

Kahraman Maraş Civarındaki Ekstrem Ortamlardan İzole Edilen Bakterilerde Lignin Biyodegradasyonunun Araştırılması

Nurcan ERBİL, Gülhan CORUK ve Metin DIĞRAK

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü-46100, Kahraman Maraş
nurcanerbil@ksu.edu.tr

(Geliş/Received:25.12.2005; Kabul/Accepted:23.05.2006)

Özet: Bu çalışmada, Kahraman Maraş yöresinden alınan çeşitli toprak, su ve atık örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların lignin biyodegradasyonu üzerine olan etkisi incelenmiştir. Sonuçta *Bacillus firmus*'un % 64,31, *Bacillus sp.*'in % 36,59, *Micrococcus luteus*'un % 30,15, *Pseudomonas fluorescens*'in ise % 15,66 oranında lignin kaybına neden olduğu belirlenmiştir. *Branhamella sp.*'in ise lignin biodegradasyonu üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Lignin, Bakteri, Biyolojik parçalanma

The Investigation of Lignin Biodegradation by Bacteria which were Isolated from Extromophilic Environment of Kahraman Maraş Region

Abstract: In this study, the effect of microorganisms isolated from water, waste and soil samples in the vicinity of Kahraman Maraş, has been examined on lignin biodegradation. As a result, it has been observed that microorganism; *Bacillus firmus*, *Bacillus sp.*, *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas fluorescens* caused 64,31%, 36,59%, 30,15% and 15,66% lignin lose respectively. It has also been observed that *Branhamella sp.* had no effect on lignin biodegradation.

Key words: Lignin, Bacteria, Biodegradation

1.Giriş

Kağıt, kültürel ve sanayi alanındaki yeri ile insanlığın en önemli ihtiyaçlarından biridir. Kağıt sanayisinin gelişmesi bir ülkenin sanayisi ve kültürel gelişmesi ile paraleldir. Dünyada en çok üretilen ve tüketilen maddelerden biri olan ve ülkelerdeki üretim ve tüketimindeki gelişmenin anında diğer ülkeleri etkilediği, bu yönüyle ülkeler arası entegre bir durumda olan kağıt ülkemizde de stratejik bir öneme sahiptir [1, 2].

Ülkemiz kamu sektöründe ana hammaddeyi, kağıtlık odun başta olmak üzere sap, saman, göl kamışı, kendir, atık kağıt ve selüloz; özel sektörün hammaddesini ise sap, saman, atık kağıt ve ithal selüloz teşkil etmektedir. Bitki biyokütlesi, lignoselülozik materyallerden başlıca 3 polimerden oluşmuştur: selüloz, hemiselüloz ve lignin. Bunlara ilaveten çeşitli miktarlarda bulunan nişasta, pektin, proteinler ve çeşitli ekstraktlar veya reçineli materyalleri de içermektedir.

Ligninin biyolojik olarak parçalanabilmesi oldukça güç olup, hücre duvarının istenen diğer kısımlarının biyolojik olarak kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Şimdiye kadar lignini tek karbon kaynağı olarak kullanabilen hiçbir organizma bulunamamıştır. Bakteriyel lignin biyodegradasyonu Actinomisetler (özellikle *Streptomyces spp.* *Streptomyces viridoendosporus* ve *Streptomyces setonii*) kullanılarak geniş şekilde çalışılmıştır [3, 4]. Lignini ve lignin model bileşiklerini parçalayabilen pek çok alkalifilik mikroorganizma izole edilmiştir [5].

Kompleks lignin polimeri, çeşitli fungusların saf kültürleri ile tamamen degrades olabilmektedir. Tamamen ligninleşmiş dokuları degrades edebilen (lignin>20%) en önemli mikroorganizmalar *Basidiomycetes*'lerin bir grubunu teşkil eden beyaz-çürükçül mantarlardır [6,7,8].

Ligninin tek karbon/enerji kaynağı olarak mikroorganizmalar tarafından kullanılamaması

standart zenginleştirme yöntemleri ile lignini deġrede eden mikroorganizmaların izolasyonunu güçleştirmektedir. Çeşitli çalışmalarda belirli mantarlar dışında lignin polimerini deġrede eden mikroorganizmaların çeşitliliği günümüzde tam olarak belirgin değildir. Ve belirsizlik,seçilen türlerle kapsamlı çalışmaların eksik ve yetersiz olduğunu göstermektedir.

