir. Test prensibi olarak; nitrifikasyonda bir ara ürün olan ve *nitrosomonas* bakterileri tarafından oluşturulan NO<sub>2</sub> miktarı SM 4500 NO<sub>2</sub>-B metodu ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. İnkübasyonun gerçekleştirildiği inkübasyon çözeltisine potasyumdihidrojenfosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); dipotasyumdihidrojenfosfat (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); sodyumklorat (NaClO<sub>3</sub>) ve diamonyum sülfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) eklenerek nitrifikasyon teşvik edilmiştir. Nitrifikasyon bakterilerinin germinasyon periyodu olan 6 saat süre içerisinde NO<sub>2</sub> oluşumu izlenmiş ve kirletici eklenmeyen kontrol toprak numunesine kıyasla gerçekleşen inhibisyon yüzdeleri belirlenmiştir. Hedef konsantrasyonlar belirlenirken metallerin çevrede bulunan ortalama değerleri ve çevrede yaygın olmayan yüksek değer olarak seçilmiştir. Cd 10-900 mg/kg aralığında; Ni 50-100 mg/kg aralığında; Pb 10-500 mg/kg aralığında çalışılmıştır. Cd, Ni ve Pb'un sinerjik toksik etkisi 10 mg/kg Cd; 200 mg/kg Ni ve 50 mg/kg Pb için belirlenmiştir. Deneysel çalışmalarda fizikokimyasal özellikleri belirlenmiş olan ve Konya İli, Selçuklu İlçesinden alınan toprak örneği (S) kullanılmış ve çalışmanın son basamağında matriks etkisi Konya İli, Meram İlçesinden alınan toprak örneği (M) için belirlenmiştir.

S-Toprak örneğinin nitrifikasyon potansiyeli ortalama 7.4 mg NO<sub>2</sub>-N/kg toprak.km olarak belirlenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gerçekleşen inhibisyon oranları değerlendirildiğinde çevrede yaygın olarak görülen 10 mg/kg Cd konsantrasyonunda yaklaşık %20 seviyesinde inhibisyon olduğu tespit edilmiştir. 300-900 mg Cd/kg konsantrasyonunda nitrifikasyon bakterilerinin %50'sinin inhibe olduğu tespit edilmiştir. Ni'in çevrede yaygın olarak bulunan 50-500 mg Ni/kg konsantrasyon aralığında topraktaki nitrifikasyon üzerindeki inhibisyon etkisi inkübasyon süresinin sonunda yaklaşık %20'ler seviyesinde olmuştur. Pb'un nitrifikasyon bakterileri üzerinde akut toksik etkisi diğer metallere farklı olarak inkübasyon süresinin başında oldukça yüksek seviyelere ulaşmıştır. Ancak inkübasyon süresinin sonunda inhibisyon azalmış ve %30 seviyesinde kalmıştır. 20 mg/kg Cd, 200 mg/kg Ni ve 50 mg/kg Pb'un sinerjik olarak oluşturduğu etkinin inkübasyon süresi boyunca yaklaşık olarak %50 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. M-Toprak örneği ile yapılan çalışmada farklı özellikteki toprağın nitrifikasyon potansiyelinin değiştiği belirlenmiştir. Nitrifikasyon potansiyeli daha yüksek olan M-Toprağında ağır metallere sinerjik toksik etkisi %40 seviyesinde gerçekleşmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ağır metal, amonyum, bakteri, kadmiyum, kurşun, nikel, toksisite, toprak.

## ABSTRACT

### MS THESIS

## THE EFFECTS OF HEAVY METALS ON AMMONIUM OXIDATION BACTERIA IN SOIL

Büşra Cemile DİL

### THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ENVIRONMENTAL ENGINEERING

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fatma BEDÜK  
2022, 50 Pages

#### Jury

Doç. Dr. Fatma BEDÜK

Prof. Dr. Senar AYDIN

Doç. Dr. Muhammed Kamil ÖDEN

Environmental pollutants can negatively affect the nitrification process in the soil and reduce soil fertility. In this study, the inhibition effect of cadmium (Cd), one of the toxic heavy metals, on nitrifying bacteria in soil was investigated. The synergistic effect of nickel (Ni) and lead (Pb), which can be found in the soil together with Cd, has been determined. The ammonium oxidation toxicity test used in the study is an acute toxicity test that determines the presence of nitrifying bacteria (*nitrosomonas*, *nitrobacter*), and whether they can do this in a healthy way. As the test principle; The amount of NO<sup>2</sup>, which is an intermediate in nitrification and produced by *nitrosomonas* bacteria, was measured spectrophotometrically by the SM 4500 NO<sub>2</sub>-B method. Nitrification was promoted by adding potassium dihydrogenphosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), dipotassiumhydrogenphosphate (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); sodium chlorate (NaClO<sub>3</sub>) and diammonium sulfate (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to the incubation solution. Within 6 hours, which is the germination period of nitrifying bacteria, NO<sub>2</sub> formation was monitored and the inhibition percentages were determined compared to the control soil sample, not containing any pollutants. While determining the target concentrations, the average values of metals found in the environment and the high value that is not common in the environment were chosen. Cd has been studied in the range of 10-900 mg/kg; Ni; in the range of 50-100 mg/kg; and Pb; in the range of 10-500 mg/kg. Synergistic toxic effect of Cd, Ni and Pb was determined for 10 mg/kg Cd; 200 mg/kg Ni and 50 mg/kg Pb. Soil sample (S) taken from Konya Province, Selçuklu District, of which physicochemical properties were determined in the experimental studies, was used and in the last step of the study, the matrix effect was determined for the soil sample (M) taken from Konya Province, Meram District.

The nitrification potential of the S-Soil sample was determined as 7.4 mg NO<sub>2</sub>-N/kg.soil.km. When the inhibition rates at the end of the incubation period were evaluated, it was determined that there was approximately 20% inhibition at the concentration of 10 mg/kg.Cd, which is common in the environment (EC20). It was determined that 50% of nitrifying bacteria were inhibited at 300-900 mg/kg.Cd concentration (EC50). The inhibition effect of Ni on nitrification in the soil in the concentration range of 50-500 mg/kg.Ni, was approximately 20% at the end of the incubation period. Unlike other metals, the acute toxic effect of Pb on nitrifying bacteria reached very high levels at the beginning of the incubation period. However, at the end of the incubation period, the inhibition decreased and remained at the 30% level. It was determined that the synergistic effect of 20 mg/kg Cd, 200 mg/kg Ni and 50 mg/kg Pb was approximately 50% during the incubation period. In the study conducted with the M-Soil sample, it was determined that the nitrification potential of soil with different properties changed. In M-Soil, which has a higher nitrification potential, the synergistic toxic effect of heavy metals was realized at the level of 40%.

**Keywords:** Amonium, bacteria, cadmium, heavy metal, lead, nickel, soil, toxicity.

## ÖNSÖZ

Tez sürecim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Öğretim Üyesi Danışmanım Doç. Dr. Fatma BEDÜK' e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi,

Desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen kıymetli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Büşra Cemile DİL  
KONYA-2022

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Tezin Amacı.....	2
1.2. Tezin Önemi .....	2
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	3
2.1. Toprak Kirliliği .....	3
2.1.1. Toprakta Cd Kirliliği .....	6
2.1.2. Toprakta Ni ve Pb Kirliliği .....	8
2.2. Toprağın Fizikokimyasal Özellikleri .....	9
2.3. Toprağın Mikrobiyolojik Özellikleri .....	11
2.4. Toprakta Azot Döngüsü .....	11
2.5. Topraktaki Azotun Kaybı ve Nitrifikasyon İnhibitörlerinin Kullanımı.....	15
2.6. Topraktaki Nitrifikasyon Sürecini İnceleyen Benzer Çalışmalar .....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	21
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	21
3.3. Numune Alma ve Ön İşlem .....	21
3.4. Deney Planı.....	22
3.5. Amonyum Oksidasyon Tokisite Testi.....	22
3.6. Nitrit (NO <sub>2</sub> ) Analizi .....	24
3.7. Toprak Numunelerinin Fizikokimyasal Özelliklerinin Tespiti.....	25
3.7.1. Toprak numunelerinin nem, kuru madde (%) muhtevasının belirlenmesi ...	25
3.7.2. Toprak numunelerinin pH'sının belirlenmesi.....	26
3.7.3. Toprak numunelerinin elektriksel iletkenliğinin (EC) belirlenmesi .....	26
3.7.4. Toprak numunelerinin kil/silt/kum içeriğinin belirlenmesi .....	26
3.7.5. Toprak numunelerinin % organik madde (OM) içeriğinin belirlenmesi .....	27
3.7.6. Toprak numunelerinin toplam azot (T-N) içeriğinin belirlenmesi .....	28
3.7.7. Toprak numunelerinin ağır metal içeriğinin belirlenmesi .....	28
4.1. Nitrit (NO <sub>2</sub> ) Analizi Metot Teyidi .....	28
4.2. İnkübasyon Çözeltisi Optimizasyonu .....	30

4.3. Toprak numunelerinin fizikokimyasal özellikleri.....	30
4.4. Cd'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerindeki toksik etkisi ..... nd: inhibisyon tespit edilmemiştir.....	31 34
4.5. Ni'in topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisi .....	35
4.6. Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisi .....	37
4.7. Cd, Ni ve Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde sinerjik toksik etkisi .....	39
4.8. Matriks Etkisi.....	41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	44
6. KAYNAKLAR .....	47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

- ÇİZELGE 2.1.** EVSEL VE KENTSEL ARITMA ÇAMURLARININ TOPRAKTA KULLANILMASINA DAİR YÖNETMELİK EK1-A TOPRAKTAKİ AĞIR METAL SINIR DEĞERLERİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 2.2.** TOPRAKTA KULLANILABİLECEK STABİLİZE ARITMA ÇAMURUNDA MÜSAADE EDİLECEK MAKSİMUM AĞIR METAL MUHTEVALARI ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 2.3.** TOPRAK KİRLİLİĞİNİN KONTROLÜ VE NOKTASAL KAYNAKLI KİRLENMİŞ SAHALARA DAİR YÖNETMELİK EK-1 JENERİK KİRLLETİCİ SINIR DEĞERLER LİSTESİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 2.4.** DÜNYANIN ÇEŞİTLİ BÖLGELERİNDE YAPILAN ÇALIŞMALARDA TOPRAK ÖRNEKLERİNDE CD, Nİ VE PB KİRLİLİĞİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.1.** NO<sub>2</sub> METOD PERFORMANS PARAMETRELERİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.2.** DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN TOPRAK ÖRNEKLERİNİN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.3.** CD UN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDEKİ % İNHİBİSYON ETKİSİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.4.** Nİ İN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDEKİ % İNHİBİSYON ETKİSİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.5.** PB'UN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDEKİ % İNHİBİSYON ETKİSİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.6.** CD, Nİ VE PB UN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE % İNHİBİSYON ETKİSİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
- ÇİZELGE 4.7.** CD, Nİ VE PB UN SELÇUKLU VE MERAM TOPRAK ÖRNEKLERİNİN AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDEKİ % İNHİBİSYON ETKİSİ ..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Toprak Numunelerinin Analiz Öncesi 200 µm Elekten Elenmesi .....	22
Şekil 3.2. Toprak Numunelerinin İnkübasyonu ( 26 C, 120 Rpm) .....	24
Şekil 3.3. NO <sub>2</sub> Kalibrasyon Çözeltileri .....	25
<b>ŞEKİL 4.1.</b> NO <sub>2</sub> ANALİZİ ABSORBANS-KONSANTRASYON EĞRİSİ .....	29
<b>ŞEKİL 4.2.</b> İNKÜBASYON ÇÖZELTİLERİNE BAĞLI NO <sub>2</sub> OLUŞUMU (N=3).....	30
<b>ŞEKİL 4.3.</b> CD'UN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE TOKSİK ETKİSİ-1 .....	33
<b>ŞEKİL 4.4.</b> CD'UN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE TOKSİK ETKİSİ-2 .....	33
<b>ŞEKİL 4.5.</b> Nİ İN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE TOKSİK ETKİSİ.....	36
<b>ŞEKİL 4.6.</b> PB UN AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE TOKSİK ETKİSİ .....	38
<b>ŞEKİL 4.7.</b> CD, Nİ VE PB UN TOPRAKTAKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE SİNERJİK TOKSİK ETKİSİ .....	40
<b>ŞEKİL 4.8.</b> SELÇUKLU VE MERAM TOPRAK ÖRNEKLERİNİN NİTRİFİKASYON POTANSİYELLERİ.....	42
<b>ŞEKİL 4.9.</b> CD, Nİ VE PB'UN SELÇUKLU VE MERAM TOPRAK ÖRNEKLERİNDEKİ AMONYUM OKSİDASYON BAKTERİLERİ ÜZERİNDE SİNERJİK TOKSİK ETKİSİ .....	42

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

Al: Alüminyum  
Cd : Kadmiyum  
Co : Kobalt  
CO<sub>2</sub>: Karbondioksit  
Cu : Bakır  
Fe : Demir  
Mn: Mangan  
Mg: Magnezyum  
N<sub>2</sub>O:Di-Azot Monooksit  
NH<sub>4</sub>: Amonyum  
Ni: Nikel  
NO<sub>2</sub>: Nitrit  
NO<sub>3</sub>:Nitrat  
Pb: Kurşun  
Zn: Çinko

### Kısaltmalar

AOB: Amonyum Oksidasyon Bakteri  
EC50: Test Organizmalarının Yüzde 50 si İçin Öldürücü Konsantrasyon  
KDK: Katyon Değişim Kapasitesi  
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

## 1. GİRİŞ

Yirminci yüzyılın başlarından itibaren modern tarıma geçilmesi ve sanayileşmenin hızlanması ile birlikte, toprak kirliliği de bir çevre sorunu olarak ortaya çıkmıştır. Toprak; su ve hava gibi insan hayatının sürdürülmesi için gereklidir. Toprak kirliliği; toprağın yapısında meydana gelen fiziksel, kimyasal ya da biyolojik olarak toprağın tamamının ya da belirli kısmının kullanılmasını engelleyen tüm müdahaleleri kapsamaktadır.

Toprakta toksik etki oluşturabilecek çeşitli kirleticiler toprağı kullanım açısından elverişsiz hale getirebilir. Toksikite, bir maddenin organizmalar üzerinde doğrudan zararlı etkilerini tanımlamaktadır. Bu, bütün bir organizma ya da hücre gibi organizmanın bir altyapısı üzerindeki etkisi olabilir.

Toksik etki, toksik maddelerin konsantrasyonuna, organizmaların hassasiyetinin yanı sıra inkübasyon periyoduna bağlıdır. Toksikite düşük konsantrasyonlarda bile meydana gelebilir. Toksikite sıklıkla  $EC_{50}$  olarak hesaplanır. Etkili Konsantrasyon, test organizmalarının %50 zarar gördüğü konsantrasyonu belirtir. Birçok çevresel kirleticinin bazı sucul organizmalar üzerindeki toksik etkisi belirlenmiştir. Ancak kirleticilerin toprak organizmaları üzerindeki toksik etkisine ilişkin çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu nedenle sucul organizmalar ile ilgili datadan yola çıkılarak toprak ekosistemindeki ekotoksikolojik etkiye ilişkin tahminler yapılmaktadır (Aydın ve ark., 2022).

Topraktaki nitrifikasyon birçok faktöre bağlıdır. Bunlar azot kaynağının varlığı ve kimyasal formu,  $CO_2$  miktarı, organik karbonun varlığı, redoks şartları, pH, nem, toprak tekstürü ve tarımsal uygulamalardır (Sauve ve ark., 1999). Toprakta amonyum oksidasyonunda yer alan bakterileri inhibe edici herhangi bir toksik maddenin varlığında nitrifikasyon sürecini etkilemektedir.

### 1.1. Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı; ağır metallerin fizikokimyasal özellikleri belirlenen toprak örneklerinde amonyum oksidasyon bakterileri (AOB) üzerindeki toksik etkisini araştırmaktır. Araştırmada ağır metallere Kadmiyumun (Cd) bakteriler üzerindeki etkisi, Cd ile birlikte Kurşun (Pb) ve Nikel (Ni) varlığının bakteriler üzerindeki sinerjik etkisi araştırılmıştır. Toprak pH'sının AOB üzerindeki etkisi de değerlendirilmiştir. Böylece amonyağın ( $\text{NH}_4$ ) toprakta bitki için yararlı forma dönüşmesini sağlayan bakterilerin ağır metallere nasıl etkilendiğini tespit etmek amaçlanmıştır.

### 1.2. Tezin Önemi

Çevresel kirlenmelerden önemli bir grubu oluşturan ağır metallerin topraktaki azot döngüsüne etkisini tespit etmek önem arz etmektedir. AOB tarımsal verimlilik için kullanılan azotlu gübrelerin toprakta yararlı hale gelmesini sağlamaktadır. AOB'nin çevresel kirlenmeler tarafından inhibe olması sonucunda,  $\text{NH}_4$  ve organik azot nitrifiye olamamakta; nitrit ( $\text{NO}_2$ ) ve nitrat ( $\text{NO}_3$ ) dönüşmemektedir. Azot döngüsünün tamamlanamaması toprağın tarımsal verimliliğini düşürmektedir. Gerek gübre katkısı olarak kullanılan Cd'un, gerekse diğer çevresel kirlilik kaynaklarından toprağa ulaşan Pb, Ni vb. metallerin AOB'ni olumsuz etkileyerek toprak verimliliğini düşüreceği öngörülmektedir. Bu nedenle ağır metallerin toprakta azot döngüsünü sağlayan AOB üzerindeki toksik etkisinin belirlenmesi bu tezin önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca birçok kirlenmenin toksik etkisi sucul ve karasal organizmalar kullanılarak belirlenmekte olup çevresel kirlenmelerin toprak organizmaları üzerindeki toksik etkisine ilişkin çalışmalar çok sınırlıdır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Toprak Kirliliği

Toprak, organik madde ve kayaların ayrışması sonucu yüzyıllar süren bir zaman süresi içinde oluşmaktadır. Her geçen gün artan toprak kirliliği, tarımsal verimliliği düşürmekte ve tarımın sürdürülebilirliğini tehdit etmektedir (Kızıloğlu Algan ve Bilen, 2005).

Toprak kirliliğine neden olan başlıca faktörler; tarımsal üretimin miktar ve kalitesini arttırmak amacıyla gübreler, pestisitler, fungusitler, toprak düzenleyiciler ve hormonların kullanılması; katı ve sıvı atıkların deşarjı; yeterli ölçüde arıtılmamış atıksuların tarımsal sulamada kullanılması, arıtma çamurlarının toprağa uygulanması, yenilenemeyen enerji üretim alanlarından (termik ve nükleer santraller), sanayi alanlarından (kağıt, deri, çimento, tekstil, vb.) proses sonucu oluşan atıkların bertarafı ve depolanması aşamasında vahşi depolama alanı olarak toprağın seçilmesidir (Shomar, ve ark., 2013). Bunların yanı sıra toprağın yapısı bilinmeden yapılan her türlü çalışma toprak kirliliğine yol açmakla beraber ürün verimini ve ürün kalitesini düşürmektedir.

