

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI YAŞLARDAKİ *Rhizobium* KÜLTÜRLERİ İLE AŞILAMANIN
MERCİMEK BİTKİSİNİN VERİM UNSURLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Selami MATUR

TOPRAK ANABİLİM DALI

ERZURUM
2009

Her hakkı saklıdır

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Simbiyotik Azot Tespitine Etki Eden Faktörlerle İlgili Çalışmalar.....	4
2.1.1. Bakteriyel faktörler.....	4
2.1.1.a. Simbiyotik azot tespitinde rol oynayan <i>Rhizobium</i> bakterilerinin genel ve kültürel özellikleri.....	4
2.1.1.b. Aşılamada kullanılan bakteri sayısı	5
2.1.1.c. Aşılamada kullanılan bakterinin yaşı	9
2.1.1.d. Azot tespitinin bakteri tarafından engellenmesi.....	11
2.1.2. Bitkisel faktörler.....	12
2.1.3. Çevre faktörleri	12
2.1.3.a. pH	12
2.1.3.b. Nem ve havalanma.....	13
2.1.3.c. Işık ve sıcaklık.....	13
2.1.3.d. Toprak tipi.....	14
2.1.3.e. Besin maddesi içeriği.....	14
2.2. Aşılama ile ilgili çalışmalar	18
2.2.1. Bakteri aşılması.....	18
2.2.2. Mercimek bitkisinde aşılama.....	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. Denemenin yürütüldüğü alanın genel özellikleri	23
3.1.1.a. Toprak örneğinin alındığı yer	23
3.1.1.b. İklim özellikleri	23

3.1.1.c. Toprak özellikleri.....	24
3.1.2. Tohum	25
3.1.3. Saksı	25
3.1.4. Aşılama materyali.....	25
3.1.5. Gübre.....	25
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Toprak örneklerinin analize hazırlanması.....	26
3.2.2. Toprak analiz yöntemleri.....	26
3.2.2.a. Toprak reaksiyonu.....	26
3.2.2.b. Kireç miktarı.....	26
3.2.2.c. Organik madde.....	27
3.2.2.d. Katyon değişim kapasitesi (KDK).....	27
3.2.2.e. Değişebilir K ve Na.....	27
3.2.2.f. Değişebilir Ca + Mg.....	27
3.2.2.g. Elverişli fosfor.....	27
3.2.2.h. Mikro elementler (Fe, Mn, Zn, Cu ve Mo).....	28
3.2.2.i. Toplam azot.....	28
3.2.2.j. NH ₄ -azotu ve NO ₃ -azotu.....	28
3.2.2.k. Elektrik iletkenlik.....	28
3.2.2.l. Tarla kapasitesi ve solma noktası.....	28
3.2.2.m. Toprak tekstürü.....	29
3.2.2. Bitki analiz yöntemleri.....	29
3.2.2.a. Bitki kuru madde miktarı.....	29
3.2.2.b. Bitkide nodül sayısı ve nodül kuru ağırlığı.....	29
3.2.2.c. Bitkide toplam azot.....	29
3.2.2.d. Simbiyotik etkinlik.....	29
3.2.3. Biyolojik yöntemler.....	30
3.2.3.a. Aşılama materyalinin hazırlanması.....	30
3.2.3.b. Aşılama materyalindeki bakteri sayısının tespiti.....	31
3.2.3.c. Aşılanmanın yapılması.....	32
3.2.3.d. Tohumların sterilizasyonu.....	32
3.2.3.e. Denemenin kurulması ve ekimin yapılması.....	32

3.2.4. Hasat.....	33
3.2.5. İstatiksel analiz yöntemleri.....	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	35
4.1. Araştırma Konusu Toprak Örneğinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ...	35
4.2. Aşılama Materyalindeki Bakteri Sayımı.....	36
4.3. Azotlu Mineral Gübre Uygulamasının ve <i>Rhizobium</i> İzolatları ile Aşılamanın Mercimek Bitkisinin Kuru Madde Miktarı ve Simbiyotik Özellikleri Üzerine Etkileri.....	38
4.3.1. Kuru madde miktarı.....	38
4.3.2. Simbiyotik özellikler	44
4.3.2.a. Nodülasyon.....	44
4.3.2.a.1. Nodül sayısı.....	44
4.3.2.a.2. Nodül kuru ağırlığı.....	47
4.3.2.b. N ₂ -fiksasyonu.....	49
4.3.2.c. Simbiyotik etkinlik.....	55
5. SONUÇ.....	58
KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	67

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

'	Dakika
"	Saniye
%	Yüzde
°	Derece
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
m	Metre
mμ	Milimikron
mg	Miligram
o.m	Organik madde
pH	Ortamda bulunan H ⁺ konsantrasyonunun negatif logaritması
ppm	Milyonda bir kısım çözelti anlamına gelmekte olan ingilizce Part Per Million sözcüklerinin baş harfleri

Yard. Doç. Dr. Serdar BİLEN danışmanlığında Selami MATUR tarafından hazırlanan bu çalışma ...01./12./2009... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Toprak Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Mustafa Y. CANBOLAT

İmza

Üye : Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKCI

İmza

Üye : Yard. Doç. Dr. Serdar BİLEN

İmza

Üye : Yard. Doç. Dr. Adil AYDIN

İmza

Üye : Yard. Doç. Dr. Kenan BARİK

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

(imza)

.....Prof. Dr. Ömer AKBULUT.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI YAŞLARDAKİ *Rhizobium* KÜLTÜRLERİ İLE AŞILAMANIN
MERCİMEK BİTKİSİNİN VERİM UNSURLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Selami MATUR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Toprak Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serdar BİLEN

Yrd. Doç. Dr. Adil AYDIN (Ortak Danışman)

Bu çalışma, mercimek (*Lens esculanta*) bitkisinin kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarları, nodül sayısı, nodül kuru madde miktarı, nodül azot içeriği, toplam azot içeriği ve fosfor içeriği üzerine *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* F15, M9, M2426 izolatlarının, farklı yaşlardaki (1,3,5,7 ve 9 günlük) kültürleri ile aşılama işlemlerinin hangi dozdaki (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre)) azotlu mineral gübrelemeye eşdeğer olduğunu tespit etmek amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

Deneme sonunda elde edilen bulgulara göre *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* F15, M9, M2426 izolatları ile aşılanan mercimek bitkilerinde M2426 izolatının 5 günlük kültürleri ile aşılamasından en yüksek kuru madde miktarı elde edilmiştir. Bu izolatı sırası ile F15 ve M9 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemi izlemiştir. En yüksek nodül sayısı, nodül kuru madde miktarı, nodül azot içeriği toplam azot içeriği, simbiyotik etkinlik ve fosfor içeriği M2426 izolatının 5 günlük kültürleri ile aşılamasından elde edilmiştir. Bu izolatı sırası ile F15 ve M9 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemleri izlemiştir. Beş günlük kültürler ile aşılama işlemi dekara 5 kg azotlu mineral gübreleme ile eşdeğer bulunmuştur.

2009, 69 sayfa

Anahtar kelimeler: Mercimek, *Rhizobium*, aşılama, nodül, izolat, simbiyotik etkinlik

ABSTRACT

Ms. Thesis

EFFECTS OF *Rhizobium* INNOCULATION WITH DIFFERENT AGES ON YIELD
PARAMETERS OF LENTILS (*Lens esculanta*)

Selami MATUR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Soil Science

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Serdar BİLEN

Yrd. Doç. Dr. Adil AYDIN

The objectives of this study were to determine the effects of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* F15, M9, M2426 isolates with different ages (1,3,5,7 and 9 days) on shoot, root and leaf dry matter contents of lentils (*Lens esculanta*) and on the number of nodules, the amount of nodule dry matter, N content of nodules, total N content and P content and to estimate the equivalent doses of N fertilizers (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre)) to rhizobium applications.

The results indicated that the highest dry matter content was obtained with M2426-5 day old *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* isolate in lentils, followed by F15 and M9-5 day old isolates. Similarly, the maximum nodule number, the highest nodule dry matter content, nodule N content, total N content symbiotic efficiency and P content were also obtained with M2426-5 day isolates, followed by F15 and M9-5 day isolates. Application of 5 day isolates produced the same results of 5 kg N application.

2009, 69 pages

Keywords: Lentil, *Rhizobium*, inoculation, nodul, isolate, symbiotic efficiency

TEŞEKKÜR

Atatürk Üniversitesi Bilimsel araştırma projesi tarafından desteklenen bu çalışmanın yürütülmesinde Toprak Bölümü imkânlarından faydalanılmıştır. Bu bakımdan tez çalışmamın yürütülmesinde öncelikle Toprak Bölüm Başkanı Sayın Mustafa Yıldırım CANBOLAT hocama, tez yöneticilerim olarak Sayın Yrd. Doç. Dr. Serdar BİLEN'e ve Ortak danışman olarak Yrd. Doç. Dr. Adil AYDIN'a, tez analiz ve yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan BARİK'e ve Sayın Dr Ekrem Lütü AKSAKAL'a ayrıca Sayın Laborant Cihan VURAL'a ve tüm emekleri geçen Toprak Bölümü Öğretim üyesi ve elemanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selami MATUR

Kasım, 2009

1. GİRİŞ

İnsan; nüfusunun hızla çoğalması sonucu, beslenme sorunu gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu sorun tarımsal faaliyetlerin önemini ortaya koymaktadır. Değişen teknolojik gelişmeler tarımsal faaliyetleri olumlu ve olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle kimya endüstrisinde görülen gelişmeler yapay gübre üretimini ve uygulamasını artırmış, gübre uygulamaları bitkisel üretimde önemli artışlara neden olmuştur. Bitkisel üretimde azotlu gübrelerin verim artışı üzerine olumlu etkilerinden dolayı bu gübrelerin tüketimi giderek aşırı düzeylere ulaşmıştır (Greenwood and Hunt 1986).

Azotlu gübrelerin gereğinden fazla kullanılması ile ürün miktarında artış elde edilmesine rağmen, gerek ürün kalitesinde düşüş gerekse bu bitkilerle beslenen insan ve hayvanlarda çeşitli sağlık sorunları, toprak ve su kirliliği ortaya çıkmıştır. Bu olumsuz durumu ortadan kaldırmak için alınacak önlemlerin başında bitkisel üretimini düşürmeden gerek duyulan düzeylerde gübre tüketimini sağlamak, organik tarıma geçmek ve mikrobiyal gübreleme uygulanmalıdır.

Dünyada üretilen azotlu gübre miktarı, bitkiler tarafından tüketilen azot miktarını karşılamaya yetmediği gibi ekonomik de olmamaktadır (Anonymous 1985). Azotlu gübre üretiminin yeterli olmadığı ve aşırı tüketimin yapıldığı durumda ortaya çıkan olumsuzluklar yüzünden ihtiyacın büyük bir kısmı biyolojik azot tespiti ile atmosfer azotundan karşılanmaktadır. Atmosfer azotunun doğal olarak mikroorganizmalarca tespit edilmesine “Biyolojik Azot Tespiti” denir. Dünya üzerinde toplam biyolojik azot tespiti yılda yaklaşık 17×10^7 ton ve kimyasal yöntemlerle tespit edilen azot ise 4×10^7 tondur. Biyolojik olarak tespit edilen azotun %50’si *Rhizobium*-Baklagil ortak yaşamından kaynaklanmaktadır (Çakmakçı 1987). Dünya genelinde baklagil bitkilerinin yetiştirildiği 250×10^6 ha’lık alanda yılda 140 kg pirinç bitkilerinin yetiştirildiği 135×10^6 ha’lık alanda 30 kg, diğer kültür bitkilerinin yetiştirildiği 1015×10^6 ha’lık alanda 5 kg, devamlı çayır ve çimen örtüsü altındaki 3000×10^6 ha’lık alanda 15 kg, orman ve ağaçlık alanların bulunduğu 4100×10^6 ha’lık alanda 10 kg azot tespiti gerçekleşmektedir (Paul

and Clark 1989). Buna göre baklagil bitkilerinin yetiştirildiği alanların azot ekonomisine katkısı, diğer bitkilerin yetiştirildiği alanlarından daha önemli olmaktadır.

Biyolojik azot tespiti ile elde edilen azotun kimyasal yolla tespit edilen azota oranla dört kat daha fazla olduğu ve bunun simbiyotik ve non-simbiyotik yollarla gerçekleştiği bilinmektedir (Aydemir ve İnce 1988; Paul and Clark 1989; Kızıloğlu 1995). Doğada simbiyotik ve non-simbiyotik olarak yaşayan bazı mikroorganizmalar atmosferde yaklaşık %78 oranında bulunan ve hiçbir bitkinin doğrudan azot kaynağı olarak yararlanamadığı element halindeki azotu, sahip oldukları nitrojenaz enzimi sayesinde bitkilerin yararlanabileceği forma indirgemektedirler (Kızıloğlu 1995; Sezen 1995).

Baklagil bitkileri ile ortak yaşayan *Rhizobium* bakterileri Simbiyotik azot tespitinde önemli azot tespit edicilerdir (Kızıloğlu 1995). Simbiyotik azot tespitinde görev alan *Rhizobium* bakterileri ile baklagil bitkilerini aşılamanın bitki ve toprak açısından sağladığı yararlar vardır. Bu yararlar;

1. Aşılama bitkiye azot kazandırır. *Rhizobium* izolatları ile yapılan aşılama çalışmalarında bitkilerde ürün veriminin ve azot içeriğinin artış gösterdiği belirlenmiştir. Tohumun etkili *Rhizobium* izolatı ile aşılama sonucu bitki köklerinde nodozite oluşumunun ortaya çıktığı, böylece bitkinin azot gereksiniminin karşılandığı ve bitki azot içeriğinin arttığı daha önce yapılmış birçok çalışmadan tespit edilmiştir (Ersin 1984; Ülgen 1975; Kızıloğlu 1996).

2. Aşılama ile toprağın azot içeriği artmaktadır. Baklagil tohumlarının etkili *Rhizobium* izolatları ile aşılama sonucu oluşan nodüller toprağın azot içeriğini artırmaktadırlar (Ülgen 1975). Yapılan bir çalışma sonucunda baklagil-Rhizobium ortaklığında yılda tespit edilen azot miktarının dekara 6–12 kg olduğu rapor edilmiştir (Alexander 1961; Kızıloğlu 1991).

3. Aşılama ile ürün verimi, bitki kalitesi ve bitkinin protein içeriği artış göstermektedir. Baklagil bitkilerinin *Rhizobium* bakteri kültürleri ile aşılama sonucu bitkiler havanın serbest azotundan yararlanabilmektedirler. Bu durum aynı zamanda bitkilerin ürün, protein ve yağ artışını olumlu yönde etkilemektedir (Dunigan *et al.* 1984). Etkili bakteri izolatu ile aşılamanın yapıldığı baklagil bitkileri üzerinde yapılan araştırmalar, ürün veriminin, bitkinin besin değerinin ve bitkinin protein içeriğinin artış gösterdiğini, bu artış değerinin bitki çeşidine bağlı olarak verimde %15–50 arasında değiştiğini ifade etmektedirler (Ülgen 1975; Ersin 1975; Chamber 1983; Kızıloğlu 1995).

Yukarıda ifade edildiği gibi *Rhizobium* bakterileri ile aşılama sonucu baklagil bitkilerinin verim ve verim unsurlarındaki değişiklikler göze alındığında aşılamanın büyük önem taşıdığı görülmektedir. Aşılamanın yapılmasında uygulanacak olan mikrobiyal gübrenin uygulama tekniği, özelliği, gübrede bulunan mikroorganizmanın türü, yaşı, gelişme durumu ve bunu etkileyen toprak özelliklerinin dikkate alınması ürün miktarını ve kalitesini artırmak açısından önem taşımaktadır.

Bu araştırmanın amacı, aşısız uygulama olarak farklı dozlarda (0.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10.0 kg N/da) azotlu mineral gübrelemenin ve aşılı uygulama olarak, mercimek (*Lens esculanta*) bitkisinde 3 *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9 ve Ciat 899) izolatlarının 1,3,5,7 ve 9 günlük kültürleri ile aşılamanın kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarı ve simbiyotik özellikler (nodül sayısı, nodül kuru ağırlığı, nodül azot içeriği, bitki azot içeriği, simbiyotik etkinlik) üzerine etkilerini belirlemektir. Ayrıca etkinliği belirlenen izolatın tespit ettiği azot miktarının hangi dozdaki azotlu mineral gübrelemeye eşdeğer seviyede olduğunu tespit etmektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Simbiyotik Azot Tespitine Etki Eden Faktörlerle İlgili Çalışmalar

Simbiyotik azot tespitinde rol alan *Rhizobium* bakteriler ile aşılanmanın etkinliği bazı faktörlerin etkisi altındadır. Bu faktörler bakteriyel faktörler, çevre faktörleri ve bitkisel faktörler olmak üzere 3 ana başlık altında incelenebilir.

2.1.1. Bakteriyel faktörler

Simbiyotik azot tespitinde rol oynayan *Rhizobium* bakterilerinin genel ve kültürel özellikleri, bakteri sayısının ve yaşının etkisi ile azot tespitinin engellenmesi gibi hususlar bakteriyel faktörler ele alınmıştır.

2.1.1.a. Simbiyotik azot tespitinde rol oynayan *Rhizobium* bakterilerinin genel ve kültürel özellikleri

Beijerinck 1888 tarihinde havanın serbest azotunu tespit edebilen organizmanın saf kültür izolasyonunu gerçekleştirmiş ve bu bakteriyel *Bacillus radicola* adını vermiştir. Frank ise 1980 yılında bu bakterilerin adını *Rhizobium* adını *Rhizobium* olarak değiştirmiştir (Nutman 1975; Kızıloğlu 1995).

Rhizobium bakterileri Eubactoriales takımının Rhizobiaceae familyasının *Rhizobium* cinsine dahildirler. Hücreleri kısa çubuklar şeklinde, 0.5-0.9 µ eninde ve 1.2-3.0 µ uzunluğundadırlar. *Rhizobium*'lar gram negatif, endospor ihtiva etmeyen, heterotrof bakteriler olup en iyi gelişmeyi maya ekstraktında ve malt ekstraktında gösterirler. Karbon kaynağı olarak en iyi gelişmeyi mannitol ile verirler. Üreme için amino asitlere gereksinim duyarlar (Gür 1987).

Rhizobium bakterisinin oluşturduğu koloniler genellikle beyaz, şeffaf, ağdalı, konveks yapıda veya yuvarlağa yakındırlar (Beck *et al.*, 1993).

Rhizobium türleri aerobik bakteriler olup, gelişimlerini 3-10 günlük periyotta tamamlarlar. *Rhizobium* bakterilerinde hızlı üreyenler 2-3 günde gelişirler ve ortalama generasyon süreleri 2-4 saat, yavaş üreyenler ise 3-5 günde gelişirler ve generasyon süreleri 6-10 saattir. Soyada *Rhizobium japonicum* ile aşılama işleminde generasyon süresi 8-12 saat arasında değişmektedir (Grimm *et al.*, 1994; Kızıloğlu, 1995).

Rhizobium bakterileri taze hazırlanmış Brom-Timol Mavili YMA besiyerinde yetiştirildiklerinde ortam besiyerinin yeşil rengini, ya maviye (yavaş üreyerek alkali reaksiyon oluşturanlar) veya sarıya (hızlı üreyerek asit reaksiyon oluşturanlar) dönüştürürler. Kango Kırmızılı YMA besi ortamında karanlıkta inkübe edildiklerinde boyayı absorbe etmezler ve beyaz opak görünümünde nadiren pembemsi koloniler oluştururlar. Işıktaki inkübe edildiklerinde ise boyayı absorbe ederek kırmızı koloniler oluştururlar (Uçar ve Öner 1988; Kızıloğlu 1992; Beck *et al.*, 1993).

2.1.1.b. Aşılama kullanılan bakteri sayısı

Toprakta bulunan mikroorganizmaların cins ve sayıları değişik faktörlere bağlıdır. Bunu etkileyen faktörlerin başında toprak nemi, toprak derinliği, besin maddelerinin yayılabilirlik durumu, organik maddenin bileşimi, toprak havası, mikroorganizmaların bitki köklerine yakınlık durumları gelmektedir. Mikroorganizmalar için yararlı besin maddelerinin bitki tarafından salınması ile kök çevresinde mikroorganizmaların popülasyonunun yüksek olması arasında yakın bir ilişki mevcuttur (Croizat *et al.*, 1982, Rupela *et al.*, 1987). Baklagil bitkileri ile *Rhizobium* bakterileri arasında simbiyotik ilişkinin kurulabilmesi için toprak ekosisteminde yeterli sayıda canlı *Rhizobium* sayısının bulunması gerekmektedir (Grassia 1978; Gürgün ve Halkman 1988).

Başarılı bir nodülasyon için aşılama materyaline verilmesi gereken bakteri sayısının kesin olarak ne kadar olduğunu söylemek mümkün değildir. Çünkü nodülasyon

oluşumunu etkileyen faktörler vardır. Bunlar genel olarak; 1.Bakterilerin, aşılama, ekim zamanında ve ekimden sonra ölme ihtimalleri, 2. *Rhizobium* bakterilerinin kök yüzeyine kolonize olabilme şansı, 3. *Rhizobium* bakterilerinin toprakta diğer bakteriler ve etkisiz *Rhizobium* izolatları ile rekabet edebilme yetenekleri. Bu faktörler uygun olduğunda tohum başına 1 veya 2 adet bakterinin düşmesi bile iyi bir nodülasyon için yeterlidir. Uygun olmayan sıcaklık dereceleri, kuruma, çimlenmenin gecikmesi, toprağın asit karakterde olması, tohum kabuğunda toksik maddelerin bulunması, rekabet ve *Rhizobium* bakterilerinin çoğalma kapasitelerinin zayıf olması gibi faktörler çok yüksek dozda aşılama yapılmasını gerektiren unsurlardır (Vincent 1968; Gürbüzer 1982; Cebel ve Altuntaş 1992).

