

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ**

**ARALIK, 2013**

**Yüksek Lisans-Biyoloji Bölümü**

**ÖMER GÜL**

**KARKAMIŞ (GAZİANTEP) TARIM ALANLARINDA  
FOSFOLİPİT YAĞ ASİTLERİNİN (PLFA) TESPİTİ**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÖMER GÜL  
ARALIK 2013**

**Karkamış (Gaziantep) Tarım Alanlarında Fosfolipit Yağ  
Asitlerinin (Plfa) Tespiti**

**Gaziantep Üniversitesi  
Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman**

**Yrd. Doç. Dr. Erdihan TUNÇ**

**Ömer GÜL**


**Aralık 2013**

© 2013 [Ömer GÜL]


T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Adı: Karkamış (Gaziantep) Tarım Alanlarında Fosfolipit Yağ Asitlerinin  
(PLFA) Tespiti


Öğrencinin, Adı Soyadı: Ömer GÜL  
Tez Savunma Tarihi: 26.12.2013  
Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

  
Doç. Dr. Metin BEDİR  
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

  
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımca (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Yrd. Doç. Dr. Erdihan TUNÇ  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER  
Yrd. Doç. Dr. Erdihan TUNÇ  
Yrd. Doç. Dr. Ali ÖZKAN

İmzası  


**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazdığımı ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Ömer GÜL**

**ÖZET**  
**KARKAMIŞ (GAZİANTEP) TARIM ALANLARINDA FOSFOLİPİT YAĞ**  
**ASİTLERİNİN (PLFA) TESPİTİ**

GÜL, Ömer

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Erdihan TUNÇ

Aralık 2013

57 sayfa

Bu çalışmada, Karkamış /Gaziantep *Pistacia Vera* L. tarım alanlarında fosfolipit yağ asitlerinin (PLFA) tespiti amaçlanmıştır. Bu çalışmada bölge topraklarında komünite yapısının belirlenmesini sağlayan fosfolipit yağ asitleri (PLFA)'nın yanı sıra organik madde içeriği, bünye özellikleri, tuz oranı, kalsiyum oranı, kireç oranı ve pH içerikleri mikroorganizma çeşitliliği açısından değerlendirilmiştir. Toprakların PLFA özelliklerinin yanı sıra bazı fizikokimyasal özellikleri de araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre; 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, a15:0, i15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1ω7t, 18:1ω9c, 18:1ω9t, 18:2ω6, 20:0 olmak üzere 16 farklı yağ asidi tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan Bakteri PLFA bioindikatör oranının, mantar PLFA bioindikatör oranından daha yoğun olduğu bulunmuştur. Ayrıca %1-2 oranında protoza PLFA bioindikatörü tespit edilmiştir. Aktinomiset bioindikatörü olan PLFA'lar ise hiç tespit edilememiştir. Toprakların kil oranının yüksek olduğu, alkali özellik gösterdiği, organik madde miktarının çok düşük olduğu görülmüştür. Bu çalışma tarımsal uygulamaların daha sürdürülebilir olarak yapılmasına katkı sağlaması açısından çok önemlidir. Bu bölgeye uygun biyoçeşitliliği artırıcı önlemler alınmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Toprak ekosistemi, *Pistacia Vera* L., Mikrobiyal dinamik, PLFA

**ABSTRACT**  
**PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS (PLFA) DETECTION IN**  
**AGRICULTURAL AREAS OF KARKAMIŞ (GAZİANTEP)**

GÜL, Ömer

Master Degree Thesis, Department of Biology

Supervisor: Assist. Proff. Erdihan TUNÇ

December 2013

Page 57

In this study aimed to determine phospholipid fatty acids (PLFA) in Karkamış /Gaziantep *Pistacia Vera* L. agricultural areas. In addition to PLFA, which enables identification of community structure in regional soils, the study evaluated organic matter content, texture properties, salt ratio, calcium ratio, lime ratio and pH contents in terms of microorganism diversity. In addition to PLFA properties, some physicochemical properties of soils were analyzed. The findings revealed 16 different fatty acids, which are 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, a15:0, i15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 7t, 18:1 $\omega$ 9c, 18:1 $\omega$ 9t, 18:2 $\omega$ 6, 20:0. Based on these results, it was found that bacteria PLFA bioindicator ratio was higher than PLFA bioindicator ratio. Furthermore, 1-2% protozoa PLFA bioindicator was identified. No actinomyces bioindicator PLFA was identified. It was found that the soils had a high clay ratio, showed alkali character and that organic matter amount was very low. This study is of great importance in terms of contributing to more sustainable agricultural practices. Measures appropriate for this region should be taken to increase biodiversity.

**Key words:** Soil ecosystem, *Pistacia Vera* L., Microbial dynamic, PLFA

## TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın Yüksek Lisans Tezi olarak belirlenmesinden sonlandırılmasına kadar geen srede yardımlarını esirgemeyen Danıőmanım, Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Erdihan Tunç'a,

PLFA analizlerimiz Almanya Trier niversitesinde gerçekleőtirilmiőtir. Deneylerimizin gerçekleőtirilmesinde Bölüm imkanlarını ve kendi bilgi ve terciibeleriyle yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Christoph Emmerling'e, Prof. Dr. Süren Thiel-Bruhn'a laboratuvar teknik sorumlusu Petra Ziegler ve Elvira Sieberger'e,

Tezin yazım aőamasında yardımcı olan Doktora ğrencisi Uzm. Bio. Yasemin zyazgan'a ,

Aileme, eőtime, kızlarım; Kübra ve Betül'e teőtakkr borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vi
TEŞEKKÜR .....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xii
BÖLÜM 1: GİRİŞ .....	1
1.1. Toprakta Fosfolipit Yağ Asitleri .....	3
1.1.1. Toprak Mikrobiyal Komünite Yapısı Ve Fonksiyonu .....	3
1.1.2. Komünite Profilleme Yöntemlerine Genel Bakış .....	4
1.1.3. Lipidler.....	7
1.1.4. Lipid Analizi .....	7
1.1.5. Fosfolipit Yağ Asitleri .....	7
1.1.6. Fosfolipid Yağ Asidi Analizi .....	9
1.1.7. PLFA Analizinin Avantajları Ve Dezavantajları .....	11
1.1.7.1. PLFA Analizinin Avantajları .....	11
1.1.7.2. PLFA Analizinin Dezavantajları .....	12
1.1.8. PLFA'ların Sınıflandırılması .....	12
1.1.9. Fosfolipitlerin isimlendirilmesi. ....	13
1.1.10. PLFA Biyobelirteçlerinin Yorumlanması.....	14

BÖLÜM 2: KAYNAK ÖZETLERİ .....	17
BÖLÜM 3: MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. MATERYAL.....	23
3.1.1. Çalışma Alanlarının Özellikleri .....	23
3.1.1.1. Coğrafi Konumu .....	23
3.1.1.2. İklim.....	24
3.1.1.3. Çalışma Alanı .....	24
3.1.1.4. Karkamış İlçesi Hakkında Genel Bilgiler. ....	24
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Örnek Alma .....	26
3.2.2. Örneklerin İşleme Hazırlanması .....	26
3.2.3. Saturasyon Çamurunun Hazırlanması .....	27
3.2.4. Toprak pH'sının Belirlenmesi. ....	27
3.2.5. Kireç (g/kg) İçeriğinin Belirlenmesi .....	27
3.2.6. Tuz İçeriğinin Belirlenmesi .....	28
3.2.7. Organik Madde (%) İçeriğinin Belirlenmesi .....	28
3.2.8. Toprak Strüktürünün (Yapısının) Belirlenmesi .....	29
3.2.9. Toprak (Bünye) Tayini. ....	29
3.2.10. Fosfolipit Yağ Asidi Analizi. ....	29
3.2.11. Çalışma Alanlarının Lokaliteler .....	29
BÖLÜM 4: BULGULAR .....	31
4.1. BULGULAR .....	31
4.1.1. Çalışma Alanı Topraklarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analiz Verileri.....	31
4.1.2. Çalışma Alanı Topraklarının PLFA İçeriğinin Analiz Verileri .....	32
BÖLÜM 5 .....	40

5.1. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	40
5.2. ÖNERİLER.....	44
KAYNAKLAR.....	45

## TABLULAR LİSTESİ

SAYFA

<b>Tablo 1.1.</b> Çocuklukla kullanılan mikrobiyal komünite profil özeti .....	5
<b>Tablo 1.2.</b> Fosfolipit yağ asitlerinin sınıflandırılması .....	13
<b>Tablo 1.3.</b> Mikroorganizmaların belirli grupları için yaygın olarak kullanılan biobelirteç fosfolipit yağ asitleri.....	16
<b>Tablo 3.1.</b> Yıllık yağış verileri/ Gaziantep .....	24
<b>Tablo 3.2.</b> CaCO <sub>3</sub> için numune miktarının belirlenmesi .....	27
<b>Tablo 3.3.</b> Toprak örneklerinin alındığı lokalitelerin GPS koordinatları, vejetasyonları ve rakımları.....	29
<b>Tablo 4.1.</b> Araştırma alanları topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri...	31
<b>Tablo 4.2.</b> Araştırma alanları topraklarının PLFA değerleri .....	33

## ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA

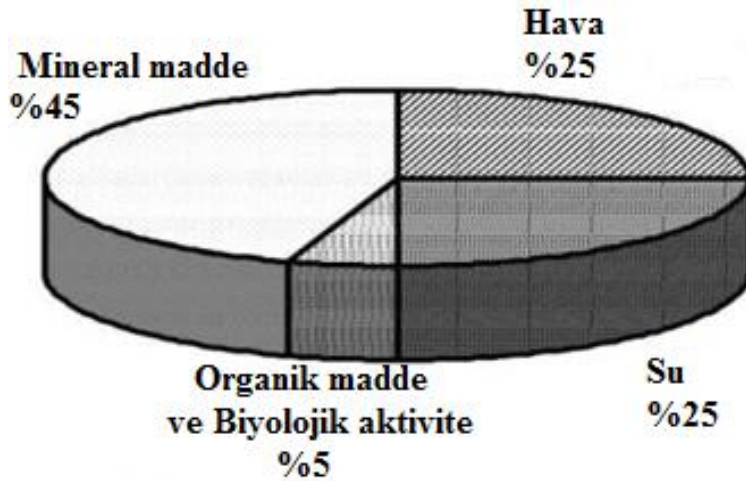
Şekil 1.1. Toprak bileşenleri .....	1
Şekil 1.2. Bir fosfolipitin kimyasal yapısı .....	8
Şekil 1.3. Fosfolipitlerin canlı hücre membranında dizilişi .....	9
Şekil 1.4. Cis ve trans yağ asidi zincirleri.....	14
Şekil 3.1. Gaziantep İli Haritası .....	23
Şekil 4.1. Akçaköy toprak örneklerindeki yağ asitlerin % dağılımı.....	35
Şekil 4.2. Kıvrıcık köy toprak örneklerindeki yağ asitlerin % dağılımı .....	36
Şekil 4.3. Subağı köyü toprak örneklerindeki yağ asitlerin % dağılımı .....	37
Şekil 4.4. Yolağzı köyü toprak örneklerindeki yağ asitlerin % dağılımı.....	38

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Toprak, genelde organik madde ve kayaların çeşitli ayrışma ürünlerinden oluşan, içerisinde hava, su ve canlı alemleri de barındıran bir maddedir (Ergene, 1993). Toprağın üzerinde fiziksel, kimyasal ve özellikle biyolojik olaylar sürekli olarak bir döngü ile devam eder. Toprak üzerinde ve bünyesinde bulunan, mikro ve makro canlılarla yaşayan bir sistemdir (Şahinkaya, 1967).

Topraklar orijinal şekilleri bozulmadan incelendiğinde katı maddeler ve boşluklar sisteminden oluştuğu görülür. Bu boşluklarda belirli düzeyde hava ve su bulunur. Genelde toprak hacminin yüzde ellisi boşluklardan, diğer yüzde ellisi de katı fazdan oluşmaktadır. Katı kısmın yüzde kırk beş kadarı mineral maddelerden oluşan anorganik parçacıklar ve yüzde beşi de organik kısımdır. Organik kısmın içinde ölü bitkisel ve hayvansal dokular ile bu dokuların ayrışma ve yeniden sentezlenmesi sonucunda oluşan koloidal toprak organik maddesi olan humus yer alır. Topraktaki organik kısmın geri kalanında toprak canlıları oluşturur (Haktanır ve Arcaç 1997).



Şekil 1.1. Toprak Bileşenleri (<http://www.tarimsal.com.tr>) (Erişim.05.10.2013).

Toprakların mikrobiyal karakteristikleri toprak sağlığını gösteren önemli göstergelerdir. nk mikrobiyal çeşitlilik ile toprak ve bitki kalitesi ve sürdürülebilirliği arasında önemli ilişki vardır (Doran vd., 1994). Mikrobiyal kütle, mikrobiyal aktivite ve çeşitlilik toprak sağlığına etki eden faktörlerdir. Bunların analizi çiftçilerin toprak kalitesini arttırmak için pratik önlemler almasına yardımcı olur (Hill vd., 2000).

Geçmişte topraktaki mikrobiyolojik süreçler ve bu süreçlerden sorumlu organizmalar çok az düşünülerek sadece srelerzerine konsantre olunmuştur. Son zamanlarda toprak mikrobiyal komünite yapısı ve bunların fonksiyonlarızerine yoğun bir ilgi vardır. Karasal ekosistemlerde mikrobiyal çeşitlilik, çeşitliliğin tanımlanabilen, sınıflandırılabilen ve karşılıklı etkileşimlerinden anlam çıkarılabilen kısımlarızerinden tahmin edilebilir (Zelles ve Bai, 1994).

Son zamanlara kadar toprağın fizikokimyasal özellikleri, (pH, kullanılabilir besin durumu, organik karbon) toprak çevresindeki stres koşullarına toprak yanıtını denetlemek için kullanılmıştır. Bununla birlikte toprağın fizikokimyasal özellikleri, toprak çevresel durumlarındaki erken değişimleri tahmin etmek için yeterince hassas değildir. Öte yandan, toprak mikrobiyal özellikler, bozukluklara ve karışıklıklara (Atlas, 1984) ok daha hızlı cevap vermektedir ve ekosistemin sürdürülebilirliği için bu değişikliklerin değerlendirilmesi gerekir (Kaur vd., 2005).

Sürdürülebilirlik için önemli itici faktörlerden biri de toprak ekosistemidir. Toprak ekosistemi sadece gıda ve lif üretiminde değil, aynı zamanda yerel, bölgesel ve küresel evre kalitesinin korunmasında işlevi olan, dünya biyosferinin kritik bileşenidir (Bloem vd., 1994). Kaur vd. (2005) bildirdiğine göre, toprak ekosisteminin biyolojik sağlığının, ekosistem sağlığı için gösterge olarak, önemli bir potansiyele sahip olması mantıklıdır. evre durumunu izlemek için kullanılan göstergeler, yerel ve ulusal ölçekte uygulanabilir, kolayca ölçülebilir, yenidenretilbilir, yönetim ve iklimde değişikliklere hassas olan ekosistem süreçlerinin yapısını ve fonksiyonunu yansıtabilmelidir.

Substrattan mikroorganizmaları izole etme zorluklarından dolayı toprakta mikrobiyal büyümenin doğrudan tayinini yapmak mümkün değildir. Bu nedenle dolaylı yöntemler geliştirilmiştir. Mikrobiyal bioktleyi tahmin etmek ve komünitelerin

mikrobiyal bileşenlerini tanımlamak için fosfolipidlerin yağ asitleri gibi “biobelirteç” kimyasalların uygulanması birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Zelles ve Bai, 1993).

Mikroorganizmaların farklı grupları, farklı PLFA (Fosfolipit yağ asitleri) örneklerine sahiptir. Mikroorganizmadaki PLFA örnekleri ile bir izolasyon yapmadan doğrudan, doğal ortamlarında mikrobiyal komünitenin özelliklerini karakterize etmek mümkündür. PLFA profilleri gerçek bir tür kompozisyonu vermez ama bunun yerine komünite yapısının genel bir resmini verir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, belirli PLFA’ların konsantrasyonlarındaki değişiklikler organizmaların daha özel gruplarının değişiklikleri ile ilişkili olabilir (Bååth vd., 1992; Pennanen vd., 1996).

## **1.1. Toprakta Fosfolipit Yağ Asitleri**

### **1.1.1. Toprak Mikrobiyal Komünite Yapısı Ve Fonksiyonu**

Toprak mikroorganizmaları, topraklara ilave edilen bitkisel ve hayvansal atıkların mineralizasyonu ve bitki besin elementlerinin biyokimyasal dönüşümü gibi birçok sürece aktif olarak katılmakta olup, toprakların verimliliği üzerine de önemli derecede etkilidirler (Alexander, 1977). Bununla beraber, toprak canlıları toprakta iyi bir agregat ve dolayısıyla strüktür oluşumu gibi, toprakların fiziksel özellikleri üzerine de etki ederek, toprağın hava–su dengesinin düzenlenmesine katkı sağlayabilmektedir (Aşkın vd., 2000).

Topraktaki mikrobiyal komünitelerin bileşimi ve etkinliği, büyük ölçüde madde döngüleri, organik madde döngü süreçleri ile toprak verimini ve kalitesini belirler. Toprak mikrobiyal parametreleri, muhtemelen kullanılan toprak kalitesinin ilk göstergeleridir. Bu nedenle, topraklarda mikrobiyal çeşitliliğin nicel tanımı temel ilgi konusu haline gelmiştir. Ancak bu, mikrobiyal ekolojistlerin karşılaştığı en zor konularından biridir (Zelles, 1999).

Bu karmaşık sistemi anlayabilmek için komüniteleri birçok düzeyde ele alacak yöntemler geliştirmemiz lazımdır. Mikrobiyal komünitelerin bileşimini ve yapılarını incelerken bu türlerin ortamda bulunması, bulunmaması, fazlalığı veya alt türlerdeki değişimleri incelenmelidir. Bu yüzden kullanılan metodolojide komünitenin tüm türlerinin kaydedilmesi kaçınılmazdır ( Zelles ve Bai, 1994).



