MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇELTİK ATIKLARININ TOPRAK KÖKENLİ LİGNOSELÜLOLİTİK BAKTERİ UYGULAMASI İLE MİKROBİYAL DÖNÜŞÜMÜ VE ÇELTİK GELİŞİMİNE ETKİLERİ

GAMZE KURTULUŞ

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Filiz VARDAR

İSTANBUL, 2025

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇELTİK ATIKLARININ TOPRAK KÖKENLİ LİGNOSELÜLOLİTİK BAKTERİ UYGULAMASI İLE MİKROBİYAL DÖNÜŞÜMÜ VE ÇELTİK GELİŞİMİNE ETKİLERİ

GAMZE KURTULUŞ

720119003

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Filiz VARDAR

İSTANBUL, 2025

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübesini paylaşan, tez çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen ve bana her zaman yol gösteren çok değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Filiz VARDAR'a,

Tez sürecim boyunca yardımlarını esirgemeyen, bana her zaman yol gösteren ve çalışma olanakları sağlayan, tez izleme komitemde yer alan değerli hocam sayın Prof. Dr. N. Cenk SESAL'a,

Tez izleme komitemde yer alan, tez sürecim boyunca eleştirilerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Didem BERBER'e,

Akademik çalışmalarımda bana her zaman destek olan Doç. Dr. Aslıhan ÇETİNBAŞ-GENÇ ve özellikle bilgi, sabır ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, akademik gelişimime önemli katkılar sunan Dr. Öğr. Üyesi Barış GÖKALSIN'a, ayrıca lisans eğitimim itibari ile bana emeği geçen ve destek olan Marmara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ndeki tüm öğretim üyelerine,

Sera deneylerimde seralarını ve altyapılarını kullanmama izin veren Gebze Teknik Üniversitesi'nden sayın Dr. Öğr. Üyesi Ümit Barış KUTMAN ile Dr. Öğr. Üyesi Bahar Yıldız KUTMAN ve başta öğrencileri Ezgi ŞENGÜL olmak üzere tüm ekibine,

Deneylerimde ve çalıştığımız projelerde yardımlarını asla esirgemeyen Aleyna Nazlı KOÇÖZ, Arhun Ali BALKAN, Beste ŞENER, Gamze ÇİL, İlteriş Eren AMİL, İpek TÜRKMENOĞLU, Orçun TOKSÖZ ve Tunahan Irmak BAŞARAN başta olmak üzere tüm Sesallab ekip arkadaşlarıma ve deneylerimde yardımcı olan 2023 2. dönem TÜBİTAK STAR lisans bursiyeri Azra ALINAY'a,

Hayatım boyunca hiçbir desteği esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok değerli ailem; babam Musa KURTULUŞ, annem Zeynep KURTULUŞ ve kardeşlerim Merve KURTULUŞ ile Emre KURTULUŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPKO) tarafından FDK-2021-10332 proje numarasıyla desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı BAPKO'ya teşekkür ederim. Ayrıca, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) TÜBİTAK-TAGEM 1003 programı kapsamında 123O668 proje numarası ile sağlanan destek için teşekkür ederim.

Temmuz / 2025 **Gamze KURTULUŞ**

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

TEŞEKKÜR **İ**
İÇİNDEKİLER **ii**
ÖZET **v**
ABSTRACT **vi**
YENİLİK BEYANI **vii**
SEMBOLLER **viii**
KISALTMALAR **x**
ŞEKİL LİSTESİ **xi**
TABLO LİSTESİ **xiii**
1. GİRİŞ **1**
1.1. Küresel Tarımda Sürdürülebilirlik ve Gübreleme Yaklaşımları 1
1.2. Tarımsal Uygulamaların Ekosistem Üzerine Etkileri 3
1.3. Tarımsal Atık Yönetimi ve Döngüsel Tarım Yaklaşımları 4
1.4. Tarımsal Uygulamalarda Kullanılan Gübreleme Çeşitleri 6
1.4.1. Biyogübreler ve çeşitleri 9
1.4.2. Bitkisel atıkların organik gübre olarak değerlendirilmesi ve kompostlama 11
1.5. Çeltik Hakkında Genel Bilgiler 14
1.6. Amaç ve Hedefler 17
2. MATERYAL VE YÖNTEM **20**
2.1. Materyal 20
2.1.1. Kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar 20
2.1.2. Kullanılan cihazlar 22
2.2. Yöntem 23
2.2.1. Çeltik tarımı yapılan toprakların örneklenmesi, fiziksel ve kimyasal analizlerinin yapılması 23
2.2.2. Çeltik samanlarını parçalamak ve toprak kalitesini artırmak amacıyla kullanılacak bakterilerin izolasyonu ve tespiti 25
2.2.2.1. Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin izolasyonu 26

2.2.2.2. Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi 26
2.2.2.3. Ligninolitik aktiviteye sahip bakterilerin kantitatif olarak belirlenmesi 27
2.2.2.4. Fosfor kaynağı çözen bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi 28
2.2.2.5. Azot sabitleyen bakterilerin kalitatif olarak belirlenmesi 29
2.2.2.6. Potasyum kaynağı çözen bakterilerin kalitatif olarak belirlenmesi 29
2.2.3. Enzim aktiviteleri belirlenen bakterilerin moleküler tür tayinlerinin yapılması 29
2.2.4. Çeltik samanlarının bakteriler ile parçalanması 32
2.2.5. Bakteri uygulanan çeltik samanlarının içerik analizleri 34
2.2.6. Çeltik samanı ile birlikte uygulanan biyogübre adaylarının toprak parametreleri ve çeltik verimi üzerine etkilerinin sera koşullarında araştırılması 35
2.2.6.1. Sera deney grubunun kurulması 35
2.2.6.2. Sera toprağının fiziksel, biyolojik ve kimyasal analizleri 39
2.2.6.3. Bitki morfolojik analizleri 39
2.2.6.3.1. Yeşil aksam uzunlukları 39
2.2.6.3.2. Yeşil aksam yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ve %nem 40
2.2.6.4. Biyokimyasal ve fizyolojik analizler 40
2.2.6.4.1. Yaprak pigment içeriği ve azot denge indeksi (NBI) analizleri 40
2.2.6.4.2. Prolin içeriği tayini 41
2.2.6.4.3. Toplam çözünebilir şeker (sukroz, fruktoz, glikoz) içeriği tayini 43
2.2.6.4.4. Mineral madde analizi (ICP-OES) 44
2.2.6.4.5. Total protein miktarı 44
2.2.7. İstatistiksel analiz 46
3. BULGULAR ve TARTIŞMA 47
3.1. Bakterilerin İzole Edildiği Samsun ve Kırklareli'ndeki Çeltik Tarlalarının Analizleri 47

3.2. Çeltik Samanlarını Parçalamak ve Toprak Kalitesini Artırmak için Kullanılacak Bakterilerin Tespiti 51
3.2.1. Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi 51
3.2.2. Ligninolitik aktiviteye sahip bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi 53
3.2.3. Fosfor kaynağı çözen bakterilerin kalitatif ve kantitatif analizi 55
3.2.4. Azot sabitleyen bakterilerin kalitatif analizi 57
3.2.5. Potasyum kaynağı çözen bakterilerin kalitatif analizi 58
3.3. Belirlenen Enzim Aktiviteleri Doğrultusunda Bakteri Adaylarının Seçimi 59
3.4. Uygulama için Seçilen Bakteri İzolatlarının Moleküler Tanımlanması 61
3.5. Bakteri Uygulanan Çeltik Atıklarının İçerik Analizleri 63
3.6. Çeltik Samanı ile Birlikte Uygulanan Biyogübre Adaylarının Toprak ve Çeltik Verimi Üzerine Etkilerinin Sera Koşullarında Araştırılması 70
3.6.1. Sera denemesinde kullanılan Kırklareli'ndeki çeltik tarlası toprağının uygulama öncesi ve sonrası analizleri 71
3.6.2. Bitki morfolojik analizleri 86
3.6.2.1. Yeşil aksam uzunlukları 86
3.6.2.2. Yeşil aksam yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ve %nem 87
3.6.3. Biyokimyasal ve fizyolojik analizler 89
3.6.3.1. Yaprak pigment içeriği ve azot denge indeksi (NBI) analizleri 89
3.6.3.2. Prolin içeriği tayini 92
3.6.3.3. Toplam çözünebilir şeker (sukroz, fruktoz, glikoz) içeriği tayini 94
3.6.3.4. Mineral madde analizi (ICP-OES) 96
3.6.3.5. Total protein miktarı 103
3.7. Araştırma Bulgularının Literatürle Karşılaştırılması 105
4. SONUÇLAR 111
KAYNAKLAR 117
ÖZGEÇMİŞ

ÖZET

ÇELTİK ATIKLARININ TOPRAK KÖKENLİ LİGNOSELÜLOLİTİK BAKTERİ UYGULAMASI İLE MİKROBİYAL DÖNÜŞÜMÜ VE ÇELTİK GELİŞİMİNE ETKİLERİ

Bu doktora tez çalışmasında, çeltik (*Oryza sativa* L.) hasadı sonrası ortaya çıkan lignoselülozik atıkların mikrobiyal yolla değerlendirilerek çevre dostu biyogübre stratejilerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, Samsun ve Kırklareli'ndeki çeltik üretim alanlarından izole edilen *Bacillus sp.* S2 ve *Pseudomonas sp.* K2 suşları; lignin&selüloz parçalayıcı enzim aktivitesi ile fosfat, potasyum ve azot gibi besin elementlerinin sağlanabilirliği yönünden bitki büyümesini teşvik edici özellikler açısından karakterize edilmiştir. Moleküler tanımlamaları 16S rRNA ile birlikte *gyrB* ve *rpoB* gen bölgeleri kullanılarak gerçekleştirilmiş; S2 izolatının *B. velezensis/B. amyloliquefaciens*, K2'nin ise *Ectopseudomonas chengduensis, E. alcaliphila* ve *P. sihuiensis* türleriyle %97 benzerlik taşıdığı belirlenmiştir. Sera koşullarında, bu izolatların çeltik samanı ile birlikte uygulanmasının; bitkisel (klorofil, NBI, çözünebilir şeker, prolin, protein), toprak kimyasal özellikleri (pH, EC, makro ve mikro element düzeyleri) ve biyolojik göstergeleri (mikrobiyal biyokütle, β-glukosidaz ve fosfataz enzim aktiviteleri) üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bulgular, çeltik samanının tek başına dahi bazı parametrelerde (ör. klorofil içeriği, yeşil aksam uzunlukları, mikro element düzeyleri) kontrol grubuna kıyasla olumlu etki sağladığını ve etkili bir organik madde kaynağı olduğunu göstermiştir. İzolatlarla birlikte uygulandığında ise bu etkilerin bazı parametrelerde güçlendiği gözlenmiştir. Özellikle S2 izolatı çözünebilir şeker düzeyi, mikrobiyal biyokütle, enzim aktiviteleri ve demir alımı; K2 izolatı ise demir biyoyararlanımı ve bazı mikro element içeriklerinde katkı sağlamıştır. Ayrıca, bakteriyel uygulama yapılan gruplarda prolin düzeylerinin azalması, bitkilerin stres altında olmadığını ve izolatların fizyolojik gelişimi doğrudan destekleyici potansiyel taşıdığını göstermektedir. Öte yandan, bazı göstergelerde çeltik ve bakterili gruplar arasında farkların sınırlı düzeyde kalmasının, 40 günlük erken vejetatif dönemde yapılan analizlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, çeltik samanı ve mikrobiyal izolatların birlikte kullanımı, hem atık geri kazanımı hem de mikrobiyal gübreleme açısından sinerjik ve çevre dostu bir yaklaşım sunmakta olup, sürdürülebilir tarım uygulamalarında değerlendirilebilecek potansiyel bir strateji olarak öne çıkmaktadır.

ABSTRACT

MICROBIAL DEGRADATION OF RICE RESIDUES BY SOIL-BORNE LIGNOCELLULOLYTIC BACTERIA AND THEIR EFFECTS ON RICE GROWTH

This study aimed to develop environmentally friendly biofertilizer strategies by utilizing lignocellulosic residues generated after the harvest of rice (*Oryza sativa* L.) through microbial processes. Two isolates, *Bacillus sp.* S2 and *Pseudomonas* sp. K2, obtained from rice cultivation fields in Samsun and Kırklareli, were characterized for plant growth-promoting traits, including lignin and cellulose-degrading enzyme activities, phosphate and potassium solubilization, and nitrogen fixation potential. Molecular identification was performed using 16S rRNA alongside *gyrB* and *rpoB* gene regions, revealing that isolate S2 shared 98% similarity with *Bacillus velezensis/Bacillus amyloliquefaciens* species, while isolate K2 showed 97% similarity to *Ectopseudomonas chengduensis, E. alcaliphila*, and *P. sihuiensis.* Greenhouse experiments evaluated the effects of these isolates, applied together with rice straw, on various parameters including physiological plant traits (chlorophyll content, nitrogen balance index, soluble sugar, proline, protein), soil chemical (pH, electrical conductivity, macro-microelement concentrations), and biological properties (microbial biomass, β-glucosidase, and phosphatase enzyme activities). The results indicated that rice straw alone positively affected several parameters (e.g., chlorophyll content, shoot biomass, microelement concentrations) compared to the control, demonstrating its effectiveness as an organic matter source. Co-application with microbial isolates further enhanced some of these effects. Specifically, S2 contributed to increased soluble sugar levels, microbial biomass, enzyme activities, and iron uptake, while K2 improved iron bioavailability and other microelement contents. Reduced proline levels in microbial treatment groups suggested that plants were not under stress and that these isolates potentially support physiological growth. Limited differences observed between the straw-only and microbial treatment groups for some parameters may be related to the early vegetative stage when the analyses were performed. Overall, the combined use of rice straw and microbial isolates offers a synergistic and environmentally friendly approach that integrates waste recycling with microbial fertilization, representing a promising strategy for sustainable agriculture.

YENİLİK BEYANI

Yoğun toprak işleme ile kimyasal gübre ve pestisit kullanımına dayalı endüstriyel tarım uygulamaları, toprak yapısının bozulması, mikrobiyal dengenin zarar görmesi ve ekosistem sağlığının tehdit edilmesi gibi sorunlara yol açmaktadır. Bu bağlamda, sürdürülebilir tarım uygulamalarıyla çevresel etkilerin azaltılması ve üretkenliğin korunması günümüz tarımının öncelikli gündemlerinden biridir.

Bu tez çalışmasında, çeltik üretimi sonrası ortaya çıkan lignoselülozik atıkların, selülolitik ve/veya ligninolitik aktiviteye sahip bakterilerle değerlendirilerek mikrobiyal gübre formülasyonlarına dönüştürülmesi amaçlanmıştır. Laboratuvar düzeyinde enzimatik olarak karakterize edilen S2 ve K2 izolatları, sera koşullarında çeltik bitkisi üzerinde morfolojik (yeşil aksam uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık), fizyolojik (klorofil, flavonol, antosiyanin içerikleri, azot denge indeksi – NBI) ve mineral içerik parametreleriyle değerlendirilmiştir. S2 izolatı, yüksek selülolitik kapasitesi, azot fiksasyonu potansiyeli ve faydalı metabolit üretimiyle çok işlevli bir biyogübre adayı olarak öne çıkarken; K2 izolatı, kararlı lignoselüloz ayrıştırma ve çevresel tolerans özellikleriyle tamamlayıcı bir mikrobiyal ajan niteliği taşımaktadır.

Bu çalışma, yerel/toprak kökenli bakteriyel izolatlarla geliştirilen mikrobiyal gübre formülasyonlarının tasarımında özgün bir yaklaşım sunmakta; toprak sağlığının iyileştirilmesi ve sürdürülebilir verim artışı potansiyeli açısından önemli katkılar sağlamaktadır.

Bu tez, Marmara Üniversitesi BAPKO (FDK-2021-10332) ve TÜBİTAK-TAGEM 1003 (123O668) projeleri kapsamında desteklenmiştir. Bu destekler, araştırmanın altyapısının güçlendirilmesini ve sera uygulamalarıyla bilimsel çıktılarının genişletilmesini sağlamıştır.

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna uygun olarak, danışmanım Prof. Dr. Filiz VARDAR rehberliğinde hazırladığım "Çeltik Atıklarının Toprak Kökenli Lignoselülolitik Bakteri Uygulaması ile Mikrobiyal Dönüşümü ve Çeltik Gelişimine Etkileri" başlıklı bu tezin özgün bir araştırma olduğunu; tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun hareket ettiğimi; kullanılan tüm kaynaklara eksiksiz biçimde atıf yaptığımı ve bilimsel dürüstlük çerçevesinde sunduğumu beyan ederim.

SEMBOLLER

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
L	: Litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
M	: Molar
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
bp	: Baz Çifti (base pair)
pH	: Asidik/Bazik ortamın ölçüsü
U ml^{-1}	: Enzim aktivitesi birimi (Unit per milliliter)
°C/min	: Sıcaklık artış/düşüş hızı
OD_{600}	: 600 nm dalga boyunda optik yoğunluk
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions per Minute)
g (centrifuge)	: Santrifüj Gravitasyon Kuvveti
µg pNP g^{-1} h^{-1}	: Aryl sülfataz aktivitesi birimi
RT	: Oda Sıcaklığı (Room Temperature)
v/v	: Hacim / Hacim oranı
w/v	: Ağırlık / Hacim oranı
ABS(λ)	: Absorbans (belirli dalga boyundaki ışık geçirgenliği)
Na_2CO_3	: Sodyum Karbonat
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
$AlCl_3$	: Alüminyum Klorür
K_2HPO_4	: Potasyum Hidrojen Fosfat
$MgSO_4$	: Magnezyum Sülfat

$FeSO_4$	: Demir (II) Sülfat
Na_2MoO_4	: Sodyum Molibdat
$CaCO_3$	: Kalsiyum Karbonat
CH_3OH	: Metanol
CH_3CN	: Asetonitril
C_2H_5OH	: Etanol
$C_6H_{12}O_6$	: Glukoz
$C_7H_6O_2$	: Benzoik Asit
$C_3H_4O_2$	: Formik Asit
$C_9H_{10}O_3$	: 4-Kumarik Asit
$C_3H_8O_3$	: Arabitol (Poliol tipi şeker alkolü)
$C_{30}H_{62}O$	: 1-Triakontanol

KISALTMALAR

ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
FDA	: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
OD	: Optik Yoğunluk (Optical Density)
KOB	: Koloni Oluşturan Birim (Colony Forming Unit)
TSB	: Tryptic Soy Broth
LB	: Luria-Bertani Besi yeri
GC-MS	: Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometrisi (Gas Chromatography–Mass Spectrometry)
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
IAA	: Indol-3-Asetik Asit
EPS	: Ekstrasellüler Polisakkarit
ITS	: Internal Transcribed Spacer
ANOVA	: Varyans Analizi (Analysis of Variance)
SD	: Standart Sapma (Standard Deviation)
HSD	: En Küçük Anlamlı Fark Testi (Honestly Significant Difference)
DNase	: Deoksiribonükleaz
GC content	: Guanin-Sitozin İçeriği
CF	: Konsantrasyon Faktörü
CMC	: Karboksimetil selüloz
CP	: Toz halinde selüloz

ŞEKİL LİSTESİ **SAYFA**

Şekil 1.1	Kimyasal ve organik gübrelerin avantajları ve dezavantajları	7
Şekil 1.2	Kıtalara göre biyogübre pazarı (Polaris, 2022)	8
Şekil 1.3.	Biyogübrelerin bitki beslenmesindeki rolleri	10
Şekil 1.4	*Oryza sativa* L. morfolojisi ve sistematiği (Köhler ve ark., 1887)	14
Şekil 1.5	Çeltik samanının lignoselülozik biyokütle bileşenlerinin yapısı (Jayakumar ve ark., 2024)	16
Şekil 2.1	Türkiye'nin Marmara Bölgesi'nde yer alan Trakya kesiminde çeltik tarımı yapılan bölgeler ve toprak örnekleme noktası	24
Şekil 2.2	Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Samsun ilindeki çeltik tarımı yapılan bölgeler ve toprak örnekleme noktası	24
Şekil 2.3	Topraklardan mikroorganizmaların izolasyonu	25
Şekil 2.4	Biyogübre adayı mikroorganizmaların DNA izolasyonu ve dizileme için hazırlanışları	31
Şekil 2.5	Biyogübre amacıyla kullanılmak üzere hazırlanan çeltik samanları	33
Şekil 2.6	Biyogübre adayı mikroorganizmaların uygulandığı çeltik gruplarının içerik analizi amacıyla Soxhlet yönteminde özütlerinin çıkarılması	34
Şekil 2.7.	Biyogübre amacıyla kullanılmak üzere seçilen bakteriler ile inkübasyona hazırlanan çeltik samanları A) Öğütücüde öğütülmüş, elekten geçirilmiş çeltik samanlarının tartımı B) Çeltik tozlarına ve toprağa bakteri adaylarının uygulaması C) Biyogübre adaylarının uygulandığı, inkübasyona hazır saksı görseli	35
Şekil 2.8	A) Tohum ekiminin gerçekleştirildiği uygulama grupları B) 20 gün sonra 10 bireye seyreltilmiş uygulama grupları	38
Şekil 2.9	Yeşil aksam uzunluklarının ölçülmesi	40
Şekil 2.10	Yapraklarda prolin içeriği tayini A) Örneklerin ekstraksiyonu B) Örneklerin inkübasyonu C) Hesaplamada kullanılan prolin standart çözeltiler	42

Şekil 2.11 Yapraklarda total çözünebilir şeker içeriği tayini 43
Şekil 2.12 Mineral madde analizi (ICP-OES) 44
Şekil 2.13 Yapraklarda total protein içeriği tayini 45
Şekil 3.1 Samsun ve Kırklareli topraklarından CMC besi yerine izole edilmiş selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin Kongo red boyası kullanılarak yapılan kalitatif analizi 51
Şekil 3.2 Samsun ve Kırklareli topraklarından Pikovskaya besi yerinde üretilen fosfor kaynağı çözebilen S2 ve K2 suşlarının ve pozitif kontrol olarak kullanılan *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşlarının zonları 55
Şekil 3.3 Samsun ve Kırklareli topraklarından izole edilen, Jensens besi yerinde üreyebilen potansiyel azot sabitleyici bakteriler 56
Şekil 3.4 Samsun ve Kırklareli topraklarından izole edilen, Alexandrov besi yerinde zon gösterebilen S2 izolatı ve zon göstermeyen S1 ve K2 suşları 59
Şekil 3.5 *Bacillus* (S2) ve *Pseudomonas* (K2) izolatlarının morfolojik görüntüleri 62
Şekil 3.6 Bakteriler ile inkübasyon sonrası çeltik samanlarında parçalanma sonrası görülen önemli türevler 67
Şekil 3.7 A) Çeltik samanı B) Selüloz, hemiselüloz ve ligninin kimyasal yapıları (Zhang ve ark., 2011) C) Selüloz, hemiselüloz ve ligninin parçalanmaları sonucu açığa çıkan bileşikler (NIST Chemistry WebBook) 68
Şekil 3.8 Sera saksı çalışmalarında kurulan deney gruplarının 40 gün sonra hasat öncesi çekilen fotoğrafı 70
Şekil 3.9 Prolin içeriği grafiği 93
Şekil 3.10 Çözünebilir şeker içeriği grafiği 95
Şekil 3.11 Total protein içeriği grafiği 104