Nodül bakterileri yonca, üçgül, bezelye bitkilerinden elde edilmişse, bunlar hızlı gelişen türler olup sakaroz içeren Yeast Extract Mannitol Agar (YMA) ortamında 28°C’de üretildiklerinde 3–5 günde sayıları en az mililitrede 4×10^8 hücre, soya fasulyesi, börülce, acı bakla ve gazal boynuzu gibi bitkilerden elde edilmişse yavaş gelişen türler olup, galaktoz içeren YMA ortamında 28°C’de üretildiklerinde 3-5 günde sayıları mililitrede 5×10^8 hücre olurlar (Ülgen 1975).

Besi ortamlarındaki en büyük koloni çapına ise 7-12 günde ulaşılmaktadır. Yapılan çalışmalar aşılamanın yapılmasından ilk 1-4 saat içerisinde bakteri sayısında ve etkinliğinde değişme olmadığını, bu süreden sonra bakterinin sayısı ve etkinliğinin logaritmik olarak artış gösterdiğini ortaya koymuştur (Bhuvaneswari *et al.* 1980; Bhuvaneswari *et al.* 1983; Somesegaran and Hoben 1985).

Doğal *Rhizobium* sayısı, bir gramında 1.2×10^1 - 2.3×10^3 hücre arasında değişen 6 farklı toprakta yürütülen çalışmada bir toprakta 1.2×10^1 hücre miktarından az *Rhizobium* bakterisi bulunduğunda nodül sayısını artırmak için 33×10^4 sayısından daha fazla *Rhizobium* bakterisi vermek gerekli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca köklerde oluşan nodüllerin %50’sinin aşılama sonucu olması için aşılama dozunun topraktaki *Rhizobium* sayısının en az 1000 kat daha fazla olması gerektiği bildirilmiştir (Weaver and Frederick 1974; Cebel ve Altuntaş 1992).

Avustralya AIRCS teşkilatı tohum başına 300 adet bakteriyi minimum değer olarak kabul etmiştir. Tohum büyüklüğüne göre aşılama kültürünün gramında 1×10^6 ile 7×10^7 hücre arasında *Rhizobium* bakterisinin bulunması tohum başına 300 bakterinin düşmesi için yeterli olabilmektedir (Vincent 1970). Kanadalı araştırmacılar ise tohum başına minimum bakteri sayısının 1000 olarak kabul etmektedirler (Date 1976). Aynı şekilde Burton and Curley (1965), Amerika’da yürüttükleri bir çalışmada tohum başına bakteri adedinin 100.000 olması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Rupela *et al*, (1987), Hindistan’da yaptıkları denemelerde coğrafik bölgelere göre *Rhizobium* sayısının bir gram toprakta 10^1 ve 10^4 hücre arasında olduğunu ifade etmektedirler.

İkram ve Broughton (1981), yaptıkları çalışmada toprakta doğal *Rhizobium* sayısının bir gram toprakta 5 hücre olduğu durumda nodüllerin %90’ının rekabet gücü düşük izolatlardan, doğal *Rhizobium* popülasyonu sayısının bir gram toprakta 700 hücre olduğunda ise nodüllerin %18’den daha azının aşılama kullanılan rekabet gücü düşük izolatlardan oluştuğunu göstermiştir.

Ankara Kazan ilçesi topraklarından izole edilen *R. leguminosarum* izolatlarının simbiyotik etkinlikleri üzerine yapılan çalışmada bir gram toprakta *Rhizobium* sayılarının 1.0×10^3 ile 3.1×10^3 hücre arasında değiştiği belirlenmiştir. *Rhizobium* sayısının en düşük ve en yüksek olduğu durumlarda yetiştirilen fiğ bitkisinin nodül kuru ağırlığının bitki başına 0.002-0.032 g arasında, toprak üstü bitki ağırlığının bitki başına 0.072-0.504 g arasında ve toprak üstü bitki toplam azot içeriğinin %1.225-3.768 arasında olduğu belirlenmiştir (Ayhan 1995).

Kültürlerin kapsadıkları nem miktarı *Rhizobium* sayısını önemli ölçüde etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada farklı nem seviyesine sahip kültürlerdeki *Rhizobium* sayıları tespit edilmiş ve bakteri aşılamasından 1 hafta sonra %20 nem kapsayan aşılama materyalinin bir gramında 3×10^8 hücre, %50-60 nem kapsayanlarda $12-14 \times 10^9$ hücre ve

%80 nem kapsayan aşılama materyalinde ise 9×10^8 hücre olarak belirlenmiştir (Roughley 1968; Gürbüz 1982).

Oda sıcaklığında ($10-28^\circ\text{C}$ 'de) ve 20°C 'de bekletilen bakteri kültürlerinin 8 ay süre ile bakteri sayımları ve nem miktarlarını belirlemek için yapılan 3 aylık araştırma sonunda, bakteri sayıları düşük sıcaklıkta bekletilen aşılama materyalinin gramında 8.2×10^9 hücre, oda sıcaklığında üretilenlerde ise 2.3×10^9 hücre olarak belirlenmiştir (Van Schreven 1970; Gürbüz 1982).

Nodozite bakteri kültürlerinin hazırlanmasında kullanılan peat'in sterilize edilmeden kullanılabilme olanaklarını saptamak amacı ile yürütülen çalışmada hızlı üreyen gruba ait yonca nodozite bakterileri ile kültür hazırlandığında taşıyıcı olarak sterilize edilmemiş peat kullanılmışsa 5 ay içerisinde, geç üreyen gruba ait soya nodozite bakterileri ile yapılan kültürlerde ise 2 ay içinde, aşılama materyalinin bir gramı içinde canlı sayısının standart değerin altına düştüğü tespit edilmiştir. Sterilize edilen peat ile hazırlanan kültürlerde ise bu süre 6 ay olarak belirlenmiştir (Altuntaş 1989). Amerika'da peat'in sterilize edilmediği için sıvı kültürlerdeki *Rhizobium* sayısının yüksek seviyede olması esas tutulmuş ve mililitrede 1×10^9 hücre bakteri bulunması gerektiği ifade edilmiştir (Burton 1979; Gürbüz 1982).

Sterilize edilen ve edilmeyen peat aşılama materyaline aşılanan bakterilerin sayılarında zamanla değişiklik ortaya çıkmaktadır. Sterilize edilmeyen kültürlerdeki *Rhizobium* bakteri sayısı önemli derecede düşüş gösterirken, sterilize edilen kültürlerde *Rhizobium* bakteri sayısının 6 ay sonra bile kültürün gramında 10^8-10^9 hücre bakteri içerdikleri belirlenmiştir (Strijdom and Deschodt 1976; Gürbüz 1982).

Sterilize edilmeyen peat ile hazırlanan kültürlerde olgunlaşma devresinde 2-5 misli bir artış olduğu ve bu tip kültürlerde *Rhizobium* sayısının nadiren kültürün gramında 10^9 hücre değerini aştığı bildirilmektedir (Nutman 1965).

Fosfor ve azot bakımından fakir bir toprağa (pH:6.3) yapılan aşılama çalışmasında, tohum başına 313.000 bakteri düşecek şekilde soya aşılması yapılmış ve soyanın veriminde 100 kg/da oranında artış tespit edilmiştir (Hymowitz *et al.*, 1971; Cebel ve Altuntaş 1992). Özkoç ve Çakmakçı (1992), mercimek (*Lens culunaris*), nohut (*Cicer arietinum*) ve soya fasulyesi (*Glycine max*) tohumları üzerine 28°C’de 48-96 saat sürede geliştirilmiş farklı *Rhizobium* bakteri kültürleri ile aşılama yapmışlar, polietilen torbalara konulan tohumları +4°C soğuk hava deposunda ve 28°C’de inkübasyon odasında 60 gün süreyle muhafaza etmişler ve daha sonra tohumlar üzerindeki bakteri sayılarını belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda +4°C’de bulunan tohumlardaki bakteri sayısının, 28°C’de bulunan tohumların bakteri sayısından biraz yüksek değer gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Tarla denemeleri sonucunda yonca gibi küçük tohumlulara, tohum başına en az 10^4 adet, soya gibi büyük tohumlulara ise en az 10^7 adet rhizobia içeren aşı materyalinin maksimum etkili olduğu belirlenmiştir. Ortalama olarak 1 kg tohuma 4 g aşı materyalinin kullanılması uygundur (Kızıloğlu 1995).

2.1.1.c. Aşılamada kullanılan bakterinin yaşı

Bakteri aşılmasının yapılmasından sonra, baklagil bitkisinin kök hücreleri ile bakteri arasında etkileşimin olması ve nodül oluşumunun başlaması bakterinin etkinliği ile ilgilidir. Bakterinin etkinliği ise baklagil aşılmasının yapılmasından belli bir süre sonra baklagil bitkilerinin köklerinde oluşan etkili nodüllerin sayısı ile belirlenir (Bhuvaneswari *et al.* 1983).

Baklagil bitkileri için aşılamada kullanılan *Rhizobium* bakterilerinin farklı türleri arasında kültür yaşının etkinliği ve bu etkinliğe bağlı olarak bitkide ortaya çıkan değişim türden türe farklılık gösterir (Bal *et al.* 1978).

Rhizobium bakterisinin köke enfekte olma olayında bakterinin bitkiyi tanıma işlemi, bakteri hücre duvarı polisakkaritlerinin, bitki hücresi tarafından salgılanan protein

yapısındaki lektin molekülüne bağlanması ile başlamaktadır (Gold 1976; Toms 1981). *Rhizobium* bakterilerinin nodül oluşturma yeteneği, bu bağlantıya bağlı olarak değişim gösterir. Daha önce yapılan çalışmalar soyada *R. japonicum* kültürlerinin soya emici tüy hücresindeki lektin molekülüne bağlanmasının kültür yaşı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. *Rhizobium* bakterisinin enfekte etme yeteneğindeki değişimler söz konusu bağlanmayı gerçekleştiren bakterinin sayısındaki ve kültür yaşındaki (4-6 günlük) değişimlerle iyi bir korelasyon göstermiştir (Bohlool and Schmidt 1974; Bhuvaneswari *et al.* 1977; Brethauer and Paxton 1977; Bhuvaneswari and Bauer 1978; Mort and Bauer 1980). Bağlantı sağlanmasından sonra enfeksiyon işlemi emici tüylerin kıvrılmış bölgesindeki hücre çeperinin delinmesi ile başlar ve bakterileri içeren tüp hücreye doğru büyür (Bohlool and Schmidt 1974; Brethauer and Paxton 1977). Oluşan enfeksiyon ipliği, emici tüyün çeper bileşimleri ile devamlılık gösterir. Çünkü bu yapının bitki kök korteks hücrelerine dallanarak daha fazla hücrenin enfekte olmasında, bitki kök hücresinin nükleusu kılavuzluk etmektedir (Paul and Clark 1989).

R. japonicum türü ile yapılan bir çalışmada bu bakterinin gerek sıvı besiyerinde gerekse katı besiyerinde geliştirildikten sonra aşılama materyali olarak kullanıldığında kültürün nodül oluşturma etkinliği açısından bir farklılık görülmediği bulunmuştur (Bal *et al.* 1978). Bakteri aşılama materyalinin az miktarda olması, nodül oluşumunu etkileyen önemli bir faktördür. Uygulanan aşılama materyalinin miktarı az olursa bakterilerin köke girişinden sonra, enfeksiyon ipliği ve bakteroidin oluşumu aşılamanın yapılmasından sonra ancak 12-96 saat gibi geç sürede gerçekleşir (Newcomb *et al.* 1979; Turgeon and Bauer 1982). Bu olumsuz durum kültür yaşının etkisi ile ortadan kaldırılabilir. Zira bakteri kültür yaşı, özellikle aşılama başlangıcından sonra kısa sürede bakterinin etkinliği ile yakından ilişkilidir. Aşılama materyalinin miktarı üzerine yapılan çalışmada düşük sayıda bakteri içeren aşılama materyalinde 2-10 günlük kültür yaşlarına sahip bakterinin yaşının herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın aşılama materyalinin miktarının yeterli düzeyde olması durumunda materyaldeki bakterinin kültür yaşı ile aşılamanın etkinliğini arasında bir ilişkinin olduğu, üç günlük bakteri yaşının olumlu yönde etki yaptığı belirlenmiştir (Mort and Bauer 1980; Bhuvaneswari *et al.*, 1983).

Soya fasulyesi bitkisinde *R. japonicum* izolatlarının 2-10 günlük kültür yaşlarının simbiyotik etkinlik üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, aşılانmış bitkilerin köklerinde gelişen nodüllerin sayısı tespit edilmiştir. Nodül oluşumundaki izolatların, soyayı enfekte etme yetenekleri kültür yaşına bağlı olarak 2-6 günlük kültürlerde 2-5 kat oranında artış göstermiş ve simbiyotik etkinliğin yüksek derecede kültür yaşı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte nodül yapısına, kültür yaşının bir etkisinin olmadığı fakat, kültür yaşının, aşılama sonras enfeksiyonun etkinliğini artırdığını, düşük gelişme süresinde geliştirilen izolatların daha az etkili olduğunu ve nodül sayısının 2-6 günlük kültürlerde %85-100 oranında değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir (Bhuvaneswari *et al.* 1983).

2.1.1.d. Azot tespitinin bakteri tarafından engellenmesi

Azot tespitine engel olan ve anormal durumlar ortaya çıkaran Rhizobiyal izolatlar mevcut olup bunlar antibiyotiğe dirençli mutantlardır. Bunlardan ortaya çıkan anormal durumlar bakteroid haline dönüşememe, enfeksiyon ipliğinden serbest kalmadaki başarısızlık, anormal morfolojide bakteroid oluşumu, hidrogenaz aktivitesinin bulunmaması ve tümör benzeri yapıların oluşması gibi durumlardır (Kızıloğlu ve Öztürk 1992; Kızıloğlu 1995).

Azot tespit etme gücü yüksek *Rhizobium* bakterilerinin toprağa aşılانması durumunda toprakta mevcut *Rhizobium* bakterileri ile bunlar arasında bitkiyi enfekte etme bakımından rekabet bulunmaktadır. Eğer toprakta doğal *Rhizobium* popülasyonu bulunuyorsa aşılama sonucunda ya çok az etki görülecek ya da hiç etki gözlenmeyecektir (Nutman 1975). Yüksek azot tespit etme gücüne sahip aşılama materyali ile doğal popülasyon arasında rekabetin doğal popülasyon yönünde bozulması azot tespitini olumsuz etkileyen durumlardandır (Çakmakçı 1987; Kızıloğlu 1995).

2.1.2. Bitkisel faktörler

Baklagil- *Rhizobium* ortak yaşamında konukçu bitki *Rhizobium* bakterisinin tanınmasını düzenleyip kontrol eder ve enfeksiyon başlangıcını olası kılar. Konukçu bitki genleri nodül oluşumundan sorumludur. Oksijen basıncını ayarlama görevi yapan leghemoglobin molekülünün apoprotein yarısı bitki tarafından, diğer yarısı ise bakteri tarafından kodlanır. Bol miktarda nişasta oluşumu ve leghemoglobinin bulunmaması etkisiz nodül oluşumunu karakterize eder (Kızıloğlu ve Öztürk 1992; Kızıloğlu 1995).

Nodüllerin oluşumunda, *Rhizobium* türleri tarafından bitki bünyesinde sentezlenen bitkisel hormonların etkili oldukları düşünülmektedir. Azot tespitinde N_2 'nin amonyuma indirgenmesi nodülde gerçekleşir. Bu indirgenme olayı bakterinin nitrogenaz enzimi tarafından katalizlenir ve havanın azotuna hidrojen ilavesi ile olur (Salisbury and Ross 1992; Sarıoğlu 1994; Kadioğlu 1998).

2.1.3. Çevre faktörleri

Simbiyotik azot fiksasyonunu etkileyen çevre faktörleri pH, nem, havalanma, ışık, sıcaklık, toprak tipi ve besin element içeriği olup aşağıda ele alınmıştır.

2.1.3.a. pH

Rhizobium bakterileri pH:4.0-8.5 aralığında gelişmektedirler. Optimum pH değeri ise 6.8'dir (Alexander 1961; Çakmakçı 1987; Kızıloğlu 1995). Bakla bitkisi ile yapılan bir çalışmada, aşılama kullanılan *R. leguminosarum* izolatlarının pH:5.5-6.0 aralığında nodül ağırlığı, nitrogenaz aktivitesi, kök kuru madde miktarı ve kök azot içeriği bakımından en yüksek aktiviteyi gösterdikleri ve izolatların etkinliklerinin pH:4.75-7.5 değerleri arasında birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir (Iruthayathas and Vlassak 1985). Yonca ve çayır üçgülünde nodül oluşturan bakteriler aside tolerans göstermedikleri halde, soya fasulyesi, börülce, fiğ ve acı baklada nodül oluşturan bakteriler asitliğe tolerans gösteren türler olarak belirlenmişlerdir (Ülgen 1975).

2.1.3.b. Nem ve havalanma

Nem, baklagil bitkilerinin büyümesi için gerekli bir faktördür, aynı zamanda toprağa ilave edilen *Rhizobium* bakterisinin de yaşamını devam ettirmesi için neme ihtiyaç vardır. Yapılan bir çalışmada en fazla ürün ve maksimum azot kazancı toprağın su tutma kapasitesinin %84'ü kadar nemin bulunduğu koşullarda gerçekleşmiştir. Suyun fazla olması durumunda nodül yüzeyinde ince bir su tabakası oluşur ve bu da oksijenin difüzyonunu düşürerek azot tespitini azaltmaktadır (Sommer and Bamm 1981; Bordeleau and Prevost 1994; Kızıloğlu 1995).

Azot tespiti aerobik koşullarda gerçekleşir. Ancak bu olayda rol oynayan nitrogenaz enzimi moleküler oksijen tarafından engellenmektedir. Simbiyozda bakterileri oksijenin etkisinden koruyan ise leghemoglobin proteinidir. Leghemoglobin azot tespiti için gerekli olan ATP'yi sağlayarak solunuma oksijen temin eder. Leghemoglobinin sentezi için gereken genetik bilgi kodlamasında ise bitki önemli rol oynamaktadır (Bergman *et al.* 1988; Paul and Clark 1989; Taiz and Zeiger 1991).

2.1.3.c. Işık ve sıcaklık

Işığın yoğunluğu ve süresi, azot tespitinde önemli rol oynamaktadır. Ortamdaki ışığın normalden daha az olması *Rhizobium* bakterilerinin azot tespitini azaltmaktadır. Işık yoğunluğunun artması durumunda ise bakteri tarafından bitki köklerinin enfeksiyonu, ışıklanma süresindeki artış da nodül oluşumunu olumsuz etkilemektedir (Ülgen 1975).

Toprağın sıcaklık değeri 25-29°C arasında olması durumunda *Rhizobium* bakterileri gelişme göstermekte ve 28°C olduğu anda *Rhizobium* bakterisi için optimum koşul oluşmaktadır (Grimm *et al.* 1994; Kızıloğlu 1995). Toprak sıcaklığının 5°C'nin altına düşmesi durumunda tespit edilen azot miktarı %5 oranında azalmaktadır. Aynı şekilde 33°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ise nodül oluşumunun durduğu belirlenmiştir (Çakmakçı 1987; Arıoğlu 1989). Optimum koşullarda 4 günde toprağın gramındaki

bakteri sayısı 4×10^9 veya 5×10^9 hücre değerine ulaşabilmektedir (Burton 1979; Bhuvaneswari *et al.* 1980; Somegaran and Hoben 1985).

2.1.3.d. Toprak tipi

Rhizobium bakterisinin etkinliği toprakların pH'sı, organik madde içeriği ve toprağın iyonik bileşimi ile ilişkili olarak değişim gösterir. Bir toprakta etkili olabilen *Rhizobium* bakterisi başka bir toprakta etkili olmayabilir. Bu nedenle *Rhizobium* izolatının kullanılacağı bölgeye ait topraklardan *Rhizobium* bakterisinin izole edilmesi ve o bölge için kullanılması bakterinin etkinliğinin yüksek olmasını sağlar (Çakmakçı 1987; Kızıloğlu 1995).

Bu konuda yapılan daha önceki çalışmalarda Turhan (1998), şeker fasulyesinde, Kızıloğlu (1992), Kantar *et al.* (1994) yeşil mercimek bitkisinde, Cebel (1988), soya bitkisinde, Ögütçü (2000) nohut bitkisinde, Kızıloğlu (1996) fiğ bitkisinde, Ersin (1983) bakla bitkisinde araştırma konusu bölgelerden izole edilen *Rhizobium* bakterileri ile bitkinin aşılmasının bitkinin azot içeriğini ve ürün miktarını artırdığını ifade etmişlerdir.

2.1.3.e. Besin maddesi içeriği

Simbiyotik azot tespitinde önemli rol oynayan makro ve mikro bitki besin elementleri aşağıda ele alınmıştır.

Makro besin elementleri

Toprakta bulunan azot miktarının düşük seviyede olması durumunda diğer bitki besin elementlerinin yeterli düzeyde bulunması bitki gelişimini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle baklagillerle ortak yaşayan ve atmosferin serbest azotunu fiske eden azot tespit

etme gücü yüksek olan izolatlarla toprağın aşılınması, baklagillerin verimini artırmada en etkili yoldur (Grassia 1978; Gürgün ve Halkman 1988).

