

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



Tuzlu-Alkali Özelliğe Sahip Toprakların Biyolojik Olarak Islahı

Proje No: FBA-2014-5010

Proje Türü
Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Yrd. Doç. Dr. Adem GÜNEŞ
Ziraat Fakültesi/ Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü

Yardımcı Araştırmacılar
Doç. Dr. Satı UZUN
Ziraat Fakültesi/ Tarla Bitkileri Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Serkan ŞAHAN
Yrd. Doç. Dr. Oğuzhan UZUN
Ziraat Fakültesi/ Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü

Ekim 2016
KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Çalışmanın başlangıcından itibaren yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar her basamağında uzman görüş ve laboratuvar imkanları ile bizleri destekleyip yüreklendiren değerli hocamız Doç. Dr. Mustafa BAŞARAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızı FBA-2014-5010 kodu ile destekleyen ERÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ayrıca teşekkür ederim.

Yrd. Doç. Dr. Adem GÜNEŞ

Ekim 2016, Kayseri

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	1
ABSTRACT	1
1. GİRİŞ	2
2. GENEL BİLGİLER	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9
4. BULGULAR	11
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	16
6. KAYNAKLAR	17

ÖZET

Bu projede tarımsal üretim yapılan alanlarda gerek sulama suyu gerekse iklim ve topoğrafik koşullara bağlı olarak meydana gelebilecek tuzluluk ve/veya alkalilik probleminin biyoteknolojik yöntemlerle ıslah edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma Kayseri İli'nde bulunan ve bitkisel üretim açısından sorun teşkil eden tuzlu ve/veya tuzlu-alkali özelliğe sahip toprakların, mikrobiyal canlılar ile biyolojik olarak ıslah edilmesi amacıyla laboratuvar koşullarında yürütülmüştür. Bu amaçla, tuzlu ve/veya tuzlu-alkali özelliğe sahip topraklardan bakteri izole edilmeye çalışılmıştır. İzole edilen bakteriler laboratuvar koşullarında EC'si 1, 4, 8 ve 12 dS/m ayarlanmış, besiyeri ortamına aktarılmıştır. Gelişimini sürdürebilen bakteriler tekrar izole edilerek, en etkin olan bakteri hatları belirlenmiştir. Çözeltilerin EC değerlerini ayarlamak için NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂ tuzları kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bioremidasyon, tuzluluk, alkalilik, bakteri

ABSTRACT

In this project, it is aimed to improve the salinity and / or alkalinity problem that may occur in irrigation water depending on climate and topographical conditions by biotechnological methods in agricultural production areas. This study was carried out that to biologically treatment microorganism in order with saline and / or salt-alkaline properties which is a problem of crop production in Kayseri province, under laboratory conditions. For this purpose, bacteria were isolated from saline and / or salty-alkaline soil. Isolated bacteria were transferred to the 1, 4, 8 and 12 dS m⁻¹ EC contents medium under laboratory conditions. Bacteria that can sustain their development have been re-isolated and the most effective bacterial lines have been identified. NaCl, CaCl₂ and MgCl₂ salts were used to adjust the EC values of the solutions.

Key words: Bioremediation, salinity, alkaline, bacteria

GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Yıkanma koşullarının ve yağışın az olduğu bölgeler ile buharlaşmanın çok olduğu kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yaygın olarak görülebilen çorak toprakların ıslah yöntemleri oldukça zor ve masraflıdır. Bu alanların ıslah yöntemlerinden en ekonomik olanı yüksek tuzluluğa ve/veya alkaliliğe toleranslı bitki tür ve çeşitlerinin bu tür alanlarda yetiştirilmesini sağlamak ya da çeşitli uygulamalar ile topraktaki yüksek tuzluluğun ve aşırı sodyum birikiminin olumsuz etkilerini gidermektir. Bu uygulamalardan birisi topraktaki tuzların etkisini azaltan ve tuzların topraktan uzaklaşmasını sağlayabilen bakteri yoluyla ıslah yöntemidir. Söz konusu tuzun etkisini azaltabilme özelliğine sahip bakteri türleri; bakteri-bitki ilişkisinde uyum, inorganik fosforun çözünürlüğünün artırılması ve organik fosfor bileşiklerinin mineralizasyonu, siderofor üretimi yoluyla demir alımının artırılması ve diğer bazı iz elementlerin oranında artış, sağlama, gibi faktörlerle çevresel stresi azaltma etkisi göstermektedirler. (Anonim 2006; Çakmakçı 2006; Karakurt 2006). Bakterilerin bu özelliklerinden yararlanılarak çorak toprakların ıslahında bioremediasyon yöntemi kullanılarak farklı tuzluluk düzeylerinde meydana gelen alkalilik veya tuzluluk problemine sahip ortamlarda, toprakların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin iyileştirilmesi üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Bitkisel üretim açısından olumsuz koşulları barındıran özellikle sodyumlu topraklarda da ıslah işleminde, toprağın su geçirgenliğini artırıcı yönde uygulamalara yer verilmelidir. Söz konusu topraklarda fazla miktardaki sodyumun toprağı dispers ederek toprağın fiziksel özelliklerinin bozulmasına ve buna bağlı olarak toprakta su geçirgenliği belirgin bir şekilde düşmektedir. Bu nedenle bu çalışma ile PGPR uygulamasına bağlı olarak Ca'un çözünürlüğünün artırılarak, toprağın geçirgenliğini artırmak ve topraktaki fazla sodyumun uzaklaştırılması hedeflenmiştir.

Ayrıca çalışma, çoraklaşmış, veya küresel iklim değişime bağlı olarak giderek artan çoraklaşma eğilimindeki tarım alanlarının ıslahı ile bu alanların daha etkin kullanım olanakları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Elde edilen veriler kapsamında, sürdürülebilir ve ekonomik ölçüde tarım yapabilmek ve yöre çiftçisi için tarımsal üretime elverişli olmayan bu arazilerde optimum verimin alınması amaçlanmıştır.

Ülkemizde artan nüfusun ihtiyacını karşılayabilmek ya da birim alandan daha fazla ürün alabilmek amacıyla, tarımsal alanlar veya birim alana uygulanan girdi miktarları artırılmaktadır. Ülkemizde tarıma elverişli alanların miktarı dikkate alındığında, bitkisel üretim özelliğine sahip yeni alanların tarıma açılması mümkün gözükmemektedir. Bu nedenle daha önceleri bitkisel üretim için uygun olan, ancak çeşitli uygulamalar yada iklimsel koşullara bağlı olarak derede olmuş, tarımsal alanların tekrardan tarıma kazandırılması gerekmektedir.

