

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

77598

ELAZIĞ YÖRESİ TOPRAKLARINDAKİ DOĞAL *RHIZOBIUM*
POPULASYONUNUN BELİRLENMESİ

Seher GÜR

77588

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ELAZIĞ

1998

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ELAZIĞ YÖRESİ TOPRAKLARINDAKİ DOĞAL *RHIZOBIUM*
POPULASYONUNUN BELİRLENMESİ

Seher GÜR

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez..... tarihinde, aşağıda belirtilen Jüri tarafından
Oybirliği / Oyçokluğu ile Başarılı / Başarısız olarak değerlendirilmiştir.

(İmza)

(İmza)

(İmza)

Danışman

Doç.Dr.Saadet ARIKAN

ÖZET

DOKTORA TEZİ

**ELAZIĞ YÖRESİ TOPRAKLARINDAKİ DOĞAL *RHIZOBIUM*
POPULASYONUNUN BELİRLENMESİ**

Seher GÜR

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
1998, Sayfa: 68

Mercimek ve fasulye ekiminin en fazla yapıldığı Elazığ İli merkez ve İlçelerine bağlı farklı bölgelerden toprak örnekleri toplanmıştır. Her bir toprak örneği bahar ve güz olmak üzere yılda iki kez aynı bölgeden alınmış olup toplam yirmi bakteri suşu izole edilmiştir. Araştırma sera şartlarında yapılmış, bitki infeksiyon metodu ve En Muhtemel Sayı tabloları yardımı ile (EMS) toprakların *Rhizobium* populasyonları saptanmıştır. Buna göre mercimek ekilen tarlalardan alınan toprak örneklerinin bir gramında 9×10^1 - $9,19 \times 10^4$ adet *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, fasulye bitkisine ait toprak örneklerinde ise $4,2 \times 10^2$ - $9,19 \times 10^4$ adet *Rhizobium phaseoli* bakterisi bulunduğu tespit edilmiştir.

Sera şartlarında yetiştirilen ve toprak örnekleriyle aşılanan mercimek ve fasulye bitkileri dört haftalık bir gelişme periyodundan sonra hasat edilmiş, nodül sayıları ve renkleri ile bitkilerin üstü kısımlarının kuru ağırlıkları saptanmıştır. Ayrıca bitki köklerindeki nodüllerden izole edilen bakteri suşlarının bazı kültürel ve biyokimyasal özellikleri de belirlenmiştir. Kuru ağırlık değerleri bahar dönemine ait mercimek bitkisinde 0,510-0,280 g, güz dönemine ait mercimek bitkilerinde ise 0,407-

0,267 g, fasulye bitkilerinde bu değerler sırasıyla 2,162-1,866 g ve 3,893-1,624 g olarak bulunmuştur. Azot içerikleri Kjeldahl metodu kullanılarak % azot cinsinden belirlenmiş olup bu değerler bahar dönemine ait mercimek bitkilerinde % 4,11-3,29 gz dönemine ait bitkilerde ise %4,04-2,98; fasulye bitkisinde ise bu değerler sırasıyla %2,34-1,84 ve %2,46-1,96 olarak hesaplanmıştır.

Kuru ağırlık, % azot ve total azot miktarları Varyans analizine tabi tutularak *Rhizobium* suşlarının azotlu, azotsuz ve pozitif kontrole göre önemlilik dereceleri Duncan testi ile mukayese edilmiştir. Mevsimler arası karşılaştırma Mann Whitney U testi ile yapılmıştır.

Toprakların doğal *Rhizobium* populasyonlarının simbiyotik etkinlikleri bitkilerin kuru ağırlıkları esas alınarak yapılmıştır. Buna göre mercimek bakterilerinin % 20' si çok etkili, % 40' ı etkili ve geriye kalan diğer % 40' nın orta derecede etkili olduğu, Fasulye bakterilerinin ise %30' nun orta derecede etkili,, % 70' nin de az etkili olduğu grlmştr.

Anahtar Kelimeler : *Rhizobium leguminosarum* bv.viciae, *R.phaseoli*, *Lens culinaris*, *Phaseolus vulgaris* En Muhtemel Sayı, Bitki İnfeksiyon Metodu.

III

SUMMARY

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF THE NATURAL *RHIZOBIUM* POPULATIONS IN SOIL OF ELAZIĞ REGION

Seher GÜR

Firat University
Graduate Scholl of Natural and Applied
Science Department of Biology
1998, Page: 68

The soil samples were collected from different regions of Elazığ province and its districts. In these regions, the lentil and bean are mostly cultivated. The soil samples were obtained from the same regions in both spring and autumn season twice in a year and twenty bacteria strain were isolated. The study had been carried out in greenhouse, *Rhizobium* populations of soil were determined with plant infection method and most probable number tables. In one gram of the soil samples taken from lentil cultivated fields were investigated and number of *Rhizobium leguminosarum* *bv.viciae* were found to be 9×10^1 - $9,19 \times 10^4$. In the soil samples from bean, cultivated fields population of *R.phaseoli* were found to be $4,2 \times 10^2$ - $9,19 \times 10^4$ in number The lentil and bean plants grown in greenhouse and inoculated with

IV

soil samples had been harvested after four weeks and their nodule numbers, colour, dry weight of upper parts of the plant had been determined. In addition, some cultural and biochemical properties of the isolated bacteria strains from nodule on the plant root were determined. Dry weight values of lentil in spring and autumn season were found as 0,510 - 0,280 g and 0,407 - 0,267 g respectively. For the bean, these values were found as 2,162 - 1,866 g and 3,893 - 1,624 g in the spring and autumn season respectively.

Nitrogen contents were determined as % Nitrogen by using Kjeldahl method. These values, in the lentils belonging to spring and autumn season were 4,11 - 3,29 % and 4,04 - 2,98 % and in the beans 2,34 - 1,84 % and 2,46 - 1,96 % respectively.

Dry weight % Nitrogen and total nitrogen amounts were calculated by using varians analysis. Significant levels of the *Rhizobium* strains according to nitrogenous, nonnitrogenous and positive controle were compared by Duncan test. Comparasing of the seasons were carried out by Mann Whitney U test.

Simbiotic effectives of the natural *Rhizobium* populations in the soil were determined essentially dry weight of plants. As a result 20 % of the lentil bacteria found to be most effective, 40 % effective and the rest 40 % middle effective. While 30 % of the bean bacteria were faund as middle effective and the rest 70 % were lower effective.

Key words: *Rhizobium leguminosarum bv.viciae*, *R.phaseoli*, *Lens culinaris*, *Phaseolus vulgaris* Most probable number, Plant Infection Method.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr.Saadet ARIKAN' a , her türlü yardımlarıyla bana destek olan sayın hocam Yrd.Doç.Dr.Gülay SAĞIROĞLU' na, arazi ve laboratuvar çalışmalarında her türlü kolaylığı sağlayan Sayın Bölüm Başkanımız Doç.Dr.Kâzım BİTMİŞ' e içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca azot tayinlerinin yapılmasında laboratuvarlarında çalışma imkanı sağlayan Elazığ Orman İşletme Müdürlüğüne ve Araştırma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Doç.Dr.Metin BAYRAKTAR' a teşekkür ederim.

Seher GÜR

Bu araştırma, FÜNAF tarafından desteklenen 198 No' lu Proje kapsamındadır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
SUMMARY	III
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	13
2.1. Materyal.....	13
2.1.1. Tohumlar.....	14
2.1.2. Kùltürler.....	14
2.1.3. Besiyerleri	15
2.2. Metot.....	17
2.2.1. Toprak Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması.....	17
2.2.2. Tohumların Hazırlanması ve Sterilizasyonu	18
2.2.3. Aşılama Kùltürünün Hazırlanması	18
2.2.4. Kavanozların Hazırlanması , Fidelerin Ekimi ve İnokùlasyon	22
2.2.5. Bitkilerin Seradaki Bakımı	23
2.2.6. Bitkilerin Hasadı.....	24
2.2.7. Nodùllerden Rhizobium Suşlarının İzolasyonu ve Saklanması.....	25
2.2.8. Kùltürel ve Biyokimyasal Özelliklerin Tespiti.....	26
2.2.8.1. Kùltürel Özellikler	26
2.2.8.2. Biyokimyasal Özellikler	28
3. SONUÇLAR	29
3.1. Aşılama Sonuçları.....	29
3.2. Kùltürel ve Biyokimyasal Özellikler	44

VII

3.2.1. Kültürel Özellikler	44
3.2.2 Biyokimyasal Özellikler	44
4. TARTIŞMA.....	48
5. KAYNAKLAR	63



VIII

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 3.1.1. Doğal bakteri suşları ve *R.leguminosarum* Le735 ile aşılanan mercimek bitkisi köklerinde nodül oluşumu ile azotlu ve negatif kontrol bitkilerinin kök gelişim durumları.....31
- Şekil 3.1.2. Doğal bakteri suşları ve *R.phaseoli* CIAT899 ile aşılanan fasulye bitkisi köklerinde nodül oluşumu ile azotlu ve negatif kontrol bitkilerinin kök gelişim durumları.....31
- Şekil 3.1.3. Doğal bakteri suşları ve *R.leguminosarum* Le735 ile aşılanan mercimek bitkileri ile negatif kontrol bitkilerinin azotlu kontrole göre değişim durumları.....32
- Şekil 3.1.4. Doğal bakteri suşları ve *R.phaseoli* CIAT899 ile aşılanan fasulye bitkileri ile negatif kontrol bitkilerinin azotlu kontrole göre değişim durumları.....32

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 2.1.1. <i>R.leguminosarum</i> popülasyonunun belirlenmesinde kullanılan toprak örneklerinin alındığı bölgeler ve bu bölgelere ait bilgiler.....	13
Tablo 2.1.2. <i>R.phaseoli</i> popülasyonunun belirlenmesinde kullanılan toprak örneklerinin alındığı bölgeler ve bu bölgelere ait bilgiler.....	14
Tablo 2.1.3 Mercimek bitkisinin ekildiği tarlalardan alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	20
Tablo 2.1.4. Fasulye bitkisinin ekildiği tarlalardan alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	21
Tablo 3.1.1. Mercimek bitkisine ait köklerdeki nodüllerin sayısı, rengi ve dağılımı....	30
Tablo 3.1.2. Fasulye bitkisine ait köklerdeki nodüllerin sayısı, rengi ve dağılımı.....	30
Tablo 3.1.3. Mercimek bitkilerinin bitki üstü kuru ağırlık miktarları ve suşların etkinlik derecelerine göre girdikleri gruplar.....	35
Tablo 3.1.4. Fasulye bitkilerinin bitki üstü kuru ağırlık miktarları ve suşların etkinlik derecelerine göre girdikleri gruplar.....	36
Tablo 3.1.5. Mercimek bitkisi ekili topraklardaki doğal <i>Rhizobium</i> sayısı (Adet/g)....	37
Tablo 3.1.6. Fasulye bitkisi ekili topraklardaki doğal <i>Rhizobium</i> sayısı (Adet/g).....	37
Tablo 3.1.7. Fasulye bitkisi bahar dönemi bitki üstü kuru ağırlık ortalaması (g/kavanoz).....	38
Tablo 3.1.8. Fasulye bitkisi güz dönemi bitki üstü kuru ağırlık ortalaması (g/kavanoz).....	38
Tablo 3.1.9. Fasulye bitkisi bitki üstü kuru ağırlık miktarlarına ait Varyans Analizi, Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi Sonuçları (n=6).....	38
Tablo 3.1.10. Mercimek bitkisi bahar dönemi bitki üstü kuru ağırlık ortalaması (g/kavanoz).....	39
Tablo 3.1.11. Mercimek bitkisi güz dönemi bitki üstü kuru ağırlık Ortalaması (g/kavanoz).....	39

Tablo 3.1.12. Mercimek bitkisi bitki üstü kuru ağırlık miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları (n=6).....	39
Tablo 3.1.13. Fasulye bitkisi bahar dönemine ait % azot ortalamaları (% N).....	40
Tablo 3.1.14. Fasulye bitkisi güz dönemine ait % azot ortalamaları (% N).....	40
Tablo 3.1.15. Fasulye bitkisi %N miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3).....	40
Tablo 3.1.16. Mercimek bitkisi bahar dönemine ait % azot ortalamaları (%N).....	41
Tablo 3.1.17. Mercimek bitkisi güz dönemine ait % azot ortalamaları (%N).....	41
Tablo 3.1.18. Mercimek bitkisi %N miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3).....	41
Tablo 3.1.19. Fasulye bitkisi bahar dönemine ait total azot miktarları (mg/kavanoz)..	42
Tablo 3.1.20. Fasulye bitkisi güz dönemine ait total azot ortalaması (mg/kavanoz)...	42
Tablo 3.1.21. Fasulye bitkisi total azot miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3).....	42
Tablo 3.1.22. Mercimek bitkisi bahar dönemine ait total azot miktarları (mg/kavanoz).....	43
Tablo 3.1.23. Mercimek bitkisi güz dönemine ait total azot miktarları (mg/kavanoz).....	43
Tablo 3.1.24. Mercimek bitkisi total azot miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3).....	43
Tablo 3.2.1. Mercimek bitkisi ekili tarlalardan izole edilen <i>Rhizobium leguminosarum</i> suşlarının bazı kültürel ve biyokimyasal özellikleri.....	46
Tablo 3.2.2. Fasulye bitkisi ekili tarlalardan izole edilen <i>Rhizobium phaseoli</i> suşlarının bazı kültürel ve biyokimyasal özellikleri.....	47

1.GİRİŞ

Tabiattaki canlılar, çevreleriyle karşılıklı ve sürekli madde alışverişine dayanan, azami tasarruf prensibine uygun ve mükemmel bir ahenk içerisinde işleyen dinamik bir sistem oluştururlar. Bu sisteme ekosistem denir ve bu sistem içerisinde gerçekleşen en önemli olaylardan biri azot devridir. Aminoasit, protein, nükleik asit, ATP, klorofil gibi hayati önemi olan moleküllerin oluşabilmesi için tabiatta, çeşitli mikroorganizmaların görev aldığı bir azot devrinin varlığı şarttır (Tamer ve ark., 1994).

Azot diğer besin elementlerine göre bitkiler tarafından fazla kullanılması, topraktaki miktarının genellikle bitkilere yetecek seviyede olmaması, büyük kısmının organik formlarda olması ve az miktardaki inorganik kısmın toprakta çeşitli değişikliklere uğraması sebebiyle besin elementleri ve gübreleme programları içerisinde önemli bir yere sahiptir (Gezgin ve Karakaplan,1992). Bitkilerin gelişmesi için gerekli olan azot, dünyanın pek çok yerinde tarımsal verimliliği sınırlandıran esas faktördür. Ülkemizde ve dünyada nüfus hızla artmakta ve azotlu kimyasal gübre üretmek için gerekli enerji kaynakları azalmaktadır. Özellikle 1974 yılındaki dünya petrol krizi gübre fiyatlarının artmasına sebep olmuş ve tarımda verimi olumsuz yönde etkilemiştir (Çakmakçı,1987). Ayrıca kaynak sağlanabilse dahi bu gübrelerin üretimi oldukça masraflı olmakta ve kullanılmalarıyla bir çok çevre sorunu da ortaya çıkmaktadır. Bu sebeplerden dolayı alternatif kaynakların araştırılması öncelik kazanmıştır.

Azot, toprağa sadece kimyasal gübrelerle değil bitki ve hayvan artıkları, şimşek ve yıldırımlar, amonifikasyon, nitrifikasyon gibi olaylar sonucu da bağlanmaktadır. Ancak bunlardan en önemlisi azotun toprağa mikroorganizmalar tarafından bağlanması olup bu işlem Azot Fiksasyonu olarak adlandırılır ve tabiatta iki tip biyolojik sistemle yürütülür. Bunlardan birincisi, serbest yaşayan mikroorganizmaların gaz halindeki azotu diğer bir organizmanın yardımı olmaksızın tespit etmesidir. İkincisi ise mikroorganizmaların genellikle yüksek yapılı bitkilerin kök dokusunda simbiyosis meydana getirerek azotu tespit etmesidir. Bir de bitki yaprak florasında ve rhizosferde serbest azot tespiti yapabilen bazı bakterilerin bitki karbohidrat salgılarıyla beslenerek yaptıkları azot tespiti vardır ki bu da ara bir sistem olarak kabul edilebilir.

Simbiyotik azot tespiti iki grup altında toplanabilir. Birinci grupta *Rhizobium* cinsine ait bakteriler baklagil köklerinde, ikinci grupta ise muhtemelen aktinomycetes'ler baklagil olmayan kıvı ağaç, Iğın, yabani iğde gibi ağaç ve çalıların köklerinde nodoziteler meydana getirerek azot tespit ederler (Gürbüzer, 1978).

Nodüllerdeki bakterilerin bakteroid formuna dönüşmesiyle biyokimyasal değişimler başlar. Nitrogenaz sentezlenir, yeni sitokrom pigment ve oksidazlar oluşur. Nodüllerin bitkisel dokularındaki değişimler ise leghemoglobin ve amonyak asimile eden enzimlerin sentezinden ibarettir (Scott,1977). Leghemoglobin, baklagil bitkilerinin *Rhizobium* bakterileri tarafından enfekte edildiği zaman kökler üzerindeki nodüllerde oluşan, oksijenin serbest yayılmasını sağlayan ve nitrogenazı oksijene karşı koruyan bir proteindir.

