



**FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN  
MİKROBİYAL PREPARATLARIN NOHUT BİTKİSİ  
(*CICER ARIETINUM L.*) GELİŞİMİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**EMRE TUNÇ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**

**DANIŞMAN: PROF.DR. İSA KARAMAN**

**Temmuz - 2019**

**Her hakkı saklıdır**

T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN MİKROBİYAL  
PREPARATLARIN NOHUT BİTKİSİ (*CICER ARIETINUM L.*)  
GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

EMRE TUNÇ

TOKAT  
Temmuz - 2019

Her hakkı saklıdır

EMRE TUNÇ tarafından hazırlanan “Farklı Ortamlardan İzole Edilen Mikrobiyal Preparatların Nohut Bitkisi (*Cicer arietinum L.*) Gelişimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 18 Temmuz 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyomühendislik Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. İsa KARAMAN

İkinci Danışman

Doç. Dr. Uğur TUTAR

Cumhuriyet Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yaşar GÜLMEZ

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Hayreddin GEZEĞEN

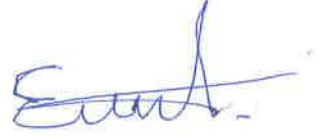
Cumhuriyet Üniversitesi



Prof. Dr. Cevat ÇEKİÇ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**EMRE TUNÇ**

**18 Temmuz 2019**

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### FARKLI ORTAMLARDAN İZOLE EDİLEN MİKROBİYAL PREPARATLARIN NOHUT BİTKİSİ (*CICER ARIETINUM L.*) GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

EMRE TUNÇ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. İSA KARAMAN)  
(İKİNCİ DANIŞMAN: DOÇ. DR. UĞUR TUTAR)

Mikrobiyal gübreler genel olarak; atmosferik azotu toprağa bağlayan, potasyumlu ve fosforlu bileşikleri parçalayarak bitki için kullanılabilir forma getiren, büyüme ve gelişme faktörlerini arttıran, ATP üretimini arttıran, fosforilated polisakkaritler gibi bol miktarda şekerürettiren ve bu bileşikleri aktive eden, zararlı mikroorganizmaları baskılayan, organik maddeleri parçalayarak toprağın havalanması ve su tutma kapasitesini arttıran mikroorganizma içerikli ürünlerdir. Tarımda yüksek verim elde etmek için kullanılan kimyasal gübreler ve böcek ilaçları çevre kirliliği, sağlık tehlikeleri, doğal ekolojik besin döngüsünün kesintiye uğraması ve üretimini destekleyen biyolojik unsurların tahrip edilmesi gibi problemleri oluşturmaktadır. Bu çalışmanın amacı farklı ortamlardan izole edilen mikrobiyal preparatların nohut bitkisi (*Cicer arietinum L.*) gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Tarım arazisi olmayan ve yabani bitki gelişiminin yoğun olduğu yaylalardan alınan toprak örneklerinden izolasyon işlemleri yapılmıştır. Özel besiyerlerine ekim ile saflaştırma işlemleri yapılmış ve mikrobiyal preparatlar hazırlanmıştır. Deneme parsellerine nohut bitkisi 5 tekerrürlü olarak ekilmiştir. Oluşturulan preparatlar, nohut üzerine bulk, bead şeklinde, vermikompost ile birlikte ve ayrıca bakteriyel tohum kaplama yapılarak uygulanmıştır. Bitkinin gelişimi ve normal şartlardaki gelişimi üzerindeki etkilerine göre karşılaştırma yapıp, elde edilen bulgulara göre kontrole kıyasla, F5 kaplama grubu nohut üzerinde tüm gelişim parametrelerinde artışa sebep olduğu analiz edilmiştir.

2019, 69 SAYFA

**ANAHTAR KELİMELER:** Nohut, İmmobilizasyon, PGPR, Vermikompost, Mikrobiyal gübre

## **ABSTRACT**

### **DETERMINING THE EFFECT OF MICROBIAL PREPARATIONS ON DEVELOPMENT OF CHICKPEA PLANT (*CICER ARIETINUM L.*) ISOLATED FROM DIFFERENT ENVIRONMENTS**

**EMRE TUNÇ**

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOENGINEERING**

**(SUPERVISOR: PROF. DR. İSA KARAMAN)  
(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. UĞUR TUTAR)**

Microbial fertilizers in general; are necessary for the aeration atmospheric nitrogen, which binds to the soil, decomposes the potassium and phosphorus compounds to form usable for the plant, increases growth and development factors, increases the production of ATP, produces abundant sugars such as phosphorylated polysaccharides, activates these compounds, suppresses harmful microorganisms, decomposes organic substances and products containing microorganisms that increase soil aeration and water retention capacity. Chemical fertilizers and pesticides used to obtain high yields in agriculture cause problems such as environmental pollution, health hazards, interruption of the natural ecological nutrient cycle and destruction of biological elements supporting production. The aim of this study was to investigate the effect of microbial preparations isolated from different media on chickpea (*Cicer arietinum L.*) growth. Isolation was carried out from soil samples taken from highlands where there is no agricultural land and where wild plant growth is intense. Purification was carried out by cultivation on special media and microbial preparations were prepared. Chickpea plant was planted with 5 replications. The prepared preparations were applied on chickpeas in bulk, bead form, with vermicompost and also with bacterial seed coating. When compared with the effects of plant growth and development under normal conditions, according to the results obtained, it was analyzed that the F5 coating group caused by an increase in all growth parameters compared to the chickpea.

2019, 69 PAGE

**KEYWORDS:** Chickpea, Immobilization, PGPR, Vermicompost, Microbial fertilizer

## ÖNSÖZ

Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Biyomühendislik Bölümü'nde lisans eğitim döneminden bu yana tanıdığım, bilimsel çalışma ve hocalığına her zaman saygı duyduğum ayrıca yapıcı, sakin, pozitif yaklaşımları ve çok kıymetli fikirleri ile çalışmalarımın her aşamasında emeğini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. İsa KARAMANA'a sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım. Yüksek lisans çalışmam esnasında tüm arazi, laboratuvar ve yorumlama çalışmalarım sırasında hep birlikte olduğumuz ve birlikte zorlu çalışmaların üstesinden geldiğimiz birlikte bilgi ve deneyimlerimizi paylaştığımız ve keyifli bir dönem geçirdiğim çalışma arkadaşlarım olan Merve GÜCCÜK, Rabiye KARATAŞ, Hatice Nur GİRGİN ve Şule İNİŞ'e emeklerinden ve desteklerinden dolayı çok teşekkür ediyorum. Hiçbir karşılık beklemeden tez çalışmam sırasında çeşitli malzemeler kullandığımız. Prof. Dr. Bilge Hilal ÇADIRCI, Dr. Öğr. Üyesi Kıymet BERKİL AKAR ve Prof. Dr. İsa GÖKÇE ve hocalarımıza ayrı ayrı teşekkür ediyor şükranlarımı sunuyorum. Okul hayatımda ve yaşamım boyunca bana her açıdan destek olan, kendilerinden çok beni düşünen minnettar olduğum aileme de çok teşekkür ediyorum.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ .....	xi
1.GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	4
2.1 Nohut .....	4
2.2 PGPR Mikroorganizmalar .....	6
2.2.1 Azot bağlaması .....	6
2.2.2 Fosforu çözmesi .....	7
2.2.3 Fitohormon üretimi .....	7
2.2.4 Enzim üretimi .....	8
2.2.5 İndirekt etki mekanizmaları .....	9
2.3 Hücre İmobilizasyon Yöntemleri.....	10
2.3.1 Jel tutturma .....	10
2.3.2 Bir bariyerin arkasındaki hücreler .....	10
2.3.3 Kapsülleme .....	10
2.3.4 Adsorpsiyon .....	11
2.4 Mikrobiyal Nohut Gelişimi Üzerine Yapılan Çalışmalar .....	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	14
3.1.Materyaller.....	14
3.1.1 İzolasyon çalışmaları için kullanılan özel ve genel besiyerleri .....	14
3.1.2 Toprak örneği.....	14
3.1.3 İmmobilizasyon materyalleri .....	14



3.1.4 Nohut Tohumu .....	14
3.1.5 Vermikompost (V) .....	14
3.2 Yöntemler .....	16
3.2.1 Spesifik ve genel besiyerlerinin hazırlanması .....	16
3.2.2 Toprak örneğinin ekim için distilasyonunun yapılması .....	24
3.2.3 Seyreltilmiş toprak örneğinin besiyerlerine ekilmesi .....	25
3.2.4 Besiyerlerinden çıkan bakterilerin saflaştırılması .....	25
3.2.5 Saflaştırılan bakterilerin tablolandırılması .....	26
3.2.6 Saflaştırılan bakterilerin liyofilizasyonu .....	29
3.2.7 İmmobilizasyon için matrix hazırlama .....	30
3.2.8 Vermikompost oluşturulması .....	31
3.2.9 Vermikompostun torf kullanılarak seyreltilmesi .....	31
3.2.10 Nohut tohumunun üzerine bakteri kaplanması .....	32
3.2.11 Nohut bitkisine bead, toz ve vermikompost uygulamaları .....	33
3.2.12 Nohut bitkisinin ekim şeması .....	33
4. BULGULAR .....	35
4.1 Kuru Nohut Etkili Gruplar .....	35
4.2 Nohut Gelişim Parametreleri .....	35
4.2.1 Nohut boy uzunluğu verileri .....	35
4.2.2 Nohut gövde kalınlığı, tane sayısı, ağırlık değerleri .....	35
4.2.3 Nohut en uzunluğu verileri .....	40
4.2.4 Nohut ağırlık verileri .....	42
4.1.4 Nohut tane sayısı verileri .....	43
4.3 Nohut tohumu tane dökümü .....	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	51
6. KAYNAKLAR .....	52
7. ÖZGEÇMİŞ .....	55

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

$Al^{+3}$

(ACC)

$Ca^{+}$

$CaCl_2$

$CaCO_3$

$CoCl_2.6H_2O$

$CuCl_2.2H_2O$

$CaCl_2.H_2O$

$Ca_3(PO_4)_2$

$CaSO_4.2H_2O$

$CaCl_2.2H_2O$

$Cu(NO_3)_2$

$Fe^{+3}$

$FeCl_3$

$FeSO_4$

$FeSO_4.7H_2O$

$HPO_4^{-2}$

$H_2SO_4$

$HCl.2H_2O$

$H_2PO_4^{-}$

$H_3NO_3$

$H_3BO_3$

$K_2HPO_4$

$KH_2PO_4^{-}$

K

### Açıklamalar

Alüminyum

1-aminoklopropan-1-karboksilat

Kalsiyum

Kalsiyum klorür

Kalsiyum karbonat

Kobalt klorit hekzahidrat

Bakır klorit dihidrat

Kalsiyum Klorür Monohidrat

Trikalsiyum fosfat

Kalsiyum Sülfat Dihidrat

Kalsiyum Klorür Dihidrat

Bakır(II) Nitrat

Demir

Demir (III) klorür

Demir II sülfat

Demir sülfat heptahidrat

Dihidrojen fosfat

Sülfürik asit

Hidrojen klorür dihidrat

Dihidrojen fosfat (monobasic)

Azonik asit

Borik asit

Dipotasyum fosfat

Potasyum Fosfat Monobazik

Potasyum

KOH	Potasyum hidroksit
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum fosfat
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Potasyun Sülfat
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	Manganez (II) klorit tetrahidrat
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	Mangan (II) sülfat
Mn <sup>+2</sup>	Mangan
MnSO <sub>4</sub>	Manganez Sülfat
MgSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	Magnezyum Sülfat Monohidrat
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Magnezyum sülfat Heptahidrat
Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum
Na-Malat	Sodyum Malat
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Sodyum Molibdat Dihidrat
NaOH	Sodyum Hidroksit
Na <sup>+</sup>	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NiCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Nikel klorür dihidrat
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	Sodyum Molibdat
NaCl	Sodyum Klorür
N <sub>2</sub>	Azot
NO <sub>3</sub>	Nitrata
NO <sub>2</sub>	Nitrit
NH <sub>4</sub> .2SO <sub>4</sub>	Amonyum sülfat
P	Fosfor
ZnSO <sub>4</sub>	Çinko sülfat
Zn <sup>+2</sup>	Çinko
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

## Kısaltmalar

Ark

cm

DNA

gr

ha

g/L

kg

IAA

lt

MHA

MHB

MAA

mg

ml

mm

NA

NB

NA

NB

pH

PGPR

rRNA

rpm

sp.

ml

TÜİK

V

## Açıklamalar

Arkadaşları

Santimetre

Deoksiribo Nükleik Asit

Gram

Hektar

Litre başına düşen gram

Kilogram

İndol-3-asetik asit

Litre

Mueller Hinton Agar

Mueller Hinton Broth

Mannitol Ashby Agar

Miligram

Mililitre

Milimetre

Nutrient Agar

Nutrient Broth

Nutriend Agar

Nutriend Broth

Hidrojen Potansiyeli

(Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kök Bakterileri)

Ribozomal RNA

Dakikadaki devir sayısı

Tür

Mililitre

Türkiye İstatistik Kurumu

Vermikompost

vb

YDCA

YD

YEMA

ve benzeri

Yeast Dextrose Carbonate Agar

Yeast Dextrose Agar

Yeast Extract Mannitol Agar



## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan vermikompost .....	15
Şekil 3.2 Toprak örneği dilüsyonu.....	24
Şekil 3.3 Distilasyon sonrası oluşan koloniler.....	25
Şekil 3.4 Saflaştırılmış liyofilize mikrobiyal KR-109 toz .....	29
Şekil 3.5 İmmobilize edilmiş bakteri tozları.....	30
Şekil 3.6 Nohut gruplarının %100 vermikompost üzerinde çimlenmesi.....	31
Şekil 3.7 Hazırlanmış nohut bakteriyel kaplama ve liyofilize bakteri toz.....	32
Şekil 3.8 Nohut tohumunun kaplanması ve kurutulması 1.gün.....	32
Şekil 3.9 Nohut tohumunun kaplanması ve kurutulması 2.gün.....	33
Şekil 4.1 Şekil 4.1 F3, F4 ve F5 kaplama gruplarının kuru nohut gelişimi.....	41
Şekil 4.2 Bead 25 grubunun kuru nohut gelişimi .....	41
Şekil 4.3 MG 2 toz grubunun kuru nohut gelişimi .....	42
Şekil 4.4 F3 + vermikompost grubunun kuru nohut gelişimi .....	42
Şekil 4.5 Kuru nohut kontrol grubu .....	37
Şekil 4.6 Kontrol ve F5 kaplama en uzunluğu kıyaslaması.....	48
Şekil 4.7 Kontrol ve F5 kaplama boy uzunluğu kıyaslaması .....	48
Şekil 4.8 Kontrol ve MG2 toz boy uzunluğu kıyaslaması .....	49
Şekil 4.9 Kontrol ve MG2 toz en uzunluğu kıyaslaması .....	35
Şekil 4.10 Kontrol ve F3 + vermikompost boy uzunluğu kıyaslaması.....	43
Şekil 4.11 Kontrol ve F3 + vermikompost en uzunluğu kıyaslaması .....	43
Şekil 4.12 Nohut bitkisi en uzunluğu varyans analiz grafiği.....	45
Şekil 4.13 Nohut bitkisi ağırlık verileri varyans analiz grafiği.....	45
Şekil 4.14 Kontrol ve F3 + vermikompost kıyaslaması.....	48
Şekil 4.15 Kontrol ve MG2 toz kıyaslaması.....	48
Şekil 4.16 Kontrol ve F5 kaplama kıyaslaması .....	49

## ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Türkiye nohut verileri.....	4
Çizelge 3.1 10436 özel besiyer içeriği.....	16
Çizelge 3.2 Yeast dextrose carbonate agar media(YDCA) .....	16
Çizelge 3.3 B-2662 özel besiyer içeriği.....	17
Çizelge 3.4 Pıkovskaya media .....	17
Çizelge 3.5 Yeast dextrose agar media(YD) .....	18
Çizelge 3.6 Dobreiner N-free malat media.....	18
Çizelge 3.7 Yeast extract mannitol agar media(YEMA).....	19
Çizelge 3.8 Ashby N-free sukroz media .....	19
Çizelge 3.9 7519 özel besiyer içeriği.....	20
Çizelge 3.10 B 209-II özel besiyer içeriği .....	20
Çizelge 3.11 OKON media.....	21
Çizelge 3.12 Mannitol ashby agar media(MAA).....	22
Çizelge 3.13 B-6743 özel besiyer içeriği.....	22
Çizelge 3.14 B-11094 özel besiyer içeriği.....	23
Çizelge 3.15 ET grubu mikroorganizmalar ve izole edildikleri besiyerleri .....	26
Çizelge 3.16 ET grubu mikrobiyal bulklar .....	28
Çizelge 3.17 F grubu bulkları geliştiği besiyerler.....	29
Çizelge 3.18 Nohut ekim şeması .....	34
Çizelge 4.1 Etkili deneme gruplarının boy uzunlukları .....	38
Çizelge 4.2. Nohut bitkisi boy uzunluğu varyans analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.3 Üç kök nohutun en, tane sayısı, ağırlık değerleri .....	40
Çizelge 4.4 Nohut en uzunluğu varyans analizi .....	44
Çizelge 4.5 Nohut ağırlık verileri varyans analizi .....	46
Çizelge 4.6 Nohut tane sayısı verileri varyans analizi.....	47

## 1.GİRİŞ

Ülkemizde en çok tüketilen baklagillerden biri olan nohut önemli bir protein kaynağı olup, kuru tanesi % 16.4-31.2 oranında protein içermektedir ve proteinin sindirilebilirlik derecesi % 76-88 arasında değişmektedir. Biyolojik değeri bakımından yüksek protein içeren nohut ,vücutta tamamı yakılan yumurta proteini referans alınırsa ona en yakın baklagil cinsidir (Akçin, 1988; Azkan, 1999; Encan vd., 2005). Ülkemizde tüketilen baklagillere baktığımızda kişi başına yıllık ortalama 3-4 kg fasulye, 4-5 kg mercimek ve 5-6 kg nohut tüketilmektedir. Bu nedenle yemeklik tane baklagillerin ülkemiz insanları açısından önemi büyüktür (Adak ve ark. 2010).Tüketici toplumu, artan gıda ihtiyacını karşılamak, maksimum verimlilik ve en yüksek kalitede ürün elde etmek için tarımsal alana ihtiyaç duymaktadır. Bitki beslenmesinin, tarımsal verimliliği ve kaliteyi kontrol etmede en önemli faktörlerden biri olduğu bilinmektedir. Topraktaki besin maddelerinin oranları verimin kalitesini etkiler. Bu nedenle, üreticiler toprağı daha verimli hale getirmek için toprağı gübrelemekte, zararlılara karşı mücadele etmektedir. Bununla birlikte, son çalışmalar kimyasal gübrelerin aşırı kullanımı, kamu sağlığı zararları dışında ek arazilere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Savcı, 2012). Kimyasal gübrelerin ve böcek ilaçlarının kullanımına olan bağımlılık, çevre kirliliği, sağlık tehlikeleri, doğal ekolojik besin döngüsünün kesintiye uğraması ve diğer türlü ekin üretimini destekleyen biyolojik toplulukların tahrip edilmesi gibi problemler oluşturmaktadır. Bu nedenle, daha az zararlı girdilerle daha kısa zaman aralıklarında mahsul üretimi, haşere ve hastalık yönetimine ulaşılmalıdır. Kimyasal gübrelerin ve pestisitlerin yerini almak için biyolojik kaynak kullanımı artmaktadır. Bu bağlamda, bitki çoğalmasını teşvik eden mikroorganizmalar genellikle yeni ve tarım için önemli faydalar sağlayan potansiyel araçlardır (Sivasakthi ve ark., 2013).

Bitki gelişimini teşvik eden rizobakter (PGPR) bitkinin büyümesini doğrudan veya dolaylı olarak arttıran, serbest yaşayan toprak kaynaklı bakterilerdir (Kloepper ve ark.,1980, Glick ve Ibid, 1995). Direkt mekanizmalar azot fiksasyonu, fosfor çözme, HCN üretimi, oksinler, sitokininler ve gibberellinler gibi fitohormonların üretimi ve etilen konsantrasyonunun düşürülmesinde etkindirler (Glick ve ark., 1999). Araştırmacılar PGPR mikroorganizmalar kullanarak bitki gelişimi üzerine birçok çalışma yapmışlardır. Örneğin; Keleş (2015), topraktan izole edilen bakterilerin tanımlanması ve tanımlanan bakterilerin roka bitkisinin (*Eruca sativa*) gelişmesine



biyogübre olarak etkilerinin incelenmesi konulu yapmış olduğu çalışmada; orman toprağından izole edilen karışık bakteri örneklerinin saflaştırmasını yapmış ve 30 izolat elde etmiştir. Denemeler sonunda yapılan sonuçlara göre bakteri ile aşılamamın sadece roka bitkisinde bitki kuru ağırlığını ve yaprak sayısını arttırdığını ve biyogübrelerin birden fazla yararlı organizma içermesi için yerel izolatların sayısını arttırması gerektiğini söylemiştir ( Keleş 2015).

Sezen (2002), bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin izolasyonu ve nohut (*Cicer arietinum L.*) bitkisinde biyogübre ajanı olarak kullanılabilme potansiyellerinin belirlenmesi üzerine yapmış olduğu çalışmada; Erzurum ve Kırşehir civarındaki bölgelerden alınan farklı bitki rizosferlerine ait topraklardan toplam olarak 180 bakteri izole edilmiştir. İzolatlardan 16 tanesinin azot bağlayıcı ve fosfat çözücü özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Nohut (*Cicer arietinum L.*) tohumları bu izolatlar ile aşılanmış ve steril kum içeren saksılarda sera şartlarında büyütülmüştür. Kök boyu, gövde boyu, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak protein içeriği üzerinde en etkili 4 izolat elde edilmiş ve nohut üzerinde bu izolatların pahalı azot- fosfor gübrelere yerine kullanılabileceğini ifade etmiştir (Sezen 2002). Sönmez (2012), fosfat çözücü bakteriler ve değişik dozlarda organik gübre uygulamalarının nohutun (*Cicer arietinum L.*) verim ve besin elementi içeriğine etkilerinin araştırılması üzerine yapmış olduğu çalışmada; 5 fosfat çözücü bakteriyi (N2; *Bacillus megaterium* M-3, TV-6I; *Cellulosimicrobium cellulans*, TV-34A; *Hafnia alvei*, TV-69E; *Acetobacter pasteurianus* ve TV-83F; *Bacillus cereus*) ve organik gübre (0.1 ve 2 ton/da) uygulamalarını nohut bitkisinin verim ve besin elementi içeriğine etkileri incelemiştir. Bakteri ve organik gübrenin birlikte uygulanması durumunda verimde daha fazla artışlar elde edildiğini ve en yüksek tane verimi birinci ve ikinci yılda 2 ton/da + N2 (*Bacillus megaterium* M-3) organizmasında sırasıyla 102 kg/da ve 179.3 kg/da olduğunu ifade etmiştir (Sönmez 2012). Eker (2019), bazı nohut çeşitlerinde farklı gübre uygulamalarının verim ve verim unsurlarına etkisinin belirlenmesi üzerine yapmış olduğu çalışmada; Gökçe, Diyar 95, Aziziye 94 ve Taek-Sağel nohut çeşitleri üç tekrarlamalı olarak, 3 m uzunluğunda 4 sıra ve sıra arası 40 cm oluşturulan parselleri düzenlemiştir. Deneme gruplarına diamonyum fosfat, triple süper fosfat, üre ve *Rhizobium ciceri* bakterilerini uygulamıştır. Bakteri uygulamasının bitki boyu, nodül sayısı, yaş ve kuru ağırlığında olumlu etkisi olmadığı, bu uygulamalarda diamonyum fosfat, üre ve triple süper fosfat uygulamaların daha

etkili olduğunu belirlemiş ve diamonyum fosfat uygulamasının bitkide bakla sayısı, tane sayısı ve tane verimini önemli miktarda arttırdığını ifade etmiştir (Eker 2019).

Yapmış olduğumuz çalışmada farklı ortamlardan izole edilen mikrobiyal preparatların nohut bitkisi(*Cicer arietinum L.*) gelişimi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Nohut

Baklagiller içerisinde yer alan nohut %16.4-31.2 oranları arasında protein içermekte olup tane kabuğu yüksek oranda selüloz ve kalsiyum içerir. Bu özellikleri itibarıyla insan beslenmesinde önemli yer tutan nohut, sap ve samanının tahıllara göre iki kata kadar daha kaliteli protein içermesinden dolayı da hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Encan G ve ark 2005). Protein kaynağı olarak önemli bir yere sahip olan nohut özellikle et ürünlerinden yeterli proteinin sağlanamadığı ülkelerde çokça tercih edilmektedir. Karbonhidrat, vitamin ve mineral maddelerce de zengin olan nohut; yemeklik, çerezlik ve hayvan yemi olmak üzere çok yönlü bir tüketim alanına sahiptir. Bununla birlikte nohut, yemeklik tane baklagiller arasında sıcağa ve kuraya en fazla dayanan bitki olması ile fakir topraklarda bile kolayca yetişmesinden dolayı, kışlık tahıl-nadas ekim nöbetinin uygulandığı kurak bölgelerimizde ekim nöbetine girerek nadas alanlarını azaltmada önemli bir yere sahiptir (Anonim B 2018).

Çizelge 2.1 Türkiye nohut verileri

Yıl	İhracat		İthalat		Dış Ticaret Açığı (kg)
	Miktar (kg)	Değer (\$)	Miktar (kg)	Değer (\$)	
2000	50 137.353	33 132.357	7 411.866	4 278.497	42 725.487
2005	123 592.768	83 026.425	646.074	358.997	122 946.694
2010	56 793.653	54 780.449	7 585.538	7 286.805	49 208.115
2015	22 472.437	20 598.923	37 306.393	45 409.641	-14 833.956
2016	22 975.479	31 269.723	30 446.250	39 866.558	-7 470.771
2017	23 286.859	35 085.442	90 241.360	130 751.000	-66 954.501
2018	20 825.289	27 634.718	91 200.035	116 626.363	-70 374.746

Kaynak: TÜİK (08.08.2019), Türkiye nohut verilerinin 2000-2018 yılları değişimini göstermektedir.

Dünya nohut üretiminde 2016 yılı itibarıyla 7.8 milyon tonluk üretim ile Hindistan ilk sırada, 875 bin tonluk üretimi ile Avustralya ikinci, Myanmar 559 bin ton ile üçüncü ve 455 bin tonluk üretimi ile Türkiye ise beşinci sırada yer almaktadır. Dünyada lider konumda olan Hindistan, toplam dünya nohut üretiminin %65'lik kısmını karşılamaktadır (Anonim 2018). Tarımda ürünlerden alınan verim gün geçtikçe kötüleşmektedir. Kimyasal gübre ve pestisit kullanımı sonucu topraklar ürün alınmaz hale gelmekte olup geri dönüşü olmayan bir hal almaktadır. Kimyasal gübre ve pestisite alternatif olarak tarımsal üretimde kullanılacak faydalı mikroorganizmaların içerisinde

bakterilerin yeri önemlidir. Araştırmacılara göre normal bir tarım toprağının santimetre küpünde ortalama 90 milyon bakteri, 4 milyon aktinomiset, 200 bin fungus, 30 bin alg, 5 bin protozoa ve 30 adet nematot olduğu ortaya konulmuştur. Bu organizmaların bitkilerin temel besin ve su kaynağına yataklık eden toprakta hatta köklerine yakın bölgelere de spesifik olarak yoğunlaşmaları bir tesadüf değildir (Mc Millan, 2007). Bitki gelişimini arttıran mikroorganizmalar bitkinin kök yüzey ve çevresinde yoğun olarak bulunurlar. Bu bölgeye rizosfer bölge adı verilir ve bu bölgede bulunan bakteriler bitki gelişimini direk ve indirek mekanizmalar ile teşvik ederler. Araştırmacıların yapmış olduğu birçok çalışmada rizosfer bölgede yaşayan bu mikroorganizmaların bitki gelişimini birçok yönden desteklediği sonucu ortaya konmuştur ve bu faydalı bakteriler Kloepper ve arkadaşları (1980), tarafından PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) olarak adlandırılmıştır (Kloepper ve ark., 1980). Bu mikroorganizmalar bitkilere sağladıkları pek çok faydadan dolayı "Probiyotik Rizobakteriler" olarak isimlendirilmektedir (Ram ve ark., 2013).

