



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KIRŞEHİR YÖRESİNDEN TOPLANAN
YABANI BAKLAGİL BİTKİLERİNDEN
ENDOFİTİK *Rhizobium* sp. BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

ALİ BAŞYİĞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR

2025



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KIRŞEHİR YÖRESİNDEN TOPLANAN
YABANI BAKLAGİL BİTKİLERİNDEN
ENDOFİTİK *Rhizobium* sp. BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

ALİ BAŞYİĞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ

KIRŞEHİR

2025

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

16/10/2025
Ali BAŞYİĞİT

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	I
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Azot Fiksasyonu	1
1.1.1. Nonsimbiyotik (serbest) azot fiksasyonu.....	3
1.1.2. Simbiyotik azot fiksasyonu.....	3
1.2. Endofitik Bakteriler	5
1.2.1. Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler	6
1.2.2. Kolonizasyon	7
1.3. Yem Bitkileri Tarımı	10
1.4. Yabani Baklagiller.....	11
1.4.1. Nohut (<i>Cicer</i> sp.)	11
1.4.2. Fiğ (<i>Vicia</i> sp.)	12
1.4.3. Yonca (<i>Melilotus</i> sp.).....	13
1.5. <i>Rhizobium</i> sp.	13
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	17
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Bitki örneklerinin toplanması	27
3.1.2. Nodüllerin bitkilerden toplanması ve nodül sterilizasyonu	28
3.1.3. Nodüllerden <i>Rhizobium</i> bakterilerin izolasyonu.....	29
3.2. Metot.....	29
3.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler.....	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1. Nodül Örneklerinin Alınması ve Bakteri İzolasyonu	33
4.2. Morfolojik ve Biyokimyasal Testler	36
4.2.1. Gram boyama, koloni morfolojisi ve YMA besiyerindeki koloni rengi, mukoz oluşturma özelliği	36
4.2.2. Brom timol mavili YMA, kongo kırmızılı YMA ve pepton glikoz agarda üreme	40
4.2.3. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri	46

4.2.4. Litmus milk besiyerinde üreme	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR.....	59
EKLER.....	71
Ek-1 Hazırlanan Kitap Bölümü	71
ÖZGEÇMİŞ.....	73

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında her zaman destek olan, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım tez danışmanım Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ'ye teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmalarım esnasında görüş ve yardımlarını esirgemeyen Yüksek Lisans öğrencisi Yeter ÖZER ve çalışmalarımda destekleriyle her zaman yanımda olan annem Naciye BAŞYİĞİT'e teşekkür ederim.

Ekim, 2025

Ali BAŞYİĞİT

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR YÖRESİNDEN TOPLANAN YABANI BAKLAGİL BİTKİLERİNDEN ENDOFİTİK *Rhizobium* sp. BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Ali BAŞYİĞİT

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ
Yıl: 2025 Sayfa: 73
Jüri: Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ
Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU
Doç. Dr. Sibel ULÇAY

Bu çalışmada Kırşehir ili ve ilçelerinden (Akçakent, Akpınar, Boztepe, Çiçekdağı, Kaman, Mucur) toplanan yabancı baklagil bitkilerinden (nohut (*Cicer arietinum* L.), fiğ (*Vicia cracca* L.), taş yoncası (*Melilotus officinalis* L.)) *Rhizobium* sp. suşları izole edilmiştir. İzolatların tanılanması ve karakterizasyonu için; morfolojik ve fizyolojik (Gram boyama, hareket), biyokimyasal (katalaz testi, oksidaz testi), kültürel özellikleri ile ilgili testler (Brom Timol Mavili YMA (Yeast Mannitol Agar), Kongo Kırmızılı YMA, Pepton Glikoz Agar'da üreme, Litmus milk besiyerinde üreme) yapılmıştır. YMA, Brom Thymol Mavili ve Kongo Kırmızılı YMA besiyerlerinde üreme özellikleri bakımından yapılan değerlendirmede, izolatların 78'inin literatürde belirtilen karakteristik özelliklerle uyumlu, 31'inin ise uyumsuz olduğu belirlenmiştir. Kültürel özellikler açısından uyumlu bulunan 78 izolatın tamamının çubuk şeklinde olduğu ve bunlardan 32'sinin Gram negatif özellik gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular, *Rhizobium* cinsine ait bakterilerin sitolojik özellikleriyle de uyumluluk göstermektedir. Uyumlu olan 32 izolat üzerinde gerçekleştirilen katalaz, oksidaz ve hareketlilik testleri sonucunda tüm izolatların bu üç test bakımından pozitif reaksiyon verdiği belirlenmiştir. Son olarak, litmus milk besiyerinde gerçekleştirilen üreme testinde alkali reaksiyon gösterip serum zonu oluşturan 22 izolat tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Rhizobium* sp., Azot fiksasyonu, Baklagiller, *Cicer* sp., *Vicia* sp., *Melilotus* sp.

ABSTRACT

MASTER OF SCIENCE THESIS

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC *Rhizobium* sp. BACTERIA FROM WILD LEGUME PLANTS COLLECTED IN THE KIRŞEHİR REGION

Ali BAŞYİĞİT

KIRŞEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ
Year: 2025 Pages: 73
Juries: Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ
Asst. Prof. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU
Assoc. Prof. Dr. Sibel ULCA Y

In this study, *Rhizobium* sp. strains were isolated from wild leguminous plants chickpea (*Cicer arietinum* L.), vetch (*Vicia cracca* L.), and yellow sweet clover (*Melilotus officinalis* L.) collected from various districts of Kırşehir Province (Akçakent, Akpınar, Boztepe, Çiçekdağı, Kaman, and Mucur). For the identification and characterization of the isolates, morphological and physiological (Gram staining, motility), biochemical (catalase and oxidase tests), and cultural characteristics (growth on Bromothymol Blue Yeast Mannitol Agar, Congo Red Yeast Mannitol Agar, Peptone Glucose Agar, and Litmus Milk medium) were examined. Based on growth characteristics on YMA, Bromothymol Blue YMA, and Congo Red YMA media, 78 isolates were found to be consistent with the characteristics reported in the literature, whereas 31 isolates showed inconsistencies. All 78 isolates exhibiting favorable cultural characteristics were rod-shaped, and among them, 32 were determined to be Gram-negative. These findings are in accordance with the cytological features typically associated with the genus *Rhizobium*. Catalase, oxidase, and motility tests conducted on the 32 consistent isolates revealed that all of them were positive for these three parameters. Finally, in the growth test performed on Litmus Milk medium, 22 isolates exhibited an alkaline reaction and formed a serum zone.

Keywords: *Rhizobium* sp., Nitrogen fixation, Legumes, Cicer, Clover, Vetch

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Baklagillerde nodülasyon ve azot fiksasyonuna etki eden mikro elementler	2
Tablo 1.2. Baklagil-Rhizobium seçici simbiosis ikilemleri	4
Tablo 1.3. Simbiyotik azot fiksasyonu	5
Tablo 1.4. Değişik ekosistemlerde biyolojik fiksasyonla tutulan azot miktarları	5
Tablo 4.1. İzolatların kodu, rakım ve tarih	33
Tablo 4.2. İzolatların gram boyama, morfoloji, koloni rengi ve mukoz oluşturma özelliği ...	37
Tablo 4.3. Brom timol mavili YMA, kongo kırmızılı YMA ve pepton glikoz agarda üreme	41
Tablo 4.4. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri.....	46
Tablo 4.5. Litmus milk besiyerinde üreme.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Toplanan baklagil bitkileri örnekleri (a-b-c-d-e-f)	27
Şekil 3.2. Toplanan baklagil bitkilerinin kök nodülleri	28
Şekil 3.3. Köklerden izole edilen nodüller (a-b)	28
Şekil 4.1. İzolatların ilçelere göre dağılımı	36
Şekil 4.2. YMA besiyerinde üreme gösteren bakteriler (a-b)	36
Şekil 4.3. Gram boyama yapılmış preparatlar (a-b-c)	37
Şekil 4.4. Gram boyama sonucu mikroskopik görünüm	37
Şekil 4.5. İzolatların gram boyama özelliği	40
Şekil 4.6. Morfoloji, koloni rengi ve mukoz oluşturma özelliği	40
Şekil 4.7. Brom timol mavili YMA besiyerinde üreme	43
Şekil 4.8. Kongo kırmızılı YMA besiyerinde üreme	44
Şekil 4.9. Pepton glikoz agarda üreme	44
Şekil 4.10. Kongo kırmızı YMA'da üreme gösteren koloniler (a-b-c-d)	45
Şekil 4.11. Brom timol mavili YMA'da üreme gösteren koloniler(a-b-c-d-e-f)	45
Şekil 4.12. Pepton glikoz agar besiyerinde üreme gösteren koloniler	46
Şekil 4.13. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri	49
Şekil 4.14. Litmus milk besiyerinde renk değişimi gösteren koloniler (a-b-c-d-e-f)	49
Şekil 4.15. Litmus milk besiyerinde üreme	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°	: Derece
<	: Küçüktür
±	: Yaklaşık olarak
%	: Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
da	: Dekar
g	: Gram
kg	: Kilogram
l	: Litre
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre

1. GİRİŞ

Dünyamızın karşılaştığı en önemli problemlerden birisi hızla artan dünya nüfusudur. Hali hazırda dünya nüfusunun 830 milyonluk bölümünün ise açlık sınırında olduğu bilinmektedir. Son yıllarda küresel ısınma problemiyle birlikte gıda üretiminin olumsuz etkileneceği ve gelecekteki 20 yıl içerisinde tarımsal üretimin en önemli konulardan birisi olacağı düşünülmektedir (Öğütçü ve ark., 2009).

Tarımsal faaliyetlerin yapıldığı toprağın 5 cm altında bulunan yüzey tabakasının içeriğinde; dekar başına 2 tonun üzerinde bakteri, mantar, alg aktinomiset ve protozoa vb. toprak organizmaları yaşamakta olup bunların yaşamasında ise makro düzeyde ihtiyaç duyulan besin maddesi azottur. Bu bağlamda ekosistemde önemli gruplardan olan heterotrof ve ototrof yaşam tarzına sahip olan canlılar ortamda bulunan azotu kullanabilmek amacıyla sürekli bir rekabet halindedir. (Öğütçü ve ark., 2009).

Azot tüm canlılarda bulunan aminoasit, protein, nükleik asit gibi bileşenlerin temelini oluşturduğu için canlı yaşamında çok önemli bir yere sahiptir (Dasgupta ve ark., 2023). Tarımsal ürün elde etmede sudan sonra ikinci en önemli faktördür. Hayatsal faaliyetlerin yanında azotun farklı bir formu olan nitrat, bitkide yanal kök gelişimi, yaprak gelişimi ve çiçeklenme süresi gibi faaliyetlerde önemli bir rolü vardır (Kant, 2018).

1.1. Azot Fiksasyonu

Azot (N), bitkisel büyüme ve gelişim süreçlerinde hayati rol oynayan temel makro besin elementlerinden biridir. Atmosferde yaklaşık %78 oranında moleküler formda bulunmasına rağmen bu formdaki azot, bitkiler tarafından doğrudan absorbe edilemez; bu nedenle biyolojik azot fiksasyonu gereklidir (Huang, 2024). Bazı bitkilerin kök sistemlerinde simbiyotik olarak bulunan Rhizobium türü bakteriler, atmosferik azotu biyolojik olarak indirger ve bitkiler tarafından kullanılabilir formlara dönüştürerek azot döngüsünde kritik bir işlev üstlenir (Yang ve ark., 2022). Azotun toprakta bulunan kısmı ise organik madde, kayalar ve minerallerin yapısında çeşitli formlarda bulunmaktadır. Bahsedilen kaynaklarda bulunan azotun canlılar tarafından kullanılabilmesi; biyolojik azot fiksasyonu, amonifikasyon, immobilizasyon, nitrifikasyon ile nitratın asimilasyon, disimilasyon ve denitrifikasyon vb. azot döngüsüne olan redüksiyon olayları aracılığıyla gerçekleşebilmektedir. Bu dönüşümler; atmosferde gerçekleşen elektriksel boşalım olayları sonucunda azot gazının azot oksitlere dönüşme, Rhizobium-baklagil simbiyozunda rol oynayan bakteriler, toprakta ve çeşitli tropik bitkilerin yapraklarında

serbest şekilde yaşamlarını sürdüren bakteriler ile mavi-yeşil bakteriler, aktinomisetler ya da kimyasal reaksiyonlar sonucunda yüksek sıcaklık ve basınçta H₂ gazı ile NH₃'a indirgenmesi olarak sıralanabilir (Güvercin, 2009).

Azot fiksasyonu, bakterilerde bulunan Nif genleri ile kontrol edilir. Son yıllarda bu genlerin azot fiske edemeyen yüksek bitkilere aşılması için çalışmalar yapılmaktadır (Aasfar ve ark., 2021; Sanchez ve ark., 2023).

Azot fiksasyonunun diğer bir özelliği de aerobik bir çevreye ihtiyaç duyması olup bu olayda anahtar rol oynayan nitrogenaz enzimi oksijen ile inhibe edilir. Baklagil bitkilerin kök nodüllerinde bulunan bakteriler, oksijenin bu etkisinden onu bağlayan bir protein olan leghemoglobin sayesinde korunmaktadırlar. Ayrıca, leghemoglobin, azot fiksasyonu için gerekli ATP'yi sağlamak amacıyla da solunuma oksijen temin etmekte olup bitki genomunun bir ürünüdür (Taiz ve Zeiger, 1991; Kadioğlu, 1998; Liebrez ve ark., 2022). Ancak baklagiller nitrogenaz ve leghemoglobin üretimi için ilave molibden ve demire ihtiyaç göstermektedirler. Azot fiksasyonuna doğrudan ya da dolaylı yoldan etkide bulunan izementler Tablo 1.1'de sunulmuştur (Elkoca, 2001).

Tablo 1.1. Baklagillerde nodülasyon ve azot fiksasyonuna etki eden mikro elementler (Elkoca, 2001)

Mineral	Gerekli Olduğu Yer	Fiksasyona Etkisi
Magnezyum	Klorofil	İndirekt
Demir	Nitrogenaz, leghemoglobin	Direkt
Manganez	Bitki gelişimi	İndirekt
Bor	Meristematik aktivite	Direkt
Çinko	Bitki gelişimi	İndirekt
Bakır	Nodül metabolizması	Direkt
Molibden	Nitrogenaz	Direkt
Kobalt	Leghemoglobin	Direkt

Dünyada mevcut toplam azot miktarı 386×10^{16} kg olarak tahmin edilmektedir. Bu miktarın korunmasında mikroorganizmaların rolü büyüktür (Tamer ve ark., 1994). Dünya üzerinde global olarak biyolojik azot fiksasyonunun miktarının, yılda yaklaşık 17×10^7 ton olduğu bilinmektedir. Bu ise kimyasal azot fiksasyonunun 4 katına eşdeğer bir rakamdır. Biyolojik azot fiksasyonunda simbiyotik (ortak) ve nonsimbiyotik (serbest) yaşayan mikroorganizmalar tarafından N₂, NH₃'a indirgenir (Çoşkan, 2006; Bayrak, 2014; Gupta, 2023).

1.1.1. Nonsimbiyotik (serbest) azot fiksasyonu

Toprak ve su ekosistemlerinde serbest olarak yaşayan nitrojenaz enzimine sahip mikroorganizmalarca atmosferin moleküler azotunun fiksasyonuna, nonsimbiyotik azot fiksasyonu denir. Dünya yüzeyinde yaklaşık 30 ton azot, nonsimbiyotik olarak fikse edilmektedir. Bu şekilde azot fikse eden organizmalar dört grupta toplanmıştır. Bunlar;

1.1.1.1. Heterotrofik bakteriler

Azotobacter, Clostridium, Achromobacter, Azotomonas, Beijerinckia, Pseudomonas, Bacillus cinsleri.

1.1.1.2. Kemooototrofik bakteriler

Methanobacillus amelienskii türü

1.1.1.3. Mavi-yeşil algler

Anabaena, Anaboenopsis, Aulosira, Calothrix, Cylandrospermum, Nostoc, Tolypotrix cinsleri.

1.1.1.4. Fotosentetik bakteriler

Chlorobium, Cbromatiuni Rhodomicrobium, Rhodopseudomonas, Rhodospirillum cinsleri (Kızıloğlu, 1999).

1.1.2. Simbiyotik azot fiksasyonu

Biyolojik azot fiksasyonu, dünya yüzeyinde fikse edilen azotun %70'ini kapsamaktadır. Bunun %50'sini ise simbiyotik azot fiksasyonu oluşturmaktadır. Simbiyotik olarak azot fikse eden bakteriler üç grupta toplanmıştır.

Bunlar:

1. Baklagil bitkilerinin köklerinde yaşayan bakteriler,
2. Baklagil olmayan bitkilerin köklerinde ve üzerinde yaşayan bakteriler,
3. Bazı bitkilerin yapraklarında yaşayan bakterilerdir.

Simbiyotik yaşayan bakterilerle yapılan azot fiksasyonuna simbiyotik azot fiksasyonu denir. Bu yolla azot bağlamaya da simbiyotik yolla azot fiksasyonu adı verilir. Simbiyotik ilişkide mikroorganizma konukçu bitkiye azot sağlamakta, konukçu bitki ise mikroorganizmalara çözünebilir karbonhidrat temin etmektedir. Baklagil olmayan yüksek bitkilerle diazotroflar arasında da ortak yaşam sonucu köklerde nodül oluşumu görülmektedir. Bunlardan azot fiksasyonu yılda hektara *Alnus* sp.. (kızılağaç)'de yaklaşık

300 kg. Myricagale (Mersin ağacı)'da yaklaşık 9 kg olduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca *Pavetta* sp., *Psychoria* sp., *Grumilea* ve *Ardisia* sp. gibi tropikal bitkilerin yaprak yüzeylerinde (phyllosphere) nodül benzeri yapılar bulunmaktadır. Başlıca simbiyotik yaşama giren mikroorganizmalar Rhizobium türleri ve Aktinomiset'lerdir. Aktinomisetlerin azot kazancı özellikle ormanlık alanlarda söz konusudur (Kızıloğlu, 1991; Yılmaz, 1999; Tonguç ve ark., 2009; Sezgin, 2014; Sun, 2022).

Baklagil bitkilerinin köklerinde ortak yaşayan Rhizobium bakterilerinin simbiyotik azot fiksasyonu, araştırmacılar tarafından en fazla incelenen biyolojik azot fiksasyonu olayıdır. Rhizobium bakterilerine konukçu bitki olan baklagillerden yaklaşık 200 tanesi kültür bitkisi olarak kullanılmaktadır. Bu şekilde azot fikse eden 6 farklı Rhizobium türü bilinmektedir (Tablo 1.2.) (Çokkızgın ve ark., 2005; Sağlam ve ark., 2005; Küçük, 2005).

Tablo 1.2. Baklagil-Rhizobium seçici simbiosis ikilemleri (Sağlam ve ark., 2005)

Rhizobium Cinsleri	Seçici Baklagil Bitkileri
<i>R. leguminosorum</i>	Bezelye, Fiğ, Mercimek, Nohut
<i>R. trifoli</i>	Üçgül
<i>R. phaseoli</i>	Fasülye
<i>R. meliloti</i>	Yonca, Korunga
<i>R. japonicum</i>	Soya Fasülyesi, Börülce
<i>R. lupini</i>	Bakla, Gazalboynuzu

Tablo 1.2.'de görüldüğü gibi her Rhizobium türü tüm baklagillerde azot fikse etme yeteneğine sahip değildir. Ortamdaki Rhizobium türü azot kazancı üzerinde etkili olduğu gibi bakterilerin içinde bulunduğu ortam koşulları da organizmaların azot bağlama miktarları üzerinde çok etkilidir.

Gökkuş ve Koç (1993)'un bildirdiğine göre; dünyada baklagil-Rhizobium ortaklığı ile tespit edilen azot miktarı yılda yaklaşık 110 milyon tondur. Rhizobium bakterileri ile baklagil bitkisi bu yol ile genellikle bir hektar toprağa 200-300 kg bitkiye yararlı azot sağlar ve bazen bu miktar çok daha fazla olabilir. Brohi ve ark. (1997)'na göre baklagil bitkileri ile ortaklaşa yaşayan Rhizobium bakterileri ile 600 kg/ha'a varan düzeylerde elementel azot bitkilere yararlı formlara dönüştürülebilmektedir. Yapılan çalışmalar en fazla azot fiksasyonunun yonca ile kurulan simbiyotik ilişki ile sağlandığını göstermektedir (Tablo 1.3.) (Müftüoğlu, 1998, Taşbakan ve ark., 2008).

Tablo 1.3. Simbiyotik azot fiksasyonu (Müftüoğlu, 1998)

Bitki	Fikse Edilen Miktar (kg N /ha/ yıl)
Yonca	125-335
Kırmızı üçgül	85-190
Bezelye	80-150
Soya fasulyesi	65-115
Börülce	65-130
Fiğ	90-155

İyi gelişmiş üçgül ve yonca 100-4000 kgN/ha/yıl fikse edebilmektedir. Baklagillerin fazla olduğu meralarda yılda 50 kg/da'm üstünde azot sağlanmaktadır. Hauck (1971)'un bildirdiğine göre gerek simbiyotik gerekse simbiyotik olmayan yolla bağlanan azot miktarları toprağın kullanım şekline göre yani ekosistemlere göre değişiklik göstermektedir (Tablo 1.4) (Müftüoğlu, 1998).

Tablo 1.4. Değişik ekosistemlerde biyolojik fiksasyonla tutulan azot miktarları (Müftüoğlu, 1998)

Ekosistemin Şekli	Fikse Edilen Miktar (kg N/ha/yıl)
Tarım toprağı	7-28
Çayır-Mer'a (Baklagil yok)	7-114
Çayır-Mer'a (Baklagil var)	73-865
Orman toprağı	58-594
Çeltik arazisi	13-99
Su ortamı	70-250

1.2. Endofitik Bakteriler

Bitkilerle birlikte yaşayan bakteriler, bitki üzerinde ya da içinde yerleştikleri konuma göre sınıflandırılır. Bu sınıflamaya göre bazı bakteriler kökün etrafında (rizosfer) veya doğrudan kök yüzeyinde (rizoplan) bulunur; bunlara asosiyatif (ortakçı=ilişkili) bakteriler denir. Diğer bir grup ise bitkinin iç kısımlarında yaşayan endofitik bakterilerdir. "Endofitik bakteriler" terimi, bitkinin kök, gövde veya tohum gibi iç kısımlarında kolonileşen ve konak bitkiye herhangi bir zarar vermeyen bakterileri ifade eder (Hallmann ve ark., 1997). Bu bakteriler, çimlenme oranının artması, biyokütle, yaprak alanı, klorofil içeriği, azot ve protein miktarı, su iletimi, kök ve sürgün uzunluğu, verim ve kuraklık, sel, tuzluluk gibi abiyotik streslere tolerans gibi birçok yönden bitki gelişimini teşvik edebilirler (Jha ve ark., 2013).

Bitkilerle birlikte yaşayan bakteriler bitki gelişimini doğrudan; biyolojik azot fiksasyonu, fitohormon üretimi, fosfat çözünürlüğü, biyotik ya da abiyotik streslere karşı etilen biyosentezinin inhibisyonu (uyarılmış sistemik tolerans) gibi yollarla veya dolaylı olarak patojenlere karşı direnç geliştirerek teşvik edebilir (Bhattacharya ve Jha, 2012).

Asosiyatif (ilişkili) ve endofitik bakteriler sahip oldukları özelliklere göre “Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR))” ve “Biyolojik Kontrol Bakterileri” olarak sınıflandırılmıştır. Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler; bitkiye azot, fosfor ve demir gibi besin maddelerini sağlayarak, bitki hormonları üreterek ve bitkinin abiyotik stres etmenlerine (kuraklık, tuzluluk vb.) karşı tolerans geliştirmesini sağlayarak fayda sağlayabilir. Biyokontrol bakterileri, patojen mikroorganizmaların bitkiye saldırmasını antagonistik etkileşim veya uyarılmış sistemik direnç yoluyla önleyerek bitkiyi korur (Rothballer ve ark., 2008).

1.2.1. Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler

Asosiyatif bakteriler ile endofitik bakteriler, bitki gelişimini etkilemek için aynı mekanizmaları kullanmaktadır. Ancak, bu yararlı etkileri gösterme verimlilikleri açısından farklılık gösterirler.

Sahip oldukları çeşitli özelliklere göre bu bakteriler şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Biyogübreler
- Rizoremediatörler (rizosferi temizleyiciler)
- Fitostimülatörler
- Stres düzenleyiciler

Bakteriyal gübre, bitkiye besin sağlayan bakterileri ifade eder. Bu bakteriler, atmosferik azotu sabitleyerek bitkinin kullanabileceği azotu sağlayabilir veya çözünmeyen fosfat kaynaklarından serbest fosfatı kullanılabilir hale getirerek bitkiye fayda sağlayabilir. Günümüzde, birçok asosiyatif (ilişkili) ve endofitik bakterinin atmosferik azotu sabitleyerek bağlı oldukları konak bitkilere azot sağladığı bilinmektedir (Hardoim ve ark., 2008).