Azot tespit mekanizması incelenen bütün biyolojik azot tespit sistemlerinde azotun redüksiyonu nitrogenaz enzim kompleksiyle katalizlenir. Nitrogenaz doğadaki en iyi korunmuş enzimlerdendir. Nitrogenazın önemli bir özelliği oksijenle aktivasyona karşı aşırı derecede hassas olmasıdır. Bunun sonucunda, bütün azot tespit eden mikroorganizmalarda, azot tespit sistemlerini oksijenden koruyan uygun şartlar geliştirilmiştir. *Clostridium pasteurianum* gibi azot tespit eden türler zorunlu anaerobdur. *Klebsiella pneumoniae* gibi fakültatif aeroblar sadece oksijenin olmadığı ortamlarda azot tespit etmektedirler (Sağıroğlu,1994).

Simbiyotik yolla tespit edilen azot miktarı; baklagil bitkisinin çeşidine,bakterinin etkinlik derecesine, toprak şartlarına ve gerekli bitki besin maddelerinin varlığına bağlı olarak değişmekle beraber ortalama olarak dekarda 10-20 kg azot olarak kabul edilmektedir. Bu miktarın mercimek bitkisinde yaklaşık 13 kg/dekar, fasulyede ise 5 kg/dekar olduğu düşünülmektedir (Ülgen,1975)

Rhizobium bakterileri suşların baklagil bitkilerini enfekte edebilme yeteneğine dayanılarak sınıflandırılmaktadır. *Rhizobium* suşları bir gurup baklagil bitkisini enfekte ederek nodozite meydana getirebilir. Fakat diğer baklagil bitkilerini enfekte edemezler. Suşların bu seçici özelliği göz önüne alınarak, *Rhizobium* cinsi 6 türe ayrılmaktadır. Aynı bakteri tarafından enfekte edilen bitkiler, çapraz aşılama grupları teşkil ederler. Tür ayrımında esas, aynı çapraz aşılama grubunda nodozite yapabilme yeteneğidir. Bu özelliği gösteren bakteri suşları aynı tür içine girerler.

Ancak günümüzde *Rhizobium*' ların sınıflandırılması zorlaşmış yeni suş ve bilgilerin elde edilmesi ile kompleks bir hale dönüşmüştür. Örneğin hızlı gelişen bir grubun soya da nodül oluşturması eski sınıflandırma sisteminin değişmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu sebeple *Rhizobium*' ların sınıflandırılmasında yeni bir sistem oluşturulmuştur. Bu yeni sistemde Genus I, Genus II ve bunlara ilaveten *Agrobacterium*' ları içine alan Genus III yer almıştır. Hızlı gelişen ve asit oluşturan *Rhizobium*' ların tümü yeni Genus I'de, yavaş gelişen ve alkali oluşturan *Rhizobium*' lar ise yeni Genus II altında toplanmıştır. Araştırmamızda kullandığımız *R.leguminosarum* ve *R.phaseoli* bakterileri *R.trifolii* ve *R.meliloti* ile birlikte bu sistemde *R.leguminosarum* adı altında Genus I'de *R.japonicum* ve *R.lupini* ise Genus II'de yer almışlardır.

Hızlı gelişen *Rhizobium*' arın generasyon süreleri 2-4 saat olup, agarlı besiyerinde 24 saat sonunda fark edilebilecek üreme gösterebilirler ve 3-5 gün sonunda oldukça büyük koloniler oluştururlar. Yavaş üreyen *Rhizobium*' ların ortalama generasyon süreleri 6-8 saattir ve ancak 7-10 gün sonunda küçük koloniler oluşturabilirler. İlk gruba dahil edilen bakteriler genellikle fazla miktarda mukoz oluşturdıkları halde ikinci gruptakiler daha az fakat daha yapışkan mukoz oluştururlar.

Görüldüğü üzere *Rhizobium*' larda diğer bakterilerde olduğu gibi kültürel karakterlere dayalı bir sınıflandırma henüz yoktur. Ancak *Rhizobium*' ların ön teşhislerinde yararlı olabilecek bazı kültürel karakterleri tespit edilmiştir. Türleri birbirinden ayırmada faydalanılabilecek tüm kültürel karakterler üzerindeki ayrıntılı ve kapsamlı araştırmalar oldukça az olup bunların sonuçlarını belli bir tür için dahi genellemek şu an için imkansızdır.

Baklagiller familyası geniş bir bitki grubunu içine almaktadır. Bu familya meyvalarından dolayı Leguminosae adını almıştır. Leguminosae familyası Mimisoideae, Caesalpinoideae ve Papilionoideae olmak üzere üç alt familyaya ayrılmış olup ilk iki familya daha çok tropik bitkileri ihtiva eder ve bunlar zirai bakımdan az önemlidirler. Ülkemizde yetişen baklagillerin çoğu Papilionoideae'ye dahildir.

Baklagiller insan yiyeceği ve hayvan yemi olarak kullanıldığı gibi kereste ve dokumacılıkta da kullanılırlar. Bilinen binlerce türden sadece 200 kadarı insanlar tarafından kültüre alınmıştır.

Ülkemizde geniş ölçüde kimyasal gübre ve hayvan gübresi kullanmak pek mümkün değildir. Bu sebeple de topraklarımızın verimini artırmanın ve fiziksel karakterlerinin düzeltilmesinin ucuz yollarını aramak mecburiyetindeyiz. Bu konuda bir çok dünya ülkesinde önemle üzerinde durulan ve uygulanan yol, yem bitkilerinin ekim nöbetine alınması veya yeşil gübre olarak kullanılmasıdır. Bu amaçlarda en çok baklagil bitkileri kullanılırlar ve toprağın organik maddece zenginleşmesini mümkün kılarlar.

Baklagil bitkileri derine işleyen kökleriyle hem toprağın alt katlarını gevşetirler hem de alt tabakalardan aldıkları besin maddelerini diğer bitkilerin köklerinin geliştiği üst kata verirler. Tarman (1966)' ın bildirdiğine göre; baklagil yem bitkileri dört yılda toprağa bıraktıkları kök ve bitki artıklarıyla ortalama olarak dekara 4,4 kg fosfor pentaoksit (P_2O_5), 41 kg Potasyumoksit (K_2O) ve 22 kg Kalsiyumoksit (CaO) vermektedirler (Tosun,1974).

Bu bitkiler kemik oluşumunda rol oynayan fosfor, potasyum ve kalsiyum gibi mineraller ve büyümeyi hızlandırıcı maddeler yönünden zengindirler. Aynı

zamanda iyi bir vitamin kaynağı olup A ve D vitaminlerini fazla miktarda kapsarlar. En zengin nektara sahip olup erozyonun önlenmesi açısından da önem arz etmektedirler (Tosun,1974).

İnsan beslenmesi açısından ele alındığında baklagil üretiminin artırılması içerdiği protein oranının yüksek olması bakımından zorunludur. Gelişmiş ülkelerde protein ihtiyacı büyük ölçüde hayvansal kaynaklarla karşılandığı halde Türkiye ve az gelişmiş bir çok ülkede bu ihtiyaç hayvansal kaynaklara oranla daha ucuz ve kısa sürede üretilen, taşınması ve saklanması problem olmayan bir protein kaynağı görünümündeki yemeklik dane baklagillerle karşılanmaktadır. Aynı zamanda bu durum toplumların beslenme alışkanlıkları ve tercihleriyle de ilgilidir. Bu yolla her ülke öncelikle kendi halkını tercih ettiği türlerin verimini artırma yolunda çalışmalar yapma durumundadır. Buna göre Türkiye’de halkın tercih ettiği yemeklik dane baklagil türleri oldukça sınırlı olup bunların arasında mercimek ve fasulye önemli bir yer işgal etmektedir (Gürgün,1978).

Mercimek Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü, serin mevsimlerin önemli bir baklagil bitkisidir. Bu bitki Kuzey Afrika ve Batı Asya’ da binlerce yıldan beri ekilirken, Türkiye’ nin bu bitkinin merkezi olduğu düşünülmektedir. Mercimek üretimi Ankara, Balıkesir, K.Maraş, Manisa, G.Antep ve Hatay’ da yapıldığı gibi daha çok Türkiye’ nin doğu bölgelerinde yapılmaktadır. Türkiye’ de 1978 yılında mercimek ekili toplam alan 177.300 hektar, yıllık üretim 180.000 ton ve verim 1.015 kg/hektar iken 1993 yılında ekim yapılan alan 713.000 hektara, üretim 735.000 tona, verim ise 1.031 kg/hektar’ a ulaşmıştır. 1996 yılında ise mercimek ekili toplam alanın 620.000 hektara, üretimin 645.000 tona düştüğü,

verimin ise 1.040 kg/hektar olduğu gör÷lmektedir (Tarım İstatistikleri Özeti, 1997). Elazığ ilinde 1996' da mercimek ekilen toplam alan 960 hektar yıllık üretim 791 ton, verim 1.628 kg/hektar' dır (Tarımsal Yapı ve Üretim,1996).

Fasulye bitkisi iklim konusunda fazla seçici olmadığından Türkiye' nin ve dünyanın pek çok yerinde üretimi yapılan bir baklagil bitkisidir. Türkiye' de 1978 yılında fasulye bitkisi ekili toplam alan 100.000 hektar, üretim 156.000 ton, verim 1.560 kg/hektar; 1993 yılında toplam alan 162.000 hektara, üretim 200.000 tona yükselmiş ancak hektar başına elde edilen verim 1.235 kg' da kalmıştır. 1996' da ise ekili toplam alanın 172.000 hektar, üretimin 260.000 ton, verimin 1.333 kg/hektar olduğu rapor edilmiştir (Tarım İstatistikleri Özeti,1997). Elazığ' da 1996 yılında fasulye ekilen toplam alan 2.230 hektar, üretim 3.026 ton, verim 1.357 kg/hektar olarak bildirilmiştir (Tarımsal Yapı ve Üretim, 1996).

Baklagil bitkilerinin ekildiği bölgelerdeki doğal *Rhizobium* populasyonları farklı metotlar kullanılarak tespit edilebilmektedir. *Rhizobium* dışında diğer pek çok toprak mikroorganizmalarının üremesini önleyen besi ortamları geliştirilmesine rağmen antibiyotiklere dirençli suşların kullanıldığı durumlar hariç *Rhizobium* 'ları direk olarak sayımının doğru olarak yapıldığı seçici bir ortam yoktur. Bu sebeple en sık kullanılan metot “ **Bitki İnfeksiyon Metodu**” ‘dur. Metot; incelenen toprak örneğinin dilüsyon serilerinden alınan miktarlarla inoküle edilen ve bakteriyolojik kontrollü şartlarda büyütülen test bitkilerinden ibarettir. Örneklerdeki *Rhizobium* sayısı, her bir dilüsyonda oluşan nodüllü bitkilerin sayısından hesaplanmaktadır (Vincent,1982). Belli bir bölgedeki inokülasyon ihtiyacının belirlenmesi için kullandığımız bitki infeksiyon metodu çoğu zaman tarla denemeleriyle kıyaslandığında, toprağın hazırlanması,

gübrelenmesi, pestisitlerin kontrol altına alınması, yeterli nemin sağlanması ve muhafazası oldukça güç olmaktadır. Ayrıca bitki infeksiyon metodu zaman bakımından da bu metoda göre avantaj sağlamaktadır. Günümüzde *Rhizobium*'ların bu metotla en iyi şekilde sayıldığı ispatlanmıştır (Brockwell ve ark.,1988).

Yirminci yüzyılın sonlarına doğru yaklaştıkça yeryüzünde genelde protein açığının artacağına dair kuvvetli belirtiler görülmektedir. Nüfusun hızla artması, enerjinin daha pahalı ve daha az bulunabilir hale gelmesi ile enerji açığının büyümesi, tarımda kullanılan arazilerin azalması ve iklimde gözle görülebilir değişimlerin olması bu belirtilerin en önemlilerindendir. Tarım alanlarında kuraklık ve çoraklaşma nedeniyle kayıplar olmuş ve bunun neticesinde çöl kabul edilen alanlarda % 10 artış olmuştur. Atmosferdeki ozon ve karbondioksit seviyelerindeki değişme, doğal orman alanlarındaki azalma, çevre kirliliği gibi sebepler insanların gelecekte karşılaşılabilecekleri problemlerin boyutlarını ve önemini açıkça ortaya koymaktadır. Bu sebeplerden dolayı baklagil üretiminin insan ve hayvan beslenmesi açısından kalite ve kantite yönünden geliştirilip artırılması gerekmektedir. Bu amaçla protein açığını karşılayacak özellikteki baklagil bitkilerinin koruma altına alınması, yeni ekim alanlarının açılması ve yeni türlerin kültüre alınması gerekmektedir.

Baklagil ekili bir tarladan yüksek verim elde etmek için o tarlanın doğal *Rhizobium* popülasyonu hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Topraklar, genellikle bulundukları çevreyle iyi adapte olmuş ve simbiyotik etkinlikleri önemli derecede değişen doğal *Rhizobium* suşları ihtiva ederler. Ancak bu suşların yeterince etkili olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Şayet toprakta etkili *Rhizobium* suşları bulunuyorsa bu toprakların inokülasyona

ihtiyaçları yoktur. Her ne kadar ekili alanların önceki durumları gz önünde bulundurulduğunda indikatör olarak kullanılabilecek bazı veriler olsada etkili suşların olup olmadığını önceden bilmek pek mümkün değildir. İnokülasyon ihtiyaının belirlenmesi, ancak o bölgenin doğal populasyonunun belirlenmesi ve suşların simbiyotik etkinliklerinin tayin edilmesiyle ortaya çıkmaktadır.

Rhizobium' lar konusunda gerek dünyada ve gerekse yurdumuzda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Örneğin Dorosinskii ve Kadyrou'un (1976), serada yaptıkları denemede mercimek bakterileri ile aşıladıkları bitkilerin toprak üstü kısımlarında % 25-36' lık bir artış tespit etmişlerdir. Kuru maddedeki protein yüzdesinin % 5,6 dan 8,8-11,6' ya yükseldiğini, bakteri kültürüyle aşılanan bitkilerin total azot miktarlarının % 40-60'ı biyolojik tespit yoluyla havadan temin edildiğini, etkisiz suşla aşılanan bitkilerdeki total azotun ise sadece % 19' unun biyolojik tespit yoluyla gerçekleştiğini saptamışlardır.

Dube (1976) soya fasulyesi, mercimek, nohut ve bezelye bitkilerini çeşitli aşılama materyalleri ile aşılayarak bunların mahsul miktarı üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışma tarıma ilk kez açılan bir arazide yapılmış olup çeşitli aşılama materyallerini kullanmanın soya fasulyesi veriminde meydana getirdiği artışın 1972 yılında % 27-84; 1973 yılında ise % 41-99 olduğunu tespit etmiştir. Mercimek mahsulnde ise % 0-67' lik bir artış saptamıştır.

Brockwell ve arkadaşları (1988) mikrobiyolojik kontrollü şartlar altında, tüpler içerisinde baklagil test bitkileri yetiştirmişlerdir. Bu bitkileri toprak örnekleriyle hazırladıkları dilüsyonlarla inoküle ederek 28 günlük gelişme sonrası bakterilerin simbiyotik etkinliklerini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar azot fiksasyonunun garanti edilmesi ve inoklasyonun gecikmemesi için

inokulumdaki bakteri sayısının bitki başına 30 adet, tercihen 100 olması gerektiğini bildirmişlerdir.

Matos ve Schroder (1989) farklı bölgelerdeki *Cajanus cajan* bitkilerinden izole ettikleri *Rhizobium* spp. suşlarını sera şartlarında yetiştirdikleri bitkilere inoküle ederek bu bakterilerin simbiyotik etkinliklerini tespit etmişlerdir. Agarlı su ortamında yetiştirdikleri fideleri Leonard kavanozlarına aktararak izole ettikleri suşlarla inoküle etmişlerdir. 42 günlük bir gelişme sonrası bitkilerin boyları ile bitki ve nodül kuru ağırlıklarını belirlemişlerdir. Kjeldahl metodu ile bitkilerin içerdikleri % azot miktarları ile total azot miktarlarını hesaplamışlardır. Bitkilerin kuru ağırlıklarının 0,76-2,85 gr, total ağırlıklarının ise 21,1-88,5 mg arasında değişiklik gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Moavad ve Beck (1991) Batı Asya ve Kuzey Afrika bölgelerinde mercimek ekili bölgelerden alınan toplam 229 *Rhizobium leguminosarum* izolatının simbiyotik etkinliklerini, populasyon sayılarını, sıcaklık ve tuza karşı toleranslarını incelemişlerdir. Aşılama kültürü olarak Türkiye, Ürdün, Suriye ve Mısır topraklarından (61 adet) ve bitkilerin nodüllerinden izole ettikleri mercimek bakterileri ile kültür koleksiyonlarından temin ettikleri *Rhizobium leguminosarum* suşlarını kullanmışlardır. Mısır, Ürdün ve Türkiye topraklarının bir gramında bitki bitki infeksiyon metoduna göre $3,1 \times 10^1$ - $6,9 \times 10^5$ adet bakteri bulunmuştur. 61 toprak örneğinin sadece % 13'ünde bakteri sayısı 10^3 'den az iken % 20' sinde 10^5 den daha az olarak tespit edilmiştir. Populasyon yoğunluğunun en yüksek olduğu bölge Ürdün olarak belirlenmiştir. Toplam 229 izolattan, % 21' i yüksek , % 24' ü düşük, % 35' i orta derecede simbiyotik etkinlik gösterirken % 20' sinin etkili olmadığı saptanmıştır .