### **1.1.2. Komünite Profilleme Yöntemlerine Genel Bakış**

Toprak mikrobiyal kütle analizi sadece mikrobiyal biyokütle ve çeşitlilik belirlemede değil aynı zamanda mikrobiyal büyüme ve dağılım fonksiyonlarının belirlenmesinde içermelidir. Mümkünse türler arasındaki doğal ilişkiyi vermelidir.

Toprak mikrobiyolojisinde süregelen iki zorluk etkili yöntemlerin geliştirilmesini engellemiştir. Bunlar;

- 1) Toprakta hangi mikroorganizmanın olduğunun tespiti,
- 2) Buradaki mikrobiyal fonksiyonların tespitidir.

Toprak mikroorganizmalarını toprak matriksinden ve bitki dokusundan ayırma problemi, toprakta bulunan birçok organizmadaki morfolojik özellikler ve mikrobiyal sınıfların değişmesi bu zorlukları artırır. Ayrıca toprak mikroorganizmalarının mikroskopik boyutları bu mikroorganizmaların görüntülenmesini zorlaştırmaktadır. Toprak mikroorganizmalarının tespitinde kullanılan kültür bağımlı yöntemler (CLPP ve SIR) ve kültür bağımsız yöntemler (PLFA ve DNA temelli yaklaşımlar) (Hill vd., 2000), genel özellikleri tablo 2.1.'de verilmiştir.

**Tablo:1.1.** Çocuklukla kullanılan mikrobiyal komünite profil özeti (Leckie, 2005).

Metod	Genel yaklaşım	Hedef popülasyon	Yorum	Seçilen referanslar
Biyolog® mikroplagları kullanarak komünite düzeyinde fizyolojik profillemeye (CLPP).	Komünitenin fizyolojik kapasitesini belirlemek için tekli karbon kaynağı kullanımını değerlendirir.	Yetiştirilebilir hızlı büyüyen organizmalar.	Görece hızlı ve ucuz. Analizinde ve yorumunda zorluklar var.	Garland ve Mills (1991), Preston-Mafham vd., (2002)
CLPP komünite düzeyinde fizyolojik profil (SIR) tekniğiyle uygulanması.	Topraktaki komünitelerin fizyolojik kapasitelerini belirlemek için tekli karbon kaynak verimliliğini belirleme.	Aktif popülasyonlar.	Birçok substratın kullanımı zaman kaybına yol açar.	Degens ve Harris (1997), Campbell vd., (2003)
Fosfolipit yağ asidi analizi. (PLFA )	Membran lipitleri farklılıklarına göre komünite yapısını belirleme.	Tüm komünitenin hepsi.	Çok çeşitlilik mantarlardan değil bakterilerden dolayı olmuştur. PLFA belirteçlerinde gruplar içinde çakışmalar olmuştur.	Frostegård ve Bååth (1996), Zelles (1999)
DNA parmakizi bazı (örnek; GGE, T-RFLP, RISA, ITS).	Ribozomal RNA (veya diğer) genlerde varyasyona dayalı tüm komünitelerde görsel parmak izini oluşturmak.	Tüm komünitenin hepsi ya da bir kısmı (PCR primerleri bağlı olarak).	DNA ayrıştırma ve PCR'ye bağlı olarak ön yargıların oluşması. Farklı komüniteler için çözüm yetersiz kalabilir.	Muyzer vd., (1993), Osborn vd., (2000), Ranjard vd., (2001), Dickie vd., (2002)
DNA sıralı bilgisinin analizi.	Ribozomal RNA (veya diğer) genlerin sıralı analiziyle türlerin zenginliği ve komünite bileşenlerini kataloglama.	Tüm komünite veya PCR primere bağlı olarak komünitenin bir kısmı.	DNA ayrıştırma ve PCR'ye bağlı olarak önyargıların oluşur. Pahalı ve tekli toprak örneklerinin tüm çeşitlerini sıralamak için çok zaman harcıyor.	Wintzingerode vd., (1997), Axelrod vd., (2002)

Son 15 yılda birçok teknolojik gelişme, toprak mikroorganizmaları ve komünite profillemede kültür bağımsız yaklaşımlarda ilerleme sağlamıştır. Birçok araştırmacı toprağın mikrobiyal komüniteleri denilen bu kara kutuyu keşfetmenin artık mümkün olduğunu savunmaktadır (Ritz vd., 1994). Topraktaki mikrobik komünitenin geleneksel yöntemlerle (kültür bağımlı yöntemler) çalışılması zaman alıcıdır ve organizmanın başarılı bir şekilde kültüre alınmasına bağlıdır. Toprak bakterilerinin kültüre alınan bölümü, toplam bakterilerin sadece sınırlı bir bölümünü temsil ettiği bilinmektedir (Olsen ve Bakken, 1987). Zelles (1999) 'in bildirdiğine göre, Amann vd. (1995), değerlendirmelerinde mikroorganizma türlerinin yaklaşık %80-99 henüz kültüre edilmediğini belirtmektedirler. Bilinen toprak mantarları sayısı ile ilgili bir belirsizlik vardır. Ancak bilinen mantar türlerinin %17'sinin yetiştirildiği tahmin edilmektedir (Bridge ve Spooner, 2001). Torsvik vd. (1998) bildirdiğine göre bu ekilebilir kısmın, muhtemel komüniteyi temsil etmediği anlaşılmaktadır.

Komünite düzeyinde yaklaşım giderek daha popüler hale gelmiştir. Bu, türlerin tanımlanması olmadan, mikrobiyal komünite yapısının özelliklerinin belirlenmesi anlamına gelir. Biyokimyasal yöntemlerde (kültür bağımsız yaklaşım), geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerdeki sorunlar yoktur. Bu yöntemlerde mikropların kültüre alınması ve hücrelerin ortamdan ayrıştırılması gerekmez (Tunlid ve White, 1992). Böylece, biyokimyasal ekstraksiyonun nicel olarak güvenilir olması kabul edilir (White, 1995). Özellikle hücre zarının fosfolipid yağ asidi analizi hızlı olarak kullanılmaktadır ve mikrobiyal komünite yapısını tanımlamak için güvenilir bir yöntemdir (Frostegård, 1995).

Toprak mikrobiyal kompozisyon oluşumunu çalışmak için kültür bağımsız bir yaklaşım olarak mikrobiyal membrandaki fosfolipid yağ asidi (PLFA) bileşiklerinin analizi kullanılmaktadır (Tunlid ve White, 1992; Zelles vd., 1992). Mikrobik komünitenin alt dallarında PLFA örnekleri kendi içinde farklılık gösterir ki bu da onları yaşam alanlarında belirlemeyi mümkün kılar (Hackl vd., 2005).

### **1.1.3. Lipidler**

Lipidler hidrokarbonların çeşitleri olarak tanımlanabilir, suya kıyasla organik solvenler içinde çözünürler. Özellikle, yağ asitleri ve bunların türevleri ve bu bileşiklere biyosentetik veya fonksiyonel olarak ilişkili olan maddelerdir (Adibhatla vd., 2006). Organizmalarda iki önemli lipit tipi vardır. Bunlar; fosfolipitler (zar bileşeni) ve nötral lipitlerdir (ökaryotlarda depo lipit şekli). Bu lipit türlerinin her ikisi de gliserol omurgasına bağlanmış yağ asitlerini içerir (White vd., 1997).

Bakteri, arkeler ve ökaryotlar, hayatın üç ana baskın ögesidir. Fonksiyonel ve yapısal amaçlar için hücre zarında lipit bulundurulur (Dowhan ve Bogdanov, 2002).

Temel olarak, lipit analizi için, organik solven kombinasyonu ile lipidler ayrıştırılır, derinlemesine inceleme için araştırmacının amaçlarına bağlı olarak fraksiyon(larına) ayrıştırılır (Ngonadi, 2013).

### **1.1.4. Lipid Analizi**

Tüm hücrelerin lipit bileşinleri olduğundan, lipit analizleri biyokütle, komünite yapısı, metabolik durum ve mikrobiyal faaliyetleri araştırmak için kullanılabilir (Vestal ve White, 1989). Tüm mikroplar hücrelerinde lipit içerir; fosfolipidler hücre zarının ana bileşenleridir ki bu hücre kitlesinin tutarlı bir bileşenini oluşturur. Bu nedenle, doğrudan hücre sayımının gerçekçi olmadığı durumlarda, lipit analizi mikrobiyal topluluklar hakkında bilgi vermek için kullanılabilir (Ngonadi, 2013).

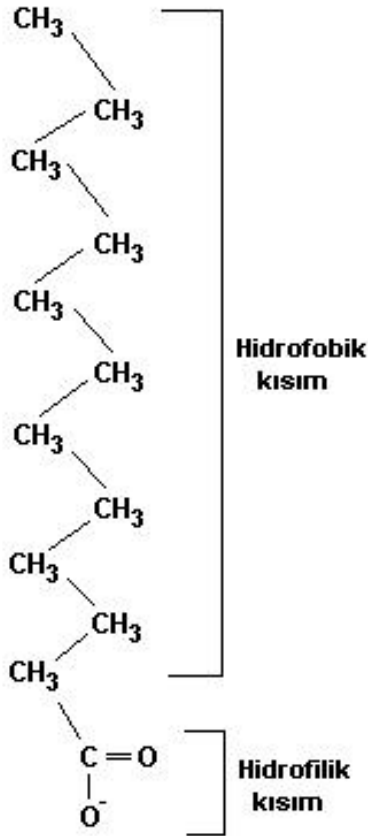
Mikroorganizmaları buldukları ortamda belirlemek için bu bileşiklerin kullanımı bilhassa cazip olup, bu bileşikler, bakteriyel taksonomide yaygın olarak kullanılırlar (Parkes, 1987). Bligh ve Dyer (1959) yöntemi yaygın olarak lipit çıkarılması için kullanılır (Ngonadi, 2013).

### **1.1.5. Fosfolipit Yağ Asitleri**

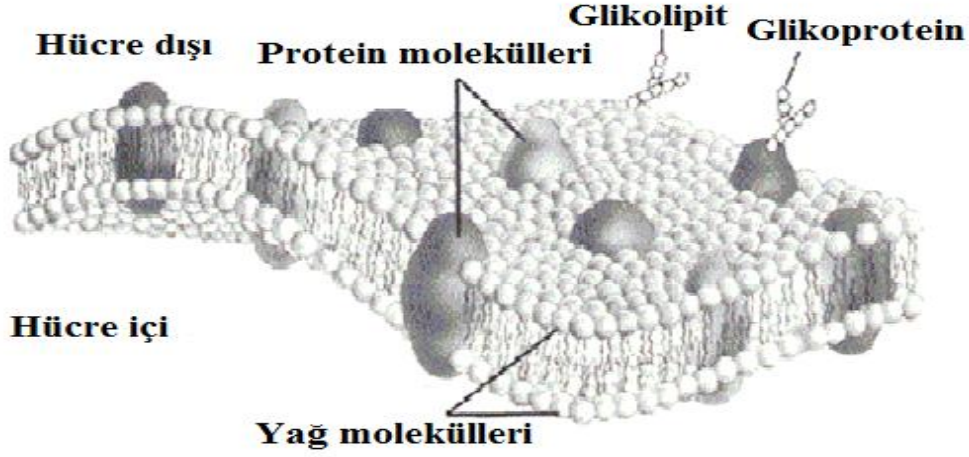
Fosfolipit yağ asitleri yaşayan tüm hücrelerde buldukları için kullanışlı indikatörlerdir. Mikroorganizmalarda fosfolipitler ayrıcalıklı olarak hücre membranlarında bulunurlar. Fosfolipitler depolama ürünleri ya da ölü hücrelerde bulunmazlar (Lechevalier, 1989). Bu durum önemlidir. Çünkü hücre ölümü ile

beraber hücre membranı hızlı bir şekilde bozulur ve PLFA'lar parçalanır. Sonuç olarak PLFA aktif mikrobiyal biyokütelerde önemli indikatörlerdir. Ölü mikrobiyal biyokütle için ise böyle bir durum yoktur (Hill vd., 2000).

Bir fosfolipid; bir molekül gliserol, iki yağ asidi zincirine bağlı olan iki hidroksil grubu ile üç karbonlu alkol ve son bir hidrofilik fosfata bağlı baştan oluşur (Şekil 2.1). Hücre zarında, fosfolipid tek başına mevcut değildir, ancak diğer fosfolipidlerle yakın ilişki içindedir. Karbonhidrat ve proteinler ile birlikte iki tabakalı yapı oluşturur (Şekil 2.2 ). Membranda hidrofilik baş dış yüzeye yönelik, hidrofobik baş (ya da lipofilik) suyu sevmediği için iç kısmına doğrudur. Bu yapı kendi sıvı doğası gereği, çift katlı üstü dalgalı, hücre içine malzemenin kolay taşınmasını kolaylaştırır (Kaur vd., 2005).



Şekil 1.2. Bir fosfolipidin kimyasal yapısı. Görüntü; Biology Bölümü, Western Kentucky University (2012).



**Şekil 1.3.** Fosfolipidlerin canlı hücrelerin membranında dizilişi

(<http://www.biyolojidersnotlari.com>) (Erişim.05.10.2013).

Fosfolipidlerin fosfat grubu topraktaki enzimatik eylemler yoluyla kolaylıkla ve hızla serbest kalır (White vd., 1979). PLFA'lar çoğunlukla yaşayan veya yeni ölmüş organizma oluşumunu yansıtmaktadır (Tunlid ve White, 1990).

#### 1.1.6. Fosfolipid Yağ Asidi Analizi

PLFA tekniği, Bligh ve Dayer (1959)'e göre organik solvent kullanılarak yağları topraktan ayırmayı içerir. Bunu da katı faz ekstraksiyonu kullanılarak polariteye dayalı olarak fosfolipitleri diğer yağlardan ayırma işlemi takip eder. PLFA'lar FAME'ye çevrilirler. FAME'lerde her birinin çeşidi ve sayısının tespiti için GC ile analiz edilir (Leckie, 2005).

Fosfolipit yağ analizi, kültür bağımsız metodlardandır (Hill vd., 2000). PLFA analizleri mikrobiyal komünitelerin, tarımsal kullanımı (Buyer vd., 2010), ağır metal (Bååth vd., 1998a), pH (Rousk vd., 2009), su oranı (Williams ve Rice, 2007), genetiği değiştirilmiş ürünler (Blackwood ve Buyer, 2004) ve literatürdeki bir çok seçenek için, gösterdikleri cevapları belirlemek için kullanılır (Buyer ve Sasser, 2012).

PLFA'lar bütün mikroorganizmaların hücre membran yapısında bulunur (Vestal ve White, 1989). PLFA'ların analizi canlı organizmaları keşfetmek için kullanılır (Drenovsky vd., 2004) ve mikrobik biyokütle, fizyolojik taksonomik tanımlama ve toplam komünite kompozisyonu ile ilgili bilgi verir (Bossio ve Scow, 1998).

Mikroorganizmalar arasında yağ asidi farklılıkları tespit edilebilir, böylece toprak mikrobiyal komüniteleri arasındaki farklar ortaya çıkarılabilir (Bossio vd., 1998; Pennanen, 2001; Langer ve Rinklebe, 2009). PLFA'ların mikrobik komünitenin kompozisyonunu yansıttığını göz önünde bulundurursak, PLFA'lar mikrobik çeşitliliğin hesaplanmasında kullanılmaktadır (Bossio vd., 1998).

Mikrobiyal komüniteleri tanımlamak için PLFA moleküllerinin temel önemi organizmaların spesifik grupları için yağ asitlerinin birer gösterge olmasıdır (Hill vd., 2000). Ayrıca PLFA'lar topraktaki mikrobiyal komünitelerden ayrıştırılabilirler (Tunlid ve White, 1992; Zelles ve Bai, 1993). Bu da kültür bağımlı metod analizleri kullandığımız takdirde ulaşabileceğimiz orandan daha fazla mikrobiyal komünite oranına ulaşmamızı sağlar (Hill vd., 2000).

PLFA topraktaki mikrobiyal komünite struktürünü tanımlamak için kullanılabilir (White vd., 1997). Toprak kirliliği ve çevresel yönetim uygulamaları nedeniyle mikrobiyal komünitedeki değişiklikleri çalışmada değerli araçlar haline gelmiştir (Bååth vd., 1998b). Yağ asitlerinin birçoğu bu nedenle mikrobik dinamiği analiz etmek için de kullanılabilir (Tunlid ve White, 1992).

Fosfolipidlerde (PL) yağ asitlerini ve lipopolisakkaridlerde (LPS) hidroksi yağ asitlerini bağlayan esterin niceliksel ölçümü, mikrobiyal biokütlenin ve komünite kompozisyonunun en hassas ve güvenilir kimyasal ölçümlerinden biri olarak kabul edilmiştir. Bu proseslerin geçerliliği Tunlid vd. (1989) ve Mancuso vd. (1990) tarafından tartışılmıştır. Sonuç olarak, su, sedimentler ve toprak gibi biyolojik açıdan karmaşık olan yapıların büyük oranda yağ asitleri içerdikleri gösterilmiştir (Zelles ve Bai, 1993).

Biyokütle ve komünite yapısı tayinine ek olarak, "işaret" lipidlerin biyolojik analizi mikropların fizyolojik durumu hakkında bir fikir sağlamak için kullanılmıştır. (White; 1988, 1995). PLFA analizi ilk olarak sucul ortamlardaki mikrobiyal topluluk çalışmalarında kullanıldı (White vd., 1979). PLFA Frostegård vd. (1993b) ve Zelles vd. (1992) tarafından karasal ortamlarda kullanıldı. Daha sonra, ağır metaller gibi çeşitli çevresel bozukluklar sonrası toprağın mikrobiyal komünite yapısını tespit etmek için başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Frostegård vd., 1996). Alkali toz kirliliği (Bååth vd., 1992), kireçlenme (Frostegård vd., 1993a), turbalıkların

mikrobiyal komünitesi çalışması (Sundh vd., 1997), toprak bakterilerinin bitki tohumları, kökler ve mikorizalara yanıtı (Olsson vd., 1996) gibi çalışmalarda PLFA analizi kullanıldı. Ayrıca tarımsal topraklarda, tarımsal uygulamaların etkisi de incelenmiştir (Zelles vd., 1992, 1994).