TABLO LİSTESİ **SAYFA**

Tablo 1.1	Gübre çeşitleri	6
Tablo 2.1	*Oryza sativa* L.. cv. Rekor CL'nin karakteristik özellikleri (TAGEM).	36
Tablo 2.2.	Kimyasal gübre uygulama oranları	37
Tablo 2.2 (devam)	Kimyasal gübre uygulama oranları (devam)	38
Tablo 2.3.	Prolin analizi için asit ninhidrin ve fosfat asidinin hazırlanışı	42
Tablo 2.4.	Total protein miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler ve protein standartının hazırlanması	46
Tablo 3.1.	Toprak örneklerinin fiziksel analiz sonuçları	49
Tablo 3.2.	Toprak örneklerinin kimyasal analiz sonuçları	50
Tablo 3.3.	Toprak örneklerinin biyolojik analiz sonuçları	50
Tablo 3.4.	Selülolitik aktiviteye sahip izolatların 48, 72 saat ve 1 hafta sonunda ölçülen selülaz enzim aktivitesi değerleri	52
Tablo 3.5.	Samsun ve Kırklareli'nden izole edilen bakterilerin Azure B kullanılarak renk açılmasına göre hesaplanan ligninolitik aktivite testi sonuçları	54
Tablo 3.6.	Samsun ve Kırklareli'nden izole edilen bakterilerin çözünür fosfat miktarları	56
Tablo 3.7.	İzolatların enzimatik aktiviteleri	60
Tablo 3.8.	Çeltik samanlarında selüloz, hemiselüloz ve ligninin parçalanması. NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol, nd: veri yok.	64
Tablo 3.9.	Kırklareli toprak örneklerinin inkübasyon öncesi fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları	72
Tablo 3.10.	Kırklareli toprak örneklerinin inkübasyon sonrası kimyasal analiz sonuçları	73
Tablo 3.11.	Kırklareli toprak örneklerinin inkübasyon sonrası biyolojik analiz sonuçları	78
Tablo 3.12.	Uygulama gruplarının yeşil aksam uzunlukları (cm)	86

Tablo 3.13.	Uygulama gruplarına ait toprak üstü yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ile nem oranları	88
Tablo 3.14.	Yaprak pigment içeriği ve azot denge indeksi (NBI) analizleri	90
Tablo 3.15.	Çeltik yapraklarındaki makroelement konsantrasyonu (%)	98
Tablo 3.16.	Çeltik yapraklarındaki mikroelement konsantrasyonu (mg/kg)	99
Tablo 3.16 (devam)	Çeltik yapraklarındaki mikroelement konsantrasyonu (mg/kg)	100
Tablo 3.17.	Çeltik yapraklarındaki esansiyel olmayan elementler mg/kg	101
Tablo 3.18.	Pirinç yetiştirilmesinde denenen biyogübreler ve etki mekanizmaları	107
Tablo 3.18 (devam)	Pirinç yetiştirilmesinde denenen biyogübreler ve etki mekanizmaları	108
Tablo 3.18 (devam)	Pirinç yetiştirilmesinde denenen biyogübreler ve etki mekanizmaları	109
Tablo 4.1.	Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının bazı önemli toprak kimyasal parametrelerine etkisi	112
Tablo 4.2.	Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının bazı önemli toprak biyolojik ve enzim aktiviteleri parametrelerine etkisi	113
Tablo 4.3.	Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının çeltik bitkisinin gelişim ve fizyolojik parametrelerine etkisi	114
Tablo 4.3 (devam)	Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının çeltik bitkisinin gelişim ve fizyolojik parametrelerine etkisi	115

1. GİRİŞ

Tarım, insanlık tarihinin en temel geçim kaynaklarından biri olmakla birlikte, modern dünyada sadece gıda üretimi değil, aynı zamanda çevresel denge, iklim direnci ve ekonomik sürdürülebilirlik açısından da oldukça önemli bir sektördür. Artan nüfus, değişen tüketim alışkanlıkları ve sınırlı doğal kaynaklar, günümüzde tarımsal faaliyetlerin kapsamını ve etkisini yeniden değerlendirmeyi zorunlu kılmaktadır. Gıda güvenliği, toprak sağlığı ve çevresel sürdürülebilirlik gibi birbirine bağlı olgular, yalnızca üretim miktarını değil, üretim biçimlerini de sorgulayan yeni anlayışları beraberinde getirmektedir.

Bu bağlamda, geleneksel tarım uygulamalarının doğurduğu ekolojik yük, kaynak kullanımında verimlilik ve çevre dostu üretim modellerine yönelimi hızlandırmıştır. Özellikle toprak verimliliğinin korunması ve artırılması için geliştirilen yenilikçi yaklaşımlar; kimyasal girdilerin azaltılması, organik atıkların yeniden değerlendirilmesi ve mikrobiyal gübreleme gibi sürdürülebilir yöntemlere olan ilgiyi artırmaktadır. Bu tez çalışması, tarımda hem çevresel hem de üretimsel açıdan sürdürülebilirliği hedefleyen bu dönüşümün bir parçası olarak, çeltik atıklarının mikrobiyal gübre yoluyla yeniden kazanımını merkeze almaktadır. Bu kapsamda, mikrobiyal gübre üretimi ve geliştirilmesi alanında dünyada artan araştırma eğilimine bilimsel bir katkı sunmak hedeflenmiştir.

1.1.Küresel Tarımda Sürdürülebilirlik ve Gübreleme Yaklaşımları

Günümüzde tarım sektörü, artan dünya nüfusu ve beraberinde gelen gıda talebi karşısında doğal kaynak kullanımı ve sürdürülebilirlik hedefleriyle birlikte ele alınması gereken çok boyutlu bir alan haline gelmiştir. Önümüzdeki 50 yıl içinde dünya nüfusunun yaklaşık 10 milyara ulaşması beklenmektedir; bu durum, tarımsal üretime olan talebi önemli ölçüde artıracaktır. Bu ihtiyacı karşılamak amacıyla sentetik gübreler ve pestisitler yaygın olarak kullanılmakta ve ürün verimini artırmak hedeflenmektedir (Daniel ve ark., 2022). Ancak bu kimyasalların aşırı kullanımı, gıda maddelerinde pestisit kalıntıları, toprak bozulması ve ötrofikasyon gibi çevresel ve sağlıkla ilgili sorunlara yol açmaktadır (Garcha ve Samredhi, 2024). Bu nedenle, sentetik gübrelerin tamamlayıcısı olarak çevre dostu çözümlerin -özellikle biyogübrelerin- tarımsal sistemlere entegrasyonu, sürdürülebilir ve dengeli tarım uygulamalarının teşviki açısından büyük önem taşımaktadır

(Liu ve ark., 2015; Daniel ve ark., 2022).

Bugün tarım uygulamalarında göz ardı edilen en önemli konu; tarımsal üretimin toprak, su ve hava gibi biyosferin yaşamsal bileşenlerine ve bunlar arasındaki karşılıklı ilişkilere sıkı sıkıya bağlı olduğu ve bu temel öğelerde meydana gelen herhangi bir sorunun tarımsal verimi, biyolojik çeşitliliği ve dolayısıyla ekosistem dengelerini doğrudan etkilediğidir (Sezen, 2021). İklim değişiminin neden olduğu sel, fırtına, dolu, kuraklık, sıcak hava dalgaları gibi aşırı hava olaylarına karşı en hassas olan sektör tarımdır. Bu olumsuz duruma, yanlış tarımsal uygulamalar eklendikçe mevcut durum daha da kötüye gitmektedir. 1960'lardaki Yeşil Devrim'den bu yana bitki büyümesi için çok önemli olan N ve P besin maddelerini içeren kimyasal gübrelerin kullanımının hızla arttığı bilinmektedir (De la Luz Mora ve ark., 2007; Stewart ve Roberts, 2012; Haygarth ve ark., 2013). Bu kimyasal gübrelerin aşırı kullanımı sonucu topraktaki N birikiminde artışlar meydana gelmekte ve bitkisel verim olumsuz etkilenmektedir (Cascio ve ark., 2021). Doğal ekosistemde meydana gelen değişimler bitkilerin toprakta doğrudan etkileşim halinde olduğu bakteri, mantar, siyanobakteri ve protozoların dağılım oranlarını da olumsuz etkilemektedir (McLaughlin ve Mineau, 1995; Dash ve ark., 2017a,b; Dash ve ark., 2018; Singh ve ark., 2019). Tüm bunlar sonucunda ekolojik denge bozulmakta, toprak kalitesi kötüleşmekte ve dolayısıyla bitkisel verimde azalma meydana gelmektedir.

Tarım, gıda ve beslenme güvenliğine yönelik dünyada olduğu gibi ülkemizi de etkileyen bir tehdit olan iklim değişikliğinin olumsuz etkilerini azaltmak için birçok uluslararası anlaşma yapılmıştır. Yapılan bu anlaşmalarla yenilenebilir enerjinin ve sürdürülebilir endüstriyel ve tarımsal yöntemlerin önemi vurgulanmıştır (Acevedo ve ark., 2020). Türkiye'nin dahil olduğu sözleşme ve protokoller; Birleşmiş Milletler İklim Değişikliği Çerçeve Sözleşmesi (BMİDÇS), Paris Anlaşması, Kyoto Protokolü, Viyana Sözleşmesi ve Montreal Protokolü'dür (T.C. Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı: https://iklim.csb.gov.tr). Türkiye'nin 22 Nisan 2016 tarihinde imzaladığı, 7 Ekim 2021 tarihinde Cumhurbaşkanı Kararı ile onayladığı Paris Anlaşması bu antlaşmalar içerisinde en güncel olanıdır. Bu anlaşma ile iklim değişikliğinin olumsuz etkilerine karşı uyum kabiliyetinin ve iklim direncinin arttırılması; düşük sera gazı emisyonlu kalkınmanın temin edilmesi ve bunlar gerçekleştirilirken, gıda üretiminin zarar görmemesi hedef olarak belirtilmiştir (T.C. Dışişleri Bakanlığı: https://www.mfa.gov.tr/paris-anlasmasi.tr.mfa).

1.2.Tarımsal Uygulamaların Ekosistem Üzerine Etkileri

Dünyada tarımın en öncelikli hedefleri arasında yoğun toprak işleme, kimyasal gübre ve pestisit kullanımına dayalı endüstriyel tarımın neden olduğu toprak bozunumu ve çevresel zararların engellenmesi için sürdürülebilir ve çevre dostu tarım uygulamalarının yaygınlaştırılması bulunmaktadır. Bu doğrultuda; kimyasal gübreler ve pestisitler sağlık etkilerine ve sera gazı emisyonlarına neden olduğundan, kullanımlarının azaltılması ve organik gübrelerin (bitkisel atık, kompost, yeşil gübre vb.) ve biyogübrelerin kullanımının yaygınlaşmasının sürdürülebilir ve çevre dostu bir tarım uygulaması olması yönüyle önemli bir strateji olacağı düşünülmektedir. Literatürde yer alan çalışmalara bakıldığında organik gübre uygulamalarının, toprakların organik madde ve azot içeriklerinde önemli oranda artış sağladığı bilinmektedir (Alagöz ve ark., 2006; Okur ve ark., 2008; Yılmaz ve Alagöz, 2010). Organik atıkların toprağa uygulanması ile toprakların mikrobiyolojik aktivitelerinin, yapısının, hava-su dengesinin olumlu yönde etkilendiği bildirilmiştir (Eriksen, 2005; Randhawa, 2005; Candemir ve Gülser, 2007; Chaturvedi ve ark., 2008). Organik gübrelerin kullanımının yaygınlaşması ile topraktaki mikroflora için olumlu etkilerin meydana geleceği; bakteriler, actinomisetler, mikorizalar, siyanobakteriler gibi bitki büyümesini teşvik ederken aynı zamanda bitkiyi hastalıklara, ozmotik değişikliklere, kuraklığa, ağır metal stresine karşı doğrudan veya dolaylı olarak koruyan mikroorganizmaların topraktaki miktarlarının artacağı düşünülmektedir (Govers ve ark., 2012; Gupta ve ark., 2012; Kaushal ve Wani, 2016; Singh ve ark., 2019). Toprak verimliliğini artırmak ve bitkisel üretime destek amacıyla en fazla tercih edilen organik gübrelerin hayvan gübreleri olduğu bilinmektedir. Ancak uygulanan hayvan gübreleri belirli ölçüleri aştığında bitkisel üretim miktarını, ürün niteliğini, toprak yapısını, yer altı ve yer üstü sularını olumsuz yönde etkileyerek, toprak, bitki, su, hayvan ve insanlara hastalık yapıcı etkenlere sebep olmaktadır ve çevreye ağır bir koku yaymaktadır (Karaman, 2006). Bunlara ek olarak hayvanlara verilen antibiyotikler toprak ve sularda çeşitli antibiyotiklere dayanıklı bakterilerin oluşmasına neden olabilmekte, bu durumda insanlarda ve hayvanlarda bakteriyel hastalıkların tedavisi çok zorlaşmaktadır (Kumar ve ark., 2005). Toprakta aşırı miktarda N, P ve tuz birikimi ve antibiyotik aktarımı gibi nedenlerle hayvan gübreleri önemli bir çevre kirletici konumuna gelebilmektedir. Bu bakımdan hayvansal gübrelerin etkileri değerlendirilirken toprağa ve bitkiye sağladığı faydaların yanı sıra toprağa, suya ve çevreye olan olumsuz etkileri göz önüne alındığında

kullanımlarının azaltılmasının ve yeşil gübre, kompost gibi diğer organik gübrelerin değerlendirilmesinin daha çevreci bir yaklaşım olacağı düşünülmektedir.

Tarımsal alanlardaki toprak verimliliğinin arttırılması ve fiziksel yapısının devam ettirilmesi için, organik ve inorganik maddelerin toprağa ilave edilmesine, zararlı, kirletici ve zehirli maddelerden arınmasına, sulamanın aza indirgenmesine, verimli ve kaliteli hasadın arttırılmasına yardımcı olan toprak düzenleyiciler, tarımda büyük önem taşımaktadır. Tarımsal üretimi sınırlayan en önemli faktör düşük toprak verimliliğidir. Toprak verimliliğinin uygun seviyeye getirilmesi için bitki gelişimine yönelik ihtiyaç duyulan besin elementlerinin gübreleme ile toprağa ilave edilmesi gerekmektedir (El Sheikh ve ark., 2005; Bilen, 2014). Tarımsal uygulamalarda kullanılan gübreleme çeşitlerine bakıldığında organik gübrelerin toprağı iyileştirerek bitkilerin besin maddelerinden daha iyi faydalanmasını sağlarken, kimyasal gübrelerin ise anlık besin maddesi ihtiyacını giderdikleri, fazlalıklarının ise toprak ve su kirliliğine sebep oldukları bilinmektedir (Yetgin, 2010).

1.3. Tarımsal Atık Yönetimi ve Döngüsel Tarım Yaklaşımları

Son yıllardaki endüstriyel gelişmeler, çevresel atık problemini de beraberinde getirmiştir. Çevresel atıkların (endüstriyel, evsel ve tarımsal) yok edilmesi veya değerlendirilmesi, günümüz toplumları için kaçınılmaz hale gelmiştir. Tarımsal faaliyetler ile ilgili kaynakların (su, toprak, enerji) kullanımı düşünüldüğünde, tarımsal gıda atıklarının ve yan ürünlerinin değerlendirilmesinin hem çevresel hem de sosyo-ekonomik açıdan gerekli hale geldiği görülmektedir. Bu nedenle, günümüzde atıklardan besinlerin (N, P, K ve mikro elementler) geri kazanımı tekniklerini geliştirmek ve atıkların yol açtığı olumsuz çevresel etkileri azaltmak için birçok girişimde bulunulmaktadır (Ahmed ve ark., 2019; Jupp ve ark., 2021). Genellikle kullanılan atık bertaraf etme yöntemleri, temel olarak organik fraksiyonun giderilmesine ve biyolojik güvenliğin sağlanmasına odaklanan termal ve kimyasal süreçleri dikkate almaktadır (Rajasulochana ve Preethy, 2016). Bununla birlikte, besin açısından zengin olan bu atık ikincil hammaddelerin, yeni formülasyonlar ile toprak-bitki sistemine toksik etki etmemesi koşuluyla modern mineral gübreler veya faydalı mikroorganizmalar ile birlikte uygulanmasının toprak ve rizosferin mikrobiyotasının dengesini önemli ölçüde etkileyebileceği düşünülmektedir (Vurukonda ve ark., 2024).

Avrupa Komisyonu, 2 Aralık 2015 tarihinde atıkla ilgili yasal düzenleme tekliflerini ve kapsamlı bir eylem planını içeren Döngüsel Ekonomi Paketini kabul etmiş, döngüsel ekonomiye geçişle Avrupa'nın küresel rekabetteki yerini sağlamlaştırmasının, sürdürülebilir ekonomik büyümeyi hızlandırmasının ve yeni işler yaratılmasının beklenildiğini açıklamıştır. Atık olarak imha edilen hammaddelerin yeniden kullanımı, Aralık 2015'te kabul edilen Döngüsel Ekonomi Paketi'nin temel ilkelerinden biridir (European Commission, 2015). Gelecekte, yenilenebilir hammaddelerin mikroorganizmalar kullanılarak ayrıştırılması ile elde edilen gübrelerin çiftçilerin ürün yelpazesini tamamlayacağı düşünülmektedir. Böylece biyolojik temelli hammaddelere dayalı ve çevre dostu yöntemlerin kullanılmasıyla yeni nesil tarımsal ürünler aramaya yönelik çağdaş eğilime yanıt verilebilecektir.

Haziran 2019'da, Avrupa Parlamentosu ve Konseyi'nin AB gübreleme ürünlerinin piyasada bulundurulmasına ilişkin kuralları belirleyen (AB) 2019/1009 sayılı yeni bir yönetmelik yayınlanmıştır. Tarımda kullanılan gübrelere ilişkin yönetmelik (FPR | Regulation on Fertilising Products) 2003/20031 sayılı tüzüğü yürürlükten kaldırmaktadır. Yönetmelik, organik ve organo-mineral gübreler, toprağı ıslah edici maddeler, inhibitörler, bitki biyouyarıcıları, yetiştirme ortamları veya karışımları gibi halihazırda uyum kuralları kapsamında olmayan gübreleme ürünleri için tek bir pazar oluşmasını amaçlamaktadır. FPR, geri dönüştürülmüş veya organik malzemelerden ve yan ürünlerden elde edilen ürünler için AB kurallarını uyumlu hale getirmektedir. Bu tür malzemelerden gübreleme amacıyla besin maddelerinin geri kazanılmasına yönelik kurallar da sağlamaktadır. Tarımda kullanılan gübrelere ilişkin yönetmelik ile tedarik zincirlerinin verimliliğinin artması ve AB´de geri dönüştürülmüş veya organik malzemelerden yapılan gübreler için bir iç pazar oluşturarak atık yönetimi sorunlarını ekonomik fırsatlara dönüştürülmesi hedeflenmektedir (European Parliament and Council of the European Union, 2019).

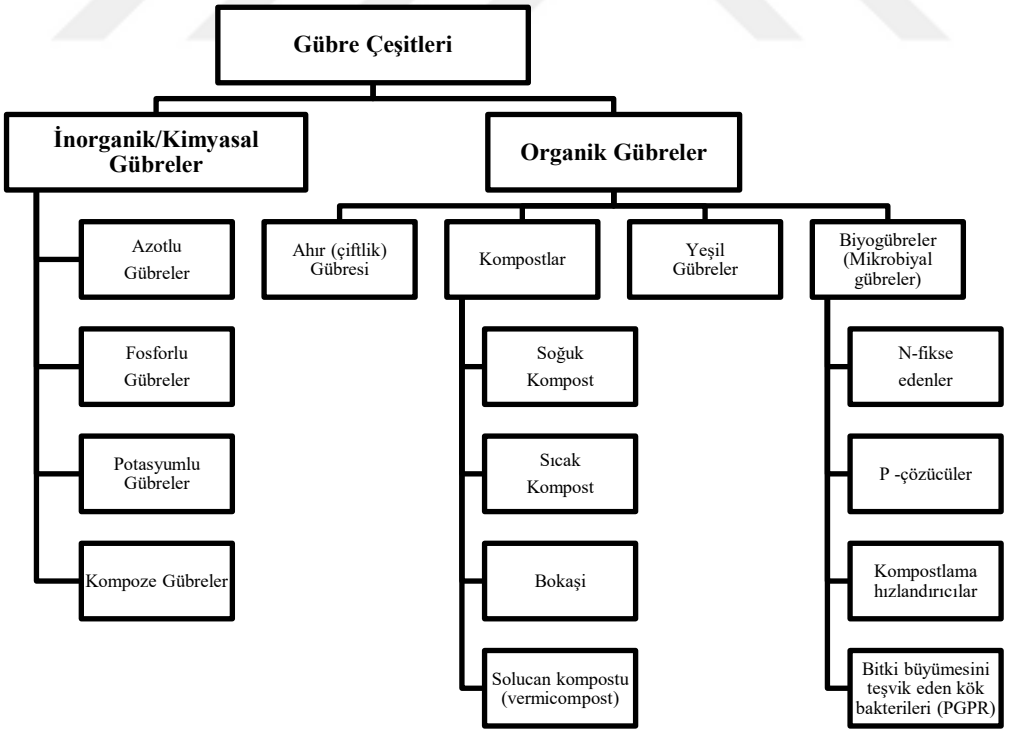
Atık maddelerin gübre ürünlerine dönüştürülmesinde kullanılan az sayıdaki değerlendirme yöntemlerinden birisi mikrobiyal aktivatörleri devreye sokan biyobozunurluktur (Wyciszkiewicz ve ark., 2017). **Biyobozunur**; doğadaki çeşitli mikroorganizmalar veya enzimler tarafından biyolojik yollarla yıkıma uğrayan ve doğal bileşenlerine ayrılan, sonra tekrar doğadaki bu döngüye katılabilen madde olarak tanımlanmaktadır. Mikroorganizmaların metabolik aktivitesi ile başlangıç maddesinde bulunan bileşikler/substratlar değişime uğrayarak farklı özelliklere sahip nihai ürünleri

oluşturmaktadır. Böylece, amino asitler, organik asitler gibi metabolizma ürünleri ile ikincil besin akışları matrisinde yer alan besin maddelerini etkin bir şekilde serbest bırakarak onları bitkiler için kullanılabilir hale getirmektedirler (Saeid ve ark., 2018; Wyciszkiewicz ark., 2019).