## 2.2 PGPR Mikroorganizmalar

Rizosferde bakteri, mantar, protozoa ve alg gibi çok sayıda mikroorganizma bir arada bulunur. Bitkiler, çeşitliliğin düşük olduğu çok seçici bir ortam yaratan eksudalar aracılığıyla organik bileşikleri serbest bırakarak, formüle edilen bakterileri en iyi şekilde geliştirir (Garcia ve ark., 2011). Bakteriler, rizosferdeki en bol mikroorganizmalar olduğundan; özellikle kök kolonizasyonundaki rekabet edebilirliklerini göz önünde bulundurarak bitki fizyolojisini büyük ölçüde etkilemeleri olasıdır (Barriuso ve ark., 2008). Bitki büyümesini destekleyen Rhizobacteria (PGPR), bitkinin büyümesini doğrudan veya dolaylı olarak arttıran, serbest yaşayan toprak kaynaklı bakterilerdir (Kloepper ve ark.,1980; Glickve Ibid, 1995). Rizobium bakterilerinin özellikleri genel olarak; fosfor ve ağır metalleri çözebilmesi, toprakta azot bağlayabilmesi, nodül ve yalancı köklenmeler yaparak bitki kökünün su ve mineralleri alabilmesini artırması, fitohormon üretmesi ve bitkilerde ezimatik aktivitelerin arttırılmasını sağlar (Dejordjevic ve ark., 1987).

### 2.2.1 Azot bağlaması

Azot (N<sub>2</sub>) bitki büyümesi, gelişim ve verimini sağlayan en önemli elementlerden biridir. Nükleik asitlerin yapıtaşı olan azot proteinlerin ve vitaminlerin yapısında%15 oranında bulunur. Gaz halindeki formu ile atmosferin %78'ini oluşturmaktadır. Bitkiler ise gaz halindeki azotu nitrit ve nitrat bakterilerinin enzimatik reaksiyonları sonucu kullanabilir. Azotu bitkinin kullanabilmesi tamamen topraktaki mikrobiyal ve fizyokimyasal aktiviteye bağlıdır(Daroub ve Snyder 2012). Öncelikle azot nitrit bakterileri tarafından nitrite (NO<sub>2</sub>), nitrit ise nitrat bakterileri tarafından nitrata (NO<sub>3</sub>) dönüştürülür ve böylelikle bitkiler tarafından kullanılabilir hale gelmiş olur (Aslan 1999). Azot bağlayıcı bakterilerin toprağa azotu bağlayabilmeleri sahip oldukları nitrogenaz olarak adlandırılan bir dizi kompleks enzim sistemini ile gerçekleşir. Mikrobiyolojik olarak azotu bağlama işlemi sadece kompleks yapıdaki bu nitrogenaz enziminin aktivitesine bağlı olarak gerçekleşir (Ram ve ark., 2013). Azotu bağlama özelliği olan bakterilerin büyük kısmını *Leguminosae* familyasına ait bitkiler ile simbiyotik yaşam sürenler oluşturmaktadır. Doğal kimyasal muamele görmemiş toprakta önemli mikrobiyal aktivitede sahip olup azotu bağlayabilen bu bakteriler simbiyotik ve nonsimbiyotik olarak iki grupta toplanmıştır.16S rRNA (Ribozomal RNA) dizilim homolojisine veya

nod genlerine (bitki köklerinde meydana getirdikleri nodül oluşumunu teşvik eden) göre *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, ve *Bradyrhizobium* azotu bağlayan simbiyotik bakteriler olarak bilinmektedirler (Dobert ve ark., 1994). Nonsimbiyotik bakteriler olup azotu bağlayanlar ise; *Azotobacter*, *Azoarcus*, *Acetobacter*, *Clostridium*, *Gluconacetobacter*, *Rhodospirillum*, *Derxia*, *Diazotrophicus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum*, *Archomobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Rhodopseudomonas* ve *Xanthobacter* bakterileridir (Saxena ve Tilak 1998).

### 2.2.2 Fosforu çözmesi

Fosfor(P) bitkiler için azottan sonra en önemli besin elementidir. Bütün organizmaların DNA (Deoksiribo Nükleik Asit)'sında bulunan fosfatlar, DNA üzerindeki nükleotid bazları (DNA'daki bilgiyi oluşturan moleküller) bir arada tutarlar. Toprakta fosforu bitkiler  $H_2PO_4^-$  (monobasic) veya  $HPO_4^{2-}$  (diabasic) olarak fosfat anyonları şeklinde alabilmektedir. Reaktif olan bu anyonlar  $Zn^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  ve  $Al^{+3}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Mn^{+2}$  gibi anyonlar ile kolayca tepkimeye girerek çökerler bu nedenle hareketleri çok kısıtlıdır. Toprakta organik fosforun mineralizasyonu ve bitki kullanımına hazır hale getirilmesi sağlayan en önemli faktörler fosforik asitler ve organik asitler tarafından gerçekleşir. PGPR'lar toprakta organik asit oluşumuna katkıda bulunur ve ürettiği organik asitler ile çökelmiş fosforu çözer. Bu organik asitlerden en bilinenleri laktik asit, glukonik asit, asetik asit, okzalik asit, formik asit, sukkinik ve fumarik asittir. Fosforu çözebilen PGPR'lar ise; *Rhizobium leguminosarum*, *Bacillus circulans*, *B. subtilis*, *B. firmus*, *Pseudomonas striata*, *P. rathonia*, *B. polymyxa*, *R. meliloti* ve *B. megatarium* olarak örnek verilebilir. Hatta bazı *Bacillus* türleri laktik, izovalerik, izobütirik ve asetik asit grubunun karışımını üretebildiği Ram ve ark. tarafından bildirilmiştir (Ram ve ark., 2013).

### 2.2.3 Fitohormon üretimi

Büyüme ve gelişmede bitkilerde özellikle oksin, giberellin, sitokinin gibi hormonlar görev alır. Bitkilerde oksinler sayesinde hücre bölünmesi, kök yüzey alanının genişlemesi ve kök gelişimi ile bitkiye besin elementlerinin girişi kolaylaştırmış olur. Sitokin bitkide hücre bölünmesi, tohum çimlenmesi, kök gelişimi, yaprak gelişimi gibi fizyolojik ve büyüme işlevlerinde rol almaktadır. Giberellinin görevi ise gövdenin

uzaması, çimlenme, dormansi, enzim işlevinin başlatılması gibi işlevleri sağlamaktır (Fallik ve ark., 1989). İndol-3-asetik asit (IAA) oksinlerin içerisinde en çok bilinenidir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda PGPR'lar tarafından üretilen başlıca hormonun indol-3-asetikasit olduğunu bildirmişlerdir. Toprakta izole edilen mikroorganizmaların %80'inin IAA sentezleyebildiği tespit edilmiştir (Patten ve Glick 2002). Bununla beraber indol laktik asit (Tien 1979). İndol-3- etanol, indol-3-metanol (Crozier ve ark., 1988) ve tanımlanamayan bazı indol bileşikleri PGPR'lar tarafından üretildiği yapılan çalışmalarda belirtmiştir (Bashan ve Levanyon, 1990). IAA, bitkilerde büyüme ile ilgili birçok işlevlerde rol almaktadır ve Rhizobium türlerinin çoğu IAA üretmektedir. IAA hormonunun, bitkide hücre bölünmesi, vaskular dokunun oluşumu ve değişimi gibi bitkinin nodül oluşumu için gerçekleşen proseslerde önemli yere sahiptir. Bunun yanı sıra IAA bazı mikroorganizmalarda gen ekspresyonunda sinyal molekülü görevini yüklenmektedir. Dolayısıyla IAA, bitki-rizobakteri ilişkisinde çok önemli bir rolü olduğu ortaya konmuştur (Hanin ve ark., 2003).

#### **2.2.4 Enzim üretimi**

Bitki gelişiminde önemli bir yere sahip olan etilen bitkilerde tohum çimlenmesi, saçak kök gelişimi, çiçeklenme ve meyvelenme gibi fonksiyonlarda düzenleyici olan bir hormondur. Stres koşullarında (tuzluluk, kuraklık, su baskını, patojen saldırısı, ağır metallere maruz kalma) bitkide bu molekülün üretimi aşırı seviyede artmakta ve bu artış bitki gelişimini durdurmaktadır. (Yang ve ark., 2008) Metiyonin amino asiti etilenin öncü maddesidir. Metioninin etilene dönüşümünde rol oynayan ara bileşik 1-aminosiklopropan-1-karboksilik asittir (ACC). ACC'nin parçalanmasını sağlayan ACC deaminaz (ACCD) enzimidir. PGPR'ler tarafından da üretilen (ACCD) bitkide etilen hormon üretimini dengeler ve bitki büyüme ve gelişimini yeniden artmasını sağlar. Ahemad ve Kibret (2013), şöyle açıklamışlardır: "Etilen sinyali ACC bitkide sentezlen dikten sonra bitki köklerinden bakteriler tarafından alınır ve bakterinin ürettiği enzim ile amonyağa ve 2-oxobutanoate'a hidrolize edilir. Böylece bitkide bulunan ACC konsantrasyonu seviyesi düşürülerek aşırı etilen oluşumu engellenmiş olur. Yüksek konsantrasyonu halinde bitki gelişimini inhibe eden etilen hormonu birikimi engellenmiş olur. Etilen üretimi S-adenosyle methioninenin aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)'ye dönüşümü ve bunu takiben ACC'nin etilene dönüşümünü içeren ACC-oxidase enziminin katalize ettiği iki basamaklı işlem ile meydana gelmektedir"

(Ahemad ve Kibret, 2013).ACC'yi hidrolize eden enzim ACC-deaminaz bazı mikroorganizmalar tarafından üretildiği araştırmalarla tespit edilmiştir. Bu enzim yardımıyla bitkide gelişimi engelleyen aşırı etilen üretiminin ve dolayısıyla kuraklık stresinin önüne geçilebileceği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2000).

### **2.2.5 İndirek etki mekanizmaları**

PGPR'lar yaşam alanı olarak bitki rizosferini ve endosferini kullanır. Bu özelliklerinden dolayı toprak kökenli patojenlere karşı biyo-kontrol ajanı olma potansiyeli taşımaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda PGPR'lerin indirek etkileri patojenik hastalıkları baskıladığı bildirilmiştir. PGPR'ler bitki hastalıklarının baskılanmasında en önemli ürünü ürettikleri sekonder metabolitleridir. En çok tanınan türler arasında *Pseudomonas* ve *Bacillus* türleri antagonisti olarak tanınırlar (Ram ve ark., 2013). Rizobakterilerden Biyolojik koruyucu olarak ilk ticari preperatı A.B.D.'de 1985 yılında *Bacillus subtilis* A-13 streyni üretilmiştir (Broadbent ve ark., 1977). Yapılan denemelerde PGPR'lar tarafından üretilen bu antibiyotikler toprak kökenli fungal ve bakteriyel patojenlerin (Patateste *Streptomyces scabies*; domateste *Fusarium oxyporum*; ökaliptusta, *Phytophthora cinnamoni*; şeker pancarı ve turpta *Phytium sp.* ve *Rhizoctonia solani*; tütün, fasülye ve kirazda *Thelaviopsis basicola*; domateste *Ralstonia solanacearum*) kontrolü için uygun olduğu belirtilmiştir (Ram ve ark., 2013).



## **2.3 Hücre İmmobilizasyon Yöntemleri**

### **2.3.1Jel tutturma**

Jel tutulması, hücrelerin, doğal veya sentetik polimer gibi polimerik ağın aralıkları içinde yakalanması sağlayan bir yöntemidir. Yakalama bir jelleştirme ya da çapraz bağlama maddesi kombinasyonunun eklenmesiyle sağlanabilir. Hücreler ile yüklü polimerik çözelti, boncuk oluşturmak için bir sertleştirme çözeltisine iğne içinden ekstrüde edilir. En kolay, en basit ve en güvenli immobilizasyon yöntemlerinden biri olarak kabul edilir (Jonathan 2004). Polielektrolit çözeltisinin jelasyonu, çok değerlikli bir karşıt yük iyonunun varlığında gerçekleşir. Bir hücre immobilizasyonu örneği verecek olursak *Alcaligenes sp.* hücre süspansiyonu. d2, 1:2 oranında %4 sodyum aljinat çözeltisi ile karıştırılır. Sonra karışım alginat boncukları oluşturmak için şırınga veya uygun aletle 0.2 M CaCl<sub>2</sub> çözeltisine ekstrüde damlatılır. Boncukların yapısı ve büyüklüğü manyetik karıştırıcının hızına, akış hızına ve şırınga ucu kalınlığı vb durumlara bağlıdır (Indu ve ark., 2007).

### **2.3.2Bir bariyerin arkasındaki hücreler**

Bir bariyerin arkasındaki mikrobiyal hücre tutulumu, hücrelerin mikrosfer içinde kapsüllenmesiyle veya iki karışmayan sıvı arasındaki bir ara yüze immobilizasyon yoluyla önceden oluşturulmuş bir zar üzerindeki hücrelerin eklenmesiyle sağlanabilir. Bu tür bir hareketsizleştirme, hücreleri ve istenen ürünü atık sudan ayırmak için ve bileşiklerin minimum transferi gerektiğinde faydalıdır (Steven ve ark., 1985).

### **2.3.3Kapsülleme**

Kapsülleme, iç matrisin dış zar vasıtasıyla korunduğu sistemin (Kailasapathy, 2002) merkezini gösteren hareketsiz hale getirilecek hücrelerin etrafında sürekli bir zar oluşturma işlemidir. Aktif madde sıvı formu çekirdek malzeme ve polimerik duvar dış zardır (Hirech ve ark.,2003). Hücrenin mikrokapsülasyonu, emülsifikasyon, arayüz tekniği ve koaservasyon gibi üç yöntemle yapılabilir;

I. Emülsifikasyon: Bir emülsiyon fazı (karışmayan sıvı içinde polimerik solüsyon damlası) oluşturmak için düşük basınçlı bir ağızlık cihazı kullanılarak hücre yüklü polimerik çözeltinin karışmayan bir sıvı faza dağıtılması işlemidir. Son olarak, mikrokapsüllü boncuklar, bir zar oluşturmak üzere emülsiyonun soğutulmasıyla üretilebilir (Keith ve Ronald., 1992).

II. Arayüzey polimerizasyonu: Organik faz bir aktif maddeden (mikroorganizmalar) oluşur ve yağda çözünebilen bir monomer damlacıkları oluşturmak için yüzey aktif maddeye yayılır. Suda çözünebilen kabuk monomeri, yağda çözünebilen kabuk monomeri ile reaksiyonu başlatmak için bu dispersiyona eklenir. İki monomer arasındaki reaksiyon sonucunda, her damlacık ara yüzeyinde polimerik kabuk oluşur (Mahabadi ve ark., 1996).