Toprağın yapısal özelliklerinin korunması ve geliştirilmesi, toprağa ilave edilen organik ve inorganik kaynakların uygun zamanda, yeterli miktarda ve etkin bir şekilde uygulanması, çevresel koşullara ve tarımsal uygulamalara bağlı olarak meydana gelen olumsuzlukların meydana getirdiği değişimlerinin düzenli olarak izlenmesi ve buna göre müdahalelerin yapılmasına bağlıdır. Tarım alanlarında bitkisel üretim potansiyelinin sürekliliği, uygulanan tarımsal faaliyetlerle yakından ilgilidir. Çevresel faktörler ve tarımsal uygulamalardaki teknolojik gelişmelere paralel olarak toprakların fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri etkileyebilmekte ve bu etkinin sonucu olarak toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri önemli değişikliklere maruz kalabilmektedir. Dünyada ve ülkemizde erozyon probleminden sonra ilk sırayı alan tuzluluk ve alkalilik problemi, küresel iklim değişikliği sonucunda daha fazla önem kazanmıştır. Bu sorunun giderilebilmesi ya da minimize edilebilmesi için daha ekonomik, etkin ve sürdürülebilir yönetim uygulamalarının tuzlu ve/veya alkali toprakların ıslah yöntemlerinde yer alması gerekmektedir. Günümüzde kullanılan kimyasal ıslah yöntemleri, topraktaki tuzluluğun giderilmesinde yeteri kadar etkili olamamaktadır. Çünkü uygulanan kimyasal girdi sonucunda kısa süreli toprakta tuzluluk azalmakta, ancak iklimsel ve çevresel veya tarımsal uygulamalara bağlı olarak tekrar tuzlulaşma meydana gelebilmektedir. Bu nedenle ıslah yönteminde toprakta uzun süre etkinliği devam ettirebilecek, iklimsel ve çevresel şartlara karşı toprakta biyokimyasal reaksiyonların devam etmesini sağlayabilecek bakterilerin kullanılması gerekmektedir. Biyoteknolojik yöntemlerin bu kapsamda kullanılması ile bitki büyüme ortamı olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlevselliği ve tarımsal üretim ortamı olarak toprağın mevcut koşullara göre en uygun yönetim sürecinin oluşmasında önemli katkılar sağlanmış olacaktır.

Mevcut tuzluluk koşullarında etkinliği daha önceki çalışmalarla belirlenen tuzluluk bakterileri, belirli yörelerde izole edildiğinden dolayı, bulunduğu iklim koşullarında daha fazla etki gösterebilmektedir. Bu nedenle bu çalışma kapsamında Kayseri Bölgesi iklim

koşullarında en etkin bakteri türleri belirlenerek, etkinliği laboratuvar koşullarında da test edilen bakterilerin çoğaltılarak, büyük alana sahip çorak toprakların ıslahında kullanılması düşünülmüştür.

GENEL BİLGİLER

Dünyada sulanan alanların yaklaşık yarısı taban suyu, tuzluluk ve alkalilik etkisi altındadır (Szabolics, 1985) Tuzluluk dünyanın her yerinde ürün çeşitliliğini ve verimliliğini azaltan en büyük abiyotik faktör olup (Tester ve Davenport 2003; Ashraf ve ark. 2007), dünyada yaklaşık 95 milyon ha alanı etkilemektedir (Szabolics, 1994).

Birçok araştırmacı çalışmalarında tuzluluğun bitkilerde transpirasyonu, su alımını, fotosentez oranını, protein sentezini, enzim aktivitesini, nitrat redüktaz aktivitesini, iyon alımı ve taşınmasını azalttığını, bitki kök gelişimini engellediği, çiçek ve salkım sayısını, bitki yaş ve kuru ağırlığını dolayısıyla verimi azalttığını ortaya koymuştur (Treshow 1975, Andiç 1993, Özdemir 1993, Larcher 1995, Turhan ve Kızıloğlu 1999, Aydın ve ark. 2000).

Yapılan çalışmalarda, bitkilerin tuzlu topraklarda sitoplazmalarında prolin, gliserol, şeker ve glisin betain; vakuollerinde ise mineral iyonları biriktirerek ozmotik dengeyi sağladıklarını bunun sonucu olarak da kurak ve tuzlu koşullarda daha uzun süre yaşayabildiklerini ortaya koymuşlardır (Yeo 1998, Bohnert et ve ark. 1999, Sun ve ark. 2002).

Kurak bölgelerde ve tuzlu topraklarda yetiştirilen bitkilerin prolin içeriğinin arttığı, dolayısıyla prolin biriktirme özelliğinin de tuza toleransın bir göstergesi olduğu belirlenmiştir (Chen ve ark. 2001, Ghoulam ve ark. 2002, Gırja ve ark. 2002).

Chow ve ark. (1996)'nın çeltik bitkisinde yapmış olduğu araştırmada, bitkilerin yaprak ve gövdesinde artan sodyumun, potasyum üzerinde etkisi belirgin bulunmazken, köklerde artan tuzla birlikte potasyum alımının azaldığı saptanmıştır. Bitki genotiplerinin farklı oranlarda Na ve K absorpsiyonun yapması ve böylece bünyelerinde farklı K/Na oranlarına sahip olmasının tuzluluğa dayanımı artırdığı belirlenmiştir (Aktaş 2002; Heimler ve ark. 1995, Lopez ve Satti 1996; Esin 2007).

Yıldırım ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada, tuz stresi koşullarında bitki gelişim düzenleyici bakterileri (PGPR) uygulayarak turp bitkisi yetiştirmişlerdir. 0 ve 80 mM NaCl uygulanmış topraklara, bakterilerle bulaştırılmış tohumlar ekilerek turp bitkisinin verim ve verim parametreleri ile yaprak sayısı, yaprak su içeriği, elektrik geçirgenliği ve iyonik kompozisyonu belirlenmiştir. Tuz koşullarında bitkinin kök ve gövde ağırlığı, klorofil miktarı, mineral madde içeriği, yaprak su içeriğinde önemli azalmalar görülmüştür. Ancak

bakteri uygulaması ile birlikte bitkinin kök ve gövde kuru ağırlığında, yaprak su içeriğinde, klorofil miktarında ve mineral içeriğinde önemli artışlar, elektrik iletkenliğinde ise azalma görülmüştür.

Khalid ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada çoğu bitki büyüme düzenleyici mikroorganizma daha fazla kök gelişimi ve daha büyük yüzey alanı oluşturan fitohormonları üretmektedirler. Mikroorganizmalar tarafından üretilen fitohormonlar köklerin daha fazla yüzeye yayılmasını sağlayarak besin elementlerinin alınmasını sağlamaktadır. Bitki gelişim düzenleyici organizmaların ürettiği fitohormonlar oksinler, sitokinin, giberallin ve bir miktarda etilendir.

Fougere ve ark. (1991) alfaalfa bitkisinin organik asit, amino asit ve karbonhidrat kompozisyonu üzerine tuz stresinin etkisi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, organik asit konsantrasyonunun nodül ve köklerde azaldığı buna karşın laktik asit miktarının arttığı belirlenmiştir. Diğer bir deyişle tuz stresi koşullarında amino asit ve karbonhidrat miktarında azalmalar görülmüştür. Amino asitler içinde en fazla artış, prolin miktarında gözlemlenirken, diğer organik asit ve karbonhidrat miktarlarında değişimler belirlenmiştir.

Çiçek ve Çakırlar (2002), yaptıkları çalışmada tuz stresine maruz bırakılan mısır bitkisinde, bitki boyu, nispi su içeriği ile toplam yaş ve kuru ağırlıklarda azalma saptarken, prolin, Na ve Na/K oranlarında artma rapor etmişlerdir.

Malkoç, ve Aydın (2003), farklı tuz uygulamalarının fasulye bitkisinin gelişimi ve mineral içeriğine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılara göre uygulanan tuz dozu arttıkça bitki gelişimi olumsuz etkilenmiştir. Cl^- tuzları SO_4^{2-} tuzlarına göre bitki gelişimi üzerine olumsuz yönde daha fazla etkili olmuştur. Bitkilerin mineral içeriklerinde kararsız bir değişim olsa da genel olarak bitkilerin mikro element içerikleri tuz dozu arttıkça azalmıştır.

