



Baklagillerde Bakteri Aşılması ve Azot Fiksasyonu

¹Mesut Uyanık,
¹Kiarash Afshar Pour Rezaeieh,
¹Yavuz Delen,
¹Bital Gürbüz

¹Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü,
Dışkapı - Ankara

Özet

Atmosferde en yüksek oranda bulunmasına rağmen eksikliği en çok görülen azot, bitkilerin en fazla ihtiyaç duyduğu besin elementlerinden biridir. Ancak, bazı bakteriler, mavi-yeşil algler ve mantarlar dışında, bitkiler dâhil hiçbir canlı azotu doğrudan kullanma yeteneğine sahip değildir. Atmosferde bol miktarda bulunan bu moleküler azotun amonyum formlarına indirgenerek yararlı hale geçmesine azot fiksasyonu denir. Azot fiksasyonu sonucu yılda 175 milyon ton azot tespit edilmekte ve bunun da yaklaşık yarısı *Rhizobium* spp. bakterilerinin baklagillerle olan simbiyotik ilişkisi sonucu sağlanmaktadır. Gerek dünya protein ihtiyacının artması, gerekse mineral azotlu gübrelerin üretimi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan çevre sorunları nedeniyle *Rhizobium* spp. bakterileri tarafından gerçekleştirilen simbiyotik azot fiksasyonunun önemi gün geçtikçe artmaktadır.

1. Giriş

Bitkilerin en fazla ihtiyaç duyduğu besin elementlerinden birisi azottur. Azot tüm bitkilerin önemli yapısal unsurlarının bileşimi olarak kabul edilen proteinin yapı taşı olmakla birlikte klorofil, enzim ve vitaminlerin de yapısında yer alan önemli bir besin elementidir. Aynı zamanda azot, tabiatta en yüksek oranda (%78) bulunan ama eksikliği en fazla görülen besin elementidir.

Tabiatta azotun ana kaynağı atmosferdir. Atmosferde %78 oranında azot bulunmasına rağmen, bu elementel azottan doğrudan yararlanabilen canlı sayısı çok azdır. Canlıların bu kaynaktan yararlanabilmeleri için azot molekülleri arasındaki üçlü bağın ikili bağa indirgenmesi ve azotun hidrojen ve oksijente

birleşmesi gerekir ki, buna azot fiksasyonu denir(1). Sadece bazı bakteriler (*Rhizobium*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Amylobacter*), mavi-yeşil algler (*Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Oscillatoria*) ve mantarlar (*Mycorrhiza*) atmosferdeki bu azottan doğrudan yararlanabilmektedirler. Bunlardan *Rhizobium* spp. bakterileri konak seçici olup, *Leguminosae* (Baklagiller) familyasındaki bitkilerle birlikte bulunur ve bu bitkilerin köklerinde nodüller oluşturarak azot fiksasyonunu gerçekleştirirler. Gerek dünya protein ihtiyacının artması, gerekse mineral azotlu gübrelerin üretimi ve kullanımı sıra

Özet

Atmosferde en yüksek oranda bulunmasına rağmen eksikliği en çok görülen azot, bitkilerin en fazla ihtiyaç duyduğu besin elementlerinden biridir. Ancak, bazı bakteriler, mavi-yeşil algler ve mantarlar dışında, bitkiler dâhil hiçbir canlı azotu doğrudan kullanma yeteneğine sahip değildir. Atmosferde bol miktarda bulunan bu moleküler azotun amonyum formlarına indirgenerek yararlı hale geçmesine azot fiksasyonu denir. Azot fiksasyonu sonucu yılda 175 milyon ton azot tespit edilmekte ve bunun da yaklaşık yarısı *Rhizobium* spp. bakterilerinin baklagillerle olan simbiyotik ilişkisi sonucu sağlanmaktadır. Gerek dünya protein ihtiyacının artması, gerekse mineral azotlu gübrelerin üretimi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan çevre sorunları nedeniyle *Rhizobium* spp. bakterileri tarafından gerçekleştirilen simbiyotik azot fiksasyonunun önemi gün geçtikçe artmaktadır.

1. Giriş

Bitkilerin en fazla ihtiyaç duyduğu besin elementlerinden birisi azottur. Azot tüm bitkilerin önemli yapısal unsurlarının bileşimi olarak kabul edilen proteinin yapı taşı olmakla birlikte klorofil, enzim ve vitaminlerin de yapısında yer alan önemli bir besin elementidir. Aynı zamanda azot, tabiatta en yüksek oranda (%78) bulunan ama eksikliği en fazla görülen besin elementidir.

