

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TOPRAK BİLİMİ VE BİTKİ BESLEME YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2024-YL-110

AYDIN İLİ KOÇARLI İLÇESİNDE YONCA YETİŞTİRİLEN TOPRAKLARIN
DOĞAL *rhizobium* POPÜLASYONUNUN BELİRLENMESİ

Sevda Duygu COŞAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Selçuk GÖÇMEZ

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
Proje No: ZRF-16020 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2024

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü TOPRAK BİLİMİ VE BİTKİ BESLEME Yüksek Lisans Programı öğrencisi Sevda Duygu COŞAN tarafından hazırlanan “AYDIN İLİ KOÇARLI İLÇESİNDE YONCA YETİŞTİRİLEN TOPRAKLARIN DOĞAL rhizobium POPÜLASYONUNUN BELİRLENMESİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/08/2024

Üye (T.D.)	Dr. Öğr. Üyesi Selçuk GÖÇMEZ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	Prof. Dr. Nur OKUR	Ege Üniversitesi
Üye	Doç. Dr. Saime SEFEROĞLU	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Fen Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiş

Prof. Dr. Ethem AKTÜRK
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Tarımda alınan ürün miktarını sınırlandıran en önemli element azottur. Bitkilerin amonyum ve nitrat iyonlarına olan ihtiyacının fazla olmasına rağmen, toprak içerisinde çok az miktarda azot bulunmaktadır.

Azotun ana kaynağı havadır. Havanın ortalama %80'ini serbest azot oluşturmaktadır. Fakat bitkilerin bu azottan faydalanabilmeleri için hidrojen ve oksijen iyonları ile birleşmesi gerekmektedir. Havadaki serbest azotu yalnızca azot tespit eden organizmalar kullanabilme yeteneğine sahiptirler. *Rhizobium* ve *Bradyrhizobium* bakterileri baklagillerle ortak yaşam sonunda havanın serbest azotunu bitkiye kazandırmaktadır. Baklagillerin aşılansarak ekilmesi ile önemli miktarda azot kazancı sağlanabilir.

“*Aydın İli Koçarlı İlçesinde Yonca Yetiştirilen Toprakların Doğal Rhizobium Popülasyonunun Belirlenmesi*” başlıklı Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi ve çalışmaların yürütülmesinde değerli bilgileriyle yaptığı katkılarından dolayı Yüksek Lisans Tez Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Selçuk GÖÇMEZ’e, tezimin her aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Özlem KARAKAŞ’a, laboratuvar çalışmalarında bana destek olan Ersin KARADEMİR’e ve yüksek lisans tez arkadaşım Fatih DEVECİ’e teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak her zaman desteklerini gösteren, sevgi, anlayış ve desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen çok sevgili aileme teşekkür ederim. Ayrıca yürütmüş olduğum çalışmanın gerçekleşmesi için maddi destek sağlayan ADÜ Bilimsel Araştırma Fonu (Proje No: ZRF-16020)'na teşekkür ederim.



BİLİMSEL ETİK BEYANI

“AYDIN İLİ KOÇARLI İLÇESİNDE YONCA YETİŞTİRİLEN TOPRAKLARIN DOĞAL rhizobium POPÜLASYONUNUN BELİRLENMESİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Sevda Duygu COŞAN

08 / 11 / 2024



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	iii
BİLİMSEL ETİK BEYANI	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
ÖZET	xix
ABSTRACT	xxi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dünya Geneline ve Türkiye’de Yonca (<i>Medicago sativa</i> L.) Yetiştiriciliği ve Önemi	2
1.2. Baklagillerde Simbiyotik N fiksasyonu.....	5
1.3. Baklagil Köklerinde Nodül Oluşumu	6
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Çalışma Alanına Ait Bilgiler ve İklim Özellikleri	18
3.2. Yöntem	19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	31
4.1. Toprak Örneklerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	31
4.2. Bakteri Aşılamalarının Bitki Boyu, Yaş ve Kuru Ağırlığı Üzerine Etkileri ve %Değişim Oranları	35
4.3. Bakteri Aşılamalarının Bitki Azot İçeriğine Etkileri ve % Değişim Oranları.....	38

4.4. Bakteri Aşılamalarının Toplam ve Aktif Nodül Sayıları, Tespit Edilen Azot Miktarı, Simbiyotik Etkinlik (%) ve Etkinlik Derecesi (%) Üzerine Etkileri	41
4.5. Yonca Nodüllerinden İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik, Fizyolojik ve Genomik DNA Tanımlamasına Dayalı Özellikleri.....	46
5. SONUÇ.....	51
KAYNAKLAR.....	53
ÖZ GEÇMİŞ.....	63



SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram





KISALTMALAR DİZİNİ

Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
DNA	Deoksiribonükleik Asit
E.C.	Elektriksel iletkenlik
Fe	Demir
gr	Gram
K	Potasyum
lt	Litre
m	Metre
m ²	Metre kare
Mg	Magnezyum
mg	Miligram
Mn	Mangan
N	Azot
PCR	Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu
P	Fosfor
ppm	Milyonda bir
sp	Species - Tür
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
USDA-NASS	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Ulusal Tarım İstatistikleri Servisi'
Zn	Çinko



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Baklagil köklerinde nodozite oluşumu (Oldroyd ve Downie, 2004).	6
Şekil 3.1. Aydın ili Koçarlı ilçesine ait uzun yıllık (1979-2024) ortalama yağış ve sıcaklık değişimi (Meteoblue, 2024).	19
Şekil 4.1. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinin % N içeriği ve uygulamalara bağlı olarak azotun % değişim oranı	41
Şekil 4.2. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Tespit edilen N (mg N /kavanoz) miktarı üzerine etkileri.....	43
Şekil 4.3 Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Simbiyotik Etkinlik (%) derecesi üzerine etkileri	44



RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Çalışma alanından toprak, kök ve nodül örneklerinin alınması.....	17
Resim 3.2. Nodüllerin dezenfeksiyonu ve YEMA (Yeast Extract Mannitol Agar) besiyerine bakterilerin aşılması.....	20
Resim 3.3 Gram Boyama	21
Resim 3.4 Leonard kavanoz sistemi ve hazırlanması	23
Resim 3.5. Tohumların çimlendirilme ve ekilmesi.....	24
Resim 3.6. Bakterilerin sıvı YMB besin ortamında çoğaltılması, bitki kök bölgesine uygulanması ve iklimlendirme odasından görüntüler	26
Resim 4.1. Bakteri uygulamalarının bitki boyu ölçümü ve nodül oluşumu ile ilgili fotoğraflar.	38



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de 2010-2023 yılları arası yonca bitkisi ekiliş alanları ve üretim miktarları (TÜİK, 2024).	3
Çizelge 3.1. Yonca bitkisi nodülü ve toprak örneklerinin alındığı noktalar ve koordinatları ..	18
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan N içermeyen Jensen Besin Solusyonu içeriği (Vincent, 1970).....	23
Çizelge 3.3 Deneme planı ve uygulamalar.....	24
Çizelge 3.4 Leonard kavanozu denemesinde kullanılan kum materyaline ait bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.....	26
Çizelge 4.1. Yonca köklerinin alındığı arazilere ait toprakların kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları	32
Çizelge 4.2. Leonard Kavanoz sisteminde yetiştirilen yonca bitkisine ait bitki boyu, yaş ve kuru ağırlık ile bu değerlerin Azotsuz kontrol uygulamasına göre % Değişim oranları.....	36
Çizelge 4.3. Denemede yetiştirilen yonca bitkilerinin toplam azot ve kuru Biyobütle miktarları	39
Çizelge 4.4 Farklı İnokulant uygulamalarının Yonca bitkisinde % N içeriğine etkisine ait varyans analiz tablosu ($LSD_{0,01:0,161}$).....	40
Çizelge 4.5. Bakteri Aşılamalarının Toplam ve Aktif Nodül Satıları, Tespit Edilen Azot Miktarı, Simbiyotik Etkinlik (%) ve Etkinlik Derecesi (%) Üzerine Etkileri	42
Çizelge 4.6. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Tespit Edilen N (mg N /kavanoz) miktarına etkisine ait varyans analiz tablosu ($LSD_{0,01:0,158}$).....	42
Çizelge 4.7. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Simbiyotik Etkinlik (%) derecesine ait varyans analiz tablosu ($LSD_{0,01:0,167}$).....	45
Çizelge 4.8. Bakteri uygulamalarının bitkilerde Etkinlik Derecesi (%) sınıflandırma çizelgesi	45
Çizelge 4.9. İzole edilen bakteri örneklerinin morfolojik, fizyolojik ve genetiksel özellikleri	46



ÖZET

AYDIN İLİ KOÇARLI İLÇESİNDE YONCA YETİŞTİRİLEN TOPRAKLARIN DOĞAL *rhizobium* POPÜLASYONUNUN BELİRLENMESİ

Coşan, S. D. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi,
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Selçuk GÖÇMEZ, Aydın, 2024.

Amaç: Aydın ili Koçarlı ilçesinde yonca (*Medicago sativa*) tarımının yapıldığı alanlardan havanın serbest azotunu bitkiye yarayışlı hale getiren, yonca bitkisi ile ortak yaşam (simbiyosis) sistemi kuran, *Rhizobium* sp. popülasyonunu ve izolatlarının etkinliklerinin belirlenmesi ile yonca tarımı yapılan alanlarda azotlu gübre kullanılmasının azaltılması, buna göre toprak ve taban suyu kirliliğinin önlenmesi, milli ekonomiye katkısı amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem: Aydın-Koçarlı ilçesinde 6 farklı yonca tarımı yapılan alan belirlenerek seçilmiştir. Yonca tarım alanlarından bitki kök bölgesi ve toprağı ayrı ayrı alınarak laboratuvara götürülmüştür. Yonca (*Medicago sativa*) bitkisinin köklerinden alınmış olan nodül örneklerinden izole edilen izolatlar sera denemesinde kullanılmıştır. Toprak örneklerinde fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır.

Bulgular: Koçarlı ilçe sınırları içerisinde yonca (*Medicago sativa*) tarımı yapılan alanlarda bitki köklerinden izole edilen bakteri izolatlarının yonca bitkisinin toplam N içeriğine etkilerinin istatistiki anlamda önemli olduğu belirlenmiştir. Buna göre yonca bitkisinde toplam N içeriği en yüksek İnokulant-6 uygulamasında belirlenirken, bunu sırasıyla +N Kontrol, İnokulant-4, İnokulant-2, İnokulant-1, İnokulant-3 ve İnokulant-5 izlemiştir. En düşük toplam N içeriği –N Kontrol uygulamasında elde edilmiştir.

Sonuç: Bu sonuçlar göstergesinde yonca bitkisinin nodüllerinden elde edilen bakteri izolatlarının topraklara uygulanması neticesinde özellikle İnokulant-6 uygulamasında +N Kontrol uygulamasından daha iyi sonuçlar alındığı belirlenmiştir. Denemede, bakteri aşılması yapılmayan yonca bitkilerinde nodül oluşumu gözlemlenmemiştir. Bu bulgu, bakteri aşılmasının baklagillerde nodül oluşumu üzerine etkinliğini net olarak ortaya koymaktadır.

Anahtar sözcükler: *Rhizobium*, Yonca, Azot fiksasyonu, Nodül, İnokulant



ABSTRACT

DETERMINATION OF NATURAL *rhizobium* POPULATION IN ALFALFA GROWING SOILS IN KOÇARLI DISTRICT OF AYDIN PROVINCE

Coşan, S. D., Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Soil Science and Plant Nutrition, Master Thesis, Supervisor: Assist. Prof. Dr. Selçuk GÖÇMEZ Aydın, 2024.

Objective: It was aimed to reduce the use of nitrogen fertilizers in the areas where alfalfa (*Medicago sativa*) is cultivated in Koçarlı district of Aydın province by determining the activities of *Rhizobium* sp. population and isolates, which make the free nitrogen of the air useful for the plant, establish a symbiosis system with alfalfa plant, reduce the use of nitrogen fertilizers in alfalfa cultivated areas, prevent soil and ground water pollution accordingly, and contribute to the national economy.

Material and Methods: Six different alfalfa cultivation areas were selected in Aydın-Koçarlı district. The plant root zone and soil were taken separately from the alfalfa farming areas and taken to the laboratory. Isolates isolated from nodule samples taken from the roots of alfalfa (*Medicago sativa*) plants were used in the greenhouse experiment. Soil samples were analyzed physically and chemically.

Findings: It was determined that the effects of bacterial isolates isolated from the roots of alfalfa (*Medicago sativa*) on the total N content of alfalfa plants were statistically significant in Koçarlı district. Accordingly, the highest total N content in alfalfa plant was determined in Inoculant-6 application, followed by +N Control, Inoculant-4, Inoculant-2, Inoculant-1, Inoculant-3 and Inoculant-5, respectively. The lowest total N content was obtained in -N Control treatment.

Results: In the results presented, it was determined that the application of bacterial isolates obtained from the nodules of alfalfa plants to soils yielded better outcomes, particularly with the Inoculant-6 application, compared to the +N Control application. In the experiment, no nodule formation was observed in alfalfa plants that were not inoculated with bacteria. This finding clearly demonstrates the effectiveness of bacterial inoculation on nodule formation in legumes.

Keywords: Rhizobium, Alfalfa, Nitrogen fixation, Nodule, Inoculant

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artmasıyla artan ihtiyaçları karşılamak amacıyla yapılan çalışmalar arasında, bitkisel üretimde verim artışı sağlamak önemli bir yere sahiptir. Tarımsal uygulamalarda verimliliği artıran başlıca besin elementlerinden biri de azottur. Azotun bu kadar önemli olmasının nedeni, bitkinin organik yapısında yer alması ve bitki gelişimi ile büyümesinde hayati roller üstlenmesidir. Azot, bitkilerdeki temel yapısal bileşiklerden biri olan proteinin yapı taşı olmasının yanı sıra, klorofil, enzim ve vitaminlerin yapısında da bulunan kritik bir elementtir. Doğada en yüksek oranda bulunan (% 78) element olmasına rağmen, eksikliği en yaygın görülen besin elementidir. Bu nedenle, özellikle baklagil bitkileri ile ortak yaşam kurarak biyolojik azot fiksasyonu gerçekleştiren *Rhizobium* spp. gibi azot bağlayıcı mikroorganizmaların rolü giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

*Rhizobium*ların baklagillerle olan ilişkileri son derece özel olmakta ve her baklagile özgü bir *Rhizobium* bakterisinin bulunduğu bilinmektedir. Öte yandan, *Rhizobium* türlerinin toprağa aşılması, doğal olarak toprakta bulunan *Rhizobium*larla bitkiye enfekte olma konusunda bir rekabet yaratır. Eğer toprakta rekabet avantajına sahip *Rhizobium* türleri varsa, aşılama sonrasında az ya da hiç etki gözlemlenmeyebilir.

Yonca (*Medicago sativa* L.), besin değerinin yüksek olması ve toprağı iyileştirme kabiliyetinden dolayı dünya genelinde önemli bir yem bitkisi olarak kabul edilmektedir. Yonca, sahip olduğu yüksek protein içeriği, vitaminler ve mineraller ile hayvan beslenmesinde değerli bir yem kaynağıdır. Hayvancılık sektörünün ihtiyaç duyduğu kaliteli yem ihtiyacını karşılamada kritik bir rol oynayan yonca, aynı zamanda toprağı organik madde bakımından zenginleştirerek toprak sağlığının korunmasına katkıda bulunur.

Yonca bitkisi, köklerinde simbiyotik bir ilişki kurduğu *Rhizobium* bakterileri aracılığıyla atmosferik azotu bağlayabilme yeteneğine sahiptir. Bu simbiyotik ilişki sayesinde yonca, azot ihtiyacını büyük ölçüde karşılar ve toprağın azot içeriğini artırır. Böylece, azotlu gübre kullanımının azaltılmasına ve çevresel sürdürülebilirliğe önemli katkılar sağlar. *Rhizobium* bakterileri, bitki köklerinde nodül adı verilen yapılar oluşturarak burada azot fiksasyonu gerçekleştirir. Bu süreç, bitkinin büyüme ve gelişimini desteklerken, aynı zamanda toprak verimliliğini de artırır.

Ege Bölgesi, iklim ve toprak koşulları bakımından yonca tarımı için elverişli bir bölge olarak öne çıkmaktadır. Bu bölgede yer alan Aydın ili, tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı bir bölge olup, verimli toprakları ve uygun iklim koşulları ile dikkat çekmektedir. Aydın ilinin Koçarlı ilçesi ise, yonca yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı ve bölge ekonomisi için önemli bir yere sahip olan bir alan olarak öne çıkmaktadır. Ancak, bu bölgede doğal *Rhizobium* popülasyonunun varlığı ve dağılımı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. *Rhizobium* bakterilerinin çeşitliliği ve etkinliği, yonca bitkisinin büyüme ve gelişiminde önemli bir rol oynadığından, bu mikroorganizmaların doğal popülasyonlarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, Aydın ili Koçarlı ilçesinde yonca yetiştirilen topraklarda doğal olarak bulunan *Rhizobium* popülasyonunun belirlenmesi ve bu popülasyonun dağılımının incelenmesidir. Bu doğrultuda, farklı yonca tarlalarından toprak örnekleri alınarak, *Rhizobium* izolatları elde edilecek ve bu izolatların moleküler yöntemlerle tanımlanması gerçekleştirilecektir. *Rhizobium* bakterilerinin çeşitliliği, bitki-mikroorganizma etkileşimlerinin anlaşılmasında ve tarımsal uygulamaların optimize edilmesinde önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Elde edilen veriler, bölgedeki *Rhizobium* çeşitliliğinin anlaşılmasına katkıda bulunacak ve yonca tarımında biyolojik azot fikrasyonunun artırılmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

Bu çalışmanın sonuçları, hem bilimsel literatüre hem de bölgedeki çiftçilere önemli bilgiler sunarak, sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına ve yonca tarımının verimliliğinin artırılmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca, doğal *Rhizobium* popülasyonlarının belirlenmesi, çevresel ve ekonomik sürdürülebilirlik açısından büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda, elde edilecek bulgular, tarımsal uygulamalarda biyolojik azot fiksasyonunun etkin kullanımını teşvik ederek, kimyasal gübre kullanımının azaltılmasına ve çevre kirliliğinin önlenmesine yardımcı olacaktır.

1.1. Dünya Geneline ve Türkiye’de Yonca (*Medicago sativa* L.) Yetiştiriciliği ve Önemi

Yonca (*Medicago sativa*), baklagiller (*Fabaceae*) familyasına ait, hem yeşil hem de kuru ot olarak kullanılabilen, çok yıllık ve serin iklimlerde yetişen bir yem bitkisidir. Dünya genelinde en yaygın olarak yetiştirilen yem bitkilerinden biridir ve birçok tarım sisteminde önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek besin değeri, toprak verimliliğini artırıcı özellikleri ve çok yıllık yapısı sayesinde, yonca tarımı hem hayvan beslemede hem de toprak sağlığının korunmasında stratejik bir konuma sahiptir (Anonim, 2016).

Yonca yetiştiriciliği dünya genelinde yaygın olarak yapılmakta olup, özellikle Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Rusya, Arjantin, Çin ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde yoğunlaşmıştır. FAO verilerine göre, dünya genelinde yıllık yonca üretimi yaklaşık 450 milyon ton civarındadır (FAO, 2020). ABD, dünya yonca üretiminde lider konumda olup, yılda yaklaşık 60 milyon ton üretimle küresel üretimin %13'ünü karşılamaktadır (USDA, 2022).

Yonca (*Medicago sativa* L.) ABD'de hasat edilen alan ve üretim açısından dördüncü, ekonomik değer açısından ise üçüncü en büyük üründür (USDA-NASS, 2022). Ülke aynı zamanda, yaklaşık 7 milyon hektardan elde edilen yıllık 50 milyon tonun üzerindeki saman üretimiyle dünyanın en büyük yonca üreticisidir ve mevcut piyasa değeri 9 milyar ABD dolarının üzerindedir (Gardner ve Putnam, 2018; USDA-NASS, 2022, Baral vd. 2022).

Yonca, Türkiye'de en geniş ekiliş alanına sahip yem bitkisidir. 2000 yılından 2020 yılına kadar, yoncanın ekim alanı 2.508.000 dekardan 6.628.887 dekara yükselmiştir (Güngörmez vd. 2023). TÜİK'in 2024 yılı verilerine göre, 2021 yılında toplam ekilen alanda yeşil ot üretimi 19.310.959 ton olarak kaydedilmiştir. 2020 yılında toplam 22.686.644 dekarlık yem bitkileri ekim alanı içinde, yoncanın ekim oranı %29,2'ye (6.628.887 dekar) ulaşmıştır 2023 yılında ise yonca üretimi, 6.004.043 dekarlık alanda 18.296.282 ton olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 1.1) (TÜİK, 2024).

Çizelge 1.1. Türkiye'de 2010-2023 yılları arası yonca bitkisi ekiliş alanları ve üretim miktarları (TÜİK, 2024).