Artan ağır metal seviyeleri, çevre ve insanlar için önemli bir stres faktörüdür. Ağır metaller suya karışabilir, bitkiler tarafından alınabilir ve atmosfere gaz olarak salınabilir ya da toprak bileşenlerince adsorbe edilebilir (Giller ve ark., 2009). Bitkisel ve hayvansal üretimle besin zincirine dahil olan bu ağır metaller ise insan sağlığını olumsuz etkiler. Topraklarda aşırı ağır metal birikimi, toprak ekosisteminin bozulmasına neden olabilir, insan sağlığını tehdit edebilir ve birçok başka çevresel problemler yaratabilir. Bu nedenle, ağır metallerin toprakları kirlilemesi, çevre yönetiminde artan bir endişe kaynağıdır (Beduk ve ark., 2022).

Ağır metaller volkanik faaliyetler, kayaların doğal ayrışması, plansız şehirleşme, artan nüfus yoğunluğu, madencilik ve endüstriyel faaliyetler gibi etmenler nedeniyle çok değişik kaynaklardan sürekli olarak biyosfere yayılmakta, toprak ve suyun kalitesini önemli ölçüde bozmaktadır. Türkiye de dahil olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde toprak kirliliği sorunu başlıca olarak Cd, Zn, Cu ve Pb metalleri ile ilgilidir (Aydın ve ark., 2015). Amerika'da Toksik Madde ve Hastalık Kayıt Ajansı (ATSDR) tarafından 2019 yılında güncellenen 275 öncelikli tehlikeli kirlleticiler arasında Cd, Zn, Cu ve Pb sırasıyla 7., 75. ve 120. ve Pb 122. sıralarda yer almıştır (ATSDR, 2019).

Ağır metallere Cu, Zn, Fe vb. bitki gelişimi için çok az miktarda ihtiyaç duyulan ve mikro besin elementler olarak adlandırılan metallere. Ancak bu metallere

yüksek konsantrasyonlarda canlılar üzerinde toksik etki yaparlar. Diğer ağır metaller ise çok düşük konsantrasyonlarda bile toksik etki yapan Co, Pb, Cd gibi metallerdir. Ağır metaller arasında yer alan Zn, bitkiler için mutlak gerekli mikro besin elementidir (Beduk ve ark., 2022). Bitkiler genellikle geçici ya da uzun süreli stres yaratabilecek toksik metallere maruz kalmaktadırlar. Stres durumu genellikle bitki boyu, çimlenme sayısı, kök ve gövde uzunluğu, biyokütle miktarı gibi büyüme potansiyelindeki azalma ile kendini göstermektedir (Pahlsson, 1989). Tohum çimlenme sayısını, kök-gövde uzamasını ve bitki biyokütlesini olumsuz etkilediğinden, bitkiler için toksik (Cd, Pb gibi) ya da mutlak gerekli metallerin (Zn gibi) fazlası fitotoksik etki olarak gözlenir.

Ülkemiz topraklarında organik madde içeriği genel olarak düşüktür. Ahır gübresi başta olmak üzere, farklı kökenli organik materyaller toprağa uygulanarak, toprak özellikleri iyileştirilmeye ve organik madde içerikleri artırılmaya çalışılmaktadır. Ahır gübresinin yeterince bulunamayışı, organik madde kaynağı ve toprak düzenleyici olarak organik maddece zengin diğer kaynakların kullanılması üzerine çalışmaların yapılmasına neden olmuştur. Genellikle toprağın organik madde içeriğini artırmak ve buna bağlı olarak ürün yetiştirilen alanlarda toprağın fiziksel özelliklerini iyileştirmek için ürün artıkları, ahır gübresi, torf, orman altında biriken yapraklar ve kompost haline getirilen organik atıklar toprağa karıştırılır. Ancak yanlış gübreleme, gübre için seçilen maddelerin seçiminden kaynaklı yanlışlıklar uzun vadede toprak için verimi düşürmektedir. Bunun yanı sıra toprakta verimi artırmak için arıtma çamuru kullanımı ve atıksu ile sulama gibi işlemler günümüzde kullanılan yöntemlerdendir. Bu yöntemler bilinçsiz uygulandığında toprakta ağır metal birikimine sebep olmaktadır (Stratton ve ark., 1995).

Ülkemizde toprak kirliliğinin yönetimi ve kirlenmiş toprakların temizlenmesi Toprak Kirliliği Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik (2010) kapsamında ele alınmaktadır. Bu yönetmeliğe göre BTEX, Asbest, TOX, TPH, yağ-gres, TVOCs ve ağır metaller topraklardaki kirlilik göstergesi parametreleri arasında yer almaktadır.

Arıtma çamurları çoğunlukla yoğunlaştırma ve susuzlaştırma işlemlerinden sonra belediyelerin belirledikleri alanlarda depolanmakta ya da boş arazilere yasal olmayan şekilde dökülmektedir. Giderim yöntemlerinden birisi de tarım alanlarında kullanımdır. Avrupa ülkelerinde arıtma çamurunun tarımda kullanım oranı oldukça yüksektir. Arıtma çamurunun yüksek organik madde, N, P, K, Fe, Cu, Mn, Zn gibi makro ve mikro bitki besin maddelerini içermesi tarımda kullanımını sağlamaktadır.

Tarımda kullanılacak arıtma çamurlarının potansiyel toksik element içeriğinin ve hastalık yapıcı etmenlerin yönetmeliklerde belirtilen sınır değerlerin altında olması gerekir. Eysel ve Kentsel Arıtma Çamurlarının Toprakta Kullanılmasına Dair Yönetmelikte (2010) arıtma çamurlarının tarımda kullanılması ile ilgili sınır değerler verilmiştir. Eysel ve Kentsel Arıtma Çamurlarının Toprakta Kullanılmasına Dair Yönetmelikte EK1-A, EK 1-B ve EK 1-E’de uygulanacak çamurdaki müsaade edilecek maksimum ağır metal konsantrasyonları verilmiştir. Çizelge 2.1’de EK1-A değerleri verilmiştir. Cd için sınır değer 1 mg/kg ( $6 \leq \text{pH} < 7$ ) veya 1.5 mg/kg’dır ( $\text{pH} \geq 7$ ). Toprakta Kullanılabilecek Stabilize Arıtma Çamurunda Müsaade Edilecek Maksimum Ağır Metal Muhtevaları Çizelge 2. 1.’de verilmiştir. Cd için sınır değer 10 mg/kg’dır. Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik Ek-1 Jenerik Kirletici Sınır Değerler Listesi Çizelge 2. 2.’de verilmiştir. Toprağın Yutulması ve Deri Teması Yoluyla Emilimi için Cd sınır değeri 70 mg/kg.dm’dir.

**Çizelge 2.3.** Eysel ve Kentsel Arıtma Çamurlarının Toprakta Kullanılmasına Dair Yönetmelik Ek1 -A Topraktaki Ağır Metal Sınır Değerleri

Ağır Metal (Toplam)	$6 \leq \text{pH} < 7$	$\text{pH} \geq 7$
	mg. kg <sup>-1</sup> Fırın Kuru Toprak	mg. kg <sup>-1</sup> Fırın Kuru Toprak
Kurşun	70	100
Kadmiyum	1	1,5
Krom	60	100
Bakır	50	100
Nikel	50	70
Çinko	150	200
Civa	0,5	1

**Çizelge 2.4.** Toprakta Kullanılabilecek Stabilize Arıtma Çamurunda Müsaade Edilecek Maksimum Ağır Metal Muhtevaları

Ağır Metal (Toplam)	Sınır Değerler (mg kg <sup>-1</sup> kuru madde)
Kurşun	750
Kadmiyum	10
Krom	1000
Bakır	1000
Nikel	300
Çinko	2500
Civa	100

**Çizelge 2.5.** Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik Ek-1 Jenerik Kirletici Sınır Değerler Listesi

<b>Ağır Metal (Toplam)</b>	<b>Toprağın Yutulması ve Deri Teması Yoluyla Emilimi (mg/kg) Kuru toprak</b>	<b>Uçucu Maddelerin dış Ortamda Solunması (mg/kg) fırın kuru toprak</b>	<b>Kaçak Tozların Dış Ortamda Solunması (mg/kg) fırın kuru toprak</b>
Kurşun	400 n	-	-
Kadmiyum	70	-	1124
Krom	235	-	24
Bakır	3129	-	-
Nikel	1564	-	-
Çinko	23464 bc	-	-
Civa	23 bc	3 d	-

b : Bu değer in hesaplanmasında tehlike endeksi "1" olarak kabul edilmiştir.

c : Bu kirletici için deri emilim faktörü bulunmadığından sadece toprağın yutulması maruziyet yolu dikkate alınmıştır.

n: Bu değer ABD EPA, 1994'den alınmıştır (ABD EPA, 1994. Revised Interim Soil Lead Guidance for CERCLA Sites and RCRA Corrective Action Facilities, EPA/540/F-94/043, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C. Directive 9355.4-12.).

d : Toprak doygunluk konsantrasyonu ( $C_{sat}$ ).

### 2.1.1. Toprakta Cd Kirliliği

Cd fosfatlı gübrelerden, çimento fabrikalarından, ısıtma sistemlerinden ve metal işleme endüstrilerinden çevreye deşarj edilen ve topraklarda yaygın olarak görülen güçlü bir çevresel kirleticidir (Jibril ve ark., 2017). Cd, esansiyel olmayan en toksik ağır metaller arasındadır (Zhang vd., 2019). Canlı organizmalar üzerinde teratojenik ve mutajenik etkileri vardır. Cd, toprak bakteri aktivitesini inhibe eder ve bitki büyümesi üzerinde stres yaratır (Geng ve Wang, 2019). Cd kirliliği toprak kalitesini bozar ve gıda güvenliğini ve insan sağlığını tehdit eder. Cd kirliliği esas olarak endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanırken, fosforlu gübreler, arıtma çamuru uygulamaları ve atıksu sulama tarım topraklarını Cd ile kirletmektedir (Gray ve Cavanagh, 2022;). Toprakta 15 – 1100 yıl olarak tahmin edilen uzun bir yarılanma ömrü dolayısıyla birikim göstermektedir (Vig ve ark., 2003) Toprak ve bitkideki biyobirikimi toprak tipi ve bitki türüne bağlıdır (Song ve ark., 2017; Haider ve ark., 2021).

Çiftçiler, temiz su kaynaklarının eksikliği nedeniyle arıtılmış veya arıtılmamış atıksuları tarımsal sulama amacıyla yaygın olarak kullanmaktadır. Toprak verimliliğini artırmak için atıksudaki nütrientlerden faydalanmak istenirken, atıksudaki ağır metaller ve diğer birçok çevresel kirletici ile toprak kirlenmektedir (Bahadır ve ark., 2016; Kim ve ark., 2015). Arıtılmamış kentsel atıksular ile tarım alanlarının uzun süreli sulanmasının etkisini belirlemek için yapılan araştırmada Konya'da örnekleme sahasında atıksu ile sulanan topraklarda önemli derecede Cd (8,23-11,6 mg/kg) kirliliği tespit edilmiştir (Aydın ve ark., 2015). Toprak Cd kontaminasyonu, Arıtma Çamurlarının Tarım Topraklarına Uygulanmasına İlişkin Yönetmelikte İzin Verilen

Maksimum İz Element Konsantrasyonu olan 1 mg/kg.km ( $6 \leq \text{pH} < 7$ ) veya 1.5 mg/kg.km  $\text{pH} \geq 7$  (2010) değerlerinin oldukça üzerindedir. Toprakta Cd kirliliğini bildiren birçok çalışma bulunmaktadır. Çin'in madencilik alanlarındaki Cd kirliliğine ilişkin çalışmalar yayınlanmıştır. Ma ve ark. (2020) Çin'deki bir maden bölgesi olan Xikuangshan'da (XKS) 2.66 mg/kg Cd belirlerken, Shi ve ark. (2022), madencilik faaliyetleri sonucunda etkilenen 384 örnekleme sahasında 9.45 mg/kg ortalama Cd konsantrasyonu belirlemiştir.

Toprağın arıtma çamuru ile muamelesi, arıtma çamurunun organik madde ve besin içeriğinden yararlanmak için giderek daha yaygın hale gelen bir uygulamadır. Ancak, arıtma çamuru aynı zamanda ağır metaller ve diğer birçok toksik bileşik içermektedir. Cd genellikle kaçınılmaz bir arıtma çamuru içeriğidir. Baize (2009), Fransa'da Cd içeren arıtma çamurunun uzun süreli toprağa uygulanmasının, 1970'lerde 160 mg/kg.km ortalama Cd konsantrasyonuna yol açtığını, 2000'li yıllarda ise düzenlemelerden sonra 5.8 mg/kg.km'ye düştüğünü bildirmiştir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalarda toprak örneklerinde Cd, Ni ve Pb kirliliği Çizelge 2.4'te verilmiştir.

**Çizelge 2.6.** Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalarda toprak örneklerinde Cd, Ni ve Pb kirliliği

Araştırma Yapılan Bölge	Cd (mg/kg.km)	Ni (mg/kg.km)	Pb (mg/kg.km)	Referans
Changlongjie;	2.66	n.a	49.79	Ma ve ark., 2020
Lianmeng; Qixing.				
Japonya				
Çin	9.45	n.a	-	Shi ve ark., 2022
Quzanhou, Çin	0.43	28.51	33.99	Liu ve ark., 2020
Osmaniye, Türkiye	1	30	50	Şimşek ve ark., 2021
Mengfeng, Çin	1.56	n.a	44.9	Liang ve ark., 2011
Wroclaw, Polonya	n.a	n.a	34	Kabala ve ark., 2011
Zimbabve, Harare,	3.40	19	41	Mapanda ve ark., 2005
Pension				
Konya, Türkiye	11.6	134	5.32	Aydın ve ark., 2015
Gaziantep, Türkiye	1	200	46	Avcı ve Deveci, 2013

n.a.: analiz edilmemiştir

### 2.1.2. Toprakta Ni ve Pb Kirliliği

Ni, volkanik kayaların yapısında serbest metal ya da Fe ile birlikte kompleks oluşturmuş şekilde yaygın olarak bulunmaktadır. Fosil yakıtların kullanılması, motorlu araçlardan kaynaklanan emisyonlar, ev atıklarının doğaya bırakılması, kentsel ve endüstriyel atıkların kontaminasyonu, madencilik faaliyetleri, tarımsal alanların gübrenmesi gibi faaliyetler topraktaki Ni oranını artırmaktadır. Ni bir çok oksidasyon aralığında bulunabilmektedir. Ni<sup>+2</sup> formu geniş bir pH aralığında ve redoks koşullarında stabildir. Doğadaki Ni kontaminasyonu kaynakları olarak; nükleer santraller ve çöp yakma tesisleri sayılabilir. Bu faaliyetler sonucu Ni atmosfere karışmaktadır. Atmosfere karışan Ni yağışlarla toprağa buradan infiltrasyonla yer altı sularına karışmaktadır (Galloway ve ark., 1982). Bishnoi ve ark., (1993) kum kültüründe *Triticum aestivum* bitkilerine 10 Mm'lık Ni uygulamışlardır. Bu uygulamanın sonucu olarak yaprakların su potansiyelinin, stoma iletkenliğinin, transpirasyon hızının ve toplam su miktarının azaldığı gözlenmiştir. Ni'in bitkilerde antioksidant sistemi indüklediği belirlenmiştir (Doğru ve ark., 2021).

Pb, kurşunlu benzin kullanan otomobil egzozları, Pb içeren boyalar, izabe tesislerinin emisyonları vb. gibi atmosferik kaynaklardan çevreye salınır. Bu element hava, su ve yiyeceklerde bulunur. Pb emisyonları, benzinlerden Pb'nun uzaklaştırılmasının bir sonucu olarak son yıllarda azalmıştır. Pb lehim, su dağıtım şebekelerinde su kirliliği kaynağı olmuştur. Bir insan Pb'a maruz kaldığında, esas olarak kemikte depolanır ve böbrek, merkezi sinir sistemi ve karaciğeri etkiler. Fetus üzerinde zararlı biyolojik etkileri olan plasenta yoluyla bir aktarımı vardır (Gidlow 2004). Fas'ın Marakeş kentinde atıksu ile sulama yaygın bir uygulamadır. Atıksu sulama bölgede toprakta ve mahsulde Pb kontaminasyonu riski olduğu tespit edilmiştir. Chaoua ve ark. (2019), deşarj noktasındaki atıksu numuneleri için  $1.417 \pm 0.318$  mg/L Pb, atıksu ile sulanan toprak numuneleri için  $57.36 \pm 10.85$  mg/kg Pb ve bölgede yetiştirilen *Avena sativa* yaprakları için  $52.885 \pm 22.22$  mg/kg Pb bildirmiştir. Tarladan alınan tarımsal örneklerin tamamı, WHO/FAO (2007) tarafından bitkiler için belirlenen 5 mg/kg sınır değerini aşmış ve bu da bu gıda ürününü tüketen kişiler için risk oluşturmaktadır.

## 2.2. Toprağın Fizikokimyasal Özellikleri

Toprak pH'ı toprağın asitlik-bazlık değerini gösterir.  $pH < 7$  olan topraklar asidik olarak,  $pH > 7$  olan topraklar bazik olarak sınıflandırılır. Topraktaki asitlik oranı  $Al^{+2}$  ve  $H^+$  iyonlarından kaynaklanır. Çok asit olan topraklarda  $Fe^{+3}$ ,  $Mn^{+2}$  bulunabilmektedir. Alkalilik;  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  iyonlarından kaynaklanır (<https://acikders.ankara.edu.tr>)

Toprakta asitlik artarken öncelikle topraktaki yer değiştirebilir bazlar hidrojen ile yer değiştirir. Yer değiştiren bazlar bitkiler tarafından alınırlar, ya da çözünebilir tuzlar şeklinde sulama suları ve yağmur suları ile yıkanarak uzaklaşırlar. Bu durumun neticesinde toprağın asitliği yükselir. Fe, Al ve Mn çözünlüğü artar. Organik maddeler ayrıştırılmadan uzun süre toprakta kalır. Toprak asitliğini azaltmak için kireç; toprak asitliğini artırmak için  $FeSO_4$ , kükürt tozları, elementel kükürt, sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ), amonyum sülfat ( $(NH_4)_2SO_4$ ) kullanılmaktadır.

Toprakta kil ve organik madde içeren katı fazın anyon ve katyonları adsorbe edip bunların yerine toprak çözeltisine ekivalan miktarda başka iyonlar vermesine iyon değişimi denir. Katyon değişim kapasitesi (KDK) toprak yüzeyindeki besi elementlerini tutabilme yeteneğidir. KDK'nın fazla olması toprağın verimli olduğu anlamına gelmektedir. KDK absorbe edilen katyonun bağlanma gücünden etkilenir. Hidrate çapı arttıkça tutunma zayıflar. Toprak pH'ı arttıkça kil mineralleri üzerinde bulunan SiOH gruplarından  $H^+$  ayrılır ve negatif yüklü iyonlar uygun katyon ile birleşir, kil miktarı arttıkça KDK artar (<https://obs.ahievran.edu.tr>).