Tabiatta azotun ana kaynağı atmosferdir. Atmosferde %78 oranında azot bulunmasına rağmen, bu elementel azottan doğrudan yararlanabilen canlı sayısı çok azdır. Canlıların bu kaynaktan yararlanabilmeleri için azot molekülleri arasındaki üçlü bağın ikili bağa indirgenmesi ve azotun hidrojen ve oksijenle birleşmesi gerekir ki, buna azot fiksasyonu denir(1). Sadece bazı bakteriler (*Rhizobium*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Amylobacter*), mavi-yeşil algler (*Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Oscillatoria*) ve mantarlar (*Mycorrhiza*) atmosferdeki bu azottan doğrudan yararlanabilmektedirler. Bunlardan *Rhizobium* spp. bakterileri konak seçici olup, *Leguminosae* (Baklagiller) familyasındaki bitkilerle birlikte bulunur ve bu bitkilerin köklerinde nodüller oluşturarak azot fiksasyonunu gerçekleştirirler. Gerek dünya protein ihtiyacının artması, gerekse mineral azotlu gübrelerin üretimi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan çevre sorunları nedeniyle *Rhizobium* bakterileri tarafından gerçekleştirilen simbiyotik azot fiksasyonunun önemi gün geçtikçe artmaktadır. Diğer taraftan, dünyada ve ülkemizde nüfus hızla artmakta ve azotlu gübre üretmek için

gerekli enerji kaynakları azalmaktadır. Azotlu gübrelerden 1 kg üretmek için 20.000 kcal'lik enerjiye ihtiyaç duyulduğu dikkate alındığında, biyolojik azot fiksasyonunun önemi kendiliğinden ortaya çıkmaktadır (2).

Baklagillerde azot fiksasyonu, *Rhizobium* bakterileriyle olan simbiyotik ilişki sonucunda oluşan ve nodül denilen yumrucuklar vasıtasıyla yapılmaktadır. Bu sayede baklagiller, hem kendi ihtiyacı olan azotu karşılamakta hem de kendinden sonra ekilecek bitkiye azot bakımından zengin bir toprak bırakmaktadır. Sarıoğlu ve ark. (1993) biyolojik yolla bağlanan azot miktarının yılda yaklaşık 175 milyon ton olduğunu ve bunun %50'sinin baklagil-*Rhizobium* birlikteliği tarafından sağlandığını bildirmektedir (3).

Dünyada fotosentezden sonra en önemli olay olarak kabul edilen azot fiksasyonu, ekologlar, bitki fizyologları ve tarımcılar tarafından üzerinde en çok çalışılan konulardandır. Hatta son zamanlarda özellikle genetik mühendisliği yöntemleri kullanılarak nodülasyon etkinliğinin artırılması konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Tarımsal üretimdeki öneminden dolayı bu çalışmamızda bakteri aşılması ve azot fiksasyonunun önemi üzerinde bir kez daha durulmuştur.

2. Bakteri Aşılması ve Azot Fiksasyonu

Atmosferde bol miktarda bulunan elementel azotun amonyum formlarına dönüşerek yararlı hale geçmesine azot fiksasyonu denmektedir. Azot fiksasyonu genel olarak 3 yolla gerçekleşmektedir:

- Biyolojik olmayan azot fiksasyonu
- Endüstriyel azot fiksasyonu
- Biyolojik azot fiksasyonu

2.1 Biyolojik Olmayan Azot Fiksasyonu

Mikroorganizmalar tarafından fikse edilen moleküler azotun yanı sıra, azot atmosferden biyosfere azot bileşikler şeklinde ve yağmur suyunda çözülmüş olarak da geçer. Esasen yağmur suyundaki iki temel azot formu amonyum ve nitrat olmasına rağmen, albuminoid azot olarak da bilinen ve atmosferde süspansiyon halinde bulunan toz tanecikleri ve koloidal organik artıklardaki organik azot gibi çeşitli azotlu bileşikler de bulunmaktadır (4). Atmosferdeki azot gazı, doğal olarak gerçekleşen hava olayları sonucunda (şimşek, yıldırım) bitkilerin kullanabilecekleri azot formuna dönüşür ve bitkiler azotu bu yolla temin ederler. Bu şekilde gerçekleşen azot fiksasyonu diğer fiksasyonlara göre daha az yer tutmaktadır.