Yıl	Ekilen alan (da)	Üretim (Yeşil ot, ton)
2010	5 688 107	11 676 115
2011	5 585 525	12 076 159
2012	6 741 832	11 536 328
2013	6 286 419	12 616 178
2014	6 923 055	13 432 968
2015	6 620 459	13 949 958
2016	6 501 107	15 714 381
2017	6 594 319	17 561 190
2018	6 351 052	17 544 946
2019	6 412 128	17 949 264
2020	6 628 887	19 290 519
2021	6 730 474	19 310 959
2022	6 435 927	19 064 213
2023	6 004 043	18 296 282

Pek çok baklagil ve buğdaygil yem bitkisinden birden fazla biçim elde edilebilse de, hiçbir yem bitkisi, yoncanın ulaştığı biçim sayısına ve verimine yaklaşılamamaktadır. Yoncanın yüksek verimi, bu bitkiden alınan biçim sayısının fazlalığından kaynaklanmaktadır (Özkurt, 2018). Yem bitkileri tarımında önemli bir yere sahip olan yonca, genellikle yılda üç veya dört kez hasat edilirken, sulama yapılan bölgelerde bu sayı beş veya altı (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim) kereye kadar çıkmaktadır (Güngörmez vd. 2023).

Yonca, hasat sonrası hayvan beslenmesinde kaba yem kaynağı olarak yeşil ot, kuru ot ve silaj şeklinde değerlendirilir (Tan, 1997; Toruk, 2003). Yüksek protein, kalsiyum ve diğer mineraller ile B, C, D, E ve K vitaminleri açısından oldukça zengin bir içeriğe sahip olması nedeniyle hayvan yemi olarak tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra, erozyona karşı koruyucu bir bitki ve yeşil gübre olarak da kullanılır (Anonim, 2021). Yonca, hem hayvan beslenmesinde hem de toprak için yeşil gübrelemede önemli bir mineral ve vitamin kaynağıdır. Özellikle A, D, E, K, U, C, B1, B2, B6, B12, niasin, pantotenik asit, inositol, biotin ve folik asit gibi birçok vitamin bakımından zengindir. Ayrıca, fosfor, kalsiyum, potasyum, sodyum, klor, kükürt, magnezyum ve bakır gibi pek çok mineral maddeyi de içermektedir (Putnam vd. 2001).

Yonca, kazık kök sistemiyle derin köklere sahip, çok yıllık bir yem bitkisidir. Kökleri genellikle dallanma göstermese de, etkili kök derinliği 1,2-1,8 metre arasında olup, sulama koşullarında 8-10 metreye kadar ulaşabilir. Hatta bazı kaynaklar, yoncanın 39-40 metre derinliklerde kök oluşturabildiğini belirtmiştir. Ayrıca, köklerin yüksek derecede kendini yenileme kapasitesi de önemli bir özelliğidir (Gençkan, 1992).

Yoncanın köklerinin toprak yüzeyine yakın kısımlarında, azot bağlama yeteneği olan ve *Rhizobium* bakterilerini içeren çok sayıda nodül bulunmaktadır (Orak ve Gökkaya, 2014). Bu nodüller sayesinde, yonca köklerindeki azot bakterileri (*Rhizobium* sp.) atmosferdeki serbest azotu toprağa aktararak toprakta azot birikimini sağlar (Soya vd, 2004). Yoncanın diğer baklagil bitkileri gibi simbiyotik azot fiksasyonu özelliği sayesinde sürdürülebilir tarım sistemlerinde önemli bir rol oynadığını belirtmiştir (Baharatti vd. 2018; Bahar vd. 2020).

1.2. Baklagillerde Simbiyotik N fiksasyonu

Baklagil-*Rhizobium* ortak yaşam sistemi biyolojik azot tespitinin en önemli olayıdır. Bu sistemde, bakteri havanın serbest azotunu tespit ederek bitkiye vermekte, karşılığında bitkiden karbonhidratlı maddeler almaktadır (Gürbüz, 1978). Dünya azot ekonomisine her yıl 100 milyon ton azot bu ortak yaşamlardan kazanılarak katılmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde hızlı nüfus artışına karşılık daha çok ürün almak için daha fazla azotlu gübre kullanma gereği, kirlilik, enerji ve maliyet gibi etkenlerle kısıtlanabileceği için moleküler azot (N_2) tespiti (fiksasyon) günümüzde daha çok önem taşımaya başlamıştır (Graham, 1998). Protein değeri yüksek gıda maddeleri ve hayvansal yemlerin üretiminde, baklagil bitkileri ve bunlara bağlı olarak simbiyotik azot fiksasyonu büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle, 19. yüzyılın sonlarından itibaren ekilen tohumların etkili suşlarla aşılması ve bitkilerde etkili nodozitelerin oluşumu üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Başarılı sonuçlar elde edebilmek için, suşların azot fiksasyon kapasitelerinin yüksek olması gerekmektedir. Bunun yanında, bu suşların nodül oluşumundaki rekabet yetenekleri, kültürde üreme kapasiteleri, peat ortamında ve toprakta uzun süre canlı kalabilme gibi özellikleri de önemli rol oynamaktadır (Roughley, 1970).

Seçilen suş aşılacak bitkinin köklerinde yeterli miktarda azot tespit edebilmelidir. Rekabet gücü fazla olmalı, toprakta fazla sayıda etkisiz *Rhizobium*'ların bulunması halinde de bitki köklerinde çoğalabilmeli ve nodozite yapabilmelidir. Seçilen suşlar sıvı vasatta taşıyıcıda ve tohum ekildikten sonra toprakta iyi üreme göstermelidir. Aşılamada kullanılan suş bir mevsimden diğer mevsime kadar toprakta yaşamını devam ettirebilmelidir (Nutman, 1965).

Dünya üzerinde karalar ve denizlerde yaklaşık 4×10^{15} ton, atmosferde ise yaklaşık 2×10^{15} ton azot bulunmaktadır. Ayrıca, her yıl toprağa 200-300 milyon ton azot eklenmektedir. Bu miktarın %70'i biyolojik azot fiksasyonu yoluyla, %15'i kimyasal gübrelerle, %15'i organik gübrelerle ve %10'u ise çevresel kirleticiler yoluyla gerçekleşmektedir. Yapılan hesaplamalara göre, dünya genelinde biyolojik yöntemlerle toprağa kazandırılan toplam azot miktarı yılda 175×10^6 ton olarak tahmin edilmektedir (Burns ve Hardy, 1975; Fritsche, 1990).

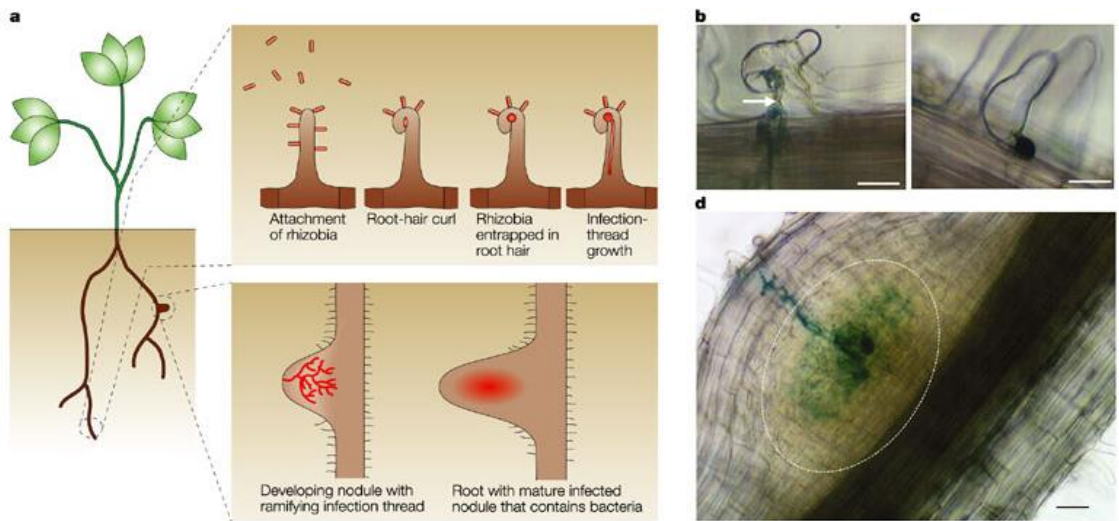
Küresel iklim değişikliği sürecinde, atmosferdeki karbondioksit miktarının ve sıcaklıkların artmasıyla birlikte kuraklık ve toprak tuzluluğunun da artacağı öngörülmektedir. Bu değişimlerin, özellikle kurak ve yarı-kurak bölgelerde yetişen baklagiller üzerinde

olumsuz etkiler yaratacağı ifade edilmiştir. Araştırmalar, baklagiller ile bakteriler arasındaki simbiyotik ilişkinin artan CO₂ koşulları altında nodül gelişimini hızlandırarak biyolojik azot fiksasyonunu artırdığını göstermektedir. Ancak, iklim senaryoları doğrultusunda 2-4 °C sıcaklık artışı ve buna bağlı olarak artan kuraklık, kök enfeksiyonlarını, nodül sayısını, nodül büyüklüğünü ve nodül gelişimini olumsuz yönde etkileyerek biyolojik azot fiksasyonunu azaltmaktadır. Ayrıca, tuzluluk stresinin nodül solunumunu ve leghemoglobin içeriğini azalttığı belirtilmiştir (Yavaş ve Ünay, 2018).

Baklagiller tarafından gerçekleştirilen azot fiksasyonu, topraktaki besin maddelerinin durumuna da bağlıdır. Herhangi bir besin elementinin eksikliği veya fazlalığı, azot fiksasyonunu doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebilir. Azot, bitkisel üretimde en çok kullanılan önemli bir girdidir. Bu nedenle, topraktaki azot miktarı da azot fiksasyonu üzerinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Düşük miktarlarda uygulanan azot, nodül oluşumunu teşvik ederken, artan azot dozları nodül oluşumunu, nodüllerin sayısını ve büyüklüğünü azaltarak azot fiksasyonunu düşürmektedir. Özellikle bitkinin ilk gelişim aşamasında, düşük miktarlarda verilen azot, bitkinin azot ihtiyacını karşılayarak nodül sayısını ve dolayısıyla azot fiksasyonunu artırmaktadır (Meral vd. 1998; Kaya vd. 2002).

1.3. Baklagil Köklerinde Nodül Oluşumu

Nodüllerin oluşumu ekimden 4-6 hafta sonra ve toprak sıcaklığının 10-12°C'ye ulaşmasından sonra başlar. Dokunun ur haline gelmesinden sonra hem miktarda hem de hacimde gelişme olur. Hacim 10-12 kat artar, bakteroid şekilleri meydana gelir. Bu andan itibaren N fiksasyonu başlamıştır (Oldroyd ve Downie, 2004).



Şekil 1.1. Baklagil köklerinde nodozite oluşumu (Oldroyd ve Downie, 2004).

İyi gelişmiş üçgül ve yonca 100 - 4000 kg N/ha/yıl fikse edebilmektedir (Brohi vd. 1994). Baklagillerin fazla olduğu meralarda yılda 50 kg/da'ın üstünde azot sağlanmaktadır (Boşgelmez vd. 1997).

Her bitki kendine özgü bakteri istemektedir. Örneğin, *Rhizobium meliloti* yonca, taş yoncası ve çemende; *Rhizobium trifolii* üçgüllerde; *Rhizobium leguminosorum* fiğ, burçak, mercimek ve bezelyede; *Rhizobium phasoli* fasulyede; *Rhizobium lupini* baklada; *Rhizobium cicer* nohutta; *Rhizobium japonicum* soya ve yerfıstığında etkin olmaktadır. Dolayısıyla, yeterli sayıda nodülün oluşması ve etkili bir fiksasyonun olabilmesi için, bitkinin yetişeceği ortamda o bitkiye has bakterinin olması gerekmektedir. Bir alanda daha önce aynı bitki yetiştirilmişse bitkiye ait bakteri o alanda zaten mevcuttur; ancak bitki ilk defa yetiştirilecekse bakteriyi aşılama yoluyla vermek gerekmektedir. Zira ilk defa yetiştirilecek ortamda bu bakteriler ya az sayıda bulunurlar ya da etkili olmazlar. Dolayısıyla, bakteriler aşılama yoluyla toprağa verilmezlerse biyolojik yolla bağlanan azot miktarı az olur (Gök ve Onaç, 1995).

Bu tez çalışmasının amacı, Aydın ili Koçarlı ilçesinde yonca yetiştirilen topraklarda doğal olarak bulunan *Rhizobium* popülasyonunun belirlenmesi ve bu popülasyonun dağılımının incelenmesidir. Bu doğrultuda, farklı yonca tarlalarından toprak örnekleri alınarak, *Rhizobium* izolatları elde edilecek ve bu izolatların moleküler yöntemlerle tanımlanması gerçekleştirilecektir. *Rhizobium* bakterilerinin çeşitliliği, bitki-mikroorganizma etkileşimlerinin anlaşılmasında ve tarımsal uygulamaların optimize edilmesinde önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Elde edilen veriler, bölgedeki *Rhizobium* çeşitliliğinin anlaşılmasına katkıda bulunacak ve yonca tarımında biyolojik azot fiksasyonunun artırılmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

Bu çalışmanın sonuçları, hem bilimsel literatüre hem de bölgedeki çiftçilere önemli bilgiler sunarak, sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına ve yonca tarımının verimliliğinin artırılmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca, doğal *Rhizobium* popülasyonlarının belirlenmesi, çevresel ve ekonomik sürdürülebilirlik açısından büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda, elde edilecek bulgular, tarımsal uygulamalarda biyolojik azot fiksasyonunun etkin kullanımını teşvik ederek, kimyasal gübre kullanımının azaltılmasına ve çevre kirliliğinin önlenmesine yardımcı olacaktır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Baklagiller büyük bir grup olup tek yıllık otlar ve çok yıllık ağaçları içeren yaklaşık 18.000 tür geniş bir gruptan oluşur. Baklagil kökenli olup baklagillerden kısa bir süre sonra tanınan üç alt familya, *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* ve hemen sonra fark edilen *Papilionoideae* ile günümüzden yaklaşık 59 milyon yıllık tarihe sahip olduğu bilinmektedir (Sprent and James, 2007). Yem bitkilerinin "kraliçesi" olarak bilinen yonca, farklı iklim koşullarına yüksek adaptasyon yeteneği ve çeşitli çevresel şartlar altında sağladığı yüksek yem verimi ile dikkat çeken bir baklagil bitkisidir (Kara vd. 2009).

Türkiye’de birçok tarım alanında uygulanan monokültür tarım, toprak verimliliğinin düşmesine yol açmaktadır (Sarioğlu vd. 1993). Aşırı gübre kullanımının maliyetleri artırdığı, toprağın biyolojik verimliliğini olumsuz etkilediği ve bitkilerde birikerek içme sularına karışmak suretiyle insan ve hayvan sağlığı için ciddi sorunlara neden olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeplerle, bitkilerin azot gereksinimlerinin bir kısmını daha düşük maliyetli olan biyolojik azot fiksasyonu ile karşılamanın önemi açıkça ortaya konulmuştur (Graham ve Vance, 2000).

Atmosferdeki elementel azot gazının (N_2) toprak mikroorganizmaları tarafından fiksasyonuna biyolojik azot fiksasyonu denmektedir. Dünya üzerinde küresel olarak biyolojik azot fiksasyonunun miktarının, yılda yaklaşık 17×10^7 ton olduğu bilinmektedir. Bu ise kimyasal azot fiksasyonunun 4 katına eşdeğer bir rakamdır. Biyolojik azot fiksasyonunda simbiyotik (ortak) ve asimbiyotik (serbest) yaşayan mikroorganizmalar tarafından N_2 , NH_3 'a indirgenir. Bu olay, simbiyoza özel olmayan nitrogenaz enzimin katalize etmesi ile gerçekleşir (Kızıloğlu, 1999). Kızıloğlu’nun (1995) yapmış olduğu bir çalışmada, 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 gerçekleştiğini belirlemiştir.

Kültüre alınmış alanlarda, fiske edilen azotun en önemli kaynağı *Rhizobium*-baklagil ortaklığına dayanmaktadır. Tarımsal sistemlerde ortalama azot fiksasyon miktarı 100 kg N/ha/yıl civarındadır. Ancak, uygun gelişme koşulları sağlandığında, doğru konukçu bitki ve suşların seçimi ile bu miktar 200 kg N/ha/yıl değerine kadar yükseltilebilmektedir (Drevon, 1983).

Tok (1997) tarafından yapılan bir çalışmaya göre, biyolojik azot fiksasyonu ile dünya genelinde bir yıl boyunca yaklaşık 1.4×10^8 ton azot tespit edilmektedir. Bu miktar, yapay gübrelerdeki toplam azot miktarının iki katına eşdeğerdir. Boşgelmez vd. (1997), serbest yaşayan ve simbiyotik ilişki kuran bakterilerin tamamı tarafından bağlanan azot miktarının 140 - 700 mg/m²/yıl arasında olduğunu belirtmiştir. Biyolojik azot fiksasyonu, çeşitli toprak mikroorganizmaları tarafından gerçekleştirilmekte olup, bu süreç simbiyotik ve asimbiyotik olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir.

Halitligil vd. (2002) bildirdiğine göre, biyolojik azot fiksasyonu ile toprağa yıllık 139-170 milyon ton saf azot bağlanmaktadır. Bu miktar, ticari olarak üretilen azot miktarının (65 milyon ton) yaklaşık iki katıdır. Bu durum, gelişmekte olan ülkeler için önemli bir sorun olan yüksek gübre fiyatlarına ve çiftçilerin kısıtlı gübre kullanımı sorununa ekonomik bir avantaj sağlamaktadır. Özellikle baklagil ve yem bitkileri, toprağa yüksek miktarda organik madde bırakmakta ve bu bitkilerin kalıntılarındaki yüksek azot oranı, toprağın azot bilançosuna olumlu katkı sunmaktadır (Hargrove, 1986; Shipley vd, 1992; Ülger vd, 1999).

Brock (1974) tarafından yapılan çalışmalara göre, baklagil-*Rhizobium* sp. ortak yaşam sistemi ile gerçekleşen azot fiksasyonu, bitkideki azot miktarını artırarak protein içeriğinin zenginleşmesini sağlamak ve aynı zamanda toprağın azot seviyesini yükselterek verimi artırmaktadır. Baklagiller, ekonomik açıdan önemli olan ve hem gıda hem de hayvan yemi olarak kullanılan pek çok bitki türünü içeren büyük bir gruptur. Tarımdaki bu önemli rolü nedeniyle, baklagil bitkileri ile *Rhizobium* türü bakteriler arasındaki simbiyotik ilişki, diğer ortak yaşam ilişkilerinden daha fazla dikkat çekmekte ve daha kapsamlı bir şekilde incelenmektedir.

Baklagiller tarafından gerçekleştirilen azot fiksasyonu, topraktaki besin maddelerinin miktar ve dengesine de bağlıdır. Herhangi bir besin elementinin eksikliği veya fazlalığı, azot fiksasyonunu doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebilir. Azot, bitkisel üretimde en çok kullanılan ve temel bir girdi olarak büyük öneme sahiptir. Bu nedenle, topraktaki azot miktarı da azot fiksasyonu üzerinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Düşük miktarlarda uygulanan azot, nodül oluşumunu teşvik ederken, artan azot dozları nodül oluşumunu, nodüllerin sayısını ve büyüklüğünü azaltarak azot fiksasyonunu düşürmektedir. Bitkinin ilk gelişim aşamasında, düşük miktarlarda verilen azot, bitkinin azot ihtiyacını karşılayarak nodül sayısını ve dolayısıyla azot fiksasyonunu artırmaktadır (Meral vd. 1998; Kaya vd. 2002).

*Rhizobium*larla ilgili ekolojik çalışmaların çoğu suşların tanınması üzerinedir. Tarla koşullarında yürütülen denemelerde, nodül oluşumundaki başarının ve toprak rhizosfer bölgesinde rekabet eden suşların belirlenmesi için toprakta bulunan doğal suşlar ile inokulanttan gelen suşun ayırt edilmesi gerekir. Böyle çalışmalarda nodül oluşturan suşların etkinliği en basit olarak oluşturdıkları nodül sayısı ile belirlenebilir. Efektif olmayan suşlarla nodül oluşturulur fakat bunlar daha küçük olup içleri beyaz renklidir (Vincent, 1970). Çeşitli baklagillerde kullanılan suşa özgü koyu kırmızı renkli nodüller olduğu saptanmıştır (Eaglesham vd. 1982).

Yoncada yapılan bir çalışmada, arıtma çamuru uygulamasının büyüme, fotosentez, azot asimilasyonu ve nodülasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Arıtma çamuru, inorganik N, nitrat ve amonyum iyonları içermektedir. Denemede üç farklı uygulama yapılmıştır: *Rhizobium* sp. ile aşılanmış bitkilere %10 oranında arıtma çamuru ilave edilmiş, *Rhizobium* sp. ile aşılanmış ancak başka bir uygulama yapılmamış bitkiler ve *Rhizobium* aşılanmamış bitkiler ise amonyum nitrat ile gübrelenmiştir. Sonuçlar, amonyum nitratla gübrelenen bitkilere kıyasla gübre uygulanmamış bitkilerin daha yüksek fotosentez aktivitesi gerçekleştirdiğini göstermiştir. Yaprak klorofilleri ve azot içerikleri incelendiğinde, arıtma çamuru uygulanmış bitkilerde azalmış fotosentetik kapasite ile birlikte, azot fiksasyonu için gerekli olan karbonun sınırlı kaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, arıtma çamurunun nodül oluşumunu etkilemediği, ancak nodül enzim aktivitelerinin karbon ve azot metabolizması ile ilişkili olduğu ve bu nedenle azot bileşiklerinin toksik birikimine yol açabileceği belirlenmiştir (Antolin vd. 2010).