Marshall ve arkadaşları (1993) 62 adet asidik topraktaki *R.leguminosarum bv.viciae* populasyonunu bitki enfeksiyon metodunu kullanarak tespit etmişlerdir. Konakçı bitki olarak *Vicia hirsuta* bitkisini kullanmışlardır. Test bitkileri polyetilen torbalar içerisindeki vermikulite içerisinde yetiştirilmiştir. Araştırmalarında populasyon yoğunluğu ile toprağın asitlik derecesi arasında bir korelasyon olduğunu fakat populasyon yoğunluğu ile bitkilerin büyüme süresi arasında bir ilişkinin olmadığını belirlemişlerdir .

Elazığ ve çevre illerdeki fiğ bitkisiyle ortak yaşayan *Rhizobium* bakterilerinin çeşitli özelliklerini ve etkinlik derecelerini saptamak amacıyla 80 adet nodüllü kök numunesi toplanmıştır. Bunlardan 50 adet *Rhizobium* suşu izole edilerek, kültürel ve biyokimyasal özellikleri incelenmiştir. Ayrıca fiğ tohumlarına aşılanan bu suşların enfeksiyon yapma, nodül oluşturma ve azot tespit yetenekleri saksı denemesiyle araştırılmıştır. Azot tayininde Kjeldahl metodu kullanılmıştır (Sağiroğlu, 1984).

Karuç ve arkadaşları (1993) yaptıkları bir çalışmada mercimek, nohut ve fasulye ekiminin en fazla yapıldığı Kazan ve Kızılcahamam ilçelerinin farklı bölgelerinden 43 adet toprak örneği toplamışlardır. Sera şartlarında bitki enfeksiyon metodu ile toprakların *Rhizobium* populasyonunu saptamışlardır. Kazan ilçesinden aldıkları 33 adet toprak örneğinin 1 gramında $1,7-1,7 \times 10^5$ adet *Rhizobium leguminosarum* (mercimek), $1-1,7 \times 10^5$ adet *Rhizobium phaseoli* (fasulye) bakterisi tespit etmişlerdir. Kızılcahamam ilçesinden aldıkları 10 adet toprak örneğinin hepsinde sadece *R.phaseoli* tespit etmişlerdir. Karuç ve diğer bir grup arkadaşları 1993'te İçel ve Adana illerinde soya fasulyesi ekilen bölgelerden aldıkları 10 adet toprak örneğinde de yine aynı metodu

kullanarak doğal popülasyonun belirlenmesi yoluna gitmişlerdir (Karuç ve ark.,1993).

Sağıroğlu ve ark.(1993), Elazığ yöresinde ekilen mercimek bitkilerinin kök nodüllerini toplayarak bunlardan *R.leguminosarum* bakterilerini izole etmişlerdir. Laboratuvar şartlarında konakçı mercimek bitkilerine inoküle edilen bakterilerin nodül oluşturma durumları ve simbiyotik etkinliklerini araştırmışlardır. Bitkilerin kuru madde miktarlarını esas alarak yaptıkları değerlendirmede izole ettikleri 19 suşdan 11'inin etkili, 7'sinin orta derecede etkili ve 1 suşun da etkisiz olduğunu bildirmişlerdir.

Ayhan (1995), Ankara' nın Kazan ilçesinden aldığı 10 adet toprak örneğinden elde ettiği doğal *R.leguminosarum bv.viciae* sayısını bitki infeksiyon metodunu kullanarak belirlemiştir. Yaptığı bu çalışmada kontrol olarak kullandığı suşun doğal suşlardan daha düşük etkinlik gösterdiğini bildirmiş ve bitkinin toprak üstü kısmının azot miktarının tespitinde Kjeldahl metodunu kullanmıştır.

Bu araştırmada, Elazığ yöresinde mercimek ve fasulye ekimi yapılan topraklardaki doğal *R.leguminosarum bv. viciae* ve *R.phaseoli* popülasyonunun bitki infeksiyon metodu ile belirlenmesi ve izole edilen suşların simbiyotik etkinliklerinin tayin edilmesiyle, baklagil ekilen bu toprakların inokülasyona ihtiyaçlarının olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır.

2.MATERYAL VE METOT

2.1.Materyal

Araştırmada , Elazığ İli merkez ve Elazığ İli ilçelerine bağlı köylerden alınan toprak örnekleri kullanılmıştır. Doğal *Rhizobium leguminosarum* bv.viciae popülasyonunun belirlenmesinde AKM 9520 mercimek , *Rhizobium phaseoli*'nin belirlenmesinde ise Strike 308 fasulye tohumları kullanılmıştır.

Toprak örnekleri , mercimek ve fasulye bitkilerinin ekildiği tarlalardan 1996 İlkbahar ve Sonbahar mevsimlerinde olmak üzere yılda iki kez alınmıştır. Doğal *Rhizobium leguminosarum* ve *R.phaseoli* popülasyonlarının belirlenmesi amacıyla toprak örneklerinin alındığı bölgeler ve bu bölgelere ait bilgiler Tablo 2.1.1. ve 2.1.2.' de verilmiştir.

Tablo 2.1.1. *R.leguminosarum* popülasyonunun belirlenmesinde kullanılan toprak örneklerinin alındığı bölgeler ve bu bölgelere ait bilgiler.

Bölge no	Suş kodu	İlçe	Köy	Bitki Türü	Mevsim
1	1 mb	Merkez	Tadım	<i>Lens culinaris</i> M	Bahar
2	2 mb	Sivrice	Kavak	<i>Lens culinaris</i> M	Bahar
3	3 mb	Baskil	Baskil	<i>Lens culinaris</i> M	Bahar
4	4 mb	Keban	Bademli	<i>Lens culinaris</i> M	Bahar
5	5 mb	Merkez	Hankendi	<i>Lens culinaris</i> M	Bahar
1	1 mg	Merkez	Tadım	<i>Lens culinaris</i> M	Güz
2	2 mg	Sivrice	Kavak	<i>Lens culinaris</i> M	Güz
3	3 mg	Baskil	Baskil	<i>Lens culinaris</i> M	Güz
4	4 mg	Keban	Bademli	<i>Lens culinaris</i> M	Güz
5	5 mg	Merkez	Hankendi	<i>Lens culinaris</i> M	Güz

mb: mercimek bahar mg: mercimek güz

Tablo 2.1.2. *R.phaseoli* popülasyonunun belirlenmesinde kullanılan toprak örneklerinin alındığı bölgeler ve bu bölgelere ait bilgiler.

Bölge no	Suş kodu	İlçe	Köy	Bitki Türü	Mevsim
1	1 fb	Merkez	Tadım	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Bahar
2	2 fb	Merkez	Şahsuvar	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Bahar
3	3 fb	Baskil	Eski Baskil	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Bahar
4	4 fb	Keban	Süleymanlı	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Bahar
5	5 fb	Sivrice	Bekçitepe	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Bahar
1	1 fg	Merkez	Tadım	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Güz
2	2 fg	Merkez	Şahsuvar	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Güz
3	3 fg	Baskil	Eski Baskil	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Güz
4	4 fg	Keban	Süleymanlı	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Güz
5	5 fg	Sivrice	Bekçitepe	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Güz

fb: fasulye bahar fg: fasulye güz

2.1.1.Tohumlar

Araştırmada kullanılan AKM 9520 mercimek tohumları Ankara Tarımsal Araştırma Enstitüsü 'nden , Strike 308 fasulye tohumları ise Elazığ Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitim ve Yetiştirme Şubesinden temin edilmiştir.

2.1.2.Kültürler

Araştırmada kontrol suş olarak kullanılan *R. Leguminosarum* Le 735 ve *R. Phaseoli* CIAT 899 bakteri kültürleri Ankara Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü 'nden sağlanmıştır.

2.1.3.Besiyerleri

Araştırmada kullanılan besiyerlerinin adları ve bileşimleri aşağıda verilmiştir.

a- Yeast Ekstrakt Mannitol Agar (YMA)

	g/lt
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄	0.2 g
NaCl	0.1 g
Mannitol	10.0 g
Yeast ekstrakt	0.4 g
Agar	15.0 g
Saf su	1000 ml

pH 7' ye ayarlanarak 121 °C de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir (Allen,1951).

b - Kongo Kırmızı YMA

1/400 ' lük kongo kırmızı ayrı sterilize edilerek 1 litre steril YMA besiyerine 10.0 ml ilave edilmiştir (Vincent,1970).

c - Brom Timol Mavili YMA

Brom timol mavisinin 0.5 ' lik steril çözeltisinden 1 litre steril YMA besiyerine 5.0 ml ilave edilmiştir (Çakmakçı,1987).

d - Jensen Besin Solusyonu

	g/lt
CaHPO ₄	1.23 g
K ₂ HPO ₄	0.20 g
MgSO ₄	0.20 g
NaCl	0.20 g
FeCl ₃	0.16 g
İz element	1.0 ml
Saf su	1000.0 ml

pH 6.8 e ayarlanarak otoklavda 121 °C 'de 30 dakika süreyle sterilize edilmiştir (Vincent,1970).

e - İz Element Çözeltisi (Bergersen,1980)

	g/lt
H ₃ BO ₃	2.86 g
MnSO ₄ .H ₂ O	2.08 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22 g
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.11 g
Saf su	1000.0 ml

f - Laktozlu Besiyeri

	g/lt
Laktoz	10.0 g
Maya ekstraktı	10.0 g
Agar	20.0 g
Saf su	1000.0 ml

Otoklavda 121 °C' de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir (Çakmakçı,1987).

g - Pepton Glukoz Agar

	g/lt
Kazein pepton	10.0 g
D (+) Glukoz	5.0 g
Bromkresol purpur	0.04 g
Agar	12 .0 g
Saf su	1000.0 ml

pH 7,2' ye ayarlanarak otoklavda 121 °C' de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir (Gibbs ve Shapton,1968)

2.2. Metot

2.2.1.Toprak Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Toprak örnekleri mercimek ve fasulye ekimi yapılan tarlalardan 5 - 20 cm derilikler arasından bir bel yardımı ile alınmıştır. Bu işlem için tarla 25 eşit parçaya

bölünmüş ve örnekler her bir kareden alınarak işaretlenmiş plastik torbalara konmuştur. İkinci bir tarladan örnek alınmadan önce kullanılan bel % 95 ' lik etil alkol ile sterilize edilmiştir. Toprak örnekleri kullanılıncaya kadar + 4 °C ' de muhafaza edilmişlerdir (Vincent ; 1982).

Araştırmada kullanılan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.1.3. ve 2.1.4. 'de verilmiştir.

2.2.2. Tohumların Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Sağlam ve eşit büyüklükte olan AKM 9520 mercimek ve Strike 308 fasulye tohumları seçilerek % 96 ' lık etil alkolde 5 dakika , % 5 ' lik hidrojen peroksit içinde 15 dakika süreyle süreyle sterilize edilmişlerdir. Tohumlar 10 kez steril saf su ile yıkanarak yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır (Ayhan , 1995 ; Gürbüzer , 1978).

Mercimek tohumları , % 1.2 oranında agar bulunduran 9 cm çapındaki petri kutularına 30 tane olarak taksim edilmiştir (Toomsan ve ark., 1984).

Fasulye tohumlarının yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra 12 saat steril saf su içinde bırakılarak şişmeleri sağlanmış ve böylece tohum yüzeyindeki kırışıklıklar büyük ölçüde giderilmiştir. Tohumlar içerisinde ıslak steril pamuk bulunan petri kutularına aktararak 28 °C ' de ki etüve kaldırılmışlardır (Gürgün , 1978).

2.2.3. Aşılama Kültürünün Hazırlanması

Pozitif kontrolde aşılama kültürü olarak kullanılan *R. Leguminosarum* ve *R. Phaseoli* suşları , içerisinde 50 ml Yeast mannitol buyyon (YMB) bulunan 100 ml ' lik erlenlere aşılansın 28 °C ' de çalkalanmak suretiyle 24 saatlik bir inkübasyona

tabi tutulmuşlardır. Süre sonunda kültürden 1 'er ml bakteri süspansiyonu alınarak yine içerisinde 50 ml YMB besiyeri bulunan ikinci bir erlene aktarılmışlardır.

Bilindiği gibi bakteriyel süspansiyonların optik yoğunlukları içerdikleri hücre sayısı ile korelasyona sahiptir. Bu sebeple de kültürden alınan bakteri süspansiyonlarının hücre sayısı 510 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okunmak suretiyle belirlenmiştir. Canlı sayım sonucu tespit edilen sayı ile optik yoğunluk arasındaki korelasyondan faydalanılarak standart eğri çizilmiştir. 1 ml 'sinde 10^8 - 10^9 hücre ihtiva eden kültürler aşılama materyali olarak kullanılmışlardır (Çakmakcı , 1987 ; Gürgün , 1978 ; Marshall ve ark., 1993).



Tablo 2.1.3 Mercimek bitkisinin ekildiği tarlalardan alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Bölge no	Suış kodu	Derinlik (cm)	Su ile doymuşluk (%)	E.C.X10 ³ 25 °C	Toplam Tuz (%)	pH	Kireç (%)	Fosfor (kg/dekar)	Potasyum (kg/dekar)	Organik Madde %
1	1 mb	5-20	58	300	0,089	7,83	0,041	3,52	37,3	1,16
2	2 mb	5-20	50	650	0,040	7,50	0,041	1,76	25,4	0,58
3	3 mb	5-20	44	750	0,033	7,20	0,290	3,08	35,2	1,16
4	4 mb	5-20	39	780	0,031	7,32	0,084	2,64	32,1	2,75
5	5 mb	5-20	55	410	0,065	7,04	0,250	2,64	32,1	2,32
1	1 mg	5-20	42	730	0,038	7,35	0,190	2,34	36,2	2,09
2	2 mg	5-20	40	680	0,032	7,10	0,300	2,28	24,8	1,20
3	3 mg	5-20	48	670	0,042	7,50	0,027	3,20	33,8	2,08
4	4 mg	5-20	42	415	0,030	7,21	0,110	2,46	33,4	2,70
5	5mg	5-20	57	320	0,054	7,10	0,043	2,32		

Tablo 2.1.4. Fasulye bitkisinin ekildiği tarlalardan alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Bölge no	Suş kodu	Derinlik(cm)	Su ile doymuşluk (%)	E.C.X10 ³ 25 °C	Toplam Tuz (%)	pH	Kireç (%) CaCO ₃	Fosfor kg/dek. P ₂ O ₅	Potasyum kg/dek. K ₂ O	Organik Madde %
1	1 fb	5-20	55	330	0,080	7,70	0,120	1,32	25,4	0,72
2	2 fb	5-20	44	275	0,088	7,50	0,020	3,08	32,1	1,30
3	3 fb	5-20	50	560	0,048	7,75	0,200	1,32	25,4	0,87
4	4 fb	5-20	67	480	0,055	7,16	0,460	4,84	37,3	3,77
5	5 fb	5-20	53	500	0,051	7,02	0,160	3,96	35,2	3,19
1	1 fg	5-20	53	390	0,084	7,40	0,120	1,53	26,3	0,87
2	2 fg	5-20	45	280	0,086	7,55	0,028	3,00	30,6	1,28
3	3 fg	5-20	56	300	0,050	7,80	0,200	1,83	26,8	1,00
4	4 fg	5-20	65	460	0,052	7,20	0,450	4,93	38,2	3,75
5	5 fg	5-20	60	500	0,050	7,10	0,156	4,00	35,8	3,23

2.2.4.Kavanozların Hazırlanması , Fidelerin Ekimi ve İnokülasyon

Araştırmada mercimek bitkisi için 250 ml ' lik cam kavanozlar , fasulye bitkisi için ise 500 ml ' lik cam kavanozlar kullanılmıştır. Kavanozların dış kısımları köklerin güneş ışığına maruz kalmaması için beyaz yağlı boya ile boyanmıştır. 1/5 oranında sulandırılmış jensen besin solusyonu ile üstten 4 cm kalıncaya kadar doldurulmuşlardır. Jensen besin solüsyonunun 1 litresine 1 ml olacak şekilde iz element çözeltisi ilave edilmiştir. Şişelerin ağzını kapatacak büyüklükte ve birbirine ters yönde kesilmiş 4 cm kalınlığında sünger tıplar kavanozların ağzına kapatılarak ,otoklavda 121 °C 'de 30 dakika sterilizasyon yapılmıştır.