### **1.1.7. PLFA Analizinin Avantajları Ve Dezavantajları**

#### **1.1.7.1. PLFA Analizinin Avantajları**

Ruess ve Chamberlain (2010), belirttiğine göre PLFA analizinin oldukça basit hızlı hassas, ucuz olduğu ve topraktaki yaşayan canlı topluluğunun yapısını değerlendirmek için uygun olduğu kanıtlanmıştır (Pratt vd., 2012).

Fosfolipidler hücre ölümünden sonra hızlı bir şekilde bozulduğundan ve depolama ürünlerinde fosfolipitler bulunmadığından dolayı toplam PLFA konsantrasyonu total canlı (aktif) mikrobiyal biyoması niceliksel olarak incelememize imkan verir. Mikrobiyal biyokütleyi ölçmek için kullanılan diğer yöntemler (SIR, CLPP gibi) ile toplam fosfolipid içerik arasında önemli bir ilişki bulunmuştur (Kaur vd., 2005).

PLFA analizinin en önemli avantajı nükleik asitlerin hücreden izolasyonunun zor olması ve ardışık amplifikasyonun aksine, PLFA'ların kolay bir şekilde topraktan ayrışmasıdır. PLFA parmak izi mikrobiyal komünitenin karmaşıklığını temsil eder ve toprak mikrobiyal özelliklerinin gözlem ve karşılaştırılması için önemli kalitatif ve kantitatif bilgiler sağlar (Byss vd., 2007).

DNA bazlı tekniklerinin büyük bir potansiyele sahip olmakla birlikte nükleik asit ekstraksiyonu tekrarlanabilirliği ve PCR adımları seçiminde sorunları vardır. Buna ek olarak, genetik analiz ile ifade edilen çeşitliliği değil, toplamı ortaya koymaktadır. Genetik çeşitlilik rutin izlemeler için gerekli olan etkilerin ince ölçekli tespitinden çok daha büyüktür ve erken uyarılar görülmeyebilir. Fenotipik düzeyde mikrobiyal topluluğun geniş bir çeşitlilik ölçümünü sağlayan fosfolipid yağ asidi profillerinin (Zelles, 1999) belirlenmesi ile bu durumun üstesinden gelinmektedir. Ancak PLFA profilleri türlerin kompozisyonu ile ilgili herhangi bir bilgi vermemektedir. Daha ziyade komünite yapısının parmak izini ifşa etmekte ve çeşitli toprak sistemlerinde komünite yapısını incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Steer ve Harris, (2000)'in bildirdiğine göre ayrıca farklı kökenli komüniteler ve arazi kullanım



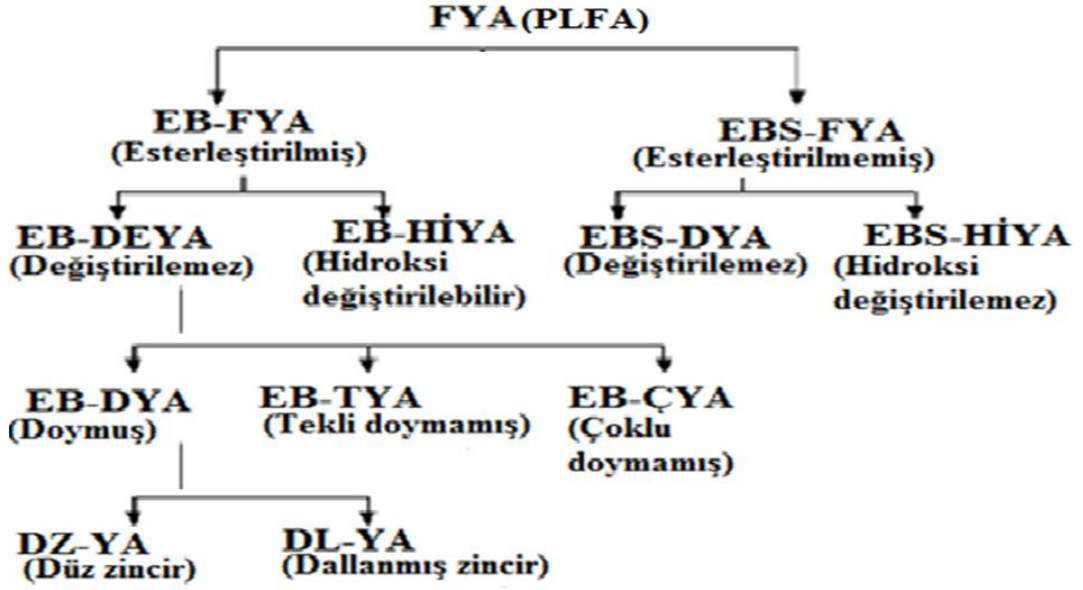
stratejileri arasında devamlı olarak fark gözeten kullanışlı araçlar olarak düşünülmüşlerdir (Kaur vd., 2005).

#### **1.1.7.2. PLFA Analizinin Dezavantajları**

Bu yöntemin kullanılabilirliğine rağmen bazı kısıtlamaları vardır (Haack vd., 1994). Birincisi, toprak örneklerinde organizmalar için uygun indikatör moleküllerin hepsi bilinmeyebilir ve birçok durumda spesifik yağ asitleri ile mikroorganizma gruplarının ilgisi belirlenemeyebilir. Bu metot genelde mikroorganizmaların türünü belirlemek için kullanılmaz. İkincisi, yöntem büyük oranda yağ asitleri indikatörlerine bağlı olduğu için (toplam komünite yapılarını belirlemek amacıyla) bu indikatörlerdeki herhangi bir değişim yanlış komünite tahminine sebep olur. Üçüncüsü, bakteriler ve funguslar oldukça farklı miktarda PLFA'lar ve yağ asitleri çeşitleri üretirler ki bunlarda büyüme ve çevresel streslere bağlı olarak değişir. Bu işaretli PLFA varlığı, bazı organizma grupları ile korelasyon göstermesine rağmen her koşulda sadece bu gruplara özgü olmayabilir. Sonuçta bu durum yanlış komünite topluluklarının belirlenmesine yol açabilir (Hill vd., 2000).

#### **1.1.8. PLFA'ların Sınıflandırılması**

Tablo 2.2 incelendiğinde toplam fosfolipit yağ asitleri PLFA (FYA) olarak tanımlanmıştır. FYA; ester bağlantılı fosfolipid yağ asitleri (EB-FYA, toplamın 60-90%'ı) ve ester bağlantısız fosfolipid yağ asitleri (EBS-FYA'lar, toplamın 10-40%'ı) içerisinde sınıflandırılabilir (Steinberger vd., 1999). EB-FYA'lar; ester bağlantılı değiştirilemez yağ asitleri (EB-DEYA'lar) ve hidroksi ikameli yağ asitleri (EB-HİYA) içerisinde alt bölümlere ayrılmıştır. EB-DEYA; doymuş (EB-DYA), tekli doymamış (EB-TYA) ve çoklu doymamış yağ asitlerini (EB-ÇYA) içermektedir. EB-DYA iki alt gruba sahiptir. Bunlar dallı zincirli yağ asitleri (DL-YA) ve düz zincirli yağ asitleri (DZ-YA). EBS-FYA'lar; değiştirilemez (EBS-DYA) ve hidroksi ikameli (EBS-HİYA) yağ asitlerinde oluşmaktadır (Zelles, 1999; Kaur vd., 2005).

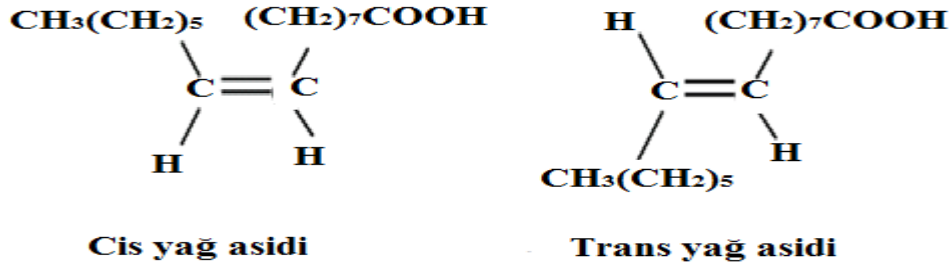


**Tablo 1.2.** Fosfolipid yağ asitlerinin sınıflandırılması (Kaur, 2005).

### 1.1.9. Fosfolipitlerin İsimlendirilmesi

Örnek bir profil ayrıştırılmış birçok PLFA'dan oluşur. Bunlarda karbon zincirinden oluşur. Bu karbon zincirleride değişik sayı ve pozisyonlu çift bağ ve yan zincirlerden meydana gelir. Yağ asitlerinin dizaynı toplam karbon sayısını gösterir. Çift bağların sayısı  $\omega$  ile beraber çiftli bağın metil sona olan pozisyonunu gösterir (Frostedgård vd.,1993a).

Çift bağların cis ve translarla gösterimi "c" ve "t" olarak olarak gösterilir. "i" ve "a" ise izo ve antiizo dallanmayı gösterir (Leckie, 2005), Normal- n, dallı- br, pozisyonu bilinmeyen- p (Zelles ve Bai, 1994), 10ME ise karboksil sona göre 10. karbondaki metil grubu vardır. "cy" ise cyclopropane yağ asidini gösterir (Leckie, 2005), d- dikarboksil yağ asitleri için kullanılır. Hidroksi yağ asidi metil esterleri " $\alpha$ ", " $\beta$ " veya " $\omega$ " ve " $\omega-1$ " ön ekleri ile gösterilir. Bunlar sırasıyla karboksil sona ( $\Delta$ ) en yakın 2 ve 3. pozisyonlar için hidroksil grubu 2c-  $\alpha$ , 3c-  $\beta$  ile gösterilir (Zelles ve Bai, 1994) .



**Şekil 1.4.** *Cis* ve *trans* yağ asiti zincirleri (<http://catalog.flatworldknowledge.com>) (Erişim. 05.10.2013).

#### 1.1.10. PLFA Biyoindikatörlerinin Yorumlanması

PLFA'nın belirli alt fraksiyonlarının bazıları mikrobiyal cinsler için fizyolojik, bazıları için taksonomik indikatör olarak kullanılabilir (Zelles vd., 1995). Genel olarak, mikroorganizmaların yağ asitlerinin bileşimleri iki gruba ayrılır (Gillan ve Hogg, 1984): Baskın olarak düz zincir asitleri ihtiva eden organizmalar ve baskın olarak dallanmış asit ihtiva edenler (Hellmann vd., 1997).

Bakteriler, diğer organizmalar içinde yaygın olarak düz-zincirli yağ asitleri içerir. Yani ağırlıklı olarak doymamış EB-TYA'lar,  $\omega 9$  (oleik serisi) veya  $\omega 7$  (vaccenic serisi) bulundurur (Lechevalier, 1989). EB-TYA'lar hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerde bulunur, ancak, Gram pozitif bakterilerde, toplam PLFA içeriğine görece katkıları genellikle çok azdır (örneğin, < % 20). Bu nedenle, EB-TYA'lar Gram negatif bakteriler için genel olarak biyoindikatör olarak kullanılabilir (Ratledge ve Wilkinson, 1988). Eubacteria, 15:0, cy17:0, cy19:0, i15:1, i17:1, a17:1 (Frostegård ve Bååth, 1996); Gram pozitif bakteriler, iso ve antiiso dallanmış doymuş yağ asitleri (Zelles, 1999); Gram negatif bakteriler, tekli doymamış yağ asitleri ve siklopropil 17:0 ve 19:0 yağ asitleri ihtiva ederler (Buyer ve Sasser, 2012).

Çoklu doymamış yağ asidi (18:2 $\omega$ 6,9c) mantarı biyoindikatörlerdir (Langer ve Rinklebe 2009). Fakat bu PLFA'lar bitkilerde de bulunabilir (Klamer ve Bååth, 2004). Bu yağ asidi, bitki hücresi sistemde mevcut olmadığı zaman mantarlar için iyi bir gösterge olabilir (Zelles, 1999). Ayrıca tekli doymamış 18:1 $\omega$ 7c (Zelles, 1997), 18:1 $\omega$ 9t ve 18:1 $\omega$ 9c (Wilkinson, 1988) yağ asidi mantar biyoindikatörleridir.

Yirmi karbonlu yağ asitleri yosun ve protozoada mevcuttur. Bakterilerde ise önemli miktarda bulunmamaktadır (Lechevalier ve Lechevalier 1988; Federle, 1986).

Mikroökaryotlar daha uzun zincirli yağ asitleri (26:0) bulundurur (Zelles, 1997). Aktinomisetlerin biyoindikatörleri ise dallı zincirli (10Me18:0) yağ asitleridir (Frostegård vd., 1993a). Ayrıca 10Me16:0, 10Me17:0 ve 10Me18:0, aktinomiset türleri arasında yaygındır (Kroppenstedt, 1985).

**Tablo 1.3.** Mikroorganizmaların belirli grupları için yaygın olarak kullanılan biyoindikatör fosfolipid yağ asitleri (Leckie, 2005).

PLFA tipi	Biyoundikatör	Referans	İşaretleyici olarak kullanılan yaygın PLFA'lar	Açıklamalar
Doymamış Monoenoic ve doymamış siklopropan	Gram negatif bakteriler	Wilkinson, (1988)	16:1 $\omega$ 5c, 16:1 $\omega$ 7c, 16:1 $\omega$ 7t 16:1 $\omega$ 9c, a16:0, cy17:0, 18:1 $\omega$ 5c, 18:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 9t, 18:1 $\omega$ 9c, cy19:0	Gram pozitif bakteriler ve ökaryotlarda az miktarda oluşur
Terminal dallı ve 10Me dallı doymuş	Gram pozitif bakteriler	O'Leary ve Wilkinson, (1988)	i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, a17:0, i17:0, i18:0 10Me16:0	Bazı Gram negatif bakterilerde oluşur (sülfat indirgeyici)
Doymuş düz zincirli (<20C) 10.C atomu üzerinde metil dallı doymamış Polienoik Doymuş düz zincirli (>20C)	Bakteriler (spesifik olmayan) Aktinomisetler Fungi (mantar) Mikro ökaryot, Yüksek bitkiler, yosun	Lechevalier ve Lechevalier, (1988); Lechevalier, (1977) Federle, (1986); Frostegård ve Bååth, (1996); Klamer ve Bååth, (2004) ; Zelles, (1999)	14:0, 16:0, 18:0, 10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0 18:2 $\omega$ 6 (18:1 $\omega$ 9c, 18:3 $\omega$ 3) 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0, 25:0, 26:0	Diğer ökaryotlar ve bakterilerde oluşur
Çoklu doymamış	Mikro ökaryot	Lechevalier, (1977)	20:3 $\omega$ 6, 20:4 $\omega$ 6	Ender olarak bakterilerde
Siklopropan PLFA Monoenoic öncüleri	Stres göstergesi	Guckert vd., (1986), Ratledge ve Wilkinson, (1988)	16:1 $\omega$ 7c/cy17:0, 16:1 $\omega$ 8c/cy19:0	Düşük oranlarda (<0.5) sağlıklı, sterssiz popülasyonlarda bulundu
Monoenoic PLFA trans / sis oranı	Stres göstergesi	Guckert vd., (1986), Ratledge ve Wilkinson, (1988)	16:1 $\omega$ 7t/16:1 $\omega$ 7c, 16:1 $\omega$ 8t/16:1 $\omega$ 8c	Düşük oranlarda (<0.5) sağlıklı, sterssiz, popülasyonlarda bulundu

## BÖLÜM 2

### KAYNAK ÖZETLERİ

Fosfolipit yağ analizi kültür bağımsız metodlardandır. Toprağın mikrobiyal komünite yapısını belirlemede kullanılır. Ayrıca PLFA analizi, ekim aktiviteleri (Zelles vd., 1992), kirlilik (Frostegard vd., 1993b), fumigasyon (dezenfekte etme), (Macalady vd., 1998) ve toprak kalitesindeki değişimler (Bossio vd., 1998) gibi toprak bozukluklarını (örselemesi) örnekleyecek şekilde toprak değişikliklerinin tespitinde kullanılır. Yapılan literatür taramasında ülkemizde topraklardaki PLFA ile ilgili herhangi bir tez çalışmasına rastlanılmamıştır. Yurt dışında yapılan bazı çalışmalar ise şöyledir;

Bååth vd. (1992), demir ve çelik çalışmaları sonucunda meydana gelen alkali atıklar tarafından kirlenen Finlandiya ormanlık alanlarında toprak bakterilerinin biyokütlesi, pH toleransı ve büyüme oranını, fosfolipit yağ asidi örnekleri ile çalışmışlardır. PLFA örneklerinin bakteri türlerindeki değişimi gösterdiğini, en büyük oransal artışın 10Me18:0 yağ asitlerinde bulunduğunu bunun da kirlenmiş alanlardaki aktinomiset sayısındaki artışı gösterdiğini, i14:0, 16:1ω5, cy17:0, 18:1ω7, ve 19:1 yağ asitlerinin seviyelerinin kirli alanlarda arttığını, ancak 15:0, i15:0, 10Me16:0, 16:1ω7t, 18:109, ve cy19:0 yağ asitlerinin seviyelerinin kirlenmemiş alanlarla karşılaştırıldığında, kirlenmiş alanlarda azaldığını bildirmişlerdir.

Zelles ve Bai (1993), mikrobiyal biokütle ve toplum yapısını tahmin etme amaçlı bir çalışmada, tarımsal toprakta fosfolipit (PL) ve lipopolisakkarid'den (LPS) elde edilmiş yağ asitlerinin profilinin kantitatif ölçümü için analitik yöntemler geliştirmiş ve değerlendirmişlerdir. Tarımsal toprakta PL'den türemiş 160'tan fazla yağ asidi, LPS'den türemiş birkaç düzine hidroksi yağ asitleri bulmuşlardır. Topraktaki toplam PLFA'ların miktarı 23 µg g<sup>-1</sup> olarak bulunmuş, bunun aksine, LPS'den elde edilmiş OHFA miktarı ise 519 µg<sup>-1</sup>'e ulaşmıştır.