III. Koaservasyon: Sıvı çekirdeğin etrafında sürekli polimerik zar oluşturulma işlemidir. Polimerik zar içinde bulunan sıvı çekirdek, koaservat olarak adlandırılır (Park ve Chang 2000). Basit ve karmaşık koaservasyon gibi iki tip faz ayırma işlemi vardır. Basit koarkstasyonda sadece bir tane mikrokapsüllerin hazırlanması için polimer kullanılırken, kompleks koaservasyonda sulu ortamda çözünebilen iki karşılıklı yüklü polimer kullanılır. Koaservasyon yoluyla mikrokapsülleme, çekirdek malzemenin sulu bir polimerik solüsyona dağıtılmasıyla gerçekleştirilir. Bu dispersiyon stabilize edici madde damlacıkların bireyselliğini korumak için eklenir. Daha sonra desolvated polimer elde etmek için koaservasyon maddesi eklenir ve yaklaşık 5-20°C'ye soğutulur. Son olarak, damlacıkların sertleşmesi için çapraz bağlama maddesi eklenir (Dubey ve ark., 2009).

#### **2.3.4 Adsorpsiyon**

Destek matrisinin yüzeyi üzerindeki bakteri hücrelerinin yapışması, matris üzerindeki hücrelerin çekilmesi ve ardından adsorpsiyon ile başlatılır (Ong ve ark., 1999). Mikrobiyal hücreler gözenekli veya gözeneksiz matriks üzerine eklenebilir. Hücreler ve matris arasındaki etkileşim Van Der Waals, elektrostatik, hidrasyon ve hidrofobik kuvvetler tarafından sağlanır. Canlı hücrelerin immobilizasyonu için adsorpsiyon prosesi, yakalama tekniği ile karşılaştırıldığında çok uygundur (Joachim ve Holge.,1990). Bu tür bir immobilizasyon en kolay tekniklerden biri olarak kabul edilir.

## 2.4 Mikrobiyal Nohut Gelişimi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Khaitov ve arkadaşlarının (2016), *Rhizobium sp.* uygulamasının nohut verimi ve toprak verimliliği üzerindeki etkisi belirlemek için yapmış oldukları çalışmada; 10 nohut rizobiyal suşu orta tuzlu topraklarda yetiştirilen nohut genotipinin nodüllerinden izole edilmiş ve saflaştırılmıştır, bunların 3'ü tuz toleransında daha etkili olmuş ve daha yüksek nodülasyon kabiliyetleri göstermiştir. Lokal nohut genotipi Özbekistan 32 olarak seçilen *Rhizobium* bakteriyel suşları ile tarla koşullarına ekildikten sonra inoküle edilmiştir. *Rhizobium sp.* ile birlikte R4, R6 ve R9 izolatları bitkilerin aşılansmıştır. Sırasıyla, aşılansmamış bitkilerin üzerinde. Sürgün uzunluğu %52, kök uzunluğu %43, kuru ağırlık %36, kök kuru ağırlık %64 oranında artmış. Aşılamanın, bakla sayısını %28 oranında artırdığı ve %55'e çıkardığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak Khaitov ve arkadaşları mikrobiyal üretimin; büyük ekonomik, çevresel ve ekolojik faydaları olduğunu ayrıca, çalışma, marjinal arazide minimum girdilerle nohutun sürdürülebilir verimini elde etmek için nodülasyon suşları ile birlikte biyofertilizatör gelişimi için umut verici aday olarak R4, R6 ve R9'un fitohormon üreten suşlarının potansiyelini gösterdiğini söylemişlerdir (Khaitov ve ark., 2016). Rehan ve arkadaşlarının (2018), yaptıkları çalışmada fosfor ve rhizobium inokülasyonun nohut verimine etkisini değerlendirilmiştir. İnoküle edilmiş ve aşılansmamış tohumlar üç fosfor (P) seviyesi (30, 60 ve 90 kg ha<sup>-1</sup>) ve üç kalıntı tipi (tahıl, baklagil ve yağlı tohum) ile ekilmiştir. Bir kontrol tedavisi de dahil edilmiştir. Fosfor ve rhizobium inokülasyonu arasındaki etkileşim, rhizobium ile muamele edilmiş ve tohumların rhizobium ile aşılansdığında ve 60 kg ha<sup>-1</sup> fosfor ile muamele edildiğinde nohutun maksimum sonuç verdiği sonucuna varılmıştır (Rehanve ark., 2018).

Öğütçü ve arkadaşlarının (2010), yaptıkları çalışmada *Rhizobium leguminosarum non* simbiyotik etkinliğini değerlendirilmiştir. Çok yıllık yabancı nohutlardan (*Cicer arietinum L.*) izole edilen ciceri suşları, standart bakteri kültürü, N uygulaması ve NaCl tuzluluğu stres koşulları altında aşılansmamış kontrol ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, yabancı nohutlardan 4 suş (DN1, DN7, TN3 ve TN4) elde edilmiştir. Nohut (*Cicer arietinum L.*) tohumları bu suşlarla aşılansmış ve kontrollü bir bitki büyüme kabinde farklı seviyelerde NaCl (0, 50 ve 100 mM) altında steril kum ihtiva eden kaplarda yetiştirilmiştir. Kök ve sürgünün kuru ağırlıkları, kök-filiz oranı (RSR), nodüllerin sayısı ve kuru ağırlıkları, bitkinin klorofil ve N miktarı ve toplam ve sabit N miktarları

artan tuzluluk seviyeleri ile kademeli olarak azaldığı görülmüştür. Hem salin ve hem de tuzlu (50 ve 100 mM NaCl) koşullarında, *Rhizobium leguminosarum* ve yabancı nohutlardan izole edilen ciceri suşları, standart kültür ve N uygulamasına eşit veya ondan daha yüksek olan aşılammamış kontrol tedavisi ile karşılaştırıldığında yukarıdaki tüm parametreleri önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür (Öğütçü ve ark., 2010). Ali Namvar ve arkadaşlarının (2011), yapmış oldukları çalışmada organik ve inorganik azot gübrelemesinde nohut büyüme analizi ve verim etkileri değerlendirilmiştir. Deneysel faktörler, üre formunda uygulanan ana parsellerde dört seviyede (0, 50, 75 ve 100 kg / ha<sup>-1</sup>) inorganik azotlu gübre ve altta olduğu gibi *Rhizobium* bakterisi ile (aşılama ile ve aşılama olmaksızın) iki seviyeli inokülasyondan oluşturulmuştur. Düşük azot uygulaması ve aşılammamış bitkiler, toplam kuru madde, yaprak alan indeksi, ekin büyüme oranı, nispi büyüme oranı ve net asimilasyon oranı dahil olmak üzere daha az büyüme indeksini göstermiştir. Bu indekslerin en yüksek değerleri, azot uygulaması ve aşılammamış bitkilerin yüksek seviyelerinde gözlenmiştir. En yüksek bitki boyu, birincil ve ikincil dal sayısı, bitki başına bakla sayısı ve bitki başına tane sayısı (100 kg üre ha<sup>-1</sup>) ve *Rhizobium* aşılması seviyesinden elde edilmiştir. 75 ve 100 kg'lık üre ha<sup>-1</sup> uygulaması anlamlı bulunmamıştır. Sonuçlar, uygun miktarlarda azotlu gübrenin (yani 50 ile 75 kg arasında üre / ha) bir starter ile birlikte olarak uygulanmasının iyileştirilmesinde yararlı olabileceğini göstermiştir (Namvar ve ark., 2011). Ogola (2015), yapmış olduğu çalışmada *rhizobium* aşılama yönteminin 2011-2012 kışında Thohoyandou, Güney Afrika'da iki nohut çeşidinin büyüme, verim ve radyasyon kullanımı üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. Yapılan çalışmada bitki verimliliği, hasat olgunluğunda çiçeklenme, ürün biyokütlesi ve tane verimi belirlenmiştir. Yakalanan toplam radyasyon, AccuPAR kullanılarak 7 gün aralıklarla bitki gölgesinin üstünde ve altında fotosentetik olarak aktif radyasyon ölçümü ceptometre ve radyasyon kullanım etkinliği, verimin toplam radyasyona oranı olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak bitki başına düşen nodüllerin sayı ve ağırlığı kontrol ile karşılaştırıldığında inokülasyonla daha büyük olduğu bulunmuştur (Ogola, 2015).

### **3. MATERYAL veYÖNTEM**

#### **3.1.Materyal**

##### **3.1.1 İzolasyon çalışmaları için kullanılan özel ve genel besiyerleri**

Çalışmada genel besiyeri olarak; mikroorganizmaların geliştirilmesi için Nutriend Agar, Nutriend Brothe, Mullerhilton Agar ve Muller Hilton Broth kullanıldı. Mikroorganizmaların izolasyonu için özel besiyeri olarak; Yeast Dextrose Carbonate Agar Media(YDCA), 10436 Özel Besiyeri, B-2662 Özel Besiyeri, Pıkovskaya Media, Yeast Dextrose Agar Media(YD), Dobreiner N-free Malat Media, Yeast Extract Mannitol Agar Media(YEMA), Ashby N-Free Sukroz Media, 7519 Özel Besiyeri, B 209-II Özel Besiyeri, OKON MediaMannitol Ashby Agar Media (MAA) , B-6743 Özel Besiyeri, B-11094 Özel Besiyeri kullanıldı.

##### **3.1.2 Toprak örneği**

Bitki ve toprak örnekleri Tokat merkeze bağlı Canpolat Köyü civarındaki ormanlık ve açık alanlardaki yabani leguminosae familyası türlerine ait örnekler seçildi. Seçili örneklerin kökleri ve rizosfer bölgeleri alınarak steril poşetlere aktarıldı. Toplanan örnekler uygun koşullar altında laboratuvar ortamına getirildi.

##### **3.1.3 İmmobilizasyon materyalleri**

İmmobilizasyon materyali olarak sırasıyla; Na-alginat, liyofilize bakteri tozları, patates nişastası ve CaCl<sub>2</sub> kullanıldı.

##### **3.1.4 Nohut tohumu**

ÇalışmadaTokat'tan alınan nohut bikisi (*Cicer arietinum L.*)tohumu kullanıldı.

##### **3.1.5 Vermikompost (V)**

Çalışma için kullanılan vermikompost Kayseri'de bulunan Megasol Firması'ndan temin edildi.



Şekil 3.1.Çalışmada kullanılan vermikompost

Denemeler için totalde kuru 10kg Vermikompost 20lt sıvıda çözülmüş ve totealde 15lt süzüntü 4 kg matrix içerisinde kurutulmuştur. Bu aşamalar 5 aşamada gerçekleştirildi. Kurutulan 4kg Vermikompost tozu denemeler için rutubet ve küflenmeye karşı paketlenildi.

### 3.2Yöntemler

#### 3.2.1 Spesifik ve genel besiyerlerinin hazırlanması

Bitki gelişimine yardımcı olan *Azotobacter Vinelandii* için kullanılan 10436 besiyeri özel bir besiyeridir. 1000ml için çizelgede ki kimyasalar hassas terazide tartıldı pH 7.3 ayarlandı. Manyetik karıştırıcı ile şeffaf bir görünüm kazandı kadar ısınıp karıldı.Daha sonra 121°C'de 15dk otoklavlandı ve soğumaya bırakılan besiyer steril petrilere döküldü. Besiyer -30 ile +30°C aralığındaki sıcaklıklarda saklandı(Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 10436 Özel besiyer içeriği

Mannitol	5.26gr
Glukoz	5.26gr
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	0.105gr
MgSO <sub>4</sub> .7(H <sub>2</sub> O)	0.0052gr
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0.94gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.0105gr
FeSO <sub>4</sub> .7(H <sub>2</sub> O)	0.0105gr
CaCO <sub>3</sub>	5.26gr
Agar	15.78gr
Distile su	1000ml

YDCA besiyeri 1000ml için çizelgedeki kimyasalar hassas terazide tartılır ve ısıtıcılı Manyetik karıştırıcı ile şeffaf bir görünüm kazandı kadar ısınıp karıştırıldı.Daha sonra 121°C'de 15dk otoklavlandı.Otoklavdan çıkan besiyer elle tutulabilir sıcaklıkta steril petri kaplarına döküldü (Çizelge3.2).

Çizelge 3.2 Yeastdextrose carbonate agar media(YDCA)

Yeast Dextrose Carbonate Agar Media(YDCA)	
Yeast Extact	10gr
Dextrose	20gr
CaCO <sub>3</sub>	10gr
Agar	15gr
Distile Su	1000ml

Bitki gelişimine yardımcı olan *Azotobacter chroococcum* için kullanılan B-2662 besiyeri özel bir besiyeridir.1000ml su içerisine çizelgedeki değerler eklenir pH 7.3

ayarlandı. Isıticılı manyetik karıştırıcıda homojen edilerek daha sonra otoklavlandı. Steril petrilere dökülüp -26 ile +28°C aralığında saklandı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 B-2662 özel besiyer içeriği

B-2662 Özel Besiyer İçeriği	
Yeast Extract	1.05gr
Mannitol	5.26gr
Glukoz	5.26gr
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	0.0105gr
MgSO <sub>4</sub> .7(H <sub>2</sub> O)	0.0105gr
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0.0052gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.105gr
FeSO <sub>4</sub> x7H <sub>2</sub> O	0.0105gr
CaCO <sub>3</sub>	5.26gr
Agar	15.78gr
Distile Su	1000mlgr

Fosfatı çözüp serbest hale gelmesini sağlayan bakterilerin izolasyonları için kullanıldı. 1000ml için çizelgedeki değerler aynı şekilde ısıtılıp otoklavlandı. Gelişim bu besiyerinde biraz geç olmaktadır yüzden bakteriyel gelişim 1 hafta kadar sürdüğü gözlemlendi (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 Pıkovskaya media

Pıkovskaya Media	
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	5gr
Glukoz	10gr
NaCl	0.2gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2.5gr
MnSO <sub>4</sub> .	2.5gr
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2.5gr
Yeast Ekstract	5gr
Agar	20gr
Distile Su	1000ml



1000ml için çizelgedeki değerler eklenir ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilerek otoklavlandı. Steril petrilere dökülerek besiyer talaştıktan sonra +4°C’de saklandı. Fosfat grubu bakteriler için seçildi (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5Yeast dextrose agar media(YD)

Yeast Dextrose Agar Media(YD)	
Yeast Extract	10gr
Dextrose	20gr
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	20gr
Agar	15rg
Distile Su	1000ml

1000ml için çizelgede ki değerler eklenir ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilerek otoklavlandı. Steril petrilere dökülerek besiyer talaştıktan sonra +4°C’de saklandı (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6 Dobreiner N-free malat media

Dobreiner N-free Malat Media	
Mannitol	10gr
Sukroz	10gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2gr
NaCl	0.2gr
CaCO <sub>3</sub>	5gr
FeSO <sub>4</sub>	0.002gr
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.002gr
Na-Malat	0.002gr
Agar	15gr
Disitle su	1000ml

YEMA *Rhizobium* türü bakterilerin izolasyonu için kullanılmıştır. 1000ml için çizelgede ki değerler eklendi ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilerek otoklavlandı. Steril petrilere dökülerek besiyer talaştıktan sonra +4°C'de saklandı(Çizelge3.7).