2.2. Endüstriyel Azot Fiksasyonu

Endüstriyel azot fiksasyonunda moleküler azotun amonyuma çevriminde 400 °C sıcaklık ve 200-350 atm. basınca ihtiyaç duyulur. Bu amaçla petrol gibi yenilenemeyen fosil yakıtlar fazlaca kullanılmaktadır. Yüksek enerji girdisine rağmen elde edilen azot miktarı yılda 40 milyon tondur. Bu üretim sisteminde hem çevre kirliliği oluşmakta hem de daha çok iş gücü gereksinimine ihtiyaç duyulmaktadır. Oysa biyolojik azot fiksasyonu, bazı mikroorganizmalar tarafından nitrojen enzimini kullanarak düşük enerji tüketimi ile gerçekleştirilebilmektedir (4).

2.3. Biyolojik Azot Fiksasyonu

Atmosferdeki elementel azotun mikroorganizmalar tarafından fiske edilmesine biyolojik azot fiksasyonu denilmektedir. Biyolojik yolla bağlanan azot miktarının yılda 175 milyon ton olduğu bildirilmekte ve biyolojik azot fiksasyonunun fotosentezden sonra en önemli olay olduğu kabul edilmektedir (3).

Biyolojik azot fiksasyonu simbiyotik ve simbiyotik olmayan azot fiksasyonu olmak üzere ikiye ayrılır.

2.3.1. Simbiyotik Olmayan Azot Fiksasyonu

Atmosferdeki serbest azotun toprak ve su ekosistemlerinde serbest olarak yaşayan ve nitrojen enzimine sahip mikroorganizmalarca fiske edilmesine simbiyotik olmayan azot fiksasyonu denir. Dünya üzerinde yaklaşık 30 milyon ton azot simiyotik olmayan yolla fiske edilmektedir (5). Bu şekilde azot fiske eden organizmalar dört grupta toplanmaktadır (6) :

- Heterotrofik bakteriler (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Achromobacter*, *Azotomonas*, *Beijerinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus polmyxa* cinsleri)
- Kemoototrofik bakteriler (*Methanobacillus amelienskii*)
- Mavi-yeşil algler (*Anabaena*, *anaboenopsis*, *aulosira*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Nostoc*, *Tolypotrix* spp.)
- Fotosentetik bakteriler (*Chlorobium*, *Cbromatiumi*, *Rhodospirillum* spp.)

2.3.2 Simbiyotik Azot Fiksasyonu

- Biyolojik azot fiksasyonu, dünya yüzeyinde fiske edilen azotun %70'ini kapsamakta ve bunun da %50'sini simbiyotik azot fiksasyonu oluşturmaktadır. Simbiyotik yolla azot fiske eden bakteriler üç grupta toplanmaktadır:
- Baklagil bitkilerinin köklerinde yaşayan bakteriler,
- Baklagil olmayan bitkilerin köklerinde ve üzerinde yaşayan bakteriler,
- Bazı bitkilerin yapraklarında yaşayan bakteriler.

Simbiyotik azot fiksasyonunu özellikle baklagillerle ortak yaşayan *Rhizobium* bakterileri yapmaktadır. Simbiyotik yaşayan bu bakteriler "konukçu" denilen baklagilin kökleri üzerinde yaşarlar. Bakteri bu konukçu bitkiden kendi ihtiyacı olan karbondhidratları alırken, havadan aldığı azotu konukçuya verir. Karşılıklı işbirliği esasına dayanan bu yaşam şekline "simbiyotik yaşam" denir. *Rhizobium* bakterisi konukçu bitki üzerinde nodül denen yumrular meydana getirir ve bu yumrular içerisinde azot fiksasyonu yapar (7).

