



T.C.

**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Pseudomonas putida* NRRL B-13 SUŞU TARAFINDAN KSİLENİN
BİYOLOJİK YIKIMININ OPTİMİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sadi SEZGİNER

(201392041031)

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Musa SARİ

SIVAS

2019

Sadi SEZGİNER'in hazırladığı ve "*Pseudomonas putida* NRRL B-13 Suşu Tarafından Ksilenin Biyolojik Yıkımının Optimizasyonu" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı Doç. Dr. Musa SARI
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi



Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Şeker DAĞ
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi



Jüri Üyesi Prof. Dr. Süleyman AYDIN
Fırat Üniversitesi



Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özlem Pelin CAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisans Üstü Tez Yazılım Kılavuzu (Yönerge) ' da belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.





Bütün hakları saklıdır.
Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

Sadi SEZGİNER, 2019

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılımı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tezin herhangi bir bölümünü Cumhuriyet üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

11.09.2019

Sadi SEZGİNER

ÖZET

***Pseudomonas putida* NRRLB-13 SUŞU TARAFINDAN KSİLENİN BİYOLOJİK YIKIMININ OPTİMİZASYONU.**

Sadi SEZGİNER

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Musa SARİ

2019; xv + 34 sayfa

Petrol ve türevleri günlük hayatımızın neredeyse tamamında kullanılmakta, hayatımızın vazgeçilmezi olmaktadır. Bu üretim zincirinde oluşan atık türleri, üretim proseslerinin yarattığı çevresel etkiler ve üretim atıklarının bertaraf yöntemleri değerlendirilmiş, ürünlerin kullanımı sonrası oluşan atıkların geri dönüşüm uygulamaları irdelenmiş ve geri dönüşümün gerekliliği ele alınmıştır.

Bu çalışma, endüstriyel aromatik kirleticilerden birisi olan ksilenin, biyolojik yıkım gerçekleştiren mikroorganizmalardan biri olan *Pseudomonas putida* NRRLB-13 suşu ile biyodegradasyonunu sağlamaktır.

Pseudomonas putida NRRL B-13 suşları aktif duruma getirilerek glukoz içeren besiyeri ortamında iki nesil çoğalması sağlandı.

250 ml'lik besiyeri ortamına 4Mm ksilen eklendi ve besiyerleri otoklav edildi. Otoklav edilen besiyeri ortamına (250 ml) 4 ml 2. nesil bakteri ekimi yapıldı. Besiyeri ortamından ilk andan itibaren 2 ml örnek alınarak 600 nm dalga boyunda her 4 saatte bir spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı, absorbans değerlerinde kademeli olarak artış görüldü, bu da bize bakterilerin ürediğini ve bakteriler tarafından ksilenin enerji kaynağı olarak kullanıldığının bir göstergesidir.

8 mM ksilen içerikli bakteri kültür ortamında 260 nm'de , 96 saatlik zaman sürecinde 4 saatte bir ksilen absorbans değerleri ölçüldü. Ksilen absorbans değerleri kademeli olarak azaldı. Bu da *Pseudomonas putida* bakterilerinin ksileni kullandığını net bir şekilde göstermiş oldu.

8 mM ksilen içerikli bakteri kültürünün 600 nm 30 °C 'deki absorbans değerleri ile zamana bağlı değişim değerlerine bakıldığında sıcaklığın düşmesinin bakteri üremesini olumsuz etkilediği görüldü.

MgCl₂ içeren ve MgCl₂ içermeyen besiyerlerinde absorbands değerlerine bakıldığında MgCl₂ içeren ortamda absorbandsın daha hızlı azalması MgCl₂'ün ksilen yıkımında etkili olduğunu göstermektedir. CaCl₂ 'ün ise ksilen yıkımı üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir. CaCl₂ içeren ortamda absorbandsı CaCl₂ 'ün arttırdığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas sp.* , ksilen , biyodegradasyon..



ABSTRACT

Master of Science Thesis

Optimization of Xylene Biodegradation by *Pseudomonas putida* NRRL B-13 Strain

Sadi SEZGİNER

Cumhuriyet University Graduate School of Natural Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Musa SARI

2019;xv+34 pages

Petroleum and its derivatives are used in almost all of our daily lives and are indispensable in our lives. The types of waste generated in this production chain, the environmental impacts of the production processes and the disposal methods of production wastes were evaluated, the recycling practices of the wastes generated after the use of the products were examined and the necessity of recycling was discussed.

The aim of this study is to provide biodegradation of xylene which is one of the industrial aromatic pollutants and degraded by *Pseudomonas putida* NRRLB-13 which is one of the microorganisms that perform biological degradation of xylene.

Pseudomonas putida strains NRRL B-13 were activated to proliferate in the medium containing glucose for two generations.

4 mM of xylene was added to 250 ml of medium and the media were autoclaved. The autoclaved medium (250 ml) was inoculated with 4 ml of 2nd generation bacteria. Absorbance measurement was performed on the spectrophotometer every 4 hours at 600 nm wavelength by taking 2 ml sample from the medium from the first time, a gradual increase in the absorbance values was observed, which shows us that bacteria produce and xylene is used as energy source.

Xylene absorbance values were measured every 8 hours at 260 nm in bacteria culture medium containing 8 mM xylene and 96 hours time period. Xylene absorbance values decreased gradually. This clearly demonstrated that *Pseudomonas putida* bacteria were using xylene.

When the absorbance values of the 8 mM xylene-containing bacteria culture at 600 nm 30 °C and time-dependent change values were examined, it was seen that the decrease in temperature negatively affected the bacterial growth.

When the absorbance values of MgCl₂-containing and non-MgCl₂-containing media are analyzed, a faster decrease in absorbance in MgCl₂-containing media indicates that MgCl₂ is effective in xylene degradation. CaCl₂ has no effect on xylene degradation. It is thought that CaCl₂ increases the absorbance in the medium containing CaCl₂.

Key Words: *Pseudomonas sp.* xylene, biodegradation.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda yardım ve görüşleriyle emeğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç.Dr.Musa SARI' ye,

Çalışmalarım esnasında beni anlayışla karşılayarak uygun ortam hazırlayan değerli eşim Ruhiye SEZGİNER' e , çocuklarım Serhat ve Selin SEZGİNER'e çok teşekkür ediyorum.

Sadi SEZGİNER



İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
TEŞEKKÜR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1.GİRİŞ	1
1.1. Ksilen İle İlgili Genel Bilgi.....	2
1.1.1. Ksilen zehirliliği	3
1.2.Pseudomonas Cinsi Genel Özellikleri.....	6
1.2.1.Tanımı ve önemi.....	7
1.2.2.Genom yapısı.....	8
1.2.3.Hücrenin yapısı ve metabolizması.....	8
1.2.4. <i>Pseudomonas putida</i> Ekolojisi	10
2.MATERYAL VE METOD	15
2.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar	15
2.2. 1 Litrelik Glukozlu Besiyerinin Hazırlanması	16
2.3. Bakteri Ekimi (1. Nesil)	16
2.4. Bakteri Ekimi (2. Nesil)	16
2.5. Ksilen İçerikli Besiyerinin Hazırlanması	17
2.6. Ksilenli Besiyerine Bakteri Ekimi ve Absorbans Ölçümü.....	17
2.7. 7 mM Ksilen 60 ml’lik Stok Hazırlama	17
2.7.1. Standart eğri.....	18
2.8. Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm ‘de Ölçümü	18
2.9. Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 30°C ‘ de 600 nm’ de Ölçümü	18
2.10. MgCl ₂ İçeren ve MgCl ₂ İçermeyen Ksilen İçeren Besiyerinin 260 nm’ de Absorbans Ölçümü	18
2.11. CaCl ₂ İçeren ve CaCl ₂ İçermeyen Ksilen İçeren Besiyerinin 600 nm’ de Absorbans Ölçümü	19
3. BULGULAR	20
3.1.Farklı Ksilen Konsantrasyonlarının Absorbans Ölçümleri.....	21
TARTIŞMA VE SONUÇ	27
KAYNAKÇA	29
ÖZGEÇMİŞ	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ksilenin moleküler yapısı.....	2
Şekil 2 . Ksilenin biyolojik yıkımının metabolik yol	14
Şekil 3. 4 mM 'lık Ksilin İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 'deki Absorbans Değerleri ile Zamana Bağlı Gelişim Basamakları	21
Şekil 4. Farklı ksilen konsantrasyonlarının 260 nm' deki absorbans ölçümleri standart eğrisi	22
Şekil 5. 8 mM' lık Ksilin içerikli bakteri kültürünün 260 nm' deki absorbans değerleri ile zamana bağlı gelişim basamakları	23
Şekil 6. 8 mM Ksilin İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 30 oC 'deki	24
Absorbans Değerleri ile Zaman Bağlı Değişim Değerleri	24
Şekil 7. 8 mM 'lık Ksilin İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm ' deki 2 M'lık MgCl ₂ içeren ve MgCl ₂ içermeyen Absorbans Değerleri ile Değişim Basamakları	25
Şekil 8. 8 mM 'lık Ksilin İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm ' deki 2 M'lık CaCl ₂ içeren ve CaCl ₂ içermeyen Absorbans Değerleri ile Değişim Basamakları	26

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. 1 Litrelik glukozlu besiyeri ortamı için kullanılan kimyasal maddeler	16
Tablo 2. 1 Litrelik ksilenli besiyeri ortamı için kullanılan kimyasal maddeler	17
Tablo 3. 4mM'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 'deki Absorbans Değerleri	20
Tablo 4. 260 nm'de farklı ksilen konsantrasyonlarının absorbans ölçümleri	21
Tablo 5. 8 mm'lık Ksilen içerikli bakteri kültürünün 260 nm'deki absorbans değerleri	23
Tablo 6. 8 mM Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 30 °C 'deki	24
Absorbans Değerleri	24
Tablo 7. 8 mM 'lık Ksilen içerikli Bakteri Kültürünün 260 nm 'deki 2 M'lık MgCl ₂ içeren ve MgCl ₂ içermeyen Absorbans Değerleri.....	25
Tablo 8. 8 mM 'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm 'deki 2 M'lık CaCl ₂ içeren ve CaCl ₂ içermeyen Absorbans Değerleri.....	26

SİMGELER DİZİNİ

°C	: Santigrat
nm	: Nanometre
mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
M	: Molar
mM	: Milimolar
g	: Gram
ppm	: Milyonda bir (Parts Per Million)
K₂HPO₄	: Potasyum fosfat (dibazik)
(NH₄)₂HPO₄	: Amonyum fosfat (dibazik)
Mg(NO₃)₂.6H₂O	: Magnezyum nitrat hegzahidrat
MnSO₄.H₂O	: Mangan (II) sülfat monohidrat
FeCl₃.6H₂O	: Ferik klorid hegzahidrat
CaSO₄.2H₂O	: Kalsiyum sülfat dihidrat
CaCl₂	: Kalsiyum klorür
MgCl₂	: Magnezyum klorür

KISALTMALAR DİZİNİ

BTEX	: Benzen,tolüen,etilbenzen ve ksilen
CFTR	: Kistik fibrozis transmembran
DNA	: Deoksiribonükleikasit
OSPAR	: Kuzey Doğu Atlantik Deniz Çevresinin Korunması Konvansiyonu
PHA	: Polihidroksialkanoat
SCN	: Özel Bakım Hemşireliği
UNECE	: Birleşmiş Milletler Avrupa Ekonomik Komisyonu



1.GİRİŞ

Çevre; insanlar ve diğer canlıların yaşamları boyunca ilişkilerini sürdürdükleri ve karşılıklı etkileşim içinde buldukları fiziki, biyolojik, sosyal, ekonomik ve kültürel ortamdır (Ertekin, 2011). Bu tanım aynı zamanda iktisadi üretim faktörlerinden biri olan doğal kaynakları çevre içerisinde kabul etmektedir. Benzer bir tanıma göre çevre; fiziksel, kimyasal, biyolojik, kültürel ve sosyal-ekonomik kaynak ve değerlerin oluşturduğu kompleks bir sistemdir (Toros vd., 1997). Bu açıdan çevre ve insanın çok çeşitli ve karmaşık faaliyetler içinde bulunduğu söylenebilir. Çevre, kısaca; canlıların yaşamı üzerinde etkili olan faktörler bütünlüğü olarak ta tanımlanmaktadır (Türk, 1998). Bu kısa tanımda canlıların etkileşim içinde bulunduğu tüm canlı ve cansız faktörler çevrenin elemanları olarak kabul edilmektedir. Kapsamlı bir tanım ise Dinçer (1996) tarafından şöyle yapılmaktadır; çevre, insan faaliyetleri ve canlı varlıklar üzerinde hemen ya da süre içinde dolaylı ya da dolaysız etkide bulunabilecek fiziksel, kimyasal, biyolojik ve toplumsal etkenlerin belirli bir zamandaki toplamıdır. Buna göre çevrenin canlı öğeleri, insanlar, bitki örtüsü, hayvan topluluğu ve mikroorganizmalardır. Cansız öğeler ise iklim, hava, su ve yerkürenin yapısıdır. Canlı ve cansız öğelerin bütünü çevreyi oluşturmakta ve birbiriyle sürekli ilişki içerisinde bulunmaktadır. Çevreyi canlı ve cansız çevre olarak incelemenin yanında, niteliğine göre fiziksel ve toplumsal çevre olarak ta incelemek mümkündür. Canlıların içinde yaşadığı, varlığını, özelliğini ve niteliğini fiziksel olarak algıladığı ortama fiziksel çevre denir. Fiziksel çevre doğal ve yapay çevre olarak ikiye ayrılır. Oluşumunda insanlığın etkisinin olmadığı çevreye (dağ, deniz, göl, vb.) doğal çevre, insanın kendi amaçları doğrultusunda değiştirmiş olduğu çevreye (şehir, kasaba, baraj, vb.) yapay çevre denir. Yapay çevre yaratılmış olduğu dönemdeki toplumun bilgi, teknoloji ve toplumsal değerlerini yansıtır.

