

***AZOTOBACTER SPP.* ile AŞILAMANIN BUĞDAY BİTKİSİNİN VERİM ve BESİN
ELEMENTİ KAPSAMINA ETKİSİNİN SAPTANMASI ve BİYOLOJİK GÜBRE
ÜRETİMİNDE UYGUN TAŞIYICI MATERYALİN BELİRLENMESİ**

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Azotobacter* spp. İLE AŞILAMANIN BUĞDAY BİTKİSİNİN VERİM VE BESİN
ELEMENTİ KAPSAMINA ETKİSİNİN SAPTANMASI VE BİYOLOJİK GÜBRE
ÜRETİMİNDE UYGUN TAŞIYICI MATERYALİN BELİRLENMESİ**

Birsen UYGUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOPRAK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd.Doç. Dr. Rıdvan KIZILKAYA

SAMSUN - 2008

T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından 11/09/2008 tarihinde yapılan sınav ile Toprak Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç.Dr.Orhan DENGİZ

Üye : Yrd.Doç.Dr.İsmail SEZER

Üye : Yrd.Doç.Dr.Rıdvan KIZILKAYA

ONAY:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

/10/2008
Prof.Dr.Hasan GÜMÜŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

***Azotobacter spp.* İLE AŞILAMANIN BUĞDAY BİTKİSİNİN VERİM VE BESİN ELEMENTİ KAPSAMINA ETKİSİNİN SAPTANMASI VE BİYOLOJİK GÜBRE ÜRETİMİNDE UYGUN TAŞIYICI MATERYALİN BELİRLENMESİ**

Bu tez çalışmasında, *Azotobacter chroococcum*'un yerli ve standart suşu ile aşılamının buğday bitkisinin (META 2002) verim ve verim unsurları, besin elementi kapsamı sera denemesi ile araştırılarak, taşıyıcı materyal olarak torf'un kullanılması durumunda torf - *Azotobacter chroococcum*'un sıvı kültürü karışımına ait optimum nem düzeyleri saptanmıştır.

Bu amaçla, Kastamonu ili Tosya ilçesinde her hangi bir şekilde kirlenmeye uğramamış çayır-mera arazisinden izole edilen yerli izolat, DSMZ'den getirilen standart *Azotobacter chroococcum* Beijerinck 1901 suşu materyal olarak kullanılmıştır. Yerli ve standart suşun 3 günlük kültürlerinin (10^9 CFUml⁻¹) 20 ml'lik hacmindeki sıvı kültürleri ile sera koşullarında killi tın bünyeli toprağa (pH 7.81, organik madde % 2.07, C/N oranı 5) aşılama yapılmış ve 78 gün sonunda buğday bitkileri hasat edilmiştir. Hasat sonunda gerek standart ve gerekse yerli izolatın buğday bitkisinin dane ve sap verimi ile buğday bitkisinin P ve K kapsamını önemli oranda ($P<0.05$) artırdığı belirlenmiştir. Buna karşın buğday bitkisinin verim ve besin elementi kapsamını artırmada yerli ve standart suş arasında istatistiksel açıdan her hangi bir farklılık bulunmamıştır.

Biyolojik gübre üretiminde, taşıyıcı materyal olarak torfun kullanılması durumunda, torf: sıvı *A.chroococcum* kültüründe ideal nem koşullarının saptanması amacıyla, maksimum su tutma kapasitesinin %30, %40, %50, %60 ve %70 düzeylerinde olacak şekilde steril edilmiş torf ile *A.chroococcum*'un 3 günlük sıvı kültürleri hazırlanarak karıştırılmış ve 75 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 15., 30., 45., 60. ve 75. günlerinde örnekler alınarak canlı *A.chroococcum* sayımları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en fazla canlı hücre sayılarının inkübasyonun 15. gününde ve %30 nem düzeyinde bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Azotobacter*, aşılama, toprak, buğday, torf, biyolojik gübre

ABSTRACT

YIELD RESPONSE AND NUTRIENT CONCENTRATIONS OF WHEAT INOCULATED WITH *Azotobacter* spp. AND DETERMINATION OF SUITABLE CARRIER MATERIAL FOR BIO-FERTILIZER PRODUCTION

This study showed the effectiveness of standard and indigenous *Azotobacter* strains on yield response and nutrient contents under greenhouse conditions and determining optimum moisture level of mixture of liquid *A. chroococcum* cultures and peat.

For this purpose, indigenous strain isolated from uncontaminated pasture soil and standard strain, *A. chroococcum* strain Beijerinck 1901 (DSMZ 2286), was used as a material in the study. Soils (pH 7.81, organic matter 2.07 % and C/N ratio 5) were inoculated with indigenous and standard strains, final concentration of 10^9 CFU ml⁻¹ in 20 ml liquid medium, under greenhouse condition and plants were harvested for 78 days in pots after sowing. It was determined that the grain and straw yield and P, K contents in wheat were significantly increased ($P < 0.05$) in both indigenous and standard strain inoculation compared to the control. On the contrary, it was not founded that the difference between indigenous and standard strain had no statistically significant on the yield and nutrient contents of wheat compared to control treatment without inoculation.

In the production of bio-fertilizer; in order to determine the ideal moisture conditions in the liquid *A. chroococcum* culture: the peat mixture. Sterilized peat according to 30%, 40%, 50% and 60% capacity of holding water was mixed with liquid *A. chroococcum* cultures (3- days), samples were taken and observed during 15, 30, 45, 60 and 75 days and the live *A. chroococcum* were counted. According to the results; the most live cells were observed during the 15th day of the incubation and the moisture level was 30%.

Key words : *Azotobacter*, inoculation, soil, wheat, peat, bio-fertilizer

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında bana büyük bir özveriyle zamanını ayıran ve beni sürekli destekleyerek her zaman yanımda olduğunu hissettiğim ve hissedeceğim değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Rıdvan KIZILKAYA' ya, bölüm hocalarım ve arkadaşlarıma, bana yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Zeynep KARA DEMİR ve Elif ÖZTÜRK'e, yüksek lisans eğitimimi destekleyen Çarşamba Ziraat Odası Yön. Krl. Bşk. İsmail GÜNGÖR ve mesai arkadaşlarıma, ayrıca her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteğini üzerimden esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Özet	i
Abstract	ii
Teşekkür	iii
İçindekiler	iv
Şekiller Listesi	v
Çizelgeler Listesi	vi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. <i>Azotobacter</i> sp	2
2.2. <i>Azotobacter</i> 'lerin Bitkisel Üretim Üzerine Etkisi	2
3. MATERYAL VE METOD	11
3.1. <i>Azotobacter chroococcum</i> 'un izolasyonu	11
3.2. Sera Denemesi	12
3.3. İnkübasyon Denemesi	14
3.4. Gözlem ve Ölçümler	15
3.5. İstatistiksel Analizler	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
4.1. Yerli <i>A. chroococcum</i> 'un izole edildiği toprağın özellikleri	17
4.2. <i>A. chroococcum</i> ile aşılamanın buğday bitkisinin verim ve besin maddesi kapsamına etkileri	17
4.2.1. <i>A. chroococcum</i> ile aşılamanın buğday bitkisinin verim ve verim unsurlarına etkisinin belirlenmesi	18
4.2.2. <i>A. chroococcum</i> ile aşılamanın buğday bitkisinin besin maddesi kapsamına etkisinin belirlenmesi	21
4.2.3. <i>A. chroococcum</i> ile aşılamanın toprağın besin maddesi kapsamına etkisinin belirlenmesi.....	23
4.3. Mikrobiyal gübre üretiminde kullanılan torfun farklı nem içeriğinin <i>Azotobacter chroococcum</i> popülasyonuna etkisinin belirlenmesi	25
4.3.1. Torfun özellikleri	25
4.3.2. Farklı nem içeriğine sahip torfun <i>A. chroococcum</i> popülasyonuna etkisi	26
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	28
6. KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. <i>A. chroococcum</i> 'un izole edildiği toprak örneğinin alındığı yer	11
Şekil 3.2. Sera denemesi amacıyla toprak örneğinin alındığı yer	13
Şekil 4.1. Yerli ve standart <i>A.chroococcum</i> izolatları ile aşılamamanın buğday bitkisine etkisinden görünümeler	18
Şekil 4.2. Yerli ve standart <i>A.chroococcum</i> ile aşılamamanın buğday bitkisinin bazı verim unsurlarına etkisi	20
Şekil 4.3. Yerli ve standart <i>A.chroococcum</i> ile aşılamamanın buğday sapının bazı besin elementlerinin kapsamına etkisi	22
Şekil 4.4. Yerli ve standart <i>A.chroococcum</i> ile aşılamamanın toprağın bazı besin elementlerinin kapsamına etkisi	24
Şekil 4.5. Farklı nem içeriğine sahip steril torf ortamında inkübasyona bağlı olarak canlı <i>A.chroococcum</i> sayısındaki değişim	26

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. 1949-1951 yılları arasında S.S.C.B.'de <i>A. chroococcum</i> 'un ürün üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan deneme sonuçları	3
Çizelge 3.1. <i>A.chroococcum</i> 'un izole edildiği toprak örneğinin özelliklerinin saptanmasında uygulanan yöntemler	12
Çizelge 3.2. Selektif <i>Azotobacter</i> besiyeri (Ashby besiyeri)	12
Çizelge 3.3. Sera denemesi sonunda hasat edilen bitkilerde ve toprak örneklerinde yapılan analizler	14
Çizelge 3.4. Torfun özelliklerinin saptanmasında uygulanan yöntemler	15
Çizelge 4.1. Yerli <i>A. chroococcum</i> 'un izole edildiği toprağın özellikleri	17
Çizelge 4.2. Sera denemesi kurulması amacıyla alınan toprağın özellikleri	18
Çizelge 4.3. <i>A.chroococcum</i> ile aşılanan buğday bitkisinin verim ve verim unsurlarına etkisi	19
Çizelge 4.4. <i>A.chroococcum</i> ile aşılanan buğday bitkisinin danesinin besin maddesi kapsamına etkisi	21
Çizelge 4.5. <i>A.chroococcum</i> ile aşılanan buğday bitkisinin sapının besin maddesi kapsamına etkisi	22
Çizelge 4.6. <i>A.chroococcum</i> ile aşılanan toprağın besin maddesi kapsamına etkisi	24
Çizelge 4.7. İnkübasyon denemesinde kullanılan torfun özellikleri	25

1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun gıda ihtiyacını karşılamak amacıyla tarım alanlarından birim alandan daha fazla verim elde etmek için, daha fazla girdi kullanılmaktadır. Tarımın tüm kollarında kaliteli tohumluk, mekanizasyon, bitki ıslahı gibi etkili uygulamaların yanında sulama ve gübrelemede yapmak gereklidir. Gübre uygulamasıyla artan bitkisel ürün, hayvancılık ve tarıma dayalı endüstrinin de temelini oluşturmaktadır. Buna karşın, kimyasal gübreler az gelişmiş toplumlarda, çok daha fazla verim alabilmek düşüncesi ile rast gele zamanlarda ölçü tanımaz miktarlarda ve bilimsel olmayan yol ve metotlarla araziye uygulanmaktadır. Bu şekilde bilinçsizce kullanılan gübrelerin bir kısmı bitkilere yararlı olabilmekte geri kalan kısmı ise toprak sisteminden yıkanma, yüzey akışları ve buharlaşma ile uzaklaşmakta veya toprakta sıkı bir şekilde tutulabilmektedir. Bu şekilde topraktan uzaklaşan gübreler toprak, hava ve su ortamlarında çeşitli olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Azotlu gübreler gibi bir kısmı topraktan uzaklaşan N ile fosforlu gübreler gibi toprakta adsorbe olabilen P ve K'un toprak sistemi üzerindeki olumsuz etkileri toprağın kuvvetli bir tamponlama gücüne sahip olmasından dolayı hemen fark edilmemektedir. Ancak uzun vadede, bilimsel esaslara uygun olmayan gübreleme toprakların fizikokimyasal ve biyolojik dinamiklerini olumsuz yönde etkilemekte ve sonuçta önemli çevre kirliliği oluşturmaktadır.

Son yıllarda sıklıkla telaffuz edilen ve kimyasal gübrelerinde içerisinde olduğu tarımsal kimyasalların toprak ve çevre sağlığındaki olumsuz etkilerin önüne geçebilmek ve daha sağlıklı gıdalar üretmek - tüketmek amacıyla uygulanır hale gelen organik tarımda, bitkisel üretimde gübreleme materyali olarak içerisinde N fiksasyonunu veya topraktaki P'un çözünürlüğünü artıran mikroorganizmaları (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* gibi) içeren biyolojik gübreler önerilmekte ve kullanılmaktadır. Bu biyolojik gübrelerin doğaya ve insan sağlığına herhangi bir olumsuz etkisi mevcut bilgiler ile henüz ortaya konulmamasına karşın, özellikle ülkemizde dahil olmak üzere bir çok ülkedeki biyolojik gübreleme materyalleri büyük ölçüde yurtdışından ithal edilerek üreticilerin kullanımına sunulmaktadır.