Az miktarda inorganik azot bileşikleri nodül teşekkülünün artmasını sağlarken, fazla miktarda olması ise nodülün sayısını ve büyüklüğünü olumsuz yönde etkilemektedir. Bazı araştırmalar nodül teşekkülünün toprakta yüksek miktarda mineral azot bulunması durumunda durduğunu ifade etmektedirler. Fazla miktardaki azotlu gübreler baklagil bitkisinin C/N oranını daraltmaktadır, bu durum azot tespitinin gerilemesine sebep olmaktadır. Uzun süren bu olumsuzluk sonucu nodüllerde dejenerasyon başlamakta, nodülün bitkiye yarardan çok zararı olmaktadır. Çünkü bu durumda *Rhizobium* bakterileri parazit durumuna geçerek bitkinin azotundan yararlanmaktadırlar. Fazla miktardaki azotlu gübreleme kök kıvrılmasını önleyerek *Rhizobium* bakterisinin nodül yapmak üzere köke girişine engel olurlar ve nodül teşekkülünü engellerler. Özellikle nitrat şeklinde gübre azotu kılcal köklerin infeksiyon iplikçiği oluşturmalarını ve oluşanlara da *Rhizobium* bakterisinin girmesini önlemektedir. Ayrıca nitrat, nitrit, amonyum ve üre şeklindeki azot nodüllenme süresini, nodüllerin sayı ve ağırlığını da olumsuz etkilemektedir (Ülgen 1975; Lie 1981; Özbek vd. 1993; Kızıloğlu 1995). Topraktaki azot miktarı 400 ppm civarında olması durumunda nodül oluşumunu engellemektedir. Bu sorun ancak yüksek azot düzeylerine toleranslı *Rhizobium* izolatlarının kullanılması ile veya toprağa ıslak saman karıştırılarak giderilebilir (Çakmakçı 1987).

Etkili nodüller azot fiske etme yeteneğinde olup, bunlar kırmızı veya pembemsi renkte olurlar. Nodüller beyaz veya yeşil renkli olurlarsa azot tespit edemezler (Beck *et al.* 1993).

Nitrogenaz enziminin aktivitesi toprakta bulunan tespit edilmiş azot miktarı ile sınırlıdır. Ortamda fiske edilebilir herhangi bir azot kaynağı yeterince varsa mikroorganizma enerjisini azot tespiti için harcamaz, çünkü bir molekül azotun 2 molekül amonyağa indirgenebilmesi için en az 12 mol ATP'ye ihtiyaç vardır (Karuç vd 1993).

Fosfor, protein sentezinde rol oynayan besin maddesidir. Baklagil bitkileri protein içeriği bakımından fazla fosfor içerdikleri için bu elemente olan gereksinimleri de daha fazladır. Fosfor, *Rhizobium* bakterisinin aktivitesini ve kök gelişimini artırarak nodül oluşumunun erken, daha büyük ve fazla sayıda olmasını sağlar. Fosforun toprakta yeter miktarda bulunması nodül sayısı ve büyüklüğünü olumlu yönde etkilemektedir (Ülgen 1975; Kızıloğlu 1995). Fosfor toprakta *Rhizobium* bakterisinin artması bakımından önem taşımaktadır. Her gram nudozitenin tespit etmiş olduğu azot miktarı ile taşıdığı fosfor miktarı arasında bir korelasyon bulunmaktadır (Hallsworth 1958; Ülgen 1975). Nichols (1965), yaptığı araştırmada yeterli miktardaki fosforun baklagil bitkisinin kök gelişmesini, nudozite sayısını ve ağırlığını olumlu yönde etkilediğini ifade etmiştir.

Toprakta potasyum ve kükürdün bulunmadığı durumda fazla miktarda bulunan azot pek fazla önem arz etmez ve baklagil bitkileri protein sentezi yapamazlar. Potasyum baklagil bitkisinin nodül sayısında etkili olmaktadır. Soya ile yapılan bazı denemelerde potasyumun nodül miktarını artırdığı, fosfor yeterli seviyede bulunmadığı taktirde nodül ağırlığının artmadığı, ancak potasyumun fosfor ile birlikte bulunduğu durumlarda azot tespitinde olumlu etkisinin olduğu belirlenmiştir (Ülgen 1975; Kızıloğlu 1995).

Kalsiyum toprak reaksiyonuna etki ederek, baklagil bitkilerinin gelişmesine, ortamda bulunan *Rhizobium* bakterilerinin çoğalma ve hayatını devam ettirmesine yardımcı olur. Toprakta kalsiyum iyonları bitkinin fosfor, bor, manganez ve molibden alımına yardımcı olurlar. Asit topraklarda kalsiyum nodül teşekkülüne, büyüklüğüne ve sayısına etki etmektedir (Ülgen 1975; Kızıloğlu 1995).

Baklagil bitkileri magnezyum bakımından hububatlardan daha zengindirler. Magnezyumun en önemli görevi klorofil molekülünün merkezinde yapı elementi olarak bulunmasıdır. Ayrıca Mg^{+2} fosforlaşma süreçlerinde kofaktör olarak, ATP ve ADP'nin pyrofosfat yapısı ile enzim molekülü arasında köprü oluşturarak katkıda bulunmaktadır. Yapılan bazı çalışmalar Mg eksikliğinde nodüllerin daha küçük ve azot tespitinin daha az olduğunu göstermiştir (Ülgen 1975; Kızıloğlu 1995).

Kükürt, protein yapısında bulunması sebebi ile azot metabolizmasında rol oynamaktadır. Kükürt ilavesi ile baklagil nodüllerinin büyük dallı ve pembe renkli olduğu, eksikliği halinde nodüllerin daha seyrek ve yeşilimsi renkte oldukları belirlenmiştir (Ülgen 1975).

Mikro besin elementleri

Mikro bitki besin elementlerinden demir, azot tespiti olayında rol oynaması, proteinlerin yapısında yer alması, nitrogenaz ve ferrodoksinin yapısında bulunması ve nitrogenaz ve hidrogenaz sistemlerinde katalizör olarak görev yapması bakımından önem arz etmektedir (Ülgen 1975; Anonymous 1984; Kızıloğlu 1995).

Molibden nitrogenaz enziminin yapısında bulunur ve azot bağlayan her bakteri fiksasyon boyunca molibdene ihtiyaç duyar. Molibden nitrogenaz ve nitrat redüktaz gibi iki önemli enzimin gerekli bileşenidirler. Molibden noksanlığı bulunan toprakta yetiştirilen bitkilerde nodül teşekkülü olmasına karşın nodüllerin azot tespit etmedikleri belirlenmiştir. Mangan noksanlığı bitkinin klorofil oluşumunu engellemektedir. Fosforilasyon olayını etkinleştirmede Mg^{+2} 'un yapmış olduğu işlevi bazen Mn^{+2} iyonu üstlenebilir. Böylece nodül oluşumunu ve azot fiksasyonunu artırır. Bor bitki için fazla gerekli değilse de kök ve nodül oluşumu için gereklidir. Borun protein ve pektin sentezinde ve karbonhidrat taşınmasında rol oynadığı ifade edilmektedir. Kobalt, B12 vitaminin genel bileşenidir. Kobalt, leghemoglobin sentezini denetleyen propionat oluşum yolunda gerekli olduğu düşünülen bir besin maddesidir. Bu besin maddesinin noksanlığında *Rhizobium* hücre şekillerinin bozulmasına ve hücre bölünme süreçlerine olumsuz etki yapmaktadır. Bakırın noksanlığında ise baklagil bitkilerinde klorofil miktarı azalma göstermekte ve azot metabolizması bozulmaktadır (Ülgen 1975; Çakmakçı 1987; Aydemir ve İnce 1988; Aydemir 1993; Kızıloğlu 1995).

2.2. Aşılama ile İlgili Çalışmalar

Simbiyotik azot fiksasyonunda *Rhizobium*-baklagil aşılması ve fasulye bitkisinde aşılama çalışmaları aşağıda ele alınmıştır.

2.2.1. Bakteri aşılması

Tarım bakımından önemli olan bazı baklagil bitkileri ile ortak yaşayan *Rhizobium* bakterileri arasında çapraz aşılama grupları mevcuttur (Çizelge 1.1).

Simbiyotik azot tespitinden sorumlu nitrogenaz enzimine sahip olan bakteriler, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* ve *Azorhizobium* cinslerine aittirler (Anonymous 1985). Ayrıca son zamanlarda yapılan DNA hibridizasyonu ve fizyolojik çalışmalarda *R. fredii* türünün yeni cins ismi ise *Sinorhizobium* olarak belirlenmiştir (Ayhan 1994). Bu nedenle belirli *Rhizobium* türleri belirli baklagil bitkilerini enfekte ederek nodül oluşumunu sağlamaktadır (Gaswami 1967). Zira nodülde indirgenmiş redoks potansiyelini muhafaza ederek azot tespitinde rol oynayan leghemoglobin proteinleri simbiyozla özeldir (Kızıloğlu ve Öztürk 1992).

2.2.2. Mercimek bitkisinde aşılama

Yemelik baklagiller arasında bulunan mercimek, nohut ve fasulye bitkisinden sonra gerek ekini alanı açısından, gerekse ürün miktarı bakımından ikinci sırayı almaktadır (Akçin 1981).

Mercimek bitkisi kireçli veya alkali topraklarda daha iyi gelişim gösterirler. Bilhassa kireçli volkanik toprakları çok severler. Toprak yapısı olarak tınlı-kumlu veya kumlu tınlı topraklar mercimek için en uygun olan topraklardır. İklim istekleri bakımından hassas bitki olan mercimek 4-5 °C'de çimlenme gösterir. Optimum sıcaklık istekleri 30°C'dir (Akçin 1981).

Çizelge 1.1. *Rhizobium* türleri ve etkili oldukları baklagil bitkileri (Beck *et al.* 1993 ve Ayhan 1994)

Cins	Türler		Konukçu Bitki
	Önceki isimlendirme	Son İsimlendirme	
<i>Azorhizobium</i>	<i>Rhizobium japonicum</i>	<i>Azorhizobium caulinodas</i>	Sesbania (Sesbanya)
<i>Bradyrhizobium</i> (Yavaş gelişenler)	<i>R. japonicum</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Glycine (Soya fasulyesi) Vigna (Borülce)
		<i>B. lupini</i>	Lupinus (Aci bakia) Lotus (Gazal boynuzu) Ornitophus
		<i>B. parasponiae</i>	Parasponiae, Vigna (Börülce)
		<i>Bradyrhizobium sp</i>	Cicer (Nohut), Acacia, Ornitophus Sesbania (Sesbanya)
<i>Rhizobium</i> (Hızlı gelişenler)	<i>R. japonicum</i>	<i>R. fredii</i> (<i>Sinorhizobium fredii</i>)	Glycine (Soya fasulyesi) Vigna (Borülce)
		<i>R. galegae</i>	Galega
	<i>R. viciae</i>	<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>	Phaseolus (Fasulye)
	<i>R. trifoli</i>	<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>trifolii</i>	Triticum (Tirfil)
	<i>R. lotii</i>	<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>	Pisum (Bezelye), Lens (Mercimek) Lathyrus (Tatli bezelye) Vicia (Bakia)
		<i>R. loti</i>	Lotus Gazal boynuzu) Lupinus (Aci bakia) Cicer (Mercimek)
		<i>R. meliloti</i>	Melilotus (Yonca) Medicago (Tas yoncası) Trigonella
	<i>R. leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>	<i>R. tropici</i>	Phaseolus (Fasulye) Leucaena
		<i>Rhizobium sp.</i> İzolati NGN234	Leucaena, Macroptilium Vigna (Borülce)
<i>Sinorhizobium</i>	<i>R. fredii</i>	<i>S. fredii</i>	Glycine (Soya fasulyesi) Vigna (Borülce)

Bir baklagil bitkisi olan mercimek *R. leguminosarum* bakterileri ile ortak yaşamı sonucu köklerinde atmosferin serbest azotunu tespit eden nodüller oluşturmaktadır. Tespit edilen azotun ekonomik değeri kazanması azot tespit etme yeteneği yüksek olan etkili

izolatların toprakla bulunmaları ile gerçekleşmektedir (Akçin 1981) Gürbüz (1980), Orta Anadolu koşullarında yaptığı sera ve tarla denemelerinde mercimek için yüksek azot tespit etme yeteneği gösteren 9 *R. leguminosarum* izolatını izole etmiş ve bu izolatların 5 günlük inkübasyonundan sonra aşılama neticesinde ürün veriminin dekara 4 kg azotlu gübreleme ile aynı düzeyde olduğunu belirlemiştir.

Patel and Sanoria (1982), mercimek bitkilerinin tohumlarını *R. leguminosarum* izolatları ile aşılamışlar ve bitkide nodul sayısının ve nodul kum ağırlığının önemli derecede artış gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Rennie and Dübetz (1986), mercimek bitkilerinin tohumlarına *R. leguminosarum* izolatları ile yaptıkları aşılama çalışmasında kontrol bitkisine oranla aşılamının yapıldığı bitkilerin tespit ettikleri azot miktarının önemli derecede artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Bremmer *et al.* (1990), yaptıkları çalışmada mercimek bitkisinin ürün veriminde yüksek derecede etkinliğe sahip olan 14 izolat büyüme odası koşullarında ve tarla koşullarında denemelere tabi tutmuşlar ve mercimek veriminin büyüme odasından elde edilen verime oranla tarla şartlarında % 135 oranında artış gösterdiğini, büyüme odasında yetiştirilen mercimek bitkilerinin toplam ağırlığı ve azot miktarlarının tarla koşullarında yetiştirilenlere göre daha düşük oranda olduklarını tespit etmişlerdir. Mercimek bitkisi için izole edilen toplam 209 *R. leguminosarum* izolatının etkinliğinin tespiti için yapılan bir çalışmada, kontrollü şartlar altında nodul sayısında, toplam bitki ağırlığında ve azot miktarında önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Etkinliği en yüksek olan 15 tür tarla şartlarına uygulanmış ve buradaki verim artışının kontrole nazaran % 135 olduğu tespit edilmiştir.

Kızıloğlu (1992), Erzurum koşullarında yeşil mercimek bitkisinin etkili *R. leguminosarum* izolatlarının belirlenmesi için yaptığı çalışmada bakteri kültürü olarak 16 farklı bakteri izolatını (M1, M3, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, F2, F4, T5, F7, M90, M2426) kullanarak verim üzerine etkilerini araştırmış ve

sonuçta kuru madde miktarı artışı bakımından M2426, M11, M12 ve F15 izolatlarının daha fazla etkili olduğunu, bu verim değerinin 70 ppm azot gübrelemesine eşdeğer olduğunu, toplam azot içeriğini artırmada ise en iyi etkiyi Fİ 5 izolatının gösterdiğini ifade etmiştir. Sonuç olarak azot tespit etme yeteneği ve kuru madde miktarı bakımından F15, M2426 izolatlarının en fazla etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Hindistan'da mercimek üzerine yapılan çalışmada dekara 5 kg N gübre uygulanması sonucu bitkinin kök kuru madde miktarının, bitkilerde nodul sayısının ve alınan dane ürün miktarının artış gösterdiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada dekara 2.5 kg N/da gübre uygulanmasının ve tohumların *Rhizohium* bakterileri ile aşılmasının ürün miktarını etkilemediği belirlenmiştir (Chowdhury *et al.* 1976; Gürbüzer 1980).

Değişik izolatlarla yapılan tohum aşılması çalışmalarında tınlı-kumlu toprakta dane veriminin % 23-32, kumlu-tınlı toprakta ise % 46-90 oranında artış sağladığı tespit edilmiştir. Dekara verilen 2.5 kg N, aşılama ile aynı seviyede ürün artışı sağlamıştır. Her iki toprakta da en fazla ürün dekara 2 kg N tohumlara azot uygulamasından elde edilmiştir (Sekhon *et al.* 1986).

Mercimek bitkisi ile 3 ayrı sera denemesinde yapılan aşılama çalışmasında 99 yerli, 24 yabancı orijinli izolat kullanılmış ve bu izolatlardan 13 tanesinin bitki kuru madde miktarının arttırdığı, 9 izolatın da toplam azot içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir (Gürbüzer 1980).

Subba Rao (1976), mercimek bitkisinin ekim zamanı, fosforlu gübre ihtiyacı, herbisit uygulaması ve bakteri aşılmasının verim üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, fosforlu gübre ve bakteri aşılmasının nodülasyonu ve verimi arttırdığını, herbisitlerin bakterinin çalışması üzerine önemli etkide bulunmadığını ifade etmişlerdir.

Kabi and Behari (1990), Hindistan'da 5 ayrı yerde yürütülen mercimek ve nohut aşılama çalışmalarında aşılamanın mercimekte nodul sayısına, dane verimine ve bitki ağırlığına olumlu etkisinin olduğunu saptamışlardır.

Kumar and Agarwal (1993), Hindistan'da mercimek üzerine yaptıkları aşılama çalışmasında azot ve fosforlu gübrelemenin aşılamaadan daha etkin olmadığını, aşılamanın verimi daha fazla artırdığını ifade etmişlerdir.

Kantar vd. (1994), yaptıkları bir çalışmada *R. leguminosarum* izolatlarınm 5 günlük inkübasyona tutulan kültürleri ile aşılama yapılmasının, kırmızı 51 mercimek çeşidinin ürün veriminin aşılama, 2 kg N/da azot eşdeğeri gübre uygulaması ve aşılama + 2 kg N/da azot uygulamasında sırası ile % 6, % 12 ve % 4 oranında verimde artış sağladığını ifade etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, 8 adet *R. leguminosarum* izolatmdan F15 izolatının en yüksek ürün verimi ve M9, M i l , M13 ve M90 izolatlarınm ise en yüksek protein içeriği sağladığı sonucuna varılmıştır.

Patel and Şanona (1982), bezelye ve mercimek bitkilerinin tohumlarını farklı *R. leguminosarum* izolatları ile aşilayarak çeşitli büyüme parametrelerini incelemişler ve sonuçta aşılamanın nodul sayısı ve bitki kuru ağırlığı üzerinde etkili olmadığı halde nodul kuru alırlığı üzerinde önemli derecede etkili olduğunu bulmuşlardır.

Rennie and Dubet (1986), Kanada'da yapmış oldukları bir çalışmada *R. Leguminosarum* kültürleri ile aşılادıkları mercimek bitkisinde kontrole göre aşılı bitkilerin tesbit ettikleri azot miktarında artışlar olduğunu tespit etmişlerdir.

Mallik and Sanoira (1980), yapmış oldukları saksı ve tarla denemelerinde bezelye bitkisinden elde edilen 6, mürdümük (*Lathyrus sativus*) bitkisinden elde edilen 4 ve mercimek (*Lens esculenia*) bitkisinden elde edilen 3 *R. leguminosarum* izolatları ile tohumu aşılamanın mercimekte nodul sayısı ve ürün veriminde artışlara yol açtığını kaydetmişlerdir.

Elazığ yöresinde mercimek bitkilerinin kök nodüllerinden elde edilen *Rhizobium* bakterilerinin mercimek bitkisine aşılınması ile bakterilerin riödü oluşturma durumları ve simbiyotik etkinlik dereceleri tespit edilmiş ve izole edilen 19 izolatın 18 izolatın etkisinin orta derecede etkili ve 1 izolatın ise etkisiz olduğu bulunmuştur (Sarıoğlu vd. 1993).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Denemede materyal olarak toprak örneği, tohum, saksı, mikrobiyal ve kimyasal gübre kullanılmıştır. Deneme iki kısım halinde yürütülecektir. Bu sebeple mercimek bitkisi için aşılı + azotsuz ve aşısız + azotlu uygulamalar yapılacaktır.

Faktöriyel Deneme Planına göre yürütülen sera denemesinde mercimek bitkisi için aşısız uygulama olarak 5 farklı azot dozu (0.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10.0 kg N/da), aşılı uygulama olarak 3 ayrı *Rhizobium* bakterisi ve her bakteri cinsine ait 5 farklı kültür yaşı (1, 3, 5, 7 ve 9 günlük) içeren kültür materyalleri kullanılmış ve deneme 3 yinelemeli olmak üzere $4 \times 5 \times 3 = 60$ saksıda yürütülmüştür (Yıldız ve Bircan, 1991).

3.1.1. Denemenin yürütüldüğü alanın genel özellikleri

Denemeye materyal teşkil eden toprak örneklerinin alındığı yer ve bu bölgeye ait iklim özellikleri aşağıda verilmiştir.

3.1.1.1. Toprak örneğinin alındığı yer

Deneme, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Araştırma ve Yayım Müdürlüğüne ait 4 Nolu deneme sahasında arazilerin 0-20 cm derinliğinden alınan toprak örnekleri üzerinde yürütülmüştür.

3.1.1.2. İklim özellikleri

Erzurum Ovası, Türkiye'nin kuzey doğusunda $39^{\circ}55'$ kuzey enlem ve $41^{\circ}16'$ doğu boylam dereceleri arasında yer alan, karasal iklimin hakim sürdüğü, deniz seviyesinden yüksekliği 1950m olan bir ovadır. Kış mevsimi oldukça uzun ve soğuk, yaz ayları ise

serin ve kurak geçmektedir. Gece ile gündüz ve mevsimler arasındaki sıcaklık farkı oldukça fazladır. Denememin yürütüldüğü 2000 ve 2001 yılları ile 73 yıllık bazı önemli meteorolojik veriler Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneme sahasının 2007 ve 2008 yılları ile 73 yıllık toplam yağış, ortalama sıcaklık ve nispi nem değerleri (Anonim 2008)

AYLAR	0	Ş	M	N	M	H	T	A	E	EK	K	A	TOPLAM
Yıllar	Aylık Yağış Toplamı, mm												
2007	18.8	21.7	61.3	34.9	42.0	9.7	4.0	4.7	40.7	42.0	1,6	23.8	345
2008	4.9	11.9	51.1	104.9	68.7	7.3	36.6	9.2	3.8	51.2	39.6	35.1	424.3
Ort.*	25.6	30.4	36.4	53.8	74.1	52.7	29.1	18.9	25.1	44.4	36	22.95	447.6
Yıllar	Aylık Ortalama Sıcaklık (°C)												
2007	-7.9	-11.3	-7,6	7.4	9.8	15.5	22.3	19.3	14.4	7.0	1.2	-5.9	5.4
2008	-	-5.7	4.4	7.2	9.3	15.4	20.6	19.9	14.3	6.2	-2.6	-5.1	5.9
Ort.*	-8.3	-6.9	-2.7	5.3	10.8	15.4	19.2	19.5	14.9	8.4	1.6	-5.0	6.0
Yıllar	Aylık Ortalama Nispi Nem (%)												
2007	71.3	73.6	73.4	64.8	57.9	47.8	36.7	43.4	47.4	67.0	64.2	79.0	60.6
2008	80.6	71.9	65.0	65.4	51.0	48,1	46.2	44.1	42.0	60.1	71.5	80.4	60.5
Ort.*	76.3	75.35	73.8	64.9	60.9	56.6	49.9	46.7	49.2	60.7	71.3	75.4	63.6

Çizelge 3.1.'den görüldüğü gibi 73 yıllık verilere göre aylık ortalama yağış en fazla Mayıs (74.1mm), en az Ağustos (18.9mm) ayında düşmektedir. Araştırmanın yürütüldüğü 2000 ve 20001 yıllarında yıllık yağış toplamı sırası ile 345 ve 424.3mm olmuştur. 2000 yılında, 73 yıllık ortalama yağış verilerine göre 102.6mm, 2001 yılında ise 233mm daha az yağış düşmüştür.