Zelles ve Bai (1994), yaptıkları bir çalışmada mikrobiyal komünitelerin fosfolipit ve lipopolisakkarit yağ asitleri dizilimi ve karakteristik yapılarını belirlemek amacıyla farklı toprak örneklerini incelemişlerdir. Bunlardan otlak toprakların, yüksek ve orta zincirli hidroksi yağ asitleri özelliği gösterdikleri, tuzlu bataklıkların, *Basillus*, fungi ve bitkilerden yoksun olduğunu fakat büyük oranda *Desülfövibrio* suşları indikatörleri ve Gram negatif bakterilerin yağ asidi kompozisyonu içerdiklerini, orman katmanlarının yüksek oranda fungi göstergeleri ve çok düşük oranda Gram negatif bakteriler tarafından oluşturulan yağ asitlerine sahip olduklarını belirlemişlerdir. Dallı doymuş yağ asitleri zinciri aktinomiset ve Gram pozitif bakteri için indikatör olup, orman katmanlarının derinlikleri ile orantılı olarak artış gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Petersen ve Klug (1994), depolama, eleme ve inkübasyon ısısının toprak mikrobiyal komünitesinde PLFA'lar üzerindeki etkisini araştırmışlardır. 4,5 °C'de, 7 haftalık depolama sürecinde bireysel yağ asitlerin yoğunlaşmasındaki değişikliklerin istatistiksel olarak önemli olmadığını gözlemlemişlerdir. Ancak ilk elemelerde (<4 mm) mantar hiflerindeki bazı hasarlar, biobelirteç yağ asidi 18:2ω6c'de bir azalma ile açıklanmıştır. Isı etkileri 3 haftaya kadar 4,5 °C, 10 °C ve 25 °C'de toprağın bekletilmesi ile incelenmiştir. İlk 2 hafta içerisinde, 25 °C'de PLFA oluşumunda önemli bir değişiklik olduğu kanıtlanmış ancak diğer iki derecedeki değişikliğin çok az olduğu görülmüştür.

Pennanen vd. (1996), uzun süreli ağır metal oluşumunun mikrobik komünite yapısına etkisi ve bakteri komünitesinin tolerans seviyesini İskandinav orman topraklarının 2 farklı gradyeninde çalışmışlardır. PLFA analizi her iki kirlenmiş bölgede toprağın mikrobik komünite yapısında önemli değişiklik ortaya çıkarmış, PLFA'ların büyük çoğunluğunun her iki alanda metal kirliliğine bağlı olarak oranlarının değiştiğini, PLFA br18:0, br17:0, i16:0 ve i16:1'in miktarlarının, metal yoğunluğuna bağlı olarak arttığını, bir çok mantarda baskın olan 20:4 ve 18:2ω6 yağ asidi oranlarının azaldığını, mikrobiyal biyokütlenin mantar kısmının ağır metallere daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Frostegård ve Bååth (1996), hücre içeriğini oluşturan 12 bakteriyel fosfolipid yağ asidini (PLFA) homojenizasyon/santrifüjleme ile topraktan çıkarılan bakterilerde

tespit etmişlerdir. Toprak içeriğindeki PLFA 18:2ω6 yağ asidinin, ergosterol içeriği ile uyuştuğunu, bununda da mantar biyokütlesinin indikatörü olarak, PLFA'nın kullanımının desteklediğini belirtmişlerdir. Ayrıca 18:2ω6 yağ asidi oranı ile bakteriyel PLFA oranını, topraktaki bakteriyel biyokütle oranı: mantar oranının bir göstergesi olarak önermişlerdir.

Hellmann vd. (1997), yaptıkları bir kompostlama çalışmasında, eser gazların emisyonu ve mikrobiyal komünitelerdeki değişimi incelemişlerdir. Mikrobiyal biyokütlenin değişik göstergelerinin tayini, komünite yapısı ile biyoaktivite tayinini fumigasyon ekstraksiyon yöntemi ve PLFA analizi metodu ile yapmışlardır. Mikrobiyal komünite yapısının araştırılması için PLFA'ların LPS'lerin ve eter lipidlerin alt fraksiyonları incelenmiş, mikrobiyal faaliyetler ve komünite yapısı arasındaki ilişki gösterilmiştir. Bu çalışmada, azalan sıcaklıkta dallı zincirli yağ asitlerinin miktarı artmıştır. Bu artışın, Gram pozitif bakterilerin konsantrasyon veya aktivitesindeki artışa bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Bossio vd. (1998), yaptıkları bir çalışmada, geleneksel tarım sistemleri uygulanan düşük organik girdili topraklarda fosfolipid yağ asidi profillerini ölçmüşlerdir. PLFA profilleri ile daha önce mikrobik biyokütlerdeki değişikliklerin mikrobik komünitenin oluşumundaki değişikliklerle beraber olup olmadığı bakımından karşılaştırılmış, ek olarak çevresel değişkenlerin PLFA profilleri üzerine etkisi belirlenmiştir. Mikrobik komünitenin oluşumunda değişik çevresel değişkenlerin etkilerini şu şekilde sıralamışlardır; Toprak türü > zaman > özel tarım işlemleri > yönetim sistemi > varyasyon.

Olsson (1999), yaptığı bir çalışmada özel yağ asitlerinin topraktaki mikorizal fungusların biyokütlelerinin tahmini için nasıl kullanılabileceğini ve köklerin yanı sıra diğer mikroorganizmalarla etkileşimleri hakkında bilgi vermeyi amaçlamış, ayrıca misellerde enerji depoları ile karbon tahsis tahmin etmek için yağ asitlerinin kullanımını ele almış, farklı işaretçi bileşiklerin (yağ asitlerinin) duyarlılığını ve özgülüğünü irdelemiştir. Arbusküler mikorizal (AM) mantar için işaret yağ asidinin 16:1ω5 ve Ectomikorizal mantarlarda 18:2ω6, 9 yağ asitlerinin hakim olduğunu belirtmiştir. Biyokütle tahmini olarak öncelikle fosfolipid yağ asitleri (PLFA) uygun olduğunu, belirli PLFA'ların kullanımı sayesinde mikoriza miselleri arasındaki etkileşimleri incelemenin mümkün olduğunu söylemiştir.



Steinberger vd. (1999), yaptıkları bir çalışmada Yahudiye Çölü'ndeki iklim değişikliği süresince toprağın mikrobiyal biyoçeşitliliği, komünite yapısı ve biyokütlesi gibi toprak mikrobiyal süreçlerindeki değişimleri değerlendirmek için fosfolipit yağ asitleri analizi kullanmışlardır. PLFA sonuçları, çöl yerleşiminde mikrobiyal topluluk yapısı ve PLFA oluşumunun yüksek olduğunu ortaya koymuştur. İklim değişikliğinin neden olduğu yağ asitlerinin özel gruplarında önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. PLFA'lar tarafından temsil edilen biyokütlenin, yağışın arttığı durumlarda arttığı belirlenmiştir.

Zelles (1999), yaptığı bir çalışmada topraktaki mikrobik biyokütle ve toprak yapısını değerlendirmek için lipopolisakkarit oluşumunu ve fosfolipit yağ asitleri profili analizlerini ele almıştır. PLFA analizi tekniğini, mikroorganizmaların farklı toprak tiplerinde, yönetim uygulamalarında, iklim kökenleri ve düzensizliklerin geniş aralıklar altında değişen çevresel koşullara uyum sağlamada kullandığı farklı stratejileri açıklamak için kullanmıştır. PLFA'ların farklı kimyasal alt gruplara bölünmesinin değerlendirme sürecini kolaylaştıracağını ve topraktaki mikrobiyal komünitelerin değerlendirmesini geliştireceğini öne sürmüştür.

Hill vd. (2000), yaptıkları bir çalışmada, toprak mikrobiyal komüniteleri üzerine birkaç mikrobiyal yaklaşım üzerinde durmuş, onların kuvvetli ve zayıf yönlerini açıklamışlardır. Geleneksel kültür-temelli yöntemler ve kültür-bağımsız yöntemleri bir perspektifte sunmuşlardır. Kültür temelli yaklaşımların mikrobiyal komünite çeşitlerinin tamamını kapsayacak şekilde düzenlendiğini, fakat bu yaklaşımla toprak mikrobiyal komünitelerinin %0,1'den küçük bir kısmına ancak ulaşılabildiğini, bu problemin üstesinden gelmek için PLFA analizi ve komünite düzeyinde fizyolojik profil yöntemlerinin kullanıldığını belirtmişlerdir.

Pennanen (2001), yaptıkları bir çalışmada boreal humuslu ormanlarda yaşayan mikrobiyal komünite yapısının humus pH değişiklikleri ve ağır metal konsantrasyonları düzeylerinde, mikrobiyal biyokütle ve karbon mineralizasyon oranı üzerindeki etkilerinin çalışma alanının hemen hiçbir bölgesinde görülmediğini ya da sadece küçük bölgelerde görüldüğünü, humustaki PLFA dizilimindeki değişikliklerin mikroorganizma, bakteriler ve mantarların ana gruplarının bolluğu ile ilgili olduğunu, aktinomisetlerde dahil olmak üzere Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin nispi oranlarda değişiklik gösterdiğini belirtmiştir.

Kaur vd. (2005), yaptıkları bir çalışma ile fosfolipid yağ asidi profilleri, organizmaları yetiştirmeden (kültüre almadan), toprak mikrobiyal komünitelerinin sayısal olarak baskın kısmını karakterize etmek için hassas ve tekrarlanabilir ölçümler sunduğunu, bu tekniğin, mikrobiyal komünite kompozisyonunun ve biokütle boyutunun tahmini için sonuçlar verdiğini ve sonuçların topraktaki doğal koşulları temsil ettiğini, PLFA analizinin çeşitli çevresel stresleri tespit etmek için kullanıldığını ve diğer yöntemlere göre daha fazla ayırt edici olduğu sonucuna varmışlardır.

Hackl vd. (2005), PLFA örneklemelerini doğal ormanlardaki toprağın mikrobik komünitesinin oluşumunu tanımlamak için kullanmışlardır. Toplam PLFA'ların belirlenmesine ek olarak toprağın mikrobik biokütlesi için substrat bağlantılı solunum (SIR) ve kloroform fümigasyon ölçümünde yapmışlardır. PLFA analizi ile mikrobik komünitenin oluşumsal olarak sulak alanlarda ve diğer yerlerde farklı olduğunu ortaya koymuşlardır. Minerali bol olan sulak topraklarda 16:1 $\omega$ 5, 17:0cy, a15:0 ve a17:0 yağ asitlerinin en çok yaygın olduğunu ve toprak pH'ının, toprağın mikrobik komünitesinin farklılaşmasında sorumlu olduğunu, çam ormanı topraklarının diğer orman topraklarından 18:2 $\omega$ 6,9 PLFA'sının yüksek olması bakımında ayrıldığını belirtmişlerdir ki bunun da bir çeşit mantar olduğunu ve çam ağaçları ile ilişkili ektomikorizal mantar olabileceğini belirtmişlerdir.

Leckie (2005), yaptığı çalışmada komünite profilleme yöntemlerini açıklayarak moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik tekniklerdeki gelişmeler sonucunda topraktaki karmaşık ve çeşitli mikrobiyal komünitenin değerlendirilmesinin mümkün hale geldiğini, bu yeni yaklaşımların laboratuarda izole edilen bakteri ve mantarlardaki örnek temsili sınırlılıklarını önlediğini ve bu yaklaşımların DNA bazlı yaklaşımlar, membrandaki fosfolipid yağ asitlerine dayalı yaklaşımlar olduğunu, bu yeni bilgilerin mikrobiyal dağılımları kontrol etmemize ve toprak mikroorganizmaların bolluğu, komünite yapısı faaliyetleri ve toprak organizmalarının dağılımına etki ve ekosistem süreçlerini anlamamıza yardım ettiğini bildirmiştir.

Langer ve Rinklebe (2009), Elbe Nehri'nde (Almanya) mikrobiyal komüniteyi karakterize etmek için, iki uzun dönemli ve iki kısa dönemli su altında kalmış topraklarda çalışmışlardır. Uzun dönemli su altında kalmış toprak PLFA'larının tüm fraksiyonlarının, kısa dönemli su altında kalmış toprak PLFA'larından düşük

olduğunu ve çoklu doymamış yağ asitleri (18:2ω6,9) biyoindikatörlerin uzun dönemli su altında kalmış toprak PLFA'larından 10 kat daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca uzun vadede su baskını ile ilişkili çevresel koşulların topraktaki mantar için dezavantajlı olduğunu söylemişlerdir. Toprağın mikrobik komünitesi kompozisyonunun selin sürekliliğine ve sıklığına adapte olduğunu, ancak hem su rejimi hem de toprak kalitesi faktörlerinin sulak alanlarda mikrobik çeşitliliğin fonksiyonunu ve yapısını düzenlemede önemli role sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Buyer ve Sasser (2012), yaptıkları bir çalışmada standart PLFA analizi metodu ve kendi geliştirdikleri yüksek verimlilik metodu kullanarak, 10 farklı toprak örneği incelemişlerdir. Yüksek verimlilik yönteminde, standart PLFA yönteminden daha düşük konsantrasyonlarda PLFA üretilmiş ancak düşük standart sapma ve daha düşük varyasyon katsayıları elde edilmiştir. Ayrıca tekrarlanabilirliği de standart PLFA metoduna göre yüksek olmuştur.

Pratt vd. (2012), yaptıkları bir çalışmada polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ile kirlenmiş nehir yatağı tortusunun bakteriyel yapısını PLFA analizi ile incelemişlerdir. Mohaning Nehrin'de kirlenmiş ve kirlenmemiş bölgelerden yüzeyden ve alttan tortular toplanmış, PAH yoğunlukları, tortunun fiziksel özellikleri ve diğer bakteriyel parametreler (fosfolipid fosfat (PLP), biyokütle ve aktivite gibi) ölçülmüştür. Hem kirlenmiş hem de kirlenmemiş bölgelerden alınan su altı tortuları benzer PLFA değerleri göstermiş, PLFA'ların dağılımının %27-37 arasında olduğu, PAH kirlenmesi ile PLFA çeşitliliği arasında hiçbir bağlantının olmadığı belirtilmiştir.

Ngonadi (2013), Mildred Gölü (Kanada), Syncrude ana atık yerleşme havzası içinde mikrobiyal komüniteyi anlamak ve buradaki sülfür döngüsü ve sülfür üretimi ile ilgili olası çevresel sorunları belirlemek için yaptığı çalışmada PLFA analizini kullanmıştır. Kompozit atık bölgesindeki site örneklerinde PLFA analizi ile hücre yoğunlukları  $10^6$  ile  $10^7$  arasında değişen tahmini konsantrasyonlar göstermiş, bu hücre yoğunluğu aralıklarının oligotropik sistemleri için beklenen bir durum olduğunu belirtmiş, ayrıca fosfolipitlerin mikropların belirli grupları için biyobelirteç olabileceğini bildirmiştir.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışma Karkamış tarım alanları topraklarında fosfolipit yağ asidi (PLFA) tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmanın materyalini, 2012-2013 yıllarında Gaziantep ilinin, Karkamış ilçesindeki tarım arazilerinden belirlenen istasyonlardan alınan toprak örnekleri oluşturmaktadır.

#### 3.1.1. Çalışma Alanlarının Özellikleri

##### 3.1.1.1. Coğrafi Konumu

Akdeniz Bölgesiyle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin birleşme noktasında yer alan Gaziantep ili  $36^{\circ} 28'$  ve  $38^{\circ} 01'$  doğu boylamları ile  $36^{\circ} 38'$  ve  $37^{\circ} 32'$  kuzey enlemleri arasında bulunmaktadır. Gaziantep ili 7642 km<sup>2</sup>'lik alanıyla Türkiye topraklarının yaklaşık olarak %1'lik bölümünü kapsamaktadır (Gaziantep İl Çevre ve Orman Müdürlüğü, ÇED Raporu, 2010).



Şekil 3.1. Gaziantep İli Haritası (www.gaziantep.gov.tr) (Erişim:24.07.2013).

### 3.1.1.2. İklim

Gaziantep'in güneyinde ve batısında Akdeniz İkliminden mutedil yarı karasal iklim tipi özellikleri gözlenirken il merkezi ve çevresinde özellikle doğu ve kuzey kesimlerinde mutedil karasal iklim özellikleri görülmektedir. Bölgenin coğrafik ve topoğrafik yapısı nedeniyle bölge iklimi ılımanlıktan karasallığa geçiş göstermektedir (Gaziantep İl Çevre ve Orman Müdürlüğü, ÇED Raporu, 2008).

**Tablo 3.1.** Yıllık Toplam Yağış Verileri / Gaziantep (www.meteor.gov.tr)  
(Erişim: 24.07.2013).

Ortalama Yağış Periyodu	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Yıllık Toplam mm
1970 - 2010 Normali	90.1	84.5	74.5	56.2	29.6	6.5	2.5	2.6	6.2	37.7	66.8	93.6	550,8

Gaziantep'in uzun yıllar yağış ortalamasında en az yağışın 328,2 mm ile Karkamış'ta en fazla yağışın 840 mm ile İslahiye'de olduğu görülmektedir. Gaziantep'te yıllık yağış ortalaması 578,8 mm'dir. Aylık en yüksek yağış Aralık ayında görülürken, en düşük yağış ise Temmuz ayında görülmektedir. Karkamış'ta ise yıllık ortalama yağış, 334,3 mm'dir.

Gaziantep'te en sıcak ay Temmuz ayı, en soğuk ay ise Ocak ayıdır. Gaziantep ilinin denize olan uzaklığı 140 km olup rakımı ise 855 m'dir. Gaziantep'te yarı karasal bir iklim görüldüğü için yaz ayları oldukça kurak geçmektedir (www.meteor.gov.tr) (Erişim: 24.07.2013).

### 3.1.1.3. Çalışma Alanı

Çalışma alanı Karkamış ilçesi doğusunda, Fırat nehri, batısında Oğuzeli ilçesi, kuzeyinde Nizip ilçesi, güneyinde Suriye yer almaktadır (<http://www.karkamis.gov.tr>) (Erişim: 24.07.2013).

### 3.1.1.4. Karkamış İlçesi Hakkında Genel Bilgiler

Karkamış ilçesi, Gaziantep il merkezinin güneydoğusunda yer alır. 314 km<sup>2</sup> yüz ölçümü ile Gaziantep ilindeki en küçük ilçedir. İlçenin doğusunda Fırat Nehri ve Birecik, batısında Oğuzeli ilçesi, kuzeyinde Nizip, güneyinde ise Suriye

bulunmaktadır. Gaziantep il merkezi ve ilçe merkezi arasındaki uzaklığı ise 75 km'dir. Karkamış'ın denizden yüksekliği 365 m'dir (<http://www.karkamis.gov.tr>) (Erişim:24.07.2013).