Bu tez çalışmasında, ülkemiz topraklarından izole edilen yerli *Azotobacter chroococcum* izolatu ile OMÜ Ziraat Fak. Toprak Bölümü koleksiyonunda bulunan DSMZ'den (Almanya) getirtilen *Azotobacter chroococcum* Beijerinck 1901 izolatının karşılaştırmalı olarak buğday bitkisinin (META 2002) verim ve besin elementi kapsamına etkileri yerli izolattan üretilebilecek biyolojik gübrede taşıyıcı olarak kullanılacak torfun optimum nem düzeyinin saptanması sera denemesi ile araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *Azotobacter* sp.

Azotobacter bakterileri, *Eubacteriales* takımının *Azotobacteraceae* familyasının *Azotobacter* cinsine aittirler. *Azotobacter*'ler aerob, hücreleri 2,4 x 5 µm büyüklüğünde, genellikle G(-), oval yada küresel şekilli, heteretrofik mikroorganizmalardır. Beckinck (1974)'e göre *Azotobacteraceae* familyası 4 türü kapsamaktadır. Bunlar; *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia* ve *Derxia* dır. Her cins bir veya birkaç türü içerir. *Azotobacter* cinsine ait bakterilerin 12 türü bulunmaktadır. Bunlar ise,

- | | |
|---|---|
| - <i>Azotobacter agilis</i> | - <i>Azotobacter miscellum</i> |
| - <i>Azotobacter agilis subsp. armeniae</i> | - <i>Azotobacter nigricans subsp. Nigricans</i> |
| - <i>Azotobacter armeniacus</i> | - <i>Azotobacter paspali</i> |
| - <i>Azotobacter beijerinckii</i> | - <i>Azotobacter salinestris</i> |
| - <i>Azotobacter chroococcum</i> | - <i>Azotobacter vinelandii</i> |
| - <i>Azotobacter macrocytogenes</i> | - <i>Azotobacter</i> sp. |

Azotobacter türleri içerisinde *A.agilis* ve *A. insignis* suda yaşayan türleri oluşturmakta, diğer türler ise topraklarda bulunmaktadır. Toprakta yaşayan *Azotobacter* türleri içerisinde *A.chroococcum* en yaygın olanı olup, *Azotobacterin* olarak da adlandırılmaktadır. Bu bakteri ortam koşullarına göre, her 1 gr toprakta birkaç yüz ile birkaç bin adet bulunabilir. Yıllık azot fiksasyon düzeyleri 2–3 kg N/da düzeylerindedir.

2.2. *Azotobacter*'lerin bitkisel üretim üzerine etkisi

Atmosferdeki elementel azotun (N₂) mikroorganizmalar tarafından fiksasyonu ilk olarak 1862 yılında Fransız araştırmacı Jodin tarafından ortaya konulmuştur. Berthelot, 1885 yılında steril edilmeyen toprakta N fiksasyonunun gerçekleştiğini buna karşın steril topraklarda N fiks edilmediğini ortaya koymuştur. Anaerob koşullara sahip toprakta serbest olarak yaşayan mikroorganizmalardan *Clostridium pasterianum* ile azot fiksasyonu yapıldığını ilk ortaya koyan araştırmacı ise 1893 yılında Sergei N. Winogradsky olmuştur. Bundan kısa bir süre sonra 1901 yılında Martinus W. Beijerinck azot fiks eden aerobik organizmalardan *A.choococcum* ve *A.agilis*'i izole etmiştir. Burris ve Miller tarafından 1941'de izotop tekniğinin mikrobiyal çalışmalarda kullanılması, azot fiksasyonu üzerindeki çalışmalara büyük ölçüde katkı sağlamıştır (Gür, 2000).

Azotobacter'in azot fiks eden mikroorganizma olarak bulunması tarihi olan 1901 den sonra aşılama ile ilgili bir çok araştırma yapılmıştır. Bu konuda çalışan araştırmacılar çoğunlukla simbiyotik olmayan bakteri aşılamaının gerek ürün miktarında ve gerekse ürünün azot kapsamında önemli bir artış sağlandığını bildirmekte iseler de, bir kısım araştırmacılar böyle bir artışın her zaman mümkün olmayacağı nedeni ile aşılamanın etkisini tereddüt ile karşılamışlardır (Gür, 2000).

Azotobacter'in ürün üzerine olan etkilerini belirlemeye yönelik olarak yapılan çalışmalar daha çok *A.chroococcum* üzerinde yoğunlaşmıştır. Yapılan ilk ciddi çalışmalar 1950 - 1960'lı yıllarda eski doğu bloğu olarak adlandırılan ülkelerde yapılmıştır. Bu konuda, eski S.S.C.B.'de *Azotobacter*'in ürün üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan 1095 deneme sonucu değerlendirilmiş, sonuçta bu denemelerin % 81'inin bitkisel üretimde artışa sebep olduğunu belirlemiştir. S.S.C.B.'de 1949-1951 yılları arasında yapılan denemelerin büyük bir çoğunluğunda *Azotobacter*'in bitkisel üretimde verimi önemli düzeyde artırdığı belirlenmiştir. Bu denemelerin sonuçları ise Çizelge 2.1'de verilmiştir (FAO, 1982).

Çizelge 2.1. 1949-1951 yılları arasında S.S.C.B.'de *Azotobacter chroococcum* 'un ürün üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan deneme sonuçları

Bitki	Deneme sayısı	Pozitif denemeler,%	Kontrol ürün, kg/ha	Artış, kg/ha
Yazlık buğday	38	89.0	540	90
Kışlık buğday	5	100.0	1040	180
Kışlık çavdar	4	100.0	660	85
Yulaf	26	92.0	755	110
Arpa	15	86.0	905	85
Darı	3	66.6	400	70
Mısır	8	100.0	1260	220
Şeker pancarı	10	100.0	11520	1145
Lahana	3	100.0	10900	3265
Pamuk	27	81.0	1280	140
Patates	35	85.7	6015	1220

Bununla beraber, Çekoslovakya Tarım Bilimleri Akademisinde 1954 yılında yapılan çalışmalar ile şeker pancarı, mısır, havuç ve lahana bitkisine bulaştırılan *Azotobacter*'in ürün üzerinde önemli artışlara sebep olduğunu, bu artışların ise sırasıyla % 39, % 15.4, % 19.2 ve % 2.9 düzeylerinde bulunduğunu belirlemişlerdir. S.S.C.B. ve diğer eski doğu bloğu ülkelerinde yapılan çalışmalar ile belirlenen verim artışlarının

aksine İsviçre, Fransa, Danimarka, Amerika gibi ülkelerde ise elde edilen sonuçlar negatif yöndedir (FAO, 1982).

Gerlach ve Vogel (1902), *Azotobacter*'in topraklara aşılamaıyla, çeşitli bitkilerin verim ve N kapsamı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar denemeler sonucunda, *Azotobacter* ile aşılanmanın yulafın kuru ağırlık ve N kapsamında değişiklik oluşturmadığını, beyaz hardalın kuru ağırlığının %42, N kapsamının %35 oranında arttığını, havucun ise kuru ağırlığının %83 ve N kapsamının ise %78 oranında azaldığını ortaya koymuşlardır (Rubenchik, 1960).

Lipman (1908), fosforlu gübre ve kireç ile beraber toprakların *Azotobacter* ile aşılanmasının mısır ve arpa bitkisinin verimleri üzerine etkisini araştırdığı sera denemesinde, *Azotobacter*'le aşılanmanın arpa verimini artırdığını buna karşın mısır verimini ise azalttığını saptamıştır (Rubenchik, 1960).

Stoklasa ve Stranak (1910), Çekoslovakya'da Doğu Prag Şeker Endüstrisi deneme istasyonunda, peat topraklarda yetiştirilen şekerpancarı, yulaf ve patates verimleri üzerinde *Azotobacter* aşılamasının etkilerini yaptıkları tarla denemelerinde araştırmışlardır. Araştırmacılar, *Azotobacter*'le aşılanmanın şeker pancarında %10 bir artış sağlandığını, toprak üstü aksamında ise bu artışın %35 oranında olduğunu, yulafın dane verimini %13, saman verimini %16 oranında artırdığını, patates verimini ise %31 oranında artış sağladığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları denemelerden sonra, bitkiler için alınabilir formdaki N ihtiyacının topraklara *Azotobacter* kültürü aşılanması ile çözümlenebileceğini ileri sürmüşlerdir (Rubenchik, 1960).

Bottomley (1910), kum kültüründe saksılara fosfor, kalsiyum, potasyum ve *Azotobacter* ile *Pseudomonas* kültürü aşılamasının yulaf bitkisinin verimi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, *Azotobacter* ve *Pseudomonas* kültürü karışımlarını içeren saksılardaki yulaf veriminin kontrole göre %76 arttığını saptamışlardır (Rubenchik, 1960).

Henckel (1933), *Azotobacter* aşılamasının sera koşullarında buğday veriminde %11-13'lük bir artış gösterdiğini saptamıştır. Araştırmacı, tohumun aşılanması ile organizmaların toprakla karıştırılması gibi aşılama yöntemleri arasında verimler arasında önemli bir fark tespit edememiştir (Gür, 2000).

Karunakar ve Gopalan (1936), *Azotobacter*'ler ile tohum aşılamasının sorgum bitkisinin verimi üzerine olan etkisini araştıran araştırmacılar, deneme sonucunda sorgum bitkisinin danesinde %34 ve samanında ise %36-74 arasında bir verim artışı elde etmişlerdir (Gür, 2000).

Smtsevich (1940), Keten bitkisine *Azotobacter* aşılmasının verimi artırdığı ve bu artışın keten bitkisinde dekara 15 kg amonyum sülfat gübresi uygulamasından daha yüksek olduğunu saptamışlardır (Gür, 2000).

Federov (1940), *Azotobacter* ile birlikte *Azotobacter*'ler için C ve enerji kaynağı olması için verilen samanın ikinci ve üçüncü yıllarda mahsülü artırdığını ancak ilk yılda etkinin olmadığını göstermiştir. Denemeler sonunda, *Azotobacter* aşılmasında başarı için geniş karbon-azot (C/N) oranına sahip enerji kaynaklarının toprak ortamında bulunması gerekliliğini ortaya koymuştur (Gür, 2000).

Federow ve Teper (1945), *Azotobacter*'ler ile aşılamanın bitkisel üretimde artış meydana getirmemesinin sebebi olarak, ortamda genellikle yeterli miktarda karbonlu kök salgılarının bulunmayışı veya rizosferde *Azotobacter* gelişmesi için elverişli ortamın bulunmayışı olduğunu bildirmişlerdir (Gür, 2000).

Allison ve ark (1947), *Azotobacter chroococcum* aşılması ile baklagil olmayan çeşitli bitkilerin gerek veriminde ve gerekse azot kapsamında bir artış olup olmadığını tespit amacı ile yaptıkları araştırmada iki ayrı toprak kullanmışlar ve değişik düzeylerde azot ve karbon uygulamışlardır. Aşılama *Azotobacterin* saf kültürü ve Rusya'da hazırlanmış *Azotogen* (*A.chroococcum*+organik toprak+CaCO₃) kullanılmıştır. Arpa, sudan otu, lahana, kolza ve çavdarın gerek ürün miktarında gerekse azot kapsamında önemli bir artış elde edememişlerdir. Bu araştırmada birçok araştırmacının bulgularına aykırı bir sonuç elde etmiştir.

Lyon ve Buckman (1950), hemen kullanılabilir enerji kaynağı olarak karbon kapsamı yüksek organik maddenin azot tespitini büyük ölçüde teşvik ettiğini belirlemişlerdir. Bu nedenle şeker ve diğer kolaylıkla yarayıp duruma geçebilen karbonhidratların, toprağa ilave edilmesinin nitrifikasyonu geçici bir zaman için azaltmasına rağmen azot fiksasyonunu teşvik ettiğini saptamışlardır.

İsmailçelebioğlu (1969), laboratuarda yaptığı bir inkübasyon denemesinde iki ayrı topraktan izole edilmiş olan *A.chroococcum* kültürlerinin, gerek izole edildikleri topraklarda gerekse farklı orijinli topraklarda meydana getirdikleri azot fiksasyonunu incelemiş, fiks edilen azot miktarını her iki koşulda da birbirine yakın olduğunu saptamıştır. Aynı araştırmada, 3, 8 ve 14 günlük *A.chroococcum* kültürlerinin azot fiks etme yetenekleri araştırılmış 3 ve 8 günlük kültürlerin daha etkili şekilde azot fiks ettiği belirlenmiştir. Araştırmacı, serada yaptığı denemede *A.chroococcum*'la aşılamanın buğday ve patatesin ürün verimi üzerine etkisini araştırmış; buğdayın dane verimi artışını %47.08, saman verimini %4.60 ve patates verimini ise %9.87 olarak artırdığını

saptamıştır. Araştırmada, tohumu, kök veya toprak aşılması arasında ürün verimi açısından önemli farklılıklar saptanmamıştır.