Her bitki kendine özgü bakteri istemektedir. Örneğin, *Rhizobium meliloti* yonca, taş yoncası ve çemende; *Rhizobium trifolii* üçgüllerde; *Rhizobium leguminosorum* fiğ, burçak, mercimek ve bezelyede; *Rhizobium phasoli* fasulyede; *Rhizobium lupini* baklada; *Rhizobium cicer* nohutta; *Rhizobium japonicum* soya ve yerfıstığında etkin olmaktadır. Dolayısıyla, yeterli sayıda nodülün oluşması ve etkili bir fiksasyonun olabilmesi için, bitkinin yetişeceği ortamda o bitkiye has bakterinin olması gerekmektedir. Bir alanda daha önce aynı bitki yetiştirilmişse bitkiye ait bakteri o

alandan zaten mevcuttur; ancak bitki ilk defa yetiştirilecekse bakteriyi aşılama yoluyla vermek gerekmektedir. Zira ilk defa yetiştirilecek ortamda bu bakteriler ya az sayıda bulunurlar ya da etkili olmazlar. Dolayısıyla, bakteriler aşılama yoluyla toprağa verilmezlerse biyolojik yolla bağlanan azot miktarı az olur (8). Oysa bakteri aşılması yapılması durumunda torağa bağlanan azot 20-30 kg/da' ı bulmakta ve hatta etkin bakteri aşılması ve iyi bakım koşullarında bu değer bazen 50-60 kg/da' ı bulmaktadır (9). Ayrıca, baklagillerde bakteri aşılmasının vejetatif gelişme, kuru madde oluşumu, dane verimi, nodül oluşumu, nodül ve danede azot içeriğini etkilediği birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (10).

Aşılama, genç bitkide nodül oluşum şansını arttırmak amacıyla tohum yatağını o bitkiye özgü, azot bağlama yeteneği yüksek olan yeterli miktarda bakteriyi bulaştırmaktır. Bakteri aşılması tohuma ve toprağa aşılama şeklinde iki şekilde yapılmaktadır. Toprağa aşılama, baklagil çeşidinin daha önce yetiştiği bir tarlanın 15-20 cm.lik derinliğinden alınan toprağın bitkinin ilk kez yetişeceği tarlaya dağıtılması şeklinde olmaktadır. Ancak, bu yolla bir dekar alanın aşılması için 400 kg toprağa ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ise hem pahalıya mal olmakta hem de taşınan toprakla birlikte hastalık ve zararlılar ile yabancı ot tohumlarının da taşınma riski söz konusu olmaktadır. Bu nedenle en iyi aşılama metodu, bakterinin tohuma aşılmasıdır (11). Bunun için, ekimden önce tohumlar bir beton zemin üzerine veya bir plastik ya da metal fıçı içerisine konarak, her 100 kg için 1 litre su, çok ince şekilde püskürtülerek nemlendirilir. Bakterinin daha iyi yapışması açısından kullanılan suyun şekerli su olması daha faydalı olacaktır. Nemlendirilen bu tohumlar üzerine, o tohumda etkili olan bakteriden her 100 kg tohum için 1 kg bakteri ilave edilerek iyice karıştırılır. Aşılama yapılan tohumlar ertesi güne bırakılmayıp, en geç 4 saat içerisinde ekilmelidir. Aksi takdirde tekrar aşılama yapmak gerekmektedir.

Aşılama kullanılan bakteriler, kullanılacağı zamana kadar güneş görmeyen ve serin bir ortamda muhafaza edilmeli ve aşılama da yine güneşsiz bir ortamda yapılmalıdır. Aksi halde, bakteriler canlılığını kaybeder ve aşılama beklenen fayda gerçekleşmez. Burada dikkat edilmesi gereken diğer bir husus da, bakteri aşılması yapıldıktan sonra veya aynı anda tohuma ilaç kullanılmamasıdır. Ayrıca, bakteri ile aşılanmış tohumlar bakterilerin canlılıklarını koruyabilmeleri için hiçbir surette kireç veya inorganik gübrelerle temas etmemelidir. Zira bakteriler bundan zarar görür ve aşılama beklenen fayda yine gerçekleşmez. Tohum etkili bakteriyi aşılanarak ekilirse bitki köklerinde gelişmenin erken dönemlerinde nodüller oluşmaya başlar ve bitki topraktaki N eksikliğinden etkilenmeden gelişimini tamamlayabilir (4). Şekil 1'de bakteri aşılması yapılan ve yapılmayan bitkinin köklerinde oluşan nodüller görülmektedir.