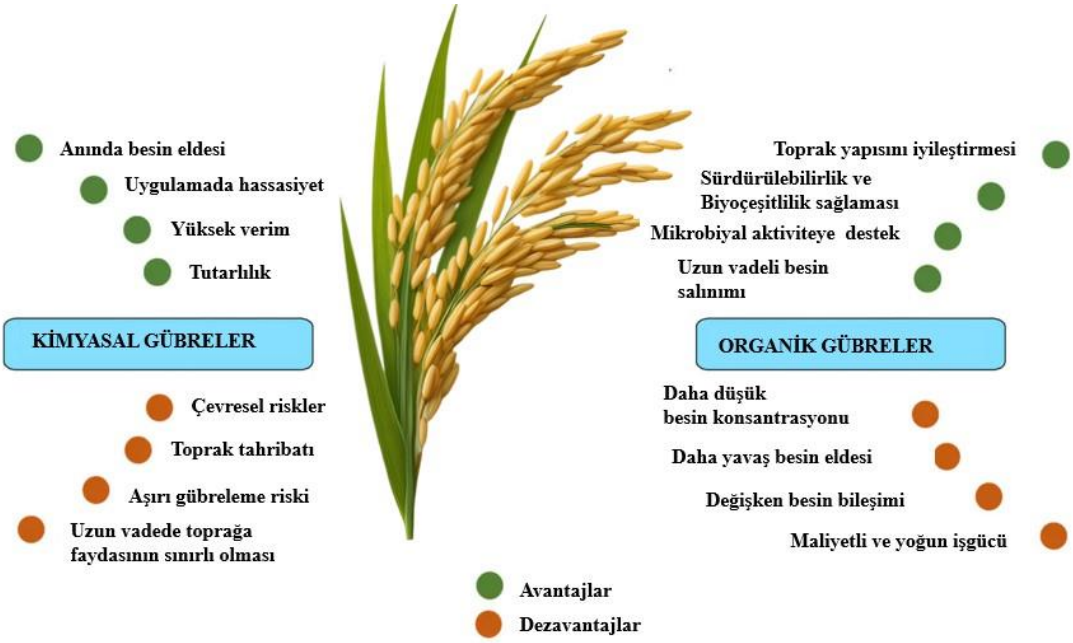
1.4.Tarımsal Uygulamalarda Kullanılan Gübreleme Çeşitleri

Tarımsal alanlardaki toprak verimliliğinin arttırılması ve fiziksel yapısının devam ettirilmesi için, **organik ve inorganik maddelerin toprağa ilave edilmesine**, zararlı, kirletici ve zehirli maddelerden arınmasına, sulamanın aza indirgenmesine, **verimli ve kaliteli hasadın arttırılmasına** yardımcı olan **toprak düzenleyiciler**, tarımda büyük önem taşımaktadır. Tarımsal üretimi sınırlayan en önemli faktör düşük toprak verimliliğidir. Toprak verimliliğinin uygun seviyeye getirilmesi için bitki gelişimine yönelik ihtiyaç duyulan besin elementlerinin gübreleme ile toprağa ilave edilmesi gerekmektedir (El Sheikh ve ark., 2005; Bilen, 2014).

Tablo 1.1. Gübre çeşitleri

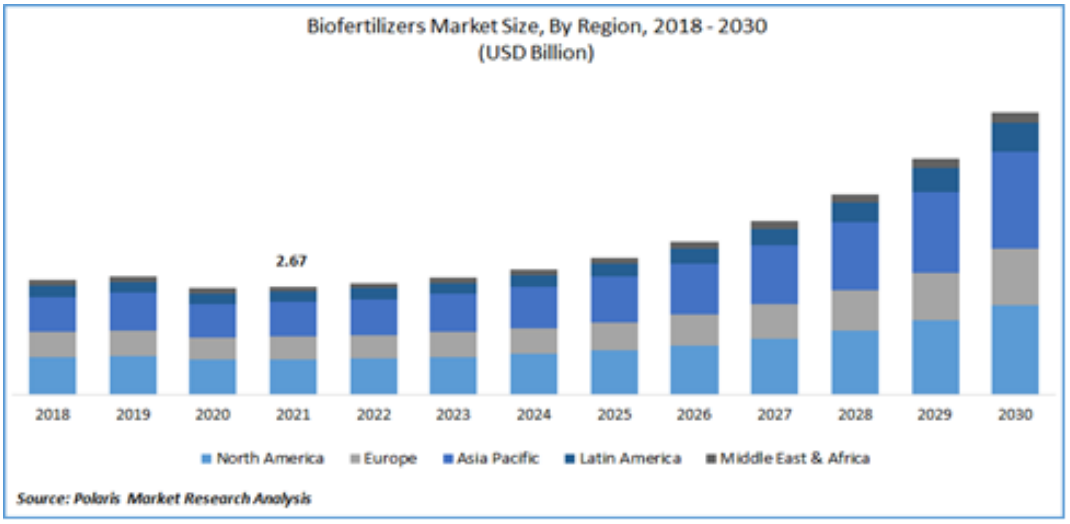


Tarımsal uygulamalarda kullanılan gübreleme çeşitlerine bakıldığında (Tablo 1.1) **organik gübrelerin toprağı iyileştirerek bitkilerin besin maddelerinden daha iyi faydalanmasını** sağlarken, **kimyasal gübrelerin ise anlık besin maddesi ihtiyacını giderdikleri, fazlalıklarının ise toprak ve su kirliliğine sebep oldukları** bilinmektedir (Yetgin, 2010). Kimyasal ve organik gübrelerin avantajları ve dezavantajları Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Kimyasal ve organik gübrelerin avantajları ve dezavantajları

Küresel anlamda kimyasal gübrelerin olumsuz etkilerinden kaçınmak için kullanımlarının azaltılmasında, alternatif olarak biyogübrelerin kullanımlarında ise bir artış meydana gelmektedir. Fortune Business Insights'a göre biyogübrelerin 2021'deki dünya marketindeki büyüklüğü 1,80 milyar dolar iken 2029'da 4,47 milyar dolar olacağı ön görülmektedir. Kategori bazında bakıldığında ise **azot fikse etme** özelliği olan mikroorganizmalar içeren biyogübrelerin lider olduğu, sonrasında ise **fosfat çözücü mikroorganizmaları** içeren biyogübrelerin geldiği belirtilmiştir. Uygulama yöntemleri açısından bakıldığında ise topraktan uygulama ürünlerinin hızla yaygınlaşmakta olduğu ve gittikçe büyüyen bir pazar haline geldiği bildirilmiştir. Polaris Market Research verilerine bakıldığında ise küresel **biyogübre pazarının 2021'de 2,67 milyar ABD doları değerinde olduğu ve gittikçe büyüyeceği** bildirilmiştir (Şekil 1.2). Sürdürülebilir ve organik tarım teknikleriyle uyumlu gübrelere yönelik artan pazar talebinin, bu biyo-gübre pazarını gelecek yıllarda ileriye taşıması beklendiği belirtilmiştir.



Şekil 1.2. Kıtalara göre biyogübre pazarı (Polaris, 2022).

FAO'nun 2006'da yayınlanan bir raporuna göre en genel anlamda; biyogübre, **atmosferik azotu fikse eden veya topraktaki kompleks bileşikleri çözündürme / harekete geçirme konusunda yardımcı olan ve büyümeyi teşvik eden maddeler salgılayan bakteriler, mantarlar, aktinomisetler ve tek veya kombinasyon halindeki algler gibi yaşayan veya uyku halindeki mikro organizmaları içeren** ürünler için kullanılan, geniş bir terimdir. Ayrıca **biyouyarıcılar** veya **mikrobik kültürler** olarak da bilinirler (FAO, 2006).

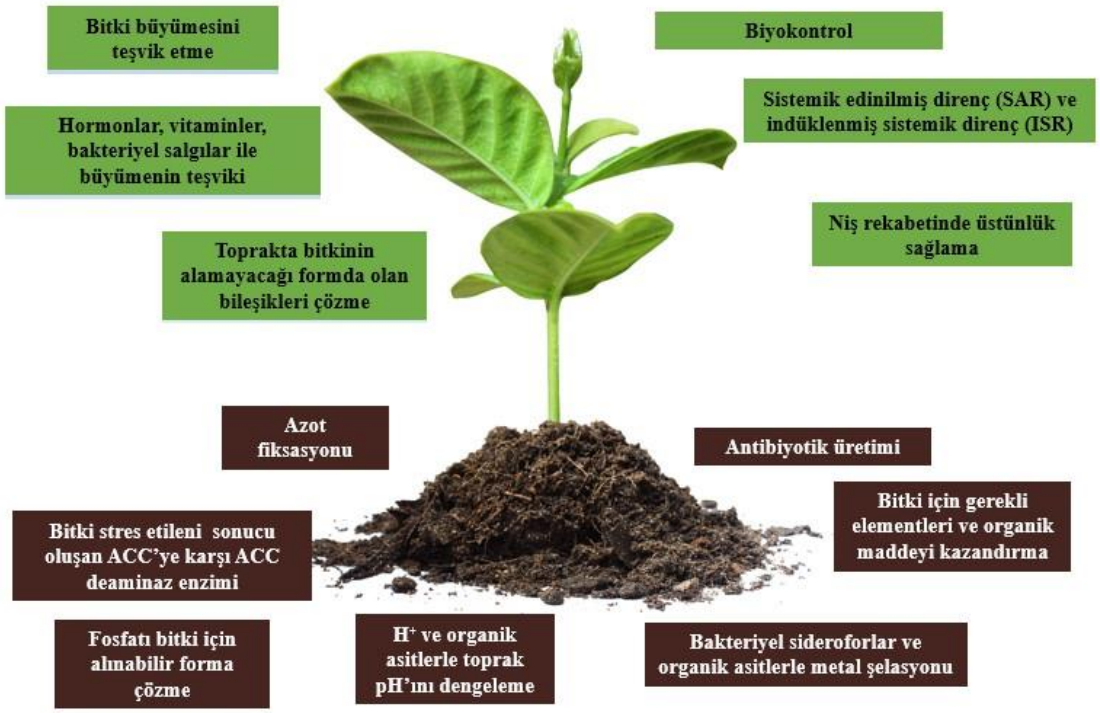
Tarımsal aktivitelerde kullanılan **bakteri, mantar ve alg gibi mikroorganizmaları içeren biyogübreler**, yalnızca doğal, çevre dostu ve ekonomik olmakla kalmayıp aynı zamanda toprak yapısını ve **tarım arazilerinin biyoçeşitliliğini koruyan** büyük ölçekli tarım uygulamaları için uygun çözümler olarak önerilmektedir (Thomas ve Singh, 2019). Biyogübreler aynı zamanda fide yaşama oranını artırmakta, kök sisteminin ömrünü uzatmakta, çiçeklenme süresini kısaltmakta ve kimyasal girdi ihtiyacını azaltmaktadır (Miranda ve ark., 2024). Bununla birlikte, çevresel ve toprakla ilişkili koşullara bağlı olarak etkileri sınırlanabilmekte ve faydaların devamlılığı için yeniden uygulama gerekebilmektedir (Malusá and Vassilev, 2014). Tüm bu sınırlamalara rağmen, biyogübreler kimyasal gübrelere tamamlayıcı nitelikte, maliyet açısından uygun, yenilenebilir ve çevre dostu bir alternatif sunarak sürdürülebilir tarım sistemlerinin gelişimine önemli katkı sağlamaktadır (Boraste ve ark., 2009; Nosheen ve ark., 2021).

Biyogübreler, temel olarak **atmosferik nitrojeni sabitleyerek, fosfor çözerek ve bitki büyümesini teşvik eden maddeleri sentezleyerek** bitkisel verimi artırmaktadır. Bu

amaçla ***Azotobacter, Bacillus, Klebsiella, Enterobacter, Arthrobacter, Burkholderia, Pseudomonas, Serratia*** gibi birçok bakteri cinsi kullanılmaktadır (Singh ve ark., 2019). Biyogübre uygulamalarında **topraktaki soruna göre mikrobiyal formülasyonlar** çıkarılarak bakteri ve mantar cinsleri beraber de uygulanabilmektedir.

1.4.1. Biyogübreler ve çeşitleri

Mikroorganizmalar, bitkiler için tercih edilen besin formları olan amonyum, nitrat, fosfat ve sülfat gibi inorganik besin maddelerinin toprağa serbest bırakılmasında rol alırlar. Bu mikrobiyal besin dönüşümleri, doğal ortamlarda bitki büyümesi ve ekosistem verimliliğini etkileyen temel ögelerdendir. **Biyogübreler, bitkilerin rizosferi veya endosferi ile etkileşime giren bitki büyümesini teşvik edici potansiyellere sahip faydalı mikroorganizmalardan oluşmaktadır.** Toprak ortamında halihazırda mevcut olan maddeleri kullanarak ve/veya parçalayarak bitki büyümesini teşvik eden besinleri sağlamaktadırlar. Biyogübreler besin alımını uyararak toprak verimliliğini iyileştirmektedirler ve sonunda bitkisel verimi arttırmaktadırlar (Wyciszkiewicz ve ark., 2017; 2019). Ana amacı besin maddelerinin kullanılabilirliğini artırmak olan, toprak mikroorganizmalarından oluşan birçok ticari ürün vardır. Ek olarak besin sağlamayan fakat biyotik ve abiyotik direnci artıran **biyouyarıcı** olarak kullanılan ürünler de bulunmaktadır (Calvo ve ark., 2014). **Bitkilere veya rizosfere uygulandığında, bitkilerin besin alımını ve ürün kalitesini arttıran, gübre ihtiyacını azaltan, bitki büyümesini sağlayan, biyotik ve abiyotik strese karşı direnci arttıran, doğal süreçleri teşvik eden maddeler/mikroorganizmalar olarak tanımlanan besin içeriğine biyogübre/biyostimülan/biyouyarıcı denilmektedir.** Biyogübreler, yararlı toprak mikroorganizmaları, oksinler, sitokininler gibi fitohormonları veya amino asitler gibi maddeleri içerebilirler. Şekil 1.3'te biyogübrelerin bitki beslenmesindeki rolleri gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Biyogübrelerin bitki beslenmesindeki rolleri

Farklı kaynaklarda farklı sınıflandırmaları mevcut olmakla birlikte FAO'nun 2006 yılında yayınlanmış olan "Plant Nutrition for Food Security" isimli raporundaki genel sınıflandırmaya göre biyogübreler 4 ana kategoriye ayrılabilirler:

- **N-fikse eden biyogübreler:** ***Rizobium, Azotobacter, Azospirillum, Clostridium*** ve ***Acetobacter*** cinslerini içerir bunların dışında; siyanobakteriler ve fern *Azolla* (siyanobakteriler ile ortak çalışan).
- **P-çözündürücü/harekete geçiren biyogübreler:** Bunlar, fosfat çözdürücü bakterileri (PSB) ve fosfat- çözdürücü mikroorganizmaları (PSM'leri) içerir; örneğin ***Bacillus, Pseudomonas*** ve ***Aspergillus. Mikoriza***, nütrient harekete geçirici mantarlardır, ayrıca veziküler arbusküler mikoriza veya VA-mikoriza veya VAM olarak da bilinirler.
- **Kompostlama hızlandırıcılar:** (i) selülozik (***Trichoderma***); ve (ii) lignolitik (***Humicola***)
- **Bitki büyümesini teşvik eden kök bakterileri (PGPR):** ***Azospirillium, Bacillus, Burkholderia, Klebsiella, Pseudomonas*** cinsleri bitkiye besin maddeleri sağlamazlar, ancak bitki büyümesini ve performansını arttırırlar.

Mevcut tarımsal uygulamalara kıyasla biyogübrelerin yararları aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Kırımhan, 2005):

- Toprağın korunması ve verimliliğinin devamlılığı,
- Su kirliliğinin azaltılması/önlenmesi (yer altı suyu, nehir, göl ve deniz),
- Yabanıl yaşamın korunması (kuşlar, kurbağalar, böcekler vb),
- Zengin biyoçeşitlilik, daha çeşitli ve değişken kırsal peyzaj,
- Çiftlik hayvanlarının daha dostça yetiştirilmesi,
- Dış girdilerin ve enerjinin daha az kullanımı,
- Hayvansal ürünlerde hormon veya antibiyotik kalıntısı olmaması,
- Ürün kalitesinde artış, güvenli gıda maddesi,
- Emek yoğun faaliyetler nedeniyle kırsal kesimde iş olanağının artması,
- İnsan sağlığını tehdit eden risklerin azalması

1.4.2. Bitkisel atıkların organik gübre olarak değerlendirilmesi ve kompostlama

Tarımsal üretimde sürdürülebilir alternatif potansiyelleri göz önüne alındığında **bitkisel atıkların organik gübre olarak değerlendirilmesi** önemli bir strateji olarak düşünülmektedir. Dünya genelinde tarımsal üretimden sonra her yıl yaklaşık 1,9 milyar ton bitkisel atık meydana gelmektedir (Zheng ve ark., 2014). Ülkemizde ise bitkisel üretim sonrasında yılda yaklaşık olarak 12,8 milyon ton organik atık açığa çıkmaktadır (Başçetinçelik, 2006). Hem küresel olarak hem de ülkemizdeki en önemli hasat kalıntılarından olan **tahıl samanları biyolojik olarak parçalanabilir doğal bir selüloz, hemiselüloz ve lignin kaynağıdır** ve kağıt, biyoyakıt ve biyogaz üretiminde, hayvan yemi amaçlı ve **toprakta besin geri dönüşümünde** kullanılabilmektedir (Pacheco ve ark., 2018). Toprağa eklenen bu atık samanların önemli bir **enerji ve C kaynağı** oldukları ve biyolojik, kimyasal ve fiziksel özellikleri olumlu yönde **etkileyerek toprak kalitesini ve üretkenliğini** artırdıkları bilinmektedir (Mulumba ve Lal, 2008; Wei ve ark., 2015).

Zengin karbon kaynağı olan çeltik samanı ve benzeri lignoselülozik yapıdaki atıklar, birçok ülkede genellikle hasattan sonra arazi hazırlığını kolaylaştırmak için **yakılmaktadır.** Bu fiziksel ayrıştırma çevre kirliliğine, yarayışlı **toprak mikroorganizmalarının** ve **bitki besin maddelerinin kaybına** neden olmaktadır (Harindintwali ve ark., 2020). Yakılmayan tarımsal atıklar ise genellikle geviş getiren

hayvanların beslenmesi için kullanılmaktadır ancak iyi sindirilememeleri, azot içeriklerinin düşük olması ve yüksek oranda besleyici olmayan bileşenler **(lignin ve silika**) içermeleri nedeniyle pek tercih edilmemektedirler.

Tarımsal ekosistemlerde önemli bir lignoselülozik biyokütle olan sap artıklarının, toprak organik maddesini ve yapısını iyileştirmek amacıyla sürdürülebilir biçimde geri dönüştürülebileceğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Cui ve ark., 2021). Bu artıkların parçalanması, mikrobiyal aktiviteye ve lignoselüloz parçalayıcı enzimlerin üretimine bağlıdır (Chukwuma ve ark., 2021). Mikrobiyal ayrıştırıcıların, toprakta enzimatik aktiviteyi ve genel sağlığı artırdığı, bunun da özellikle çeltikte olmak üzere bitkisel verim üzerinde olumlu etkiler sağladığı bildirilmiştir (Lamba ve Gill, 2024).