Son yıllarda, çeşitli konak bitkiler (özellikle tahıllar) için azot ihtiyacını verimli bir şekilde karşılayan endofitik bakteri inokulantlarının kullanımı dikkat çekmiştir. Ayrıca, bazı rizobiyal izolatların da baklagil olmayan bitkilerde endofitik olarak kolonileştiği ve konak bitkiye fayda sağladığı tespit edilmiştir (Rothballer ve ark., 2008). Azot fiksasyonu açısından, endofitik bakteriler rizosferik olanlara kıyasla daha avantajlı görülmektedir çünkü bitki içindeki oksijen basıncının daha düşük olması nedeniyle

sabitlenme işlemini daha verimli bir şekilde gerçekleştirebilir ve sabitlenen azotu doğrudan konak bitkiye aktarabilirler (Hardoim ve ark., 2008).

1.2.2. Kolonizasyon

Bakterilerin rizosferde (kök çevresi) veya bitki yüzeyinde kolonizasyonu karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, çeşitli bakteriyel özellikler ve genler arasındaki etkileşimi içerir. Kolonizasyon çok aşamalı bir süreçtir ve şunları içerir:

1. Kök yüzeyine doğru göç,
2. Yapışma,
3. Kök boyunca dağılım,
4. Bakteri popülasyonunun büyümesi ve hayatta kalması.

Endofitik bakteriler için buna ek olarak kök içine giriş ve hücreler arası veya hücre içi mikrokoloniler oluşturma aşamaları da gereklidir. Bu özellikler, her bakteri türü için farklılık gösterebilir. Asosiyatif veya endofitik kolonizasyon süreçlerinde yer alan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Yeni genomik veriler ve benzer çalışmalar, patojenik bakterilerle bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin kolonizasyon yöntemleri arasında benzerlikler olabileceğini ortaya koymaktadır (Hardoim ve ark., 2008).

1.2.2.1. Kök kolonizasyonu

Kök kolonizasyonu, bitki-mikroorganizma etkileşiminin kurulmasında ilk ve kritik adımdır. Mikroorganizmalar, kök salgılarının (ekzudatlarının) etkisiyle rizosfere yönelir. Bu salgılar; amino asitler, organik asitler, şekerler, vitaminler, pürin/pirimidinler ve diğer metabolik ürünler açısından zengindir. Bitkiler, bu besin maddelerini sağlamanın yanı sıra bazı sinyal bileşenleri de salgılayarak mikroorganizmalarla iletişim kurmaya başlar. Bu sinyaller, bazı bakterilerin kökü kolonize etmesini teşvik ederken, bazılarını ise engeller (Bais ve ark., 2006; Compant ve ark., 2011). Özellikle organik asitlerden oluşan kemotaktik uyarıcıların (chemoattractant) tür ve suşlara göre farklılık gösterebildiği belirlenmiştir. Malat, süksinat ve fruktoz, en güçlü kemotaktik bileşikler arasında sayılmaktadır. Kök salgılarının bileşimi, bitkinin fizyolojik durumu, mevcut mikroorganizmaların varlığı ve rizobakterilerin fenazinler, 2,4-DAPG, zearalenon ve ekzosakkarit gibi metabolitleri tarafından etkilenir. Kök ucundan dökülen hücreler de bitki-mikroorganizma etkileşimini önemli ölçüde etkiler. Kemotaksise ek olarak, kök yüzeyinde gerçekleşen elektrotaksis (elektrojenik iyon taşınımı) de rizobakteriyel

kolonizasyonun başlamasında olası bir mekanizma olarak değerlendirilmektedir. Kılcal kök bölgeleri ve yeni çıkan kök alanları, kolonizasyon için tercih edilen başlıca bölgelerdir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009).

Mikroorganizmaların bitki köklerini kolonize etmesi, bitki tarafından yeni eksudatların salınımını teşvik edebilir. Bu salgılar, özgül metabolitler içerdiğinden, rizosferde bazı mikroorganizmaların seçici olarak çoğalmasına olanak tanıyan bir mikroçevre oluşmasına neden olabilir. Bazı rizosferik bakterilerde, kök salgıları flagellar hareketliliği (kamçılı hareket) indükleyerek bakterilerin bitki yüzeylerini kolonize etmesine neden olur. Kök kolonizasyon sürecinde, asosiyatif bakterilerin hareketinden sonra bitki kök yüzeyine yapışmaları gerçekleşir. Bu yapışma, glikozillenmiş polar flagellum (uçta bulunan kamçılı yapı) aracılığıyla olabilir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009).

Daha önceki çalışmalar, bakteriyel dış zarın ana proteini olan MOMP (Major Outer Membrane Protein)'in konak tanınmasında önemli rol oynadığını göstermiştir. Örneğin *Azospirillum brasilense* türünün MOMP'si proteinleri, tahıllardan elde edilen özütlerle baklagil ve domates özütlerine kıyasla daha güçlü bağlanma göstermiştir. Bu da, MOMP'ların bakterinin köke tutunması, adsorpsiyonu ve hücre kümelenmesi süreçlerinde rol oynadığını düşündürmektedir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009).

1.2.2.2. Endofitik kolonizasyon

Endofitik bakterilerin kolonizasyonundaki temel mekanizma, asosiyatif bakterilerde gözlenen süreçlere benzerlik göstermektedir. Zorunlu endofitik bir bakteri olan *Azoarcus*'un başarılı kolonizasyonu için tip IV piluslar ve twitching hareketliliği (seğirme tarzı hareket) temel yapılar olarak tanımlanmıştır (Böhm ve ark., 2007; Reinhold-Hurek ve Hurek, 2011).

Ayrıca, Bilal ve ark. (1993), hücre yüzey proteinleri ile kalsiyuma (Ca^{2+}) bağlı twitching hareketliliğinin bitki ile özgül etkileşimlerde etkili olabileceğini öne sürmüştür. Bakteri yüzeyinde bulunan lipopolisakkaritlerin (LPS) kimyasal bileşimi de, konak bitkide başarılı bir kolonizasyonun gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini belirleyen faktörlerden biri olabilir (Serrato ve ark., 2010).

Azospirillum brasilense ve *A. caulinodans* türlerinin sırasıyla buğday ve *Brassica napus* bitkilerini kolonize edebilmesi için, kök salgılarında bulunan flavonoid gibi bitki kaynaklı sinyal bileşiklerine ihtiyaç duyulduğu gözlemlenmiştir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009).

Bitkilerle ilişkili doğal kökenli suşların büyük çoğunluğu, rizosferde, bitki yüzeyinde ve endorizosferde biyofilm oluşturmaktadır. *Pseudomonas* türlerinin bitki köklerine tutunmasında rol oynayan LapA (Large Adhesion Protein A) adlı hücre yüzeyi proteini ya da onun homologları, muhtemel adezyon (yapışma) faktörleri olarak değerlendirilmektedir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009).

Endofitik bakterilerin bitki köklerine giriş yolları iyi tanımlanmıştır ve genellikle şu üç ana yol üzerinden gerçekleşir (Harodoim ve ark., 2008):

- a) Özellikle yan köklerin veya adventif (beklenmedik yerden çıkan) köklerin oluştuğu bölgelerdeki yaralanmış dokular üzerinden,
- b) Kök tüyleri aracılığıyla,
- c) Sağlam epidermis hücreleri arasındaki boşluklardan geçerek.

Chi ve ark. (2005), gfp ile işaretlenmiş rizobiyaların tarım bitkilerinde kolonizasyon sürecini detaylandırmıştır. Buna göre, bakteriler önce yan kök çıkış noktalarında rizoplan yüzeyinde kolonizasyon başlatmakta, ardından kök içi (endofitik) kolonizasyona geçmekte ve zamanla gövde tabanı, yaprak kını ve yapraklara doğru yukarıya doğru taşınarak bu bölgelerde yoğun popülasyonlar oluşturmaktadır. *Azospirillum* cinsi bakteriler de, kök üzerindeki yarık ve çatlaklardan geçerek endofitik olarak kolonizasyon gerçekleştirebilmektedir (Preito ve ark., 2011; Reinhold-Hurek ve Hurek, 2011).

Endofitik bakteriler, kök dokularını kolonize edebilir ve bitkinin üst kısımlarına doğru aktif olarak yayılabilirler. Bu süreçte, bakteriler genellikle pektenaz ve selüloz gibi hücre duvarı yıkıcı enzimleri orta düzeyde üretirler. *Azospirillum irakense*, *Azoarcus* sp. ve bazı diğer bakterilerde, bu enzimlerin kolonizasyon amacıyla kullanıldığı ve konak bitkiye giriş için etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Endoglukanaz, endorizosfer kolonizasyonunda kritik rol oynayan belirleyici faktörlerden biridir. Örneğin, endoglukanaz üretmeyen *Azoarcus* suşunun, pirinç bitkisini etkili biçimde kolonize edemediği gözlemlenmiştir. Endoglukanaz enzimi, selüloz liflerini gevşeterek bakterinin bitki dokularına girişini kolaylaştırabilir. *Elaeagnus* ve *Mimosa* bitkilerinde, endofitik bakterilerin, büyük olasılıkla orta lamellayı sindirerek radyal hücre duvarlarından geçtikleri, ardından hücreler arası boşluklardan ilerleyerek dokular arasında yayıldıkları öne sürülmektedir. Ancak bu örneklerin aksine, *Herbaspirillum seropedicae* SmR1 suşunda, bitki hücre duvarı yıkıcı enzimleri kodlayan genler tespit edilmemiştir (Pedrosa ve ark., 2011).

Endofitik kolonizasyon, rizobiyalarınki kadar spesifik olmasa da, başarılı bir kolonizasyon için bitki ile bakteri arasında uyumlu bir etkileşim gerekmektedir (Ryan ve ark., 2008). Bununla birlikte, endofitik kolonizasyon süreci, bitkideki fizyolojik değişikliklere bağlıdır ve bitkinin savunma mekanizmaları tarafından sınırlandırılabilir veya yavaşlatılabilir (Rosenblueth ve Martínez-Romero, 2006). Örneğin, *Gluconacetobacter diazotrophicus*'un kolonizasyonunun, yüksek azotlu gübre uygulanan bitkilerde azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, azot gübresi varlığında bitkinin fizyolojisinin değişmesi ve endofitik bakterilerin kullanabileceği sükröz konsantrasyonunun düşmesiyle açıklanmıştır. Organik toprak düzenleyicilerin (kompost gibi) endofitik bakteri popülasyonu üzerindeki etkisi de gösterilmiştir (Hallman ve ark., 1997).

1.3. Yem Bitkileri Tarımı

Nüfusun hızla arttığı dünyamızda yemlik tane baklagiller bitkisel protein kaynağı olarak büyük öneme sahiptir (Kayan ve ark., 2014). Baklagil kaba yemleri önemli yem kaynaklarından olup dünyada yaygın olarak ruminant ve diğer hayvanların beslenmesinde kullanılmaktadır. Söz konusu yemler başta protein olmak üzere mineral ve vitaminler bakımından diğer kaba yemlerden daha zengindir (Canbolat, 2009). Ülkemizde de gelişmekte olan diğer ülkelerde olduğu gibi hızlı bir nüfus artışı görülmekte olup, artan bu nüfusun beslenebilmesi, ancak tarımsal üretimin artırılması ile olasıdır. Ülkemizde yeterli doğal kaynakların olması ve değişik ekolojik koşulların varlığı, farklı ürün desenlerinin ve çeşit zenginliğinin oluşmasını sağlamaktadır. Dünya nüfusu hızlı bir artış gösterirken sınırlı alanlardan üretilen besin maddesi miktarı, dünyanın bazı bölgelerinde ve bazı yıllarda hızlı bir şekilde artan nüfusu beslemekte yetersiz kalmakta, özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan bazı ülkelerde dengesiz beslenme ve açlık sorunu ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda, insanlığı tehdit eder boyutlara ulaşan yetersiz ve dengesiz beslenme sorunu araştırmacıları, birim alandan elde edilen ürünü, özellikle de protein üretimini artırmaya zorlamaktadır. Başlıca protein kaynaklarımız; hayvansal ve bitkisel ürünleridir. Bitkisel ürünlerden kuru taneleri cins, tür, çeşit, çevre koşulları ve yetiştirme yöntemlerine göre değişiklik göstermekle birlikte ortalama %18-37 protein içeren yemlik tane baklagiller önemli bir yer tutar (Aydınlı, 2014).

Baklagil yem bitkileri hayvan beslenmesinde de büyük bir öneme sahiptir. Yapılan tahminlere göre, hayvanların tükettiği proteinin %38'i, lipidlerin %16'sı, karbonhidratların %5'i baklagil yem bitkilerinden sağlanmaktadır. Görüldüğü gibi

baklagil yem bitkilerinin hayvan beslenmesinde protein kaynağı olarak önemli bir yeri bulunmaktadır (Açıköz, 2021).

Kaliteli kaba yemlerin sağlandığı en önemli iki kaynak, çayır-meralar ve tarla tarımı içerisinde yetiştirilen yem bitkileridir (Erol, 2012).

Baklagil yem bitkileri, hayvan beslenmesindeki yüksek değerlerinin yanı sıra, çeşitli avantajları sayesinde yem bitkileri arasında öne çıkan türlerdendir. Çayır ve meralardan sonra en önemli kaliteli kaba yem kaynağı olmalarına rağmen, ülkemizde yem bitkileri tarımı istenilen seviyeye ulaşamamıştır. Uzun yıllar boyunca bu alanda yeterli gelişme sağlanamamış ve yem bitkilerinin tarla tarımı içindeki payı yaklaşık %6 düzeyinde kalmıştır (Anon, 2002). Bu oran, tarımı gelişmiş ülkelerde çok daha yüksektir. Farklı toprak ve iklim koşullarına sahip olan ülkemiz, dünyada yaygın olarak yetiştirilen birçok yem bitkisi türünün tarla koşullarında başarılı bir şekilde üretilebileceği bir potansiyele sahiptir. Buna rağmen, ülkemizde çok az sayıda tür ve çeşidin tarımı yapılmakta, bu da farklı iklim ve toprak yapısına sahip bölgelerde yem bitkileri üretimini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, yem bitkileri tarımına yeni tür ve çeşitlerin eklenmesi gerekmektedir. Tarımsal yapımız göz önünde bulundurulduğunda, yem bitkisi olarak değerlendirilecek türlerin farklı bölgelere uyum sağlayabilmesi, ekim nöbetine girebilmesi ve ara ya da ikinci ürün olarak yetiştirilebilmesi büyük önem taşımaktadır. Çünkü tarım işletmelerimizin çoğu küçük ve parçalı arazilerden oluştuğu için, çok yıllık yem bitkilerine yeterli alan ayrılması her zaman mümkün olamamaktadır. Yem bitkileri tarımı sadece kaba yem üretimiyle sınırlı kalmayıp, aynı zamanda tarımsal üretim, ekonomi ve kırsal yaşam açısından da pek çok fayda sağlamaktadır. Bu nedenle, yeni tür ve çeşitler belirlenirken bu yönler de dikkate alınmalı ve üreticilere en fazla katkıyı sağlayacak seçenekler tercih edilmelidir. Türkiye, zengin bitki örtüsü ve genetik kaynaklarıyla bu alanda yapılacak araştırmalar için önemli fırsatlar sunmaktadır (Avcıoğlu ve ark., 2000).

1.4. Yabani Baklagiller

1.4.1. Nohut (*Cicer sp.*)

Nohut bitkisi (*Cicer arietinum* L.), binlerce yıldır Uzak Doğu, Yakın Doğu, Akdeniz, Afrika ile Güney ve Orta Amerika'da yetiştirilen, hem insan hem de hayvan beslenmesinde önemli yer tutan bir yemeklik tane baklagildir. Türkiye, nohut ekim ve üretim alanları bakımından dünyada önde gelen ülkeler arasında yer almakta ve Hindistan'ın ardından ikinci sırada bulunmaktadır. Nohut, ülkemizde gerek ekim alanı

gerekse üretim miktarı açısından en önemli iki baklagil türünden biri olup, ekim alanı bakımından buğday, arpa ve pamuktan sonra dördüncü sırada gelmektedir. Nohut, kuru tohumun %17-22'si arasında değişebilen protein içeriği ile öne çıkıyor. Özellikle, nohut proteininin kalitesi diğer baklagillere kıyasla daha üstündür. Ayrıca, nohut tohumları toplam 18 farklı amino asit içererek besinsek eksikliğini gösterir. Nohut, köklerinde ortak yaşayan *Rhizobium* türlerinin havanın serbest azotunu toprağa bağlaması sonucu, kendisinden sonra gelen bitkiye azotça zengin bir toprak bırakmakta olup simbiyotik yolla toprağa bağlanan azot miktarı nohutta bir yılda 8 kg/da olarak bilinmektedir (Demir ve ark., 2005). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda nohutların kök nodüllerinden *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium mediterraneum*, *Mesorhizobium muleiense* ve *Mesorhizobium wenxiniae* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Ayrıca araştırmalar, nohutların simbiyotik ortakları olarak *M. amorphae*, *M. loti*, *M. tianshanense*, *M. oportunistum*, *M. abyssinicae* ve *M. shonense* gibi çeşitli *Mesorhizobium* türlerini de ortaya çıkarmıştır. Bu keşif, özellikle nohut yetiştiriciliği ile ilgili olarak, bu rizobiyaların tarımsal ekosistemde yaygın varlığını ve önemini vurgulamaktadır (Zhang ve ark., 2022).

1.4.2. Fiğ (*Vicia sp.*)

Fiğ bitkisi (*Vicia sativa*), genellikle mera yönetimi ve ürün rotasyonu sistemlerinde kullanılan çok yönlü bir baklagil türüdür. Tohumları, besin açısından değerli olup çoğunlukla geniş getiren hayvanların beslenmesinde tercih edilir. Fiğ, mera alanlarında ara ürün olarak ekilebildiği gibi, ürün rotasyonu uygulamalarında da önemli bir rol oynar. Bu bitki, ağırlıklı olarak Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Okyanusya'da yetiştirilmekte olup, dünya üretiminin %54'ü Avrupa'dan sağlanmaktadır (FAO, 1994-2017). Fiğ tohumları, %32'ye kadar protein içeriğiyle besleyici bir kaynak olup, düşük seviyede lipit barındırması sayesinde tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra, iklim değişikliği etkileri arttıkça kurak bölgelerde tarım yapan çiftçiler için değerli bir kuraklık toleransı sunmaktadır (Nguyen, 2022).

Fiğ bitkisi havanın serbest azotunu tespit eden *Rhizobium* bakterileri ile simbiyotik ilişkide olup bu birliktelikte *Rhizobium* bakterileri havada bulunan serbest formdaki nitrojeni alarak hızlı bir metabolik yolla amonyum ve protein bileşiklerine dönüştürmektedir. Bu dönüşüm sonunda bitki ihtiyacı olan azotu *Rhizobium* bakterileri ile karşılamakta baklagil fideleri ise köklerinde nodül oluşumu gerçekleşene kadar ihtiyaçları olan azotu topraktan alırlar. Toprakta yeterli azotun bulunmadığı durumlarda ise genç fideler azot eksikliğinden dolayı zarar görmekte ve gelişimleri de

yavaşlamaktadır. Ayrıca toprakta yeterli yoğunlukta ve etkin olan *Rhizobium* türleri bulunmaz ise tohumların kendilerine uygun türler ile aşılınması gerekmektedir (Albayrak ve Sevimay, 2005).

1.4.3. Yonca (*Melilotus* sp.)

Yonca dünyaya yayılmış 255'ten fazla türüyle Fabaceae familyasının en önemli cinslerinden biridir. Bu bitkiler özellikle Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa ve Afrika'nın ılıman ve subtropikal bölgelerinde sıklıkla görülür. Bununla birlikte, bazı *Trifolium* sp. türleri kutup altı bölgelerinde de bulunur (Koziel ve ark., 2022). Yonca, diğer baklagil bitkileri gibi, havanın serberst azotunu fikse eden rizobia ile simbiyotik ilişki kurar. Yoncalar genellikle *R. leguminosarum* ile etkili simbiyoz oluşturur (Youseif, 2021). Adaptasyon yeteneğinin yüksek olması ve uzun ömürlülüğü, vejetasyon döneminde birçok defa biçilebilmesi, verim ve besin değerinin yüksekliği, ekim nöbetinde önemli etkinliği ve kimi çeşitlerinin otlatılmaya dayanıklılığı, yoncayı diğer yem bitkilerinden üstün kılan özelliklerdir. Bu üstün özelliklerinden dolayı yonca bitkisi ülkemizde, tarımı en fazla yapılan yem bitkilerinin başında gelmektedir. Yonca üretim alanları desteklemelerden önceki 1998 ve 1999 yıllarında 230.000 ve 245.606 hektar iken, desteklemenin başlaması ile bu alanlar 2000, 2001, 2002, 2003, 2004 ve 2005 yıllarında sırası ile 250.800, 249.000, 260.000, 290.000, 320.000, 375.000 hektar olmuştur. Ülkemizdeki yonca ekim alanımız 2006 yılına gelindiğinde ise çok önemli artış göstererek 444.030 hektara ulaşmıştır. Yonca ekim alanımız 2006 yılı verilerine göre tüm yem bitkileri ekim alanımızın %36.6'sını teşkil etmekte, kuru ot üretimimizin ise %19.3'ünü oluşturmaktadır. Gerek yem bitkileri desteklemelerinin etkisi gerekse artan melez ve kültür ırkı hayvanlarımızın yem ihtiyaçlarının karşılanması amacı ile arttırılan yonca ekim alanımız teşviklerin başlamadığı yıl olan 1999'dan 2006'ya 80.8 oranında artış göstermiştir (Yolcu ve Tan, 2008).

1.5. *Rhizobium* sp.

Rizobia terimi, baklagillerin kökleriyle etkileşime girebilen ve gaz halindeki di-azotun amonyuma (BNF) dönüştürebilen ve böylece bitki tarafından kullanılabilir hala dönüştüren ve baklagil köklerinde nodül adı verilen yapıların oluşumuna neden olan bakteri türlerini ifade eder. Rizobiyal türlerin çoğu, *Rhizobiaceae* (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Allorhizobium*, *Pararhizobium*, *Neorhizobium* ve *Shinella*), *Phyllobacteriaceae* (*Mesorhizobium*, *Aminobacter*, *Phyllobacterium*), *Brucellaceae*

(*Ochrobactrum*), *Methylobacteriaceae* (*Methylobacterium*, *Microvirga*), *Bradyrhizobiaceae* (*Bradyrhizobium*), *Xanthobacteraceae* (*Azorhizobium*) ve *Hyphomicrobiaceae* (*Devosia*) dâhil olmak üzere alfa-proteobakteri sınıfına aittir. Beta-proteobakteri sınıfındaki *Burkholderiaceae* familyasının (*Paraburkholderia*, *Cupriavidus*) bazı türleri de baklagiller üzerinde aktif bir nodülasyon sürecine neden olabilir. Bitki azot kaynağından yararlanırken, bakteriler bitki tarafından sağlanan karbon bileşiklerini alır. Bu, belirli rizobia türlerinin belirli baklagiller üzerinde nodül oluşumunu indüklediği belirli bir süreçtir. Nodülasyon süreci öncelikle bitki tarafından kontrol edilir (Basile, 2021).

Topraktaki *Rhizobium* bakterilerinin bitkilere doğru hareketi kemotaksis ile başlar, bitki bakteri buluşmasını ise kimyasal maddeler sağlar. Bitki kökleri dekarboksilik asit, aminoasit ve flavanoidler gibi kimyasal cezbedici maddeler salgırlar. Bunlar bakteriyi cezbederek bitki köklerine doğru yönlendirir ve bakteri bitkinin sekonder köklerine tutunur. Bu olayda ilk olarak bakterinin bitki kök yüzeyine yapışması gerekmektedir. Bakterinin bitkiyi tanınması bakteri hücre duvarı polisakkaritleri ile bitki hücre duvarının lektin molekülleri aracılığı ile olur. Lektin molekülü hem protein hemde karbohidrat içermektedir. Bakteri hücre duvarındaki polisakkaritlerin lektin molekülleriyle interaksyonu gerçekleştiğinde kök tüylerinin hücre çeperi içeri doğru çökmeye başlar, bakteri içeren tüp hücreye doğru büyür ve infeksiyon borusu olarak adlandırılır. İnfeksiyona uğrayan hücre zarı şişer. Poligalakturonaz ya bitki ya da bakteri tarafından salınır ve sekonder köklerde hücre duvarını yumuşatır. Bu ise bakterinin tüp oluşturarak ilerlemesini sağlarken, bakteri girişi endositozla gerçekleşir. Bu sırada bakteriler bakteroid formunda gelişirler. İnfeksiyon borusu komşu hücrelerin hücre çeperine ulaştığı zaman çeper çöker ve sonuç olarak kökün korteksine bakterileri taşır, bunu ise bakterilerin çoğalmasız izler. Daha sonra bitki hücreleri hızla çoğalarak nodül dokularını oluşturur ve azot fikse eden bakterilerle dolu nodüller oluşur (Schelegel, 1986; Kadioğlu, 1998).