3.1.1.3. Toprak özellikleri

Araştırmanın yürütüldüğü, Atatürk Üniversitesi Tarım işletmesi arazisi büyük toprak grubu olarak zonal topraklardan kestane renkli toprak grubuna girmekte ve tamamen alluviyal karakterdedir (Oakes 1958). Karasu civarındaki organik topraklar hariç, arazinin büyük kısmının toprağı Halosen genç allüviyonlardan oluşmaktadır. Alluviyal materyalin bileşimi; aglomera, bazalt, volkanik tuf, konglomera ve kireç taşının parçalanma ayrışma ürünlerini içermektedir (Atalay 1978).

3.1.2. Tohum

Denemede Erzurum Bölgesine adapte olmuş, ürün verimi yüksek tescilli yeşil mercimek bitkisi olarak Erzurum 89 çeşidi tohumları kullanılmıştır. Bu tohumlar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilmiştir.

3.1.3. Saksı

Denemede, 19x17 ebatlarında polietilen siyah saksılar kullanılmıştır.

3.1.4. Aşılama materyali

Denemede mercimek bitkisi için *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* F15, M9, M2426 izolatları Ankara Toprak Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilerek aşılama kullanılmıştır.

Mikrobiyal gübre olarak en yüksek azot fiske etme yeteneğine sahip, değişik *Rhizobium* izolatlarının 5 farklı kültür yaşını (1, 3, 5, 7 ve 9 günlük) içeren kültür materyalleri kullanılmıştır.

3.1.5. Gübre

Steril toprak örnekleri saksılara konulmadan önce P ve K miktarları belirlenerek, tesis gübresi olarak ilave edilecek olan P ve K'lu gübrelerden gelenlerle birlikte dekara 6 kg P_2O_5 (0.130 g TSP/2 kg toprak) ve 5 kg K_2O /da (0.10 g K_2SO_4 /2 kg toprak) olacak şekilde her bir saksıya uygulanacak miktar belirlenmiştir. Denemede kullanılan topraklar için fosfor kaynağı olarak %46'lık Triple Süper Fosfat ve potasyum kaynağı olarak %50'lik Potasyum Sülfat ve sadece azotlu uygulamalara %43'lük Üre gübresi kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Denemeye ilişkin yöntemler, toprak analiz yöntemleri, bitki analiz yöntemleri, hasad, deneme planı ve istatistiksel analiz yöntemleri başlıkları altında ele alınmıştır.

3.2.1. Toprak örneklerinin analize hazırlanması

Denemede kullanılan toprak örnekleri laboratuara getirilip havada kurutulduktan sonra 2mm'lik elekten geçirilmiştir. Plastik kaplarda muhafaza edilen toprak örnekleri üzerinde kimyasal, fiziksel ve biyolojik analizler yapılmıştır. Saksılara ise 4mm'den geçirilmiş ve 121°C'de steril edilmiş toprak örnekleri konulmuştur.

3.2.2. Toprak analiz yöntemleri

Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde konu ile ilişkisi olabileceği düşünülen toprakların bazı fiziksel ve kimyasal analizleri aşağıda ana başlıklar altında ele alınmıştır.

3.2.2.a. Toprak reaksiyonu

Toprakların pH'ları 1:2.5'luk toprak-su oranında cam elektrotlu Beckman pH metresi ile ölçülmüştür (Handershot *et al.* 1993).

3.2.2.b. Kireç miktarı

Toprakların kireç içerikleri Scheibler Klasimetresi ile volümetrik olarak saptanmıştır (Goh *et al.* 1993).

3.2.2.c. Organik madde

Toprakların organik maddeleri Smith-Weldon yöntemiyle belirlenmiştir (Tiessen and Moir 1993).

3.2.2.d. Katyon değişim kapasitesi (KDK)

Katyon değişim kapasiteleri, toprak örneklerinin sodyum asetatla (1 N, pH=8.2) sodyum adsorbsiyonu sağlandıktan sonra, amonyum asetatla (1 N, pH=7.0) ekstrakstrakte edilen solusyonlarında atomik absorbsiyon spektrofotometresinde sodyum okuması yapılarak saptanmıştır (Rhoades 1982).

3.2.2.e. Değişebilir K ve Na

Toprakların değişebilir K ve Na katyonları, amonyum asetatla (1 N, pH=7.0) çalkalanıp ekstrakte edildikten sonra alev fotometresinde okunarak belirlenmiştir (Knudsen *et al.* 1982).

3.2.2.f. Değişebilir Ca + Mg

Toprakların değişebilir Ca+Mg katyonları EDTA (Etilendiamin tetraasetikası) yöntemiyle titrasyonla tesbit edilmiştir (Lanyon and Heath 1982).

3.2.2.g. Elverişli fosfor

Toprakların fosfor içerikleri molibdofosforik mavi renk yöntemine göre spektrofotometrede okunarak belirlenmiştir (Olsen and Sommers 1982).

3.2.2.h. Mikro elementler (Fe, Mn, Zn, Cu ve Mo)

Elverişli Fe, Mn, Zn ve Cu miktarları DTPA (dietilentriamin pentaasetikasit) yöntemine göre ekstrakte edilen süzüklerde atomik absorbsiyon spektrofotometresinde okunmak suretiyle belirlenmiştir (Sağlam 1994; Aydın ve Sezen 1995).

3.2.2.i. Toplam azot

Toprak örneklerinin azot içeriğı, Kjheldahl yöntemiyle belirlenmiştir (Mc Gill and Figueiredo 1993).

3.2.2.j. NH₄-azotu ve NO₃-azotu

Toprak örneklerinin NH₄⁺ ve NO₃⁻ azot içerikleri, toprak ekstraktlarında MgO – Dewarda alloy buhar damıtma yöntemiyle belirlenmiştir (Kneeney and Nelson 1982).

3.2.2.k. Elektrik iletkenlik

Toprakların elektriki iletkenlikleri hazırlanan saturasyon macunlarından elde edilen ekstraksiyon çözeltilerinde elektriki kondüktivite aleti ile mmhos/cm olarak belirlenmiştir (Demiralay 1993).

3.2.2.l. Tarla kapasitesi ve solma noktası

Toprakta tarla kapasitesi ve solma noktası, basınçlı tabla yöntemi ile belirlenmiştir (Cassel and Nielsen 1986).

3.2.2.m. Toprak tekstürü

Deneme toprağının kum, silt ve kil içerikleri, Bouyoucus Hidrometre yöntemiyle, tekstür sınıfı ise tekstür üçgeninde belirlenmiştir (Gee and Bauder 1986).

3.2.2. Bitki analiz yöntemleri

Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde konu ile ilişkisi olabileceği düşünülen bitkilerin bazı analizleri aşağıda ana başlıklar altında ele alınmıştır.

3.2.2.a. Bitki kuru madde miktarı

Fasulye ve mercimek bitkilerinin hasat edilmesinden sonra fırında 65 °C’de kurutularak, kök, gövde ve yaprak kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Kacar 1972).

3.2.2.b. Bitkide nodül sayısı ve nodül kuru ağırlığı

Bitkiler hasat edildikten sonra yıkanacak ve topraktan temizlenen kökler üzerinde bulunan nodüllerin, kurutulmadan yaş iken bitki başına nodül sayısı ve fırında 60 °C’de kurutulduktan sonra nodül kuru ağırlığı tartılarak belirlenmiştir (Kacar 1972).

3.2.2.c. Bitkide toplam azot

Bitki örneklerinin azot içeriği salisilik-sülfürik asit karışımı ile yaş yakmaya tabi tutulduktan sonra mikrokjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir (Bayraklı 1987).

3.2.2.d. Simbiyotik etkinlik

Rhizobium bakterilerinin simbiyotik etkinliği, bakteri aşılı bitkinin azot içeriğinin, azotlu kontrol bitkisinin azot içeriğine oranlanması ile hesaplanmıştır (Haktanır 1986).

$$\text{Simbiyotik Etkinlik (\%)} = \frac{\text{Test Bitkisinin Ortalama Azot İçeriği}}{\text{Azotlu Kontrol Bitkisinin Ortalama Azot İçeriği}} \times 100$$

Simbiyotik özelliklerin (nodül oluşumu ve N₂-Tespiti) bir göstergesi olan simbiyotik etkinlik kantitatif bir terim olup, nodül oluşturan bitkilerin azot tesbitinin sadece azot uygulaması yapılan bitkilerin azot tespiti ile karşılaştırılabilen değeridir (Beck *et al.* 1993; Prevost *et al.* 1987; Ayhan 1995).

Bazı araştırmacılar simbiyotik etkinlik derecesini sınırlandırmışlardır. Bu sınırlara göre simbiyotik etkinlik derecesi 50'den düşük olduğunda etkisiz, 50-75 arasında olduğunda orta derecede etkili, 75 ve daha yukarı olduğunda ise yüksek derecede etkili sınıfına girmektedirler (Prevost *et al.* 1987; Beck *et al.* 1993; Kızıloğlu ve Bilen 1997).

3.2.3. Biyolojik yöntemler

3.2.3.a. Aşılama materyalinin hazırlanması

Denemede aşılama materyali için kullanılacak bakteri kültürleri, mercimek bitkisi için F15, M9, M2426 izolatları Yeast Extract Mannitol Agar (YMA) katı besiyerine aktarılıp, inkübatörde 28 °C'de 5 gün inkübe edilerek hazırlanacaktır. YMA üzerinde gelişen bakteri kültürlerinin 9, 7, 5, 3 ve 1 günlük yaşlarının elde edilmesi için ekimin yapılacağı günden 9 gün öncesinden ekim yapılacaktır. Bu 9 günlük ekim işlemi olup bundan 2 gün sonra 7 günlük ve bunları sırası ile 2'er gün arayla 5, 3 ve 1 günlük ekimler izlemiştir (Gürgün ve Halkman 1988).

3.2.3.b. Aşılama materyalindeki bakteri sayısının tespiti

Hazırlanan aşılama materyalinin 1 ml'sindeki bakteri sayımı Dilisyon metoduna (Gürgün ve Halkman, 1988; Kızıloğlu ve Bilen, 1997) göre yapılacaktır. Bunun için 9 ml steril Fizyolojik Tuzlu Su (FTS: % 0.85 NaCl içeren damıtık su) bulunan 6 adet tüplerden birincisine bakteri solüsyonundan 1 ml aktararak çalkalanacak ve 10^{-1} 'lik dilisyon elde edilecektir. Bu dilisyonndan ikinci tüpe 1 ml aktararak 10^{-2} 'lik dilisyon, ve bu şekilde aynı işlemin tekrarlanması sonucu 10^{-6} 'ya kadar dilisyon serileri hazırlanmıştır.

Son üç dilisyonndan (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) steril pipetlerle 0,01ml alınarak Breed metoduna göre mikroskopik sayım yapılmıştır. Bu amaçla, 0,01ml'lik örnek, üzerinde 1cm^2 'lik alan işaretli bulunan lam üzerine konulmuş, steril platin iğne ile ince bir film tabakası haline, 1cm^2 'lik alanın dışına taşmayacak şekilde yayılmış ve havada kurutulmuştur. Ateşte fiske edilen preparat uygun bir boya ile boyandıktan sonra, fazla boya saf ve steril su ile yıkanarak uzaklaştırılmış ve kurutma kağıdı ile 1cm^2 'lik alanın dış kısmı kurulanmıştır. Bu işleminden sonra ışık mikroskopunda imersiyon objektifi ile mikroorganizma sayımı yapılmıştır (Leloğlu 1973; Gürgün ve Halkman 1988). Bulunan bakteri sayıları aşağıdaki formülde hesaplama yapılarak 1ml'deki bakteri sayısı tespit edilmiştir.

$$\text{MO Sayısı} = \text{Farklı Görüş Sahasındaki Bakteri Ortalaması} \times \text{MF} \times 100$$

(hücre/ml)

$$\text{Mikroskop Faktörü (MF)} = \frac{\text{Lam Üzerindeki Bölgenin Alanı (mm}^2\text{)}}{\text{Mikroskop Görüş Alanı (mm}^2\text{)}}$$

Elde edilen 1, 3, 5, 7 ve 9 günlük bakteri sayıları ile günler arasındaki grafik çizimi yapılmış ve her bir *Rhizobium* bakterisine ilişkin zaman grafiği elde edilmiştir. Bu

grafik bakterinin yaşam eğrisinin bir göstergesi olup, 1-9 gün aralığında bakteri sayısının değişimini göstermiştir.

3.2.3.c. Aşılamanın yapılması

Bir günlük kültürün ekiminin yapılmasından sonra ertesi gün saksılara 2-3cm boyuna gelmiş, çimlendirilmiş genç fidelerin ekimi ve aynı gün bakteri aşılması yapılmıştır. Ekimin yapıldığı gün petri kutularında bulunan farklı yaşlardaki bakteri kültürleri steril spatul ile YMA katı besiyerinin üzerinden alınmış ve kültürler %0.85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su (FTS) bulunan erlenmayerlere aktarılmışlardır (Vincent 1970; Ülgen 1975; Kızıloğlu 1995).

Aşılama materyallerinin bakteri sayılarının eşit sayıda olması için spektrofotometrede dalga boyuna ait absorbans ölçümü yapılmıştır. Eşit sayıda bakteri solüsyonu elde etmek için en düşük sayıda bakteri sayısına sahip 1 günlük kültür baz alınmış ve aynı absorbans değerine gelinceye kadar steril FTS ile diğer bakteri solüsyonları sulandırma yoluna gidilmiştir (Somasegaran and Hoben 1985; Saygılı 1995). Hazırlanan 30 aşılama materyalinden fide başına 1 ml olacak şekilde fidelerin kök bölgesindeki toprak yüzeyine steril enjektör ile aşılama yapılmıştır.

3.2.3.d. Tohumların sterilizasyonu

Deneme bitkisi olarak Erzurum 89 mercimek tohumları %5'lik H_2O_2 içerisinde 20 dakika bekletilerek sterilizasyonu sağlanacak daha sonra steril saf su ile 4-5 kez yıkanmıştır (Kızıloğlu ve Bilen 1997).

3.2.3.e. Denemenin kurulması ve ekimin yapılması

Toprak örneklerinin konulacağı saksılar deterjanlı su ile yıkandıktan sonra alkolden geçirilmiştir. Saksıların taban kısımlarına steril edilmiş, saksı tabanı ebatlarında

kesilmiş uygun büyüklükte kurutma kâğıdı konulmuştur. Bunun üzerine 8-10 mm çaplarında elenerek steril edilmiş çakıl taşları ilave edilmiştir. Otoklavda 121°C'de 20 dakika steril edilmiş 2 kg toprak tartılarak saksılara konulmuştur. Steril edilmeden önce toprak örneklerinin P ve K miktarları belirlenmiş, tesis gübresi olarak ilave edilecek olana P ve K'lu gübrelerden gelenlerle birlikte dekara 6 kg P₂O₅/da (0.130g TSP/2kg toprak) ve 5 kg K₂O/da (0.10g K₂SO₄/2kg toprak) olacak şekilde her bir saksıya gübre ilavesi yapılmış, homojen bir şekilde karıştırılmış ve steril saksılara konulmuştur. Sadece azotlu uygulamalara Üre gübresinin 0.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10kg N/da dozları kullanılmıştır. Uygulanan azotlu gübredeki azot kaybını en aza indirmek için gübrenin ilk yarısı ekimle birlikte, diğer yarısı ise gelişme döneminde sulama suyuna katılarak verilmiştir (Günay 1984).

Steril tohumlar saksılara ekilmeden önce, içerisinde alt kısmında pamuk bulunan petri kutuları içerisine konulacak, üst kısmı tekrar pamukla kapatılmıştır.. Tohumlar bu şekli ile steril FTS ile sulandırılıp, inkübatör içerisinde karanlıkta 5-7 günde çimlendirilmişlerdir. Daha sonra steril baget ile topraklarda çukurlar açılıp, açılan çukurlara steril pensle tutulan çimlenmiş tohumlar konularak etrafı toprakla kapatılmıştır. Her bir saksıya 3-5 fide ekimi yapılmıştır. Ekimi bitirilen saksıların üstleri herhangi bir bulaşmayı önlemek için steril folya kâğıdı kapatılmıştır.

Fideler, 3-4 cm olunca üzerlerindeki folya kâğıtları kaldırılmış, bitkilerin seyreltmesi yapılmıştır. Saksıda en sağlıklı olan fide hariç, diğerleri elle söküm yapılarak seyreltilmiştir. Bu işlemi takiben toprakların herhangi bir şekilde bulaşmaya maruz kalmaması için toprak yüzeyine steril edilmiş 4-8 mm çapındaki çakıllar 2-3 cm yüksekliğinde bitki etrafına serilmiştir.

3.2.4. Hasat

Laboratuarda çimlendirildikten sonra saksılara ekimi yapılan mercimek bitkisinin yaklaşık 50 gün sonra, çiçeklenme başlangıcında hasadı yapılmıştır. Hasat yapılırken bitkilerin yaprak kısımları, sonra gövde kısımları ve daha sonra da kök kısımları

ayrılmıştır. Bunun için yapraklar elle kopartılarak toplanmış, gövde kısımları ise yapraklar toplandıktan sonra toprak yüzeyinin üst kısmından kesilerek ayrılmıştır. Kök kısımları ise saksı toprağı ile beraber çıkarılmış ve saf su dolu kovalar içerisine daldırılarak topraklardan temizlenmiştir. Bitkilerin kök kısımlarının ayrımı yapılmadan önce saksı topraklarından bir miktar örnek alınarak plastik poşetlere konulmuştur. Bitkilerin kök, gövde ve yaprak kısımları serada kuruduktan sonra kuru madde miktarları bulunmuş, daha sonra kâğıt torbalara konulmuştur. Ayrıca bitkilerin köklerinde bulunan nodüller tespit edilerek nodül sayısı ve nodül kuru madde miktarları belirlenmiştir. Bitkiye ait kök, gövde ve yaprak kısımları ile bunlara ait toprak örnekleri laboratuara getirilmiş ve gerekli analizler yapılmıştır.

3.2.5. İstatistiksel analiz yöntemleri

Denemeden elde edilen analiz sonuçları, Statistika programı kullanılarak varyans analizi, Duncan çoklu karşılaştırma testlerine tabi tutulmuştur.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Denemede kullanılan toprak örneğinin, fasulye bitkilerin ve aşılama materyalinin bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik analiz sonuçları, aşağıda ele alınmıştır.

4.1. Araştırma Konusu Toprak Örneğinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Buna göre toprak örneğinin pH’sı nötr, organik maddesi az, tuz seviyesi tuzsuz, kireç yönünden az kireçli, elverişli fosfor bakımından az, yarayışlı potasyum bakımından yeterli (Ülgen ve Yurtsever 1995), toplam azot bakımından düşük, Ca ve Mg bakımından yeterli, Fe içeriği yönünden orta, Mn, Zn ve Cu içeriği yönünden yeterli sınıfına girmektedir. Tekstür sınıfı olarak tın sınıfına girmektedirler (Anonymous 1980; FAO 1990; Tovep 1991).

Çizelge 4.1. Deneme konusu toprak örneğine ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler

Özellik		Deger
pH (1:2.5)		7,35
Organik Madde (%)		1,27
Kireç, CaCO ₃ (%)		1,04
Toplam N (%)		0,17
Elverişli P (P ₂ O ₅ kg da)		4,45
Değişebilir Katyonlar (me/100g)	Ca	19,47
	Mg	6,31
	K	2,77
	Na	0,41
Mikroelementler (ppm)	Fe	7,86
	Cu	1,64
	Zn	1,29
	Mn	11,9
	Mo	0,24
K.D.K.(me/100g)		31,63
EC (dS/m)		0,5 x 10 ³
Toplam Tuz (%)		0,017

Tarla Kapasitesi (%)		27,4	
Solma Noktası (%)		15,6	
Tane Büyüklük Dağılımı (%)	Kum	Silt	Kil
	43	35	22
Tekstür Sınıfı	Tın		

Çizelge 4.1'den görüldüğü gibi toprak örneğinin, pH, organik madde, kireç, değişebilir katyonlar, mikro elementler, tarla kapasitesi, solma noktası ve tektür sınıfı ölçütleri *Rhizobium* bakterisinin gelişim gösterebileceği sınırlar içerisinde yer almaktadır. Topraklarda eksikliği belirlenen toplam azot ve elverişli fosfor içerikleri de belli bir seviyeye getirilmiş, *Rhizobium* bakterisinin optimum gelişimi için uygun olabilecek ortam oluşturulmuştur.