Toprak içerisinde büyüklükleri bakımından belirli sınırlar arasına düşen gruplar arasından benzerlik gösterir. Bu kısımların kil, silt, kum şeklinde ayrılmasına fraksiyon denir. Çap sınırları 2,0-0,05 mm kum; 0,05-0,002 mm kil; 0,002 den küçük olan tanecikler kil sınıfındadır. Hafif toprak; kum miktarı fazla olan su tutma kapasitesi düşük olan topraklardır. Tınlı toprak; tüm fraksiyonların eşit oranda barındıran toprak türüdür.

Kirleticilerin topraktaki davranış ve etkileşimi toprak ortamındaki bütün fazlarda (katı, sıvı, gaz) meydana gelen çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçleri kapsar. Bunlar genellikle üç ana grupta toplanırlar; Toprak içerisinde ve üzerinde tutunma; infiltrasyon, difüzyon ve toprak solusyonlarıyla taşınma; toprak içerisinde kimyasal değişimlerin (transformasyon) gerçekleşmesidir.

Aydın ve ark. (2015), Konya ili için yaptıkları çalışmada, toprağın fizikokimyasal özelliklerinden olan KDK'yi 54,38-126,39 meq/100g olarak tespit edilmiştir. Bulunan bu değer 100 g toprağın 10 mg  $H^+$  eşdeğer katyon tutma kapasitesini

göstermektedir. Kil tipi, kil miktarı, organik madde miktarı ve pH toprağın KDK etkileyen faktörlerdir. Yapılan çalışmada topraktaki kil yüzdesi arttıkça KDK değerinde artış olduğu belirlenmiştir. KDK değerindeki artış toprağın tamponlama özelliğini de artırmaktadır. Toprakta tamponluk; pH da görülen değişime karşı gösterilen direnç olarak tanımlanmaktadır. KDK artıkça toprağın tamponlama kapasitesi artar.

Karbonat, organik formlar, kum, silt ve kil fraksiyonları gibi toprağın jeokimyasal özellikleri toprakta ağır metal birikimini etkilerken, atıksu ile sulama alkalilik, tuzluluk vb. toprak kimyasal özelliklerini de etkilemektedir. Atıksu toprakta tuzluluk artışına neden olur. Ağır metallerin hareketliliği ve tutulması kum, silt ve kil fraksiyonlarından güçlü bir şekilde etkilenir; toprağın yüksek kil yapısı kirleticilerin sızmasını engeller ve üst tabakada birikime neden olur. Sadece kirleticilerin konsantrasyonu değil, aynı zamanda içinde ağır metallerin bulunduğu çözünür, değişebilir, karbonatlı, kolay indirgenebilir, orta derecede indirgenebilir, oksitlenebilir gibi toprak fraksiyonu da bu elementlerin topraktaki hareketliliğini ve kullanılabilirliğini büyük ölçüde etkiler Toprağın türü, bitki özellikleri, iklim ve atıksu özellikleri ağır metallerin alımını etkiler, bu nedenle yerel koşullar her durumda risk potansiyelini değiştirir.

Besin elementleri kil yüzeylerinde ve tabakalar arasında tutunmaktadır.  $NH_4$  ve K elementleri tutunum konusunda önemli bir yere sahiptir.  $NH_4$  bitki köklerinde adsorbe edilerek, bitki elementlerden yüksek oranda fayda sağlamaktadır. Genellikle  $NH_4$  ve K; 2:1 tipi kil minerallerinden mika formunda daha fazla tutulmaktadır. Smektit kil mineralleri  $NH_4$ 'u genellikle tabakalarda değişebilir  $NH_4$  formunda tutarlar (Sucha ve Sirahova, 1991).

Eroğlu ve Usat (2003), toprak çözeltisindeki çeşitli elementlerin, kil mineralleri tarafından kil tabakaları arasında hapsedilerek, bitkilere az yararlı ya da yararlı hale dönüşmesini incelemiştir. Bu iki elementin toprakta fikse olma yeteneklerinin yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kireçli topraklarda ve organik madde miktarının az ve toprak neminin düşük olduğu bölgelerde genellikle Zn bakımından noksanlıklar görülmektedir (Marschner, 1995).

Cancela ve ark. (2005), nötr topraklarda yapmış oldukları çalışmada toplam ve ekstrakte edilebilir Ni ve Cd'ü incelemiştir. Toplam ve ekstrakte edilebilir Ni ve Cd ile genel toprak özellikleri arasındaki korelasyon analizine göre Cd ile toprakların organik madde içeriği ve KDK arasında ilişki vardır. Yapılan analiz sonuçlarına toplam Cd ve Ni ile kil içeriği arasında önemli bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu ilişkinin

kil fraksiyonunun değişebilir geçiş metali katyonlarını bulundurmasından ve izomorfik yer değiştirme oluşturmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

### 2.3. Toprağın Mikrobiyolojik Özellikleri

Toprak; algler, bakteriler mantarlar ve diğer mikroorganizmalar için yaşam alanıdır. Algler ve siyanobakterler gibi baskın gruplar toprak verimliliği ve toprak sağlığı konusunda önemlidirler. Algler birincil üreticilerdir ve topraktaki mikrobiyal biyokütlenin %4-27'sini oluştururlar. Toprak verimliliğini artırmak ve oksijen üretiminde görev alırlar. Topraktaki diğer mikroorganizmaların gelişimi için algler mineralizasyon sonucu besinleri açığa çıkarır. Toprakta yaşayan bakterilerden siyanobakter ortamda diğer mikroorganizmalara göre daha baskındır. Atmosferde bulunan azotun fiksasyonu ile tarım topraklarında azot bağlama konusunda etkilidirler. Mikroalgler, siyanobakterler ve prokaryotlar hücrenel olarak yüksek yapılı bitkilere benzemektedir. Toprak mikroorganizmalarından bakteriler ve mantarlar en yaygın çalışılan gruplardır. Toprakta mantarlar sayısal olarak bakterilerden çok daha az olmalarına rağmen bakteri ağırlığının iki katı olabilirler. Toprak mantarları, serbest yaşarlar ya da bitki köklerinde ortaya çıkabilirler (Vig ve ark., 2003).

### 2.4. Toprakta Azot Döngüsü

Azot bitkilerin gelişimi için önemli bir makro elementtir. Azot atmosferde yaklaşık %80 oranında gaz formunda, toprakta ise organik madde, kayalar ve minerallerde yayayışsız formlarda bulunmaktadır. Bu kaynaklardaki azottan canlıların yararlanabilmeleri için azot döngüsünde yer alan biyolojik azot fiksasyonu, immobilizasyon, amonifikasyon, nitrifikasyon ile nitratın asimilasyonu, disimilasyon ve denitrifikasyon gibi redüksiyon olaylarının gerçekleşmesi gerekmektedir (Kızıloğlu, 1999). Havadaki azot gazı, topraktaki azot bağlayıcı bakteriler tarafından  $NO_3$ 'a dönüştürülür. Ayrıca yıldırım, şimşek gibi doğa olayları da azot bağlanmasında etkilidir.

Bitkiler gerekli büyüme ve gelişmeyi sağlamak için  $NO_3$ 'ı kullanırlar. Hayvanlar beslenmek için bu bitkileri tüketirler. Bakteri ve mantarlar, ölü bitki ve hayvan artıklarını toprağa  $NH_4$  bileşiklerini yayarak ürütürler. Bir grup bakteri  $NH_4$  bileşiklerini daha sonra bitkilerde kullanmak için  $NO_3$ 'e dönüşen  $NO_2$ 'ye dönüştürürler.  $NO_3$  dönüştüren bakteriler azot bileşiklerinin yeniden azot gazına dönüşmesini sağlarlar.

Topraklarda azot, üç grup altında incelenebilir. Bunlar;

### **1. Elementer – Moleküler Azot (N<sub>2</sub>):**

Topraktaki elementer azot, bir soy gaz olup, yalnızca Rhizobia bakterilerince ve diğer azot fikse eden organizmalarca kullanır. Toprak havasında gaz halinde ve toprak suyunda ise çözülmüş olarak bulunur (Aydın ve Kılıç, 2010).

### **2. İnorganik Azot Bileşikleri:**

Toprak azotunun inorganik formları içinde amonyak (NH<sub>3</sub>), nitros oksit (N<sub>2</sub>O), nitrik oksit (NO), elementer azot (N<sub>2</sub>), amonyum (NH<sub>4</sub>), nitrit (NO<sub>2</sub>), nitrat (NO<sub>3</sub>) bulunur. İlk dört bileşik toprakta gaz halinde bulunur, diğer üçü ise toprak çözeltisinde iyonik formda bulunur. Toprak verimliliği açısından azotun NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> formları önemlidir. N<sub>2</sub>O ve NO olumsuz etki yönüyle önemlidir. Çünkü bu formlarda bulunan azot, denitrifikasyonla bitkinin kullanamayacağı bileşiğe dönüşmüş olur. Azotun NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, ve NO<sub>3</sub> formları toprak organik maddesinin normal aerobik koşullarda parçalanması ve toprağa çeşitli kimyasal gübrelerin ilavesi sonucu ortamda bulunur. Azotun bu üç formu çoğunlukla toprakta toplam azotun %2-5 kadarını oluşturur (Aydın ve Kılıç, 2010).

### **3. Organik Azot Bileşikleri:**

Toprakta bulunan organik azot bileşikleri çoğunlukla protein özelliğindedir. Mikrobiyolojik parçalanma sonucu organik azot bileşikleri inorganik azot bileşiklerine veya elementer azota dönüşür. Toprakta bitkiler tarafından yararlanılabilir haldeki azotun asıl kaynağı toprak organik maddesi veya humustur. Bu maddeler veya toprağa verilen azot içerikli organik bileşikler uygun koşullar altında mikroorganizmalar tarafından parçalanır. Toprakta azotun organik formları, serbest veya konsolide olmuş aminoasitler ya da proteinler, amino şekerler ve diğer kompleksler olarak bulunmaktadır. Bağlı amino asitleri: %20-40, heksosaminler gibi amino şekerler: %5-10, Purin ve primidin ürünleri <%1 oranlarındadır. Bu fraksiyonların dışında kalan toplam organik azotun %50'sinin kimyasal özelliği hakkında bilinenler çok az şey vardır (Aydın ve Kılıç, 2010).

Atmosferde bulunan azot ile karşılaştırıldığında, toprakta bulunan azot miktarı çok azdır. Çoğu mineral toprakların toplam azot içerikleri %0.02 ile %0.5 arasında değişmekte olup, ortalama miktar %0.15 kadardır. Toprak azotunun büyük bir bölümü organik formdadır. Normal koşullar altında her yıl organik azotun %2-3 kadarı ancak

mineralize olur. Yüzey toprağında bulunan azotun %8 ve alt toprakta bulunan azotun ise %40 kadarı  $NH_4$  formunda kil mineralleri tarafından fikse edilmiş durumda olup, bu formdan bitkilerin yararlanmaları yavaş ve güçtür. Bitkiler tarafından topraktan kolay yararlanılabilen azotun miktarı toplam azotun nadiren %1-2'sinin üzerindedir. Tarımsal üretimin yoğun olduğu ve fazla miktarda kimyasal gübrelerin kullanıldığı topraklarda azot miktarı artmaktadır (Karnez, 2010).

Azotun topraktaki kimyasal davranışı ve topraktaki azot formları arasındaki ilişkiler şu temel süreçlerle açıklanabilir:

### 1. Aminizasyon

Aminizasyon, organik bileşiklerin yapısında bulunan azotun aminlere dönüşmesidir. Organik maddenin yapısında bulunan organik bağlı azot, organik maddenin mikrobiyal parçalanması sırasında ortaya çıkan bir çok kimyasal tepkime sonucunda özellikle proteinlerin hidrolitik parçalanması ile amin, karbondioksit ve diğer parçalanma ürünlerine dönüşmektedir. Bu sırada ortaya bir miktar enerji de çıkmaktadır. Bu değişimi toprakta yaşayan heterotrofik mikroorganizmalar katalizlemekte, kimyasal değişimin bu safhasına aminizasyon denilmektedir (Bayraklı, 1995).

### 2. Amonifikasyon

Amino asitlerin ve aminlerin yapısındaki azotun  $NH_3$  azotuna dönüşmesidir. Amonifikasyon, organik bağlı azotun amonyağa dönüştürüldüğü bir safhadır. Birçok bitki, hayvan ve mikroorganizma bu süreci yürütme yeteneğindedir. Organizma atıkları toprak ve sudaki heterotrofik bakteri ve funguslar tarafından amino asitlere ve daha sonra amonyağa kadar ayrıştırılır. Bu aşamada iş gören organizmalar bu sayede enerji sağlarlar.

Birçok heterotrof toprak bakterileri ve diğer bazı organizmalar üreyi,  $NH_3$  veya  $NH_4$  iyonunu açığa çıkararak ayrıştırırlar. Amonifikasyon, proteinli maddelerin ve azotlu bileşiklerin mikroorganizmalar tarafınca parçalanarak  $NH_3$  oluşması olayıdır. Bu işi yapan bakterilere de genel bir isim olarak amonifikasyon bakterileri adı verilir. Bağlı azotun nitrata dönüşümü yolunda ilk basamaktır ve önemi büyüktür (Çengel, 2004).

Çevre koşullarının etkisiyle hassas nitrifikasyon bakterileri topraklarda bulunmayabilir. Böyle durumlarda  $NO_2$  ve  $NO_3$  dönüşümleri olmadığından topraklarda  $NH_3$  birikmesi söz konusu olabilir. Çünkü amonifikasyon bakterileri, nitrifikasyon bakterilerine oranla daha toleranslı bir grubu oluştururlar. Amonyaklaşmayı sağlayan

organizmalar aerob ve anaerob olabilirler. Parçalanma anaerob şartlarda meydana gelirse fenol ve aminler ortamda oluşur ve bunlar mikroorganizmalar için zehirlidir. Anaerob şartların ve parçalanmanın uzun sürmesi bitkiler için de zararlıdır. Bir yerde toprakta anaerob bir parçalanmanın olduğu, ortaya çıkan  $H_2S$  kokusundan kolayca anlaşılır. Aerob şartlarda ise asit ve  $NH_3$  kokusu karakteristiktir (Çengel, 2004). Toprakta ortaya çıkan  $NH_3$  şu değişikliklere uğrayabilir; nitrifikasyonla nitrit ve nitrate dönüşebilir, bitkilerce doğrudan alınabilir, heterotrofik mikroorganizmalarca besin kaynağı olarak kullanılabilir, bazı kil mineralleri tarafından fikse edilebilir (Bayraklı, 1995).

### 3. Nitrifikasyon

$NH_3$  veya  $NH_4$  azotunun  $NO_2$  ve  $NO_3$  azotuna dönüşmesidir. Bitki büyümesi için elverişli koşullarda  $NH_4$  azotu iki grup bakteri tarafından nitrat azotuna dönüştürülür. Önce *nitrosomonas* ve *nitrosococcus* bakterileri havadan aldıkları oksijen ile  $NH_4$  azotunu  $NO_2$  azotuna dönüştürür. Daha sonra *nitrobacter* bakterileri yine havanın oksijeni ile  $NO_2$  azotunu  $NO_3$  azotuna dönüştürür. Bitkilerin kullanabildiği azot kaynakları toprakta farklı mikroorganizma gruplarının işlediği mineralizasyon ile oluşur ve ekosistem verimliliğinin sürekliliği için gereklidir. Mineralizasyon; nitrifikasyon ve amonifikasyon olmak üzere iki aşamada gerçekleşir.

### 4. Biyolojik Azot Fiksasyonu

Serbest azotun (gaz halindeki azotun)  $NH_3$ 'a dönüşmesidir. Bakterilerin ve Mavi yeşil alglerin görev aldığı bir süreçle gerçekleşir. Serbest yaşayan bakterilerden *Azotobacter* ve *Clostridium* *genusları Fabaceae* (Baklagiller) üyeleri ile simbiyotik yaşayanlar *Rhizobium* bakterileri ön plana çıkarlar. Bu bakteriller havanın serbest azotunu fikse ederek toprağa 10-15 kg N/da kazandırır (Pamiralan ve Gök, 2018).

Biyolojik azot fiksasyonu ile toprağa azot kazandıran mikroorganizmalar, ihtiyaçları olan enerjiyi toprağın organik maddesinden sağlamakta, tespit ettikleri azotu kendi bünyeleri için kullanmaktadırlar. Bunların ölmeleri ve parçalanmaları ile bünyelerindeki azot mineralizasyonla toprağa geçmekte ve kültür bitkileri bu azottan faydalanmaktadır (Çengel, 2004).

### 5. Denitrifikasyon

$NO_3$ 'ün indirgenmesidir. Azotun topraktan atmosfere kaybı da söz konusudur. Denitrifikasyon olarak adlandırılan süreç ile  $NO_3$  azotu gaz halindeki azot bileşiklerine dönüşür. Aşırı rutubetli veya sıkışık topraklarda yeteri kadar havalanma olmadığından bazı bakteriler yaşamlarını sürdürüebilmek için topraktaki kimyasal bileşiklerin

içerdikleri oksijeni bünyelerine alma yeteneğine sahiptir. Bu amaçla, ortamda  $\text{NO}_3$  varsa, söz konusu bakteriler  $\text{NO}_3$ 'ün oksijenini çekerek gaz halindeki nitrik oksit (NO) ve nitros oksit ( $\text{N}_2\text{O}$ ) ile azot (N) gazı oluşumuna neden olurlar (Çengel, 2004). Küresel ısınmaya katkısı nedeniyle, toprakta  $\text{N}_2\text{O}$  oluşumu, son yıllarda dikkat çeken bir konu olmuştur.  $\text{N}_2\text{O}$  gazı, ısıyı diğer sera gazlarına daha fazla absorbe etmesi bakımından önemli bir gazdır. Hayvancılık ve aşırı gübre kullanımı  $\text{N}_2\text{O}$  oluşumu nedeniyle küresel ısınmaya yol açmaktadır (Yaylı ve Kılıç, 2020).

## 2.5. Topraktaki Azotun Kaybı ve Nitrifikasyon İnhibitörlerinin Kullanımı

Azotun topraktan kaybı iki temel süreçle gerçekleşebilir;

### 1. Azot yıkanması

Nemli, ılık ve iyi havalanabilen topraklarda azot bileşiklerinin çoğu,  $\text{NH}_4$  formundan çok,  $\text{NO}_3$  formunda bulunur. Topraktaki  $\text{NO}_3$  iyonu toprak suyunda genelde çözülmüş formdadır. Kimyasal gübrelerle toprağa eklenen ya da  $\text{NH}_4$ 'un nitrifikasyonu ile oluşan  $\text{NO}_3$ , hızlı dinamizmi nedeniyle kolayca yıkanabilmektedir. Yıkanma ile  $\text{NO}_3$  yitimlerini etkileyen faktörler; gübrenin uygulama dozu, zamanı, azot kaynağı ve uygulama yöntemi, nitrifikasyon engelleyicilerin kullanımı, bitki yetiştirme yoğunluğu ve azotun bitkilerce alımı, suyun profilden süzülmesi ve yıkanmayı etkileyen toprak karakteristikleri, yağışın miktarı, dağılımı ve zamanı ve/veya sulama ile ilgili uygulanan su miktarıdır. Bu nedenle hem N yıkanmasını, hem de ekonomik olarak azotlu gübre kaybını önlemek açısından, sulama ve gübreleme programlarının iyileştirilmesi ve uygun bir gübre yönetiminin gerektiği rapor edilmektedir (Karnez, 2010). Sonuçta, gübrelenen alanlarda azotun yıkanması;  $\text{NO}_2$  ve  $\text{NO}_3$ 'ün insan ve hayvan sağlığına olan etkileri; su kaynaklarını kirleterek ötrofikasyon oluşturması ve çevreye olan olumsuz etkileri açısından güncelliğini korumaktadır (Suteja ve Purwiyanto, 2018).