Nodül oluşumuna nod faktörleri sebep olur. Farklı *Rhizobium* türlerinin nod faktörleri aynı temel yapıya sahiptirler. Çoğunun 4-5 ünitesinin omurgasını bir yağ asidi olan N-asetil glukoz amin1-4 oluşturur (Carlson ve ark.1994). Çoğu nod faktörü arasındaki farklılık indirgen şeker ucundaki spesifik yapılanma ile ilgilidir. Nod faktörlerinin aktivitesi yapıları tarafından kontrol edildiğinden onlar bitkinin reseptörlerince tanınır ve nodül oluşumunu başlatır. Biyokimyasal çalışmalar nod faktörlerinden birkaçının protein olabileceğini göstermiştir. İnokulasyonun 1-2. günü

içinde sekonder köklerin kıvrılması sonucunda bukle benzeri yapı oluşmasına *Rhizobium*'ların salgıladıkları nod faktörleri sebep olur ve bakteriler lokal şekilde bitki hücre duvarlarını delerler. Tüp şeklindeki sekonder köklerin hücre duvarları delindiğinden bakteriler içeriye girerler (Turgeon ve Bauer, 1985). Baklagil bitkilerinde değişik şekillerde nodüller bulunur (ince, sivri, küresel) ve nodüllerin şekli ise bitki tarafından belirlenir (Maskall ve ark., 1977).

Rhizobium bakterileri aerobik, gram negatif, hareketli, peritrik veya subpolar kamçılı bakterilerdir. Katı kültürlerde ayrı ayrı, yuvarlak, düz yüzü agarın biraz derininde ise lens şeklinde koloniler oluştururlar. Kolonileri beyaz-opak, yarı saydam veya mattır. Donuk koloniler hafif yapışkan ve sert, şeffaf koloniler ise çok yapışkan ve yumuşaktır. Koloniler yaşlandıkça, koyu merkezli, kaburgamsı desenler oluştururlar. Nadiren pembe kırmızı ve sarı renkli olabilirler. Genellikle hızlı büyüyenler 3-5 günde 4-5 mm çaplı, yavaş üreyenler ise 5-7 günde 1 mm çaplı koloniler oluştururlar. Optimum üreme sıcaklıkları 26-30 °C'dir (Yoshioka ve Manuyama, 1990; Beck ve ark., 1993; Holt ve ark., 1994; Avşar, 2017).

Rhizobium bakterileri Kongo kırmızılı YMA ortamına ekilerek karanlıkta inkübe edilirse, boyayı absorblamaz ve beyaz-opak ve bazen pembemsi koloniler oluştururlar. Aynı işlemle inoküle edilmiş petriyer ışıktaki inkübe edilirse boyayı absorblayarak kırmızı renkli koloniler oluştururlar. Ayrıca, *Rhizobium* bakterileri taze hazırlanmış Brom-Timol Mavili YMA vasıtanın yeşil rengini ya maviye (yavaş üreyerek alkali reaksiyon oluşturanlar) dönüştürürler. Pepton Glukoz Agar ortamında çok yavaş ürerler (Uçar ve Öner 1988; Kızıloğlu, 1992; Beck ve ark., 1993).

Her *Rhizobium* türü, genellikle bir grup baklagil bitkisinde nodül oluşturmaktadır. Bu baklagil grubuna giren bitkiler aynı veya farklı cinslere mensup olabilirler. Herhangi bir grup içerisindeki bir bitkiden izole edilen nodül bakterisinin, o grup içerisindeki diğer baklagil bitkilerine aşılacağı zaman nodül oluşturabildiği kabul edilir. Fakat bazı suşlar ayrıcalık gösterir. Şöyle ki; bu bakteriler aynı grup içerisindeki bazı bitkilerde nodül meydana getirdikleri halde, diğerlerinde nodül oluşturamazlar (Ülgen, 1975).

Bu çalışmanın amacı, Kırşehir ili ve ilçelerinde (Akçakent, Akpınar, Boztepe, Çiçekdağı, Kaman, Mucur) doğal olarak yetişen yabancı baklagil türlerinin (*Cicer* sp., *Vicia* sp., *Melilotus* sp.) kök nodüllerinden *Rhizobium* türü bakterilerin izole edilmesi, bu izolatların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve kültürel özellikler açısından tanımlanması ve karakterize edilmesidir. Bu kapsamda, izolatların Gram boyama, katalaz ve oksidaz aktiviteleri, hareketlilikleri ile çeşitli besiyerlerinde gösterdikleri gelişim

özellikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, özellikle kültürel ve fizyolojik olarak olumlu sonuç veren Rhizobium suşlarının ilerleyen süreçte simbiyotik etkinliklerinin ve azot bağlama kapasitelerinin test edilerek tarımsal uygulamalarda mikrobiyal gübre olarak kullanılabilirliğinin ortaya konulması hedeflenmektedir. Böylece, sürdürülebilir tarım ve biyogübre üretimi açısından bölgesel mikrobiyal kaynakların değerlendirilmesine katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tez çalışması ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar geçmişten günümüze kadar literatür taraması yapılmış olup elde edilen bulgularla araştırılan konu etrafında yeniden değerlendirilmesi yapılmıştır.

Tamer ve ark. (1986), ekosistemlerde azot döngüsünde mikroorganizmaların rolünü incelenmişlerdir. Çalışmada azot fiksasyonu, nitrifikasyon, denitrifikasyon ve amonifikasyon gibi süreçlere katılan bakteriler ve algler tanıtılmış; bu mikroorganizmaların azot döngüsündeki işlevleri açıklanmıştır. Ayrıca, çevresel faktörlerin (pH, sıcaklık, oksijen gibi) bu döngü üzerindeki etkileri ve insan faaliyetlerinin doğal azot döngüsünü nasıl bozduğu da tartışılmıştır.

Kızıloğlu (1991), toprak organizmalarının azot formları arasındaki dönüşümlerdeki rolleri ve çevre üzerindeki etkileri incelenmiştir. Azotun biyolojik döngüsündeki fiksasyon, amonifikasyon, nitrifikasyon ve denitrifikasyon süreçleri anlatılmış, bu süreçlerde mikroorganizmaların işlevleri ve oluşan azot bileşiklerinin çevre kirliliğine neden olabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca azot kaybını azaltmaya yönelik çeşitli tarımsal önlemleri önermiştir.

Müftüoğlu (1998), toprakta azot dengesinin unsurları ve azot kazanım-kayıp yolları incelenmiştir. Toprağın azot gelirinin büyük ölçüde atmosfer kaynaklı olduğu, ancak yılsonunda genellikle açık verdiği belirtilmiştir. Organik ve inorganik gübreler, yağışlar ve biyolojik azot fiksasyonu toprakta azot kazancını artıran yollar olarak açıklanmıştır; erozyon, hasat, yıkanma ve denitrifikasyon gibi süreçlerin ise azot kaybına neden olduğunu vurgulamıştır. Çalışmada özellikle biyolojik azot fiksasyonunun azot dengesinin korunmasında en etkili doğal yöntem olduğu ifade etmiştir.

Öğütücü (2000), Erzurum yöresinde doğal olarak yetişen yabani baklagil bitkilerinin kök nodüllerinden izole edilen Rhizobium bakterilerinin, kültür baklagil bitkileriyle olan simbiyotik ilişkilerini incelemiştir. İzole edilen suşların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri belirlemiş, farklı baklagil türleriyle çapraz inokülasyon deneyleri yapmıştır. Ayrıca bu suşların azot fiksasyonu kapasiteleri ve kültür bitkilerinde nodül oluşturma yetenekleri değerlendirilmiştir. Araştırma, ekolojik olarak zor koşullara dayanıklı Rhizobium suşlarının tarımda biyolojik gübre olarak kullanılabilirliğini ortaya koymayı amaçlamıştır. Sonuç olarak, bazı yerel suşların yüksek azot bağlama potansiyeline sahip olduğu ve kültür bitkileriyle etkin simbiyoz kurabildikleri gösterilmiştir.

Frioni ve ark. (2001), Baklagil bitkilerinin büyümelerini artıran mikroorganizmalar olan rizobia ve mikorizal mantarlar ile simbiyotik olarak ilişkilendirmişlerdir. Bu çalışmanın amacının, sekiz yerli baklagil ağacı türünden 61 rizobiyal izolatu karakterize etmek olduğunu belirtmişlerdir (*Acacia caven*, *Inga urugüensis*, *Lonchocarpus nitidus*, *Prosopis nigra*, *Sesbania virgata*, *Peltophorum dubium*, *Enterolobium contortisiliquum* ve *Erythrina crista-galli*).

Elkoca (2001), baklagil bitkilerinde simbiyotik azot fiksasyonunu etkileyen çevresel ve biyolojik faktörler incelenmiştir. Sıcaklık, toprak rutubeti, tuzluluk, toprak pH'ı, suş ve konukçu bitki özellikleri gibi faktörlerin, *Rhizobium* bakterileri ile baklagiller arasındaki simbiyotik ilişkinin başarısını ve bağlanan azot miktarını önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir. Bu faktörlerin iyi yönetilmesiyle biyolojik azot fiksasyonunun artırılabilirliği ve tarımda azotlu gübre kullanımının azaltılabileceği vurgulanmıştır.

Castro ve ark. (2003), *Rhizobium* suşlarının, yüksek konsantrasyonlarda ağır metal içeren kirli bir alandan toprağa ayrı ayrı uygulanması (esas olarak Zn ve Hg) ve bu *Rhizobium* suşlarının ekolojisindeki plazmidlerin rolünü incelemişlerdir. Altı *Rhizobium leguminosarum* var *trifolii* suşlarının farklı kaynaklardan ve farklı plazmid içerenlerini seçmişlerdir. Kontamine olmuş ve olmamış topraklarda yetişen yonca bitkilerinin nodüllerinden (*Trifolium subterraneum*) bakteri izolasyonu yapıldıktan sonra her suştan yaklaşık 10^7 hücre 21g toprağı ile aşılama, sağkalım ve plazmid stabilitesi 12 ila 18 aylık bir süre boyunca değerlendirmişlerdir. *Rhizobium* suşlarının hayatta kalışındaki farklılıklar, inokülasyondan sadece 12 ay sonra tespit etmişler plazmit profilleri değişen ve değişmeyen suşlar elde etmişlerdir.

Rai ve ark. (2004), Baklagil türlerinden *Prosopis juliflora* L. nin büyümekte olan uçucu külün büyütmenin uygulanabilirliğini değerlendirmek için çeşitli organik değişiklikleri mavi-yeşil algal biyogübre ve *Rhizobium* aşılama kombinasyonu ile yeniden bir deneme çalışması yapmışlardır. Bitki biyokütlesinde yetişen iyileştirilmiş bitkilerde fotosentetik pigmentler, protein içeriğı ve in vivo nitrat redüktaz aktivitesi bulmuşlardır. Bahçe toprağında yetişen bitkilere kıyasla uçucu kül ile mavi-yeşil alglerle değiştirilen uçucu kül kıyaslandığında mavi-yeşil alglerdekinin daha fazla büyüme olduğu gözlemlenmiştir. Çiftlik gübresi veya pres çamurundan ziyade mavi-yeşil alglerden elde edilen atıklar şeker işleme endüstrisinde kullanıldığı tespit etmişlerdir.

Wolde-meskel ve ark. (2004), Güney Etiyopya'da bulunan yerli alandaki ve egzotik odunsu baklagillerdeki kök nodüllerinden 87 *Rhizobial* suşu izole etmişlerdir ve karakterizasyonları için BİYOLOG metodu ve AFLP parmak izi tekniğini

kullanmışlardır. Metabolik ve genomik parmak izi küme analizinde 18,25 grup tespit edilmiş ve Etiyopya'daki topraklarda Rhizobial popülasyonlarında önemli çeşitlilik olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmadaki referans türlerle ilgili olmayan ve iki metottan farklı suşlar belirlenmiş *Agrobacterium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* veya *Sinorhizobium* cinsleri ile bağlantılı 25 suş bulmuşlardır (%29). Bu çalışmada sonuç olarak simbiyontlar arasındaki uzun süreli birleşme kademeli farklılaşmaya izin verdiği yerli topraklardaki Rhizobial popülasyonlarında çeşitlilik olduğunu göstermektedirler.

Liu ve ark. (2005), Çin'in orta ve doğu bölgelerinde yetiştirilen odunsu baklagiller *Wisteria sinensis*, *Cercis racemosa* ve *Amorpha fruticosa*'nın kök nodüllerinden elde edilen 59 bakteriyel izolatin, fenotipik analiz, PCR bazlı 16S ve 23S rRNA geni RFLP, Box PCR ve 16S rRNA gen dizilimini ile karakterize etmişlerdir. 16S ve 23S rRNA genlerine yönelik PCR-RFLP analizleri sonucunda, *Agrobacterium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* ve *Rhizobium* cinslerine ait farklı gruplar sayısal taksonomi yöntemiyle tanımlamışlardır.

Küçük (2005), bitki gelişimini teşvik eden ve biyokontrol amacıyla kullanılan bazı mikroorganizmalar incelemiştir. *Rhizobium* sp., *Azospirillum* sp., *Glomus* sp., *Pseudomonas* sp. ve *Trichoderma* sp. gibi mikroorganizmaların hem bitki büyümesini artırdığı hem de bitki hastalıklarına karşı koruma sağladığı belirtmiştir. Bu mikroorganizmaların uygun kullanımının kimyasal gübre kullanımını azaltabileceği ve tarımda çevre dostu bir yaklaşım sağlayabileceğini vurgulamıştır.

Romdhane ve ark. (2009), nohut bitkisinde su eksikliğinin nodülasyon, biyokütle üretimi ve nodül doluluğu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. İki nohut çeşidi olan *Amdoun I* ve *Chetoui* olmak üzere üç farklı toprakta iki sulama rejimi dikkate alarak haftada üç kez sulanan ve haftada bir kez sulanan iki deneme kurmuşlardır. Sonuçlar su eksikliğinin nodülü önemli ölçüde azalttığını ve kök nodüllerinden izole ettikleri rizobiaların karakterizasyonları sonucu su eksikliğinin nodüllerdeki rizobia çeşitliliğini etkilediğini göstermişlerdir.

Zhao ve ark. (2010), Çin'deki Loess Platosu'nun farklı bölgelerinde yetişen yabani *Sophora alopecuroides* bitkisinin kök nodüllerinden 75 simbiyotik bakteri suşu izole edip karakterize etmişlerdir. Birleşik RFLP modellerine göre bu rhizobiumlar arasında 35 genotiplik ana grup tanımlamışlar; 16S rRNA ve recA gen analizlerine dayanarak bu gruplar küçük taksonomik gruplara ayırmışlardır. Bu gruplar arasında *Mesorhizobium alhagi*, *M. gobiense*, *Agrobacterium tumefaciens*, *M. amorphae*,

Phyllobacterium trifolii, *Rhizobium giardinii*, *Sinorhizobium fredii* ve *S. meliloti* gibi türler yer almıştır.

Meyer ve ark. (2011), Belçika'daki yerli baklagil çeşitlerinden izole ettikleri rizobia çeşitlerini incelemişler ve 43 bitki türünden toplam 3810 bakteri suşu analiz etmişlerdir. Bradyrhizobium, Ensifer (Sinorhizobium), Mesorhizobium ve Rhizobium cinslerine ait izolatlardan çoğunun Rhizobium'a ait (%62) olduğunu ve özellikle *Rhizobium leguminosarum* olduğunu belirtmişlerdir. Diğerlerinin ise Ensifer (%19), Bradyrhizobium (%14), Mesorhizobium (%5) cinslerine ait olduğunu bildirmişlerdir.

Aserse ve ark. (2012), Etiyopya'da 30 bölgede yetişen yaygın fasulye bitkilerinin nodüllerinden izole edilen 32 rizobial suşunun çeşitliliği ve filolojisi AFLP parmak izi ve MLSA kullanılarak incelemişlerdir. RecA, glnII, rpoB ve parsiyel 16S rRNA genlerinin birleştirilmiş sekanslarından yapılan ağaçta, suşları yedi monofiletik gruba dağıtmışlardır. B, D, E, G1 ve G2 gruplarındaki suşlar sırasıyla *Rhizobium phaseoli*, *R. etli*, *R. giardinii*, *Agrobacterium tumefaciens* kompleksi ve *A. radiobacter* olarak sınıflandırılabilirken, C grubundaki suşların yeni bir türü ortaya koyduğunu belirtmişlerdir.

Cauwenberghe ve ark. (2014), *Vicia cracca*'da 350 tane *Rhizobium leguminosarum* varyasyonunun 3 bölgeyi kaplayan hiyerarşik örneklemelerini popülasyon yapısı ve genetik çeşitliliğini analiz etmişlerdir. Çalışmada Belçika ve Fransa'daki *Vicia cracca* popülasyonlarından izole edilen Rhizobium suşlarının genotiplerini RAPD yöntemiyle belirlemişlerdir. Araştırmacılar iki kromozomal gen (özellikle NodC) ve plazmitle taşınan bir geni sıralayarak, bu endemik bölgelerde 26 farklı NodC tipi ve 67 farklı kromozomal tip tanımlamışlardır. Coğrafi olarak birbirine yakın olan *Vicia cracca* popülasyonları arasında belirgin genetik farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir. Konak bitki popülasyonları arasında plazmit alışverişinin yoğun olmasına rağmen, kromozomlar ve Nod tiplerinin benzer şekilde yapılandığı belirtmişlerdir. Ayrıca, Belçika ve Fransa bölgelerinde baskın olan iki Rhizobium soyunun varlığını tespit etmişlerdir.

Servín-Garcidueñas ve ark. (2014), Phaseolus cinsi fasulye bitkilerinin kök nodüllerinde bulunan Rhizobium simbiyontlarının analizi ve karakterizasyonu sonucunda hangi çeşitinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmaları sonucunda Phaseolus cinslerini temsil eden türlerin çoğunda Bradyrhizobium bulunduğunu bildirmişlerdir.

Shamseldin ve ark. (2014), Berseem yonca (EWBC) Mısır'daki en önemli yemlik baklagil bitkilerinden biridir. Kışın hayvan beslenmesinde kullanılan ve kış tarımsal rotasyon sistemlerinde yaklaşık 2,5 milyon feddans (Feddan = 4200 m²) kaplar. Bu

baklagil konağından konakçılarını Mısır'daki farklı coğrafi bölgelerden ayıran 48 rizobial türü izole etmişlerdir. 16S rDNA'nın (1.5 kb) ve bütün ribozomal DNA'sının (5 kb) RFLP analizleri, 16S rDNA dizilimi ve nodC, nifH ve simbiyozla ilişkili genler ve genlerinin dizilimini bu izolatları tanımlamak için kullanmışlardır. Üç enzimli iki genotipli 15 temsili suşda 16S rDNA (1.5 kb) nın RFLP analizini yapmışlardır. En büyük genotip, EWBC'yi yeniden nodüle etmeyen 902 suşu dışında diğerlerinin *Rhizobium etli* CFN42T'ye (%93,33) olduğunu bulmuşlardır.

Riah ve ark. (2014), Kuzey Afrika'da, Cezayir'in doğusunda yarı nemli ve yarı kurak iki eko-iklimsel bölgede yetiştirilen mercimek (*Lens culinaris*) ile yem ve proteaginöz bezelye (*Pisum sativum*) bitkilerinin kök nodüllerinden toplam 237 rhizobium izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatların genetik ve simbiyotik çeşitliliğini inceleyerek tamamının *Rhizobium leguminosarum* türüne ait olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada, eko-iklimsel bölgeler arasında genetik farklılık gözlenmiş, ancak konukçu bitki türünün genetik çeşitlilik üzerinde önemli bir etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır.

Youseif ve ark. (2014), tarafından Mısır'da yetiştirilen faba fasulyesinin nodüllerinden izole edilen 42 *Rhizobium* suşunun taksonomik çeşitliliği, 16S rRNA sekansı, üç odak-yerleşme lokusunun çoklu odak sekans analizi (MLSA) ve bir nodülasyon geninin (nodA) kullanılmasıyla incelemişlerdir.

Avşar (2017), Kırşehir il merkezi ve ilçelerindeki yabani baklagil bitkilerinden daha önce izole edilmiş 56 adet *Rhizobium* sp. izolatu kullanılmıştır. Çalışmada, bu izolatların siderofor üretim kapasiteleri ile melas içeren ortamda poli-β-hidroksibütirat (PHB) üretim verimleri araştırmıştır. Morfolojik ve biyokimyasal analizlerin ardından 43 izolatu PHB üretebildiği belirlenmiş; bunlardan 5'i seçilerek farklı melas konsantrasyonlarında PHB üretim düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle incelenmiştir. Ayrıca CAS Agar kullanılarak yapılan testlerde 56 izolatu 50'sinin siderofor üretebildiği tespit edilmiştir. Sonuçlar, bazı *Rhizobium* izolatlarının yüksek PHB üretim potansiyeline sahip olduğunu ve bu nedenle biyoplastik üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir.

Youseif (2021), Mısır'ın farklı bölgelerinde yetiştirilen Berseem yoncası (*Trifolium alexandrinum*) bitkisinin kök nodüllerinden 80 farklı *Rhizobium* suşu (bakteri izolatu) izole etmiştir. Bu suşlar, RFLP-16S rRNA ribotipleme yöntemiyle gruplandırılmış ve temsilci izolatlar; 16S rRNA, rpoB, glnA, pgi ve nodC genlerinin filogenetik analizleriyle karakterize etmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, suşların çoğunun *Rhizobium aegyptiacum* ve *Rhizobium aethiopicum* türleriyle yakın akraba olduğu

belirlemiştir. Ayrıca, bu izolatların büyük bir kısmı, simbiyotik olarak symbiovar *trifolii* ile ilişkili nodC gen alellerini paylaşmaktadır. Bazı suşların ise ticari inokulantlara kıyasla daha yüksek nodülasyon ve azot fiksasyon kapasitesine sahip olduğu tespit etmiştir.

Koziel ve ark. (2022), *Trifolium pratense*'nin kök nodüllerinden izole edilen *Rhizobium leguminosarum* sv. *trifolii* suşlarının genetik çeşitliliğini subpolar ve ılıman iklim bölgelerinde karşılaştırmışlardır. Üç farklı PCR tekniği (ERIC, BOX, RFLP) ve çok lokuslu dizi analizleri (MLSA) ile yapılan analizler, ılıman bölge suşlarının daha yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunun ortaya konulduğunu bildirmişlerdir. Bu da düşük sıcaklığın mikrosimbiyotların genetik çeşitliliğini sınırlayıcı bir çevresel stres faktörü olduğunu göstermişlerdir.

Nguyen, (2022), *Vicia sativa*'nın genetik çalışmaları için *Rhizobium rhizogenes* K599 kullanılarak hızlı ve verimli bir saçak kök dönüşüm yöntemi geliştirmiştir. Çeşitli doku tipleri (hipokotil-epikotil, sürgün) test edilmiş, in vitro koşullarda %100'e varan dönüşüm verimliliği elde edilmiştir. Bu yöntemin, gen fonksiyonlarının analizi ve zorlu bitkilerde (recalcitrant) kök oluşturma için önemli bir araç olduğunu bildirmiştir.

Dasgupta ve ark. (2023), bitki büyümesini destekleyen rizobakterilerin (PGPR) çevresel stres koşulları altında bitkilerde sinyal yollarını nasıl düzenlediğini incelemişlerdir. Çalışmada PGPR'lerin azot fiksasyonu, kök gelişimi, besin çözünürlüğü ve patojenlere karşı biyokontrol gibi doğrudan ve dolaylı etkilerini anlatmışlardır. Ayrıca PGPR'lerin sıcaklık, tuz, kuraklık ve oksidatif stres gibi çeşitli abiyotik stresler üzerindeki olumlu etkileri detaylandırılmış ve bu bakterilerin çevre dostu biyogübre olarak kullanılmasının tarımda kimyasal bağımlılığı azaltabileceğini vurgulamışlardır.