250 ml ' lik cam kavanozlara % 1.2 ' lik agarlı su ortamında çimlendirilmiş olan üç günlük mercimek fideleri , 500 ml ' lik kavanozlara ise steril pamuk üzerinde çimlendirilmiş olan yine 3 günlük fasulye fideleri ekilmiştir. Ekim sırasında fidelerin tıpadaki kesik kısımlara yerleştirilmiş ve köklerin besin solusyonunun içinde kalmasına dikkat edilmiştir (Ülgen , 1980).

Araziden getirilmiş olan toprak örnekleri bulunduğu torba içerisinde iyice karıştırıldıktan sonra 100 gr tartılarak içinde 900 ml Fizyolojik tuzlu su bulunan erlen içine alınmışlar ve 10 dakika süreyle çalkalayıcıda karışmaya bırakılmışlardır. Çalkalama , 200 - 300 dev / dak (Wrist - action) shaker ' ılı çalkalayıcıda yapılmıştır (Brockwell , 1982 ; Gürgün ve Halkman , 1990 ;Marshall ve ark., 1993).Bu şekilde hazırlanan çözeltiden 10^{-6} ' ya kadar dilüsyonlar hazırlanmış ve bunlardan 10 ' ar ml olacak şekilde kavanozdaki fidelerin üzerine inoküle edilmişlerdir (Ülgen,1980). İnokülasyon işlemi fidelerin kavanoza ekiminden dört gün sonra yapılmıştır (Marshall ve ark., 1993).

Deneme her toprak örneği için üç paralelli olarak düzenlenmiş olup denemeye azotlu , azotsuz (negatif) ve pozitif kontrollerde dahil edilmiştir. Azotlu kontrolde azot konsantrasyonu + 70 ppm N olarak yapılmıştır. Bu konsantrasyon 1 litre jensen besin solusyonuna 0.45 g KNO₃ ilave edilerek sağlanmıştır (Matos ve Schrodur , 1989). Azotsuz kontrol diğer deyişle negatif kontrol olup hiç bir aşılama yapılmamıştır. Negatif kontrolün amacı gelişme sırasında kontaminasyon olup olmadığının belirlenmesidir (Çakmakçı, 1987). Pozitif kontrol için; mercimek fideleri *R.leguminosarum* Le 735 , fasulye fideleri ise *R. phaseoli* CIAT 899 ile inoküle edilmişlerdir. Kavanoza yerleştirilmiş olan fideler 20 °C ' de 16 saat ışık , 15 °C ' de 8 saat karanlıkta; fasulye fideleri 3500, mercimek fideleri ise 2500 lux ışık ünitesi altında gelişmeye bırakılmışlardır.

2.2.5.Bitkilerin Seradaki Bakımı

Kavanozlar seraya aralarında en az 10 cm mesafe olacak şekilde ve tesadüf parseller desenine uygun olarak yerleştirilmiştir. Çevre faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkilerini eşit kılmak amacı ile tesadüf parseller desenine göre yerleştirilen kavanozların yetiştirme süresince aynı usulle yerleri değiştirilmiştir (Gürgün , 1978 ; Sağıroğlu , 1984). Her bir kavanoza haftada bir kez 1 / 5 oranında seyreltilmiş steril Jensen besin solusyonundan eşit miktarlarda verilmiştir. Ayrıca kavanozlara yerleştirilen cam çubuklar yardımıyla , bitki kökleri günde bir kez poar kullanılarak havalandırılmışlardır .

2.2.6. Bitkilerin Hasadı

Bitkiler dört haftalık bir gelişim periyodunun sonunda hasat edilerek sökülen bitkilerin kökleri sıvı içerisinde olduğundan herhangi bir işlem yapılmadan

üzerlerindeki nodozitelerin sayısı, büyüklüğü, rengi ve dağılımı tespit edilmiştir (Araujo ve ark.,1986; Sheila ve Bohlool,1983). Bitkiler kotiledonun hemen altından kesilmişler ve üst kısımları alüminyum kağıt içinde 65 °C' de sabit tartıma gelinceye kadar etüvde kurutulmuş ve daha sonra desikatörde soğutularak tartılmışlardır (Gürgün,1978; Gürbüz,1973).

Toprak örneklerindeki doğal populasyonun belirlenmesi amacıyla " Bitki Enfeksiyon Metodu " kullanılmıştır. Nodül oluşturulan toplam bitki sayısı ile her bir toprak örneğinin 1 gramındaki *Rhizobium* sayısı EMS tablolarından faydalanılarak belirlenmiştir (Somoseganan ve Hoben,1985; Gürgün ve Halkman,1990). Ayrıca toprak üstü kısımlar öğütülerek mikro Kjeldahl yöntemiyle % N (azot) miktarı bulunmuş, kuru ağırlık ve % N değerleri kullanılarak bitkilerin total azot miktarları tespit edilmiştir. Kjeldahl yöntemiyle yapılan azot tayininde Yakma Ünitesi olarak B-435 Digestion Unit, Distilasyonda Buchi 323 Distillation Unit, Titrasyonlarda ise Brand Digital Bürette II kullanılmıştır..

Ayrıca kuru ağırlık ve % azot değerleri ile total azot değerleri Kruskall walls varyans analizine tabi tutulmuştur. *Rhizobium* suşlarının azotlu, azotsuz ve pozitif kontrole nazaran önemlilik dereceleri Duncan testi ile mukayese edilmiştir (Düzgüneş ve ark.,1983). Mevsimler arası karşılaştırma ise Mann Whitney U testi ile yapılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu,1993).

Bitkilerin ortalama kuru madde ağırlıkları aşağıdaki formüle uygulanarak etkinlik dereceleri saptanmıştır. Yapılan bir çok çalışmada kuru madde ağırlıkları ile tespit edilen azot miktarı arasında yüksek bir korelasyonun olduğu bildirilmektedir (Gürbüz,1973). Bu sebeple etkinlik derecelerinin saptanmasında bitkilerin kuru ağırlıkları esas alınmıştır.

$$\text{Etkinlik Derecesi: } \frac{\text{Test bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı}}{\text{Azotlu kontrol bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı}} \times 100$$

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

Etkinlik Derecesi

100 > olanlar	Çok Etkili
100-75 arası	Etkili
75-50 arası	Orta Derecede Etkili
50-25 arası	Az Etkili
25 < olanlar	Etkisiz

2.2.7.Nodüllerden *Rhizobium* Suşlarının İzolasyonu ve Saklanması

Toprak örnekleriyle aşılanan bitkilerden elde edilen nodüller en düşük ve en yüksek dilüsyonlardan tesadüfen seçilmişlerdir (Ayhan , 1995). İzolasyon için özellikle ana kök üzerinde bulunan pembe renkli , sağlıklı nodüller tercih edilmiştir (Gürgün , 1978). Nodülün bulunduğu bölgenin 0.5 cm ' lik sağ ve solundan kök kesilerek , kök kolları pens ile tutulup nodül bölgeden ayrılmıştır. Bu nodüller içerisinde % 95 ' lik etil alkol bulunan petri kutularında 10 sn tutulmuş ve akabinde yüzey sterilizasyonu amacıyla % 0.1 ' lik asidik HgCl₂ bulunan petri kutularına aktarılmışlardır. Petri kutusu içinde , nodül büyüklüğüne göre 1- 3 dakika tutulan

nodüller steril bir pens yardımıyla içinde steril saf su bulunan diğer bir petri kutusuna alınmış ve bu petri kutusunun suyu yine steril şartlar altında en az 6 sefer değiştirilerek nodül üzerindeki HgCl_2 kalıntıları tamamen giderilmiştir (Çakmakçı,1987).

Yüzey sterilizasyonu tamamlanmış nodüller küt uçlu bir pens yardımıyla petri kutusunda küçük bir hacimde ezilerek elde edilen *Rhizobium* süspansiyonundan YMA besiyeri ihtiva eden iki ayrı petri kutusuna sürme suretiyle aşılama yapılmış ve 28 °C' de 4-5 gün süreyle inkübe edilmiştir. Bu işlem saf kültür elde edilinceye kadar bir kaç kez tekrarlanmıştır. Bu kültürler tüp içindeki yatık YMA besiyerine aktararak +4 °C de saklanmışlardır (Ersin,1974; Gürgün,1978; Çakmakçı,1987).

2.2.8. Kültürel ve Biyokimyasal Özelliklerin Tespiti

Araştırmamızda *R.leguminosarum* ve *R.phaseoli* suşlarının sabit ve değişken özelliklerini saptamak amacıyla bir çok kültürel ve biyokimyasal testler uygulanmıştır.

2.2.8.1. Kültürel Özellikler

a-Koloni özellikleri

Her iki bakteri suşundan YMA besiyerine tek koloni düşecek şekilde ekim yapılarak 28 °C de bir hafta inkube edilmişlerdir. Süre sonunda koloni şekilleri, renkleri, büyüklükleri ve mukoz oluşturma durumları tespit edilmiştir (Graham ve Parker ,1964).

b - Hareket muayenesi

Bakterilerin hareketli olup olmadıklarını tespit için % 0.4 agar ilave edilen YMA besiyeri kullanılmıştır. Deney tüplerinde dik olarak dondurulan besiyerine,

bakteriler iğne yardımıyla aşılansarak, 28 °C de bir hafta süreyle inkübe edilmişlerdir (Gürbüz,1973).

c - Kongo kırmızısı absorpsiyonu

Bileşimi 2.1.3. de verilmiş olan kongo kırmızılı YMA dökülmüş petri kutularına bakteriler aşılansarak 28 °C de bir hafta inkubasyona tabi tutularak, üremeleri ve boyayı absorblama durumları kontrol edilmiştir (Gürbüz ,1973).

d - Brom timol mavili YMA da asit oluşturma

Bu besiyerinde geliştirilen suşların 36 saat ve 120 saat sonraki üreme durumları ile asit oluşturup oluşturmadıkları tespit edilmiştir (Ülgen,1980 ; Sağiroğlu ve ark., 1991).

e - Laktozlu besiyeri (ketolaktoz testi)

Laktozlu besiyeri ihtiva eden petri kutularına bakteriler aşılansarak 25 °C de 1-2 gün inkube edilmiştir (Çakmakcı , 1987).

f - Pepton glukoz agar

Pepton glukoz agar besiyerinde geliştirilen suşların 36 saat ve 120 saat sonraki üreme durumları tespit edilmiştir (Ülgen,1980 ;Uçar ve Öner, 1986).

2.2.8.2. Biyokimyasal Özellikler

a - Litmuslu sütte üreme

Deney tüplerine 10' ar ml konulan besiyerine aşılama yapılmış ve dört haftalık inkubasyon sırasında suşların oluşturdukları değişiklikler kaydedilmiştir (Gibbs ve Shapton,1968 ; Graham ve Parker ,1964).,

b - Katalaz aktivitesi

Bir öze dolusu bakteri kültürü temiz bir lam üzerine konularak bir damla % 10 luk hidrojen peroksit ile karıştırılıp suşların gaz oluşturma durumları araştırılmıştır (Sağiroğlu,1984 ; Graham ve Parker ,1964).

c - Metilen mavisini redüksiyonu

YMB besiyerinde 28 °C de bir hafta inkube edilen kültürler üzerine % 1 lik metilen mavisinden bir damla ilave edilerek, 37 °C de ki etüvde 1 saat tutulmuş, mavi rengin beyaza dönüşüp dönüşmediği gözlenmiştir (Graham ve Parker,1964).

d - Jelatini eritme

% 12 jelatin ihtiva eden deney tüplerine inokülasyon yapılarak, 28 °C de iki aylık inkübasyondan sonra bakterilerin jelatini eritme durumu kaydedilmiştir (Gülbüzer 1973).

3.SONUÇLAR

3.1. Aşılama Sonuçları

Bitki enfeksiyon testi sonucunda geliştirilen dört haftalık bitkilerin köklerindeki nodüllerin sayıları, renkleri, büyüklükleri ve dağılımları tespit edilerek Tablo 3.1.1. ve Tablo 3.1.2.' de verilmiştir. İyi gelişme gösteren mercimek ve fasulye bitkilerinin nodülleri ana ve yan kökler üzerinde eldiven şeklinde ve büyük olduğu halde, iyi gelişmeyen bitkilerin köklerinde genellikle kök sistemi üzerine dağılmış küçük nodüller şeklinde görülmüşlerdir. Azotlu ve negatif kontrol bitkileri nodül oluşturmamışlardır (Şekil 3.1.1. ve Şekil 3.1.2.). Fasulye bitkisinde azotlu kontrol, aşılانmış bitkilerden daha iyi gelişme gösterirken, mercimek bitkisinde aşılانmış bitkilerin bir kısmı azotlu kontrolden daha iyi gelişmişlerdir. Aynı durum bitkilerin kök kısmı içinde geçerlidir. Her iki bitkide de negatif kontrol bitkilerinin daha az geliştiğı gözlenmiştir (Şekil 3.1.3. ve Şekil 3.1.4).

Toprak örneklerinde EMS tabloları kullanılarak yapılan bitki enfeksiyon testi sonuçlarına göre alınan örneklerdeki doğal *Rhizobium leguminosarum* sayısının 9×10^1 - $9,19 \times 10^4$ adet/g, *R.phaseoli* sayısının $4,2 \times 10^2$ - $9,19 \times 10^4$ adet/g arasında değiştiğı tespit edilmiştir (Tablo 3.1.5. ve Tablo 3.1.6.).

Tablo 3.1.1. Mercimek bitkisine ait köklerdeki nodüllerin sayısı, rengi ve dağılımı

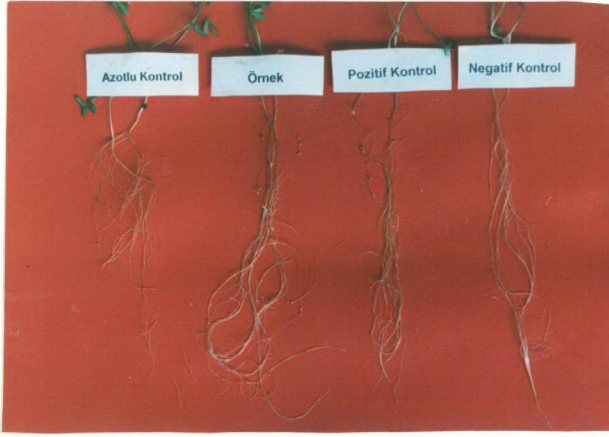
Suş kodu	Sayısı	Rengi	Büyüklüğü	Dağılımı
1 mb	20	pembe	büyük	yan-ana
2 mb	24	pembe	büyük	yan-ana
3 mb	20	pembe-beyaz	küçük	yan
4 mb	8	pembe	küçük	yan
5 mb	15	pembe	orta	yan
1 mg	21	kahve-krem	orta	yan-ana
2 mg	15	krem	orta	yan-ana
3 mg	22	pembe	büyük	yan-ana
4 mg	6	krem	orta	yan
5 mg	18	kahve	büyük	yan-ana

Küçük: 1,0-1,5 mm Orta: 1,5-2,0 mm Büyük: 2,0-2,5 mm
Nodül sayılarına ait değerler 6 bitkinin ortalamasıdır.

Tablo 3.1.2. Fasulye bitkisine ait köklerdeki nodüllerin sayısı, rengi ve dağılımı

Suş kodu	Sayısı	Rengi	Büyüklüğü	Dağılımı
1 fb	85	pembe	orta	yan
2 fb	66	kahve	küçük	yan
3 fb	56	yeşil	büyük	yan
4 fb	50	yeşil-krem	orta	yan
5 fb	62	krem	orta	yan
1 fg	178	kahve-pembe	orta	yan
2 fg	82	kahve-beyaz	orta	yan
3 fg	143	pembe	büyük	yan
4 fg	36	şeffaf	küçük	yan
5 fg	150	pembe	büyük	yan

Küçük: 1,0-2,0 mm Orta: 2,0-2,5 mm Büyük: 2,5-4,0 mm



Şekil 3.1.1. Doğal bakteri suşları ve *R. leguminosarum* Le735 ile aşılaman mercimek bitkisi köklerinde nodül oluşumu ile azotlu ve negatif kontrol bitkilerinin kök gelişim durumları.



Şekil 3.1.2. Doğal bakteri suşları ve *R. phaseoli* CİAT899 ile aşılaman fasulye bitkisi köklerinde nodül oluşumu ile azotlu ve negatif kontrol bitkilerinin kök gelişim durumları.



Şekil 3.1.3. Doğal bakteri suşları ve *R.leguminosarum* Le735 ile aşılanan mercimek bitkileri ile negatif kontrol bitkilerinin azotlu kontrole göre gelişim durumları.



Şekil 3.1.4. Doğal bakteri suşları ve *R.phaseoli* CİAT899 ile aşılanan fasulye bitkileri ile negatif kontrol bitkilerinin azotlu kontrole göre gelişim durumları.