### 2. Amonyak volatilizasyonu

Amonyak volatilizasyonu üre gübresinin  $\text{NH}_3$  gazına dönüştüğü ve  $\text{NH}_3$  gazının da atmosfere serbest bırakıldığı kimyasal bir süreçtir. Üre gübresi toprak sahasına atıldığında ortamdaki su ile tepkimeye girerek (hidroliz reaksiyonu)  $\text{NH}_3$  ve  $\text{CO}_2$ 'e dönüşür. Üre Hidrolizi olarak adlandırılan bu süreci topraktaki üreaz enzimi hızlandırır.

Üre dışındaki diğer azotlu gübrelerin kullanımında da  $\text{NH}_3$  volatilizasyonu ile azot kaybı söz konusudur. Ancak bu durum diğer azotlu gübreler alkali toprak

yüzeylerine uygulandıklarında ortaya çıkar. Çünkü azotlu gübreler toprağa uygulandıktan kısa bir süre sonra  $\text{NH}_4$  azotuna dönüşürler. Ancak toprak yüzeyinde pH 7.3–7.5 değerlerinin üstünde olduğu zaman (alkali topraklar), yüzeyde oluşan  $\text{NH}_4$  iyonları  $\text{NH}_3$  gazına dönüşmeye başlar.  $\text{NH}_3$  gazının bir kısmı difüzyonla toprağa geçer ve topraktaki hidrojen iyonları ( $\text{H}^+$ ) ile tepkimeye girerek tekrar  $\text{NH}_4$ 'a geri dönüşürler. Diğer bir kısım  $\text{NH}_3$  gazı da atmosfere kaçar ve  $\text{NH}_3$  volatilizasyonu ile kaybolmuş olur (Zhenghu ve Honglang, 2000).

### **Toprakta Nitrifikasyon İnhibitörlerinin Kullanımı**

Tarımsal faaliyetler sırasında  $\text{NH}_4$  formunda azot içeren gübre ve üre toprağa uygulanarak tarımsal verimliliğin artırılması hedeflenmektedir.  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ 'a dönüşmesi ile birlikte topraktan yıkanarak bitkinin kök bölgesinden uzaklaşmaktadır. Toprakta yıkanma ve denitrifikasyon süreçleri ile azot kaybının önlenmesi için gübrelere nitrifikasyon inhibitörleri eklenmektedir (Çelik ve ark., 2004). Kullanılan nitrifikasyon inhibitörlerinin yarılanma ömürlerinin uzun olması nitrifikasyonu baskılamakta ve  $\text{NH}_4$ 'un toprakta tutulmasını sağlamaktadır (Guo ve ark., 2022).

### **2.6. Topraktaki Nitrifikasyon Sürecini İnceleyen Benzer Çalışmalar**

Yapılan araştırmalar, topraktaki mikroorganizmaların metallerle karşı hassasiyetinin aynı toprakta yetişen bitkiler veya yaşayan hayvanlardan daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (Giller, 1998). Metallerin tarım topraklarındaki mikrobiyal popülasyonlar üzerindeki etkisi farklı metotlarla değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar kısa süreli akut etkinin belirlendiği laboratuvar ölçekli çalışmalar veya uzun süreli kronik etki belirlenen saha çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda genel olarak 10-1000  $\mu\text{g/g}$  konsantrasyon aralığında Zn, Pb, Ni, Hg, Cu, Cr ve Cd'un toprak mikroorganizmaları üzerindeki toksik etkisi araştırılmıştır. Uzun inkübasyon sürelerinin kullanıldığı testlerde birkaç dayanıklı mikroorganizma, toksik etkinin belirlenememesine neden olabilmektedir. Toprakta mikroorganizma oluşumunu etkinleştirmek için dışarıdan fazla miktarda substrat eklenen test metotları ise doğal ekosistemi yansıtmamaları dolayısıyla hassas sonuçlar vermemektedir. En çok kullanılan mikrobiyal toksisite test yöntemleri tek bir türün kullanıldığı testler, biyokütlenin ölçüldüğü testler, karbon ve azot transformasyonlarının ölçüldüğü testler, enzimatik testler, mikrobiyal çeşitlilikteki değişimin tespit edildiği testlerdir. Toksik etki, toksik maddenin ve toprağın özelliklerine bağlıdır (Beelen ve Doelman, 1997; Vig ve ark., 2003).

Organik karbonun CO<sub>2</sub>'e mineralizasyonu yaygın olarak “toprak solunumu”olarak bilinir ve organik madde ayrışmasında yer alan mikrofloranın aktivitesini ortaya koyan iyi bir göstergedir. Bu nedenle toprak solunumu, metallerin topraktaki mikrobiyal aktiviteler üzerindeki etkisinin tespitinde üzerine en çok çalışılan parametre olmuştur. Toprak solunumu, kirleticilere karşı duyarlılığı eşit olmayan bir dizi mikroorganizmanın metabolik davranışını yansıtır. Bu nedenle bu parametreye dayalı testlerle ortaya konan tahminler her zaman doğru olmayabilir. Genellikle metal kirliliği ve toprak solunumu arasında net bir eğilim yoktur (Vig ve ark., 2003).

Nitrifikasyon, metal kirliliğine duyarlılığı ve azot döngüsündeki kilit rolü nedeniyle, topraktaki kimyasalların tehlike değerlendirmesinde kullanılan bir araçtır. “Nitrifikasyon potansiyeli” terimi, toprakta NH<sub>4</sub> substrat olarak eklendikten hemen sonra gözlemlenen nitrifikasyondur. Toprakta NO<sub>3</sub> oluşumu birkaç saat ile 50 gün arasında değişebilen kuluçka periyotlarında gerçekleşir. Bu nedenle NO<sub>2</sub> birikimi testlerde genellikle bir son nokta olarak ölçülmektedir. Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO, Cenevre, İsviçre) tarafından önerilen ISO 14238 standardı substrat olarak 100 mg NH<sub>4</sub>-N/kg eklendikten sonra nitrifikasyon oranının bir son nokta olarak ölçüldüğü 28 günlük bir toprak inkübasyon testidir (Smolders ve ark., 2001).

Hassas bir mikroorganizmanın daha dayanıklı bir türe evrilmesinin birçok ekolojik etkisi olabilir. Toksik etki sonucunda bazı türler yok olurken bazı türler aşırı artış gösterebilir. Oluşan dayanıklı tür genellikle spesifik ekolojik fonksiyonunu yerine getirmeyecek bir hale dönüşmektedir (Beelen ve Doelman, 1997).

Wilson (1976) tarafından yapılan çalışmada, 3 farklı tipte toprağa 10, 100, 1000 µg Zn/g toprak konsantrasyonunda Zn uygulanmıştır. Deneyde aynı zamanda 100 µg NH<sub>4</sub>-N/g azotu eklenerek 30 °C’de inkübe edilmiştir. 7 hafta süre ile haftalık numuneler alınmış ve NO<sub>2</sub>-NO<sub>3</sub>-N analizleri ile nitrifikasyon incelenmiştir. Her üç toprakta da 1000 µg Zn/g seviyesinde Zn ile nitrifikasyon önemli ölçüde inhibe olmuştur.

Ruyters ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada, topraktaki nitrifikasyon bakterilerinin bir yıl gibi uzun bir sürenin sonunda Zn kirlenmesine karşı adaptasyon geliştirebildikleri tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak ise sınırlı mikrobiyal çeşitlilik ve topraktaki nitrifikasyon bakterilerinin düşük büyüme hızı olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmada toprak numuneleri 0-4000 mg Zn /kg ile kontamine edilmiş ve mikroorganizma büyümesinin uyarılması için NH<sub>4</sub> dozlanmıştır. NH<sub>4</sub> dozlanmamış kontrol numuneleri de izlenmiştir. NH<sub>4</sub> dozu arttıkça Zn’nun inhibisyon etkisi azalmış ve bu sonuç bakteri popülasyonundaki artışın adaptasyonu artırdığını ortaya koymuştur.

Dong ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada hümik asitin azot döngüsünde önemli bir rolü olduğu vurgulanmıştır. Hümik asit, organik azotun dağılımı, biyoyararlılığı ve akibeti üzerinde etkili bir faktördür. Yapılan çalışmada hümik asitin topraktaki ototrofik amonyum oksidasyon bakterileri üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Toprağa hümik asit kaynağı olarak 10 mg üre/g toprak uygulanmış. Amonyum oksidasyon bakterilerinin popülasyonu,  $\text{NH}_4$  ve  $\text{NO}_3$  konsantrasyonları 12 hafta boyunca izlenmiştir. Bakteri popülasyonu real time PCR ile ölçülmüştür. İlk haftanın sonunda tam bir etki gözlenmesede 12 haftalık inkübasyon sonunda hümik asitin amonyum oksidasyon bakterilerinin komünite kompozisyonu ve sayısını düşürdüğü, bu ise üre ile muamele edilmiş toprakta ürenin, amonyum hidrolizinin azalmasına sebep olması olarak açıklanmıştır.

20.yy'ın başlarında asidik topraklarda ( $\text{pH}<5$ )  $\text{NH}_4$ 'un  $\text{NO}_3$ 'a nitrifikasyonunun inhibe olduğu düşünülmekteydi. Bu nedenle kireçleme ve benzeri ajanlar kullanılarak toprak pH'sı artırılmaktaydı. Daha sonra yapılan çalışmalar, toprağın doğal vejetasyon şartlarında düşük pH değerlerinde de nitrifikasyonun gerçekleştiği ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalar kemolitik ototrofik bakterilerin asidik toprakta nitrifikasyonu sağlayan ana bakteriler olduğu tespit edilmiştir (Boer ve Kowalchuk, 2001).

Kao ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada, toprağa uygulanan arıtma çamuru, Cu, Pb ve Zn'nun topraktaki organik maddenin karbona oksidasyonuna olan etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, arıtma çamurunun mikroorganizmalar için besin kaynağı olarak kullanılabilceği ve mikrobiyal solunum için yararlı olabileceği, ancak arıtma çamuru içerisindeki Cu, Pb ve Zn'nun mikroorganizmaları inhibe ederek organik maddenin karbona oksidasyonunu ortalama olarak %36 düşürdüğü tespit edilmiştir.

Arıtma çamurunun üç farklı tip toprağa uygulanması durumunda  $\text{N}_2\text{O}$  oluşumu izlenmiştir. Düşük organik madde içeriğine sahip olan toprağın arıtma çamuru ile muamelesi  $\text{N}_2\text{O}$  oluşumunu artırmış ve bu bulgu  $\text{NH}_4$  oksidasyonuna bağlanmıştır. Yüksek organik madde ve Zn içeriğine sahip olan toprağın arıtma çamuru ile muamelesi  $\text{N}_2\text{O}$  oluşumunu düşürmüştür. Toprak tipi ve arıtma çamuru uygulanma oranları  $\text{N}_2\text{O}$  oluşumunu etkilemiştir (Inubushi ve ark., 2000).

Odlare ve Pell (2009) ağır metal içeren uçucu küller ile tarım topraklarının muamele edilmesinin topraktaki nitrifikasyon ve denitrifikasyon sürecine olası etkisini incelemiştir. Kontrol toprağı ile kıyaslandığında uçucu küllerin denitrifikasyonu %16-56 oranında, amonyum oksidasyonunu %82 oranında inhibe etmiştir. Arıtma çamuru ile

birlikte uçucu küllerin uygulanması etkiyi azaltmıştır. Çalışma sonucunda uçucu kül metal içeriğinin toksik etki oluşturduğu tespit edilmiştir.

Wang ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada pirinç yetiştirilen topraklarda azotlu gübre kullanımının amonyum oksidasyon bakterileri ve arkeleri üzerine etkileri incelenmiştir. Deneysel çalışmalarda azotlu üre gübresi 50, 100 ve 150 mg N/kg toprak konsantrasyonunda toprağa uygulanmış ve amonyak monooxygenase geni ölçülmüştür. *Nitrosomonas*'ın oksijenli yüzey toprağında dip toprağına göre daha fazla bulunduğu, *Nitrospira* sayısının ise artan azotlu gübre uygulamasıyla azaldığı belirlenmiştir. Amonyum oksidasyon arkeleri azotlu gübre uygulamasından daha az etkilenmiştir.

Pb ve Cu ile kontamine olmuş 56 toprak örneğinin incelendiği bir çalışmada; 4 saatlik bir inkübasyon testi kullanılarak nitrifikasyon potansiyeli araştırılmıştır. Çalışmada substrat olarak 1.0 mM NH<sub>4</sub> ve 2.0 mM NaClO<sub>3</sub> kullanılmıştır. NaClO<sub>3</sub> eklenen toprak örneklerinde 25- 4200 mmol NO<sub>2</sub>/kg toprak.gün oluşumu gerçekleşirken NaClO<sub>3</sub> eklenmeyen toprak örneklerinde 13 - 1800 mmol NO<sub>2</sub>/kg toprak.gün oluşum seviyesinde kalmıştır. Çalışma sonucunda toprak pH'ı ve organik madde muhtevasının nitrifikasyonu en çok etkileyen parametreler olduğu tespit edilmiştir. pH 6'nın altındaki topraklarda ve aynı zamanda yüksek pH'a sahip topraklarda nitrifikasyonun düşük olduğu tespit edilmiştir. Nitrifikasyon için optimum pH aralığının 6,5-7,5 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Yüksek pH'ta nitrifikasyonun inhibe olması NH<sub>4</sub> toksisitesi veya metallerin çözünürlüğünün artması ile açıklanmıştır. Bazı toprak örneklerinde organik madde muhtevası ile nitrifikasyon arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu durum organik karbon varlığının organizma sayısını desteklemesi ile açıklanmıştır (Sauve ve ark., 1999). Jiang ve ark. (2011) tarafından da NH<sub>4</sub>'un 9,5 pH'da *nitrosomonas* ve *nitrobakterin* respirasyonunu %70 önlediği rapor edilmiştir.

Sverdrup ve ark. (2002) sekiz poliaromatik bileşiğin topraktaki nitrifikasyon bakterileri ve protozoalar üzerine toksik etkisini araştırmıştır. Araştırması yapılan bileşiklerin hiçbir etkisinin gözlenmediği konsantrasyonları (NOECs) pyrene için 79 mg/kg, fluoranthene için 24 mg/kg; phenanthrene için 26 mg/kg; fluorene için 72 mg/kg; carbazole için 23 mg/kg; dibenzothiophene için 22 mg/kg; dibenzofuran için 75 mg/kg; ve acridine için 1,100 mg/kg olmuştur.

Suszek-Łopatka ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada PAH bileşiklerinden phenanthrene'nin topraktaki AOB üzerine toksik etkisi, toprak nemi ile ilişkilendirilerek incelenmiştir. Toprak örnekleri 0, 1, 10, 100 ve 1000 mg/kg konsantrasyon seviyelerinde phenanthrene ile muamele edilmiştir. Toprak örnekleri

%30, %55 ve %80 seviyelerinde ıslatılarak nemin etkisi değerlendirilmiştir. 1 haftalık inkübasyon süresinin sonunda nitrifikasyon potansiyeli ölçülmüştür. Yapılan çalışmanın sonucunda artan toprak neminin phenanthrene'nin toksik etkisini artırdığı tespit edilmiştir. Küresel ısınmanın etkisiyle aşırı yağışlı dönemlerin artacağı, bu durumun topraktaki organizmaları olumsuz yönde etkileyebileceği vurgulanmıştır.

Hayvancılıkta kullanılan antibiyotikler doğal gübreler ile toprağa karışabilmektedir. Tang ve ark. (2020) antibiyotik ve ağır metallerin topraktaki ekotoksik etkisini araştırmışlardır. Çalışmada tipik bir antibiyotik olan oxytetracycline, Zn ve Cu ile birlikte oluşturduğu sinerjik etki kumlu ve killi toprak örnekleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar toprak tipinin toksik etkiyi değiştirdiğini ortaya koymuştur. Oxytetracycline, Zn ve Cu, AOB'ni inhibe ederek N<sub>2</sub>O oluşumunu azaltmıştır. Oxytetracycline topraktaki mantarların artmasına sebep olmuştur.

Dušek (1995) tarafından 10, 100 ve 500 mg Cd ilavesinin amonyaklaştırma ve nitrifikasyon üzerindeki etkisi incelenmiştir. İncelemede kullanılan toprak numuneleri kirlenici içermeyen kireçli ve kalkersiz toprak numuneleridir. Mevcut numunelere substrat aktivitesi varlığında ve yokluğunda laboratuvar inkübasyon testleri uygulanmış, topraktaki nitrifikasyon bakterilerinin aktivitesi, mineralizasyon potansiyelleri NH<sub>4</sub> ve NO<sub>2</sub> oksitleyicilerin potansiyel aktivitesi incelenmiştir. Substrat olarak eklenen NH<sub>4</sub> -N kireçli toprakta maksimum inhibisyon %60'a, kalkersiz toprakta %45'e ulaşmıştır. Bu iki Cd konsantrasyonu, özellikle kalkerli toprağa ilave edildikten hemen sonra anormal bir NO<sub>2</sub> birikimine neden olduğu gözlenmiştir. 10 mg Cd içeren toprağa substrat ilavesi sonucu olarak toprakta yoğunlaşmış N-mineralleşmesi gözlenmiş, bu durum daha sonra son aşama olarak fazla NO<sub>3</sub> oluşturmuştur. Cd'un zararlı etkisi, kireçli toprakta daha belirgin olmuştur.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Stok NO<sub>2</sub> çözeltisi için kullanılan Sodyumnitrit (NaNO<sub>2</sub>) Merck'ten alınmıştır. NO<sub>2</sub> analizinde kullanılan renklendirme çözeltisi için; orto fosforik asit w(H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) %80, sulfanilamid (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S); N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorür (C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) Merck'ten;

Amonyum oksidasyon toksisite testinde kullanılan potasyumdihidrojenfosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); dipotasyumhidrojenfosfat (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); sodyumklorat (NaClO<sub>3</sub>); diamonyum sülfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Merck'ten.

NO<sub>3</sub> oluşumunun inhibisyonu için kullanılan potasyumklorür (KCl) Merck'ten temin edilmiştir.

NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O; CdSO<sub>4</sub>.8H<sub>2</sub>O ve C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Pb. 3H<sub>2</sub>O Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir.

#### 3.2. Kullanılan Cihazlar

DeneySEL çalışmalar Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü araştırma laboratuvar altyapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 543 nm'de ölçüm yapabilen 1 cm ışık yollu WTW Spektroflex 6600 Spektrofotometre NO<sub>2</sub> ölçümü için kullanılmıştır. Toprak numunelerinin inkübasyonu ShinSaeng çalkalamalı inkübatör ile gerçekleştirilmiştir. Faz ayrımı için Nüve Santrifüj kullanılmıştır.

#### 3.3. Numune Alma ve Ön İşlem

Toprak numunesi alınacak toprağın üzerindeki ot, sap gibi şeyler el ile temizlenmiştir. Toprak numuneleri, toprak yüzeyinden 0-20 cm derinliğinden kürek yardımıyla bir çukur açılarak alınmıştır. Açılan bu çukurun yüzeyinden ihtiyaç duyulan miktar kadar toprak kovaya alınarak iyice karıştırılmıştır. Toprak numunesi karıştırıldıktan sonra torbaya konularak laboratuvara getirilmiştir. Numuneler analiz öncesi 200 µm elekten elenerek analize hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.1.). Numuneler analiz edilene kadar üzeri kapalı bir şekilde 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Toprak numuneleri en geç bir ay içinde analiz edilmiştir.



Şekil 3.1. Toprak numunelerinin analiz öncesi 200 µm elekten elenmesi

### 3.4. Deney Planı

Deneysel çalışmalarda öncelikle Cd, Ni ve Pb'un toksik etkisi ayrı ayrı tespit edilmiştir. Daha sonra sinerjik etki tespiti için Cd-Ni-Pb birlikte çalışılmıştır. Metal çözeltileri 0,1 M veya 0,01 M saf su içerisinde hazırlanarak, 25 g toprak numuneleri üzerine hedef konsantrasyona uygun standart zenginleştirme yapılmıştır. Hedef konsantrasyonlar belirlenirken metallerin çevrede bulunan ortalama değerleri ve çevrede yaygın olmayan yüksek değer olarak seçilmiştir. Her deney seti ile birlikte metal bileşiklerinin eklenmediği kontrol toprağı kullanılmıştır. Cd 10-900 mg/kg aralığında; Ni 50-100 mg/kg aralığında; Pb 10-500 mg/kg aralığında çalışılmıştır. Cd, Ni ve Pb'un sinerjik toksik etkisi 10 mg/kg Cd; 200 mg/kg Ni ve 50 mg/kg Pb için belirlenmiştir. Çalışmanın son basamağında matriks etkisi çalışılmıştır. Çalışmalar toprak üzerine eklenen çözeltilerde tespit edilen mg/L değerindeki NO<sub>2</sub> konsantrasyonu kullanılarak mg.NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km hesaplanmıştır.

### 3.5. Amonyum Oksidasyon Toksisite Testi

Amonyum oksidasyon toksisite testi, toprak içinde bulunan birçok bakteri türünden biri olan nitrifikasyon bakterilerinin (*nitrosomonas*, *nitrobakter*) varlığını ve sağlıklı bir şekilde bu işlemi yapıp yapamadığını belirleyen bir testtir. Dışarıdan organizma eklenmeden gerçekleştirilen bir test olması dolayısıyla diğer toksisite testlerinden farklıdır. Testin gerçekleştirilebilmesi için toprağın taze olması gerekir (en fazla 3 ay buzdolabında saklanmış olmalı). Test prensibi olarak; nitrifikasyonda bir ara ürün olan ve *nitrosomonas* bakterileri tarafından oluşturulan NO<sub>2</sub> miktarı ölçülmüştür. NO<sub>2</sub>'in NO<sub>3</sub>'a dönüşümü KCl kullanılarak inhibe edilmiştir. İnkübasyonun gerçekleştirildiği inkübasyon çözeltilisine NaClO<sub>3</sub> eklenerek NH<sub>4</sub>'un tek oksidasyon

ürününün  $\text{NO}_2$  olması sağlanmıştır. Optimum miktarda  $\text{NaClO}_3$  nitrifikasyonu teşvik ederken, fazla miktarda  $\text{NaClO}_3$  (20 mM ve üzeri), hem  $\text{NH}_4$ 'un  $\text{NO}_2$ 'e oksidasyonunu, hem de  $\text{NO}_2$ 'in  $\text{NO}_3$ 'a oksidasyonunu inhibe etmektedir (Sauve ve ark., 1999). Bu nedenle en uygun inkübasyon çözeltisinin belirlenmesi için optimum  $\text{NaClO}_3$  dozu belirlenmiştir. İnkübasyon çözeltisine  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , Fosfor (P) ve Potasyum (K) besin maddesi kaynağı olarak eklenir. Bu maddeler suda tamamen çözünen tuzlar olup mikroorganizmaların besin dengesini ayarlamak için kullanılmaktadır. İnkübasyon çözeltisine substrat olarak  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$  eklenerek nitrifikasyon teşvik edilmiştir.

### **Deney Prosedürü**

Toprağın su muhtevası belirlenir.

**İnkübasyon Çözeltisi I, II, III'ün hazırlanması:** Bakterilerin inkübe edileceği inkübasyon çözeltisi için  $\text{NaClO}_3$  kullanım miktarı optimize edilmiştir.

**Çözelti A:** 28 mL  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözeltisi (0,2 mol/L), 72 mL  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  çözeltisi (0,2 mol/L), 100 mL saf su ile tamamlanarak Çözelti A hazırlanır.

**İnkübasyon Çözeltisi I:** 10 mL Çözelti A, 10 mL  $\text{NaClO}_3$  çözeltisi (0,5 mol/L), 0,198 g  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ , 1000 mL'ye saf suyla tamamlanır

**İnkübasyon Çözeltisi II:** 10 mL Çözelti A, 20 mL  $\text{NaClO}_3$  çözeltisi (0,5 mol/L), 0,198 g  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ , 1000 mL'ye saf suyla tamamlanır

**İnkübasyon Çözeltisi III:** 10 mL Çözelti A, 30 mL  $\text{NaClO}_3$  çözeltisi (0,5 mol/L), 0,198 g  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ , 1000 mL'ye saf suyla tamamlanır

### **İnkübasyon işlemi**

**Kontrol:** 100 mL Saf ortam I

**Numune:** Toprak su muhtevası dikkate alınarak 25 g toprak üzeri 100 mL'ye uygun saf ortam kullanılarak tamamlanır.

Kontrol ve numuneyi içeren erlenlerin etrafı alüminyum folyo ile üstü açık bir şekilde kaplanır. 26 °C'de çalkalamalı inkübatöre konur (Şekil 3.2). Her bir saat sonunda numune alınarak bakterilerin oluşumunun bir göstergesi olan  $\text{NO}_2$  oluşumunun lineerliği değerlendirilir. 6 saatlik sürede 6'şar numune alınır. İnkübasyonun 6 saat yapılmasının nedeni nitrifikasyon bakterilerinin germinasyon periyodunun 6 saat

olmasıdır. Numuneler 5 mL alınarak üzerlerine 5 mL KCl (1 mol/L) eklenerek  $\text{NO}_3$  oluşumu önlenir. Numuneler santrifüjlenerek (3000 devir/2 dak) nitrit analizi yapılır.



Şekil 3.2. Toprak Numunelerinin İnkübasyonu (26 °C, 120 rpm)

### 3.6. Nitrit ( $\text{NO}_2$ ) Analizi

SM 4500  $\text{NO}_2$ -B metodu kullanılarak  $\text{NO}_2$  analizi yapılmıştır (Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water 23rd Edition 2017).

**Renk reaktifi:** 800 mL suya 100 mL % 85'lik fosforik asit ve 10 g sulfonilamid eklenir. Sulfonilamid tamamen çözüldükten sonra 1 g N-(1-naphthyl) –etilendiamin dihidrokloride eklenir. Çözünmesi için karıştırılır, su ile 1 L'ye seyreltilir. Çözelti buzdolabında koyu renk şişede beklediğinde 1 ay kadar stabil kalır.  $\text{NO}_2$  kalibrasyon çözeltilerine ait fotoğraf Şekil 3.3'te verilmiştir

5 mL numune + 5 mL KCl + 0,20 mL renk reaktifi eklenerek 60-90 dk beklenir ve 543 nm'de spektrofotometrede  $\text{NO}_2$  ölçümü yapılır.



Şekil 3.3. NO<sub>2</sub> Kalibrasyon Çözeltileri

### 3.7. Toprak Numunelerinin Fizikokimyasal Özelliklerinin Tespiti

Toprak numunelerinin fizikokimyasal özelliklerinin analizi Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi Sürekli Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarında (SARGEM) gerçekleştirilmiştir.

#### 3.7.1. Toprak numunelerinin nem, kuru madde (%) muhtevasının belirlenmesi

Toprak numunelerinin nem ve kuru madde (%) muhtevası TS 9546 EN 12880 metoduna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Nem muhtevasının belirlenmesi için kuru ve boş porselen kroze 105(±5) °C’de sabit tartıma getirilmesi için etüvde bekletildikten sonra oda sıcaklığında desikatörde soğutulmuş ve hassas terazide tartılarak kütlesi belirlenmiştir. 2 mm’lik elekten geçirilmiş 1 g numune porselen krozeye konularak 1 saat süresince 105(±5) °C’deki etüvde kurutulmuş ve desikatörde soğutulduktan sonra kütlesi belirlenmiştir. Kurutma işlemi 30 dakika için tekrarlanmış ve kütleler arasındaki fark 2 mg’dan küçük olana kadar bu işleme devam edilmiştir. Numunenin katı madde miktarı ve % nem muhtevası aşağıda verilen Eşitlik (1) ve Eşitlik (2) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$MD = MB - ME$$

$$MW = MM - ME$$

$$DR = 100 \times (MD / MW) \quad \text{Eşitlik (1)}$$

$$MC = 100 \times (MW - MD) / MW \quad \text{Eşitlik (2)}$$

Burada:

ME : 1 sa süresince 105 °C ± 5 °C sıcaklıkta etüvde bekletilen boş kroze ağırlığı, mg

MM : Numune + kroze ağırlığı, mg

MB : 1 sa süresince 105 °C ± 5 °C sıcaklıkta bekletilen numune + kroze ağırlığı, mg

MW : Numune ağırlığı, mg

MD : Kuru numune ağırlığı, mg

DR : Kuru madde, mg

MC : % nem muhtevası

### 3.7.2. Toprak numunelerinin pH'sının belirlenmesi

Toprak numunelerinde pH analizi TS ISO 10390'a uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar ortamında kurutulmuş 5 g toprak numunesinin 25 mL saf su çözeltisi ile oluşturduğu 1:5 (v/v)'lik süspansiyonun pH değeri tespit edilmiştir. Bunun için oluşturulan süspansiyonlar 5 dakika çalkalandıktan sonra en az 2 saat bekletilmiş, toprak süspansiyonu tekrar çalkalandıktan sonra pH metre ile okumalar gerçekleştirilmiştir. pH 4, 7 ve 10 değerindeki buffer kalibrasyon standartları, pH 4.0, 7.0, 10.0 değerindeki sertifikalı kalite kontrol standartları ve probun saklanması amacıyla 3.0 M KCl standardı kullanılmıştır.

### 3.7.3. Toprak numunelerinin elektriksel iletkenliğinin (EC) belirlenmesi

Toprak numunelerinde EC analizi TS ISO 11265'e uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 20 gr. Hava kuru toprak örneği tartılmış ve çalkalama şişesine konmuştur. 20 + 1 °C'de 100 ml su eklenmiştir. Şişe kapatılmış ve yatay pozisyonda çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. 30 dk. çalkalandıktan sonra filtre edilmiş ve 25 °C'de bekletilen ekstraktan cam prob yardımıyla ölçülmüştür.

### 3.7.4. Toprak numunelerinin kil/silt/kum içeriğinin belirlenmesi

Toprak numunelerinin kil/silt/kum içeriği Bouyoucos Hydrometer metoduna göre tespit edilmiştir (ASTM D 422-63). 50 g numune ve 2 g sodyum hexametaphosphate beher içerisine konularak yaklaşık 600 mL saf su eklenmiş ve 5 dakika mikser ile karıştırılmıştır. Toprak süspansiyonu mezür içerisine konularak içerisinde hidrometre varken 1130 mL çizgisine kadar saf su ile doldurulmuştur. Hidrometre mezur içerisinden uzaklaştırılmış ve mezürün ağzı parafilm ile kapatıldıktan sonra ters-düz edilerek toprak süspansiyonunun tamamen karışması sağlanmıştır. Süspansiyonun ilk hidrometre ve sıcaklık okumaları 40 sn sonra, ikinci okumaları ise 2 saat sonra gerçekleştirilmiştir. Toprak ve sediment numunelerinin kütlesi alınırken nem içeriklerine göre düzeltme yapılmıştır. 1. hidrometre okuması silt ve kil kütlesini, 2. hidrometre okuması ise kil kütlesini vermektedir. Hesaplamalar aşağıda verilen formüller ile gerçekleştirildikten sonra tekstür üçgeni kullanılarak toprak ve sediment tipi belirlenmiştir.

Düzeltilmiş 1. hidrometre okuması : 1. hidrometre okuması + (1. sıcaklık okuması – 20 °C) x 0.36 g/°C

Düzeltilmiş 2. hidrometre okuması : 2. hidrometre okuması + (2. sıcaklık okuması – 20 °C) x 0.36 g/°C

$$\% \text{ silt} + \text{ kil} = \frac{\text{düzeltilmiş 1.hidrometreokuması} \times 100}{\text{numune miktarı (g)}} \dots\dots\dots\text{Eşitlik 3}$$

$$\% \text{ kil} = \frac{\text{düzeltilmiş 2.hidrometreokuması} \times 100}{\text{numune miktarı (g)}} \dots\dots\dots\text{Eşitlik 4}$$

$$\% \text{ kum} = 100 - \% \text{ silt} + \text{ kil} \dots\dots\dots\text{Eşitlik 5}$$

### 3.7.5. Toprak numunelerinin % organik madde (OM) içeriğinin belirlenmesi

Toprak numunelerinin OM analizleri TS 8336, Walkley-Black metoduna göre belirlenmiştir. Analiz numunesinden 01-1g (A) (Acık renkli numuneler için en az 1g- Kahverengi numuneler için ~ 0,5g ve siyah numunler için 0,1g) tartılarak 250 mL'lik temiz, kuru bir erlene konur. Uzerine 10 mL 1 N potasyum dikromat ilave edilir. Numune dikromat ile iyice ıslandıktan sonra yaklaşık 20 mL derişik sulfurik asit yavaşca ilave edilip bir dakika elde çalkalanılır. Karışımın son rengi koyu kırmızı-kahverengi oluncaya kadar dikromat ilavesine devam edilir. Harcanan dikromat miktarı (B) kaydedilir. Karışımın son rengi koyu kırmızı-kahverengi olunca karışım ceker ocakta 1 st beklemeye alınır. 200 mL saf su eklenir. 10 damla o-phenanthroline-ferrous indiktoru ilave edilir. Renk donuşumu önce koyu yeşil, sonra mavi, titrasyon bitiminde kırmızıya donduğunde harcanan demir sulfat miktarı (C) okunarak kaydedilir. Hesaplamalar aşağıda verilen formül ile gerçekleştirilir.

$$\% \text{Organik C} = \frac{(B-C*Nk)*0,3}{A*0,77} \dots\dots\dots\text{Eşitlik 6}$$

Burada;

A: Analiz için tartılan numune miktarı, (g)

B: Numune için harcanan potasyum dikromat, (mL)

C : Numune için harcanan Fe<sup>+2</sup> solusyonu, (mL)

Nk: Demir sulfat cozeltisinin normalitesi

Toplam Organik Madde = % Organik Karbon x 1,724 (\*)

(\*)Van Bemmelen faktoru

### 3.7.6. Toprak numunelerinin toplam azot (T-N) içeriğinin belirlenmesi

Toprak numunelerinin T-N içeriği, TS 8337 ISO 11261, Geliştirilmiş Kjeldahl Metoduna göre yapılmıştır. Bunun için yaklaşık 0.1 g amonyum asetat ile doyurulmuş numune üzerine 2-3 damla oktanol, 2 adet Kjeltabs Cu/3.5 (3.5 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 0.4 g CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) katalizörü ve 12 mL derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilerek numune cihazın yakma ünitesine yerleştirilmiş ve 420 °C’de 1 saat süresince yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yakma işleminden sonra soğutulmuş numune 80 mL su ve 50 mL %40 NaOH ile 5 dakika süresince distile edilmiştir. Alıcı solüsyon olarak bromokresol yeşili/metil kırmızısı indikatör solüsyonu içeren %4 borik asit kullanılmıştır. %4 borik asit alıcı solüsyon 40 g borik asit 600 mL safsuda çözüldükten üzerine 10 mL bromokresol yeşili çözeltisi (100 mL metanol içerisinde 100 mg) ve 7 mL metil kırmızı çözeltisi (100 mL metanol içerisinde 100 mg) eklenmiş ve son hacim 1 L’ye tamamlanmıştır. %4 borik asit çözeltisi 0.1 M NaOH çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. Distilasyondan sonra 30 mL %4 borik asit çözeltisi 0.1 N HCl ile titre edilmiş ve sarfiyat hesaplanmıştır. Her 7 adet numune için bir blank analizi gerçekleştirilmiş ve blank için de aynı işlemler gerçekleştirilerek sarfiyat miktarı hesaplanmıştır. Örneklerin T-N içeriği Eşitlik (7) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% T - N = \frac{(mL_{numune} - mL_{blank}) \times N \times 14.007 \times 100}{mg_{numune}} \dots\dots\dots\text{Eşitlik (7)}$$

### 3.7.7. Toprak numunelerinin ağır metal içeriğinin belirlenmesi

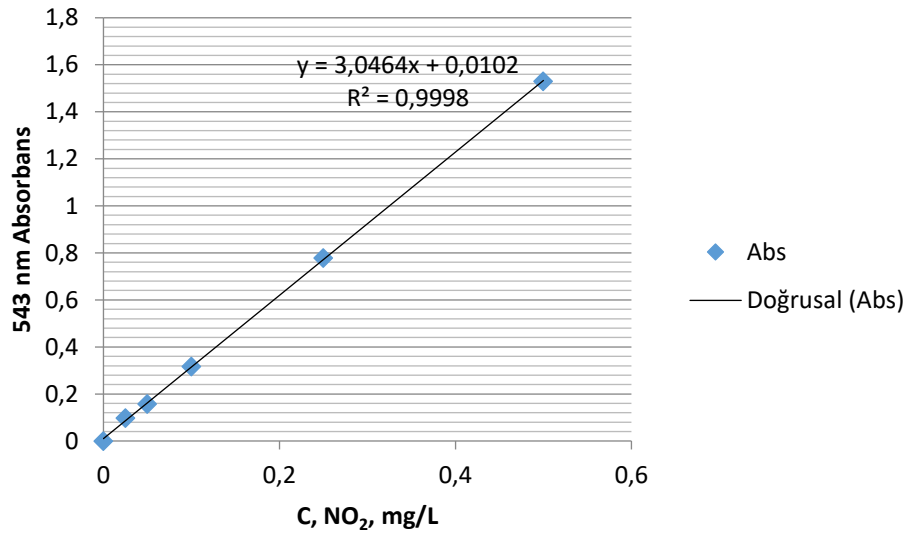
Toprak örnekleri asit kullanılarak (0,5 g numune için; 9,5 mL, %65 HNO<sub>3</sub> ve 0,5 mL, %37 HCl) EPA 3051 A mikrodalga özütleme (CEM, MarsXpress) tekniği ile ağır metal analizlerine hazırlanmış ve ağır metal içeriği EPA 6010 D (ICP-OES, Perkin Elmer 5300) metodu ile tayin edilmiştir. Analizi yapılacak elementlere ait, ultra saf (% 99.99 saflıkta) olarak hazırlanmış (Absolute Standart) stok tekli element çözeltileri (1000 mg/L) kullanılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Nitrit (NO<sub>2</sub>) Analizi Metot Teyidi

SM 4500 NO<sub>2</sub>-B metodu (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2017) kullanılarak gerçekleştirilen NO<sub>2</sub> analizi sonucunda elde edilen absorbans-konsantrasyon eğrisi Şekil 4.1’de verilmiştir. 25 ppb NO<sub>2</sub> çözeltisi ile

gerçekleştirilen tekrarlanabilirlik analizleri (n=10) sonucunda standart sapması (SD) düşük ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlar elde edilerek metot teyidi sağlanmıştır. SD\*3 ile dedeksiyon limiti (LOD); SD\*10 ile kantifikasyon limiti (LOQ) hesaplanmış ve metot performans parametreleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.