Brown ve ark. (1964), buğday, arpa, maydanoz, havuç, ıspanak, turp bitkileriyle *Azotobacter spp.* ile aşılamışlar ve ürün miktarının arttığını gözlemişlerdir. Ayrıca tarlada ve serada 3 yıl süreyle yaptıkları bir denemede, *Azotobacter* aşılması ile birlikte mineral gübrelerin ürün verimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Aşılama için her ml’inde 10^9 hücre bulunan saf ve canlı *A.chroococcum* kültürünü kullanmışlar; tohum, kök ve toprak aşılmasını tatbik etmişlerdir. Serada yapılan denemede ürün ağırlığında ortalama %11, yaprak ağırlığında %8, kök ağırlığında ise %5 lik bir artış sağlanmıştır.

Brown ve ark. (1968), *Azotobacter*’le aşılandığı taktirde ketende solmanın, yazlık tahılda yatmanın, patatestе yumru uyuzu ve patates mildiyösü hastalıklarının daha az görüldüğünü ifade etmişler ve yine aşılama ile patatestе bakteriyel çürüklüğün ve lahanadaki boğaz uru hastalıklarının daha az meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Bazı araştırmacılar, fosforlu gübrelerin *Azotobacter*’in etkinliğini artırdığını ortaya koymuşlardır. Obrastsova (1950, 1955) fosforca yetersiz olan topraklara *Azotobacter*’in verilmemesi gerektiğini bildirmiştir (Gür, 2000). Organik madde bakımından yetersiz olan topraklara organik madde verilmesi *Azotobacterin* üremesi için uygun ortam yaratmaktadır. Malek (1971), organik maddenin bir defada verilmesi yerine birkaç defada verilmesinin azot fiksasyonunu artıracağını bildirmektedir. Organik madde toprakta sadece *Azotobacter* için besin kaynağı vazifesini görmemekte, aynı zamanda bazı toprak mantarları ve bakteriler tarafından meydana getirilen antagonistik etkiyi azaltarak dolaylı yoldan *Azotobacter*’in gelişmesini artırmaktadır. Bazı organik maddelerin toprak toksinlerinin *Azotobacter* üzerine etkisini azaltmaya çalıştığı tespit edilmiştir.

Troitskii (1931), *Azotobacter*’le aşılanan toprakta yulaf veriminin %56 arttığını göstermiştir. Ayrıca, karışık *Azotobacter* ve aerobik selüloz bakterilerinin toprağa verilmesiyle yapılan diğer bir denemede, yulafın veriminin %157 arttığını tespit etmişlerdir (Bartholomew and Clarck, 1965).

Alexander ve Wilson (1954), *Azotobacter vinelandii* tarafından tespit edilen moleküler N’un toplam miktarının, besiyerindeki şeker konsantrasyonuna bağlı olduğunu bulmuşlardır. Her bir gram sakkaroz’a karşılık, takriben 12.6 mgr. *Azotobacter*’ler tarafından N_2 asimile edildiğini belirlemişlerdir (İsmailçelebioğlu, 1969).

Rubenchik (1960), *Azotobacter* kültürü içinde buğday tohumunun bırakılma süresinin tohumun çimlenmesi üzerine etkisini araştırmış, en iyi sonucun tohumların *Azotobacter* kültürü içinde 6 saat bekletilmesi ile elde edildiğini belirtmiştir.

Narula ve ark. (2000) sera koşulları altında farklı buğday genotiplerine *Azotobacter choroococcum* ile aşılamanın topraktaki fosfor çözünürlüğü ile bitkinin N, P ve K kaldırımı üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada *Azotobacter choroococcum* ile aşılamanın kontrole göre bitki tarafından kaldırılan N, P ve K'ü tüm buğday genotiplerinde artırdığı ve M15 ile M37 olarak adlandırılan *Azotobacter choroococcum* izolatlarının diğerlerine göre daha etkin suşlar olduğu saptanmıştır.

Kumar ve ark. (2001), *Azotobacter choroococcum* ve buna ait standart türlerin topraklara aşılama ile genetiği değiştirilmiş buğday bitkisinin verimi üzerine etkilerini araştırdıkları sera denemesinde, yerli ırkların standart türlere oranla verimi daha fazla artırdığı, kontrole göre bu artışın ise, buğday bitkisinin danesinde %12.6, samanda ise %11.4 düzeylerinde bulunduğu saptanmıştır. Araştırmacılar ayrıca, yerli ırklar tarafından gerçekleştirilen bu artışın sebebinin N fiksasyonunun yanı sıra toprakta P'un çözünürlüğünün artırılması ve bakteriler tarafından çeşitli hormonların sentezlenmesinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Öztürk ve ark (2003) Erzurum'da tarla koşulları altında 3 farklı azotlu gübrelemenin (0.4 ve 8kg/da) ve *Azospirillum brasilense* Sp246 ile *Bacillus sp* OSU-142 ile aşılamanın buğday (kırık) ve tütün (tokak157/137) bitkisinin verimi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, *Azospirillum brasilense* Sp246 ile tohum aşılamaının hem buğday hem de tütünde verim ve verim unsurlarını büyük oranda artırdığı saptanmıştır. Ayrıca *Azospirillum brasilense* Sp246 ile aşılamanın metre karedeki başak sayısı, başaktaki dane sayısı, metre karedeki dane sayısı ve ham protein kapsamında buğday bitkisi için kontrole göre sırasıyla %7.2, 5.9, 14.7 ve %4.1 oranında artırdığı saptanmıştır. Buna karşın, *Bacillus sp* OSU-142 ile aşılamanın ise buğdayda her bir başaktaki dane sayısını artırmasına karşın diğer verim unsurlarını etkilemediği belirlenmiştir. Dane verimi ve verim bileşenleri kontrol ile karşılaştırıldığı zaman tüm azotlu gübre uygulamalarında artış gösterdiği ve en yüksek artışın yüksek azotlu gübre dozlarında elde edildiği belirlenmiştir. Çalışma sonunda *Azospirillum brasilense* Sp246'nın organik ve düşük azot girdili tarım uygulamalarında yazlık buğday ve tütün tarımında biyolojik gübre olarak kullanılabilme özelliği olduğu saptanmıştır.

Behl ve ark. (2003), buğday bitkisinde mikoriza (*Glomus fasciculatum*)'nın verim ve kök karakteristikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada farklı buğday

çeşitleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar sadece kimyasal gübreleme yapılmış (6 kg N 3kg P₂O₅ 1.25kg Zn-sülfat/da) kontrol parselleri ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda mikoriza ile beraber uygulanan *Azotobacter chroococcum*'un köklerde mantar hifleri tarafından gerçekleştirilen enfeksiyonun daha yüksek olduğu ve buğday çeşitlerine göre değişiklik göstermekle beraber daha yüksek olduğu saptanmıştır. Buğday bitkisinin veriminde *Azotobacter chroococcum*'un etkisinin ise mikoriza ile beraber aşılama daha fazla olduğu ve maksimum *Azotobacter chroococcum* sayılarının ise bu uygulamalarda 80 ve 120 gün sonra ortaya çıktığı saptanmıştır.

Emtiazi ve ark. (2004), farklı patates bitkisine ait türlerde (*Agria*, *Marphona*, *Concord*, *White* ve *Cosima*) yumru gelişiminde *Azotobacter* ile aşılamanın etkisini araştırdıkları sera denemesinde, vermikulit içerisinde geliştirilen ve her 1 gramında 10⁷ adet canlı hücre bulunan *Azotobacter* kültürleri ile aşılama yapılmıştır. Denemeler sonunda, aşılamanın tüm patates türlerinde yumru verimini artırmakla beraber, en yüksek verimin %33'lük oranda white çeşidinde olduğunu saptamışlardır. Buna karşın *Azotobacter* ile beraber uygulanan *Rhizobium*'un ise patates çeşitlerinde yumru verimlerini yalnızca *Azotobacter* ile aşılanmış saksılara oranla daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Wu ve ark (2005) azot fisk eden (*Azotobacter chroococcum*), fosfor (*Bacillus megaterium*) ve potasyum (*Bacillus mucilaginous*) çözen bakterileri içeren biyolojik gübrelerin mikorizal mantarlarla (*Glomus mosseae* ve *Glomus intraradices* ve *Glomus intrardices*) beraber uygulanması durumunda sera koşullarında yetiştirilen mısır bitkisinin gelişimi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada; biyolojik gübrenin *Glomus mosseae* ile beraber kullanımı sonunda en yüksek biyomas ve dane ağırlığı elde edildiği saptanmıştır. Çalışmada biyolojik gübre, kimyasal ve organik gübreler ile de karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sera koşullarında biyolojik gübre uygulamasının kontrole göre organik ve kimyasal gübre uygulamasının meydana getirdiği artışa benzer etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber biyolojik gübrelerin kapsadığı mikrobiyal aşılara ilave olarak çeşitli toprak özelliklerini de düzenlediği saptanmıştır.

Öğüt ve Er (2006), *Azosprillum* ve *Trichoderma* ile aşılamanın buğday ve kurufasulyenin mikroelement kapsamları üzerine etkisinin saptanması amacıyla Tokat koşullarında yürütülen çalışmada; *Azosprillum brasillense* ve *Tricoderma harzianum*'un tek başına veya karışık kültürlerinin fosforlu gübreler ile beraber etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda *Azosprillum*'un fosforlu gübreler ile beraberce uygulaması durumunda

danenin Mn, Zn ve Cu kapsamını artırdığı belirlenmiştir. *Tricoderma*'nın tek başına aşılama durumunda ise 45 günlük fasulye bitkisinin Fe, Mn, Zn ve Cu kapsamını ve kümülatif olarak Fe ve Zn alımını azalttığı belirlenmiştir. Buna karşın fasulye bitkisinin önemli oranda Cu akümüle ettiği ve danenin Cu kapsamının büyük oranda arttığı belirlenmiştir. Buğday bitkisinde ise, *Tricoderma* aşılamaının etkisinin çok az olduğu da belirlenmiştir.

Çakmakçı ve ark (2007) sera koşullarında yetiştirilen tütün bitkisine 5 farklı azot fiks eden (*Bacillus licheniformis* RC02, *Rhodobacter capsulatus* RC04, *Paenibacillus polymyxa* RC05, *Pseudomonas putida* RC06 ve *Bacillus* OSU-142) ve 2 farklı fosfor çözünürlüğünü sağlayan (*Bacillus megaterium* RC01 ve *Bacillus* M-13) bakterisinin kontrol ve mineral gübre uygulamaları ile karşılaştırıldığı çalışmada bütün azot fiks eden suşların tütün gelişimini önemli oranda artırdığı saptanmıştır. Toprakların nitrat kapsamını ise en fazla azot fiks eden *Bacillus* OSU-142 aşılamaında elde edilmiştir. Tütünde tohum aşılamaı ile meydana gelen artışın kök ağırlığında kontrole göre %17.9 ile 32.1, toprak üstü aksamında ise %28.8 ile 54.2 oranında artış sağladığı belirlenmiştir. Çalışmada tütünün toprak altı ve toprak üstü biyomaslarında meydana gelen artışın mikrobiyal aşı türlerine bağlı olarak değişiklikler gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda azot fiks eden bakteri aşılamaının tütün bitkisi tarafından N, Fe, Mn ve Zn alımında artırdığı belirlenmiştir. Bu artışlarda mikroorganizmalar tarafından sentezlenen hormonlarında (indolasetikasit) önemli etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Çalışma sonunda etkili *Bacillus* türlerinden OSU-142, RC07, M-13 ile *P.polymyxa* RC05, *P.putida* RC06 ve *R.capsulatus* RC04'ün tarımda kullanılabileceği saptanmıştır.

Yapılan çalışmalar, *Azotobacter*ler tarafından aşılamaı tohum veya topraklarda yetiştirilen ürünlerin verim ve N kapsamında önemli artışların bulunduğunu ortaya koymaktadır. Bu artışların temel sebepleri ise sırası ile aşağıda verilmiştir.