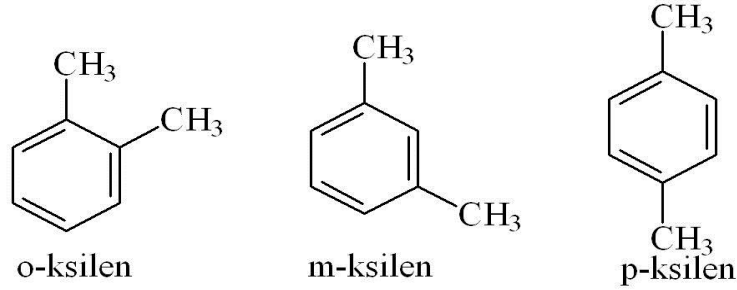
Toplumsal çevre ise insanların ekonomik, toplumsal ve siyasal ilişkilerinin tümünü içinde barındıran çevredir. Bu bakımdan toplumsal ve fiziksel çevre birbirini tamamlamaktadır (Yücel, 2003).

Çevre, sadece yaşamın sürdürüldüğü geniş bir alan değil milyonlarca canlının yaşadığı dev bir ekosistemdir. Aynı zamanda çevre, insanlığın yaşamını idame ettirmesi için gerekli olan biyolojik ve fiziksel ihtiyaçlarını karşıladığı iktisadi çevre ve geçmişten geleceğe aktarılması gereken tarihsel ve kültürel değerler bütünü de içinde barındırmaktadır (Yücel, 2003). İnsanoğlu hayatın her evresinde çevreyle doğrudan

etkileşim içinde bulunmuş, çevrenin içinde barındırdığı kaynakları kullanmış onlardan fayda sağlamış ve uzun yıllar çevreyle uyumlu bir hayat sürmüş, ancak onu hiç önemsememiştir. Çevrenin önemli bir anlam ifade etmeye başlaması, günümüzde çevrecilik ve ekoloji düşüncesinin gelişmesini sağlamış, özellikle 1980'lerden sonra çevre, insan merkezlikten çıkarak doğa merkezliliğe doğru kaymıştır. Bu da çevrenin ve çevre bilincinin yeni bir yapıya kavuşmasını sağlamıştır.

1.1. Ksilen İle İlgili Genel Bilgi

Dimetilbenzene "ksilen" denir.



Şekil 1. Ksilenin moleküler yapısı

Ksilen, endüstride ve tıbbi teknolojide yaygın olarak kullanılan aromatik bir hidrokarbondur. Petrol, kömür ve ağaç katranında doğal olarak bulunan renksiz, tatlı kokulu bir sıvı ya da gazdır. $C_6H_4(CH_3)_2$ formülüdür ve "dimetil benzen" olarak ifade edilir, çünkü iki metil grubunun bağlı olduğu altı karbon halkasından oluşur. Üç izomerik formda bulunur: orto-, meta- ve para-ksilen.

Ksilen baskı, kauçuk, boya ve deri endüstrilerinde bir solvent olarak kullanılır. Uçakta yakıt, benzin ve sigara dumanında az miktarda bulunur. Diş hekimliği alanında histolojik laboratuvarlarda ksilen, doku işleme, boyama ve örtme kayması için ve ayrıca endodontik yeniden muamelede guttapercha çözücü olarak kullanılır. Boyama prosedürlerinde, mükemmel mum alma ve temizleme özellikleri vardır.

Motorlu araç emisyonları, kentsel hava ortamında ksilenin baskın kaynağıdır.

Petrol depolama tesislerinden ve servis istasyonlarından buharlaşma ve ksilen bazı çözücüler ve tinerlerin bulunduğu ürünlerin kullanılması, ksilenin hava ortamına girmesinin diğer yollarıdır.

İşyerinde ksilen ile kirlenmiş çözücülerle rutin olarak temas eden histopatoloji teknisyenleri, yüksek düzeyde ksilen maruziyeti ihtimali yüksek olan nüfustur. Mevcut İş Güvenliği ve Sağlık İdaresi, ksilen için izin verilen maruz kalma sınırı, 8 saatlik bir zaman ağırlıklı ortalama (TWA) konsantrasyon olarak 100 ppm'dir. Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü, 100 ppm'de ksilen için maruz kalma limitlerini TWA, 10 saate kadar çalışma kayması ve 40 saat çalışma haftası ve 10 dakika süreyle 200 ppm kısa vadeli bir limit olarak belirlemiştir.

Mesleki maruziyetin yanı sıra, insan temasının temel yolu, sızıntı yapan yeraltı depolama tanklarının petrol ürünleri içeren toprak kirliliğinden kaynaklanmaktadır. Ksilen, toprağa, yüzey sularına veya yer altı sularına sızabilir ve burada diğer kimyasallara bölünmeden önce aylarca veya daha fazla kalabilir. Bununla birlikte, kolaylıkla buharlaştığı için çoğu havaya girer ve güneş ışığı altında daha az zararlı kimyasallara dönüşür. Çoğu kişi havadaki ksileni 0,08-3,7 ppm (milyonda parça) kokmaya ve 0,53-1,8 ppm'de suda tadmaya başlar.

1.1.1. Ksilen zehirliliği

Ksilen maruziyeti teneffüs etme, yutma, göz veya deri ile temas yoluyla oluşabilir. İlk önce bir metil grubunun oksidasyonu ve glisin ile konjugasyon yoluyla karaciğerde metabolize olur ve idrarla atılan metil hipik asit elde edilir. Ekshale edilen havada daha küçük miktarlar değişmeden elimine edilir. Akümülyasyon için düşük bir potansiyel vardır. Ksilen hem akut (<14 gün) hem de kronik (> 365 gün) maruz kalmanın sağlık etkilerine neden olur. Sağlık etkilerinin türü ve şiddeti, maruz kaldığımız kimyasalın miktarı ve maruz kaldığımız süre gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bireyler farklı maruz kalma düzeylerine farklı tepkiler de verir.

Ksilen buharı teneffüsünün temel etkisi, baş ağrısı, baş dönmesi, mide bulantısı ve kusma gibi belirtilerle merkezi sinir sisteminin depresyonudur. Aşağıda listelenen etkiler, yaklaşık 100 ppm hava seviyesine maruz kalma ile ortaya çıkmaya başlayabilir.

Ksilenin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisi, nöronal membranda ksilen'in lipozo-çözünürlüğüne atıfta bulunmaktadır. Ksilenin, normal nöronal fonksiyon için gerekli

olan proteinlerin etkisini ya membran proteinlerinin işlev gören lipid ortamının parçalanmasıyla ya da membranlardaki proteinler ile doğrudan etkileşimde bulunarak bozduğu ileri sürülmüştür. Ksilen toksisitesinden metil benzaldehit gibi ara madde sorumlu olabilir. Ksilenin mikrozomal enzim sistemleri ile oksidasyonu, beyinde ortaya çıkabilir. Ksilen maruziyetini takiben çeşitli beyin bölgelerinde çeşitli nörotransmitterlerin ve lipid kompozisyon düzeylerindeki değişiklikler gözlemlenmiştir. Bunların ksilenin direkt etkilerini temsil edip etmediği veya spesifik olmayan merkezi sinir sistemi depresyonundan kaynaklanan ikincil değişiklikler olup olmadığı belirsizdir.

Uzun süreli maruz kalma, baş ağrısı, sinirlilik, depresyon, uykusuzluk, ajitasyon, aşırı yorgunluk, titreme, konsantrasyonun bozulması ve kısa süreli hafızaya yol açabilir. Bu durum bazen genel olarak "organik çözücü sendromu" olarak adlandırılır. Ne yazık ki, bu etkilerin incelenmesinde ksileni diğer solvent pozlarından izole eden çok az bilgi vardır.

Burun ve boğaz tahrişi 3-5 dakika sonra yaklaşık 200 ppm'de ortaya çıkabilir. Gözdeki tesadüfi sıçrama gözün yüzeyine zarar verebilir, bu da birkaç gün içinde iyileşir.

200 ppm veya daha yüksek seviyelerde ksilen'e maruz kalma akciğerleri tahriş ederek göğüs ağrısı ve nefes darlığı neden olabilir. Aşırı maruz kalma (örn. , Kapalı bir alanda) akciğerlerin sıvı ile dolması potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir durum olan pulmoner ödemle sonuçlanabilir. Bununla birlikte, tekrarlayan, düşük seviyeli maruz kalmanın akciğer üzerinde uzun süreli etkilere sahip olduğuna dair bir kanıt bulunmamaktadır.

Çok yüksek maruz kalma seviyelerinde, ksilen karaciğer ve böbrekleri yaralayabilir, ancak sinir sisteminde belirgin etkiler olmaksızın gerçekleşmesi son derece düşüktür. Genellikle böyle bir hasar geri döndürülebilir. Düşük seviyedeki mesleki maruz kalma, karaciğeri ve böbrekleri etkilemez.

Ksilen maruziyetinin insanlardaki kan hücrelerini etkilediğine dair bir bulgu yoktur. Düşük kırmızı kan hücresi sayımlarının (anemi) daha önceki raporları, ksilenin benzene kontaminasyonundan kaynaklanmış olabilir.

Ksilen buharı ile (spesifik olmayan konsantrasyon) maruz kalan işçilerde, geri dönüşümlü bulantı, kusma ve mide rahatsızlığı belirtileri görülmüştür.

Ksilen, diğerk organik çözücüler gibi derinin doğal koruyucu yağlarını çözebilir. Sık veya uzun süreli cilt teması tahriş ve deri iltihabına, kuruluğa, pullanmaya ve çatlamaya neden olabilir. Hasar gören cilt kimyasalların daha fazla emilmesine izin verebilir. Ksilen sıradan giyim eşyalarına kolayca nüfuz eder ve sıradan eldiven ve botlarda sıkışabilir. Giysiye sıkışan ksilen yanıklara ve kabarmaya neden olabilir.

Ksilenin insanlarda kanserojenliği açısından yeterli kanıtlar yoktur.

Mevcut bilgiler üreme sistemine etkisini belirlemek için yetersizdir. Ksilen, maternal toksisite yokluğunda, hayvanlarda gecikmiş ossifikasyon ve davranışsal etkiler gibi fetotoksik etkiler üretmiştir. Bir kadın tarafından teneffüs edilen ksilen gelişmekte olan bir fetusa ulaşabilir ve anne sütünü kirletebilir.