Turan ve Aydın (2005), yaptıkları bir çalışmada değişik tuzların mısır bitkisinin bazı fizyolojik özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar Ca, Mg ve Na'un Cl^- ve SO_4^{2-} tuzlarını 0, 40, 80 ve 120 mM konsantrasyonlarda uygulamışlardır. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlara göre uygulanan tuz konsantrasyonu arttıkça toprak pH'sı yükselmiş, toprağın elektriki iletkenliği ve bitki prolin içeriği artış göstermiş, bitki gelişimi, klorofil içeriği, besim maddesi alımı ve kuru madde miktarı ise azalmıştır.

Kurak ve tuzlu koşullarda, suyun sınırlı olması bitki gelişimini sınırlandırır. Bitkiler bu olumsuz koşullara karşı bir takım uyum mekanizmaları geliştirirler. Bitkilerin geliştirdiği uyum mekanizmalarından biride bitki dokusunun prolin içeriğinin artmasıdır. Kurak bölgelerde ve tuzlu topraklarda yetiştirilen bitkilerin prolin içeriğinin arttığını, dolayısıyla prolin biriktirme özelliğinde tuza toleransın bir göstergesi olduğu belirtilmektedir (Hanson ve ark. 1977, Singh ve Rai 1981, Bal ve ark. 1984).

Birçok araştırmacı yaptıkları çalışmalarda, bitkilerin tuzlu topraklarda sitoplazmalarında prolin, gliserol, şeker ve glisin betain, vakuollerinde de mineral iyonları biriktirerek ozmotik dengeyi sağladıklarını bunun sonucu olarak da kurak ve tuzlu koşullarda daha uzun süre yaşayabildiklerini ortaya koymuşlardır (Bartnett ve Naylor 1966, Palfi ve Juhasz 1971; Sun ve ark. 2002).

Bitkiler, hem ozmotik düzenlerinin hem de iyon dengelerinin korunmasını sağlamak amacıyla tuz stresine karşı farklı mekanizmalar geliştirirler. Yüksek tuz konsantrasyonu bitkilerde sekonder etkilere ve hasarlara yol açan yüksek bir ozmotik strese ve hücre içi iyon dengesizliğine neden olur. Bu nedenle ozmotik ayarlama osmoprotektan bileşiklerin (prolin, glisin betain, bazı şeker alkoller) biriktirilmesi ile sağlanır (Demir ve Kocaçalışkan 2001, Yokoi ve ark. 2002). Yine tuz stresine bağlı olarak bitkilerin antioksidan enzimleri, kloroplast ve sitosol enzimleri aktivitelerinde önemli değişiklikler belirlenmiştir (Gomez ve ark. 1999).

Rao ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, hormonları çeşitli abiyotik stres faktörlerine karşı bitkilere direnç, kazandırdığını ve hormon kullanımının düşük ve yüksek ısıya, kuraklığa toleransı arttırdığı gibi bitki gelişiminde tuzluluğun neden olduğu inhibitör etkileri giderdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca hormonların tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltarak özellikle çimlenme ve çimlenme sonrası fide büyümesini teşvik ettikleri bildirilmiştir (Sasse 1994).

Bitki tarafından alınan kalsiyum, katyon kanallarından sodyumun akışını azaltmakta ve Na toksisitesine bağlı olarak meydana gelen olumsuzlukları gidermede oldukça önemli rol oynamaktadır (Cramer 2002; Subbarao ve ark. 2003). Ayrıca bitki hücrelerindeki Ca, Na alımını engelleyerek, K'un kanallardan geçmesine ve akışına olanak sağladığı belirlenmiştir (Shabala 2006). Topraktaki fosfor düzeyinin artması, bitkide verim artışına bağlı olarak buğdayda Cl toksisitesinin önlenmesini sağlamaktadır (Chauhan ve Chauhan 1985).

Whitelaw (2000) yaptığı bir çalışmada, ortam koşullarının pH düzeyinin Ca fosfatların çözünmesinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ortam pH düzeyinin düşmesi yani asitliğin artması, çeşitli bakteriler tarafından salgılanan (sitrat, oksalat gibi) organik anyonların serbestlenmesi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu mikroorganizmalar tarafından salgılanan organik anyonlar ise çözünmez durumda bulunan Ca formlarının şelatlar ile çözünebilir hale gelmesini sağladığı belirlenmiştir.

Sodik topraklarda yüksek Na'dan dolayı oluşan geçirgenliği düşük toprağın jips ve diğer Ca bileşikleri uygulamasının toprağın su geçirgenliğini artırdığı (Loveday 1976; Keren ve Shainberg 1980) belirtilmektedir. Toprağa uygulanan bakterilerin farklı düzeyde çözünürlük derecesine sahip Ca'lu bileşiklerin çözünürlüğünü artırarak, topraktaki Na'un Ca ile yer değiştirmesine ve bunun sonucunda toprağın su geçirgenliğinin artırılacağı belirlenmiştir (Qadir ve ark. 1996; Qadir ve ark. 2003).

Sairam ve Tyagi (2004) yaptığı çalışmada, toprak tuzluluğu ozmotik stres, Na ve Cl toksisitesi etilen üretimi, reaktif oksijen türlerinin üretimi gibi etkilerle bitki gelişiminin engellediğini belirlemişlerdir. Kök bölgesindeki düşük su potansiyeli, ayrıca Na ve Cl iyonlarının toksisitesi ve etilen üretimi gibi etkenlerle bitki gelişimini etkiledikleri belirlenmiştir.

Glick ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, etilen üretiminin çoğu bitki tohumlarının çimlenmesi için gerekli olduğu, yüksek düzeylerde etilen üretiminin bitki gelişimini engellediğini belirtmişlerdir. Tuzluluk bakterisi uygulaması ile bitki tarafından üretilen etilen miktarının azaldığı belirlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada bakteriler yardımıyla tuzlu ve/veya alkali toprakları ıslah yapabilmek amacıyla çoraklığın görüldüğü, bitki gelişiminin sınırlı olduğu yüksek EC değerine sahip alanlar seçilerek, bu alanlardaki özellikle azda olsa bitki gelişiminin olduğu yerlerden 0-10 cm derinlikten (rizosfer bölgesinden) toprak örnekleme yapılmıştır. Alınan topraklardan elde edilen süzükler besi ortamına aktararak bakteri gelişimi ve izole işlemleri yapılmaya başlanmıştır. Popülasyonu yoğun olan bakteriler öze yardımıyla alınarak içerisinde EC'si 1, 4, 8 ve 12 ds/m olan besiyerlerine ekilmiştir. Gelişim sonucunda koloni oluşturan bakteriler alınarak saflaştırılma işlemi yapılmaya çalışılmıştır.