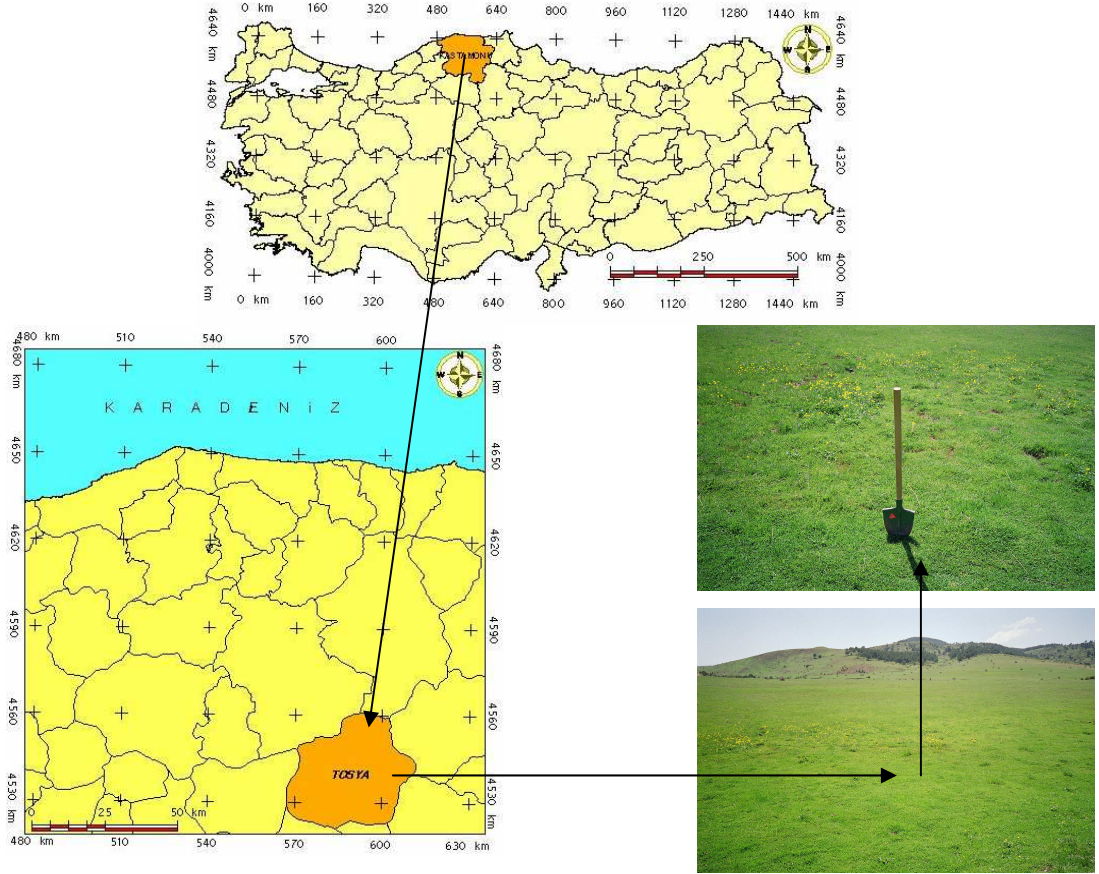
- a) *Azotobacter*'in topraktaki aktivitesi sonucunda daha kuvvetli bir kök sistemi meydana gelmekte, *Azotobacter*'ler tarafından fiks edilen ve ortamda hazır halde bulunan N bitki bünyesine daha fazla miktarda alınabilmektedir.
- b) Toprak ortamında *Azotobacter* faaliyetleri sonucu özellikle kireçli topraklarda fiks olan ve trikalsiyum fosfat (apatit) şeklinde bitkiler tarafından alınamaz durumda bulunan fosforun çözünürlüğünü artırmaktadır. Bununla beraber organik bileşiklerin yapısında bulunan organik-P'lu bileşiklerin mineralizasyonuna katkı sağlayarak alınabilir PO₄ anyonlarının açığa çıkmasına katkı sağlamaktadır.

- c) *Azotobacter*'lerin faaliyetleri sonucunda bitkisel üretimi önemi düzeyde etkileyici çeşitli vitaminler, hormonlar sentezlenmektedir.
- d) Bitkiye direk N ve P gibi besin elementlerinin gelişme ortamına sağlanması ve diğer biyolojik aktif maddelerin (vitaminle, hormonlar ...) sentezlenmesi sonucunda bitkiler ortamdaki patojen organizmaların zararlı etkisine karşı daha dirençli olmaktadır.
- e) Toprak ortamında doğal olarak bulunan ve bitkisel üretime olumlu katkılar sağlayan diğer mikrofloranın aktivitesini artırmaktadır (Antagonistik ilişki).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. *Azotobacter chroococcum* ‘un izolasyonu

Denemelerde kullanılan *Azotobacter chroococcum*, Kastamonu ili Tosya ilçesinde her hangi bir şekilde kirlenmeye uğramamış çayır-mera arazisinden (N40° 57,081’ E034°12.572’, Rakım 1520 m) alınan toprak örneğinden izole edilmiştir (Şekil .31). Bu toprak örneğinin bazı özellikleri ise Çizelge 3.1’de verilen yöntemler doğrultusunda saptanmıştır.



Şekil 3.1. *Azotobacter chroococcum*'un izole edildiği toprak örneğinin alındığı yer

Alınan toprak örneğindeki *Azotobacter*'lerin izolasyonu, selektif Ashby besiyerinde gerçekleştirilmiş ve izole edilen kültürler %25'lik (v/v) gliserol içerisinde – 30°C'de depolanmıştır. İzolasyonun gerçekleştirildiği Ashby besiyerinin bileşeni Çizelge 3.2'de verilmiştir. İzolasyon aşamasında bulaşmayı engellemek için besiyerinin bileşenine Cycloheximide antibiyotigi (50 µg/ml) ilave edilmiş, izolasyon, saflaştırma ve depolama işlemleri tamamen aseptik koşullarda steril kabin içerisinde yapılmış ve tüm aşamalarda tek kullanımlık steril petri, steril eldiven, ve ağızlıklar kullanılmıştır. İzole edilen *A.chroococcum* kültürü gliserol (%25, v/v) içerisinde –30°C'de depolanmıştır.

Çizelge 3.1. *A.chroococcum*'un izole edildiği toprak örneğinin özelliklerinin saptanmasında uygulanan yöntemler (Black, 1965; Rowell, 1996)

Analiz	Yöntem
Tekstür (% kum, silt, kil)	Hidrometre yöntemi
Toprak reaksiyonu (pH)	1:1 (w/v) toprak : saf su karışımında pH-metre ile
Elektriksel İletkenlik (EC)	1:1 (w/v) toprak : saf su karışımında EC-metre ile
Kireç kapsamı (CaCO ₃)	Scheibler kalsimetresi ile
Organik madde	Walkey-Black yöntemi ile
Toplam N	Kjeldahl yöntemi ile
Alınabilir P	Olsen yöntemine göre
Değişebilir Na, K, Ca, Mg	1 N NH ₄ OAc ekstraksiyonu ile
Alınabilir Fe, Cu, Zn, Mn	0.005M DTPA+0.01M CaCl ₂ +0.1M TEA ekstraksiyonu ile
<i>A.chroococcum</i> populasyonu	Dilüsyon plak-yöntemine göre

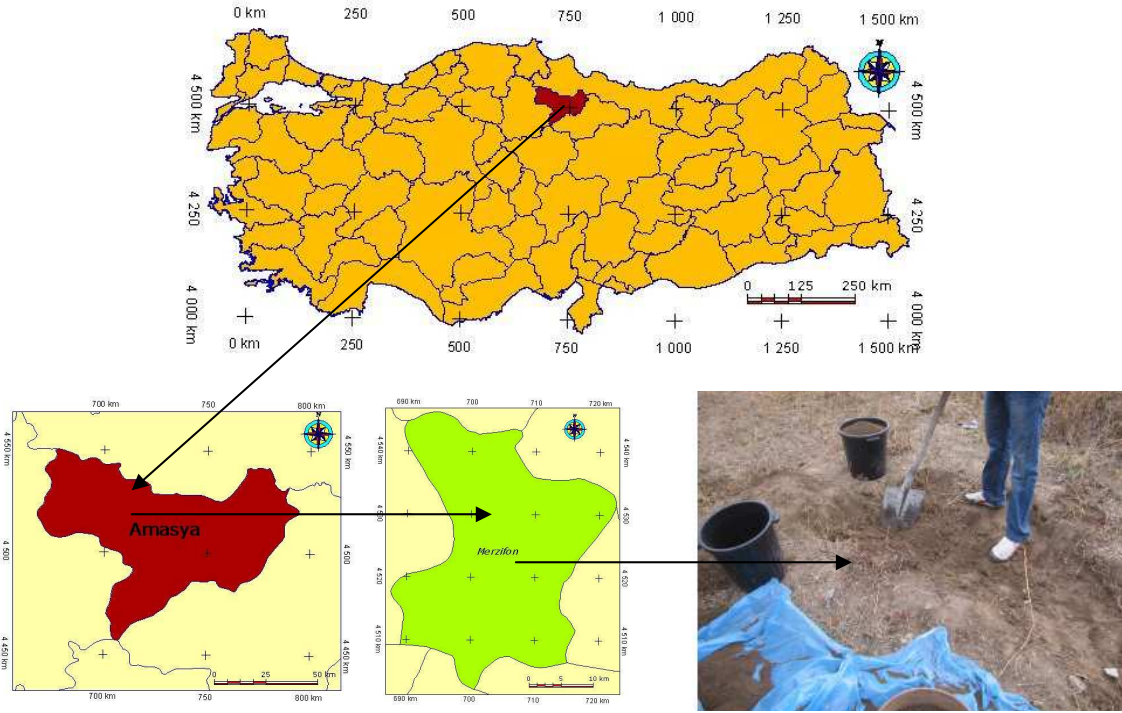
Aynı zamanda OMÜ Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü koleksiyonunda bulunan ve yurtdışından (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b 38124 Braunschweig, Almanya) temin edilerek *Azotobacter chroococcum* Beijerinck 1901 suşu da sera denemesinde kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Selektif Ashby besiyeri

Glikoz	→	5.00	Gr
Mannitol	→	5.00	Gr
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	→	0.10	Gr
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	→	0.10	Gr
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	→	5.00	Mg
K ₂ HPO ₄	→	0.90	Gr
KH ₂ PO ₄	→	0.10	Gr
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	→	0.01	Gr
CaCO ₃	→	5.00	Gr
Agar	→	15.00	Gr
Destile su	→	950	ml
pH	→	7.30	

3.2. Sera Denemesi:

Sera denemesi için gerekli toprak örneği Amasya ili, Merzifon ilçesine ait tarım arazisinden (N 40°52.345', E035°28.626') alınmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Sera denemesi amacıyla toprak örneğinin alındığı yer

Bu arazide gübre, pestisitlerin bakiye etkisinin *Azotobacter* izolatlarında meydana getirebileceği etkinin önüne geçmek amacıyla uzun süredir tarım yapılmayan, kirlenmeden uzak olan tarım arazisi seçilmiş, buradan gerektiği miktar kadar toprak örneği alınarak, Ziraat Fakültesine nakledilmiş, kurutulmuş, dövülmüş ve elenerek denemeye hazır hale getirilmiştir. Sera denemesinde kullanılan buğday bitkisi (*Triticum aestivum*) “META 2002” çeşidi olup, bu tohumlar OMÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilmiştir.

Çalışmada, her bir saksıya topraklardan 5 kg konulmuş ve her saksıda 30 adet olacak şekilde buğday tohumlarının el ile ekimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra Ashby besiyeri içinde çoğaltılmış *A.choroococcum* suşları ile aşılama yapılmıştır. %25’lik (v/v) gliserol içerisinde -30°C ’de depolanan yerli izolat ile standart suşun aktive edilmesi işlemi aseptik koşullar altında gerçekleştirilerek çalkalayıcı inkübatörde (30°C ’de 125 rpm) 3 günlük kültürleri oluşturulmuştur. Aktifleştirme ve çoğaltma aşamalarında bulaşmayı engellemek için besiyerinin bileşenine Cycloheximide antibiyotiği (50 $\mu\text{g/ml}$) ilave edilmiş, izolasyon, saflaştırma ve depolama işlemleri tamamen aseptik koşullarda steril kabin içerisinde yapılmış ve tüm aşamalarda tek kullanımlık steril petri, steril eldiven, ve ağızlıklar kullanılmıştır. Sera denemesi OMÜ Ziraat Fakültesi Toprak Bölümüne ait seralarda tesadüf parselleri deneme desenine göre

kurulmuş ve yürütülmüştür. Deneme 20 Nisan 2006 tarihinde başlatılıp 7 Temmuz 2006 tarihinde hasat işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekimden hasada kadar olan sürede saksılara herhangi bir gübreleme ve ilaçlama yapılmamıştır. Ekimden sonraki 3. gün tohumların topraktan ilk çıkışı gözlenmiştir. Ekimden 10 gün sonrası ise (30 Nisan 2006) her saksıda eşit sayıda bitkinin bulunması için saksılarda seyreltme işlemi yapılmıştır (15 adet/saksı). Deneme süresince saksılardaki nem miktarı maksimum su tutma kapasitesinin %40'ı seviyesinde tutulmuş olup her gün saksılar sabah ve akşam olmak üzere tartımı yapılarak sulanmıştır. Deneme sonunda buğday bitkileri hasat edilerek saksılardan alınan toprak örneklerinde ve bitki örneklerinde Tablo 3'de verilen analizler yapılmıştır.