Ksilen, BTEX kirleticiler grubunun üyesidir. BTEX, benzene ilişkin bir grup kimyasalın tanımlanması için kullanılan terimdir. Buna çeşitli bileşikler dahildir, toluen (metil benzen), etil benzen, ksilenler ve benzen. Bu bileşikler genellikle kolaylıkla buharlaşan renksiz tatlı kokulu sıvılardır. Organik çözücülerle iyi karışırlar, ancak suya iyi karışmazlar (havaya buharlaşmadan önce yüzeye çıkabilirler). BTEX bileşikleri, uçucu organik bileşikler (VOC) olarak bilinen bileşik grubunun bir parçasıdır.

BTEX, kimyasallar, kauçuk ve plastikler, çözücüler ve boya ve cila üretiminde kullanılır.

BTEX'in çevreye olan ana kaynakları, petrol ve kimya endüstrileri ve diğerk yanma süreçleridir. Ayrıca doğal malzemeler yakıldığında serbest bırakılırlar. İz miktarları sigara dumanında da bulunur.

BTEX bileşiklerinin özellikleri, çoğu yayılımının atmosfere döndüğü anlamına gelir, ancak bazıları (nispeten kısa bir süre içinde) topraklara ve tortullara bağlanabilir. Diğerk hava kirliliği ile reaksiyona girer ve parçalanır, yeryüzüne geri gönderilir veya fotokimyasal dumanın oluşumunda yer alırlar. BTEX'in normal çevresel konsantrasyonları çevreye zarar vermez, ancak dökülmeden kaynaklanan daha yüksek konsantrasyonlar sudaki yaşam için orta derece toksiktir. Besin zinciri boyunca önemli biyolojik birikim ve konsantrasyon olası değildir. VOC'ler olarak, BTEX bileşikleri zemin seviyesinde ozon oluşumunda yer alır ve bu da mahsul ve malzemelere zarar verebilir. BTEX'in küresel düzeyde herhangi bir çevresel etkiye sahip olduğu düşünülmemektedir.

BTEX'e normal çevresel konsantrasyonlarda maruz kalınması ve hatta kısa sürede daha yüksek konsantrasyonlarda olması, sağlığa önemli ölçüde zarar vermeyecektir. Bununla birlikte, uzun süreli yüksek konsantrasyonlara maruz kalma (genellikle mesleki konularda yaşanır) toksiktir, karaciğer, böbrekler, merkezi sinir sistemi ve gözlere zarar verir. Yer seviyesinde ozonun inhalasyonu (oluşumunda BTEX'indahil olabileceği) astım gibi solunum koşullarını daha da kötüleştirebilir.

BTEX'in benzen bölümünün salınımları, Birleşik Krallık'ta (İskoçya dahil) Ulusal Hava Kalitesi Stratejisi aracılığıyla kontrol edilir; Yüzey sularının kirlenmesi ile ilgili düzenlemeler (SI 1997/2560); Ve Kirlilik, Önleme ve Kontrol (PPC) düzenlemeleri. BTEX bileşiklerinin emisyonlarını kontrol eden Avrupa Direktifleri, su ortamındaki kirliliğe ilişkin olanlar (76/464); Ortam havası kalitesinin değerlendirilmesi ve yönetimi (96/62 / EC); Solventlerin kontrolü (99/12 / EC); Tehlikeli atıklar direktifi; Mesleki ortamlarda etilbenzen için maruz kalma sınırlarını belirleme (2000/39 / EC); İş sağlığı ve güvenliğinin korunması (98/24 / EC); Ve benzen, önerilen Su Çerçeve Direktifi için "öncelikli madde" olarak listelenmiştir. Uluslararası düzeyde, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) BTEX bileşikleri için güvenli sınırlar belirledi. Uluslararası BTEX bileşiklerinin salınımı, Kuzeydoğu Atlantik denizinin deniz çevresini koruyan OSPAR sözleşmesi ile kontrol edilir; Uzun menzilli sınır aşan hava kirliliği konusundaki UNECE sözleşmesi; ve sınır ötesi hareketler ve tehlikeli atıkların bertaraf edilmesi konusundaki Basel sözleşmesi.

Ksilen için Çevre Koruma (Hava) Politikası 2008 (PDF, 307KB) (EPP Air) hedefleri, 24 saatlik bir periyot için 0,25 ppm maksimum konsantrasyon ve 1 yıllık dönemde maksimum 0,2 ppm konsantrasyonudur.

Ulusal Çevre Koruma (Hava Zehirleri) Tedari, 24 saatlik bir ortalama 0.25 ppm'de ve yıllık ortalama 0.2ppm olarak, ksilen için bir izleme araştırma seviyesi belirlemektedir.

1.2.Pseudomonas Cinsi Genel Özellikleri

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gamma proteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: *Pseudomonas*

Species: *Pseudomonas putida*

Diğer türler, *Pseudomonas ovalis* , *Pseudomonas arvilla* , *Arthrobacter siderocapsulatus* , *Pseudomonas striata* , *Pseudomonas rugosa* , *Pseudomonas incognita* , *Pseudomonas convexa* , *Pseudomonas eisenbergii* , *Bacillus putidus* , *Bacillus fluorescensputidus* ve *Arthrobacter siderocapsulatus* .

1.2.1.Tanımı ve önemi

Pseudomonas putida , oksijenin bulunduğu çoğu toprak ve su ortamında bulunan, çubuk şeklindeki, gram negatif bir bakteridir. 25-30 C'de optimum bir şekilde büyür ve kolayca izole edilebilir. *Pseudomonas putida* , bitki ve bakteriler arasında karşılıklı bir ilişki bulunan bitki köklerini kolonize eden bir suş olan KT2440 da dahil olmak üzere çeşitli suşlara sahiptir. Kökün rizosferinin yüzeyi, bakterilerin kök besin maddelerinden başarılı olmasını sağlar. Buna karşılık, *Pseudomonas putida* , bitki gelişimini uyarır ve bitkileri patojenlerden korur. *Pseudomonas putida* , bitki gelişimini destekleme konusunda yardımcı olduğundan, araştırmacılar onu biyo-pestisitler geliştirmek ve bitki sağlığını geliştirmek için biyomühendislik araştırmalarında kullanırlar. (Espinosa-Urgel, 2000 ve ark.)

Pseudomonas putida , tolüen gibi organik çözücü maddeleri parçalayabilen ve ayrıca stiren yağı biyolojik olarak parçalanabilir plastik Polyhidroksialkanoatlara (PHA) dönüştürmek için çok çeşitli aerobik metabolizmaya sahiptir. Bu, biyolojik olarak parçalanabilir olduğu düşünülen polistiren köpüğün bozunmasına yardımcı olur. Bakterilerin organik kirleticilere karşı duydukları güçlü iştah nedeniyle, araştırmacılar *Pseudomonas putida*'yı bakteri-iyileştirilmiş toprak prosesleri araştırmaları için "laboratuvarın çalışma atölyesi" olarak kullanmaya başlamışlardır (Kowalski, 2002). Bu bakteriler benzersizdir; çünkü yakıt, kömür, tütün ve diğer organik maddelerin yakılmasından kaynaklanan tehlikeli kimyasallar olan aromatik veya alifatik hidrokarbonların parçalanmasıyla ilgili en genleri vardır. Bioremediasyonda güçlü etkisi nedeniyle *Pseudomonas putida* genomunun dizilimine büyük ilgi vardır (Marcus, 2003)

Biyoregradasyona yardımcı olmaktan başka, *Pseudomonas putida* , *Pseudomonas* cinsindeki farklı türlerin, özellikle de insanlarda önde gelen ölümcül hastalıklardan biri

olan patojen bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa*'nın araştırılmasında çok yardımcıdır. Araştırmacılar, *Pseudomonas putida*'nın, saprofitik olmasına rağmen, kusurlu bir CFTR klorür taşıyıcısı tarafından *Pseudomonas aeruginosa* ile yenileyen fırsatçı enfeksiyonlara neden olan kalıtsal bir bozukluk olan kistikfibroz üzerine yapılan araştırmalara yardımcı olabileceğini buldu. İki bakteri birbirine çok yakından ilişkilidir ve benzer sekanslı genomları paylaşmaktadır (yaklaşık% 85 paylaşılmıştır), ancak *Pseudomonas putida* virülanlığı belirleyen genlerden yoksundur. Birçok araştırmacı, patojen olmayan doğasından dolayı, *Pseudomonas sputida*'yı, çok yönlülüğü ve kullanımı kolaylığı nedeniyle araştırmaya çok faydalı bulmaktadır (Kowalski, 2002 - Marcus, 2003).

1.2.2.Genom yapısı

1995 yılında, Almanya'daki Genomik Araştırmalar Enstitüsündeki bilim adamları, *Pseudomonas putida*'nın ilk tam genom dizisini çözdü . Otuz mikrobik suş tamamlandı ve tam sıralandı, diğer yirmi beş ise sekanslandırıldı (Kowalski, 2002). Genom analizi yoluyla, *Pseudomonas sputida*'nın yaklaşık 6.2 milyon DNA baz çiftine sahip olduğu bulunmuştur. *Pseudomonas putida* arasında F1 türü, 5.959.964 nükleotid uzunluğunda ve % 61 guanin ve sitozin içeriği ve % 39 adenin ve timin içeriği içeriyor. Bir başka önemli soy ise ,KT2440 6,181,863nükleotiduzunluğundadır.(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=genome&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=21068>) *Pseudomonas putida* , çevredeki maddelerin ayrıştırılmasında enzim ailesi olan oksidatifredüktazların en az seksen geninin yer aldığı dairesel bir genom var. Dahası, genlerin çoğunluğu çevredeki kimyasal sinyalleri saptamak için olup, toksinlere hızlı bir şekilde tepki verebilir (Marcus, 2003). Bu bakteri ayrıca, kirleticilerin bozunmasında önemli bir rol oynayan sıralı TOL ve OCT plazmid gibi birçok önemli plazmite sahiptir (Muller, 1992; Vandenberg, 1983) Yine de, tüm plazmidler bioremediasyonda yararlı değildir. Bazıları *Pseudomonas putida* için bir dezavantaj oluşturur, çünkü büyüme hızını düşürür ve R68-45 plazmiti gibi işe yaramaz. (Reaney, 1983)

1.2.3.Hücrenin yapısı ve metabolizması

Pseudomonas putida , aerobik metabolizma kullanan çubuk biçiminde, nonporeform bir gram-negatif bakteridir. Bu bakteri ayrıca motilite için birden çok polar flagella'ya

sahiptir. Flamotin genellikle 2 ila 3 dalga boyundaki bir dalga formuna sahiptir. *Pseudomonas putida* , çevreye duyarlıdır ve kemoatraktanları algılayarak, flamotin rotasyon yönündeki değişiklikleri bastırır. Bu, *Pseudomonas putida*'nın bakteriyel hücrelere besin sağlayan bitkilerin tohumlarına doğru ilerlemesine rehberlik etmede çok yararlıdır (O'Connor, 1996)

Pseudomonas putida , protein ve peptid salınımı ve ticareti, protein modifikasyonu ve onarımı, protein katlama ve stabilizasyonu ve proteinlerin, peptidlerin ve glikopeptidlerin bozunması da dahil olmak üzere proteinlerin çeşitli kontrolünden dolayı çevresel stresleri tolere edebilir. ([http:// www .gem .re .kr /tigrscripts /CMR2/gene_table_section.spl?db=gpp&main_role=Protein+fate&main_role_only=1&role_order=&nt_choice=tigr](http://www.gem.re.kr/tigrscripts/CMR2/gene_table_section.spl?db=gpp&main_role=Protein+fate&main_role_only=1&role_order=&nt_choice=tigr)). Bazı önemli proteinler yol genlerini hücre durumuna bağlayan küresel düzenleyici proteinleri içerir. *Pseudomonas putida* , çok karmaşık bir metabolizma egzersizleri yapıyor; proteinler, alınan sinyalin yanı sıra, patikadaki spesifik hızlandırıcıları ve regülatörleri de belirleyen belirli bir yolu kontrol eder. Ve bir kez sinyaller alındığında, hücrenin oksijenin ve besin maddesinin bulunabilirliğini bildirir. Bir diğer önemli protein karbon metabolizmasını modüle eden sinyal iletim yolunun bir parçası olan Crc proteindir. Ayrıca biyofilm üretiminde de işlev görür (Ruiz-Manzano,2005).