Ligninin mikroorganizmalarla (özellikle mantarlarla) parçalanması konusunda pek çok araştırma yapılmış olmasına rağmen bakterilerin lignini parçalaması konusunda yapılan çalışmalar oldukça azdır. Konu ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalar kısaca özetlenmiştir:

El-Gammal ve diğ. [9], yaptıkları çalışmada lignoselülozik materyallerin, lignin ve şeker ürünlerinin, seçilen dört tane mikroorganizma ile biyodegradasyonunu incelemiş ve sonuçta *Casuarina equisetifolia*'nın lignoselülozik yapısındaki lignin kayıpları *Phanerochaete chrysoendosporium* NRRL 6359'da %84.06; *P. chrysoendosporium* NRLL 6361'de %67.66; *Calotes versicolor* NRLL 6102'de %62.9; *S. viridoendosporus* NRLL 2414'te %26.25 oranında gözlemlenmiştir.

Benner ve diğ. [10], lignin ve polisakkarit komponentlerinden lignoselüloz ve sentetik lignin mikroflora sedimenti ile anaerobik parçalanmasını incelemiştir. Yaprak benzeri yapılarda oluşan lignoselülozdan türevlenen lignin komponentlerinin % 16.9'u ve polisakkarit bileşenlerinin % 30'unun gazlı son ürünlere parçalandığını tespit etmişlerdir.

Johansson ve diğ. [11], klorlama ile lignin biyodegradasyonunu incelemiş ve sonuçta klorlamanın deġroasyon üzerine etkili olduğunu ve organik klorinin *P. chrysoendosporium*'un enzim sistemini aktifleştirerek lignin biyodegradasyonuna etki ettiğini gözlemlenmişlerdir.

Adamovic ve diğ. [12] yaptıkları çalışmada, büyükbaş hayvanlar için yem olarak da kullanılan *Pleurotus ostreatus* isimli mantarla buğday samanının biyodegradasyonunu incelemiş ve buğday samanı ile *P. ostreatus*'un inkübasyonu sonucu ligninin günlük deġradasyon oranının % 0.450 , selülozun % 0.290 ve hemiselülozun ise % 0.902 olduğunu belirtmişlerdir.

Yamamoto ve diğ. [13], ligninin jel formunu ve bu jel formun mikroorganizmalar tarafından biyodegradasyonunu incelemişlerdir. Sonuç olarak, *Flammulina velutipes*, *Lentinlas edodes*, *Naematoloma .sublateritium* ve *P. ostreatus* isimli mantarların biyodegradasyona neden olduklarını ve parçalama oranlarının ise *F. velutipes* > *L. edodes* > *N.sublateritium* > *P. ostreatus* şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Crestini ve diğ. [14], buğday lignininin *L. edodes* tarafından biyodegradasyonu boyunca yapısal modifikasyonlara uğradığını incelemiş ve sonuçta lignin komponentlerinin mantarlar tarafından gerçekteştirilen oksidatif deġradasyon yolu ile aromatik halka ve alifatik zincirlere parçalandığını ifade etmişlerdir.

Henriksson ve diğ. [15], *P. chrysoendosporium*'den elde edilen sellobiyoz dehidrogenaz enziminin lignin deġradasyon enzimi olduğunu incelemişler ve sonuçta sellobiyoz dehidrogenazın lignin üzerine uç yoldan önemli etki ettiğini gözlemlenmişlerdir. Bunlar B-eterleri kırması, non-fenolik ligninden hidroksil grupları ortaya çıkarması ve lignindeki aromatik yapıların demetoksilasyonudur.

Bakterilerle lignin biyodegradasyonu konusunda yapılan bir araştırma sonucu, *Brochothrix species*, *Micrococcus luteus* ve *Bacillus firmus* tarafından lignin biyodegradasyonun gerçekteştirilebildiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile mantar türlerine göre daha hızlı gelişen dolayısıyla daha fazla biyolojik aktivite gösteren bakterilerle ligninin parçalanma durumu araştırılacaktır. Çeşitli ekstrem ortamlardan bakterilerin izole edilmesi ve bunların lignin deġradasyonundaki potansiyellerinin araştırılması ile kağıt endüstrisinin daha verimli hale getirilebilmesi için alt yapının hazırlanması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Toprak örneklere

Çalışmalarımızda bakteri izolasyonu için kullanılan örnekler Kahraman Maraş çevresindeki ekstrem alanlardan toplanmıştır. Örneklerin toplandığı alanlar; Kahraman Maraş Kağıt Fabrikası atıkları, Kahraman Maraş Kağıt Fabrikası atık suları ve çevresinden toplanan toprak örneklere, çürümekte olan bitki

kalıntılarının bol olduğu ve Sanayi Bölgesi Ağaç İşleri Bölgesindeki bölgelerden alınan toprak örnekleri kullanılmıştır.