Topraktaki yarayışlı azot fazlalığı, nodülasyon üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Nitratın bu engelleyici etkisi, kılcal köklerin azalmasına ve özellikle enfeksiyon iplikçiklerinin oluşumunun önlenmesine neden olur. Ayrıca, çok düşük karbon-azot (C:N) oranı, nodül oluşumunu ve azot fiksasyonunu azaltır. Araştırmalara göre, C:N oranının 15-30 aralığında olması durumunda nodülasyon ve azot fiksasyonu normal seyrederken, bu oranın daha yüksek olması engelleyici bir etki yaratmaktadır (Rawsthorne vd. 1985).

Dakora ve Keya (1997), "Afrika'da Sürdürülebilir Tarım İçin Azot Bağlayıcı Baklagillerin Katkısı" başlıklı çalışmalarında, tane baklagillerin hektar başına 15-210 kg azot (N) bağladığını ve bu nedenle geleneksel üretim deseninin önemli bir parçası olduğunu ifade etmektedirler. Ancak, yüksek azot kullanımı ve çeşitli çevresel faktörlerin sınırlayıcı etkiler yarattığını belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda, mevcut geleneksel üretim sisteminin sürdürülebilir olmaktan uzak olduğu ve baklagil ağaçlarının yılda yaklaşık 43-581 kg N/ha

bağladıkları tespit edilmiştir. Bu ağaçların yapraklarının ise bölgede sürdürülebilir ormancılık için önemli bir bileşen olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca, *Sesbania sesban* türünün yapraklarının bir hektar tahıl ekiminden sağlanabilecek kadar 27,3 kg N, 31,4 kg P, 125 kg K ve 114 kg Ca sağlayabildiği belirtilmiş ve bu konuda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu ifade edilmiştir. Azot fiksasyonunda bitki besin elementlerinin etkisinin büyük olduğu ve topraktaki düşük mineral azot düzeyi ile yüksek karbon içeriğinin optimum N₂ fiksasyonunu olumsuz etkilediği de kaydedilmiştir (Özbek vd. 1993).

Baklagil bitkilerinin aktif olarak azot tespit edebilmesi, bitkinin sağlıklı bir şekilde gelişmesi ve gerekli bitki besin maddelerinin uygun miktarda sağlanmasıyla mümkün olur. Bitki besin maddelerinden fosfor, protein sentezinde önemli bir rol oynar. Baklagil bitkileri, fosfor ve kükürt bulunmadığında, bol miktarda alınabilir azot bulursa bile protein sentezi gerçekleştiremez. Fosfor, *Rhizobium* bakterilerinin aktivitesini artırarak kök gelişimini destekler ve bu sayede nodül oluşumunun erken gerçekleşmesine, nodüllerin daha büyük ve fazla sayıda olmasına yardımcı olur (Kızıloğlu, 1995). Çeşitli araştırmalar, birçok baklagil bitkisi ve yerbıstığı üzerinde yapılan çalışmalarda, potasyumun fosfor ile birlikte bulunduğu durumlarda azot fiksasyonuna olumlu katkı sağladığını göstermiştir (Corbet vd. 2004; Anonymous, 2003; Lemon ve Lee, 1995; Whity, 2003).

Fosfor, protein sentezinde önemli bir rol oynayan temel bir besin maddesidir. Protein içeriği açısından zengin olan baklagillerin fosfor gereksinimi, diğer bitkilere göre daha fazladır. Bununla birlikte, toprakta potasyum (K) ve kükürt (S) bulunmadığında, bol miktarda yararışlı azot bulursa bile baklagil bitkilerinde protein sentezi gerçekleşmez. Potasyum (K), nodül sayısını artırırken; kükürt (S) ve fosfor (P), hem nodül sayısını hem de nodül büyüklüğünü etkiler. Kalsiyum (Ca) ise, toprak pH'ını düzenleyerek baklagil bitkilerinin gelişimini destekler ve *Rhizobium/Bradyrhizobium* bakterilerinin sayısının artmasına ve yaşamlarını sürdürmelerine yardımcı olur (Kızıloğlu, 1995; Anonymous, 2003; Sprent, 2001; Goormachting vd. 2004).

Singleton vd. (1982) yaptığı çalışmalarda, besi ortamına farklı miktarlarda tuz eklenmesiyle, ortamdaki tuz içeriğinin artmasının *Rhizobium* yoğunluğunu azalttığı ve bakteri etkinliğini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu durum, kuru madde oluşumu, nodül ağırlığı ve nodül aktivitesinin de azalmasına yol açmıştır. Sıcaklık ise, genel bitki metabolizmasını etkilediği gibi, nodül oluşumu ve azot fiksasyonu üzerinde de önemli bir etkiye sahiptir. *Rhizobium/Bradyrhizobium* baklagil simbiyotik sisteminde optimum kök sıcaklığı 28°C olarak belirlenmiştir. Ancak, düşük ve yüksek sıcaklıklar bu sistemi olumsuz etkilerken,

Rhizobium/Bradyrhizobium bakterileri 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda etkilerini kaybetmektedir (Kızıloğlu, 1995; Junior vd. 2005).

Aşırı su, azot fiksasyonu üzerinde olumsuz bir etki yapmaktadır. Nodül yüzeyinde suyun ince bir tabaka halinde bulunması, oksijenin difüzyonunu azaltmakta ve bu durum büyük olasılıkla azot fiksasyonunun önemli ölçüde azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca, kök bölgesinden suyun uzaklaştığı koşullarda karbondioksit (CO₂) oluşumu artmakta ve bunun sonucunda oluşan yüksek CO₂ konsantrasyonları nodül oluşumunu engellemektedir (Bordeleau ve Prevast, 1994; Sprent, 2001; Gök vd. 2006).

Crews vd. (2004) yaptığı çalışmada, azot gübrelerinin kullanımındaki artışın çeşitli çevresel zararlara yol açtığı belirtilmiş ve biyolojik azot fiksasyonunu sağlayan baklagillerin, sürdürülebilir azot dengesini sağlama açısından üretim desenlerinde çevre koruma için sağlıklı ve sürdürülebilir bir kaynak olduğu öne sürülmüştür. Çalışmada, ekolojik bütünlük, enerji bilimi ve gıda güvenliği bağlamında baklagillerden sağlanan azot ile endüstriyel kaynaklardan sağlanan azot üretiminin sürdürülebilirliği karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, baklagillerden elde edilen azotun, diğer kaynaklara kıyasla daha sürdürülebilir olduğu bildirilmiştir.

Her bitki, kendine özgü bir bakteri türüne ihtiyaç duymaktadır. Örneğin, *Rhizobium meliloti* yonca, taş yoncası ve çemende; *Rhizobium trifolii* üçgüllerde; *Rhizobium leguminosarum* fiğ, burçak, mercimek ve bezelyede; *Rhizobium phaseoli* fasulyede; *Rhizobium lupini* baklada; *Rhizobium ciceri* nohutta; *Rhizobium japonicum* ise soya fasulyesi ve yerfıstığında etkilidir. Bu nedenle, yeterli sayıda nodülün oluşabilmesi ve etkili bir fiksasyonun sağlanabilmesi için, bitkinin yetiştiği ortamda o bitkiye özgü bakterilerin bulunması gerekmektedir. Eğer daha önce aynı bitki bir alanda yetiştirilmişse, o bitkiye ait bakteriler genellikle bu alanda zaten mevcuttur. Ancak, bitki ilk defa yetiştirilecekse, bu bakterilerin aşılama yoluyla toprağa eklenmesi gerekmektedir. Çünkü ilk defa ekilen ortamda bu bakteriler ya yeterli sayıda bulunmaz ya da etkili olmazlar. Dolayısıyla, aşılama yapılmadığı takdirde biyolojik azot fiksasyonu yetersiz kalır (Gök ve Onaç, 1995).

Yeşil gübreleme amacıyla, fiğ, bakla, soya fasulyesi ve taş yoncası gibi, havadan azot alarak köklerinde biriktiren ve bu sayede toprağı azot açısından zenginleştiren bitkilerin seçilmesi önerilmektedir. Yapılan birçok deneme, bu bitkilerin kendilerinden sonra ekilen ürünlerin verimini %20 ila %100 oranında artırdığını göstermiştir (Anonim, 2006).

Kullanılan *Rhizobium* suşlarının nodülasyon etkinliği, bu bakterilerin kök çevresinde çoğalma yeteneklerine, inokulasyon ve ekim tekniklerine, toprak ve çevre koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örneğin, Roughley (1970), ana kök çevresinde salkım şeklinde nodül oluşumu ile yan köklerde dağınık nodül oluşumu arasında fark olduğunu ve ana kök nodülasyonunun daha fazla azot fiksasyonu sağladığını belirlemiştir. Stewart (1966) ise, etkili nodüllerin genellikle ana kökte bulunduğunu ve kesildiklerinde içlerinin pembe renkli olduğunu, etkisiz nodüllerin ise beyaz, küçük ve çok sayıda olup genellikle ana kökte bulunmadıklarını ifade etmiştir. Bazı araştırmacılar, toprak asitliğinin nodülasyon ve azot fiksasyonunu etkilediğini bildirmişlerdir (Vincent, 1965). Damirgi vd. (1967) Iowa bölgesinde yaptığı bir çalışmada, 123 numaralı suşun bu bölgedeki topraklarda yaygın olduğu ve bu suşun pH 5,5-7,5 aralığındaki topraklarda daha iyi geliştiği belirlenmiştir. Aynı bölgede yapılan bir başka çalışmada, pH 7,5'un altındaki topraklarda en yaygın olarak 123 numaralı suşun, pH 7,8'in üzerinde ise 135 numaralı suşun baskın olduğu bulunmuştur (Ham vd. 1975). Serolojik çalışmalar, 123 numaralı suşun özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nin orta-batı bölgesinde geniş bir yayılım alanına sahip olduğunu ortaya koymuştur (Kapusta ve Rouwenhorst, 1973).

Silva ve Uchida (2000), biyolojik azot fiksasyonunun bitkinin genel gelişim potansiyeline bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Diğer faktörlerin bitki gelişimini sınırladığı durumlarda, aşılama kalitesinin yüksek olması ve doğru uygulama yapılması tek başına verim artışını sağlamamaktadır. Bu nedenle, başarılı bir biyolojik azot fiksasyonu için, uygun aşılama tekniklerinin yanı sıra bitkinin genel gelişimini destekleyen çevresel koşulların da sağlanması gerekmektedir. Bu nedenle toprakların doğal *Rhizobium* popülasyonları hakkında bilgili olunması, baklagil bitkisinin ekilirken aşılama gerekliliği olup olmadığı ve aşılamanın başarısı bakımından çok önemlidir. Eğer toprakta ekilen baklagil bitkisi ile ilgili yeterli sayıda ve etkili, yani azot tesbit yeteneği yüksek *Rhizobium* bakterisi varsa yapılan aşılama emek ve maddi masraf boşa gidecektir. Ayrıca topraktaki doğal popülasyon sayıca fazla ancak etkisiz ise böyle topraklarda da herhangi bir bakteri ile değil rekabet yeteneği yüksek suşlar ile aşılama gereği ortaya çıkacaktır.

Konukçu bitki ile *Rhizobium* suşları arasındaki ilişkilerde önemli farklılıklar olduğu ve azot bağlama kapasitesi yüksek olan bazı suşların, iklim ve toprak koşullarına uyum sağlayamadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, topraktaki diğer mikroorganizmaların karşıt etkileri nedeniyle bu suşlar her zaman toprakta koloni kurup canlılıklarını sürdürememektedir (Schiffman, 1961; Schiffman ve Alper, 1968). Bunun yanı sıra, karışık inokulant içindeki

suşlar arasında, topraktaki doğal popülasyon ile aşılamanın suşlar ve zamanla toprakta çoğalan yeni getirilmiş popülasyon arasında bir rekabetin ortaya çıkabileceği belirtilmiştir. Bu durumu destekleyen bir çalışmada, Peking soya çeşidi kullanılmış ve 123 numaralı suşun nodül oluşturmaya rağmen azot fiksasyonunun düşük olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, 110 numaralı suşun ise bu çeşit için hem nodül oluşumu hem de azot fiksasyonunun normal olduğu tespit edilmiştir (Ham, 1975).

Gürbüz (1978) tarafından yapılan çalışmada, soya bitkisine etkili suşlarla yapılan aşılama sonucunda, ürün miktarı ve danedeki protein oranında, dekara 10 kg azot verilmesine kıyasla daha fazla artış sağlandığı tespit edilmiştir. Ersin (1984), Ege Bölgesi koşullarında altı farklı bakteri suşuyla yürüttüğü çalışmada, Fr, 11 ve karma inokulantların bölgeye uyum sağladığını ve yapılan aşılama sonucunda ürün veriminin arttığını bulmuştur. Araştırmacılar, soyanın başlangıç dönemindeki gelişimi için yeterli bir aşılama yapılsa dahi, belirli bir miktar azot verilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Ayrıca, azotlu gübrelemenin verimi, dane ağırlığını ve danedeki protein oranını artırdığı, ancak azot fiksasyonunu, nodül sayısını ve ağırlığını azalttığı belirtilmiştir (Hatfield vd. 1974; Ham vd. 1975).

Weaver ve Frederick (1974), yaptıkları sera denemesinde soyada inokulant miktarını arttırmakla nodül sayısının da arttığını saptamışlardır. Toprakta 1000 den fazla *Rhizobium* bulunduğu ise bu artışın gözlenmediğini tespit etmişlerdir. Tarla çalışmaları sonuçları da benzer olup araştırmacılar, nodüllerin %50'sinin inokulanttan oluşması için doğal *Rhizobium* popülasyonu seviyesinden 100 misli fazla inokulant kullanılması gerektiğini bulmuşlardır.

Caldwell ve Vest (1968) tarafından yapılan araştırmada, soya bitkisinde etkili bakteri kullanımı sonucunda, verim ve protein miktarlarında artış sağlanırken, aynı zamanda daha az azotlu gübre tüketileceği ve soya ekiminin ardından gelecek olan ürün için toprakta bir miktar azotun kalacağı ifade edilmiştir. Bu durum, hem verim artışı hem de toprak verimliliği açısından önemli bir avantaj sunmaktadır.

Kacar (1995), yeşil gübreleme ile toprağa eklenen organik materyalin, toprak mikroorganizmalarının nicelik ve nitelikleri üzerinde olumlu etkiler yarattığını belirtmiştir. Buna ek olarak, yeşil gübreleme amacıyla yetiştirilen bitkiler, toprak derinliklerinden aldıkları bitki besin maddeleri ile toprağın üst kısımlarını zenginleştirerek, bu bölgelerdeki besin maddesi içeriğini artırmaya katkı sağlarlar. Bu sayede, toprağın verimliliği ve mikroorganizma faaliyetleri iyileşir.

İncekara (2023) tarafından yapılan çalışmada, 2021 yılında bitkilerin azot gereksinimlerinin daha ekonomik bir yöntem olan biyolojik azot fiksasyonu ile karşılanması amacıyla bir sera denemesi yürütülmüştür. Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre ve dört tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, Nohut (Azkan) ve Yonca (Bilensoy-80) bitkileri kullanılmış ve bu bitkiler ile tohumlarına farklı uygulamalar yapılmıştır: kontrol, azotlu kontrol, *Rhizobium*, *Azotobakter* ve *Rhizobium/Azotobakter*'in kombine uygulamaları. Deney sonuçlarına göre, yonca bitkisinde bitki üst aksam uzunluğu, bitki üst aksam kuru ağırlık, nodül sayısı, nodül ağırlığı, bitki üst aksam azot ve kökte azot içeriğine *Rhizobium/Azotobakter* kombine aşılması etkili olurken, kök uzunluğu, bitki üst aksam yaş ağırlık, kök yaş ve kuru ağırlık üzerine *Rhizobium* aşılmasının etkili olduğu tespit edilmiştir. En düşük verim unsurları ve nodülasyon verileri ise kontrol grubunda elde edilmiştir. Nohut bitkisinde de benzer şekilde, bitki üst aksam yaş ve kuru ağırlık, nodül sayısı, nodül ağırlığı, bitki üst aksam azot ve kökte azot içeriği üzerine *Rhizobium/Azotobakter* kombine aşılmasının etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bitki üst aksam ve kök uzunluğu üzerine *Rhizobium* aşılması, kök yaş ve kuru ağırlık üzerine ise *Azotobakter* aşılmasının etkili olduğu bulunmuştur. Yonca bitkisinde olduğu gibi, nohut bitkisinde de bazı verim unsurları ve nodülasyon verilerinin en düşük değerleri kontrol grubunda kaydedilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada, 2016 yılı Temmuz ayında Aydın ili Koçarlı ilçesinde yonca ekimi yapılan alanlarda yonca bitkilerinin köklerinden alınan nodül örneklerinden izole edilen *Rhizobium* bakteri izolatları kullanılmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. Çalışma alanından toprak, kök ve nodül örneklerinin alınması

Araştırma için seçilen benzer gelişime sahip 6 yonca üretim alanı belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Toprak ve kök örnekleri ise seçilen bu alanlardan 0-20 cm derinliklerden alınmıştır. 17.07.2016 tarihinde alınan toprak örnekleri, laboratuvara ulaştırılarak hava-kuru hale getirilmiş, sonra 2 mm'lik elek ile elenerek analizler için hazırlanmıştır. Getirilen bitki kök

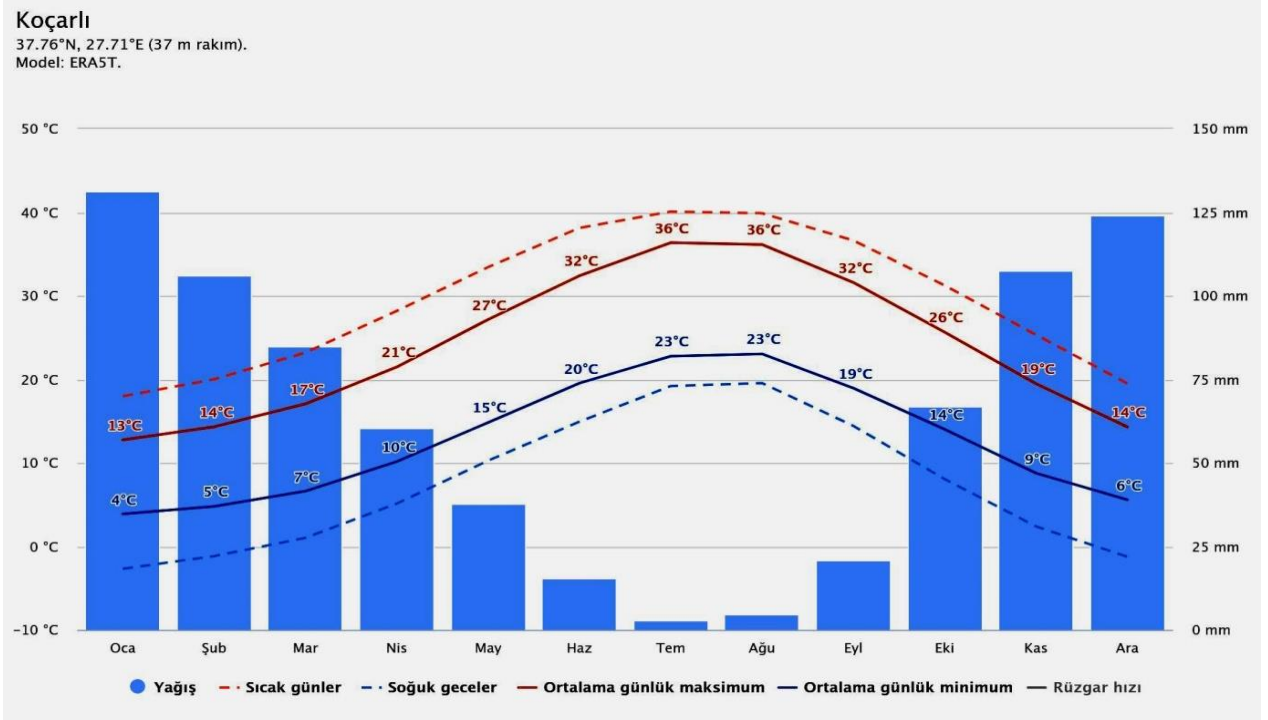
örnekleri dikkatli bir şekilde yıkanarak nodüller toplanmış ve steril hale getirilmiştir. Analizler Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü laboratuvarında yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Yonca bitkisi nodülü ve toprak örneklerinin alındığı noktalar ve koordinatları

ÖRNEK NO	KOORDİNAT	ÖRNEKLEME NOKTASI
1	37°45'18.46"K 27°45'42.46"D	ADÜ Ziraat Fakültesi TARBİYOMER yanında bulunan yonca tarlası
2	37°45'17.44"K 27°46'4.03"D	Keçicik Tarım İşletmesi yanında bulunan yonca tarlası
3	37°44'51.38"K 27°49'3.19"D	Çakırbeyli köyü ayrımı, Başaran Zeytinyağı işletmesinin karşısında bulunan yonca tarlası
4	37°45'27.58"K 27°49'44.07"D	Adnan menderes çiftliği karşısında bulunan yonca tarlası
5	37°48'4.89"K 27°42'43.99"D	Koçarlı - İncirlioğa yolu Büyük Menderes köprüsüne gelmeden sol tarafta bulunan yonca tarlası
6	37°46'16.38"K 27°39'31.71"D	Koçarlı ilçesi Şenköy ve Tekeli köyü arasında bulunan yonca tarlası

3.1.1. Çalışma Alanına Ait Bilgiler ve İklim Özellikleri

Çalışma alanını teşkil eden Koçarlı ilçesi; Aydın iline 24 km olup ilçenin ekonomisinin temelini tarım ve hayvancılık oluşturmaktadır. Bölgenin tarımsal yapısı incelendiğinde, zeytin, incir, pamuk ve narenciye üretimi öne çıkmaktadır. Özellikle zeytin yetiştiriciliği, Koçarlı ekonomisinin bel kemiğini oluşturur. Aydın ilinde, sıcak ve ılıman bir iklim hâkimdir. Kış aylarında yaz aylarından çok daha fazla yağış düşmektedir. Köppen-Geiger'e göre iklim tipik Akdeniz iklimidir (Csa). Yıllık sıcaklık ortalaması 17,6 °C, yıllık toplam yağış miktarı 618,4 mm ve yıllık ortalama nem % 62,1 dir (Meteoroloji Genel Müdürlüğü, 2024). Yaz aylarında sıcaklıklar 35°C'nin üzerine çıkabilirken, kış aylarında nadiren 0°C altına düşmektedir. Yağışlar ise çoğunlukla kış ve ilkbahar aylarında yoğunlaşır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Aydın ili Koçarlı ilçesine ait uzun yıllık (1979-2024) ortalama yağış ve sıcaklık değişimi (Meteoblue, 2024).