Jasim ve Sultan (2023), Irak'ın Ninova bölgesinde farklı baklagil türlerinden (*Vigna unguiculata*, *Trifolium alexandrinum*, *Trigonella foenum-graecum*, *Leucaena leucocephala*, *Medicago sativa*, *Phaseolus vulgaris*, *Tribulus terrestris* ve *Vicia faba*) kök nodülleri toplayarak 25 yerel *Rhizobium* izolatı elde etmiştir. Araştırmacılar, izolatların büyük çoğunluğunun ekzopolisakkarit (EPS) üretme kapasitesine sahip olduğunu ve ayrıca nikel, çinko, bakır ve kurşun gibi ağır metallerle karşı yüksek tolerans gösterdiğini belirtmiştir. Özellikle *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* RM25 izolatının en yüksek EPS üretimini gerçekleştirdiğini rapor etmiştir. Yazarlar, elde edilen izolatların biyogübre olarak kullanımının yanı sıra ağır metal kirliliğinin biyoremediasyonunda da potansiyel taşıdığını bildirmiştir.

Guro ve ark. (2023), Rusya'nın Arktik bölgesinde yetişen *Vicia cracca* L. (fiğ türü) bitkisinin kök nodüllerinden *Rhizobium* sp. 32-5/1 suşunu izole etmiş ve bu suşun

genom dizilemesini gerçekleştirmiştir. Araştırmacılar, izolatin genomunun bir kromozom ve iki plazmitten oluştuğunu, toplam büyüklüğünün 5,62 Mb ve %59,5 GC içeriğine sahip olduğunu belirtmiştir. Filogenetik analiz sonuçlarına göre, izolatin *Rhizobium giardinii* türüyle yakın akrabalık gösterdiğini bildirmiştir. Yazarlar, elde edilen bulguların Arktik koşullarında baklagil–Rhizobium simbiyozunun genetik temelini anlaşılmasına önemli katkı sağladığını vurgulamıştır.

Nguyen ve ark. (2024), Vietnam'ın Quang Tri bölgesinde yetiştirilen yerli yer fıstığı (*Arachis hypogaea L.*) kök nodüllerinden Rhizobium izolatları elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, fizyolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlamışlardır. İzolatların çoğunun gram-negatif, çubuk şekilli ve hareketli olduğunu belirlemişler; 16S rRNA gen dizileme sonuçlarına göre bu izolatların Rhizobium türleriyle yüksek benzerlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca izolatlar arasında indol-3-asetik asit (IAA) üretimi, fosfat çözünürleştirme ve siderofor üretimi gibi bitki büyümesini teşvik edici özelliklerin bulunduğunu saptamışlardır. Sera denemelerinde seçilen Rhizobium izolatlarının inokulasyonu ile yer fıstığında nodül sayısı, biyokütle ve tane veriminin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı şekilde arttığını bildirmişlerdir.

Yadav ve ark. (2024), Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanan nohut (*Cicer arietinum L.*) kök nodüllerinden Rhizobium izolatları elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İzolatların önemli bir kısmının indol-3-asetik asit (IAA) üretme, fosfat çözünürleştirme ve siderofor sentezleme kapasitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Saksı ve tarla denemelerinde seçilen Rhizobium izolatlarının inokulasyonu ile nohutta nodül sayısı, bitki boyu, biyokütle ve tane veriminin anlamlı şekilde arttığını gözlemlemişlerdir.

Sarkar ve ark. (2024), Hindistan'ın Batı Bengal bölgesinde yetiştirilen mercimek (*Lens culinaris Medik.*) kök nodüllerinden Rhizobium izolatları elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, fizyolojik ve moleküler yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İzolatların çoğunun indol-3-asetik asit (IAA) üretme, fosfat çözünürleştirme ve siderofor sentezleme özelliklerine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Saksı denemelerinde seçilen Rhizobium izolatlarıyla yapılan inokulasyon sonucunda mercimekte nodül sayısı, bitki boyu, biyokütle ve tane veriminin kontrol gruplarına kıyasla önemli ölçüde arttığını gözlemlemişlerdir.

Choudhary ve ark. (2024), Hindistan'ın Rajasthan bölgesinde yetiştirilen nohut (*Cicer arietinum L.*) bitkilerinin kök nodüllerinden Rhizobium izolatları elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle karakterize etmiştir.

Araştırmacılar, izolatların çoğunun indol-3-asetik asit (IAA) üretme, fosfat çözünürleştirme ve siderofor sentezleme yeteneklerine sahip olduğunu belirtmiştir. Tarla ve sera koşullarında yürütölen denemelerde, seçölen *Rhizobium* izolatlarıyla inokulasyon yapılan nohut bitkilerinde nodöl sayısı, bitki boyu, biyokötle ve tane veriminde kontrol grubuna kıyasla anlamlı artışlar gözlenmiştir.

Arnol ve ark. (2025), *Phaseolus vulgaris* (fasulye) kök nodüllerinden *Rhizobium* bakterilerini izole ve karakterize etmişlerdir. İzole edilen suşları morfolojik ve mikroskopik olarak tanımlamışlar, Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA) ortamında hızlı gelişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca bu bakteriler kullanılarak kömür tozu taşıyıcı materyali ile azot biyogöbreleri üretmişler, altı ay raf ömrü olan preparatlar elde etmişlerdir. Araştırma, kimyasal gübre kullanımına alternatif olarak *Rhizobium* bazlı biyogöbrelerin sürdürülebilir tarımda kullanılabileceğini göstermektedirler.

Mamun ve ark. (2025), *Vigna radiata* ve *Cajanus cajan* kök nodüllerinden *Rhizobium* suşlarını izole etmiş ve karakterize etmişlerdir. Toplam 12 izolat elde ettiklerini, bunlardan 10'unun 16S rRNA gen dizilemesi ile *Rhizobium* sp. olarak doğrulandığını bildirmişlerdir. Ayrıca, izolatların bitki büyümesini teşvik edici özelliklerini belirlemek amacıyla IAA üretimi, fosfat çözündürme, siderofor üretimi ve ACC deaminaz aktivitesi gibi parametreleri değerlendirmişlerdir. Serada yürüttükleri denemeler sonucunda, *Rhizobium* ile aşılanan bitkilerin kuraklık ve tuzluluk stresleri altında büyüme performansı, klorofil içeriğı, su tutma kapasitesi ve biyokötle değerlerinde anlamlı artışlar gözlemlediklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca aşılama uygulamasının topraktaki toplam azot ve fosfor seviyelerini yükselttiğini de belirtmişlerdir. Araştırmacılar, elde ettikleri bulgular doğrultusunda *Rhizobium* temelli biyogöbrelerin stres koşullarında bitki dayanıklılığını artırabileceğini ve sürdürülebilir tarım uygulamalarına önemli katkılar sağlayabileceğini vurgulamışlardır.

Roca-Couso ve ark. (2025), İspanya'nın Salamanca bölgesinde yetişen *Rubus ulmifolius* (böğürtlen) köklerinden endofitik *Rhizobium* sp. CRRU65 suşunu izole etmiş ve bu suşu 16S rRNA gen dizilemesi ile tanımlamışlardır. Araştırmacılar, söz konusu suşun fosfat çözündürme ve indol asetik asit (IAA) üretimi gibi bitki büyümesini teşvik edici biyolojik özelliklere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Sera koşullarında gerçekleştirdikleri inokulasyon deneylerinde, *Rhizobium* sp. CRRU65 ile aşılanan böğürtlen bitkilerinde çiçeklenmenin %128, meyve üretiminin ise %129 oranında arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, meyvelerde sanguin H6 ve cyanidin-3-O-glucoside gibi fenolik bileşiklerin anlamlı düzeyde yükseldiğini rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, elde

edilen meyve özütlerinin *Caenorhabditis elegans* modelinde antioksidan kapasiteyi artırdığını ve stres dayanıklılığı ile ilişkili *skn-1* ve *hsp-16* genlerinin ekspresyonunu uyardığını göstermişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bulgular doğrultusunda *Rhizobium* uygulamalarının yalnızca bitki büyümesini desteklemekle kalmayıp, aynı zamanda meyvelerin nutrasötik kalitesini artırma potansiyeline de sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Mesele ve ark. (2025), Etiyopya'nın Mekelle bölgesinde yetiştirilen *Vicia faba* (bakla) bitkisinin kök nodüllerinden 61 yerli *Rhizobium* izolatı elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle kapsamlı şekilde karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar, izolatların tamamının indol-3-asetik asit (IAA), amonyak ve ekzopolisakkarit ürettiğini, ayrıca %68,75'inin fosfat çözündürme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Moleküler düzeyde yapılan analizlerde ise bazı izolatlarda *nifH* ve *nodA* genlerinin varlığı tespit edilmiştir. Saksı denemeleri sonucunda, seçilen izolatlarla inokule edilen bakla bitkilerinde kontrol grubuna kıyasla sürgün ve kök uzunluğu, yaş ve kuru biyokütle ile nodül sayısında anlamlı artışlar gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Özellikle MR6, MR32, MR55 ve MR61 izolatlarının baklada biyogübre olarak değerlendirilebilecek yüksek potansiyele sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Gujar ve ark. (2025), Hindistan'da yetiştirilen siyah gram (*Vigna mungo*) bitkilerinin kök nodülleri ve rizosferik topraklarından dört *Rhizobium* izolatı (RH-I, RH-II, RH-III, RH-IV) ile üç fosfat çözücü bakteri (PSB) izole etmişlerdir. İzolasyon işlemi seri dilüsyon ve pour plate yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Laboratuvar testleri sonucunda RH-II izolatının en yüksek azot fiksasyon kapasitesine, PS-II izolatının ise en yüksek fosfat çözünürleştirme indeksine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Biyokimyasal ve fizyolojik tanımlama sonucunda bu izolatları *Rhizobium leguminosarum* ve *Pseudomonas* sp. olarak tanımlamışlar ve tarla denemelerinde kullanmışlardır. Tarla sonuçları, *Rhizobium* + PSB ile yapılan tohum aşılamaının %75 kimyasal gübre (RDF) ile birlikte uygulanmasının bitki boyu, kök nodül sayısı, kapsül sayısı, kuru madde üretimi ve verimi anlamlı şekilde artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca bu uygulama ile siyah gram üretiminde %25 oranında azot ve fosfor gübresi tasarrufu sağlanabileceğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki örneklerinin toplanması

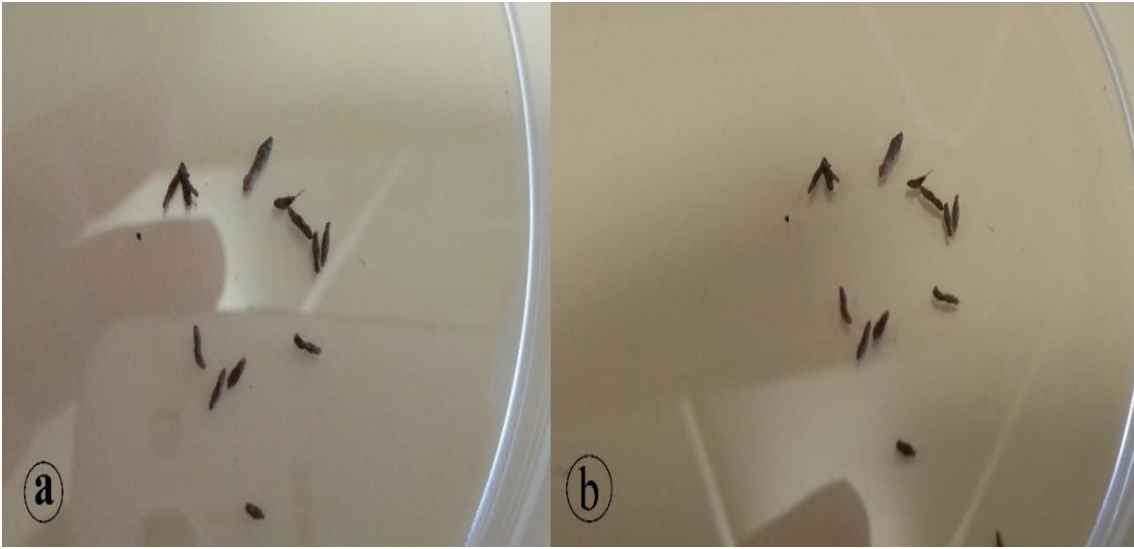
Yabani nohut (*Cicer arietinum*) yabani fiğ (*Vicia cracca*) ve yabani yonca (*Melilotus officinalis*) bitki örnekleri Kırşehir ili ve ilçelerinden 2012 yılının Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında toplanmıştır. Bitkilerin bu aylarda toplanması çiçeklenme dönemine denk gelmesi ve aktif nodüllerin de bu dönemde görülmesi sebebiyle tercih edilmiştir (Uçar ve Öner, 1986; Kızıloğlu 1992; Gök, 1993, Kasımoğlu, 2005). İri ve pembe renkte nodül taşıyan bitkilerin kökleri, çevresindeki toprakla birlikte dikkatlice sökülerek plastik torbalara yerleştirilmiş; bitkinin toplandığı alanın rakımı ve örnekleme tarihi kayıt altına alınmıştır (Somasegaran ve Hoben, 1985; Kızıloğlu, 1992; Gök ve Martin; 1993; Öğütçü, 2000; Kasımoğlu, 2005).



Şekil 3.1. Toplanan baklagil bitkileri örnekleri (a-b-c-d-e-f)



Şekil 3.2. Toplanan baklagil bitkilerinin kök nodülleri



Şekil 3.3. Köklerden izole edilen nodüller (a-b)

3.1.2. Nodüllerin bitkilerden toplanması ve nodül sterilizasyonu

Toplanan bitki örneklerinde bulunan aktif nodüllere (iri, pembe ve sağlıklı olanlar) sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır;

a) Bitkiler aynı gün laboratuvara getirilmiş, musluk suyu ile yıkanarak üzerlerindeki toprak kalıntılarından arındırılmıştır.

b) Nodüller, steril pens kullanılarak kökle bağlantı noktalarından kesilmiş; her bitkiden 10 nodül alınarak tekrar musluk suyuyla durulanmıştır.

c) Nodüller yaklaşık 5–6 saniye süreyle %95'lik etil alkolle işlemden geçirilmiştir.

- d) Ardından %0,1'lik HgCl₂ çözeltisi içeren bir küvette 2-3 dakika bekletilmiştir.
- e) Son olarak steril distile su ile iyice durulanarak nodül sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Sloger, 1969; Anonymous, 1983; Beck et al., 1993).

3.1.3. Nodüllerden *Rhizobium* bakterilerin izolasyonu

Steril nodüller, içerisinde 1ml steril saf su bulunduran havanda ezilmiş ve elde edilen homojenattan YMA plaklarına çizgi ekimi yapılmıştır. Petriler 28⁰C'de 3-5 gün süreyle inkübasyona bırakılacak ve oluşan tipik koloniler (1-5 mm çaplı, ağdalı, beyaz, saydam veya hafif mat, mukozlu ve yuvarlak) seçilerek yatık YMA tüplerine aktarılmıştır (Somasegaran and Hoben, 1985; Beck ve ark., 1993; Öğütçü, 2000; Avşar, 2017). Bu izolatlar +4⁰C'de buzdolabında muhafaza edilmiş ve *Rhizobium* cinsine ait olanların belirlenmesi için sitolojik ve biyokimyasal testlere alınmıştır. Bu amaçla sırasıyla hücresel anatomi, Gram özelliği, hareket, Brom Thymol Mavili YMA besiyerinde üreme, Kongo Kırmızılı YMA'da üreme, Pepton Glukoz Agar'da üreme, Litmus milk besiyerinde üreme, katalaz ve oksidaz testleri uygulanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler

3.2.1.1. Gram boyama

Gram boyama yönteminde elde edilen farklılıkların, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı yapılarındaki temel farklılıklardan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Boyama sürecinde, hücre içerisinde çözünmeyen bir kristal viyole-iyot kompleksi oluşur. Bu kompleks, Gram-negatif bakterilere alkol uygulandığında hücre dışına çıkarken, Gram-pozitif bakterilerde ise hücre içerisinde tutulur. Bunun temel nedeni, Gram-pozitif bakterilerin kalın ve çok katmanlı peptidoglikan yapıya sahip olmalarıdır. Alkol uygulaması bu yapıda su kaybına neden olarak gözeneklerin kapanmasına yol açar ve böylece kristal viyole-iyot kompleksinin hücre dışına çıkışı engellenmiş olur. Buna karşılık, Gram-negatif bakteriler lipit açısından zengin bir dış zar yapısına sahiptir ve alkol bu tabakaya kolaylıkla nüfuz edebilir. Bu durum, boyanın çözünerek hücre dışına atılmasına neden olur (Avşar, 2017).

28 °C'de 24 saat boyunca YMA agarda gelişen kolonilerden preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar fikse edildikten sonra kristal viyole ile 1 dakika boyanmış, ardından su ile iyice durulanmıştır. Boyamanın ardından preparatlar 1 dakika boyunca lugol solüsyonuyla muamele edilerek sabitleme sağlanmış ve sonrasında su ile

yıkanmıştır. Daha sonra preparatlar %70'lik alkolle 10 saniye dekolorize edilerek fazla boya uzaklaştırılmıştır. Bu işlemi takiben preparatlar karşıt boya olan safranin solüsyonuyla 30 saniye süreyle boyanmış ve tekrar su ile yıkanmıştır. Kurutma kâğıdı ile kurutulan preparatlar, ışık mikroskobunda 100x objektif ve immersiyon yağı kullanılarak incelenmiştir. Mikroskopta mor renkte gözlemlenen hücreler Gram-pozitif, pembe renkte gözlemlenenler ise Gram-negatif olarak değerlendirilmiştir (Öğütçü ve ark., 2014).

3.2.1.2. Katalaz testi

Katalaz enzimi, çoğunlukla aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmalar tarafından sentezlenmekte olup, bulunduğu ortamda hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırma işlevi görmektedir. Katı veya sıvı besiyerinde geliştirilmiş bakteri kültürüne H₂O₂ eklendiğinde gözlenen gaz kabarcıkları, serbest oksijenin açığa çıktığını ve dolayısıyla hidrojen peroksitin parçalandığını göstermektedir. Bu gözlem, ortamda katalaz enziminin varlığının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Temiz, 2010).

28 °C'de 24 saat boyunca YMA agarda gelişen bakteri kolonilerinin üzerine birkaç damla %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak gaz çıkışı gözlemlenmiştir. Gaz kabarcıklarının olduğu petri kutuları, katalaz enzimi varlığına işaret ettiğinden pozitif olarak değerlendirilmiştir (Erbey, 2015).

3.2.1.3. Oksidaz testi

Bu test, sitokrom C oksidaz enziminin varlığını belirlemeye yönelik olarak uygulanmaktadır. Demir içeren bir hemoprotein olan bu enzim, aerobik solunumda görev almakta olup zorunlu anaerob mikroorganizmalarda genellikle bulunmamaktadır (Adıgüzel ve ark., 2010).

28 °C'de 24 saat YMA ortamında inkübasyona bırakılmıştır. Tüplerin içine % 0.5'lik Tetrametil-p-fenilendiamin ayırıcı damlatılmıştır. Okside olmuş sitokrom C, ayrıca bulunan p-amino dimetilanilini okside ederek, mavi renkli bileşik oluşmaktadır. Mavi renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (Erbey, 2015).

3.2.1.4. Hareketlilik testi

Bazı bakteriler, flagella olarak adlandırılan özgül hücresel yapılar sayesinde aktif bir şekilde yer değiştirme yeteneğine sahiptir. Bakteriyel hareketlilik, çoğunlukla flagella yapısının yalnızca varlığına değil, bu yapının hareketi somut biçimde ortaya koyma kapasitesine göre değerlendirilmektedir (Avşar, 2017).

Hareketlilik testi, yarı katı bir besiyerinde gerçekleştirilmiştir. %0.4–0.5 oranında agar içeren YMA besiyerine, transfer iğnesi kullanılarak besiyerinin tabanına kadar düz bir çizgi şeklinde inokulasyon yapılmış ve ardından ortam, 28°C’de 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, besiyeri yüzeyinde ve inokulasyon çizgisi boyunca çoğalma gözlenip yanlara doğru herhangi bir yayılım veya dallanma tespit edilmezse, mikroorganizmanın hareketsiz olduğu kabul edilmiştir. Buna karşılık, inokulasyon çizgisinden çevreye doğru agar içerisinde bir yayılım ve dallanma meydana gelmişse, mikroorganizma hareketli olarak değerlendirilmiştir (Öğütçü ve ark., 2014).

3.2.1.5. Kongo kırmızılı YMA’da üreme

Kongo kırmızılı YMA besiyerinin hazırlanmasında, 100 ml çözeltiliye 0,25 g olacak şekilde kongo kırmızı çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltiden 10 ml, 1 litre YMA besiyerine ilave edilmiştir. Karışım uygun sterilizasyon koşullarında otoklavlandıktan sonra petri kutularına dağıtılmıştır. Besiyerlerinin kontaminasyon durumunu kontrol etmek amacıyla, petri kapları etüvde 24 saat süreyle bekletilmiş ve steril olduğu doğrulandıktan sonra taze kültürlerden ekim yapılmıştır. Üreme gözlemlenmesi amacıyla ortamlar 28°C sıcaklıkta 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Rhizobium türleri, Kongo kırmızılı YMA besiyerine ekildiğinde ve karanlık koşullarda inkübe edildiğinde boyayı absorbe etmez; bunun yerine beyaz-opak ya da zaman zaman pembemsi renkte koloniler oluştururlar. Bu nitelikteki beyaz-opak ve pembemsi izolatlar seçilerek kayıt altına alınmıştır.

3.2.1.6. Brom timol mavili YMA’da üreme

Brom timol mavisini, zayıf asit ve bazların belirlenmesinde kullanılan kimyasal bir pH indikatörüdür. Çözeltide zayıf bir asit gibi davranan bu madde, ortamın pH derecesine bağlı olarak mavi ya da sarı renk alır; bu sayede ortamın asidik ya da bazik karakteri belirlenebilir. Nötr pH değerine sahip çözeltilerde ise yeşil bir görünüm sergiler. Genellikle sodyum tuzu formunda ve katı halde temin edilen brom timol mavisini, laboratuvar uygulamalarında biyolojik boyar madde olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca mikroskopik incelemelerde, hücre duvarı ve çekirdek gibi yapıları belirginleştirmek amacıyla da tercih edilmektedir.

Brom timol mavili YMA besiyeri hazırlanırken, 0,5 g/100 ml oranında brom timol, etanol çözeltisi içerisinde çözülmüş ve elde edilen karışımdan 5 ml, 1 litre YMA besiyerine eklenerek ortamın pH değeri 6,8’e ayarlanmıştır. Besiyeri uygun sterilizasyon

koşullarında otoklavlandıktan sonra petri kaplarına dökülmüştür. Kontaminasyon kontrolü amacıyla bu kaplar etüvde 24 saat bekletilmiş, steril olduğu doğrulandıktan sonra taze kültürlerle ekim yapılmıştır. Bakteriyel gelişimin gözlemlenebilmesi için petri kapları 28°C'de 3-5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. *Rhizobium* türleri bu besiyerinde, büyüme hızlarına göre ortam rengini değiştirmektedir; hızlı çoğalan suşlar ortamı sarıya, yavaş büyüyenler ise maviye dönüştürmektedir. Besiyeri renginde mavi veya sarı yönünde değişim oluşturan izolatlar kayıt altına alınmıştır.

3.2.1.7. Pepton glikoz agar besiyerinde üreme

Pepton glikoz agar besiyeri hazırlanırken, 1 litre ortam için 5 g glikoz, 10 g pepton ve 15 g agar kullanılmıştır. Besiyeri uygun koşullarda sterilize edildikten sonra petri kaplarına aktarılmıştır. Kontaminasyon kontrolü amacıyla petri kapları etüvde 24 saat bekletilmiş ve steril oldukları teyit edildikten sonra taze kültürlerden ekim yapılmıştır. Bakteriyel gelişimi izlemek üzere petri plakları 28°C sıcaklıkta 3-5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. *Rhizobium* türleri bu besiyerinde zayıf düzeyde gelişim göstermiştir. Zayıf üreme sergileyen izolatlar kaydedilmiştir.

3.2.1.8. Litmus milk besiyerinde üreme

Litmus milk besiyeri hazırlandıktan sonra tüplere dağıtılmış ve 121°C'de, 1 atmosfer basınç altında 15 dakika süreyle otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyonun ardından besiyerlerinin soğuması beklendikten sonra tüplere inokulasyon yapılmıştır. Ekimden sonra, tüpler 28°C sıcaklıktaki etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Alkali karakter gösteren bakteriyel suşlar, ortamda mavi renk oluşumuna neden olurken; asidik özellik sergileyenler besiyerinin rengini pembeye çevirmiştir. *Rhizobium* bakterileri ise alkali reaksiyon göstererek litmus milk besiyerinde karakteristik olarak serum zonu meydana getirmiştir.