Tarımsal bitki atıkları **kompostlama** ile geri dönüştürebilmektedir. Kompostlama, kontrollü bir **mikrobiyal ayrıştırma işlemi sonucu toprak düzenleyici ve organik gübre olarak kullanılabilecek organik materyallerin oluşumu** olarak tanımlanmaktadır (Bari ve Koenig, 2001; Sönmez, 2012; Sarangi ve Lama, 2013; Çerçioğlu, 2019). Yapılan son araştırmalara göre; kompost kullanımının gelişmiş bitki büyümesi, toprakların stabilizasyonu, azalan hava ve su kirliliği, çevresel dayanıklılık ve iklim adaptasyonu üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir (Lim ve ark., 2016; Guo ve ark, 2019). Ülkemizde özellikle sera üretiminden sonra elde edilen atıkların kompostlaştırılması ve toprağa uygulanması üzerine yapılan araştırmalara göre kompost kullanımının toprağın organik maddesi, makro besin maddesi içeriği ve bitki verimini arttırdığı belirlenmiştir (Sönmez ve Kaplan, 2010; Aşık ve Kütük, 2012; Sönmez ve ark., 2017; Çerçioğlu, 2019). Dünya'da ve ülkemizde atıkların özelliklerine ve kompostun kullanılacağı alana göre kompostlama işleminde farklı yöntemler ve teknolojiler bulunmaktadır. **Lignoselülozik bitki materyalinin bu klasik yöntemlerle kompostlanması uzun süren bir işlemdir** ve bu işlem sırasında gelişen mikrobiyal biyokütle, substrat tarafından sağlanan miktardan daha fazla azota ihtiyaç duyduğundan toprağa eklendiğinde bitki açısından azot eksikliğine neden olabilmektedir. Bu durumun **hem azot fikse edici hem de selüloz-lignin parçalayıcı özelliklere sahip mikroorganizmaların bitki atıkları ile birlikte kullanılmaları** ile aşılabileceği düşünülmektedir (Yu ve ark., 2017). Bu amaçla, lignoselülolitik enzimler üreten ***Azomonas agilis, Stenotrophomonas*** **spp.,** ***Bacillus*** **spp.,** ***Streptomyces*** **spp.,** ***Pseudomonas*** **spp.,** ***Paenibacillus azotofixans*** ve ***Gluconacetobacter*** **spp.** gibi

bakterilerin kullanılabileceği literatürde yer almaktadır (Latt ve ark., 2018; Wunna ve ark., 2017). Bunlara ek olarak, **bazı *Bacillus* suşlarının, kompostlaşma süresini % 40-43 oranında azalttığı ve komposttaki toplam azot, fosfor ve potasyum seviyelerini artırdığı** gösterilmiştir (Abdel-Rahman ve ark., 2016). Prasad ve Sinha, (2000) tarafından buğday ve çeltik yetiştiriciliği yapılan kireçli topraklardaki uzun süreli organik ve inorganik gübre denemelerinin bitkisel verime etkilerinin araştırıldığı çalışmaya göre bitkisel atık kullanımının verimde artış sağladığı bildirilmiştir. Yapılan analizlerde bitkisel atıkların periyodik olarak kullanımı ile daha ekonomik bir sürdürülebilir buğday ve çeltik yetiştiriciliğinin yapılabileceği ve bitkisel artıkların kireçli topraklarda kullanımı ile çeltik ve buğday tarafından kaldırılan azot miktarının %37'sini karşıladığı belirlenmiştir. Liang ve ark. (2005) tuzlu toprağa farklı organik gübrelerin (**çeltik sapı, domuz gübresi, çeltik sapı + domuz gübresi**) uygulanması ile arpa bitkisinin gelişimi, toprak enzim aktivitesi ve solunum oranı üzerine etkisinin araştırıldığı çalışma sonucunda organik materyal uygulanan topraklar ile rizosfer toprağının hiç organik artık uygulanmamış kontrole göre üreaz, alkalen fosfataz, dehidrogenaz ve solunum oranının daha yüksek seviyede bulunduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak tuzlu topraklara uygulanan organik gübre ilavesinin besin elementlerinin alınabilirliği ve bitki gelişimini olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Simarmata ve ark. (2016) çeltik yetiştiriciliğinde toprak kalitesini ve bitkisel verimi artırmak amacıyla saman atıkları ile çeşitli bakteriler kullanarak (***Streptomyces* sp., *Cytophaga* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.,** ve ***Trichoderma* sp.**) aerobik kompost uygulaması yapmışlardır. Kompost uygulamasına ek olarak *Trichoderma sp*. pirinç hastalıklarına karşı biyokontrol ajan olarak kullanılmıştır. Araştırmanın sonunda bu uygulamanın **topraktaki yararlı mikroorganizmaların çeşitliliğini artırırken bitkisel verimde de artış** sağladığı rapor edilmiştir. Arora ve Kaur (2019) tarafından çeltik samanının (R, kontrol) aerobik kompostlama (Acom) ve vermikompostlama (Vcom-*Eisenia fetida* ile) ile farklı kombinasyonlarda (çeltik samanı-ahır gübresi, çeltik samanı-*Azolla*, çeltik samanı-*Aspergillus terreus*, çeltik samanı-ahır gübresi-*A. terreus*, çeltik samanı-ahır gübresi-*Azolla*, çeltik samanı- *A. terreus*-*Azolla* ve çeltik samanı-ahır gübresi-*A. terreus*-*Azolla*) ahır gübresi (C), *Azolla* (A) ve selülolitik fungus *A. terreus* (F) ile karıştırılması amacıyla yapılan çalışmada *Azolla* ve ahır gübresi ilavesinin en hızlı bozunmaya (105 gün) neden olduğu ve C:N oranındaki en fazla düşüşün bu kombinasyonda meydana geldiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra *Azolla*'nın

karbon bakımından zengin çeltik samanının geri dönüşümünü sağlamada ahır gübresine bağımlılığı azalttığı ve çeltik samanının tarımsal değerini artırdığı bildirilmiştir.

1.5.Çeltik Hakkında Genel Bilgiler

Dünya nüfusunun hızla artmasına paralel olarak tarım ürünlerine ve özellikle tahıllara olan talep de artmaktadır. Çeltik (*Oryza sativa*), kabuğundan sıyrılmış haliyle pirinç, buğdaygiller (Poaceae) familyasına ait olup, besin kaynağı olarak tahıllar içinde buğday ve mısırla beraber en önemli kültür bitkisidir (Özçelebi ve Yılmaz, 2020). Morfolojik görseli ve sistematiği Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Alem:	Plantae (Bitkiler)
Şube:	Angiospermae (Kapalı Tohumlular)
Sınıf:	Monocotyledoneae (Tek Çenekliler)
Takım:	Poales (Buğdaylar)
Familya:	Poaceae (Gramineae) (Buğdaygiller)
Cins:	Oryza
Tür:	*Oryza sativa* L.

Şekil 1.4. *Oryza sativa* L. morfolojisi ve sistematiği (Köhler ve ark., 1887)

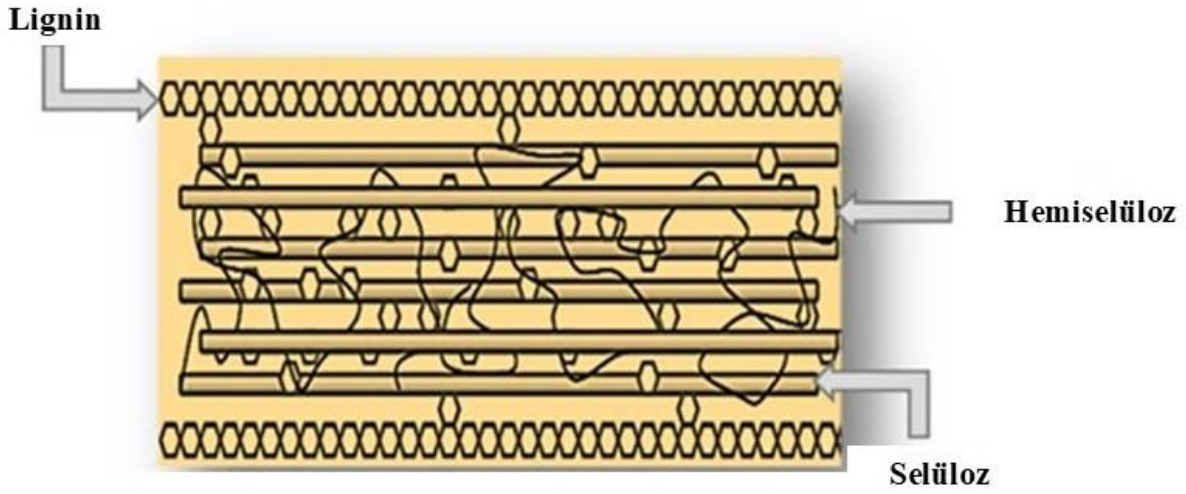
Çeltik ve çeltiğin işlenmiş hali olan pirinç insan beslenmesinin temel gıda maddelerindendir. Günümüzde Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO, 2024) verilerine göre dünyada tahıl üretiminde çeltik tarımının payı (~%8) oldukça yüksektir. Nitekim 2018 yılı itibariyle dünyada yaklaşık 3 milyar ton olarak gerçekleşen hububat üretiminde çeltik 782.000.145 ton ile ikinci sırada yer almaktadır (mısır birinci, buğday ise üçüncü sıradadır). Dünya genelindeki nüfus artış hızı bu oranda devam ettiği takdirde, 2030 yılında talebi karşılamak için çeltik üretiminin tüm dünya genelinde olduğu gibi, ülkemizde de %50 oranında artırılması gerektiği ön görülmektedir (FAO 2002).

Uluslararası Tahıl Konseyi (IGC), 2021 yılında küresel pirinç üretiminin 509 milyon ton olduğunu ve dünya pirinç ticaretinin de 51 milyon ton olarak gerçekleştiğini belirtmiştir. Ülkemizde çeltik ticareti dikkate alındığında 2020 yılında çeltik ithalatı 179 bin 493 ton ve ihracat ise 202 ton olarak gerçekleşmiştir. 2021 yılında ise çeltik ithalatı 73 bin 121 ton ve ihracat 173 ton olarak gerçekleşmiştir.

Ülkemizde pirinçte kendine yeterlilik oranı yaklaşık %80 civarındadır. Türkiye'de 2002 yılında 60 bin hektar alanda çeltik ekimi yapılırken, bu alan 2021 yılında 129 bin 490 hektara çıkmıştır. Aynı şekilde, 2002'de 360 bin ton olan çeltik üretimi, 2021 yılında 1 milyon tona (pirinç karşılığı 600 bin ton) yükselmiştir. Ülkemizde pirinç tüketimi de yıllar itibarıyla artış göstermiş ve son yıllarda 700 bin tonun üzerine çıkmıştır. Kişi başına yıllık ortalama pirinç tüketimi 10 kilogram civarındadır. Çeltik Türkiye'nin bütün bölgelerinde yetiştirilmektedir, fakat en fazla ekiliş alanı ve üretim miktarına sırasıyla Marmara ve Karadeniz Bölgeleri sahiptir (Sürek ve Beşer, 2014). Türkiye'de bölgelere göre çeltik üretimi değerlendirildiğinde 2021 yılı itibariyle %70.2 ile Marmara Bölgesi başta gelmekte, %19.4 ile Karadeniz Bölgesi, %8.6 ile İç Anadolu Bölgesi ve %1,8 ile de diğer bölgeler sıralanmaktadır. 2021 yılında 28 ilde çeltik tarımı yapılmış olup Edirne ili toplam üretimin %41.2'sini gerçekleştirirken, ikinci sırada Samsun (%15.3), üçüncü sırada Balıkesir (%13.7) gelmektedir. Bu illeri sırasıyla Çanakkale (%9.8), Çorum (%5.9), Sinop (%2.8), Çankırı (%2.2), Bursa (%1.9), Kırklareli (%1.7) ve Tekirdağ (%1.6) takip etmektedir. En fazla çeltik fabrikası bulunan iller dikkate alındığında; Edirne'de 39, Balıkesir'de 22, Samsun'da 16 ve Mersin'de 12 fabrika olarak sıralanmaktadır. Bunun yanında pirincin kalburdan geçirilmesi, öğütülmesi veya diğer işlemleri sonucunda kalan kepek, kavuz ve diğer artıklar ile ilgili işlemleri gerçekleştirenler de eklendiğinde fabrika sayısı artmaktadır. Çeltikten elde edilen ana ürünün pirinç olması yanında pirinç kabuğu, pirinç kepeği, pirinç kepeği yağı, kırık taneler, pirinç unu gibi yan ürünleri endüstriyel gıda sanayinde kullanılmaktadır. Genel olarak, 100 kg çeltik üretimi ile 90-110 kg saman, 50-60 kg pirinç, 3-5 kg pirinç cila unu, 10-12 kg kırık pirinç, 18-20 kg pirinç kabuğu ve 10-13 kg pirinç kepeği elde edilmektedir (Sürek, 2002).

Çeltik hasadı sonrası ortaya çıkan sap artıkları, içerdiği yüksek lignoselülozik bileşenler nedeniyle önemli bir tarımsal atık grubunu oluşturmaktadır. Bu artıklar genellikle %28–45 α-selüloz, %12–32 hemiselüloz, %23–28 pentozan ve %5–24 lignin

içermekte olup bu bileşenler çeltik samanının dayanıklı lignoselülozik yapısını belirlemektedir (Kaur ve ark., 2017). Şekil 1.5'te çeltik samanının lignoselülozik biyokütle bileşenlerinin yapısı gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Çeltik samanının lignoselülozik biyokütle bileşenlerinin yapısı (Jayakumar ve ark., 2024)

Çeltik samanlarının yüksek silika ve lignin içeriği, düşük protein düzeyi ve rumende sınırlı parçalanabilirliği nedeniyle hayvancılıkta yem olarak kullanımı yaygın değildir. Toprağa bırakıldığında da tam olarak parçalanamayan bu artıklar, üreticiler tarafından çoğunlukla yakılarak bertaraf edilmekte; bu durum hem toprağın organik madde döngüsünü olumsuz etkilemekte hem de çevresel açıdan ciddi riskler oluşturmaktadır. Özellikle çeltik saplarının yakılmasıyla atmosfere salınan sera gazları, sürdürülebilirlik prensipleriyle çelişmekte ve küresel iklim değişikliğine katkı sağlayan önemli bir etmen haline gelmektedir (Polat, 2017). Nitekim atmosfere yayılan bu gazların birikimi doğal sera etkisini şiddetlendirerek dünya yüzey sıcaklıklarının artmasına ve dolayısıyla küresel ısınmanın hızlanmasına yol açmaktadır. Oysa bu tarımsal atıklar, uygun biyoteknolojik yöntemlerle geri kazanıldığında, hem toprak verimliliğini artırabilecek potansiyele sahip organik materyallere dönüştürülebilir hem de çevreye olan olumsuz etkileri azaltılabilir. Bu bağlamda çeltik samanı; biyogaz, biyokompozitler ve biyolojik olarak parçalanabilir kaplar gibi katma değerli ürünlerin üretiminde değerlendirilmesi gereken önemli bir kaynak olarak öne çıkmaktadır (Haque ve ark., 2022; Saha ve Hariprasad, 2022; Sharma ve ark., 2024).

Bu bilgiler ışığında, bu tez çalışması kapsamında, Trakya ve Orta Karadeniz Bölgelerinde çeltik tarımı yapılan alanlarda, hasat sonrasında ortaya çıkan ve parçalanma–ayrışma özellikleri sınırlı olan çeltik samanlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, çeltik yetiştirilen topraklardan izole edilen; lignin ve selüloz parçalayıcı enzimlere sahip olmanın yanı sıra, aynı zamanda azot fikse edebilen ve fosfat çözümleyebilen özellikteki çok işlevli bakterilerin, çeltik samanlarıyla birlikte toprağa uygulanmasıyla hem organik maddenin parçalanması hem de toprakta bulunan besin elementlerinin (özellikle azot ve fosforun) biyoyararlanabilirliğinin artırılması hedeflenmiştir. Bu sayede, çeltik tarımı yapılan toprakların verimliliğinin ve yapısal kalitesinin iyileştirilmesi amaçlanmıştır.

1.6.Amaç ve Hedefler

Toprak, tüm canlıların ortaklaşa kullandığı, temel besin maddelerinin kaynağı, önemli yaşamsal döngülerin ana parçası, yaşamın sürekliliğini sağlayan, doğanın en önemli kaynaklarından biridir. Tarımsal üretim için yüzyıllardır kullanılan araziler, ekolojik sorunlar ve yanlış gübreleme sonucu her geçen gün azalmakta ve mevcut toprakların niteliği gittikçe bozulmaktadır. Bu bozulmanın başlıca göstergelerinden birisi toprağın en önemli içeriği olan organik maddelerin azalmasıdır. Vahşi kimyasal gübre kullanımının azaltılarak gübreleme programlarının tarımsal atıkların da döngüsel ekonomi anlayışıyla değerlendirilmesiyle elde edilecek organik katkılar ile desteklenmesi, hem toprağın organik madde içeriğinin artması hem de sürdürülebilir tarımın ekonomiye ve verime yapacağı etkiler açısından büyük önem taşımaktadır. Bitkiler için esansiyel makro besin elementleri arasında bulunan azot, fosfor ve kükürt için depo kaynağı topraktaki bu organik maddelerdir. Toprağın yapısının iyileşmesinde, sıkışmanın azaltılmasında, suyun ve havanın toprak içindeki hareketinin düzenlenmesinde, toprağın su tutma kapasitesini ve bitkinin su alımını artırmada yine organik maddelerin rolü son derece büyüktür. Yoğun toprak işleme, erozyon, monokültür tarım ve yetersiz organik gübre kullanımı ve organik atık ve artıkların biyokimyasal dönüşümünün sağlanarak toprağa eklenmemesi toprakların organik madde miktarının sürekli azalmasına neden olmaktadır.

Ülkemizde Orta Karadeniz ve Trakya bölgelerimizde çeltik tarımı yapılan topraklarımızın organik madde düzeyleri çoğunlukla %1,0-2,0 aralığındadır. Bu durum,

toprakta bulunan organik ve inorganik kökenli besin elementlerinin azalmasına ve ürün veriminin sürdürülebilir olarak belli düzeyde alınamamasına sebep olmaktadır. Bu yüzden çeltik bitkisi artıklarının toprağa dönüşümünün sağlanarak organik maddenin artırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Ayrıca halihazırda çeltik samanları fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak parçalanıp toprağa dönüştürülemediğinden tarlada doğrudan yakılmakta ve çevre sağlığı, iklim değişikliği bakımından istenmeyen durumların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Tahıllardan çeltik bitkisinin üretiminden sonra açığa çıkan atıkların ve samanın yüksek oranda **silika ve lignin** içermesi, rumende yavaş ve sınırlı düzeyde parçalanması, protein içeriğinin az olmasından dolayı besleyici değeri düşük olduğundan besicilikte tercih edilmemektedir. Çeltik samanı toprağa verildiğinde de tam olarak parçalanamadığı için üreticiler tarafından yakılarak imha edilmektedir. **Çeltik samanlarının yakılarak imha edilmesi atmosferdeki "sera gazlarını" artırmakta ve küresel ısınma sebebiyle iklim değişikliğinin sebeplerinden biri olarak ayrıca göze çarpmaktadır.**

Toprağın organik ve inorganik içeriğini artırmak için fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler bulunmaktadır. Çeltik samanı gibi besicilikte tercih edilmeyen, toprakta tam olarak parçalanmayan bitkisel atıkların çevre dostu yöntemler ile degrade olması ve bu yolla toprağın organik ve inorganik içeriğinin artırılması toprak kalitesinin korunmasında önemli bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır. Böylece bitkisel verimdeki düşüşün önüne geçilebileceği öngörülmektedir.

Bu bilgiler ışığında bu tez çalışması ile Trakya Bölgesi'nde ve Orta Karadeniz Bölgesi'nde çeltik tarımı yapılan alanlarda hasat sonunda açığa çıkan ve kendi halinde parçalanma-ayrışma özellikleri sınırlı olan çeltik samanının çeltik yetiştirilen topraklardan izole edilen lignin ve selüloz parçalayıcı enzimlere sahip bakteriler ile buluşturulması ve bu yolla çeltik samanının biyogübreye dönüştürülmesi, biyogübrenin toprağa eklenmesiyle toprağın organik madde miktarının arttırılması ve yarayışlı formda esansiyel elementlerin serbest kalması sayesinde daha az kimyasal gübre kullanılması, ayrıca biyogübre adayı formülasyonlarında yer alacak yararlı bakterilerin bitki büyümesini teşvik eden rizobakteri (PGPR) özelliklerinden (azot bağlama, fosfat çözme, stres toleransını arttırma vb.) de faydalanarak sürdürülebilir çeltik üretimine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda;

- Çeltik ekimi yapılan tarlaya ait **toprak analizlerinin** yapılması,
- Analiz yapılan topraktan **bakteri izolasyonunun** yapılması,
- İzole edilen bakteri türlerinin **selüloz ve lignin parçalama, azot bağlama, fosfor çözme** gibi etkinliklerinin belirlenmesi,
- Hasat sonunda açığa çıkan **çeltik samanlarının enzimatik testler ile belirlenen bakteriler ile muamele edilmesi,**
- Uygulanan bakteriler tarafından parçalanan çeltik samanlarının **kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi**,
- Kompozisyonu belirlenen **çeltik samanlarının toprağa eklenmesiyle toprağın organik madde miktarının artırılması**,
- Toprak analizlerinde belirlenen **N ve P gibi eksiklerinin enzim aktiviteleri belirlenen bakteriler ile giderilebilmesi,**
- Biyogübre adayının çeltik bitkisinin büyümesi, verimi ve verim unsurları ile toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerine etkisinin kontrollü **sera koşullarında saksı denemeleri** vasıtasıyla belirlenmesi,
- **Organik artığın artık olmaktan çıkarılıp toprağın organik karbon kapsamını arttıran değerli bir materyal haline getirilmesine ve tarımsal üretimin arttırılmasına katkı sağlanması** hedeflenmiştir.

BÖLÜM 2

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1.Materyal

2.1.1. Kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar

1. Nitril Eldiven (Pudrasız) (Broche-Türkiye)
2. Santrifüj Tüpleri 15 ml, 50 ml (ISOLAB-Almanya)
3. Cam Deney Tüpleri
4. Portüpler
5. Şeffaf Mikroplaka (TPP-İsviçre)
6. Plastik Petri Kapları (ISOLAB-Almanya)
7. Pipet ucu (10µl, 100 µl, 1000 µl) (Axygen-ABD)
8. Quartz Spektrofotometre Küveti (ISOLAB-Almanya)
9. Agar (BD, ABD)
10. Pepton (Himedia, Hindistan)
11. Tryptic Soy Broth Besi yeri (TSB) (Merck, Almanya)
12. Luria-Bertani Besi yeri (LB) (BD, ABD)
13. Etil Alkol (Merck, Almanya)
14. Metanol (Merck, Almanya)
15. Sodyum Klorür (NaCl) (Merck, Almanya)
16. Tris-HCl (Merck, Almanya)
17. EDTA (Merck, Almanya)
18. Congo Red (Merck, Almanya)
19. Azure B (Sigma-Aldrich, ABD)
20. Karboksimetil Selüloz (CMC) (Sigma-Aldrich, ABD)
21. Toz Selüloz (Himedia, Hindistan)
22. Alkali Lignin (TCI, Japonya)
23. K_2HPO_4 (Dipotasyum Hidrojen Fosfat) (Tekkim, Türkiye)
24. KH_2PO_4 (Mono Potasyum Fosfat) (Tekkim, Türkiye)
25. Sukroz (Sigma-Aldrich, ABD)
26. $MgSO_4$ (Magnezyum Sülfat) (Merck, Almanya)

27. $FeSO_4$ (Demir Sülfat) (Merck, Almanya)

28. $CaCO_3$ (Kalsiyum Karbonat) (Merck, Almanya)

29. $(NH_4)_2SO_4$ (Amonyum Sülfat) (Himedia, Hindistan)

30. Na_2MoO_4 (Sodyum Molibdat) (Merck, Almanya)

31. Gelatin (Merck, Almanya)

32. Kloroform/Oktan (Merck, Almanya)

33. Isopropanol (Merck, Almanya)

34. Nukleaz-free Su

35. Lizozim (Roche, Almanya)

36. Proteinaz K (Thermo Scientific, ABD)

37. ADS Exo-Alp-Clean-up Kit

38. ADS SupreDye™ Cycle Sequencing Kit

39. ADS 5X Sequencing Buffer

40. Zymo Research DNA Sequencing Clean-Up Kit

41. Acetonitrile (LC-MS grade)

42. Ultra Saf Su

43. Jasem LC-MS/MS Kitleri (Altium International Laboratory Equipment, Türkiye)

44. Jasem GC-MS Kitleri (Altium International Laboratory Equipment, Türkiye)

45. KCL Buffer (Merck, Almanya)

46. Moleküler analizlerde kullanılan primerler:

- 8F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)
- 806RB (5′-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3′)
- UP-1

(5'-GAAGTCATCATGACCGTTCTGCAYGONGGNGGNAARTTYGA-3')

- UP-2

(5'-AGCAGGGTACGGATGTGCGAGCCRTCNACRTCNGCRTCNGTCAT-3')

- PsRpoB-L (5′-GCAGTGAAAGARTTCTTTGTTC-3')
- Rpob-R (5′-GTTGCATGTTNGNACCCAT-3')