Karkamış ilçesi, Barak Ovası üzerinde hemen hemen düz bir yapıya sahiptir. Barak Ovası, Gaziantep Ovasının devamı sayılır. Fırat Nehri ve Suriye sınırına doğru alçalır. Aşağı Barak Ovası, Birecik ilçesi sınır boyunda ve ilçenin kuzey doğusunda bulunur ve engebeli bir yapı gösterir. İlçe sınırları dahilinde Eşme Dağı dışında dağ ya da tepe yoktur (ETKB, 1985).

Araştırma alanını oluşturan ilçe merkezi 1. dereceden tarım arazileri, 3. dereceden tarım arazileri ve işlemeli tarıma uygun olmayan arazilerden oluşur. İlçe toprakları, kolüvyal topraklar, kahverengi topraklar, kırmızı kahverengi topraklar ve nehir kenarında bulunan ırmak taşkın yatakları üzerindeki topraklar olarak belirlenmektedir (KHGM, 1992).

Kent merkezi kahverengi toprak üzerinde yer alır. Bu alanda eğim % 2 dir. Taşlı, orta derecede erozyon tehlikesi gösteren kuru tarıma uygun alanlardır. Kahverengi topraklar kireçlidirler. Doğal drenajları iyidir. A1 horizonu kahverengi veya grimsi kahverengi, 10-15 cm kalınlığında ve granüler yapıdadır. Organik madde içeriği orta derecededir (KHGM, 1992).

Karkamış ilçesi genelinde kurak Akdeniz iklimi görülür, yazlar sıcak ve kurak geçerken, kışlar yağışlı ve ılımandır. Yaz ayları çok sıcaktır. Fakat geceler serin geçer. Çöl iklimi etkileri görülebilir. İlçede kış ayları genellikle fazla yağmurlu geçmez, kar yağışı ise yoktur. Yıllık sıcaklık, en düşük Ocak ayında görülür (-0,6 °C). Yıllık sıcaklık ortalaması ise 27 °C'dir. Sıcaklık, Aralık ayında ortalama 13 °C iken Temmuz ayında 39 °C'yi bulmaktadır. Ortalama nispi nem oranı ise % 42'dir. Yıllık ortalama yağışlı gün sayısı 55, yıllık ortalama yağış miktarı ise km<sup>2</sup>'ye 334,2 mm<sup>3</sup> olarak bulunmuştur. Yağışlar yıllara göre düzensiz dağılım gösterir. Nisan yağmurları, bölgenin suya olan ihtiyacını karşılaması açısından zirai yönden hayati önem taşır.

Fırat Nehri dışında önemli akarsu ve su kaynağı bulunmadığı için özellikle bahar aylarındaki yağış tarımsal faaliyetler için çok önemlidir. Karkamış Barajı ve Birecik Barajı, ilçe merkezine yakın mesafede bulunurlar. İlçe ikliminin yapısına olumlu

yönde etki etmektedirler. Genellikle düz ve düze yakın olan ilçe topraklarının, neredeyse tamamı tarıma elverişlidir. İlçe sınırlarında orman alanı bulunmamaktadır (<http://www.karkamis.gov.tr>) (Erişim:24.07.2013).

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Örnek Alma**

Yaklaşık 3 kg toprak örneği, seçilen arazilerde zikzak çizilerek tespit edilen 10-15 yerden yüzeydeki kaba örtü kaldırılarak 15 cm derinlikten, bir leğen içerisine alınmış, karıştırılarak içindeki yabancı maddelerden arındırılmış ve naylon poşetlere konarak etiketlenmiştir (Güçdemir ve Kalınbacak, 2008). Aynı zamanda örnek alınan istasyonların koordinatları ve yükseklikleri (Magellan 500) GPS cihazı ile tespit edilerek kaydedilmiştir. İstasyonların genel vejetasyon örtüsü, eğimi ve toprağın genel taşlılık durumu rapor edilmiştir.

### **3.2.2. Örneklerin İşleme Hazırlanması**

Naylon torbalara konularak arazilerden getirilen topraklar ilk olarak genişçe leğenlere konulmuş ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılarak belirli aralıklarla karıştırılmıştır. Açıkta kurutulmuş toprak örnekleri 2 mm'lik elekten geçirilerek analizlere hazır hale getirilmiştir.

### **3.2.3. Saturasyon Çamurunun Hazırlanması**

Richards (1954), tarafından bildirilen esaslara göre, 100 g toprak tartılarak plastik kaplara konulmuş, içerisine az miktarda saf su ilave edilerek toprağın saf suyla iyice doyması sağlanmıştır. Bu arada her su ilavesinden sonra çamur, bir spatül yardımıyla karıştırılarak toprağın akışkan hale gelmesi sağlanmıştır. Toprağın su ile doyduğu noktada su ilavesi kesilip ölçü silindirinden o zamana kadar ilave edilen su miktarı okunarak toprağın saturasyon çamuru hazırlanması için harcanan saf su miktarı belirlenmiştir. Saturasyon çamurunun üzeri parlak ve ışığı yansıtan özellikte olmalı, spatül çamur içinde hareket ettirildiğinde çamur birleşmelidir.

### 3.2.4. Toprak pH'sının Belirlenmesi

pH değerleri, saf su ile doygun hale getirilerek hazırlanmış saturasyon (doygunluk) çamurunda, tampon çözeltisiyle ayarlanmış pH metre Hanna marka (HI 83140 model) ile saptanmıştır (Schlichting ve Blume, 1966).

### 3.2.5. Kireç (g/kg) İçeriğinin Belirlenmesi

Kireç içeriği, Eijelkamp M1.08.53.D marka Scheibler kalsimetresinde Scheibler yöntemine (Anonim, 1988) göre tespit edilmiştir.

Analize başlamadan önce bir kaba 2,5 g toprak örneği konularak HCl çözeltisinden damlatılmıştır. Oluşan reaksiyona göre toprak örneklerinin tartımı yapılarak analize hazırlanmıştır.

**Tablo 3.2.** CaCO<sub>3</sub> için numune miktarlarının belirlenmesi.

Hava kabarcığı varlığı	Karbonat miktarı (g/kg)	Numune miktarı
Yok veya çok az	< 20	10
Var, az süreli	20 – 200	5
Güçlü, uzun süreli	100-200	2,5
Çok güçlü, uzun süreli	> 200	≤ 1

Eijelkamp M1.08.53.D kalsimetre ölçüm aparatında bulunan beş kolondan ilkinde miktarı belirlenen toprak örneği içeren erlen, diğer ikisine 0,2 ve 0,4 g tartılmış CaCO<sub>3</sub> diğer iki kolona ise 20 şer ml saf su konulmuş erlenler konulmuştur. Saf suyun ilave edildiği erlenler haricindeki diğer erlenlerdeki kireçler ve toprak örneğinin üzerlerine 20'şer ml saf su eklenmiştir. Büretlerin seviyesi 3 ml'ye ayarlanmış yalnız saf su ilave edilen erlenlerin bulunduğu büret seviyeleri 20 ml ve 40 ml olarak ayarlanmıştır. HCl çözeltisinden 7 ml küçük cam tüplere ilave edilerek erlenlerin içine bırakılmıştır. Erlenlerin ağız sıkıca kapatılmıştır. Cihaz ölçüm konumuna getirilmiş ve reaksiyon erlenleri hafifçe eğilerek çözeltiler sırayla boşaltılmıştır. Hava kabarcıkları bitene kadar erlenler yavaşça sallanmış ve su numune kabı ile ölçüm büretleri arasındaki mesafe eşitlenerek bulunan değerler not edilmiştir. Her erlene ait ölçüme başlamadan önce ayarlanan seviye miktarları ölçülen değerlerden çıkarılmıştır.



Kireç içeriğinin belirlenmesinde kullanılan eşitlik aşağıda verilmiştir;

$$\text{CaCO}_3 \text{ (g/kg)} = [1000 \times m_2 \times (V_1 - V_2)] / [m_1 \times (V_2 - V_3)] \times [(100 + W) / 100]$$

$m_1$  = Numune miktarı (g)

$m_2$  = Tartımı yapılan kireç miktarlarının ortalaması

$V_1$  = Numunenin büretinden okunan  $\text{CO}_2$  miktarı

$V_2$  = Kireçlerin bulunduğu büretlerden okunan  $\text{CO}_2$  miktarı ortalaması

$V_3$  = Saf suyun konulduğu büretlerden okunan  $\text{CO}_2$  miktarı ortalaması

$W$  = Numunenin % nem miktarı

### 3.2.6. Tuz İçeriğinin Belirlenmesi

Tuz içeriği, yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan saturasyon çamurunda, Crison marka (524 model) elektrikli kondaktivitimetre ile ölçülmüştür (Richards, 1954).

### 3.2.7. Organik Madde (%) İçeriğinin Belirlenmesi

Organik madde Walkley ve Black, (1934) tarafından bildirilen esaslara göre belirlenmiştir. Analize hazır hale gelmiş toprak örnekleri 100 mikronluk elekten geçirilmiş ve 0,5 g tartılıp 500 ml'lik erlenler içerisine konulmuştur. Üzerine 10 ml potasyum dikromat ve 20 ml sülfürik asit ilave edilerek sıcaklığı 150 °C'ye ayarlı manyetik ısıtıcı üzerinde 1 dk bekletilmiştir. Örnekler soğuduktan sonra üzerlerine 200 ml saf su ve 12-13 damla baryum difenilamin sülfonat eklenerek demir sülfat ile rengi yeşil oluncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan demir sülfat dikkate alınarak önce organik karbon daha sonra da organik madde içeriği hesaplanmıştır.

Hesaplama kullanılan formüller şu şekildedir;

$$\% \text{ Organik karbon} = [(N_1 \times A) - (N_2 \times B)] \times 0,003 \times 200 \times f_1$$

$$\% \text{ Organik madde} = \% \text{ Organik Karbon} \times f_2$$

$N_1$ : Potasyum dikromat çözeltisinin normalitesi

$N_2$ : Demir sülfat çözeltisinin normalitesi

$A$ : Harcanan potasyum dikromat miktarı (ml)

$B$ : Harcanan demir sülfat çözeltisinin miktarı (ml)

$f_1$ : 1,30

$f_2$ : 1,724

### **3.2.8. Toprak Strüktürünün (Yapısının) Belirlenmesi**

Araziden getirilip hava kurusu alınan toprakların agregat yapıları Anonim (1994)'e göre belirlenmiştir.

### **3.2.9. Toprak (Bünye) Tayini**

Çalışma alanı topraklarının işlemsiz toprakların bünye analizi Schmidt (1996)'a göre Retsch marka AS 200 cihazıyla tespit edilmiştir.

Toprak bünye sınıfının belirlenmesinde ise; bünye analizi yapılan toprakların kum, silt ve kil yüzde oranları tespit edildikten sonra bu sınırlara göre bünye sınıfları Anonim (1994)'e göre belirlenmiştir.

### **3.2.10. Fosfolipit Yağ Asidi Analizi**

Lipit ekstraksiyonu Zelles ve Bai, (1993)'ye göre yapıldı. Toprak örnekleri (15g) fosforik asit (pH=7,4), kloroform ve metanol (0,8:1:2 v/v/v) (toplam 143ml) ile 2 saat karıştırıldı. Silika jel doldurulmuş katı faz kartuşu (merck, Darmstadt, Germany) ve kloroform aseton ve metanol ayırıştırıcı olarak kullanılarak ekstraktlar nötr, gliko ve fosfolipitler olarak fraksiyonlarına ayrıldı. PLFA'lar 0,2M metanolik KOH ile alkali metanolize tabi tutuldu. PLFA'lar yağ asidi metil estere (YAME) çevrildi (GC'de, dedektöre hassas hale getirmek için). PLFA'ları ölçmek için iç standart (C19:0) (Methylene nonadecanoate, sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) eklendi. PLFA'lar gaz kromatografisi (Carlo Erba 8180, Milano, Italy), 60x0,25mm slika kapiller kolon (Rxi-5ms Restek, Bellefonte, PA) ve dedektör FID-80 (Thermo Eloelectron, Rodanp, Italy) kullanılarak ayırıştırıldı. He 1,5 ml/dak. akış oranı ile taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Fırının ilk sıcaklık programı 70°C (2 dk) dakikada 40°C arttırılarak 160 °C'ye çıkarıldı sonra dakikada 3°C arttırılarak 280°C 'ye çıkarıldı. (enjektör sıcaklığı 290 °C). Pik noktaları dış standart olarak bakteriyel asit metil ester CP- karışımı (Supelco, Taufkirchen, Germany) kullanılarak belirlendi.

### **3.2.11. Çalışma Alanlarının Lokaliteleri**

Araştırmalar Gaziantep'in Karkamış ilçesi ve köylerinde yürütülmüştür. Koordinatları GPS cihazıyla tespit edilmiş olan araştırma istasyonları Tablo 3.3'de verilmiştir. Araştırma istasyonlarındaki araziler orta ve çok eğimli olup tarımsal

üretim amacıyla işlenmektedir. Buralarda kültür tipi genellikle fıstık, bağ, zeytin, badem, arpa ve buğdaydır. Bu topraklar aluviyal ana materyaller, kumtaşı, silttaşı, rafısal kireçtaşı, killi kireçtaşı, dolomitik kireçtaşı ve marn, üzerinde gelişmiş topraklardır. Araştırmada, yöreyi temsil edecek şekilde 0-15 cm derinlikten ve 4 bölgeden toprak örnekleri alınmıştır (Tablo3.3).

**Tablo 3.3.** Toprak örneklerinin alındığı lokalitelerin GPS koordinatları, vejetasyonları ve rakımları.

Toprak No	GPS ile Koordinat	Rakım	Vejetasyon	Örnek yeri
N7	00387620E, 04078920N	523m	Fıstık	Akçaköy
N8	00400251E, 04078627N	432m	Fıstık, Zeytin	Kıvırcık köy
N9	00407359E, 04078623N	376m	Fıstık	Subağı köyü
N10	00399921E, 04082066N	435m	Fıstık, zeytin	Yolağzı köyü

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

#### 4.1. BULGULAR

##### 4.1.1. Çalışma Alanı Topraklarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analiz Verileri

Analiz sonuçlarına göre, tarım topraklarının pH değerleri 7,47 ile 7,79 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışma alanı topraklarının pH içerikleri alkali özellik göstermektedir (Tablo 4.1).

Kireç içerikleri oldukça yüksek bulunmuştur (%21 ile %23 arasında).

Toprakların, % tuz içerikleri ise 0,03 ile 0,06 arasında değişmektedir ve ortalama tuz miktarı % 0,45 olarak hesaplanmıştır ( Tablo 4.1).

Toprakların % organik madde içerikleri 1,032 ile 1,601 arasında tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Tablo 4.1’de çalışma topraklarının organik madde içerikleri Anonim 1985’e göre; çok düşük tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi bölge topraklarının organik madde içerikleri genellikle düşüktür ve agregat kararlılığı, organik madde miktarı açısından olumsuz etkilenmektedir.

**Tablo 4.1.** Araştırma alanları topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.

Top.no	pH	% E.c.	% Org.m	% Kireç	% Kum	% Silt	% Kil	Ca mg/kg	K ppm	Mg ppm	Zn ppm	Mn ppm	Fe ppm	Cu ppm
N7	7,79	0,06	1,366	22	61,68	20,2	18	4311	61	369	0,6	3,06	1,02	1,93
N8	7,58	0,05	1,601	22	35,5	47,5	17	5537	42	180	0,63	4,37	1,18	2,7
N9	7,63	0,03	1,032	21	26,30	47,7	26	5783	47	575	0,3	4,09	1,08	2,47
N10	7,47	0,04	1,311	23	22,40	51,6	26	4896	55	426	0,49	2,73	1,72	1,81

#### 4.1.2. Çalışma Alanı Topraklarının PLFA İçeriğinin Analiz Verileri

Gaz kromatografisi sonucu elde edilen değerlerin istatistiksel analizinde SPSS.16.0 paket programından faydalanılmıştır. Bağımsız örneklem tek yönlü varyans analizi (ONE WAY ANOVA) kullanılmıştır. ANOVA ikiden fazla grubun ortalamaları karşılaştırmak için kullanılır. Varyans analizi farklı grupların birbirinden farklı olup olmadığını gösterir. Ancak farklılıkların hangi gruplar arasında olduğuna ilişkin bilgi içermez. Bunun için varyans analizine ilave olarak, Post Hoc multiple comparisons seçeneğinde LSD testi yapılmıştır.

Yaptığımız istatistiki işlem sonucunda ANOVA tablosunun Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değer 0,00 olduğu görüldü. Söz konusu değer 0,01'den küçük olduğu için, bulduğumuz değerler ile standart değerler (19:0 (ISTD)) arasındaki ilişkinin  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunu söyleyebiliriz. Bu durum (\*) işareti ile gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde bulunan tüm gruplar arasındaki ilişkinin  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2:** Araştırma alanları topraklarının PLFA değerleri ve standart sapmaları.