3.2.1.9. İzolatların muhafaza edilmesi

Elde edilen izolatlar, nutrient broth besiyerine ekilerek 37°C sıcaklıkta 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemle aktif hale getirilen izolatlar, daha sonra nutrient agar besiyerine inoküle edilerek aynı sıcaklıkta yeniden 24 saat inkübe edilmiştir. Katı besiyerlerinde gelişen kültürlerden seçilen tekil koloniler, %20 oranında gliserol içeren TSB besiyerine aktarılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yabani nohut (*Cicer arietinum*) yabani fiğ (*Vicia cracca*) ve yabani yonca (*Melilotus officinalis*) bitki örnekleri Kırşehir ili ve ilçelerinden (Çiçekdağ, Mucur, Kaman, Akpınar, Boztepe, Akçakent) 2012 yılının Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında toplanmış ve bu bitkilerin nodüllerinden *Rhizobium* sp. izolatları elde edilmiştir. İzolatların tanımlanması ve karakterizasyonu amacıyla; morfolojik ve fizyolojik (Gram boyama ve hareketlilik), biyokimyasal (katalaz ve oksidaz testi), kültürel özallikleri ile ilgili testler (Brom Timol Mavili YMA, Kongo Kırmızılı YMA, Pepton Glikoz Agarda üreme, Litmus Milk besiyerinde üreme) yapılmıştır.

4.1. Nodül Örneklerinin Alınması ve Bakteri İzolasyonu

Kırşehir ili ve ilçelerinden (Çiçekdağ, Mucur, Kaman, Akpınar, Boztepe, Akçakent) yabani *Cicer arietinum*, *Vicia cracca*, *Melilotus officinalis* bitkilerinin toplandığı bölgelerin rakımı, toplama tarihi ve elde edilen izolatların kodu Tablo 4.1.'de ve ilçelere göre dağılımı Şekil 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. İzolatların kodu, rakım ve tarih

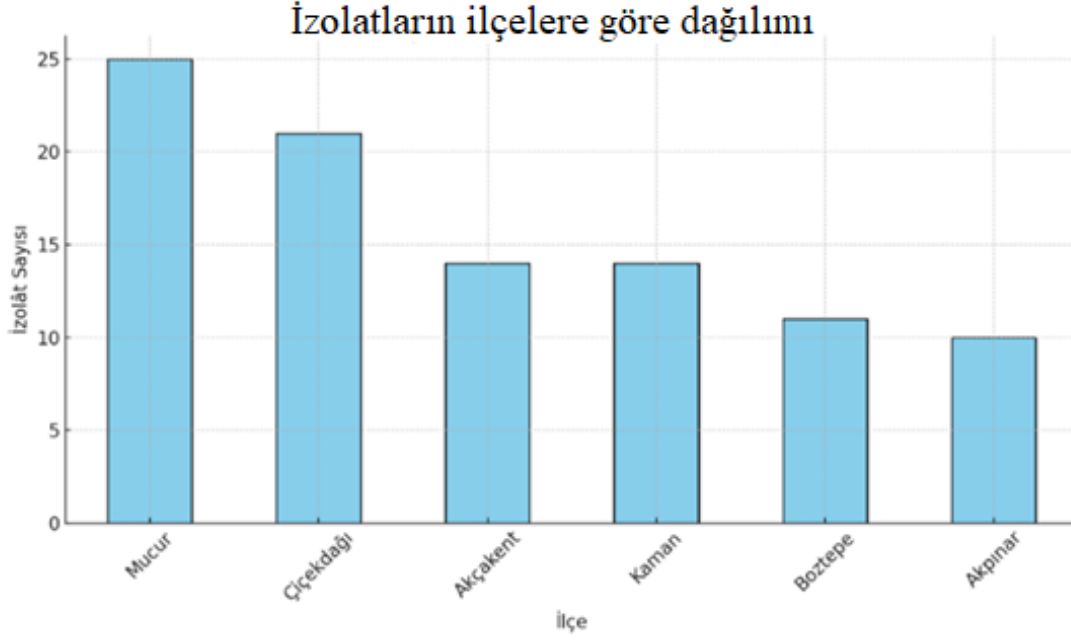
İzolat Kod No	Konukçu Bitki	Bitkinin Alındığı İstasyon	Yükseklik	Tarih
AHR 8	Melilotus officinalis	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 9	Vicia cracca	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 10	Vicia cracca	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 11	Cicer arietinum	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 12	Cicer arietinum	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 13	Cicer arietinum	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 14	Melilotus officinalis	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 15	Melilotus officinalis	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 16	Melilotus officinalis	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 20	Vicia cracca	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 21	Vicia cracca	AKÇAKENT	1400 m	14.06.2013
AHR 24	Melilotus officinalis	AKPINAR	1199 m	13.06.2013
AHR 25	Melilotus officinalis	AKPINAR	1199 m	13.06.2013
AHR 26	Vicia cracca	AKPINAR	1199 m	13.06.2013
AHR 27	Vicia cracca	AKPINAR	1199 m	13.06.2013
AHR 28	Vicia cracca	AKPINAR	1199 m	13.06.2013
AHR 35	Melilotus officinalis	AKPINAR	1379 m	13.06.2013
AHR 107	Vicia cracca	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 108	Vicia cracca	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 109	Melilotus officinalis	AKPINAR	1179 m	29.06.2013

Tablo 4.1. İzolatların kodu, rakım ve tarih (devamı)

İzolat Kod No	Konukçu Bitki	Bitkinin Alındığı İstasyon	Yükseklik	Tarih
AHR 110	<i>Melilotus officinalis</i>	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 111	<i>Melilotus officinalis</i>	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 112	<i>Vicia cracca</i>	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 113	<i>Vicia cracca</i>	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 114	<i>Vicia cracca</i>	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 115	<i>Vicia cracca</i>	AKPINAR	1179 m	29.06.2013
AHR 29	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	13.06.2013
AHR 31	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	13.06.2013
AHR 32	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	13.06.2013
AHR 33	<i>Vicia cracca</i>	BOZTEPE	1379 m	13.06.2013
AHR 36	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	12.06.2013
AHR 37	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	12.06.2013
AHR 38	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	12.06.2013
AHR 136	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 137	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 138	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 139	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 140	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 143	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 144	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 145	<i>Melilotus officinalis</i>	BOZTEPE	1379 m	7.07.2013
AHR 1	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 2	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 3	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 4	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 5	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 6	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 17	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 18	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 19	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 22	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 23	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	14.06.2013
AHR 100	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	29.06.2013
AHR 101	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	29.06.2013
AHR 102	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1264 m	29.06.2013
AHR 103	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1264 m	29.06.2013
AHR 104	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1264 m	29.06.2013
AHR 105	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1264 m	29.06.2013
AHR 106	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1250 m	29.06.2013
AHR 141	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1205 m	7.07.2013
AHR 142	<i>Vicia cracca</i>	ÇİÇEKDAĞ	1205 m	7.07.2013
AHR 146	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1205 m	7.07.2013
AHR 147	<i>Melilotus officinalis</i>	ÇİÇEKDAĞ	1205 m	7.07.2013

Tablo 4.1. İzolatların kodu, rakım ve tarih (devamı)

İzolat Kod No	Konukçu Bitki	Bitkinin Alındığı İstasyon	Yükseklik	Tarih
AHR 44	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 46	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 47	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 48	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 49	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 50	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 51	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 61	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 63	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 64	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 65	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 66	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 67	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 72	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 73	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	3.06.2013
AHR 116	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	29.06.2013
AHR 117	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	29.06.2013
AHR 118	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1261 m	29.06.2013
AHR 119	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1261 m	29.06.2013
AHR 120	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	29.06.2013
AHR 121	<i>Vicia cracca</i>	KAMAN	1250 m	29.06.2013
AHR 122	<i>Melilotus officinalis</i>	KAMAN	1261 m	29.06.2013
AHR 39	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	12.06.2013
AHR 40	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	12.06.2013
AHR 41	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	12.06.2013
AHR 42	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	12.06.2013
AHR 43	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	12.06.2013
AHR 53	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	27.05.2013
AHR 56	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	27.05.2013
AHR 58	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	27.05.2013
AHR 59	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	27.05.2013
AHR 60	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	27.05.2013
AHR 123	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 124	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 125	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 126	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 127	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 128	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 129	<i>Melilotus officinalis</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 130	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 131	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 132	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 133	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 134	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013
AHR 135	<i>Vicia cracca</i>	MUCUR	1130 m	30.06.2013

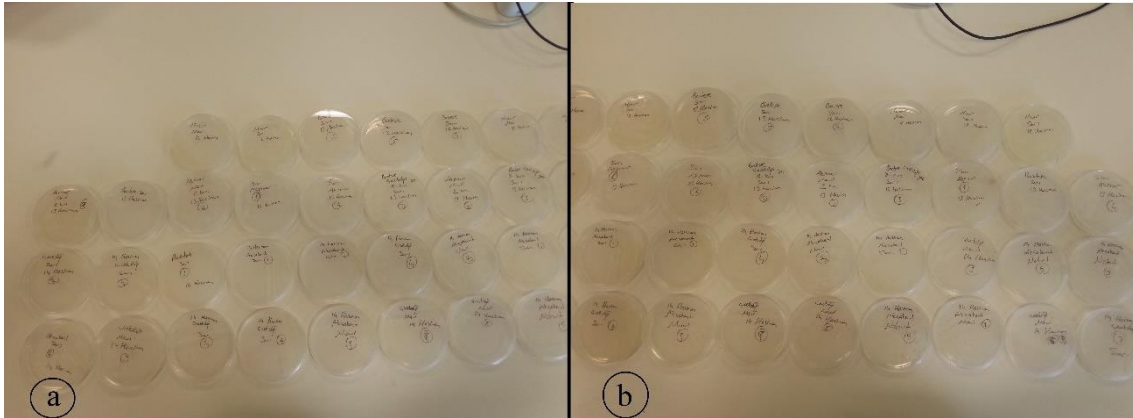


Şekil 4.1. İzolatların ilçelere göre dağılımı

4.2. Morfolojik ve Biyokimyasal Testler

4.2.1. Gram boyama, koloni morfolojisi ve YMA besiyerindeki koloni rengi, mukoz oluşturma özelliği

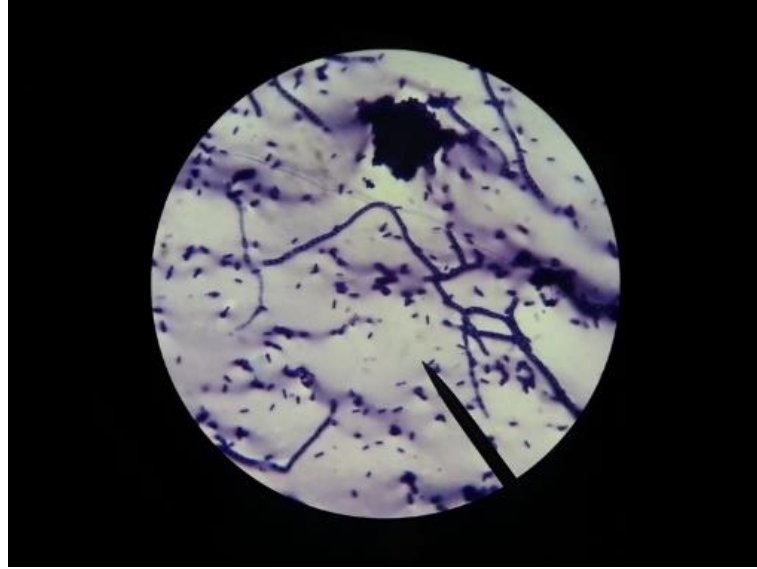
Elde edilen izolatların YMA besiyerine ekilmeleri sonucunda morfolojileri, koloni renkleri ve mukoz oluşturma özellikleri, Gram boyama test sonuçları Tablo 4.2, Şekil 4.2 ve 4.3’de verilmiştir. Yapılan Gram boyama testlerinde 32 izolatın gram negatif olduğu ve YMA besiyerinde 48 izolatın literatüre uygun olarak beyaz, krem renkli opak ve mukozlu olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. YMA besiyerinde üreme gösteren bakteriler (a-b)



Şekil 4.3. Gram boyama yapılmış preparatlar (a-b-c)



Şekil 4.4. Gram boyama sonucu mikroskopik görünüm

Tablo 4.2. İzolatların gram boyama, morfoloji, koloni rengi ve mukoz oluşturma özelliği

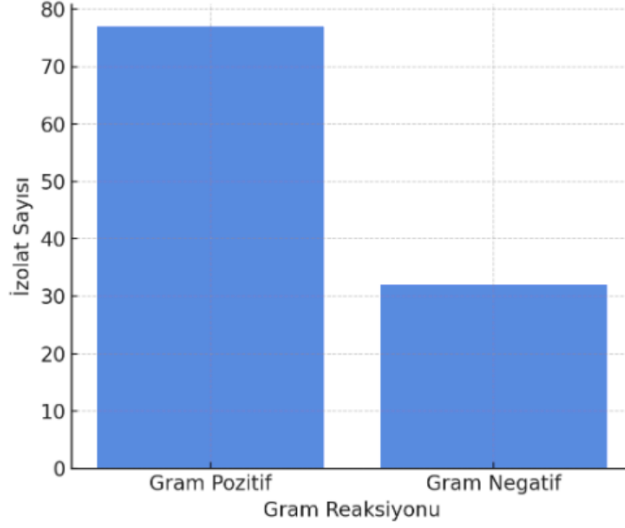
İzolat No	Gram Boyama	Morfoloji	Koloni Rengi	Mukoz Oluşturma
AHR 1	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 2	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 3	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 4	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 5	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 6	+	Çubuk	Krem	Mukozsuz
AHR 7	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 8	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 9	+	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 10	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 11	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 12	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 13	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 14	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 15	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 16	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 17	+	Çubuk	Krem	Mukozlu
AHR 18	+	Çubuk	Krem	Mukozsuz
AHR 19	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz

Tablo 4.2. İzolatların gram boyama, morfoloji, koloni rengi ve mukoz oluşturma özelliği (devamı)

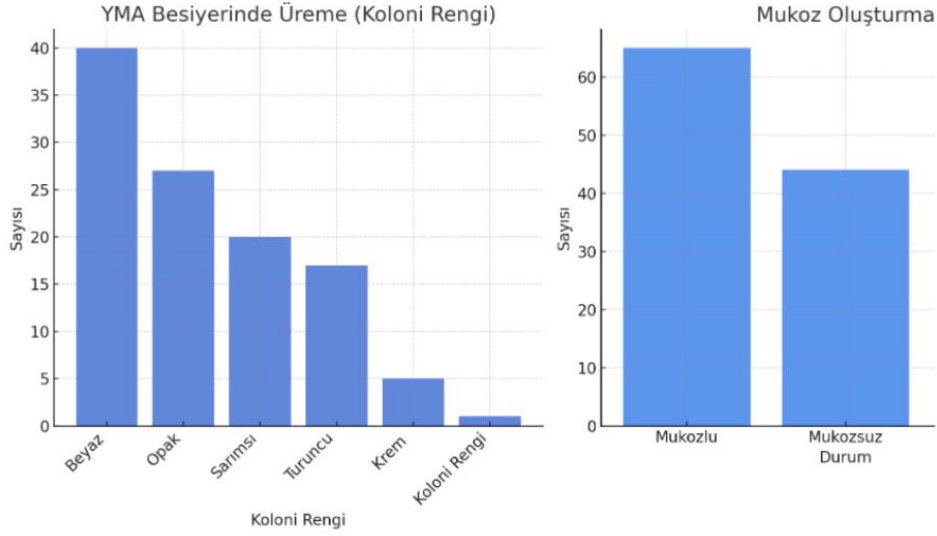
İzolat No	Gram Boyama	Morfoloji	Koloni Rengi	Mukoz Oluşturma
AHR 20	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 21	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 22	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 23	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 24	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 25	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 26	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 27	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 28	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 29	-	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 31	-	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 32	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 33	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 35	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 36	-	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 37	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 38	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 39	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 40	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 41	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 42	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 43	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 44	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 46	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 47	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 48	-	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 49	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 50	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 51	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 53	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 56	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 58	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 59	-	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 60	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 61	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 63	+	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 64	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 65	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 66	+	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 67	+	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 72	+	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 73	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 100	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz

Tablo 4.2. İzolatların gram boyama, morfoloji, koloni rengi ve mukoz oluşturma özelliği (devamı)

İzolat No	Gram Boyama	Morfoloji	Koloni Rengi	Mukoz Oluşturma
AHR 101	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 102	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 103	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 104	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 105	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 106	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 107	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 108	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 109	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 110	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 111	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 112	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 113	+	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 114	+	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 115	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 116	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 117	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 118	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 119	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 120	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 121	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 122	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 123	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 124	-	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 125	+	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 126	-	Çubuk	Opak	Mukozlu
AHR 127	-	Çubuk	Turuncu	Mukozlu
AHR 128	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 129	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 130	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 131	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 132	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 133	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozlu
AHR 134	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 135	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 136	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 137	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 138	-	Çubuk	Beyaz	Mukozlu
AHR 139	+	Çubuk	Beyaz	Mukozsuz
AHR 140	-	Çubuk	Krem	Mukozlu
AHR 141	+	Çubuk	Krem	Mukozsuz
AHR 142	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 143	+	Çubuk	Opak	Mukozsuz
AHR 144	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 145	+	Çubuk	Turuncu	Mukozsuz
AHR 146	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz
AHR 147	+	Çubuk	Sarımsı	Mukozsuz



Şekil 4.5. İzolatların gram boyama özelliği



Şekil 4.6. Morfoloji, koloni rengi ve mukoz oluşturma özelliği

4.2.2. Brom timol mavili YMA, kongo kırmızılı YMA ve pepton glikoz agarda üreme

Elde edilen izolatların Brom Timol Mavili YMA, Kongo Kırmızılı YMA Besiyerinde ve Pepton Glikoz Agar besiyerine ekilmeleri sonucunda oluşturdukları koloni renkleri Tablo 4.3 ve Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5’de verilmiştir. Bu özellikler bakımından izolatların 31 tanesinin literatürde belirtilenler özelliklere uymadığı, 78 tanesinin ise uyduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.3. Brom timol mavili YMA, kongo kırmızılı YMA ve pepton glikoz agarda üreme

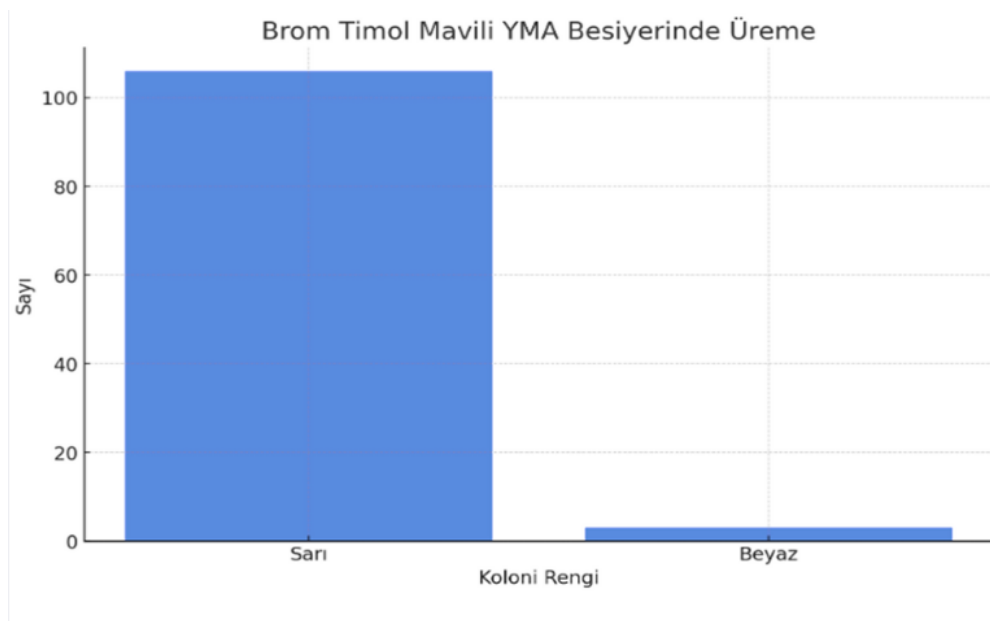
İzolot No	Brom Timol Mavili YMA	Kongo Kırmızılı YMA	Pepton Glikoz Agarda Üreme
	Besiyerinde	Besiyerinde	
	Koloni Rengi	Koloni Rengi	
AHR 1	Sarı	Beyaz	-
AHR 2	Sarı	Beyaz	-
AHR 3	Sarı	Beyaz	+
AHR 4	Sarı	Beyaz	+
AHR 5	Sarı	Pembemsi	-
AHR 6	Sarı	Beyaz	-
AHR 7	Sarı	Beyaz	+
AHR 8	Sarı	Beyaz	-
AHR 9	Sarı	Beyaz	-
AHR 10	Sarı	Beyaz	-
AHR 11	Sarı	Kırmızı	-
AHR 12	Beyaz	Kırmızı	-
AHR 13	Sarı	Beyaz	-
AHR 14	Sarı	Beyaz	-
AHR 15	Sarı	Beyaz	+
AHR 16	Sarı	Beyaz	-
AHR 17	Sarı	Beyaz	+
AHR 18	Sarı	Beyaz	+
AHR 19	Sarı	Beyaz	+
AHR 20	Sarı	Beyaz	+
AHR 21	Sarı	Beyaz	+
AHR 22	Sarı	Beyaz	+
AHR 23	Sarı	Beyaz	-
AHR 24	Sarı	Pembemsi	-
AHR 25	Sarı	Beyaz	-
AHR 26	Sarı	Kırmızı	-
AHR 27	Sarı	Beyaz	-
AHR 28	Beyaz	Pembemsi	-
AHR 29	Sarı	Beyaz	-
AHR 31	Sarı	Beyaz	-
AHR 32	Sarı	Beyaz	-
AHR 33	Sarı	Beyaz	-
AHR 35	Sarı	Beyaz	+
AHR 36	Sarı	Beyaz	-
AHR 37	Sarı	Beyaz	+
AHR 38	Sarı	Beyaz	-
AHR 39	Sarı	Beyaz	-
AHR 40	Sarı	Beyaz	-
AHR 41	Sarı	Beyaz	-
AHR 42	Sarı	Beyaz	+
AHR 43	Sarı	Beyaz	+
AHR 44	Sarı	Beyaz	+

Tablo 4.3. Brom timol mavili YMA, kongo kırmızılı YMA ve pepton glikoz agarda üreme (devamı)

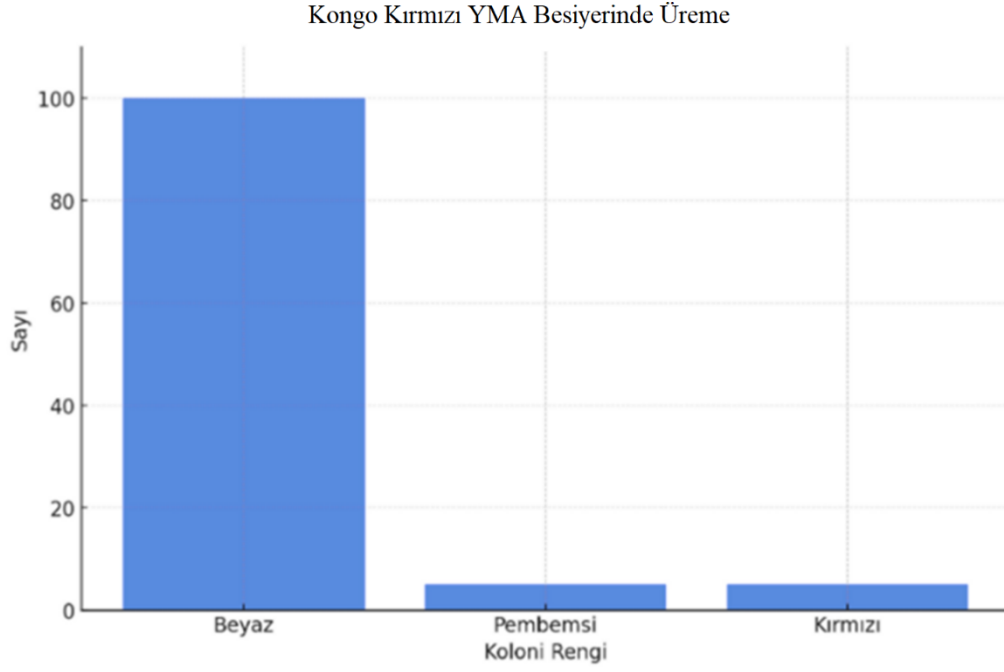
İzolot No	Brom Timol Mavili YMA	Kongo Kırmızılı YMA	Pepton Glikoz Agarda Üreme
	Besiyerinde	Besiyerinde	
	Koloni Rengi	Koloni Rengi	
AHR 46	Sarı	Beyaz	+
AHR 47	Sarı	Beyaz	+
AHR 48	Sarı	Beyaz	-
AHR 49	Sarı	Beyaz	-
AHR 50	Sarı	Beyaz	-
AHR 51	Sarı	Beyaz	-
AHR 53	Sarı	Beyaz	-
AHR 56	Sarı	Beyaz	-
AHR 58	Sarı	Beyaz	+
AHR 59	Sarı	Beyaz	-
AHR 60	Sarı	Kırmızı	-
AHR 61	Sarı	Beyaz	-
AHR 63	Sarı	Beyaz	+
AHR 64	Beyaz	Pembemsi	-
AHR 65	Sarı	Beyaz	-
AHR 66	Sarı	Beyaz	-
AHR 67	Sarı	Beyaz	+
AHR 72	Sarı	Pembemsi	-
AHR 73	Sarı	Beyaz	-
AHR 100	Sarı	Beyaz	+
AHR 101	Sarı	Beyaz	+
AHR 102	Sarı	Beyaz	-
AHR 103	Sarı	Beyaz	-
AHR 104	Sarı	Beyaz	-
AHR 105	Sarı	Beyaz	-
AHR 106	Sarı	Beyaz	-
AHR 107	Sarı	Beyaz	-
AHR 108	Sarı	Beyaz	+
AHR 109	Sarı	Beyaz	+
AHR 110	Sarı	Beyaz	-
AHR 111	Sarı	Beyaz	-
AHR 112	Sarı	Beyaz	-
AHR 113	Sarı	Beyaz	-
AHR 114	Sarı	Beyaz	-
AHR 115	Sarı	Beyaz	-
AHR 116	Sarı	Beyaz	-
AHR 117	Sarı	Beyaz	-
AHR 118	Sarı	Beyaz	+
AHR 119	Sarı	Beyaz	-
AHR 120	Sarı	Beyaz	-
AHR 121	Sarı	Beyaz	-
AHR 122	Sarı	Beyaz	-