2.1.2. Kullanılan cihazlar

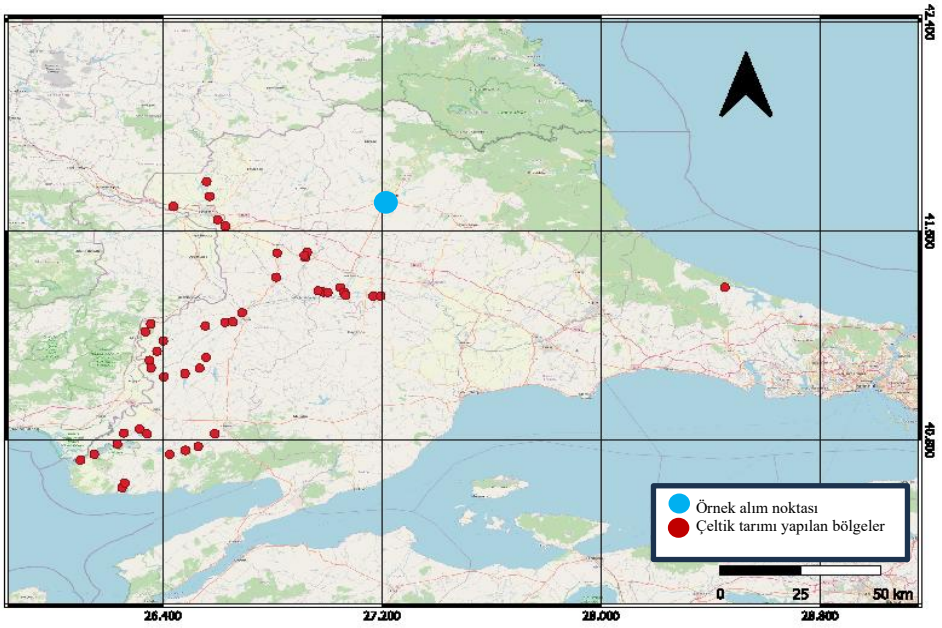
1. **Multimod Mikroplaka Okuyucu ve Görüntüleyici (Biotek Cytation-ABD):** Enzimatik aktivitelerin absorbans ölçümleri için kullanılmıştır.
2. **pH Metre (Thermo-ABD):** Deneylerde kullanılan besiyerlerinin ve kimyasalların pH ayarlaması için kullanılmıştır.
3. **Manyetik Karıştırıcı (WiseStir-Almanya):** Besiyerleri ve kullanılan kimyasalların kullanılmadan önce homojen hale getirilmesi için kullanılmıştır.
4. **Dijital Hassas Terazi (Ohaus-ABD):** Besi yeri ve kimyasalların tartılması için kullanılmıştır.
5. **Vorteks (Heidolph-Almanya):** Deneyde kullanılan kimyasalların ve karışımların homojen karıştırılmasında kullanılmıştır.
6. **Buzdolabı (Siemens-Almanya):** Kimyasal maddelerin ve bakterilerin izole edilmelerinde kullanılan besiyerlerinin saklanması için kullanılmıştır.
7. **Otoklav (Nüve-Türkiye):** Besi yeri hazırlama ve deneylerde kullanılacak kimyasalların sterilizasyon işlemleri için kullanılmıştır.
8. **Mikropipetler (1000µl, 100µl, 10µl) (Thermo/ Finnpipette-ABD):** Deneylerde sıvı kimyasalların eklenmesi sırasında kullanılmıştır.
9. **İnkübatör (Incucell-MMM Group-Almanya):** Bakterilerin yetiştirilmesinde kullanılmıştır.
10. **UV-VIS Spektrofotometre (Beckman-Coulter-ABD):** Bakterilerin konsantrasyon ayarlamasında spektrofotmetrik olarak absorbanslarının belirlenmesinde kullanılmıştır.
11. **Santrifüj (Thermo Scientific SL 16-ABD):** Enzimatik ve moleküler analizlerde supernatant-pellet ayrımı yapmak ve istenmeyen girdilerin uzaklaştırılması amacıyla kullanılmıştır.
12. **Bitki ve Baharat Öğütücü (Demsan-Türkiye):** Çeltik atıklarının parçalanması amacıyla kullanılmıştır.
13. **HPLC Sistemi (Agilent-ABD):** Çeltik atıklarının içerik analizleri yapılırken kullanılmıştır.
14. **Sanger Dizileme Sistemi (Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer-ABD):** Moleküler analizler yapılırken kullanılmıştır.

15. **Thermal Cyclers (PCR) (Techne TC5000 -İngiltere):** Moleküler analizler yapılırken kullanılmıştır.
16. **Elektroforez Sistemi (Thermo Scientific-ABD):** Moleküler analizler yapılırken kullanılmıştır.
17. **ICP-OES (Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry) (Agilent 5800-ABD):** Bitkilerin elemental analizleri yapılırken kullanılmıştır.
18. **Mikrodalga Parçalama Sistemi (Mars 6-CEM-ABD):** ICP ile mineral analizi yapmadan önce numunelerin parçalanma işleminde kullanılmıştır.

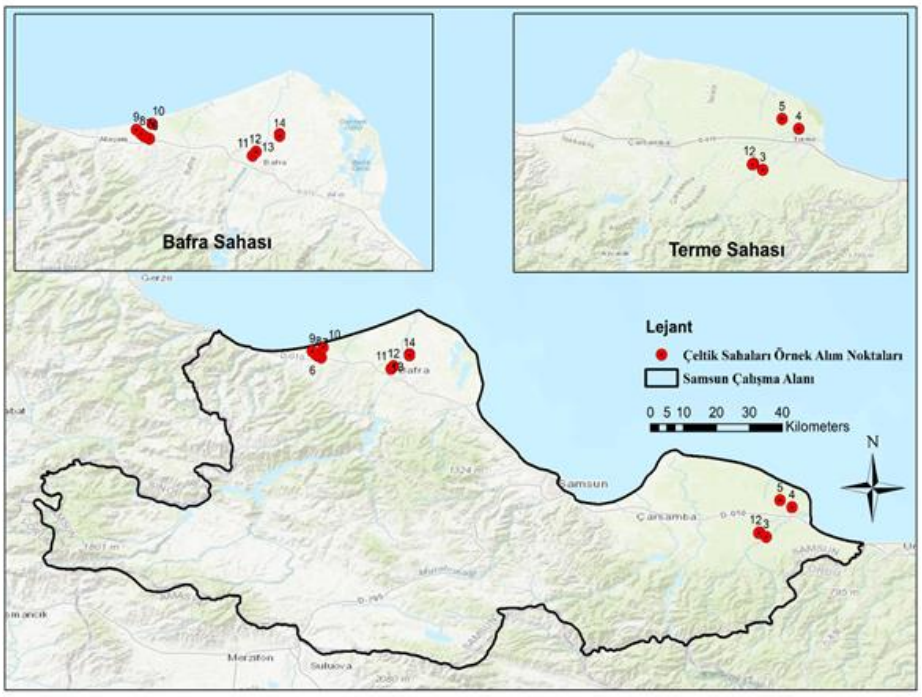
2.2. Yöntem

2.2.1. Çeltik tarımı yapılan toprakların örneklenmesi, fiziksel ve kimyasal analizlerinin yapılması

Trakya'da çeltik tarımı yaygın olarak Edirne'de Meriç Nehri boyunca ve İpsala Ovası'nda; Tekirdağ'da Hayrabolu ilçesinde; Kırklareli'nde ise Pehlivanköy, Babaeski ve Lüleburgaz ilçelerinde gerçekleştirilmektedir. Samsun ilinde ise çeltik üretimi ağırlıklı olarak Bafra ve Terme ilçelerindeki tarım alanlarında yapılmaktadır. Bu çalışmada, çeltik hasadı sonrası toprak örnekleri, Türkiye'nin Marmara Bölgesi'nde yer alan Kırklareli'nden (41°42'03.6"N 27°12'33.5"E) ve Karadeniz Bölgesi'nden Samsun'dan (41°17'22.0272"N 36°20'21.4044"E) 0–30 cm derinlikten alınmıştır. Kırklareli ve Samsun illerine ait örnekleme bölgeleri sırasıyla Şekil 2.1 ve Şekil 2.2'de sunulan haritalarda gösterilmiştir. Alınan örnekler temiz bir zemin üzerine serilerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan topraklar dövülerek 2 mm'lik elekten geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir. Biyolojik analizler taze toprakta yapılmış, analiz yapılana kadar topraklar +4ºC de buzdolabında saklanmıştır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik analizler Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı Atatürk Toprak, Su ve Tarımsal Meteoroloji Araştırma Enstitüsü (Kırklareli) ile Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Samsun) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.



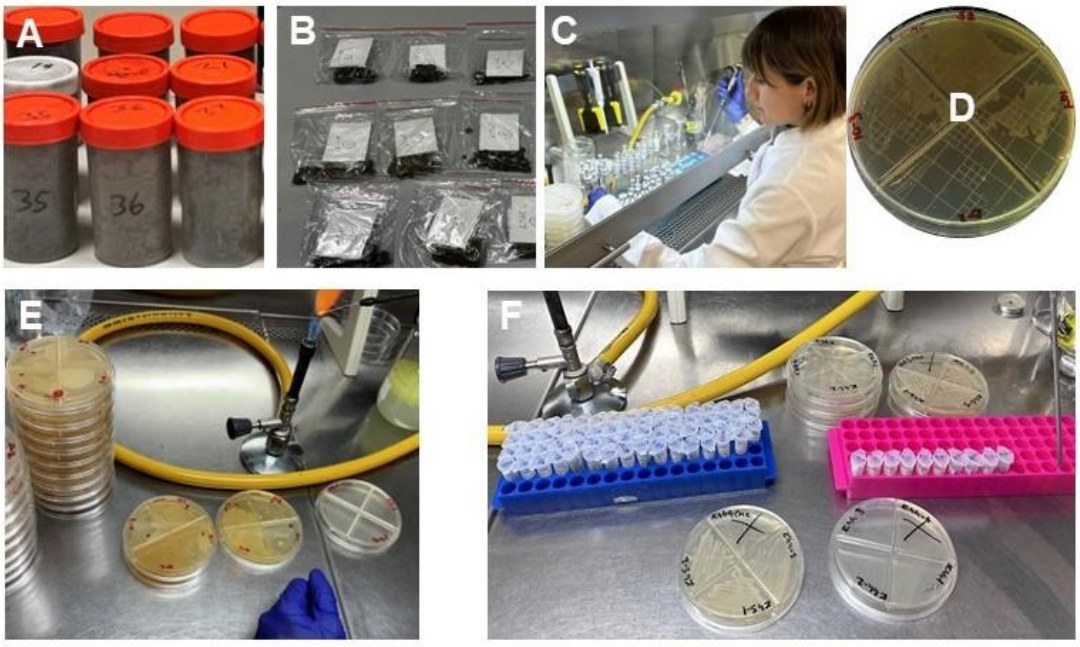
Şekil 2.1. Türkiye'nin Marmara Bölgesi'nde yer alan Trakya kesiminde çeltik tarımı yapılan bölgeler ve toprak örnekleme noktası (mavi nokta örnek alım bölgesi, kırmızı noktalar ise çeltik tarımı yapılan bölgeleri temsil etmektedir).



Şekil 2.2. Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Samsun ilindeki çeltik tarımı yapılan bölgeler ve toprak örnekleme noktası (toprak örnekleme noktası Terme Sahası'nda 4 numara ile gösterilmiştir).

2.2.2. Çeltik samanlarını parçalamak ve toprak kalitesini artırmak amacıyla kullanılacak bakterilerin izolasyonu ve tespiti

Bu iş paketi kapsamında Kırklareli'nden Şekil 2.1'de; Samsun'dan ise Şekil 2.2'de belirtilen bölgelerden temin edilen topraklardan mikroorganizma izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla her toprak numunesi için birkaç alt numune alınmış, steril fizyolojik tuzlu su çözeltisinde %0,85 NaCl (a/h) homojenize edilmiş, seri olarak seyreltilmiş (10^{-1}, 10^{-2} ve 10^{-3}) ve yöntem devamında içerikleri detaylıca açıklanan seçici selülolitik besi yerleri kullanılarak yayma plakası tekniği yapılmıştır (Rawway ve ark., 2018). Seçici ortamın petrilerinde görülen ve hızlı büyüyen tüm farklı bakteri kolonileri seçilmiş ve saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Saflaştırılmış koloniler lokasyonlarına ve izole edildikleri besi yerlerine göre kodlanmış, etiketlenmiş, kalitatif ve kantitatif testler için kullanılmak üzere -20°C'de ve -80°C'de saklanmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Topraklardan mikroorganizmaların izolasyonu **A)** Kırklareli'nden temin edilen toprak numuneleri **B)** Samsun'dan temin edilen toprak numuneleri **C)** Steril kabinde mikroorganizmaların toprak numunelerinden izolasyonu **D)** Topraktan izole edilmiş karışık kültür **E)** Karışık kültürün saflaştırma aşaması **F)** Saflaştırılmış kültürlerin stok aşaması

Kodlardaki ilk harf S ise Samsun'u, K ise Kırklareli'nden izole edilen izolatları temsil etmektedir. S veya K'den sonra yazılan sayılar ise izolatlara sırayla verilen numaraları temsil etmektedir. Örnek olarak;

S1: Samsun'dan izole edilen 1. izolatı temsil etmektedir.

K2: Kırklareli'nden izole edilen 2. izolatı temsil etmektedir.

2.2.2.1.Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin izolasyonu

Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin izolasyonu amacıyla seçici besi yeri olarak 2 farklı selüloz kaynağı kullanılmıştır. Birincisinde karboksimetil selüloz agar (CMC agar) kullanılmıştır (g/L): pepton 10,0; karboksimetil selüloz (CMC) 10,0; K_2HPO_4 2,0; $MgSO_4.7H_2O$ 0,3; $(NH_4)_2SO_4$ 2,5; jelatin 2,0 ve agar 15. İkincisinde ise selüloz toz agar (CP) kullanılmıştır (g/L): selüloz 2,0; gelatin 2,0; $MgSO_4$ 0,25; KH_2PO_4 2,0 ve agar 15. pH 6.8-7.2'ye ayarlanmış ve petriler 37 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir (Rawway ve ark., 2018). Seçici ortamın petrilerinde görünen tüm farklı bakteri kolonileri seçilmiş ve saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Saflaştırılmış koloniler lokasyonlarına göre kodlanmış, etiketlenmiş, kalitatif ve kantitatif testler için kullanılmak üzere -20°C'de ve -80°C'de saklanmıştır.

2.2.2.2.Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi

Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin kalitatif analizi için tüm saflaştırılmış bakteri izolatları, Lisdiyanti ve ark., (2012) tarafından tarif edildiği gibi taranmıştır. Her iki selüloz kaynağı içeren besi yerlerine izole edilmiş mikroorganizmalar CMC agar besi yerlerinde test edilmiştir. CMC, glukoz birimlerinin C2, C3 veya C6 pozisyonlarında yer değişimi üretmek için selülozun alkali içinde kloroasetat ile reaksiyonu yoluyla üretilen karboksimetil grupları içeren bir selüloz türevidir (Gelman, 1982). Sonuç olarak, CMC suda çözünür ve selülazların hidrolitik aktivitesine daha uygundur. Bu nedenle CMC, selülaz aktivitesinin tespiti için hem sıvı hem de katı ortama yararlı bir katkı maddesidir ve hidrolizi β-D-glukanlara bağlanan Kongo kırmızısı boyası kullanılarak belirlenebilmektedir. CMC içeren katı besi yerinde büyüyen koloniler, daha sonra Kongo kırmızısı ile boyanarak, CMC'nin hidrolizini ve dolayısıyla β-D-glukanase aktivitesini tespit etmek için yararlı bir test sağlamaktadır (Teather ve Wood, 1982). Bu bilgilerin

ışığında her izolat, $1x10^8$ KOB/ml ayarlanarak CMC agar petrilerine ayrı ayrı ekilmiş ve 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, CMC agar petrilerine %0,1 (w/v) Kongo kırmızısı reaktifi uygulanmıştır ve oda sıcaklığında 15 dakika beklemeye bırakılmıştır. Ardından 1 M NaCl ile yıkanmıştır. Bakteri kolonileri çevresinde berrak bir hidroliz bölgesinin oluşumu, selüloz parçalanmasının göstergesi olmuştur. Zon oluşturan bakteriler kantitatif analiz için seçilmiştir.

Kalitatif test sonucu zon gösteren bakterilerin kantitatif selülaz aktivitelerini ölçmek amacıyla DNS yöntemi uygulanmıştır (Ghose, 1987). Öncelikle en iyi zon gösterenler seçilmiş ve $1x10^8$ KOB/ml ayarlanarak CMC sıvı besi yerlerinde üretilmiştir. 24 saat, 72 saat ve 7 gün sonrasında aşağıdaki formüle göre selülaz aktiviteleri belirlenmiştir. 540 nm dalga boyunda absorbans değerleri bir mikroplaka okuyucusu (Biotek Cytation-ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

$$\boldsymbol{\Delta E\ x\ Vf / \Delta t\ x\ \Sigma\ x\ Vs\ x\ d}$$

$\Delta E = 540\ nm\ absorbans$

$Vf = DNS\ dahil\ reaksiyon\ karışımının\ son\ hacmi$

$Vs = ml'deki\ enzim\ hacmi$

$\Sigma = ekstinksiyon\ katsayısı\ (glikoz\ standartından)$

$d = ışık\ yolunun\ uzunluğu$ (2.1)

2.2.2.3.Ligninolitik aktiviteye sahip bakterilerin kantitatif olarak belirlenmesi

Selülolitik aktiviteye sahip izolatların ligninolitik aktivitesi Azure B yöntemi ile kantitatif olarak belirlenmiştir (Yang ve ark., 2021). Azure-B, lignininkine benzer yapıya sahip olan triarilmetan boyaları sınıfındadır ve genellikle lignin parçalanmasının enzim aktivitesini ölçmek için substrat olarak kullanılmaktadır (Bandounas ve ark, 2013). Bu yöntem için izolatlar LB sıvı besi yerinde 24 saat boyunca 30°'de inkübe edilmiştir. Sonrasında $1x10^8$ KOB/ml ayarlanmış ve Azure-B (%0,01)-LB sıvı besi yerine pasaj geçilmiştir. 24 saat sonrasında 1 ml fermantasyon sıvısı alınmış ve 3000 x g 8 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak 590 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikroplaka okuyucusu (Biotek Cytation-ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Aşağıdaki

formüle göre % dekolorizasyonları ölçülmüştür. Kontrol grubuna hiçbir bakteri konulmamıştır (Bandounas ve ark, 2013).

$$\%\boldsymbol{Dekolorizasyon} = (Kontrol\ absorbans - Gözlenen\ absorbans) / Kontrol\ absorbans \quad (2.2)$$

2.2.2.4. Fosfor kaynağı çözen bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi

Fosfor kaynağı çözen bakterilerin kalitatif tespiti amacıyla seçici besi yeri olarak Pikovskaya (1948) tarafından tarif edildiği gibi yeast extract 0,5; dekstrose 10; kalsiyum fosfat 5,0; amonyum sülfat 0,5; KCl 0,2; $MgSO_4.7H_2O$ 0,25; manganaz sülfat 0,0001; demir sülfat 0,0001 ve agar 15 (g/L) hazırlanmıştır. Petriler 30°'de 1 hafta inkübe edilmiştir. Beyaz renge sahip seçici besi yerinde inkübasyon sonrası şeffaf zon gösterenler fosfor kaynağını çözebilenler olarak not edilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşu kullanılmıştır.

Fosfor kaynağı çözen bakterilerin kantitatif analizi için Chaiharn ve Lumyong (2009)'un çalışması referans alınarak test bakterileri öncesinde, 30 °C'de 24 saat boyunca Luria-Bertani (LB) Broth'a kültüre alınmıştır. Hücre süspansiyonlarının son yoğunluğu, spektrofotometre ile (600 nm) yaklaşık 3 x 10^8 KOB/ml'ye (1,0 McFarland) ayarlanmıştır. Her bir izolat, 100 µl (yaklaşık 3 x 10^8 KOB/ml) inokulum ile Pikovskaya (1948) besi yerine ekilmiş ve 30 °C'de 180 rpm hızında çalkalamalı inkübatörde 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kültürler, 6.000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenerek süpernatantları alınmıştır. Steril ve bakteri eklenmemiş besi yeri kontrol olarak kullanılmıştır. Kültür süpernatantında kalan çözünmemiş fosfat, Fiske ve Subbarow (1925) yöntemiyle belirlenmiştir. Bunun için 500 µl süpernatanta, 500 µl %10 (w/v) Trikloroasetik asit eklenmiş, ardından 4 ml renk reaktifi (3 M H_2SO_4 / %2,5 (w/v) Amonyum molibdat / %10 (w/v) Askorbik asit ve distile su, 1:1:1:2 oranında karıştırılarak) ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında (26 ± 2 °C) 15 dakika inkübe edilmiştir. Oluşan mavi rengin absorbansı spektrofotometrede 820 nm'de ölçülmüştür. Kontrol olarak bakteri eklenmemiş besi yeri kullanılmıştır. Çözünür tricalcium fosfor miktarı (TCP), KH_2PO_4 standart eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır.

2.2.2.5.Azot sabitleyen bakterilerin kalitatif olarak belirlenmesi

Azot sabitleyen bakterilerin tespiti amacıyla seçici besi yeri olarak Jensen besi yeri Sükroz 20; K_2HPO_4 1,0; $MgSO_4$ 0,5; NaCl 0,5; $FeSO_4$ 0,1; Na_2MoO_4 0,005 g; $CaCO_3$ 2,0; agar 15 (g/L) kullanılmıştır ve büyüme gözlenene kadar 37°C'de inkübasyon yapılmıştır (Jensen, 1951). Jensens besi yerinde azot kaynağı bulunmadığından, besi yeri üzerinde üreme gösteren bakteriler azotu havadan fikse ettikten sonra biyolojik aktivitelerinde kullandıklarından potansiyel azot sabitleyici bakteriler olarak tespit edilmiştir.

2.2.2.6. Potasyum kaynağı çözen bakterilerin kalitatif olarak belirlenmesi

Potasyum kaynağı çözen bakterilerin tespiti amacıyla seçici besi yeri olarak Alexandrov agar besi yeri glikoz 5,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5; $CaCO_3$ 0,1; $FeCl_3$ 0,006; Ca_3PO_4 2,0; agar 20 ve potasyum feldspar (çözünmeyen bir Potasyum kaynağı olarak) 3 (g/L) kullanılmıştır (Setiawati ve Mutmainnah, 2016) ve 37°C'de 1 hafta boyunca inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Beyaz renge sahip seçici besi yerinde inkübasyon sonrası şeffaf zon gösterenler potasyum kaynağı çözebilen bakteriler olarak not edilmiştir.