4.2. Aşılama Materyalindeki Bakteri Sayımı

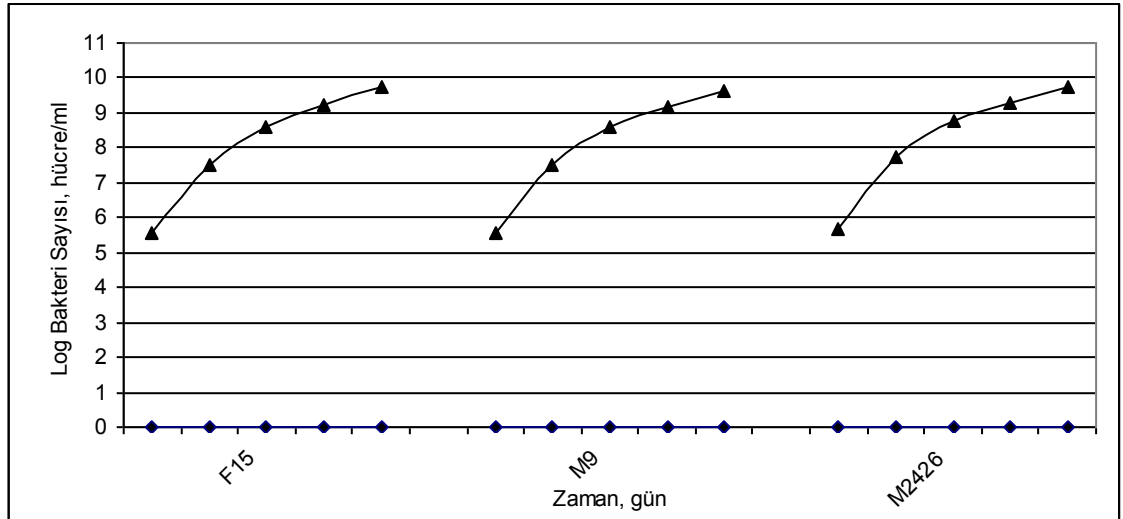
Aşılamada kullanılan mercimek bitkisi için üç farklı *Rhizobium* bakterilerinin 1, 3, 5, 7 ve 9 günlük kültürlerinin elde edilmesinden sonra bu kültürlerde bakteri sayımı yapılmıştır. Elde edilen bakteri sayımı Çizelge 4.2'de ve bu bakterilere ait zaman grafiği Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Aşılama materyalindeki bakteri sayımı

Bakteri	Gün	1 ml'deki MO say. (hücre/ml)	Log
F15	1 Gün	$4,8 \times 10^5$	5,68
	3 Gün	$4,3 \times 10^7$	7,63
	5 Gün	$4,6 \times 10^8$	8,66
	7 Gün	$1,2 \times 10^9$	9,08
	9 Gün	$2,7 \times 10^9$	9,43
Ort.		$8,8 \times 10^8$	8,10
M9	1 Gün	$3,8 \times 10^5$	5,58
	3 Gün	$3,4 \times 10^7$	7,53
	5 Gün	$3,1 \times 10^8$	8,49
	7 Gün	$1,0 \times 10^9$	9,00
	9 Gün	$2,2 \times 10^9$	9,34
Ort.		$7,08 \times 10^8$	7,99

	1 Gün	$6,5 \times 10^5$	5,81
	3 Gün	$8,3 \times 10^7$	7,92
M2426	5 Gün	$5,8 \times 10^8$	8,76
	7 Gün	$1,5 \times 10^9$	9,18
	9 Gün	$3,3 \times 10^9$	9,52
Ort.		$1,09 \times 10^8$	8,24

Bakteri sayılarının logaritması ile bakteri yaşı arasında değerler kullanılarak her bakteri için zaman grafiği çizilmiştir (Şekil 4.1.). Şekillerden de görüleceği üzere bakteri sayısı yaşı artmasına bağlı olarak azalan oranlarda artış göstermiş ve en yüksek bakteri sayısı 9 günlük kültürlerden elde edilmiştir.



Şekil 4.1. Fasulye aşılamaında kullanılan 3 farklı *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* F15, M9, M2426 izolatlarının zaman grafiği

Nodozite bakteri izolatlarının 10 günlük periyot içerisinde 28°C 'de üretilmesi ile rhizobia sayılarının ve maksimum üreme periyotlarının yonca, fiğ ve korunga kültürlerinde 4 ve 5.günlerde, soya kültürlerinde ise 5 ve 7.günlerde maksimum seviyeye geldiğini, hazırlanan kültürlerde maksimum bakteri sayısının bir gramında 10^8 bakteri, olgunlaştırılan kültürlerde ise 2-8 kat bakteri sayısında artış meydana geldiği önceki çalışmalardan bulunmuştur (Gürbüz 1982). Daha önce yapılan çalışmalarda

bakterilerin gelişim sürelerinin 2-10 günlük peryotta olduğunu, ilk 4 saat içerisinde bakteri sayısında ve etkinliğinde değişim olmadığını, bu süreden sonra bakteri sayısının ve etkinliğinin logaritmik olarak artış gösterdiğini, hızlı gelişen bakteriler YMA ortamında 28°C’de üretildiklerinde, 3-5 günde sayılarının mililitrede 4×10^8 hücre, yavaş gelişen bakterilerin ise aynı sürede sayıları mililitrede 5×10^8 hücre değerine ulaştığını ifade eden çalışmalar mevcut olup burada bulunan sonuçları destekleyici mahiyettedirler (Ülgen 1975; Bhuvaneswari *et al.*, 1980; Bhuvaneswari *et al.* 1983; Somesagaran and Hoben 1985).

Bakterilerin günlere göre sayılarının elde edilmesinden ve zaman grafiğinin çizilmesinden sonra aşılama materyali olarak kullanılacak solüsyonda bakteri sayılarının eşit sayıda olması için spektrofotometrede 540 nm dalga boyuna ait absorbans ölçümü yapılmış ve her bakteride en düşük değer baz alınarak bütün çözeltilerdeki bakteri sayısı 3.6×10^5 adet değerine getirilinceye ve aynı absorbans değeri gösterinceye kadar steril FTS ile sulandırma yapılmıştır (Somasegaran and Hoben 1985; Saygılı 1995).

4.3. Azotlu Mineral Gübre Uygulamasının ve *Rhizobium* İzolatları ile Aşılamanın Mercimek Bitkisinin Kuru Madde Miktarı ve Simbiyotik Özellikleri Üzerine Etkileri

Mercimek bitkisinde farklı azot dozlarının ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium viciae* izolatları ile aşılamanın kuru madde miktarı, simbiyotik özellikleri ve fosfor içeriği üzerine etkileri aşağıda ele alınmıştır.

4.3.1. Kuru madde miktarı

Farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre) ve farklı yaşlardaki (1, 3, 5, 7 ve 9 günlük) *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9, M2426) kültürleri ile aşılamanın mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Bu çizelgeye göre bitkiye ait kök ve yaprak kuru madde miktarı için aşılamanın etkisi

(farklı dozlardaki azotlu mineral gübre ve farklı yaşlardaki *Rhizobium* kültürlerinin aşılama uygulamaları gövde aksamında %1 seviyesinde, her üç aksamda da dozların etkisi ise %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Bitkinin toplam kuru madde miktarları için yapılan varyans analizinde ise aşılamanın ve dozların etkisi %5 seviyesinde önemli bulunmuştur. Mercimek bitkisinin toplam kuru madde miktarlarının varyans analizinde Aşılama $\times$ Doz interaksyonu önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak aksamlarının kuru madde miktarlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon	SD	Kuru Madde Miktarı, g							
		Kök		Gövde		Yaprak		Toplam	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Aşılama	3	0,0055	2,201	0,27	4,31**	0,049	2,37	1,274	2,653*
Doz (N + G)	4	0,019	7,539**	0,65	10,49**	0,284	13,74**	0,693	1,442*
Aşılama $\times$ Doz	12	0,0018	0,734	0,087	1,4	0,02	0,97	0,075	0,156
Hata	40	0,0025		0,062		0,02		0,48	

* : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ Toplam Kuru Madde İçin Hata SD: 160
N : Farklı Dozlardaki Azotlu Mineral Gübre Uygulaması
G: Farklı Yaşlardaki *Rhizobium leguminosarum* İzolatları

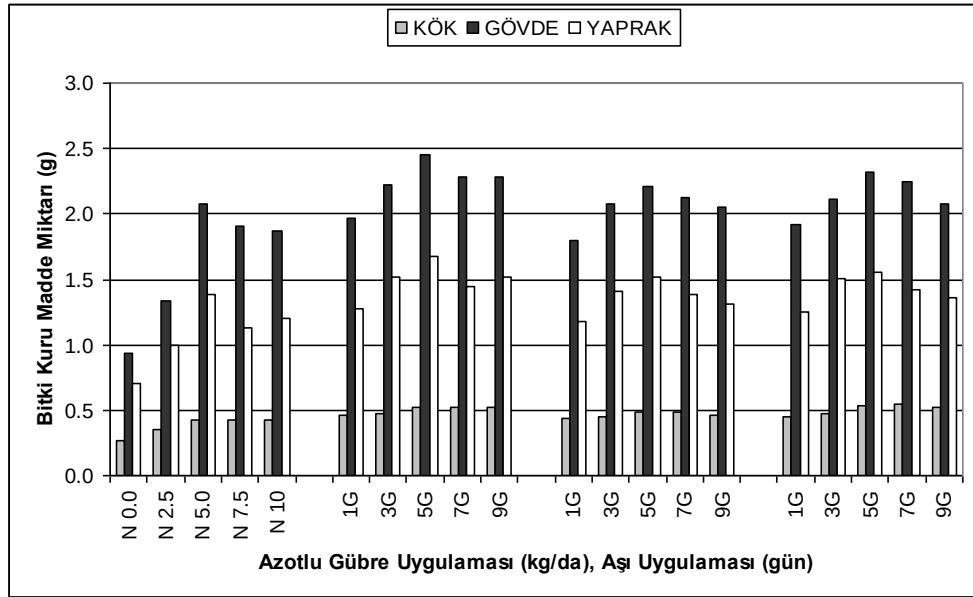
Mercimek bitkisinin kök, gövde, yaprak ve toplam kuru madde miktarlarının ortalamaları arasındaki farkları belirlemek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.4’de, bitkilerin azotlu gübrelemeye ve aşılamaa bağlı olarak ortalama kuru madde miktarlarındaki değişimi gösteren grafik Şekil 4.2’de, bitkilerin aşısız ve aşılı uygulamalara bağlı olarak gelişim seyri Şekil 4.3’de ve bu uygulamalar sonucu bitkilere ait kök gelişimleri ise Şekil 4.4.’de verilmiştir.

Çizelge 4.4.’den görüldüğü gibi, farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* kültürleri ile aşılama sonucu mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarlarının ortalamaları arasında farklılıklar önemli bulunmuştur. Aşılı uygulamalar arasında mercimek bitkisinde en düşük seviyede kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarları 1 günlük bakteri kültürü uygulamasından elde edilmiş, en yüksek kuru madde miktarı ise 7 günlük bakteri izolatı ile aşılamaadan elde edilmiştir. Sirasi ile bu değerler kök aksamında 1 günlük bakteri kültürü aşılamaasında

0.461, 0.451 ve 0.436g, gövde aksamında 1.967, 1.913 ve 1.796 g ve yaprak aksamında ise 1.279, 1.180 ve 1.248 g olarak bulunmuştur. Aynı şekilde toplam kuru madde miktarları 1 günlük bakteri kültürü aşılama sırasında sırası ile 1.235, 1136 ve 1,204g olarak tespit edilmiştir. Bakteriler arasında ise 5 günlük kültür uygulaması dikkate alındığında en düşük kuru madde miktarı R₂ (M9) bakterisinden (0.480g), en yüksek kuru madde miktarı ise R₃ (M2426) bakterisinin 5 günlük kültür uygulamasından (1.557g) elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılanmanın mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak aksamalarının ortalama kuru madde miktarları ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Aşı Uygulaması	n	Kuru Madde Miktarı (g)			Toplam	
		Kök	Gövde	Yaprak	n	Ort. Ağ. (g)
R ₀ N _{0,0}	3	0,263 d	0,931 f	0,707 f	9	0,634 d
R ₀ N _{2,5}	3	0,347 cd	1,333 e	0,998 e	9	0,893 cd
R ₀ N _{5,0}	3	0,425 bc	2,072 bc	1,380 abcd	9	1,292 b
R ₀ N _{7,5}	3	0,429 abc	1,907 c	1,132 de	9	1,156 c
R ₀ N _{10,0}	3	0,428 abc	1,873 c	1,198 cde	9	1,167 c
R ₁ 1G	3	0,461 ab	1,967 c	1,279 bcde	9	1,235 bc
R ₁ 3G	3	0,477 ab,	2,220 ab	1,518 ab	9	1,405 ab
R ₁ 5G	3	0;518 a	2,449 a	1,682 a	9	1,550 a
R ₁ 7G	3	0,520 a	2,284 ab	1,448 abc	9	1,417 ab
R ₁ 9G	3	0,520 a	2,281 ab	1,522 abcd	9	1,441 ab
R ₂ 1G	3	0,436 abc	1,796 d	1,180 cde	9	1,136 c
R ₂ 3G	3	0,453 abc	2,079 bc	1,406 abcd	9	1,312 b
R ₂ 5G	3	0,480 ab	2,209 ab	1,524 ab	9	1,403 ab
R ₂ 7G	3	0,483 ab	2,125 b	1,383 abcd	9	1,329 b
R ₂ 9G	3	0,466 ab	2,052 bc	1,306 bcd	9	1,275 b
R ₃ 1G	3	0,451 abc	1,913 c	1,248 bcde	9	1,204 bc
R ₃ 3G	3	0,476 ab	2,109 b	1,507 ab	9	1364 ab
R ₃ 5G	3	0,533 a	2,315 ab	1,557 ab	9	1,468 a
R ₃ 7G	3	0,542 a	2,249 ab	1,425 abcd	9	1,405 ab
R ₃ 9G	3	0,518 a	2,071 bc	1,364 bcd	9	1,318 b
R₀ : AŞISIZ R₁ : F15 R₂ : M9 R₃ : M2426 N_{0,0}: 0.0 kg N/da N_{2,5}: 2.5 kg N/da N_{5,0}: 5.0 kg N/da N_{7,5}: 7.5 kg N/da N_{10,0}: 10.0 kg N/da 1G : 1 Günlük Bakteri 3G : 3 Günlük Bakteri 5G : 5 Günlük Bakteri 7G : 7 Günlük Bakteri 10G : 10 Günlük Bakteri n : Tekerrür						



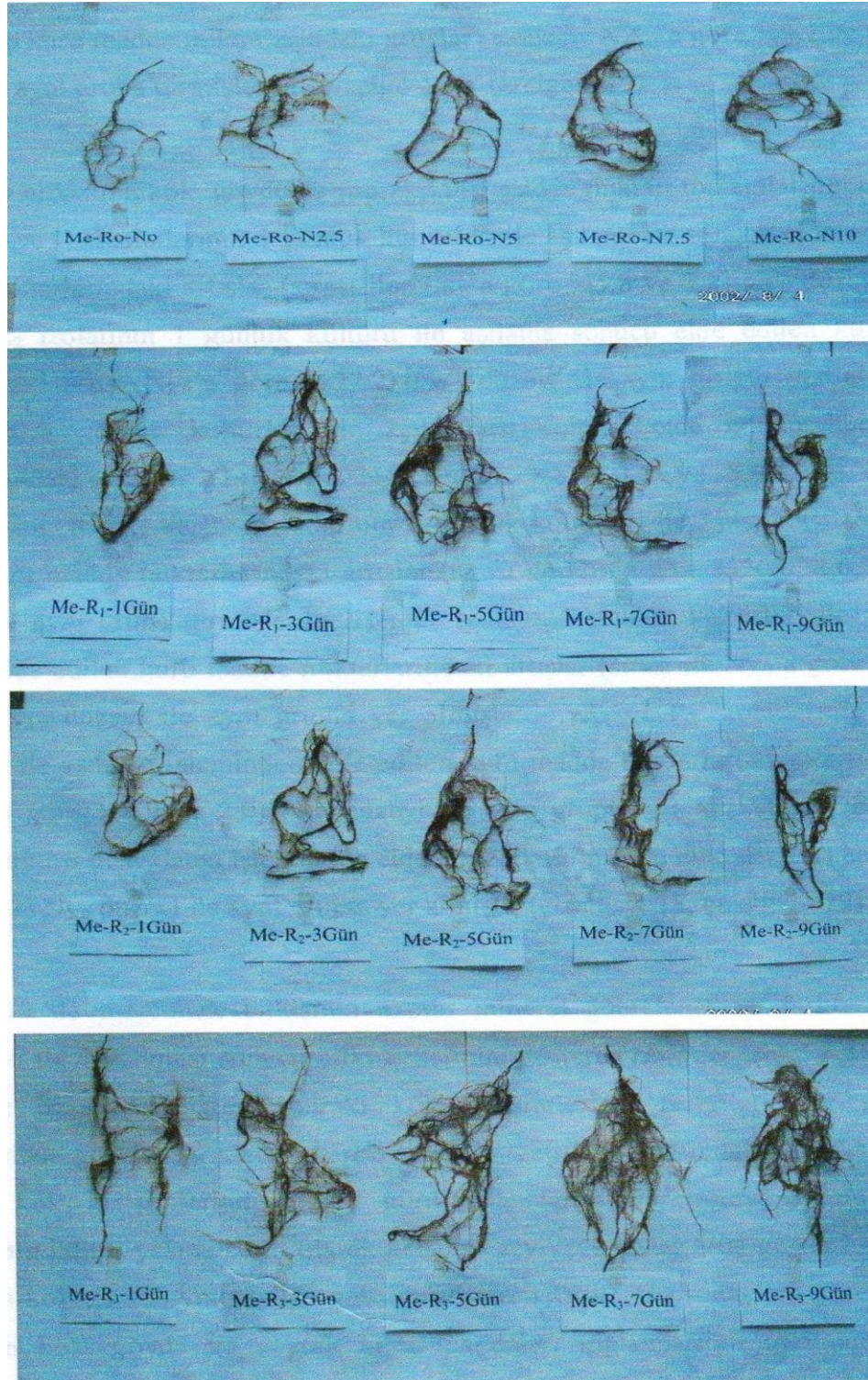
Şekil 4.2. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarları üzerine etkisi.

Aşısız azotlu gübre uygulamasında mercimek bitkisinde en düşük seviyede kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarları $N_{0.0}$ uygulamasından sırası ile 0.263, 0.931 ve 0.707g, en yüksek kök kuru madde miktarı $N_{7.5}$ uygulamasından (0.429g), gövde ve yaprak için ise $N_{5.0}$ uygulamasından (sırası ile 2.072 ve 1.380 g) elde edilmiştir. Aynı şekilde toplam kuru madde miktarları azotlu gübre uygulamasında en düşük seviyede $N_{0.0}$ uygulamasından (0.634g) ve en yüksek kuru madde miktarı ise $N_{5.0}$ uygulamasından (1.292g) elde edilmiştir.

Aşılı ve aşısız uygulamalar karşılaştırıldığında ise mercimek bitkisi için en yüksek kuru madde miktarı R3 (M2426) bakterisinin 7 günlük kültür uygulanmasından elde edilmiştir. Bu kombinasyon diğer bakterilerden ve azotlu gübreleme uygulamasından daha yüksek kuru madde miktarı değeri göstermiştir.



Şekil 4.3. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılama sonucu ortaya çıkan mercimek bitkisinin köküstü aksamalarının gelişimi



Şekil 4.4. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılama sonucu ortaya çıkan mercimek bitkisinin kök aksamalarının gelişimi

Yapılan çalışmalarda da aşılamaya bağlı olarak mercimek bitkisinin kuru madde miktarlarının artış gösterdiğini, aşılama ile bitkinin kuru madde miktarının aşısız olanlara göre daha yüksek değer verdiğini ifade eden çalışmalar mevcut olup bu çalışmada bulunan sonuçları desteklemektedirler (Chowdhury *et al* 1976; Asghar *et al* 1988; Kabi ve Behari 1990; Kızıloğlu 1992; Kumar *et al* 1993). Aynı şekilde farklı bitkilerde yapılan aşılama çalışmalarında da aşılama ile bitki kuru ağırlığının artış gösterdiği, bu artışın dekara 5 kg azotlu mineral gübre uygulaması ile eşdeğer düzeyde olduğu rapor edilmiştir (Patil Ve Medhane 1974; Subba Rao 1976; Jimenez and Villalabos 1980; Parodi *et al* 1981; Ersin 1983; Cebel 1988; Kızıloğlu 1996; Turhan 1998; Örgütçü 2000).

4.3.2. Simbiyotik özellikler

Rhizobium bakterilerinin simbiyotik özellikleri olarak nodülasyon ve N₂-fiksasyonu ele alınmıştır.

4.3.2.a. Nodülasyon

Nodülasyon başlığı altında nodül sayısı ve nodül azot içeriği ele alınmıştır.

Nodül sayısı

Farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre) ve farklı yaşlardaki (1,3,5,7 ve 9 günlük) *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9, M2426) kültürleri ile aşılama sonucu oluşan mercimek bitkisinin nodül sayısı değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Çizelge 4.6’a göre bitkilerin nodül sayısı açısından aşılamanın, dozların ve AşılamaDoz interaksiyonunun etkisi %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Bitkilerin nodül sayısına ait ortalama değerler ve ortalamalar arasındaki farkları belirlemek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6'deki çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre nodül sayısı için ortalamalar arasında farklar bulunmuştur. Aşısız-azotsuz (R_0 $N_{0.0}$) ve aşısız-azotlu uygulamalarda nodül oluşmamış, aşılı uygulamalarda nodül oluşumu gerçekleşmiştir. En düşük sayıda nodül oluşumu R_1 , R_2 ve R_3 izolatlarının 1 günlük kültürleri ile aşılama işleminden (sırası ile 11.7, 10.7 ve 17.7 adet) elde edilmiştir. R_1 , R_2 ve R_3 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemlerinde (sırası ile 59.7 ve 49.7, 70.3 adet) ise en yüksek nodül sayısı elde edilmiş olup, maksimum nodül sayısı R_3 izolatının 5 günlük kültürü ile aşılama işleminden elde edilmiştir.