Çizelge 3.7 Yeastextract mannitol agar media(YEMA)

Yeast Extract Mannitol Agar Media(YEMA)	
Mannitol	10gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5gr
NaCl	0.1gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2gr
Yeast Extract	1gr
Congored % 1'lik	2.5gr
Agar	20gr
Distile Su	1000ml

1000ml için çizelgede ki değerler eklenir ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilerekotoklavlandı. Steril petrilere dökülerek besiyer aktardıktan sonra +4°C'de saklandı(Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8 Ashby N-free sukroz media

Ashby N-Free Sukroz Media	
Sukroz	20gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2gr
NaCl	0.2gr
CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.2gr
CaCO <sub>3</sub>	5gr
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O % 5	0.002gr
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.002gr
Agar	20gr
Distile su	1000ml

7519 besiyeri *Bacillus* türü bakterilerin izolasyonu için kullanıldı. 1000ml için yukardaki değerler eklenir ve ısıtıcıly manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilerek otoklavlandı. Steril petrilere dökülerek besiyer tartıldıktan sonra +4°C'de saklandı (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9 7519 özel besiyer içeriği

7519 Özel Besiyer İçeriği	
Glukoz	20gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2gr
NaCl	0.2gr
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.1gr
CaCO <sub>3</sub>	5gr
Agar	20gr
Distile Su	1000ml

B 209-II besiyeri fosfatı çözüp serbest hale gelmesini sağlayan bakterilerin izolasyonları için kullanıldı. 1000ml için yukardaki değerler aynı şekilde ısıtılıp otoklavlandı (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10 B 209-II özel besiyer içeriği

B 209-II Özel Besiyer İçeriği	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5gr
MgSO <sub>4</sub>	0.2gr
NaCl	0.1gr
Yeast Extract	1gr
Mannitol	10gr
Agar	12gr
Distile Su	1000ml

OKON media *Azospirillum* türleri için özel besiyeridir. İçerdiği geniş bileşikler ile farklı türlerinde izolasyonunu sağlamak amacıyla kullanıldı. 1000ml için çizelgede ki değerler aynı şekilde ısıtılıp otoklavlandı ve petrilere aktarılarak +4°C saklandı (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.11 OKONmedia

OKON Media	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4gr
MgSO <sub>4</sub>	0.2gr
NaCl	0.1gr
Sukroz	5gr
CaCl <sub>2</sub>	0.02gr
NaOH	5gr
MnSO <sub>4</sub>	2.1gr
FeCl <sub>3</sub>	10gr
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	2gr
Yeast Extract	0.1gr
H <sub>3</sub> NO <sub>3</sub>	2gr
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.04gr
ZnSO <sub>4</sub>	0.2gr
Bromthymol Blue %0.5	2ml
Agar	20gr
Distile Su	1000ml

1000ml çözelti için yukarıdaki değerler tartılarak distile suya eklendi. Manyetik karıştırıcıda ısıtılarak homojen olduktan sonra 121°C de 15 dk steril edildi. Ekim sonrası mikroorganizma gelişimine göre oda sıcaklığında 7 gün inkübasyona bırakıldı (Çizelge 3.12).

Çizelge 3.12 Mannitol ashby agar media(MAA)

Mannitol Ashby Agar (MAA) Media	
Mannitol	20gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.2gr
NaCl	0.2gr
MgSO <sub>4</sub> .7(H <sub>2</sub> O)	0.2gr
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.1gr
CaCO <sub>3</sub>	5gr
Agar	20gr
Distile Su	1000ml

*Pseudomonas fluorescens* izolasyonu ve farklı türleri izole etmek amacıyla kullanıldı. 1000ml çözelti için yukarıdaki değerler tartılarak distile suya eklendi. Manyetik karıştırıcıda ısıtılarak homojen olduktan sonra 121°C'de 15 dk steril edilip petrilere elle tutulabilir sıcaklıkta donmadan döküldü. +4°C'de dolapta kullanılmak üzere saklandı (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.13 B-6743 özel besiyer içeriği

B-6743 Özel Besiyer İçeriği	
Yeast Extract	5gr
Pepton	15gr
NaCl	5gr
Agar	15gr
Distile Su	1000ml

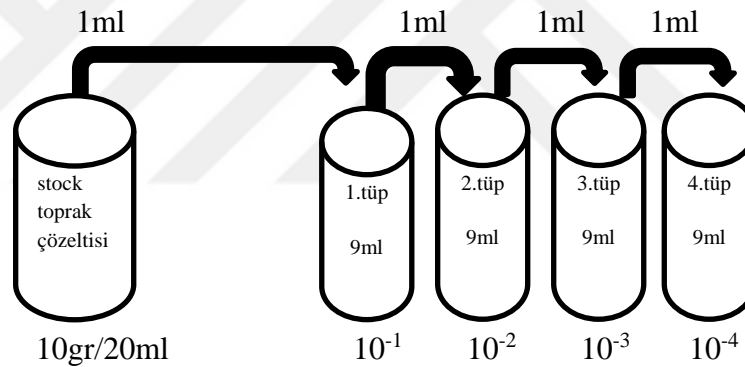
B-11094 besiyeride *Azospirillum* türleri izolasyonu için kullanıldı. İçerdiği geniş bileşikler ile farklı türlerin de izolasyonunu sağlamak amacıyla kullanıldı. Bromthymol Blue besiyerine eklenmeden önce potasyum hidroksit içerisinde çözünür daha sonra besiyerinin pH 7.1'e ayarlanır gerekirse %15lik oranda agar ilave edildi.121°C de 15 dk otoklavlama sonrasında 25ml %20 oranında glukoz besiyerine membran fitreler ile ilave edildi. Petrilere aktarılarak +4°C saklandı (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14 B-11094 özel besiyer içeriği

B-11094 Özel Besiyer İçeriği	
Yeast Extract	0.052gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.263gr
FeSO <sub>4</sub> .7(H <sub>2</sub> O)	0.0105gr
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2(H <sub>2</sub> O)	0.001gr
MgSO <sub>4</sub> .(H <sub>2</sub> O)	0.021gr
MnSO <sub>4</sub> .7(H <sub>2</sub> O)	0.0021gr
NaCl	0.105gr
CaCl <sub>2</sub> .2(H <sub>2</sub> O)	0.021gr
(NH <sub>4</sub> ).2(SO <sub>4</sub> )	1.052gr
Biotin	0.0001gr
Bromthymol Blue	0.026gr
Distile Su	1000ml

### 3.2.2 Toprak örneğinin ekim için distilasyonunun yapılması

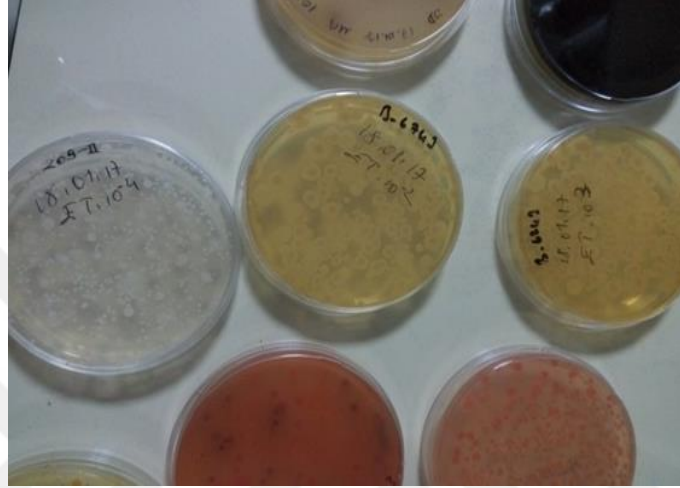
İlk olarak 10 gr toprak hassas terazide tartıldı ve içerisinde 20 ml steril su bulunan tüpe eklendi. Tüp içinde homojenizasyonu sağlamak için vorteks yapıldı ve örneklerin alınacağı ana tüp hazırlanmış oldu. Seyretme yapılması için sırasıyla 4 tüpe 9 ml steril su eklendi ve stok tüpten mikro pipetle 1ml sıvı alınarak sırasıyla 1 numaralı tüpe eklendi. 1 numaralı tüpte mikro pipet yardımıyla çekip bırakılarak homojenize edildi. 1 numaralı  $10^{-1}$  yoğunluk bulunan tupten 1ml sıvı alınır ve aynı işlem yapılarak 2 tüpe akıtılır. 2'den 3'e ve 3'den 4 numaralı tüpe aynı işlem yapıldı. 4 den de 1ml çekilerek atılır sırasıyla 1.2.3 ve 4 numaralı tüplerde  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ve  $10^{-4}$  yoğunluklu seyreltilmiş toprak öğreni dolayısıyla mikroorganizmalar elde edildi. Dilisyonlar önceden hazırladığımız özel besiyerlerine numaralar verilerek ve 0.1ml alınarak dirikaski yardımıyla yayama ekimi yapıldı. İşlemi bilen petri kablarna etiketleme yapılarak  $37^{\circ}\text{C}$  de inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3.2 Toprakörneği dilüsyonu

### 3.2.3 Seyreltilmiş toprak örneğinin besiyerlerine ekilmesi

Makrodilüsyon yapılan tüpler 1 hafta önceden hazırladığımız besiyerlerine yayma ekim yöntemiyle ekildi. Üzerlerine tarih kod ve seyretme oranı yazıldı. Ekim yapılan besiyerler 37°C’de inkübasyona bırakıldı. 24 saat ve takibinde bir haftaya kadar petri gelişimlerine göre çıkan kolonilerin izolasyonu yapıldı.



Şekil 3.3 Distilasyon sonrası oluşan koloniler

### 3.2.4 Besiyerlerinden çıkan bakterilerin saflaştırılması

Seyretme işlemi sonucunda koloni şekli, rengi, büyüklüğü, ve spesifik besiyerlerinde gelişimi gibi morfolojik açıdan farklılık gösteren koloniler öze ile dikkatlice alınarak katı besiyerine saflaştırma ekimi yapıldı. Özel besiyerlerinden tek tek saflaştırılarak izolasyonu yapılan bakteriler, stok şeklinde saf petriler halinde parafillenerek +4 derecede muafaza edildi. Saf kültürlerin olası sorunlar karşısında 1 adet kopyası yapıldı. Saf kültürlerin çoğaltılması genel besiyerleri olan Nutriend Agar, Nutriend Brothe, Muller Hilton Agar ve Muller Hilton Brothda yapıldı fakat gelişimi az olan bakteriler ilk izolasyonu yapılan kendi besiyerlerine ekilerek muafaza edildi. Son olarak oluşturulan bulkların kod adı ve saflaştırılma tarihleri üzerlerine yazıldı.



### 3.2.5Saflaştırılan bakterilerin tablolandırılması

Farklı topraklardan izolasyonu yapılan ET kodlu bakterilerin İzole edildikleri besiyerleri (+) ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.15 ET grubu mikroorganizmalar ve izole edildikleri besiyerleri

SUŞ NO	BESİYERİ ADI												
	6743	10436	2662	7516	209-II	PIKOVSKAYA	YEMA	YD	YDCA	ASHBY	MAA	DOBREINER	OKON
ET 1							+						
ET 2							+						
ET 3							+						
ET 4					+								
ET 5					+								
ET 6		+											
ET 7		+											
ET 8		+											
ET 9		+											
ET 10		+											
ET 11	+												
ET 12	+												
ET 13								+					
ET 14								+					
ET 15								+					
ET 16									+				
ET 17									+				
ET 18									+				
ET 19									+				
ET 20										+			
ET 21										+			
ET 22										+			



Çizelge 3.15 ET grubu mikroorganizmalar ve izole edildikleri besiyerleri(Devamı)

ET 51				+									
ET 52				+									
ET 53				+									
ET 54				+									
ET 55				+									
ET 56													+
ET 57													+
ET 58													+
ET 59													+
ET 60													+

Çizelge 3.16 ET grubu mikrobiyal bulklar

<b>Bulk 1</b>	<b>Bulk 2</b>	<b>Bulk 3</b>
ET 4	ET 58	ET 32
ET 5	ET 60	ET 34
ET 6	ET 61	ET 51
ET 13	ET 62	ET 52
ET 14	ET 63	ET 31
ET 16	ET 66	ET 1
ET 23	ET 67	ET 50
ET 21	ET 68	ET 11
ET 22	ET 17	ET 59
ET 24	ET 19	ET 19
ET 25	ET 41	ET 10
ET 27	ET 18	ET 37
ET 15	ET 69	ET 46
ET 38	ET 3	ET 42
ET 39	ET 48	ET 38
ET 40	ET 57	ET 40
ET 43	ET 2	ET 8
ET 42	ET 12	ET 36
ET 56	ET 29	ET 64

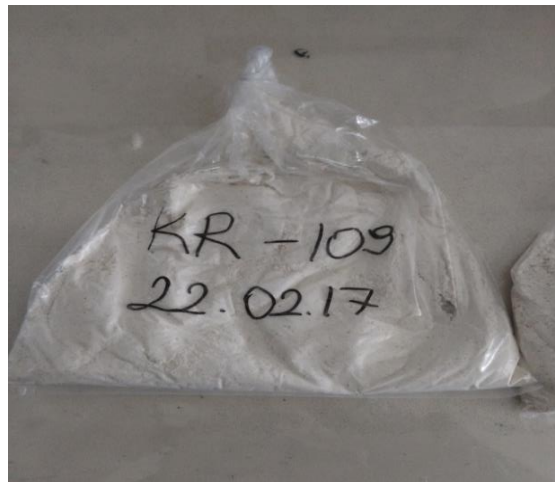
Çizelge 3.17 F grubu bulkları geliştiği besiyerler

F Bulkları	F Grubu Bulkları Geliştiği Besiyerler				
F3	11094	10436	11967	6743	
F4	7519	10436	11965	2662	
F5	11094	2662	209-II	7519	
F6	11094	10436	6743	209-II	11966

Yapılan bu çalışmada stoğumuzda bulunan önceden hazırladığımız 104 adet izole edilmiş MG grubu bakteriler, 227 adet izole edilmiş Şİ grubu bakteriler ve 159 adet izole edilmiş RK grubu bakterilerde nohut denemesinde kullanıldı. Toplamda 554 adet izole edilen bakteri 10'lu ve 20'li gruplar haline getirilerek bu çalışmada kullanıldı.