Ortalama kuru madde ağırlıkları esas alınarak suşların etkinlik dereceleri belirlenmiştir. Suşların etkinlik derecelerine göre girdikleri gruplar ve yüzde bulunma oranları Tablo 3.1.3. ve Tablo 3.1.4. de gösterilmiştir. Değerlendirme Holding ve Kong (1963) adlı araştırmacıların belirlediği sınırlar esas alınarak yapılmıştır. Suşların etkinlik derecelerine ait bu değerler mercimek bitkisinde 124-65 arasında değişiklik gösterirken bu sınırın fasulye bitkisinde 75-31 olduğu görülmüştür. Buna göre etkinlik derecesi 100 den büyük olan mercimek bitkilerinden 1 mb ve 2 mb kodlu suşlar çok etkili, etkinlik derecesi 100-75 arasında olan 3 mg, 5 mg, 1 mg ve 5 mb etkili, etkinlik derecesi 75-50 arasında değişen 4 mb, 2mg, 3 mb ve 4 mg orta derecede etkili suşlardır. Fasulye bitkilerinden 3fg, 5 fg ve 1 fg kodlu suşların etkinlik dereceleri 75-50 arasında olup orta derecede etkili, geriye kalan diğer suşlar 50-25 arasında olup az etkili suşlardır.

Ortalama kuru madde ağırlıkları, bahar dönemine ait aşılı mercimek bitkilerinde 0,510-0,280 g, güz dönemine ait aşılı mercimek bitkilerinde ise 0,407-0,267 g , azotsuz kontrol bitkisinde bu miktar 0,208 g , azotlu kontrol bitkisinde ise 0,411 g olarak tespit edilmiştir. Azotlu kontrol bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığı güz dönemine ait tüm aşılı bitkilerden daha yüksek olup bahar dönemine ait iki bölgeden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu miktarlar fasulye bitkisinde sırasıyla 2,162-1,866 g, 3,893-1,624 g, 1,663 g ve 5,133 g olarak tespit edilmiştir. Azotlu kontrol bitkisinin ortalama kuru madde ağırlığının güz ve bahar dönemine ait tüm aşılı fasulye bitkilerinden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Mercimek ve fasulye bitkilerinin kuru madde ağırlıkları paralel 1-2-3 ve ortalamaları Tablo 3.1.7., Tablo 3.1.8., Tablo 3.1.10. ve Tablo 3.1.11' de verilmiştir.

Bahar döneminde alınan toprak örneği ile aşılanmış mercimek bitkilerinin % Azot (N) miktarları % 4,11-3,29 ,Güz dönemine ait mercimek bitkilerinin % 4,04-2,98 arasında değişiklik gösterirken azotlu kontrol bitkilerinin ortalama % N miktarı 4,15 olup

bahar ve g z dönemine ait tüm örneklerden daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Azotsuz kontrol bitkilerinde ise bu oran %1,94 olarak hesaplanmıştır. Fasulye bitkisinin % azot değerleri ise yine sırasıyla % 2,34-1,84, % 2,46-1,96, % 2,72 ve 1,75 olarak belirlenmiştir. Her iki bitkiye ait % Azot değerleri paralel 1-2-3 ve ortalamaları Tablo 3.1.13., Tablo 3.1.14, Tablo 3.1.16. ve Tablo 3.1.17.'de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal  zellikleri Tablo 2.1.3. ve Tablo 2.1.4. de verilmiştir. Mercimek ve fasulye bitkilerinin ekildiği tarlalardan alınan toprak örnekleri görüldüğü gibi hafif alkali ve tuzsuzdurlar. Mercimek ekilen toprak örneklerindeki Kireç miktarı % 0,041-0,290, bitkiye yararılı fosfor miktarı P_2O_5 cinsinden 1,76-3,52 kg/da, Potasyum miktarı K_2O cinsinden 24,8-37,3, organik madde oranı ise % 0,58-2,75 arasında değişiklik gösterirken fasulye ekilen tarlalara ait toprak örneklerinde bu oranlar sırasıyla %0,020-0,450, 1,32-4,93 kg/da, 25,4-38,2 ve % 0,72-3,77' dir.

Tablo 3.1.3. Mercimek bitkilerinin bitki üstü kuru ağırlık miktarları ve suşların etkinlik derecelerine göre girdikleri gruplar

Bölge	Suş kodu	Bitki üstü kuru	Etkinlik derecesi	Grup	Grup Ayrımı	%
no		ağırlık		sınırları		oranlar
		ort.(g/kavanoz)				
1	1 mb	0,510	124	100>	Çok Etkili	% 20
2	2 mb	0,442	107,58			
3	3 mg	0,407	99,11			
5	5 mg	0,379	92,14	100-75	Etkili	% 40
1	1 mg	0,368	89,47			
5	5 mb	0,325	79,58			
4	4 mb	0,287	69,77			
2	2 mg	0,282	68,60	75-50	Orta Derecede Etkili	% 40
3	3 mb	0,280	68,27			
4	4 mg	0,267	65,07			
	Kontrol suş	0,331	80,59			

Tablo 3.1.4. Fasulye bitkilerinin bitki üstü kuru ağırlık miktarları ve suşların etkinlik derecelerine göre girdikleri gruplar

Bölge	Suş kodu	Bitki üstü kuru	Etkinlik	Grup	Grup Ayrımı	%
no		ağırlık ort. (g/kavanoz)	derecesi	sınırları		oranlar
3	3 fg	3,893	75,84			
5	5 fg	2,957	57,60	75-50	Orta Der. Etkili	% 30
1	1 fg	2,802	54,58			
3	3 fb	2,162	42,11			
1	1 fb	2,160	42,08	50-25	Az Etkili	% 70
2	2 fg	2,088	40,67			
2	2 fb	2,081	39,31			
5	5 fb	1,866	36,35			
4	4 fb	1,821	35,47			
4	4 fg	1,624	31,63			
Kontrol suş		3,159	61,54			

Tablo 3.1.5. Mercimek bitkisi ekili topraklardaki doğal *Rhizobium* sayısı (Adet/g)

Bölge no	Suş kodu	Doğal <i>Rhizobium</i> sayısı (Adet/g)
1	1 mb	$9,18 \times 10^3$
2	2 mb	$4,24 \times 10^4$
3	3 mb	$9,18 \times 10^3$
4	4 mb	$9,2 \times 10^2$
5	5 mb	$4,24 \times 10^3$
1	1 mg	9×10^1
2	2 mg	$1,47 \times 10^4$
3	3 mg	$4,24 \times 10^3$
4	4 mg	$9,18 \times 10^3$
5	5 mg	$9,19 \times 10^4$

Tablo 3.1.6. Fasulye bitkisi ekili topraklardaki doğal *Rhizobium* sayısı (Adet/g)

Bölge no	Suş kodu	Doğal <i>Rhizobium</i> sayısı (Adet/g)
1	1 fb	$9,18 \times 10^3$
2	2 fb	$9,19 \times 10^4$
3	3 fb	$9,18 \times 10^4$
4	4 fb	$4,24 \times 10^4$
5	5 fb	$4,2 \times 10^2$
1	1 fg	$4,24 \times 10^4$
2	2 fg	$9,19 \times 10^4$
3	3 fg	$1,47 \times 10^4$
4	4 fg	$4,24 \times 10^3$
5	5 fg	$4,24 \times 10^3$

Tablo 3.1.7. Fasulye bitkisi bahar dönemi bitki üstü kuru ağırlık ortalaması (g/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1Fb	2,870	2,175	1,435	6,480	2,160
2Fb	1,105	2,856	2,095	6,056	2,018
3Fb	2,213	1,350	2,925	6,488	2,162
4Fb	2,012	1,729	1,723	5,464	1,821
5Fb	2,251	1,697	1,650	5,598	1,866
Azotlu	5,767	4,781	4,852	15,400	5,133
Negatif	1,732	2,025	1,232	4,989	1,663
Pozitif	3,113	3,638	2,727	9,478	3,159

Tablo 3.1.8. Fasulye bitkisi güz dönemi bitki üstü kuru ağırlık ortalaması (g/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1Fg	3,476	3,325	1,605	8,406	2,802
2Fg	1,732	3,300	1,232	6,264	2,088
3Fg	2,229	4,736	4,715	11,680	3,893
4Fg	1,374	2,079	1,419	4,872	1,624
5Fg	3,249	3,270	2,354	8,873	2,957
Azotlu	5,767	4,781	4,852	15,400	5,133
Negatif	1,732	2,025	1,232	4,989	1,663
Pozitif	3,113	3,638	2,727	9,478	3,159

Tablo 3.1.9. Fasulye bitkisi bitki üstü kuru ağırlık miktarlarına ait Varyans Analizi, Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi Sonuçları (n=6)

Bölgeler	Mevsimler		P
	Bahar	Güz	
1	2,160 c	2,802 bcd	-
2	2,019 c	2,089 cd	-
3	2,163 c	3,894 ab	-
4	1,822 c	1,624 d	-
5	1,866 c	2,958 bcd	-
Azotlu	5,133 a	5,133 a	-
Negatif	1,663 c	1,663 d	-
Pozitif	3,160 b	3,160 bc	-
P	**	***	-

-:Grup ortalamaları arası fark önemsizdir ($P>0,05$)

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

** : Grup ortalamaları fark yüksek düzeyde önemlidir ($P<0,01$)

a,b,c,d : Farklı sütunlardaki farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

Tablo 3.1.10. Mercimek bitkisi bahar dönemi bitki üstü kuru ağırlık ortalaması (g/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1mb	0,395	0,441	0,695	1,531	0,510
2mb	0,497	0,471	0,359	1,327	0,442
3mb	0,289	0,182	0,370	0,841	0,280
4mb	0,293	0,293	0,275	0,861	0,287
5mb	0,282	0,328	0,371	0,981	0,327
Azotlu	0,483	0,396	0,354	1,233	0,411
Negatif	0,232	0,184	0,209	0,625	0,208
Pozitif	0,310	0,370	0,313	0,993	0,331

Tablo 3.1.11. Mercimek bitkisi güz dönemi bitki üstü kuru ağırlık Ortalaması (g/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1 mg	0,368	0,381	0,355	1,104	0,368
2 mg	0,319	0,278	0,249	0,840	0,282
3 mg	0,445	0,364	0,413	1,222	0,407
4 mg	0,263	0,280	0,259	0,802	0,267
5 mg	0,360	0,360	0,418	1,138	0,379
Azotlu	0,483	0,396	0,354	1,233	0,411
Negatif	0,232	0,184	0,209	0,625	0,208
Pozitif	0,310	0,370	0,313	0,953	0,331

Tablo 3.1.12. Mercimek bitkisi bitki üstü kuru ağırlık miktarlarına ait Varyans Analizi, Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları (n=6)

Bölgeler	Mevsimler		P
	Bahar	Güz	
1	0,511 a	0,368 a	*
2	0,443 ab	0,282 bc	*
3	0,281 c	0,408 a	-
4	0,287 c	0,268 bc	-
5	0,327 bc	0,379 a	-
Azotlu	0,411 ab	0,411 a	
Negatif	0,209 d	0,209 c	
Pozitif	0,332 bc	0,332 ab	
P	***	***	

-:Grup ortalamaları arası fark önemsizdir ($P>0,05$)

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

***: Grup ortalamaları arası fark çok yüksek düzeyde önemlidir ($P<0,001$).

a,b,c,d : Farklı sütunlardaki farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

Tablo 3.1.13.Fasulye bitkisi bahar dönemine ait % azot ortalamaları (% N)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1Fb	2,13	2,17	2,00	6,30	2,10
2Fb	2,33	2,41	2,30	7,04	2,34
3Fb	2,30	2,25	2,42	6,97	2,32
4Fb	1,79	1,99	1,74	5,52	1,84
5Fb	2,23	2,23	2,35	6,81	2,27
Azotlu	2,62	2,62	2,93	8,17	2,72
Negatif	1,67	1,86	1,73	5,26	1,75
Pozitif	2,34	2,39	2,24	6,97	2,32

Tablo 3.1.14. Fasulye bitkisi güz dönemine ait % azot ortalamaları (% N)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1Fg	2,38	2,26	2,30	6,94	2,31
2Fg	1,99	1,86	2,04	5,89	1,96
3Fg	2,23	1,92	2,68	6,83	2,27
4Fg	1,64	2,25	2,89	5,78	1,92
5Fg	2,37	2,04	2,24	6,65	2,21
Azotlu	2,62	2,62	2,93	8,17	2,72
Negatif	1,67	1,86	1,73	5,26	1,75
Pozitif	2,34	2,39	2,24	6,97	2,32

Tablo 3.1.15.Fasulye bitkisi %N miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3)

Bölgeler	Mevsimler		P
	Bahar	Güz	
1	2,100 c	2,313 bc	*
2	2,347 b	1,963 cd	*
3	2,323 b	2,276 bc	-
4	1,840 d	2,460 ab	*
5	2,270 bc	2,216 bc	-
Azotlu	2,723 a	2,723 a	
Negatif	1,753 d	1,753 d	
Pozitif	2,323 b	2,323 bc	
P	**	*	

-.Grup ortalamaları arası fark önemsizdir ($P>0,05$)

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

** : Grup ortalamaları fark yüksek düzeyde önemlidir ($P<0,01$)

a,b,c,d : Farklı sütunlardaki farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

Tablo 3.1.16.Mercimek bitkisi bahar dönemine ait % azot ortalamaları (%N)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1mb	3,98	4,15	4,20	12,33	4,11
2mb	3,43	3,43	3,83	10,69	3,56
3mb	3,50	3,73	3,29	10,52	3,50
4mb	3,41	3,61	3,40	10,42	3,47
5mb	3,32	3,29	3,26	9,87	3,29
Azotlu	4,00	4,45	4,01	12,46	4,15
Negatif	1,05	2,94	1,84	5,83	1,94
Pozitif	3,32	3,29	3,38	9,99	3,33

Tablo 3.1.17.Mercimek bitkisi güz dönemine ait % azot ortalamaları (%N)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1 mg	2,84	3,74	3,83	10,41	3,47
2 mg	3,82	3,90	3,93	11,65	3,88
3 mg	4,16	3,73	3,38	11,27	3,75
4 mg	4,35	4,63	3,15	12,13	4,04
5 mg	3,01	3,01	2,94	8,96	2,98
Azotlu	4,00	4,45	4,01	12,46	4,15
Negatif	1,05	2,94	1,84	5,83	1,94
Pozitif	3,32	3,29	3,38	9,99	3,33

Tablo 3.1.18.Mercimek bitkisi %N miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3)

Bölgeler	Mevsimler		P
	Bahar	Güz	
1	4,110 a	3,470 ab	*
2	3,563 ab	3,883 ab	-
3	3,507 ab	3,757 ab	-
4	3,473 ab	4,043 a	-
5	3,290 b	2,987 b	*
Azotlu	4,153 a	4,153 a	
Negatif	1,943 c	1,943 c	
Pozitif	3,330 b	3,330 ab	
P	**	*	

-:Grup ortalamaları arası fark önemsizdir ($P>0,05$)

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

** : Grup ortalamaları fark yüksek düzeyde önemlidir ($P<0,01$)

a,b,c: Farklı sütunlardaki farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

Tablo 3.1.19. Fasulye bitkisi bahar dönemine ait total azot miktarları (mg/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1Fb	61,13	47,19	28,70	137,02	45,67
2Fb	25,74	68,82	48,18	142,74	47,58
3Fb	50,89	30,37	70,78	152,04	50,68
4Fb	36,01	34,40	29,98	100,39	33,46
5Fb	50,19	37,84	38,77	126,80	42,26
Azotlu	151,09	125,26	142,16	418,51	139,50
Negatif	28,92	37,66	21,31	87,89	29,29
Pozitif	72,84	86,94	61,08	220,86	73,62

Tablo 3.1.20. Fasulye bitkisi güz dönemine ait total azot ortalaması (mg/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1Fg	82,72	75,14	36,91	194,77	64,92
2Fg	34,46	63,36	25,13	122,95	40,98
3Fg	49,70	90,93	126,36	266,99	88,96
4Fg	22,53	46,77	42,28	111,58	37,19
5Fg	77,00	66,70	52,72	196,42	65,47
Azotlu	151,09	125,26	142,16	418,51	139,50
Negatif	28,92	37,66	21,31	87,89	29,29
Pozitif	72,84	86,94	61,08	220,86	73,62

Tablo 3.1.21. Fasulye bitkisi total azot miktarlarına ait Varyans Analizi,Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3)

Bölgeler	Mevsimler		P
	Bahar	Güz	
1	45,673 c	64,923 bc	-
2	47,580 c	40,983 c	-
3	50,680 b	88,966 b	-
4	30,463 c	37,193 c	-
5	42,266 c	65,473 bc	*
Azotlu	139,503 a	139,503 a	
Negatif	29,296 c	29,296 d	
Pozitif	73,620 b	73,620 bc	
P	*	*	

-:Grup ortalamaları arası fark önemsizdir ($P>0,05$)

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

a,b,c,d : Farklı sütunlardaki farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P<0,05$)

Tablo 3.1.22 Mercimek bitkisi bahar dönemine ait total azot miktarları (mg/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1mb	15,72	18,30	29,19	63,21	21,07
2mb	17,04	16,15	13,74	46,93	15,64
3mb	10,11	6,78	12,17	29,06	9,68
4mb	9,99	10,57	9,35	29,95	9,97
5mb	9,36	10,79	12,11	32,26	10,75
Azotlu	19,32	17,62	14,19	51,13	17,04
Negatif	2,43	5,40	3,84	11,67	3,89
Pozitif	10,29	12,17	10,57	33,03	11,01