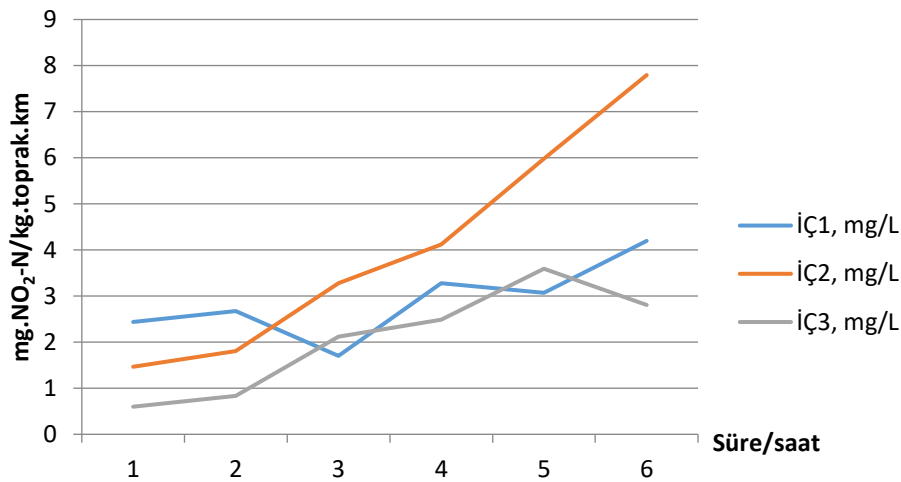
Şekil 4.1. NO<sub>2</sub> Analizi Absorbans-Konsantrasyon Eğrisi

Çizelge 4.1. NO<sub>2</sub> Metod Performans Parametreleri

Deney No	25 ppb NO <sub>2</sub>
1	0,02587
2	0,026527
3	0,027511
4	0,029481
5	0,027183
6	0,035391
7	0,030794
8	0,027183
9	0,028168
10	0,026198
Ort	0,028431
RSD	0,002874
<b>Geri Kazanım</b>	<b>%112</b>
LOD	0,006
LOQ	0,02

## 4.2. İnkübasyon Çözeltisi Optimizasyonu

Bakterilerin inkübe edileceği inkübasyon çözeltisi için  $\text{NaClO}_3$  kullanım miktarı optimize edilmiştir. 10 mL, 20 mL ve 30 mL  $\text{NaClO}_3$  çözeltisi eklenerek hazırlanan inkübasyon çözeltileri (İÇ1; İÇ2; İÇ3) için elde edilen  $\text{NO}_2$  oluşum sonuçları Şekil 4.2.'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar 20 mL  $\text{NaClO}_3$  çözeltisi eklenerek hazırlanan İÇ2'de optimum  $\text{NO}_2$  oluşumu gerçekleştiği tespit edilmiştir. Deneysel çalışmalarda İÇ2 taze olarak hazırlanmış ve kullanılmıştır. Kontrol amaçlı olarak toprak numunesi eklenmemiş İÇ inkübasyonu sonucunda 0.006 mg/L  $\text{NO}_2$  oluşumu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. İnkübasyon Çözeltilerine Bağlı  $\text{NO}_2$  Oluşumu (n=3)

## 4.3. Toprak numunelerinin fizikokimyasal özellikleri

Deneysel çalışmalarda kullanılan toprak numunelerinin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Aynı tekstüre (killi) ve farklı pH'a sahip toprak örneklerinde deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Toprak numunelerinin %N içeriği yaklaşık %0,15'dir. Selçuklu İlçesinden alınan toprakta (S) OM değeri %0.82 ile oldukça düşükken, Meram İlçesinden alınan toprakta (M) OM değeri %1.67 olup daha iyi seviyededir. Toprak organizmalarının mevcut metallere adaptasyon geliştirmesi faktörünü minimize etmek amacıyla Cd, Ni ve Pb içeriği düşük olan toprak örnekleri tercih edilmiştir. Tüm deneysel çalışmalar Selçuklu bölgesinden alınan toprak ile gerçekleştirilmiş olup, deney setinin son basamağı olan matriks etkisi çalışmasında Meram bölgesinden alınan toprak örneği kullanılmıştır.

**Çizelge 4.2.** Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Toprak Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

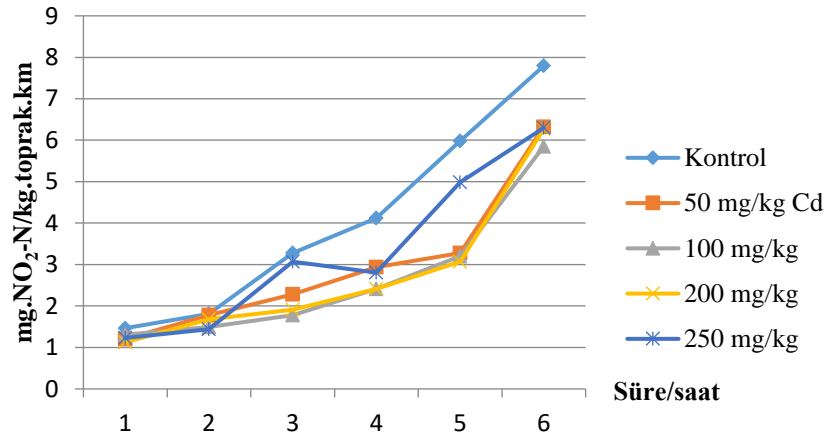
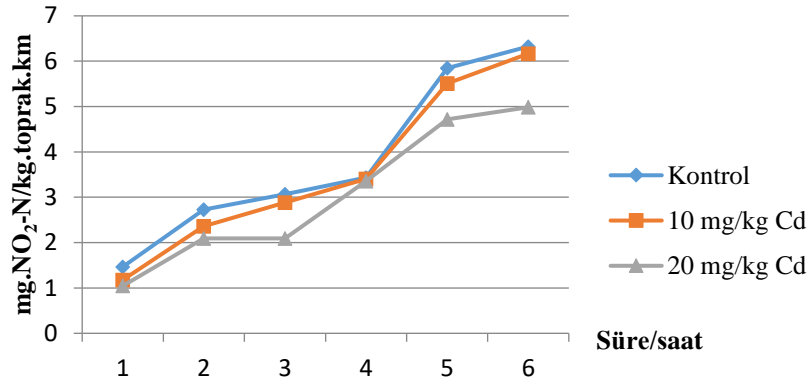
Toprak Numunesi	pH	EC (mS/cm)	Su ile Doygunluk %	Tekstür	Org. Madde %	% N (Azot)	Cd (mg /kg)	Ni (mg /kg)	Pb (mg /kg)
Selçuklu-S	6.3	0.35	71.50	Killi	0.89	0.150	1.2	6.64	2.7
Meram-M	7.7	0.67	72.60	Killi	1.67	0.145	0.8	10.2	1.9

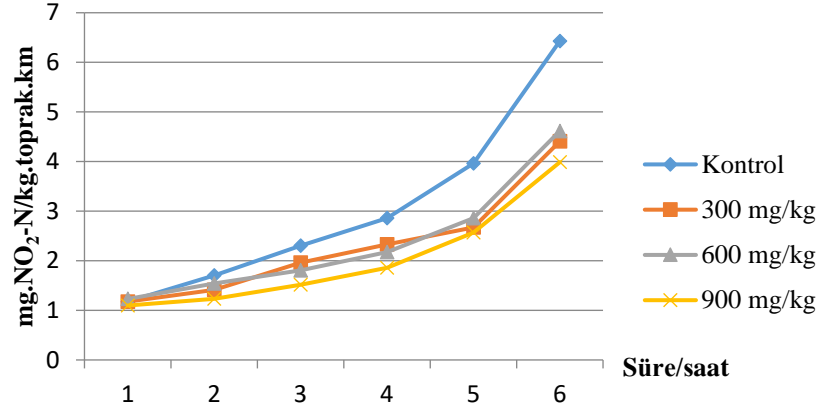
#### 4.4. Cd'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerindeki toksik etkisi

Cd'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerine toksik etkisini tespit edebilmek için 10-900 mg/kg Cd konsantrasyon aralığında deneysel çalışmalar yapılmıştır. Standart ekleme yönteminde toprakta mevcut olan Cd değeri dikkate alınmamıştır. Her deney setinde ayrı olarak çalışılmış ve kirletici eklenmemiş kontrol toprak örneği ve 10-20 mg/kg.Cd; 50-250 mg/kg.Cd ve 300-900 mg/kg.Cd standardı eklenmiş toprak örnekleri için elde edilen sonuçlar Şekil 4.3'te verilmiştir. Uygulanan konsantrasyonlar Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirletilmiş Sahalara Dair Yönetmelik Ek-1 Jenerik Kirletici Sınır Değerler Listesi ve Toprakta Kullanılabilecek Stabilize Arıtma Çamurunda Müsaade Edilecek Maksimum Ağır Muhtevaları listesi dikkate alınarak kirletici miktarları belirlenmiştir. Kontrol toprak olarak Selçuklu toprağa örneği kullanılmıştır, kontrol toprağa için elde edilen ortalama NO<sub>2</sub> oluşum değeri ve çalışma aralığının tümünde elde edilen sonuçlar da Şekil 4.4'te verilmiştir. Cd'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisini değerlendirmek amacıyla % inhibisyon oranları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir.

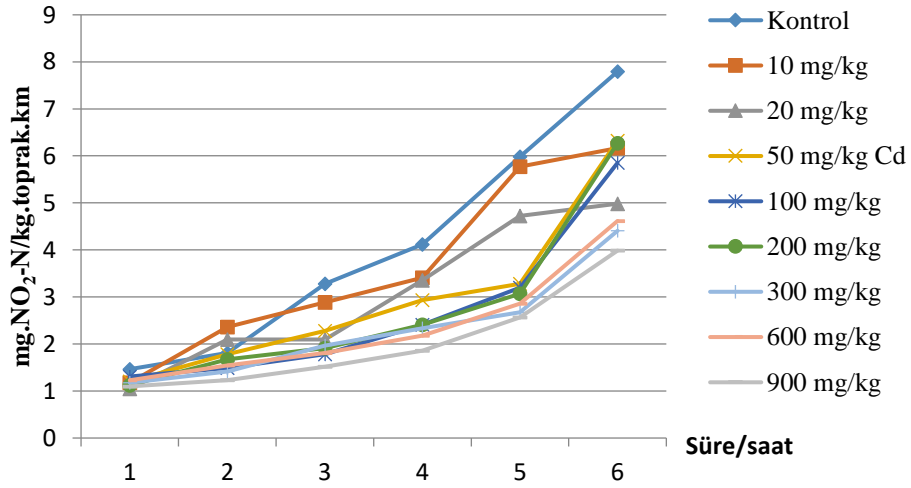
Deney setinde kullanılan tüm toprak örneklerinde NO<sub>2</sub> oluşumunun lineer olarak arttığı tespit edilmiştir. S-Toprak örneğinin nitrifikasyon potansiyeli 6.3 mg NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km - 7.4 mg NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km arasında değişmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gerçekleşen inhibisyon oranları değerlendirildiğinde çevrede yaygın olarak görülen 10 mg/kg.Cd konsantrasyonunda yaklaşık %20 seviyesinde inhibisyon olduğu tespit edilmiştir (EC20). 100-200 mg/kg.Cd konsantrasyonunda inkübasyon süresi içerisinde nitrifikasyon bakterileri üzerinde akut toksik etkisi %49'a ulaşmıştır. Ancak deney süresi sonunda nitrifikasyon bakterilerinin adaptasyon gösterdiği ve inhibisyonun azalarak %20'ler seviyesine düştüğü görülmüştür. 300-900 mg/kg.Cd konsantrasyonunda nitrifikasyon bakterilerinin %50'sinin inhibe olduğu tespit

edilmiştir. Bu seviyelerdeki Cd kirliliği yaygın olmamakla birlikte EC50 seviyesinin tespiti için deneysel çalışmalar yapılmıştır. 900 mg/kg.Cd konsantrasyonunda inkübasyon süresinin 3. Saatinden itibaren inhibisyon %50'nin üzerine çıkmıştır.





Şekil 4.3. Cd'un Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerinde Toksik Etkisi-1



Şekil 4.4. Cd'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisi-2

**Çizelge 4.3.** Cd un Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerindeki % İnhibisyon Etkisi

Saat	10	20	50	100	200	300	600	900
	mg/kg Cd	mg/kg Cd	mg/kg Cd	mg/kg Cd	mg/kg Cd	mg/kg Cd	mg/kg Cd	mg/kg Cd
1	20	29	18	11	23	20	16	25
2	nd	nd	1	17	7	22	15	32
3	12	36	30	46	42	40	45	54
4	17	19	29	41	41	43	47	55
5	4	21	45	47	49	55	52	57
6	21	36	19	25	20	43	41	49

nd: inhibisyon tespit edilmemiştir

#### 4.5. Ni'in topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisi

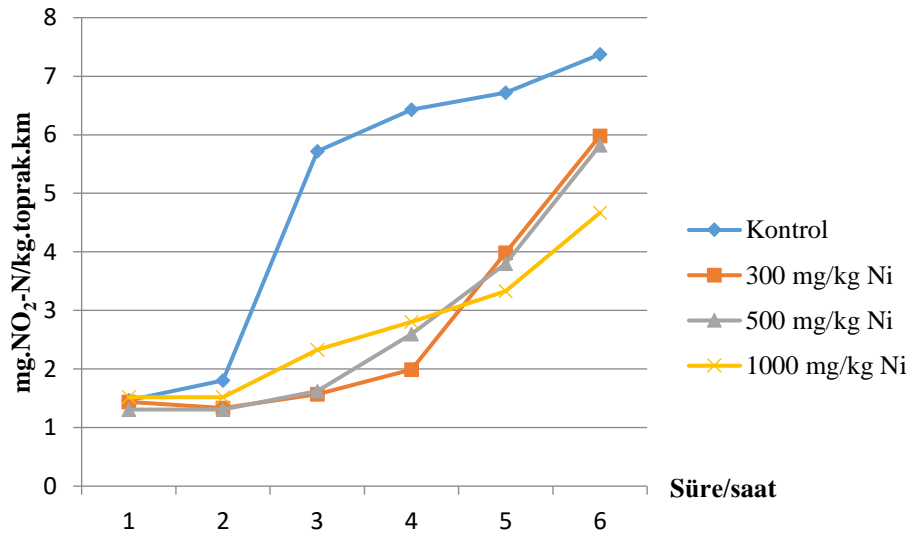
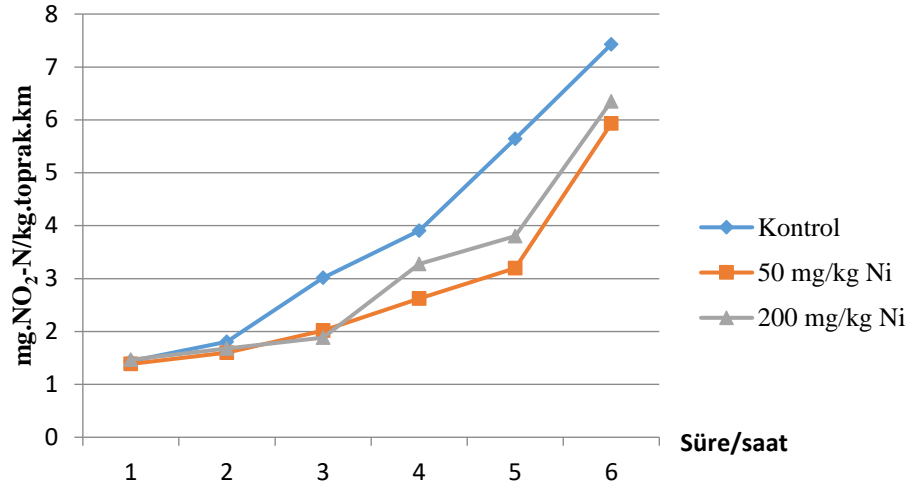
Ni'in topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerine toksik etkisini tespit edebilmek için 50-1000 mg/kg.Ni konsantrasyon aralığında deneysel çalışmalar yapılmıştır. Standart ekleme yönteminde toprakta mevcut olan Ni değeri dikkate alınmamıştır. Belirlenen Ni konsantrasyonu Her deney setinde ayrı olarak çalışılmış ve kirletici eklenmemiş kontrol toprak örneği ve 50-200 mg/kg.Ni ve 300-1000 mg/kg.Ni standardı eklenmiş toprak örnekleri için elde edilen sonuçlar Şekil 4.5 'de verilmiştir. Uygulanan konsantrasyonlar Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik Ek-1 Jenerik Kirletici Sınır Değerler Listesi ve Toprakta Kullanılabilecek Stabilize Arıtma Çamurunda Müsaade Edilecek Maksimum Ağır Muhtevaları listesi dikkate alınarak kirletici miktarları belirlenmiştir. Kontrol toprak olarak Selçuklu toprağa örneği kullanılmıştır, Kontrol toprak örneği için elde edilen ortalama NO<sub>2</sub> oluşum değeri ve çalışma aralığının tümünde elde edilen sonuçlar da Şekil 4.6'de verilmiştir. Ni'in topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisini değerlendirmek amacıyla % inhibisyon oranları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Ni'in çevrede yaygın olarak bulunan 50-500 mg/kg.Ni konsantrasyon aralığında topraktaki nitrifikasyon bakterileri üzerinde akut toksik etkisi inkübasyon süresinin sonunda yaklaşık %20'ler seviyesinde olmuştur. Artan Ni konsantrasyonları için lineer olarak değişen inhibisyon tespit edilmemiştir. Ancak inkübasyon süresi sonundaki inhibisyonlar dikkate alındığında 1000 mg/kg.Ni için inhibisyon %37'e ulaşmıştır.