2.2. Saf ligninin elde edilişi

Siyah kavak'ın (*Populus nigra*) odun parçaları, etanol-su karışımı [180 ml; 60:40(v/v)] ve 0.02N H₂SO₄ (katalizlemek için; % 0.2 karışımın üzerine ilave edilir) içeren ortamda 75°C'de 2 saat bekletilmiştir. Elde edilen karışım sulandırılmış ve filtre edilmiştir. Bekleme sonunda üstte kalan partikülün içeriği ilk önce organik çözücü [60:40(v/v)] ile ve daha sonra ise distile su ile yıkanmıştır. Filtrat 40°C'de, azaltılmış basınç altında yoğunlaştırılmıştır. Alkol-su karışımı içerisinde kalan lignin (koyu kahve renkli) HCl ile sulandırılarak çökeltilmiş ve 40°C'de 24 saat kurutulmuştur [16].

2.3. Toprak örneklerinin alınması

Su, toprak ve atık örnekleri steril kavanoz ve polietilen torbalara alınmış ve örneklerin toplandığı alanlar kaydedilerek laboratuara taşınmıştır. Örnekler toplandıktan sonra analiz yapıncaya kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir [17, 18, 19].

2.4. Örneklerin ekimi ve izolasyonu

Toplanan örneklerden 10⁻¹'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu dilüsyonlar Nutrient Broth ortamına ekilerek bakterilerin gelişmesi için 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir [20, 21]. Süre sonunda aktivite kazanan mikroorganizmalar içerisinde lignin parçalayabilenlerin belirlenmesi için Lignin Agar'a (Lignin 5.0 g; Agar-agar 17.3 g; Distile su 1000 ml) çizme ve sürme yöntemiyle ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan plaklar 37 °C'de 15 gün süre ile inkübe edilmiştir. Lignin Agar'da geliştiği gözlenen mikroorganizmaların koloni morfolojilerinin belirlenmesi amacı ile Nutrient Agar'a transfer edilmiş ve sürme yöntemiyle saf kültür eldesi için ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan plaklar 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir [9].

2.5. Lignin biyodegradasyonu

Koloni morfolojisi farklı olarak belirlenen izolatların lignini parçalayabilme durumlarını belirlemek amacıyla Nutrient Broth ortamına ekimi yapılarak aktivasyonu sağlanmıştır. Nutrient Broth'da zenginleştirilen bu izolatlar daha sonra, Lignin Degradasyon Buyyon 'a (KH₂PO₄ 1 g; NaHPO₄ 4 g; NaCl 0.2 g; MgSO₄.7H₂O 0.2 g; CaCl₂ 0.05 g; Maya ekstraktı 2 g; Lignin 5 g; Distile su 1000 ml) aşılansmış ve 37°C'de 8 hafta süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak bakteri aşılansmayan ve kültür ortamında gelişen bakterilerin ağırlığını belirlemek için bakteri aşılansan fakat lignin içermeyen ortamlar kullanılmıştır [9].

2.6. Lignin biyodegradasyon oranının belirlenmesi

Sekiz haftalık süre sonunda bakteri aşılansmış ve 37°C'de inkübe edilmiş olan Lignin Degradasyon Buyyon otoklavda steril edildikten sonra, kurutulmuş ve ağırlıkları kaydedilmiş olan filtre kağıtlarından süzölmüştür. Süzme işleminden sonra filtre kağıtlarının üzerinde kalan lignin Pasteur fırınında tekrar kurutulmuştur. Bu işlemin ardından tartım işlemi tekrarlanmış ve kağıdın kaydedilen ilk ağırlığı son ağırlığından çıkarılmıştır. Böylece oluşan fark filtre kağıdı üzerinde kalan lignin ağırlığı olarak belirlenmiştir [9]. Degradasyona uğrayan ligninin miktarı ise aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Degrede Lignin} = \frac{L_B - L_S}{L_B} \times 100$$