2.3.3. Nodül Oluşumu (Nodülasyon)

Bitki köklerinin bakterilerle enfekte olmalarından sonra üç aşamada nodül oluşumu gerçekleşir:

Enfeksiyon Öncesi Dönem: Öncelikle, bitkinin kök bölgesinden bakterileri uyarıcı ve davet edici kimyasal maddeler salgılanır. Bu maddelerin salgılanmasından sonra bitki kök tüylerine tutunan bakteriler, bir kök gelişim hormonu olan ve kılcak köklerin özel bir şekil almasını indol asetik asit (IAA) ve kök hücrelerini esnek duruma getiren poligalatunaz (PG) enzimi salgılanır. Her iki metabolit kök hücrelerini bakterinin girebileceği esnek bir yapıya çevirir.

Enfeksiyon Şeridinin Oluşması: Kök hücrelerine giren bakterilerle birlikte kök tüyü boyunca korteks hücrelerine uzanan “enfeksiyon şeridi” ya da “enfeksiyon iptikçiği” adı verilen bir borucuk oluşur. Bu oluşumun görevi, bakterilerin korteks hücrelerine kadar taşınmasını sağlamaktır. Bu sırada bakteriler hızla çoğalır ve aynı zamanda konukçu bitki hücreleri de çoğalmaya devam ederek nodül oluşumunu başlatırlar.

Nodül Oluşumu: Enfeksiyon şeridi korteks bölgesinde tetraploid hücreye ulaşır. Bu ve etrafındaki komşu hücreler hızlı bir bölünme ile çoğalır ve kök hücre stoplazması içinde dağılırlar. Çoğalma olayından sonra bakteriler karakteristik çubuk veya kısa çubuk şekillerini kaybederek iri yapılı, X, Y veya düzensiz şekiller alırlar. *Rhizobium* bakterilerinin bu formuna bakteroid denir ve azot fiksasyonu yalnızca bakteroid formda gerçekleşir (4, 12).

Bitki cins ve türüne, çevre koşullarına bağlı olarak azot fiksasyonu enfeksiyondan 10-21 gün sonra başlar. Enfeksiyonun başlamasından azot fiksasyonuna kadar geçen zamanda bakterilere nodül oluşumu için gerekli tüm mineraller, fotosentez ürünleri ve aminoasitler konukçu bitki tarafından sağlanır (12). Pratik olarak, oluşan nodüllerin aktif olup olmadığını anlamak için, nodüller oluştuktan sonra bitkiler elle sökülüp kontrol edilebilir. Nodül patlatıldığında iç rengi kırmızımsı-sarımsı gibi canlı bir renk ise nodüller aktif; pembemsi, yeşilimsi-kahverengimsi gibi soluk bir renk ise nodül aktif değildir. Dolayısıyla bitkiye ek bir gübre yapılıp yapılmaması konusunda pratik olarak fikir sahibi olunabilir.

3. Azot Fiksasyonuna Etki Eden Faktörler

Rhizobium bakterileri tarafından fikse edilen azot miktarı üzerine pek çok faktör etki etmektedir. Her şeyden önce, etkili bir azot fiksasyonunun olabilmesi için şu şartların yerine getirilmesi gerekmektedir:

- İyi bir kök enfeksiyonu ve etkili bir nodül oluşumu için konukçu ile *Rhizobium* bakterisi uyum içinde olmalı,
- *Rhizobium* bakterisi toprakta diğer mikroorganizmalarla rekabet ederek hayatta kalabilmeli,
- Bu iki durum gerçekleştikten sonra, fiksasyon için diğer çevre koşulları da uygun olmalıdır (13).

Azot fiksasyonuna etki eden faktörleri şöyle sıralayabiliriz:

a-Bakteri türü: Baklagiller tarafından toprağa bağlanan azot miktarı üzerine pek çok faktör etkili olurken, bu faktörler içerisinde aşılama kullanılan bakterinin etkinliği ayrı bir önem taşımaktadır. Etkili *Rhizobium* bakterilerini içermeyen ve daha önce aynı bitkinin yetiştirilmediği

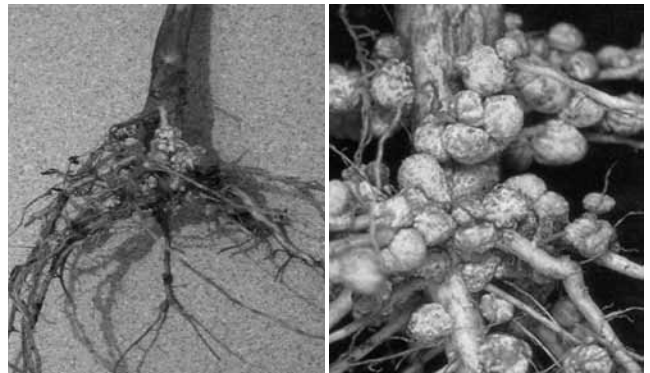
alanlarda uygun bakteri aşılması yapmak, fikse edilen azot miktarını ve dolayısıyla verimi önemli ölçüde arttırmaktadır (13).