**Çizelge 4.4.** Ni in Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerindeki % İnhibisyon Etkisi

Süre (saat)	50 mg/kg Ni	200 mg/kg Ni	300 mg/kg Ni	500 mg/kg Ni	1000 mg/kg Ni
1	4	nd	nd	9	nd
2	12	7	26	28	16
3	33	37	48	46	23
4	33	16	49	34	28
5	43	33	29	33	41
6	20	14	19	22	37

nd: inhibisyon tespit edilmemiştir



Şekil 4.5. Ni in Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerinde Toksik Etkisi

#### 4.6. Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisi

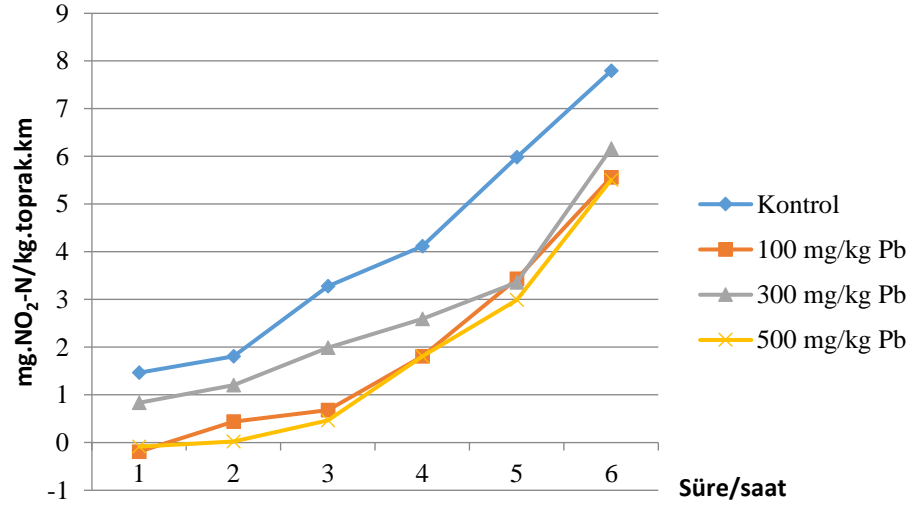
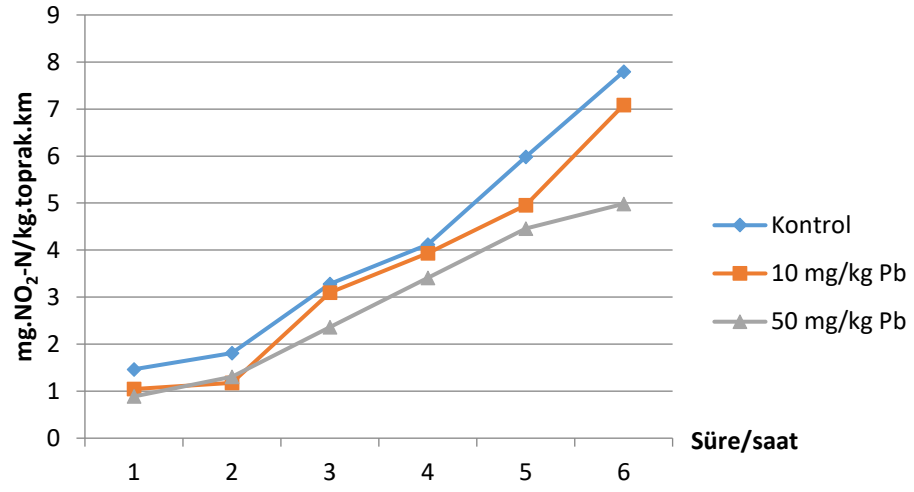
Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerine toksik etkisini tespit edebilmek için 100-500 mg/kg.Pb konsantrasyon aralığında deneysel çalışmalar yapılmıştır. Standart ekleme yönteminde toprakta mevcut olan Pb değeri dikkate alınmamıştır. Her deney setinde ayrı olarak çalışılmış ve kirletici eklenmemiş kontrol toprak örneği ve 10-50 mg/kg.Pb ve 100-500 mg/kg.Pb standardı eklenmiş toprak örnekleri için elde edilen sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir. Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisini değerlendirmek amacıyla % inhibisyon oranları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir. Uygulanan konsantrasyonlar Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirilenmiş Sahalara Dair Yönetmelik Ek-1 Jenerik Kirletici Sınır Değerler Listesi ve Toprakta Kullanılabilecek Stabilize Arıtma Çamurunda Müsaade Edilecek Maksimum Ağır Muhtevaları listesi dikkate alınarak kirletici miktarları belirlenmiştir. Kontrol toprak olarak Selçuklu toprağa örneği kullanılmıştır.

Pb'un nitrifikasyon bakterileri üzerinde akut toksik etkisi diğer metallere farklı olarak inkübasyon süresinin başında oldukça yüksek seviyelere ulaşmıştır. Ancak inkübasyon süresinin sonunda inhibisyon azalmış ve %30 seviyesinde kalmıştır. Pb'un çevrede yaygın olarak bulunan 10-50 mg/kg.Pb konsantrasyon aralığında topraktaki nitrifikasyon bakterileri üzerinde akut toksik etkisi yaklaşık %30 olmuştur. 500 mg/kg.Pb konsantrasyonunda ilk 2 saatlik inkübasyonda NO<sub>2</sub> oluşumu sifıra düşmüştür. Daha sonraki saatlerde NO<sub>2</sub> oluşumu artarak yaklaşık %30 inhibisyon gerçekleşmiştir. Bu değişim nitrifikasyon bakterilerinin adaptasyonu ile açıklanabilir.

**Çizelge 4.5.** Pb'un Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerindeki % İnhibisyon Etkisi

Saat	10 mg/kg Pb	50 mg/kg Pb	100 mg/kg Pb	300 mg/kg Pb	500 mg/kg Pb
1	29	39	93	43	99
2	35	28	76	33	99
3	6	28	79	39	86
4	4	17	56	37	56
5	17	25	43	44	50
6	9	36	29	21	29

nd: inhibisyon tespit edilmemiştir



Şekil 4.6. Pb un Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerinde Toksik Etkisi

#### 4.7. Cd, Ni ve Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde sinerjik toksik etkisi

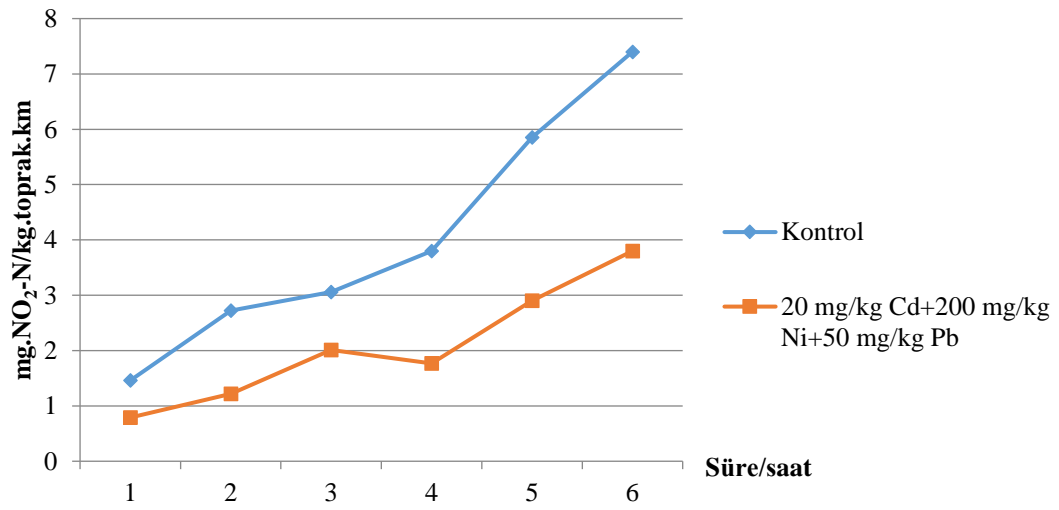
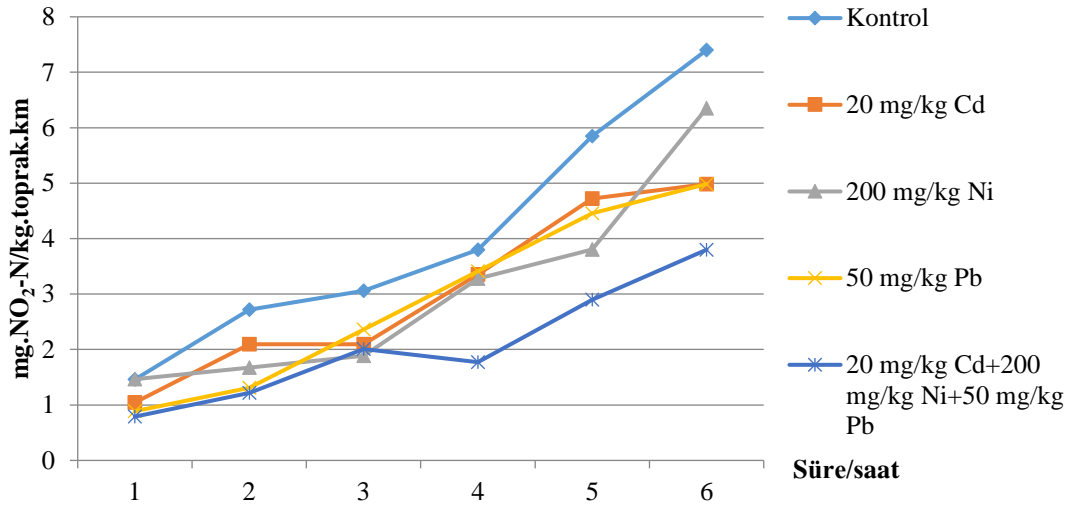
Cd, Ni ve Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerine toksik etkisini tespit edebilmek için 20 mg/kg.Cd, 200 mg/kg.Ni ve 50 mg/kg.Pb birlikte eklenmiş toprak örneklerinde deneysel çalışmalar yapılmıştır. Standart ekleme yönteminde toprakta mevcut olan metal değerleri dikkate alınmamıştır. Her deney setinde ayrı olarak çalışılmış ve kirletici eklenmemiş kontrol toprak örneği ve sinerjik etki çalışılmış toprak örnekleri için elde edilen sonuçlar Şekil 4.7'de verilmiştir. Cd, Ni ve Pb'un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisini değerlendirmek amacıyla % inhibisyon oranları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Uygulanan konsantrasyonlar Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik Ek-1 Jenerik Kirletici Sınır Değerler Listesi ve Toprakta Kullanılabilecek Stabilize Arıtma Çamurunda Müsaade Edilecek Maksimum Ağır Muhtevaları listesi dikkate alınarak kirletici miktarları belirlenmiştir. Kontrol toprak olarak Selçuklu toprağa örneği kullanılmıştır.

Cd, Ni ve Pb'un çevrede yaygın olarak bulunan konsantrasyon seviyelerinde sinerjik olarak oluşturduğu etkinin inkübasyon süresi boyunca yaklaşık olarak %50 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Nitrifikasyon bakterilerinin %50'sinde akut toksik etki yaratan bu metaller bakterilerin çoğalmasını ve toprakta verimliliğin bir göstergesi olan nitrifikasyonu engellemiştir.

**Çizelge 4.6. Cd, Ni ve Pb un Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerinde % İnhibisyon Etkisi**

Saat	20 mg/kg Cd	200 mg/kg Ni	50 mg/kg Pb	Cd, Ni ve Pb
1	28	nd	39	nd
2	23	38	52	55
3	32	38	23	34
4	12	14	10	53
5	19	35	24	50
6	33	14	33	49

nd: inhibisyon tespit edilmemiştir



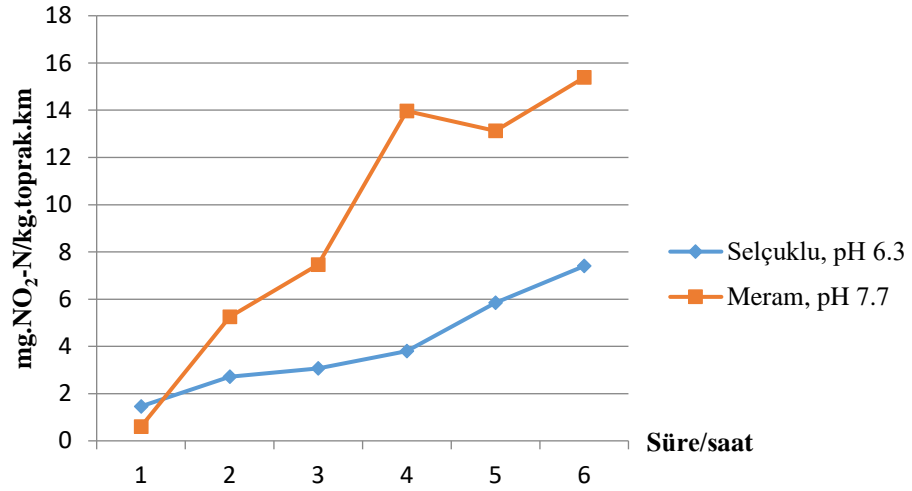
Şekil 4.7. Cd, Ni ve Pb un Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerinde Sinerjik Toksik Etkisi

#### 4.8. Matriks Etkisi

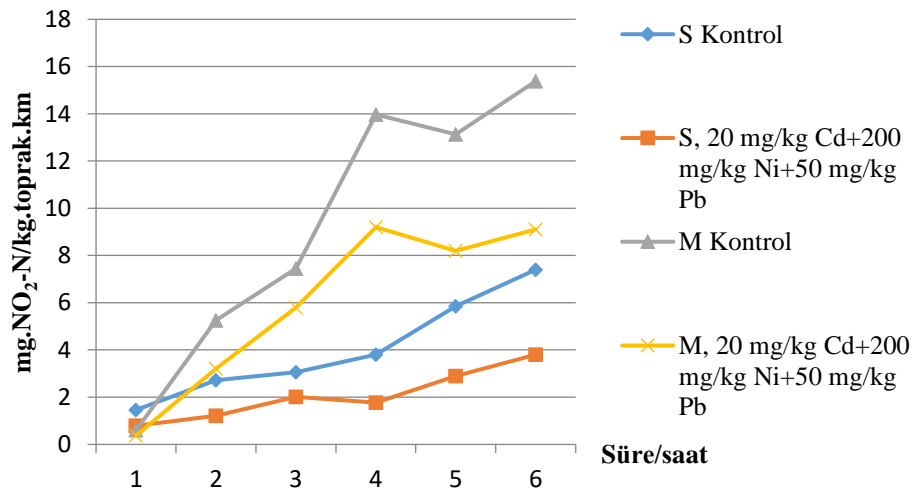
Selçuklu (S) ve Meram (M) toprak örnekleri ile matriks etkisi çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.8’de verilmiştir. Toprak örneklerinin nitrifikasyon potansiyellerinin birbirinden oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir. S-toprağının nitrifikasyon potansiyeli 6 saatlik inkübasyon süresinin sonunda ortalama 7.4 mg.NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km seviyesinde iken, M-toprağının nitrifikasyon potansiyeli 6 saatlik inkübasyon süresinin sonunda 15.3 mg.NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km seviyesine ulaşmıştır.

İki toprak örneği arasındaki temel fark pH değerleridir. S-toprağı pH 6.3 iken M-toprağı pH 7.7’dir. Yapılan çalışmalar pH’ın toprağın nitrifikasyon potansiyelini en çok etkileyen faktör olduğu ortaya konmuştur. Smolders ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada toprak pH değeri asidikten nötrale doğru değiştikçe nitrifikasyon potansiyeli yükselmiştir. pH 3.6 olan toprakta 0.4 mg.N/kg.gün iken pH 7 olan toprakta 2 mg.N/kg.gün oluşum gerçekleşmiştir. Sauve ve ark. (1999) tarafından çalışılan topraklarda pH 4.54 olan toprağın (OM:%2.91) nitrifikasyon potansiyeli 25 µmol/kg.gün iken pH 7.84 olan toprağın (OM:%2.55) nitrifikasyon potansiyelinin 303 µmol/kg.gün olduğu tespit edilmiştir. pH 3 ve pH 3.4 olan iki toprak örneğinde nitrifikasyon dedeksiyon limiti olan 0.2 mgNO<sub>3</sub>/kg.gün’ün altında kalmıştır (Smolders ve ark. 2004). pH 8’in üzerine çıktıkça da nitrifikasyon inhibe olmaktadır. pH6’nın altındaki asidik topraklarda ve aynı zamanda yüksek pH’a sahip topraklarda nitrifikasyonun düşük olduğu tespit edilmiştir. Nitrifikasyon için optimum pH aralığının 6,5-7,5 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Yüksek pH’ta nitrifikasyonun inhibe olması nedeni NH<sub>4</sub> toksisitesi veya metallerin çözünürlüğünün artmasıdır. Metallerin çözünürlüğünün artması ile birlikte pH dengesi değişmekte ve pH değeri 8 in üzerine çıktığında ise nitrifikasyon inhibe olmaktadır.

S ve M toprak örneklerinde, 20 mg/kg Cd, 200 mg/kg Ni, ve 50 mg/kg Pb’un oluşturduğu sinerjik toksik etki Şekil 4.9’da verilmiştir. Cd, Ni ve Pb’un topraktaki amonyum oksidasyon bakterileri üzerinde toksik etkisini değerlendirmek amacıyla % inhibisyon oranları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde S-toprağında meydana gelen % inhibisyon değerlerinin M-toprağından daha fazla olduğu görülmüştür. M-toprağının nitrifikasyon potansiyelinin daha yüksek olması nedeniyle daha düşük oranda inhibisyon gerçekleşmiş, inkübasyon süresinin sonunda yaklaşık %40 inhibisyon kaydedilmiştir.



Şekil 4.8. Selçuklu ve Meram Toprak Örneklerinin Nitrifikasyon Potansiyelleri



Şekil 4.9. Cd, Ni ve Pb'un Selçuklu ve Meram Toprak Örneklerindeki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerinde Sinerjik Toksik Etkisi

**Çizelge 4.7.** Cd, Ni ve Pb un Selçuklu ve Meram Toprak Örneklerinin Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerindeki % İnhibisyon Etkisi

Saat	S, 20 mg/kg Cd+200 mg/kg Ni+50 mg/kg Pb	M, 20 mg/kg Cd+200 mg/kg Ni+50 mg/kg Pb
1	46	38
2	55	39
3	34	22
4	53	34
5	50	38
6	49	41

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Azot, toprak canlılarının yaşaması için makro düzeyde gerekli bir besin elementidir. Karasal ekosistemin önemli bileşeni olan ototrof ve heterotrof canlılar ortamdaki azotu kullanabilmek için birbirleri ile rekabet ederler. Bu nedenle azotun doğal ekosistem içerisindeki mikrobiyolojik döngüsünde toprak canlılarının rolü oldukça önemlidir.