Çizelge 3.3. Sera denemesi sonunda hasat edilen bitkilerde ve toprak örneklerinde yapılan analizler (Black, 1965; Kacar, 1972, 1995; Rowell, 1996)

Analiz	Yöntem
Toprak Analizleri	
Toplam N	Kjeldahl yöntemine göre
NH ₄ -N ve NO ₃ -N	1 N KCl ekstraksiyonunda destilasyon ile
Alınabilir P	0,5 M NaHCO ₃ ekstraksiyonunda
Değişebilir K, Ca, Mg	1 N NH ₄ OAc ekstraksiyonu ile
Alınabilir Fe, Cu, Zn, Mn	0.005M DTPA+0.01M CaCl ₂ +0.1M TEA ekstraksiyonu ile
Bitki Analizleri	
Verim ve verim unsurları	Gravimetrik olarak
Danede ve Sapta N	Kjeldahl yöntemine göre
Danede ve Sapta P, K, Ca, Mg	Kuru yakma sonucu elde edilen ekstraktta Fototmetrik olarak
Danede ve Sapta Fe, Cu, Zn, Mn	Kuru yakma sonucu elde edilen ekstraktta Fototmetrik olarak

3.3. İnkübasyon denemesi

Sera denemesi ile elde edilen bulgulardan hareketle, Kastamonu, Tosya'dan alınan toprak örneğinden izole edilen *A.chroococcum*'un Amasya, Merzifon'dan alınan toprak örneğine aşılması ve bu toprakta buğday yetiştirilmesi sonucu, buğday bitkisinin verim ve besin maddesi kapsamına etkisinin sera denemesi ile araştırılmıştır. Yerli *A.chroococcum* izolatının üreticiler tarafından pratik olarak kullanımını sağlayabilmek amacıyla, torfa farklı nem düzeylerinde aşılması sonucu *A.chroococcum*'un bu materyal içerisinde yaşayabilme kapasiteleri inkübasyon denemesi ile araştırılmıştır. Denemede kullanılan torfun bazı özellikleri ile besin maddesi kapsamı Çizelge 4.4'te verilen esaslara göre yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Torfun özelliklerinin saptanmasında uygulanan yöntemler (Kacar, 1972; Ryan ve ark., 2001)

Analiz	Yöntem
Kül, Organik C	Yanma kaybı esasına göre
Su tutma kapasitesi	24 saat sonunda su ile doygunluk esasına göre
pH, EC	1:10, torf:dH ₂ O süspansiyonunda
Suda çözünabilir organik madde, NH ₄ -N, NO ₃ -N	1:10, torf:dH ₂ O ekstraksiyonunda
Toplam N	Kjeldahl yöntemine göre
Toplam P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn	Kuru yakma sonucu elde edilen ekstraktta fotometrik olarak

Denemede kullanılan torf, bitki öğütme değirmeninde (<0.5 mm) öğütüldükten sonra, torfun maksimum su tutma kapasitesinin %30, 40, 50, 60 ve 70'i seviyelerinde nem içerisinde eşit sayıda *A.chroococcum* içerecek şekilde inkübasyon denemesi kurulmuştur. Bu amaçla, öğütülen torf örneklerinin fırın kuru ağırlık üzerinden 300 gr'lık miktarları ayrı ayrı olma üzere otoklav'da 121 °C ve 1.1 atm basınç altında 2 saat süre ile sterilize edilmiştir.

%25'lik (v/v) gliserol içerisinde -30°C'de depolanan yerli izolatin aktive edilmesi işlemi aseptik koşullar altında ve sıvı Ashby besiyeri (Tablo 1) içerisinde gerçekleştirilerek çalkalayıcı inkübatörde (30°C'de 125 rpm) 3 günlük kültürleri oluşturulmuştur. Oluşturulan sıvı kültürler ile otoklav'da 121 °C ve 1.1 atm basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiş saf su, steril kabin içerisinde tamamen aseptik koşullar altında farklı nem içeriklerine sahip olacak şekilde torf ile karıştırılmıştır. Bu amaçla fırın kuru ağırlık üzerinden 300 gr'lık tof içeren 200 ml sıvı kültür (10⁹ CFU/ml) kullanılmıştır. Karıştırma işlemi tamamen tek kullanımlık eldivenler kullanılarak el ile yapılmıştır. Karışımlar siyah renkli hem gaz değişimini mümkün kılan ve hem de nemi istenilen düzeyde tutan 0.0375 mm kalınlığındaki polietilen torbalar içerisine aktarılmış ve 30°C'de inkübasyona terk edilmiştir. İnkübasyonun 15., 30., 45., 60 ve 75. gününde torf ortamındaki *A.chroococcum*'ların canlı hücre sayıları dilüsyon plak yöntemine 3 paraleli olarak göre belirlenmiştir.

3.4. Gözlem ve Ölçümler

Saksıdaki Başak Sayısı :

Sarı erme devresinde her saksıda bulunan başak sayısının hesaplanmasıyla bulunmuştur.

Kardeşlenme Sayısı :

Salkım gösterme devresinde her saksıda bulunan 15 bitkinin üzerindeki başaklı bitkiler sayılarak 15' e bölünmesi suretiyle bitki başına kardeşlenme sayısı hesaplanmıştır.

Başaktaki Tane Sayısı :

Her saksıda tespit edilen 10 bitkinin ana sapında başaklar elle ayrı ayrı harman edilip taneler sayılarak bir başaktaki tane sayısı adet olarak bulunmuştur.

Saksıdaki Toplam Dane Ağırlığı :

Her saksıda bulunan bitkilerin harmanlanıp tartılmasıyla elde edilmiştir.

Bin Dane Ağırlığı :

Her saksıdan elde edilen tanelerde 4 defa 100 tane sayılıp 0.001 gr duyarlılıkta olan terazide tartılarak ortalamaları alınmış ve gr cinsinden ifade edilmiştir.

Saksıdaki Toplam Sap Ağırlığı :

Her saksıdan elde edilen tanelerden arta kalan aksam tartılarak hesaplanmış ve gr cinsinden ifade edilmiştir.

3.5. İstatistiksel Analizler

Tesadüf parselleri deneme desenine göre elde edilen toprak ve bitki materyallerinin analizleri yapılmış, sera denemesi sonunda Varyans analizi (ANOVA) ile LSD analizleri SPSS 11.0 paket programında yapılmış, elde edilen bulgular Düzgüneş (1963) tarafından bildirildiği şekilde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Yerli *Azotobacter chroococcum*'un izole edildiği toprağın özellikleri

Denemede kullanılan *Azotobacter chroococcum* izolatı Kastamonu ili Tosya ilçesinde her hangi bir şekilde kirlenmeye uğramamış çayır-mera arazisinden alınan toprak örneğinden izole edilmiştir. *A.chroococcum*'un izole edildiği toprak örneğinin bazı fiziko-kimyasal özellikleri ile toprak örneğinin besin maddesi kapsamı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yerli *A. chroococcum*'un izole edildiği toprağın özellikleri

Kum, %	56.71	Alınabilir P, $\mu\text{g g}^{-1}$	2.99
Silt, %	27.34	Değişebilir K, cmol kg^{-1}	0.48
Kil, %	15.95	Değişebilir Ca, cmol kg^{-1}	10.67
Tekstür Sınıfı	SL	Değişebilir Mg, cmol kg^{-1}	1.63
pH	7.78	Alınabilir Fe, $\mu\text{g g}^{-1}$	4.33
EC, dSm^{-1}	0.41	Alınabilir Cu, $\mu\text{g g}^{-1}$	0.16
CaCO_3 , %	0.75	Alınabilir Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	0.88
Organik Madde,%	3.94	Alınabilir Mn, $\mu\text{g g}^{-1}$	8.91
Toplam N, %	0.26	<i>Azotobacter</i> spp. sayısı, CFU g^{-1} kuru toprak	20 ± 4

Çizelge 4.1'e göre, yerli *Azotobacter chroococcum*'un izole edildiği toprak örneği; kumlu tın bünyeli, hafif alkali reaksiyonlu (7.6 – 8.5), tuzsuz ($< 0.96 \text{ dSm}^{-1}$), az kireçli ($< \%5$), organik madde kapsamı açısından iyi ($\%3 - 4$), toplam azot yönünden ise yeterli ($\%0.17-0.36$) düzeydedir. Alınabilir fosfor içeriği çok az ($< 6 \mu\text{g g}^{-1}$), değişebilir potasyum kapsamı yeterli ($0.3-0.64 \text{ cmol kg}^{-1}$), değişebilir Ca miktarı yeterli ($7.5-14.3 \text{ cmol kg}^{-1}$) ve değişebilir Mg içeriği ise yüksektir ($0.95 \text{ cmol kg}^{-1}$). Alınabilir mikroelementlerden ise Fe içeriği az ($2.5-4.5 \mu\text{g g}^{-1}$), Cu içeriği düşük ($< 0.2 \mu\text{g g}^{-1}$), Zn değeri yeterli ($0.5-1.0 \mu\text{g g}^{-1}$) ve Mn değeri ise yeterli ($> 2 \mu\text{g g}^{-1}$) seviyededir. Ayrıca, bu toprağın her bir gramında 20 adet canlı *A.chroococcum* hücresinin bulunduğu belirlenmiştir.

4.2. *Azotobacter chroococcum* ile aşılanmanın buğday bitkisinin verim ve besin maddesi kapsamına etkileri

Azotobacter chroococcum ile aşılanmanın buğday bitkisinin verim ve besin maddesi kapsamına etkilerinin sera denemesi ile belirlenmesi amacıyla alınan toprak

örneğinin bazı fiziko-kimyasal özellikleri ile toprak örneğinin besin maddesi kapsamı Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Sera denemesi kurulması amacıyla alınan toprağın özellikleri

Kum, %	40.58	Toplam N, %	0.24
Silt, %	21.10	Alınabilir P, $\mu\text{g g}^{-1}$	24.29
Kil, %	38.32	Değişebilir K, cmol kg^{-1}	251.10
Tekstür Sınıfı	CL	Değişebilir Ca, cmol kg^{-1}	26.27
pH	7.81	Değişebilir Mg, cmol kg^{-1}	5.23
EC, dSm^{-1}	0.49	Alınabilir Fe, $\mu\text{g g}^{-1}$	2.48
CaCO_3 , %	10.80	Alınabilir Cu, $\mu\text{g g}^{-1}$	2.89
Organik Madde, %	2.07	Alınabilir Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	1.40
C/N	5.00	Alınabilir Mn, $\mu\text{g g}^{-1}$	4.50

Çizelge 4.2'ye göre, sera denemesinde kullanılan toprak örneği; killi tın bünyeli, hafif alkali reaksiyonlu (7.6 – 8.5), tuzsuz ($< 0.96 \text{ dSm}^{-1}$), kireçli (%5-15), organik madde kapsamı açısından orta az (%2 – 3), toplam azot yönünden ise yeterli (%0.17-0.36) düzeydedir. Alınabilir fosfor içeriği yeterli (26-38 $\mu\text{g g}^{-1}$), değişebilir potasyum kapsamı çok fazla ($> 0.821 \text{ cmol kg}^{-1}$), değişebilir Ca miktarı fazla ($> 14.3 \text{ cmol kg}^{-1}$) ve değişebilir Mg içeriği ise yüksektir (0.95 cmol kg^{-1}). Alınabilir mikroelementlerden ise Fe içeriği az (2.5-4.5 $\mu\text{g g}^{-1}$), Cu içeriği yeterli ($> 0.2 \mu\text{g g}^{-1}$), Zn değeri yeterli ($> 1.0 \mu\text{g g}^{-1}$) ve Mn değeri ise yeterli ($> 2 \mu\text{g g}^{-1}$) seviyededir.

4.2.1. *Azotobacter chroococcum* ile aşılamanın buğday bitkisinin verim ve verim unsurlarına etkisinin belirlenmesi

Yerli ve standart *Azotobacter chroococcum* izolatları ile aşılamanın buğday bitkisinin verim ve verim unsurları üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülen sera denemesi sonunda, tohumların ekilmesini müteakip 83 gün sonunda hasat edilen bitkilerin bulunduğu saksılardan alınan örneklerde Çizelge 4.3.'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. *A. chroococcum* ile aşılanmanın buğday bitkisinin verim ve verim unsurlarına etkisi

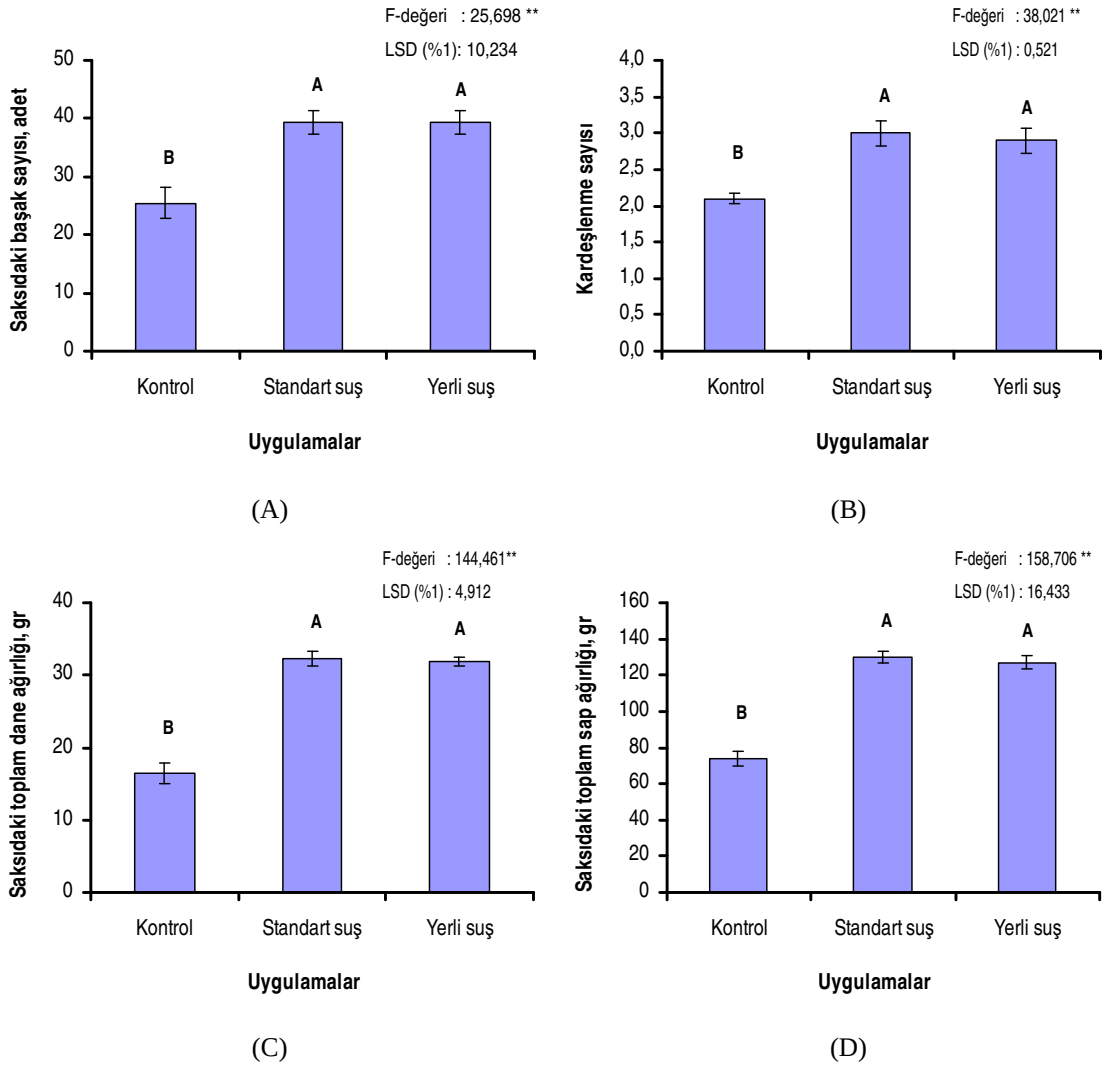
Verim ve verim parametreleri	Kontrol	Standart suş	Yerli suş	F-değeri
Saksıdaki başak sayısı, adet	25.5 ± 2.65	39.3 ± 2.08	39.3 ± 2.05	25.698**
Kardeşlenme sayısı	2.1 ± 0.07	3.0 ± 0.17	2.9 ± 0.17	38.021**
Başaktaki tane sayısı, adet	19.1 ± 3.60	23.7 ± 1.00	22.6 ± 1.98	1.950 ^{öd}
Saksıdaki toplam dane ağırlığı, gr	16.4 ± 1.41	32.3 ± 1.03	31.9 ± 0.62	144.461**
1000 tane ağırlığı, gr	33.6 ± 4.18	34.7 ± 1.73	36.0 ± 2.47	0.326 ^{öd}
Saksıdaki toplam sap ağırlığı, gr	73.6 ± 3.99	130.2 ± 3.33	127.0 ± 3.81	158.706***

^{öd} Önemli değil, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Azotobacter chroococcum ile yapılan aşılanmanın buğday bitkisinin çeşitli verim ve verim unsurlarını kontrole göre büyük ölçüde artırdığı belirlenmiştir (Şekil 4.1). Verim unsurlarından saksıdaki başak sayısı, kardeşlenme sayısı ile saksıdaki toplam dane ve sap ağırlığında meydana gelen artış istatistiksel açıdan önemli ($P < 0.01$) bulunmuş iken diğer parametrelerdeki değişimler ise istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Yerli ve standart *A. chroococcum* ile aşılanmanın saksıdaki başak sayısı, kardeşlenme sayısı ile saksıdaki toplam dane ve sap ağırlığında meydana getirdiği artışlar Şekil 4.2.'de verilmiştir. Bununla beraber, hem standart hem de yerli *A. chroococcum* suşu bu verim unsurlarını artırmış ancak iki izolatın birbirleri ile karşılaştırılması durumunda ise, buğday veriminde sağladıkları katkılar arasında istatistiksel açıdan önemli farklıklar saptanmamıştır.



Şekil 4.1. Yerli ve standart *A. chroococcum* izolatları ile aşılanmanın buğday bitkisine etkisinden görünüm



Şekil 4.2. Yerli ve standart *A.chroococcum* ile aşılamanın buğday bitkisinin bazı verim unsurlarına etkisi

(A) Saksıdaki başak sayısı üzerine etkisi

(B) Kardeşlenme sayısı üzerine etkisi

(C) Saksıdaki toplam dane ağırlığı üzerine etkisi

(D) Saksıdaki toplam sap ağırlığı üzerine etkisi

Bu çalışmada, topraklara *Azotobacter* aşılmasının buğday bitkisinin verimini ve çeşitli verim unsurlarını etkilediği saptanmıştır. Benzer şekilde, De Freitas (2000), *Azotobacter chroococcum*'da olduğu çeşitli bakterilerin bitki yetiştirme odasında buğday bitkisinin verim ve N asimilasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus polymyxa*, *Enterobacter cloacae*'nın topraklara gerek beraberce ve gerekse ayrı ayrı aşılması sonucunda bitkinin kök ve toprak üstü biyomasını büyük oranda artırdığını belirlemişlerdir. Pandey ve ark. (1998), farklı toprak ve bitkilerin geliştirildiği yerlerden izole edilen yerli *Azotobacter chroococcum* ve *Azospirillum brasilense* izolatlarının mısır bitkisinin

verimi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, *A.chroococcum* aşılmasının mısır verimini artırdığı buna karşın aynı türe ait farklı izolatların verimi etkilemede birbirlerinden önemli farklılıklar gösterdiği ve en etkin izolatın orijinali buğday bitkisinin geliştiği topraklar olan *A.chroococcum* W5 olarak adlandırılan izolat olduğu belirlenmiştir. Gerek bu çalışma sonunda ve gerekse diğer araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalarda *A.chroococcum* ile aşılama ların bitkilerin verimlerini büyük ölçüde artırdığı belirlenmiştir. Bitkisel üretimde meydana gelen bu artışın en temel sebepleri ise, *Azotobacter*'ler tarafından gerçekleştirilen N fiksasyonu sonucunda toprakların N kapsamındaki artışa bağlı olarak bitkinin bu N'dan faydalanması ve bitkisel verimi artırması (Haahtela ve ark., 1988; Rai ve Gaur, 1998; Kızılkaya, 2008) ile *Azotobacter*'lerin bitki kök bölgesinde sentezlediği çeşitli gelişme hormonları (Remus et al., 2000), fungusit özelliğindeki materyaller ile siderofor üretimi (Suneja ve ark., 1994) gibi faaliyetlerden kaynaklanmaktadır.

4.2.2. *Azotobacter chroococcum* ile aşılamanın buğday bitkisinin besin maddesi kapsamına etkisinin belirlenmesi

Yerli ve standart *Azotobacter chroococcum* izolatları ile aşılamanın buğday bitkisinin dane ve sapının bitki besin maddesi kapsamına etkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülen sera denemesi sonunda Çizelge 4.4 ve 4.5'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. *A. chroococcum* ile aşılamanın buğday bitkisinin danesinin besin maddesi kapsamına etkisi

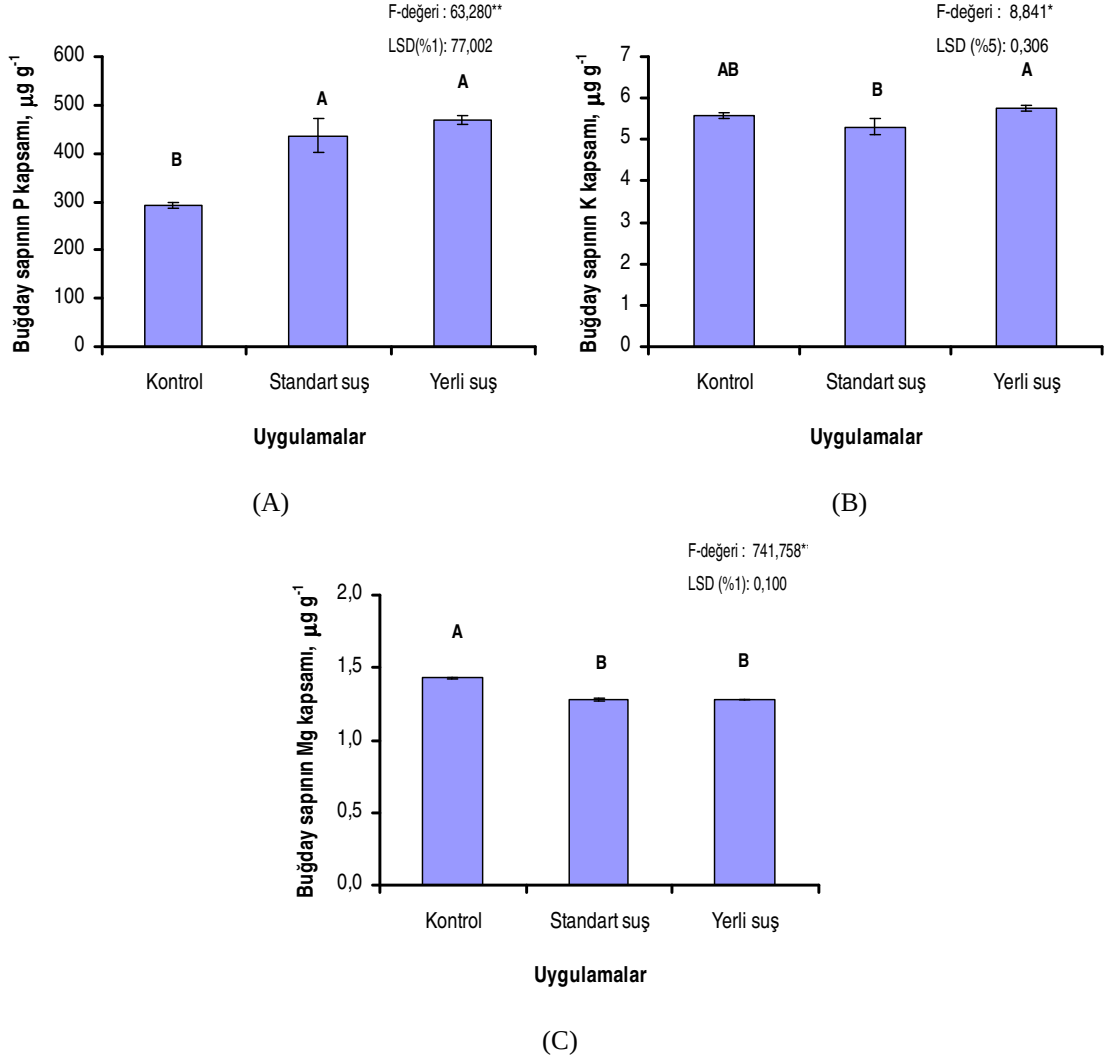
Bitki besin maddesi	Kontrol	Standart suş	Yerli suş	F-değeri
N, %	1.743 ± 0.175	2.111 ± 0.127	2.062 ± 0.150	3.642 ^{öd}
P, %	0.363 ± 0.09	0.427 ± 0.05	0.425 ± 0.064	0.548 ^{öd}
K, %	1.55 ± 0.09	1.58 ± 0.03	1.60 ± 0.05	0.331 ^{öd}
Ca, %	0.042 ± 0.013	0.047 ± 0.013	0.050 ± 0.007	0.264 ^{öd}
Mg, %	0.107 ± 0.006	0.110 ± 0.002	0.112 ± 0.002	0.891 ^{öd}
Fe, µg g-1	17.91 ± 8.83	11.08 ± 0.69	17.02 ± 3.91	0.943 ^{öd}
Cu, µg g-1	10.38 ± 3.95	8.90 ± 0.42	7.50 ± 0.82	0.889 ^{öd}
Zn, µg g-1	28.97 ± 2.53	31.58 ± 4.54	26.51 ± 1.47	1.534 ^{öd}
Mn, µg g-1	21.13 ± 2.21	20.22 ± 0.91	21.73 ± 2.38	0.316 ^{öd}

^{öd} Önemli değil, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Çizelge 4.5. *A. chroococcum* ile aşılanmanın buğday bitkisinin sapının besin maddesi kapsamına etkisi

Bitki besin maddesi	Kontrol	Standart suş	Yerli suş	F-değeri
N, %	0.417 ± 0.067	0.478 ± 0.021	0.411 ± 0.012	1.759 ^{öd}
P, µg g ⁻¹	292.60 ± 5.94	436.93 ± 34.62	469.30 ± 9.35	63.280**
K, %	5.59 ± 0.07	5.31 ± 0.20	5.77 ± 0.07	8.842*
Ca, %	1.428 ± 0.093	1.278 ± 0.064	1.278 ± 0.093	2.247 ^{öd}
Mg, %	1.428 ± 0.003	1.278 ± 0.008	1.278 ± 0.002	741.758***
Fe, µg g ⁻¹	71.39 ± 4.19	71.64 ± 3.59	70.17 ± 6.97	0.057 ^{öd}
Cu, µg g ⁻¹	2.93 ± 0.45	3.44 ± 1.36	2.66 ± 0.01	0.532 ^{öd}
Zn, µg g ⁻¹	5.94 ± 0.73	4.85 ± 0.38	6.02 ± 0.01	4.012 ^{öd}
Mn, µg g ⁻¹	16.45 ± 2.62	12.04 ± 2.09	15.03 ± 0.33	2.684 ^{öd}