b-Konukçu: Aynı baklagil türü içerisinde yer alan farklı genotip ve çeşitlerin aşılama tepkisi farklı olabilmektedir. Nitekim aynı bakteri kültürü ile aşılama fasulye hatlarından bazılarında erken nodül oluşumu gerçekleşirken, bazılarında nodülasyon oldukça yavaş seyretmiş ve azot fiksasyonu da sınırlı kalmıştır. Diğer taraftan, aynı bakteri ile aşılama bakla çeşitleri arasında da oluşan nodül sayısı bakımından farklılıklar tespit edilmiştir (14, 15).

c-Besin elementleri: Baklagiller tarafından gerçekleştirilen azot fiksasyonu topraktaki besin maddelerinin durumuna da bağlıdır. Herhangi bir besin elementinin eksikliği ya da fazlalığı fiksasyonu direkt ya da indirekt olarak etkilemektedir. Azot, bitkisel üretimde en çok kullanılan ve önemli bir girdidir. Dolayısıyla, topraktaki azot miktarının da azot fiksasyonu üzerine etkisi olmaktadır. Düşük miktarda uygulanan azot nodül oluşumunu teşvik ederken, artan azot dozları nodül teşekkülünü, nodüllerin sayı ve büyüklüğünü azaltarak azot fiksasyonunu düşürmektedir. Başlangıçta, bitkinin ilk gelişimi sırasındaki azot ihtiyacını karşılamak için düşük miktarlarda verilen azot, nodül sayısını ve azot fiksasyonunu arttırmaktadır. Nitekim, Meral ve ark. (1998) ve Kaya ve ark. (2002) bu durumu doğrulayan sonuçlar elde etmişlerdir (16, 17).

Bitki besin elementlerinden fosfor da azot fiksasyonu üzerine önemli etki yapmaktadır. Fosfor *Rhizobium* bakterilerinin aktivitesini ve kök gelişimini artırarak erken bir sürede nodül oluşumunu sağlamakta, nodüllerin daha büyük ve fazla sayıda olmasına etki etmektedir. Ayrıca fosfor, azot uygulamalarının fiksasyon üzerindeki zararlı etkisini hafifletmektedir. Toprakta yeterli fosfor bulunduğu yüksek azot dozlarında dahi nodülasyonu teşvik ettiği bildirilmektedir (13). Yine, potasyumun da nodül oluşumu ve azot fiksasyonu üzerine olumlu etkisi olmaktadır. Fosforla birlikte potasyumun da bulunması durumunda nodül oluşumu teşvik edilmekte ve azot fiksasyonu olumlu yönde etkilenmektedir (7, 13).

d-Sıcaklık: Toprak sıcaklığı hem nodül teşekkülü hem de nodül aktivitesi üzerine önemli ölçüde etki yapmaktadır. Düşük toprak sıcaklığı, mikrobiyal aktiviteyi sınırlayan en önemli faktördür. Ayrıca, düşük toprak sıcaklığında kök tüylerinin enfeksiyonu gecikmekte, nodül gelişimi sekteye



uğramakta ve nitrojen enziminin aktivitesi azalmaktadır. Diğer taraftan, düşük ve yüksek hava sıcaklıkları fotosentezi önemli ölçüde azaltarak azot fiksasyonunu sınırlandırmaktadır. Genel olarak 30 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar azot fiksasyonunu azaltmaktadır (13).