2.2.3. Enzim aktiviteleri belirlenen bakterilerin moleküler tür tayinlerinin yapılması

Toplam genomik DNA izolasyonu, Park ve ark. (2014) çalışması temel alınarak bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Her bir bakteri izolatı, steril 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine 300 µl KCl tamponu ilave edilerek hazırlanmıştır. Hücrelerin parçalanması ve nükleik asitlerin serbest kalması amacıyla, her tüpe sırasıyla 10 µl Proteinaz K (10 mg/ml), 5 µL RNaz (10 mg/mL), 5 µl lizozim (50 mg/ml) eklenmiştir. Tüpler, enzimatik sindirimin gerçekleşebilmesi için önce 37°C'de 30 dakika, ardından 55°C'de 15 dakika süreyle çalkalamalı ısıtıcı inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra, her tüpe 300 µl kloroform/oktanol (24:1, v/v) karışımı ilave edilerek örnekler nazik el hareketleriyle dikkatlice karıştırılmıştır. Bu aşamada faz ayrımını sağlamak üzere, tüpler +4°C'de, 12000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında oluşan fazlardan yalnızca üst (sulu) faz, yeni etiketlenmiş steril 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine 200 µl olacak şekilde transfer edilmiştir. Ardından, her

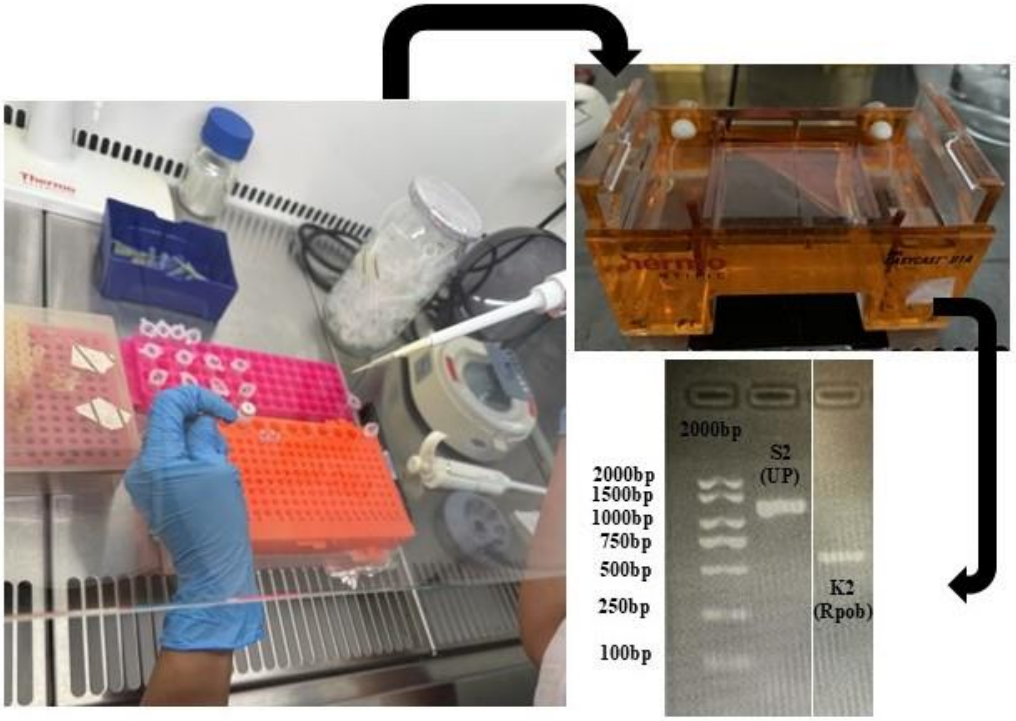
örneğe 120 µl soğuk ve saf izopropanol eklenmiş ve tüpler yavaşça çalkalanarak DNA'nın çökelmesi sağlanmıştır. DNA'nın çökelmesi için tüpler tekrar +4°C'de, 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış, ardından pelletler seri olarak birkaç kez %70 etanol ile yıkanmıştır. Kabin içerisinde tamamen kurutulan pelletler, nükleaz içermeyen saf suda çözündürülmüş ve saflıkları belirlenmiştir.

İzolasyon sonrasında elde edilen DNA'ların saflık ve konsantrasyon tayinleri Cytation 3 (BioTek, ABD) spektrofotometre cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir DNA örneği için 260/280 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülerek, bu oranlara göre DNA'ların protein kontaminasyonundan arındırılmış olup olmadığı değerlendirilmiştir. Oranın yaklaşık 1.8 civarında olması, DNA saflığının uygun olduğunu göstermiştir. Elde edilen absorbans verilerine göre DNA konsantrasyonları hesaplanmış ve her bir örnek, 50 ng/µl olacak şekilde uygun oranda dilüe edilmiştir. Hazırlanan alikotlar, sonraki moleküler analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır.

Bakteri izolatlarının taksonomik düzeyde tanımlanabilmesi için iki aşamalı moleküler bir yaklaşım izlenmiştir. İlk aşamada, V1–V4 bölgelerini kapsayan 16S rRNA gen bölgesi evrensel primerler olan 8F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) ve 806RB (5′-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3′) ile çoğaltılmıştır. 16S rRNA gen bölgesi yakın akraba türlerin ayrımında sınırlı çözünürlük sağladığı için, ikinci aşama olarak tür seviyesinde kesin tanımlama amacıyla housekeeping genleri olan *gyrB* ve *rpoB* genleri dizilenmiştir. *Bacillus* izolatı S2 için *gyrB* geni, primer çiftleri UP-1 (5'-GAAGTCATCATGACCGTTCTGCAYGONGGNGGNAARTTYGA-3') ve UP-2r (5'-AGCAGGGTACGGATGTGCGAGCCRTCNACRTCNGCRTCNGTCAT-3') ile çoğaltılmıştır. *Pseudomonas* izolatı K2 için ise *rpoB* geni, PsRpoB-L (5′-GCAGTGAAAGARTTCTTTGTTC-3') ve Rpob-R (5′-GTTGCATGTTNGNACCCAT-3') primerleriyle hedeflenmiştir. *Bacillus* türlerinin ayrımında *gyrB* geninin kullanımı, Wang ve ark. (2007) tarafından önerilmiş olup, bu gen 16S rRNA'dan daha yüksek filogenetik çözünürlük sağlamaktadır. *Pseudomonas* türlerinin tanımlanmasında ise *rpoB* geni Ait Tayeb ve ark. (2005) tarafından rutin tanımlamada tercih edilen, 16S rRNA'ya kıyasla yaklaşık üç kat daha yüksek filogenetik ayrım sağlayan bir gen olarak kullanılmaktadır. Uygulama esnasında VeriFi^{TM} Mix (PCR Biosytems, BK) reaksiyon

karışımı kullanılmıştır. PCR tepkimesi şu koşullarda gerçekleştirilmiştir: başlangıç denatürasyonu 95°C'de 5 dakika, ardından 30 döngü boyunca 95°C'de 60 saniye, 50°C'de 30 saniye, 72°C'de 30 saniye.

PCR ile çoğaltılan hedef DNA bölgelerinin doğrulanması amacıyla, elde edilen amplikonlar %1,8 agaroz jel ortamında elektroforez (Thermo Scientific, ABD) ile analiz edilmiştir (Şekil 2.4). Her bir örnek, 6X yükleme boyası (loading dye) ile karıştırıldıktan sonra 10 µl olacak şekilde jel üzerindeki kuyucuklara ayrı ayrı yüklenmiştir. Elektroforez işlemi, 1X TBE tamponu içerisinde, 100 Volt gerilim uygulanarak 60 dakika boyunca yürütülmüştür. Amplifiye edilen DNA fragmentlerinin yaklaşık büyüklükleri, 2000 bp'lik moleküler ağırlık belirteci (ladder) ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Jel üzerinde elde edilen bantlar, Prizma (Türkiye) marka jel görüntüleme sistemi kullanılarak görselleştirilmiş ve belgelenmiştir.



Şekil 2.4. Biyogübre adayı mikroorganizmaların DNA izolasyonu ve dizileme için hazırlanışları

PCR sonrası amplikonlar, primer ve dNTP kalıntılarından arındırılmak üzere ADS Exo-Alp Clean-up Kit (ADS, Türkiye) ile saflaştırılmıştır. Bu işlem kalan PCR bileşenlerini yok etmek için 37°C'de 15 dakika ve ardından enzimlerin inaktive edilmesi

için 80°C'de 15 dakika inkübasyon ile gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılmış ürünler ADS SupreDye™ Cycle Sequencing Kit ve ADS 5X Sequencing Buffer kullanılarak sekans PCR'ına tabi tutulmuştur. Sekanslama döngüsü şu şekilde uygulanmıştır: 96°C'de 1 dakika, ardından 30 döngü boyunca 96°C'de 10 saniye, 50°C'de 5 saniye, 60°C'de 4 dakika. Sekans PCR'ı sonrası, kalan kontaminantların (florasan boyalar, tuzlar, dNTP, primer ve enzim) temizlenmesi amacıyla Zymo Research DNA Sequencing Clean-Up Kit ile ikinci saflaştırma yapılmıştır. Kullanım protokolüne uygun olarak, filtreli tüp sisteminde 10 µl sekans PCR ürünü 240 µl Sequencing Binding Buffer ile karıştırılmış, iki yıkama basamağıyla (Sequencing Wash Buffer) temizlenmiş ve son olarak 15 µl Hi-Di Formamid ile elüe edilmiştir. Elüat, Applied Biosystems 3130xl genetik analiz cihazına yüklenerek çift yönlü Sanger dizileme gerçekleştirilmiştir.

Sanger dizileme sonrası elde edilen ham dizilerde primer bağlama bölgeleri ve düşük kaliteli (low-quality) bazlar BioEdit programı kullanılarak temizlenmiş, böylece analizde hata payı azaltılmıştır. Düzenlenen diziler FASTA formatına dönüştürülmüştür. Primer bağlama bölgeleri ve düşük kaliteli uçlar (ilk 50 ve son 50 baz) çıkarıldıktan sonra, ileri (forward) ve geri (reverse) diziler CAP (Contig Assembly Program) aracılığıyla, %85 benzerlik ayarı kullanılarak hizalanmış ve tek bir kesintisiz dizi (contig) oluşturulmuştur. Oluşturulan kontig dizileri, GenBank Nükleotid Veritabanı'nda BLASTn algoritması ile karşılaştırılmıştır. Tür seviyesinde kesin tanımlama yapabilmek için genel olarak kabul edilen kriterler doğrultusunda, dizilerde en az %95 benzerlik ve yüksek bir sorgu kapsamı (query cover) aranmıştır. Sorgu kapsama oranı, karşılaştırılan dizinin referans dizinin hangi yüzdesini kapsadığını göstermektedir ve yüksek olması tanımlamanın güvenilirliğini artırmaktadır. Bu iki parametrenin birlikte değerlendirilmesi, özellikle yakın akraba türlerin ayrımında daha doğru ve güvenilir moleküler taksonomik sınıflandırma yapılmasına olanak sağlamaktadır.

2.2.4. Çeltik samanlarının bakteriler ile parçalanması

Mikrobiyal gübre üretiminde kullanılacak olan çeltik samanı Trakya bölgesinden Kırklareli çeltik ekim alanından temin edilmiştir. Hasat sonrasında çeltik sapları kurutulmuş ve harman makinası ile parçalanarak samana dönüştürülmüştür. Elde edilen çeltik samanı öğütücüde öğütülüp 0,3 mm gözenek çaplı elekten geçirilmiş, otoklavda (121°C'de 5 dakika) sterilize edilmiştir.

Her bir Petri kabına 1 gram toz halinde hazırlanmış çeltik samanı ve 1 ml'lik, 10^9 KOB/ml konsantrasyonunda bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Süspansiyonlar, −80 °C'de saklanan stoklardan, 30 °C'de bir gece boyunca Tryptic Soy Broth (TSB) içinde aktive edilerek hazırlanmış ve optik yoğunluk (OD_{600}) ölçümleri ile standardize edilmiştir. Kullanılan bakteriler, enzimatik aktiviteleri en yüksek olan izolatlardan seçilmiştir. Negatif kontrol grubunda çeltik samanına sadece distile su, pozitif kontrolde ise TSB: peptone 3,0; NaCl 5,0; dipotasyum fosfat (K_2HPO_4) 2,5; glukoz 2,5 (g/L) eklenmiştir. Bakteri uygulama grupları üç tekrarlı olarak çalışılmış; kontrol grupları ise tekrarsızdır.

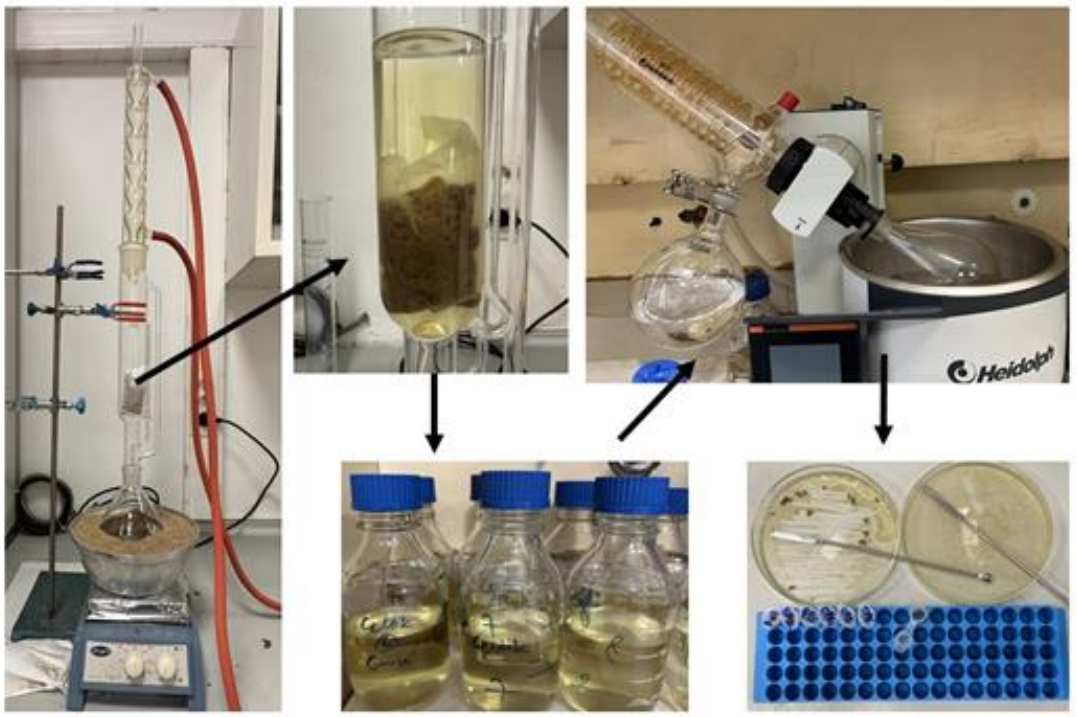
İnokülasyon işleminden sonra çeltik samanının nem durumu haftada iki kez kontrol edilmiş, dikkatlice karıştırılmış ve steril deiyonize su kullanılarak biyogübre adayının nemli kalması sağlanmıştır. Uygulama grupları 30 gün sonrasında analizler için hazırlanmıştır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Biyogübre amacıyla kullanılmak üzere hazırlanan çeltik samanları **A)** Öğütücüde öğütülmüş çeltik samanları **B)** Elekten geçirilmiş çeltik tozları **C)** Bakteri adaylarının uygulaması **D)** Biyogübre adaylarının uygulandığı çeltik grupları ve kontrol grupları

2.2.5. Bakteri uygulanan çeltik samanlarının içerik analizleri

Mikroorganizmaların uygulandığı her bir çeltik samanı grubunun 30 günlük inkübasyon süresinin ardından samanlar Soxhlet yöntemi (Soxhlet, 1879) ile etanol kullanılarak ekstrakte edilmiştir (Şekil 2.6). Ekstraksiyon, 30 dakika süreyle çalkalama, ardından 5 dakika süreyle 3600 g'de santrifüjleme (Thermo SL16, ABD) işlemleriyle gerçekleştirilmiştir. Üst faz, PTFE filtreden geçirilerek süzülmüştür. Ön işlemler sırasında dört farklı çözücü uygulanmıştır: LC-MS kalitesinde metanol, asetonitril, ultra saf su ve ultra saf su ile asetonitrilin 1:1 (v:v) oranındaki karışımı kullanılmıştır.



Şekil 2.6. Biyogübre adayı mikroorganizmaların uygulandığı çeltik gruplarının içerik analizi amacıyla Soxhlet yönteminde özütlerinin çıkarılması

Tüm analizler, Agilent marka bir HPLC sistemi (1290 Flexible Pump, 1260 vial örnekleyici ve 1260 çok kolondan oluşan termostat) ile gerçekleştirilmiş; bu sistem, elektrosprey iyonizasyon kaynağına sahip Agilent 6465 triple quadrupole LC/MS cihazı ile eşleştirilmiştir. Selüloz, hemiselüloz ve lignin bozunma ürünlerinin konsantrasyonlarının belirlenmesinde Jasem LC-MS/MS ve GC-MS kitleri (Altium Laboratuvar Cihazları, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Numune ve kalibratör

hazırlıkları, kit protokollerine uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Nicel analizler, iç standartların geri kazanım oranları dikkate alınarak matris etkisi ve işlem kayıpları düzeltilmiş kalibrasyon eğrilerine dayanarak yapılmıştır. Veri toplama, bileşen tanımlama ve kantitatif analiz işlemleri, Agilent MassHunter yazılımı (Acquisition v10.1, Qualitative v10.0, Quantitative v10.0) ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.6. Çeltik samanı ile birlikte uygulanan biyogübre adaylarının toprak parametreleri ve çeltik verimi üzerine etkilerinin sera koşullarında araştırılması

2.2.6.1. Sera deney grubunun kurulması

Sera çalışması, Gebze Teknik Üniversitesi Biyoteknolojisi Enstitüsü Ar-Ge Serası'nda yürütülmüştür. Deneysel düzende öncelikle 4 kg Kırklareli'nden çeltik tarımı yapılan tarladan (41°42'03.4"N 27°12'35.4"E) temin edilen toprak her biri deliksiz olan saksılara yerleştirilmiş ve inkübasyon aşamasına geçilmiştir. Kırklareli'nden temin edilen toprağın örnekleme noktası Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Biyogübre amacıyla kullanılmak üzere seçilen bakteriler ile inkübasyona hazırlanan çeltik samanları **A)** Öğütücüde öğütülmüş, elekten geçirilmiş çeltik samanlarının tartımı **B)** Çeltik tozlarına ve toprağa bakteri adaylarının uygulaması **C)** Biyogübre adaylarının uygulandığı, inkübasyona hazır saksı görseli

İnkübasyon gruplarında çeltik atığı uygulaması yapılacak saksılara 40 g öğütülmüş çeltik samanı ile birlikte 40 ml 10^9 KOB/ml konsantrasyonundaki bakteri süspansiyonları (S2: *Bacillus* türü; K2: *Pseudomonas* türü) uygulanmıştır. Bakteriler uygulandıktan sonra

2 ay süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon boyunca haftada iki kere sulama yapılarak nem dengesi korunmuştur. Bakteri uygulaması tek seferde inkübasyonun başında yapılmıştır (Şekil 2.7).

İnkübasyon süresinin sonunda her saksıya 15 adet çeltik (*Oryza sativa* L. cv Rekor CL) tohumu ekilmiştir. Tohumlar Kırklareli Atatürk Toprak, Su ve Tarımsal Meteoroloji Araştırma Enstitüsü'nden (TAGEM) temin edilmiştir. *Oryza sativa* L. Rekor CL genotipinin karakteristiği Tablo 2.1'de sunulmuştur.

Tablo 2.1. *Oryza sativa* L.. cv. Rekor CL'nin karakteristik özellikleri (TAGEM).

Tescil Yılı	TAGEM tarafından HALİLBEY X IMI ÇEŞİT geri melezinden geliştirilen ve 2018 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir.
Morfolojik Özellikleri	Bitki boyu 100 cm'dir. Yapraklar horizontal ve salkımları yarı yatık yapıdadır. Çeltik taneleri sarı renkli ve uzundur. Çeltik 1000 tane ağırlığı 33-34 gr'dır.
Tarımsal Özellikleri	125-130 günde olgunlaşan, iyi verim potansiyeline sahip bir çeşittir. Farklı koşullara uyum sağlayabilmektedir. Bir Clearfield çeşittir, IMI gurubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklıdır. Bu nedenle, IMI gurubu yabancı ot ilaçlarından imazamox etkili maddeye sahip ilaçlar kullanılarak, kırmızı çeltik kontrolünde kullanılabilir. Dekara 800-1000 kg arasında verim potansiyeline sahiptir.
Kalite Özellikleri	Pirinç randımanı %60'tır. Pirinç tane uzunluğu 6,3 mm ve genişliği ise 2,8 mm'dir. Pirinç tane görünüşü camsı ve mattır. Pirinç bin tane ağırlığı 24-25 gr'dır.

Tohum ekimi ile birlikte bazal gübreleme yapılmıştır. Gübre miktarları Tablo 2.2.'de gösterilmiştir. Azot (N) kaynağı olarak kalsiyum nitrat ($Ca(NO_3)_2$) ve üre (CH_4N_2O), fosfor (P) kaynağı olarak ise monopotasyum fosfat (KH_2PO_4) uygulanmıştır. Ara gübrelemede yalnızca 100 ppm kalsiyum nitrat uygulanmıştır. Bitkilerin büyümesinde çeşitli faktörler yer alır, bunlardan biri esansiyel minerallerdir. Azot, fosfor ve potasyum gibi ana elementler bitkilerde birincil gübreleme olarak uygulanmaktadır. Bitki

organlarının gelişimi, fizyolojisi ve çeltik verimini ve kalitesini arttırmak için N, metabolik süreçleri ve çeltik büyümesini geliştirmek için P, enzimatik aktiviteler için ise K gübrelemesi yapılmıştır (Ye, 2019). Çeltik yetiştirilirken tarlalarda da kullanılan azot formu üredir ve diğer azot formları ile kıyaslandığında çok daha etkili olduğu görülmüştür. Fakat serada kurulan denemelerde saksı koşullarında çeltik yetiştirilirken üre ile gübrelenmiş bitkilerin uçlarında yanıklar gözlenmiştir. Bu sebeple kurulan denemede saksı koşullarında üreden kaynaklı yaşanabilecek sorunların önüne geçebilmek için kalsiyum nitrat ve üre olmak üzere iki farklı N kaynağı kullanılmıştır (Golterman ve ark., 1998).