3.2. Yöntem

Çalışma IV aşamada yürütülmüştür.

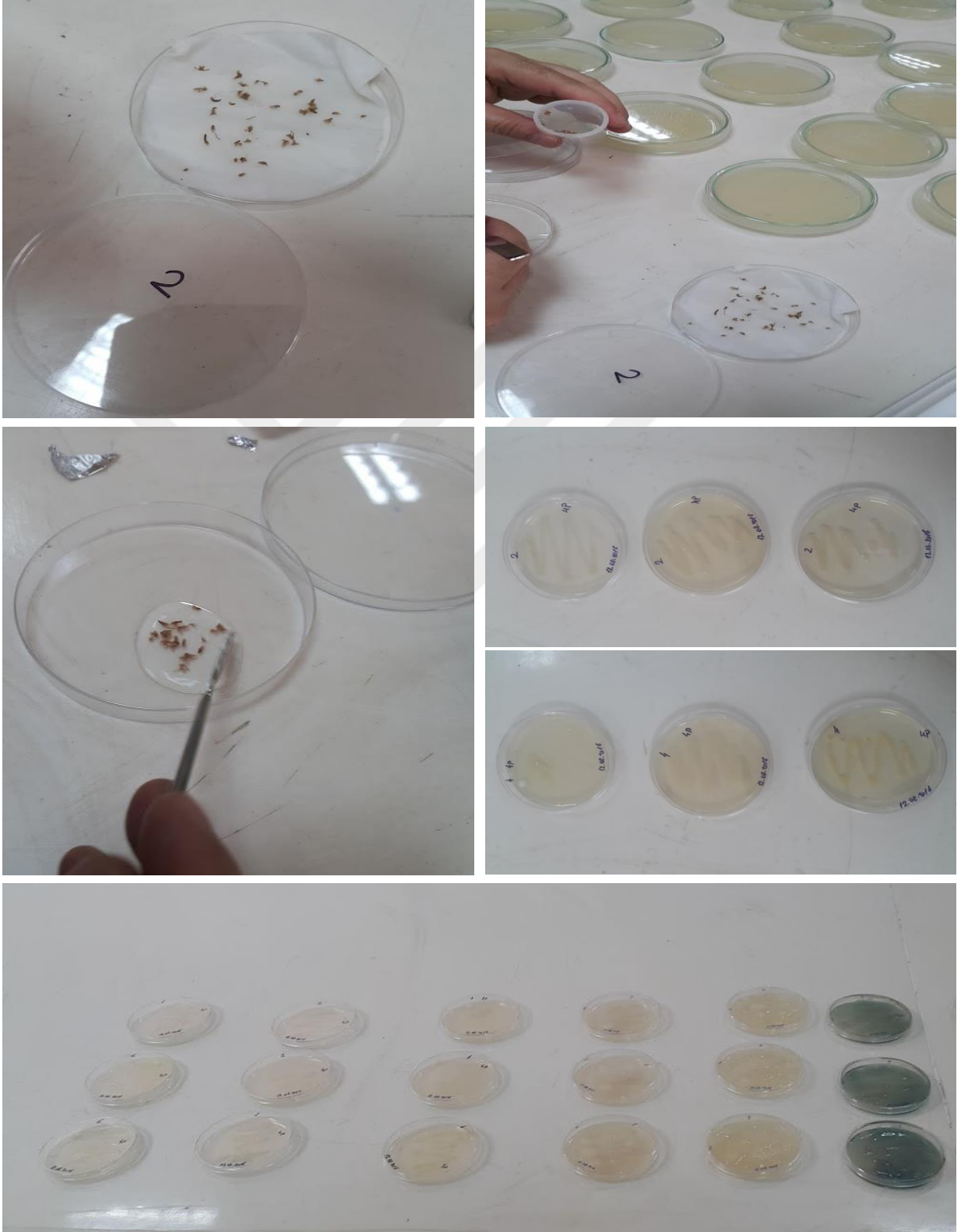
Aşama I: Ön Araştırma ve örnekleme

Aydın ili Koçarlı ilçesinde yaygın olarak yonca yetiştiriciliği yapılan köyler tespit edilmiş 6 farklı yonca üretim alanlarından yonca bitkisi kökü ve bitkiye ait toprak örnekleri alınmıştır. Yonca ekili alanlardan çiçeklenme dönemi tespit edilerek, çiçeklenme döneminde iri ve pembe renkli nodülleri olan bitki kökleri toplanmıştır.

Aşama II: Köklerden Bakteri İzolasyonu ve Bakteri Kültürlerinin Saklanması

Yonca köklerinden alınan izolasyonda kullanılacak taze nodüller dış yüzeyleri izolasyon öncesi etanol ve % 0,1'lik civa klorür ile dezenfekte edilerek steril su ile 5-6 defa yıkanmıştır. Nodüller, yüzey dezenfeksiyonundan sonra steril bir petri içerisinde steril koşullarda ezilerek çıkan pembe renkli leghemoglobin sıvısı içerisinde YEMA (Yeast Extract Mannitol Agar) besiyeri bulunan petri kabına sürme yöntemiyle aşılması yapılmıştır (Resim 3.2). Petri kapları 28°C'de inkübatörde 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petrilerdeki üreme durumu her gün kontrol edilmiş ve üreme sonunda gelişen kolonilerden her numune için temiz bir koloni seçilerek, YEMA'lı eğik agarlı tüplere ekim yapılmıştır. Tüplere

alınan bu izolatların üreme durumlarını, kontaminasyon olup olmadığı kontrol edilerek stok kültür olarak tüplere alınan izolatlar, Leonard Kavanozu denemesinde kullanılmak üzere +4°C’de muhafaza edilmiştir (Vincent, 1970).

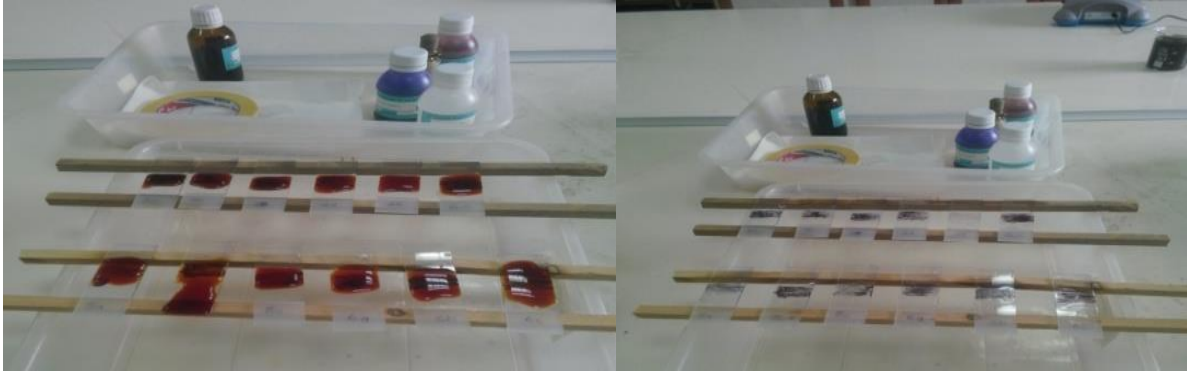


Resim 3.2. Nodüllerin dezenfeksiyonu ve YEMA (Yeast Extract Mannitol Agar) besiyerine bakterilerin aşılınması

Aşama III: Yonca Nodüllerinden İzole Edilen Kök Bakterilerinin Morfolojik, Biyokimyasal Karakterizasyonu

Besi ortamları üzerinde farklı gelişim gösteren bakteriler morfolojik özelliklerine göre ayrılıp saflaştırılmıştır. Her bir saf kültür gram reaksiyonu, oksidaz test, katalaz testi standart metotlar kullanılarak biyokimyasal özellikleri belirlenmiştir.

Gram Boyama: İzolatlar, katı YEMA besiyerlerine yayma ekim yöntemi ile ekilip, 30 °C'ta 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda besiyeri yüzeyindeki tek kolonilerden birer tane steril öze yardımıyla alınarak, lam üzerinde bir damla distile su içinde yayıldıktan sonra, hazırlanan lam alevden geçirilerek bakterilerin lam üzerine yapışması sağlanmıştır. Gram boyama işlemi için hazırlanan preparat üzerine kristal viyole boyası damlatılıp 1 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanarak kristal viyole uzaklaştırılmıştır. Ardından, preparata lügol çözeltisi damlatılarak 1 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanarak iyot-lugol çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, preparatın üzerine %96'lık etil alkol damlatılıp 10-15 saniye bekletildikten sonra, distile su ile yıkanarak karşıt boya olarak safranin damlatılmıştır. 20-30 saniye bekletildikten sonra preparat, distile su ile yıkanarak kendi halinde kurumaya bırakılmıştır. Preparata immersiyon yağı damlatıldıktan sonra, 100x objektif ile incelenmiştir. Mor renkli bakteriler Gram pozitif, pembe-kırmızı renkli bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Tamer vd. 1989).



Resim 3.3 Gram Boyama

Oksidaz Testi: YEMA besiyerinde büyütülmüş bakterilerden bir öze alınıp, kurutma kâğıdının üzerine aktarılmıştır. Kurutma kâğıdındaki bakterilere taze hazırlanmış oksidaz ayırıcı ilave edilerek, renk değişimi olup olmadığı gözlemlenmiştir. 20-30 saniye içinde koyu mor renk oluşumu, pozitif sonuç olarak değerlendirilirken, renksiz kalanlar negatif olarak kaydedilmiştir. Kolonilerin siyah renk alması, bakterilerin öldüğünü ifade etmektedir. Bu

testte, pozitif kontrol olarak *Pseudomonas aeruginosa*, negatif kontrol olarak ise *Escherichia coli* kullanılmıştır (Vincent, 1970).

Katalaz Testi: İzolatların 24 saatlik saf kültürlerine, %3' lük H₂O₂ damlatılarak gaz çıkışı gözlenecek ve şiddetine bağlı olarak (+) işareti ile değerlendirilmiştir (Vincent, 1970).

Rhizobium Bakterilerinin Muhafazası: Rizobakteriyel izolatlar eğik agar (YEMA) ve glycerol içerisinde saklanmıştır (Saygılı, 1995). Ayrıca bakteri kültürleri ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere kültür koleksiyonu halinde derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Aşama IV: Leonard Kavanoz Sisteminin Hazırlanması

Sistemin üst ünitesi için 750 ml kapasiteli cam şişelerin tabanları kesilerek düzeltilmiştir. Sistemin alt ünitesi için 10 cm çapında ağsı bulunan 2 lt hacimli kavanozlar kullanılmıştır. Tabanları sistemin üst ünitesi için 750 ml kapasiteli tabanları kesilen şişeler, boyun kısımları kavanozun içinde kalacak şekilde baş aşağı yerleştirilerek ve uyumun tam olması için kavanozun ağzı pamukla sarılmıştır. Şişe ağzının kavanoz tabanından 3-4 cm yukarıda olması sağlanmıştır. Kavanozun içine incek şekilde şişenin içine pamuk fitil yerleştirilerek şişenin ağzından kumun akmasını önlemek için fitilin çevresi pamuk ile sarılmıştır. Leonard kavanoz sisteminin içerisine bitki besin maddesi içeriği çok düşük olabilmesi amacıyla nötr pH'ya sahip dere kumu koyulmuştur. Sistem alüminyum folyo ile sarılarak yetiştirme ortamı olarak kullanılacak kum ile birlikte otoklavda 121°C'de 1 atm basınç altında 3 saat süre ile sterilize edilmiştir. Sistemin alt ünitesine 5 kat sulandırılmış azot içermeyen Jensen besin çözeltisi koyulmuştur (Çizelge 3.2). Sadece azotlu kontrol konulu kavanozlara 70 ppm N hesabı ile KNO₃ eklenmiştir (Resim 3.3). Hazırlanan Jensen Besin Solusyonunun litresine mikro element çözeltilerinin her birinden birer mililitre eklenmiştir. Hazırlanan Jensen Besin Solusyonu 1 Atm basınç altında 121°C'de 15 dakika sterilize edililerek kullanılmıştır (Vincent, 1970).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan N içermeyen Jensen Besin Solusyonu içeriği (Vincent, 1970)

<i>Jensen Besin Solusyonu</i>		<i>Mikroelement Çözeltisi</i>	
CaHPO ₄	1.0 g	H ₃ BO ₃	500 ppm B
K ₂ HPO ₄	0.2 g	MnSO ₄	500 ppm Mn
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2 g	ZnSO ₄ 7H ₂ O	50 ppm Zn
NaCl	0.2 g	Na ₂ MoO ₃	50 ppm Mo
FeCl ₃	0.1 g	CuSO ₄ 5H ₂ O	20 ppm Cu
Saf su	1000 ml		



Resim 3.4 Leonard kavanoz sistemi ve hazırlanması

Tohumların Sterilizasyonu ve Çimlendirilmesi

Tohumlar 250 ml'lik steril erlenmayerlere konularak önce az deterjanlı su ile 3 dakika çalkalanmış ve sonra da su ile yıkanmıştır. Tohumlar, dış yüzeylerinin dezenfeksiyonu için %5'lik H₂O₂ çözeltisi ile 20 dakika çalkalandıktan sonra steril su ile 3 kez yıkanmıştır. Her kavanoza 10 bitki tohumu olacak şekilde sterilizasyon şartlarına özen gösterilerek tohum ekimi yapılmıştır. Şişelerin üzeri havadan olabilecek herhangi bir bulaşmayı engellemek

amacı ile petri kapları ile kapatılmıştır (Gürbüzer, 1978). Leonard kavanozlarında çimlenen yonca bitkileri her kavanozda 4 adet bitki kalacak şekilde seyreltilmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.5. Tohumların çimlendirilme ve ekilmesi

Deneme 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Denemede Azotlu Kontrol (Jansen besin ortamı + 70 ppm N), Azotsuz Kontrol (sadece Jansen besin ortamı) ve 6 farklı yonca ekili alanlardan alınmış bakteri aşılı azotsuz uygulama olmak üzere düzenlenmiş ve 24 adet Leonard kavanoz sistemi kullanılmıştır (Çizelge 3.3)

Çizelge 3.3 Deneme planı ve uygulamalar

UYGULAMA
-N Kontrol (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)
+N Kontrol (Jansen Besin Solüsyonu + 70 ppm N)
I Nolu İnokulant (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)
II Nolu İnokulant (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)
III Nolu İnokulant (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)
IV Nolu İnokulant (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)
V Nolu İnokulant (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)
VI Nolu İnokulant (Sadece Jansen Besin Solüsyonu)

Koçarlı ilçesinde yonca yetiştirilen 6 farklı araziden alınan yonca kök nodüllerinden izole edilerek YMB (Yeast Mannitol Broth) besin ortamında üretilmiş olan bakteri kültürleri her uygulama için ayrı ayrı Leonard kavanozlarında bulunan bitkilerin kök bölgesine 10 ml

olacak şekilde aşılanmıştır. Kontrol gurubuna (+N ve -N) aşılama yapılmamıştır. Örnekler bakteri aşılama yapıldıktan sonra iklimlendirme odasına taşınmıştır (Resim 3.4).

Aşılamada Kullanılan Sıvı Kültürlerin Hazırlanması:

Eğik agar üzerindeki stok kültürlerden bir öze dolusu alınarak, daha önce hazırlanıp sterilize edilmiş, içinde 50 ml sıvı YMB (Yeast Mannitol Broth) bulunan 100 ml'lik balonlara ekim yapılmıştır (Resim 3.4). Aşılanan balonlar 28°C'de 6 gün yatay çalkalama aletinde çalkalanarak bakterilerin sıvı besiyerinde üremeleri sağlanmıştır (Vincent, 1970).



Resim 3.6. Bakterilerin sıvı YMB besin ortamında çoğaltılması, bitki kök bölgesine uygulanması ve iklimlendirme odasından görüntüler



Resim 3.6. Bakterilerin sıvı YMB besin ortamında çoğaltılması, bitki kök bölgesine uygulanması ve iklimlendirme odasından görüntüler

Leonard kavanozu denemesinde kullanılan kum materyalinin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 3.4'te verilmiştir. Denemede kök bakterilerinin etkinliğinin ve N bağlama kapasitesinin tam olarak görülebilmesi amacıyla nötr pH'da, tuzluluk problemi olmayan, organik madde, kireç, azot, fosfor ve potasyum içeriği bakımından fakir kum bünyeli bir toprak seçilmiştir.

Çizelge 3.4 Leonard kavanozu denemesinde kullanılan kum materyaline ait bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

pH	EC (dS/m)	Toplam Tuz (%)	BÜNYE				Org. Mad. (%)	CaCO ₃ (%)	%N	Alın. P (mg.kg ⁻¹)	Ekst. K (mg.kg ⁻¹)
			% KUM	% SİLT	% KİL	BÜNYE SINIFI					
7,03	0.125	0.004	76.80	15.97	7.23	SL	0,54	0.77	0.075	5.40	58,0

Bitkilerde Bakım, Hasat, Gözlem ve Analizler

Bitkilerin gelişme süresi boyunca kavanozlardaki besin çözeltileri kontrol edilerek eksilen kısımlar tamamlanmıştır. Bitkiler 2,5 aylık bir gelişme periyodu sonunda hasat edilmiştir. Bitkilerin üst aksamaları 65°C'de kurutularak tartılmış ve bunlarda toplam azot analizi yapılmıştır.

Bitki kökleri kumdan dikkatlice yıkanarak ayrılmış, nodozite ve meydana gelen nodüllerin aktiflik durumu incelenmiştir. Daha sonra bitki köklerindeki nodüller sayılarak petri kaplarında 65°C'de kurutulmuştur. Yaş ve kurutulmuş nodüllerin ağırlığı alındıktan sonra bitki başına nodül sayısı ve ağırlıkları hesaplanmıştır.

Bitkide Toplam Kjeldahl Azot İçeriği: Bitki örneklerinin toplam azot analizi, modifiye edilmiş Kjeldahl yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde, 0.25 gram bitki örneği yakma ünitesinde yakılmış ve örnekler soğuduktan sonra destilasyon ünitesinde damıtılmıştır. Elde edilen ekstrakt, 0.1 N HCl ile titre edilmiştir. Titrasyon sırasında, renk değişiminin yeşilden pembeye dönüştüğü noktada titrasyona son verilmiştir. Sonuçlar, yüzde (%) olarak ifade edilmiştir (Kacar ve İnal, 2008).

Kuru madde içeriğinin belirlenmesi: Yaş ve 65°C’de kuru ağırlıkları alınan bitki ve kök örneklerinde % olarak hesaplanmıştır. Örneklerin % kuru madde içerikleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Kacar ve İnal, 2008).

$$\text{Toplam \% kuru madde miktarı} = \text{Bitkinin Kuru Ağırlığı/Yaş Ağırlığı} \times 100$$

Havadan Tespit Edilen Azot Miktarı ve Sembiyotik Etkinlik: Hasat edilen bitki materyalleri 65°C’deki etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Bitkilerin ağırlıkları ve daha sonra toplam Kjeldahl azot kapsamları tespit edilmiştir. Elde edilen bu değerlere bağlı olarak bitkilerin toplam azot kapsamları ve bir gelişme periyodu süresince, izolatların havadan tespit etmiş oldukları mg azot miktarları aşağıda verilen formüller kullanılarak belirlenmiştir (Beck vd. 1993, Materon vd. 1995, Yaman ve Cinsoy, 1996, Algur ve Öğütücü, 2000).

$$\text{Tespit Edilen Azot Miktarı} = A - B \text{ eşitliğinden hesaplanmıştır}$$

A: İzolatın Aşılandığı Bitkiye Ait Toplam Azot Miktarı

B: Aşısız Kontrole Ait Toplam Azot Miktarı

$$\text{mg N /Kavanoz} = \frac{\text{Bitki Kuru Biyokütlesi} \times \text{Bitkinin \% N miktarı} \times 1000}{100}$$

$$\text{Sembiyotik Etkinlik (\%)} = \frac{\text{İzolatın aşılandığı bitkinin azot miktarı} \times 100}{\text{Azotlu kontrolün azot miktarı}}$$

$$\text{Etkinlik derecesi (\%)} = \frac{\text{Test bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı} \times 100}{\text{Azotlu kontrol bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı}}$$

İzolatların etkinlik derecelerine göre gruplara ayrılmasında aşağıdaki sınırlar esas alınmıştır (Holding ve Kong, 1963).

% ETKİNLİK DERECEİ	
<25	<i>Etkisiz</i>
50 - 25	<i>Düşük Etkili</i>
75 - 50	<i>Orta Derecede Etkili</i>
100 - 75	<i>Etkili</i>
>100	<i>Çok Etkili</i>

Toprak Analiz metotları; Koçarlı ilçesi sınırları içerisinde yonca yetiştiriciliği yapılan arazilerden bitki örneklerinin alındığı noktalardan toprak örnekleri alınmış ve aşağıda verilen yöntemlere göre analizler yapılmıştır.

Tekstür: Bouyoucos (1951), tarafından bildirildiği şekilde hidrometre yöntemine göre toprak örneklerinin % kum, silt ve kil içerikleri ve tekstür sınıfları belirlenmiştir.

Toprak Reaksiyonu (pH): Toprak 1:2,5 oranında saf su ile sulandırılarak süspansiyon elde edilmiştir. Elde edilen karışım yatay çalkalayıcıda 5 dakika çalkalandıktan sonra pH metre ile okuması sonucu elde edilmiştir (Kacar, 1995).

Elektriksel İletkenlik (EC): Elektriksel iletkenlik belirlenirken, 100 g hava kurusu toprak, saturasyon kabında saf su ile tamamen doyurulana kadar sature hale getirilmiş ve su sarfıyatı kaydedilmiştir. Daha sonra elde edilen toprak ekstraktının elektriksel iletkenliği, Conductivity Bridge cihazı kullanılarak dS/m biriminde ölçülmüştür. Ölçülen bu değerler, çözünür tuz yüzdesine (%) çevrilmiştir (Rhoades, 1983). Elde edilen sonuçların sınıflandırılması için U.S. Salinity Laboratuvarı'nın 1954 tarihli kriterleri kullanılmıştır.

Kireç (%) : Toprak örneklerinin CaCO_3 içeriği, Scheiblerkalsimetresiyle belirlenmiş ve sonuçlar % olarak ifade edilmiştir (Çağlar, 1958). 1 g toprak örneği cam şişelere konularak HCl ilavesi yapılmıştır. Kapalı sistem kalsimetrede açığa çıkan CO_2 gazı ölçülmüştür. Sınıflandırma ise Aerobe ve Falke'ye göre yapılmıştır (Evliya, 1960).

Organik madde: Walkey ve Black yöntemi kullanılarak titrasyonda harcanan amonyum ferrosülfat miktarı ile gerekli formüller kullanılarak organik madde kapsamı bulunmuş ve hangi sınıfa girdiği belirlenmiştir (Walkey ve Black., 1934).

Alınabilir Fosfor: Toprağın 1:20 oranına göre 0.5 M sodyum bikarbonat eriyiği reaksiyonu sonucu bitki tarafından alınabilir fosforun ekstrakte geçirilmesi ve bundan belli

miktarlarda alınarak üzerine amonyum molibdat eriyiği ve askorbik asitle mavi renk intensitesinin spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Olsen vd. 1954).

Toplam Azot (%): Kjeldahl yaş yakma yöntemine ile Kacar (1995) 'ya göre yapılmış olup ve toprakların N içeriklerine göre sınır değerleri Kovancı (1969)'ya göre belirlenmiştir.

Değişebilir K, Ca, Na (ppm): Analize hazır hale getirilmiş toprak örnekleri pH'sı 7,0'ye ayarlı 1N Amonyum Asetat çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve elde edilen süzükte, K, Ca, Na değerleri flame fotometrede okunmuştur (Kacar, 1995).

Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Yöntemler: Elde edilen tüm analizlerin sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi “SPSS 22.0” ve “Jump 7.0” istatistik paket programı kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda farklı grupları tespit etmede çoklu karşılaştırma yöntemlerinden LSD testi kullanılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Toprak Örneklerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Koçarlı ilçesinde belirlenen 6 noktadan alınan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Buna göre toprak örneklerinin pH değerleri 7,26 ile 8,64 arasında olup 1 numaralı toprak nötr, 5 numaralı toprak kuvvetli alkali diğer topraklar ise alkali özelliğe sahiptir. *Rhizobium* türleri, genellikle nötr pH'larda (pH 6.0-7.0) en iyi performansı gösterirler, çünkü bu pH aralığı bakterilerin hem büyümesi hem de nodül oluşturma yeteneğini destekler. Daha yüksek pH seviyelerinde, özellikle alkali topraklarda, bakterilerin azot fiksasyonu yetenekleri azalır. Bunun nedeni, alkali koşulların bakteri hücre duvarı yapısını ve enzim aktivitelerini olumsuz yönde etkilemesidir. Ayrıca, yüksek pH seviyeleri Fe ve Mo gibi bazı mikroelementlerin toprakta bağlanmasına neden olabilir ve bu da *Rhizobium* bakterilerinin verimli çalışması için gereken enzimlerin üretimini sınırlayabilir. Düşük pH'lar ise özellikle toksik Al ve Mn düzeylerinin artmasıyla *Rhizobium* popülasyonunu baskılayabilir. Bu nedenle, *Rhizobium* bakterilerinin etkinliği açısından toprak pH'sının nötr civarında olması önerilmektedir (Zahran, 1999, Graham ve Vance, 2000).

Toprakların Elektriksel İletkenlik (EC) değerleri 0,254-0,732 dS/m arasında değişmekte olup hiçbir toprak örneğinde tuzluluk problemi yoktur. Toprak elektriksel iletkenliği (EC), topraktaki tuz konsantrasyonunun bir göstergesi olup, *Rhizobium* bakterilerinin gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Topraktaki yüksek tuzluluk, *Rhizobium* bakterilerinin hem büyümesini hem de bitkilerle simbiyotik ilişkilerini olumsuz yönde etkileyebilir (Zahran, 1999). Yüksek EC değerleri, ozmotik stres oluşturarak bakterilerin hücre yapısını ve metabolik aktivitelerini bozar. *Rhizobium* bakterileri, tuzlu koşullar altında nodül oluşturma ve azot fiksasyonu yeteneklerini kaybedebilir, bu da simbiyotik azot fiksasyonunun verimliliğini düşürür (Singleton ve Bohlool, 1984). Tuzluluğun artmasıyla, özellikle sodyum iyonlarının birikmesi, *Rhizobium* bakterilerinin köklerle etkileşimini zorlaştırır ve kök nodüllerinin oluşumunu sınırlayabilir. Ayrıca, yüksek EC seviyeleri, bitkilerin su ve besin alımını engelleyerek genel bitki sağlığını bozar ve böylece *Rhizobium* bakterilerinin simbiyotik ilişki kurma yeteneğini zayıflatır. Optimal *Rhizobium* gelişimi için toprak elektriksel iletkenliğinin düşük olması (genellikle 1 dS/m'nin altında) gerekmektedir. Düşük

EC seviyeleri, bakterilerin köklerle sağlıklı bir simbiyotik ilişki kurması için en uygun çevresel koşulları sağlar.

Çizelge 4.1. Yonca köklerinin alındığı arazilere ait toprakların kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları

Ö.No	pH	EC (dS/m)	% Top. Tuz	Bünye	% CaCO ₃	% O.M.	% Top. N	P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Na (ppm)
1	7,26	0,254	0,0082	SL	0,45	1,99	0,118	8	148	2660	51
2	8,09	0,404	0,0133	SL	1,67	1,92	0,109	13	69	4870	57
3	8,26	0,468	0,0166	CL	3,03	1,72	0,119	30	94	5430	128
4	8,17	0,310	0,0104	SL	1,82	1,65	0,111	22	67	3640	60
5	8,64	0,637	0,0231	SCL	15,91	2,20	0,111	35	207	5370	180
6	8,30	0,732	0,0303	SCL	18,13	2,06	0,110	33	215	5850	139

Topraklarını tekstür sınıfı; 1, 2 ve 4 numaralı topraklar Kumlu Tın (SL), 5 ve 6 numaralı topraklar Kumlu Killi Tın (SCL), 3 numaralı toprak ise Killi Tın (CL) bünyededir. Toprak tekstürü, *Rhizobium* bakterilerinin toprakta hareket edebilme kabiliyetini ve köklerle nodül oluşturma potansiyelini doğrudan etkiler. Özellikle, ağır kil bünyeli topraklar suyun yavaş hareket etmesi ve düşük oksijen geçirgenliği nedeniyle *Rhizobium* bakterilerinin metabolik aktivitelerini baskılayarak azot fiksasyonunu olumsuz etkileyebilir (Zahran, 1999). Suya doymuş ve zayıf havalanmış topraklarda, bakterilerin nodül oluşturma kapasitesi azalır ve bitkilerle simbiyotik ilişkileri zarar görür. Kum bünyeli topraklar ise yüksek oksijen geçirgenliği sağlasa da düşük su tutma kapasitesi, *Rhizobium* bakterilerinin uzun süreli hayatta kalmasını zorlaştırır. En uygun koşullar genellikle mil ve kum oranlarının dengeli olduğu, iyi drene edilen tın bünyeli topraklardır. Tın bünyeli topraklar *Rhizobium* bakterilerinin köklerle sağlıklı bir simbiyotik ilişki kurmasına ve azot fiksasyonunu artırmasına olanak tanır (Giller, 2001).

Yonca bitkisinin kök bölgesinden alınan toprakların kireç (% CaCO₃) kapsamı %0,45 ile %18,13 arasında değişmektedir. Ülgen ve Yurtsever (1984)'in bildirdiği sınır değerlerine göre 1, 2 ve 4 numaralı topraklar düşük, 3 numaralı toprak Kireçli, 6 ve 7 numaralı topraklar ise Yüksek Kireçli sınıfına girmektedir. Toprakların Organik madde içerikleri ise %1,65-2,20 arasında değişmekte olup 1, 2, 3, 4 numaralı toprakların organik madde içerikleri düşük, 5 ve 6 numaralı toprakların ise organik madde içeriğinin orta düzeyde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1). Topraktaki kireç (%CaCO₃) ve organik madde içeriği, *Rhizobium* bakterilerinin

gelişimini ve bitkilerle simbiyotik ilişkilerini doğrudan etkileyen önemli toprak özellikleridir. Kireçli topraklar, yüksek pH düzeylerine sahip olma eğilimindedir ve bu da *Rhizobium* bakterilerinin gelişimini olumsuz etkileyebilir. Kirecin yüksek olduğu alkali topraklarda, özellikle mikrobese elementlerinin (demir, çinko, molibden gibi) bitkiler tarafından alınabilirliği azalır, bu durum *Rhizobium* bakterilerinin enzimatik aktivitelerini sınırlandırarak azot fiksasyonunu zayıflatır (Zahran, 1999). Bununla birlikte, toprağın organik madde içeriği *Rhizobium* bakterilerinin gelişimi açısından son derece olumlu bir faktördür. Organik madde, toprak yapısını iyileştirir, su tutma kapasitesini artırır ve bakteri için gerekli olan karbon kaynaklarını sağlar. Ayrıca, organik madde toprak pH'ını tamponlayarak, aşırı alkali ya da asidik koşulların olumsuz etkilerini hafifletir. Yüksek organik madde içeriği, *Rhizobium* bakterilerinin hayatta kalma oranını ve nodül oluşturma kapasitesini artırır (Giller, 2001).

Toprakların % Toplam Kjeldahl Azotu (TKN) içerikleri %0,108-0,118 arasında değiştiği belirlenmiştir. Buna göre toprakların hepsi Toplam Kjeldahl Azotu (TKN) açısından orta düzeyde olduğu belirlenmiştir. Toplam azot (TKN), topraktaki organik azot ve amonyum azotunun bir ölçüsüdür ve bu değer, *Rhizobium* bakterilerinin gelişimi ve simbiyotik azot fiksasyonu üzerinde önemli bir rol oynar. *Rhizobium* bakterileri, atmosferik azotu bitkilerin kullanabileceği amonyum ve nitrat formuna dönüştürmek için simbiyotik bir ilişkiye girerler, ancak toprakta yüksek miktarda organik azot veya amonyum azotu bulunması bu süreci olumsuz yönde etkileyebilir. Özellikle yüksek TKN seviyeleri, bitkilerin azota olan ihtiyacını azaltabilir ve bu durum *Rhizobium* ile bitki arasındaki simbiyotik ilişkiyi zayıflatabilir (Giller, 2001). Topraktaki organik azot seviyelerinin fazla olması, bitkinin azotu direkt topraktan almasına neden olur ve *Rhizobium* bakterilerinin köklerle nodül oluşturma gereksinimi azalır. Bunun sonucunda, bakterilerin azot fiksasyonu etkinliği düşebilir. Öte yandan, düşük azotlu topraklar, *Rhizobium* bakterilerinin bitkilerle simbiyoz geliştirmesi için daha uygun koşullar sağlar, çünkü bu durumda bitkiler, azot ihtiyacını karşılamak için bakterilerle simbiyotik ilişkiye daha fazla ihtiyaç duyar (Zahran, 1999). Bu bağlamda, TKN seviyesi düşük olan topraklar, *Rhizobium* gelişimi ve etkin azot fiksasyonu için daha elverişli ortamlar sunar.

Yonca bitkilerinin örneklediği arazilere ait toprakların alınabilir Olsen Fosforu değerleri 8-35 mg.kg⁻¹ arasında değişmiş olup 1. ve 2. toprak örneklerinde yeterli, diğer toprakların ise yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Toprakta bulunan fosfor, bitkilerin gelişimi ve *Rhizobium* bakterileri ile kurduğu simbiyotik ilişki açısından kritik öneme sahiptir. Olsen fosforu, özellikle alkali ve nötr topraklarda bitkilerin alabileceği fosforun ölçülmesi için kullanılan bir yöntemdir. *Rhizobium* bakterilerinin etkili azot fiksasyonu için yeterli fosfor

seviyeleri gereklidir, çünkü fosfor, ATP üretimi ve enerji metabolizması gibi biyokimyasal süreçlerde önemli bir rol oynar. Yetersiz fosfor seviyeleri, bitkilerin kök gelişimini sınırlar ve dolayısıyla *Rhizobium* bakterileri için yeterli kök nodülü oluşumunu zorlaştırır (Israel, 1987). Fosfor eksikliği, nodül oluşumunun azalmasına ve bakterilerin azot fiksasyon verimliliğinin düşmesine neden olabilir. Ayrıca, yüksek fosfor eksikliği durumunda, bitki *Rhizobium* bakterileri ile simbiyoz kurmak yerine mevcut azot kaynaklarını kullanmaya yönelebilir (Zahran, 1999). Bu bağlamda, topraktaki yeterli Olsen fosfor konsantrasyonları, *Rhizobium* bakterilerinin gelişimi ve etkin azot fiksasyonu için kritik bir parametredir.

Toprak örneklerinin değişebilir K içerikleri 67-215 mg.kg⁻¹ arasında değişmektedir bu değerlere göre 2, 3 ve 4 numaralı toprakların değişebilir K içerikleri çok düşük, 1 numaralı düşük, 5 ve 6 numaralı toprakların ise orta düzeydedir. Değişebilir Ca içerikleri 2660-5850 mg.kg⁻¹ arasında değişmekte olup 1 numaralı toprakta değişebilir Ca içeriği orta, diğer topraklarda ise yüksek düzeydedir. Değişebilir Na bakımından topraklar 51-180 mg.kg⁻¹ arasında değişmekte olup 1, 2 ve 3 numaralı topraklarda düşük, 3, 5 ve 6 numaralı topraklarda ise orta düzeydedir. Toprakta bulunan değişebilir potasyum, kalsiyum ve sodyum gibi makro besin elementlerinin konsantrasyonları, *Rhizobium* bakterilerinin gelişimi ve simbiyotik azot fiksasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Potasyum, bitkilerde su dengesinin düzenlenmesinde ve hücre içi iyon dengesinde kritik rol oynar, dolayısıyla bitkilerin *Rhizobium* bakterileri ile simbiyotik ilişki kurmasında dolaylı bir etkisi vardır. Yeterli potasyum seviyeleri, bitkilerin stres koşullarına karşı direncini artırarak kök gelişimini destekler ve bu durum *Rhizobium* bakterilerinin kök nodülü oluşturma kapasitesini olumlu etkiler (Zahran, 1999). Değişebilir Kalsiyum ise, hücre duvarı yapısında ve sinyal iletiminde önemli bir role sahiptir. *Rhizobium* bakterileri ile bitkiler arasındaki simbiyotik ilişkinin kurulmasında, kalsiyumun nodül oluşumunu teşvik edici bir etkisi vardır. Kalsiyum eksikliği, kök nodülü oluşumunu ve *Rhizobium*'un kökle olan etkileşimini olumsuz yönde etkileyebilir (Giller, 2001). Öte yandan, toprakta yüksek sodyum seviyeleri, özellikle tuzlu koşullarda, *Rhizobium* bakterilerinin gelişimini baskılayabilir. Yüksek sodyum konsantrasyonları, toprak yapısını bozarak su tutma kapasitesini ve havalanmayı azaltır, bu da bakterilerin nodül oluşturma ve azot fiksasyon kapasitelerini sınırlar (Singleton & Bohlool, 1984). Bu nedenle, düşük sodyum ve yeterli potasyum ve kalsiyum seviyeleri, *Rhizobium* bakterilerinin gelişimi için optimal koşulları sağlar.