e-Toprak nemi: Simbiyotik azot fiksasyonu kuraklığa oldukça hassastır. Özellikle yarı kurak bölgelerde bitkiler gelişme dönemleri boyunca nem stresine maruz kalabilmekte ve buna bağlı olarak da fikse edilen azot miktarı sınırlanmaktadır. Tarla şartlarında toprağın çok az miktarda nem içermesi, tohumların etkili bakteri ile aşılması halinde bile azot fiksasyonunun azalmasına neden olmaktadır (18). Su stresi, nodüller üzerindeki bu doğrudan etkisi yanında, fotosentezi azaltmak suretiyle de fiksasyon üzerine dolaylı bir etki yapmaktadır (13). Diğer taraftan, topraktaki su fazlalığı topraktaki hava kapasitesini azaltması bakımından azot fiksasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Toprak hava kapasitesindeki azalmaya bağlı olarak kök bölgesindeki düşük oksijen konsantrasyonu nodül oluşumunu geciktirmekte ve nodül aktivitesini sınırlandırmaktadır. Ayrıca, nodülün yüzeyinde su tabakası bulunması halinde oksijen difüzyonu azalmakta ve buna bağlı olarak azot fiksasyonunda önemli azalmalar görülmektedir (19).

f-Toprak pH'sı: *Rhizobium* bakterileri pH'sı 4,6-8,5 arasında olan topraklarda gelişebilirlerken, en iyi çoğalmayı pH'sı 6,8 olan topraklarda gerçekleştirmektedirler (20). Düşük pH şartlarında *Rhizobium* bakterilerinin gelişme ve çoğalması azalmakta, etkisiz bakterilerin sayısı artmakta ve enfeksiyon olumsuz yönde etkilenmektedir (13). Asitli topraklarda Ca, Mg, P ve Mo noksanlığı görülürken, Al ve Mn konukçuya toksik etki yapacak seviyelere ulaşabilmektedir. Asit topraklarda artan Al seviyesi kök gelişimini olumsuz yönde etkileyerek nodülasyonu engellemekte; artan Mn seviyesi ise enfeksiyon işlemini ve nitrojen enziminin aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedir (19). Bu alanlarda kireç uygulamak Al ve Mn toksik etkisini ortadan kaldırdığı için rhizobial aktiviteyi teşvik etmektedir.

g-Tuzluluk: Toprakta çözünen tuzlar toprak çözeltisinin osmotik potansiyelini düşürerek fizyolojik kuraklığa sebep olmakta ve buna bağlı olarak bitkilerde gelişme geriliği görülmektedir. Ayrıca, tuza maruz kalmış bitkilerde toksik iyonların bitki dokularında birikimine bağlı olarak enzim aktivitesi bozulmaktadır (19). Tuzdan etkilenmiş bitkilerde ayrıca, fotosentez oranı azalırken solunum artmaktadır. Tuzluluğun bu olumsuz etkilerine bağlı olarak nodülasyon ve nodül aktivitesi önemli ölçüde azalmaktadır. Nitekim Singleton ve ark. (1982) ve Keck ve ark. (1984), tuzlu koşullarda *Rhizobium* aktivitesinin ve nodül oluşumunun olumsuz yönde etkilendiğini tespit etmişlerdir (20, 21).

4. Sonuç

Tarımsal üretimde en önemli girdi olan azot, proteinlerin yapısına katılması suretiyle her canlının hayatında önemli bir rol oynamaktadır. Atmosferde en yüksek oranda bulunan azot, aynı zamanda tarımsal üretimde eksikliği en çok görülen bir elementtir ve hiçbir canlı atmosferdeki bu

azottan doğrudan faydalanamamaktadır. Elementel halde bulunan bu azottan yararlanabilmek için, bu azotun amonyum formlarına indirgenmesi gerekir ki, bu da ancak bazı canlılar tarafından gerçekleştirilir. *Rhizobium* bakterileri de atmosferdeki bu azotu canlıların istifadesine sunabilme yeteneğine sahiptir. Baklagil familyasındaki bitkilerle girdikleri ortak yaşam sonucu elementel haldeki bu azotu toprağa bağlayan *Rhizobium* bakterileri, tarımsal açıdan büyük önem taşımaktadırlar. Baklagiller *Rhizobium* bakterilerinin faaliyeti sonucu, köklerinde oluşturdukları nodüllerle kendi azot ihtiyaçlarını karşıladıkları gibi, kendilerinden sonra gelecek bitki için azot bakımından zengin bir toprak bırakırlar. Ancak, bakteriler tarafından azot fiksasyonunun gerçekleştirilebilmesi için ortamda o bitkiye uygun bakterinin olması şarttır. Eğer ortamda bakteri mevcut değilse aşılama yoluyla o bakteriyi o alana transfer etmek gerekir. Ancak, bakteri aşılmasının böyle önemli bir fonksiyonu olmasına rağmen, ülkemizde tarım alanlarında yaygın olarak uygulanmamaktadır.