### 3.2.6 Saflaştırılan bakterilerin liyofilizasyonu

MHB (Mueller Hinton Broth) ve NB (Nutrient Broth) besiyerlerinde yetiştirilen mikroorganizmalar falkon tüplerinde 6000 rpm de santrifüj edilerek pelet kısmı alındı. Pelet kısmı 15 ml sıvı besiyerinde süspansiyon edilerek mikroorganizmalar 50 gr matrisle emdirildi. Homojen şekilde steril çubuklarla karıştırılan matris oda sıcaklığında yada kurutma kabininde 35-40 °C' de kurutuldu. Kurduğundan emin olunan mikrobiyal formülasyonların hiç nem almayacak şekilde paketlenmesi ve etiketlenmesi sağlandı.



Şekil 3.4 Saflaştırılmış liyofilize mikrobiyal KR-109 toz

### 3.2.7 İmmobilizasyon için matrix hazırlama

1. Her bir bakteri tozundan 4 gram tartıldı.
2. 10 adet bakteri tozu kullanılarak Bulk hazırlandı.
3. 6gr Na-alginat, 80gr total bakteri tozu ile birlikte 200ml steril su içerisinde çözüldü.
4. 500 ml  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi hazırlandı (%15gr  $\text{CaCl}_2$ ).

Öncelikle saflaştırılmış toz halindeki bakteriler deneme arazisinde deneme çalışmalarının uygun şekilde yürütülebilmesi için 10 ile 20li gruplar haline getirildi. Her bir grup için bir numara ve kod verildi. Daha sonra bu gruplar immobilize olarak kullanılmak üzere şu şekilde hazırlandı; ilk olarak 6 gr alginat 200 ml steril su ile karıştırılıp 25-30 dk arası bekletildi. Daha sonra 80gr (4gr'lık 20 adet farklıyofilize bakteri tozu) bakteriyal toz ekleyip homojen olana kadar karıştırıcıda karıştırıldı. İçerisinde  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi bulunan behere damlatıldı. Beher manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldığında oluşan beadlerin yapışmaması ve düzgünce oluşması sağlandı. Beadler 30 dk bekletilip süzgeç kağıtlara serilerek  $38^\circ\text{C}$ 'de pastör fırınında kurutuldu.



Şekil 3.5 İmmobilize edilmiş bakteri tozları

### 3.2.8 Vermikompost oluşturulması

1 kg vermikompost alınarak 2000L distile su ile çözüldürüldü. İyiçe homojenizasyonu yapılan vermikompost filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü. Yaklaşık olarak 1000-1500 L süzülen homojenize sıvı, daha önce hazırlanan 2 kg steril matrıx ile karıştırıldı. Oluşan sıvı karışım 70°C de 2 gün kurumaya alınır. Kuruyan matrıx içerisinde vermikompost sıvısı emdirilmiş olur. Kurutulan matrıx karışımı blender ile toz haline getirildi ve içerisinde 10kg vermikompost sıvısı olacak şekilde işlem 9 defa daha tekrarlandı. Son karışımında 2 kg matrıx ve 10 kg'lık vermikompost özü içermekte olup tekrar blender ile toz haline getirilip denemelerde kullanılmak üzere vakumlanarak poşetlendi.

### 3.2.9 Vermikompostun torf kullanılarak seyreltilmesi

%100, %75, %50 ve %25 oranlarında hazırlanan torf-vermikompost karışımları viyollere aktarıldı ve seçilen bitki tohumları ekildi. Yapılan gözlemler sonucu %25'lik vermikompost seyreltisinin ideal olduğu tespit edildi.



Şekil 3.6 Nohut gruplarının %100 vermikompost üzerinde çimlenmesi

Viyollerde yapılan denemelerde %100 vermikompost içerisinde bitki çimlenmesi gözlemlense de vermikompostun düşük pH içeriğinden dolayı yaklaşık 10 gün sonra bitki gövdesinde zayıflama ve köke yakın bölgelerde çürüme gözlemlendi. En ideal oranın %25 vermikompost ile %75 torf olduğu görüldü.

### 3.2.10 Nohut tohumunun üzerine bakteri kaplanması

%50'lik melas çözeltisi kazırlanır ve 70ml içerisinde alınır. 10'luk bulklar için 40 gr, 20'li bulklar için ise 80 gr bulk tozu eklendi. Kıvamı dengelemek için 10-50 ml steril su eklemesi yapıldı. Tohumlar önce bu karışımın içerisinde eklenip karıştırıldı sonra süzüldü ve kurutma kâğıdında 1 gün bekletildi. Sonra 2. Gün bir defa daha kaplama yapıldı ve kurumaya bırakıldı.



Şekil 3.7 Hazırlanmış nohut bakteriyel kaplama ve liyofilize bakteri tozu



Şekil 3.8 Nohut tohumunun kaplanması ve kurutulması 1.gün



Şekil 3.9 Nohut tohumunun kaplanması ve kurutulması 2.gün

### 3.2.11 Nohut bitkisine bead, toz ve vermikompost uygulamaları

İlk ekim tarihi Gaziosmanpaşa Üniversitesi Taşlı Çiflik Ziraat Deneme Arazisinde yaklaşık iki dönümlük bir alanda gerçekleştirildi. Öncelikle ekim yapılacak yerin traktörle sürülüp, frezelenerek otlardan arındırılmış ve uygulanabilir hale getirildi. 1 hafta sonra 18.04.2017 tarihinde nohutların açılan sıralara ekimleri yapıldı üzerlerine eş zamanlı olarak; bakteriyel toz, vermikompost tozu, vermikompost +bakteritozu ve beadler eklendi. İkinci uygulama tarihi 08.06.2017 ve üçüncü uygulama tarihi de 22.06.2017'dir. Bu aşamadan sonra tohumlar oluşup toplanana kadar hiçbir ekleme yapılmadı. Nohut üzerine uygulamalar için uygulama grupları arası mesafe yaklaşık 20cm olarak ayarlandı. Toz şeklinde uygulama için 5 gr bulk tozu yaklaşık 100 ml suda homojenize edilerek nohut üzerine 2 µl pipet yardımıyla aktarıldı. Vermikompost uygulaması için yaklaşık 25 gram vermikompost toprağa eklenilerek nohut ekimi gerçekleştirildi. Vermikompost + bulk uygulaması vermikompostlu toprağa 4 adet bead eklenerek yapıldı. Vermikompost üzerine pipet ile 2 µl bulk sıvısı eklenerek (vermikompost + toz) uygulaması yapıldı. Son olarak kaplama tohum direk konulup sulanarak (kaplama) uygulaması yapıldı.

### 3.2.12 Nohut bitkisinin ekim şeması

Her bir deneme grubu arası uzaklık 20cm olarak ve her bir deneme için de 5 nohut tanesi konuldu. Her deneme grubundan ortalama 3 kök nohut çıktı ve 3 kök nohut için sonuçlar değerlendirildi (Çizelge 3.18).



Çizelge 3.18 Nohut ekim şeması

1.Sıra	2.Sıra	3. Sıra	4. Sıra	5. Sıra	6. Sıra
V+Bead KR 1	V+Bead ŞI 6	V+Bead ŞI 26	V+ MG 2 toz	V+ Toz F3	Nohut Kontrol
V+Bead KR 2	V+Bead ŞI 7	V+Bead ŞI 27	V+MG 3 toz	V+ Toz F4	Nohut Kontrol
V+Bead KR 3	V+Bead ŞI 8	V+Bead ŞI 28	V+ MG 4 toz	V+ Toz F5	Nohut Kontrol
V+Bead KR 4	V+Bead ŞI 9	V+Bead ŞI 29	V+MG 5 toz	V+ Toz F6	Nohut Kontrol
V+Bead KR 5	V+Bead ŞI 10	V+Bead ŞI 30	V+ KR1toz	Nohut Kontrol	Nohut Kontrol
V+Bead KR 6	V+Bead ŞI 11	V+Bead ŞI 31	V+ KR2toz	Nohut Kontrol	
V+Bead KR 7	V+Bead ŞI 12	V+Bead ŞI 32	V+ KR3 toz	Nohut Kontrol	
V+Bead KR 8	V+Bead ŞI 13	V+Bead ŞI 33	V+ KR4toz	Nohut Kontrol	
V+Bead MG 1	V+Bead ŞI 14	V+Bead ŞI 34	V+ KR5 toz	MG1 Kaplama	
V+Bead MG 2	V+Bead ŞI 15	V+Bead ŞI 35	V+ KR6 toz	MG2 Kaplama	
V+Bead MG 3	V+Bead ŞI 16	V+Bead ŞI 36	V+ KR7 toz	MG3 Kaplama	
V+Bead MG 4	V+Bead ŞI 17	V+Bead ŞI 36	V+ KR8 toz	MG4 Kaplama	
V+Bead MG 5	V+Bead ŞI 18	V+Bead ŞI 37	KR1Kaplama	MG5 Kaplama	
V+Bead ET 1	V+Bead ŞI 19	V+Bead ŞI 38	KR2 Kaplama	ET1 Kaplama	
V+Bead ET 2	V+Bead ŞI 20	Nohut Kontrol	KR3 Kaplama	ET2 Kaplama	
V+Bead ŞI 1	V+Bead ŞI 21	Nohut Kontrol	KR4 Kaplama	ET3 Kaplama	
V+Bead ŞI 2	V+Bead ŞI 22	Nohut Kontrol	KR5 Kaplama	F3Kaplama	
V+Bead ŞI 3	V+Bead ŞI 23	V+ET 3 toz	KR6 Kaplama	F4Kaplama	
V+Bead ŞI 4	V+Bead ŞI 24	V+ ET 2 toz	KR7 Kaplama	F5Kaplama	
V+Bead ŞI 5	V+Bead ŞI 25	V + ET 1toz	KR8 Kaplama	F6Kaplama	

## 4.BULGULAR

### 4.1 Kuru nohut etkili gruplar



Şekil 4.1 F3, F4 ve F5 kaplama gruplarının kuru nohut gelişimi

En etkili grup olan F5 Kaplama grubu ve diğer gruplar şekildeki gibi gelişim gösterdi. Diğer kaplama grupları F5 Kaplama grubu kadar etkili değerlere sahip olmadı. Bu nedenle tohum kaplama yöntemi için F5 Grubu mikroorganizmalar nohuta özgü bir içerik taşıdığı söylenebilir.



Şekil 4.2 Bead 25 grubunun kuru nohut gelişimi

Bead 25 ve MG2 Toz grupları şekilde görüldüğü gibi gelişim gösterdi. Uygulama şekillerinin farklı olmasına rağmen kendi uygulama alanlarında diğer gruplardan daha etkili oldu. MG2 Toz grubu toz uygulaması için Bead 25 grubu bead uygulamasında en etkili gruplar olmuştur.



Şekil 4.3 MG 2 toz grubunun kuru nohut gelişimi



Şekil 4.4 F3 + vermikompost grubunun kuru nohut gelişimi

F3 + vermikompost grubu vermikompost uygulamasında en etkili gruptur. Şekilde görüldüğü gibi gelişim gösterdi. F3 grubunun toz ve kaplama uygulaması nohut gelişiminde gözle görülür bir artışa neden olmadı.

Kontrol grubu şekilde görüldüğü gibi gelişim göstermiş ve kontrol grubu için açılan tüm deneme parsellerinde gelişimi zayıf görüldü. Kontrol grubundan en iyi görülen 3 kök nohut alınmış ve değerlendirildi.



Şekil 4.5 Kuru nohut kontrol grubu

## 4.2 Nohut Gelişim Parametreleri

### 4.2.1 Nohut boy uzunluğu verileri

Hasat olgunluğuna gelen kurumuş nohutların kökleri iyice sulandıktan sonra yavaşça topraktan kozaları ve kökeri koparılmadan çıkarıldı. Toplamda 105 deneme parseliden etkili görülen toz, kaplama ve vermikompost gruplarından alınarak 3 kök nohut üzerinden sonuç verileri hesaplandı. Boy uzunluğu metre yardımıyla bitki son yaprağı ile son kök ucu arası ölçülerek yapıldı. Sonuçlar varyans analizi kullanılarak değerlendirildi. Etkili olduğu düşünülen 8 gruptan alınan 3 kök nohutun boy uzunluğu hesaplanarak varyans analizi ile değerlendirildi. Analiz sonuçlarına göre F5 grubu mikrobiyal kaplama yapılan nohutlarda ortalama 92 cm ile en yüksek boy uzunluğu görüldü. Etkili olduğu düşünülen grupların hemen hepsinde kök gelişiminde artış olduğu görüldü. F3 + vermikompost uygulamasında anlamlı farklılık görülmedi.

Çizelge 4.1 Etkili deneme gruplarının boy uzunlukları

	1. Boy	2. Boy	3. Boy
KONTOL	64	70	67
F5 KAPLAMA	92	90	94
MG2 TOZ	78	72	80
F3+ V	70	64	70
BEAD 25	81	90	87
ET1 KAPLAMA	73	82	78
ET1+V	88	82	85
MG2 KAPLAMA	83	86	87

Çizelge 4.2. Nohut bitkisi boy uzunluğu varyans analiz sonuçları

Uygulama Grupları		N	Subset for alpha = 0.05			
			a	b	c	d
Tukey HSD <sup>a</sup>	KONTROL	3	67.00			
	F3+V	3	68.00	68,00		
	MG2 TOZ	3	76.67	76.67	76.67	
	ET1 KAPLAMA	3		77.67	77.67	
	ET1+V	3			85.00	85.00
	MG2 KAPLAMA	3			85,33	85.33
	BEAD 25	3			86,00	86.00
	F5 KAPLAMA	3				92.00
	Sig.		.056	.056	.070	.278
Duncan <sup>a</sup>	KONTROL	3	67.00			
	F3+V	3	68.00			
	MG2 TOZ	3		76.67		
	ET1 KAPLAMA	3		77.67		
	ET1+V	3			85.00	
	MG2 KAPLAMA	3			85.33	
	BEAD 25	3			86.00	86.00
	F5 KAPLAMA	3				92.00
	Sig.		.730	.730	.744	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Varyans analiz grafiğine bakıldığında en yüksek sıçrama F5 kaplama grubunda olmuştur F3+ vermikompost grubunda anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi.