Bakterilerin İzolasyonu

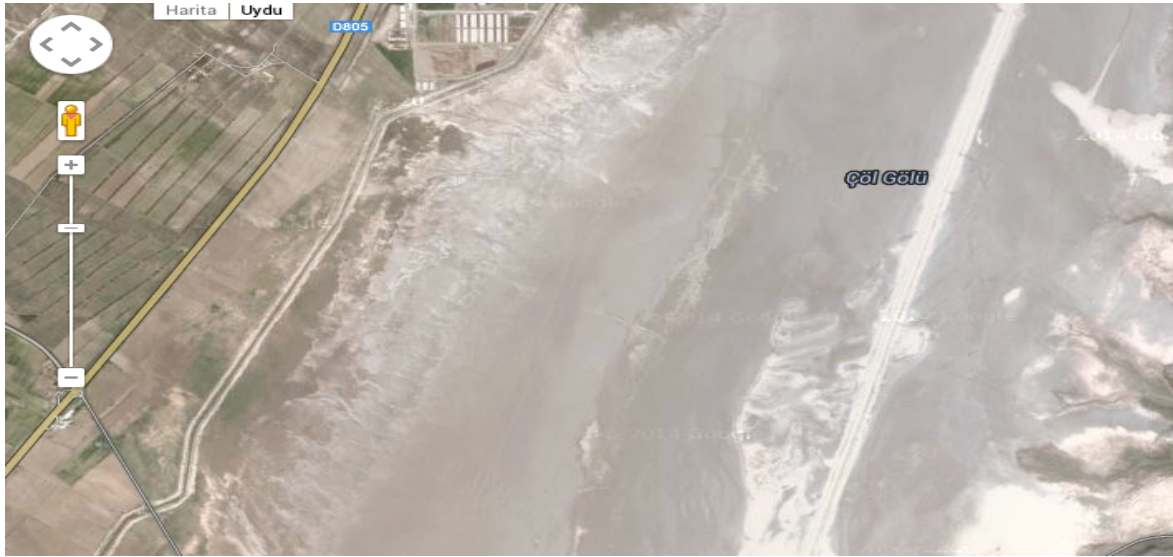
Tuzlu ve/veya alkali özelliğe sahip alanlardan, bitki bulunan alanlardan bitki kök rizosfer bölgesinden, bitki bulunmayan alanlarda ise toprakların 0-20 cm derinliğinden alınan toprak örneklerinden 1 gr tartılıp 9 ml steril saf su ile iyice karıştırıldıktan sonra, homojen hale getirilmiştir. Daha sonra bu örneklerden 101'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır (10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6). Hazırlanan 10-3, 10-4, 10-5, 10-6 dilüsyonlarından üç tekrarlamalı olarak 1 ml örnek alınmış ve petri içerisinde homojen bir şekilde aktarılmıştır. Petrilere Nutrient Agar (20 gr/lt) ilave edilerek (20 ml) bakterilerin gelişmesi için 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir (Collins ve ark. 1989; Buchanon ve Gibbons, 1984). Toprakta bulunan tuz bakterilerinin varlığını tespit etmek için Nutrient Agar hazırlanırken 0; 0,25; 0,5 ve 1 mM konsantrasyonlarında NaCl içeren su kullanılmıştır.

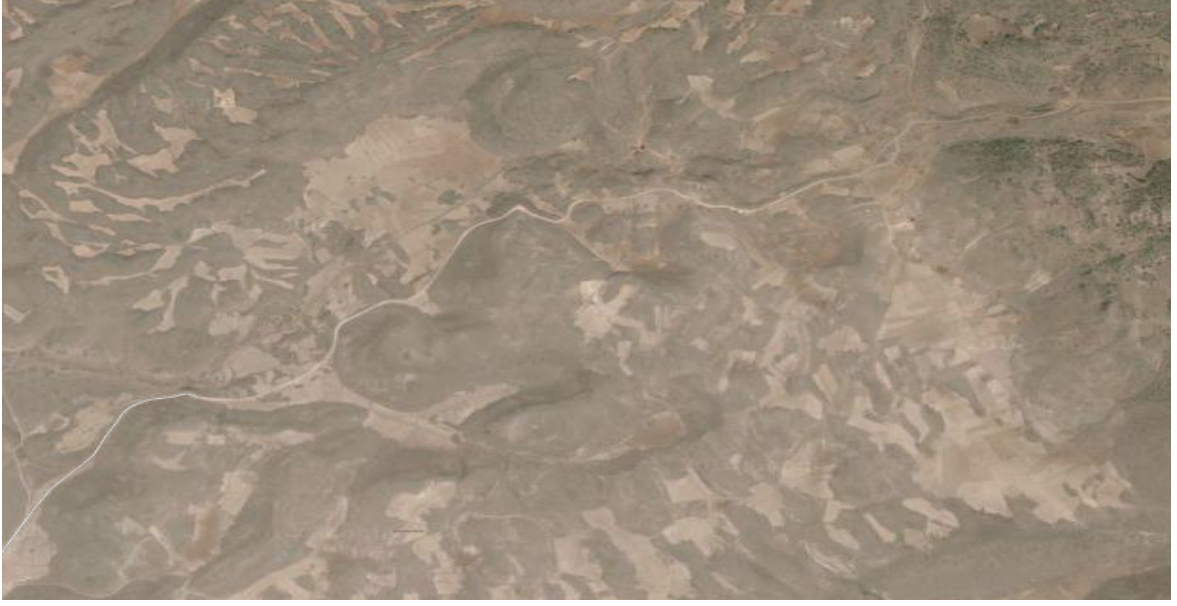
Süre sonunda öncelikle 1mM NaCl bulunan besiyerinde gelişebilen bakterilerin gelişimi takip edilmiştir. Bu ve diğer tuz dozlarında gelişebilen ve koloni oluşturan bakteriler öze yardımıyla alınarak çizme ve sürme yöntemiyle tekrar 0; 0,25; 0,5 ve 1 mM konsantrasyonlarında NaCl içeren Nutrient Agar besiyerinde 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edilerek saflaştırma işlemi yapılmıştır (El-Gammal ve ark. 1998). Bu işlemler sonunda etkinliği tespit edilen ve saflaştırılan bakteriler -80°C'de, %30 gliserol ve sıvı besiyeri (Lauryl Broth) içerisinde muhafaza edilmiştir. Daha sonra denemede kullanılmak üzere nutrient agar katı besi ortamına çizgi ekim yapılarak 27°C'ye ayarlı inkübatörde 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrası gelişen her bir bakteriden bir öze dolusu alınarak 250 ml nutrient broth içeren erlenlere aktarılmıştır. Bakteri ile kontamine edilen sıvı besiyerleri, bakterilerin aerobik

gelişimi için 27°C'ye ayarlı çalkalayıcıda 91 rpm'de 24 saat inkübe edilerek hazırlanan bakteriyel süspansiyonlar steril saf su ile seyreltilerek, spektrofotometrik ölçümle son konsantrasyon 10^8 CFU/ml'ye ayarlanmış ve etkin olarak bakteri türleri belirlenmeye çalışılmıştır.