Çizelge 4.5. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin nodul sayısı ve nodul kuru ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.

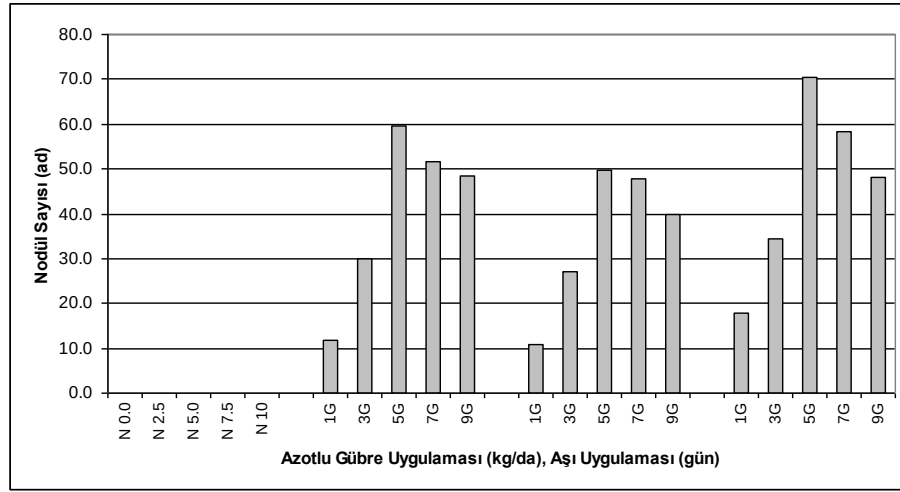
Varyasyon Kaynağı	SD	Nodul Sayısı, adet		Nodul Kuru Ağ., mg	
		KO	F	KO	F
Aşılama	2	432,06	53,71**	9173,40	74,89**
Doz (N + G)	4	3.115,61	387,3**	68803,77	561,71**
AşılamaDoz	8	31,51	3,917**	638,18	5,21**
Hata	30	8,04		122,49	
** : $p < 0,01$ N : Farklı Dozlardaki Azotlu Mineral Gübre Uygulaması G: Farklı Yaşlardaki <i>Rhizobium viciae</i> İzolatları					

Bitkilerin aşılamaya bağlı olarak ortalama nodül sayısındaki değişimi gösteren grafik şekil 4.5'de, fasulye bitkisinin aşısız ve aşılı uygulamalara bağlı olarak köklerde oluşan nodüllerin gelişim seyri şekil 4.5'da verilmiştir. Şekilden de görüleceği üzere bakteri izolatları bitki nodül sayısı ve büyüklüğünde etkili olmuş, R_1 , R_2 ve R_3 izolatları arasında R_3 izolatı ile aşılama sonucu daha fazla sayıda ve daha büyük boyutta nodül oluşumu gerçekleşmiştir.

Denemede *Rhizobium* sayısı toprağın gramında 3.6×10^5 bakteri olacak şekilde ayarlanmış ve aşılama yapılmıştır. Bu sayı bitkilerde nodül oluşumu için yeterli seviyededir. Zira *Rhizobium* bakterileri üzerine yapılan daha önceki çalışmalarda Weaver and Frederick (1974), bitkilerde nodül sayısını artırmak için topraktaki *Rhizobium* popülasyonunun 33×10^4 sayısından fazla olması gerektiğini ifade etmiştir.

Çizelge 4.6. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamamanın fasulye bitkisinin nodul sayısı ve nodul kuru ağırlığı ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Aşı	n	Ort. Nodul Sayısı	Ort. Nodul Kuru Ağ.(mg)
R ₀ N _{0,0}	3	0,0	0,0
R ₀ N _{2,5}	3	0,0	0,0
R ₀ N _{5,0}	3	0,0	0,0
R ₀ N _{7,5}	3	0,0	0,0
R ₀ N _{10,0}	3	0,0	0,0
R ₁ 1G	3	11,7 gh	43,3 h
R ₁ 3G	3	30,0 ef	126,3 ef
R ₁ 5G	3	59,7 b	273,3 b
R ₁ 7G	3	51,7 c	231,0 c
R ₁ 9G	3	48,3 c	212,3 c
R ₂ 1G	3	10,7 h	38,3 h
R ₂ 3G	3	27,0 f	117,0 f
R ₂ 5G	3	49,7 c	219,0 c
R ₂ 7G	3	47,7 c	215,3 c
R ₂ 9G	3	40,0 d	183,6 d
R ₃ 1G	3	17,7 g	73,0 g
R ₃ 3G	3	34,3 de	150,6 e
R ₃ 5G	3	70,3 a	316,3 a
R ₃ 7G	3	58,3 b	259,0 b
R ₃ 9G	3	48,0 c	221,3 c
R ₀ : Aşısız R ₁ : F15 R ₂ : M9 R ₃ : M2426 N _{0,0} : 0.0 kg N/da 1G : 1 Günlük Bakteri N _{2,5} : 2.5 kg N/da 3G : 3 Günlük Bakteri N _{5,0} : 5.0 kg N/da 5G : 5 Günlük Bakteri N _{7,5} : 7.5 kg N/da 7G : 7 Günlük Bakteri N _{10,0} : 10.0 kg N/da 10G : 10 Günlük Bakteri n : Tekerrür			



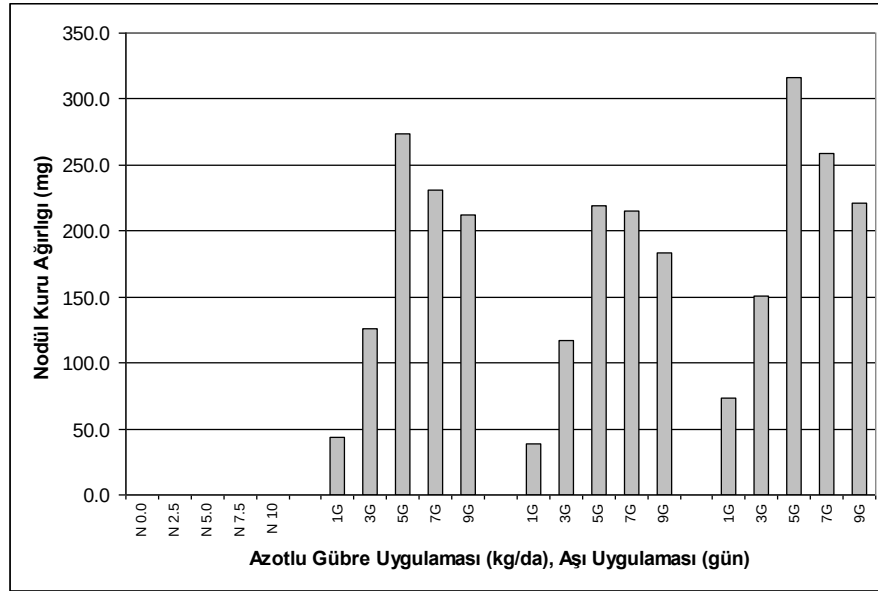
Şekil 4.5. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılanmanın mercimek bitkisinin nodul sayısı üzerine etkisi.

Sangakhara and Marambe (1989) baklagil bitkilerinin *Rhizobium* bakterileri ile aşılanması çalışmalarında sadece aşıli uygulamalarda bitki başına nodül sayısının artış gösterdiğini, Turhan (1998) fasulye bitkisinin *R. viciae* izolatları ile aşılanmanın, Chowdhury *et al.* (1976), Malik and Sanoira (1980), Patel *et al.* (1982), Patel and Sanoria (1982), Asghar *et al.* (1988), Bremmer *et al.* (1990), Kabi and Behari (1990) mercimek bitkilerinin *R. leguminosarum* suşları ile aşılanmanın, Ögütçü (2000) nohut bitkisinin *Rhizobium* suşları ile aşılanmanın nodül sayısını artırdığını ifade eden çalışmalar mevcut olup bu çalışmada bulunan sonuçları destekler niteliktedir.

Nodül kuru ağırlığı

Farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre) ve farklı yaşlardaki (1,3,5,7 ve 9 günlük) *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9, M2426) kültürleri ile aşılanması sonucu oluşan mercimek bitkisinin nodül sayısı değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Bitkilerin nodül kuru ağırlığı açısından aşılanmanın, dozların ve AşılanmaDoz interaksiyonunun etkisi %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Bitkilerin nodül kuru ağırlığına ait ortalama değerler ve ortalamalar arasındaki farkları belirlemek için yapılan Duncan çoklu

karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.6’de, bitkilerin aşılama ya bağlı olarak ortalama nodül kuru ağırlığındaki değişimi gösteren grafik Şekil 4.6’de verilmiştir.



Şekil 4.6. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin nodul kuru ağırlığı üzerine etkisi.

Çizelge 4.7’deki çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre nodül kuru ağırlığı için ortalamalar arasında farklar bulunmuştur. En düşük nodül kuru ağırlığı R_1 , R_2 ve R_3 izolatlarının 1 günlük kültürleri ile aşılama işleminden (sırası ile 43.3, 38.3 ve 73.0 mg) elde edilmiştir. En yüksek nodül kuru ağırlığı ise, R_1 , R_2 ve R_3 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemlerinden (sırası ile 273.3, 219.0 ve 316.3 mg) elde edilmiş olup, maksimum nodül sayısı R_3 izolatının 5 günlük kültürü ile aşılama işleminden (316.3 mg) elde edilmiştir. Bu durum Şekil 4.7’de gözlenmektedir.

Yapılan çalışmalarda Turhan (1998) *R. viciae* ile fasulye bitkisinin aşılama sonucu oluşan nodüllerin sayısının ve kuru ağırlıklarının artış gösterdiğini, Patel *et al.* (1982), Patel and Sanoria (1982) mercimek bitkilerinin tohumlarının *Rhizobium leguminosarum* suşları ile aşılama sonucu bitkide nodül sayısının ve nodül kuru ağırlığının önemli derecede artış gösterdiğini, Ögütçü (2000) nohut bitkilerinin *Rhizobium* izolatları ile

aşılmasının bitkide nodül kuru ağırlığını ve nodül sayısını artırdığını ifade eden çalışmalar mevcut olup bu çalışmanın sonuçları ile paralellik oluşturmaktadır.

4.3.2.b. N₂-fiksasyonu

Rhizobium bakterisinin N₂-fiksasyonu başlığı altında nodül azot içeriği ve bitki azot içeriği aşağıda incelenmiştir.

Nodül azot içeriği

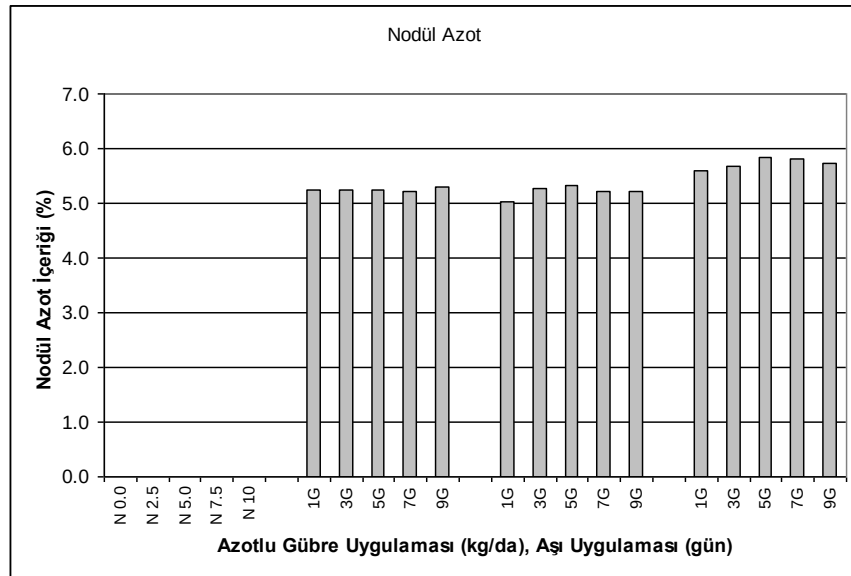
Farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre) ve farklı yaşlardaki (1,3,5,7 ve 9 günlük) *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9, M2426) kültürleri ile aşılama sonucu oluşan mercimek bitkisinin nodül sayısı değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Bitkilerin nodül azot içeriği bakımından aşılamanın etkisi %1 seviyesinde önemli bulunurken, dozların etkisi ve Aşılama x Doz interaksyonunun etkisi önemsiz bulunmuştur. Bitkilerin nodül azot içeriğine ait ortalama değerleri ve ortalamalar arasındaki farkları belirlemek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.8’de bitkilerin ortalama nodül azot içeriğine ait değişimi gösteren grafik Şekil 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin nodul azot içeriğine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Nodul Azot İçeriği, %	
		KO	F
Aşılama	2	1,27	6,29**
Doz (N + G)	4	0,03	0,149
Aşılama x Doz	8	0,021	0,106
Hata	30	0,202	
**: p < 0,01 N : Farklı Dozlardaki Azotlu Mineral Gübre Uygulaması G: Farklı Yaşlardaki <i>Rhizobiumviciae</i> İzolatları			

Çizelge 4.8’de fasulye bitkisinin nodül azot içeriklerine ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testinde R₁, R₂ ve R₃ izolatları içerisinde en düşük nodül azot içerikleri 1

günlük kültürler ile aşılama uygulamasından (sırası ile % 5.24, 5.03 ve 5.60) elde edilmiştir. En yüksek nodül azot içerikleri R_1 , R_2 ve R_3 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işleminden (sırası ile % 5.24, 5.32 ve 5.85) elde edilmiş olup, diğer izolatlarla aşılama işlemlerinden elde edilen toplam azot içerikleri arasında R_2 izolatının 1 günlük kültürü ile aşılması hariç fark bulunamamıştır. Bakteriler içerisinde en yüksek nodül azot içeriğini R_3 izolatının 5 günlük kültürü ile aşılama işlemi vermiştir. Bu durum aşılamaya bağlı olarak ortalama nodül azot içeriğindeki değişimi gösteren grafik Şekil 4.7'den de görülmektedir.



Şekil 4.7. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin nodul azot içeriği üzerine etkisi.

Daha önce yapılan çalışmalar, bu çalışmada bulunan sonuçları desteklemektedir. Yapılan çalışmalar arasında Ögütçü (2000) nohut ve fiğ bitkilerinin *Rhizobium* izolatları ile aşılması sonucu nodül kuru ağırlığını ve nodül sayısını artırmasının yanında kuru ağırlığını ve nodül sayısını artırmasının yanında kuru madde miktarının da artış gösterdiğini, ayrıca nodülün azot içeriğinin ve bitkinin azot alımında artış olduğunu ifade etmişlerdir. Dart and Wildon (1970), Lie (1981), Özbek vd (1993), Kızıloğlu (1995) börülcede *R. japonicum* ve fiğde *R. leguminosarum* bakterileri ile yaptıkları

aşılama sonucunda nodülün miktar, büyüklük ve azot içeriğinin arttığını, azotlu mineral gübrelemenin ise olumsuz yönde etki yaptığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.8. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın mercimek bitkisinin nodul azot içeriği ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Aşılama Uygulaması	n	Nodul Azot İçeriği (%)
R ₀ N _{0,0}	3	0,0
R ₀ N _{2,5}	3	0,0
R ₀ N _{5,0}	3	0,0
R ₀ N _{7,5}	3	0,0
R ₀ N _{10,0}	3	0,0
R ₁ 1G	3	5.24 ab
R ₁ 3G	3	5.24 ab
R ₁ 5G	3	5.24 ab
R ₁ 7G	3	5.22 ab
R ₁ 9G	3	5.29 ab
R ₂ 1G	3	5.03 b
R ₂ 3G	3	5.28 ab
R ₂ 5G	3	5.32 ab
R ₂ 7G	3	5.22 ab
R ₂ 9G	3	5.22 ab
R ₃ 1G	3	5.60 a
R ₃ 3G	3	5.68 a
R ₃ 5G	3	5.85 a
R ₃ 7G	3	5.82 a
R ₃ 9G	3	5.72 a
R ₀ : Aşısız R ₁ : F15 R ₂ : M9 R ₃ : M2426 N _{0,0} : 0.0 kg N/da 1G : 1 Günlük Bakteri N _{2,5} : 2.5 kg N/da 3G : 3 Günlük Bakteri N _{5,0} : 5.0 kg N/da 5G : 5 Günlük Bakteri N _{7,5} : 7.5 kg N/da 7G : 7 Günlük Bakteri N _{10,0} : 10.0 kg N/da 10G : 10 Günlük Bakteri n : Tekerrür		

Bitki kök, gövde ve yaprakların azot içerikleri

Farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre) ve farklı yaşlardaki (1,3,5,7 ve 9 günlük) *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9, M2426) kültürleri ile aşılama sonucu oluşan mercimek bitkisinin nodul sayısı değerlerine ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelgeden görüleceği üzere fasulye bitkisinin toplam azot miktarını aşılamanın, dozların ve Aşılama x Doz interaksiyonunun etkisi kök, gövde ve yaprakta %1 seviyesinde önemli

bulunmuştur. Bitkinin toplam azot içeriklerinin ortalaması olarak yapılan varyans analizinde ise yalnızca dozların etkisi %1 seviyesinde bulunmuştur.

Çizelge 4.9. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılanmanın mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak aksamalarının toplam azot miktarlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Toplamı Azot Miktarı, %							
		Kök		Gövde		Yaprak		Toplam	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Aşılama	3	0.037	165.03**	0.028	164.26**	0.018	167.47**	0.068	0.439*
Doz (N + G)	4	0.212	194.08**	0.385	2219.9**	0.26	2349.7**	0.843	5.37**
AşılamaDoz	12	0.007	31.25**	0.015	89.14**	0.013	122.95**	0.028	0.18
Hata	40	0.00022		0.00017		0.0001		0.157	
** : $p < 0,01$ Toplam Azot Miktarı İçin Hata SD : 160 N : Farklı Dozlardaki Azotlu Mineral Gübre Uygulaması G: Farklı Yaşlardaki <i>Rhizobium viciae</i> İzolatları									

Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* kültürleri ile aşılanan fasulye bitkisinin kök, gövde ve yaprak aksamalarının toplam azot içeriğine ait ortalama değerler ve bu ortalamalar arasındaki farkları gösteren Duncan çoklu karşılaştırma testi Çizelge 4.10'da, bitkinin aşısız ve aşıli uygulamalara bağlı olarak toplam azot içeriğine ait değişimleri gösteren grafik Şekil 4.8'de verilmiştir.

Aşısız uygulamalarda azotlu mineral gübrelemenin artışına bağlı olarak bitkinin azot içeriği artış göstermiştir. Aşıli işlemlerde ise fasulye bitkisinin kök, gövde ve yaprak toplam azot içerikleri kültür yaşı 1,3 ve 5 günlük kültürlerde giderek artış göstermiş daha sonra 7 ve 9 günlük kültürlerle aşılama işlemlerinde azalma göstermiştir (Çizelge 4.11).

Aşısız azotlu gübre uygulamasında mercimek bitkisinde en düşük seviyede kök, gövde ve yaprak toplam azot miktarları $N_{0,0}$ uygulamasından sırası ile %0.607, 1,072 ve 1,273, en yüksek kök kuru madde miktarı $N_{7,5}$ uygulamasından sırası ile %0.999, 1,676 ve 1,909 elde edilmiştir. Aynı şekilde ortalama toplam azot miktarları azotlu gübre

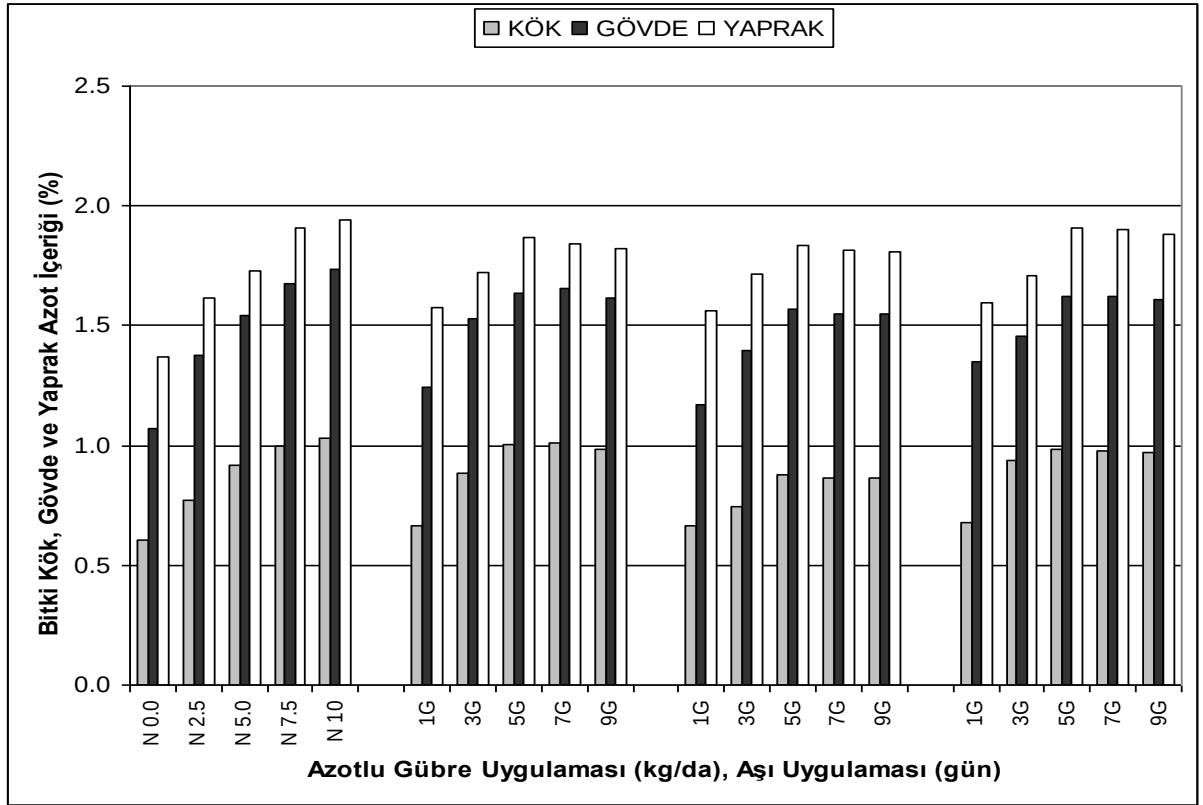
uygulamasında en düşük seviyede N_{0.0} uygulamasından (%1,017) ve en yüksek kuru madde miktarı ise N_{5.0} uygulamasından (%1.397) elde edilmiştir.