L_B=Başlangıçtaki lignin miktarı

L_S= Son lignin miktarı

2.7. Bakterilerin tanımlanması

Lignin agarda gelişen izolatların tanımlanması için izolatların gram boyama, katalaz aktivitesi, hareketlilik, morfoloji, endospor oluşumu, oksidaz, fluorasan pigmenti, jelatin, arjinin, nişasta ve kazein hidrolizi, nitrat oluşumu, 4, 42, 50 ve 60°C'de gelişme, üreaz, glikoz, sakaroz, ksiloz, manitol, laktoz, fruktoz ve maltozdon asit oluşumu, Voges Proskauer testi gibi özelliklerine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlar dikkate alınarak Collins ve diğ. [20], Horikoshi ve diğ. [22] ve Rajagopal ve diğ.

[23]'nin belirlediği metotlara göre bakterilerin teŖhisi yapılmıŖtır.

3. Sonuçlar ve TartıŖma

Yukarıda belirtilen alıŖma alanlarından toplanan örneklerden nutrient agar ortamında geliŖme gösteren ve morfolojik yapıları farklı olan toplam 87 izolat elde edilmiŖtir. Bunlardan Kahraman MaraŖ Kağıt Fabrikası atıklarından izolasyonu yapılan 16 adet izolattan sadece 1 rnek, Kahraman MaraŖ Kağıt Fabrikası atık sularından izole edilen 21 izolattan 2 örnek, çürümekte olan bitki kalıntılarının bol olduğu bölgelerden alınan toprak örneklerinden izole edilen 19 izolattan ise 2 örnek lignin agarda geliŖme gstermiŖtir. Diğer bölgelerden alınan örneklerden izole edilen 31 adet izolattan ise lignin agarda geliŖme gösteren olmamıŖtır. İzolatlara ait bazı fiziksel, biyokimyasal ve morfolojik zellikler Tablo 1-3'te gsterilmiŖtir.

Konu ile ilgili olarak önceki yıllarda yapılmıŖ olan alıŖmalar incelendiğinde, genel olarak mantarlar üzerine alıŖıldıđı ve bu mantar türlerinden bazılarının lignini degrade edebilecek enzimlere sahip olduğu grlmŖtir. El-Gammal ve diğer. [9] lignin degradasyonu üzerine yaptıkları alıŖmada, bazı mantar türleri olan *P. crhysoendosporium*, *C. versicolor* ve *S. viridoendosporus*'un lignini degrade edebileceğini gzlemlemiŖ ve bunlardan en fazla degradasyona sebep olanın % 84.06 oranında *P. crhysoendosporium* ve en az degradasyona sebep olanın ise % 26.25 oranında *S. viridoendosporus* olduğunu tespit etmiŖlerdir. *C. versicolor* ise % 62.9 oranında degradasyona sebep

olabilmektedir. Adamovic ve diğer. [12] ise, lignin biyodegradasyonunda *Pleurotus ostreatus*'un oldukça etkili enzimlere sahip olduğunu belirtmiŖlerdir.

AraŖtırmada elde edilen izolatlara ait bazı zellikler Ŗu Ŗekilde irdelenmiŖtir. alıŖmada kullanılan bir nolu izolat +4°C de üreme göstermezken +42°C de üreme göstermektedir. Gram boyama, hareketlilik testi, endospor oluŖumu, oksidaz, fluerasans pigmenti, üreaz aktivitesi, sakaroz, ksiloz, manitol ve maltozdan asit oluŖumu için negatif; katalaz, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, laktoz ve fruktozdan asit oluŖumu için ise pozitif sonuç vermiŖtir. Ayrıca morfolojik olarak kok Ŗeklinde gzlenmiŖ olup, arginin hidrolizi test edilmemiŖtir. Belirtilen bu özellikleri taŖıyan bir mikroorganizma Collins ve diğer. [20] tarafından *Branhamella sp.* olarak tanımlanmıŖtır.