#### 4.2.2 Nohut gövde kalınlığı, tane sayısı, ağırlık değerleri

Etkili olduğu düşünölen 8 gruptan alınan 3 kök nohutun gövde kalınlığı, tane sayısı ve ağırlıkdeğerleri hesaplanarak varyans analizi ile değerlendirildi. F5 grubu mikrobiyal kaplama yapılan nohutlar 131 cm ile en yüksek tane sayısına, 48.074 gr ağırlıkla en yüksek ağırlığa ve 4.5 cm kalınlıkla en geniş gövde kalınlığına ulaştığı göröldü. Etkili olduğu düşünölen diğer grupların hemen hepsinde nohut gelişiminde artış olduğu göröldü. ET1 nohut kaplama uygulamasında anlamlı farklılık görölmedi ve kontrol grubuna yakın gelişim gösterdi.

Çizelge 4.3Üç kök nohutun en, tane sayısı, ağırlık değerleri

DENEME GRUPLARI	1 Tane sayısı	2 Tane sayısı	3 Tane sayısı	1 Ağırlık (gr)	2 Ağırlık (gr)	3 Ağırlık (gr)	1 En (cm)	2 En (cm)	3 En (cm)
KONTOL	37	40	35	11.0 28	14.267	10.274	2.8	2.8	2.7
F5 KAPLAMA	127	120	131	44.0 26	39.099	48.074	4.4	4.2	4.5
MG2 TOZ	98	96	115	30.1 27	30.184	41.089	3.1	3.5	3.8
F3+ V	98	85	109	30.0 88	25.267	43.485	2.9	2.7	3
BEAD 25	89	108	92	24.1 29	44.10	30.141	3.0	3.5	3.4
ET1 KAPLAMA	31	35	43	9.7	11	14.3	2.9	2.6	3
ET1+ V	72	70	64	23.2	22.1	19.1	4	4	3.8
MG2 KAPLAMA	38	38	45	10.1 65	11.337	18.388	3.7	3.6	3.9



Şekil 4.6 Kontrol ve F5 kaplama en uzunluğu kıyaslaması ( 2.8/4.5) cm

Kontrol grubu ve en etkili grup olan F5 kaplama grubunun nohut üzerindeki etkisi şekilde görülmektedir. Nohut bitkisinde hem kök hem de gövde gelişimine etkisi oldu. En yüksek değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla 2 kata kadar gövde kalınlaşması ve 24 cm kadar da fazla uzama gösterdi.



Şekil 4.7 Kontrol ve F5 kaplama boy uzunluğu kıyaslaması ( 70/94 ) cm





Şekil 4.8 Kontrol ve MG2 toz boy uzunluğu kıyaslaması ( 70/80 ) cm

Kontrol grubu ve en etkili 2. grup olan MG2 toz grubunun nohut üzerindeki etkisi şekilde görülmektedir. Nohut bitkisinde hem kök hem de gövde gelişimine etkisi oldu. En yüksek değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla gövde 1 cm kalınlaşması ve 10 cm kadar da fazla uzama gösterdi



Şekil 4.9 Kontrol ve MG2 toz en uzunluğu kıyaslaması ( 2.8/3.8 ) cm



Şekil 4.10 Kontrol ve F3 + vermikompost boy uzunluğu kıyaslaması ( 70/70 ) cm

Kontrol grubu ve en etkili 3. grup olan F3 + vermikompost grubunun nohut üzerindeki etkisi şekilde görülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla gövde ve kök gelişiminde etkisi görülmemiştir fakat tane sayısında kontrol grubunun yaklaşık 3 katı artış gösterdi.



Şekil 4.11 Kontrol ve F3 + vermikompost en uzunluğu kıyaslaması ( 2.8/3.0 ) cm

### 4.2.3 Nohut en uzunluğu verileri

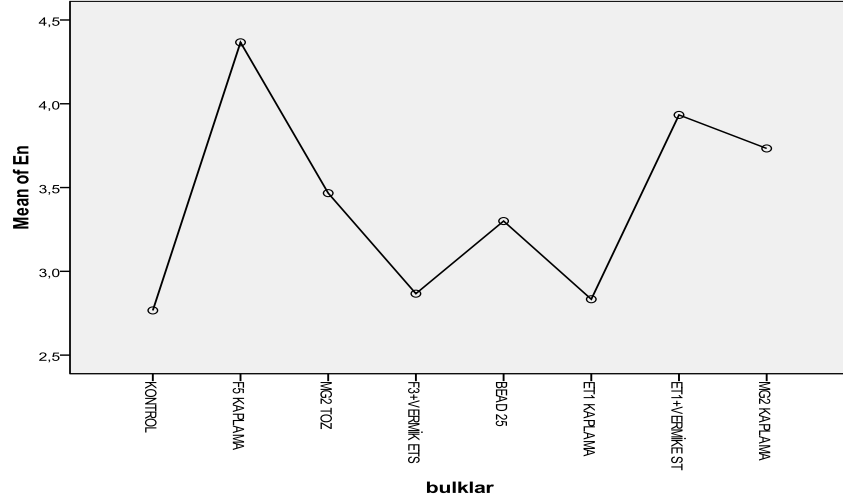
Çizelge 4.4 Nohut en uzunluğu varyans analizi

Uygulama Grupları	N	Subset for alpha = 0.05					
		a	b	c	d	e	
Tukey HSD <sup>a</sup>	KONTROL	3	2.767				
	ET1 KAPLAMA	3	2.833				
	F3 + V	3	2.867				
	BEAD 25	3	3.300	3.300			
	MG2 TOZ	3		3.467	3.467		
	MG2 KAPLAMA	3		3.733	3.733		
	ET1+ V	3			3.933	3.933	
	F5 KAPLAMA	3				4.367	
	Sig.		.074	.211	.151	.211	
Duncan <sup>a</sup>	KONTROL	3	2.767				
	ET1 KAPLAMA	3	2.833				
	F3+ V	3	2.867				
	BEAD 25	3		3.300			
	MG2 TOZ	3		3.467	3.467		
	MG2 KAPLAMA	3			3.733	3.733	
	ET1+ V	3				3.933	
	F5 KAPLAMA	3					4.367
	Sig.		.572	.325	.124	.241	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

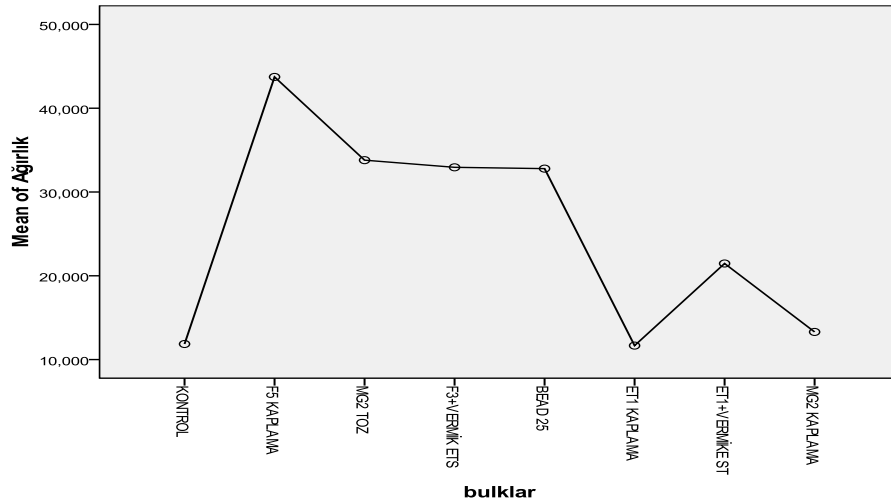
Varyans analiz sonuçlarına göre en fazla gövde genişliği ortalama 4.367 cm ile F5 kaplamada olurken ikici sırada 3.933 cm ET1 + V grubu aldı. ET1 kaplama grubu nohut üzerinde kontrole yakın bir gelişim göstermiş vermikompostun bu grup mikroorganizmalar ile birlikte bitkin en attısına neden olduğu görüldü.



Şekil 4.12 Nohut bitkisi en uzunluğu varyans analiz grafiği

#### 4.2.4 Nohut ağırlık verileri

Varyans analizi sonuçlarına göre F5 kaplama grubu nohut üzerinde 43.73313 gr ortalama ağırlıkla kontrol grubuna kıyasla 4 kata yakın artış sağladı. Vermikes uygulamasının etkin olduğu diğer gruplara göre 2 kat artış sağlarken F5 kaplama grubuna en yakın grup ortalama 33.8000 gr ile MG2 toz uygulaması oldu. F5 mikroorganizmaları toz ve vermikes ile uygulandığında gözle görülür bir artış sağlamamış bu nedenle uygulama şekli ve dozunun bitki gelişimine etkisinin önemi görüldü.



Şekil 4.13 Nohut bitkisi ağırlık verileri varyans analiz grafiği

Çizelge 4.5 Nohut ağırlık verileri varyans analizi

bulklar	N	Subset for alpha = 0.05		
		a	b	c
Tukey HSD <sup>a</sup> ET1 KAPLAMA	3	11.66667		
KONTROL	3	11.85633		
MG2 KAPLAMA	3	13.29667		
ET1+V	3	21.46667	21.46667	
BEAD 25	3		32.79000	32.79000
F3+V	3		32.94667	32.94667
MG2 TOZ	3		33.80000	33.80000
F5 KAPLAMA	3			43.73313
Sig.		.512	.256	.384
Duncan <sup>a</sup> ET1 KAPLAMA	3	11.66667		
KONTROL	3	11.85633		
MG2 KAPLAMA	3	13.29667		
ET1+V	3	21.46667		
BEAD 25	3		32.79000	
F3+V	3		32.94667	
MG2 TOZ	3		33.80000	
F5 KAPLAMA	3		43.73313	
Sig.		.083	.055	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

#### 4.1.4 Nohut tane sayısı verileri

Çizelge 4.6 Nohut tane sayısı verileri varyans analizi

bulklar	N	Subset for alpha = 0.05				
		a	b	c	d	
Tukey HSD <sup>a</sup>	ET1 KAPLAMA	3	36.33			
	KONTROL	3	37.33			
	MG2 KAPLAMA	3	40.33			
	ET1 + V	3		68.67		
	BEAD 25	3			96.33	
	F3+V	3			97.33	
	MG2 TOZ	3			103.00	
	F5 KAPLAMA	3				126.00
	Sig.		.998	1.000	.954	1.000
Duncan <sup>a</sup>	ET1 KAPLAMA	3	36.33			
	KONTROL	3	37.33			
	MG2 KAPLAMA	3	40.33			
	ET1+V	3		68.67		
	BEAD 25	3			96.33	
	F3 + V	3			97.33	
	MG2 TOZ	3			103.00	
	F5 KAPLAMA	3				126.00
	Sig.		.552	1.000	.326	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Nohut varyans analiz sonuçlarına göre 3 kök nohuttan alınan tane sayısı değerinde en yüksek ortalama değer 126.00 ile F5 kaplama grubu olmuştur ve kontrole kıyasla 3.5 kat artış sağladı.

### 4.3 Nohut tohumu tane dökümü



Şekil 4.14 Kontrol ve F3 + vermikompost kıyaslaması (Tane sayısı: 112/292)

Kontrol grubu ve en etkili 3. grup olan F3 + Vermikompost grubunun nohut üzerindeki etkisi şekilde görülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla nohut bitkisinde hem tane sayısı hem de tane ağırlığında artışa neden oldu. 3 kök için toplam değer parantez içerisinde verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla 2.6 kat tane sayısı artışı gösterdi. En etkili 2. grup olan MG2 Toz ise nohutta 2.7 kat tane sayısı artışı gösterdi.



Şekil 4.15 Kontrol ve MG2 toz kıyaslaması (Tane Sayısı: 112/309)



Şekil 4.16 Kontrol ve F5 kaplama kıyaslaması (Tane Sayısı: 112 / 378)

Kontrol grubu ve en etkili grup olan F5 Kaplama grubunun nohut üzerindeki etkisi şekilde görülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla nohut bitkisinde hem tane sayısı hem de tane ağırlığında artışa neden oldu. 3 kök için toplam değer parantez içerisinde verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla 3.3 kat tane sayısı artışı gösterdi. Yapılan tüm analiz sonuçlarına göre F5 Kaplama grubu mikroorganizmalar nohut üzerinde en, boy, tane sayısı ve ağırlık parametlerinin tümünde en etkili grup oldu. Bu gruptaki mikroorganizmalar diğer uygulama şekillerinde etkili olmadı. Uygulama yönteminin ve dozunun mikrobiyal gübre olarak bitkiyi etkilediği vermikompostun mikrobiyal ürünlerle birlikte etkisi genel olarak artırmadığı görüldü. Bunun sebebi vermikompost içerisindeki maddelerin mikroorganizmaları gelişimini durdurmuş olabilir veya içerisinde bulundurduğu mikrobiyal floradaki bir grup patojen tarafından baskılanmış olabilir. Vermikompostun pH değerinde gelişim sağlayamamış olabilir. Bu sebeplerden dolayı mikroorganizmalar nohut gelişimine katkı sağlayamamış ve hatta kendilerini dış etkenlerden korumak için salgıladıkları ekstraselüler enzimlerle bitki gelişimine olumsuz etki göstermiş olabilir.



## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada Tokat merkeze bağlı olan Canpolat köyü civarı ve ormanlık bölgelerinden alınan toprak örnekleri kullanıldı. Elde edilen mikroorganizma izolatları bakteri sayısına göre gruplandırılarak kurutuldu. Nohut bitkisi (*Cicer arietinum L.*)üzerine uygulanan bakteriyel gruplar; toz halinde, kaplama şeklinde ve vermikompost ile birlikte verildi. Çalışma sonucunda bitki kök, gövde, nohut tane sayısı ve tane ağırlığı toplamlarının analizleri yapıldı. Tüm gruplar istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı farklılıklar ortaya çıktı. Etkili olduğu düşünülen gruplar istatistiksel olarak da kanıtlandı. Bitki boy uzunluğu bakımından incelendiğinde Tukey testine göre 67.00<sup>a</sup>'nın altında kalan gruplar ve Duncan testine göre 67.00<sup>a</sup>'nın altında kalan gruplar bitki gelişiminde boy uzunluğuna etkisi olmadığı görüldü, kontrole kıyasla etkili olduğu düşünülen tüm gruplar boy uzunluğuna etki sağladı. Hem Tukey hemde Duncan testlerine göre incelendiğinde %0.05 hassasiyetle bitki boy uzunluğunda F5 Kapsama grubunun etkisinin yüksekliği fark edildi. Kontrol grubu nohut bitkilerinde ortalama boy uzunluğu 67 cm olurken, F5 grubunda boy uzunluğu 92 cm oldu. Bitki tane sayısına bakıldığında analiz sonuçlarına göre Tukey testine göre 37,33<sup>a</sup>'nın altında kalan grupların bitki gelişiminde tane sayısını arttırdığı görüldü ET1 Kapsama grubu mikroorganizmalar tane sayısı açısından incelendiğinde kontrolden daha düşük oranda çıktığı görüldü. Hem Tukey hem de Duncan testlerine göre incelendiğinde %0.05 hassasiyetle F5 kapsama grubu tane sayısı parametresi bakımından en etkili grup oldu. F5 grubunun kontrol grubuna kıyasla tane sayısında yaklaşık 3.5 kat ortalama verim artışı sağladı. Gövde çapı parametresinin incelenmesine bakarsak; Tukey testine göre 2,767<sup>a</sup>'nin altında kalan gruplar, duncan testine göre ise 2,767<sup>a</sup>'nin altında kalan grupların etkili olduğu görüldü. Hem Tukey hem de Duncan testlerine göre incelendiğinde %0.05 hassasiyetle gövde çapı parametresinin incelenmesinde F5 Kapsama grubu en yüksek değere sahip oldu. 4.367<sup>a</sup> değeriyle kontrol grubunun 2 katı en uzunluğuna ulaştı. Son olarak ağırlık sonuçlarına bakıldığında Hem Tukey hem de Duncan testlerine göre incelendiğinde %0.05 hassasiyetle 11.85633<sup>a</sup>'ün altındaki değerler anlamlı kabul edildi. ET 1 kapsama grubu dışında seçilen tüm gruplarda artış görüldü. En etkili grup, ağırlık dahil tüm parametrelerde F5 kapsama grubu oldu. 43.73313<sup>abc</sup> değeriyle kontrol grubuna kıyasla ortalama tane ağırlığında 4 kata yakın verim artışı sağladı. Çalışmada nohut için en etkili grup F5 Kapsama mikroorganizma bulku oldu. Bu grup içerisinde izolasyonu yapılan 5 farklı mikroorganizma içermektedir.

F5 grubunun kontrol grubuna kıyasla tane sayısında yaklaşık 3.5 kat verim artışı sağlarken, tane ağırlığında yaklaşık 4 kat verim elde edildi. Kontrol grubu nohut bitkilerinde ortalama en kalınlığı 2.7 cm ve boy uzunluğu 67 cm iken F5 grubunda en ve boy uzunluğu da ilk sırayı aldı. F5 grubunda ortalama nohut bitkisi en kalınlığı 4.3 cm ve boy uzunluğu 92 cm oldu. Aynı şekilde 2. sırayı da MG2 Toz Bulk grubu aldı içerisinde 20 adet izolasyon yapıp saflaştırılmış mikroorganizma bulundurmaktadır. Kontrol grubuna kıyasla yaklaşık tane sayısı ve tane ağırlığında 3 kat artış sağladı. MG2 grubu nohut bitkisinin en çapı ortalama 3.4 cm ve boy uzunluğu 76.6 cm oldu. Çalışmada vermikompostun F3 grubu ile birlikte verilmesi en iyi 3. grup oldu. Vermikompost, F5 grubunda tamamen zıt etkilemiş ve en etkili grupların olduğu listeye bile giremeşken F3+ vermikompost nohutta 97.3 tane sayısına ulaştı. Ayrıca ET1 grubunun sadece nohuta uygulanması kontrol grubunun altında bir değerde olup, tane sayısı 36 oldu. ET + vermikompost ile birlikte verilmesi tane sayısını 2 kat arttırarak ortalama nohut tane sayısını 68'e çıkarttı. İstatiksel veriler sonucunda vermikompostun içerdiği izolasyonu yapılan mikrobiyal grupların bazılarının gelişimini teşvik ederken bazılarını ise baskılamış olabilmektedir. Bu çalışmada tek başına vermikompost nohut bitkisinin gelişimine etkisi gözle görülür şekilde olmadı. Bakteriyel gruplarla verilmesi vermikompostun daha elverişli olmasını sağladı.

Sonuç olarak bu çalışmada izole edilen toplamda 554 mikroorganizma bakteriyel gruplar halinde, vermikompost ile birlikte, bead ve kaplama şeklinde nohut bitkisi üzerine uygulandı. Deneme arazisinde nohut bitkisinin kontrol ve deneme gruplarının bulunduğu toplamda 105 parselin nohut bitkisi üzerindeki gelişim analizleri yapıldı. Denemeler sonucunda 3 kök nohut alınarak değerlerde en etkili grup F5 grubu ve en etkili yöntem de mikrobiyal tohum kaplama yöntemi oldu. Mikrobiyal MG2 grubu liyofilize bulk tozu ikinci en etkili grup olurken özellikle damlama ile bitki yüzeyine uygulanması için ideal bir alternatif ürün oldu. F3 + vermikompost grubu üçüncü en etkili grup oldu. Vermikompost üreticileri için bu grup vermikompostun nohuta özgü verimini arttıracakları alternatif bir ürün oldu. Tüm bu etkili gruplar Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nde üretilip ticari ürün örnekleri olarak stoklandı. Oluşturulan ürünler amonyaklı kimyasal gübrelere göre çok uygun maliyete sahiptir. Bundan sonraki çalışmalarda bu bakteri gruplarının idenfikasyonun sağlanması ve etkili mikroorganizmaları belirlemek olabilir. Bakteri sayısını ortalama bir değere indirmek maliyeti biraz daha düşürme açısından daha doğru olacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

- Adak, M.S., Güler M. ve Kayan N., 2010. Yemelik Baklagillerin Üretimini Artırma Olanakları, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Ankara.
- Ahemad, M. ve Kibret, M., 2013. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria:current perspective. Journal of King Saud University-Science (Article in Press). 26(1), 1-20
- Akçin, A., 1988. Yemelik Tane Baklagiller. Selçuk Üni. Yayınları No:43, Ziraat Fak. Yayınları No:8, Konya, 377 s.
- Anonim., 2018, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Menu/27/Tarim-Urunleri-Piyasaları> Son Erişim Tarihi: 20.09.2018.
- Anonim B., 2008, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesitarım Bilimleri Dergisi ,14 (4) 313-319 Son Erişim Tarihi: 20.09.2018.
- Aslan, S., 1999. “Dünyada ne kadar mikrop var?” Bilim ve Teknik, sf. 90.
- Azkan, N., 1999. Yemelik Tane Baklagiller. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No: 40, Bursa, 107 s
- Barriuso, J., Solano, BR., Lucas, JA., Lobo, AP., Villaraco, AG., ve Manero FJG., 2008. Ecology, genetic diversity and screening strategies of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Edited by Ahmad I, Pichtel J, Hayat Copyright WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN: 978-3-527-31901-5
- Bashan, Y., Holguin, G., ve Lifshitz, R., 1993. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria. Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, CRC Press, Boca Raton, Fla., 331-345.
- Broadbent, P., Baker, K.F., Franks, N., ve Holland, J., 1977. Effect of Bacillus spp. on increased growth of seedlings in steamed and non treated soil. Phytopathol., 67, 1027-1031.
- Çakmakçı, R., 2009. Stres koşullarında ACC deaminaz üretici bakteriler tarafından bitki gelişiminin teşvik edilmesi, Atatürk Üni. Ziraat Fak. Dergisi, 40(1), 109-125.
- Crozier, A., Arruda, P., Jasmin, J.M., Monterio, A.M., Sandberg, G., 1988. Analysis of Indole-3-acetic acid and related Indoles in culture medium from Azospirillum lipoferum and Azospirillum brasilense, Appl. Environ. Microbiol., 54, 2833- 2837.
- Daroub, H.S., ve Snyder G. H., 2012. Mineral Nutrition and Plant Disease. APS press, Minnesota. Edited by Lawrence E. Datnoff, Wade H. Elmer, Don M. Huber, pp.278.
- Dejordjevic, M.A., Gabriel, D.W., ve Rolfe, B.G., 1987. Rhizobium-the refined parasite of legumes. Annu. Rev Phytopathology, 25, 145-168.
- Dobert, R. C., Breil, B.T., ve Triplett, E. W., 1994. DNA sequence of the common nodulation genes of Bradyrhizobium elkanii and their phylogenetic relationship to those of other nodulating bacteria. Mol. Plant-Microbe Interactions, 7, 564-572.
- Dubey, R., Shami. T.C., ve Rao. K.U, 2009. “Microencapsulation technology and applications”, Defence Science Journal 59 (1), 82-95
- Encan, G., Kaya, M., ve Çiftçi, C. Y. 2005. Nohutun Dünya ve Türkiye Ekonomisindeki Yeri. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9, 19-29.
- Fallik, E., Okon, Y., Epistien, E., Goldman, A., ve Fisher, M., 1989. “Identification and quantification of IAA and IBA in Azospirillum brasilense inoculated maize roots”. Soil Biol. Biochem., 21, 147-153.
- Garcia, JL., Probanza, A., Ramos, B., ve Manero, FJG., 2011. Ecology, genetic

- diversity and screening strategies of plant growth promoting rhizobacteria. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164: 1–7.
- Glick, BR., Karaturovic, DM., ve Newell, PC., 1999. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonas*. *Canada. Microbiol.* 41: 533-536.
- Hanin, M., Jabbouri, S., Quesada-Vincens, D., Freiberg, C., Perret, X., Prome, J.C., Broughton, W. J., ve Fellay, R., 2003. “Sulphation of *Rhizobium* sp. NGR234 Nod factors is dependent on noeE, a new host-specificity gene”. *Molecular Microbiology*, 24(6), 1119–1129.
- Hirech, K., Payan, S., Carnelle, G., Brujes, L., ve Legrand, J., 2003. “Microencapsulation of an insecticide by interfacial polymerization”, *Powder Technology*, 130(2), 324-330
- Indu, C.N., Jayachandran, K., ve Shankar, S., 2007. “Treatment of paper factory effluent using a phenol degrading *Alcaligenes* sp. under free and immobilized conditions”, *Bioresource Technology*, 98(3), 714-716.
- Joachim, K., ve Holger, Z., 1990 “Immobilization of Microbial cells by adsorption”, *Journal of Biotechnology*, 16(1), 1-16.
- Jonathan, W., 2004 “Methods of immobilization of microbial cells”, *Journal of microbiological methods*, 8(1) 91-102.
- Kailasapathy, K., 2002 “Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and potential Applications”, *Curr. Issues Intest. Microbiol*, 3, 39-48.
- Keith, E.S ve Ronald, L. C., 1992. “Preparation of encapsulated Microbial cells for Environmental Applications”, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 58(2), 727-730.
- Khaitov, B., Kurbonov, A., Abdiev, A., Adilov, M., 2016 “Effect of chickpea in association with *Rhizobium* to crop productivity and soil fertility” *Eurasian J Soil Sci*, 5 (2) 105 – 112
- Kloepper, JW., Leong J., ve Schroth, MN., 1980. *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4:317-320.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., ve Scrotch, M. N., 1980. “Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria”. *Nature* 286(1), 885-886.
- Mahabadi, H. K., T. H. NG, ve Tan, H. S., 1996. “Interfacial/free radical polymerization microencapsulation: Kinetics of particle formation”, *J. Microencapsulation*, vol. 13(5), 559-573
- Mc Millan, S., 2007. Promoting Growth with PGPR. *The Canadian Organic Grower*, 32-34.
- Namvar, A., Sharifi, R. S., ve Khandan, T. 2011. “Growth analysis and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in relation to organic and inorganic nitrogen fertilization” *EKOLOGIJA*. 57(3), 97–108
- Ogola, J.B.O., 2015. “Growth and yield response of chickpea to *Rhizobium* inoculation: productivity in relation to interception of radiation”. *Legume Research*, 38(6), 837-843.
- Ong, Y.L., Razatos, A., Georgiou, G ve Sharma, M.M, 1999. “Adhesion Force between E-coli Bacterial and Biomaterial surface, American chemical Society, *Langmuir*, 15(1), 2719-2725
- Öğütçü, H., Kasımoğlu C, ve Elkoca, E., (2010) Effects of rhizobium strains isolated from wild chickpeas on the growth and symbiotic performance of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under salt stress. *Turk J Agric For* 34:361.

- Park, J.K., Chang H.N., 2000. "Microencapsulation of microbial cells", *Biotechnology Advances*, 18(4), 303-319.
- Patten, C.L., ve Glick, B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 3795-3801.
- Ram, R.L., Maji, C., ve Bindroo, B.B., 2013. Role of PGPR in different crops-an overview. *Indian J. Seric.* 52(1),1-13.
- Rehan .W., Rehan,W., Jan,A., Liaqat,W., Jan, M. F., Ahmadzai, M. D., Ahmad, H., Haroon, J., Anjum, M. M ., ve Ali, N., 2018. "Effect of phosphorous, rhizobium inoculation and residue types on chickpea productivity". *Pure Appl.* 7(4),1203-1213
- Saxena, A.K., ve Tilak, K.V.B.R, 1998. "Free-living nitrogen fixer: Its role in crop production. *Microbes for health, wealth and sustainable Environment*", Malhotra Publ Co, New Delhi, Edited by Verma A.K., 25-64.
- Steven, F.K., Shari B.L ve Channing.R.R, 1985. "The immobilization of whole cells: Engineering principles, *Chemical Engineering Science*, 40(8),1321-1354.
- Yang, J., Kloepper, J.W. ve Ryu C.M., 2008. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14, 1-4.
- Wang, C., Knill, E., Glick, B.R., ve Defago, G., 2000. Effect of transferring 1-aminocycloprpane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and its *gacA* derivative CHA96 on their growth promoting and disease-suppressive capacities. *Can. J. Microbiol.*, 46, 898-907.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Emre TUNÇ

Doğum Yeri: Amasya

Doğum Yılı: 04.12.1993

Email: [emretnc05@gmail.com](mailto:emretnc05@gmail.com)

### Eğitim Bilgileri

2016-2019	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Yüksek Lisans, Biyomühendislik
2012-2016	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisans, Biyomühendislik
2007-2011	Merzifon Lisesi

### Staj Bilgileri

2014	Tokat Üniversite Hastanesi Mikrobiyolojive Biyokimya Laboratuvarı
2015	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı