

**Araştırma Makalesi**  
(Research Article)

Sevde AYYILDIZ<sup>1a</sup>

Hüseyin Hüsnü KAYIKÇIOĞLU<sup>1b</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Bornova-İzmir

<sup>1a</sup> **Orcid No:** 0000-0002-3847-3220

<sup>1b</sup> **Orcid No:** 0000-0003-0895-221X

sorumlu yazar: [husnu.kayikcioglu@ege.edu.tr](mailto:husnu.kayikcioglu@ege.edu.tr)

**Anahtar Sözcükler:**

Mikrobiyal biyokütle-C, toprak enzimleri, toprak sağlığı, biyolojik azot fiksasyonu, kimyasal N-gübre

**Keywords:**

Microbial biomass-C, soil enzymes, soil health, biological nitrogen fixation, chemical N-fertilizer

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.,2019, 56 (4):505-521  
DOI: [10.20289/zfdergi.559383](https://doi.org/10.20289/zfdergi.559383)

**N-Fikser İçeren Biyolojik Gübrenin Akdeniz İklimi Koşullarında Mikrobiyolojik ve Biyokimyasal Toprak Özellikleri ile Mısır Verimine Etkisi**

The Effect of Biological Fertilizer Containing N-Fixer on Microbiological and Biochemical Soil Characteristics and Maize Yield under Mediterranean Climatic Conditions

**Alınış** (Received): 30.04.2019

**Kabul Tarihi** (Accepted): 05.08.2019

**ÖZ**

**Amaç:** Bu çalışmada topraklara, havanın serbest azotunu ( $N_2$ ) bağlama yeteneğine sahip organizmalardan oluşan (*Azospirillum* sp., *Azorhizobium* sp. ve *Azoarcus* sp.) ticari bir preparatın, Akdeniz iklimi etkisi altında bulunan Typic Xerofluvent özellikteki toprakta etkinlik potansiyelleri ile mevcut biyolojik özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

**Materyal ve Metot:** Biyolojik gübre uygulamalı ve uygulamaz parsellere ( $0-0.5 \text{ g ha}^{-1}$ ;  $BG_0-BG_1$ ), 3 doz kimyasal azotlu gübre ( $0-125-250 \text{ kg N ha}^{-1}$ ;  $N_0-N_1-N_2$ ) uygulamalarının, toprağın mikrobiyolojik (mikrobiyal biyokütle karbonu, MBC; toprak solunumu, BSR; azot mineralizasyonu,  $N_{min}$ ; genel bakteri sayısı, GB, *Azospirillum* sp. sayısı, AZO) ve biyokimyasal aktivitesine (dehidrogenaz, DHG; proteaz, PRO, üreaz, UA) ve test bitkisi olarak yetiştirilen mısır bitkisinin (*Zea mays* var. *indentata*) verim ve azot içeriğine olan etkileri faktöriyel bazda incelenmiştir.

**Bulgular:** Biyolojik gübre uygulamasıyla topraklarda incelenen mikrobiyolojik ve biyokimyasal parametrelerden MBC, DHG ve AZO parametreleri önemli düzeyde pozitif olarak etkilenirken ( $P<0.05$ ); BSR,  $N_{min}$  ve GB parametrelerinde de artış saptanmış ancak istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Buna karşılık hidrolazlar grubundan olan ve topraklarda N-döngüsünde yer alan iki enzimin aktivitesinde bir azalma saptanmasına karşın bu azalış da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).  $NO_3-N$  ile AZO arasında ortaya çıkan negatif korelasyon ( $-0.468^{**}$ ), azotlu gübrelemede *Azospirillum* sp. ile  $NH_4-N$ 'u içeren gübrelere kullanılması daha uygun olacağını göstermektedir. Biyolojik gübre uygulamalarına bağlı olarak mısır bitkisinin verimi % 24 – 69 oranında, azot içeriği ise % 3 – 11 oranında artış göstermiştir. Bu parametreleri en fazla uyaran uygulama ise  $N, BG, BG_1$  uygulaması olmuştur.

**Sonuç:** Deneme sonuçları değerlendirildiğinde, hem toprak sağlığının sürdürülebilirliğini ve hem de bitkisel üretimi desteklemek amacıyla  $0.5 \text{ g ha}^{-1}$  dozunda biyolojik gübre ile  $125 \text{ kg N ha}^{-1}$  azot dozunun birlikte kullanılması önerilmektedir.

**ABSTRACT**

**Objective:** This study was conducted with the purpose of investigating the effectiveness of potential and the effects on current biological properties in soil with Typical xerofluvent properties under Mediterranean climatic conditions of an imported commercial preparation of organisms (*Azospirillum* sp., *Azorhizobium* sp. and *Azoarcus* sp.) which have the ability to bind free nitrogen from the air ( $N_2$ ) by carrying out symbiotic nitrogen fixation.

**Material and Methods:** Three different doses of chemical nitrogen fertilizer ( $0-125-250 \text{ kg N ha}^{-1}$ ;  $N_0-N_1-N_2$ ) were applied to plots with and without biological fertilizer ( $0-0.5 \text{ g ha}^{-1}$ ;  $BG_0-BG_1$ ), and the effects of these treatments on soil microbiological activity (microbial biomass carbon – MBC, basal soil respiration – BSR, N-mineralization –  $N_{min}$ , number of general bacteria – GB, number of *Azospirillum* sp. – AZO) and biochemical activity (dehydrogenase – DHG, protease – PRO, urease – UA), and the yield and nitrogen content of the test plant (*Zea mays* var. *indentata*) were investigated on a factorial basis.

**Results:** Biofertilization had a significant positive effect on the microbiological and biochemical parameters MBC, DHG and AZO ( $P<0.05$ ) examined in the soil; increases were seen in the parameters BSR,  $N_{min}$  and GB, but these were found not to be significant ( $P>0.05$ ). Also, although a reduction was seen in the activity of two enzymes of the hydrolase group which take part in the nitrogen cycle in the soil, this reduction was found not to be significant ( $P>0.05$ ). However, the negative correlation found between  $NO_3-N$  and AZO ( $-0.468^{**}$ ) shows that the use of fertilizers containing *Azospirillum* sp. and  $NH_4-N$  would be more suitable. In the maize plants, yield showed an increase of 24-69% with the application of biofertilizer, and nitrogen content increased by 3-11%. The application affecting these parameters the most was the  $N, BG, BG_1$  application.

**Conclusion:** Evaluating the results of the experiment, it is recommended that biological fertilizer at a dose of  $0.5 \text{ g ha}^{-1}$  together with nitrogen at a dose of  $125 \text{ kg N ha}^{-1}$  should be used on Typic xerofluvent soils in order to both maintain soil health and support crop yield.

## GİRİŞ

Dünyada nüfusun sürekli artış göstermesine rağmen, tarım alanlarını genişletme imkânlarının sınırlı olması, birim alandan elde edilen ürün miktarının artırılmasını gerekli kılmaktadır (Midmore, 1993). Bu amaç doğrultusunda bütün tarım sistemlerinde kullanılabilen biyogübreler, sürdürülebilir tarım sistemleri için ideal gübreler olup kullanımları basit ve aynı zamanda ekonomiktir. Biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen bu tür gübreler; atmosferdeki azotu bitkiye veya toprağa bağlayarak, çözünemez haldeki fosfor bileşiklerinin eriyebilirliklerini artırarak ya da toprakta bitki gelişimini uyaran bir kısım maddeler oluşturarak toprak verimliliğine çok önemli katkılar sağlarlar. Ancak biyogübreler tek başına tarımda kullanılan kimyasal girdilerin yerini tutmamakta, ancak kullanım miktarını azaltmakta ve sürdürülebilir tarım sistemlerini desteklemektedir (Okur ve Ortaş, 2012). Tohumla, toprağa, bitki yapraklarına ve kompostlara uygulanabilen bu biyolojik gübrelerde amaç: bitkinin kolay bir şekilde alabileceği besin maddelerinin yayılmasını arttıran mikrobiyal olayları hızlandırmak ve yararlı mikroorganizma popülasyonunu arttırmaktır (Okur ve ark., 2007; Mahdi et al., 2010).

Bitki büyümesinde önemli rolü olan azot elementinin biyolojik döngüsünde fonksiyon gösteren ve diazotroflar olarak da bilinen bu bakterilerin günümüzde kullanım alanı ve bunlar üzerine olan çalışmalar giderek artmaktadır. Diazotrof bakteriler bir taraftan bitkilerden beslenirken, bir taraftan da bitkiye azot sağlamaktadır (Jha et al., 2009; Puri et al., 2015; Sarathambal et al., 2015). Diazotrof bakteriler bu özellikleri nedeniyle önemli biyogübreler arasında yer almıştır. Bu alanda yapılan çalışmalarda ve uygulamalarda, farklı bitki türlerinden izole edilen suşların karakterizasyonu yapılmakta, bunlar tarımsal ürün üretiminde kullanılmakta ve giderek daha yaygın hale gelmektedir. Diazotrof bakteriler, bitkilerin metal stresine (Al, Mg gibi) karşı dayanıklılığının artırılması (Li et al., 2012), patojen fungus türlerine karşı dirençlerinin yükseltilmesi (Ji et al., 2014), bitkisel verimin artırılması (Jha et al., 2009; Puri et al., 2015; Sarathambal et al., 2015), bitki büyümelerinin aktivasyonu ve gelişmesi (Brito et al., 2015), toprakta çözünebilir minerallerin daha iyi bitki bünyesine alınabilmesi (Sarathambal et al., 2015) gibi bitkisel üretimde önemli olan pek çok fonksiyonu yerine getirebilmektedir. Silveira et al. (2016), diazotrofik endofitik bakteri inokülasyonu altındaki buğday bitkisinin azot metabolizması ve büyümesini

incelemişlerdir. Araştırmacılar suş inokülasyonunda, *A. insolitus* IAC-HT-11 başta olmak üzere diğer preparat uygulamalarında da, N-metabolizması ile bitki büyümesinin pozitif yönde etkilendiğini belirtmişlerdir. Jha et al. (2009) ise, diazotrofik bakteri uygulamalarının çeltik filiz boyunda %60'a varan, kuru ağırlıkta ise %33'e varan verim artışı sağladığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde çam ormanından izole edilen diazotrofik endofitlerin (*Paenibacillus* sp.), mısırın verimi ve büyümesi üzerine etkisi saksı koşullarında araştırılmış ve 30 günlük inkübasyon sonucunda mısır veriminin biyokütle olarak %30 ve uzunluk olarak %35 daha fazla artış sağladığını belirten çalışmalar da mevcuttur (Puri et al., 2015). Diazotrofik mikrobiyal preparatların bitki büyümesine olan etkisi aynı zamanda mikroorganizma tarafından üretilen salgıların etkinliği ile de olabilmektedir. Örneğin, Hindistan'ın yarı kurak bölgelerindeki tropik çimenlerin rizosferlerinden izole edilen diazotrofik izolatların fitohormon ve siderofor üreterek, P, K ve Zn gibi elementlerin bitkiye alınımını kolaylaştırdığı saptanmıştır (Sarathambal et al., 2015). Dahası bu endofitik diazotrofik bakteriler, oksin üretimi yapabilirler, fosfor çözünürlüğüne katkıda bulunabilirler ve özellikle fungal etmenlere karşı ana ürün bitkisinin dayanıklılığının artırılmasında etkili olabilirler (Ji et al., 2014) ya da bitkilerde meydana gelebilecek Al gibi metal stresini azaltmada kullanılabilirler (Li et al., 2012). Ayrıca kirlenmiş tarım topraklarında da yaşama potansiyellerinin bulunması, diazotrofik bakterilerin kullanım alanlarının genişlemesine neden olmaktadır (Oliveira et al., 2010).

Mikrobiyal gübreler ile ilgili yapılan çalışmalarda genellikle bitki üzerindeki etkisi üzerine odaklanılmış, topraktaki mikrobiyal popülasyon ile etkileşimi pek çalışılmamıştır. Dahası bölge topraklarından izole edilmemiş izolatlardan oluşturulmuş mikrobiyal gübrelerin, izole edilmediği tarla topraklarındaki etkinlikleri de merak konusudur. Bu noktadan hareketle tesis edilen bu çalışmada, ülkemize ithal edilen ve asembiyotik diazot fiksasyonu gerçekleştirerek topraklarımıza, havanın serbest azotunu (N<sub>2</sub>) bağlama yeteneğine sahip organizmalardan oluşan (*Azospirillum* sp., *Azorhizobium* sp. ve *Azoarcus* sp.) ticari bir preparatın, Akdeniz iklimi etkisi altında bulunan Typic Xerofluvent özellikteki toprakta etkinlik potansiyelleri ile mevcut biyolojik özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bunun yanında biyolojik gübrenin etkinliği sonucu topraklara fikse edilen azottan mısır bitkisinin yararlanma düzeyi ile kimyasal azot gübrelemesini takviye edebilme potansiyeli ortaya koyulmaya çalışılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

#### Araştırma yeri ve klimatolojik özellikleri

Manisa ili Alaşehir ilçesinde bulunan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Alaşehir Meslek Yüksekokulu deneme arazisinde kurulmuş olan tarla denemesi; 38°22' 23.156" kuzey enlemi; 28° 31' 35.753" doğu boylamlarında yer almaktadır. İç Ege Bölgesinde, Gediz ovasının doğu kesiminde yer alan Alaşehir, genel olarak ılıman bir iklime sahip olup, yaz ayları oldukça sıcak geçmektedir. Bölgede sıcaklık yazın 40 dereceye kadar çıkarken, kışın 0 derecenin altına düştüğü çok nadir görülen bir olaydır. İlkbahar kısa, yaz ve sonbahar mevsimleri uzun geçmektedir. Bu anlamda ilçenin ilkbahardaki sıcaklık değerleri, tarımın verimliliği ve kalitesini doğrudan etkilemektedir. Alaşehir'in yıllık yağış ortalaması 500 mm olup, mevsimlere göre dağılışı kış yağışları 240 mm, ilkbahar 131 mm, yaz 11 mm, sonbahar 100 mm şeklindedir ([Karakuyu ve Özçağlar, 2005](#)).

#### Deneme toprağının, sulama suyunun, mikrobiyal gübrenin ve test bitkisinin bazı özellikleri

Denemenin alanın bazı fizikokimyasal toprak özellikleri deneme tesisinden önce alınan toprak örnekleri ile belirlenmiş olup, Çizelge 1'de verilmiştir. "Hafif alkalin" reaksiyon gösteren deneme toprağı ([Kellog, 1952](#)), suda eriyebilir toplam tuz açısından "tuzluluk tehlikesi yok" olarak nitelendirilmektedir ([Richards, 1954; Ülgen ve Yurtsever, 1995](#)). Tın bünyeye sahip olan toprak, organik maddece "orta humuslu" ([Black, 1965](#)) ve kireç açısından "orta kireçli" olarak değerlendirilmektedir ([Blume et al., 2010](#)). Bitki besin maddeleri açısından ele alındığına ise; azot açısından "iyi" olarak değerlendirilen deneme toprağı (Loue, 1968), fosfor açısından "iyi" ([Olsen and Sommers, 1982](#)) ve potasyum açısından ise "çok yüksek" durumdadır ([Fawzi and El-Fouly, 1980](#)). Kalsiyum besin elementi yönüyle "iyi" düzeyde, magnezyum açısından ise "çok yüksek" durumdadır ([Loue, 1968](#)). Mikro elementler açısından değerlendirildiğinde ise tüm elementler "yeterli" düzeydedir ([Lindsay and Norvell 1978](#)).

Tarla denemesinde sulama suyu olarak Manisa Celal Bayar Üniversitesi Alaşehir Meslek Yüksek Okulu'na ait artezyen suyu, damlama sulama yöntemiyle kullanılmıştır. 17.06.2015 – 10.09.2015 tarihleri arasındaki sulama periyodu boyunca toplamda üç defa alınan sulama suyu örneklerinde gerçekleştirilen kimi analiz sonuçları Çizelge 2'de gösterilmektedir. Sulama suyu hafif alkali tepkimeli ve C<sub>2</sub>S<sub>1</sub> sulama suyu

sınıfında yer almaktadır. Alkalilik yönünden bir tehlikesi bulunmamasına karşın, az geçirgen topraklarda tuzluluk tehlikesi yaratabilir. Özel iyon toksisitesi yönünden SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup> ve Bor (B) sorunu bulunmamaktadır ([Tuncay, 1994](#)).

Tesis edilen bu çalışmada ülkemizde ithal edilen ve asembiyotik yolla topraklara havanın serbest azotunu (N<sub>2</sub>) bağlama yeteneğine sahip olan 3 mikroorganizmadan oluşan (*Azospirillum* sp., *Azorhizobium* sp. ve *Azoarcus* sp.) ithal ticari bir preparat kullanılmıştır. Dondurularak kurutma yoluyla içeriğinde mikroorganizmalar dormant duruma getirilmiş, toz şeklinde bir preparattır. Biyolojik yük olarak 0.5 g'lık ticari ambalajının >10<sup>11</sup> kob/ha organizma içerdiği bildirilmektedir.

Denemede test bitkisi olarak tane ve hayvan yemi olarak ticari anlamda yetiştiriciliği yapılan ana çeşit olan at dişi mısırı olarak bilinen Helen mısır çeşidi (*Zea mays* L. var. *indentata*) yetiştirilmiştir. Çukurova, Ege ve GAP bölgelerinde birinci ve ikinci ürün, diğer bölgelerde birinci ürün olarak ekime uygun tek melez, orta geçici bir üründür. Bu çeşidin vejetasyon süresi 130-135 gündür. Kullanılan mısır çeşidinin hektolitreye ağırlığı yüksek, hasatta dane rutubeti düşük, yüksek verimli özelliktedir. Diğer çeşit gruplarına göre adaptasyon özelliği ve verim potansiyeli yüksek olduğu için dünya da ve ülkemiz de fazlaca tercih edilmektedir.

#### Tarla denemesinin kurulması ve yürütülmesi

Tarla denemesi 2015 yılında kurulmuş olup, tesadüf blokları deneme deseninde ve 3 tekerrürlü olarak tesis edilmiştir. Parseller 3x3.4 m boyutlarında ve toplamda 10.2 m<sup>2</sup> büyüklüğe sahiptir. Tarla denemesinde biyolojik gübre uygulaması (BG) ve azotlu kimyasal gübre uygulaması (N) bağımsız değişken olarak yer almıştır. Biyolojik gübre uygulamalı ve uygulamaz parsellere (0-0.5 g ha<sup>-1</sup>; BG<sub>0</sub>-BG<sub>1</sub>), kontrol dahil 3 doz kimyasal azotlu gübre uygulamalarının (0-125-250 kg N ha<sup>-1</sup>; N<sub>0</sub>-N<sub>1</sub>-N<sub>2</sub>), test bitkisinin verimine, toprağın mikrobiyal biyokütle ve enzim aktivitesine ve bazı toprak fizikokimyasal özelliklerine etkileri faktöriyel olarak araştırılmıştır. Deneme planına göre yapılan parselizasyon çalışması sonunda kimyasal tüm gübreler homojen bir şekilde el ile parsel üzerine yayılmış ve ardından 10-12 cm toprak derinliğine bir kiltivatör yardımıyla karıştırılmıştır. İnorganik azot dozunun 2/3'ü ekimle birlikte amonyum sülfat (% 20.5 N- 610 g parsel<sup>-1</sup>) gübresinden, geriye kalan 1/3'lük kısmı ise, I. azot dozu uygulamasından 41 gün sonra amonyum nitrat (% 33 N) gübresiyle 6 parsel yapılmıştır. Ayrıca temel gübreleme olarak fosfor (150 kg

$P_2O_5$  ha<sup>-1</sup>) ve potasyum (200 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>) tüm parsellere verilmiştir. Her parselde oluşturulan 5 sıraya 18x68 cm ölçülerinde, daha sonra her parselde 80 bitki kalacak şekilde seyreltilmek üzere, çıkış ve çimlenme problemi riskine karşı ikişer adet olmak üzere toplam 160 tohum ekimi (21 Mayıs 2015) elle gerçekleştirilmiştir. Biyolojik gübre uygulaması ticari takdim önerisine uygun olarak ekimden 28 gün sonra (18 Haziran 2015) 0.5 g ha<sup>-1</sup> dozunda kloruz şebeke suyu yerine saf suda hazırlanarak toprak yüzeyine sırt tulumbası yardımıyla püskürtme şeklinde gerçekleştirilmiştir. Uygulanan biyolojik preparata ve topraktaki mikrobiyal aktiviteye bir etkisinin olması ihtimaline karşı herhangi bir pestisit kullanılmamıştır. Bu nedenle bazı parsellerde rastık ve mısır kurdu zararı ile karşılaşmıştır. Yabancı otlarla mekanik mücadele yapılmıştır.

17 Haziran 2015 tarihinde mikrobiyolojik amaçlı ilk toprak örnekleme, 19 Ekim 2015 tarihinde hasat

ile birlikte ise ikinci toprak örnekleme yapılmıştır. Örneklemede her parselden 10 farklı noktadan ve 0-20 cm derinlikten alınan ve karıştırılarak tek örneğe indirgenen kompoze örnekler, buz kutuları içerisinde aynı gün laboratuvara getirilerek mevcut nemleriyle 2 mm'lik elekten geçirilerek mikrobiyolojik analizler için +4°C'de muhafaza edilmişlerdir (Öhlinger, 1995). Ayrıca, 19 Ekim 2015 tarihinde hasat ile birlikte her parselden farklı noktalardan 3 tane olmak üzere tam bitki (kök, gövde) örnekleme yapılmıştır.

### Toprak örneklerinin analizinde kullanılan mikrobiyolojik ve biyokimyasal yöntemler

CO<sub>2</sub>-oluşumu (BSR), 0.1 N NaOH çözeltisi kullanılarak ve 25°C'de 24 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda saptanmıştır (Isermeyer, 1952; Jäggy, 1976). Toprak mikrobiyal biyokütle-C' u (MBC), nem miktarları belirlenen toprak örnekleri Jenkinson (1976)'a göre

**Çizelge 1.** Tarla deneme alanı toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

**Table 1.** Some physical and chemical properties of experimental soil

Parametre	0-20 cm	20-40 cm	Parametre	0-20 cm	20-40 cm
pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub> <sup>a</sup>	7.77 (0.05)	7.81 (0.04)	Top.N <sub>Kjeldahl</sub> <sup>d</sup>	0.13 (0.01)	0.13 (0.01)
EC <sup>b</sup>	716 (152)	610 (66)	Al.P <sub>Olsen</sub> <sup>f</sup>	37.69 (1.57)	38.21 (4.87)
Kireç <sup>c</sup>	4.17 (0.10)	4.64 (0.45)	Eks.Na <sub>NH<sub>4</sub>OAc</sub> <sup>f</sup>	34.23 (14.8)	28.77 (9.04)
Bünye	Tın		Al.K <sub>NH<sub>4</sub>OAc</sub> <sup>f</sup>	501 (76)	486 (58)
Kum <sup>d</sup>	50.10 (1.11)	48.74 (1.66)	Al.Ca <sub>NH<sub>4</sub>OAc</sub> <sup>f</sup>	2150 (30)	2034 (140)
Mil <sup>d</sup>	20.26 (0.87)	20.76 (1.00)	Al.Mg <sub>NH<sub>4</sub>OAc</sub> <sup>f</sup>	743 (64)	714 (63)
Kil <sup>d</sup>	29.64 (0.36)	30.50 (2.18)	Al.Fe <sub>DTPA</sub> <sup>f</sup>	6.07 (0.14)	6.79 (0.74)
OM <sup>d</sup>	2.13 (0.31)	2.07 (0.21)	Al.Cu <sub>DTPA</sub> <sup>f</sup>	1.95 (0.11)	1.70 (0.07)
NH <sub>4</sub> -N <sup>e</sup>	18.83 (2.64)	21.27 (1.47)	Al.Zn <sub>DTPA</sub> <sup>f</sup>	4.26 (0.22)	4.18 (0.16)
NO <sub>3</sub> -N <sup>e</sup>	1.74 (0.59)	1.54 (0.22)	Al.Mn <sub>DTPA</sub> <sup>f</sup>	13.35 (0.97)	8.49 (0.44)

\* Tüm değerler 4 tekrerrün ortalaması olup, etüv kuru ağırlık üzerinden hesaplanmıştır. Parantez içerisindeki rakamlar, ortalamanın standart sapmasını vermektedir. Kısaltmalar; EC: elektiriksel iletkenlik; OM: organik madde; Top.: Toplam; Al.: alınabilir; Eks.: ekstrakte edilebilir. <sup>a</sup>: su ile doymun çamurda; <sup>b</sup>: su ile doymun çamurda  $\mu S cm^{-1}$ ; <sup>c</sup>: toplam karbonatlar - %; <sup>d</sup>: %; <sup>e</sup>: mg azot 100 g<sup>-1</sup>; <sup>f</sup>: mg kg<sup>-1</sup>

**Çizelge 2.** Denemede kullanılan sulama suyunun bazı özellikleri

**Table 2.** Some properties of irrigation water used in the experiment

pH	7.71 (0.23)	Elektriksel iletkenlik (dS m <sup>-1</sup> )	0.60 (27.09)
Na <sup>+</sup> (me L <sup>-1</sup> )	0.95 (0.05)	Cl <sup>-</sup> (me L <sup>-1</sup> )	0.97 (0.16)
K <sup>+</sup> (me L <sup>-1</sup> )	0.11 (0.01)	CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> (me L <sup>-1</sup> )	iz
Ca <sup>++</sup> + Mg <sup>++</sup> (me L <sup>-1</sup> )	4.85 (0.25)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (me L <sup>-1</sup> )	3.86 (0.13)
Toplam Katyon (me L <sup>-1</sup> )	5.91	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup> (me L <sup>-1</sup> )	1.16 (0.05)
SAR	0.61	Toplam Anyon (me l <sup>-1</sup> )	5.99
Sulama Suyu Sınıfı	C <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	B (mg l <sup>-1</sup> )	0.17 (0.02)

\* Parantez içerisindeki rakamlar ortalamanın standart sapmasını vermektedir. SAR: Sodyum Adropsiyon Oranı; B: Bor

fumige edildikten sonra 0.5 M  $K_2SO_4$  ile ekstrakte edilmiştir (Vance et al., 1987). Elde edilen süzükteki C titrasyon ile saptanmış olup (Kalembasa and Jenkinson, 1973; Vance et al., 1987), hesaplamalarda kEC faktörü olarak 0.45 kullanılmıştır (Jenkinson and Ladd, 1981). Dehidrogenaz enzim (DHG) aktivitesi, 2,3,5 trifenil tetrazolium klorür çözeltisi kullanılarak Thalmann, 1968'e göre; N-mineralizasyonu ( $N_{min}$ ) ise su ile doymun hale getirilen topraklarda modifiye edilmiş Bertholet reaksiyonu ile saptanmıştır (Keeney, 1982). Üreaz enzim (UA) aktivitesi, substrat olarak ürenin kullanıldığı yöntemde modifiye edilmiş Bertholet reaksiyonu ile tespit edilmiştir (Kandeler and Gerber, 1988). Proteaz enzim (PRO) aktivitesi, substrat olarak kazeinin kullanıldığı yöntemde 700 nm'de kolorimetrik olarak tespit edilmiştir (Ladd and Butler, 1972). Mikroorganizma sayımları kültürel metoda göre katı besin ortamları kullanılarak yapılmıştır (Fiedler, 1973). Genel bakteri (GB) sayımlarında Dextroz-Agar (Johnson et al., 1959), *Azospirillum* sp. (AZO) sayımlarında ise Congo Red Agar (Rodríguez-Cáceres, 1982) kullanılmıştır.

### Toprakların fizikokimyasal analizleri

pH ve elektriksel iletkenlik, organik madde miktarı, kalsiyum karbonat sırasıyla Rhoades (1982), Nelson ve Sommers (1982), Nelson (1982)'e göre belirlenmiştir. Toprağın mekanik analizi, hidrometre yöntemi ile yapılmıştır (Bouyoucos, 1962). Toplam N, Bremner'e (1965) göre belirlenmiştir. Toprakta bulunan P, sodyum bikarbonat ile ekstrakte edilmiş ve Olsen metodu kullanılarak belirlenmiştir (Olsen and Sommers, 1982). Alınabilir K, 1 mol  $L^{-1}$   $CH_3CO_2NH_4$  nötral ekstraksiyondan sonra alev fotometresi ile ölçülmüştür (Knudsen et al., 1982).

### İstatistiksel yöntemler

Çalışmada elde edilen sonuçlar; "SPSS 20.0" istatistik paket programı kullanılarak tesadüf blokları denememe deseninde faktöriyel düzende çok değişkenli ANOVA (MANOVA) varyans analizi tekniğine göre değerlendirilmiş ve farklı grupları tespit etmede Duncan testi kullanılmıştır. Ayrıca değişkenler arasındaki korelasyonlar da aynı paket program kullanılarak değerlendirilmiştir.

### ARAŞTIRMA BULGULARI

#### Bağımsız değişkenlerin toprakların mikrobiyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisi

Topraklara uygulanan kültürel işlemlere en hızlı ve doğru cevap veren toprak özelliği olarak toprakların

mikrobiyal özellikleri öne çıkarılabilir. Bu nedendir ki toprak kalitesindeki değişiklikleri tahmin etmek için topraktaki mikroorganizmaların davranışları izlenmektedir. En yaygın olarak kullanılan genel biyokimyasal parametreler arasında mikrobiyal biyokütle, dehidrogenaz aktivitesi ve N-mineralizasyon kapasitesi sayılabilir. En sık kullanılan spesifik parametreler ise fosfataz (asit veya alkali),  $\beta$ -glukozidaz ve üreaz enzim aktiviteridir (Gil-Sotres et al., 2005). Bu çalışmamızda anılan bu parametrelerden 4 tanesi olan toprak solunumu (BSR), dehidrogenaz (DHG) ve  $\beta$ -glukozidaz enzim (GLU) aktiviteri ile azot mineralizasyonu ( $N_{min}$ ) düzeyleri, mikrobiyolojik ve biyokimyasal özellikleri karakterize eden bağımlı değişkenleri oluşturmuştur. Tarla denemesi sonuçlarından elde edilen verilerin istatistiksel analizine göre; %99 güvenle "DÖNEM" ve %95 güvenle "KONU" ve "DÖNEMxKONU" faktörlerinin bağımlı biyolojik değişkenler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmıştır (Çizelge 3).

Deneme planında tesis edilen tekerrürlerin arasındaki farkların ise önemsiz bulunması ( $P>0.05$ ) istenen bir sonuç olup, çalışmadan elde edilen verilerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebileceği göstermektedir. Çizelge 4'de ise bağımsız değişkenlerin, bağımlı biyolojik değişkenler üzerindeki tek yönlü etkilerini ifade eden varyans analiz tablosu verilmiştir. Bağımsız değişkenlerin incelenen mikrobiyal parametreleri üzerindeki etkileri değişik düzeylerde belirlenmiştir. Buna göre toprak örnekleme dönemi (DÖNEM) BSR üzerindeki etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli saptanırken, diğer mikrobiyal parametreler (MBC,  $N_{min}$ , DHG, PRO, GB) üzerine ise  $P<0.01$  düzeyinde belirlenmiştir. Uygulama konuları ise sadece MBC ve DHG değişkenlerini %5 düzeyinde etkilemiş olup, BSR,  $N_{min}$ , PRO ve GB üzerindeki etkisi önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). DÖNEMxKONU interaksyonu ise AZO dışındaki tüm mikrobiyal parametreler üzerinde önemli düzeyde bir etkinlik gösterememiştir.

AZO sayısı üzerine toprak örnekleme döneminin (DÖNEM), uygulama konularının (KONU) ve dönem ile uygulamaların interaksyonunun (DÖNEMxKONU) birlikte etkisi  $P<0.01$  düzeyinde önemli bulunurken, UA aktivitesine üzerine etkileri ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

#### Mikrobiyal biyokütle karbonu (MBC) üzerine etkisi

Araştırma topraklarında saptanan MBC değerleri 155.8 – 420.3  $\mu g C_{mic} g^{-1}$  arasında bulunmuştur (Çizelge 5). Uygulamalardan bağımsız olarak tüm toprakların MBC değeri ilk dönem toprak örneklerinde, ikinci dönem toprak örneklerine göre daha düşük analiz edilmiştir.



1. dönem toprak örneklerinde uygulamalar arasında bir farklılık saptanmazken, 2. dönemde ise yapılan uygulamaların etkinliği gözlenmiştir. Biyolojik gübre uygulanmayan parsellerde saptanan MBC değeri, biyolojik gübre uygulanan parsellerdeki MBC değerinden düşük bulunmuştur.

2. dönem örnekleme hasat ile birlikte Ekim ayında yapıldığı düşünüldüğünde, 1. dönem toprak örnekleme takiben gerçekleştirilen BG uygulamasıyla topraklara sağlanan mikroorganizmaların, genel mikrobiyal popülasyonu teşvik edici bir durum sergilediği söylenebilir. En yüksek MBC değeri her iki dönemde de  $N_1BG_1$  uygulamasıyla elde edilmiş ve sırasıyla 272.8 ile 420.3  $\mu g C_{mic} g^{-1}$  olup, artan azot dozuna bağlı olarak bu değer azalmıştır.

Deneme sonucunda iki dönemde elde edilen verilerin ortalaması dikkate alındığında;  $N_0$  topraklarına göre MBC değeri üzerinde en büyük artış  $N_1BG_1$  uygulamasıyla ( $N_0BG_1$  uygulamasına göre % 38,  $N_0BG_0$  uygulamasına göre % 93) elde edilmiş ve bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Ancak artan azot dozu uygulamasına

( $N_2$ ) bağlı olarak BG uygulanmış parsellerdeki MBC değerinde bir azalma saptanırken, BG uygulanmamış parsellerde diğer uygulamalara benzer bir popülasyon büyüklüğü saptanmıştır. Dahası, BG uygulanan  $N_0$  parselinin ortalama MBC değeri 250.4  $\mu g C_{mic} g^{-1}$  olarak gerçekleşirken;  $N_2$  parselinin ise bundan daha az olarak 238.6  $\mu g C_{mic} g^{-1}$  bulunmuştur (Şekil 1). Ancak bu farklılık her ne kadar da istatistiksel olarak önemli düzeyde saptanmamışsa da tam doz azot uygulamasının, özellikle BG uygulandıktan sonraki mevcut mikrobiyal yük üzerine olumsuz bir etkisi ortaya çıktığı şeklinde söylenebilir.

### Toprak solunumu (BSR) üzerine etkisi

Çizelge 5'den de görüleceği üzere, araştırma topraklarının BSR değeri 6.93 – 9.08  $\mu g CO_2-C g^{-1} h^{-1}$  arasında değişim göstermiştir. 1. dönem toprak örneklerinde en yüksek BSR değeri  $N_1$  uygulamasıyla saptanmıştır. Artan azot dozlarıyla her iki grupta da BSR değerlerinde azalma saptanmıştır. 2. dönem toprak örneklerinde ise BG uygulanmış parsellerde artan azot uygulamalarına bağlı olarak BSR değerlerinde önemli düzeyde artış gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

**Çizelge 3.** Bağımsız değişkenlerin (DÖNEM, KONU, DÖNEMxKONU) bağımlı biyolojik parametreler üzerindeki iki yönlü MANOVA varyans analiz tablosu

**Table 3.** Multivariate hypothesis tests (MANOVA)<sup>a</sup> in terms of independent variables

Çok Değişkenli Testler <sup>a</sup>						
Faktör		Değer	F	Hipotezin Serbestlik Derecesi	Hatanın Serbestlik Derecesi	Sig.
DÖNEM	Pillai's Trace	0.919	21.283 <sup>b</sup>	8.000	15.000	0.000
	Wilks' Lambda	0.081	21.283 <sup>b</sup>	8.000	15.000	0.000
	Hotelling's Trace	11.351	21.283 <sup>b</sup>	8.000	15.000	0.000
	Roy's Largest Root	11.351	21.283 <sup>b</sup>	8.000	15.000	0.000
KONU	Pillai's Trace	1.581	1.098	40.000	95.000	0.349
	Wilks' Lambda	0.050	1.680	40.000	68.178	0.029
	Hotelling's Trace	8.699	2.914	40.000	67.000	0.000
	Roy's Largest Root	7.701	18.289 <sup>c</sup>	8.000	19.000	0.000
TEKRAR	Pillai's Trace	0.692	1.057	16.000	32.000	0.430
	Wilks' Lambda	0.384	1.150 <sup>b</sup>	16.000	30.000	0.359
	Hotelling's Trace	1.405	1.230	16.000	28.000	0.307
	Roy's Largest Root	1.247	2.494 <sup>c</sup>	8.000	16.000	0.057
DÖNEM * KONU	Pillai's Trace	1.804	1.341	40.000	95.000	0.124
	Wilks' Lambda	0.054	1.629	40.000	68.178	0.038
	Hotelling's Trace	5.839	1.956	40.000	67.000	0.007
	Roy's Largest Root	4.113	9.768 <sup>c</sup>	8.000	19.000	0.000

a. Model: Sabit + DÖNEM + KONU + TEKRAR + DÖNEM \* KONU

b. Kesin istatistik

c. İstatistik, F üzerinde bir üst sınırdır, bu da anlamlılık seviyesinde daha düşük bir sınır oluşturur.

**Çizelge 4.** Bağımsız değişkenlerin (DÖNEM, KONU, DÖNEMxKONU) bağımlı biyolojik parametreler üzerindeki çok yönlü MANOVA varyans analiz tablosu

**Table 4.** Multivariate hypothesis tests (MANOVA) that shows the interaction between dependent and independent variables

Konular-arası Etkilerin Testleri						
Varyasyon Kaynağı	Bağımlı Değişken	Tip III Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Sig.
<b>DÖNEM</b>	BSR	7.812	1	7.812	6.555	0.018
	DHG	20596.077	1	20596.077	118.105	0.000
	NMIN	1.609	1	1.609	9.155	0.006
	UA	74.218	1	74.218	0.631	0.436
	PRO	13483.854	1	13483.854	29.316	0.000
	MBC	77832.630	1	77832.630	10.738	0.003
	GB	86826816778250.670	1	86826816778250.670	11.294	0.003
	AZO	5699202085766.691	1	5699202085766.691	104.533	0.000
<b>KONU</b>	BSR	2.556	5	0.511	0.429	0.824
	DHG	2170.656	5	434.131	2.489	0.042
	NMIN	.318	5	0.064	0.362	0.869
	UA	336.798	5	67.360	0.572	0.720
	PRO	322.291	5	64.458	0.140	0.981
	MBC	124902.020	5	24980.404	3.446	0.019
	GB	50843265415834.820	5	10168653083166.965	1.323	0.291
	AZO	3404403737612.468	5	680880747522.494	12.489	0.000
<b>TEKRAR</b>	BSR	0.664	2	0.332	0.278	0.760
	DHG	75.161	2	37.580	0.215	0.808
	NMIN	0.100	2	0.050	0.285	0.755
	UA	13.792	2	6.896	0.059	0.943
	PRO	970.953	2	485.476	1.056	0.365
	MBC	44748.906	2	22374.453	3.087	0.066
	GB	56768307117772.086	2	28384153558886.043	3.692	0.041
	AZO	25089020073.722	2	12544510036.861	0.230	0.796
<b>DÖNEM * KONU</b>	BSR	2.263	5	0.453	0.380	0.857
	DHG	1139.861	5	227.972	1.307	0.297
	NMIN	0.548	5	0.110	0.624	0.683
	UA	122.762	5	24.552	0.209	0.955
	PRO	2473.865	5	494.773	1.076	0.401
	MBC	50089.212	5	10017.842	1.382	0.269
	GB	33497165765351.793	5	6699433153070.358	0.871	0.516
	AZO	3785793497823.804	5	757158699564.761	13.888	0.000

**Çizelge 5.** Bağımsız değişkenlerin bazı mikrobiyal parametreler üzerine dönemler bazında etkisi**Table 5.** The effect of independent variables on some soil microbial parameters

Parametre	Dönem	BG <sub>0</sub>			BG <sub>1</sub>		
		N <sub>0</sub>	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>0</sub>	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>
<b>MBC<sup>a</sup></b> (µg C <sub>mic</sub> g <sup>-1</sup> )	I	190.6 <b>a A</b>	167.3 <b>a A</b>	155.8 <b>a A</b>	161.5 <b>a B</b>	272.8 <b>a A</b>	156.7 <b>a B</b>
	II	168.6 <b>b A</b>	197.5 <b>b A</b>	216.3 <b>b A</b>	339.3 <b>ab A</b>	420.3 <b>a A</b>	320.5 <b>ab A</b>
<b>BSR<sup>b</sup></b> (µg CO <sub>2</sub> -C g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	I	6.93 <b>a A</b>	7.32 <b>a A</b>	6.97 <b>a A</b>	7.48 <b>a A</b>	8.05 <b>a A</b>	7.49 <b>a A</b>
	II	8.16 <b>a A</b>	8.17 <b>a A</b>	8.28 <b>a A</b>	7.97 <b>a B</b>	8.17 <b>a B</b>	9.08 <b>a A</b>
<b>N<sub>min</sub><sup>c</sup></b> (µg NH <sub>4</sub> -N g <sup>-1</sup> 24 h <sup>-1</sup> )	I	3.58 <b>a A</b>	3.33 <b>a A</b>	3.64 <b>a A</b>	3.56 <b>a A</b>	3.60 <b>a A</b>	3.59 <b>a A</b>
	II	3.05 <b>a A</b>	3.21 <b>a A</b>	2.79 <b>a A</b>	3.10 <b>a A</b>	3.19 <b>a A</b>	3.44 <b>a A</b>
<b>DHG<sup>d</sup></b> (µg TPF g <sup>-1</sup> 16 h <sup>-1</sup> )	I	131.1 <b>ab A</b>	120.0 <b>b A</b>	126.7 <b>ab A</b>	131.6 <b>ab A</b>	155.4 <b>a A</b>	135.6 <b>ab A</b>
	II	77.7 <b>b A</b>	82.7 <b>b A</b>	80.4 <b>b A</b>	83.1 <b>b B</b>	87.4 <b>ab B</b>	102.1 <b>a A</b>
<b>UA<sup>e</sup></b> (µg N g <sup>-1</sup> 2h <sup>-1</sup> )	I	81.55 <b>a A</b>	88.93 <b>a A</b>	89.76 <b>a A</b>	82.16 <b>a A</b>	78.61 <b>a A</b>	87.77 <b>a A</b>
	II	80.98 <b>a A</b>	86.24 <b>a A</b>	84.94 <b>a A</b>	80.77 <b>a A</b>	80.58 <b>a A</b>	78.04 <b>a A</b>
<b>PRO<sup>f</sup></b> (µg Tyrosine g <sup>-1</sup> 2h <sup>-1</sup> )	I	119.2 <b>a A</b>	100.9 <b>a A</b>	132.9 <b>a A</b>	109.3 <b>a A</b>	107.4 <b>a A</b>	109.4 <b>a A</b>
	II	151.7 <b>a A</b>	164.1 <b>a A</b>	140.8 <b>a A</b>	152.3 <b>a A</b>	148.2 <b>a A</b>	154.2 <b>a A</b>
<b>GB<sup>g</sup></b> (x10 <sup>7</sup> kob g <sup>-1</sup> )	I	1.40 <b>a A</b>	1.79 <b>a A</b>	1.51 <b>a A</b>	1.93 <b>a A</b>	1.94 <b>a A</b>	1.81 <b>a A</b>
	II	1.35 <b>a A</b>	1.40 <b>a A</b>	1.41 <b>a A</b>	1.35 <b>a A</b>	1.45 <b>a A</b>	1.56 <b>a A</b>
<b>AZO<sup>h</sup></b> (x10 <sup>6</sup> kob g <sup>-1</sup> )	I	1.58 <b>a A</b>	1.72 <b>a A</b>	1.40 <b>a A</b>	1.37 <b>a B</b>	1.49 <b>a B</b>	1.61 <b>a A</b>
	II	1.61 <b>d B</b>	1.71 <b>d AB</b>	2.09 <b>cd A</b>	2.34 <b>c B</b>	2.84 <b>b AB</b>	3.37 <b>a A</b>

<sup>a</sup>: Mikrobiyal biyokütle karbonu; <sup>b</sup>: Toprak solunumu; <sup>c</sup>: Azot mineralizasyonu; <sup>d</sup>: Dehidrogenaz enzimi; <sup>e</sup>: Üreaz enzimi; <sup>f</sup>: Proteaz enzimi; <sup>g</sup>: Genel bakteri sayımı; <sup>h</sup>: *Azospirillum* sp. sayımı

\* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ( $\alpha=0.05$ ) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

\*\* Küçük harfler uygulamaların aynı dönem içerisindeki; büyük harfler azot dozlarının (N<sub>0</sub>, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>) aynı dönem ve aynı biyolojik gübre (BG) uygulaması içerisindeki karşılaştırmasını vermektedir.

\*\*\* Tüm değerler üç tekrürün ortalaması olarak kuru madde bazında verilmiştir.

Deneme sonucundaki en yüksek BSR değeri 8.29 CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ile N<sub>2</sub>BG<sub>1</sub> uygulaması ait olarak saptanmıştır (Şekil 1). Her ne kadar da istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık bulunmasa da, BG uygulanmış parsellerin toprak solunumu değerleri, uygulanmamış parsellere göre daha yüksek analiz edilmiştir. Azot dozlarının BSR değeri üzerinde ortalama % 2-6 arasında sırasıyla BG<sub>0</sub> ve BG<sub>1</sub> uygulanmış topraklardaki kontrol parseli değerine göre bir artışa neden olduğu bulunmuştur. Deneme sonucunda ortaya çıkan önemli bir bulgu da, herhangi bir azot dozu uygulanmamış BG parselinin, biyolojik gübre uygulanmamış N<sub>1</sub> ve N<sub>2</sub> parsellerine benzer BSR değeri göstermiş olmasıdır.

#### Azot mineralizasyonu (N<sub>min</sub>) üzerine etkisi

Deneme parsellerinde saptanan N<sub>min</sub> düzeyleri her iki dönemde de birbirine yakın analiz edilmiş ve 2.79 – 3.64 µg NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup> arasında değişim göstermiştir (Çizelge 5). İlk dönemde en yüksek N<sub>min</sub> değeri BG uygulanmamış

parsellerde N<sub>2</sub> uygulamasıyla gerçekleşirken, BG uygulanmış parsellerde ise N<sub>1</sub> uygulamasıyla saptanmıştır. 2. dönem toprak örneklerinde ise bu durumun tam tersi bir durum saptanmış olsa da her iki dönemde de ortaya çıkan bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. BG uygulamaları, özellikle 2. dönem örneklerinde olmak üzere her iki dönemde de artan azot dozlarına daha stabil bir N<sub>min</sub> değeri göstermiştir.

Deneme sonucunda elde edilen ortalama değerler dikkate alındığında; artan azot dozlarına bağlı olarak N<sub>min</sub> değerlerinde BG<sub>1</sub> parsellerinde doğrusal bir artış trendi saptanırken; BG<sub>0</sub> parsellerinde ise benzer şekilde ancak ters yönlü olarak bir azalış trendi bulunmuştur (Şekil 1). N<sub>0</sub>BG<sub>0</sub> uygulamasına göre N<sub>1</sub> uygulamasıyla %-1, N<sub>2</sub> uygulamasıyla %-3 daha düşük N<sub>min</sub> değerleri analiz edilirken; N<sub>0</sub>BG<sub>1</sub> uygulamasına göre N<sub>1</sub> uygulamasıyla %2, N<sub>2</sub> uygulamasıyla ise %5 daha fazla N<sub>min</sub> değeri saptanmıştır. En yüksek N<sub>min</sub> değeri 3.51 µg NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup> ile N<sub>2</sub>BG<sub>1</sub> uygulamasında belirlenmiştir (Şekil 1).



### Dehidrogenaz enzim (DHG) aktivitesi üzerine etkisi

1. dönem toprak örneklerinde en yüksek DHG aktivitesi  $N_1BG_1$  uygulamasıyla  $155.4 \mu\text{g TPF g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$  olarak elde edilirken ( $P<0.05$ ); 2. dönemde ise  $N_2BG_1$  uygulamasıyla  $102.1 \mu\text{g TPF g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$  en yüksek ( $P<0.05$ ) DHG aktivitesi belirlenmiştir (Çizelge 5).  $BG_1$  uygulamasına bağlı olarak her iki dönemde de analiz edilen DHG aktivitesi,  $BG_0$  uygulamalarındakine göre daha yüksek bulunmuştur.  $BG_0$  uygulamalarında azot dozlarına bağlı olarak, 1. dönemde kontrole göre daha düşük DHG aktivitesi belirlenirken; 2. dönem topraklarında hafif bir yükseliş belirlense bile bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Genel olarak 2. dönem toprak örneklerinde daha düşük DHG aktivitesi saptanmış olup, araştırma topraklarında belirlenen DHG aktivitesi  $77.7 - 155.4 \mu\text{g TPF g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$  arasında değişim göstermiştir.

İki dönemlik ortalama sonuçlar dikkate alındığında  $BG_1$  uygulamasına bağlı olarak DHG aktivitesinin  $BG_0$  uygulamasına göre artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 1). En yüksek DHG aktivitesi  $121.4 \mu\text{g TPF g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$  ile  $N_1BG_1$  uygulamasıyla saptanırken ( $P<0.05$ ), azot dozunun artmasıyla istatistiksel olarak önemli düzeyde olmayan biraz düşüş yaşasa da  $N_2BG_2$  uygulamasıyla da ikinci en yüksek DHG aktivitesi  $118.8 \mu\text{g TPF g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$  olarak belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Biyolojik gübre uygulanmamış parsellerde azot dozlarına bağlı olarak kontrole göre DHG aktivitesinde ortalama %2 düzeyinde azalış saptanırken;  $N_0BG_1$  uygulamasına göre  $N_1BG_1$  ile %13,  $N_2BG_1$  ile %11 düzeyinde artış saptanmıştır.

### Üreaz enzim (UA) aktivitesi üzerine etkisi

Araştırma topraklarında her iki dönemde de saptanan UA aktiviteleri birbirine yakın değerler göstermiş ve  $78.61 - 89.76 \mu\text{g N g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$  arasında analizlenmiştir (Çizelge 5). Biyolojik gübre uygulamalarının ve farklı azot dozlarının UA aktivitesi üzerindeki etkinliği net olarak ortaya çıkmamıştır.  $BG$  uygulanmayan parsellerde ise ( $BG_0$ ) artan azot dozlarıyla UA aktivitesi % 8 ve % 7 düzeylerinde kontrol toprağına göre artış göstermiş, ancak bu oluşan farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Deneme sonunda en yüksek UA aktivitelerine, biyolojik gübre uygulanmamış parsellerde rastlanılmıştır (Şekil 1).  $N_1$  uygulamasıyla  $87.59 \mu\text{g N g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ ,  $N_2$  uygulamasıyla ise  $87.35 \mu\text{g N g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$  düzeyinde bir UA aktivitesi elde edilmiştir. Ancak  $BG_0$  ve  $BG_1$  parselleri arasındaki UA aktivitesi açısından oluşan bu farklılık istatistiksel olarak önemli düzeyde saptanmamıştır.

### Proteaz enzim (PRO) aktivitesi üzerine etkisi

1. dönem alınan toprak örneklerindeki PRO aktivitelerine göre, azot ve biyolojik gübre uygulamalarından bağımsız olarak, 2. dönem PRO aktivitesi daha yüksek düzeyde saptanmıştır. Araştırma topraklarında saptanan PRO aktivitesi  $100.9 - 164.1 \mu\text{g Tyrosine g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$  arasında ortaya çıkmıştır (Çizelge 5).  $BG_1$  uygulamalarında, artan azot dozlarına bağlı olarak PRO aktivitesinde bir değişim gözlenmemiştir.  $BG_0$  uygulamalarında ise yarım doz azot uygulamasına bağlı olarak PRO aktivitesi artmış, tam doz azot uygulamasıyla ise PRO aktivitesinde kontrol toprağına oranla azalma saptanmıştır. En yüksek PRO aktivitesi, 2. dönem alınan  $N_1BG_0$  parsellerinde  $164.1 \mu\text{g Tyrosine g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$  düzeyinde ortaya çıkmıştır.

İki dönemin ortalama sonuçları dikkate alındığında biyolojik gübre uygulanmamış parsellerde daha yüksek PRO aktivitesinin ortaya çıktığı görülmektedir (Şekil 1).  $N_1$  dozlarına bağlı olarak hafif bir düşüş gösteren PRO aktivitesi,  $N_2$  dozlarıyla kontrole göre artış göstermiş, ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Deneme sonunda en yüksek PRO aktivitesi  $136.9 \mu\text{g Tyrosine g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$  ile  $N_2BG_0$  uygulamasıyla elde edilmiştir (Şekil 1).

### Genel bakteri popülasyonu büyüklüğü (GB) üzerine etkisi

Hasat zamanı alınan 2. dönem toprak örneklerinde GB daha düşük saptanırken, araştırma topraklarındaki genel bakteri yoğunluğu  $1.35 - 1.94 \times 10^7$  kob  $\text{g}^{-1}$  düzeylerinde belirlenmiştir (Çizelge 5).  $BG_0$  uygulanan parsellerdeki 1. dönem GB değeri,  $N_1$  uygulamasıyla kontrole göre % 28 düzeyinde artış gösterirken;  $N_2$  uygulamasıyla ise bu artış miktarı % 8 ile sınırlı kalmıştır. 2. Dönem toprak örneklerinde ise kontrol parseline göre yine bir artış saptanmış olup; her iki azot dozu için de % 4 olarak gerçekleşmiştir. Benzer eğilim biyolojik gübre uygulanmış parsellerde de gözlenmiştir.  $BG_1$  uygulamalarına bağlı olarak  $N_1$  parsellerinde kontrole göre % 7,  $N_2$  parsellerinde ise % 16 düzeyinde GB değerinde artışlar saptanmıştır.

Deneme sonunda biyolojik gübre uygulamalarına bağlı olarak uygulanmamış parsellere oranla daha yüksek GB değeri ( $P>0.05$ ) elde edilmiştir (Şekil 2).

### Azospirillum sp. popülasyonu (AZO) büyüklüğü üzerine etkisi

Araştırma topraklarında saptanan AZO miktarı,  $1.37 - 3.37 \times 10^6$  kob  $\text{g}^{-1}$  arasında değişim göstermiştir (Çizelge 5). Biyolojik gübre uygulamalarıyla 2. dönem AZO değerindeki artış, uygulanmamış parsellere oranla

% 45, % 66 ve % 61 düzeylerinde sırasıyla  $N_0$ ,  $N_1$  ve  $N_2$  uygulamalarıyla gerçekleşmiştir. En yüksek AZO tam doz azot uygulamasıyla elde edilen  $3.37 \times 10^6$  kob  $g^{-1}$  düzeyiyle göstermiştir.

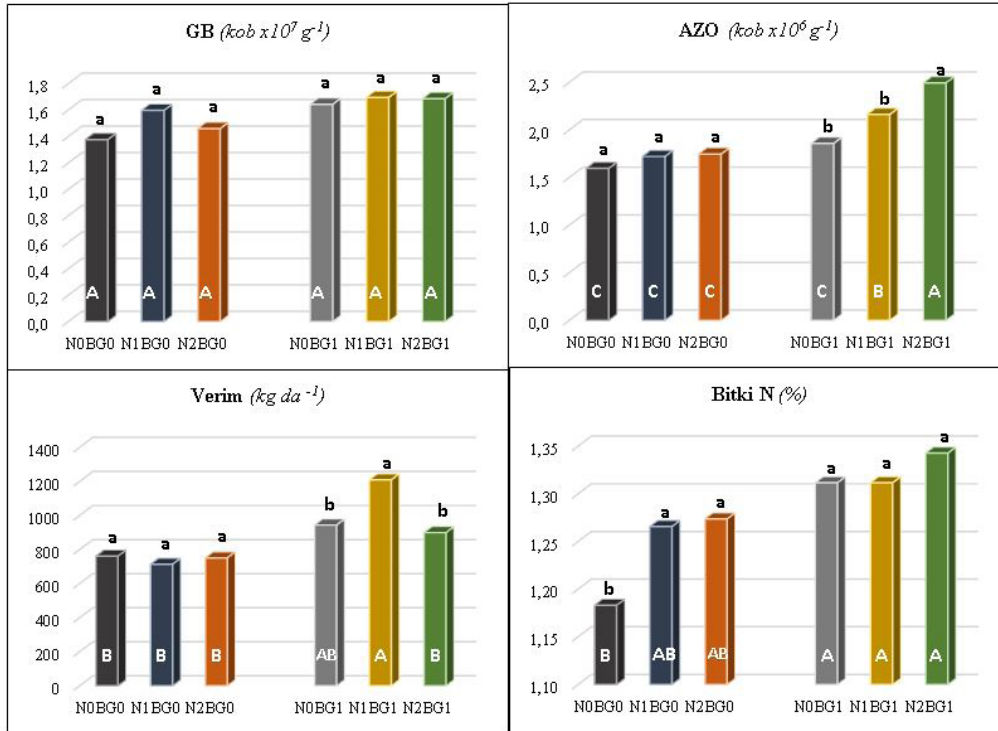
Deneme sonucunda  $N_0$  topraklarına göre AZO değeri üzerinde en büyük artış  $N_2BG_1$  uygulamasıyla ( $N_0BG_1$  uygulamasına göre % 34,  $N_0BG_0$  uygulamasına göre % 56) elde edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Artan azot dozu uygulamasına ( $N_2$ ) bağlı olarak BG uygulanmış parsellerdeki AZO değerinde bir artış saptanırken, BG uygulanmamış parsellerde ise uygulamalar arasında birbirine yakın değerler belirlenmiştir (Şekil 2).

## TARTIŞMA

### Mikrobiyolojik ve biyokimyasal sonuçlar ile ilgili değerlendirme

İlk dönem yapılan analiz sonuçları incelendiğinde, homojen bir deneme alanı seçildiği, incelenen parametrelerin ilk dönem uygulamalara karşı

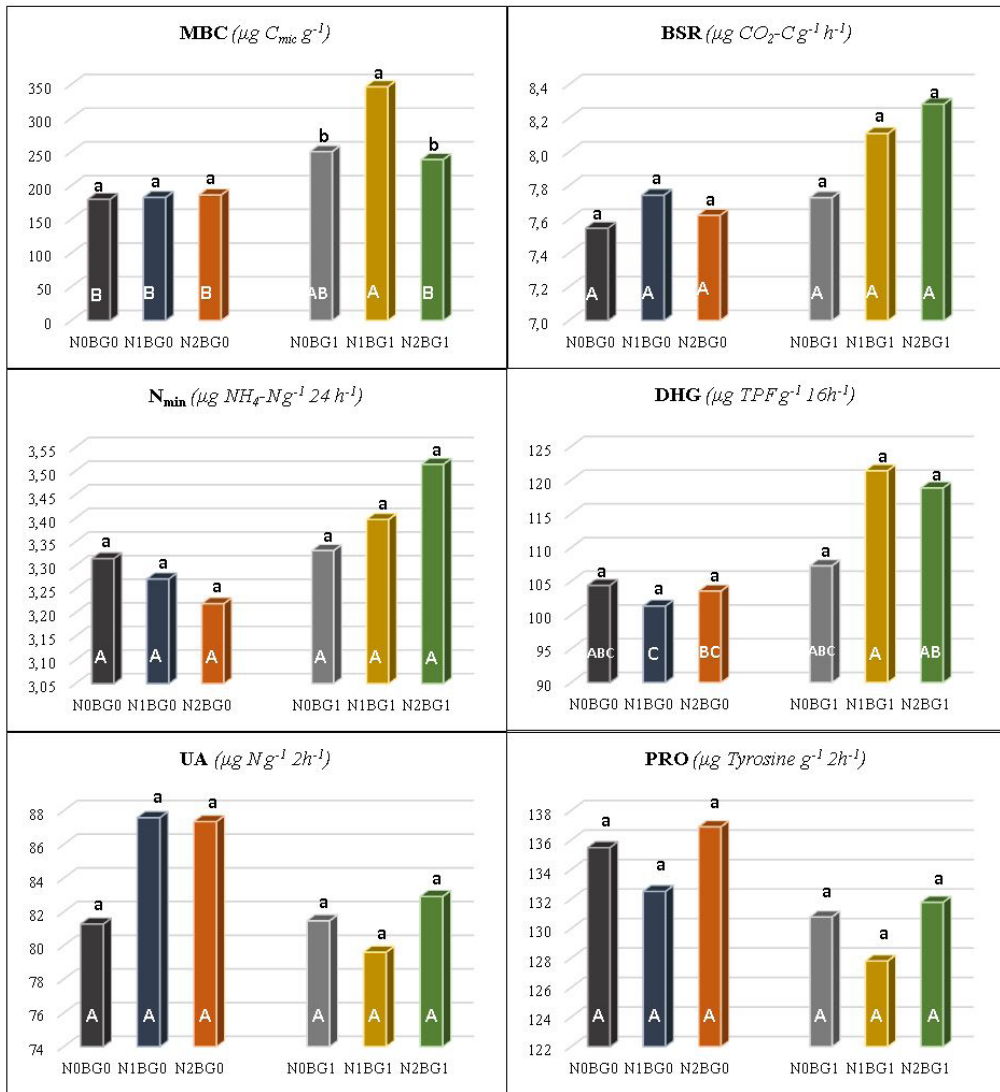
gösterdiği farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasından anlaşılabilir (P>0.05). Bunun yanında, ilk dönem toprak örnekleme kadar geçen süre içerisinde tüm parsellere yapılan fosfor ve potasyumlu gübrelemenin de ( $150 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$  ve  $200 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ ) mikroorganizmaları ve aktivitelerini teşvik edici ya da azaltıcı herhangi bir etkinliği saptanmamıştır. Dahası,  $N_1$  ve  $N_2$  uygulamaları ile verilen  $125 \text{ kg N ha}^{-1}$  azotlu gübrenin de biyolojik aktivite üzerine gösterdiği nötr etkinliğinin anlamlı olmadığı görülmektedir. Buna benzer şekilde Kanada'da yapılan bir araştırmada, uygulama oranlarına bağlı olarak azotlu kimyasal gübrelerin, topraktaki biyolojik aktivite üzerine olan etkisinin değişkenlik gösterdiği ortaya konulmuştur. Araştırmacılar, mısır ve arpa için agronomik olarak önerilen oranlarda uygulanan azotun ( $80 \text{ kg N ha}^{-1}$ ), MBC'yi ve bakteri çeşitliliğini etkilemediğini ya da bu biyolojik özellikleri arttırdığını; ancak daha yüksek oranlarda uygulanan N'un ( $160 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) ise MBC'yi düşürdüğünü saptamışlardır (Lupwayi et al., 2012).



**Şekil 1.** Farklı bağımsız değişkenlerin, deneme periyodunun sonunda bazı toprak mikrobiyolojik ve biyokimyasal toprak özellikleri üzerine ortalama etkileri

(Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ( $\alpha = 0.05$ ) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir. Büyük harfler uygulamaların birbirleri arasındaki; küçük harfler ise aynı biyolojik gübre (BG) uygulamasındaki azot dozlarının ( $N_0$ ,  $N_1$ ,  $N_2$ ) ortalamalarının karşılaştırılmasını göstermektedir.)

**Figure 1.** The average effects of different independent variables on some soil microbiological and biochemical properties at the end of the experimental period



**Şekil 2.** Farklı bağımsız değişkenlerin, deneme periyodunun sonunda genel bakteri ve *Azospirillum* sp. sayıları ile bazı bitki özellikleri üzerine ortalama etkileri

(Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ( $\alpha=0.05$ ) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir. Büyük harfler uygulamaların birbirleri arasındaki; küçük harfler ise aynı biyolojik gübre (BG) uygulamasındaki azot dozlarının ( $N_0$ ,  $N_1$ ,  $N_2$ ) ortalamalarının karşılaştırmasını göstermektedir.)

**Figure 2.** The average effects of different independent variables on the count of general bacteria and *Azospirillum* sp. and some test plant properties at the end of the experimental period

Mikrobiyal biyokütle, topraktaki C, N, S ve P gibi besin maddelerinin yarıyıllı bir deposu ve toprak organik maddesindeki dönüşümlerin bir göstergesidir (Jenkinson and Ladd, 1981). Araştırma topraklarında biyolojik gübre uygulaması yapılmayan parsellerde, azot dozlarına bağlı olarak MBC değerlerinde bir değişiklik gözlenmezken, biyolojik gübre uygulamasıyla MBC değerlerinde artış saptanmıştır. Biyolojik gübre

ile topraklara önemli miktarda mikroorganizma ( $>10^{11}$  kob  $\text{g}^{-1}$ ) ilavesi de yapılmaktadır. Bu nedenle BG<sub>1</sub> uygulamalarında BG<sub>0</sub> uygulamalarına göre daha yüksek MBC değeri saptanması muhtemeldir. Ancak, uygulanan ticari preparatın ithal oluşu, topraktaki adaptasyon sorununu gündeme getirebilir ki bu proje kapsamında kullanılan biyolojik preparat ile böyle bir sorunun yaşanmadığı MBC değerine bakılarak

belirtilebilir. Özellikle biyolojik gübre uygulamasından sonra alınan 2. dönem toprak örneklerinde bu durum çok daha net olarak ortaya çıkmıştır. Zira örnekleme yapıldığı 19.10.2015 tarihi itibarıyla azalan sıcaklık ve nem durumuna bağlı olarak azalması beklenebilecek MBC değeri (Waldrop and Firestone, 2006; Carey et al., 2015), biyolojik gübre uygulamalarına bağlı olarak artış göstermiştir. Dolayısıyla, uygulanan BG dozuna bağlı olarak değişim gösterebilmekle birlikte bu çalışma kapsamında uygulanan mikroorganizma türlerinin toprakta 4 ay süre ile canlılıkları sürdürdükleri ve hatta popülasyonlarını arttırdıkları söylenebilir. Buna ek olarak, rizosfer ürünleri (kök salgıları, ölü hücreler vb.), bitki köklerinden gelen C girdisi ve ürün artıklarının da topraktaki mikrobiyal biyokütle artışını destekler nitelikte olduğu belirtilmelidir (Ross, 1987). Buna karşılık biyolojik gübre uygulanmış parsellerdeki artan azot dozlarına bağlı olarak MBC değerinde önce bir artış sonrasında ise bir azalış saptanmıştır. N<sub>1</sub> uygulaması (125 kg N ha<sup>-1</sup>) MBC değerini maksimum düzeyde uyarırken, N<sub>2</sub> uygulamasının (250 kg N ha<sup>-1</sup>) MBC değeri üzerinde azaltıcı etki yaptığı görülmektedir. Bu düşüş kontrol grubu değerinin de altına kadar gerçekleşmiştir. Mineral gübrelemenin MBC üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda hem pozitif (Majumder et al., 2007) hem de negatif etkiler bulunmuştur (Bittman et al., 2005). Malý et al. (2009) yaptıkları çalışmalarında 0, 80 ve 160 kg ha<sup>-1</sup> yıl<sup>-1</sup> N'lu gübre uyguladıkları topraklarda MBC ve BSR değerlerinde artan N dozlarına bağlı olarak azalmalar belirlemişlerdir.

Topraklardaki organik C'un heterotrofik mikroorganizmalar tarafından C ve enerji kaynağı olarak kullanılması sonucu son ürün olarak ortaya çıkan CO<sub>2</sub> miktarı, toprak organik C'unun mineralizasyonu hakkında sağlıklı ve önemli bilgiler vermektedir. CO<sub>2</sub>-oluşumu aynı zamanda toprak solunumu (BSR) olarak da bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada topraklara herhangi bir C kaynağı ilavesi gerçekleşmemiş, elde edilen BSR değerleri ise 1. dönem örnekleri için topraktaki yerli organik maddenin değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkmış, 2. dönem için ise buna ilaveten bitki artıkları ve kök salgıları eklenmiştir. Heterotrof mikroorganizmalar toprakların yerli mikroorganizma grubudur. Dolayısıyla, yapılan biyogübre uygulamalarına bağlı olarak bu yerli organizmaların, ithal ırk tarafından istila edilmemiş olması, hatta 2. dönem örneklerine bakıldığında BSR değerlerinde artış gözlenmesi olumlu bir durumdur. İlk döneme kıyasla, ikinci dönem alınan toprak örneklerinde BSR değerlerinin yüksekliği, topraktaki yerli organik materyal ile kurumuş bitkisel artık ve döküntülerin heterotrof mikroorganizmalar tarafından ayrıştırılması sırasında gerekli olan azot ihtiyacının karşılanmasından ileri geldiği düşünülmektedir. Bunun yanında hasat zamanına kadar toprakta birikim gösteren kolay ayrışabilir kök ve mikroorganizma salgıları da BSR değerini yükseltmiştir. BG uygulanmamış parsellere nazaran daha yüksek BSR değeri elde edilmesi de biyolojik gübrenin topraklara kattığı biyokimyasal destek nedeniyle olduğu düşünülebilir. BSR değeri ile AZO arasında ortaya çıkan 0.372\* düzeyindeki pozitif korelasyon da bu görüşü destekler niteliktedir (Çizelge 6).

**Çizelge 6.** Tarla denemesinde gerçekleştirilen biyolojik parametreler arasındaki Pearson korelasyon matrisi

**Table 6.** Pearson correlation matrix between biological parameters in the experiment

Değişkenler	MBC	BSR	N <sub>min</sub>	DHG	UA	PRO	GB	AZO
MBC <sup>a</sup>	1							0.574**
BSR <sup>b</sup>		1		0.425**				0.372*
N <sub>min</sub> <sup>c</sup>			1	0.591**	0.408*			
DHG <sup>d</sup>		0.425**	0.591**	1		-0.585**	0.438**	0.448**
UA <sup>e</sup>			0.408*		1			
PRO <sup>f</sup>				-0.585**		1	-0.443**	0.426**
GB <sup>g</sup>				0.438**		-0.443**	1	
AZO <sup>h</sup>	0.574**	0.372*		0.448**		0.426**		1
NH <sub>4</sub> -N <sup>i</sup>								
NO <sub>3</sub> -N <sup>i</sup>			0.420*	0.837**		-0.531**	0.453**	-0.468**
VERİM <sup>j</sup>	0.379*							

\*\* : Korelasyon 0.01 düzeyinde önemlidir; \* : Korelasyon 0.05 düzeyinde önemlidir. <sup>a</sup>: Mikrobiyal biyokütle karbonu; <sup>b</sup>: Toprak solunumu; <sup>c</sup>: Azot mineralizasyonu; <sup>d</sup>: Dehidrogenaz enzimi; <sup>e</sup>: Üreaz enzimi; <sup>f</sup>: Proteaz enzimi; <sup>g</sup>: Genel bakteri sayısı; <sup>h</sup>: *Azospirillum* sp. sayısı; <sup>i</sup>: Toprak amonyum azotu; <sup>j</sup>: Toprak nitrat azotu; <sup>k</sup>: Mısır bitkisi verimi

Organik azotlu bileşiklerin inorganik formlara dönüşümü olan N-mineralizasyonu, toprakta farklı fizyolojik özelliklere sahip mikroorganizmalar tarafından yürütülmektedir. Mikrobiyal biyokütle, gerek dönüşümü sağlayan bir ajan ve gerekse N-kaynağı olarak toprağın azot döngüsünde önemli bir role sahip bulunmaktadır (Bonde et al., 1988; Duxbury et al., 1991). Topraktaki biyolojik N döngüsü ayrıca topraktaki C-dinamiği ile de çok ilişkili olan bir olaydır.

Zira deneme sonuçları incelendiğinde  $N_{min}$  değerlerinin biyolojik gübre uygulanmamış parsellerde artan azot dozlarına karşın azalma eğilimi gösterirken, biyolojik gübre uygulanmış parsellerde ise artan azot dozları ile artma eğilimindedir. Topraklara dışarıdan ilave edilen mikroorganizma yükü dışında herhangi başka bir organik materyal olmadığından, topraktaki yerli organik maddenin ayrışmasının teşvik edilmesi söz konusu olmuştur. Dolayısıyla istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmasa bile, uygulanan biyolojik gübrenin,  $N_{min}$  değerlerini olumlu anlamda etkilediği görülmektedir. Stanford and Smith (1972); standart koşullar altında her toprağın N-mineralize etmek için doğal bir potansiyeli olduğu ve çevre koşullarında veya toprağa giren C-miktarındaki kısa süreli değişikliklerin N-mineralizasyonu üzerinde çok az bir etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir. Hassen et al. (1998) ise toprağa taze ayrışabilir organik atıklar ilavesinden sonra, ilk ayda mikrobiyal popülasyonun yeni koşullara adaptasyonundan dolayı önemli bir N-tüketiminin (immobilizasyon) gerçekleştiğini, daha sonraki aylarda ise N-mineralizasyonunun ve mikrobiyal aktivitenin arttığını saptamışlardır. Yapılan bu çalışmada ise toprağa taze organik atık ilavesi hasat dönemine doğru meydana gelebileceği düşünüldüğünde, N-immobilizasyon durumunun ortaya çıkmamasının gerek kimyasal gübre ile ve gerekse diazotroflar tarafından sağlanan azot nedeniyle gerçekleştiği düşünülebilir. Ayrıca  $N_{min}$  değeri ile toprağın oksidatif kapasitesini ortaya koyan ve canlı mikrobiyal hücrelerin niteliği hakkında bilgi veren DHG ile verdiği 0.591\*\* düzeyindeki pozitif korelasyonun, aynı BSR'de olduğu gibi topraklara ilave edilen biyolojik gübrenin olumlu etkinliği sayesinde olduğu belirtilebilir (Çizelge 6).

Biyolojik gübre uygulamasına bağlı olarak uyarılan enzimlerden biri olan dehidrogenaz (DHG), canlı hücre içinde fonksiyon gören bir enzimdir. Hem hücre içinde hem hücre dışında fonksiyon gören incelenen diğer enzimlerden (UA, PRO) farklı olarak DHG, canlı mikrobiyal popülasyonun büyüklüğü ve aktivitesi hakkında daha sağlıklı bilgiler vermektedir (Bergstrom et al., 1998). Wittling et al. (1995) DHG aktivitesinin,

topraklardaki genel mikrobiyal aktivitenin güvenilir bir göstergesi olduğunu ileri sürmüşlerdir. DHG aktivitesi, canlı mikrobiyal popülasyonların toplam metabolik aktivitesine bağlı bir enzim olduğu için, mikrobiyal popülasyonun düzeyine bağlı olarak topraklardaki miktarı değişmektedir (Skujins, 1976). Yapılan bu çalışmada da DHG ile mikroorganizma popülasyon büyüklüklerinin bir göstergesi olarak analiz edilen GB ve AZO parametreleri arasındaki sırasıyla 0.438\*\*, 0.448\*\* düzeyindeki pozitif korelasyon bu görüşü destekler niteliktedir (Çizelge 6). İlaveten biyolojik gübre uygulanan parsellerde artan azot dozlarıyla DHG aktivitesindeki artış, bakterilerin karbondan sonra en fazla gereksinim duydukları azotun topraktaki konsantrasyonunun artmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Mikrobiyal gübrenin buğday bitkisinin rizosferinde mikrobiyal aktivite ve mikrobiyal topluluk çeşitliliği üzerindeki etkileri konusunda tarla koşullarında yapılan bir çalışmada, DHG aktivitesi bakımından  $26.14 \pm 3.30 - 48.13 \pm 17.39$  TPF  $g^{-1} 24 h^{-1}$ e kadar değişen belirgin farklılıklar olduğunu saptanmıştır. Araştırmacılar temel bileşenler analiz sonuçlarının, uygulanan biyogübrenlerin DHG aktivitesi üzerinde oldukça etkili olduğunu ifade etmişlerdir (Shengnan et al., 2011).

Toprakların N-döngüsü içerisinde yer alan ve çalışma kapsamında aktivitesi saptanan diğer enzimler hidrolaz grubu içerisinde bulunan proteaz (PRO) ve üreaz (UA)'dır. Proteazlar, topraklar arasında geniş çapta dağılmış ve geniş bir yelpazede faaliyet göstermektedir (Ladd and Butler, 1972; Hayano, 1986). Mikroorganizmalarda, bitkilerde ve hayvanlarda bulunan proteaz enzimleri, proteinlerin hidrolizini polipeptitlere ve oligopeptidlere (Moreno et al., 2003); onların da hidrolizini azot döngüsünde yer alan amino asitlere katalize eder (Handa et al., 2000). Hücre dışına salgılanan bir enzim olan (eksoenzim) proteaz, toprak kolloidleri üzerine adsorbe olabilmekte veya toprak organik maddesine kovalent bağlarla bağlanabilmektedir (Schinner et al., 1995). Gerçekleştirilen bu çalışmada, biyolojik gübre uygulamalarına bağlı olarak PRO enzim aktivitelerinde düşüş saptanmıştır. Ortaya çıkan bu düşüş aynı zamanda artan azot dozu uygulamalarına bağlı olarak daha belirginleşmiştir. Biyolojik gübre uygulanmayan parsellerde gerek azot dozlarına bağlı olarak, gerekse de sıfır azot dozunda yüksek düzeylerde PRO aktivitesi saptanmıştır. Biyolojik gübre uygulanan parsellerde yüksek düzeyde bulunan mikrobiyal popülasyon, biyodegradasyona uğramadan canlılıklarını sürdürdüğünden, PRO aktivitesinde bir yükselişin olmadığı düşünülmektedir. Çizelge 6'de yer alan korelasyon tablosunda PRO ile DHG ve GB arasında



yapılan bu çalışmada ortaya çıkan negatif korelasyon bu görüşü doğrular niteliktedir.

Ürenin, CO<sub>2</sub> ve amonyağa hidrolize olmasını katalize eden enzim üreaz (UA)'dır. Aynı PRO enzim aktivitesinde olduğu gibi, biyolojik gübre uygulamalarına bağlı olarak UA aktivitesi, uygulanmayan parsellerdeki UA aktivitesine oranla daha düşük saptanmıştır. Bu durum uygulanan biyolojik preparat içerisindeki mikrobiyal yükün, UA içermediğini ve genel mikrobiyal biyokütle içerisindeki oranlarını arttırmaları sonucu UA içeren mikroorganizmaların da aktivitelerine diğer parsellere oranla müsaade etmediğinin bir göstergesi olabilir. Çalışmamızda azotlu gübre olarak üre gübresinin de kullanılmaması, bu enzim aktivitesinin sınırlı kalmasına sebep olmuş olabilir.

Çalışma kapsamında sayımı yapılan iki parametreden birisi genel bakteri sayısı olup, diğeri ise uygulanan biyolojik gübrenin içerisinde bulunan üç organizmadan birisi olan *Azospirillum* sp. sayısıdır. Her iki parametre de biyolojik gübre uygulamalarından olumlu düzeyde etkilense de istatistiksel anlamda en büyük farklılık AZO sayılarında gerçekleşmiştir. Biyolojik gübre uygulamaları takip eden dört ay sonra alınan toprak örneklerinde, iklimsel olumsuzluklara rağmen AZO sayılarında yükseliş saptanmıştır. Dahası, artan azot dozları AZO sayılarını olumlu düzeyde etkilemiştir. P ve K uygulaması N gübresinin N<sub>2</sub>-fiksasyon aktivitesi üzerindeki inhibe edici etkisini hafifletebilir (Tang et al., 2017). Bu durum üzerine bir başka etkinin de, azotlu gübre olarak verilen inorganik azot formlarının, test bitkisi olarak yetiştirilen mısır bitkisi tarafından kullanılmasının ve bu sayede rizosfer bölgesindeki N konsantrasyonunu sınırlandırması yanında kök gelişimini ve salgılarını da arttırarak bakteriler için uygun bir ortam tesis etmesinden kaynaklandığı söylenebilir. Zira kısa dönemde görülen bu olumlu etkinin uzun dönemde nasıl değişiklik göstereceğini tahminlemek güçtür. On yıldan uzun süredir aromatik çeltik-çeltik ürün sistemiyle ve kimyasal azotlu gübreyle az nemli tropikal koşul altında yetiştirilen beş aromatik çeltik genotipinin rizosfer bölgesindeki diazotrofların sıklığını ve çeşitliliğini saptamak amacıyla düzenlenen bir çalışmada; yüksek dozda inorganik azotlu gübrelerin (azot oranı nemli ve kuru mevsimlerde sırasıyla 60 ve 80 kg N ha<sup>-1</sup> yıl<sup>-1</sup>) sürekli uygulanmasının ürün sistemindeki rizosferik diazotrofların sıklığını ve çeşitliliğini sınırlandırdığını göstermiştir (Kumar et al., 2017). Denemeden ortaya çıkan önemli bir başka sonuç ise toprakların toplam N değeri ile AZO arasında herhangi bir ilişki ortaya çıkmamış olmasıdır. Ancak NO<sub>3</sub>-N ile AZO arasında ortaya çıkan negatif korelasyon

(-0.468\*\*), azotlu gübrelemede *Azospirillum* sp. ile NH<sub>4</sub>-N'ü içeren gübrelerin kullanılması gerekliliğini doğrulamıştır (Çizelge 6). Wang et al. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada bu sonucu destekler nitelikte olup; araştırmacılar, yüzey toprağının organik madde (OM) ve amonyum içerikleri ile diazotrofik topluluk yapıları aralarında pozitif korelasyon saptamışlardır.

### **Bağımsız değişkenlerin mısır bitkisinin verimi ve toplam azot içeriği üzerine etkisi**

Denemede uygulanan biyolojik gübrenin ve azot dozları uygulamalarının mısır bitkisinin verimi üzerine olan etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir. Tarla denemesinde yetiştirilen test bitkisi olan mısırın verimine, biyolojik gübre uygulamalarının önemli düzeyde etkisi saptanmıştır. En yüksek verim değeri N<sub>1</sub>BG<sub>1</sub> uygulamasıyla 1209 kg da<sup>-1</sup> düzeyiyle elde edilirken, ikinci en yüksek verim N<sub>0</sub>BG<sub>1</sub> uygulamasında ortaya çıkarken diğer tüm uygulamalar aynı istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır. En düşük verim değeri ise 714 kg da<sup>-1</sup> ile N<sub>1</sub>BG<sub>0</sub> uygulamasına ait olmuştur. N<sub>1</sub>BG<sub>1</sub> uygulamasıyla, biyolojik gübre uygulanmayan parsellere göre verim değerinde %59-69 arasında artış elde edilmiştir. Sadece biyolojik gübre uygulanan kontrol parselinin (N<sub>0</sub>BG<sub>1</sub>) veriminin de biyolojik gübre uygulanmayan parsellerden ortalama % 24-32 arasında yüksek saptanması, diazotrofların etkinliğinin ne derecede olduğunun bir göstergesidir. Azot dozunun artışına bağlı olarak verim değeri azalsa bile, hala daha biyolojik gübre uygulanmayan parsellerdeki verim değerlerinin üzerindedir. Verim ile biyolojik gübre uygulamalarının arasındaki pozitif ilişki başka araştırmalar tarafından da belirlenmiştir. Singh et al. (2003), kimyasal gübre ve biyogübre uygulamalarının zeytin ağaçlarının gelişim, verim ve beslenme durumuna etkisini saptamak amacıyla 1999-2000 yılları arasında Hindistan'da Frantoio çeşidi zeytin ağaçlarında bir araştırma yapmışlardır. Araştırmacılar, *Azotobacter* ve mikoriza uygulamaları ile sürgün gelişimi ve verim arasında; *Azotobacter* uygulaması ile meyve tutumu, toprağın N içeriği ve yaprak N, P içerikleri arasında; mikoriza uygulaması ile yaprak ve toprağın P içeriği arasında önemli pozitif ilişkiler saptamışlardır. Yine benzer şekilde, tek ve üçlü kombinasyonlar halinde BG ile aşılanmış buğday ve arpanın verim parametrelerini, mineral gübre uygulanmış parsellerle kıyaslayarak incelendiği bir araştırma sonucunda; BG ile aşılanmanın buğday ve arpa bitkisinin verim, verim komponentleri ve kalite parametrelerini önemli düzeyde etkilediği ortaya konulmuştur (Turan et al., 2013). Araştırmacılar, BG uygulamalarıyla birlikte bitkilere uygulanan mineral

azot miktarının % 50 oranında azaltılabileceği ifade etmişlerdir.

Diazotrof mikroorganizmaları içeren biyolojik gübre uygulamalarının, mısır bitkisinin aldığı azot miktarını istatistiki olarak önemli düzeyde arttırdığı görülmektedir (Şekil 2). Herhangi bir azot dozu verilmeyen parsellere yapılan biyolojik gübre uygulaması ile uygulanmayan parsele oranla mısır bitkisinin N içeriği % 11 düzeyinde artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Azot dozunun artışına bağlı olarak biyolojik gübreden kaynaklı etkinlikte de azalmalar görülmüştür.  $N_1BG_1$  parsellerindeki mısır bitkisinin N içeriği, biyolojik gübre uygulanmayan  $N_1$  parselindeki mısır bitkisinin N içeriğinden sadece % 3 daha fazla saptanmıştır. Bu oran  $N_2$  parselleri için ise % 6 olarak gerçekleşmiştir. Dolayısıyla azot dozu uygulamalarının diazotrof biyolojik gübrenin olumlu etkinliğini azalttığı söylenebilir.

## SONUÇ

İthal mikroorganizmalardan oluşan ticari biyolojik gübrenin, toprakların canlılık parametresi olan ve toprak sağlığını ortaya koyan bazı parametreler üzerinde olumsuz bir etkisi ortaya çıkmamıştır. Biyolojik gübre uygulamasıyla topraklarda incelenen mikrobiyolojik ve biyokimyasal parametrelerden MBC, DHG ve AZO parametreleri önemli düzeyde pozitif olarak etkilenirken ( $P < 0.05$ ); BSR,  $N_{min}$  ve GB parametrelerinde de artış saptanmış ancak istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Buna karşılık hidrolazlar grubundan olan ve topraklarda N döngüsünde yer alan iki enzimin aktivitesinde bir azalma saptanmasına karşın bu azalış da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Tek yıllık tarla vejetasyon denemesi sonuçları incelendiğinde, analiz edilen parametreler açısından toprakların biyolojik aktivitesini en olumlu etkileyen uygulama  $N_1BG_1$  uygulaması olmuştur. Dahası, mısır bitkisinin verim

düzeyleri de incelendiğinde  $N_1BG_1$  uygulamasının önemli düzeyde verime katkı yaptığı görülmektedir ( $P < 0.05$ ). Denemenin kurulduğu alanın homojen olması kadar, sahip olduğu organik madde içeriğinin de (%2.13) mikrobiyal aktivitenin sürdürülebilir yönetiminde etkisi olduğu düşünülse de, yapılan bu çalışmada herhangi bir organik madde kaynağının kullanılmamış olması, topraktaki yerli mikrobiyal aktivitenin uyarılmamış olmasına ve yapılan biyolojik gübre uygulamasına daha yalın bir cevap göstermesine neden olduğu düşünülmektedir. Biyolojik gübre uygulamasından, 2. dönem toprak örneklemesine kadar geçen 120 günlük süre içerisinde, iklim ve toprak koşullarının optimum düzeyden uzaklaşmasına rağmen BG uygulanan parsellerdeki yüksek mikrobiyal yük, ithal biyolojik preparatın etkinliğinin sürdürdüğün bir göstergesi olarak kabul edilebilir. İlaveten, BG uygulamasıyla diğer yerli mikroorganizmaların da stabilitesinin desteklendiği çalışmadan çıkan bir başka sonuç olarak düşünülmektedir. Yapılan bu çalışma sonuçlarına göre, diazotrof türlerini içeren biyolojik bir gübrenin kurak ve yarı kurak iklim koşullarında  $0.5 \text{ g ha}^{-1}$  oranında bir defa ve  $125 \text{ kg N ha}^{-1}$  azotlu gübre dozuyla birlikte uygulanmasını; toprak biyolojik parametreleri üzerinde olumlu etki yaptığı ve mısır verimini arttırdığı söylenebilir.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmasından hazırlanan bu makalenin; arazi çalışmaları sırasında, deneme alanının temini ve denemenin tesisi ile yürütülmesinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Yener ile Zir. Müh. Özkan Yardımcı'ya; laboratuvar çalışmaları aşamasında destekleri olan Zir. Yük. Müh. Onur Bayız ile Zir. Yük. Müh. Recep Serdar Kara'ya ve projeyi maddi açıdan destekleyen Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje Numarası: 15-ZRF-055)'ne teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Bergstrom, D.W., C.M. Monreal and D.J. King. 1998. Sensitivity of soil enzyme activity to conservation practices. *Soil Science Society of America Journal*, 62: 1286-1295.
- Bittman, S., T.A. Forge and C.G. Kowalenko. 2005. Responses of the bacterial and fungal biomass in a grassland soil to multi-year applications of dairy manure slurry and fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 613-623.
- Black, C.A. 1965. Methods of soil analysis. Part I, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America. Madison (WI). p. 1572.
- Blume, H.P., K. Stahr and P. Leinweber. 2010. *Bodenkundliches Praktikum: Eine Einführung in pedologisches Arbeiten für Ökologen, Land-und Forstwirte, Geo-und Umweltwissenschaftler. [Bodenkundliches Praktikum: An Introduction to Pedological Work for Ecologists, Farmers and Foresters, Geo and Environmental Scientists]. 3. Aufl. Springer-Verlag.*
- Bonde, T.A., J. Schnürer and T. Rosswall. 1988. Microbial biomass as a fraction of potentially mineralizable nitrogen in soils from long-term field experiments. *Soil Biology and Biochemistry*, 20: 447-452.
- Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. *Agronomy Journal*, 54: 464-465. doi:10.2134/agronj1962.00021962005400050028x.
- Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen. In: *Methods of Soil Analysis - Part 2.* (Ed: C.A. Black), Madison (WI): American Society of Agronomy Inc., pp. 1149-1178.

- Brito, L.F., E. Bach, J. Kalinowski, C. Rückert, D. Wibberg, L.M. Passaglia and V.F. Wendisch. 2015. Complete genome sequence of *Paenibacillus riograndensis* SBR5T, a Gram-positive diazotrophic rhizobacterium. *Journal of Biotechnology*, 207: 30-31.
- Carey, C.J., J.M. Beman, V.T. Eviner, C.M. Malmstrom and S.C. Hart. 2015. Soil microbial community structure is unaltered by plant invasion, vegetation clipping, and nitrogen fertilization in experimental semi-arid grasslands. *Frontiers in Microbiology*, 6: 466.
- Duxbury, J.M., J.G. Lauren and J.R. Fruci. 1991. Measurement of the biologically active soil nitrogen fraction by a  $N^{15}$  technique. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34: 121-129.
- Fawzi, A.F.A. and M.M. El-Fouly. 1980. Soil and leaf analysis of potassium in different areas in Egypt. In: *Role of Potassium in Crop Production*, (Eds: A. Sourat and M.M. El-Fouly), IPI, Bern, pp. 73-80.
- Fiedler, H.J. 1973. *Methoden der bodenanalyse. Band 2: Mikrobiologische Methoden*, Verlag: Dresden, Steinkopff, pp. 12-15.
- Gil-Sotres, F., C. Trasar-Cepeda, M.C. Leiros and S. Seoane. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 877-887.
- Handa, S.K., M.P. Agnihotri and G. Kulshresta. 2000. Effect of pesticides on soil fertility. In: *Pesticide Residue Analysis and Significance*, Research Periodicals and Publishing House (Eds: S.K. Handa, M.P. Agnihotri and G. Kulshresta), New Delhi, pp. 184-198.
- Hassen, A., N. Jedidi, M. Cherif, A. Hiri, A. Boudabous, O. van Cleemput and O. Van-Cleemput. 1998. Mineralization of nitrogen in a clayey loamy soil amended with organic wastes enriched with Zn, Cu and Cd. *Bioresource Technology*, 64: 39-45.
- Hayano, K. 1986. Cellulase complex in tomato field soil; introduction localization and some properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 18: 215-219.
- Isermeyer, H. 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. [A simple method for determining soil respiration and carbonates in the soil]. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 56: 26-38.
- Jäggi, W. 1976. Die Bestimmung der  $CO_2$ -Bildung als Maß der bodenbiologischen Aktivität. [The determination of  $CO_2$  formation as a measure of soil biological activity]. *Schweizer Landwirtschaftliche Forschung*, 15: 371-380.
- Jenkinson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. IV. The decomposition of fumigated organisms in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 8: 203-208.
- Jenkinson, D.S. and J.N. Ladd. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: *Soil Biochemistry* (Eds: E.A. Paul and J.N. Ladd), Marcel Dekker, New York, USA, pp. 415-471.
- Jha, B., M.C. Thakur, I. Gontia, V. Albrecht, M. Stoffels, M. Schmid and A. Hartmann. 2009. Isolation, partial identification and application of diazotrophic rhizobacteria from traditional Indian rice cultivars. *European Journal of Soil Biology*, 45: 62-72.
- Ji S.H., M.A. Gururani and S-C. Chun. 2014. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*, 169: 83-98.
- Johnson, L.F., E.A. Curl, J.H. Bond and H.A. Fribourg. 1959. *Methods For Studying Soil Microflora - Plant Disease Relationships*. Minneapolis: Burgess Publishing Company, pp. 87-89.
- Kalembasa, S.J. and D.S. Jenkinson. 1973. A comparative study of titrimetric and gravimetric methods for the determination of organic carbon in soil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24: 1085-1090.
- Kandeler, E. and H. Gerber. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*, 6: 68-72.
- Karakuyu, M. ve A. Özçağlar. 2005. Alaşehir ilçesinin tarımsal yapısı ve planlamasına dair öneriler. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 3: 1-17.
- Keeney, D.R. 1982. Nitrogen availability indices. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (Eds: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney). 2nd ed. Monograph Number 9. Madison (WI): ASA and SSSA, pp. 711-733.
- Kellog, C.E. 1952. *Our Garden Soils*. The Macmillan Company, New York.
- Knudsen, D., G.A. Peterson and P.F. Pratt. 1982. Lithium, sodium and potassium. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (Eds: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney). 2nd ed. Monograph Number 9. Madison (WI): ASA and SSSA, pp. 225-246.
- Kumar, U., P. Panneerselvam, V. Govindasamy, L. Vithalkumar, M. Senthilkumar, A. Banik and K. Annapurna. 2017. Long-term aromatic rice cultivation effect on frequency and diversity of diazotrophs in its rhizosphere. *Ecological Engineering*, 101: 227-236.
- Ladd, J.N. and J.H.A. Butler. 1972. Short-term assay of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 4: 19-39.
- Li, Y., T. Yang, P. Zhang, A. Zou, X. Peng, L. Wang, R. Yang, J. Qi and Y. Yang. 2012. Differential responses of the diazotrophic community to aluminum-tolerant and aluminum-sensitive soybean genotypes in acidic soil. *European Journal of Soil Biology*, 53: 76-85.
- Lindsay, W.L. and W.A. Norvell. 1978. Development of a DTPA Soil Test For Zn, Fe, Mn and Cu. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 421-428.
- Loue, A. 1968. Diagnostic pétiolaire de prospection. Etudes sur la nutrition et la fertilisation potassiques de la Vigne. *Societe Commerciale des Potasses d'Alsace. Services Agronomiques*, 31-41.
- Lupwayi, N.Z., G.P. Lafond, N. Ziadi and C.A. Grant. 2012. Soil microbial response to nitrogen fertilizer and tillage in barley and corn. *Soil & Tillage Research*, 118: 139-146.
- Mahdi, S.S., G.I. Hassan, S.A. Samoon, H.A. Rather, A.D. Showkart and B. Zehra. 2010. Bio-fertilizers in organic agriculture. *Journal of Phytology*, 2: 42-54.
- Majumder, B., B. Mandal, P.K. Bandyopadhyay, J. Chaudhuri. 2007. Soil organic carbon pools and productivity relationships for a 34 year old rice-wheat-jute agroecosystem under different fertilizer treatments. *Plant and Soil*, 297: 53-67.
- Malý, S., J. Královec and D. Hampel. 2009. Effects of long-term mineral fertilization on microbial biomass, microbial activity, and the presence of r- and K-strategists in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 45: 753-760.

- Midmore, D.J. 1993. Agronomic modification of resource use and intercrop productivity. *Field Crops Research*, 34: 357-380.
- Moreno, J.L., C. Garcia and T. Hernandez. 2003. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. *European Journal of Soil Science*, 54: 377-386.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: *Methods of Soil Analysis, part 2: Chemical and Microbiological Properties* (Eds: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney). 2nd ed. Monograph Number 9. Madison (WI): ASA and SSSA, pp. 539-580.
- Nelson, R.E. 1982. Carbonate and gypsum. In: *Methods of Soil Analysis, part 2: Chemical and Microbiological Properties* (Eds: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney). 2nd ed. Monograph Number 9. Madison (WI): ASA and SSSA, pp. 181-197.
- Okur, N., H.H. Kayıkçıoğlu, G. Tunç ve Y. Tüzel. 2007. Organik tarımda kullanılan bazı organik gübrelerin topraktaki mikrobiyal aktivite üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 44(2): 65-80.
- Okur, N. ve İ. Ortaş. 2012. Mikrobiyolojik gübreleme ve tarımda mikorizalar. In: *Bitki Besleme* (Ed: M.R. Karaman), Dumat Ofset, Yenimahalle, Ankara, s. 555-598.
- Oliveira, A., M.E. Pampulha, M.M. Neto and A.C. Almeida. 2010. Mercury tolerant diazotrophic bacteria in a long-term contaminated soil. *Geoderma*, 154: 359-363.
- Olsen, S.R. and L.E. Sommers. 1982. Phosphorous. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (Eds: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney). 2nd ed. Monograph Number 9. Madison (WI): ASA and SSSA, pp. 403-430.
- Öhlinger, R. 1995. Soil sampling and sample preparation. In: *Methods in Soil Biology* (Eds: F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler and R. Margesin), New York (NY): Springer-Verlag, pp. 7-11.
- Puri, A., K.P. Padda, C.P. Chanway. 2015. Can a diazotrophic endophyte originally isolated from lodgepole pine colonize an agricultural crop (corn) and promote its growth? *Soil Biology and Biochemistry*, 89: 210-216.
- Rhoades, J.D. 1982. Soluble salts. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (Eds: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney). 2nd ed. Monograph Number 9. Madison (WI): ASA and SSSA, pp. 167-179.
- Richards, L.A. 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils*. U.S.A: U.S. Department of Agriculture, Handbook 60.
- Rodríguez-Cáceres, E.A. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 44: 990-991.
- Ross, D.J. 1987. Soil microbial biomass estimated by the fumigation-incubation procedure: seasonal fluctuations and influence of soil moisture content. *Soil Biology and Biochemistry*, 19: 397-404.
- Sarathambal, C., K. Ilamurugu, D. Balachandar, C. Chinnadurai and Y. Gharde. 2015. Characterization and crop production efficiency of diazotrophic isolates from the rhizosphere of semi-arid tropical grasses of India. *Applied Soil Ecology*, 87: 1-10.
- Schinner, F., R. Öhlinger, E. Kandeler and R. Margesin. 1995. *Methods in Soil Biology*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 189-191.
- Shengnan, C., G. Jie, G. Hua and Q. Qingjun. 2011. Effect of microbial fertilizer on microbial activity and microbial community diversity in the rhizosphere of wheat growing on the Loess Plateau. *African Journal of Microbiology Research*, 5: 137-143.
- Silveira, A.P.D., V.M.R. Sala, E.J.B.N. Cardoso, E.G. Labanca and M.A.P. Cipriano. 2016. Nitrogen metabolism and growth of wheat plant under diazotrophic endophytic bacteria inoculation. *Applied Soil Ecology*, 107: 313-319.
- Singh, A., R.K. Patel and R.P. Singh. 2003. Correlation studies of chemical fertilizers and biofertilizers with growth, yield and nutrient status of olive trees (*Olea europaea*). *Indian Journal of Hill Farming*, 16: 99-100.
- Skujins, J. 1973. Dehydrogenase: an indicator of biological activities in arid soils. *Bulletins from the Ecological Research Committee*, 17: 235-241.
- Stanford, G. and S.J. Smith. 1972. Nitrogen mineralization potentials in soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 36: 465-472.
- Tang, Y., M. Zhang, A. Chen, W. Zhang, W. Wei and R. Sheng. 2017. Impact of fertilization regimes on diazotroph community compositions and N<sub>2</sub>-fixation activity in paddy soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 247: 1-8.
- Thalmann, A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) [Methodology of determination of dehydrogenase activity in soil using triphenyltetrazoliumchloride (TTC)]. *Landwirtschaftliche Forschung*, 21: 249-258.
- Tuncay, H. 1994. Sulama Suyu Kalitesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 512. Bornova, İzmir.
- Turan, M., M. Güllüce and F. Şahin. 2013. Biofertilizers is an alternative approach for plant production in Turkey. *Soil-Water Journal*, 2: 523-530.
- Ülgen, N. ve N. Yurtsever. 1995. Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi (4. Baskı). T.C. Başbakanlık Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Genel Yayın No: 209, Teknik Yayınlar No: T.66, Ankara.
- Vance, E.D., P.C. Brookes and D.S. Jenkinson. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19: 703-707.
- Waldrop, M.P. and M.K. Firestone. 2006. Response of microbial community composition and function to soil climate change. *Microbial Ecology*, 52: 716-724.
- Wang, J., D. Zhang, L. Zhang, J. Li, W. Raza, Q. Huang and Q. Shen. 2016. Temporal variation of diazotrophic community abundance and structure in surface and subsoil under four fertilization regimes during a wheat growing season. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 216: 116-124.
- Wittling, S.C., S. Houot and E. Barriuso. 1995. Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost. *Biology and Fertility of Soils*, 20: 226-236.