Tablo 3.1.23. Mercimek bitkisi güz dönemine ait total azot miktarları (mg/kavanoz)

Suş kodu	1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	Toplam	Ortalama
1mg	10,45	14,24	13,59	38,28	12,76
2mg	12,18	10,84	9,78	32,80	10,93
3mg	19,35	13,57	13,95	46,87	15,62
4mg	11,44	12,96	8,15	32,55	10,85
5mg	10,83	10,83	12,28	33,94	11,31
Azotlu	19,32	17,62	14,19	51,13	17,04
Negatif	2,43	5,40	3,84	11,67	3,89
Pozitif	10,29	12,17	10,57	33,03	11,01

Tablo 3.1.24. Mercimek bitkisi total azot miktarlarına ait Varyans Analizi, Duncan Testi ve Mann Whitney U Testi sonuçları(n=3)

Bölgeler	Mevsimler		P
	Bahar	Güz	
1	21,070 a	12,760 bc	*
2	15,643 ab	10,933 c	*
3	9,687 c	15,623 ab	*
4	9,970 bc	10,850 c	-
5	10,753 bc	11,313 c	-
Azotlu	17,043 a	17,043 a	
Negatif	3,890 d	3,890 d	
Pozitif	11,010 bc	11,010 c	
P	**	*	

-: Grup ortalamaları arası fark önemsizdir ($P > 0,05$)

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P < 0,05$)

** : Grup ortalamaları fark yüksek düzeyde önemlidir ($P < 0,01$)

a,b,c: Farklı sütunlardaki farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası fark önemlidir ($P < 0,05$)

3.2. Kültürel ve Biyokimyasal Özellikler

3.2.1. Kültürel Özellikler

İzole edilen *Rhizobium leguminosarum* suşlarının tümü YMA besiyerinde yuvarlak, kenarları muntazam, kabarık ve krem renkli koloniler oluştururken *R.phaseoli* suşları yuvarlak, kenarları muntazam ancak daha büyük ve bir kısmı şeffaf koloniler oluşturmuşlardır. Yapılan mikroskopik incelemede her iki bakteriye ait suşlarında Gram negatif olduğu görülmüştür. Suşların hepsi YMA besiyerinde mukoz oluşturmuşlardır. Araştırmada, elde edilen tüm *R.leguminosarum* ve *R.phaseoli* suşlarının hareketli olduğu belirlenmiştir. *R.leguminosarum*' un dört, *R.phaseoli* nin beş suşu kongo kırmızısını daha fazla absorbe ederek koyu pembe bir gelişme gösterirken her iki bakterinin diğer suşları çok az bir absorpsiyonla açık pembe koloniler oluşturmuşlardır.

Brom timol mavili YMA içeren ortamda doğal *R.leguminosarum* ve *R.phaseoli* suşlarının tümü 36 saat ve 120 saat sonra üreme göstermişler ve asit oluşturmuşlardır. Ancak her iki bakterinin birer suşu dışındaki suşlar laktozlu besiyerinde üreme göstermemiş iken pepton glukoz agarda tüm suşların ürediği görülmüştür (Tablo 3.2.1.ve Tablo 3.2.2.).

3.2.2 Biyokimyasal Özellikler

Mercimek bitkisi ekili tarlalardan izole edilen *R.leguminosarum* suşlarından üç tanesi, *R.phaseoli* suşlarından iki tanesi litmuslu sütte bir aylık gelişim sonrası zon oluşturmamışlardır. Ancak her iki bakteriye ait suşların hepsi litmuslu sütte alkali reaksiyon vermiştir.

Doğal *R.leguminosarum* suşlarından sekiz' inde katalaz aktivitesi pozitif iken *R.phaseoli* suşlarının hepsinde katalaz pozitif sonuç vermiştir. Metilen mavisi redüksiyonunun ise *R.leguminosarum*' un altı, *R.phaseoli*' nin dokuz suşunda pozitif olduğu görülmüştür.

Her iki bakteriye ait suşlar jelatin içerisindeki iki aylık inkübasyon süresi sonunda buzdolabına alındığında *R.leguminosarum*' un iki, *R.phaseoli*' nin bir suşunun jelatini erittiği ve besiyerinin katılaşmadığı görülmüştür.



Tablo 3.2.1. Mercimek bitkisi ekili tarlalardan izole edilen *Rhizobium leguminosarum* suşlarının bazı kültürel ve biyokimyasal özellikleri

Suş kodu	Kongo Kırmızılı YMA Üreme	Kongo Kırmızılı YMA Boya absorpsiyonu	Brom timol mavili YMA Üreme	Brom timol mavili YMA Boya absorpsiyonu	Litmuslu milk pH değişimi	Litmuslu milk Zon Meydana Getirme	Laktozu besiyerinde üreme	YMA besiyerinde mukoz oluşumu	Gram boyama	Hareketlilik	Katalaz	Metilen mavisi redüksiyonu	Jelatin eritme
1mb	+	++	+	+++	Alkali	-	-	+++	-	+	-	-	-
2mb	+	++	+	++	Alkali	+	-	+++	-	+	+	+	-
3mb	+	+	+	+	Alkali	+	-	+	-	+	+	-	-
4mb	+	+	+	++	Alkali	-	-	+	-	+	+	-	-
5mb	+	+	+	++	Alkali	+	-	+	-	+	+	+	-
1mg	+	++	+	++	Alkali	-	-	+	-	+	-	+	-
2mg	+	++	+	+	Alkali	+	-	+	-	+	+	-	+
3mg	+	+	+	+	Alkali	+	-	+	-	+	+	+	-
4mg	+	+	+	+++	Alkali	+	-	++	-	+	+	+	-
5mg	+	+	+	+++	Alkali	+	+	++	-	+	+	+	+

- : Üreme, asit ve zon oluşumu, absorpsiyon yok. +: Üreme, zon oluşumu, hareketlilik, katalaz, M. mavisi ve eritme pozitif; asit oluşumu ve absorpsiyon hafif
 ++: Asit ve mukoz oluşumu, absorpsiyon orta +++: Asit ve mukoz oluşuma yeteneği kuvvetli

Tablo 3.2.2. Fasulye bitkisi ekili tarlalardan izole edilen *Rhizobium phaseoli* suşlarının bazı kültürel ve biyokimyasal özellikleri

Suş kodu	Kongo KırmızıYMA Boya Üreme absorpsiyonu		Brom timol mavili YMA Boya Üreme absorpsiyonu		Litmuslu milk pH Zon Meydana değişimi Getirme	Laktozu besiyerinde üreme	YMA besiyerinde mukoz oluşturma	Gram boyama	Hareketlilik	Katalaz	Metilen mavisi redüksiyonu	Jelatin eritme
1fb	+	++	+	+	Alkali	-	++	-	+	+	+	-
2fb	+	+	+	+++	Alkali	+	++	-	+	+	+	+
3fb	+	+	+	+	Alkali	-	+	-	+	+	+	-
4fb	+	+	+	+	Alkali	-	++	-	+	+	-	-
5fb	+	++	+	++	Alkali	-	++	-	+	+	+	-
1fg	+	++	+	+++	Alkali	-	++	-	+	+	+	-
2fg	+	+	+	+++	Alkali	-	++	-	+	+	+	-
3fg	+	++	+	+++	Alkali	-	+++	-	+	+	+	-
4fg	+	+	+	+++	Alkali	-	+	-	+	+	+	-
5fg	+	++	+	++	Alkali	-	++	-	+	+	+	-

- : Üreme, asit ve zon oluşumu, absorpsiyon yok. + : Üreme, zon oluşumu, hareketlilik, katalaz, M. mavisi ve eritme pozitif ; asit oluşumu ve absorpsiyon hafif
 ++ : Asit ve mukoz oluşumu, absorpsiyon orta +++ : Asit ve mukoz oluşurma yeteneği kuvvetli

4. TARTIŞMA

Mercimek bitkisindeki nodüller ana ve yan köklere dağılım göstermiş olup sayılarının 6-24 arasında değişiklik gösterdiği görülmüştür. 2 mb kodlu suşun nodül sayısı (24) en fazla olup bu suş çok etkili gruba girerken 6 nodül ile en düşük nodüle sahip olan 4 mg kodlu suş simbiyotik etkinliği en düşük olan suşdur. Bu suşlar nodüllerin renkleri bakımından da farklılık göstermiş olup etkili suşun rengi pembe iken etkisiz suş krem renklidir (Tablo 3.1.1). Nodül sayıları 20,24,22,18,21 ve 15 olan 1mb,2mb,3mg,5mg, 1mg ve 5 mb kodlu suşlar etkili gruba dahil olup kahve-pembe renkli ve büyük nodüllere sahiptirler. Her ne kadar bu durum nodül sayısı ile etkinlik derecesi arasında bir ilişki olduğunu düşündürse de 3 mb kodlu suşun nodül sayısının 20, 2 mg kodlu örneğin nodül sayısının 15 olduğu halde etkinlik derecelerinin düşük oluşu bu düşünceyle ters düşmektedir. Bu suşların nodül renklerinin beyaz-krem, küçük ve yan köklerde olması etkinlik derecesinin nodülün rengi, büyüklüğü ve dağılımıyla ilgili olduğunu göstermektedir. Fasulye bitkisine ait kök nodüllerinin sayısı ise 178-36 arasında değişiklik göstermektedir. Fasulye bitkisi köklerine ait nodüller genellikle yan kökler üzerine dağılım göstermiş ve bir çoğu yeşil, krem, beyaz ve şeffaf renkli olup çok az bir kısmı kahve ve pembe renklidir (Tablo 3.1.2.).

Fasulye bitkisinde azotlu kontrol aşılانmış bitkilerden daha iyi gelişme gösterirken, mercimek bitkisinde aşılانmış bitkilerin bir kısmı azotlu kontrolden daha iyi gelişmişlerdir. Herhangi bir aşılama yapılmayan negatif kontrol bitkisi ise hem azotlu hem de aşılı bitkilerden daha az bir gelişim göstermiştir (Şekil 3.1.3. ve Şekil

3.1.4.). Aynı durum bitkilerin kök kısmı içinde söz konusudur (Şekil 3.1.1. ve Şekil 3.1.2.).

Mercimek bitkisi ekili tarlalardan alınan toprak örneklerindeki doğal *R.leguminosarum* sayısı bahar dönemine ait örneklerin bir gramında $9,2 \times 10^2$ - $4,24 \times 10^4$ adet, güz dönemine ait örneklerde ise 9×10^1 - $9,19 \times 10^4$ adet olarak saptanmıştır. Mevsimlere göre populasyon yoğunluğunun farklılık gösterip göstermediğine bakılacak olursa; 2 mb ve 2 mg kodlu aynı bölgeye ait fakat farklı mevsimlerde alınmış toprak örneğindeki sayının 10^4 , 3 mb ve 3 mg de 10^3 adet olduğu ve populasyon yoğunluğunun değişiklik göstermediği ancak 1.,4.ve 5. bölgelere ait örneklerdeki sayının güz döneminde daha yüksek olduğu görülmektedir.

Karuç ve arkadaşları (1993) Kazan ilçesinde yaptıkları çalışmada toprağın bir gramındaki *R.leguminosarum* sayısını $1,7$ - $1,7 \times 10^5$ adet olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmada tespit edilen populasyon yoğunluğunun yöremizdeki populasyon yoğunluğuyla benzerlik göstermekle beraber yöremizde 10^5 lik değere ulaşılmadığı görülmüştür. Bu araştırmacılarla yine aynı yörede doğal *R.leguminosarum* populasyonunun belirlendiği bir başka araştırmada bakteri sayısı $5,8$ - $3,1 \times 10^3$ adet/g olarak tespit edilmiş olup (Ayhan,1995) doğal populasyonun yöremizden daha düşük olduğu ve aynı yörede yapılan iki ayrı araştırmada dahi populasyon yoğunluğunun farklılık gösterdiği görülmüştür.

Moawad ve Beck (1991) Batı Asya ve Kuzey Afrika' nın güney kısımlarından topladıkları toplam 61 toprak örneğinden 32' sini Türkiye' nin doğu bölgelerinde mercimek ekiminin yapıldığı tarlalardan alarak, bu örneklerdeki *R.leguminosarum* populasyonunu belirlemişlerdir. İnceledikleri örneklerin % 20' sinin 10^5 den, % 13'

ünün ise 10^3 ' den fazla bakteri bulundurduğunu tespit etmişlerdir. Bir gramında 10^5 adetten daha fazla bakteri ihtiva eden toprakların % 9' unu Türkiye' den alınan örneklerin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Hem bu araştırmadaki bulgular hem de 1 mg ve 4 mb (10^1 - 10^2) kodlu suşlar haricinde araştırmamızdan elde ettiğimiz diğer değerler pek çok toprak da 10^3 - 10^5 bakteri/gram toprak seviyesindeki doğal *R.leguminosarum* nodülasyon bulgularıyla uyumludur.

Fasulye bitkisi ekili tarlalardan alınan topraklardaki doğal *R.phaseoli* sayısı, her iki mevsimde de bir gram toprak da $4,2 \times 10^2$ - $9,19 \times 10^4$ adet olarak tespit edilmiştir. 5. bölgeden hem bahar hem de güz döneminde alınan toprak örneğindeki bakteri sayısının tüm örneklerden düşük olduğu (10^2) belirlenmiş olup diğer tüm topraklarda 10^3 - 10^5 bakteri/gram toprak seviyesindeki doğal *R.phaseoli* popülasyonunun mevcut olduğu görülmüştür. Aynı bölgeden ancak farklı mevsimlerde alınmış toprak örneklerindeki sayısının 2.,3. ve 5. bölgelerde değişmediği, 1. ve 4. bölgelerde değişiklik gösterdiği görülmektedir.

Karuç ve arkadaşları (1993), Kazan ilçesi için yaptıkları araştırmada doğal *R.phaseoli* popülasyonunu bir gram toprakda 1 - $1,7 \times 10^5$ adet, Kızılcahamam ilçesinde ise 10 - $1,7 \times 10^4$ adet olarak tespit etmişlerdir. *R.phaseoli* için belirlediğimiz popülasyon yoğunluğu 10^2 - 10^4 bakteri/g arasında değişiklik gösterirken bu araştırmalara ait topraklardaki popülasyonun daha geniş bir alana dağılım gösterdikleri görülmektedir.

Baklagillerin azot fiksasyonunda etkili olan doğal *Rhizobium* popülasyonu sayı olarak ve simbiyotik etkinlik bakımından yetersiz olduğunda etkin bir suşla inokülasyon yapılarak azot fiksasyonu artırılabilen ve dolayısıyla verim artışı da sağlanabilmektedir. Bu nedenle elde edilen verilerin değerlendirilmesi için sadece

doğal populasyon sayısı değil, simbiyotik etkinliğin de incelenmesi gerekmektedir (Dowling ve Broughton,1986). Simbiyotik etkinlik, *Rhizobium* suşlarının seçiminde önemli olup, nodül oluşan bitkide fikse edilen azotun bir göstergesi olarak ifade edilir.Tablo 3.1.3. de görüldüğü gibi *R.leguminosarum* populasyonunun % 20'si çok etkili, % 40' ı etkili ve geriye kalan diğer % 40' da orta derecede etkili gruba girmiştir. Tablo 3.1.4. incelendiğinde ise *R.phaseoli* populasyonunun çok etkili ve etkili grubunun olmadığı ancak % 30' unun orta derecede etkili, % 70' nin ise az etkili olduğu görülmektedir.

Gürbüzer (1978) bitkilerin kuru madde miktarını esas alarak yaptığı değerlendirmede *R.meliloti* suşlarının % 25' inin etkili, % 6'sının orta derecede etkili, % 69' unun ise etkisiz olduğunu saptamıştır. Köşker ve Kitiş 1980 yılında mercimek bitkileriyle yaptıkları çalışmada *R.leguminosarum* suşlarından % 29'unun etkili, % 45'inin orta derecede etkili ve % 26' sının etkisiz olduğunu belirlemişlerdir. *R.leguminosarum* populasyonu için, etkili gruba ait oranlar her iki araştırmacının bulgularıyla paralellik gösterirken, orta derecede etkili grup Kitiş ve Köşker'in bulgularıyla uyumludur. Ayhan (1995)'de Kazan İlçesinde yaptığı çalışma sırasında *Rhizobium leguminosarum* populasyonunun % 90' ının yüksek simbiyotik etkinliğe, % 10' unu ise orta derecede simbiyotik etkinliğe sahip olduğunu belirlemiştir. Etkisiz grubun olmaması çalışmamızla benzerlik gösterirken etkili grubun fazlalığı dikkat çekmektedir. Sağıroğlu 1984 yılında bizimle aynı yörede total azot miktarlarını esas alarak yaptığı çalışmada *R.leguminosarum* suşlardan % 20' sinin etkili, % 44'ünün orta derecede etkili ve % 36'sının etkisiz olduğunu belirlemiştir. Etkisiz grup dışında kalan diğer grupların oranları çalışmamızla uyum göstermektedir.