Pseudomonas putida , biyolojik olarak parçalanabilir plastiklerde metabolizma işlevlerine sahiptir. *Pseudomonas putida* CA-3'teki stiren bozunması , iki yolda stireni indirgemektedir 1) vinil yan zincir oksidasyonu 2) molekülün aromatik çekirdeğine saldırmak (O'Connor, 1996). *Pseudomonas putida* ayrıca bakterilerin demir düzeylerini yükseltmesine ve aktif aktarım zincirini teşvik etmesine olanak sağlayan bir demir kenetleme bileşiği olan yan süngerlere sahiptir (Boopathi, E., Rao, K.S., 1999). *Pseudomonas putida*suşları, demir kompleksini bakteri hücresinde bulunan yanaşma hücrelerine, özellikle de pioveridinler olarak nakletmeye yardımcı olan dış zar reseptör proteinlerine sahiptir. Buradan oksijen elektron alıcı olan metabolik süreçlerde demir kullanılır (Lopez,ve Henkels,1999) . Oksijen iyi bir elektron alıcısı olarak işlev görür. Bununla birlikte, oksijen yan ürünleri, süper oksit ve hidrojen peroksit de dahil bakteriler için toksiktir. Buna karşılık, *Pseudomonas putida* , hücrenin yan ürünlerin reaktif özelliklerinden korunması için katalaz üretir (Miller, 1997)

Buna ek olarak, *Pseudomonas putida* , fiziksel ve kimyasal streslere cevap vermek için bir adaptasyon mekanizması olarak geliştirilen önemli lipidlere sahiptir. Bakteriler yağ

asidi doygunluğunu, siklopropan yağ asitleri oluşum derecesini ve cis-trans izomerleşmesini değiştirebilir. Farklı evrelerde hücre, özelliklerini çevreye daha iyi cevap verecek şekilde değiştirir. Büyümeden durağan faza geçiş esnasında, yağ asidi doyurulması ve substrat alımını arttıran daha yüksek bir zar akışkanlığı vardır, böylece hücre düzenlenir (Härtig, 2005). Tüm bu özellikler, *Pseudomonas putida*'nın topraktaki ölümcül toksinlerden kurtulduğunu ve kirlenmiş bölgelerde gelişmesine izin verir. Metabolizması, bu bakterilerin zararlı organik çözücülerini biyoremediasyon için çok önemli olan toksik olmayan bileşikler haline getirmesine izin verir.

Pseudomonas putida'nın sentetik bileşikler bozma kabiliyetine ek olarak, Entner-Doudoroff yolu gibi alternatif bir metabolik yol da kullanabilir. Bu yolda *Pseudomonas putida*, bozulmuş her glikoz molekülü için bir net ATP üretmek için glikoz ve glukonat gibi yaygın heksozları parçalamaktadır. Bu, klasik glikoliz yolunda bozulan her glikoz molekülü için üretilen iki net ATP'ye zıttır.

Entner-Doudoroff yolu glikozu, iki ara madde yoluyla glukonat-6-fosfata dönüştürerek başlar. Birinci ara madde daha sonra 2-ketoglukonata dönüştürülen glukonattır. 2-ketoglukonat daha sonra glukonat-6-fosfata dönüştürülür. Bazı durumlarda, glukonat-6-fosfatın doğrudan glukonatin fosforilasyonu yoluyla üretilebileceği unutulmamalıdır. Glukonat-6-fosfat, 2-Keto-3-deoksi-glukonat-6-fosfata (KDGP) dönüştürülür. Son olarak, KDGP, triosefosfat ve piruvata dönüştürülür. İlginçtir, *P. putida*, enerji üretmek için kullanabileceği birçok alternatif yola sahiptir ancak bunları kullanmaz ve çoğunlukla yukarıda özetlenen Entner-Doudoroff yoluna dayanır. (Vicente vd., 1973)

1.2.4. *Pseudomonas putida* Ekolojisi

Pseudomonas putida, karmaşık metabolizması ve kirliliği kontrol etme kabiliyeti nedeniyle çevre için önemlidir. Bakteri topluluklarının kontaminasyona karşı yüksek derecede çok yönlülüğü vardır ve bu da hücredeki TOL plazmitleri üzerindeki belirli katabolik dizilerle daha da artar (Reaney, ve ark.1983). Plazmidler bile çevresel stresin algılanmasında önemlidir. Çevresel streslerin bazıları, benzinin ana bileşenleri olan benzen, ksilen ve toluenden kaynaklanır ve su kontaminasyonunun başlıca kaynaklarıdır. *Pseudomonas putida*, bu organik solventlerin hidrokarbonlarını oksidatif reaksiyonlar vasıtasıyla parçalayabilir, bu nedenle biyolojik tedavide en önemli mikroplardan biri olarak *Pseudomonas putida*'yı yerleştirir, *Pseudomonas putida* ayrıca topraktaki diğer organizmalarla etkileşime girer. Risosferdeki *Saccharomyces*

cerevisiae ile böyle bir etkileşim, *Pseudomonas putida*'nın durumu üzerine faydalı etkilere yol açar. Fungi *Saccharomyces cerevisiae* , gerekli glikozu üretir ve hem *Pseudomonas putida* bakterileri için uygun olan pH değerini korur (Romano, vd.,2005). *Pseudomonas putida* ve *Saccharomyces cerevisiae*'nin karmaşık etkileşimi birlikte bitki sağlığını düzenler. Dahası, bakterilerin kendisi bol bitki yaşamının mükemmel bir koruyucusudur. Piriderin ve pyochelin gibi sideroforların üretimi, bitkileri fungal patojenlerden korur. Karşılıklı ilişki her iki ortağa da fayda sağlar. *Pseudomonas putida* , bitki tohumu ve rizosferinde yaşayabilirken, bitki de bitki patojenlerinden korunmakta ve bakterilerden hayati besin maddeleri elde edebilmektedir (Espinosa-Urgel, ve ark.,2000)

1982'de ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri *Pseudomonas putida*'yı , diğer toprakta yaşayan bakterilerden genleri klonlamak için kullanılabilir bir güvenlik sarmaşığı belirledi. Bazı *pseudomonas putida* suşları, hücre zarlarını ve insanlar ve bitkilerin duvarlarını sindiren enzimler de dahil olmak üzere bazı genlerin eksikliği nedeniyle patojen değildir.

Bununla birlikte, *Pseudomonas putida*'nın patojen olarak adlandırıldığı birkaç vaka tespit edildi. Bir vakada, kronik sinüzitli on hastadan *Pseudomonas putida* alındı. Bakteriler kulak, burun ve boğazda bulunur. Daha fazla araştırma, *Pseudomonas putida*'yı ticari bir sis önleme ürünü ve StaKleer'de açılmamış stok solüsyonlarında buldu. Bu ürünler doğru sterilize edilmediği için bakterilerle enfekte edildi. Başka bir vakada, balıkların sırtında ülserasyona neden olan gökkuşağı alabalığındaki hastalık salgınının nedeni *Pseudomonas putida* idi (Altinok, ve ark, 2006)

Pseudomonas putida saprofitik olmasına ve güvenli bir bakteri sayılmasına rağmen, diğer türler, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas syringae* gibi fırsatçı patojenlerdir *Pseudomonas aeruginosa* insan vücudundan birçok farklı yerden izole edilmiştir; Aynı zamanda idrar ve solunum yollarını da enfekte eder. Bu bakteri, pnömoni, enterit, vajinit ve mastit ile ilişkilidir. Her iki fırsatçı patojen de toksinleri serbest bırakma ve hücre membranlarını indirgeme yeteneğine ve enzimlere sahiptir, bu da *Pseudomonas putida*'nın yetersiz olduğu bir şeydir .

Pseudomonas putida , aromatik hidrokarbon stireninden Poli-3-hidroksialkanoatlar (PHA) üretme kabiliyetine sahiptir. Büyük bir çevre toksik kirletici olan stiren, endüstriyel alanlardan yılda milyonlarca kilogramda salınmakta ve insanlarda ve diğer

memelilerde spinal kanal tahrişine, kas güçsüzlüğüne ve narkoza neden olduğu bilinmektedir. PHA'ya dönüştürme, stiren kirliliğinin tedavisini sağlar.

PHA toplum için faydalı olduğu için, doku mühendisliği gibi tıbbi uygulamalarda, ayrıca antibiyotikler ve vitaminler olarak hizmet vermektedir. PHA aynı zamanda çevre dostu, yağa ve yağa dayanıklıdır ve uzun raf ömrüne sahiptir, bu nedenle plastik kaplar ve diğer atılabilir ürünler gibi günlük öğelerde de kullanılır. Stirenden farklı olarak, PHA toprağa veya suya kolayca bulaşabilir. Genellikle kullanılan polistiren köpük olan strafor, *Pseudomonas putida* karmaşık metabolizması yoluyla biyolojik olarak parçalanabilir plastik haline dönüştürülür.

Strafor ilk önce stiren yağına dönüştürülür ve burada PHA'ya dönüştürmek üzere *Pseudomonas putida*'ya getirilir . (Ward,ve ark., 2005). *Pseudomonas putida* içinde, PHA, aşırı karbon ve enerjiyi depolayan, hücre içi depolamanın vasıtası olarak dengesiz büyüme koşulları altında birikir. Bu PHA polimerleri, PHA granüllerinin yüzeyine bağlanan ve substratlar olarak hidroksalkanoik asitlerin koenzim A tioesterlerini kullanan enzim PHA sintazı ile sentezlenir (Ribera, ve ark., 2001).

Yakın tarihli bir çalışmada , filogenetik ilişkileri belirlemek için *Pseudomonas putida* suşları birbirleri ile karşılaştırılmıştır. *Pseudomonas putida* suşu KT2440 genomu tamamen dizildiğinden, diğer *Pseudomonas putida* suşlarıyla karşılaştırma için standart bir referans görevi görür. Dizilenmemiş diğer suşlarla birlikte DSM 6125, DSM 3931, DSM 291 ve S12'nin transkriptomik çalışmaları için *Pseudomonas putida* suşu KT2440 tabanlı yüksek yoğunluklu DNA mikrorarray'lerin faydasını değerlendiren bir araştırma yapmışlardır. Transkriptomik, araştırmacıların bakterilerin karmaşık metabolik ve hücrel sistemlerine dikkatli bir bakış açısı kazanmalarını sağlar. Sonuç olarak, örneğin DSM 6125 suşlarının DSM 3931 suşları ile tamamen aynı olduğunu ispatlamak gibi farklı suşlar arasında benzerlikler ortaya çıkardı (Ballerstedt, 2007).