^{öd} Önemli değil, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$



Şekil 4.3. Yerli ve standart *A.chroococcum* ile aşılanmanın buğday sapının bazı besin elementlerinin kapsamına etkisi (A) Fosfor (B) Potasyum (C) Magnezyum

Elde edilen sonuçlara göre, gerek yerli ve gerekse standart *Azotobacter chroococcum* izolatları ile aşılamanın buğday bitkisinin danesindeki besin elementi kapsamını artırdığı belirlenmiş olmasına karşın bu artışların istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Buna karşın, *A.chroococcum* izolatları ile aşılamanın buğday bitkisinin sapında P, K ve Mg kapsamını önemli düzeyde etkilediği (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.3) saptanmıştır. Standart suş olan *A.chroococcum Beijerinck* 1901 ile yerli izolatın gerek danedeki ve gerekse saptaki besin maddesi konsantrasyonunu etkilemedeki etkisi istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

A.chroococcum aşılması buğday bitkisinin sapındaki P kapsamını artırdığı belirlenmiştir. Benzer kısmi artış K içinde geçerlidir. Bu durum muhtemelen *Azotobacter*'lerin, N fiksasyonu yapmasının yanı sıra toprak ortamında doğal olarak bulunan P gibi bazı besin elementlerinin çözünürlüğünü artırarak bitkiler tarafından alınımını kolaylaştırmakta ve bu elementin bitkideki konsantrasyonunda artış olabilmektedir. Narula ve ark. (2000), sera koşulları altında yetiştirilen yazlık buğday çeşitlerinde P çözünabilirliği ve bunun sonucunda bitkinin N, P, ve K konsantrasyonunda meydana getirdiği artışın araştırıldığı çalışmada, *A.chroococcum* ile aşılama sonunda hem topraktaki alınabilir P düzeyinin arttığını hem de bitkinin N, P ve K kapsamında önemli artışlar meydana geldiğini saptamışlardır. Araştırma sonunda, *A.chroococcum* ile aşılanmış saksılarda P çözünürlüğünün artışının yanı sıra, *Azotobacter*'ler tarafından sentezlenen kök gelişim hormonları da bitkinin daha iyi bir kök yapısı kazanması ve bunun sonucunda da tüm besin elementlerini daha fazla topraktan kaldırması ile ilgili olduğunu ortaya konulmuştur. Benzer şekilde Hafeez ve ark. (2006), buğday bitkisine yapılan *Azotobacter chroococcum* aşılması ile bitkinin N, P, K kapsamının arttığı, bu artışın *Azotobacter chroococcum*'un neden olduğu N fiksasyonu, P çözünürlüğü ve siderefor üretimi ile ilgili olduğunu belirlemişlerdir.

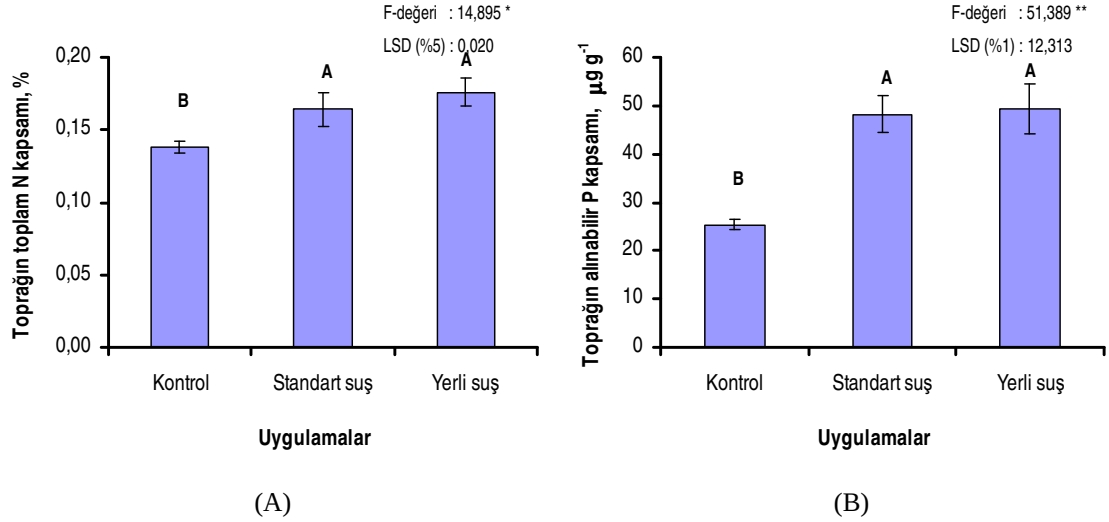
4.2.3. *Azotobacter chroococcum* ile aşılamanın toprağın besin maddesi kapsamına etkisinin belirlenmesi

Yerli ve standart *Azotobacter chroococcum* izolatları ile aşılamanın buğday bitkisinin yetiştirildiği saksılardaki toprağın bitki besin maddesi kapsamına etkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülen sera denemesi sonunda Çizelge 4.6'daki sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. *A. chroococcum* ile aşılamanın toprağın besin maddesi kapsamına etkisi

Bitki besin maddesi	Kontrol	Standart suş	Yerli suş	F-değeri
Toplam N, %	0.138 ± 0.004	0.164 ± 0.012	0.176 ± 0.010	14.895 *
NH ₄ ⁺ - N, µg g ⁻¹	13.86 ± 1.24	12.34 ± 2.84	12.03 ± 1.73	0.647 ^{öd}
NO ₃ ⁻ - N, µg g ⁻¹	16.78 ± 5.43	13.27 ± 2.88	12.94 ± 0.97	0.717 ^{öd}
Alınabilir P, µg g ⁻¹	25.33 ± 1.08	48.16 ± 3.81	49.41 ± 5.14	51.389 **
Değişebilir K, µg g ⁻¹	399.38 ± 13.38	411.17 ± 40.86	410.17 ± 42.40	0.127 ^{öd}
Değişebilir Ca, cmol kg ⁻¹	23.72 ± 0.92	24.86 ± 2.52	19.72 ± 2.10	6.207 ^{öd}
Değişebilir Mg, cmol kg ⁻¹	5.36 ± 0.50	5.42 ± 0.36	6.61 ± 0.38	5.908 ^{öd}
Alınabilir Fe, µg g ⁻¹	1.05 ± 0.25	1.61 ± 0.25	1.55 ± 0.21	3.674 ^{öd}
Alınabilir Cu, µg g ⁻¹	1.44 ± 0.27	1.71 ± 0.11	1.06 ± 0.20	5.140 ^{öd}
Alınabilir Zn, µg g ⁻¹	2.43 ± 0.53	2.72 ± 0.15	2.32 ± 0.17	0.807 ^{öd}
Alınabilir Mn, µg g ⁻¹	4.03 ± 1.11	3.22 ± 0.80	3.23 ± 0.78	0.539 ^{öd}

^{öd} Önemli değil, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$



Şekil 4.4. Yerli ve standart *A.chroococcum* ile aşılamanın toprağın bazı besin elementlerinin kapsamına etkisi (A) Toplam azot (B) Alınabilir fosfor

Bu çalışmada, yerli ve standart *Azotobacter chroococcum* izolatları ile aşılamanın, toprağın sadece toplam N ve alınabilir P kapsamını önemli oranda artırdığı, buna karşın diğer besin elementlerinde meydana gelen değişimin ise önemli olmadığı saptanmıştır. *Azotobacter*'lerin en temel işlevleri atmosferde N₂ formundaki azot gazını fiks ederek, organizmanın bulunduğu toprak ortamına bağlamasıdır yani N₂ asimilasyonunu gerçekleştirmesidir (Alexander, 1977). Bu organizmalar her hangi bir aşılamanın yapılmadığı topraklarda yıllık 2-3 kg N fikse etme yeteneğindedirler. Ayrıca, bu organizmaların toprak ortamındaki popülasyonu artırıldığı zaman ise, birim

alandaki fiks edilen N miktarında da artış olacaktır. Bu artış ise kuşkusuz toprakların fiziko-kimyasal özellikleri ile heterotrofik *Azotobacter*'in beslenme ihtiyacını sağlayacak organik bileşiklerin topraklardaki seviyeleri ile ilgilidir. Benzer şekilde Kızılkaya (2009), ülkemiz topraklarından izole edilen yerli *Azotobacter chroococcum* izolatlarının N fiksasyon kapasitelerinin belirlenmesi ve farklı bünyelerdeki topraklara aşılınmaları sonunda toprakların N kapsamında meydana getirdiği değişimleri araştırdığı çalışmada, suşların N fiksasyon kapasiteleri birbirlerinden farklı olmakla beraber *Azotobacter*lerin toprakların toplam N kapsamını artırdığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Narula ve ark. (2000) ve Hafeez ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmalarla da *Azotobacter* aşılması sonunda toprakların toplam P kapsamında herhangi bir değişiklik olmamasına karşın, alınabilir P kapsamında artışların olduğu saptanmıştır.

4.3. Mikrobiyal gübre üretiminde kullanılan torfun farklı nem içeriğinin *Azotobacter chroococcum* popülasyonuna etkisinin belirlenmesi

4.3.1. Torfun özellikleri

Biyolojik gübre üretiminde etkenliği saptanmış izolatların yanı sıra bu izolatları pratikte araziye ulaştırabilecek nitelikteki bazı taşıyıcılara gereksinim bulunmaktadır. Taşıyıcı materyal olarak organik orijinli çeşitli bitkisel ve hayvansal orijinli atıklar (Crawford and Berryhill, 1983) ile bentonit, vermikulit, perlit ve mineral toprak gibi (Sparrow ve Ham, 1983; Chao ve Alexander, 1984; Graham-Weiss ve ark., 1987; Daza ve ark., 2000) materyaller kullanılabilen ancak genellikle taşıdığı özellikleri nedeniyle torf tercih edilmektedir. Torflarda elde edildikleri yerlere göre özellikleri bakımından stabilize göstermemektedir. Denemede kullanılan torfun özellikleri ise Çizelge 4.7’de verilmiştir.

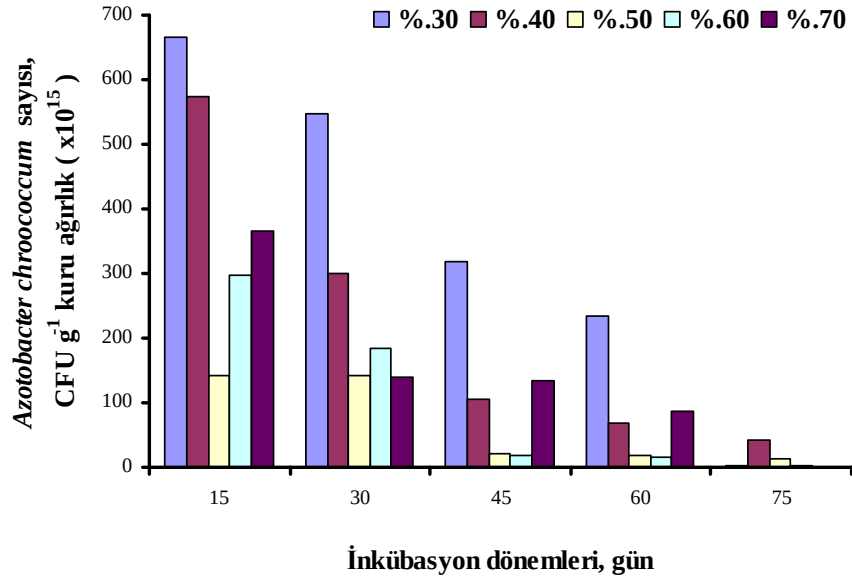
Çizelge 4.7. İnkübasyon denemesinde kullanılan torfun özellikleri

Kül, %	84.75	Toplam N, %	1.316
Su tutma kapasitesi, %	391.6	Toplam P, %	0.066
Organik C, %	49.16	Toplam K, %	0.174
pH	7.03	Toplam Ca, %	2.199
EC	1.43	Toplam Mg, %	0.206
C/N	37.4	Toplam Fe, $\mu\text{g g}^{-1}$	660.137
Suda çözünür Organik madde, $\mu\text{g g}^{-1}$	108	Toplam Cu, $\mu\text{g g}^{-1}$	4.672
Suda çözünür $\text{NH}_4\text{-N}$, $\mu\text{g g}^{-1}$	0.076	Toplam Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	21.525
Suda çözünür $\text{NO}_3\text{-N}$, $\mu\text{g g}^{-1}$	0.033	Toplam Mn, $\mu\text{g g}^{-1}$	80.302

Denemede kullanılan torf *Azotobacter* gelişimi için uygun özellikleri taşımaktadır. *Azotobacter*'ler için taşıyıcı olacak materyalleri C/N oranının >33 olması, toplam ve suda çözünabilir organik madde kapsamının heterotrofik olan *Azotobacter*'lerin ihtiyaç duyduğu C'nu sağlayabilecek düzeyde olması, optimal gelişmeyi sağlayabilecek düzeyde besin maddesi içermesi, nötr ve tuzsuz bir ortam sağlaması gerekmektedir (FNCA, 2006). Bu özellikler dikkate alındığında ise denemenin yürütüldüğü torf 'un ideal özellikleri taşıdığı söylenebilmektedir.