İki nolu izolatta +4°C de geliŖme gözlenmezken +42°C geliŖme gözlenmektedir. Morfolojik olarak çubuk olarak belirlenen bu mikroorganizma Gram (+) olup, katalaz, hareketlilik, endospor oluŖumu, oksidaz, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, sakkaroz, ksiloz, laktozdan asit oluŖumu bakımından pozitif; fluerosans pigmenti ve fruktozdan asit oluŖumu bakımından negatif sonuç verdiği gzlenmiŖtir. Arginin hidrolizi, maltoz ve manitolden asit oluŖumu test edilmemiŖ olup, üreaz aktivitesi yönünden deđiŖkenlik göstermektedir. Bu mikroorganizma yukarıda belirtilen özellikleri itibari ile Rajagopal [23] ve Collins ve diğer. [20] tarafından *Bacillus sp.* olarak belirlenmiŖtir.

Tablo 1. Kahraman MaraŖ yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmaların fiziksel ve biyokimyasal zellikleri

İzolat No	1	2	3	4	5
Gram	-	+	+	+	-
Katalaz	+	+	+	+	+
Voges Proskauer	T	T	T	+	T
Citrat Kullanımı	T	T	T	+	T
Hareket	-	+	-	+	+
Morfoloji	k	c	k		k

Endospor oluşumu	-	+	-	+	-	
Oksidaz	-	+	v	v	v	
Fluorosans pigmenti	-	-	-	-	+	
Jelatin Hidrolizi	+	+	+	-	+	
Arginin Hidrolizi	T	T	T	T	+	
Nişasta Hidrolizi	T	T	T	+	T	
Kazein Hidrolizi	T	T	T	+	T	
Nitrat redüksiyonu	+	+	+	v	+	
Anaerobik Gelişme	T	T	T	+	T	
Gelişme	+4 °C	-	-	-	+	+
	+42 °C	+	+	+	+	-
	50 °C	T	T	T	-	T
	60°C	T	T	T	-	T
%7 NaCl gelişme	T	T	T	+	T	
Üreaz	-	v	-	-	v	

k: Kok **ç:** Çubuk **kç:** Kısa Çubuk **T:** Test Edilmedi **v:** Değişken

Yapılan gözlemlerde üç nolu izolatin ise 4°C de gelişme göstermeyip, 42°C de gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Bu mikroorganizma arginin hidrolizi yönünden tespit edilmeyip, manitol ve fruktozdan asit oluşumu ve oksidaz aktivitesi yönünden değişiklik göstermektedir. Gram (+) olan bu mikroorganizma, morfolojik yönden kok olarak belirlenmiştir. Katalaz aktivitesi, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu,

glikoz, sakkaroz, laktoz ve maltozdan asit oluşumu yönünden pozitif sonuç verirken; ksilozdan asit oluşumu, hareketlilik, endospor oluşumu, fluorosans pigmenti ve üreaz aktivitesi yönünden negatif sonuç vermiştir. Belirtilen özellikler itibari ile bu mikroorganizma, Collins ve diğ. [20] kaynak alınarak *Micrococcus luteus* olarak belirlenmiştir.

Tablo 2. Kahraman Maraş yöresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmaların fiziksel ve biyokimyasal özellikleri

İzolat	Asit Oluşumu						
	Glikoz	Sakkaroz	Ksiloz	Manitol	Laktoz	Fruktoz	Maltoz
1	+	-	-	-	+	+	-
2	+	+	+	T	+	-	T
3	+	+	-	v	+	v	+
4	-	+	-	v	-	-	-
5	+	-	-	+	+	-	+

T: Test Edilmedi **v:** Değişken

Tablo 3. Kahraman Maraş yoresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizma kolonilerinin morfolojik özellikleri

İzolat No	Renk	Koloni Şekli	Kenar	Yükselti	Yüzey
1	Sarı	Nokta	Düz	Kubbeli	Parlak
2	Beyaz	Dairesel	Dalgalı	Konveks	Parlak, Düz
3	Sarı	Dairesel	Dalgalı	Konveks	Pürüzlü
4	Kirli Beyaz	Gayrimuntazam	Loblu	Yükselmiş	Parlak, Düz
5	Beyaz	Dairesel	Düz	Yükselmiş	Düz