Aşılı ve aşısız uygulamalar karşılaştırıldığında ise mercimek bitkisi için en yüksek toplam azot miktarı R₃ (M2426) bakterisinin 7 günlük kültür uygulanmasından elde edilmiştir. Bu kombinasyon diğer bakterilerden ve azotlu gübreleme uygulamasından daha yüksek kuru madde miktarı değeri göstermiştir.

Çizelge 4.10. Farklı dozlarda uygulanan azotlu mineral gübreleme ve farklı *Rhizobium* izolatları ile aşılamanın fasulye bitkisinin toplam azot içeriği ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Aşı	n	Toplam Azot (%)			Ort. Top. Azot ("..)	
Uygulaması		Kök	Gövde	Kök	n	Ort
R ₀ N _{0,0}	3	0.607 g	1.072 l	1.373 k	9	1.017 g
R ₀ N _{2,5}	3	0.770 e	1.375 hi	1.618 h	9	1.254 de
R ₀ N _{5,0}	3	0.919 c	1.540 ef	1.730 g	9	1.397 cd
R ₀ N _{7,5}	3	0.999 ab	1.676 b	1.909 b	9	1.528 a
R ₀ N _{10,0}	3	1.029 a	1.735 a	1.942 a	9	1.569 a
R ₁ 1G	3	0.667 f	1.243 j	1.578 ij	9	1.163 ef
R ₁ 3G	3	0.884 d	1.528 f	1.722 g	9	1.378 cd
R ₁ 5G	3	1.003 ab	1.635 cd	1.868 d	9	1.502 a
R ₁ 7G	3	1.011 ab	1.655 ab	1.841 e	9	1.503 a
R ₁ 9G	3	0.983 b	1.616 d	1.822 ef	9	1.474 ab
R ₂ 1G	3	0.667 f	1.169 k	1.563 j	9	1.133 f
R ₂ 3G	3	0.745 e	1.393 h	1.713 g	9	1.283 de
R ₂ 5G	3	0.878 d	1.566 e	1.836 e	9	1.427 b
R ₂ 7G	3	0.867 d	1.546 ef	1.818 ef	9	1.410 bc
R ₂ 9G	3	0.864 d	1.552 ef	1.810 f	9	1.409 bc
R ₃ 1G	3	0.678 f	1.352 i	1.597 hi	9	1.209 ef
R ₃ 3G	3	0.937 c	1.456 g	1.710 g	9	1.368 cd
R ₃ 5G	3	0.982 b	1.624 d	1.905 bc	9	1.504 a
R ₃ 7G	3	0.978 b	1.621 d	1.900 bc	9	1.500 a
R ₃ 9G	3	0.974 b	1.607 d	1.882 cd	999	1.488 ab
R ₀ : Aşısız R ₁ : F15 R ₂ : M9 R ₃ : M2426 N _{0,0} : 0.0 kg N/da 1G : 1 Günlük Bakteri N _{2,5} : 2.5 kg N/da 3G : 3 Günlük Bakteri N _{5,0} : 5.0 kg N/da 5G : 5 Günlük Bakteri N _{7,5} : 7.5 kg N/da 7G : 7 Günlük Bakteri N _{10,0} : 10.0 kg N/da 10G : 10 Günlük Bakteri n : Tekerrür						

Çizelge 4.10'a göre farklı dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* kültürleri ile aşılama sonucu fasulye bitkisinin kök, gövde ve yaprak toplam azot içeriklerinin ortalamaları arasında farklılıklar önemli ($p<0.01$) bulunmuştur.



Şekil 4.8. Çeşitli dozlardaki azotlu mineral gübreleme ve farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılamının mercimek bitkisinin kök, gövde ve yaprak azot içeriği üzerine etkisi.

Daha önce yapılan çalışmalarda Hamdi (1975), Gürbüz (1980), Rennie and Dubet (1986), Bremmer *et al.* (1990), Kızıloğlu (1992), mercimek bitkisinde *Rhizobium* bakterileri ile aşılamının kontrol bitkilerine oranla bitkinin kuru ağırlığını ve ürün miktarını artırdığını, buna bağlı olarak bitkinin azot fiksasyonunun ve bitki azot içeriğinin artış gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ersin (1978), Gürbüz (1978), Gürbüz (1980), Flores Ramon *et al.* (1987), Rai (1992), Kumar *et al.* (1993), mercimek bitkisine dekara 4-5 kg N gübre verilmesinin aşılamaya eşdeğer yarar sağladığını, bu

değerden fazla azotlu gübre uygulamasının bitkinin nodul oluşumunu ve azot fiksasyonunu azalttığını ifade eden bu çalışmayı destekleyen sonuçlar elde etmişlerdir.

4.3.2.c. Simbiyotik etkinlik

Denemede kullanılan değişik *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (F15, M9, M2426) kültürleri ile aşılanmanın farklı kültür yaşına (1,3,5,7 ve 9 günlük) bağlı olarak simbiyotik etkinlik değerleri çizelge 4.13’de verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi R₁, R₂ ve R₃ izolatlarının toplam azot ve buna bağlı olarak simbiyotik etkinlik değerleri kültür yaşının artışına bağlı olarak belli bir yaşa kadar artış (5 günlük kültürler dahil), daha sonra azalış (7 ve 9 günlük) göstermiştir. Aşılı uygulamalar içerisinde *Rhizobium* izolatları arasında 5 günlük kültürler ile aşılama uygulamasından en yüksek kuru madde ve toplam azot içerikleri elde edilmiş ve bu elde edilen değerlere en yakın kuru madde ve toplam azot içeriği azotlu mineral gübreleme dozları arasında N_{5,0} uygulamasından sağlanmıştır. Bu nedenle izolatların kültür yaşına bağlı olarak simbiyotik etkinlik değerleri N_{5,0} gübre dozundan elde edilen toplam azot miktarlarına göre değerlendirmeye alınmıştır. 3 *Rhizobium* izolatının 5 günlük kültürleri ile aşılama sonucu toplam azot ve buna bağlı olarak simbiyotik etkinlikleri en yüksek değeri göstermiş, artışlar N_{7,5}’a göre yakın değerler vermiş ve N_{5,0} düzeyinde gerçekleşmiştir.

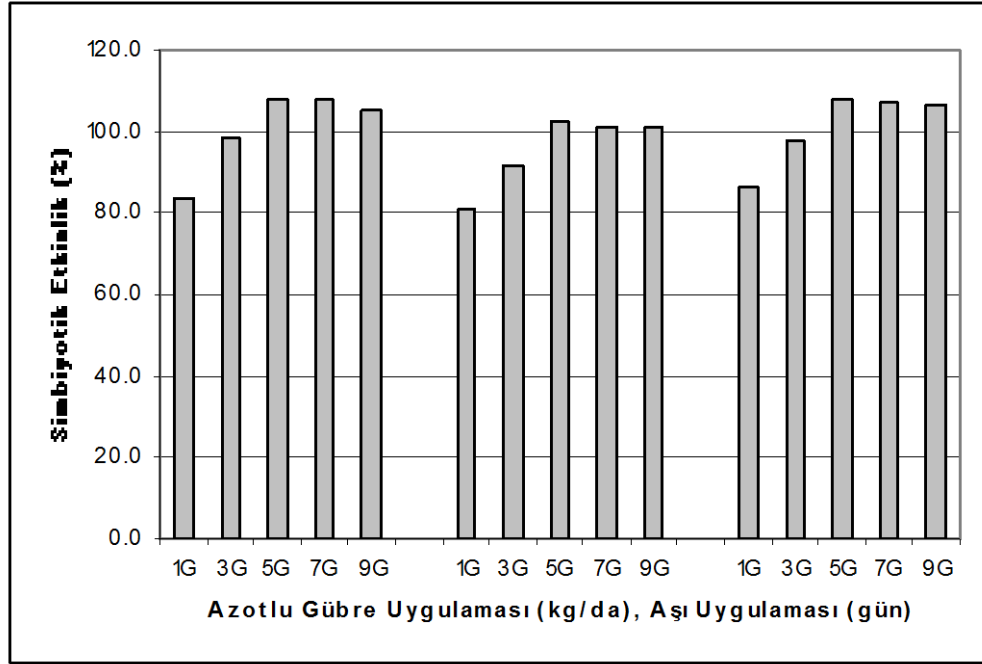
Çizelge 4.11. Mercimek bitkisinin 3 değişik *Rhizobium* izolatının 5 farklı yaştaki kültürleri ile aşılanması sonucu elde edilen simbiyotik etkinlikleri

Aşı Uygulaması	Bitki Ort. Toplam Azot İçeriği, (%)	Simbiyotik Etkinlik, (%) (N _{5.0} 'a göre)
R ₁ 1G	1,163	83,3
R ₁ 3G	1,378	98,7
R ₁ 5G	1,502	107,6
R ₁ 7G	1,503	107,6
R ₁ 9G	1,474	105,5
R ₂ 1G	1,133	81,1
R ₂ 3G	1,283	91,9
R ₂ 5G	1,427	102,2
R ₂ 7G	1,410	101,0
R ₂ 9G	1,409	100,9
R ₃ 1G	1,209	86,6
R ₃ 3G	1,368	97,9
R ₃ 5G	1,504	107,7

R₃ 7G	1,500	107,4
R₃ 9G	1,488	106,5
R ₀ : AŞISIZ	R ₁ : F15	R ₂ : M9
N _{0,0} : 0.0 kg N/da		1G : 1 Günlük Bakteri
N _{2,5} : 2.5 kg N/da		3G : 3 Günlük Bakteri
N _{5,0} : 5.0 kg N/da		5G : 5 Günlük Bakteri
N _{7,5} : 7.5 kg N/da		7G : 7 Günlük Bakteri
N _{10,0} : 10.0 kg N/da		10G : 10 Günlük Bakteri
		R ₃ : M2426

R₁, R₂ ve R₃ izolatlarının 1 günlük kültürleri ile aşılama işleminden elde edilen toplam azot içeriklerine karşılık simbiyotik etkinlik değerleri orta derecede bulunmuş, aynı izolatların diğer yaşlardaki (3,5,7 ve 9 günlük) kültürlerle aşılama işlemlerinde ise simbiyotik etkinlik derecesi yüksek bulunmuştur. İzolatlar içerisinde en düşük simbiyotik etkinlik değerleri 1 günlük kültürlerle aşılama sonucu elde edilmiştir (sırası ile %83.3, 81.1 ve 86.6). En yüksek simbiyotik etkinlik ise aynı izolatların 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemlerinden (sırası ile %107.6, 102.2 ve 107.7) elde edilmiş olup izolatlar içerisinde R₃ izolatının 5 günlük kültürü ile aşılama işleminden (%107.7) elde edilen simbiyotik etkinlik en yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.13).

R₁, R₂ ve R₃ izolatlarının simbiyotik etkinlik değerlerindeki değişimleri gösteren grafik şekil 4.9'da görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi, bakteri yaşının artışıyla bağlı olarak simbiyotik etkinlik değerleri farklılık göstermiş ve en yüksek simbiyotik etkinlik değeri R₃ izolatının 5 günlük kültürü ile aşılama sonucu elde edilmiştir.



Şekil 4.9. Farklı yaşlardaki değişik *Rhizobium* izolatları ile aşılanmanın simbiyotik etkinlik derecesi.

Simbiyotik etkinliğin yüksek olduğu nodüller beyaz veya yeşil renk dokularına sahiptirler ve bu nodüller azot tespitinde inaktiftirler (Beck *et al.* 1993). Bu konuda yapılan çalışmalarda Bhuvareswari *et al.* (1983), soya fasulyesi bitkisinde 2-10 günlük kültür yaşına sahip *R. japonicum* izolatları ile aşılanması sonucu nodül oluşumundaki izolatların soya üzerindeki enfekte etme yeteneklerinin kültür yaşına bağlı olarak 2-5 kat artış gösterdiğini ve kültür yaşının yüksek derecede simbiyotik etkinlik ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte nodül yapısına kültür yaşının bir etkisinin olmadığı fakat, kültür yaşının, aşılamadan sonra bulaşmanın etkinliğini artırdığını, düşük gelişme süresinde geliştirilen izolatların daha az etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Sarıoğlu vd (1993) Elazığ yöresinde mercimek bitkisinin *Rhizobium* bakterileri ile aşılanması sonucu izole edilen 18 izolatın 11'inin etkili olduğunu, Öğütçü (2000) nohut bitkisinde kullanılan 24 izolattan 21'inin, fiğ bitkisinde ise 60 izolattan 53 tanesinin yüksek derecede etkili olduğunu ifade etmiştir. Bulunan sonuçlarda bu araştırmada bulunan sonuçları desteklemektedir.

5. SONUÇ

Mercimek (*Lens esculanta*) bitkisinin kök, gövde ve yaprak kuru madde miktarları, nodül sayısı, nodül kuru madde miktarı, nodül azot içeriği, toplam azot içeriği ve fosfor içeriği üzerine *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* F15, M9, M2426 izolatlarının, farklı yaşlardaki (1,3,5,7 ve 9 günlük) kültürleri ile aşılama işlemlerinin hangi dozdaki (0.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kg N/da (%43 Üre)) azotlu mineral gübrelemeye eşdeğer olduğunu tespit etmek amacı ile yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Rhizobium leguminosarum biovar *viciae* F15, M9, M2426 izolatları ile aşılamanın mercimek bitkilerinde M2426 izolatının 5 günlük kültürleri ile aşılamasından en yüksek kuru madde miktarı elde edilmiştir. Bu izolatı sırası ile F15 ve M9 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemi izlemiştir. En yüksek nodül sayısı, nodül kuru madde miktarı, nodül azot içeriği toplam azot içeriği, simbiyotik etkinlik ve fosfor içeriği M2426 izolatının 5 günlük kültürleri ile aşılamasından elde edilmiştir. Bu izolatı sırası ile F15 ve M9 izolatlarının 5 günlük kültürleri ile aşılama işlemleri izlemiştir. Beş günlük kültürler ile aşılama işlemi dekara 5 kg azotlu mineral gübreleme ile eşdeğer bulunmuştur.

Mercimek bitkisinin aşılmasında kullanılan ve etkinliği belirlenen *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* M2426 izolatının sera koşullarında ve steril ortamda vermiş olduğu sonuçların pratiğe uygulanabilmesi için denemenin tarla koşullarında da yapılmasının hem çevre hem de tarımsal açıdan daha büyük önem taşıyacağı muhakkaktır. Serada etkinliği tespit edilmiş izolatların doğal koşullarda aynı yeteneklerini göstereceklerini düşünmek yanıltıcı olabilir (Çakmakçı 1987). Bakteri özellikleri ve mikrobiyal gübrelemede dikkat edilmesi gereken unsurlar göz önüne alınarak yapılan bu aşılama çalışmasının daha ileri aşamada tarla koşullarına uygulanacak olan mikrobiyal gübreleme çalışmalarına ışık tutacağı yargısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akçin, A., 1981. Yemekli dane baklagiller, Selçuk Üni. Yay:43, Ziraat Fak. Yay:8, Konya.
- Alexander, M., 1961. Introduction to soil microbiology, Toppon Comp.Ltd. Tokyo, Japon.
- Altuntaş, S., 1989. Sterilize edilen ve sterilize edilmeyen pit (organik materyal) ile hazırlanan nodozite bakteri kültürlerinin kapsadıkları Rhizobium sayıları, T.C.Tarım Orman ve Köy İşleri Bak. Köy Hiz.Gen.Müd. Toprak ve Gübre Araş.Enst.Müd. Yayınları, Genel Yayın No:156, Rapor Seri No:R.79, Ankara.
- Anonim, 2008. T.C.Başbakanlık Devlet Meteoroloji İşleri Müdürlüğü, Erzurum Bölge Müdürlüğü Raporları.
- Anonymous, 1980. Soil testing and plant analysis. Bull. 38/1. Food Agriculture Organization, Rome-Italy.
- Anonymous, 1984. Legume inoculants and their use FAO, Rome.
- Anonymous, 1985. FAO Fertilizer Yearbook.
- Arıoğlu, H., 1989. Yağ bitkileri (soya ve yerfıstığı), Cilt 1, Ç.Ü.Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, No:35, Adana.
- Asghar, A.B., Roidar, K.B.: And Keatinge, J.D.H., 1988. Effect of inoculation and phosphate fertilizer on lentil under rainfed conditions in upland Baluchistan. Lens Newsletter, 15 (1), 29-33.
- Atalay, İ., 1978. Erzurum ovası ve çevresinin jeolojisi ve jeomorfolojisi, Atatürk Üniversitesi Yay. No:91.
- Aydemir, O. ve İnce, F., 1988. Bitki besleme, Dicle Üni.Eğt.Fak. Yay. No:2, Diyarbakır.
- Aydemir, O., 1993. Toprak verimliliği ders notları, Atatürk Üniv.Zir.Fak.Yay. No:155, Erzurum.
- Aydın, A. Ve Sezen, Y., 1995. Toprak kimyası laboratuvar kitabı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No:174, Erzurum.
- Ayhan, K., 1994. Rhizobium bakterilerindeki nodülasyon genlerinin fonksiyonları ve regülasyonu, Kükem Dergisi, 17 (2), 43-48.
- Ayhan, K., 1995. Ankara'nın Kazan ilçesi topraklarından izole edilen Rhizobium leguminosarum suşlarının simbiyotik özelliklerinin belirlenmesi, Kükem Dergisi, 18 (1), 51-56.
- Bal, A.K., Shantharam S. And Ratnam, S., 1978. Ultra structure of Rhizobium japonicum in relation to its attachment to root hairs. J.Bacteriol, 133, 1393-1400.
- Bayraklı, F., 1987. Toprak ve bitki analizleri, 19 Mayıs Üniv.Yayınları, Yayın No:17, Samsun (Çeviri) Yazarlar: Ir.J.Ch.Van Schone Wenburg, Dr.Ir.V.J.G.Houba, Dr.Ir.I.Novolsonisky ve I.Walinga.
- Beck, D.P., Materon, L.A. and Afandi, F., 1993. Practical Rhizobium-legume technology manual. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria, 1-54.
- Bergman, K., Gulash-Hoffee, M., Hovestadt, R.E., Larosileere, R.C., Ranco, P.G. and Su L., 1988. Physiology of behavioral mutants of Rhizobium meliloti evidence for a dual chemotaxis pathway. J.Bacteriol, 3249-3254.

- Bhuneswari, T.V., Turgeon, B.G. and Bauer, W.D., 1980. Early events in the infection of soybean (*Glycine max* L.Merr) by *Rhizobium japonicum*. I. Localization of infectible root cells. *Plant Physiol*, 66, 1027-1031.
- Bhuvaneswari, T.V. and Bauer, W.D., 1978. Role of lectins in plant-microorganism interactions. III. Influence of rhizosphere/rhizoplane culture on the soybean lectin-binding properties of rhizobia. *Plant Physiol*, 62, 71-74.
- Bhuvaneswari, T.V., Mills, K.K., Crits, D.K., Evans, W.R. and Bauer, W.D., 1983. Effect of culture age on symbiotic infectivity of *Rhizobium japonicum*. Charles F. Kettering Research Laboratory, Yellow Springs, Ohio 45387.
- Bhuvaneswari, T.V., Pueppke, S.G. and Bauer, W.D., 1977. Role of lectins in plant-microorganism interactions, I. Binding of soybean lectin to Rhizobia. *Plant Physiol*, 66, 1027-1031.
- Bohloul, B.B. and Schmidt, E.L., 1974. Lectins: a possible basis for specificity in that *Rhizobium-legume* root nodule symbiosis. *Science*, 185, 269-271.
- Bordelau, L.M. and Prevost, D., 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant and Soil*, 161, 115-125.
- Bremmer, E., Van Kessel, C., Nelson, L., Rennie, R.J. ve Rennie, D.A., 1990. Selection of *Rhizobium leguminosarum* strain for lentil (*Lens Culinaris*) under growth room and Field Conditions, *Plant and Soil*, 121, 47-56.
- Brethauer, T.S. and Paxton, J., 1988. The role of lectins in soybean *Rhizobium japonicum* interactions. Lectins may not determine host specificity. In B. Solheim and R. Rao (ed.) *Cell wall biochemistry related to specificity in host-pathogen interactions*. Colombia University Press. New York, 381-388.
- Burton, S.C. and Curley, R.L., 1965. Comparative efficiency of liquid and peat base inoculants on field grown soybean (*Glycine max*).
- Burton, S.C., 1979. *Rhizobium* species. *Microbial Technology* I, 29-58.
- Cassel, D.K. and Nielsen, D.R., 1986. Field capacity and available water capacity. *Methods of soil analysis, Part I. Agronomy, Soil Science Society of America-Madison, Wisconsin, USA*, 901-924.
- Cebel, N. Ve Altuntaş, S., 1992. Soya tohumlarının nodozite bakteri kültürleri ile farklı dozlarda aşılanarak ekilmesinin dane verimi ve azot kapsamına etkileri. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bak. Köy Hiz. Gen. Müd. Toprak ve Gübre Araş. Enst. Müd. Yayınları, Genel Yayın No:187, Rapor Seri No:R.105, Ankara.
- Cebel, N., 1988. Değişik soya nodül bakteri suşlarının değişik soya çeşitlerinin verimine etkisi ve bitkilerin toplam azot kapsamına etkisi. *Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü, Genel Yayın No:147, Rapor Serisi No:R-71, Ankara*.
- Chamber, M.A., 1983. Influence of several methods for rhizobial Inoculation on nodulation and yield of soybeans. *Plant Soil*, 74 (2), 203-210.
- Chowdhury, S.L., Ram. S., Giri, G., 1976. Effect of inoculum, nitrogen and phosphorus on root nodulation and yield of lentil varieties. *Soils and Fertilizer*, 39, 328.
- Crozat, Y., Marel, J.C.C., Girand, J.J. and Obaton, M., 1982. Survival rates of *R. japonicum* populations introduced into different soils. *Soil. Biol. Biochem*, 14, 401-405.
- Çakmakçı, M.L., 1987. Biyolojik Azot tespiti ve ekolojik araştırma yöntemleri. TÜBİTAK Tarım Ormancılık Araştırma Grubu. Tarımsal Mikrobiyoloji Araştırma Grubu, Tarımsal Mikrobiyoloji Araştırma Enst. Yay. No:2, Ankara.