		<b>AKÇAKÖY</b>	<b>KIVIRCIK KÖY</b>	<b>SUBAĞI KÖYÜ</b>	<b>YOLAĞZI KÖYÜ</b>
	<b>BİLEŞİK ADI</b>	Ortalama**±Std. sapma* (n mol yağ asidi g <sup>-1</sup> )	Ortalama** ±Std. sapma* (n mol yağ asidi g <sup>-1</sup> )	Ortalama** ±Std. sapma* (n mol yağ asidi g <sup>-1</sup> )	Ortalama** ±Std. sapma* (n mol yağ asidi g <sup>-1</sup> )
1	19:0 (ISTD)	2,5800±,02000*	2,9600±,05292*	3,0100±,05292*	2,9300±,07000*
2	14:0 (Bakteri)	,4300±,02646*	,6300±,04359*	,3900±,07550*	,6900±,06083*
3	i15:0 (G+ Bakteri)	1,3800±,01000*	2,2167±,06429*	1,5600±,05568*	1,8900±,08185*
4	a15:0 (G+ Bakteri)	3,1300±,01732*	3,7300±,07000*	3,9000±,10000*	4,9100±,05292*
5	15:0 (Bakteri)	,0800±,01000*	,0800±,02646*	,4000±,05000*	,4500±,05000*
6	i16:0 (G+ Bakteri)	1,4900±,02646*	2,2000±,43589*	2,2500±,05000*	2,6500±,05000*
7	16:1ω7t (G- Bakteri)	3,5100±,01732*	4,9800±,08000*	4,8800±,08000*	5,1300±,05196*
8	16:0 (Bakteri)	4,1100±,02646*	5,8867±,10970*	5,9700±,08185*	5,2800±,06245*
9	i17:0 (G+ Bakteri)	,6000±,26458*	,9000±,26458*	,8200±,03464*	,6600±,05568*
10	cy17:0 (G- Bakteri)	,8400±,03464*	1,2200±,25239*	,9800±,07211*	,7700±,07000*
11	17:0 (Bakteri)	,8800±,02000*	,9800±,08544*	,8700±,07211*	,7700±,05292*
12	18:2ω6 (Fungi)	,0000±,00000*	,0000±,00000*	,7067±,06658*	,0000±,00000*
13	18:1ω9c (Fungi)	4,5800±,03464*	6,1800±,06557*	5,4900±,07810*	5,6100±,06557*
14	18:1ω9t (fungi)	5,9500±,04359*	8,5000±,26458*	7,6400±,11533*	7,1300±,08660*
15	18:0 (bakteri)	1,6400±,01732*	2,0800±,08000*	2,0400±,06928*	1,9700±,04000*
16	cy19:0 (G- bakteri)	,6700±,03464*	,8867±,07506*	,5100±,04583*	,6500±,02646*
17	20:0 (protozoa)	,2700±,01732*	,6800±,06557*	,4600±,06000*	,6200±,02000*
Toplam		1,8906±1,74416	2,5947±2,41758*	2,4633±2,25122*	2,4771±2,22496

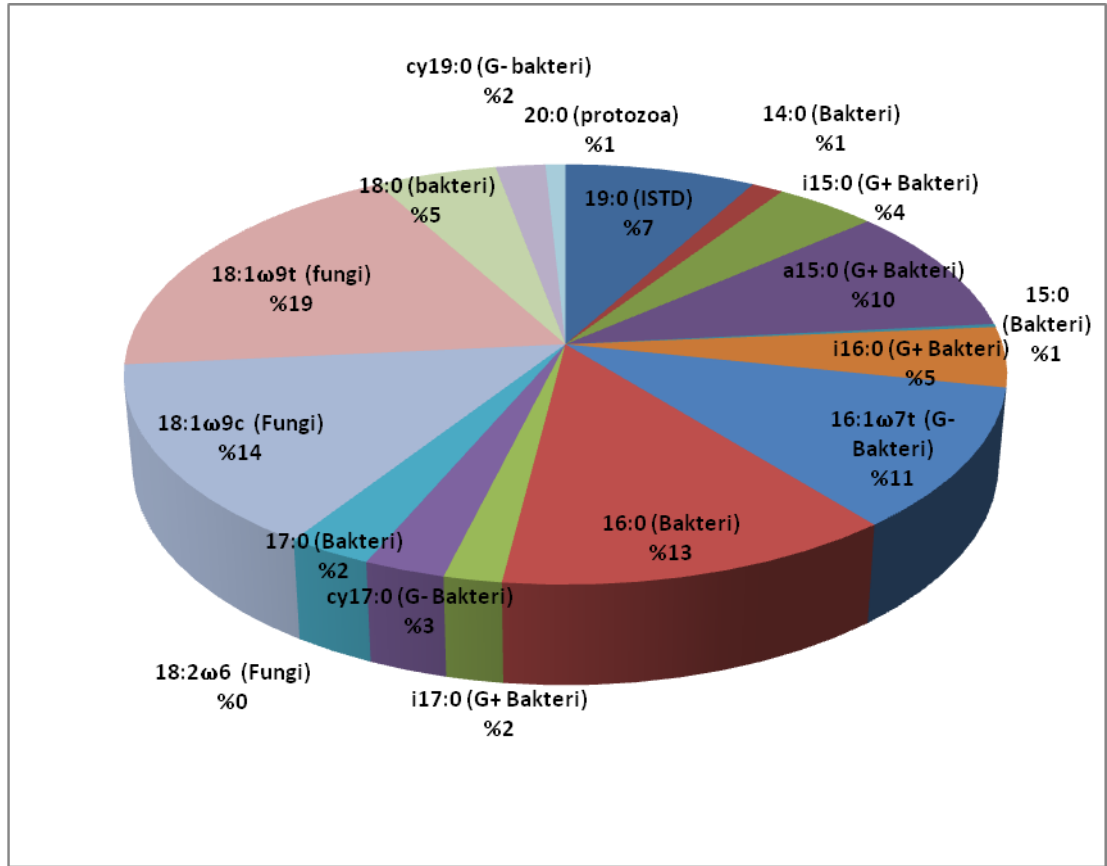
\*: p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı.

\*\* Her veri üç tekrarın ortalamasıdır.

Çalışmamızda dört köyden alınan toprak örneklerinde bulduğumuz yağ asitlerini şu şekilde gruplandırabiliriz;

14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0 (Düz zincirli doymuş yağ asitleri <20C; Genel olarak bakteri) (Langer ve Rinklebe, 2009), a15:0, i15:0, i16:0, i17:0 (terminal dallı doymuş yağ asitleri; Gram pozitif bakteri) ( O'Leary ve Wilkinson, 1988), cy17:0, cy19:0 (Doymamış siklopropan yağ asitleri; Gram negatif bakteri) (Wilkinson, 1988), 16:1ω7t (Doymamış moneik yağ asitleri; Gram negatif bakteri) (Wilkinson 1988), 18:1ω9c, 18:1ω9t, 18:2ω6 (Doymamış moneik yağ asitleri; mantar) (Wilkinson, 1988), 20:0 (Düz zincirli doymuş yağ asitleri >20C, protozoa) (Zelles, 1999).

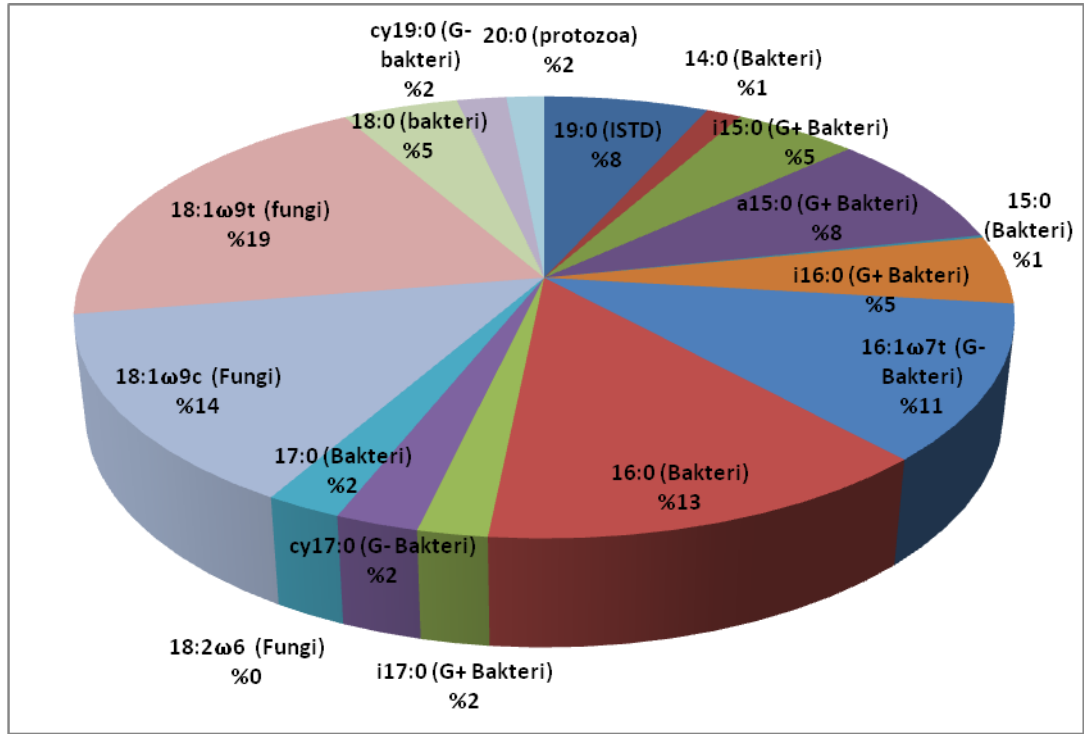
Yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda, toprak örneklerinin alındığı her dört bölgede de, a15:, 16:1ω7t, 16:0, 18:1ω9c, 18:1ω9t yağ asit oranları (%10-19 arasında) standart değer olan 19:0 (ISTD) yağ asidine (%7-8) göre yüksek oranlarda bulunmuşlardır. Bunun yanında diğer yağ asitlerinin (14:0, i15:0, 15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, 17:0, 18:2ω6, 18:0, cy19:0, 20:0) oranları (%0-6 arasında) ise standart değere (19:0) göre genel olarak düşük bulunmuşlardır (Tablo 4.2.).



Şekil.4.1. Akçaköy toprak örneklerinde yağ asitlerinin % dağılımı.

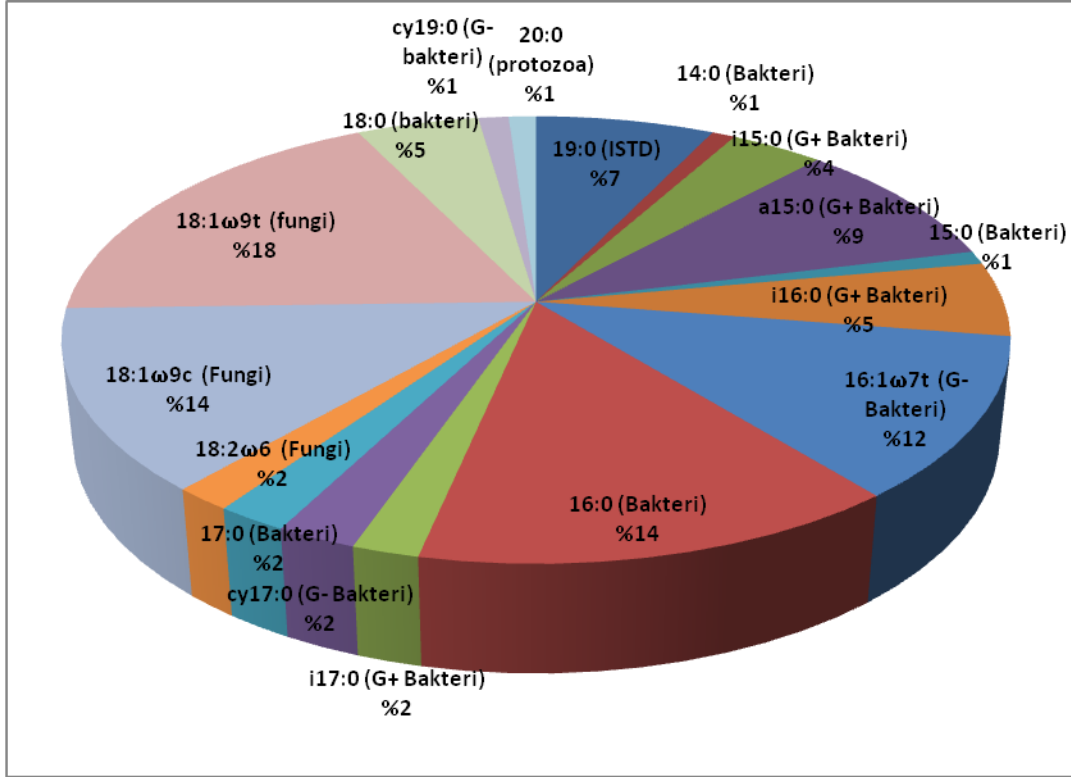
Şekil 4.1 incelendiğinde Akçaköy (AÇK) toprak örneklerinde, bakteri biyoindikatörü yağ asitlerinin (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1ω7t) toplam oranı %59 olarak bulunmuştur. AÇK toprak örneklerindeki yağ asitleri içerisinde, Gram pozitif bakterilerin biyoindikatörü yağ asitlerinin toplam oranı %21 iken, Gram negatif bakteri biyoindikatörü yağ asidi toplam oranı ise %16 çıkmıştır. Genel olarak bakteri biyoindikatörü olan yağ asidi toplam oranı ise %22'dir. Mantar biyoindikatörü olan yağ asitlerinin (18:1ω9t, 18:1ω9c, 18:2ω6) toplam oranı ise %33 olarak görülmektedir. Burada 18:2ω6 yağ asidi oranı %0 olarak görülmektedir. Protozoza biyoindikatörü 20:0 yağ asidi oranı ise ancak %1 civarındadır (Şekil 4.1).





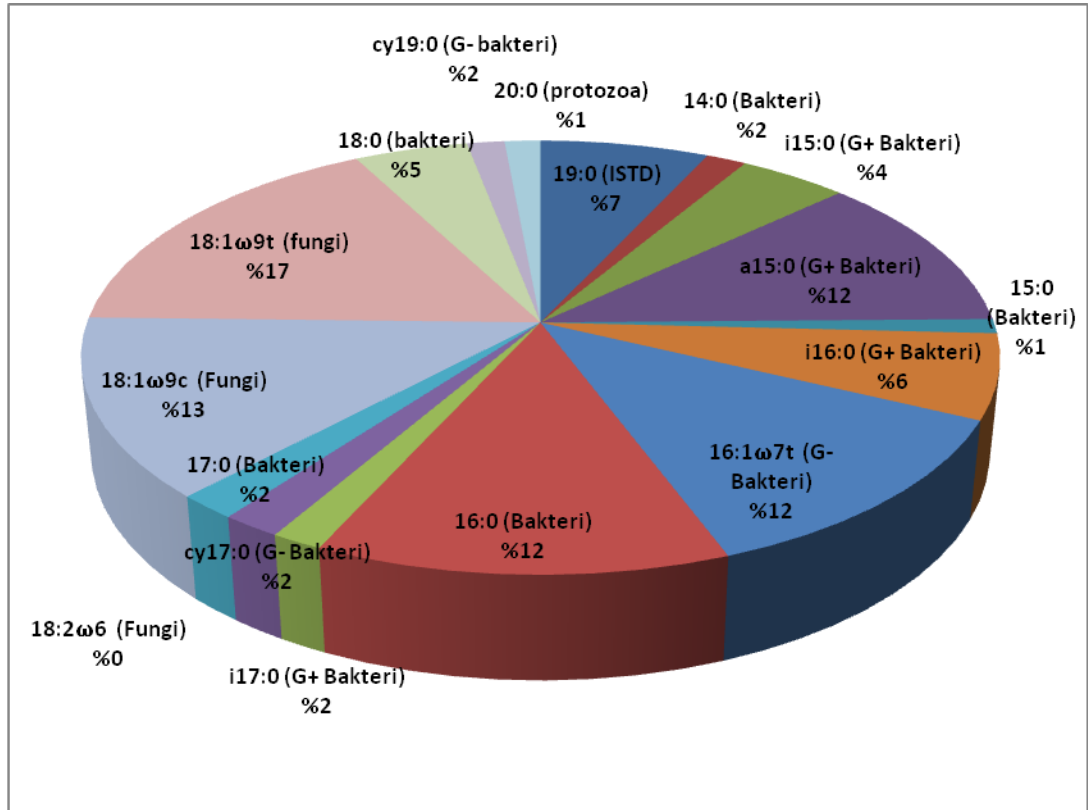
Şekil.4.2. Kivircik Köy toprak örneklerinde yağ asitlerinin % dağılımı.

Kivircik Köy (KVK) toprak örneklerinde bakteri biyoindikatörü olan yağ asitleri (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1ω7t) toplam oranı %57 olarak bulunmuştur. KVK toprak örneklerinde, yağ asitleri içerisinde Gram pozitif bakteri biyoindikatörü yağ asitlerinin toplam oranı %20 iken, Gram negatif bakteri biyoindikatörü yağ asitlerinin toplam oranı ise %15 çıkmıştır. Genel olarak bakteri biyoindikatörü yağ asitlerinin toplam oranı ise %22 olarak çıkmıştır. Mantar biyoindikatörü olan yağ asitlerinin (18:1ω9t, 18:1ω9c, 18:2ω6) toplam oranı ise AÇK ve SBK toprak örneklerine benzer olarak %33 olarak görülmektedir. Burada da 18:2ω6 yağ asidi oranı %0 olarak görülmektedir. Protozoa biyoindikatörü 20:0 yağ asidi oranı ise %2'dir (Şekil 4.2).



Şekil.4.3. Subağı Köyü toprak örneklerinde yağ asitlerinin % dağılımı.

Şekil 4.3'te Subağı Köyü (SBK) toprak örneklerinde bakteri biyoindikatörü olan yağ asitleri (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1ω7t,) toplam oranı %58 olarak bulunmuştur. SBK toprak örneklerindeki yağ asitleri içerisinde Gram pozitif bakterileri biyoindikatörü yağ asidi oranı %20 iken, Gram negatif bakteri biyoindikatörü yağ asidi toplam oranı ise %15 çıkmıştır. Genel olarak bakteri biyoindikatörü olan yağ asidi toplam oranı ise %23 olarak bulunmuştur. Mantarları simgeleyen yağ asitlerinin (18:2ω6,9c, 18:1ω9t, 18:1ω9c) toplam oranı ise %34 olarak görülmektedir. Bu oran diğer toprak örneklerinden daha fazladır. SBK topraklarında diğer üç köy olan AÇK, KVK ve YAK köylerinden farklı olarak mantar biyoindikatörü olan, 18:2ω6 yağ asidi %2 oranında bulunmuştur. Protozoa biyoindikatörü olan 20:0 yağ asidi oranı ise %1 olarak görülmektedir.



Şekil.4.4. Yolağzı Köyü toprak örneklerinde yağ asitlerinin % dağılımı.