Tablo 4.3. Brom timol mavili YMA, kongo kırmızılı YMA ve pepton glikoz agarda üreme (devamı)

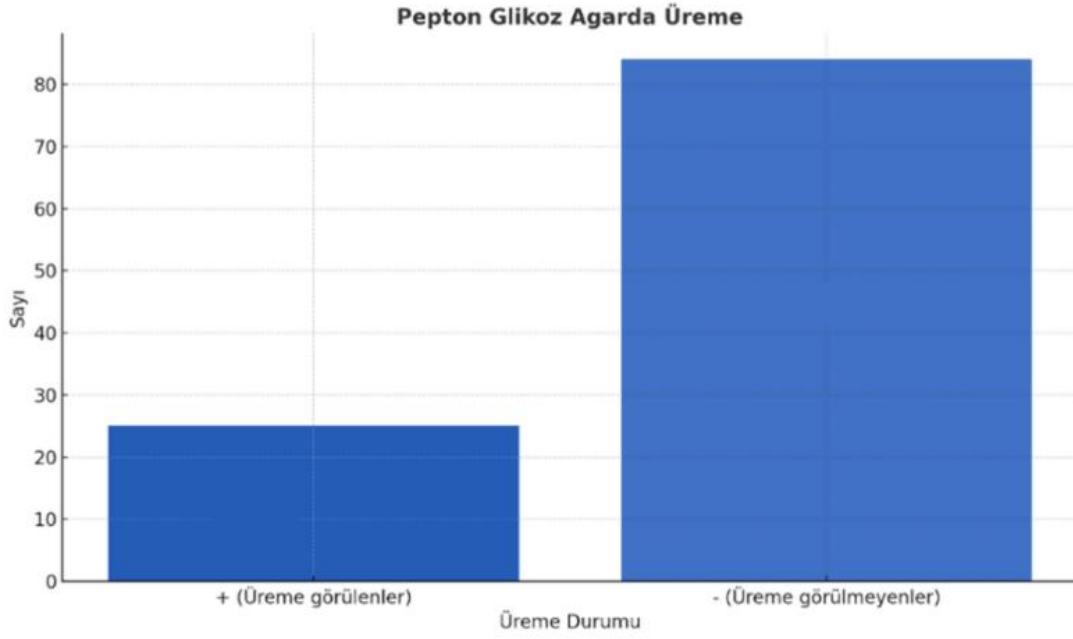
İzolat No	Brom Timol Mavili YMA Besiyerinde	Kongo Kırmızılı YMA Besiyerinde	Pepton Glikoz Agarda Üreme
	Koloni Rengi	Koloni Rengi	
AHR 123	Sarı	Beyaz	-
AHR 124	Sarı	Beyaz	-
AHR 125	Sarı	Beyaz	-
AHR 126	Sarı	Beyaz	-
AHR 127	Sarı	Beyaz	-
AHR 128	Sarı	Beyaz	-
AHR 129	Sarı	Beyaz	-
AHR 130	Sarı	Beyaz	-
AHR 131	Sarı	Beyaz	-
AHR 132	Sarı	Beyaz	-
AHR 133	Sarı	Beyaz	-
AHR 134	Sarı	Beyaz	-
AHR 135	Sarı	Beyaz	-
AHR 136	Sarı	Beyaz	-
AHR 137	Sarı	Beyaz	-
AHR 138	Sarı	Beyaz	-
AHR 139	Sarı	Beyaz	-
AHR 140	Sarı	Beyaz	-
AHR 141	Sarı	Beyaz	-
AHR 142	Sarı	Beyaz	-
AHR 143	Sarı	Beyaz	-
AHR 144	Sarı	Beyaz	-
AHR 145	Sarı	Beyaz	-
AHR 146	Sarı	Beyaz	-
AHR 147	Sarı	Beyaz	-



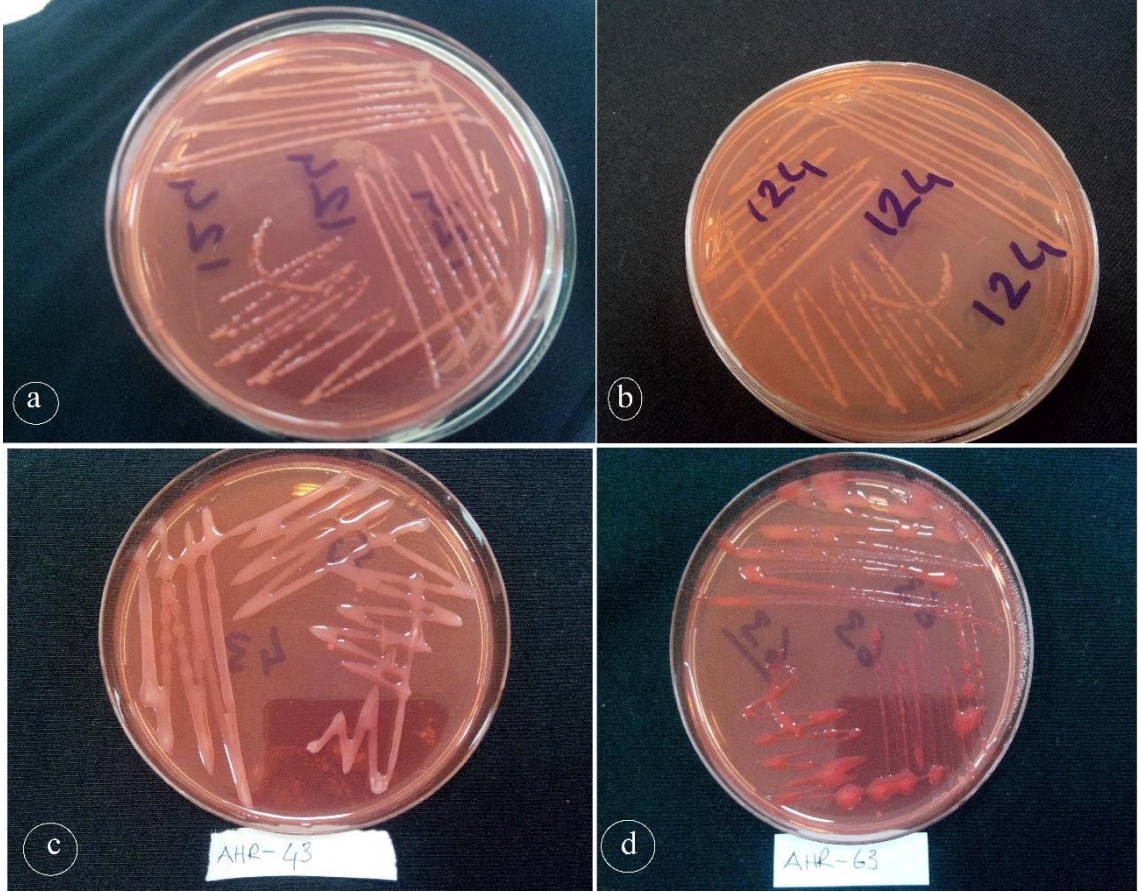
Şekil 4.7. Brom timol mavili YMA besiyerinde üreme



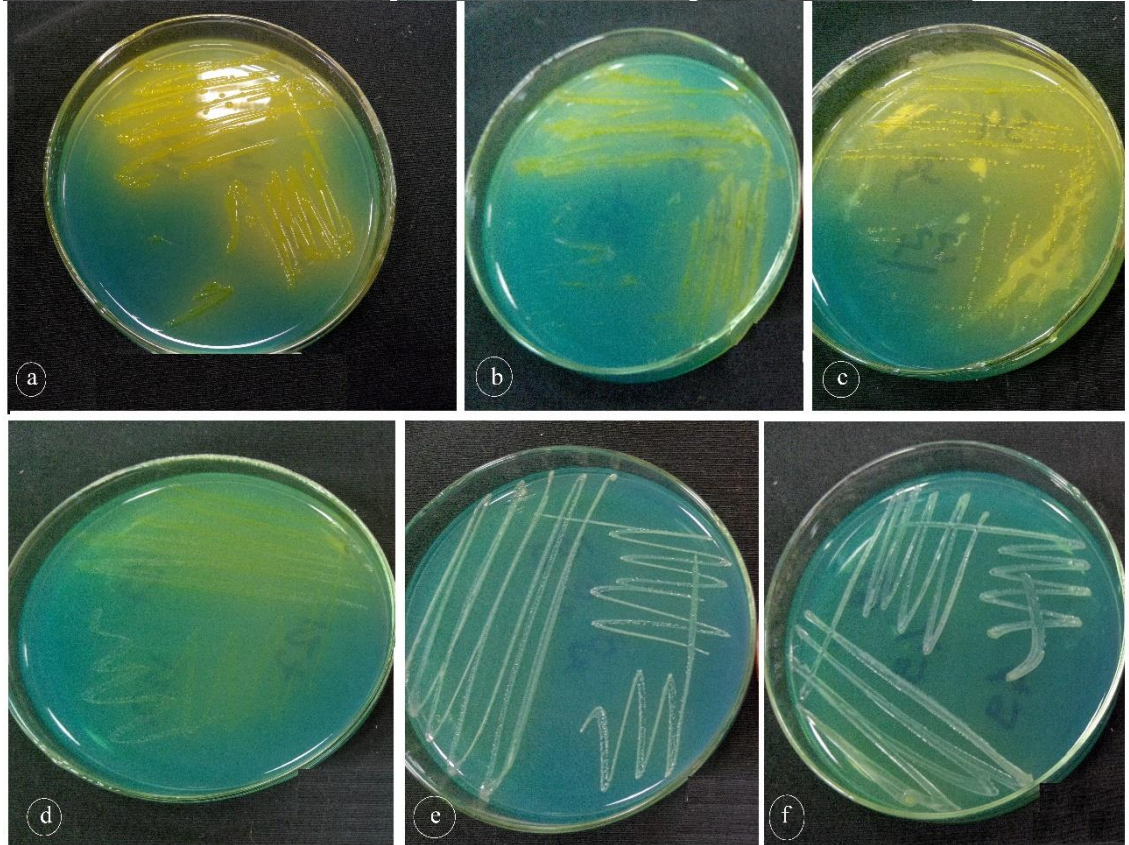
Şekil 4.8. Kongo kırmızılı YMA besiyerinde üreme



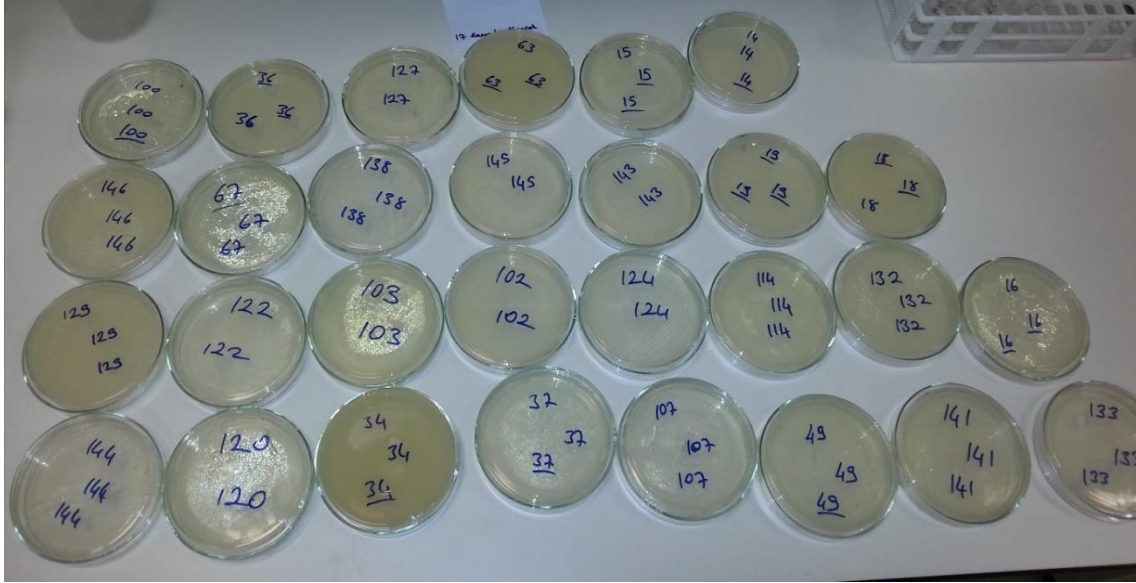
Şekil 4.9. Pepton glikoz agarda üreme



Şekil 4.10. Kongo kırmızı YMA'da üreme gösteren koloniler (a-b-c-d)



Şekil 4.11. Brom timol mavili YMA'da üreme gösteren koloniler(a-b-c-d-e-f)



Şekil 4.12. Pepton glikoz agar besiyerinde üreme gösteren koloniler

4.2.3. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri

Elde edilen izolatların hareketlilik, katalaz ve oksidaz test sonuçları Tablo 4.4. ve Şekil 4.13’de verilmiştir. Test sonuçlarına göre 98 izolatın 3 test bakımından da pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri

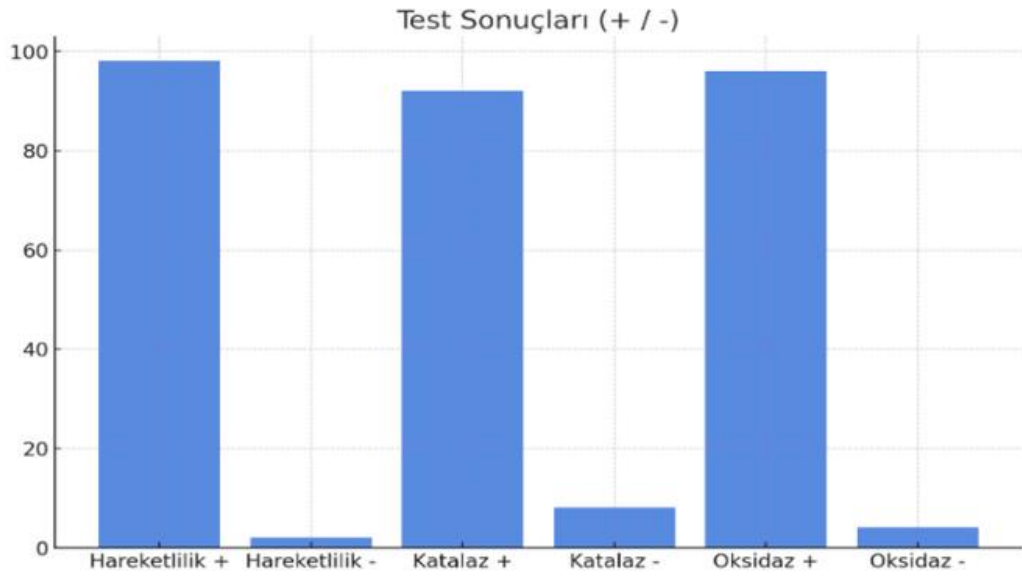
İzolat No	Hareketlilik Testi	Katalaz Testi	Oksidaz Testi
AHR 1	+	+	+
AHR 2	+	+	+
AHR 3	+	+	+
AHR 4	+	+	+
AHR 5	+	+	-
AHR 6	+	+	+
AHR 7	+	+	+
AHR 8	+	+	+
AHR 9	+	+	+
AHR 10	+	+	+
AHR 11	-	-	+
AHR 12	+	+	+
AHR 13	+	+	+
AHR 14	+	+	+
AHR 15	+	+	+
AHR 16	+	+	+
AHR 17	+	+	+
AHR 18	+	+	+
AHR 19	+	+	+
AHR 20	+	+	+
AHR 21	+	+	+
AHR 22	+	+	-
AHR 23	-	+	+

Tablo 4.4. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri (devamı)

İzolat No	Hareketlilik Testi	Katalaz Testi	Oksidaz Testi
AHR 24	+	+	+
AHR 25	+	-	-
AHR 26	+	+	+
AHR 27	+	-	+
AHR 28	+	+	+
AHR 29	+	+	+
AHR 31	+	+	+
AHR 32	+	+	+
AHR 33	+	+	+
AHR 35	+	-	-
AHR 36	+	+	+
AHR 37	+	+	+
AHR 38	+	+	+
AHR 39	+	+	+
AHR 40	+	+	+
AHR 41	+	+	+
AHR 42	+	+	+
AHR 43	+	+	+
AHR 44	+	+	+
AHR 46	+	+	+
AHR 47	+	+	+
AHR 48	+	+	+
AHR 49	+	+	+
AHR 50	+	+	+
AHR 51	+	+	+
AHR 53	+	+	+
AHR 56	+	+	+
AHR 58	+	+	+
AHR 59	+	+	+
AHR 60	+	+	+
AHR 61	+	+	+
AHR 63	+	+	+
AHR 64	+	+	+
AHR 65	+	+	+
AHR 66	+	+	+
AHR 67	+	+	+
AHR 72	+	+	+
AHR 73	+	+	+
AHR 100	+	-	+
AHR 101	+	+	+
AHR 102	+	+	+
AHR 103	+	+	+
AHR 104	+	+	+
AHR 105	+	+	+
AHR 106	+	+	+
AHR 107	+	+	+
AHR 108	+	+	+
AHR 109	+	+	+
AHR 110	+	+	+

Tablo 4.4. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri (devamı)

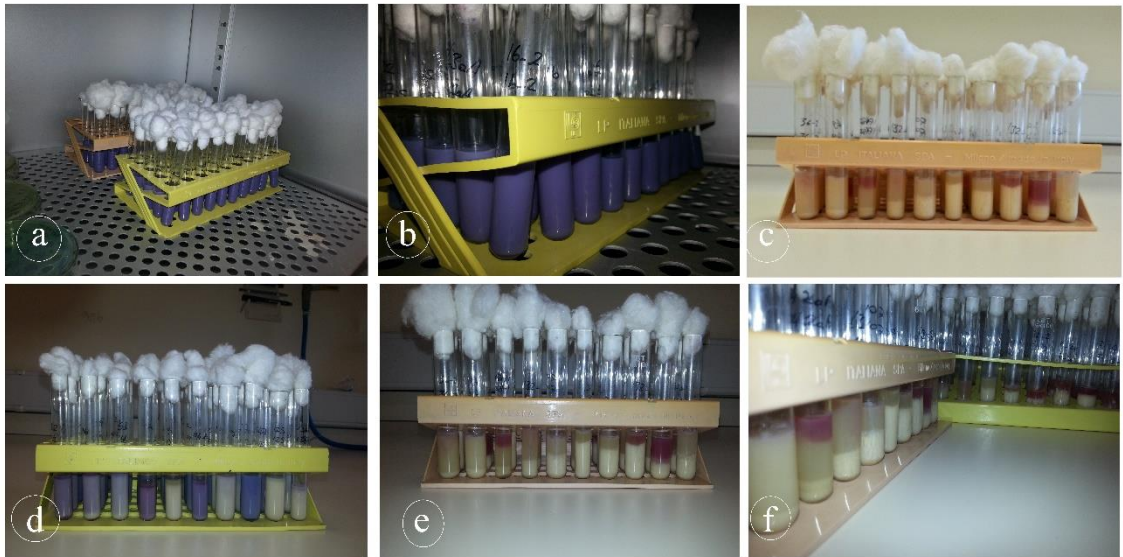
İzolat No	Hareketlilik Testi	Katalaz Testi	Oksidaz Testi
AHR 111	+	+	+
AHR 112	+	+	+
AHR 113	+	+	+
AHR 114	+	+	+
AHR 115	+	+	+
AHR 116	+	+	+
AHR 117	+	+	+
AHR 118	+	-	+
AHR 119	+	+	+
AHR 120	+	+	+
AHR 121	+	+	+
AHR 122	+	+	+
AHR 123	+	+	+
AHR 124	+	+	+
AHR 125	+	+	+
AHR 126	+	+	+
AHR 127	+	+	+
AHR 128	+	+	+
AHR 129	+	+	+
AHR 130	+	+	+
AHR 131	+	-	+
AHR 132	+	+	+
AHR 133	+	+	+
AHR 134	+	+	+
AHR 135	+	+	+
AHR 136	+	+	+
AHR 137	+	+	+
AHR 138	+	+	+
AHR 139	+	+	+
AHR 140	+	+	+
AHR 141	+	+	+
AHR 142	+	+	-
AHR 143	+	+	+
AHR 144	+	+	+
AHR 145	+	+	+
AHR 146	+	+	+
AHR 147	+	+	+



Şekil 4.13. Hareketlilik, katalaz ve oksidaz testleri

4.2.4. Litmus milk besiyerinde üreme

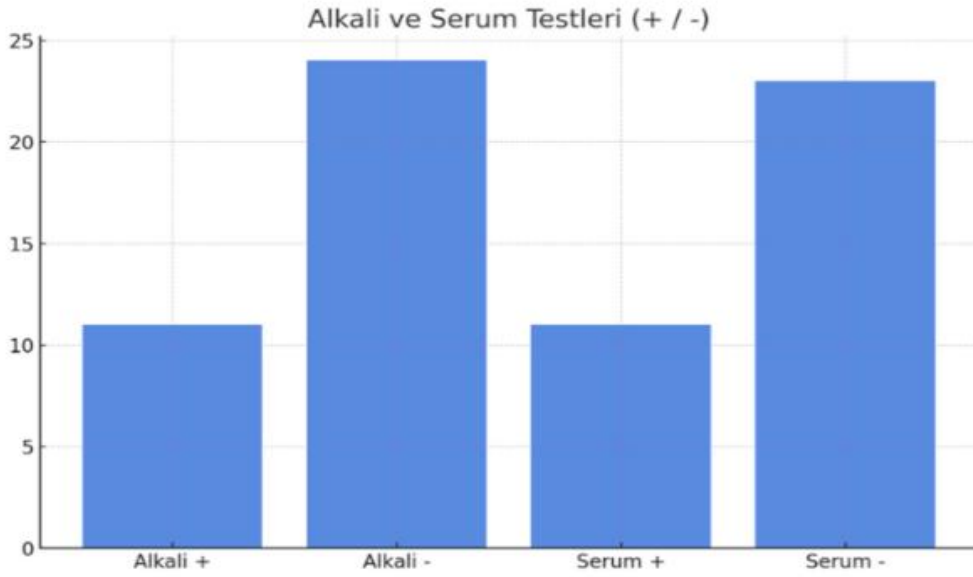
Elde edilen izolatların Litmus Milk Besiyerinde oluşturdukları alkali reaksiyon ve serum zonların sonuçları Tablo 4.5. ve Şekil 4.7’de verilmiştir. Yapılan test sonuçlarına Rhizobium türlerine uyumlu olduğu belirlenen 46 izolatın 22 tanesinin literatüre uygun olarak alkali reaksiyon gösterip serum zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. Litmus milk besiyerinde renk değişimi gösteren koloniler (a-b-c-d-e-f)

Tablo 4.5. Litmus milk besiyerinde üreme

İzolot No	Litmus Milk Besiyerinde	
	Alkali Reksiyon	Serum Zon
AHR 1	+	+
AHR 2	+	+
AHR 4	-	-
AHR 7	+	+
AHR 14	+	+
AHR 16	-	-
AHR 19	+	+
AHR 28	-	-
AHR 29	-	-
AHR 31	-	-
AHR 32	-	-
AHR 33	-	-
AHR 36	+	+
AHR 37	+	+
AHR 38	+	+
AHR 40	-	-
AHR 41	-	-
AHR 42	+	+
AHR 45	+	+
AHR 47	-	-
AHR 48	-	-
AHR 49	+	+
AHR 50	-	-
AHR 51	+	+
AHR 52	-	-
AHR 59	+	+
AHR 65	+	+
AHR 102	-	-
AHR 103	-	-
AHR 104	-	-
AHR 105	-	-
AHR 106	+	+
AHR 107	+	+
AHR 109	+	+
AHR 111	+	+
AHR 114	-	-
AHR 119	+	+
AHR 123	+	+
AHR 124	+	+
AHR 125	+	+
AHR 126	-	-
AHR 127	-	-
AHR 132	-	-
AHR 138	-	-
AHR 140	-	-
AHR 143	-	-



Şekil 4.15. Litmus milk besiyerinde üreme

Araştırmamızda yabancı nohut, fiğ ve yonca bitkilerinden izole edilen bakterilerin teşhisinde geleneksel teşhis yöntemleri uygulanmıştır. Klasik yöntemlerde izolatların kültürel özelliklerinin Rhizobium türleri için belirtilen özelliklere uyup uymadıkları araştırılmış ve bu amaçla YMA, Brom Thymol Mavi'li ve Kongo Kırmızılı YMA besiyerlerinde üreme, Gram özelliği, hareket, katalaz ve oksidaz testlerine reaksiyonları incelenmiştir. Çeşitli araştırmacılar (Beck ve ark., 1993; Öğütücü ve ark, 2009); Rhizobium bakterilerinin YMA besiyerinde beyaz-krem renkli, opak, bazen şeffaf ve mukozlu koloniler oluşturduğunu, Brom Thymol Mavi içeren YMA'da hızlı üreyenlerin yeşil renkli besiyerini asit üreterek sarıya dönüştürdüğünü, Kongo Kırmızı'lı YMA'da ise pembe-beyaz veya opak koloniler oluşturduklarını bildirmektedirler. Bu özellikler bakımından toplam 109 izolatın 31 tanesinin literatürde belirtilen özelliklere uymadığı, 78 tanesinin ise uyduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.2, tablo 4.3). Arnol ve ark. (2025), *Phaseolus vulgaris* (fasulye) kök nodüllerinden Rhizobium bakterilerini izole ve karakterize etmişlerdir. İzole edilen suşları morfolojik ve mikroskopik olarak tanımlamışlar, YEMA'da hızlı gelişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca bu bakteriler kullanılarak kömür tozu taşıyıcı materyali ile azot biyogübreleri üretmişler, altı ay raf ömrü olan preparatlar elde etmişlerdir. Araştırma, kimyasal gübre kullanımına alternatif olarak Rhizobium bazlı biyogübrelerin sürdürülebilir tarımda kullanılabileceğini göstermektedirler.