4.2. Bakteri Aşılamalarının Bitki Boyu, Yaş ve Kuru Ağırlığı Üzerine Etkileri ve %Değişim Oranları

Bakteri uygulamalarının 9 haftalık yetiştirme dönemi sonucunda hasat edilen yonca bitkisinin boyu, yaş ve kuru ağırlıkları üzerine etkileri ve Azotsuz Kontrol (-N Kontrol) uygulamasına göre % Değişim oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir (Resim 4.1). Bakteri uygulamalarının Bitki boyu, Yaş ve Kuru ağırlıkları üzerine etkilerinin kontrol uygulamasına göre istatistiki olarak ($p \leq 0.01$) düzeyinde farklı olduğu belirlenmiştir. Bitki boyu en uzun Azotlu Kontrol (+N Kontrol) uygulamasında (75,33 cm) belirlenmiş olup ilk istatistiki sınıfı oluşturmuştur. Bunu 3 ve 6 numaralı bakteri uygulamaları takip etmiş ve ikinci istatistiki sınıfı oluşturmuştur. Buna göre bitki boyunda mineral azotlu gübre uygulaması (+N Kontrol) ile -N Kontrol uygulamasına göre %167,42’lik bir artış olurken 3 numaralı bakteri uygulaması ile %116,54, 6 numaralı bakteri uygulaması ile %95,24’lük bir artış meydana gelmiştir. 2 numaralı bakteri uygulaması ile -N Kontrol uygulamasına göre %1,76’lık bir artış olmuş ve son istatistiki grubunu oluşturmuştur. Bakteri uygulaması sonucunda yonca bitkisinin yaş ağırlıkları 0,57-3,32 gr arasında değişmiştir. Buna göre ilk istatistiki grubu +N kontrol uygulaması oluşturmuştur. Bu uygulamayı 6 numaralı bakteri (2,12 gr) uygulamasında elde edilmiştir. Bu uygulamayı 3 nolu bakteri (1,22 gr) takip etmiştir. -N Kontrol uygulaması son istatistiki grubu oluşturmuştur. Bitki kuru ağırlığında ise ilk istatistiki grubu 6 numaralı bakteri uygulaması (1,5 gr) oluştururken bunu 1 numaralı bakteri uygulaması (0,94 gr) ve +N Kontrol (0,82 gr) konuları takip etmiştir. Bitki kuru ağırlığında en düşük değer 0,1 gr ile -N Kontrol uygulamasında elde edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda 6 numaralı bakteri uygulamasının +N Kontrol uygulamasına çok yakın olduğu ve kimyasal gübre uygulamadan 6 numaralı bakteri uygulamasıyla bitki boyu, yaş ve kuru ağırlığında ekonomik olarak artış oluşabileceği anlaşılmaktadır. Araştırmada elde edilen bulgular, bakteri aşılamalarının yonca bitkisinin büyüme parametreleri üzerindeki olumlu etkilerini açıkça ortaya koymaktadır. Bu durum, mevcut literatürle tutarlılık göstermektedir. *Rhizobium* bakterilerinin simbiyotik etkilerinin, toprağın azot bakımından zenginleşmesine katkı sağladığı belirtilmiştir (Aydın-Kandemir ve Demir, 2021). Bu durum, çalışmada 6 numaralı bakteri uygulamasının etkilerini desteklemektedir. Eraslan vd. (2010), kimyasal gübreleme yerine *Rhizobium* gibi biyolojik ajanların kullanılmasının sürdürülebilir tarım için önemli olduğunu ortaya koymuştur. *Rhizobium* bakterilerinin kök nodüllerindeki simbiyotik azot fiksasyonu sayesinde bitki boyunun önemli ölçüde arttığı pek çok çalışmada ortaya konulmuştur. Çetinkaya vd. (2018) yürüttükleri çalışmada, *Rhizobium* aşılamalarının nohut

bitkisinde bitki boyunu artırdığı vurgulanmıştır. Benzer şekilde, Türkmen ve Kaya'nın (2023) çalışması, *Rhizobium tropici*'nin azot içermeyen ortamda bile fasulye bitkilerinde belirgin bir büyüme sağladığını göstermiştir. Bitkilerin yaş ağırlığının artması, kök ve sürgün gelişiminin optimize edilmesiyle ilişkilidir. Dadaşoğlu ve Angın (2022), fasulye genotiplerinde *Rhizobium* sp. izolatlarının yaş ağırlığı artırdığını belirtmişlerdir. Başdemir vd. (2020) ise bezelyede biyo gübreleme uygulamalarının yaş ağırlık üzerindeki olumlu etkilerini rapor etmişlerdir. Bu durum, *Rhizobium* bakterilerinin kök gelişimini teşvik ederek su ve besin alımını artırdığı gerçeğiyle uyumludur. Kuru ağırlık, bitkinin biyokütlesini ve verim potansiyelini doğrudan etkileyen önemli bir parametredir. İpekeşen vd. (2020) yaptığı çalışmada, *Rhizobium* uygulamalarının bezelye bitkisinin kuru ağırlığını artırdığı gözlenmiştir. Ayrıca, Selvi vd. (2021), turuncgil çöğürlerinde *Rhizobium* uygulamalarının kuru ağırlık performansını önemli ölçüde iyileştirdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmalardan da görüldüğü üzere, *Rhizobium* bakterilerinin bitki boyu, yaş ve kuru ağırlık üzerindeki olumlu etkileri geniş bir şekilde desteklenmektedir. Bu etkiler, bakterilerin simbiyotik azot fiksasyonu, hormon üretimi (IAA gibi) ve kök büyümesini teşvik edici özellikleriyle ilişkilidir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, literatürdeki bulgularla tutarlıdır ve *Rhizobium* bakterilerinin kimyasal gübre kullanımını azaltmada etkili bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.2. Leonard Kavanoz sisteminde yeyiştirilen yonca bitkisine ait bitki boyu, yaş ve kuru ağırlık ile bu değerlerin Azotsuz kontrol uygulamasına göre % Değişim oranları

Uygulama	Bitki Boyu (cm)	% Değişim	Yaş Ağırlık (gr)	% Değişim	Bitki Kuru Biyokütlesi (gr/Kavanoz)	% Değişim
1	37,67 BC	33,71	1,16 CD	104,09	0,94 B	840,0
2	28,67 C	1,76	1,10 CD	92,40	0,67 BC	566,7
3	61,00 AB	116,54	1,22 C	114,04	0,39 CD	290,0
4	39,67 BC	40,81	1,10 CD	93,68	0,37 CD	273,3
5	40,00 BC	42,00	0,88 CD	54,97	0,37 CD	270,0
6	55,00 AB	95,24	2,12 B	272,51	1,50 A	1396,7
+N	75,33 A	167,42	3,32 A	481,87	0,82 B	716,7
-N	28,17 C	-	0,57 D	-	0,10 D	-
P<...:	**		**		**	
- Her sütunda farklı renkte harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir. (*: p<0.05, **: p<0.01, öd: önemli değil).						



Resim 4.1. Bakteri uygulamalarının bitki boyu ölçümü ve nodül oluşumu ile ilgili fotoğraflar.



Resim 4.1. Bakteri uygulamalarının bitki boyu ölçümü ve nodül oluşumu ile ilgili fotoğraflar.

4.3. Bakteri Aşılamalarının Bitki Azot İçeriğine Etkileri ve % Değişim Oranları

Yapılan çalışma neticesinde, Koçarlı ilçe sınırları içerisinde yonca (*Medicago sativa*) tarımı yapılan alanlarda yonca bitki köklerinden izole edilen bakteri izolatlarının yonca bitkisinin toplam N içeriğine etkilerinin istatistiki anlamda ($p < 0.01$) önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Buna göre yonca bitkisinde toplam N içeriği en yüksek İnokulant-6 uygulamasında (%3.08) belirlenirken, bunu sırasıyla +N Kontrol (%2.77), İnokulant-4 (% 2.69), İnokulant-2 (% 2.49), İnokulant-1 (% 2.44), İnokulant-3 (% 2.38) ve İnokulant-5 (% 2.24) izlemiştir. Çalışmada, İnokulant-6 uygulaması en yüksek toplam azot içeriği (%3,08) sağlamış ve azot fiksasyon kapasitesi bakımından diğer uygulamaları geride

birakmiştir. Bu bulgular, simbiyotik *Rhizobium* türlerinin etkisini gösteren benzer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Başka bir çalışmada, Angın ve Dadaşoğlu (2022), *Rhizobium* sp. izolatlarının fasulyede azot içeriğini artırdığını vurgulamıştır. En düşük toplam N içeriği –N Kontrol uygulamasında (%1.44) elde edilmiştir. Bu sonuçlar göstergesinde, bakteri uygulamalarının –N Kontrol uygulamasına göre yonca bitkisinin azot içeriğindeki artışlar değerlendirildiğinde %113.89 artış ile İnokulant-6 uygulaması ilk istatistiki sınıfı oluşturmuştur. Bunu +N Kontrol uygulaması %92.50 artış ile takip etmiş ve ikinci istatistiki sınıfı oluşturmuştur. Bu uygulamaları –N Kontrol uygulamasına göre, İnokulant-4, İnokulant-2, İnokulant-1, İnokulant-3 ve İnokulant-5 uygulamaları sırasıyla % 86.67, % 73.06, % 69.17, % 65.28 ve % 55.56 olacak şekilde belirlenmiştir. *Rhizobium* inokulantlarının azot fiksasyon mekanizmasının gücünü ortaya koymaktadır. Selvi ve arkadaşlarının (2021) turuncgil çöğürleri üzerinde yaptığı çalışmada da *Rhizobium* uygulamaları, azot içeriğini ve bitki büyümesini önemli ölçüde artırmıştır. (Çizelge 4.3; Şekil 4.1).

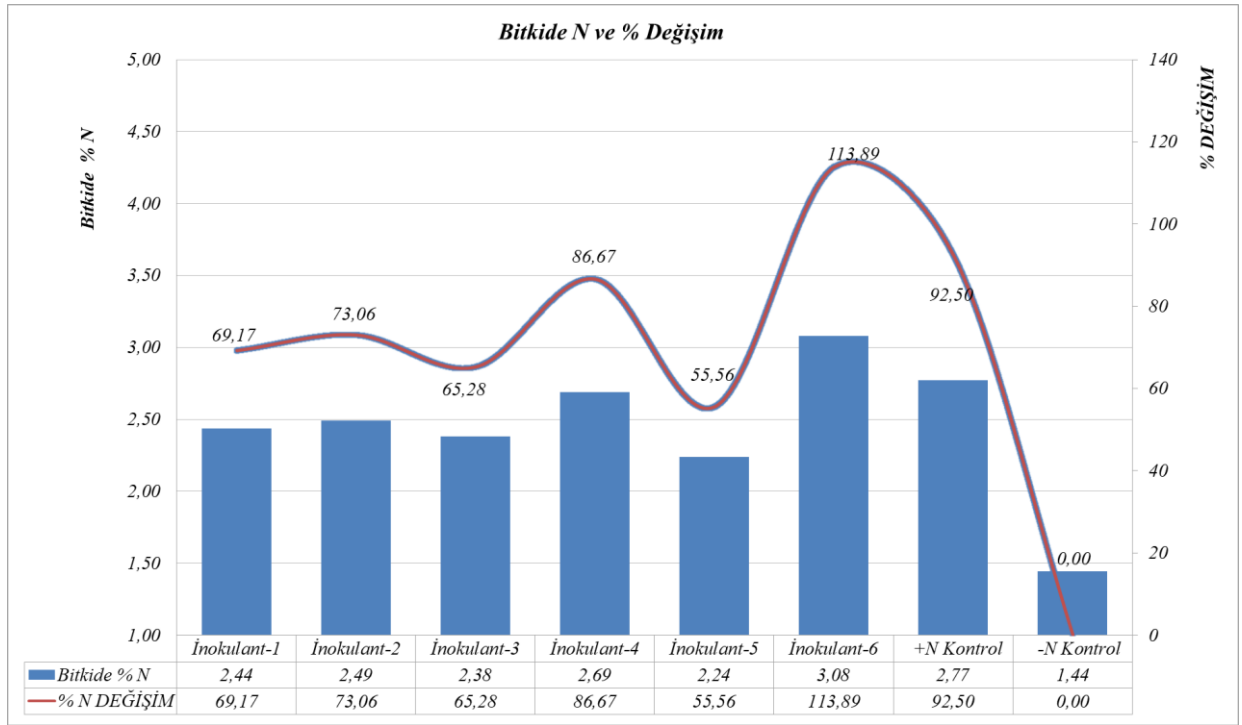
Çizelge 4.3. Denemede yetiştirilen yonca bitkilerinin toplam azot ve kuru Biyobütle miktarları

Uygulama	% N	% DEĞİŞİM	mg N / Kavanoz	% DEĞİŞİM	Bitki Kuru Biyokütlesi (gr/Kavanoz)	% DEĞİŞİM
1	2,44 <i>BCD</i>	69,17	22,89 <i>B</i>	1534,7	0,94 <i>B</i>	840
2	2,49 <i>BCD</i>	73,06	17,14 <i>BC</i>	1124,2	0,67 <i>BC</i>	567
3	2,38 <i>CD</i>	65,28	9,12 <i>CD</i>	551,7	0,39 <i>CD</i>	290
4	2,69 <i>BC</i>	86,67	10,00 <i>CD</i>	614,2	0,37 <i>CD</i>	273
5	2,24 <i>D</i>	55,56	8,50 <i>CD</i>	506,9	0,37 <i>CD</i>	270
6	3,08 <i>A</i>	113,89	46,31 <i>A</i>	3207,9	1,50 <i>A</i>	1397
+N	2,77 <i>AB</i>	92,50	22,48 <i>B</i>	1505,9	0,82 <i>B</i>	717
-N	1,44 <i>E</i>	-	1,40 <i>D</i>	-	0,10 <i>D</i>	-
<i>P<...:</i>	**		**		**	
- Her sütunda farklı renkte harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir. (* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$, öd: önemli değil).						

Çizelge 4.4 Farklı İnokulant uygulamalarının Yonca bitkisinde % N içeriğine etkisine ait varyans analiz tablosu ($LSD_{0,01}:0,161$)

<i>Varyans Analiz Tablosu</i>				
<i>Kaynak</i>	<i>Ser. Der.</i>	<i>Kareler Top.</i>	<i>F Değeri</i>	<i>Olasılık (%1)</i>
<i>Uygulama</i>	7	4,869855	17,679	<0,0001
<i>Hata</i>	16	0,629627		
<i>Toplam</i>	23	5,499482		

Bitki Kuru Biyokütlesinin bakteri uygulamalarıyla birlikte –N Kontrol uygulamasına göre arttığı belirlenmiştir. Bu artışlar istatistiki olarak ($p<0.01$) düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Buna göre ilk istatistiki grup İnokulant-6 (1,50 gr/Kavanoz) olarak belirlenmiştir ve –N Kontrol uygulamasına göre % 3207,9 oranında bir artış meydana gelmiştir. İkinci istatistiki grubu İnokulant-1 (0,94 gr/kavanoz) ve +N-Kontrol (0,82 gr/kavanoz) uygulamaları oluşturmuştur ve –N Kontrol uygulamasına göre sırasıyla %840, %717 oranında bir artış meydana gelmiştir. Bunu sırasıyla İnokulant-2, İnokulant-3, İnokulant-4 ve 5 uygulamaları takip etmiştir (Çizelge 4.4). +N Kontrol uygulaması %92,50’lik bir artışla ikinci sırada yer almış; bu durum, kimyasal azot gübrelemesinin etkinliğini göstermektedir. Ancak, bakteriyel inokulantların çevresel ve ekonomik avantajları dikkate alındığında, *Rhizobium* uygulamalarının sürdürülebilir tarıma katkı sağlayabileceği söylenebilir. Başdemir ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, organik ve biyo gübre uygulamalarının kimyasal gübreleme kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Azot içeriğiyle birlikte biyokütle artışı da dikkat çekicidir. İnokulant-6, %3207,9’luk bir biyokütle artışı sağlamış ve bu sonuçlar literatürdeki bulgularla uyum göstermiştir. İpekeşen vd. (2020) bezelye bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada, *Rhizobium* inokulasyonlarının hem biyokütle hem de azot içeriğini artırdığı vurgulanmıştır.



Şekil 4.1. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinin % N içeriği ve uygulamalara bağlı olarak azotun % değişim oranı

4.4. Bakteri Aşılamalarının Toplam ve Aktif Nodül Sayıları, Tespit Edilen Azot Miktarı, Simbiyotik Etkinlik (%) ve Etkinlik Derecesi (%) Üzerine Etkileri

Bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde nodül oluşumu üzerine etkinliği istatistiki olarak ($p < 0.01$) düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5; Çizelge 4.6). Bakteri aşılamalarıyla birlikte yonca bitkisi köklerinde nodüller oluşurken bakteri aşılması yapılmamış olan +N ve -N Kontrol uygulamalarında nodül oluşumu gözlenmemiştir. İnokulant-6 uygulamasıyla en yüksek sayıda nodül oluşumu gözlenmiş olup toplam 27 adet nodül oluşurken bunların 11 adedinin aktif olduğu belirlenmiş ve ilk istatistiki grubu oluşturmuştur. Bu uygulamayı İnokulant-5 (15 adet nodülden 8 adedi aktif) ve İnokulant-1 (12 adet nodülden 5 adedi aktif) uygulamaları takip etmiştir. Bakteri uygulaması yapılan bitkilerin hepsinde nodül oluşumu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Dadaşoğlu ve Angın'ın (2022) fasulye üzerinde yaptığı çalışmada elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir; burada da *Rhizobium* inokulasyonları nodül oluşumunu ve etkinliğini artırmıştır. Ayrıca, Selvi vd. (2021) çalışmasında, turuncgil köklerinde benzer şekilde yüksek nodül oluşumu gözlenmiştir. Çetin Karaca (2010) çalışmasında, Konya bölgesinden izole edilen *Rhizobium* bakterilerinin fasulye bitkilerinde nodül etkinliğini artırdığı gösterilmiştir. Güvercin (2009), yarfıstığı

bitkilerinde *Rhizobium* aşılmasının nodül sayısını artırdığını ve azot fiksasyonu üzerinde olumlu etkiler sağladığını rapor etmiştir.

Çizelge 4.5. Bakteri Aşılamalarının Toplam ve Aktif Nodül Satıları, Tespit Edilen Azot Miktarı, Simbiyotik Etkinlik (%) ve Etkinlik Derecesi (%) Üzerine Etkileri

Uygulama	Toplam Nodül	Aktif Nodül	Tespit Edilen N (mg/Kavanoz)	Simbiyotik Etkinlik (%)	Etkinlik Derecesi (%)
1	12 BC	5 BC	0,996 BCD	87,88 E	114,63 B
2	8 C	4 BC	1,052 BCD	89,90 D	81,30 BC
3	10 BC	5 BC	0,940 CD	85,86 F	47,56 CD
4	9 C	5 BC	1,248 BC	96,97 C	45,53 CD
5	15 B	8 AB	0,800 CD	80,81 G	45,12 CD
6	27 A	11 A	1,640 A	111,11 A	182,52 A
+N	0 D	0 C	1,332 AB	100,00 B	100,00 B
-N	0 D	0 C	0,00 E	52,02 H	11,79 D
<i>P<...:</i>	**	**	**	**	**
- Her sütunda farklı renkte harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir. (* : $p<0.05$, **: $p<0.01$, öd: önemli değil).					

Çizelge 4.6. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Tespit Edilen N (mg N /kavanoz) miktarına etkisine ait varyans analiz tablosu ($LSD_{0,01;0,158}$)

Varyans Analiz Tablosu				
Kaynak	Ser. Der.	Kareler Top.	F Değeri	Olasılık (%1)
Uygulama	7	4,8789172	18,4497	<0,0001
Hata	16	0,6044428		
Toplam	23	5,4833600		

Bakteri uygulamalarının Tespit edilen N miktarı (mg N/ Kavanoz) üzerine olan etkileri aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmış olup uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak ($P<0,01$) seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5; Şekil 4.2; Çizelge 4.6).

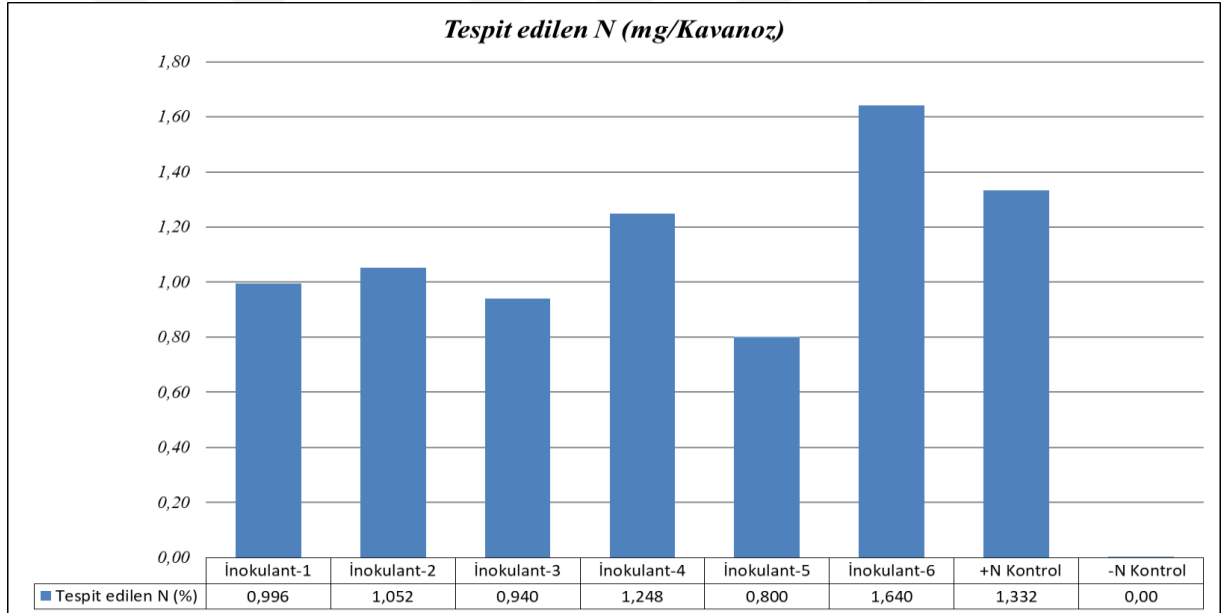
Tespit Edilen Azot Miktarı (mg N/ Kavanoz) = A – B eşitliğinden hesaplanmıştır

A: İzolatın Aşılandığı Bitkiye Ait Toplam Azot Miktarı

B: Aşısız Kontrole Ait Toplam Azot Miktarı

Bakteri uygulamalarıyla birlikte tespit edilen N miktarı İnokulant-6 uygulamasında 1,640 mg N/kavanoz olarak belirlenmiş ve ilk istatistiki grubu oluşturmuştur. Bu uygulamayı +N-Kontrol uygulaması takip etmiş ve 1,332 mg N/Kavanoz olarak belirlenmiş ve ikinci

istatistiki grubu oluşturmuştur. Bu sonuçlar mineral N’lu gübre uygulamasına karşı İnokulant-6 ve İnokulant-4 (1,248 mg N/kavanoz) uygulamalarıyla bitkilerde simbiyotik olarak azot ihtiyaçlarının karşılanabileceğini ve bu da ekolojik dengenin korunması ve toprak ve su kaynaklarının srdrlebilirliğı bakımından çok önemli bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu uygulamaları sırasıyla İnokulant-2 (1,052 mg N/Kavanoz), İnokulant-1 (0,996 mg N/Kavanoz), İnokulant-3 (0,940 mg N/Kavanoz) ve İnokulant-5 (0,800 mg N/Kavanoz) olarak hesaplanmıştır (izelge 4.5; şekil 4.2). İnokulant-6 uygulaması ile 1,640 mg N/kavanoz gibi yüksek bir azot fiksasyonu gözlenmiştir. Bu, kimyasal gübrelerin yerine biyolojik yöntemlerin kullanılabilirliğini destekleyen önemli bir bulgudur. İpekeşen vd. (2020), *Rhizobium* inokulasyonlarının bezelyede azot miktarını artırdığı ve verimliliğı önemli lde geliştirdiğı sonucuna ulaşmışlardır.