Yolağzı Köyü (YAK) toprak örneklerinde bakteri biyoindikatörü olan yağ asitlerinin (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1ω7t) toplam oranı %62 olarak bulunmuştur. Bu oran diğer üç köy olan AÇK, KVK ve SBK toprak örneklerindeki bakteri yağ asitleri oranından daha fazladır. YAK toprak örnekleri içerisinde, Gram pozitif bakterilerin biyoindikatörü olan yağ asidinin toplam oranı %24 iken, Gram negatif bakterilerin biyoindikatörü olan yağ asidinin toplam oranı %16 çıkmıştır. Genel olarak bakteri biyoindikatörü olan yağ asitlerinin toplam oranı ise %22 olarak bulunmuştur. Mantarları simgeleyen yağ asitlerinin (18:2ω6, 18:1ω9t, 18:1ω9c) toplam oranı ise AÇK, KVK ve SBK toprak örneklerinden farklı olarak % 30 olarak görülmektedir. Bu köyün toprak örneklerinde de mantar biyoindikatörü 18:2ω6 yağ asidine rastlanılmamıştır. Protozoa biyoindikatörü 20:0 yağ asidi oranı ise %1'dir (Şekil 4.4).

Yapılan çalışmada, toprak örneklerinde cy17:0, cy19:0 yağ asitlerine rastlanılmıştır. cy17:0, cy19:0 yağ asitleri doymamış siklopropan yağ asitleridir ve Gram negatif bakteri biyoindikatörüdür (Wilkinson, 1988). Siklopropil yağ asitleri stres şartlarının göstergesidir (Bossio vd., 1998).

Tüm toprak örneklerinde bakterilere ait yağ asidi miktarının, mantarlara ait yağ asidi miktarına oranla daha fazla olduğu görülmektedir. Normal doymuş yağ asitleri olan 16:0, 14:0, 15:0, 17:0, 18:0 yağ asitleri ise genel olarak bakteri biyoindikatörleridir (Langer ve Rinklebe, 2009). Gram pozitif bakteri biyoindikatörü; a15:0, i15:0, i16:0, i17:0 yağ asidi (O'Leary ve Wilkinson, 1988), miktarı, Gram negatif bakteri biyoindikatörü olan 16:1 $\omega$ 7t, cy17:0, cy19:0 yağ asidi (Wilkinson, 1988), miktarına göre AÇK, KVK, SBK ve YAK toprak örneklerinde fazla çıkmıştır.

Toprak örneklerimizde 18:2 $\omega$ 6,9 (mantar) (Olsson, 1999) yağ asidinin sadece SBK toprakları örneklerinde düşük bir oranda (%2) mevcut olduğu görülmektedir. Diğer üç bölge olan, AÇK, KVK ve YAK'a ait toprak örneklerinde ise yaptığımız çalışmada 18:2 $\omega$ 6,9 (mantar) (Olsson, 1999) yağ asidine rastlanılmamıştır. Bir başka mantar biyoindikatör olan 18: 1 $\omega$ 9c ve 18:1 $\omega$ 9t yağ asitleri (Wilkinson, 1988) genel olarak %30-34 arasında bulunmuştur. Mantarların lignin bozulmasından sorumlu olan organizmalar oldukları bilinmektedir (Dix ve Webster, 1995). PLFA 18:2 $\omega$ 6,9 mantar biyoindikatörüdür. Bunlar çamlık ormanlarda ektomikorizal mantardan elde edilir (Olsson, 1999).

Protozoa simgesi olan 20:0 (Zelles, 1999) yağ asidi, miktarı ise her dört köyden alınan toprak örneklerinde, bakteri ve mantar biyoindikatörü olan yağ asitlerine göre çok düşük olarak %1-2 arasında çıkmıştır.

Toprak örneklerinin hiçbirinde, genel olarak aktinomiset biyoindikatörü olan 10Me16:0, 10Me17:0 ve 10Me18:0 (Frostegård ve Bååth, 1996), yağ asitlerine rastlanılmamıştır (Tablo 4.2).

## BÖLÜM 5

### 5.1. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma ile Karkamış ilçesinin tarım alanlarında PLFA tespiti yapılmıştır. Yapılan çalışma ile Karkamış ilçesine ait toprak örneklerinde; 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, a15:0, i15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 7t, 18:1 $\omega$ 9c, 18:1 $\omega$ 9t, 18:2 $\omega$ 6, 20:0 olmak üzere 16 farklı yağ asidi tespit edilmiştir. Bu yağ asitleri kendi aralarında, düz zincirli doymuş yağ asitleri (<20C) (Langer ve Rinklebe, 2009), terminal dallı doymuş yağ asitleri (O’Leary ve Wilkinson, 1988), doymamış siklopropan yağ asitleri (Wilkinson, 1988), doymamış moneik yağ asitleri (Wilkinson, 1988), düz zincirli doymuş yağ asitleri (>20C) (Zelles, 1999) şeklinde de gruplandırılabilir.

Sıcaklık artışı (Petersen ve Klug, 1994), besin yetersizliği (Guckert vd., 1986), düşük pH (Bååth ve Anderson, 2003) ve ağır metal toksitesi (Frostegård vd., 1993b) gibi hemen hemen tüm adı geçen stres koşullarında doymamış yağ asitlerinin trans/cis oranındaki artışla birlikte siklopropil (cy17 : 0 ve cy19 : 0) yağ asitlerinde artış gözlemlendiği rapor edilmiştir (Petersen ve Klug, 1994). Bunun yanı sıra, pestisit uygulaması (Macaladay vd., 1988) ve uzun süreli tarımsal uygulamalar (Chaudhary vd., 2005) için siklopropil yağlı asitlerin üretiminde artış da gösterilmiştir.

Çalışmamızda cy17:0, cy19:0 ve 16:1 $\omega$ 7t yağ asidi oranları ki bu yağ asitleri Gram-negatif bakteri biyoindikatörüdür (Wilkinson, 1988) sırasıyla şu şekildedir; AÇK toprak örneklerinde, %16, KVK toprak örneklerinde %15, SBK toprak örneklerinde %15 ve YAK toprak örneklerinde %16 çıkmıştır. Her dört köyde de stres göstergeleri olarak gösterilen cy17:0, cy19:0 ve 16:1 $\omega$ 7t yağ asitleri tespit edilmiştir. Bossio vd. (1998) siklopropil yağ asitleri stres şartlarının göstergesi olduğunu rapor etmiş, Kirchner vd. (1993) ise; düşük pH, yüksek sıcaklık, düşük besin kalitesi ve oksijen tüketimi gibi stres koşullarının, saf kültürlerde siklopropil yağ asitlerinin üretimini

teşvik ettiğini belirtmişlerdir. Bu yağ asitlerinin varlığı ile toprakların alındığı yerlerin sıcaklık artışı, besin yetersizliği, düşük pH ve ağır metal toksitesi gibi stress faktörlerine ve bunun yanı sıra, pestisit uygulaması ve uzun süreli tarımsal uygulamalar gibi faktörlerin biri ya da birkaçına fazlaca maruz kaldığı sonucunu çıkarabiliriz.

İlaçlama uygulaması, ağır metal toksisitesi ve toprak işleme gibi farklı stres koşullarının, Gram pozitif bakteriyel PLFA'da (Frostegård vd., 1993b; Zelles vd., 1994) azalma ile birlikte Gram negatif bakteriyel PLFA bolluğunu artırdığı rapor edilmiştir. Stres koşulları altında Gram negatif bakterinin hayatta kalma başarısı büyük oranda membranlarında (Guckert vd., 1986) ve strese daha iyi karşı koyabilecek dış lipopolisakkarit tabakasında siklo yağ asitlerinin varlığına atfedilebilir. Gram negatif bakterilerin, Gram pozitif bakterilere göre metalle kirlenmiş topraklarda hakim olduğu düşünülmektedir. Ancak ağır metal stresine karşı bakteriyel komünitenin değişken tepkiye yol açtığı ile ilgili çelişkili görüşler de rapor edilmiştir (Pennanen vd., 1996; Kaur vd., 2005). Yaptığımız çalışmada AÇK, KVK, SBK ve YAK toprak örneklerinde Gram pozitif bakterilerin ve Gram negatif bakterilerin biyoindikatörü yağ asitlerinin oranı sırasıyla, AÇK toprak örneklerinde, %21-%16, KVK toprak örneklerinde, %20-%15, SBK toprak örneklerinde, %20-%15, YAK toprak örneklerinde ise %24-%16 olarak görülmektedir. Genel olarak Gram pozitif bakterilerin, Gram negatif bakterilerden yaygın olduğu görülmektedir. Bu durumda topraklarımızda ilaçlama uygulaması, ağır metal toksisitesi ve toprak işleme gibi farklı stres koşullarının bakteri komünite yapısında değişiklik yapacak kadar önemli boyutta olmadığı sonucuna varabiliriz.

Yaptığımız çalışmada toprak örneklerinin alındığı köylerin topraklarının kil oranları %17 ile %26 arasında değiştiği görülmüştür (Tablo 4.1). Buna göre; AÇK toprak örneklerinde kil oranı %18, KVK toprak örneklerinde kil oranı %17, SBK toprak örneklerinde kil oranı %26 ve YAK toprak örneklerinde kil oranı ise %26 çıkmıştır. Killi topraklar, yoğun oranda dallı yağ asitlere (i14:0, i15:0, a15:0, i17:0, ve a17:0), en çok düz zincirli yağ asitlere (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, ve 20:0), cy17:0 ve diğer 10Me yağ asitlere (10Me16:0 ve 10Me17:0) sahip olduğu Bossio vd., (1998) tarafından belirtilmiştir. Bizim örneklerimizde de genellikle dallı yağ asitleri ve düz zincirli yağ asitlerinin oranı diğer yağ asitlerine göre fazla çıkmıştır. AÇK toprak

örneklerinde dallı yağ asitleri, düz zincirli yağ asitleri ve cy17:0 toplam oranı %54, KVK toprak örneklerinde dallı yağ asitleri, düz zincirli yağ asitleri ve cy17:0 toplam oranı %54, SBK toprak örneklerinde dallı yağ asitleri, düz zincirli yağ asitleri ve cy17:0 toplam oranı %55 ve YAK toprak örneklerinde dallı yağ asitleri, düz zincirli yağ asitleri ve cy17:0 toplam oranı %56 çıkmıştır. Toprak örneklerimizde en yüksek kil oranları Tablo 4.1 den de anlaşılacağı gibi %26'lık oran ile SBK ve YAK topraklarında çıkmıştır. Bu topraklardaki yağ asitleri çeşitliliği ve kil oranları arasında bir uyum olduğunu ve bulduğumuz sonuçların killi topraklar için uygun olduğunu söyleyebiliriz.

Yaptığımız çalışmada mantar biyoindikatörü olan yağ asitlerinin (18:1 $\omega$ 9c, 18:1 $\omega$ 9t ve 18:2 $\omega$ 6) toplam oranının, tüm köylerden alınan toprak örneklerinde bakteri biyoindikatörü olan yağ asitlerinin (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 7t) toplam oranından az olduğunu belirledik. Bu oran; AÇK toprak örnekleri için %33 mantar- %59 bakteri, KVK toprak örnekleri için %33 mantar-%57 bakteri, SBK toprak örnekleri için %34 mantar-%58 bakteri ve YAK toprak örneklerinde ise %30 mantar-%62 bakteri olarak bulunmuştur.

Mantarların lignin bozulmasından sorumlu olan organizmalar oldukları bilinmektedir (Dix ve Webster, 1995). PLFA 18:2 $\omega$ 6,9 mantar biyoindikatörüdür ki bunlar çamlık ormanlarda ektomikorizal mantardan elde edilir (Olsson, 1999). Wardle (2002)'nin belirttiğine göre bakterilerin mantarlardan daha fazla verimlilik sağladığı uzun bir süredir düşünülmektedir. Bu durumda YAK topraklarının diğer köy topraklarından daha verimli olabileceğini söyleyebiliriz. Fakat topraklardaki otlama, yanma ve derin sürüm gibi toprak ekosisteminin bozulmasına neden olan olayların, mantar oranını azalttığı Kaur (2005) tarafından belirtilmiştir. Bundan dolayı toprak örneklerinin alındığı bölgelerin otlama, yanma ve derin sürüm gibi olaylara maruz kaldığı sonucu çıkarılabilir.

Yapılan çalışmada mantar biyoindikatörü olan yağ asitlerinin (18:1 $\omega$ 9c, 18:1 $\omega$ 9t ve 18:2 $\omega$ 6) toplam oranı AÇK ve SBK toprak örneklerinde %33, KVK ve YAK toprak örneklerinde ise %30 bulunmuştur. Çalışmamızda 18:2 $\omega$ 6 yağ asidine yalnızca SBK toprak örneklerinde %2 oranında rastlanılmıştır. Diğer üç köye ait toprak örneklerinde ise 18:2 $\omega$ 6 yağ asidine rastlanılmamıştır. Şekil 4.1 incelendiğinde

AÇK, SBK, KVK ve YAK toprak örneklerinde oranı en fazla çıkan yağ asidi mantar biyoindikatörü olan 18:1ω8t'dir. Bu oranlar AÇK ve SBK toprak örneklerinde %19, KVK toprak örneklerinde %18 ve YAK toprak örneklerinde ise %17'dir. İkinci olarak oranı fazla çıkan yağ asidi ise yine bir mantar biyoindikatörü olan 18:1ω8c'dir. Bu oranlar AÇK, SBK ve KVK toprak örneklerinde %14 ve YAK toprak örneklerinde ise %13'dir.

Mantar ekosistemin işleyişinde önemli bir rol oynamaktadır. Toprak kümelenmesini (Eash vd., 1996) teşvik eder ve besinleri serbest bırakarak (organik maddeyi arttırarak) toprak kalitesine önemli ölçüde katkıda bulunur (Kaur vd., 2005). Toprak örneklerimiz, çalışma alanlarımızın düşük organik madde içeriğine sahip topraklar olduklarını göstermektedir (Tablo 4.1). Mantar oranının bakteri oranına göre düşük olması organik madde içeriğinin düşük olmasını açıklamamıza yardımcı olmaktadır. Eleme (Petersen ve Klug 1994), toprak işleme (Calderson vd., 2001), sıkıştırma (Gattinger vd., 2002), otlatma (Bardgett vd., 2001) ve yangın işlemine (Bååth vd., 1995) yanıt olarak, mantar biyo göstergesinde azalma ve fiziksel bozulmanın artan yoğunluğu arasında açık bir ilişki rapor edilmiştir (Kaur vd., 2005). Bu durumda genel olarak toprak örneklerimizin alındığı köylerin, eleme, toprak işleme, sıkıştırma, otlatma ve yangın işlemlerinden bazılarına maruz kaldıkları ve bunlara yanıt olarak, mantar biyo göstergesinde azalma ve fiziksel bozulmanın görüldüğü sonucuna varabiliriz.

Çalışmamızda protozoa simgesi olan 20:0 (Zelles, 1999) yağ asidi, miktarı ise bakteri ve mantar oranına göre çok az bulunmuştur. Protozoa biyoindikatörünün yağ asidi oranları; AÇK, KVK ve YAK toprak örneklerinde %1, SBK toprak örneklerinde ise %2'dir. Bu durumda toprak örneklerimizin alındığı bölgelerde mantar haricinde diğer ökaryotlara pek rastlanılmamıştır. Çalışma alanlarımızın fazla ökaryot çeşitliliği göstermediğini söyleyebiliriz.

Bååth vd. (1992) tarafından kirlenmenin fazla olduğu topraklarda aktinomiset indikatörü olan 10Me18:0 yağ asidi artan oranlarda belirlenmiştir. Bizim toprak örneklerimizde 10Me yağ asitlerine rastlanılmamıştır. Buradan da kirlenmenin artan oranlarda olmadığını söyleyebiliriz.



## 5.2. ÖNERİLER

Moleküler mikrobiyal ekoloji araçlarında yaşanan en son gelişmeler, fonksiyonel ve fizyolojik çeşitliliği tanımlamamıza, mikrobiyal komünite yapısını ve mikrobiyal komünitedeki dinamik değişiklikleri izleme şansımızı arttırmaktadır. PLFA'lar toprak mikroorganizmalarında nicel ölçülebilir biyo moleküllerdir. Hem nitelik hem de nicelik açısından mevcut yaşam toplumu temsil etmektedirler. Mikrobiyal komünite yapısını, fizyolojik ve stres durumunu değerlendirmek ve gözlemek için yüksek gösterge değerine sahip oldukları görülmektedir. Topraklardaki mikroorganizma çeşitliliğinin bilinmesinin, tarımsal uygulamalarda bir avantaj olduğunu düşünmekteyiz. Uygulanacak tarımsal yöntemler bu çeşitliliğe göre seçilebilir. Bu sayede toprak verimli bir şekilde kullanılabilir ve ürün kalitesi artırılabilir.

## KAYNAKLAR

- Adibhatla, R., Hatcher, J. and Dempsey, R. (2006). Lipids and Lipodomies in Brain Injury and Diseases. *The AAPS Journal*. **8**. 314-321.
- Alexander M. (1977). Introduction to soil microbiology. 2<sup>nd</sup> Edition John Wiley. Sons. Inc. New York, USA, 115-147.
- Amann, R., Ludwig, W., and Schleifer KH. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiology Revulution*. **59**, 143–149.
- Anonim, (1988). Türkiye Gübreler ve Gübreleme Rehberi. T.C.T.O.K.B. Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Genel Yayın No:151.
- Anonim, (1994). AG Bodenkundliche Kartieranleitung. Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe und Geologische Landesämter in der Bundesrepublik Deutschland (Hrsg.), 4. Auflage, Hannover.
- Aşkın T, Gülser C, Kızılkaya R, ve Özdemir N. (2000). The effects of inoculation of soil with different numbers of bacteria on aggregation. Proceedings of International Symposium on Desertification. 13-17 June. Konya-Turkey. p. 242-246.
- Atlas RM. (1984). Use of microbial diversity measurements to assess the environmental stress. In *Current Perspectives in Microbiol Ecology* (Eds. Klug, M. J. and Reddy, C. A.), American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Axelrood, P.E., Chow, M.L., Radomski, C.C., McDermott, J.M., and Davies, J. (2002). Molecular characterization of bacterial diversity from British Columbia forest soils subjected to disturbance. *Canadian Journal of Microbiology*. **48**, 655–674.