Nguyen ve ark. (2024), Vietnam'ın Quang Tri bölgesinde yetiştirilen yerli yer fıstığı (*Arachis hypogaea L.*) kök nodüllerinden Rhizobium izolatları elde etmiş ve bu

izolatları morfolojik, fizyolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlamışlardır. İzolatların çoğunun gram-negatif, çubuk şekilli ve hareketli olduğunu belirlemişler; 16S rRNA gen dizileme sonuçlarına göre bu izolatların *Rhizobium* türleriyle yüksek benzerlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca izolatlar arasında indol-3-asetik asit (IAA) üretimi, fosfat çözünürleştirme ve siderofor üretimi gibi bitki büyümesini teşvik edici özelliklerin bulunduğunu saptamışlardır. Sera denemelerinde seçilen *Rhizobium* izolatlarının inokulasyonu ile yer fıstığında nodül sayısı, biyokütle ve tane veriminin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı şekilde arttığını bildirmişlerdir.

Yapılan litmus milk besiyerinde üreme test sonuçlarına göre 22 izolatın literatüre uygun olarak alkali reaksiyon gösterip serum zonu oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

Kültürel özellikleri bakımından *Rhizobium* ile uyumlu bulunan toplam 22 izolat hücresel yapı, Gram özellikleri ve hareket yetenekleri bakımından da incelenmiş ve hepsinin çubuk şeklinde, Gram (-) ve hareketli oldukları belirlenmiştir (Tablo 4.4). Bu bulgular *Rhizobium* cinsine ait bakterilerin sitolojik özellikleriyle de uygunluk göstermektedir (Matos ve Schröder, 1989; Holt 1994; Adıgüzel, 2010; Sarkar ve ark. 2024, Choudhary ve ark. 2024, Nguyen ve ark. 2024, Boukhalfa-Deraoui ve ark. (2024), Cezayir'in farklı bölgelerinden toplanan nohut (*Cicer arietinum L.*) kök nodüllerinden *Rhizobium* izolatları elde etmiş ve bu izolatları fenotipik, fizyolojik ve moleküler yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İzolatların çoğunun yüksek düzeyde tuzluluk ve kuraklık koşullarına tolerans gösterdiğini belirlemişlerdir. 16S rRNA ve nod gen analizleri sonucunda bu izolatların *Rhizobium leguminosarum* ve *Mesorhizobium ciceri* türleriyle yakın ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Serada yapılan denemelerde seçilen izolatlarla inokule edilen nohut bitkilerinde nodül sayısı, bitki boyu, biyokütle ve tane veriminin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı şekilde arttığını bildirmişlerdir.

Mesele ve ark. (2025), Etiyopya'nın Mekelle bölgesinde yetiştirilen *Vicia faba* (bakla) bitkisinin kök nodüllerinden 61 yerli *Rhizobium* izolatı elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle kapsamlı şekilde karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar, izolatların tamamının indol-3-asetik asit (IAA), amonyak ve ekzopolisakkarit ürettiğini, ayrıca %68,75'inin fosfat çözündürme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Moleküler düzeyde yapılan analizlerde ise bazı izolatlarda nifH ve nodA genlerinin varlığı tespit edilmiştir. Saksı denemeleri sonucunda, seçilen izolatlarla inokule edilen bakla bitkilerinde kontrol grubuna kıyasla sürgün ve kök uzunluğu, yaş ve kuru biyokütle ile nodül sayısında anlamlı artışlar gözlemlendiğini rapor

etmişlerdir. Özellikle MR6, MR32, MR55 ve MR61 izolatlarının baklada biyogübre olarak değerlendirilebilecek yüksek potansiyele sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Ayrıca *Rhizobium* bakterilerinin katalaz ve sitokrom oksidaz enzimlerine sahip oldukları bildirilmektedir (Gök, 1993; Kasımoğlu, 2005; Öğütücü ve ark, 2009; Avşar 2017). Genellikle katalaz enziminin anaerobik ve mikroaerofilik bakterilerde, sitokrom oksidaz enziminin de Gram (-) fakültatif anaerobik bakterilerde bulunmadığı belirtilmekte olup (Tamer ve ark.,1986) izolatlarımızın 101 tanesi (katalaz) ve 103 tanesi (oksidaz) iki test bakımından da pozitif bulunmuştur.

Singh ve ark. (2024), Hindistan'ın Uttar Pradesh bölgesinde yetiştirilen fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) kök nodüllerinden *Rhizobium* izolatları elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İzolatların çoğunun indol-3-asetik asit (IAA) üretme, fosfat çözünürleştirme ve siderofor üretme kapasitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Saksı denemelerinde seçilen *Rhizobium* izolatlarının inokulasyonu ile fasulyede nodül sayısı, bitki boyu, biyokütle ve tane veriminin kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde arttığını gözlemlemişlerdir.

Gujar ve ark. (2025), Hindistan'da yetiştirilen siyah gram (*Vigna mungo*) bitkilerinin kök nodülleri ve rizosferik topraklarından dört *Rhizobium* izolatı (RH-I, RH-II, RH-III, RH-IV) ile üç fosfat çözücü bakteri (PSB) izole etmişlerdir. İzolasyon işlemini seri dilüsyon ve pour plate yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Laboratuvar testleri sonucunda RH-II izolatının en yüksek azot fiksasyon kapasitesine, PS-II izolatının ise en yüksek fosfat çözünürleştirme indeksine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Biyokimyasal ve fizyolojik tanımlama sonucunda bu izolatları *Rhizobium leguminosarum* ve *Pseudomonas sp.* olarak tanımlamışlar ve tarla denemelerinde kullanmışlardır. Tarla sonuçları, *Rhizobium* + PSB ile yapılan tohum aşılmasının %75 kimyasal gübre (RDF) ile birlikte uygulanmasının bitki boyu, kök nodül sayısı, kapsül sayısı, kuru madde üretimi ve verimi anlamlı şekilde artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca bu uygulama ile siyah gram üretiminde %25 oranında azot ve fosfor gübresi tasarrufu sağlanabileceğini bildirmişlerdir.

Yadav ve ark. (2024), Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanan nohut (*Cicer arietinum L.*) kök nodüllerinden *Rhizobium* izolatları elde etmiş ve bu izolatları morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İzolatların önemli bir kısmının indol-3-asetik asit (IAA) üretme, fosfat çözünürleştirme ve siderofor sentezleme kapasitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Saksı ve tarla denemelerinde

seçilen Rhizobium izolatlarının inokulasyonu ile nohutta nodül sayısı, bitki boyu, biyokütle ve tane veriminin anlamlı şekilde arttığını gözlemlemişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada Kırşehir ili ve ilçelerinden (Akçakent, Akpınar, Boztepe, Çiçekdağı, Kaman ve Mucur) toplanan yabancı baklagil türlerinden nohut (*Cicer arietinum* L.), fiğ (*Vicia cracca* L.) ve taş yoncası (*Melilotus officinalis* (L.) Desr.) *Rhizobium* sp. suşları izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin tanımlanması ve karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amacıyla morfolojik ve fizyolojik (Gram boyama, hareketlilik), biyokimyasal (katalaz ve oksidaz testleri) ile kültürel özellikleri belirlemeye yönelik çeşitli testler (Brom Timol Mavili YMA, Kongo Kırmızılı YMA, Pepton Glikoz Agar'da üreme ve Litmus Milk besiyerinde üreme) uygulanmıştır.

YMA, Brom Thymol Mavili ve Kongo Kırmızılı YMA besiyerlerinde gerçekleştirilen kültürel incelemeler sonucunda, incelenen izolatların 78'inin literatürde bildirilen tipik *Rhizobium* özellikleriyle uyumlu, 31'inin ise bu özelliklerden farklı nitelikler sergilediği belirlenmiştir. Kültürel olarak uygunluk gösteren 78 izolatın tamamının çubuk formunda olduğu ve bunlardan 32'sinin Gram negatif reaksiyon verdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, *Rhizobium* cinsine ait bakterilerin bilinen morfolojik ve sitolojik karakteristikleriyle tutarlılık göstermektedir. Uyumlu olarak tanımlanan 32 izolat üzerinde gerçekleştirilen katalaz, oksidaz ve hareketlilik testleri sonucunda, tüm izolatların söz konusu testler bakımından pozitif sonuç verdiği saptanmıştır. Ayrıca, litmus milk besiyerinde yapılan değerlendirmelerde alkali reaksiyon gösteren ve serum zonu oluşturan 22 izolatın varlığı ortaya konulmuştur.

Elde edilen sonuçlar, Kırşehir yöresinin doğal ekosisteminde baklagil bitkileriyle simbiyotik ve endofitik ilişkiler kurabilen çok sayıda *Rhizobium* suşunun bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, bölgenin biyolojik azot fiksasyonu açısından zengin bir mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle yarı kurak ve kireçli topraklara sahip Kırşehir ekosisteminde, bu bakterilerin varlığı, toprak verimliliğinin sürdürülebilirliği açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma ile elde edilen bulgular, *Rhizobium* sp. bakterilerinin yalnızca kültür bitkileriyle değil, doğal olarak yetişen yabancı baklagillerle de etkili simbiyotik ilişkiler kurabildiğini göstermektedir. Bu özellik, tarımda kullanılan mikroorganizmaların doğadaki adaptasyon potansiyelini ve çeşitliliğini anlamak açısından son derece önemlidir. Yabancı türlerden izole edilen bu bakterilerin çevresel stres koşullarına (kuraklık, tuzluluk, pH değişimleri gibi) daha dayanıklı olabileceği düşünülmektedir. Bu

nedenle, bu tür suşların gelecekte tarımsal biyoteknolojide, özellikle de biyogübre üretiminde değerlendirilmesi önemli bir potansiyel taşımaktadır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, mikrobiyal çeşitliliğin ekosistem sağlığı ve sürdürülebilir tarım uygulamaları için temel bir unsur olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur. *Rhizobium* sp. bakterilerinin azot döngüsündeki rolü göz önünde bulundurulduğunda, bu türlerin doğal ortamlardan izole edilerek kültür koşullarında çoğaltılması hem çevresel sürdürülebilirlik hem de ekonomik tarım açısından büyük katkı sağlayacaktır. Özellikle kimyasal azotlu gübrelerin yüksek maliyetleri ve çevreye verdikleri zararlar dikkate alındığında, bu tür biyolojik ajanların kullanımı çevre dostu bir alternatif olarak ön plana çıkmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları, Kırşehir yöresine özgü endofitik *Rhizobium* suşlarının gelecekte biyogübre olarak kullanılabilmesi için önemli bir temel oluşturmuştur. Elde edilen izolatların ilerleyen dönemlerde moleküler düzeyde karakterizasyonunun yapılması, 16S rRNA, *nifH* ve *nodA* gen dizilemeleriyle genetik olarak doğrulanması, simbiyotik etkinliklerinin sera ve tarla koşullarında test edilmesi gerekmektedir. Bu tür çalışmalar, elde edilen izolatların bitki gelişimini teşvik etme, nodül oluşturma kapasitesi ve azot bağlama verimliliği gibi özelliklerinin belirlenmesine olanak tanıyacaktır.

Ayrıca, bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında, bölgesel mikrobiyal kaynakların korunması ve biyoteknolojik olarak değerlendirilmesi yönünde yeni projeler geliştirilmesi önerilmektedir. Türkiye'nin farklı ekolojik bölgelerinde benzer çalışmaların yürütülmesi, ülkemizin mikrobiyal çeşitliliğinin haritalanmasına katkı sağlayacaktır. Bu tür çalışmalar sayesinde, farklı çevresel koşullara uyum sağlamış yerel suşların belirlenmesi, biyogübre üretiminde daha dayanıklı ve etkili mikrobiyal ürünlerin geliştirilmesini mümkün kılacaktır.

Kırşehir yöresi, farklı toprak yapıları ve mikroklimatik özellikleri ile zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Bu çeşitliliğin, mikrobiyal topluluk yapısı üzerinde doğrudan etkili olduğu ve özellikle endofitik bakteri popülasyonlarının çeşitlenmesine katkı sağladığı düşünülmektedir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, bu hipotezi destekler niteliktedir. Endofitik *Rhizobium* suşlarının doğal ortamda gösterdiği yüksek adaptasyon yeteneği, gelecekte çevresel stres faktörlerine dayanıklı tarımsal üretim sistemlerinin oluşturulmasında stratejik bir önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile Kırşehir yöresinden izole edilen endofitik *Rhizobium* sp. bakterilerinin kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri detaylı biçimde ortaya konulmuş ve bölgesel biyolojik çeşitliliğe dair önemli veriler elde

edilmiştir. Bu bakterilerin ilerleyen dönemde hem bilimsel araştırmalarda model mikroorganizma olarak hem de tarımsal uygulamalarda biyogübre olarak kullanılabilirliği açısından büyük bir potansiyele sahip oldukları belirlenmiştir.

Gelecekte yapılacak çalışmaların şu başlıklarda yoğunlaşması önerilmektedir:

1. Moleküler Tanımlama ve Filogenetik Analiz: İzolatların 16S rRNA, nifH ve nodA gen bölgeleri üzerinden moleküler düzeyde incelenmesi, filogenetik akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi.

2. Simbiyotik Etkinlik Denemeleri: İzolatların farklı baklagil türleriyle sera ve tarla koşullarında inokülasyon çalışmaları yapılarak, nodül oluşturma ve azot fiksasyon etkinliklerinin değerlendirilmesi.

3. Stres Toleransı Testleri: Elde edilen izolatların kuraklık, tuzluluk, pH ve sıcaklık gibi çevresel stres koşullarına karşı dayanıklılıklarının test edilmesi.

4. Biyogübre Formülasyonu: Uygun özellikteki suşların ticari biyogübre üretiminde kullanılabilirliğinin araştırılması.

5. Toprak Mikrobiyal Ekolojisi: Kırşehir yöresi topraklarının mikrobiyal topluluk yapısının metagenomik analizlerle detaylandırılması.

6. Sürdürülebilir Tarım Uygulamaları: Kimyasal gübre kullanımının azaltılması amacıyla Rhizobium içeren mikrobiyal gübrelerin tarımsal üretim zincirine entegrasyonu.

Bu kapsamda gerçekleştirilecek multidisipliner araştırmalar, yalnızca bölgesel tarımın değil, aynı zamanda ülke genelinde evre dostu, sürdürülebilir üretim sistemlerinin geliştirilmesine de katkı sağlayacaktır. Kırşehir yöresinden elde edilen bu yerel mikrobiyal kaynakların değerlendirilmesi, hem ekonomik hem ekolojik açıdan stratejik bir adım olacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışma hem bilimsel hem uygulamalı açıdan önemli bir boşluğu doldurmuş, bölgesel mikrobiyal kaynakların tarımsal biyoteknoloji açısından potansiyelini ortaya koymuştur. Elde edilen bulguların ilerleyen yıllarda yapılacak çalışmalar için temel oluşturacağı ve bu doğrultuda ülkemizde biyogübre üretimi, mikrobiyal çeşitlilik haritalaması ve sürdürülebilir tarım uygulamaları gibi alanlarda önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Kadmiri, I. M. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 628379.
- Açıkgöz, E., 2021. *Yem Bitkileri I. Cilt*. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Adıguzel, A., Öğütçü, H., Baris, O., Karadayi, M., Gulluce, M., & Sahin, F. (2010). Genetic diversity of Rhizobium strains isolated from wild vetch collected from high altitudes in Erzurum-Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, *15*(1), 5017-5024.
- Al Mamun, A., Islam, S. B., Mondal, M., Al Hasan, M. A., Sultana, S., & Nazim, M. S. (2025). *Isolation and characterization of Rhizobium strains for enhancing plant growth and stress tolerance under drought and salinity. Preprints*, 202504.
- Albayrak, S., & Sevimay, C. (2005). Ankara ve Samsun koşullarında bakteri aşılmasının yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinin kuru ot ve tohum verimleri üzerine etkileri ve stabilite analizi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, *11*(3), 263-269.
- Anonymous, (1983). Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation. Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, p.34-36.
- Arnol, A. J., Desire, M. H., Fonmboh, D. J., Fosah, M. R., ve Fotso. (2025). Production of biofertilizers using Rhizobium isolated from Phaseolus vulgaris root nodules. *African Journal of Biology and Medical Research*, *8*(1), 71–85.
- Aserse, A. A., Nimusiima, J., Tumuhairwe, J. B., Yli-Halla, M., & Lindström, K. (2024). *Phylogenetic diversity of Rhizobium species recovered from nodules of common beans (Phaseolus vulgaris L.) in fields in Uganda: R. phaseoli, R. etli, and R. hidalgonense. FEMS Microbiology Ecology*, *100*, fae120.
- Avşar, C. (2017). *Kırşehir il merkezi ve ilçelerindeki yabani baklagil bitkilerinden izole edilmiş Rhizobium sp. izolatlarının siderofor ve poli-β-hidroksibütirat (PHB) üretim kapasitelerinin araştırılması* [Yüksek lisans tezi, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Avcıoğlu, R., Soya, H., Açıkgöz, E. & Tan, A., 2000. *Yem bitkileri üretimi*. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı, 1. Cilt, s. 567-585, Ankara.
- Aydın, M. (2004). Bakteri identifikasyonunda kullanılan standart, biyokimyasal ve fizyolojik testler. *Güneş Yayınevi* (pp. 91-110).

- Aydınlı, G., & Mennan, S. (2014). Kök-ur nematodları (Nematoda: Meloidogynidae)'nda konukçu-parazit ilişkisi: Hücresel ve moleküler bakış. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(4), 160-170.
- Bale, N. J., Koenen, M., Ding, S., & Sinninghe Damsté, J. S. (2025). *N-glyceroyl alkylamine phosphoglycolipids dominate the lipidome of several Bacillota bacteria*. *Systematic and Applied Microbiology*, 48, 126609.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266.
- Beck, D. P., Materon, L.A. and Afandi, F. (1993). Practical Rhizobium-Legume. Technology Manual. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). Aleppo Syria. P 1-54.
- Bhattacharya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327-1350.
- Balabanlı, C., Albayrak, S., Türk, M., & Yüksel, O. (2006). 4342 sayılı mera kanunu uygulamasında karşılaşılan sorunlar ve çözüm yolları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, Seri A(1)*, 75-81.
- Basile, L. A., & Lepek, V. C. (2021). Legume–rhizobium dance: An agricultural tool that could be improved? *Microbial Biotechnology*, 14(5), 1897-1917.
- Bayrak, D., & Ökmen, G. (2014). Bitki gelişimini uyarıcı kök bakterileri. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(1), 1-13.
- Botero, J., Basler, N., Cnockaert, M., Peeters, C., Schreiber, M., Marz, M., de Graaf, D. C., Matthijssens, J., & Vandamme, P. (2025). *Identification and functional genomic analyses of Bartonella isolates from honey bees, and reassessment of the taxonomy of the genus Bartonella*. *Systematic and Applied Microbiology*, 48, 126625
- Böhm, M., Hurek, T., & Reinhold-Hurek, B. (2007). Twitching motility is essential for endophytic rice colonization by the N₂-fixing endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(5), 526-533.
- Canbolat, Ö., & Karaman, Ş. (2009). Bazı baklagil kaba yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, organik madde sindirimi, nispi yem değeri ve metabolik enerji içeriklerinin karşılaştırılması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2), 188-195.

- Cauwenberghe, J., Verstraete, B., Lemaire, B., Lievens, B., Michiels, J. & Honnay, O. (2014). *Population structure of root-nodulating Rhizobium leguminosarum in Vicia cracca populations at local to regional geographic scales*. *Systematic and Applied Microbiology*, 37(8), 613-621.
- Castro, I. V., Ferreira, E. M. & McGrath, S. P. (2003). Survival and plasmid stability of rhizobia introduced into a contaminated soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 49-54
- Carlson, R. W., Forsberg, L. S., Kannenberg, E., Jeyaretnam, B., & Reuhs, B. (1997). Rhizobial capsular and lipopolysaccharides: Evidence for their importance in *Rhizobium*-legume symbiosis. In D. L. Keister & P. B. Cregan (Eds.), *Biological fixation of nitrogen for ecology and sustainable agriculture* (pp. 353-359). Springer.
- Choudhary, R. K., Kumar, A., ve Singh, N. (2024). Characterization of *Rhizobium* isolates from *Cicer arietinum* L. and their role in enhancing nodulation and yield. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 13(2), 145–156.
- Compant, S., Mitter, B., Colli-Mull, J. G., Gangl, H., & Sessitsch, A. (2011). Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: Identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. *Microbial Ecology*, 62(1), 188-197.
- Coşkan, A., Gök, M., & Doğan, K. (2006). Anız yakılmış ve yakılmamış parseller üzerine uygulanan tütün atığının soyada biyolojik azot fiksasyonuna ve verime etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(3), 239-245.
- Çokkızgın, A., Çölkesen, M., Kayhan, K., & Aygan, M. (2005). Kahramanmaraş koşullarında değişik kışlık mercimek (*Lens culinaris* Medic.) çeşitlerinde verim ve verim özellikleri üzerine bir araştırma. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2), 285-290.
- Dağlı, B. (2023). *Genista spp.* 'den simbiyotik azot fikse edici bakterilerin izolasyonu ve filogenetik identifikasyonu [Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. Ege Üniversitesi Tez Arşivi.
- Dasgupta, D., Paul, A., Acharya, K., Minkina, T., Mandzhieva, S., Gorovtsov, A. V., Chakraborty, N., & Keswani, C. (2023). Bioinoculant mediated regulation of signalling cascades in various stress responses in plants. *Heliyon*, 9, e12953.