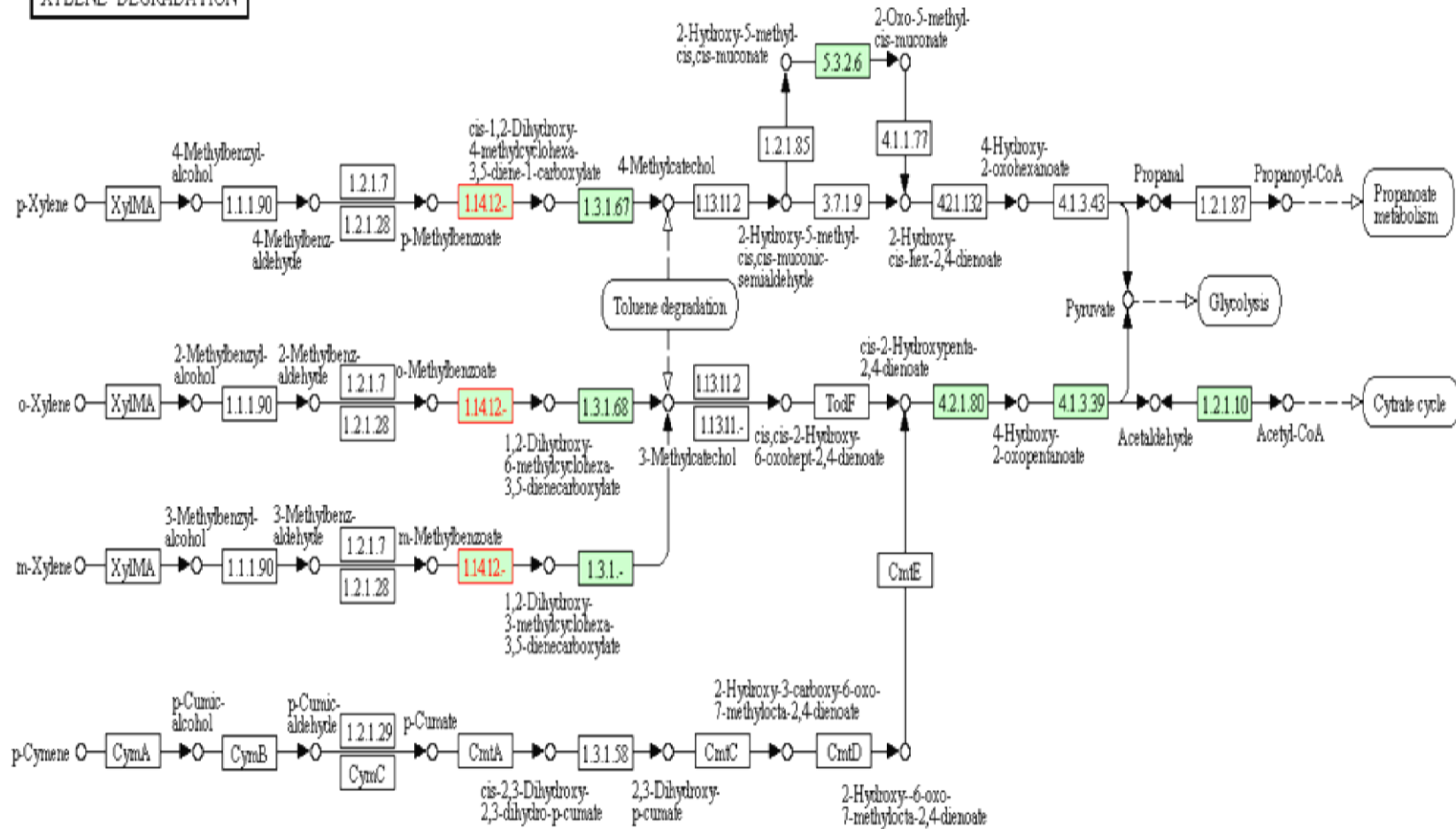
Başka bir araştırma çalışmasında , Trinitrotoluene (TNT) yanıt olarak suşların ışığın üretilip üretilmeyeceğini belirlemek için South Carolina'da *Pseudomonas putida* suşu RB1500 ve RB1501 suşu (*Pseudomonas putida* suşu KT2440'dan üretilmiştir) ve ışık üretiminin TNT'nin saptanması anlamına gelir. Teknoloji daha sonra topraklarda kara mayını tespiti için kullanılacaktır. Deney sırasında bir endişe, *Pseudomonas putida*'nın ekolojik bir tehlike oluşturup oluşturmayacağı idi; Ancak, toprak bakterilerinin

patojenik olmayan özelliklerinden dolayı araştırmacılar, çevreye veya topluma herhangi bir zarar vermeyeceği konusunda güvence aldı (TSCA.,2007).

Bir araştırma *Pseudomonas putida*'nın N-asil homoserinlakton yinelenmesi algılama düzenlemesinin Lonproteazı içerdiğini kanıtladı. *Pseudomona sputida*'nın transposonmutant bir bankasının taranması, asil homoserinlaktonlar nispi algılamanın negatif düzenlenmesinden endişe duyan regülatörleri tanımlamak için yapıldı. Deneyden sonra, üç Tn5 mutanı tanımlandı. Bir mutant, transpozonu Lonproteaz geninde bulur ve bu da yanlış katlanmış proteinlerin bozunmasında önemli bir rol oynar. Kısacası, Lonproteazı, açilhomoserinlakton üretiminin negatif bir düzenleyicisidir (Bertani, ve ark.,2007).

2005 yılında yapılan bir araştırma makalesinde, *Pseudomonas putida*'nın olgun olmayan bebeklerde klinik enfeksiyonlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Özel Bakım Hemşireliğine (SCN) kabul edilen bebekler kateterlerden beslendi. Bu kateterler, sıvıların vücuda girmesi için yolun açık kalması için heparin yıkama prosedürünü uyguladı. Bu işlem sırasında, tüp içindeki ortam koşulları, *Pseudomona sputida* 'nın çoğalmasına izin verdi. Bakterilerin bu şekilde çoğalması, bebeğin içinde kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden oldu. Herpesin antibiyotik etkisi olsa da, *Pseudomonas putida* dirençlidir ve büyüebilmektedir. Bu asseptik tekniklerin önemini ve steril ürünlerin önceden hazırlanmadan ziyade hazırlanmasının önemini göstermektedir. (Perz,2005)

XYLENE DEGRADATION



00622 6/23/14
(c) Kanehisa Laboratories

Şekil 2 . Ksilenin biyolojik yıkımının metabolik yol

2.MATERYAL VE METOD

2.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

1-Spektrofotometre (Cecil 5000 Series)

2-Plastik küvetler

3-Kuvars küvetler

4-Otoklav

5-Etöv (Termal Laboraturvar Aletleri)

6-1000'lik ve 200'lük mikropipet

7-Mikropipet uçları (Mavi, sarı, Biosphere Fitler Tips)

8-1000 ml'lik, 500 ml'lik ve 250 ml'lik erleler

9-Ksilen

10-Dipotasyum fosfat (dibazik)

11-Diamonyum fosfat

Magnezyum nitrat Hekzahidrat

12-Demir (III) Klorür Hekzahidrat

13-Kalsiyum sülfat dihidrat

14-Magnezyum klorür

15-Kalsiyum klorür

16-Glukoz

2.2. 1 Litrelik Glukozlu Besiyerinin Hazırlanması

Çalışmada ilk önce +4 °C ‘de inaktif şekilde tutulan *Pseudomonas putida* NRRL B-13 suşunun aktifliğini kazanabilmesi için glukozlu besiyeri hazırlandı. Karbon kaynağı olarak glukoz kullanıldı.

1 Litrelik glikozlu besiyeri ortamının içerdiği maddeler.

Tablo 1. 1 Litrelik glukozlu besiyeri ortamı için kullanılan kimyasal maddeler

Besiyeri için kullanılan kimyasal maddeler	Miktar (1000 ml için)
Glukoz	10 g
K ₂ HPO ₄	1.39 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	2.5 g
Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.097 g
MnSO ₄ .H ₂ O	0.025 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.005 g
CaSO ₄ .2H ₂ O	0.001 g

Kimyasal maddeler 1 Litrelik erlen içerisinde üzerine 400 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda yarım saat karıştırılarak çözünmesi beklendi. Daha sonra son hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ilave edilerek karışımın tamamen homojen olması için yarım saat daha karıştırıldı.

Homojen bir besiyeri elde edildikten sonra başka 1 Litrelik erlen alınarak karışım 500 ml olacak şekilde ikiye ayrıldı ve 105 °C ‘ de 15 dakika otoklav edildi.

2.3. Bakteri Ekimi (1. Nesil)

Pseudomonas putida NRRL B-13 stok bakteri kültüründen 3 ml alınarak ekim yapıldı. Besiyerinin kontaminasyonunu engellemek için çeker ocak altında bek alevi yanında çalışma yapıldı.

Ekim yapılan iki besiyeri de çalkalanıp +35 °C’ de etüve kaldırıldı.4 gün süreyle etüvde bekletilerek bakterilerin üremeleri sağlandı. (1. Nesil)

2.4. Bakteri Ekimi (2. Nesil)

Aynı şekilde 1 Litrelik glikoz içeren besi yeri hazırlanıp otoklav edildikten sonra 1.nesil bakteri stoğundan 5 ml alınarak çeker ocak altında bek alevi yanında ekim işlemi yapıldı.

Ekim yapılan glukoz içerikli besiyeri +35°C ‘ de etüve kaldırıldı. (2. Nesil)

2.5. Ksilen İçerikli Besiyerinin Hazırlanması

Glukoz hariç diğer kimyasalların hepsi 1 Litrelik erlen içerisine konuldu son hacim 1000 ml olacak şekilde distile su eklendi ve manyetik karıştırıcıda homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı.

Tablo 2. 1 Litrelik ksilenli besiyeri ortamı için kullanılan kimyasal maddeler

Besiyeri için kullanılan kimyasal maddeler	Miktar (1000 ml için)
Ksilen	4mm
K ₂ HPO ₄	1.39 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	2.5 g
Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.097 g
MnSO ₄ .H ₂ O	0.025 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.005 g
CaSO ₄ .2H ₂ O	0.001 g

Homojen karışım 250 ml içeriğe sahip olacak şekilde 4 tane 500 ml'lik erlenler içerisine eşit şekilde ayrılır. Her erlen içerisine 4 mM Ksilen eklenir. 120 °C'de 15 dakika otoklav edildi.

2.6. Ksilenli Besiyerine Bakteri Ekimi ve Absorbans Ölçümü

Otoklav edilen 250 ml'lik ksilen içerikli besiyerine bek alevi yanında 2.nesil bakteri kültüründen 4 ml alınarak ekim yapıldı.

Ekim yapıldıktan sonra deneye başlanılan ilk andan (0.zaman) 'da dahil olmak üzere, küvetlere 2 ml örnek konularak 600 nm'de her 4 saatte bir bakteri sayısındaki artışı görmek için spektrofotometrede ölçüm yapıldı. Her ölçümde içerisinde distile su bulunan plastik küvet kör olarak kullanıldı ve spektrofotometre de ikinci bölmeye kondu. Kör ile 600 nm' de absorbans değerini sıfırlayarak bölmeden çıkarılıp aynı bölmeye içinde örnek bulunan küvet konuldu ve 600 nm'de değeri ölçüldü.

2.7. 7 mM Ksilen 60 ml'lik Stok Hazırlama

51 µl ksilen alındı 60 ml distile su ile tamamlandı.

2.7.1. Standart eğri

1 mM ‘dan 7 mM’a 0,5 mM değer artarak 13 değer için stoktan ve distile sudan alınacak miktarlar için hesaplama yapıldı.

Kuvars küvetlerde 260 nm’ de ölçüm yapıldı. Her ölçüm kör ile sıfırlanıp değerler alındı.

2.8. Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm ‘de Ölçümü

Ksilen uçucu madde olduğu için 4 mM miktarı 8 mM ‘ a çıkarıldı.

Kuvars küvet içerisinde kör olarak kullanılan distile su ile spektrofotometrede absorbans değeri sıfırlandı. Önceden otoklavlanan 250 ml ‘ lik 8 mM ksilen içeren besiyeri ekim yapılmadan kuvars küvete konularak 260 nm’ de absorbansı ölçüldü.

Daha sonra ksilen içeren bakteri kültüründen 4 ml örnek alınarak bek alevi yanında ekim yapıldı. 35 °C ‘ de etüve kaldırıldı. 4 saatte bir spektrofotometre de kör ile ilk önce sıfırlanan absorbanslar alındı.

2.9. Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 30°C ‘ de 600 nm’ de Ölçümü

250 ml ‘lik otoklavlanan besiyerine 4 ml ksilenli bakteri kültüründen kontaminasyonu engellemek için bek alevi yanında ekim yapıldı. Yapılan ekim 30 °C ‘ de etüve kaldırıldı. 4 saatte bir spektrofotometre de kör ile ilk önce sıfırlanan absorbanslar alındı.

2.10. MgCl₂ İçeren ve MgCl₂ İçermeyen Ksilen İçeren Besiyerinin 260 nm’ de Absorbans Ölçümü

500 ml’lik 2 M MgCl₂ çözeltisi hazırlandı. Buna göre 95,3 gram MgCl₂ hassas terazide tartıldı , 300 ml distile su eklenerek mıknatıslı karıştırıcı da karıştırıldı. Son hacim 500 ml olacak şekilde distile su eklendi ve homojen karışım meydana gelecek şekilde karıştırılmaya devam edildi. 500 ml MgCl₂ çözeltisi 500 ml ‘lik 2 erlene 250 ml olacak şekilde ikiye ayrıldı. 110 °C’de 15 dakika otoklav edildi.