BULGULAR

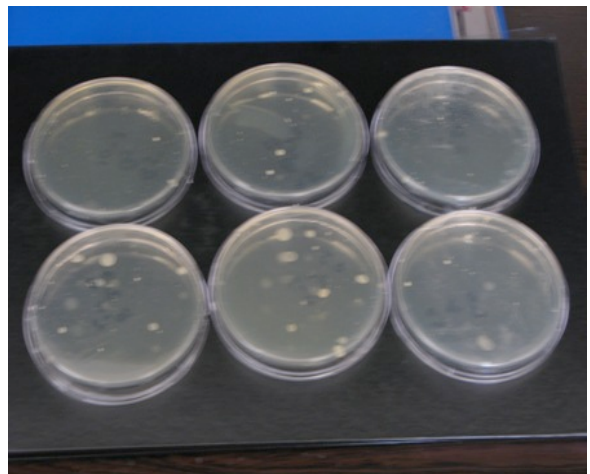
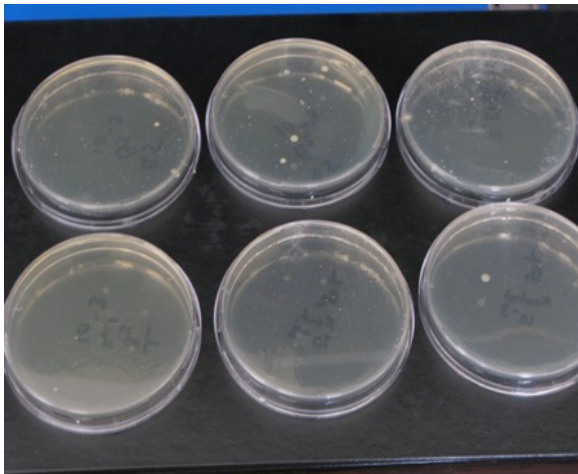
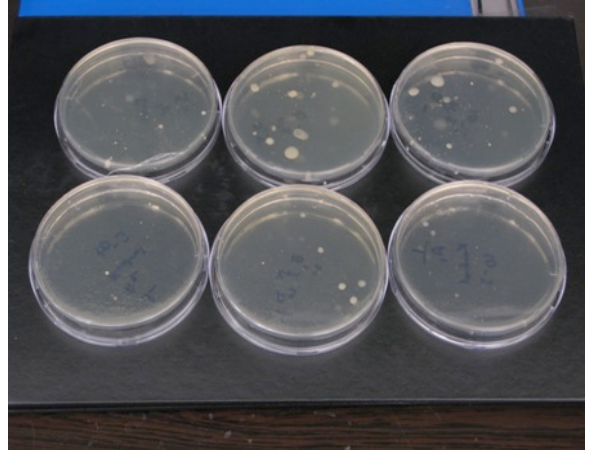
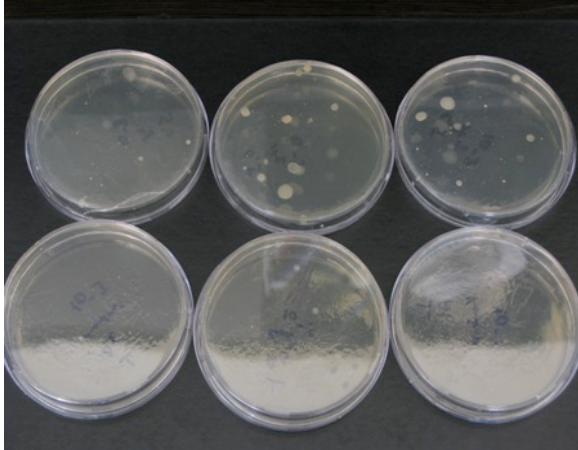
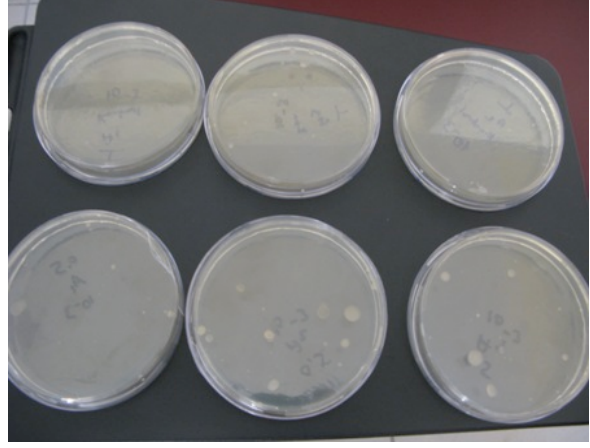
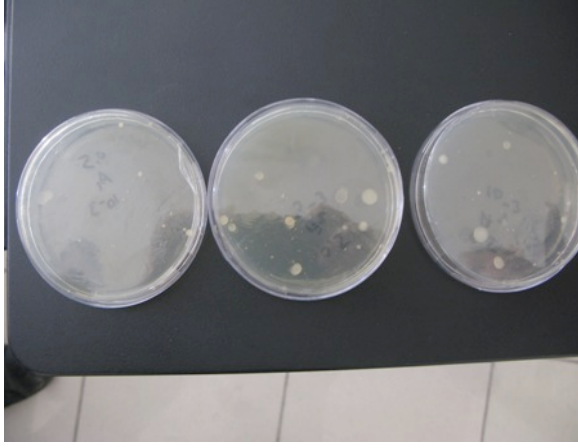
Bu çalışmada bakteriler yardımıyla tuzlu ve/veya alkali toprakları ıslah yapabilmek amacıyla çoraklığın görüldüğü, bitki gelişiminin sınırlı olduğu yüksek EC değerine sahip alanlar seçilerek, bu alanlardaki özellikle azda olsa bitki gelişiminin olduğu yerlerden 0-10 cm derinlikten (rizosfer bölgesinden) toprak örnekleme yapılmıştır (Şekil 1). Alınan topraklardan elde edilen süzükler besi ortamına aktararak bakteri gelişimi ve izole işlemleri yapılmıştır. EC'si 1, 4, 8 ve 12 ds/m olan besiyerlerine, izole edilen bu bakteriler ekilmiştir. Gelişim sonucunda koloni oluşturan bakteriler alınarak saflaştırılma işlemi yapılmaya çalışılmıştır.