Ağır metaller toprağın atıksuyla sulanması, arıtma çamuru ile muamele edilmesi ve gübreleme gibi tarımsal faaliyetler ile toprağı kirletmektedir. Ağır metaller arasında toksisite potansiyeli yüksek olan ve Konya havzasında yapılan çalışmalarda yüksek seviyelerde tespit edilen Cd model kirletici olarak seçilmiştir. Cd ile birlikte bulunma potansiyeli olan Ni ve Pb'un sinerjik toksik etkisi de araştırılmıştır.

S-Toprak örneğinin nitrifikasyon potansiyeli ortalama 7.4 mg NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km olarak belirlenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gerçekleşen inhibisyon oranları değerlendirildiğinde çevrede yaygın olarak görülen 10 mg/kg.Cd konsantrasyonunda yaklaşık %20 seviyesinde inhibisyon olduğu tespit edilmiştir (EC20). 300-900 mg/kg.Cd konsantrasyonunda nitrifikasyon bakterilerinin %50'sinin inhibe olduğu tespit edilmiştir (EC50). Ni'in çevrede yaygın olarak bulunan 50-500 mg/kg.Ni konsantrasyon aralığında topraktaki nitrifikasyon üzerindeki inhibisyon etkisi inkübasyon süresinin sonunda yaklaşık %20'ler seviyesinde olmuştur. Pb'un nitrifikasyon bakterileri üzerinde akut toksik etkisi diğer metallerden farklı olarak inkübasyon süresinin başında oldukça yüksek seviyelere ulaşmıştır. Ancak inkübasyon süresinin sonunda inhibisyon azalmış ve %30 seviyesinde kalmıştır. 20 mg/kg Cd, 200 mg/kg Ni ve 50 mg/kg Pb'un sinerjik olarak oluşturduğu etkinin inkübasyon süresi boyunca yaklaşık olarak %50 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir.

S ve M toprak örnekleri ile yapılan matriks çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre toprak örneklerinin nitrifikasyon potansiyellerinin birbirinden oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir. S-toprağının nitrifikasyon potansiyeli 6 saatlik inkübasyon süresinin sonunda 7.4 mg.NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km seviyesinde iken, M-toprağının nitrifikasyon potansiyeli 6 saatlik inkübasyon süresinin sonunda 15.3 mg.NO<sub>2</sub>-N/kg.toprak.km seviyesine ulaşmıştır. Nitrifikasyon potansiyeli daha yüksek olan M-Toprağında ağır metallerin sinerjik toksik etkisi %40 seviyesinde gerçekleşmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen veriler, nitrifikasyon potansiyeli yüksek olan topraklarda ağır metallerin toksik etkisinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

İki toprak örneği arasındaki temel fark pH değerleridir. S-Toprağı pH 6.3 iken M-Toprağı pH 7.7'dir. Yapılan çalışmalar pH'ın toprağın nitrifikasyon potansiyelini en çok etkileyen faktör olduğu ortaya konmuştur. Toprak pH değeri asidikten nötre doğru arttığında nitrifikasyon potansiyeli de artmaktadır. Nitrifikasyon bakterileri için optimum pH aralığının pH 7,5-9,2 olduğu saptanmıştır.

Topraktaki nitrifikasyon potansiyelini etkileyen bir diğer özellik organik madde muhtevasıdır. S-Toprağı organik madde muhtevası %0.89 iken M-Toprağı organik madde muhtevası %1.67'dir. Organik madde muhtevasındaki artış da nitrifikasyon potansiyelini artırmaktadır. Toprakta organik madde miktarının düşük olması bulunan bakterilerin biyolojik aktivitesini, fiziksel ve kimyasal toprak verimliliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum bakterilerin etkin çalışmasını inhibe etmekte; dolayısıyla bitki gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Toprakta düşük N tamponlama ve filtreleme kapasitesi ile atmosfere N kayıplarına yol açmaktadır.

S ve M toprak örnekleri toprak yapısı açısından benzerlik göstermekte olup killi özelliktedir. Toprak yapısı, toprakta suyun hareketini belirlediği için N yıkanmasını etkilemektedir. Toprak içerisindeki hava boşlukları su ile doyunca yer çekimi kuvveti etkisiyle su aşağı doğru harekete geçmekte ve böylece su içerisinde çözülmüş elementler de taşınmaktadır. İnce yapılı topraklar (killi) kaba yapılı (kumlu) topraklara göre su geçirgenlikleri daha düşük olduğu için N taşınmasına karşı daha az hassastır. Bununla birlikte killi topraklar denitrifikasyonla azot kaybına daha yatkındırlar. Denitrifikasyon yüksek toprak ıslığında ve doymuş topraklarda daha fazla olmaktadır.

Nemli topraklarda  $\text{NO}_3$  hareket halindedir ve aşırı yağış veya fazla sulama suyu uygulandığında kök bölgesinden aşağıya doğru taşınır. Yüksek oranda azotlu gübre uygulanması ile N denitrifikasyon ile kaybolmaktadır. Ağır yapılı killi topraklarda düşük havalandırma kaynaklı yüksek denitrifikasyon sebebiyle N alım etkinliği azalmaktadır. Yüksek düzeyde azotlu gübrenin kullanıldığı topraklardaki bitkilerde nitrozamin gibi kanserojen maddeler oluşmaktadır. Azotlu gübreler fazla miktarda kullanıldıklarında toprak mikroorganizmalarına tahrip edici ve öldürücü etki yapmaktadır. Topraklara aşırı azotlu gübreler verilmesi Rhizobium gibi simbiyotik azot fikse eden mikro organizmaların aktivitelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durumda havanın serbest azotundan faydalanma durumu gerçekleşmemektedir.

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, atıksuyla sulanması, arıtma çamuru ile muamele edilmesi ve gübreleme gibi tarımsal faaliyetler ile toprağı kirleten ağır metallerin toprağın tarımsal verimliliğini olumsuz yönde etkileyebileceğini ortaya

koymaktadır. Kullanılan azotlu gübrelerin yarayışlı forma dönüşmemesi hem maddi bir kayıp sağlamakta, hem de sürdürülebilir tarımı tehdit etmektedir. Çalışmada seçilen ağır metallerin yanında başka birçok organik ve inorganik kirleticinin de sinerjik bir toksik etki yaratacağı unutulmamalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, <https://www.atsdr.cdc.gov/>

Avci, H., & Devenci, T., 2013. Assessment of trace element concentrations in soil and plants from cropland irrigated with wastewater. *Ecotox Environ Safe*. 98:283-291.

Aydın, M., Kılıç, Ş., 2010. Toprak Bilimi, *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 87-101.

Aydın M.E., Aydın S., Beduk, F., Tor, A., Tekinay, A. Kolb, M., Bahadır, M., 2015. Effects of long-term irrigation with untreated municipal wastewater on soil properties and crop quality, *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 19203-19212.

Aydın, S., Ulvi, A., Beduk, F., Aydın, M., 2022. Pharmaceutical residues in digested sewage sludge: Occurrence, seasonal variation and risk assessment for soil, *Sci. Total Environ*. 817, 152864. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152864>.

Bahadır, M., Aydın, M.E., Aydın, S., Beduk, F., Batarseh, M. 2016. Wastewater reuse in middle east countries – a review of prospects and challenges. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25 (5), 1284-1304.

Baize, D., 2009. Cadmium in soils and cereal grains after sewage-sludge application on French soils. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 29 (1), 175-184.

Bayraklı, F., 1995. Toprak Kimyası, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Konya, 181,193.

Beduk, F., Aydın, S., Aydın, M.E.A., Bahadır, M., 2022. Consequences of heavy metals in water and wastewater for the environment and human health, *Water and Wastewater Management, Global Problems and Measures*, Springer, 220-227.

Beelen, P., Doelman, P., 1997. Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment, *Chemosphere* 34(3), 455-499.

Boer, W.D., Kowalchuk, G.A., 2001, Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms, *Soil Biology & Biochemistry* 33, 853-866.

Cancela, R., Gonzales, A., 2005. Total and extractable nickel and cadmium contents in natural soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36(1-3) 241-252.

Chaoua S, Boussaa S, El Gharmali A, Boumezzough A, 2019. Impact of irrigation with wastewater on accumulation of heavy metals in soil and crops in the region of Marrakech in Morocco, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18: 429-436.

Çelik, H., Turan, M.A., Başar, H., Katkat, A.V., 2004. Amonyumlu Gübreleme ve Nitrifikasyon İnhibitörünün Kaya Fosfatın Çözünürlüğü Üzerine Etkisi, *Uludağ Üniv.Zir.Fak.Derg*, 18(2), 97-108.

Çengel, M., 2004, *Toprak Mikrobiyolojisi*, *Ege Üniversitesi Yayını*, İzmir, 145,149.

Dong, L., Kreylos, A.L.C., Yang, J., Yuan, H., Scow, K.M., 2009. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification, *Soil Biology & Biochemistry*, China, 1612-1621.

Eroğlu, H., Usta, S., 2003. Alüviyal Bir Toprakta Amonyum-Potasyum Fiksasyon İlişkileri, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 9(1) 43-50.

Evsel ve Kentsel Arıtma Çamurlarının Toprakta Kullanılmasına Dair Yönetmelik, 03/08/2010 tarihli ve 27661 sayılı Resmî Gazete.

Geng, H., Wang, L., 2019. Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 67, 102-107.

Gidlow DA, 2004 Lead toxicity, *Occupational Medicine* 54: 76–81.

Giller, K.E., Witter, E., McGrath, S.P., 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A Review, *Soil Biol. Biochem.* 30(10/11), 1389-1414.

Giller, K.E., Witter, E., McGrath, S.P., 2009. Heavy metals and soil microbes, *Soil Biology & Biochemistry* 41, 2031–2037.

Gray, CW., Cavanagh, J.E., 2022. The state of knowledge of cadmium in New Zealand agricultural systems: 2021.

Guo, C., Wang, H., Zou, D., Wang, Y., Han, X., 2022. A novel amended nitrification inhibitor confers an enhanced suppression role in the nitrification of ammonium in soil, *Journal of Soils and Sediments*, 22, 831–843.

Haider F.U., Liqun C., Coulter J.A., Cheema S.A., Wu J., Zhang R., Wenjun M., Farooq M., 2021. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 211: 111887.

[https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/182435/mod\\_resource/content/0/11.%20Hafsa%20Toprak-%20kimyasal%20C3%B6zellikler.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/182435/mod_resource/content/0/11.%20Hafsa%20Toprak-%20kimyasal%20C3%B6zellikler.pdf) Ziyaret tarihi:04.07.2022.

[https://obs.ahievran.edu.tr/oibs/akademik/shr\\_files/FILE\\_8zt53fbdhrp111zchsmrfkg3legxu\\_duyuru.PDF](https://obs.ahievran.edu.tr/oibs/akademik/shr_files/FILE_8zt53fbdhrp111zchsmrfkg3legxu_duyuru.PDF) Ziyaret tarihi:04.07.2022

Inubushi, K., Goyal, S., Sakamoto, K., Wada, Y., Yamakawa, K., Arai, T., 2000. Influences of application of sewage sludge compost on N<sub>2</sub>O production in soils, *Chemosphere*, Japan, 329-334.

Jiang, X., Ma, Y., Yuan, J., Wright, A.L., Li, H., 2011. Soil particle surface electrochemical property effects on abundance of ammonia-oxidizing bacteria and

ammonia-oxidizing archaea, NH<sub>4</sub> activity, and net nitrification in an acid soil, *Soil Biology & Biochemistry*, China, 2215-2221.

Jibril, S.A., Hassan, S.A., Ishak, C.F., & Wahab, P.E.M., 2017. Cadmium toxicity affects phytochemicals and nutrient elements composition of lettuce (*Lactucasativa L.*). *Hindawi Advances in Agri*, 1-7.

Kabala, C., Karczewska, A., Szopka, K., & Wilk, J., 2011. Copper, Zinc and Lead Fractions in Soils Long-Term Irrigated with Municipal Wastewater. *Common Soil Sci Plan.*42(8): 905-919.

Kao, P., Huang, C.C., Hseu, Z., 2006. Response of microbial activities to heavy metals in a neutral loamy soil treated with biosolid, *Chemosphere*, Taiwan, 63-70

Karnez, E., 2010. Aşağı Seyhan ovasında buğday ve mısır üretim alanlarında azot bütçesine ilişkin girdi ve çıktıların irdelenmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 4-20.

Kızıloğlu Algan, F.T., Bilen, S., 2005. Toprak Kirlenmesi ve Biyolojik Çevre, Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. 36(1), 83-88.

Kızıloğlu, F.T., 1999. Toprak Mikroorganizmalarının Azot formları arasındaki dönüşümlere ve çevreye etkileri, *Ekoloji Çevre Dergisi*, 8(30), 27-30.

Kim, H. K., Jang, T. I., Kim, S. M., Park, S. W. 2015. Impact of domestic wastewater irrigation on heavy metal contamination in soil and vegetables, *Environmental Earth Sciences*, 73 (5), 2377-2383.

Liang, J., Chen, C., Song, X., Han, Y., & Liang, Z., 2011. Assesment of Heavy Metal Pollution in Soil and Plants from Dunhua Sewage Irrigation Area. *International Journal of Electrochemical Science.*6:5314 – 5324.

Liu, P., Wu, Z., Luo, X., Wen, M., Huang, L., Chen, B., Liang, R., 2020. Pollution assessent and source analysis of heavy metals in acidic farmland of the karst region in southern-China. *Applied Geochemistry*. 123(4):104764.

Ma,Y., Wang, Y., Chen, Q., Li, Y., Guo, D., Nie, X., Peng, X., 2020. Assessment of Heavy Metal Pollution and The Effect On Bacteria Community in Acidic and Neutral Soils. *Ecological indicators* 117:106626.

Mapanda, F., Mangwayana, E., Nyamangara, J., Giller , K., 2005 The effect of long term irrigation using wastewater on heavy metal contents of soils under vegatables in Harare Zimbabwe. *Agr Ecosytem Environment* 107(2-3):151-165.

Marschner, H.,1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, (2) 379-396.

Odlare, M., Pell, M., 2009. Effect of wood fly ash and compost on nitrification and denitrification in agricultural soil, *Applied Energy* 86, 74–80.

Pahlsson, A.M.B., 1989. Toxicity of Heavy Metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to Vascular Plants. *Water Air Soil Pollution*, 47, 287-319.

Ruyters, S., Mertens, J., Springael, D., Smolders, E., 2010. Stimulated activity of the soil nitrifying community accelerates community adaptation to Zn stress, *Soil Biology & Biochemistry*, Belgium, 766-772.

Sauve, S., Dumestre, A., McBride, M., Gillett, J.W., Berthelin, J., Hendershot, W., 1999. Nitrification potential in field-collected soils contaminated with Pb or Cu, *Applied Soil Ecology*, USA, 29-39.

Shi, J., Du, P., Luo, H., Wu, H., Zhang, Y., Chen, J., Wu, M., 2022. Soil contamination with cadmium and potential risk around various mines in China during 2000-2020. *Environmental Management*. 310, 114509.

Shomar, B., Kalavrouziotis, I.K., Koukoulakis, P.H., Yahya, A., 2013. Soil Pollution Indices Under the Effect of Sludge, *Water Air Soil Pollut.* 224:1436.

SM 4500-NO<sub>2</sub>- B. Colorimetric Method (Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 23rd Edition 2017).

Smolders, E., Brans, K., Coppens, F., Merckx, R., 2001. Potential nitrification rate as a tool for screening toxicity in metal-contaminated soils, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (11), 2469–2474.

Smolders, E., Buekers, J., Oliver, I., Mclaughlin, M.J., 2004. Soil properties affecting toxicity of zinc to soil microbial properties in laboratory-spiked and field-contaminated soils, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (11), 2633–2640.

Song Y., Jinc L., Wang X., 2017. Cadmium absorption and transportation pathways in plants, *International Journal of Phytoremediation* 19(2): 133–141.

Stratton, M.L., Barker, A.V. and Rechcigl, J.E., 1995. *Compost In: Rechcigl, J.E., Ed., Soil Amendments and Environmental Quality*. Lewis Publishers, New York.

Sucha, V., Sirahova, V., 1991. Potassium and Ammonium Fixation in Smectites by Wetting and Drying Clays, *Clay Miner*, 556-559.

Suszek-Łopatka, B., Maliszewska-Kordybach, B., Klimkowicz-Pawlas, A., Smreczak, B., 2019. The drought and high wet soil condition impact on PAH (phenanthrene) toxicity towards nitrifying bacteria, *Journal of Hazardous Materials*, 368, 274-280.

Suteja, Y., Purwiyanto, A.I.S., 2018. Nitrate and phosphate from rivers as mitigation of eutrophication in Benoa bay, Bali-Indonesia, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 162, 012021.

Sverdrup, L.E., Ekelund, F., Krogh, P.H., Nielsen, T., Johnsen, K., 2002, Soil Microbial Toxicity of Eight Polycyclic Aromatic Compounds: Effects on Nitrification, The Genetic Diversity of Bacteria, and the Total Number of Protozoans, *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(8), 1644-1650.

Şimşek, T., Kalkancı, N., & Büyük, G., 2021. Tarım Topraklarındaki Ağır Metallerin Kirlilik Düzeylerinin Belirlenmesi Osmaniye Örneği. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*. 26 (1):106-116.

Tang, Q., Xia, L., Ti, C., Zhou, W., Fountain, L., Shan, J., Yan, X., 2020. Oxytetracycline, copper, and zinc effects on nitrification processes and microbial activity in two soil types, *Food Energy Secur.*9:e248.

Toprak Kirliliği Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik, 8/6/2010 tarihli ve 27605 sayılı Resmî Gazete.

Vig, K., Megharaj, M., Sethunathan, N., Naidu, R., 2003. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. *Advances in Environmental Research* 8, 121–135.

Wang, Y., Ke, X., Wu, L., Lu, Y., 2009. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rice field soil as affected by nitrogen fertilization, *Systematic and Applied Microbiology* 32, 27–36.

WHO/FAO, 2007. Joint FAO/WHO Food Standard Programme Codex Alimentarius Commission 13th Session. Report of the Thirty-Eight Session of the Codex Committee on Food Hygiene, Houston, United States of America, ALINORM 07/30/13.

Wilson, D.O., 1976. Nitrification in three soils amended with zinc sulfate, *Soil Biology & Biochemistry*, Great Britain, 277-280.

Yaylı, B., Kılıç, İ., 2020. Süt Sığırı İşletmelerinin Küresel Isınma Potansiyelinin Tier-1 Yöntemi ile Tahminlenmesi, *Uluslararası Biyosistem Müh Derg.* 1(2):79-86.

Zhang, H., Reynolds, M., 2019. Cadmium exposure in living organisms: A short review, *Science of the Total Environment* 678: 761-767.

Zhenghu, D., Honglang, X., 2000. Effects of soil properties on ammonia volatilization, *Soil Science and Plant Nutrition*, 46(4), 845-852.