4.3.2. Farklı nem içeriğine sahip torfun *Azotobacter chroococcum* popülasyonuna etkisi

Fiziko-kimyasal özellikleri bakımından ideal koşulları sağlayan torfun *Azotobacter chroococcum* izolatlarını taşıyıcı materyal olarak kullanabilmesi için yeterli düzeyde nem ve serbest oksijen içermesi de gerekmektedir. Çünkü mikrobiyal hücre tarafından gerek protoplazmik suyun karşılanması ve ortamdaki besin elementlerini alabilmesi ve gerekse obligat aerob olan *Azotobacter*ler için torfun nem içeriği ve torfun boşluklarındaki nem-hava dengesi bu açıdan önem taşımaktadır. Bu açıdan yürütülen denemede elde edilen sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı nem içeriğine sahip steril torf ortamında inkübasyona bağlı olarak canlı *A.chroococcum* sayısındaki değişim

Elde edilen sonuçlara göre, steril torf ortamına yapılan aşılama sonunda, inkübasyonun ilerleyen dönemlerinde canlı *A.chroococcum*'a ait hücre sayılarında önemli azalmalar meydana gelmiş ve en yüksek canlı hücre sayısı tüm nem koşullarında en fazla inkübasyonun 15. gününde, tüm nem koşulları dikkate alındığı zaman ise, en fazla canlı hücre sayısı maksimum su tutma kapasitesinin % 30'u düzeylerinde elde edilmiştir. Tüm inkübasyon dönemlerinde ve nem koşullarında steril torf ortamına aşılama müteakip canlı *A.chroococcum* sayılarının 10^{15} CFU g⁻¹ düzeylerinde değişiklikler gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, denemede kullanılan *A.chroococcum* izolatından farklı nem düzeylerinde mikrobiyal gübre olarak kullanılabilecek torf'un taşıyıcı olarak kullanılması durumunda, 75 günlük inkübasyonu boyunca yüksek oranda canlı hücre içerdiği, Resmi Gazetede yayınlanan $>10^7$ CFU g⁻¹ düzeyinden daha fazla olduğu da saptanmıştır. Yani, maksimum su tutma kapasitesinin % 30-70 arasındaki tüm nem düzeylerinde elde edilen torf – *A.chroococcum* karışımlarının standartlar içerisinde yer aldığı ancak, en fazla popülasyonun %30 düzeylerinde bulunduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, Haktanır ve Arcak (1997), peat ile sıvı ortamda üretilen bakterilerin karışımlarının nem oranlarının % 55-60 arasında nem kapsammasının optimum *Rhizobium* bakteri gelişmesini sağladığını bildirmesine karşın, bu denemede kullanılan *Azotobacter*ler ve peat için ise nem düzeyinin %30 olduğu belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonunda, yerli ve standart *Azotobacter chroococcum*'un saf izolatlarını içeren sıvı kültürler ile toprakların aşılama ve bu topraklarda sera koşullarında buğday bitkisinin yetiştirilmesi durumunda, bitkinin dane ve sap verimi ile besin elementi kapsamını kontrole göre önemli oranda artırdığı saptanmıştır. Yerli ve standart suş karşılaştırıldığı zaman, buğday veriminde meydana gelen bu artışta izolatlar arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmadığı saptanmıştır. Ayrıca, pratikte uygulanabilirliğini sağlamak amacıyla, taşıyıcı materyal olarak peatin seçilmesi durumunda, peat ile *Azotobacter*'in sıvı kültürlerine ait farklı nem düzeylerinde karışımlar hazırlanmış ve en fazla canlı hücre sayısının %30 oranında nem koşullarında elde edilmiştir. Bu sonuçlardan hareketle,

- Sera denemesi şeklinde yürütülen bu çalışmanın arazi koşullarında da denemesi,
- Öncelikle sera gibi kontrollü koşullarda farklı bitkilerde denemeler yürütüldükten sonra bu bitkilere ait tarla denemelerinin planlanması,

gerekmektedir. Bu denemelerden de olumlu sonuçların çıkması durumunda da *Azotobacter*'ler ile biyolojik gübreler yapılabilir. Bu çalışmadaki sera denemesi sonucunda, yerli izolat ile standart izolatın buğday bitkisinin verimine olan katkıları arasında önemli farklılıklar belirlenmediği için biyolojik gübrelerin yapımında standart suşların kullanımına gerek kalmayabileceği düşünülmektedir. Kuşkusuz kesin sonuçlar ancak tarla denemeleri ile ortaya konulmalıdır.

Ayrıca, biyolojik gübre yapımında peat'in taşıyıcı materyal olarak kullanılabilirliği ve en uygun nem düzeyinin %30 oranında saptanmasına karşın, yine benzer çalışmalar ile biyolojik gübre üretiminde uygun sıcaklık koşullarının saptanması gibi *Azotobacter* popülasyonuna etkili olabilecek diğer ekolojik faktörlerinde belirlenmesi gerekmektedir.

Topraklara *Azotobacter* aşılama sonucunda toprakların ve bu alanlarda yetiştirilen bitkilerin hem besin maddesi kapsamı verimleri artmakta hem de verim düzeyleri artmaktadır. Bu durum, toprakların *Azotobacter*'ler ile zengin olması veya ortamda *Azotobacter*'in var olması durumunda da bu topraklara yapılacak çeşitli kültürel uygulamalar ile bu bakterilerin popülasyonlarının artırılması durumunda da aşılama gibi olumlu sonuçların ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Bu uygulamalar ise, tamamı heterotrofik ve aerob olan *Azotobacter*'lerin ihtiyaç duyduğu C ve enerjiyi sağlamak amacıyla topraklara organik madde ilavesi ve havalandırmanın sağlanması sayılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Alexander, M., 1977. Introduction to soil microbiology, 2nd Edition John Wiley. Sons. Inc. New York, USA.
- Allison, F. E. , 1947. *Azotobacter* inoculation of crops: I. Historical. Soil Science. 64, 413- 429.
- Bartholomew, W. V., Clark, F.E. 1965. Soil Nitrogen, American Society of Agronomy, Inc., Publisher. Number 10. Chapter 12., pp.436-476. Madison, Wisconsin, U.S.A.
- Becking, J. H., 1974. Azotobacteriaceae. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th edition (eds. R. E. Buchanan and N. E. Gibbons). The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 253-261.
- Behl, R., K., Sharma, H., Kumar, V., Narula, N., 2003. Interactions amongst Mycorrhiza, *Azotobacter chroococcum* and Root Characteristics of Wheat Varieties. Journal of Agronomy and Crop Science 189, 151—155.
- Black, C.A. Evans, D.D. White, J.L. Ensminger, L.E. Clark F.E. 1965. Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties, Agronomy 9, ASA, Madison, Wisconsin, USA.
- Brown, M.E., Burlingham, S.K., Jackson, R.M., 1964. Studies on *Azotobacter* species in soil. II. Populations of *Azotobacter* in the rhizosphere and effects of artificial inoculation. Plant and Soil 17, 320-332.
- Brown, M.E., R.M. Jackson, S.K. Burlingham, 1968. Growth and effects of bacteria introduced into soil. The ecology of Soil bacteria, An International Symposium. 531-551.
- Chao, W.L., Alexander, M., 1984. Mineral soils as carriers for *Rhizobium* inoculants. Applied and Environmental Microbiology 47, 94-97.
- Crawford, S.L., Berryhill, D.L., 1983. Survival of *Rhizobium phaseoli* in coal-based legume inoculants applied to seeds. Applied and Environmental Microbiology 45, 703-705.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F., Erdoğan, Ü., 2007. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Barley Seedling Growth, Nutrient Uptake, Some Soil Properties, and Bacterial Counts. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 31, 189-199
- Daza, A., Santamaria, C. Rodriguez-Navarro, D.N. Camacho, M. Orive, R. Temprano, F., 2000. Perlite as a carrier for bacterial inoculants. Soil Biology and Biochemistry 32, 567-572

- De Freitas, J.R., 2000. Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L., var. Norstar) inoculated with Rhizobacteria. *Pedobiologia* 44, 97–104.
- Düzgüneş, O., 1963. Bilimsel Araştırmalarda İstatistik Prensipleri ve Metodları. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.
- Emtiazi, G., Naderi, A., Etemadifar, Z., 2004. Effect of Nitrogen Fixing Bacteria on Growth of Potato Tubers. *Advances in Food Sciences* 26, 56-58
- FAO, 1982. Application of nitrogen-fixing systems in soil improvement and management. Food and Agriculture Organization of The United Nations. FAO Soils Bulletin 49, Rome.
- FNCA, 2006. Biofertilizer Manual. Biofertilizer Project From for Nuclear Cooperation in Asia (FNCA), Japan, 124 pp.
- Graham-Weiss, L., Bennett, M.L., Paa, A.S., 1987. Production of bacterial inoculants by direct fermentation on nutrient-supplemented vermiculite. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 2138-2140.
- Gür, K., 2000. Toprak Biyolojisi. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları No. 10, Konya
- Haahtela, K., Tuula, T., Nurmiäho-Lassila, E., Korhonen, T.K., 1988. Effects of inoculation of *Poa pratensis* and *Triticum aestivum* with root-associated, N₂-fixing *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Azospirillum*. *Plant and Soil* 106, 239–248.
- Hafeez, F.Y., Yasmin, S., Ariani, D., Yusuf M., Kauser, Z., Malik, A., 2006. Plant growth-promoting bacteria as biofertilizer. *Agron. Sustain. Dev.* 26 143–150
- Haktanır, K., Arcak, S., 1997. Toprak Biyolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No. 1486. Ankara.
- İsmailçelebioğlu, N., 1969. Muhtelif bölgelerden izole edilen *Azotobacter chroococcum* ile aşılamanın, Erzurum Kan siltli kili ve Palandöken çakıllı tınında yetiştirilen buğday ve patates bitkilerinin verimi üzerine etkisi. Atatürk Üniversitesi yayınları No: 274 Erzurum.
- Kacar, B., 1972. Bitki ve toprağın kimyasal analizleri. II. Bitki analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No.453 Ankara
- Kacar, B., 1995. Bitki ve toprağın kimyasal analizleri. II. Toprak analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Eğitim Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No.3 Ankara

- Kızılkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *Ecological Engineering* 33, 150-156.
- Kızılkaya, R., 2009. Nitrogen fixation capacity of *Azotobacter* spp. strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soils. *Journal of Environmental Biology* 30 (1) (in press)
- Kumar, V., Behl, R. K., Narula, N., 2001. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under green house conditions. *Microbiological Research* 156, 87–93
- Lyon, T.L. and Buckman, H.O. 1950. *The nature and Properties of Soils*. Fourth Edition. The Mac Millan Company, New York.
- Malek Abd-El., 1971. Free-Living nitrogen-fixing bacteria in Egyptian soils and their possible contribution to soil fertility. *Plant and Soil*, special volume. 423-442.
- Narula, N., Kumar, V., Behl, R.K., Deubel, A., Gransee, A., Merbach, W., 2000. Effect of P-solubilizing *Azotobacter chroococcum* on N, P, K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163, 393-398.
- Ögüt, M., Er, F., 2006. Micronutrient composition of field-grown dry bean and wheat inoculated with *Azospirillum* and *Trichoderma*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169, 699-703.
- Öztürk, A., Çağlar, Ö., Şahin, F., 2003. Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of nitrogen fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 262-266.
- Pandey, A., Sharna, E., Palni, L.M.S., 1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 379–384.
- Rai, S.N., Gaur, A.C., 1998. Characterization of *Azotobacter* spp. and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. *Plant and Soil* 109, 131–134.
- Remus, R., Ruppel, S., Jacob, H.J., Hecht-Buchholz, ch., Merbach, W., 2000. Colonization behaviour of two enterobacterial strains on cereals. *Biology and Fertility of Soils*. 30, 550–557.

- Rowell, D.L., 1996. Soil Science: Methods and Applications. 3rd Edition Longman. London, UK
- Rubenchik L.I. 1960. *Azotobacter* and its use in agriculture. (Translated from Russian) National Science Foundation, Washington D.C. US Dept of Commerce, Washington 25, D.C. USA. Oldbourne Press, 1-5 Portpool Lane, London, E.C.I.
- Ryan, J., Estefan, G., Rashid, A., 2001. Soil and plant analysis laboratory manual. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). Syria.
- Sparrow, S.D., Ham, G.E., 1983. Survival of *Rhizobium phaseoli* in six carriers materials. Agronomy Journal 75, 181-184.
- Suneja, S., Lakshminarayana, K., Narula, N., 1994. Optimization of cultural conditions for hydroxamate type of siderophore production of *Azotobacter chroococcum*. Microbiol. Res. 149, 385–390.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M.H., 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125, 155–166

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Samsun’ da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini burada tamamladı. 1998 yılında OMÜ Ziraat Fakültesi Toprak Bölümünde lisans eğitimine başlayıp, 2002 yılında tamamladı. 2004 yılında OMÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans sınavını kazanıp, bir yıl yabancı dil eğitimi aldı. 2007 yılında Çarşamba Ziraat Odası Başkanlığı bünyesinde kurulu Toprak-Yaprak-Su Analiz Laboratuvarında göreve başladı. Halen bu görevinde devam etmektedir.