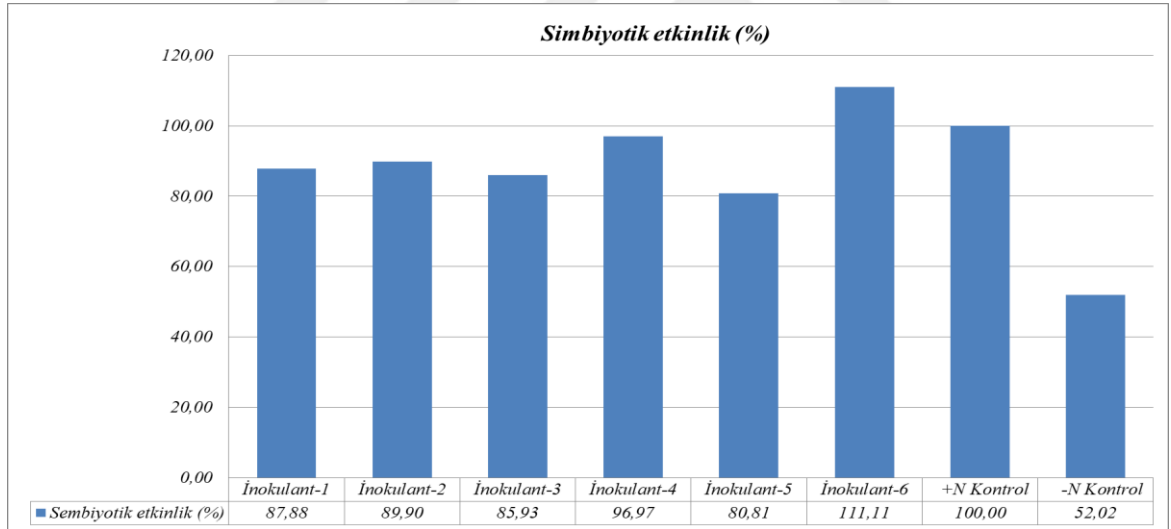


şekil 4.2. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Tespit edilen N (mg N /kavanoz) miktarı üzerine etkileri

Bakteri uygulamalarının % Simbiyotik Etkinlik derecesi aşağıda verilen eşitliğı göre hesaplanmış olup uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak ($P < 0,01$) seviyesinde önemli bulunmuştur (izelge 4.5; şekil 4.3; izelge 4.7).

$$\text{Simbiyotik Etkinlik (\%)} = \frac{\text{İzolatan aşılandığı bitkinin azot miktarı} \times 100}{\text{Azotlu kontrolün azot miktarı}}$$

Bakteri uygulamalarına bağı olarak Simbiyotik Etkinlik (%) derecesi +N Kontrol uygulamasındaki N niktari %100 olarak kabul edildiğinde bakteri uygulamalarına bağı olarak bitkinin N mikratındaki değışim esas alınarak hesaplanan bir değırdır. Buna göre İnokulant-6 uygulamasında Simbiyotik etkinli %111,11 bulunmuş ve ilk istatistiki grubu oluşturmuştur. Bu uygulamayı sırasıyla İnokulant-4, İnokulant-2, İnokulant-1, İnokulant-3 ve İnokulant-5 uygulamaları izlemiş ve Simbiyotik Etkinlik dereceleri +N-Kontrol uygulamasının altında kalmış olsa da her uygulamada %80'in üzerinde bir Simbiyotik Etkinlik derecesi elde edilmiştir (Çizelge 4.6; Şekil 4.3). Bu veriler de bakteri uygulamalarıyla birlikte bitkilerde kimyasal azot uygulamalarına yakın azot belirlendiğı ve bakteri uygulamaları ile kimyasal azotlu gübre kullanımının azaltılabileceğı net olarak görölmektedir. Simbiyotik etkinlik, *Rhizobium* bakterilerinin performansını ölçen önemli bir göstergedir. İnokulant-6 uygulamasında %111,11 gibi yüksek bir simbiyotik etkinlik oranı elde edilmiştir. Bu bulgular, *Rhizobium*'un simbiyotik azot fiksasyonundaki etkisini doğrulayan Türkmen ve Kaya'nın (2023) çalışmasıyla örtüşmektedir. Simbiyotik etkinlik oranlarının, +N kontrol uygulamasına oldukça yakın olması, bakteriyel inokulantların etkinliğini göstermektedir.



Şekil 4.3 Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Simbiyotik Etkinlik (%) derecesi üzerine etkileri

Çizelge 4.7. Farklı bakteri uygulamalarının yonca bitkisinde Simbiyotik Etkinlik (%) derecesine ait varyans analiz tablosu ($LSD_{0,01:0,167}$)

<i>Varyans Analiz Tablosu</i>				
<i>Kaynak</i>	<i>Ser. Der.</i>	<i>Kareler Top.</i>	<i>F Değeri</i>	<i>Olasılık (%1)</i>
<i>Uygulama</i>	7	6338,1211	21568,68	<0,0001
<i>Hata</i>	16	0,6717		
<i>Toplam</i>	23	6338,7927		

Bakteri uygulamalarının Etkinlik Derecesi (%) üzerine olan etkileri aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmış olup uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak ($P<0,01$) seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5).

$$\text{Etkinlik derecesi (\%)} = \frac{\text{Test bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı} \times 100}{\text{Azotlu kontrol bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı}}$$

Bakteri uygulamalarının etkinlik derecelerine göre gruplara ayrılmasında Çizelge 4.8’de verilen sınırlar esas alınmıştır (Holding ve Kong, 1963).

Çizelge 4.8 Bakteri uygulamalarının bitkilerde Etkinlik Derecesi (%) sınıflandırma çizelgesi

<i>% ETKİNLİK DERECESİ</i>	
<i><25</i>	<i>Etkisiz</i>
<i>50 - 25</i>	<i>Düşük Etkili</i>
<i>75 - 50</i>	<i>Orta Derecede Etkili</i>
<i>100 - 75</i>	<i>Etkili</i>
<i>>100</i>	<i>Çok Etkili</i>

Bakteri uygulamalarının bitki üzerindeki etkinlik derecesi incelendiğinde Etkinlik derecesi ilk istatistiki grubu İnokulant-6 uygulaması (%182,52) oluşturmuş ve %100’den büyük olduğu için **Çok Etkili** olarak değerlendirilmişti (Çizelge 4.8). Bu uygulamayı %114,63 ile İnokulant-1 takip etmiş ve bu uygulamada **Çok Etkili** olarak değerlendirilmiştir. İnokulant-2 uygulaması %81,30 olarak hesaplanmış ve **Etkili** olarak değerlendirilmiştir. İnokulant3, İnokulant-4 ve İnokulant 5 in etkinlik dereceleri sırasıyla %47,56, %45,53, %45,12 olarak hesaplanmış ve **Düşük Etkili** olarak değerlendirilmişlerdir. Bu veriler ışığında Etkinlik derecesi göz önüne alındığında İnokulant-6 ve İnokulant-1 uygulamaları kimyasal azotlu

gübreye göre bitkinin azot alımında ve verimliliğinde daha etkili olduğu görülmektedir. Başdemir vd. (2020) tarafından yapılan bezelye araştırmasında, *Rhizobium* uygulamalarının benzer şekilde yüksek etkinlik derecelerine sahip olduğu belirlenmiştir. İnokulant-6 ve İnokulant-1'in "**çok etkili**" olarak değerlendirilmesi, biyolojik gübrelerin kimyasal gübrelerin yerine geçebileceğini vurgulamaktadır.

4.5. Yonca Nodüllerinden İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik, Fizyolojik ve Genomik DNA Tanımlamasına Dayalı Özellikleri

Koçarlı ilçesinde yonca yetiştirilen alanlardan alınan yonca kök örneklerindeki kök nodüllerinden izole edilen bakteri örneklerinde tanımlayıcı olarak morfolojik, fizyolojik ve genetiksel gözlem ve tanımlamalar yapılmıştır. Bu tanımlamalar doğrultusunda tanımlanan bakteri türleri; *Rhizobium spp.*, *Paenibacillus panacisoli*, *Achromobacter mucicolens* ve *Pseudomonas lini* olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. İzole edilen bakteri örneklerinin morfolojik, fizyolojik ve genetiksel özellikleri

<i>Bakteri Türü</i>	<i>Gram Boyama</i>	<i>Oksidaz Aktivitesi</i>	<i>Katalaz Aktivitesi</i>	<i>Endospor Oluşumu</i>	<i>Hücre Formu</i>
<i>Rhizobium spp.</i>	G (-)	Pozitif	Pozitif	Endospor oluşturmaz	Çubuk
<i>Paenibacillus panacisoli</i>	G (+)	Negatif	Pozitif	Endospor oluşturur	Çubuk
<i>Achromobacter mucicolens</i>	G (-)	Pozitif	Pozitif	Endospor oluşturmaz	Çubuk
<i>Pseudomonas lini</i>	G (-)	Pozitif	Pozitif	Endospor oluşturmaz	Çubuk

Rhizobium spp.; *Rhizobiaceae* familyasına ait, Gram-negatif ve çubuk şeklinde bakterilerdir. Oksidaz aktivitesi: pozitif, Katalaz aktivitesi: pozitif ve endospor oluşturmazlar. Bu bakteriler, toprakta doğal olarak bulunan ve baklagil bitkilerinin kökleri ile simbiyotik bir ilişki kurarak azot fiksasyonu yapma yeteneğine sahip mikroorganizmalardır (Madigan et al., 2015). ***Rhizobium*** türleri, baklagil bitkileriyle kurdukları bu simbiyotik ilişki sayesinde, atmosferdeki serbest azotu biyolojik olarak bağlayarak bitkinin kullanabileceği amonyum (NH_4^+) formuna dönüştürürler. Bu özellikleri ile ***Rhizobium*** bakterileri, sürdürülebilir tarım

uygulamalarında önemli bir rol oynamaktadır. **Rhizobium** türlerinin en bilinen tarımsal uygulaması, biyolojik azot fiksasyonudur. Bu bakteriler, baklagil bitkilerinin kök hücreleri ile birleşerek özel kök nodülleri oluştururlar. Kök nodülleri içinde, serbest atmosferik azot (N₂) bakteriler tarafından bitkilerin kullanabileceği amonyuma dönüştürülür. Bu süreç, baklagil bitkilerine azot sağlar ve kimyasal gübre kullanımını azaltır (Garrity vd. 2004). Bu özellik, özellikle düşük azot içeriğine sahip topraklarda baklagillerin büyümesi ve verimliliği için kritik bir önem taşır. **Rhizobium** türleri, azot fiksasyonu yaparak toprağın azot içeriğini artırır ve toprak verimliliğini artırır. Bu durum, baklagil bitkilerinin ardından ekilen diğer bitkiler için de yararlı bir ortam sağlar. Bu nedenle, baklagil ekim rotasyonları, azot fiksasyon potansiyeli sayesinde toprak sağlığını iyileştirir ve sürdürülebilir tarım uygulamalarına katkı sağlar (Madigan vd. 2015).

Pseudomonas lini; *Pseudomonadaceae* familyasına ait, Gram-negatif, çubuk şeklinde ve hareketli bir bakteridir. Oksidaz aktivitesi: pozitif, Katalaz aktivitesi: pozitif ve endospor oluşturmazlar. *Pseudomonas* türleri, genellikle çok yönlü biyokimyasal aktiviteleri, çevresel uyum yetenekleri ve çeşitli bitki-mikroorganizma etkileşimlerinde yer almalarıyla bilinir (Madigan vd. 2015). **Pseudomonas lini**, özellikle bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip bir türdür ve çeşitli tarımsal uygulamalarda kullanılma potansiyeline sahiptir. Bitki köklerinde kolonize olarak büyüme hormonları üretme kapasitesine sahiptir. Bu bakteriler, indole-3-asetik asit (IAA) gibi büyüme düzenleyici hormonlar üretebilirler, bu da bitkilerin kök gelişimini ve genel büyümesini teşvik eder (Garrity vd. 2004). Ayrıca, fosfat çözündürme ve siderofor üretme yetenekleri sayesinde bitki besin elementlerinin kullanılabilirliğini artırır. **Pseudomonas lini**, patojen mikroorganizmalarla rekabet eden ve onları baskılayan biyokontrol ajanları olarak kullanılır. Özellikle antifungal bileşikler ve sideroforlar üreterek, bitkilerin kök patojenlerine karşı korunmasına yardımcı olabilirler (Holt vd. 1994). Bu özellikleri, tarımsal üretimde zararlı mikroorganizmalara karşı biyolojik mücadele stratejilerinin bir parçası olarak kullanılmasına olanak tanır. Toprak organik maddesinin biyodönüşümünde rol oynayan çeşitli enzimler üretir. Bu enzimler, bitki artıkları ve organik maddelerin parçalanmasına katkı sağlar, bu da topraktaki biyoyararlı besin elementlerinin artmasına neden olur (Madigan vd. 2015). Bu süreç, sürdürülebilir tarım uygulamaları açısından oldukça önemlidir. **Pseudomonas lini**, rizosferde dolaylı yoldan baklagil bitkilerinin büyümesini destekleyen ve toprak verimliliğini artıran bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, bitkiler için faydalı mikroorganizmalar arasında yer almakta ve çeşitli tarımsal

uygulamalarda potansiyel bir biyogübre veya biyokontrol ajanı olarak değerlendirilmektedir (Garrity vd. 2004).

Achromobacter mucicolens; *Achromobacter* cinsine ait, Gram-negatif, çubuk şeklinde ve hareketli bir bakteridir. *Achromobacter* türleri, çeşitli çevresel ortamlarda bulunan, yüksek uyum kabiliyetine sahip ve çok yönlü biyokimyasal aktiviteler sergileyen mikroorganizmalardır (Garrity vd. 2004). ***Achromobacter mucicolens***, özellikle organik madde dönüşümü ve bitki-mikrop etkileşimlerinde önemli roller üstlenebilir. ***Achromobacter mucicolens***, organik maddeyi parçalayarak topraktaki biyoyararlı besin elementlerini artıran çeşitli enzimler üretebilir. Bu enzimler, özellikle bitki artıkları ve organik maddelerin dönüşümünde önemli rol oynar (Madigan vd. 2015). Bu, toprak sağlığının iyileştirilmesine katkı sağlar ve bitkiler için daha verimli bir büyüme ortamı oluşturur. Bu bakteri türü, patojen mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilecek çeşitli biyokimyasal bileşikler üretebilir. Özellikle kök bölgesinde patojen baskılama yetenekleri sayesinde, bitkiler üzerinde biyokontrol ajanı olarak potansiyel bir rol oynayabilir (Holt et al., 1994). Bu, tarımsal üretimde pestisit kullanımını azaltmak için biyolojik mücadele stratejilerinin bir parçası olarak değerlendirilmektedir. ***Achromobacter mucicolens***, bazı bitki büyüme düzenleyici hormonlar üretebilir. Ayrıca, rizosferdeki besin elementlerinin çözünürlüğünü artırarak bitki köklerinin daha verimli bir şekilde besin almasına olanak sağlar (Garrity vd. 2004). Bu etkiler, özellikle kök büyümesini ve bitkilerin genel sağlığını destekler.

Paenibacillus panacisoli; *Paenibacillaceae* familyasına ait, Gram-pozitif, endospor oluşturan bir bakteridir (Tindall vd. 2006). Bu bakteri türü, özellikle biyogübre olarak tarım alanlarında önemli bir potansiyele sahiptir. ***Paenibacillus panacisoli***, bitki büyümesini destekleyen biyokimyasal aktivitelere sahiptir ve biyoproseslerdeki etkinliği ile bilinmektedir (Garrity et al., 2004). Bu tür, toprak mikrobiyolojisi açısından oldukça değerli olup, çeşitli toprak türlerinde ve bitki köklerinde kolonize olabilir. ***Paenibacillus panacisoli***, fosfat çözündürme yeteneği ile bitkilere gerekli fosforu sağlama açısından önemli bir role sahiptir. Topraktaki çözünmeyen fosfatları çözünür hale getirerek bitki kökleri tarafından emilimini artırır (Madigan vd. 2015). Bu özellik, özellikle düşük fosfor içeriğine sahip topraklarda bitki büyümesini desteklemektedir. Fosfor çözündürmenin yanında siderofor üretme kapasitesi, bu bakterinin demir alımını artırarak bitki sağlığını desteklemesine yardımcı olur (Garrity vd. 2004). Bitki patojenlerine karşı biyokontrol ajanı olarak işlev görebilir. Özellikle siderofor üretimi sayesinde, patojen mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek bitkiler için sağlıklı bir büyüme ortamı sağlar (Holt vd. 1994). Bu, bitki kökleri etrafındaki mikro ekosistemde

rekabeti artırarak patojenlerin baskılanmasına katkıda bulunur. Toprak organik madde dönüşümünde rol oynayan enzimlerin üretimi sayesinde toprak sağlığını iyileştirir. Bu enzimler, organik maddeleri parçalayarak topraktaki biyolojik aktiviteyi artırır ve bitki besin elementlerinin biyoyararlılığını yükseltir (Madigan vd. 2015). Dolayısıyla, bu bakterinin toprak kalitesine olan katkısı, sürdürülebilir tarım uygulamalarında dikkat çeken bir faktördür.

Paenibacillus panacisoli, baklagil bitkileri ile doğrudan simbiyotik bir ilişki kurmaz. Baklagil bitkilerinde kök nodülü oluşturarak azot fiksasyonu yapan bakteriler, genellikle ***Rhizobium*** türleridir. *Rhizobium* bakterileri, baklagillerin köklerinde nodül oluşturarak atmosferik azotu bitkilerin kullanabileceği bir forma dönüştürürler (Madigan vd. 2015). Buna karşın, ***Paenibacillus*** türleri, özellikle fosfat çözündürme ve siderofor üretimi gibi dolaylı yoldan bitki büyümesini teşvik eden özelliklere sahiptir. Bu nedenle, baklagiller de dahil olmak üzere çeşitli bitki türlerinin büyümesini destekleyebilirler, ancak bu doğrudan bir simbiyoz ilişkisi şeklinde değildir. ***Paenibacillus panacisoli***, rizosferde (bitki kökleri çevresinde) yaşayarak toprak kalitesine katkıda bulunur ve bitkiler için faydalı bir mikroekolojik denge sağlar (Garrity vd. 2004). Dolayısıyla, baklagil bitkileri ile doğrudan bir simbiyotik ilişki kurmasa da, bu bitkilerin büyümesini destekleyecek mikroçevresel koşulları iyileştirebilir.



5. SONUÇ

Bu çalışma, Aydın ili Koçarlı ilçesinde yonca (*Medicago sativa*) tarımı yapılan alanlarda, yonca bitkilerinin kök nodüllerinden izole edilen *Rhizobium* bakterilerinin inokulant olarak uygulanmasının bitki gelişimi ve azot alınımı üzerindeki etkinliğini incelemiştir. Elde edilen sonuçlar, bakteri aşılamaının yonca bitkilerinin azot içeriği ve nodül oluşumu üzerindeki belirgin etkilerini açıkça ortaya koymuştur. Araştırmada özellikle İnokulant-6'nın en yüksek toplam azot içeriğini sağladığı ve +N kontrol grubuna kıyasla daha üstün sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Bu bulgu, bakteri aşılamaının bitki büyümesi ve azot fiksasyonu üzerindeki kritik rolünü vurgulamakta, simbiyotik etkinliğin bitki gelişimi üzerindeki önemli etkisini göstermektedir.

Bakteri uygulamalarında etkinlik derecelerindeki farklılıklar, doğru suşların seçiminin biyolojik azot fiksasyonunu artırmadaki önemini kanıtlamıştır. *Rhizobium* suşlarının doğru kullanımı, bitki azot miktarını ve genel gelişimini olumlu yönde etkileyerek, azotlu gübre ihtiyacını azaltmakta ve çevresel sürdürülebilirliğe katkı sağlamaktadır. Denemede, bakteri aşılamaı yapılmayan -N (azotsuz) ve +N (azotlu) Kontrol gruplarında nodül oluşumu gözlemlenmemiştir; bu durum, inokulasyonun baklagillerde nodül oluşumu üzerindeki etkisini net olarak ortaya koymaktadır.

Bakteri aşılamaının, kimyasal gübre kullanımına duyulan ihtiyacı azaltarak ekonomik avantajlar sunduğu ve sürdürülebilir tarım için çevresel faydalar sağladığı bu çalışma ile doğrulanmıştır. Bakteri aşılamaı, yalnızca tarımın verimliliğini artırmakla kalmaz, aynı zamanda toprak ve su kaynaklarının korunmasına da katkıda bulunur. Bu bulgular, bölgedeki çiftçilere ve tarım politikalarına rehberlik eder niteliktedir.

Sonuç olarak, bu çalışma, Aydın ili gibi tarımsal potansiyeli yüksek bölgelerde biyolojik azot fiksasyonunun etkin bir şekilde kullanılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler, *Rhizobium* suşlarının çeşitliliğinin ve etkinliğinin incelenmesine yönelik daha fazla araştırma ihtiyacını işaret etmektedir. İlerleyen çalışmalarla bu bulguların daha geniş alanlarda doğrulanması ve uygulama alanlarının genişletilmesi, hem tarım verimliliğini artıracak hem de çevresel sürdürülebilirliği destekleyecektir.