8 mM ksilenli besiyeri hazırlandı. 2 tane 500 ml’lik erlen içerisinde 250 ml olacak şekilde paylaştırıldı. Her iki erlene de 214 ml ksilen eklendi ve 120°C’de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavlanan erlenlerden birinin içerisine önceden otoklavlanmış 2

M'lık 5 ml $MgCl_2$ eklendi. Diğer erlene eklenmedi. Daha sonra her iki erlene de ksilenli kültürden örnek alıp bek alevi yanında 4 ml ekim yapıldı. $35^{\circ}C$ 'de etüve kaldırıldı.

260 nm ' de kör ile sıfırlanan absorbands $MgCl_2$ içeren kültürden örnek alıp ölçüm yapıldı. Aynı şekilde $MgCl_2$ içermeyen kültürden de örnek alınıp ölçüm yapıldı.

2.11. $CaCl_2$ İçeren ve $CaCl_2$ İçermeyen Ksilen İçeren Besiyerinin 600 nm' de Absorbans Ölçümü

250 ml'lik 2 M $CaCl_2$ çözeltisi hazırlandı. Buna göre 55,49 gram $CaCl_2$ hassas terazide tartıldı. Son hacim 250 ml olacak şekilde distile su eklendi ve homojen karışım meydana gelecek şekilde karıştırılmaya devam edildi. $110^{\circ}C$ 'de 15 dakika otoklav edildi.

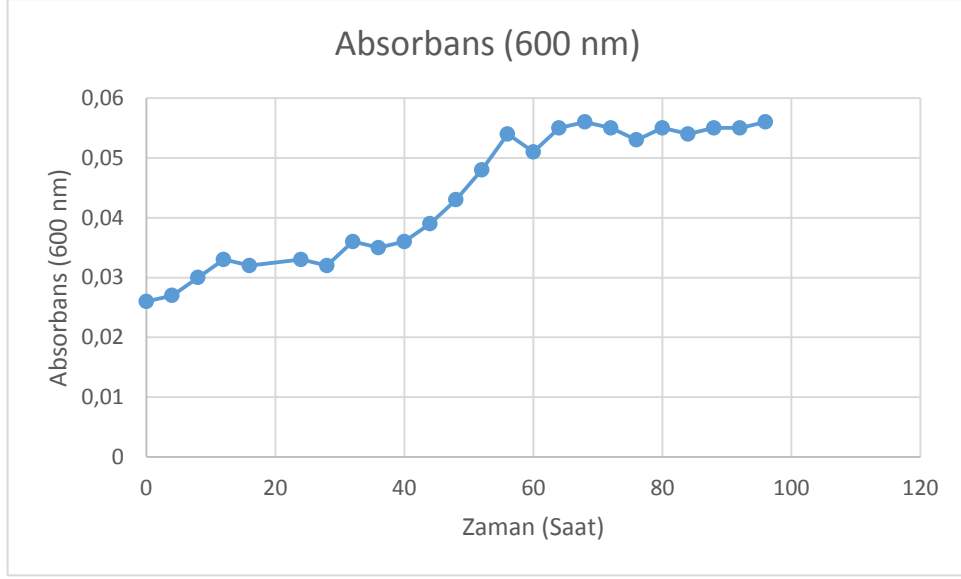
8 mM ksilen içeren besiyeri hazırlandı. 2 tane 500 ml'lik erlen içerisine 250 ml olacak şekilde paylaştırıldı. Her iki erlene de 214 mik.l ksilen eklendi ve $120^{\circ}C$ 'de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavlanan erlenlerden birinin içerisine önceden otoklavlanmış 2 M 5 ml $CaCl_2$ eklendi. Diğer erlene eklenmedi. Daha sonra her iki erlene de toluenli kültürden örnek alıp bek alevi yanında 4 ml ekim yapıldı. $35^{\circ}C$ 'de etüve kaldırıldı.

260 nm ' de kör ile sıfırlanan absorbands $CaCl_2$ içeren kültürden örnek alıp ölçüm yapıldı. Aynı şekilde $CaCl_2$ içermeyen kültürden de örnek alınıp ölçüm yapıldı.

3. BULGULAR

Tablo 3. 4mM'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 'deki Absorbans Değerleri

Zaman (saat)	Absorbans (600 nm)
0	0,026
4	0,027
8	0,030
12	0,033
16	0,032
24	0,033
28	0,032
32	0,036
36	0,035
40	0,036
44	0,039
48	0,043
52	0,048
56	0,054
60	0,051
64	0,055
68	0,056
72	0,055
76	0,053
80	0,055
84	0,054
88	0,055
92	0,055
96	0,056

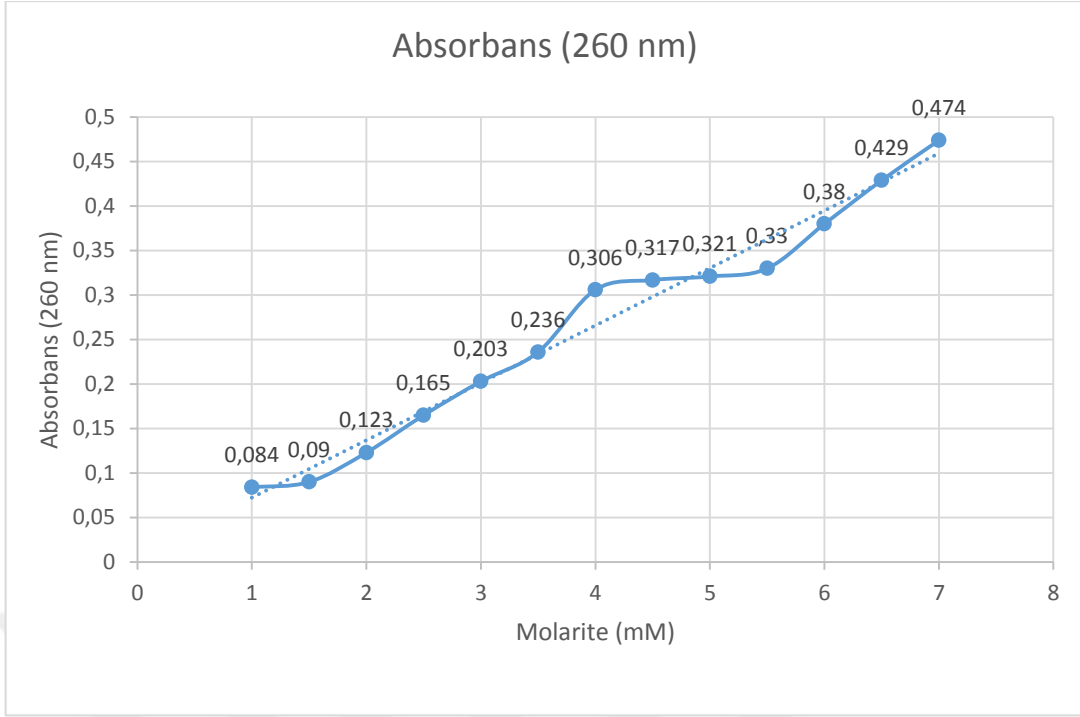


Şekil 3. 4 mM 'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 'deki Absorbans Değerleri ile Zamana Bağlı Gelişim Basamakları

3.1.Farklı Ksilen Konsantrasyonlarının Absorbans Ölçümleri

Tablo 4. 260 nm'de farklı ksilen konsantrasyonlarının absorbans ölçümleri

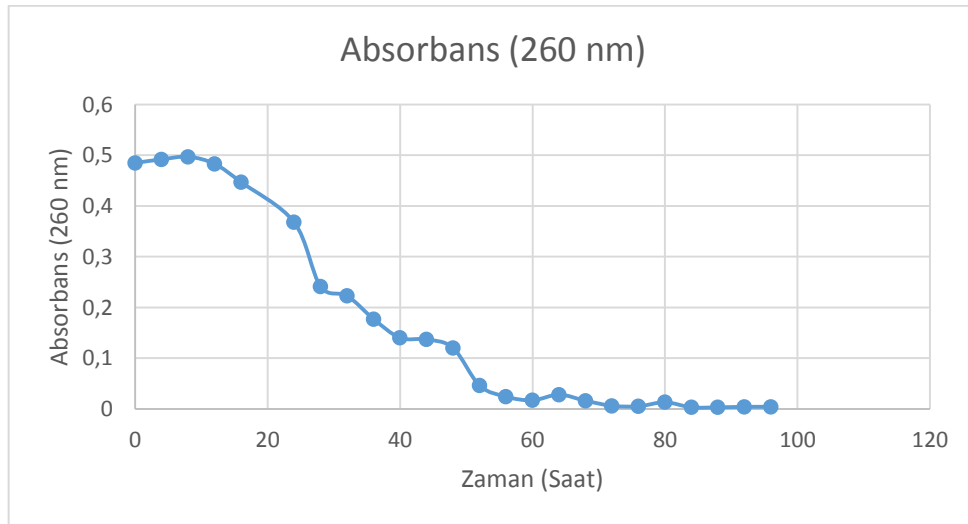
Molarite (mM)	Absorbans (260 nm)
1	0,084
1,5	0,090
2	0,123
2,5	0,165
3	0,203
3,5	0,236
4	0,306
4,5	0,317
5	0,321
5,5	0,330
6	0,380
6,5	0,429
7	0,474



Şekil 4. Farklı ksilen konsantrasyonlarının 260 nm' deki absorbans ölçümleri standart eğrisi

Tablo 5. 8 mm'lık Ksilen içerikli bakteri kültürünün 260 nm'deki absorbands değerleri

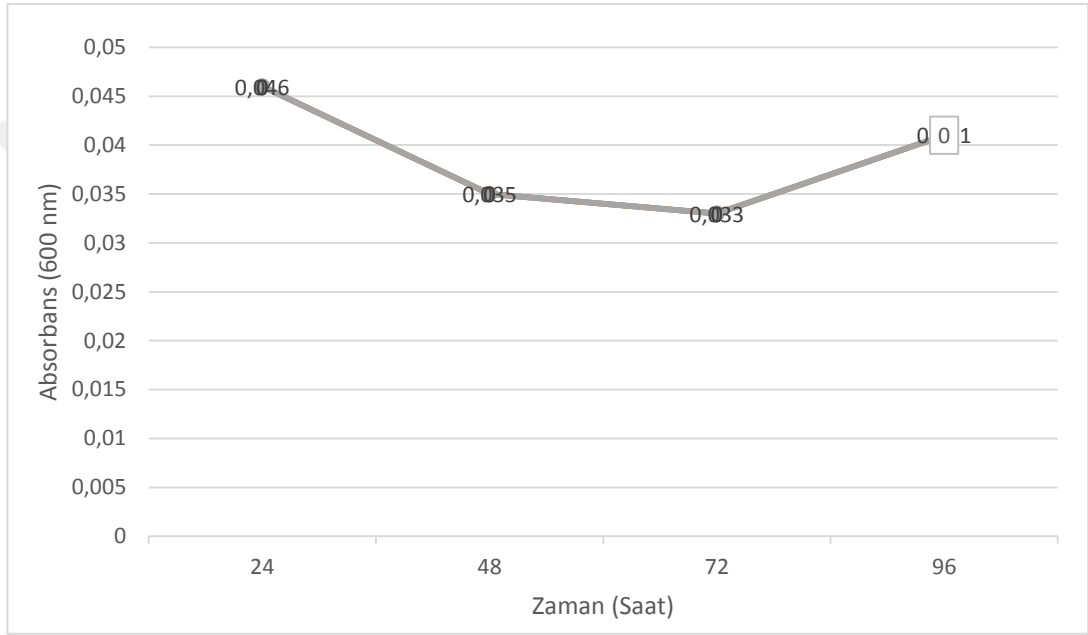
Zaman (Saat)	Absorbans (260 nm)
0	0,485
4	0,492
8	0,497
12	0,483
16	0,447
24	0,368
28	0,241
32	0,223
36	0,177
40	0,140
44	0,137
48	0,120
52	0,046
56	0,024
60	0,017
64	0,028
68	0,016
72	0,006
76	0,005
80	0,013
84	0,003
88	0,003
92	0,004
96	0,004



Şekil 5. 8 mM'lık Ksilen içerikli bakteri kültürünün 260 nm'deki absorbands değerleri ile zamana bağlı gelişim basamakları

Tablo 6. 8 mM Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 30 °C ‘deki Absorbans Değerleri