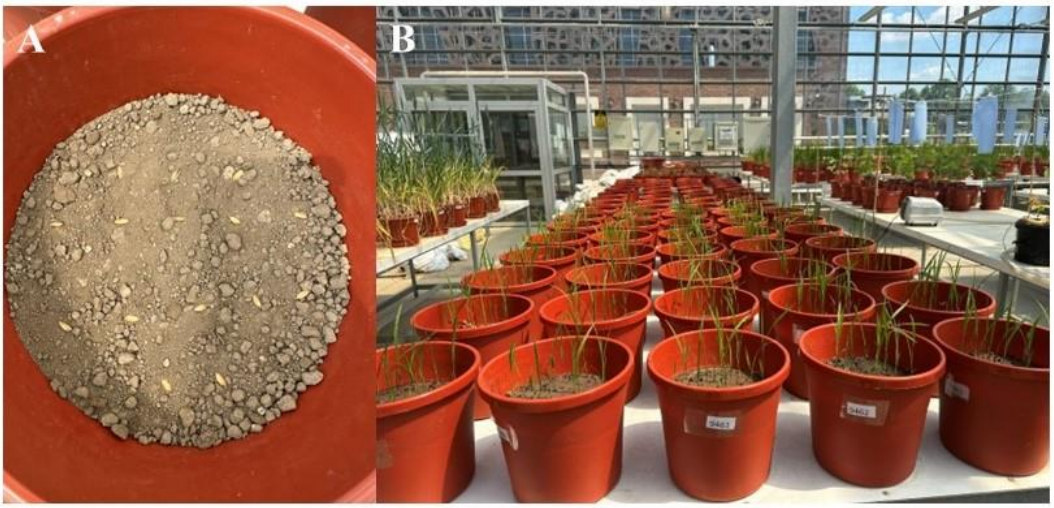
Tablo 2.2. Kimyasal gübre uygulama oranları

BAZAL (EKİM ÖNCESİ) TOPRAK GÜBRELEMESİ						
Bileşik	**MA (g/mol)**	**Esansiyel / Toksik Elementler**	**Birincil Element**	**Mol Başına Birincil Elementin Kütlesi (g)**	**Gerekli Toprak Konsantrasyonu (mg/kg)**	**Saksı Sayısı**
Üre	60,06	N			150	40
Monopotasyum fosfat	136,09	P (1/mol) ; K (1/mol)	P	30,974	50	40
Kalsiyum nitrat (BestCalni)	-	N ; Ca	N	-	50	40
Bileşik		**Kütle Oranı (Bileşik / Birincil Element)**	**Saksı Başına Toprak Kütlesi (kg)**	**Çözündürülmesi Gereken Kütle (g)**	**Saksı Başına Çözelti Hacmi (mL)**	**Toplam Çözelti Hacmi (L)**
Üre		2,2	4	52,17	20	0,80
Monopotasyum fosfat		4,4	4	35,15	20	0,80
Kalsiyum nitrat (BestCalni)		6,5	4	51,61	20	0,80

Tablo 2.2 (devam) Kimyasal gübre uygulama oranları

ARA GÜBRELEME						
Bileşik	**MA (g/mol)**	**Esansiyel / Toksik Elementler**	**Birincil Element**	**Mol Başına Birincil Elementin Kütlesi (g)**	**Gerekli Toprak Konsantrasyonu (mg/kg)**	**Saksı Sayısı**
Kalsiyum nitrat (BestCalni)	**-**	**N ; Ca**	**N**	**-**	**100**	**40**
		Kütle Oranı (Bileşik / Birincil Element)	**Saksı Başına Toprak Kütlesi (kg)**	**Çözündürülmesi Gereken Kütle (g)**	**Saksı Başına Çözelti Hacmi (mL)**	**Toplam Çözelti Hacmi (L)**
		6,5	**4**	**103,23**	**20**	**0,80**

Bitki çıkışından yaklaşık bir hafta sonra 3 ppm Zn ve 5 ppm Fe çözeltisi ile topraktan uygulama gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplar, çimlenme sonrası günlük olarak sulanmıştır. 20 gün sonra tüm tohumların çimlendiği gözlenmiş ve seyreltme yapılarak saksıdaki tohumlar 10 adete düşürülmüştür (Şekil 2.8). Hasat zamanına (40 gün) kadar günlük sulama yapılmaya devam edilmiştir.



Şekil 2.8. A) Tohum ekiminin gerçekleştirildiği uygulama grupları **B)** 20 gün sonra 10 bireye seyreltilmiş uygulama grupları

Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur:

1. **Negatif Kontrol:** Toprak + su (diğerlerine uygulanan miktarda kimyasal gübre)
2. **Besi yeri Kontrolü:** Toprak + TSB (besi yeri)
3. **Çeltik Grubu:** Toprak + çeltik samanı (40 g)
4. **Çeltik + S2 izolatı:** Toprak + çeltik samanı (40 g) + S2 (40 ml)
5. **Çeltik + K2 izolatı**: Toprak + çeltik samanı (40 g) + K2 (40 ml)
6. **Sadece S2 izolatı:** Toprak + S2 (40 ml)
7. **Sadece K2 izolatı**: Toprak + K2 (40 ml)

Her grup 5 tekrarlı olarak düzenlenmiştir.

2.2.6.2. Sera toprağının fiziksel, biyolojik ve kimyasal analizleri

Sera denemelerinde kullanılmak amacıyla çeltik hasadı sonrası toprak örnekleri, Türkiye'nin Marmara Bölgesi'nde yer alan Kırklareli'nden (41°42'03.4"N 27°12'35.4"E) 0–30 cm derinlikten alınmıştır. Toprakların alındığı bölge Şekil 2.1'de sunulan haritada gösterilmiştir. Alınan örnekler temiz bir zemin üzerine serilerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan topraklar dövülerek 2 mm'lik elekten geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir. Biyolojik analizler taze toprakta yapılmış, analiz yapılana kadar topraklar +4ºC de buzdolabında saklanmıştır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik analizler Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı Atatürk Toprak, Su ve Tarımsal Meteoroloji Araştırma Enstitüsü (Kırklareli) ile Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Samsun) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

2.2.6.3. Bitki morfolojik analizleri

2.2.6.3.1. Yeşil aksam uzunlukları

Yeşil aksam uzunlukları, her uygulama grubundan temsili seçilen bir saksıda bulunan 10 birey üzerinde ölçülmüştür. Ölçümler, ekimden yaklaşık 40 gün sonra, bitkiler sökülmeden hemen önce gerçekleştirilmiştir. Her bireyde, toprak yüzeyinden bitkinin en uzun yeşil kısmının ucuna kadar olan mesafe mezura kullanılarak santimetre (cm) cinsinden ölçülmüştür (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Yeşil aksam uzunluklarının ölçülmesi

2.2.6.3.2. Yeşil aksam yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ve %nem

Ekimden 40 gün sonra gerçekleştirilen hasat sırasında, her uygulama grubundaki 5 tekrardan (saksıdan) rastgele seçilen 6 bireyin toprak üstü yaş aksamları ayrı ayrı toplanarak yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Daha sonra bu örnekler 60 °C sıcaklıkta 72 saat boyunca etüvde kurutulmuş ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Yaş ve kuru ağırlık verileri kullanılarak nem oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\boldsymbol{Nem\ Oranı}\ (\%) = [(Yaş\ Ağırlık - Kuru\ Ağırlık) / Yaş\ Ağırlık] \times 100 \quad (2.3)$$

2.2.6.4. Biyokimyasal ve fizyolojik analizler

2.2.6.4.1. Yaprak pigment içeriği ve azot denge indeksi (NBI) analizleri

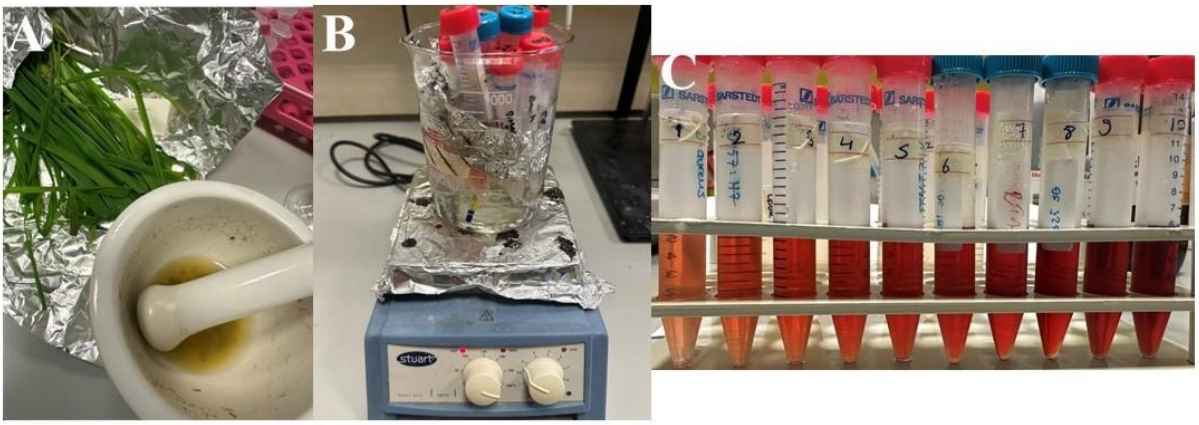
Yapraklardaki klorofil içeriği, taşınabilir bir floresans ölçüm cihazı olan Dualex Scientific+™ (Force-A, Orsay, Fransa) kullanılarak belirlenmiştir. Bu cihaz, farklı dalga boylarında (UV, yeşil ve kırmızı) LED ışık kaynakları aracılığıyla yapraktan yansıyan ve iletilen ışığın şiddetini ölçerek, klorofil, flavonol ve antosiyanin içeriklerini tahribatsız olarak belirlemektedir. Yapraktaki klorofil miktarına bağlı olarak kırmızı ışığın absorpsiyonu, flavonol içeriğine bağlı olarak ise UV ışığın absorpsiyonu temel alınarak

pigment yoğunlukları hesaplanmaktadır. Azot Denge İndeksi (NBI), yapraktaki klorofil ve flavonoid miktarlarının oranı olarak tanımlanmakta olup, bitkinin azot beslenme durumunun dolaylı bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Sağlıklı ve yeterli azot alımına sahip bitkilerde klorofil içeriği yüksek, flavonoid birikimi ise düşük olduğundan NBI değeri yüksektir. Buna karşılık, azot eksikliği durumunda klorofil içeriği azalırken flavonoid sentezi artmakta ve NBI değeri düşmektedir.

Ölçümler, yaprak sapından ucuna kadar olan bölgede, ana damar kısmı hariç tutularak gerçekleştirilmiş. Her saksıda bulunan 10 bireyden rastgele seçilen 3 bireyden ölçüm yapılmıştır. Her uygulama grubunda 5 saksı yer aldığından, her grup için toplam 15 bireyde ölçüm gerçekleştirilmiştir. Her bireyde tek bir ölçüm yapılmış ve elde edilen değerler analizlerde kullanılmıştır.

2.2.6.4.2. Prolin içeriği tayini

Çeltik yapraklarına ait prolin analizi Bates ve ark. (1973)'na göre yapılmıştır. Öncelikle tüm grupların yapraklarından 0,1 gr tartılmıştır. 0,1 gr yaprak 10 ml %3'lük sülfosalisilik asit kullanılarak soğuk havanda ekstre edilmiştir. Elde edilen homojenat, etiketli steril tüplere aktarılmıştır. Örnekleri içeren tüpler +4 °C'de 5.000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Ardından süpernatantlardan 2'şer ml steril yeni tüplere aktarılmış, 2 ml asit ninhidrin ve 2 ml glasiyal asetik asit ilave edilerek 100 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda örnekler soğuyuncaya kadar buz içerisinde tutulmuştur. Bunu takiben reaksiyon karışımlarına 5'er ml tolüen eklenip vortekslenmiştir. Elde edilen iki fazdan üstte kalan prolin kaynağı alınarak 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri spektrofotometrede ölçülmüştür. Şekil 2.10'da deney aşamaları gösterilmiştir. Kör olarak toluen kullanılmıştır. Tablo 2.3.'te çözeltilerin hazırlanışları verilmiştir.



Şekil 2.10. Yapraklarda prolin içeriği tayini **A)** Örneklerin ekstraksiyonu **B)** Örneklerin inkübasyonu **C)** Hesaplamada kullanılan prolin standart çözeltiler

Tablo 2.3. Prolin analizi için asit ninhidrin ve fosfat asidinin hazırlanışı

Çözelti Adı	**Hazırlanışı**
Asit Ninhidrin	1,25 g ninhidrin 30 ml glasiyal asetik asit ve 20 ml 6 M fosfat asidinde çözdürülmüştür. +4°C'de saklanmıştır.
6 M 100 ml Fosfat Asidi	40,5 ml %85'lik fosfat asidi 100 ml distile suya tamamlanmıştır.

Prolin miktarını belirlemek için elde edilen absorbans değerleri standart grafiğinde yerlerine konulmuştur. Elde edilen sonuçlar kullanılarak prolin miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\boldsymbol{Prolin}\ (\mu\boldsymbol{mol/g\ TA}) = ((prolin\ \mu g/ml * 4)/115{,}5)/(g/5)$$

$\boldsymbol{TA} = Taze\ ağırlık$

$\boldsymbol{Prolin}\ \mu\boldsymbol{g/ml} = Grafikteki\ formüle\ göre\ hesaplanan\ prolin\ miktarı$

$\boldsymbol{g} = örneğin\ ağırlığı$

$\boldsymbol{115.5} = Prolinin\ molek\ddot{u}ler\ ağırlığı$ (2.4)

Prolin standartının hazırlanması için 0,1 g L-prolin, 100 ml distile suda çözündürülerek 1 mg/ml'lik stok çözelti elde edilmiştir. Bu stok çözeltiden 1–10 ml aralığında alınarak her biri 100 ml distile su ile tamamlanmış ve farklı konsantrasyonlarda (10-100 µg/ml) 10 standart çözelti hazırlanmıştır. Deneme gruplarında uygulandığı gibi,

her tüpe 2'şer ml glasiyal asetik asit ve ardından 2'şer ml asit ninhidrin çözeltisi eklenmiştir. Diğer gruplarla aynı şekilde prolin ölçüm prosedürü uygulanmıştır.

2.2.6.4.3. Toplam çözünebilir şeker (sukroz, fruktoz, glikoz) içeriği tayini

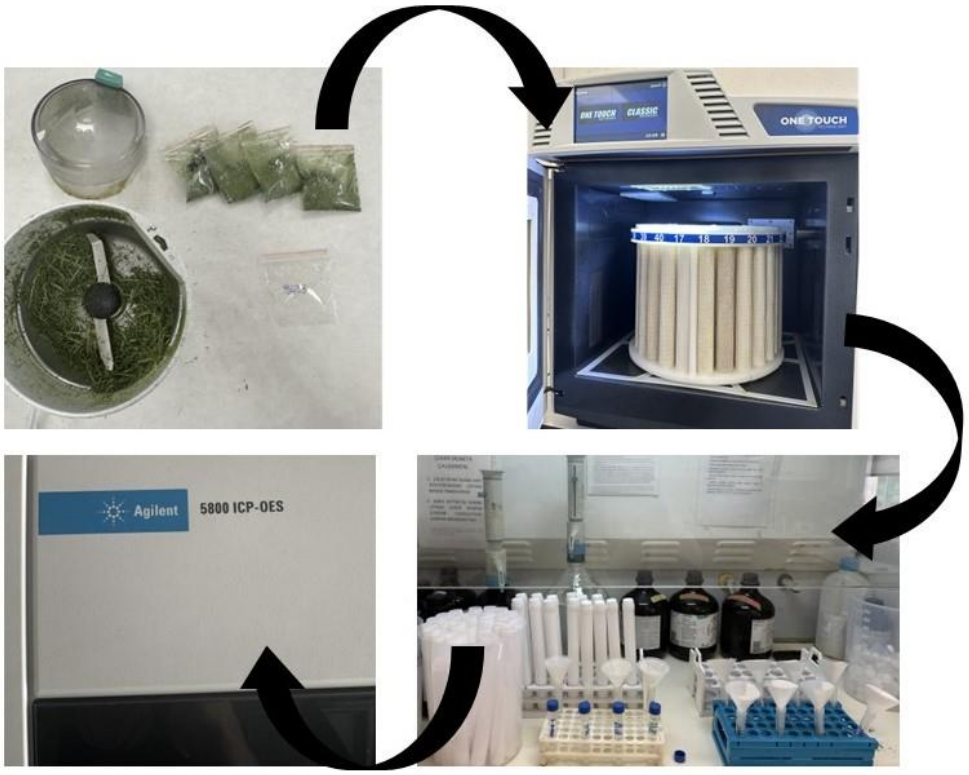
Toplam şeker içeriği, Dubois ve ark. (1956) tarafından geliştirilen yönteme göre belirlenmiştir. Numunelerin toplam çözünebilir şeker miktarını ölçmek için, her bir gruba ait bitkilerden yaprak numuneleri alınarak 60˚C 'deki etüvde 72 saat kurutulmuştur. Parçalayıcı yardımı ile toz haline getirilen numunelerden 0,1 gram tartılmış, 1 ml distile su içerisinde homojenize edilmiş ve 90 °C sıcaklıktaki su banyosunda 45 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örnekler 4 °C'de, 12.000 g kuvvetinde, 15 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatanttan 4 µl alınarak, 40 µl %1,8'lik fenol çözeltisi ve 200 µl derişik sülfürik asit ile karıştırılmıştır. Karışımın absorbansı 490 nm dalga boyunda mikroplaka okuyucusu (Biotek Cytation-ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Şekil 2.11'de deney aşamaları gösterilmiştir. Ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Şeker miktarının hesaplanmasında referans olarak glikoz standart eğrisi kullanılmıştır. Standart çözelti hazırlanırken, 0,1 g glikoz 100 ml distile suda çözülerek 1 mg/ml stok çözelti elde edilmiştir. Bu stok çözeltiden 0,1–1,0 mg/ml aralığında standart eğri oluşturulmuştur. Deney gruplarına uygulanan işlemler gerçekleştirilmiş, 490 nm'de ölçülerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve örneklerin şeker içerikleri bu eğri üzerinden hesaplanmıştır.



Şekil 2.11. Yapraklarda total çözünebilir şeker içeriği tayini

2.2.6.4.4. Mineral madde analizi (ICP-OES)

Çeltik yaprakları, analiz öncesinde 60 °C sıcaklıktaki etüvde 72 saat süreyle kurutulmuş ve ardından homojen bir toz elde edilecek şekilde öğütülmüştür. Tartılan uygun miktardaki kuru örnekler, derişik nitrik asit (HNO_3) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) karışımı ile mikrodalga destekli parçalama sistemi (Mars 6, CEM, ABD) kullanılarak parçalanmıştır. Elde edilen çözeltiler ultra saf su ile uygun hacme seyreltilmiş ve mineral madde içerikleri, ICP-OES (Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry) cihazı (Agilent 5800) ile nicel olarak belirlenmiştir. Tüm analizler Gebze Teknik Üniversitesi Bitki Besleme ve Fizyolojisi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.12'de deney aşamaları gösterilmiştir.

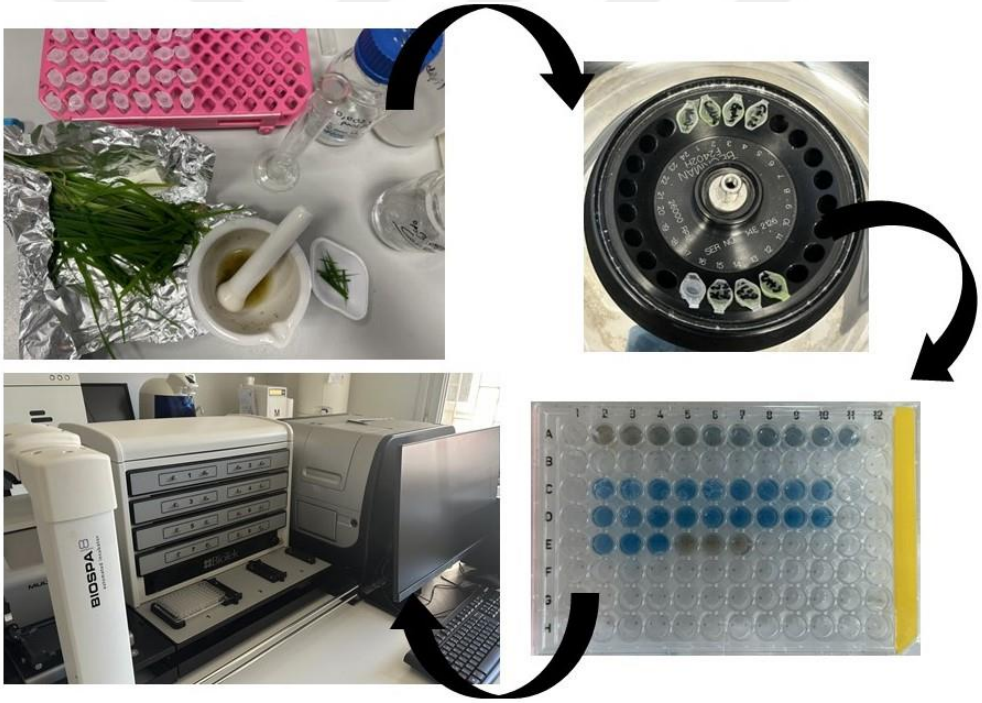


Şekil 2.12. Mineral madde analizi (ICP-OES)

2.2.6.4.5. Total protein analizi

Deney gruplarına ait çeltik yapraklarındaki toplam protein miktarı, Bradford (1976) protein tayini yöntemi kullanılarak 96 kuyucuklu mikroplakada belirlenmiştir. Öncelikle tüm grupların yapraklarından 0,5 gr hassas tartıda tartılarak 1,5 ml ekstraksiyon tamponunda (0,1 M pH 7,7) (Tablo 2.4) soğuk havanda ekstre edilip 2 ml'lik etiketli

steril mikrosantrifüj tüplerine alınmıştır. Örnekleri içeren tüpler +4 °C'de 12.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant temiz tüplere aktarılmıştır. Her bir süpernatanttan 5 µl alınarak mikroplakada ayrı kuyucuklara eklenmiş; blank (kör) için yalnızca tampon çözeltisi kullanılmıştır. Tüm kuyucuklara 250 µl Bradford reaktifi (Tablo 2.4) ilave edilmiş ve plakalar yaklaşık 30 saniye çalkalanarak karıştırılmıştır. Reaksiyonlar oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiş ve 595 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikroplaka okuyucusu (Biotek Cytation-ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Şekil 2.13'te deney aşamaları gösterilmiştir. BSA (Bovine Serum Albumin) standart çözeltisi kullanılarak 0,1–1,0 mg/ml aralığında standart eğri oluşturulmuştur. Uygulama gruplarına uygulanan aynı işlemler uygulanmıştır. Elde edilen absorbans değerlerinden, standart eğri oluşturularak bilinmeyen örneklerin protein konsantrasyonları hesaplanmıştır.