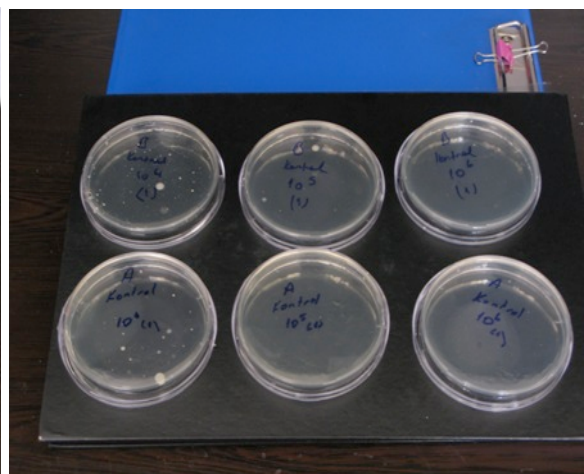
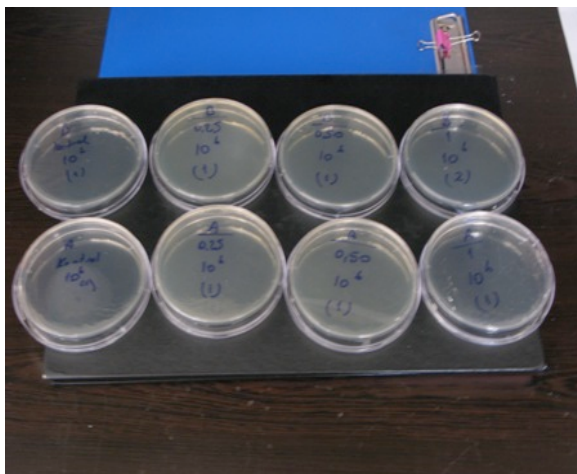
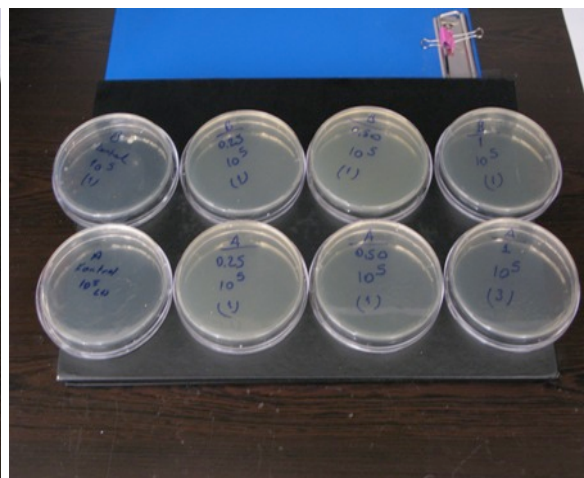
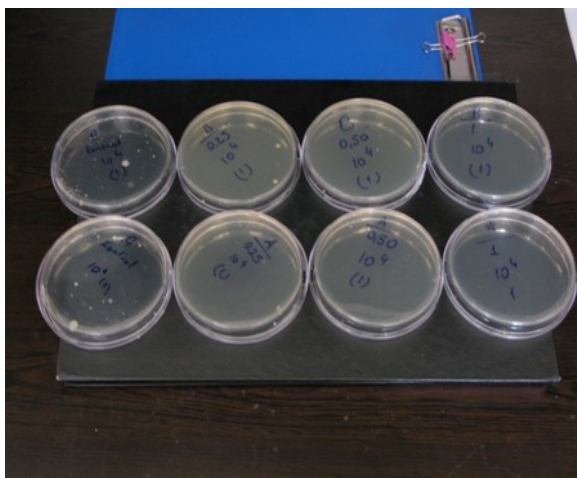
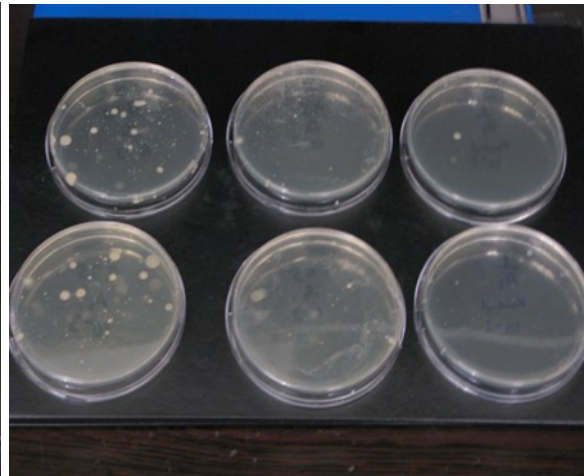
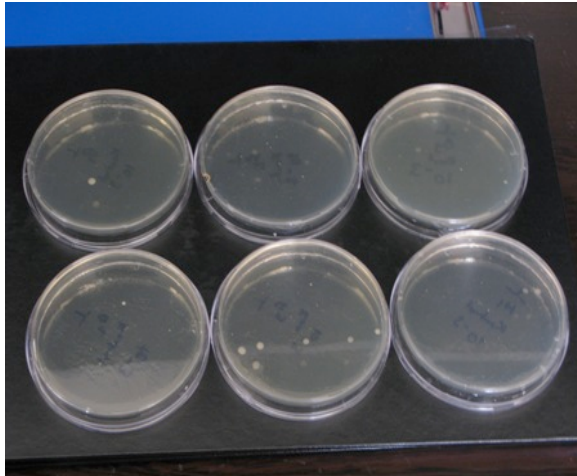


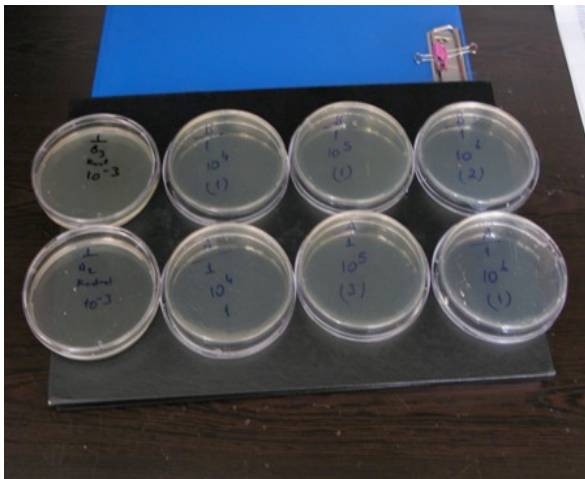
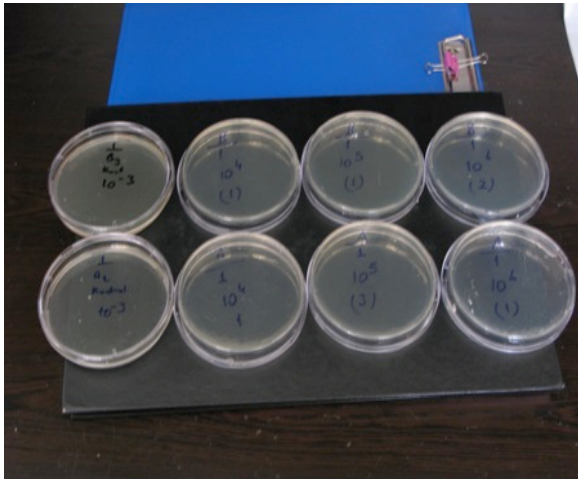
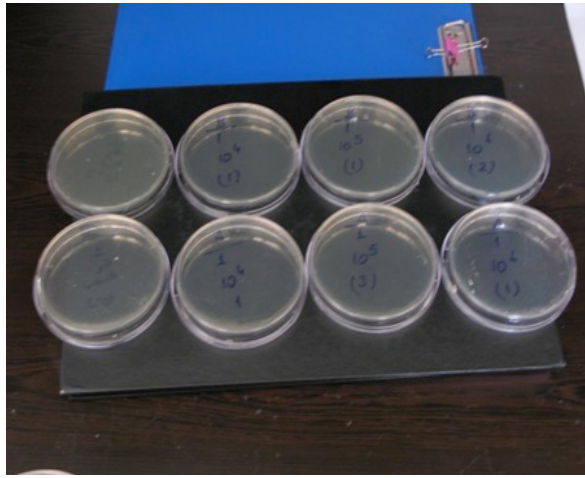
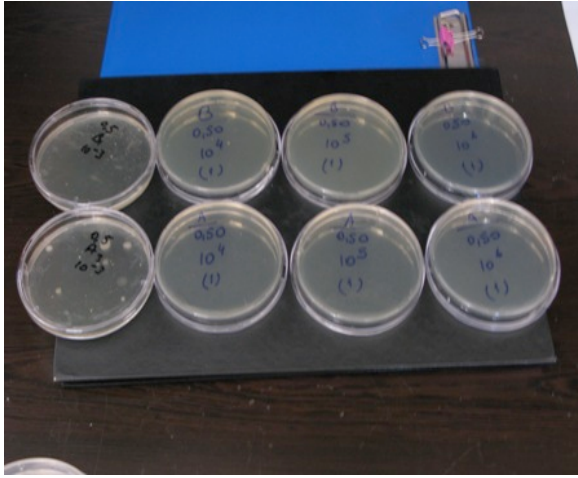
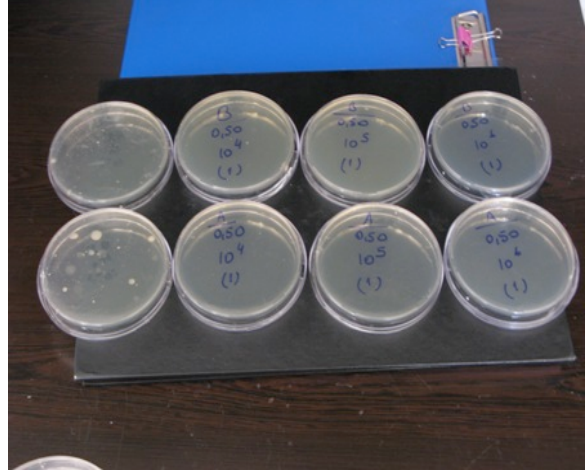
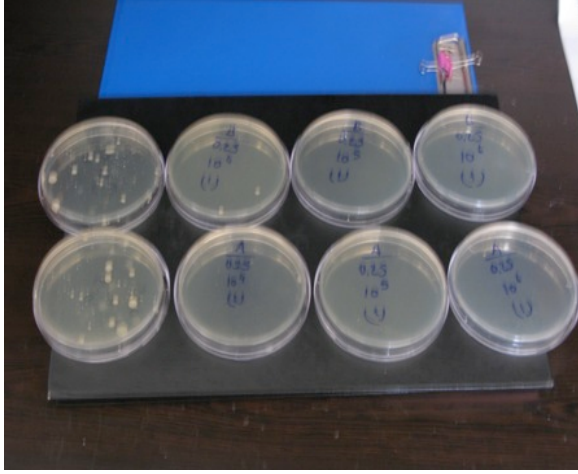