- Demir, A., Tepe, İ., & Erman, M. (2005). Nohutta (*Cicer arietinum* L.) farklı mücadele yöntemlerinin yabancı otlanmaya, verime, bazı verim unsurlarına ve nodülasyona etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(1), 71-75.
- Elkoca, E., & Kantar, F. (2001). Baklagillerde simbiyotik azot fiksasyonuna etki eden bazı faktörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(2), 197-205.
- Erol, T. (2012). Yonca (*Medicago sativa* L.) ve kılçıksız brom (*Bromus inermis* Leyss) karışım oranlarının ve jips uygulamalarının botanik kompozisyon ve eşdeğer alan indeksine etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(1), 75-82
- Erbey, Y. İ. (2015). Bazı Curculionidae (Coleoptera) familyası bireylerinin sindirim sistemlerindeki bakteri florasının incelenmesi. Yüksek lisans tezi, *Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Frioni, L., Rodríguez, A. & Meerhoff, M. (2001). *Differentiation of Rhizobia Isolated from Native Legume Trees in Uruguay*. *Applied Soil Ecology*, 16, 275-282.
- Gala-Gala, M., Denawa, M., & Sudianto, E. (2025). *Diversity of native rhizobia nodulating soybean (Glycine max [L.] Merrill) and their effectiveness as plant growth-promoting rhizobacteria*. *Legume Research*, 48(2), 257–263.
- Gök, M. (1993). Soya, üçgül, bakla ve fiğ bitkilerine ait değişik *Rhizobium* sp. suşlarının ekolojik yönden önemli bazı özelliklerinin laboratuvar koşullarında belirlenmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 17, 921-930.
- Gök, M., & Martin, P. (1993). Farklı *Rhizobium* bakterileri ile aşılamanın soya, üçgül ve fiğde simbiyotik azot fiksasyonuna etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 17, 753-761.
- Gökkuş, A. ve Koç, A., 1993. *Mera ekosistemlerinde azot döngüsü*. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 6, 3-9.
- Gujar, V. S., Gud, M. A., Navale, A. M., Durgude, A. G., Gagare, K. C., & Sankpal, S. H. (2025). Effect of liquid formulation of *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria on growth and yield of black gram (*Vigna mungo*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 14(2), 178–182
- Guro, P., Karlov, D., Kuznetsova, I., Sazanova, A., Belimov, A., & Safronova, V. (2023). *Draft genome sequence of Rhizobium sp. strain 32-5/1, isolated from Vicia cracca L. root nodules in the Russian Arctic*. *Microbiology Resource Announcements*, 12(6), e00287-23.

- Gupta, V. V. S. R., & Roley, S. S. (2023). Nitrogen: Non-symbiotic nitrogen fixation in soils. In D. L. Sparks (Ed.), *Encyclopedia of Soils in The Environment* (2nd ed., Vol. 1, pp. 283-292).
- Güvercin, E., 2009. *Farklı yerfıstığı çeşitlerinde bakteri aşılması ve demir uygulamasının nodülasyon ve verime etkisi*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., & Kloepper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10), 895-914.
- Hauck, R. D., 1971. *Quantitative estimates of nitrogen-cycle processes: concepts and review*. İçinde: *Nitrogen-15 in Soil-Plant Studies*. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, s. 65–80.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 16(10), 463-471.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, Ha A., Staley, J.T. and Williams, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland (9 nd ed.), p 5-98.
- Huang, Y., Ji, Z., Zhang, S., & Li, S. (2024). Function of hormone signaling in regulating nitrogen-use efficiency in plants. *Journal of Plant Physiology*, 294, 154191.
- Jasim, M. H., & Sultan, R. H. (2023). *Isolation of polysaccharide producers and heavy metal-tolerant local rhizobial isolates*. *Advancements in Life Sciences*, 10(4), 657–662.
- Jha, P. N., Gupta, G., Jha, P., & Mehrotra, R. (2013). Association of rhizospheric/endophytic bacteria with plants: A potential gateway to sustainable agriculture. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 73-84.
- Kasımoğlu, C. (2005). Farklı tuz stresi şartlarında, yabancı baklagil bitkilerinden izole edilen *Rhizobium* suşlarının nodülasyon ve azot bağlama potansiyellerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Kayan, N., Olgun, M., Kutlu, İ., Ayter, N. G., & Gülmezoğlu, N. (2014). Sulanan ve sulanmayan koşullarda yetiştirilen nohut (*Cicer arietinum* L.)'un gelişme seyrinin belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(3), 387-398.
- Kadıoğlu, A. (1998). *Bitki Fizyolojisi*, Trabzon, s. 84-99.

- Kant, S. (2018). Understanding nitrate uptake, signaling and remobilisation for improving plant nitrogen use efficiency. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 74, 89-96.
- Kızıloğlu, F. T. (1999). Toprak organizmalarının azot formları arasındaki dönüşümlere ve çevreye etkileri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, (30), 27-30.
- Kızıloğlu, F. T. (1991). Değişik dozlarda nitrojenli gübrelemenin ve *Rhizobium japonicum* kültürleri ile aşılamanın, Erzurum tarla koşullarında bazı soya çeşitlerinin ürün verimi, protein ve yağ içeriğine etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 78-92.
- Kızıloğlu, F. T. (1992). Erzurum yöresinde üretilen yeşil mercimek (*Lens culinaris*) bitkisinin etkili *Rhizobium leguminosarum* suşlarının seçimi üzerine bir araştırma. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der.* 23(1), 39-52.
- Kozieł, M., Kalita, M., & Janczarek, M. (2022). Genetic diversity of microsymbionts nodulating *Trifolium pratense* in subpolar and temperate climate regions. *Scientific Reports*, 12, 12144.
- Küçük, Ç., & Güler, İ. (2009). Bitki gelişimini teşvik eden bazı biyokontrol mikroorganizmalar. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 7(1), 30-42.
- Liu, J., Wang, E. T. & Chen, W. X. (2005). Diverse rhizobia associated with woody legumes *Wisteria sinensis*, *Cercis racemosa* and *Amorpha fruticosa* grown in the temperate zone of China. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(5), 465-477.
- Liebrenz, K., Frare, R., Gómez, C., Pascuan, C., Brambilla, S., Soldini, D., Maguire, V., Carrio, A., Ruiz, O., McCormick, W., Soto, G., & Ayub, N. (2022). Multiple ways to evade the bacteriostatic action of glyphosate in rhizobia include the mutation of the conserved serine 90 of the nitrogenase subunit NifH to alanine. *Research in Microbiology*, 173, 103952.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541-556.
- Mamun, A., Bin Islam, S., Mondal, M., Abdulla Al Hasan, M., Sultana, S. ve Nazim, M. (2025). *Vigna radiata* ve *Cajanus cajan* kök nodüllerinden izole edilen *Rhizobium* suşlarının bitki gelişimi ve stres toleransı üzerine etkileri. *Preprints*, 2025(4), 1-15.
- Maskall, C. S., Gibson, J. F., & Dart, P. J. (1977). Electron-paramagnetic-resonance studies of leghaemoglobins from soya-beans and cowpea root nodules. *Biochemical Journal*, 167(2), 435-445.

- Meyer, S.E., Van Hoorde, K., Vekeman, B., Braeckman, T. & Willems, A. (2011). Genetic diversity of rhizobia associated with indigenous legumes in different regions of Flanders (Belgium). *Soil Biology & Biochemistry*, 43, 2384-2396.
- Mesele, E., Kebede, A., Redda, Y. T., Yaekob, A. T., Kasegn, M. M., Meresa, B. K., Gebreyohans, G., Hadush, R., Semere, T., & Gebreyohannes, G. (2025). Potential of indigenous rhizobia for enhancing plant growth and improving faba bean (*Vicia faba* L.) yield in Mekelle, Ethiopia. *Discover Agriculture*, 3(57).
- Müftüoğlu, N. M., & Demirer, T. (1998). Toprakta azot bilançosu. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(1), 175-185.
- Nguyen, V., & Searle, I. R. (2022). An efficient root transformation system for recalcitrant *Vicia sativa*. *Frontiers in Plant Science*, 12, 781014.
- Öğütçü, H., Adıgüzel, A., Güllüce, M., Karadayı, M., & Şahin, F. (2009). Molecular characterization of *Rhizobium* strains isolated from wild chickpeas collected from high altitudes in Erzurum-Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(2), 4294-4300.
- Öğütçü, H., & Algur, Ö. F. (2014). Yabani baklagil bitkilerinden, mikrobiyal gübre olarak kullanılan *Rhizobium* bakterilerinin izolasyonu. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(4), 181-184.
- Pedrosa, F. O., Monteiro, R. A., & Wasseem, R. (2011). Genome of *Herbaspirillum seropedicae* strain SmR1, a specialized diazotrophic endophyte of tropical grasses. *PLoS Genetics*, 7(5), e1002064.
- Prieto, P., Schilirò, E., Maldonado-González, M. M., Valderrama, R., Barroso-Albarracín, J. B., & Mercado-Blanco, J. (2011). Root hairs play a key role in the endophytic colonization of olive roots by *Pseudomonas* sp. with biocontrol activity. *Microbial Ecology*, 62(2), 435-445.
- Rai, U. N., Pandey, K., Sinha, S., Singh, A., Saxena, R. & Gupta, D. K. (2004). *Revegetating fly-ash landfills with Prosopis juliflora L.: Impacts of different amendments and Rhizobium inoculation*. *Environmental International*, 30, 293-300.
- Romdhane, S., Trabelsi, M., Aouani, M.E., de Lajudie, P. & Mhamdi, R. (2009). The diversity of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) under water deficiency as a source of more efficient inoculants. *Soil Biology & Biochemistry*, 41, 2568-2572.

- Rothballer, M., Eckert, B., Schmid, M., Fekete, A., Schloter, M., Lehner, A., Pollmann, S., & Hartmann, A. (2008). Endophytic root colonization of gramineous plants by *Herbaspirillum frisingense*. *FEMS Microbiology Ecology*, 66(1), 85-95.
- Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (2011). Living inside plants: Bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4), 435-443.
- Riah, N., Béna, G., Djekoun, A., Heulin, K., de Lajudie, P. & Laguerre, G. (2014). Genotypic and symbiotic diversity of Rhizobium populations associated with cultivated lentil and pea in sub-humid and semi-arid regions of Eastern Algeria. *Systematic and Applied Microbiology*, 37(5), 334-341.
- Roca-Couso, R., Flores-Félix, J. D., Ayuda-Durán, B., Ferreras-Charro, R., García-Estévez, I., García-Fraile, P., & Rivas, R. (2025). *Rhizobium* biostimulation of blackberry modulates survival pathways in *Caenorhabditis elegans* across biological kingdoms. *npj Science of Food*, 9(160), Article 160.
- Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(8), 827-837.
- Roy, S., King, G. M., & Hernández, M. (2025). Classification of MAGs associated with trace gas metabolism in volcanic soils named following SeqCode rules. *Systematic and Applied Microbiology*, 48, 126622.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278(1), 1-9.
- Shamseldin, A., Moawad, H. & Sadowsky, M. J. (2014). Near-full length sequencing of 16S rDNA and RFLP indicates that *Rhizobium etli* is the dominant species nodulating Egyptian winter Berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.). *Systematic and Applied Microbiology*, 37(2), 121-128.
- Sarkar, S., Roy, P., ve Chatterjee, M. (2024). Isolation and characterization of Rhizobium from *Lens culinaris* Medik. and its effect on plant growth under pot conditions. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 15(4), 201–213.
- Sağlam, S., Çiftçi, C. Y., Khawar, K. M., Atak, M., & Özcan, S. (2005). *In vitro* koşullarda fasulye bitkisine dört yapraklı aşamada transformasyon çalışmaları. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2), 291-294.
- Sánchez-Salazar, A. M., Taparia, T., Olesen, A. K., Acuña, J. J., Sørensen, S. J., & Jorquera, M. A. (2023). An overview of plasmid transfer in the plant microbiome. *Plasmid*, 127, 102695.

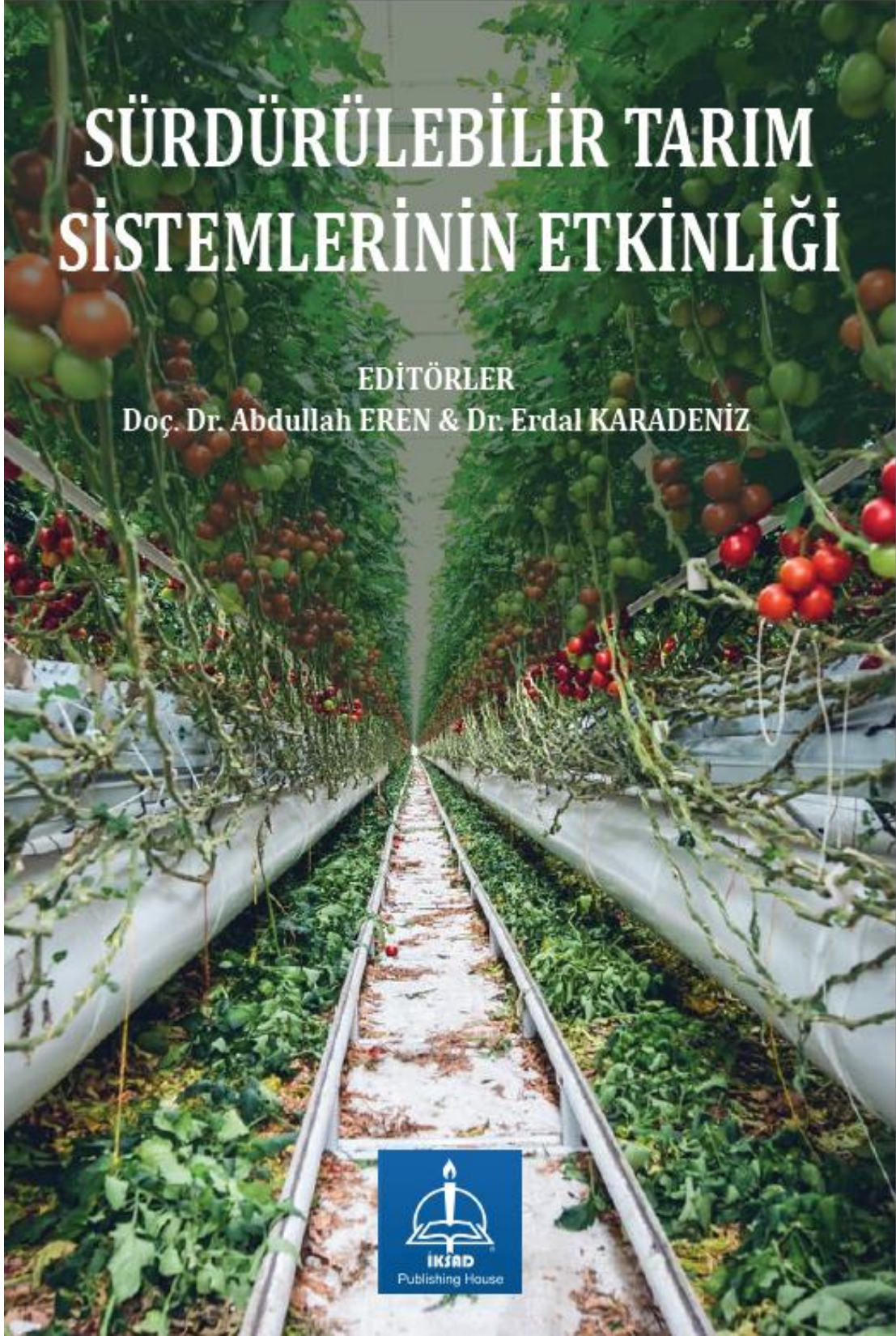
- Serrato, R. V., Sasaki, G. L., Cruz, L. M., Carlson, R. W., Muszynski, A., Monteiro, R. A., Pedrosa, F. O., Souza, E. M., & Iacomini, M. (2010). Chemical composition of lipopolysaccharides isolated from various endophytic nitrogen-fixing bacteria of the genus *Herbaspirillum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(4), 342-347.
- Seidu, O. A., Githiri, S. M., Wesonga, J. M., & Ngumi, V. W. (2025). Isolation, screening and in-vitro characterization of plant growth-promoting *Bradyrhizobium* isolates from the nodules of Bambara groundnut (*Vigna subterranea*) for potential use as bioinoculants. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1506346
- Servín-Garcidueñas, L. E., Moral, A. Z., Martínez-Romero, E., & Delgado-San Vicente, A. (2014). Symbiont shift towards *Rhizobium* nodulation in a group of phylogenetically related *Phaseolus* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 79, 1-11
- Sezgin, M., Şanlı, A., & Kaya, M. (2009). Bezelye (*Pisum sativum* L.)’de külleme hastalığı, kontrolü ve dayanıklılık kaynakları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 18(1-2), 55-59.
- Schlegel, H. G., 1986. *General Microbiology*. 6. Baskı (İngilizce çeviri: Margot Kogut), Cambridge University Press, Cambridge
- Sirinelli-Kojadinovic, M., Turrini, E. C. A., Ropion, E., Alonso, B., Bergot, M., Gachon, E., Ortet, P., Soto-Rodriguez, P. E. D., Monteil, C. L., & Lefevre, C. T. (2025). *Magnetovirga frankeli* gen. nov., sp. nov., a magnetotactic bacterium isolated from the Salton Sea, California, that represents a novel lineage in the Gammaproteobacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 48, 126621.
- Sloger, C. (1969). Symbiotic effectiveness and N₂ fixation in nodulated soybean. *Plant Physiol*, 44, 1666-1668.
- Somasegaran, P. and Hoben, H. J., (1985). Methods in legume *Rhizobium* technology. Library of Congress Number 87-106109, Havai, p.1-52.
- Sun, C. (2022). A rhizobial non-coding RNA has an effect on symbiotic nodulation by regulating an ABC transporter. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 603, 82-87.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (1991). *Plant physiology*, Benjamin Cummings (pp. 405-421).
- Tamer, A. Ü., Şahin, N., İpek, I., & Kalmış, E. (1994). Ekosistemlerdeki azot devrinde mikroorganizmaların yeri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, (11), 3-9.

- Taşbakan, M. I., Görümlü, G., Pullukçu, H., Şanlı, U. A., Sipahi, O. R., Karabulut, B., & Tünger, A. (2008). Nadir bir katetere bağlı bakteriyemi etkeni: *Rhizobium radiobacter*. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 42(2), 349-352.
- Temiz, A. (2010) *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*, Hatipoğlu Yayıncılık, Ankara, 277.
- Tena, W., Wolde-Meskel, E., Degefu, T., Aserse, A. A., & Lindström, K. (2024). *Molecular characterization of native rhizobia nodulating lentil (Lens culinaris Medik.) in Ethiopia and assessment of symbiotic effectiveness under controlled conditions. Frontiers in Plant Science*, 15, 1395345.
- Tonguç, M., Şanlı, A., & Kaya, M. (2009). Bezelye (*Pisum sativum* L.)’de külleme hastalığı, kontrolü ve dayanıklılık kaynakları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 18(1-2), 55-59.
- Turgeon, B. G., & Bauer, W. D. (1985). Ultrastructure of infection-thread development during the infection of soybean by *Rhizobium japonicum*. *Planta*, 163(3), 328–349.
- Uçar, F. ve Öner, M. (1988). Nohut kök nodüllerinden izole edilen Rhizobium suşlarının morfolojik ve biyokimyasal karakterleri. *Doğa Tu Biyol. (Genetik, Mikrobiyoloji, Moleküler Biyoloji, Sitoloji)* 12 (2), 135-141.
- Ülgen, H. (1975). Baklagil bitkilerinin nodül bakterileri (Rhizobium) ile aşılması. *Ankara Toprak ve Gübre Araşt. Enst. Müd. Yay. Genel Yay. No: 56, Teknik Yay. No: 40, S.1 - 34.*
- Wolde-meskel, E., Terefework, Z., Lindström, K. & Frostegård, Å. (2004). Metabolic and genomic diversity of rhizobia isolated from field standing native and exotic woody legumes in southern Ethiopia. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(5), 603-611.
- Wulandari, D., Baskoro, K., Mahmuudah, Y., Kusmiyati, F., Pratiwi, A. R., & Budiharjo, A. (2024). *Bioprospecting of Rhizobia as plant growth promoting rhizobacteria potential from root nodules of groundnut (Arachis hypogaea L.)*. *Trends in Sciences*, 21(7), 7651.
- Yadav, S. K., Patel, R., ve Sharma, V. (2024). Evaluation of Rhizobium isolates from Cicer arietinum for plant growth promotion and yield enhancement. *Legume Research*, 47(5), 621–630.

- Yang, J., Lan, L., Jin, Y., Yu, N., Wang, D., & Wang, E. (2022). Mechanisms underlying legume-rhizobium symbioses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 64(2), 244-267.
- Yılmaz, H. A. (1999). Kahramanmaraş ekolojisinde farklı ekim sıklıklarının, iki soya (*Glycine max* (L.) Merrill) çeşidinde, verim ve verim unsurlarına etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23, 223-23
- Yoshioka, K., & Yoshiharu, M. (1990). Characterization and symbiotic nitrogen fixation of *Rhizobium* that nodulates Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.). *Soil Science and Plant Nutrition*, 36(1), 83-90.
- Yolcu, T., & Tan, M. (2008). Ülkemiz yem bitkileri tarımına genel bir bakış. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 14(3), 303-312.
- Youseif, S. H., Abd El-Megeed, F. H., Mohamed, A. H., Ageez, A., Veliz, E., & Martínez-Romero, E. (2021). Diverse *Rhizobium* strains isolated from root nodules of *Trifolium alexandrinum* in Egypt and symbiovars. *Systematic and Applied Microbiology*, 44(1), 126156.
- Zhao, L. F., Deng, Z. S., Yang, W. Q., Cao, Y., Wang, E. T. & Wei, G. H. (2010). Diverse rhizobia associated with *Sophora alopecuroides* grown in different regions of Loess Plateau in China. *Systematic and Applied Microbiology*, 33(8), 468-477.
- Zou, J.-n., Zhang, Z.-g., Kang, Q.-l., Yu, S.-y., Wang, J.-q., Chen, L., Liu, Y.-r., Ma, C., Zhu, R.-s., Zhu, Y.-x., Dong, X.-h., Jiang, H.-w., Wu, X.-x., Wang, N.-n., Hu, Z.-b., Qi, Z.-m., Liu, C.-y., Chen, Q.-s., Xin, D.-w., & Wang, J.-h. (2022). Characterization of chromosome segment substitution lines reveals candidate genes associated with the nodule number in soybean. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(8), 2197-2210.

EKLER

Ek-1 Hazırlanan Kitap Bölümü



BÖLÜM 10

ENDOFİTİK BAKTERİLERİN BİTKİ MİKROBİYOTASINDAKİ YERİ VE ÖNEMİ

Doç. Dr. Didem CANİK OREL.....225

BÖLÜM 11

BİYODİZEL YAKITLARDA OKSİDASYON KARARLILIĞI BELİRLEME YÖNTEMLERİ

Dr. Gediz UĞUZ.....239

BÖLÜM 12

İSTANBUL İLİ SİLİVRİ İLÇESİNDE KOYUN BESİCİLİĞİ YAPAN İŞLETMELERİN İYİ TARIM UYGULAMALARI AÇISINDAN İNCELENMESİ

Metin BEZEK, Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ.....257

BÖLÜM 13

KIRŞEHİR YÖRESİNDEN TOPLANAN YABANI BAKLAGİL BİTKİLERİNDEN *Rhizobium* Spp. BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Prof. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ, Öğrt. Ali BAŞYİĞİT.....289

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ali BAŞYİĞİT
Uyruğu	T.C.
Orcid Numarası	0000-0002-9921-0694

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2011
Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	2025

Bilimsel Yayınlar
Yazılan Uluslararası Kitaplar veya Kitaplardaki bölümler: Öğütücü, H., <u>Başıyigit, A.</u> , (2021). <i>Kırşehir Yöresinden Toplanan Yabani Baklagil Bitkilerinden Rhizobium sp. Bakterilerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu. Sürdürülebilir Tarım Sistemlerinin Etkinliği</i> . Edt: Doç. Dr. Abdullah EREN, Dr. Erdal KARADENİZ, Iksad Publications-2021, ISBN: 978-625-8061-15-4.
Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler: Öğütücü, H., <u>Başıyigit, A.</u> , (2014). <i>Isolation and Identification of Rhizobium sp.. Bacteria of Wild Leguminous Plants Collected from Kırşehir</i> . 3rd International Congress of Molecular Biology and Biotechnology, June 02-06, International University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. Öğütücü, H., <u>Başıyigit, A.</u> , (2015). <i>Isolation and Identification of Rhizobium Strains of Wild Leguminous Species Collected from Kırşehir</i> . International Conference on Engineering and Natural Science, (ICENS2015), May 15-19, Skopje, Makedonya.
Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler: Öğütücü, H., <u>Başıyigit, A.</u> , (2012). <i>Gıda Maddelerinde Biyosensör Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar</i> . 11. Gıda Kongresi 10-12 Ekim, Hatay.