- Bååth, E. and Anderson, T.H. (2003). Comparison of soil fungal/bacterial ratio in a pH gradient using physiological and PLFA based techniques. *Soil Biology & Biochemistry*. **35**, 955–963.
- Bååth, E., Diaz-Ravina, M., Frostegård, Å. and Campbell, C.D. (1998a). Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**, 238–245.
- Bååth, E., Frostegård, Å., Diaz-Ravina, M. and Tunlid, A. (1998b). Microbial community-based measurements to estimate heavy metal effects in soil. *Ambio*. **27**, 58-61
- Bååth, E., Frostegård, A. and H. Fritze. (1992). Soil bacterial biomass, activity, phospholipid fatty acid pattern, and pH tolerance in an area polluted with alkaline dust deposition. *Applied and Environmental Microbiology*. **58**, 4026–31.
- Bååth, E., Frostegård, Å., Pennanen, T. and Fritze, H. (1995). Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*. **27**, 229–240.
- Bardgett, R.D., Jones, A.C., Jones, D.L., Kemmitt, S.J., Cook, R. and Hobbs, P.J. (2001). Soil microbial biomass community patterns related to the history and intensity of grazing in sub-montane ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*. **33**, 1653–1664.
- Blackwood, C.B. and Buyer, J.S. (2004). Soil microbial communities associated with Bt and Non-Bt corn in three soils. *Journal of Environmental Quality*. **33**, 832–836.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. **37**, 911–917.
- Bloem J. de Ruiter P. and Bouwman L. A. (1994). Soil food webs and nutrient cycling in agroecosystems. In *Modern Soil Microbiology* (Eds van Elsas, J.

- D., Trevors, J. T. and Wellington, H. M. E.), Marcel Dekker, New York, pp. 245–278.
- Bossio, D.A. and Scow, K. M. (1998). Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology*. **35**, 265–78.
- Bossio, D.A., Scow, K.M., Gunapala, N., and Graham, K.J. (1998). Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial Ecology*. **36**, 1-12.
- Bridge, P. and Spooner, B. (2001). Soil fungi: diversity and detection. *Plant Soil*. **232**, 147–154.
- Buyer, J. S. and Sasser, M. (2012). High throughput phospholipid fatty acid analysis of soils. *Applied Soil Ecology*. **61**, 127-130.
- Buyer, J.S., Teasdale, J.R., Roberts, D.P., Zasada, I.A. and Maul, J.E. (2010). Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. *Soil Biology & Biochemistry*. **42**, 831–841.
- Byss, M., Tříska, J. and Elhottová, D. (2007). GC–MS analysis of bacterial fatty acids in heavily creosote-contaminated soil samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **387**, 1573-1577.
- Calderson, F., Jackson, L. E., Scow, K. M. and Rolston, D. E. (2001). Short-term dynamics of nitrogen, microbial activity and phospholipid fatty acids after tillage. *Soil Science Society of America Journal*. **65**, 118–126.
- Campbell, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S. and Potts, J.M. (2003). A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied and Environmental Microbiology*. **69**, 3593–3599.
- Chaudhary, A., Aggarwal, N., Gupta, R. K., Jaggi, S., Kaur, A., Choudhary, R. and Kalra, N. (2005). Spatial and temporal variation of microbial community

structure function in rice fields with different management practices. *FEMS Microbiology Ecology*. (under submission)

- Degens, B.P. and Harris, J.A. (1997). Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*. **29**, 1309–1320.
- Dickie, I.A., Xu, B. and Koide, R.T. (2002). Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP. *New Phytologist*. **156**, 527–535.
- Dix, N.J. and Webster, J., (1995). *Fungal Ecology*. Chapman & Hall, London.
- Doran J.W., Coleman D.C., Bezdicek D.F. and Stewart B.A. (1994). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. American Society of Agronomy, SSSA Special Publication No. 35, Madison, WI.
- Dowhan W. and Bogdanov M. (2002). Functional roles of lipids in membranes. In D. E. Vance, and J.E. Vance (Eds.), *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes* (4th Edition ed., pp. 1). Paris: Elsevier
- Drenovsky, R. E., Elliott, G. N., Graham, K. J., and Scow. K. N., (2004). Comparison of phospholipid fatty acid (PLFA) and total soil fatty acid methyl esters (TSFAME) for characterizing soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*. **36**, 1793–1800.
- Eash, N. S., Stahl, P. D., Parkin, T. B. and Karlen, D. L. (1996). A simplified method for extraction of ergosterol from soil. *Soil Science Society of America Journal*. **60**, 468–471.
- Ergene, A., (1993). *Toprak Biliminin Esasları*, Atatürk Üniv. Yay. No:586, Zir. Fak. Etkb, (1985). *Karkamış Barajı ve Hidroelektrik Santrali Kesin Proje Raporu*, Cilt 1.
- Federle TW. (1986). Microbial distribution in soil-new techniques. In: Megusar, F., Gantar, M. (Eds.), *Perspectives in Microbial Ecology*. Ljubljana Slovene Society for Microbiology, Ljubljana, pp. 493–498.

- Frostegård Å. (1995). Phospholipid fatty acid analysis to detect changes in soil microbial community structure. PhD thesis. Lund University, Sweden.
- Frostegård, Å. and Bååth, E. (1996) The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology Fertility Soils*. **22**, 59–65.
- Frostegård, Å., Bååth, E., and Tunlid, A. (1993a). Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forest as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology & Biochemistry*. **25**, 723–730.
- Frostegård, Å., Bååth, E., and Tunlid, A. (1993b). Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology*. **59**, 3605–3617.
- Frostegård, A., Tunlid, A. and Bååth, E. (1996). Changes in microbial community structure during long-term incubation in two soils experimentally contaminated with metals. *Soil Biology & Biochemistry*. **28**, 55–63.
- Garland, J.L. and Mills, A.L. (1991). Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. **57**, 2351–2359.
- Gattinger, A., Ruser, R., Schloter, M. and Munch, J. C. (2002). Microbial community structure varies in different soil zones in a potato field. *Journal Plant Nutrition Soil Science*. **165**, 421–428.
- Gaziantep İl Çevre ve Orman Müdürlüğü, ÇED Raporu, (2010).
- Gillan, F.T. and Hogg, R.W. (1984). A method for the estimation of bacterial biomass and community structure in mangrove-associated sediments. *Journal of Microbiol Methods*. **2**, 275–293.
- Guckert, J.B., Hood, M.A., and White, D.C. (1986). Phospholipid esterlinked fatty acid profile changes during nutrient deprivation of *Vibrio cholerae*:

increases in the trans/cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology*. **52**, 794–801.

Güçdemir, İ.H. ve Kalınbacak, K. (2008). *Toprak, Su ve Bitki Analizi için Numune Alınması* (Genişletilmiş Yeni Baskı.), Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Toprak, Gübre ve Su Kaynakları Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Genel Yayın No: 68, Çiftçi Yayınları No: 3 Ankara.

Haack, S.K., Garchow, H., Odelson D.A., Forney L.J. and Klug, M.J. (1994). Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. **60**, 2483–2493.

Hackl, E., Pfeffer, M., Donat, C., Bachmann, G., and Zechmeister-Boltenstern, S. (2005). Composition of the in the mineral soil under different types of natural forest. *Soil Biology & Biochemistry*. **37**, 661-671.

Haktanır K, Arcak S. (1997). Toprak biyolojisi: Toprak ekosistemine giriş. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No. 447, Ankara.

Hellmann, B., Zelles, L., Palojarvi, A., and Bai, Q. (1997). Emission of Climate-Relevant Trace Gases and Succession of Microbial Communities during Open-Windrow Composting. *Applied and Environmental Microbiology*. **63**, 1011-1018.

Hill, G.T., Mitkowski, N.A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L.R., Jurkonie, D.D., Ficke, A. and Nelson, E.B. (2000). Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*. **15**, 25-36.

<http://www.biyolojidersnotlari.com/biyoloji-hucre.html> (Erişim: 05.10.2013)

<http://www.catalog.flatworldknowledge.com>. (Erişim:05.10.2013)

<http://www.gaziantep.gov.tr> (Erişim: 24.07.2013)

<http://www.karkamis.gov.tr> (Erişim: 24.07.2013)

<http://www.karkamiş.gov.tr> (Erişim: 24.07.2013)

<http://www.meteor.gov.tr> (Erişim: 24.07.2013)

<http://www.tarimsal.com/makaleler> (Erişim: 05.10.2013)

Kaur, A., Chaudhary, A., Kaur, A., Choudhary, R., and Kaushik, R. (2005). Phospholipid fatty acid-A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Science-Bangalore*. **89**, 1103.

Khgm. (1992). Gaziantep İli Arazi Varlığı, TC Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, İl Rapor No:27, Ankara.

Kirchner, M.J., Wollum II, A.F. and King, L.D. (1993). Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*. **57**, 1289–1295.

Klamer, M. and E. Bååth. (2004). Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18:2 $\omega$ 6,9. *Soil Biology & Biochemistry*. **36**, 57–65.

Kroppenstedt RM. (1985). Fatty acid and menaquinon analysis of actinomycetes and related organisms, in: Goodfellow, M., Minnikin, D.E. (Eds.), *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. Academic Press, London, pp. 173–199.

Langer, U. and Rinklebe, J. (2009). Lipid biomarkers for assessment of microbial communities in floodplain soils of the Elbe River (Germany). *Wetlands*. **29**, 353–362.

Lechevalier H. and Lechevalier MP. (1988). Chemotaxonomic use of lipids – an overview. In: Ratledge C, Wilkinson SG (Eds.), *Microbial lipids*, vol 1. Academic Press, London, pp 869–902.

Lechevalier MP. (1989). Lipids in bacterial taxonomy. In: O’Leary WM (Eds.), *Practical handbook of microbiology*. CRC, Boca Raton, Fla., pp 455–561.

Lechevalier, M.P. (1977). Lipids in bacterial taxonomy-a taxonomist’s view. *Critical Reviews in Microbiology*. **5**, 109–210.

Leckie, S. E. (2005). Methods of microbial community profiling and their application to forest soils. *Forest Ecology and Management*. **220**, 88-106.



- Macalady, J.L., Fuller, M.E. and Scow, K.M. (1998). Effects of methane sodium fumigation on soil microbial activity and community structure. *Journal of Environmental Quality*. **27**, 53–63.
- Mancuso, C.A., Franzmann H.R., Burton H.R. and Nichols P. D. (1990). Microbial community structure and biomass estimates of a methanogenic antarctic lake ecosystem as determined by phospholipid analyses. *Microbial Ecology*. **9**, 73-95.
- Muyzer, G., de Waal, E.S. and Uitterlinden, A.G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. **59**, 695–700.
- Ngonadi, N. (2013). Using PLFA to constrain microbial distribution related to S-cycling in oil-sands composite tailings during reclamation.
- O’Leary WM. and Wilkinson SG. (1988). Gram-positive bacteria. In: Ratledge C, Wilkinson SG (Eds.), *Microbial lipids*, vol 1. Academic Press, London, pp 117–202.
- Olsen, R. A. and Bakken. L.R. (1987). Viability of soil bacteria: optimization of plate-counting technique and comparison between total counts and plate counts within different size groups. *Microbiology Ecology*. **13**, 103–114.
- Olsson, P.A. (1999). Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiology Ecology*. **29**, 303–310.
- Olsson, P.A., Bååth, E., Jakobsen, I. and Söderström, B. (1996). Soil bacteria respond to presence of roots but not to mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*. **28**, 463–470.
- Osborn, A., Moore, E. and Timmis, K. (2000). An evaluation of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. *Applied and Environmental Microbiology*. **2**, 39–50.

- Parkes R.J. (1987). Analysis of microbial communities within sediments using biomarkers. In: Flatscher M, Gray TMG, Johns G (Eds.), *Ecology of microbial communities*. Cambridge University Press, London, pp 147–177.
- Pennanen, T. (2001). Microbial communities in boreal coniferous forest humus exposed to heavy metals and changes in soil pH - a summary of the use of phospholipid fatty acids, BiologH and 3H-thymidine incorporation methods in field studies. *Geoderma*. **100**, 91–126.
- Pennanen, T., Frostegard, A. S. A., Fritze, H. and Baath, E. (1996). Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal-polluted gradients in coniferous forests. *Applied and Environmental Microbiology*. **62**, 420-428.
- Petersen, S.O. and Klug, M.J. (1994). Effects of sieving, storage, and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile of a soil microbial community. *Applied and Environmental Microbiology*. **60**, 2421-2430.
- Pratt, B., Riesen, R. and Johnston, C. G. (2012). PLFA Analyses of Microbial Communities Associated with PAH-Contaminated Riverbank Sediment. *Microbial Ecology*. **64**, 680-691.
- Preston-Mafham, J., Boddy, L. and Randerson, P.F. (2002). Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon source utilisation profiles—a critique. *FEMS Microbiology Ecology*. **42**, 1–14.
- Ranjard, L., Poly, F., Lata, J.C., Mougel, C., Thioulouse, J. and Nazaret, S. (2001). Characterization of bacterial and fungal soil communities by automated ribosomal intergenic spacer analysis fingerprints: biological and methodological variability. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**, 4479–4487.
- Ratledge C, and Wilkinson SG. (1988). *Microbial Lipids*. Academic Press, London, England.

- Richards, L.A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. US Salinity Lab., US Department of Agriculture Handbook 60. California, USA.
- Ritz K, Dighton J. and Giller KE. (1994). Beyond the Biomass: Compositional and Functional Analysis of Soil Microbial Communities. John Wiley and Sons, Chichester.
- Rousk, J; Brookes, PC; Baath, E. (2009). Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Applied And Environmental Microbiology*. 149(3):1589-1596.
- Ruess, L. and Chamberlain. P.M. (2010). The fat that matters: soil food web analysis using fatty acids and their carbon stable isotope signature. *Soil Biology & Biochemistry*. **42**, 1898–1910.
- Schlichting, M. and Blume, E. (1966). *Bodenkundliches Practium*. Verlag Paul Pary, Hamburg and Berlin.
- Schmidt J. (1996). Entwicklung und anwendung eines physikalisch begründeten simulationmodells für die erosion geneigter landwirtschaftlicher lundflächen. *Berliner Geographische Abhandlungen*, Heft, 61.
- Steer, J. and Harris, J.A. (2000). Shifts in the microbial community in rhizosphere and non-rhizosphere soils during the growth of *Agrostis stolonifera*. *Soil Biology & Biochemistry*. **32**, 869–878.
- Steinberger, Y., Zelles, L., Bai, Q.Y., von Lützow, M. and Munch, J. C. (1999). Phospholipid fatty acid profiles as indicators for the microbial community structure in soils along a climatic transect in the Judean Desert. *Biology and Fertility of Soils*. **28**, 292-300.
- Sundh, I., Nilsson, M. and Borgå, P. (1997). Variation in microbial community structure in two boreal peatlands as determined by analysis of phospholipid fatty acid profiles. *Applied and Environmental Microbiology*. **63**, 1476–1482.

- Şahinkaya H. (1967). “Toprak Mikrobiyolojisi ve Memleketimiz için Mikrobiyal Gübrelemenin Önemi ”, Mikrobiyoloji Bülteni Cilt:1 Sayı: 2. Ankara.
- Torsvik, V., Daae, F.L., Sandaa, R.-A. and Øvreås, L. (1998). Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal of Biotechnology*. **64**, 53–62.
- Tunlid A, and White DC. (1992). Biochemical analysis of biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. In: Stotzky, G., Bollag, J.-M. (Eds.), *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York, pp. 229–262.
- Tunlid A. and White DC. (1990). Use of lipid biomarkers in environmental samples. In: *Analytical Microbiology Methods* (Eds. Fox, A. et al.), Plenum Press, New York, pp. 259-274.
- Tunlid, A., Hoitink, H.A.J., Low, C. and White, D.C. (1989). Characterization of bacteria that suppress *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media by analysis of fatty acid biomarkers. *Applied and Environmental Microbiology*. **55**, 1368–1374.
- Vestal, J.R. and White. DC. (1989). Lipid analysis in microbial ecology. Quantitative approaches to the study of microbial communities. *Bioscience*. **39**, 535–541.
- Walkley, A. and Black, L.A. (1934). An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. **39**, 29-38.
- Wardle, D.A. (2002). *Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components*. Princeton University Press, Princeton.
- White, D.C. (1988). Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity. *Archiv für Hydrobiologie*. **31**, 1–18.
- White, D.C. (1995). Chemical Ecology: possible linkage between macro and microbial ecology. *Oikos*. **74**, 177–184.

- White, D.C., Davies, W.M., Nickels, J.S., King, J.D. and Bobbie, R.J. (1979). Determination of the sedimentary microbial biomass extractable lipid phosphate. *Oecologia*. **40**, 51–62.
- White, D.C., Stair, J.O. and Ringelberg, D.B. (1997). Quantitative comparisons of in situ microbial biodiversity by signature biomarker analysis. *Journal of Industrial Microbiology*. **17**, 185-196.
- Wilkinson SG. (1988). Gram-negative bacteria. In: Ratledge, C., Wilkindon, S.C. (Eds.), *Microbial Lipids*. Academic Press, London, pp. 299–488.
- Williams, M.A. and Rice, C.W. (2007). Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural, and functional attributes of a soil microbial community. *Applied Soil Ecology*. **35**, 535–545.
- Wintzingerode F, Göbel UB. and Stackebrandt E. (1997). Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol. Rev.* 21, 213–229. Yay. No:267, Ders Kitapları Serisi No:42.
- Zelles, L. (1997). Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*. **35**, 275–294.
- Zelles, L. (1999). Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*. **29**, 111–129.
- Zelles, L. and Bai, Q.Y. (1993). Fractionation of fatty acids derived from soil lipids by solid phase extraction and their quantitative analysis by GC-MS. *Soil Biology & Biochemistry*. **25**, 495–507.
- Zelles, L. and Bai, QY. (1994) Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in environmental samples. *Chemosphere*. **28**, 391–411.
- Zelles, L. Bai, Q.Y., Rackwitz, R., Chadwick, D. and Beese, F. (1995). Determination of phospholipid- and lipopolysaccharide-derived fatty acids

as an estimate of microbial biomass and community structure in soils. *Biol Fertil Soils*. **19**, 115–123.

Zelles, L., Bai, Q.Y., Beck, T. and Beese, F. (1992). Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry*. **24**, 317–323.

Zelles, L., Bai, Q.Y., Ma, R.X., Rackwitz, R., Winter, K. and Beese, F. (1994) Microbial biomass, metabolic activity and nutritional status determined from fatty acid patterns and poly-hydroxybutyrate in agriculturally-managed soils. *Soil Biology & Biochemistry*. **26**, 439–446.