Şekil 1. Bakteri izolasyonu amacıyla toprak örneğinin alındığı bölgeler (Kayseri-Yeşilhisar arası)

Alınan toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin saflaştırılma işlemleri yapılmıştır. Bu amaçla 0; 0,25; 0,5 ve 1 mM NaCl içeren besiyerlerinde, gelişim gösteren bakteriler alınarak, tekrar NaCl içeren besiyerlerine konulmuş ve saflaştırılma işlemlerine devam edilmiştir.







Şekil 2. Bakterilerin izolasyonuna ait görüntüler

TARTIşMA VE SONUÇ

Topraktaki tuzluluk sorununun ortadan kaldırılmasına yönelik olarak kullanılabilecek yöntemlerin güçlü ve masraflı olması nedeni ile son yıllarda da tuza dayanıklı bitki türleri ile bunlara ait tuza toleransı yüksek genotiplerin seçilmesi, mikrobiyal gübrelemenin kullanılması gibi yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Tuzluluğun sorun olduğu bölgelerde tuzluluk yavaş seyreitse de kaçınılmaz olacağından, genetik dayanıma yönelmek en kalıcı çözüm olarak görülmektedir. Bitkilerin tuza karşı gösterdiği tepkiler; bitkinin içinde bulunduğu gelişme dönemine, stres faktörü olan tuzun konsantrasyonuna, tuzun bitkiye etki ettiği süreye göre değişebilmekte; ayrıca iklim ve toprak özelliğine bağlı olarak da farklılık gösterebilmektedir. Çevresel faktörler ve fizyolojik etkilerin eşlik ettiği tuza tolerans özelliğinin esas kaynağı kalıtsal unsurlardır. Tuza tolerans bakımından bitkiler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Familya, cins ve türler arasında farklılıklar bulunduğu gibi, aynı türe ait çeşitler arasında da tuza tolerans bakımından farklılıkların bulunduğu bilinmektedir.

Bu çalışma sonucunda tuz stresinin ve buna bağlı olarak sodyum toksisitesinin azaltılması için yaygın olarak kullanılan jips uygulaması ile kıyaslandığında, mikrobiyal gübre kullanılması durumunda, jips uygulamasına göre daha etkin sonuçlar verdiği ve toprakların özelliğine bağlı olarak değişmekle birlikte Na miktarında azalmalara neden olacağı görülmüştür.

Bu projenin sonucunda bitkisel üretimde verimliliğin artırılması, toprakların fiziksel ve kimyasal yapısının iyileştirilmesi, insan sağlığının korunması ve çevre kirliliğinin önlenmesi amacıyla; mikrobiyal gübrelerin kullanımını yaygınlaştırmak, tanımlamak, toprakta tuz stresi koşullarında meydana gelen değişimleri incelemek ve bunun neticesinde yetiştirilecek bitkinin kalite ve kantite bakımından üstün düzeye çıkarılması hedeflenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen olumlu sonuçların ülke genelinde benzer özellik gösteren alanlarda da doğrudan uygulanabilir olması çalışmanın çok yüksek yaygın bir etkiye sahip olmasına neden olmaktadır.

Bu çalışma sonucunda elde edilen bu sonuçların başta yöre çiftçisi olmak üzere ülkemizdeki çiftçilerin sosyo-ekonomik yapısını iyileştirmeye yönelik bir uygulama olduğu ancak bu çalışma sonuçlarının tarla çalışmaları ile de kalibre edildikten sonra uygulanmasının daha fazla yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Aktaş, H. 2002. Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı. Ç.Ü Fen Bilimleri Enst. (doktora tezi basılmamış), Adana, 105 s.

Andiç, C. 1993. Tarımsal Ekoloji. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Notları No:16, Erzurum.

Ashraf, M., Nawazish, S., Athar, H.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving are chlorophyll fluorescence and photosynthetic capacity potential physiological determinants of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.).Pak. J. Bot., 39(4): 1123-1131.

Aydın, A., Turan, M., Sezen, Y., 2000. Effect of sodium salts on growth and nutrient uptake of spinach (*Spinacia oleracea*) and beans (*Phaseolus vulgaris*). International Symposium on Desertification. p: 525- 530, 13-17 June, Konya/Turkey

Bal, A.R., Qadar, A., Joshi, Y.C., Rana, R.S., 1984. Free proline accumulation under salt stress in wheat and barley. Curr. Agric. 8, 91-95.

Bartnett, N.M., Naylor, A.W., 1966. Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. Plant Physiol. 11, 1222-1250.

Bohnert, H.J., Su, H., Shen, B., 1999. Molecular mechanisms of salinity tolerance. In: Shinozaki, K. and K. Yamaguchi-Shinozaki (eds): Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants. University of Arizona, 29-60.

Buchanan, R.E., Gibbons, M.E. 1984. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8 th Edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, pp. 1094.

Chauhan, R.P.S., Chauhan, C.P.S. 1985. Effect of P fertilizer on alleviating chloride toxicity in wheat. Fertilizer Research 6:171-176.

Chen, C.T., Chen, L., Lin, C.C., Kao, C.H., 2001. Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. Plant Sci. 2001, 283-290.

Chow, J.C., Watson, J.G., Lu, Z., Lowenthal, D.H., Frazier, C.A., Solomon, P.A., Thuillier, R.H., Magliano, K. 1996. Descriptive Analysis of PM2.5 and PM10 at Regionally Representative Locations during. *Atmos. Environ.* 30: 2079-2112.

Çiçek, N., Çakırlar, H., 2002. The effect of salinity on some physiol. Parameters in two Maize Cult. *Bulg. J. Plant Physiol.* 28 (1-2), 66-74.

Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M. 1989. *Microbiological Methods*, Butterworths & Co. Ltd., London, 410.

Cramer, G.R. 2002. Sodium-calcium interaction under salinity stress, In A. Lèauchli and U. Lèuttge, eds. *Salinity : environment - plants - molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht ; Boston.