Sağıroğlu ve arkadaşları yine aynı yörede mercimek bitkisiyle, kuru ağırlık değerlerini ölçü alarak yaptıkları çalışmalarında toplam 19 suştan 11' inin etkili, 7' sinin orta derecede etkili ve 1 suşunda etkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Etkili ve orta derecede etkili gruplara ait oranlar çalışmamızla benzerlik göstermekte ancak bu çalışmada çok etkili, bizim çalışmamızda ise etkisiz grubun olmayışı açısından farklılık görülmektedir (Sağıroğlu ve ark.,1991).

Mercimek bitkisinde kontrol suş olarak kullanılan *R.leguminosarum* Le 735' in simbiyotik etkinliğinin bahar dönemine ait 3, gz dönemine ait 2 bölgeden daha yüksek olduğu grlmştr. Fasulye bitkisinde ise 3 fg kodlu gz dönemine ait doğal suş dışındaki bütün doğal suşların simbiyotik etkinliklerinin kontrol suş olarak kullanılan *R.phaseoli* CIAT 899' dan daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Göktan (1974) *R.phaseoli'* nin etkinlik derecelerini belirlediği araştırmasında suşlardan % 29'unun etkili, % 32' sinin orta derecede etkili ve % 39' unun etkisiz olduğunu görmüştür. % 32' lik orta derecede etkili grup bizim orta derecede etkili grupla paralellik göstermektedir. Yaptığımız çalışmada suşların % 70 gibi büyük bir bölümünün az etkili olduğunu görmüş olmamız fasulye ekili topraklarda doğal olarak bulunan *Rhizobium* populasyonunun büyük bir kısmının az etkili olduğunu göstermektedir. Bu sebeple yöremizdeki fasulye bitkilerinde düşük seviyelerde azot tespit edilmekte veya bu yoldan bir azot kazancı olmamaktadır.

Aşılı fasulye bitkilerinin ortalama kuru madde ağırlıkları bahar dönemine ait örneklerde 2,162-1,821g, gz dönemine ait bitkilerde ise 3,893-1,624 g arasında değişiklik gösterirken, azotlu kontrol bitkisinde bu miktar 5,133 g, negatif kontrol bitkisinde 1,663 g, pozitif kontrol bitkisinde ise 3,159 g olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.1.7. ve Tablo 3.1.8.).

Gürbüzer (1978) kavanozlardan alınan soya fasulyesi bitkilerinin kuru ağırlık miktarları 2,77-5,38 g arasında değişiklik göstermektedir. Bu araştırmada azotlu kontrol bitkisinin kuru ağırlığı 5,43 g olup bu değer tüm aşılı fasulye bitkilerinin kuru ağırlık değerlerinden yüksektir. Aynı durum yaptığımız araştırmada da söz konusudur.

Kuru ağırlık bakımından fasulye bitkisinin bahar dönemine ait bölgeler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli düzeyde ($P>0,01$) farklı olduğu gözlenmiştir. Güz dönemine ait bölgeler arasındaki fark ise çok yüksek düzeyde önemli ($P<0,001$) bulunmuştur. Duncan testi sonuçlarına göre bahar dönemine ait bitkilerde hem azotlu kontrolün hem de pozitif kontrolün tüm bölgelerle arasındaki fark önemli, negatif kontrolün ise tüm bölgelerle arasındaki fark önemsizdir. Güz dönemine ait örneklerde ise azotlu kontrol ile sadece 3. bölge arasındaki fark önemsiz, negatif kontrolün ise bu bölgeyle arasındaki fark önemli ($P<0,05$) olup 1.2.4. ve 5. bölgelerde önemsizdir ($P>0,05$). Pozitif kontrol ile sadece 4. bölge arasındaki fark önemlidir ($P<0,05$). Bölgelerdeki fasulye bitkilerinde kuru ağırlık değerleri bakımından iki mevsim arasındaki farklılığın tüm bölgelerde önemsiz olduğu görülmüştür (Tablo 3.1.9.).

Aşılı kavanozlardan alınan mercimek bitkilerinin ortalama kuru madde ağırlıkları bahar döneminde 0,510-0,280 g, güz döneminde ise 0,407-0,267 g arasında değişiklik gösterirken azotlu kontrol bitkisinde bu miktar 0,411 g negatif kontrol bitkisinde 0,208 g, pozitif kontrol bitkisinde ise 0,331 g olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.1.10. ve Tablo 3.1.11.). Ayhan (1995) aşılı fiğ bitkilerinin bitki üstü kuru ağırlıklarının 0,531- 0,296 g arasında değiştiğini saptamıştır. Bu değerler, bizim mercimek bitkisindeki kuru ağırlık değerlerimizle tam bir benzerlik göstermektedir.

Hem bu araştırmada (0,106 g) hem de yaptığımız araştırmada negatif kontrole ait kuru ağırlık değerlerinin tümünün aşılı bitkilerden daha düşük olduğu görölmüştür. Sağıroğlu ve arkadaşlarının mercimek bitkisiyle yaptığı araştırmada bu değerler 0,388-1,086 g arasında değişiklik gösterirken, azotlu kontrol bitkisi de 1,133 g, negatif kontrol bitkisinde ise 0,570 g olarak verilmiştir. Bu araştırmada da bizim ve Ayhan (1995) 'ın araştırmasında olduğu gibi azotlu kontrol bitkisinin kuru ağırlığı tüm aşılı mercimek bitkilerinden yüksek oluşuyla benzerlik gösterirken negatif kontrol bitkisinin kuru ağırlık miktarının bazı aşılı bitkilerden daha yüksek oluşu yönünden farklılık söz konusudur .

Mercimek bitkisinde hem bahar ve hem de güz döneminde kuru ağırlık bakımından bölgeler arasındaki farklılık istatistik açıdan çok yüksek düzeyde önemli ($P<0,001$) olarak hesaplanmıştır. Duncan testi sonuçlarına göre bahar döneminde azotlu kontrol ile 3. ve 4. bölge, pozitif kontrolle sadece 1. bölge arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuşken diğer bölgelerle olan fark önemsiz görölmüştür. Negatif kontrolün ise tüm bölgelerle arasındaki fark önemlidir ($P<0,05$).

Güz döneminde ise azotlu kontrol ile 2. ve 4. bölgeler, negatif kontrol ile 1.,3. ve 5. bölgeler arasındaki fark önemli olup pozitif kontrolün hiç bir bölgeyle olan farkı önemli bulunmamıştır. Bu bitkideki kuru ağırlık değerleri bakımından iki mevsim arasındaki fark 1. ve 2. bölgede önemli ($P<0,05$), 3.,4. ve 5. bölgelerde ise önemsizdir (Tablo 3.1.12).

Gürbüzer 1978 yılında sera şartlarında soya fasulyesiyle yaptığı çalışmada aşılı bitkilerdeki % azot değerlerinin % 3,40-0,77 arasında değişiklik gösterdiğini, azotsuz kontrolün ise % azot değerinin % 0,79 olduğunu görmüştür. Bizim yaptığımız çalışmada bu değerler sırasıyla % 2,46-1,94 ve % 1,75 olarak hesaplanmıştır. Her iki

araştırmada da azotsuz kontrollerin % azot değerlerinin aşılı bitkilerdeki değerlere yakınlık göstermesi dikkat çekmektedir.

Fasulye bitkisinde bahar döneminde bölgeler arasındaki % N bakımından farklılık istatistiki açıdan yüksek düzeyde önemli ($P<0,01$) olmasına karşılık, güz döneminde önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Bahar dönemine ait örneklerde, Duncan testi sonuçlarına göre azotlu kontrol ile tüm bölgeler arasındaki fark önemli ($P<0,05$), negatif kontrolün 4. bölgeyle arasındaki fark önemsiz ancak 1.,2.,3. ve 5. bölgelerle olan fark önemlidir. Pozitif kontrolün ise 2.,3. ve 5. bölgelerle arasındaki fark önemsiz iken 1. ve 4. bölgelerde önemlidir ($P<0,05$). Güz dönemine ait örneklerde ise azotlu kontrol ile 4. bölge arasındaki fark önemsiz, diğer bölgelerde önemlidir. Negatif kontrolün 2. bölgeyle arasındaki fark önemsiz olup diğer bölgelerle fark önemlidir. Ayrıca bölgelerdeki fasulye bitkilerindeki % N değerleri bakımından iki mevsim arasındaki fark 1.,2. ve 4. bölgelerde önemli ($P<0,05$), 2. ve 5. bölgelerde ise önemsiz olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.1.15.).

Bahar döneminde alınan toprak örneği ile aşılınmış mercimek bitkilerinin % N miktarları % 4,11-3,29, güz dönemine ait mercimek bitkilerinin ise % 4,04-2,98 olarak hesaplanmıştır. Azotlu kontrol bu ortalama % 4,15, negatif kontrolde ise % 1,94' dür. Araştırmada kontrol suşu olarak kullanılan *R.legumiosarum* Le735 suşunun % azot kapsamı ise 3,33 olarak hesaplanmıştır. Azotlu kontrol bitkisinin % N miktarının bahar ve güz dönemine ait tüm örneklerden daha yüksek olduğu, negatif kontrol olarak tanımladığımız azotsuz kontrolün ise % 1,94' lük değerle % azot kapsamının tüm aşılı örneklerden daha düşük olduğu görülmüştür (Tablo 3.1.16. ve Tablo 3.1.17.).

Sağıroğlu (1984) ve Ayhan (1995) fiğ bitkisiyle yaptıkları araştırmalarda azotlu kontrol bitkilerinin % azot değerini aşılı bitkilerin bir kısmından daha yüksek hesaplamışlar, ancak azotsuz kontrol bitkilerinin % azot değerlerinin yaptığımız çalışmada olduğu gibi tüm aşılı bitkilerden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Mercimek bitkisinde bahar döneminde bölgeler arasındaki % N bakımından farklılık istatistiki açıdan yüksek düzeyde önemli ($P<0,01$) olmasına rağmen güz döneminde önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre bahar döneminde azotlu kontrol ile sadece 5. bölge arasındaki fark önemli, diğer bölgelerle olan fark önemsizdir. Negatif kontrolün tüm bölgelerle olan farkı önemsiz olarak bulunmuş olup pozitif kontrolün ise sadece 1. bölgeyle arasındaki fark önemlidir ($P<0,05$). Güz dönemine ait örneklerde de azotlu ve negatif kontrolün durumu bahar dönemiyle aynı olup pozitif kontrol ile tüm bölgeler arasındaki fark önemsizdir. Bu bitkideki % N değerleri bakımından iki mevsim arasındaki fark 1. ve 5. bölgelerde önemli ($P<0,05$), 2., 3. ve 4. bölgelerde önemsizdir (Tablo 3.1.18).

Aşılı fasulye bitkilerinin ortalama total azot miktarları bahar dönemine ait örneklerde 50,68-33,46 mg, güz dönemine ait bitkilerde ise 88,96-37,19 mg arasında değişiklik gösterirken, azotlu kontrol bitkisinde 139,50 mg, negatif kontrol bitkisinde 29,29 mg, pozitif kontrol bitkisinde ise 73,62 mg olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.1.19. ve Tablo 3.1.120.) Değerlere bakıldığında azotlu kontrol bitkisinin total azot miktarının tüm aşılı fasulye bitkilerinin total azot miktarlarından yüksek, negatif kontrol bitkisinin ise düşük olduğu görülmektedir. Sadece 3 fg kodlu güz dönemine ait suşun total azot miktarı 88,96 ile pozitif kontrolden yüksek olup bahar ve güz dönemine ait olan diğer tüm bölgeler daha düşüktür.

Fasulye bitkisinde bahar ve g z döneminde bölgeler arasındaki total azot bakımından farklılığın istatistiki açıdan önemli ($P<0,05$) olduğu g r lm şt r. Duncan testi sonuçlarına göre bahara ait örneklerde, azotlu kontrol ile tüm bölgeler arasındaki fark önemli, negatif kontrolün sadece 3. bölgeyle arasındaki fark önemli diğer bölgelerle olan fark önemsizdir. Pozitif kontrolde ise durum negatif kontrolün tam tersidir. Göze ait örneklerde hem azotlu kontrolün hem de negatif kontrolün tüm bölgelerle arasındaki fark önemli ($P<0,05$), Pozitif kontrolün ise tüm bölgelerle olan farkı önemsizdir. Ayrıca bölgelerdeki fasulye bitkilerindeki total azot değerleri bakımından iki mevsim arasındaki farklılığa bakıldığında sadece 5. bölgedeki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

Aşılı mercimek bitkilerinin ortalama total azot miktarları bahar dönemine ait örneklerde 21,07-9,68 mg, g z dönemine ait bitkilerde ise 15,62-10,85 mg, azotlu kontrol bitkisinde 17,04 mg, negatif kontrol bitkisinde 3,89 mg iken pozitif kontrol bitkisinde bu değer 11,01 mg olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.1.22. ve Tablo 3.1.23.). Aşılı bitkilerden bahar dönemine ait 1 mb kodlu suşun total azot miktarının azotlu kontrolden daha yüksek olduğu ve bazı bölgelerin total azot değerlerinin azotlu kontrole yakın olduğu görülmektedir. Negatif kontrol bitkisinin total azot miktarı bahar ve g z dönemine ait tüm aşılı bitkilerden daha düşük olup, pozitif kontrolün örneklerle olan yakınlığı dikkat çekmektedir.

Mercimek bitkisinde bahar döneminde bölgeler arasındaki total azot bakımından farklılığın istatistiki açıdan yüksek düzeyde önemli ($P<0,01$), g z döneminde ise önemli ($P<0,05$) olduğu g r lm şt r. Bahar mevsimine ait örneklerde Duncan testi sonuçlarına göre Azotlu kontrolle 1.ve 2. bölgeler arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz, 3.4.ve 5. bölgelerde önemli olarak tespit edilmiştir.Negatif

kontrolün tüm bölgelerle arasındaki fark önemli ($P<0,05$), Pozitif kontrolde ise sadece 1. bölgeyle olan fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Güz döneminde azotlu kontrolün 1.,2.,4. ve 5. bölgelerle, pozitif kontrolün 3. bölgeyle, negatif kontrolün ise tüm bölgelerle arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Mercimek bitkilerindeki total azot değerleri bakımından mevsimsel farklılıklara bakıldığında 1.2. ve 3. bölgelerdeki fark önemli ($p<0,05$), 4.ve 5. bölgelerde ise önemsiz olarak hesaplanmıştır.

Toprakların doğal *Rhizobium* popülasyonlarının azot fiksasyon güçleri 70 ppm azot eşdeğeri KNO_3 ile muamele edilen bitkiler ile kıyaslandığı zaman *R.leguminosarum* suşlarının bahar dönemine ait suşlarının % 20 sinin 70 ppm azottan daha fazla fiksasyon gerçekleştirdiği, güz dönemine ait suşların hiçbirinin ise 70 ppm azottan daha fazla fiksasyon gerçekleştiremediği görülmüştür. Karuç ve arkadaşları 1993' de yaptıkları çalışmada *R.leguminosarum* suşlarının % 55'inin daha fazla fiksasyon gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar *R.phaseoli* suşlarının Kazan ilçesinde elde edilen izolatlarının %52' sinin, Kızılcabamam' dan elde edilenlerin % 90'ının bu özelliği gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise *R.phaseoli* ye ait hiçbir suş 70 ppm azottan daha fazla fiksasyon gerçekleştirememiştir

Rhizobium cinsinin sınıflandırılması henüz tam olarak açıklık kazanmış değildir. *Rhizobium* suşları baklagil bitkilerinde nodül oluşturma yeteneklerine göre 6 türe ayrılmışlardır. Ancak günümüzde bu tip bir sınıflandırmanın yetersiz olduğu anlaşılmıştır. Çünkü *Rhizobium* suşları çeşitli gruptaki bitkiler üzerinde nodül meydana getirebilmektedir. Bu durumda herhangi bir suşu bir çalışmada *R.meliloti*, diğer bir çalışmada ise *R.trifolii* olarak tanımlamak mümkündür. *R.japonicum* suşları

ise kendi grubunda bulunan bitkilerin bazılarında nodül meydana getirmemektedir. Tüm bu sebeplerden dolayı da türlerin bazı morfolojik, kültürel ve biyokimyasal özelliklerinin araştırılması yoluna gidilmiştir.

Yaptığımız çalışmada doğal *R.leguminosarum* ve *R.phaseoli* suşlarının Rhizobium bakterilerinin gram boyama sonuçlarına uygun olarak gram (-) oldukları görülmüştür. Suşların hepsi YMA besiyerinde mukoz oluştururken 1 mb ve 2 mb kodlu doğal *R.leguminosarum* suşlarıyla 3 fg kodlu doğal *R.phaseoli* suşlarının mukoz oluşumunun diğer türlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen suşların hepsinin hareketli olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.2.1.ve Tablo 3.2.2.).