Gram (+) özellik gösteren dört nolu izolat endospor oluşturmaktadır. İzolat 4°C de ve 42°C de gelişme göstermekte olup, 50 ve 60°C'de gelişme göstermemektedir. Morfolojik olarak çubuk şeklinde ve hareketlidir. Oksidaz aktivitesi değişkenlik göstermekte olup, arginin hidrolizi tespit edilememiştir. Ayrıca, katalaz aktivitesi pozitif, jelatin hidrolizi negatif ve nitrat redüksiyonu değişken olarak tespit edilmiştir. Sakarozdan asit oluşumu pozitif ve glikozdan asit oluşumu yönünden ise negatiftir. Fluorosans pigmenti, üreaz aktivitesi, laktaz, fruktoz ve maltozdan asit oluşumu yönünden ise negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Amilaz enzimine sahip olan 4 nolu izolat citratı ve kazeini değerlendirmekte ve %7 NaCl içeren ortamda gelişme göstermektedir. Ayrıca, anaerobik ortamda da gelişme gösterebilmektedir. Özellikleri belirtilen bu mikroorganizmanın Collins ve diğ. [20]'e göre *Bacillus* cinsine ait

olduğu, Claus ve Berkeley [24]'in verilerine göre *Bacillus firmus* olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada kullanılan beş nolu izolat *Pseudomonas Selective Agar* ortamında gelişme göstermiş ve fluorosans özelliği göstermiştir. Gram (-) olup, morfolojik olarak kısa çubuk şeklinde olduğu gözlenmiştir. 4°C de gelişmekte olup, +42°C de gelişmemektedir. Katalaz, hareketlilik, fluorosans pigmenti, jelatin hidrolizi, arginin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, manitol, laktöz ve maltozdan asit oluşumu açısından pozitif; endospor oluşumu, sakaroz, ksiloz ve fruktozdan asit oluşumu açısından ise negatif özellik gösterdiği belirlenmiştir. Oksidaz aktivitesi yönünden ise değişiklik göstermektedir. Bu belirtilen özellikleri taşıyan bir mikroorganizmanın *Pseudomonas fluorescens* olacağı Collins ve diğ. [20] ve Horikoshi ve Akiba [25] tarafından bildirilmiştir.

Tablo 4. Kahraman Maraş yoresindeki bazı ekstrem ortamlardan alınan örneklerden izole edilen bakterilerin aşılандığı ortamda oluşan lignin kaybı

İzolat No ve Adı	Kontrol Ağırlık Kaybı (%)	Lignin Ağırlık Kaybı (%)
1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	15.66
2 <i>Bacillus sp.</i>	0	36.59
3 <i>Micrococcus luteus</i>	0	30.15
4 <i>Bacillus firmus</i>	0	64.31
5 <i>Branhamella sp.</i>	0	0

Yukarıda çizelge 4'te de görüldüğü gibi Kahraman Maraş bölgesindeki farklı alanlardan toplanan örneklerden izole edilen bakteriler Lignin Broth ortamında bulunan lignin miktarı *Bacillus firmus* olarak teşhis edilen dört nolu izolatta % 64.31 oranında en fazla azalma gösterirken, *Pseudomonas fluorescens*'te % 15.66 oranında en az azalma göstermektedir. *Branhamella sp.* ise geliştiği Lignin Broth

ortamındaki lignin miktarında herhangi bir azalma meydana getirmemiştir.

Konuyla ilgili önceki yıllarda yapılan çalışmalar incelenmiş ve Kumar ve diğ. [26]'nın kirli topraklardan izole edilen bakteriler ile lignin biyodegradasyonunu incelemişler ve sonuçta *Brochothrix species*, *Micrococcus luteus* ve *Bacillus firmus* tarafından lignin biyodegradasyonun gerçekleştirilebildiği tespit

edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada da *Micrococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait türler izole edilmiş ve kültür ortamındaki lignin miktarında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalara uygunluk sağladığı gözlenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan TÜBİTAK (BAYG)'a teşekkür ederiz.