KAYNAKLAR

- Algur, Ö. F. ve Ögütçü, H. (2000). Erzurum yöresinden toplanan yabancı baklagil bitkilerinden izole edilen *Rhizobium* sp. türlerinin kültür bitkilerinde nodül oluşturma ve azot bağlama potansiyellerinin araştırılması. *TUBİTAK-TARP Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi (TARP-2046 nolu proje)*.
- Angın, H. ve Dadaşoğlu, E. (2022). PGPR izolatlarının bazı fasulye genotiplerinde bitki gelişimi üzerine etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(4), 2495-2505.
- Anonim. (2021). Yem bitkileri (yonca). Erişim adresi: <https://www.amasyadsyb.org/sut/yembitki/15> (Erişim tarihi: 15.10.2021).
- Anonim. (2006). Gübreler. *Rehber Ansiklopedisi*, 2.
- Anonim. (2016). Tarım, çok yıllık baklagil yem bitkileri. *T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Yayınları*.
https://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/%C3%87ok%20Y%C4%B1ll%C4%B1k%20Baklagil%20Yem%20Bitkileri.pdf (Erişim tarihi: 15.07.2024).
- Anonymous. (2003). *International Legume Database & Information Service*. KKEW.
<http://www.botanical.com/botanical/mgmh/b/broom-70.html>
- Antolin, M. C., Fiasconaro, M. L. ve Sánchez-Díaz, M. (2010). Relationship between photosynthetic capacity, nitrogen assimilation and nodule metabolism in alfalfa (*Medicago sativa*) grown with sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 182, 210-216. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.06.017>
- Aydın-Kandemir, F. ve Demir, A. (2021). Türkiye’de tehlike altındaki türler: IUCN Kırmızı Liste verileri ile tehlike altındaki Fabaceae türlerine yönelik özel bir inceleme. *Turkish Journal of Biodiversity*, 4(1), 53-65. <https://doi.org/10.38059/biodiversity.832706>
- Baral, R., Lollato, R. P., Bhandari, K. ve Min, D. (2022). Yield gap analysis of rainfed alfalfa in the United States. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.931403>
- Başdemir, F., Tunç, M., İpekeşen, S., Eliş, S. ve Biçer, B. T. (2020). Organik ve inorganik biyo gübrelerin bezelyenin bitkisel özelliklerine etkileri. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 8(2), 98-106. <https://doi.org/10.33409/tbbbd.789233>

- Beck, D. P., Materon, L. A. ve Afandi, F. (1993). *Practical Rhizobium-legume technology manual* (Technical Manual No. 19). International Center for Agricultural Research in the Dry Areas.
- Bordeleau, L. M. ve Prevost, D. (1994). Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant and Soil*, 161, 115-125.
- Boşgelmez, A., Boşgelmez, Y. Y., Savaşçı, N. ve Paslı, S. (1997). *Ekoloji I*. ISVAK, İzmir Caddesi No: 46/1, Kızılay-Ankara.
- Bouyoucos, G. J. (1951). A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils. *Agronomy Journal*, 43(9), 434-438.
- Brock, T. D. (1974). *Biology of Microorganisms* (2nd ed.). Prentice-Hall, 483–489.
- Brohi, A., Aydeniz, A., Karaman, M. R. ve Erşahin, S. (1994). *Bitki Besleme*. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 4, Kitaplar Serisi: 4, Tokat.
- Burns, R. C. ve Hardy, R. W. F. (1975). Recognition. In *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants* (Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics, Vol. 21). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-80926-2_1
- Caldwell, B. E. ve Vest, H. G. (1968). Nodulation interactions between soybean genotypes and serogroups of *Rhizobium japonicum*. *Crop Science*, 8, 680-682.
- Corbet, M. C., Hu, Y., Nadarı, F., Ribbe, M. W., Hedman, B. ve Hudgson, K. (2004). *Journal of Biological Chemistry*, 279, 27.
- Crews, F. T. (2004). Agriculture, ecosystems & legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 102, 279-297.
- Çağlar, K. Ö. (1958). *Toprak Bilgisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Çetin Karaca, Ü. (2010). Konya yöresinde yetiştirilen kuru fasulyeden izole edilen *Rhizobium* bakterilerinin etkinliklerinin belirlenmesi (Doktora tezi). Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Çetinkaya, S., Demir, S. ve Durak, E. D. (2018). Bazı fungusitlerin nohut (*Cicer arietinum* L.) ve mercimek (*Lens culinaris* L.) bitkilerinde arbusküler mikorizal funguslara (AMF) etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(3), 192-204.
- Dakora, F. D. ve Keya, S. O. (1997). Contribution of legume nitrogen fixation to sustainable agriculture in Sub-Saharan Africa. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(5-6), 809-817.
- Damirgi, S. M., Frederick, L. R. ve Anderson, I. C. (1967). Serogroups of *Rhizobium japonicum* in soybean nodules as affected by soil types. *Agronomy Journal*, 59, 10-12.

- Drevon, J. J. (1983). Main sources of biologically fixed nitrogen in major ecosystems. *Technical Handbook on Symbiotic Nitrogen Fixation Legume/Rhizobium*, FAO-Roma.
- Eaglesham, A. R., Ahmad, M. H., Hassouna, S. ve Goldman, B. J. (1982). Cowpea rhizobia producing dark nodules: use in competition studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(3), 611-618.
- Eraslan, F., İnal, A., Güneş, A. ve Erdal, İ. (2010). Türkiye'de kimyasal gübre üretim ve tüketim durumu, sorunlar, çözüm önerileri ve yenilikler. *Ziraat Mühendisliği VII Teknik Kongresi*.
- Ersin, B. (1984). Ege koşullarında bakteri uygulamasının soya verimi ve azot kapsamına etkisi ile bakteri sularının azot eşdeğerinin saptanması. *Yıllık Sonuç Raporu*. Köy Hizmetleri Araştırma Enstitüsü, Menemen.
- Evliya, H. (1960). *Kültür Bitkilerinin Beslenmesi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- FAO. (2020). *Alfalfa crop information*. <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/alfalfa/en/> (Erişim tarihi: 15.07.2024).
- Fritsche, W. (1990). *Mikrobiologie*. Gustav Fischer Verlag, Jena. <https://doi.org/10.1002/food.19920360516>
- Gardner, D. ve Putnam, D. (2018). Alfalfa situation in the USA and Canada. *Proceedings of the Second World Alfalfa Congress: Global Interaction for Alfalfa Innovation*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Córdoba, Arjantin.
- Garrity, G. M., Bell, J. A. ve Lilburn, T. G. (2004). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer. <https://doi.org/10.1007/0-387-29298-5>
- Gençkan, S. (1992). *Yem Bitkileri Tarımı*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 467, İzmir.
- Giller, K. E. (2001). *Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems* (2nd ed.). CAB International. <https://doi.org/10.1079/9780851994178.0000>
- Goormachting, S., Capoen, W. ve Holsters, M. (2004). Rhizobium infection: Lessons from the versatile nodulation behaviour of water-tolerant legumes. *Trends in Plant Science*, 9, 518-522.
- Gök, M. (1995). GAP bölgesindeki bazı toprakların mikorizal potansiyelleri. *İlhan Akalan Toprak ve Çevre Sempozyumu*, Cilt II, 158-167.
- Gök, M., Doğan, K. ve Coşkan, A. (2006). Effects of divers organic substrate application on denitrification and soil respiration under different plant vegetation in Çukurova Region.

International Symposium on Water and Land Management for Sustainable Irrigated Agriculture, 4-8.

- Gök, M. ve Onaç, I. (1995). Değişik *Bradyrhizobium japonicum* izolatları ile aşılamanın farklı soya çeşitlerinde verime, nodülasyona ve N₂ fiksasyonuna etkisi. *İlhan Akalan Toprak ve Çevre Sempozyumu*, Cilt II, 237-246.
- Gök, M. ve Martin, P. (1993). Farklı Rhizobium bakterileri ile aşılamanın soya, üçgül ve fığde simbiyotik azot fiksasyonuna etkisi. *Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 17, 755-761.
- Graham, P. H. ve Vance, C. P. (2000). Nitrogen fixation in perspective: An overview of research and extension needs. *Field Crops Research*, 65(2-3), 93-106. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00080-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00080-5)
- Graham, P. H. (1998). Biological dinitrogen fixation: Symbiotic. In Sylvia, D. M., Furman, J. J., Hartel, P. G. ve Zuberer, D. A. (Eds.), *Principles and Applications of Soil Microbiology* (s. 322-345). Prentice-Hall, Inc., New Jersey.
- Güngörmez, M., Tan, F. ve Baran, M. F. (2023). Yonca üretiminde enerji tüketimi: Hasat sistemleri arasında bir karşılaştırma. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 80-93. <https://doi.org/10.33462/jotaf.1105955>
- Gürbüzer, E. (1978). En fazla azot tespit etme özelliği gösteren soya fasulyesi nodozite bakterilerinin seçilmesi. *Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Yayınları*, Genel Yayın No: 78, Rapor Yayın No: 12, Ankara.
- Güvercin, E. (2009). Farklı yerfıstığı çeşitlerinde bakteri aşılması ve demir uygulamasının nodülasyon ve verime etkisi (Doktora tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Halitligil, M. B., Antep, S., Öner toy, Ş., Kışlal, H., Şirin, H. ve Şirin, C. (2002). Toprak verimliliği ve bitki besleme araştırmalarında kullanılan izotop ve radyasyon teknikleri. *TAEK-Antham Nükleer Tarım Radyoizotop Uygulama Bölümü Seminer Notları*, S, 31.
- Ham, G. E. (1975). Competition among strains of Rhizobia. *Proceedings of the World Soybean Research Conference*, Urbana, Illinois, 3-8 Ağustos 1975.
- Hargrove, W. L. (1986). Winter legumes as a nitrogen source for no-till grain sorghum. *Agronomy Journal*, 78, 70-74.
- Hatfield, J. L., Egli, D. B., Leggett, J. E. ve Peaslee, D. E. (1974). Effect of applied nitrogen on the nodulation and early growth of soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). *Agronomy Journal*, 66, 112-114.

- Holding, A. J. ve Kong, J. (1963). The effectiveness of indigenous populations of *Rhizobium sp. trifolii* in relation to soil factors. *Plant and Soil*, 18, 191–198.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, H. A., Staley, J. T. ve Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Israel, D. W. (1987). Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. *Plant Physiology*, 84(3), 835-840. <https://doi.org/10.1104/pp.84.3.835>
- İncekara, S. (2023). Bazı baklagil bitkilerinin azot fiksasyonu üzerine *Rhizobium*, *Azotobakter* ve kombine aşılamanın etkisi (Yüksek lisans tezi). Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- İpekeşen, S., Tunç, M., Eliş, S., Başdemir, F. ve Biçer, B. (2020). Organik ve inorganik azotlu gübre uygulamalarının farklı dönemlerde bezelyenin verim kriterlerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25(1), 41-48.
- Junior, M. A. L., Lima, A. S. T., Arruda, J. R. F. ve Smith, D. L. (2005). Effect of root temperature on nodule development of bean, lentil, and pea. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 235–239.
- Kacar, B. (1995). *Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri III: Toprak Analizleri*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayın No: 3.
- Kacar, B. ve İnal, A. (2008). *Bitki Analizleri*. Nobel Yayın Dağıtım. ISBN 978-605-395-036-3, Ankara.
- Kapusta, G. ve Rouwenhorst, D. L. (1973). Influence of inoculum size on *Rhizobium japonicum* serogroup distribution frequency in soybean nodules. *Agronomy Journal*, 65, 916-919.
- Kara, A., Kadioğlu, S., Çakal, Ş., Aygün, C., Şeker, H. ve Necla, T. A. Ş. (2009). Kuzeydoğu Anadolu'da baklagil yem bitkileri tarımı ve sorunları. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 16(1), 19-32.
- Kaya, M. D., Çiftçi, C. Y. ve Kaya, M. (2002). Bakteri aşılması ve azot dozlarının bezelye (*Pisum sativum* L.) üzerinde verim ve verim öğelerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 8(4), 300-305.
- Kızıloğlu, F. T. (1999). Toprak organizmalarının azot formları arasındaki dönüşümlere ve çevreye etkileri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 8(30), 27-30.
- Kızıloğlu, F. T. (1995). *Toprak Mikrobiyolojisi ve Biyokimyası*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 180, Erzurum.

- Kovancı, İ. (1969). İzmir Bölgesi tarla topraklarında nitrifikasyon durumu ve bunun bazı toprak özellikleri ile olan ilişkisi üzerine araştırmalar (Doçentlik tezi). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- Lemon, R. G. ve Lee, T. A. (1995). Production of Virginia peanuts in the Rolling Plains and Southern High Plains of Texas. *Texas Agricultural Extension Service*. The A&M University System. L-5140, Texas.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H. ve Stahl, D. A. (2015). *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson Education.
- Materon, L. A., Kreatinge, J. D. H., Beck, D. P., Yurtsever, N., Karuç, K. ve Altıntaş, S. (1995). Survey of *Rhizobium* sp. numbers and symbiotic effectiveness in the west Asian highland. *Final Project Report: Highland Region Program*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas.
- Meral, N., Çiftçi, C. Y. ve Ünver, S. (1998). Bakteri aşılması ve değişik azot dozlarının nohut (*Cicer arietinum* L.) üzerinde verim ve verim öğelerine etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 44-59.
- Meteoblue. (2024). Simulated historical climate & weather data for Koçarlı. *Meteoblue*. <https://www.meteoblue.com>
- Meteoroloji Genel Müdürlüğü. (2024). Aydın ili iklim verileri. *T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı İzmir Bölge Müdürlüğü*. https://izmir.mgm.gov.tr/FILES/iklim/aydin_iklim.pdf
- Nutman, P. S. (1965). Symbiotic nitrogen fixation. In W. V. Bartholomew ve E. C. Francis (Eds.), *Soil Nitrogen* (s. 386-412). American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Oldroyd, G. ve Downie, J. (2004). Calcium, kinases and nodulation signalling in legumes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5, 566–576. <https://doi.org/10.1038/nrm1424>
- Olsen, S. R. ve Dean, L. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *US Department of Agriculture Circular*, 939.
- Orak, A. ve Gökkaya, G. (2014). *Yonca Tarımı*. İlgi Matbaacılık.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M. ve Kaptan, H. (1993). *Toprak Bilimi*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 73, Ders Kitapları No: 16.
- Özkurt, M. (2018). Tokat-Kazova ekolojik koşullarında farklı sıra arası ve tohumluk miktarlarının yonca (*Medicago sativa* L.)’da ot verimi ve kalite karakterleri üzerine etkileri (Doktora tezi). Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.

- Putnam, D., Russelle, M., Orloff, S., Kuhn, J., Fitzhugh, L., Godfrey, L., Kiess, A. ve Long, R. (2001). Alfalfa wildlife and the environment. *California Alfalfa and Forage Association*, 36 Grande Vista, Novato, CA 94947.
- Rawsthorne, S., Hadley, P., Summerfield, R. J. ve Roberts, E. H. (1985). Effects of supplemental nitrate and thermal regime on the nitrogen nutrition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) II. Symbiotic development and nitrogen assimilation. *Plant and Soil*, 83, 279-293.
- Rhoades, J. D. (1983). Soluble salts. In A. L. Page, R. H. Miller ve D. R. Keeney (Eds.), *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties* (9, s. 167-179). ASA-SSSA.
- Roughley, R. J. (1970). The preparation and use of legume seed inoculants. *Plant and Soil*, 32, 675-681.
- Sarıoğlu, G., Özçelik, S. ve Kaymaz, S. (1993). Selection of effective nodosity bacteria (*Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae*) from lentil grown in Elazığ. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 17, 569-573.
- Saygılı, H. (1995). *Fitobakteriyoloji*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Yayınları, İzmir, Turkey. ISBN 9944-5822-0-2.
- Schiffmann, J. ve Alper, Y. (1968). Inoculation of peanuts by application of *Rhizobium* suspension into the planting furrows. *Experimental Agriculture*, 4, 219-226.
- Schiffmann, J. (1961). Field experiments on inoculation of peanuts in northern negro-soils. *Israel Journal of Agricultural Research*, 11, 151-158.
- Selvi, T., Turgutoğlu, E., Eşitken, A., Güler, G. ve Dönmez, M. F. (2021). Rizobakteri uygulamalarının bazı turuncgil çöğürlerinin büyüme ve gelişme performansı üzerine etkileri. *Meyve Bilimi Dergisi*, 8(2), 30-33. <https://doi.org/10.51532/meyve.1021047>
- Shipley, P. R., Meisinger, J. J. ve Decker, A. M. (1992). Conserving residual corn fertilizer nitrogen with winter cover crops. *Agronomy Journal*, 84, 869-876.
- Silva, J. A. ve Uchida, R. (2000). Biological nitrogen fixation: Nature's partnership for sustainable agricultural production. In *Plant Nutrient Management in Hawaii's Soils: Approaches for Tropical and Subtropical Agriculture*. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii.
- Singleton, P. W. ve Bohlool, B. B. (1984). Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Physiology*, 74(1), 72-76. <https://doi.org/10.1104/pp.74.1.72>
- Singleton, P. W., El Swaify, S. A. ve Bohlool, B. B. (1982). Effect of salinity on *Rhizobium* growth and survival. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(4), 884-890.

- Soya, H., Avcıoğlu, R. ve Geren, H. (2004). *Yem Bitkileri* (2. baskı). Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul.
- Sprent, J. I. (2001). *Nodulation in Legumes*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Sprent, J. I. ve James, E. K. (2007). Legume evolution: Where do nodules and mycorrhizas fit in? *Plant Physiology*, 144(2), 575-581. <https://doi.org/10.1104/pp.107.101923>
- Stewart, W. P. (1966). Nitrogen fixation in plants. *Athlone Press, University of London*.
- Tamer, A. Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, D., Bursalıoğlu, M. ve Oğultekin, R. (1989). 3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu. Anadolu Üniversitesi Eğitim, Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayın No: 74, Eskişehir.
- Tan, F. (1997). Yonca hasadında farklı hasat sistemlerinin otun kuruma olgusu ve kalitesi üzerine etkilerinin saptanması (Doktora tezi). Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Tindall, B. J., Kämpfer, P., Euzéby, J. P. ve Oren, A. (2006). Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: Past history and current practice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 2715-2720. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.64407-0>
- Tok, H. H. (1997). Çevre kirliliği. *Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları*, Tekirdağ.
- Toruk, F. (2003). Effects of harvesting methods on field drying rates and cutting times of alfalfa. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 9(5-6), 639-645.
- TÜİK. (2024). Bitkisel üretim istatistikleri. *TÜİK Veri Portalı*. Türkiye İstatistik Kurumu. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-1.Tahmini-2024-53449>
- Türkmen, O. S. ve Kaya, S. (2023). Development of bean plant infected with *Rhizobium tropici* in nitrogen-restricted perlite culture conditions. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 177-181. <https://doi.org/10.33202/comuagri.1301521>
- U. S. Salinity Laboratory Staff. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *U. S. Department of Agriculture Handbook*, 60.
- USDA-NASS. (2022). Data and statistics. *United States Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service*. https://www.nass.usda.gov/Data_and_Statistics/index.php (Erişim tarihi: 10 Mart 2022).
- Ülgen, N. ve Yurtsever, N. (1984). *Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi*. Toprak ve Su Genel Müdürlüğü Araştırma Dairesi Başkanlığı Yayın No: 47, Ankara.
- Ülger, A. C., Anlarsal, A. E., Gök, M., Çakır, B., Yücel, C., Onaç, I. ve Atıca, O. (1999). Değişik azot dozlarında yetiştirilen mısır bitkisinde tane verimi ve bazı tarımsal

- özelliklere bazı yeşil gübre baklagil bitkilerinin etkisi. *Journal of Agriculture and Forestry*, 1, 193-200.
- Vincent, J. M. (1970). *A Manual for the Practical Study of Root-Nodule Bacteria* (IBP Handbook No: 15). Blackwell Scientific Publications, Oxford ve Edinburg, İngiltere.
- Vincent, J. M. (1965). Environmental factors in the fixation of nitrogen by legumes. In W. V. Bartholomew ve E. Clark (Eds.), *Soil Nitrogen* (s. 387-412). American Society of Agronomy, Agronomy, USA.
- Walkey, A. ve Black, L. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37, 29-38.
- Weaver, R. W. ve Frederick, L. R. (1974). Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. *Agronomy Journal*, 66, 229-232.
- Whity, E. B. (2003). Producing peanuts for home use. *The Cooperative Extension Service*. Institute of Food and Agricultural Science, University of Florida.
- Yaman, M. ve Cinsoy, A. S. (1996). Soya fasulyesi tarımında yüksek azot bağlayan *Rhizobium sp.* bakterisi izolatlarının saptanması. *Anadolu Journal of AARI*, 6(1), 84-96.
- Yavaş, İ. ve Ünay, A. (2018). Baklagillerde kök, nodül oluşumu ve azot fiksasyonu üzerine bazı küresel iklim değişikliği parametrelerinin etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi (UTYHBD)*, 4(2), 270-278. <https://doi.org/10.24180/ijaws.366386>
- Zahran, H. H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(4), 968-989. <https://doi.org/10.1128/membr.63.4.968-989.1999>



ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Sevda Duygu COŞAN

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi :Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki besleme Programı

Yüksek LisansÖğrenimi: Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki besleme Programı

Yabancı Diller :İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

A) Bildiriler

-
-
-