Araştırmamızda her iki bakteriye ait suşların tümü kongo kırmızısını absorblamışlardır. Ancak *R.leguminosarum* suşlarından 1 mg, 2 mg, 1mb ve 2 mb *R.phaseoli* suşlarından ise 1 fg, 3 fg, 5 fg, 1fb ve 5 fb kodlu izolatlarda daha kuvvetli bir absorbsiyon gözlenmiştir. Sağiroğlu 1984' de *R.leguminosarum*' la yaptığı araştırmada, suşların büyük bir kısmının kongo kırmızısını az miktarda alarak açık pembe renkli bir yetiştirme gösterdiğini söyleyerek koloni renklerini çok açık pembe, açık pembe ve pembe olarak değerlendirmiştir. Gürgün (1978) araştırmasında bazı türlerin kongo kırmızısını kuvvetle absorbladığını bildirmiştir.

Brom timol mavili YMA içeren ortamda doğal suşların hepsi 36 saat ve 120 saat sonra üreme göstermişler ve asit oluşturmuşlardır. 5 mg ve 2 fb kodlu suşlar haricindeki tüm suşlar laktozlu besiyerinde üreme göstermişlerdir (Tablo 3.2.1. ve Tablo 3.2.2.).

Bergey's Manual (1957) ' ye göre, *Rhizobium* bakterilerinin Litmuslu sütte verdikleri reaksiyonlar türlere özgüdür. *Rhizobium meliloti* suşları asit reaksiyon

verirler ve serum zonu teşekkül ettirirler. Diğer 5 tür ise alkali reaksiyon verir. Serum zonu yalnız *R.lupini* ve *R.japonicum* türlerinde teşekkül etmez (Buchanan ve Gibbons,1974). Oysa yaptığımız çalışmada doğal *R.leguminosarum* suşlarının % 30'u, *R.phaseoli*' nin % 20' sinde serum zonu oluşmamıştır. Graham ve Parker (1964) farklı bölgelerden ve konakçılardan izole ederek inceledikleri 79 *Rhizobium* suşundan 13 tanesi *R.leguminosarum*, 5 tanesi ise *R.phaseoli* ' dir. Bu araştırmada da *R.leguminosarum*' un % 47' si, *R.phaseoli*' nin % 60' ı serum zonu oluşturmamıştır. Bu sonuç bizim bulgularımızla benzerlik göstermekte olup litmuslu süt reaksiyonlarının her zaman kesin bir ayırım yapma imkanı vermediğini düşündürmektedir. Bu araştırmacıların yaptıkları araştırmada her iki bakteriye ait tüm suşlar alkali reaksiyon vermişlerdir. Yaptığımız çalışmada da her iki *Rhizobium* türüne ait tüm suşların alkali reaksiyon verdiği gözlenmiştir .

Graham ve Parker (1964)'in araştırmalarında *R.leguminosarum*' un 13 suşundan katalaz aktivitesi 11, metilen mavisi redüksiyonu 7 suşda pozitifdir. *R. Phaseoli*' nin ise 5 suşundan 4 'ünde metilen mavisi redüksiyonu pozitif olup suşların hepsinde katalaz aktivitesi görülmüştür. Yaptığımız araştırmada *R.leguminosarum*' un toplam 10 suşundan 8' inde, *R.Phaseoli*' nin ise tüm suşlarında katalaz aktivitesi pozitif sonuç vermiştir. Metilen mavisi redüksiyonu, *R.leguminosarum*' un 6, *R.phaseoli*' nin 9 suşunda pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.2.1. ve Tablo 3.2.2.). Bu sonuçlar Graham ve Parker' in araştırma sonucu ile uygunluk göstermektedir. Yaptığımız çalışmada *R.leguminosarum*' un 2 , *R.phaseoli*' nin 1 suşu jelatini parçalamıştır.

Graham, 1964' de yapmış olduğu bir araştırmada *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Chromobacterium* ve *Beijerckia* türlerine ait 121 suşun 100 değişik

özelliğini karşılaştırmıştır. Birbirleriyle çok yakın özellikler göstermeleri nedeniyle *R.leguminosarum*, *R.trifolii* ve *R.phaseoli* türlerini *R.leguminosarum* adı altında tek bir tür olarak birleştirmiştir. Yaptığımız çalışmada da suşların kültürel ve biyokimyasal özellikleriyle ilgili bulgulara bakıldığında *R.leguminosarum* ve *R.phaseoli* ' ye ait özelliklerin benzer olduğu ve bu türler arasında kesin bir ayrımın yapılmasının pek mümkün olmadığı görülmektedir.

Rhizobium ' ların sınıflandırılmalarını aydınlatmak için bazı morfolojik,kültürel ve biyokimyasal özelliklerin araştırılması yoluna gidildiğini söylemiştik . Ancak yapılan araştırmalar ışığında bugün bunun pek mümkün olmadığı görülmektedir. Öyle ki aynı bitkiden izole edilen 2 suş bile, tamamen farklı özellikler gösterebilmektedir.

Tarıma yeni açılan veya yeterli *Rhizobium* popülasyonuna sahip olmayan alanlarda azotlu gübre kullanmaksızın yüksek verim elde etmek için, seçilen etkili *Rhizobium* suşlarıyla inoküle edilmesi gereklidir. İdeal *Rhizobium* inokülant suşları yüksek simbiyotik etkinliğe sahip olmalı, topraklarda uzun süre canlı kalabilmeli ve yerli suşlarla rekabet edebilmelidir. Yüksek kaliteli inokülantlar kullanıldığında başarılı bir nodülasyon gerçekleşmesi için, doğal *Rhizobium* popülasyonunun sayısı, etkinliği ve performansı hakkında bilgi sahibi olmak gerekir (Moawad ve Beck,1991). Yöremizde mercimek bitkisi ekili tarlalardan alınan topraklarda hem yeterli doğal *R.leguminosarum* popülasyonunun bulunduğu hemde bu suşların simbiyotik etkinliklerinin yüksek olduğu (%60) anlaşılmıştır. Sera denemesiyle yüksek simbiyotik etkinliğe sahip olduğu belirlenen suşlar, tarla denemelerinde simbiyotik etkinlik, rekabet, nodülasyon ve azot fiksasyon yetenekleri tespit edildikten sonra inokülant suş olarak kullanılabilirler. Fasulye bitkisi ekili tarlalardan alınan toprak

örneklerinde yeterli *R.phaseoli* popülasyonunun mevcut olduğu ,ancak suşların simbiyotik etkinliklerinin düşük olduğu görülmüştür. Yöremizdeki fasulye ekili alanların etkili suşlarla inoküle edilmesi bitki *Rhizobium* sistemi ile tespit edilen azot miktarının artmasını büyük ölçüde etkileyeceği düşünülmektedir.



5. KAYNAKLAR

- ANONİM, (1997). Tarım İstatistikleri Özeti. **T.C.Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü**. Yayın no: 2137, 20-21.
- ANONİM, (1996). Tarımsal Yapı ve Üretim. **T.C.Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü**. 101.
- ARAUJO,R.S.,MAYA-FLORES,J.,BARNES-McCONNEL,D.,YOKOYAMA,C.,
DAZZO,F.B. ve BLISS,F.A.,(1986). Semienclosed Tube Cultures of Bean Plants (*Phaseolus vulgaris* L.) for Enumeration of *Rhizobium phaesoli* by the Most Probable Number Technique. **Applied and Enviromental Microbiology**, 954-956.
- AYHAN,K.,(1995). Ankara'nın Kazan İlçesi Topraklarından İzole Edilen *Rhizobium leguminosarum* suşlarının Simbiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi. **Kükem Dergisi**. Cilt 18, Sayı 1.,51-56.
- BERGERSEN,F.J.(1980). Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation. **Division of Plant Industry**. Canberra, 148-149.
- BROCKWEL,J.(1982). Plant-Infections Counts of Rhizobia in Soil. In:J.M. Vincent(ed), **Nitrogen Fixation in Legumes**. Academic Press,41-57
Australia.
- BROCKWELL,J.,HOLLIDAY,R.A.,PILKA,A.(1988). Evaluation of The Symbiotic Nitrogen-Fixing Potential of Soils by Direct Microbiological Means. **Plant and Soil**. 108,163-170.

BUCHANAN, R.E. ve GIBBONS, N.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eight edition. **The Williams and Wilkins Company**, Baltimore, 261-264.

ÇAKMAKÇI, L.M., (1987). Biyolojik Azot Tespiti ve Ekolojik Araştırma Yöntemleri. **Tübitak. Tarım Ormancılık Araştırma Grubu. Tarımsal Mikrobiyoloji Araştırma Ünitesi. Yayın No:2** Ankara.

DOOWLING, D.N. ve BROUGHTON, W.J., (1986). Competition for Nodulation of Legumes. **Annual Reviews in Microbiol.** Vol:40, 131-157.

DROSINSKII, L.M., KADYROV, A.A., (1976). The effect of inoculation on nitrogen fixation chickpeas and on the yield and protein content of the crop. **Soil and Fertilizer**, 39, 3661.

DUBE, J.N., (1976). Yield responses of soybean, chick pea, pea and lentil to inoculation with legume inoculants. In symbiotic Nitrogen fixation in plants. International Biological Programme. No:7, 203-207. **Cambridge University Press**.

DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T. ve GÜRBÜZ, F., (1983). İstatistik Metotları I., **Ankara Üniversitesi, Ziraat Fak.yayınları**, 185-188, Ankara.

ERSİN, B., (1974). Fiğ Rhizobium bakterisi İzolasyonu. **Köy İşleri ve Kooperatifler Bakanlığı, Topraksu Müdürlüğü. Menemen Bölge Topraksu Araştırma Enstitüsü Yayınları. Yayın No: 40.** İzmir.

GEZGİN, S. ve KARAKAPLAN, S., (1992). Konya-Çumra Ovası Topraklarında Bitkiye faydalı Azot Miktarının Tayininde Kullanılabilecek Yöntemler Üzerine Bir Araştırma. **Tr.J.of.Agricultural and Forestry**. 18, 235-241.

GIBBS,B.M. ve SHAPTON,D.A.,(1968). Identification Methods for Microbiologist.

Academic Press. London, 51-62.

GÖKTAN,D., (1974). Türkiye' nin Çeşitli Yerlerinden İzole Edilen R.phaseoli

Suşlarının Etkinlik Durumlarının Saptanması. **Doktora Tezi**, Ankara.

GRAHAM,P.H. ve PARKER, C.A.,(1964). Diagnostic Features in The

Characterization of The Root-Nodule Bacteria of Legumes. **Plant and Soil**,

XX, 3, 383-396.

GRAHAM,P.H.,(1964). The Application of Computer Tecniques to the Taxonomy

of the Taxonomy of The Root Nodule Bacteria of Legumes.

J.Gen.Microbiol.511-517.

GÜRBÜZER,E.(1978). En Fazla Azot Tespit Etme Özelliği Gösteren Soya

Fasulyesi Nodozite Bakterilerinin Seçilmesi. **Köy İşleri ve Kooperatifler**

Bakanlığı, Topraksu Genel Müdürlüğü. Toprak ve Gübre Araştırma

Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları. Yayın No:78, Ankara.

GÜRBÜZER,E.,(1973). Rhizobium meliloti Suşlarının Özellikleri ve Etkinlik

Derecelerinin saptanması. **Doktora Tezi**, Ankara.

GÜRGÜN,V.,(1978). Bazı Nohut Rhizobium Suşlarının Kültürel karakterleri İle Azot

Tespit ve Rekabet Etme Güçlerinin Saptanması Üzerinde Araştırmalar.

Ankara Üniv., Ziraat Fak., Ziraat Mikrobiyolojisi Kürsüsü. Ankara.

GÜRGÜN,V. ve HALKMAN,A.K.,(1990). Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. Gıda

Teknolojisi Derneği, Yayın No: 7, 2.Baskı, 38-39.

- HOLDING,A.J. ve KONG,J.,(1963). The Effectiveness of İndigeneous Populatinns of *Rhizobium trifolii* In Relation to Soil Factors. **Plant and Soil**. Vol: 18, 191-198.
- KARUÇ,K.,AYHAN,K.,AKÇELİK,M. ve GÜRGÜN,G.,(1993). *Rhizobium japonicum* Suşlarının Azot Fiksasyon ve Nodülasyon Yeteneklerinin Ekolojik ve Genetik Analizi Üzerinde Araştırmalar. **Kükem Dergisi**.8.Kükem Kongresi Özel Sayısı.108-109.
- KARUÇ,K.,CEBEL,N. ve ALTUNTAŞ,S.,(1993). Ankara İli Kazan ve Kızılcahamam İlçeleri Topraklarının Doğal *Rhizobium* Populasyonu Üzerinde Bir Çalışma .**Kükem Dergisi**. 8.Kükem Kongresi Özel Sayısı,120-121.
- KÖŞKER,Ö. ve KITIŞ,G.,(1980). Mercimek Kök Nodül Bakterilerinin İzolasyonu, Karakteristikleri ve Nitrojen Tespit Etme Güçleri Üzerine Araştırmalar, **İhtisas Tez Özetleri, A.Ü.ziraat Fak.Diploma Sonrası Yüksek Okulu**, Ankara, 246-262.
- MARSHALL,D.J.,BATEMAN,S.D. ve BROCKWELL,S.,(1993). Validation of a serial-dilution, plant infection test for enumerating *Rhizobium leguminosarum* bv.viciae and its application for caunting rhizobia in acid soils. **Soil Biology and Biochemistry**. 25:2, 261-268.
- MATOS,I. ve SCHODER,E.C., (1985). Strain Selection for Pige on Pea *Rhizobium* Under Greenhouse Conditions. **Plant and Soil**, 116, 19-22.
- MOAWAD,H. ve BECK,D.P.,(1991). Some Characteristics of *Rhizobium leguminosarum* Isolates from Üninoculated Field-Grown Lentil. **Soil and Biochem**. Vol: 23, 10, 933-937.

- SAĞIROĞLU, G., (1984). Doğu Anadolu Bölgesi fiğlerinden etkili nodozite bakterilerinin (*Rhizobium leguminosarum* Frank) seçimi. **Doktora Tezi, Fırat Üniv.Fen Bilimleri Enst.,Elazığ.**
- SAĞIROĞLU,G. (1994). Biyolojik Azot Tespiti. **Kükem Dergisi**. Cilt:17, Sayı:2, 17-21.
- SAĞIROĞLU,G.,ÖZÇELİK,S. ve KAYMAZ,S.(1991). Elazığ ve Yöresinde Üretilen Mercimek Bitkilerinden Etkili Nodozite Bakterilerinin (*R.Leguminosarum biovar. viciae*) Seçimi. **Doğa** 17.565-573.
- SCOTT,D.B.,(1977). Recent Developments in the Biochemistry of Nitrogen Fixation in the Legume-Rhizobium Symbiosis. **Ciencia e Cultura**, 30 (2), 185-192.
- SHEILA,N.M., BENBOHLOOL,B.,(1983). Competition Among *Rhizobium leguminosarum* Strains for Nodulation of Lentils (*Lens esculenta*). **Applied and Enviromental Microbiology**.960-965.
- SOMOSEGANAN,P. ve HOBEN,J.,(1985). Metot in Legum-Rhizobium Tecnology. **University of Hawai, Niftal Project and Mircen**, Department of Agronomy and Soil.
- SÜMBÜLOĞLU,K. ve SÜMBÜLOĞLU,V.,(1993). Biyoistatistik, **Özdemir Yayıncılık**, 152-156.Ankara.
- SÜMBÜLOĞLU,K. ve SÜMBÜLOĞLU,V.,(1993). Biyoistatistik, **Özdemir Yayıncılık**, 145-148.Ankara.

TOSUN,F.,(1974). Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri Kültürü. Baklagil ve Yem Bitkilerinin Havadaki Azottan Faydalanması ve Bunun Ziraattaki Önemi.

Atatürk Üniv. Yayınları No:242. Erzurum, 52-62.

TAMER,A.Ü.,ŞAHİN,N.,İPEK,I. ve KALMIŞ,E.,(1994). Ekosistemdeki Azot Devrinde Mikroorganizmaların Yeri. **Ekoloji Dergisi. 11,8-11.**

TOOMSAN,B.,RUPELA,O.P.MITTAL,S.,DART,P.J. ve CLARK,K.W.,(1984). Counting cicer-Rhizobium Using a Plant Infection Tecnique. **Soil Biol.Biochem. Vol:16,5,503-507.**

UÇAR,F. ve ÖNER,M.,(1986). Nohut Kök Nodüllerinden İzole Edilen Rhizobium Suşlarının Morfolojik ve Biyokimyasal Karakterleri. **Doğa 12,2, 135-139.**

ÜLGEN,H.,(1975). Baklagil Bitkilerinin Nodül Bakterileri (*Rhizobium*) İle Aşılması. **Köy İşleri Bakanlığı,Topraksu Genel Müdürlüğü. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü. Yayın no: 56 Ankara.**

ÜLGEN,H.,(1980). Bakteri Kültürü ve Aşılamanın Baklagil Bitkilerinin Ürün Miktarına ve Azot Kapsamına Etkisi. **Köy İşleri Bakanlığı, Toprak Su Genel Müdürlüğü. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 94, Ankara.**

VINCENT,J.M.(1970). A Manual for The Practical Study of The Root Nodule Bacteria. **IBP Handbook No:15.**

VINCENT,J.M.(1982). Nitrogen Fixation in Legumes. **Academic Press. Rapid Manuscript Reproduction.**