4. Kaynaklar

1. Crawford, R. L. (1981). Lignin biodegradation and transformation, John Wiley Sons, Inc., New York.
2. Hon, D. N. S. (1996). Functional natural polymers: A new dimensional creativity in lignocellulosic chemistry, In Chemical Modification of Lignocellulosic Materials, Ed by Hon, D. N. S. Marcel Dekker Inc., New York.
3. Crawford, D. L., Barder, M. J., Pometto, A. L. Iii., Crawford, R. L. (1982). Chemistry of softwood lignin degradation of softwood lignin degradation by *Streptomyces viridoendosporus*, Arch. Microbiol., **131**, 140-145.
4. Basaglia, M. G., Concheri, S., Cardinali, M. B., Pasti-Grigsby ve Nuti, M. P. (1992). Enhanced degradation of ammonium-pretreated wheat straw by lignocellulolytic *Streptomyces* spp., Canadian Journal of Microbiology, **38** (10) 1022-1025.
5. Kawakami, H., Shumiya, S. (1983). Degradation of lignin-related compounds and lignins by alkalophilic bacteria, In Recent Advances in Lignin Biodegradation Research. Uni. Publishers Co., Ltd. Tokyo, Japan, pp. 64-77.
6. Kirk, T. K., Farrell, R. L. (1987). Enzymatic Combustion: The Microbial Degradation of Lignin, Ann. Rev. Microbiol, **41**, 465-505.
7. Pilon, L. M., Barbie, C., Descrochers, M., Jurasek, L. (1982). Fungal treatment of mechanical pulp- Its effect on paper properties, Biotechnol. Bioeng., **24**, 2063-2076.
8. Breen, A., Sigleton, F. L. (1999). Fungi in lignocellulose and biopulping, Current Opinion in Biotechnology, **10** (3) 252-258.
9. El-Gammal, A. A., Kamel, Z., Adeeb, Z., Helmy, S. M. (1998). Biodegradation of lignocellulosic substances and production of sugars and lignin degradation intermediates by four selected microbial strains, Poliymer Degradation and Stability, **61**, 535-542.
10. Benner, R., Maccubbin, A. E., Hodson, R. E. (1984). Anaerobic biodegradation of the lignin and polysaccharide components of lignocellulose and synthetic lignin by sediment microflora, Applied and Environmental Microbiology, p.998-1004.
11. Johansson, E., Krantz-Rulcker, C., Zhang, B. X., Oberg, G. (2000). Chlorination and biodegradation of lignin, Soil Biology & Biochemistry, **32**, 1029-1032.
12. Adamovic, M., Grubic, G., Milenkovic, I., Johanovic, R., Protic, R., Sretenovic, L., Stoicevic, L. (1998). The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding, Animal Feed Science Technology, **71**, 357-362.
13. Yamamoto, H., Amaike, M., Saitoh, H., Sano, Y. (2000). Gel formation of lignin and biodegradation of the lignin gels by microorganism, Materials Science and Engineering, **C7**, 143-147.
14. Chrestini, C., Sermanni, G. G., Argyropoulos, D. S. (1998). Structural modifications induced during biodegradation of wheat lignin by *Lentinula edodes*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, **6**, 957-973.
15. Henriksson, G., Zhang, L., Li, J., Ljungquist, P., Reitberger, T., Pettersson, G., Johansson, G. (2000). Is cellobiose dehydrogenase from *Phanerochaete chrysosporium* a lignin degrading enzyme, Biochimica et Biophysica Acta, **1480**, 83-91.
16. Fengel, D., Wegener, G. (1984). Wood: chemistry, ultrastructure, reactions, Walter de Gruyter, Berlin, pp. 56-57.
17. Özçelik, S. (1998). Genel Mikrobiyoloji, Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 1, İkinci Basım, Isparta, s. 91.
18. Malloch, D. (1981). Moulds, Their Isolation, Cultivation and Identification, University of Toronto Press.
19. Brock, T. D. (1979). Biology of Microorganisms, 3 rd. Edition, Perntice-Hall inc. Englewood Cliffs, Newjersey, 07632, 235-271.

20. Collins, C. H., Lyne, P. M., Grange, J. M. (1989). Microbiological Methods, Butterworths & Co. Ltd., London, 410.
21. Buchanon, R. E., Gibbons, M. E. (1984). Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology, 8 th Edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, pp. 1094.
22. Horikoshi, K. (1996). Alkaliphiles-from an industrial point of view, FEMS Microbiology Reviews, 18, 259-270.
23. Rajagopal, B. S., Rao, V. R., Ngendrappa, G., Sethunathan, N. (1986). Metabolism of carbaryl and carbofuran by soil enrichment and bacterial cultures, Can. J. Microbiol., 30, 1446-1458
24. Claus, D., Berkeley, R. C. W. (1986). Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174AL. p. 1105, In Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore.
25. Horikoshi, K., Akiba, T. (1982). Alcalophilic Microorganisms, Japan Scientific Societies Pres, Tokyo, pp. 468.
26. Kumar, L., Rathore, V., Srivastava, H. (2001). Related Articles, Links 14C-[lignin]-lignocellulose biodegradation by bacteria isolated from polluted soil, Indian J. Exp. Biol., 39, 6, 584-589.