- Dart, P.J. and Wildon, D.C., 1970. Modulation and nitrogen fixation by vigna sinensis and vicia atropurpurea the influence of concentration from the site of application of combined nitrogen. Soil and Fertilizer Abs. 33.
- Date, R.A., 1976. Principles of Rhizobium strain selection symbiotic nitrogen fixation in plants. P.S.Nutman ed. Cambridge Univ. Press. London and Newyork.
- Demiralay, İ., 1993. Toprak fiziksel analizleri, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:143, Erzurum.
- Dunigan, E.P., Bollich P.K., Milhollon, E.P., Griffin, J. And Habetz, R., 1984. Increasing nitrogen fixation in the soybean (A preliminary report), 76th Annual Progress Report, Rice Research Station, Crowley, Louisiana, 307-308.
- Ersin, B. 1984. Ege Yöresinde Nodozite Bakteri Kültürü ve Aşılamının Sera ve Tarla Koşullarında Nohut Verimine ve Azot Kapsamına Etkisi. Köy Hizmetleri Araştırma Enstitüsü Yayınları, Genel Yayın No:108. Menemen-İzmir.
- Ersin, B., 1978. Ege koşullarında nodozite bakteri kültürü ile aşılamının tarla koşullarında fiğın verimi ile azot kapsamına etkisi. Menemen Bölge Topraksu Araşt.Enst. Müd., Menemen
- Ersin, B., 1983. Ege koşullarında nodozite bakteri kültürleri ile aşılamının sera ve tarla koşullarında bakla verimi ve azot kapsamına etkisi. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü. Genel Yayın No: 91 Seri No: R-64.
- FAO, 1990. Micronutrient assesment at the levels an international study. FAO. Soil Bulletin, 63, Rome.
- Flores, R.D., Palacios, M.S. and Vollejo, G.E., 1987. The effect of fertilization and inoculation with Rhizobium variety BM-2 on soybean considering yield and quality of seed under field conditions with three crops per year, Rev Latinoam Microbiol, 29 (41), 311-320.
- Gaswami, R., 1967. Agricultural Microbiology, London, Asia Publishing House.
- Gee, G.W. and Bauder, J.W., 1986. Particle-size analysis. Methods of soil analysis Part I.Physical and Mineralogical Methods, Second Edition. American Society of Agronomy, Soil Sci. Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 383-409.
- Goh, T. Boon, Arnaud, R.J.St. and Mermut, A.R., 1993. Carbonates. Chapter 20, Soil sampling and methods of analysis. Edited by: Martin R. Carter. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 177-185.
- Gold, E.R., 1976. Are all antibodies immunoglobulins? Lancet II, 422.
- Grassia, A., 1978. Enumeration of Rhizobium from a plant infection dilution assay using test plants grown in vermiculate. Soil Biol. Biochem, 10, 101-104.
- Greenwood, D.J. and Hunt, J., 1986. Effect of nitrogen fertilizer on the nitrate contents of field vegetables grown in Britain. Journal of the Science of Food and Agriculture, 37, 373-383.
- Grimm, S.S., Jones, J.W., Boote, K.J. and Herzog, D.C., 1994. Modeling the occurrence of reproductive stages after flowering for four soybean cultivars. Published in Agron, J., 86, 31-38.
- Günay, A., 1984. Özel sebze yetiştiriciliği, Cilt III, Ankara Üniversitesi Bahçe Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara.
- Gür, K., 1987. Toprak biyolojisi Selçuk Üniv.Zir.Fak.Yay. No:10, Konya.
- Gürbüzer, E., 1980. Orta Anadolu koşullarında en fazla azot tespit etme özelliği gösteren mercimek ve nohut nodozite bakterilerinin seçimi, Ankara Top. Ve Güb.Araç.Enst.Müd.Yay. No:102, Rap.Seri No:25.

- Gürbüzer, E., 1982. Nodozite bakteri kültürlerinin değişik sıcaklık derecelerinde kullanılabilme süreleri, T.C.Tarım Orman ve Köy İşleri Bak. Toprak ve Gübre Araş.Enst.Yayınları, Genel Yayın No:118, Rapor Seri No:56, Ankara.
- Gürgün, V. Ve Halkman, A.K., 1988. Mikrobiyolojide sayım yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yay. No:7, San Matbaası, Ankara.
- Haktanır, K., 1986. Toprak biyolojisi ders notu. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fak. Teksir No:132, Ankara.
- Hallsworth, E.G., 1958. Nutrition of the of the legumes butter worths Scentific Publi., London.
- Hamdi, Y.A., Samea, A. And Loutfi, E., 1975. Field and greenhouse experiments on the response of legumes in Egypt to inoculation and fertilizers. Symbiotic Nitrogen Fişation In Plants. Ed. P.S. Nutman. Cambridge University Press. London, Newyork, Melbourne, 289-298.
- Hendershot W.H., Lalande, H. And Duquette, M., 1993. Soil reaction and excahngeable acidity. Chapter 16, Soil Sampling and Methods of Analysis. Edited by: Martin R.Carter. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 141-145.
- Hymowitz, T., Jethmalani, S.C., Tiwari, K.L. and Walker W.M., 1971. Effect of inoculum, variety, nitrogen, phosphorus and potassium on yield, protein and oil content of soya beans at jabalpur. Soil and Fertilizer, 36, Abs. (814).
- Iruthayathas, E.E., and Vlassak, K., 1985. The effect of soil pH on nodulation and N₂-fixation by *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil, 149, 95-102.
- İkram, A. And Broughton, W.J., 1981. Rhizobia in tropical legumes. IX.Pot and field trials with inoculant for *Phosphocarpus tetragonalobus* (L.) D.C.Soil Biology and Biochem, 12, 203-209.
- Jimenez, T. and Villalobos, E., 1980. Responce of soybeans to inoculation with *Rhizobium japonicum* and to fertilization with nitrogen phosphorus in Costa Rica. Agronomia Costarricense, 4 (1), 1-8.
- Kabi, M.C. and Behari, K., 1990. Improvement of yield of chiepea and lentil and Burdwan soils trough enrichment of rhizospheres with native rhizobia. Ondian Agriculturist, 34 (3), 163-167.
- Kacar, B., 1972. Bitki ve toprağın kimyasal analizleri II. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları:453, Uygulama Klavuzu:155, Ankara Üniv.Basımevi, Ankara.
- Kadioğlu, A., 1998. Bitki fizyolojisi, Trabzon, 84-99.
- Kantar, F., Kızıloğlu, F.T., Çağlar, Ö. And Akten, Ş., 1994. Lentil (*Lens culinaris* L.) yields in relation to *Rhizobium leguminosarum* inoculation In Eastern Anatolia. The International Center for Agricultural Research in The Dry Areas (ICARDA), University of Saskatchewan, Kanada, Lens Newsletter 21 (2), 36-41.
- Karuç, K., Cebel, N. Ve Altuntaş, S., 1993. Ankara ili Kazan ilçesi topraklarının doğal *Rhizobium* populasyonu. T.C.Başbakanlık Köy Hizmetleri Genel Müd. Toprak ve Gübre Araş.Enst.Müd., Genel Yayın No:194, Rapor Seri No: R112, Ankara.
- Keeney, D.R. and Nelson, D.W., 1982. Nitrogen-inorganic forms. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America-Madison, Vinconsin, USA, 643-663.

- Kızıloğlu, F.T. ve Bilen, S., 1997. Toprak mikrobiyolojisi laboratuvar uygulamaları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları No:193, Atatürk Üni.Zir.Fak. Ofset Tes. Erzurum.
- Kızıloğlu, F.T. ve Öztürk, A., 1992. Nodül oluşumunda baklagil-Rhizobium karşılıklı etkileşmelerinin biyolojisi (çeviri). Yüzüncü Yıl Üni. Fen-Ed. Fak. Fen Bil.Derg., 3 (3), 37-50.
- Kızıloğlu, F.T., 1991. Değişik dozlardaki Nitrojenli gübrelemenin ve Rhizobium japonicum kültürleri ile aşılmanın Erzurum tarla koşullarında, bazı soya çeşitlerinin ürün verimi, protein ve yağ içeriğine etkisi, 7.KÜKEM Kongresi KÜKEM Derg. Özel Sayı, 14 (2), 52-53.
- Kızıloğlu, F.T., 1992. Erzurum yöresinde üretilen yeşil mercimek (*Lens clunaris*) bitkisinin etkili Rhizobium leguminosarum suşlarının seçimi üzerine bir araştırma, Atatürk Üni. Ziraat Fak. Der. 23 (1), 39-52.
- Kızıloğlu, F.T., 1996. Seçilmiş Rhizobium izolatları ile aşılamanın Erzurum tarla koşullarında adi fiğ (*Viçia satvia* L.) bitkilerinin ürün verimi ve protein içeriğine etkisi, TÜBİTAK, Tr.J.of Agriculture and Forestry, 20, 49-54.
- Kızıloğlu, F. T., 1995. Toprak Mikrobiyolojisi ve Biyokimyası. Atatürk Üniversitesi Yayınlarıö Yayın No: 180, Erzurum.
- Knudsen, D., Peterson, G.A. and Pratt, P.F., 1982. Lithium, sodium and potassium. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 225-245.
- Kumar, P. And Agarwal, J.P., 1993. Response of lentil (*Lens esculentus* L.) to Rhizobium inoculation, nitrogen and phosphorus fertilization. India. Agronomy Journal, 38 (2), 318-320.
- Lanyon, L.E. and Heald, W.R., 1982. Magnesium, calcium, strontium and barium. Methods of Soil Analysis Part 2.Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America-Madison, Wisconsin, USA, 247-260.
- Leloğlu, N., 1973. Genel mikrobiyolojisi, Atatürk Üniversitesi Yayın No:234, Erzurum
- Lie, T.A., 1981. Environmental physiology of the legume Rhizobium symbiosis in nitrogen fixation, Ecology, I, 104-134, Ed.W.J.Broughton: Clarendon Press. Oxford.
- Mallik, M.K. and Sanoira, C.L., 1980. Effects of rhizobia isolated from pea group hosts on lentil (*Lens esculenta*) in the same soil in pots and field. Indian J. Of Agric. Chemistry, 15 (1), 69-73
- Mc Gill, W.B. and Figueiredo, C.T., 1993. Total nitrogen. Chapter 22. Soil Sampling and Methods of Analysis. Edited by: Martin R.Carter. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 201-211.
- Mort, A.J. and Bauer, W.D., 1980. Composition of the capsular and extracellular correlations with binding of soybean seed lectin to the bacteria. Plant Physiol, 66, 158-163.
- Newcomb, W., Sippel, D. And Peterson, R.L., 1979. Early morphogenesis of Glycine max and Pisum sativum root nodules. Can. J.Bot., 57, 2603-2616.
- Nichols, R., 1965. Studies on the major element deficiencies. On the pigeon pea (*Cojanus Cajan*) in sand culture, Plant And Soil, 22.
- Nutman, P.S., 1965. Symbiotic nitrogen fixation in soil nitrogen. W.V.Bartholemew; Francis E.C.Ed.American Society of Agronomy Madison Wisconsin, U.S.A.

- Nutman, P.S., 1975. Rhizobium in the soil microbiology. N.Walker, D.Ph. and F.R.I.C. (Ed.) by, First Published. The White Friars Pres Ltd. London and Tonbridge, 111-127.
- Oakes, H., 1958. Türkiye toprakları. Türk Yüksek Ziraat Mühendisleri Birliği Neşriyatı. Sayı:18, 3.Toprak Haritası, İzmir.
- Olsen, S.R. and Sommers, L.E., 1982. Phosphorus. Methods of Soil Analysis Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. American Society of Agronomy. Soil Sci. Society of Amerika-Madison, Wisconsin, USA, 403-427.
- Öğütçü, H., 2000. Yabani baklagil bitkilerinden izole edilen Rhizobium suşlarının baklagil bitkilerinde nodül oluşturma ve azot bağlama potansiyellerinin araştırılması. Atatürk Üni. Fen Bilimleri Enst., Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Anabilim Dalı, Doktora Tezi (Yayınlanmamış) Erzurum.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M. Ve Kaptan, H., 1993. Toprak bilimi, P.Schachtschabel, H.-P.Blume, G.Brunner, K.-H.Hartge, U.Schwertmann (Çeviri) Ç.Ü.Zir.Fak.Ders Kitapları Yay. No:16.
- Özkoç, İ. Ve Çakmakçı, L., 1992. Bazı baklagil tohumlarının Rhizobiub bakterileri ile ön inokülasyon olanakları. Doga Tr.J. of Biology, 16, 85-97.
- Parodi, P.C., Nebreda, I.M., Alvarez, D. And Undurraga, J.L., 1981. Effect of Rhizobium japonicum and chemical nitrogen on two soybean cultivar, Argon. Abst. 73rd annual meeting, Amer. Soc. Of Argon, Madison, Wisconsin, USA, 94.
- Patel, K.K. and Sanoria, C.L., 1982. Nodulation potential of isolated of Rhizobium leguminosarum from eastern. U.P.Science and Culture, 48 (11), 388-389.
- Patil, P.L. and Medhane, N.S., 1974. Seed inoculation studies in gram (Cicer arietinum L.) with different strains of Rhizobium sp. Plant and Soil, 40, 221-223.
- Paul, E.A. and Clark, C.E., 1989. Soil microbiology and biochemistry. Academic Press, C.A.San Diego.
- Prevost, D., Bordeleau, L.M. and Antoun, H., 1987. Symbiotic effectiveness of arctic rhizobia on a temperate forage legume (Onobrychis vicifolia). Plant and Soil, 104, 63-69.
- Rai, R., 1992. Effect of nitrogen levels and Rhizobium strains on symbiotic N₂ fixation and grain yield of Phaseolus vulgaris L. Genotypes in normal and salina-sodic soils. Biology and Fertility of Soil, 14 (4), 203-299.
- Rennie, R.J. and Dubetz, S., 1984. Soybean as a N₂-fixing crop, Research Highlights 1983, Research Station. Lethbridge, Alberta, Agriculture Canada, 76-80.
- Rhoades, J.D., 1982. Cation exchange capacity. Methods of Soil Analysis Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Second Edition American Soci. Of Argon. Soil Science Society of Amerika-Madison, Wisconsin, USA, 149-157.
- Roughley, R.J., 1968. Some factors influencing the growth and survival of the root nodule bacteria in peat culture. J.Applied Bacteriol, 31, 259-265.
- Rupela, O.P., Teomsan, B., Mittal, S., Dart, P.J. and Thompson, J.A.1987. Chickpea Rhizobium populations. Surveys of influence of season, soil depth and cropping pattern. Soil Biol Biochem, 19 (3), 247-252.
- Sağlam, T., 1994. Toprak ve suyun kimyasal analiz yöntemleri. Trakya Üni. Tekirdağ Ziraat Fak. Yayınları, No:189.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1992. Plant physiology. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, 682-705.

- Sangakhara, U.R. and Marambe, B., 1989. Effect of method of inoculation and nitrogen fertilizer on nodulation and yield of selected tropical legumes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 162 (5), 305-309.
- Sarioğlu, G., 1994. Biyolojik azot tespiti, *Kükem Dergisi*, 17 (2), 17-21.
- Sarioğlu, G., Özçelik, S. Ve Kaymaz, S., 1993. Elazığ ve yöresinde üretilen mercimek bitkilerinden etkili nodozite bakterilerinin (*Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*) seçimi. *Doğa Tr.Journal of Agricultural and Foresty*, 17, 569-573.
- Saygılı, H., 1995. Fitobakteriyoloji, Ege Üni.Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Ders Kitabı, Doğruluk Matbaası, Bornova-İzmir.
- Sekhon, H.S., Dhingra, K.K., Sandhu, P.S: and Bhandari, S.C., 1986. Effect of time of sowing phosphorus and herbicides on the response to *Rhizobium* inoculation. *Lens Newletter*, 13 (1), 11-15.
- Sezen, Y., 1995. Gübreler ve Gübreleme Kitabı, Atatürk Üniversitesi Yayınları No:679, Ziraat Fakültesi Yayınları No:303, Ders Kitapları Serisi No:55, Erzurum.
- Somasegaran, P. And Hoben, H.J., 1985. Methods in legume-Rhizobium technology. University of Hawaii, Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, College of Tropical Agric. And Human Resource. Library of Congress, Number 87-106109, 1-2.
- Sommer, C. And Bramm, A., 1981. Attempts of irrigation control according to plant physiological criteria. A Paper Presented in 9th International Congress of Biometeorology from September 23 to October 1, Stuttgart-Hohenheim.
- Strijdom, B.V. and Deschodt, C.C., 1976. Carriers of rhizobia and the effects of prior treatment on the survival of rhizobia. *Symbiotic nitrogen fixation in plants*. P.S.Nutman ed. Cambridge Univ. Press. London and Newyork.
- Subba Rao, N.S., 1976. Field response of legumes in India to inoculation and fertilizer applications. *Symbiotic nitrogen fixation in plants*. Ed.P.S.S.Nutman. Cambridge University Press.
- Taiz, I. And Zeiger, E., 1991. Stres physiology (Plant Phyology), The Benjamin/Cummings Pub.Con.Inc. California, 363.
- Tiessen, H. And Moir, J.O., 1993. Total organic carbon. Chapter 21. Soil Sampling and Methods of Analysis. Edited by: Martin R.Carter. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, 187-199.
- Toms, G.C., 1981. Advance in legume systematics. Part II. Lectins in Leguminosae. Edited by R.M.Pohil and P.H.Raven. Royal Botanic Garden, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3AE, England, 561-577.
- Tovep, 1991. Türkiye toprakları verimlilik envanteri. T.C.Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü.
- Turgeon, B.G. ve Bauer, W.D., 1982. Early events in the infection of soybean by *Rhizobium japonicum*. Time course and cytology of the initial infection process. *Can.J.Bot.*, 60, 152-161
- Turhan, O.H., 1998. Toprak tuzluluğunun, değişik *Rhizobium viciae* izolatları ile aşıl原因 fasulye (*Phaseolus Vulgaris*) bitkisinin çeşit, gelişim, nodülasyon ve nifiksasyonuna etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış), Erzurum.
- Uçar, F. Ve Öner, M., 1988. Nohut kök nodüllerinden izole edilen *Rhizobium* suşlarının morfolojik ve biyokimyasal karakterleri. *Doğa Turk Biyol. (Genetik Mikrobiyoloji, Moleküler Biyoloji, Sitoloji)*, 12 (2), 135-141.

- Ülgen, H., 1975. Baklagil bitkilerinin nodül bakterileri ile aşılınması. T.C.Köyişleri Bakanlığı, Topraksu Genel Müdürlüğü, Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü. Genel Yay. No:56, Teknik Yay. No:40, Ankara.
- Ülgen, N. Ve Yurtsever, N., 1995. Türkiye gübre ve gübreleme rehberi. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Yay., Genel Yayın No:209, Teknik Yayınlar No:209, Teknik Yayınlar No:T.66, Ankara.
- Van Schreven, D.A., 1970. Some facçtors of affecting growth and survial of Rhizobium spp. In soil-pet culture. Plant and Soil, 32, 113-130.
- Vincent, J.M., 1968. Basic considerations effecting the practice of Legume seed inoculation. Department of Microbiology. University of New South Wales, Australia.
- Vincent, J.M., 1970. A. Manual For The Practical Study of Root, Nodule Bacteria. IBP. Handbook No:15, Blackwell Scientific Publications. Oxford, England.
- Weaver, R.W. and Frederick, L.R., 1974. Effect of inoculum rate on compretive nodulation of Glycine max. L.Merrill I.Greenhouse studies. II.Field studies. Argon, J.66, 229-236.
- Yıldız, N. ve Bircan, H., 1991. Araştırma ve deneme metotları, Atatürk Üniv. Yay., No:697, Zira. Fak. Yay. No:305, Ders Kitapları Serisi No:57, Erzurum

ÖZGEÇMİŞ

Erzurum Oltu’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2001 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Peysaj Mimarlığı Bölümünden 2005 yılında mezun oldu. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Öğrenimi’ne başladı.