Kaynaklar

1. Fritsche, W. 1990. Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag. Jena.
2. Gök, M., P. Martin, 1993. Farklı *Rhizobium* bakterileri ile aşılana soya, üçgül ve fiğede simbiyotik azot fiksasyonuna etkisi. Doğa Tr. J. of Agricultural and Forestry, 17: 755-761.
3. Sarıoğlu, G., S. Özçelik, S. Kaymaz, 1993. Selection of effective nodosity bacteria (*Rhizobium leguminosarum biovar.viceae*) from lentil grown in Elazığ. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 17: 569-573.
4. Haktanır, K., Arcak, S., 1997. Toprak Biyolojisi. Ankara Üniversitesi Yayın No: 1486. Ankara.
5. Tamer, A.Ü., Şahin, N., İpek, K., Kalmış, E., 1994. Ekosistemlerdeki azot devrinde mikroorganizmaların yeri. Ekoloji Çevre Dergisi, 3:8-12
6. Kızıloğlu, F. T., 1999. Toprak organizmalarının azot formları arasındaki dönüşümlere ve çevreye etkileri. Çev-Kor., 8: 27-30.
7. İşler, E., 2009. Farklı aşılama yöntemleri ile bakteri (*Bradyrhizobium japonicum*) aşılmasının azot fiksasyonuna ve tane verimine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 53 s.
8. Gök, M., Onaç, I., 1995. Değişik *Bradyrhizobium japonicum* izolatları ile aşılamanın farklı soya çeşitlerinde verime, nodülasyonu ve N₂ fiksasyonuna etkisi. İlhan Akalan Toprak ve Çevre Sempozyumu, Cilt II, 237-246.
9. Çırpıcı, Ö., 2003. Soya bitkisinde bakteriyel aşılama ve Fe uygulamasının nodülasyonu ve N₂ fiksasyonuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 171 s.
10. Doğan, K., 2007. Yerfıstığı bitkisinde bakteriyel aşılama ile demir uygulamalarının nodülasyon, biyomas ve verime etkisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 171 s.
11. Güvercin, E., 2009. Farklı yerfıstığı çeşitlerinde bakteri aşılama ve demir uygulamasının nodülasyonu ve verime etkisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 175 s.
12. Kacar, B., Katkat, V., Öztürk, Ş., 2006. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayınları, No: 848.
13. Elkoca, E., Kantar, F., 2001. Baklagillerde simbiyotik azot fiksasyonuna etki eden faktörler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 32: 197-205.
14. Graham, P. H., 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*: A review. Field Crops Res., 4: 93-112
15. Kipe-Nolt, J. A., Giller, K. E., 1993. A field evaluation using the ¹⁵N isotope dilution method of lines of *Phaseolus vulgaris* L. bred for increased nitrogen fixation. Plant and Soil, 152: 107-114.
16. Meral, N., Çiftçi, C. Y., Ünver, S., 1998. Bakteri aşılama ve değişik azot dozlarının nohut (*Cicer arietinum* L.) un verim ve verim öğelerine etkileri. Tarla Bitkileri Merkez araştırma Enstitüsü Dergisi, 7: 44-59.
17. Kaya, M. D., Çiftçi, C., Kaya, M., 2002. Bakteri aşılama ve azot dozlarının bezelye (*Pisum sativum* L.)'de verim ve verim öğelerine etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 8 (4): 300-305.
18. Serraj, R., Sinclair, T.R., Purcell, L.C., 1999. Symbiotic N₂ fixation response to drought. J. Experimental Botany, 50: 143-155.
19. Bordeleau, L.M., Prevost, D., 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. Plant and Soil, 161: 115-125.
20. Singleton, P.W., El Swaiyf, S.A., Bohloal, B.B., 1982. Effect of salinity on rhizobium growth and survival. Applied and Environmental Microbiology, 44: 884-890.
21. Keck, T.J., Wagenet, R.J., Campbell, W.F., Knighton, R.E., 1984. Effect of water and salt stress on growth and scetylene reduction in alfalfa. Soil Science Society of America Journal, 48: 1310-1316.

Şekil 1. Bakteri aşılama yapılan bitkiyle yapılmayan bitki köklerinde oluşan yumrular