El-Gammal, A. A., Kamel, Z., Adeeb, Z., Helmy, S. M. (1998). Biodegradation of lignocellulosic substances and production of sugars and lignin degradation intermediates by four selected microbial strains, *Polymer Degradation and Stability*, 61, 535-542.

Esin, F. 2007. Bazı çilek çeşitlerinde NaCl uygulamasının bitki gelişimi ve iyon içeriği üzerine etkisi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Yüksek Lisans tezi.

Fougere, F., Rudulier, L.D., Streeter, J.G., 1991. Effects of Salt Stress on Amino Acid, Organic Acid, and Carbohydrate Composition of Roots, Bacteroids, and Cytosol of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *plant Physiol.* 96:1228,1236

Gee, G.W., Bauder J.W., 1986. Particle- Size Analysis. *Methods of Soil Analysis*. Part 1. Physical and Mineralogical Methods Second Edition. Agronomy No: 9. 2. Edition P: 383-441.

Ghoulam, C., Foursy, A. and Fares, K., 2002. Effect of salt stres on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in fiver sugar beet cultivars. *Environmentel and Experimentel Botany.* 47, 39-50.

Girija, C., Smith, B.N., Swamy, P.M., 2002. Interactive effect of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in pea nut (*Arabis hypogaea* L.). *Environmentel and Experimentel Botany.* 47: 1-10.

Glick, B.R., Penrose, D.M., Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 190:63-8.

Gomez J.M., Hernandez, J.A., Jimenez, A., Del Rio, L.A., and Sevilla, F., 1999. Differential response of antioxidative enzymes of chloroplasts and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants. *Free Radic Res.* (31), 11-18.

Heimler, D., Tatini, M., Tici, S., Coradeschi, M.A., Traversi, M.L., 1995. Growth, Ion Accumulation and Lipid Composition of Two Olive Genotypes Under Salinity. *J. Plant Nutrition*, 18: 1723-1734.

Keren, R., Rreit, J.P., Shainberg, I. 1980. Influence of size of gypsum particles on the hydraulic conductivity of soils. *Soil. Sci.*, 130: 113-117.

Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J Appl Microbiol* 96:473–480.

Klute, A., Dirksen, C., 1986. Hydraulic Conductivity and Diffusivity: Laboratory Methods. *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. 2nd Edition. Agronomy No: 9. 687-734, 1188 p, Madison, Wisconsin USA.

Larcher, W. 1995. *Physiological plant ecology. Plants under stress*. Springer. Austria. p. ISBN 3540435166

Lopez, M.V., Satti, S.M.E., 1996. Calcium and Potassium –Enhanced Growth and Yield of Tomato Under Sodium Chloride Stress. *Plant Sci.*, 114: 19-27.

Loveday, J., 1976. Relative significance of electrolyte and cation exchange effects when gypsum is applied to a sodic clay soil. *Aust. J. Soil Res.*, 14: 361-371.

Malkoç, M., Aydın, A., 2003. Mısır (*Zea mays* L.) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)'nin gelişimi ve bitki besin maddeleri içeriğine farklı tuz uygulamalarının etkisi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der.* 34 (3): 211-216.

McLean, E.O., 1982. Soil pH and Lime Requirement. *Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties* Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2 . Edition P: 199-224

Mertens, D., 2005. AOAC Official Method 922.02. Plants Preparation of Laboratory Sample. Official Methods of Analysis, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp1-2, AOAC- International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.

Nelson, D.W., Sommers, L.E., 1982. Organic Matter. Methods of Soil Analysis Part2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2. Edition P: 574-579.

Nelson, R.E., 1982. Carbonate and Gypsum. Methods of Soil Analysis Part2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2 . Edition P: 191-197.

Özdemir, S. 1993. Tuzluluk Stresinin Bazı Nohut Çeşitlerinde Çimlenme, Bitki Gelişimi ve Simbiyotik Sistemlere Etkisi. Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, Adana.

Palfi, G., Juhasz, J., 1971. The theoretical basis and practical application of a new method of selection of determining water deficiency. Plant and Soil. 34, 503-507.

Qadir, M., Qureshi, R.H., Ahmad, N. 1996. Reclamation of a saline-sodic soil by gypsum and *Leptochloa fusca*. Geoderma 74:207-217.

Qadir, M., Steffens, D., Yan, F., Schubert, S. 2003. Proton release by N₂-fixing plant roots: A possible contribution to phytoremediation of calcareous sodic soils. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 166:14-22.

Rao, S.S.R., Vardhini, B.V., Sujatha, E., Anuradha, S., 2002. Brassinosteroids – A new class of phytohormones. Current Science, 82(10): 1239-1245.

Rhoades, J.D., 1982a. Cation Exchange Capacity. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2 . Edition P: 149-157.

Rhoades, J.D., 1982b. Exchangeable Cations. Methods of Soil Analysis Part2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2 . Edition P: 159-164.

Sairam, R.K., Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86: 407-421.

Sasse, J.M., 1994. Brassinosteroid and roots. *Proceedings Plant Growth Regulation Society America*, 21, 228-232.

Shabala, S., Demidchik, V., Shabala, L., Cuin, T.A., Smith, S.J., Miller, A.J., Davies, J.M., Newman, I.A. 2006. Extracellular Ca^{2+} ameliorates NaCl -induced K^{+} loss from *Arabidopsis* root and leaf cells by controlling plasma membrane K^{+} -permeable channels. *Plant Physiology* 141:1653-65.

Singh, G., Rai, V.I.C., 1981. Prolin accumulattion and drought resistance, *Cicer arientinum* L. *Biol. Plant.* 23, 86-90.

SPSS, 2004. SPSS Inc. SPSS® 13.0 Base User's Guide, Prentice Hall.

Subbarao, G.V., Ito, O., Berry, W.L., Wheeler, R.M. 2003. Sodium - A functional plant nutrient. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22:391-416.

Sun, W., Montagu, D.A., Verbruggen, N., 2002. Small heat proteins and stres tolerance in plants. *Bio-chimica et Biophysica Acta* 1577, 1-9.

Szabolics, I., 1994. Soils and salinization. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, New York, pp. 3–11.

Tester, N., Davenport, R. 2003. Na^{+} tolerance and Na^{+} transport in higher plants. *Annals of Botany* 91, 1- 25.

Treshow, M. 1975. *Environment and Plant Response*. McGraw-Hill Book Comp., USA. pp. 442.

Turan, M., Aydın, A., 2005. Effect of different salt sources on growth, inorganic ions and proline accumulation in Corn (*Zea mays* L.). *Europ. Hort. Sci.* 70 (3): 149-155.

Turhan, O.Y., Kızıloğlu, F.T., 1999. Toprak tuzluluğunun değişik *Rhizobium phaseoli* izolatları ile aşıl原因an fasulye (*Phaseolus vulgaris*) çeşit ve gelişimine etkisi. GAP I. Tarım Kongresi 26-28 Mayıs, Şanlıurfa, s: 937-945.

Whitelaw, M. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv Agron.*, 69:99–151.

Yeo, A., 1998. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *J.Exp. Bot.* 49: 915-929.

Yıldırım, E., Dönmez, F., Turan, M. 2008. Use of bioinoculants in ameliorative effects on radish (*Raphanus sativus* L.) plants under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 31:2059-2074.

Yokoi, S., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., 2002. Salt stress tolerance of plants. *Jircas Working Report*. 25-33.