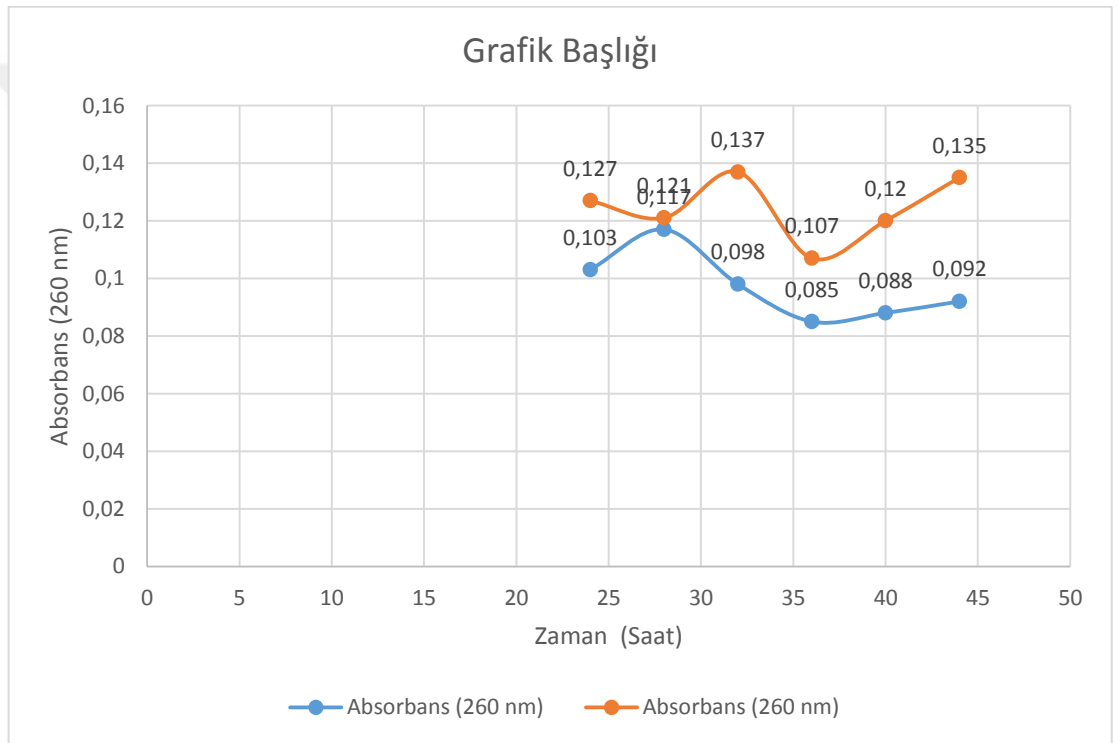
Zaman (Saat)	Absorbans (600 nm)
24	0,046
48	0,035
72	0,029
96	0,041



Şekil 6. 8 mM Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 30 °C ‘deki Absorbans Değerleri ile Zaman Bağlı Değişim Değerleri

Tablo 7. 8 mM 'lık Ksilen 'ıkerikli Bakteri K'lt'rin' 260 nm 'deki 2 M'lık MgCl₂ i'eren ve MgCl₂ i'ermeyen Absorbans Değerleri

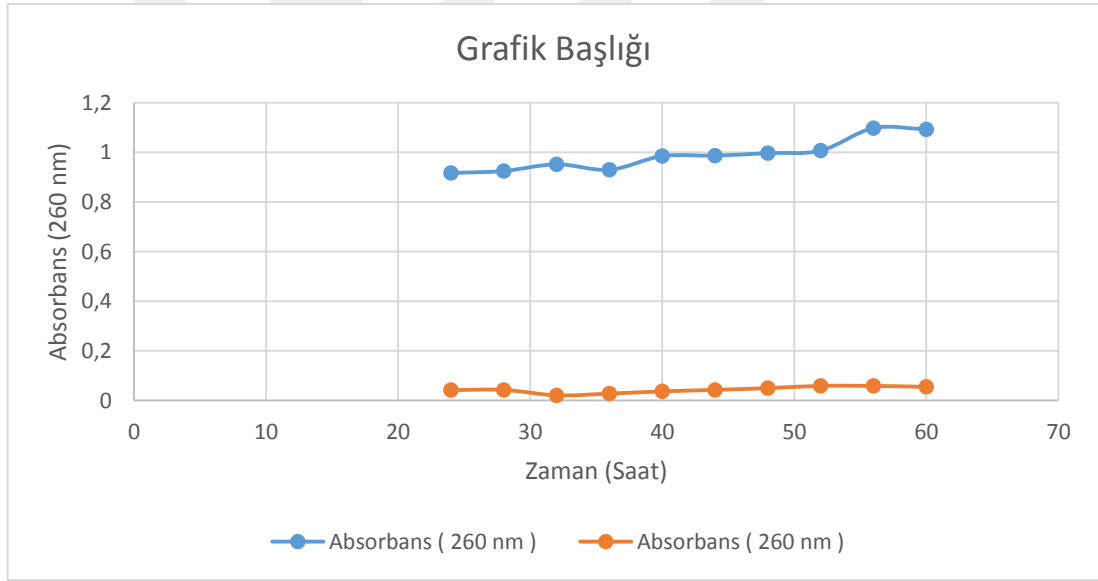
Zaman (Saat)	Absorbans (260 nm)	
	MgCl ₂ (+)	MgCl ₂ (-)
24	0,103	0,127
28	0,117	0,121
32	0,098	0,137
36	0,085	0,107
40	0,088	0,120
44	0,092	0,135



Şekil 7. 8 mM 'lık Ksilen 'ıkerikli Bakteri K'lt'rin' 260 nm 'deki 2 M'lık MgCl₂ i'eren ve MgCl₂ i'ermeyen Absorbans Değerleri ile Değişim Basamakları

Tablo 8. 8 mM 'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm 'deki 2 M'lık CaCl₂ içeren ve CaCl₂ içermeyen Absorbans Değerleri

Zaman (Saat)	Absorbans (260 nm)	
	CaCl ₂ (+)	CaCl ₂ (-)
24	0,917	0,042
28	0,925	0,043
32	0,952	0,021
36	0,930	0,028
40	0,985	0,037
44	0,987	0,043
48	0,997	0,050
52	1,007	0,059
56	1,098	0,059
60	1,093	0,055



Şekil 8. 8 mM 'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm 'deki 2 M'lık CaCl₂ içeren ve CaCl₂ içermeyen Absorbans Değerleri ile Değişim Basamakları

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pseudomonas putida NRRL B-13 suşları aktif duruma getirilerek glukozlu besi ortamında iki nesil gelişim sağlandı.

250 ml'lik besi ortamına 4Mm Ksilen eklendi ve besi yerleri otoklav edildi. Otoklav edilen besi ortamına (250 ml) 4 ml 2. Nesil bakteri ekimi yapıldı. Besi ortamından ilk andan itibaren 2 ml örnek alınarak 600 nm dalga boyunda her 4 saatte bir spektrofotometrede bakteri ölçüm yapıldı, elde edilen bulgularda da görüldüğü gibi ortama karbon kaynağı olarak besi yerine sadece ksilen verilince *Pseudomonas putida* NRRL B-13 suşu ksileni parçalarken ortamda üremeleri için enerji alacağı başka madde olmadığından ilk önce bakteri üremesi olmadı durağan faz seyir etti (Lag Fazı). Bu fazda hücreler yeni besi ortamına veya diğer koşullara adapte olurlar ve üremeleri için gerekli yeni bileşenler , enzimler sentezlenir. Ksilen yavaş yavaş parçalanmaya başladıktan sonra bakteriler enerji alıp üremeye başladıkları için bakteri sayısı logaritmik olarak artmaya başladı (Log Fazı). Besiyerinde ki ksilen sürekli parçalanarak zamanla miktarı azalmaya başladı ve bakterilerin toksik maddeleri ile besi ortamının PH'ı değişmeye başladığı için bakterilerde üreme durumu yavaşladı duraklama fazına geçildi (Durağan Faz). Karbon kaynağı olarak kullanılan ksilen *Pseudomonas putida* tarafından parçalandıkça ortamda miktarı zamanla azaldı. Ksileni karbon kaynağı olarak kullanan bakteriler ne kadar çok ksileni parçalarlarsa o kadar çok enerji elde ederler ve o oranda üreyerek sayılarının artması gözlemlenir. Bakteri sayısının artması ile absorbansları da o oranda artma gösterdi (Tablo 3)

1 mM ' dan 7 mM 'a kadar 0,5 mM değer arttırılarak 260 nM de ksilen konsantrasyonları absorbans ölçümleri yapıldı. Absorbans değerlerinin kademeli olarak arttığı görüldü. (Tablo 4)

8 mM Ksilen içerikli bakteri kültür ortamında 260 nm'de , 96 saatlik zaman sürecinde 4 saatte bir ksilen absorbans değerlerine bakıldı. Ksilen absorbans değerleri kademeli olarak azaldı. Bu da *Pseudomonas putida* bakterilerinin ksileni kullandığını net bir şekilde göstermiş oldu. (Tablo 5)

8 mM Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 600 nm 30 °C 'deki absorbans değerleri ile zaman bağlı değişim değerlerine bakıldığında sıcaklığın düşmesinin bakteri üremesini olumsuz etkilediği görüldü. Optimal sıcaklık, hücre içinde enzimlerin aktivitesi için de genellikle, uygun kabul edilir. Sıcaklık arttıkça veya azaldıkça, enzim aktivitesinde de

değişiklik oluşacağından, metabolizma üzerine olumsuz yönde etkiler. *Pseudomonas putida* NRRL B-13 suşunun en iyi gelişme gösterdiği sıcaklık değeri 35 °C 'dir. Bu nedenle 30 °C ' de yapılan deneyde üremelerinde artma göstermemiştir. Ortamdaki karbon kaynağı ksilendir. Ksilen parçalanmadan enerji elde edilemez ve üreme sağlanamaz. *Pseudomonas putida*'daki ksileni yıkan enzimler optimal sıcaklık değerinin biraz altında fazla aktif duruma geçmedikleri için ksilen parçalanması ve enerji eldesi az olmuştur. Dolayısıyla ortamdaki bakteri sayısında da artış gözlemlenmedi .(Tablo 6)

Bazı enzimlerin aktif hale gelmeleri için protein yapısında bulunmayan metal iyonlarından oluşan ve kofaktör adı verilen yan gruplara ihtiyaç duyulur. Kalsiyum, magnezyum, potasyum, çinko gibi mineraller kofaktör olarak bazı enzimlerin aktiviteleri için şarttır. Bu çalışmada ksilenin parçalanmasının artırılmasının gözlemlenmesinde kofaktör olarak MgCl₂ ve CaCl₂ kullanıldı. 8 mM 'lık Ksilen İçerikli Bakteri Kültürünün 260 nm 'deki 2 M'lık MgCl₂ içeren ve MgCl₂ içermeyen Absorbans değerlerine bakıldığında , MgCl₂ içeren ortamda absorbansın daha hızlı azalması MgCl₂ ün ksilen yıkımında etkili olduğunu göstermektedir. CaCl₂ ün ise ksilen yıkımı üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir. CaCl₂ içeren ortamda absorbansı CaCl₂ 'ün arttırdığı düşünülmektedir. .(Tablo 7 ve 8)

Pseudomonas putida toluen ve ksilen gibi toksik hidrokarbon gruplarına karşı toleransa sahiptir. (Ramons ve ark., 2002). Ksileni metabolize ederek (parçalayarak), zararsız ürünlere (CO₂, su, enerji) dönüştürme kabiliyetindedir. (UK and Taurus Biotech Ltd, s. 285, 2003). *P. putida*, aynı degradasyon özelliğini gösteren *P. aeruginosa* gibi patojen bazı diğer *Pseudomonas* türlerinden daha güvenli olduğundan tercih edilir.

KAYNAKÇA

- Altinok, I., Kayis, S., Capkin, E.** (2006). "Pseudomonas putida infection in rainbow trout". Aquaculture. December. Volume 261. p.850-
- Ballerstedt, H., et al.** (2007). "Genomotyping of Pseudomonas putida strains using P. putida KT2440-based high-density DNA microarrays: implications for transcriptomics studies". Applied Microbiology and Biotechnology. Volume 75. p,1133-1142.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=1914237>
- Bertani, I., Rampioni, G., Leoni, L., Venturi, V.** (2007). "The Pseudomonas putida Lon protease is involved in N-acyl homoserine lactone quorum sensing regulation". BMC Microbiology. Volume 7. p.
- Bruins, M. R., Kapil, S. And Oehme, F. W.** (2000). Pseudomonas pickettii: A Common Soil and Groundwater Aerobik Bacteria with Pathogenic and Biodegradation Properties. Ecotox.Environ.Safe., 47 :105-111.
- Boopathi, E., Rao, K.S.** (1999). "A sideophore from Pseudomonas putida type A1: structural and biological characterization". Volume 1435. p.30-40.
- Carson, L.A., Favero, M. S., Bond, W.W. and Petersen, N.J.** (1973) Morphological , Biochemical and Growth Characteristics of Pseudomonas cepacia from Distilled Water. Appl.Microbiol., 25(3) : 476-483.
- Chayabutra C., Ju L. K.**(2000). Degradation of n-hexadecane and its metabolites by Pseudomonas aeruginosa under microaerobic and anaerobic denitrifying conditions. Appl. Environ. Microbiol., 66, 493-498,
- Diaz, E.** (2004) Bacterial Degradation of Aromatik Pollutans: A paradigm of Metabolic Versality.Int.Microbial., 7:173-180.
- Dinçer, M.,** (1996). Çevre Gönüllü Kuruluşları, Türkiye Çevre Vakfı Yayını, TÇV Yayın No: 110, Önder Matbaa, Ekim, Ankara
- Ertekin, K. G.,** (2011). Avrupa Birliği Çevre Politikaları ve Sürdürülebilir Kalkınma Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi
- Espinosa-Urgel, M., Salido, A., Ramos, J.** (2000). "Genetic Analysis of Functions Involved in Adhesion of Pseudomonas putida to Seeds". Journal of Bacteriology. Volume 182. p.2363-2369.
<http://jb.asm.org/cgi/content/full/182/9/2363>
- Fish P.A., Webster D. A., and Stark B. C.,**(2000). Vitreoscilla hemoglobin enhances the first step in 2, 4-dinitrotoluene degradation in vitro and at low aeration in vivo. J.Mol.Cat.B:Enz., 9, 75-82,
- Härtig, C., Loffhagen, N., Harms, H.** (2005). "Formation of trans Fatty Acids Is Not Involved in Growth-Linked Membrane Adaptation of Pseudomonas putida". Applied and Enbironmental Microbiology. Volume 71. p.1915-1922.
- Harwood, C.S., Fosnaugh K., Dispensa M.** (1989). "Flagellation of Pseudomonas putida and analysis of its motile behavior". Journal of Bacteriology. Volume

171.p.4063-4066.

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=210162>

Kowalski, H. (2002). "U.S. – German Research Consortium Sequences Genome of Versatile Soil Microbe". J.Craig Venter Archive. http://www.tigr.org/news/pr_12_02_02.shtml

Leahy J. G., Tracy K. D., Eley M. H. (2003). Degradation of mixtures of aromatic and chloroaliphatic hydrocarbons by aromatic hydrocarbon-degrading bacteria. *FEMS Microbiol.Ecol.*,43, 271-276, 2003.

Lopez, J.E., Henkels, M.D. (1999). "Utilization of Heterologous Siderophores Enhances Levels of Iron Available to *Pseudomonas putida* in the Rhizosphere". *Applied and Environmental Microbiology*. Volume 65. p.5357-5363. <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/65/12/5357>

Madigan M. T., Martinko J., Parker J.(2000). *Brock microbiology and microorganisms*.New Jersey (U.S.A), 470-702,2000.

Marcus, A. (2003). "Versatile soil-dwelling microbe is mapped". *Genome News Network*. January http://www.genomenetwork.org/articles/01_03/soil_microbe.shtml

Miller, C.D., Kim Y.C., Anderson A.J. (1997). "Cloning and mutational analysis of the gene for the stationary-phase inducible catalase (catC) from *Pseudomonas putida*". *Journal of Bacteriology*. Volume 179. p.5241-5245. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=179388>

Milli Eğitim Bakanlığı (2012). *Kimya Teknolojisi, Ksilen Türevleri Ve Prosesleri* 524KI0126, Ankara,

Muller, R. (1992). "Bacterial Degradation of Xenobiotics". *Microbial Control of Pollution*. Volume 48. p.52.

Murray P. R., Kobayashi G. S., Pfaller M. A., Rosenthal K.S. (1994). *Medical Microbiology*, Second Edition, 253-260.

M. Vicente and J. L. Canovas. (1973). "Glucolysis in *Pseudomonas putida*: Physiological Role of Alternative Routes from the Analysis of Defective Mutants" *Journal of Bacteriology*, Volume 116. p. 908-914.

microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas_putida

NCBI.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=genome&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=21068>

O'Connor, K., Duetz, W., Wind, B., Dobson, A. D. W. (1996). "The Effect of Nutrient Limitation of Styrene Metabolism in *Pseudomonas putida* CA-3". *Applied and Environmental Microbiology*. Volume 62. p.3594-3599. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=168165&blobtype=pdf>

Otenio, M. H., Lopes da Silva, M. T., Marques, M., Roseiro, J., Bidoia, E. "Benzene, Toluene and Xylene Biodegradation by *Pseudomonas putida* CCM1 852". *Brazilian Journal of Microbiology*. Volume 36. p.258-261. <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v36n3/arq10.pdf>

- Perz, J., et al.**(2005). "Pseudomonas putida Septicemia in a Special Care Nursery Due to Contaminated Flush Solutions Prepared in a Hospital Pharmacy" Journal of Clinical Microbiology volume 43, p.5316-5318.
- Canada Communicable Disease Report.** (2000). "Pseudo-Outbreak of Pseudomonas putida in a Hospital Outpatient Clinic Originating From a Contaminated Commercial Anti-Fog Solution Volume 26. p.21. <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/00vol26/dr2621eb.html>
- Reaney, D., Gowland, P., Slater, J.** (1983). "Genetic Interactions Among Communities". Microbes in Their Natural Environments. April 1983. Volume 34. p.408.
- Ribera, R., Monteoliva-Sanchez, M., Ramos-Cormenzana, A.** (2001). "Production of polyhydroxyalkanoates by Pseudomonas putida KT2442 harboring pSK2665 in wastewater from olive oil mills (alpechin)". Electronic Journal of Biotechnology. Volume 4. http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-34582001000200010&script=sci_arttext
- Romano, J., Kolter, R.** (2005). "Pseudomonas-Saccharomyces Interactions: Influence of Fungal Metabolism on Bacterial Physiology and Survival". Journal of Bacteriology. Volume 187. p.940-948. <http://jb.asm.org/cgi/content/full/187/3/940>
- Ruiz-Manzano, A., Yuste, L., Rojo, F.** (2005). "Levels and Activity of the Pseudomonas putida Global Regulatory Protein Crc Vary According to Growth Conditions". Journal of Bacteriology. June 2005. Volume 187. p.3678-3686. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1112034>
- Santacruz G., Bandala, E., R., Torres, L., G.,** (2005). Chlorinated pesticides (2,4-D and DDT) biodegradaton at high concentratons using immobilized Pseudomonas flourescens, Journal OF Enviromental Sciese and Health Part B, 40: 571-583.
- Stover G. K., Pham X. Q., Erwin A. L., Mizoguchi S. D., Warrenner P., Hickey M.J., Brinkman F.S.L.,Hufnagle W. O., Kowalik D. J., Lagrou M., Garber R. L., Tolentino E., Westbrook-Wadman S., Yuan Y., Brody L. L., Coulter S. N., Folger K. R., Kast A., Larbig K., Lim R., Smith K., Spencer D., Wong G. K. S., Paulsen I. T., Reizer J., Saier M. H., Hancock R. E. W., Lorry S., Olsen M.V.** (2000) Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PA01, an opportunistic pathogen.Nature, 406, 959-964,
- Tefloncu A.** (1995), 'Biyoteknoloji', Ege Üniversitesi Yayınlar,.Bornova, İzmir,
- TIGR Comprehensive microbial resource.** http://www.gem.re.kr/tigr-scripts/CMR2/gene_table_section.spl?db=gpp&main_role=Protein+fate&main_role_only=1&role_order=&nt_choice=tigr
- Toros, A., Ulusoy, M. ve Ergöçmen, B.,** (1997). Ulusal Çevre Eylem Planı, Nüfus ve Çevre, Devlet Planlama Teşkilat
- TSCA (2007).** Experimental Release Application Approved for Pseudomonas putida Strains". United States Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/oppt/biotech/pubs/submissions/4-5dec.htm>

- Türk, A.**, (1998). Çevre ve İnsan, (Ed: Merih KIVANÇ, Ersin YÜCEL), Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi, İlköğretim Öğretmenliği Lisans Tamamlama Programı,
- Vandenbergh, P.A., Wright, A. M.** (1983) “Plasmid Involvement in Acyclic Isoprenoid Metabolism by *Pseudomonas putida*”. Applied and Environmental Microbiology. Volume 45. p.1953-1955.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=242567>
- Ward, P. G., de Roo, G., O'Connor, K. E.** (2005). “Accumulation of Polyhydroxyalkanoate from Styrene and Phylacetic Acid by *Pseudomonas putida* CA-3”. Applied Environmental Microbiology. Volume 71. p.2046-2052.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1082534>
- Whyte, L. Y., Bourbonniere, L. And Greer , C.W.** (1997) Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by Psychrotrophic *Pseudomonas* Strains Possessing Alkane (alk) and Naphthalene (nah) Catabolic Pathways. Appl. Environ. Microbiol., 63(9):3719-3723.
- Yücel, F.**, (2003), Sürdürülebilir Kalkınmanın Sağlanmasında Çevre Korumanın ve Ekonomik Kalkınmanın Karşılıklı ve Birlikteliği, Çukurova Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, Cilt:11, Sayı:11, ss:100-120
https://www.genome.jp/keggbin/show_pathway?map=map00622&show_description=show

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel bilgiler

Adı Soyadı Sadi Sezginer
Doğum Yeri ve Tarihi Manyas, 07.01.1971
Medeni Hali Evli
Yabancı Dil İngilizce
İletişim Adresi Fen Lisesi , Üniversite Toki Mevkii Sivas
E-posta Adresi ssezginer@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise Bandırma İmam Hatip Lisesi, 1989
Lisans Selçuk Üniversitesi, 1993
Yüksek Lisans Cumhuriyet Üniversitesi, 2013

İş Tecrübesi

Sivas Fen Lisesi Uzman , 1993
Biyoloji Öğretmeni

Yayımlar

Ulusal
Uluslararası

Kongreler ve Bildiriler

Ulusal
Uluslararası

Ödüller, Teşvikler ve Üvelikler

Belge Tarihi	Türü	Veriliş Nedeni	Veren Makam	Belge Sayısı	İşleyen Adı	İşlem Durumu
29/11/1999	Aylıkla ödüllendirme	Çalışkanlık	ORTAÖĞR. GEN MÜ	117901	MUAMMER TOKAT	
25/08/2006	Teşekkür Belgesi	Çalışkanlık	İL M.E. MÜD.	279	TURHAN SARIOĞLU (VHKİ)	İşlem bitti
31/08/2015	Başarı Belgesi	Çalışkanlık	VALİLİK	143	FATİH KILIÇ	İşlem bitti
08/09/2017	Başarı Belgesi	Çalışkanlık	VALİ	291	FATİH KILIÇ	İşlem bitti
28/03/2018	Başarı Belgesi	Çalışkanlık	VALİ	154	BİRSEL ÖZTÜRK DURNA	İşlem bitti
16/05/2018	Üstün Başarı Belgesi	Çalışkanlık	vali	245	AYFER TANRIVERDİ	İşlem bitti
12/09/2018	Başarı Belgesi	Çalışkanlık	VALİ	555	BİRSEL ÖZTÜRK DURNA	İşlem bitti

Danışmanlığında ;

Liseler arası Tübitak Proje Yarışmalarında 3 Bölge Birinciliği , 1 Bölge ikinciliği , 1 Bölge üçüncülüğü.

Liseler arası Tübitak Proje Yarışmalarında 1 Türkiye üçüncülüğü , 1 mansiyon ödülü.

Uluslar Arası ISEF Proje Yarışmasında Amerika'da 2 kez Türkiye' yi temsil hakkı.