Şekil 2.13. Yapraklarda total protein içeriği tayini

Tablo 2.4. Total protein miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler ve protein standartının hazırlanması

Çözelti Adı	**Hazırlanışı**
Ekstraksiyon tamponu (Sodyum Fosfat)	Stok A: 0,2 M $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ Stok B: 0,2 M $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 4,85 ml stok A ile 45,15 ml stok B alınarak 100 ml'ye distile su ile tamamlanan fosfat tamponunun son konsantrasyonu 0,1 M ve pH 7,7'dir.
Bradford Reaktifi	50 mg Coomassie Blue G-250 25 ml %95'lik etanolde çözdürülmüştür. Üzerine 50 ml orto fosforik asit eklendikten sonra distile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti filtre kağıdından süzülerek karanlıkta saklanmıştır.

2.2.7. İstatistiksel analiz

Tez deney grupları en başta 5'er saksı ve her saksıda 10 birey olmak üzere tekrar grupları olacak şekilde planlanmıştır. Tez çalışmaları boyunca her analiz her bir çalışma grubu için en az 3 kez tekrarlanmıştır. Deney gruplarına ait ölçümlerin ortalamaları, standart sapmaları ve grafikleri için Microsoft Office Excel programı kullanılmıştır. Her bir analizin sonuçlarına göre istatistiksel analizleri, SPSS 16.0 programında (SPSS Inc., Chicago, IL) One-Way ANOVA (analysis of variance) ve Tukey testi kullanılarak $p<0,05$ düzeyinde (%5) anlamlılık derecesine göre hesaplanmıştır. $p<0,05$ düzeyinde sonuçlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

Küresel nüfus artışı ve ekonomik gelişmeler, özellikle tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan organik atık miktarında belirgin bir artışa yol açmıştır. Bu atıkların başlıca lignoselülozik bileşenlerini çeltik samanı, şeker kamışı posası ve yerfıstığı kabukları gibi tarımsal artıklar oluşturmaktadır. Bu materyallerin yüksek lignoselüloz içeriği nedeniyle parçalanma süreçleri karbon döngüsünde kritik bir rol oynamakta ve toprak organik maddesinin zenginleşmesine katkı sağlamaktadır (Harindintwali ve ark., 2020; Wu ve ark., 2022). Ancak çeltik samanı çoğu zaman yakılarak ya da çöplüklere gönderilerek bertaraf edilmekte ve bu da hem besin kaybına hem de çevresel zararlara yol açmaktadır (Lu ve ark., 2018). Oysa bu artıklar biyogaz üretimi, biyokompozitler ve biyobozunur kaplar gibi katma değerli uygulamalar için yüksek potansiyel taşımaktadır (Haque ve ark., 2022; Saha ve Hariprasad, 2022; Sharma ve ark., 2024). Son yıllarda, bu tür tarımsal atıkların mikrobiyal yollarla değerlendirilmesine yönelik stratejiler, sürdürülebilirlik ve ekonomik uygulanabilirlik açısından artan ilgi görmektedir. Bu tür atıkların tarımda değerlendirilmesi toprak sağlığını iyileştirmekte ve karbon sekestrasyonunu artırarak sera gazı salımının azaltılmasına katkı sağlamaktadır (Harindintwali ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında, lignoselülozik bir tarımsal atık olan çeltik samanının, mikrobiyal izolatlarla birlikte kullanımının toprak kalitesi ve buna bağlı olarak çeltik verimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu kapsamlı araştırma öncesinde, çalışmada kullanılacak bakteri izolatlarının elde edilmesi, saflaştırılması ve tanımlanmasına yönelik izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş, ayrıca uygulama öncesinde sera koşulları optimize edilerek deneysel altyapı hazırlanmıştır. Söz konusu ön çalışmalar, hem mikrobiyal ajanların karakterizasyonunu hem de çeltik samanının mikrobiyal uygulamalara uygunluğunu belirlemeye yönelik olarak planlanmıştır.

3.1. Bakterilerin İzole Edildiği Samsun ve Kırklareli'ndeki Çeltik Tarlalarının Analizleri

Bu bölümde, çalışmada kullanılan mikrobiyal izolatların ekolojik kökenlerini daha iyi anlamak amacıyla, Samsun ve Kırklareli illerindeki çeltik tarlalarından hasat sonrası alınan toprak örneklerinin fiziko-kimyasal ve biyolojik özellikleri analiz edilmiştir. Toprakların pH, tuz, organik madde, makro ve mikro besin elementi içerikleri

gibi parametreleri belirlenerek, izole edilen bakterilerin doğal yaşama ortamları hakkında bilgi edinilmesi hedeflenmiştir. Böylece, bakteri suşlarının çevresel adaptasyon yetenekleri ve potansiyel tarımsal uygulamalar açısından değerlendirilmesi daha bütüncül bir yaklaşımla ele alınmıştır (Tablo 3.1, 3.2, ve 3.3). Tekstür analizleri toprakların farklı sınıflamalara sahip olduğunu ortaya koymuştur. Samsun toprağı %25,04 kil, %28,33 mil ve %46,64 kum içeriğiyle "kumlu killi tın" olarak sınıflandırılırken; Kırklareli toprağı %16,58 kil, %31,65 mil ve %51,77 kum ile "tın" yapısına sahiptir. Bu farklılık, toprakların su tutma kapasitesi, havalanabilirlik düzeyi ve besin elementlerinin taşınımı gibi özelliklerini etkileyerek, mikrobiyal toplulukların hem çeşitliliğini hem de metabolik faaliyetlerini belirleyici olabilmektedir. Özellikle killi yapının daha baskın olduğu Samsun toprağında, mikrobiyal hareketlilik ve kolonizasyon potansiyeli farklılık gösterebilirken; daha geçirgen ve havadar olan Kırklareli toprağı, aerop bakteriler için daha elverişli bir ortam sunabilir. Dolayısıyla, izole edilen bakteriyel suşların köken aldıkları toprakların fiziksel yapısı, bu mikroorganizmaların çevresel adaptasyon stratejileri ve işlevsel özellikleri üzerinde etkili olabilecek bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Sessitsch ve ark., 2001).

Toprakların fiziksel bütünlüğünü ve tarımsal verimliliğini etkileyen önemli bir parametre olan agregat stabilitesi, toprak yapısının korunmasında ve hava-su geçirgenliğinin sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre, Kırklareli toprağında agregat stabilitesi %67,50 olarak ölçülmüş ve Samsun toprağına kıyasla (%47,00) daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, Kırklareli toprağının daha dengeli parçacık dağılımına ve daha sağlam agregat yapısına sahip olduğunu, dolayısıyla su tutma kapasitesi, kök gelişimi ve mikrobiyal aktivite açısından daha elverişli bir ortam sunduğunu göstermektedir. Agregat stabilitesinin yüksekliği, aynı zamanda toprak erozyonuna karşı direncin artması ve sürdürülebilir tarım uygulamaları için potansiyelin yükselmesi ile ilişkilendirilmektedir (Six ve ark., 2004).

Tablo 3.1. Toprak örneklerinin fiziksel analiz sonuçları

Bölge	Saturasyon	Agregat Stabilitesi	Kil (%)	Silt (%)	Kum (%)	Bünye Sınıfı
Samsun	70	47,0	25,04	28,33	46,64	Kumlu Killi Tın
Kırklareli	50	67,50	16,58	31,65	51,77	Tın

Her iki toprak örneği de kimyasal açıdan hafif alkali karakter sergilemiş ve tuzluluk bakımından herhangi bir risk taşımamıştır. Samsun toprağında pH değeri 7,86 olarak ölçülürken, Kırklareli toprağında bu değer 7,73'tür. Bu hafif alkali pH aralığı, toprak mikrobiyal aktiviteleri açısından elverişli koşullar sunmakta olup, özellikle lignoselüloz türevi organik materyallerin ayrışmasında görev alan mikroorganizmaların işlevselliğini desteklemektedir. Nitekim literatürde, nötr ve hafif alkali pH koşullarının saman gibi lignoselülozik atıkların parçalanmasını kolaylaştırdığı, bu süreçte görev alan enzimatik aktiviteleri (selülaz, ligninaz vb.) artırdığı, buna karşın asidik pH seviyelerinin bu aktiviteyi baskıladığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2024).

Samsun toprak örneğinde düşük düzeyde kireç (%3,98) ve orta düzeyde organik madde (%2,19) belirlenirken, Kırklareli toprağı orta düzeyde kireç (%10,15) ve daha düşük bir organik madde içeriği (%1,63) göstermiştir. Her iki toprak örneği de fosfor (P), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), demir (Fe) ve bakır (Cu) açısından zengin bulunmuş; buna karşın çinko (Zn) düzeyleri her iki lokasyonda da düşük olarak tespit edilmiştir. Element bazında karşılaştırıldığında, Samsun toprağında potasyum (K), sodyum (Na), mangan (Mn) ve bor (B) konsantrasyonları Kırklareli toprağına kıyasla daha yüksek seviyelerde ölçülmüştür. Bu farklılıkların, iki bölgeden izole edilen mikrobiyal suşların fizyokimyasal çevre koşullarına bağlı olarak farklı adaptasyon özellikleri göstermesine neden olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 3.2. Toprak örneklerinin kimyasal analiz sonuçları S: Samsun, K: Kırklareli

Bölge	pH	EC (dS/m)	Kireç (%)	Org. Mad. (%)	eP (mg/kg)	eK (kg/da)	eCa (mg/kg)	eMg (mg/kg)	eNa (mg/kg)	eFe (mg/kg)	eCu (mg/kg)	eZn (mg/kg)	eMn (mg/kg)	eB (mg/kg)
S	7,86	0,94	3,98	2,19	9,31	255,03	4256,85	769,55	736,90	135,54	77,41	1,98	42,71	4,566
K	7,73	0,39	10,15	1,63	8,41	42,94	5132,77	169,96	67,245	56,65	7,08	1,87	12,44	0,43

Biyolojik parametreler değerlendirildiğinde, aril sülfataz aktivitesinin Samsun toprağında (1,27 µg pNP/g/saat), Kırklareli toprağına (0,95 µg pNP/g/saat) kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, Samsun toprağının sülfür döngüsüne katkı sağlama potansiyelinin daha yüksek olabileceğini göstermektedir. Buna karşılık, dehidrogenaz, üreaz, fosfataz ve β-glukozidaz gibi mikrobiyal aktivitenin diğer önemli biyogöstergeleri açısından iki bölge arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmamıştır. Bu bulgu, temel mikrobiyal faaliyetlerin benzer düzeylerde sürdürüldüğünü düşündürmektedir.

Tablo 3.3. Toprak örneklerinin biyolojik analiz sonuçları

Bölge	Dehidrogenaz aktivitesi µg TPF/g toprak/24 saat	Üreaz aktivitesi µg N/g kuru toprak/ saat	Fosfataz aktivitesi µg p-nitrophenol /g kuru toprak/ saat	Arilsülfataz aktivitesi µg p-nitrophenol/g kuru toprak/ saat	β-Glikosidaz aktivitesi µg p-nitrophenol/g kuru toprak/ saat
Samsun	0,300	24,55	0,0122	1,27	0,052
Kırklareli	0,330	24,47	0,0133	0,95	0,040

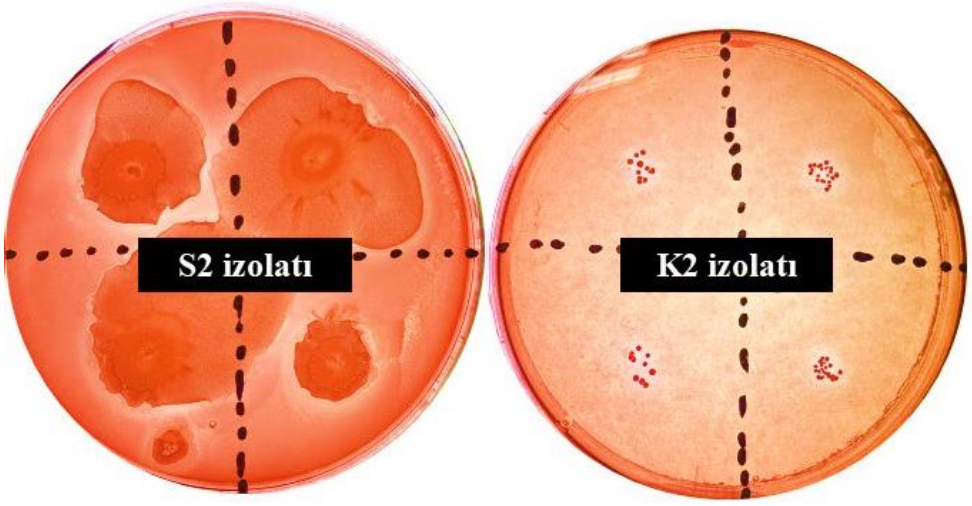
Mikrobiyal aktiviteyi destekleyen özgün toprak özellikleri dikkate alınarak, bu ortamlardan izole edilen bakteriyel suşlar yalnızca fiziko-kimyasal koşullarla sınırlı kalmaksızın; selüloz ve lignin gibi kompleks organik bileşikleri parçalama yetenekleri, azot fikse etme kapasiteleri ve diğer biyofonksiyonel özellikleri açısından da detaylı bir şekilde taranmıştır.

3.2.Çeltik Samanlarını Parçalamak ve Toprak Kalitesini Artırmak için Kullanılacak Bakterilerin Tespiti

3.2.1. Selülolitik aktiviteye sahip bakterilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi

Selülozun çözünür şekerler ve glikoza biyodönüşümü, mikroorganizmalar tarafından üretilen selülaz adı verilen enzim grubu tarafından katalizlenmektedir (Wood ve Garcia, 1990). Bu selülolitik mikroorganizmalar, Dünya'daki en bol ve yenilenebilir biyopolimer olan selülozun geri dönüşümünü sağlayarak biyosferde önemli bir rol oynamaktadır (Ma ve ark., 2024). Mikroorganizmalar, selülaz üreterek çeltik samanı gibi tarımsal atıkların selülozunu çözünür şekerler ve glikoza dönüştürmektedir (Wood ve Garcia, 1990). Bu süreç, atığın değere dönüştürülmesinin tipik bir örneği olup, hedef tarımsal ürünün katma değerini önemli ölçüde artırmaktadır.

Seçici besi yeri ile Samsun'dan 6, Kırklareli'nden 2 izolat elde edilmiş olup enzimatik aktiviteleri açısından test edilmişlerdir. Selülolitik aktivite değerlendirmeleri sonucunda, Şekil 3.1'de temsili olarak zon oluşturan selülolitik bakteriler olan S2 ve K2 izolatlarına yer verilmiştir. En etkili enzimatik aktiviteye sahip olanları seçmek amacıyla zon gösteren tüm izolatlar kantitatif analize tabi tutulmuştur.



Şekil 3.1. Samsun ve Kırklareli topraklarından CMC besi yerine izole edilmiş selülolitik aktiviteye sahip S2 ve K2 suşlarının Kongo red boyası kullanılarak yapılan kalitatif analizi

Tablo 3.4'te sunulan DNS analizlerine göre selülolitik aktiviteye sahip izolatların 48, 72 saat ve 1 hafta sonunda ölçülen selülaz enzim aktivitesi değerleri standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. İstatiksel olarak incelendiğinde S2'nin ortalama değeri diğer gruplardan belirgin şekilde farklılaşmakta ve ayrı bir alt kümede yer almaktadır. S2, tüm zaman noktalarında en yüksek selülolitik aktiviteyi göstermiştir (48. saatte 0,3282; 72. saatte 0,4949 ve 7. günde 0,4677 U/ml). Tek yönlü ANOVA analizinde izolatlar arasında anlamlı farklar saptanmış ($p<0,001$) ve Tukey testi sonucunda S2'nin diğer tüm izolatlardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). K2 izolatı ise selülolitik aktivite bakımından 72 saat ve 7. gün ölçümlerinde ortalamanın üzerinde ve istatistiksel olarak anlamlı değerlere ulaşmıştır.

Tablo 3.4. Selülolitik aktiviteye sahip izolatların 48, 72 saat ve 1 hafta sonunda ölçülen selülaz enzim aktivitesi değerleri

İzolatlar	**48 saat sonunda selülolitik aktivite (U/ml)**	**72 saat sonunda selülolitik aktivite (U/ml)**	**7 gün sonunda selülolitik aktivite (Um/l)**
S1*	$0,008 \pm 0,00^{ab}$	$0,013 \pm 0,02^{a}$	$0,035 \pm 0,00^{ab}$
S2*	$\mathbf{0,328 \pm 0,02^{c}}$	$\mathbf{0,494 \pm 0,01^{c}}$	$\mathbf{0,467 \pm 0,00^{c}}$
S3**	$0,014 \pm 0,00^{ab}$	$0,033 \pm 0,00^{ab}$	$0,029 \pm 0,00^{ab}$
S4**	$0,014 \pm 0,00^{ab}$	$0,040 \pm 0,00^{ab}$	$0,048 \pm 0,00^{b}$
S5**	$0,019 \pm 0,00^{ab}$	$0,031 \pm 0,00^{ab}$	$0,013 \pm 0,02^{a}$
S6**	$0,016 \pm 0,00^{ab}$	$0,047 \pm 0,00^{b}$	$0,051 \pm 0,00^{b}$
K1*	$0,002 \pm 0,00^{a}$	$0,034 \pm 0,00^{ab}$	$0,032 \pm 0,00^{ab}$
K2*	$\mathbf{0,033 \pm 0,00^{b}}$	$\mathbf{0,043 \pm 0,00^{b}}$	$\mathbf{0,032 \pm 0,01^{ab}}$

İstatistiksel analiz 8 izolat için yapılmış olup, saatlik değişimler ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tablodaki veriler 3'er tekrarlı ölçülmüştür Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. Farklı harfler (a, b, c) anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). S, Samsun; K, Kırklareli, *CMC, **CP

Literatürde *Bacillus, Pseudomonas, Lysinibacillus, Micrococcus, Xanthomonas, Brucella, Streptomyces, Saccharopolyspora, Nocardia, Rhodococcus, Intrasporangium, Micromonospora* ve *Saccharomonospora* cinslerine ait birçok selülolitik bakteri temsilcisinin, dünya genelindeki çeşitli ekosistemlerinden rapor edildiği bilinmektedir (Palit ve ark., 2022; Palit ve Das, 2024). Bu gruplar arasında, *Bacillus* cinsinin en bol bulunan ve en potansiyel selüloz parçalayıcılardan biri olduğu belirtilmiştir (Khosravi ve ark., 2022). Bu bağlamda, çalışmamızda elde edilen bulgular, S2 izolatının selülaz üretimi açısından güçlü bir potansiyele sahip olduğunu ve lignoselülozik atıkların biyodönüşümünde kullanılabilecek en uygun adaylardan biri olduğunu göstermektedir. Ayrıca, K2 izolatının da kayda değer bir selülaz aktivitesi sergilediği ve bu alanda değerlendirilebilecek diğer bir aday olduğu belirlenmiştir.

3.2.2. Ligninolitik aktiviteye sahip bakterilerin kantitatif olarak belirlenmesi

Lignin parçalanması, bitki biyokütlesinin geri dönüşümü ve değer kazanması açısından büyük önem taşımaktadır ve ekosistemlerde karbon ile besin döngüsünde kritik bir rol oynamaktadır. Ligninin değerlenmesindeki ilk ve en önemli adım, bu karmaşık ve dirençli polimerin etkin biçimde parçalanması ve depolimerize edilmesidir (Zhou ve ark., 2025). Mikroorganizmalar, özellikle mantarlar ve bakteriler, çeşitli enzimatik yollar kullanarak ligninin biyolojik olarak parçalanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Bu bağlamda, çalışmamızda selülaz aktivitesini seçici besi ortamı kullanılarak Samsun'dan 6, Kırklareli'den 2 olmak üzere toplam 8 bakteriyel izolat elde edilmiştir ve ligninolitik aktiviteye sahip olanların kantitatif değerlendirmesi yapılarak Tablo 3.5'te sunulmuştur.

Tablo 3.5. Samsun ve Kırklareli'nden izole edilen bakterilerin Azure B kullanılarak renk açılmasına göre hesaplanan ligninolitik aktivite testi sonuçları

İzolatlar	24 saat sonunda ligninolitik aktivite (%Dekolorizasyon)
S1	41,08 ± 0,48^{c}
S2	**11,78 ± 0,33^{a}**
S3	47,61 ± 0,92^{e}
S4	41,72 ± 1,37^{c}
S5	42,42 ± 0,45^{cd}
S6	**57,92 ± 0,73^{f}**
K1	44,64 ± 0,52^{d}
K2	**36,61 ± 0,97^{b}**

Tablodaki veriler 3'er tekrarlı ölçülmüştür Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–f), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Tablodaki sonuçlara göre ortalamalar incelendiğinde, gruplar farklı alt kümelerde toplanmış; özellikle S2 grubu en düşük ortalamaya sahip olup tek başına ilk alt kümeyi oluşturmuş, S6 grubu ise en yüksek ortalamayla son alt kümeyi oluşturmuştur. Bu durum, gruplar arasında ortalama değerlerde belirgin farklılaşmalar olduğunu göstermektedir. Gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p<0,001$). En yüksek ligninolitik aktivite S6 izolatında görülürken (%57,92), K2 izolatı %36,61 dekolorizasyon oranıyla dikkat çekmiş ve tamamlayıcı bir izolat olarak değerlendirilmiştir. Literatürde özellikle *Streptomyces, Sphingomonas, Pseudomonas, Rhodococcus* ve *Nocardia* gibi bakterilerin, lignini farklı yollarla biyoürünlere dönüştürebilme yetenekleri ayrıntılı şekilde belgelenmiştir (Xu ve ark., 2018a). Çalışmamızda elde edilen bulgular, test edilen izolatların lignin bozunumu ve potansiyel biyoürün üretimi açısından benzer biyolojik kapasiteye sahip olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu durum, ligninolitik aktivitesi yüksek olan S6 izolatının yanı sıra, K2 gibi orta düzey aktivite gösteren izolatların da potansiyel uygulamalarda dikkate alınmasının değerli olabileceğini göstermektedir.

3.2.3. Fosfor kaynağı çözen bakterilerin kalitatif ve kantitatif analizi

Fosfor, azottan sonra bitki büyümesi için en önemli ikinci besin maddesi olup, enerji transferi, fotosentez, sinyal iletimi ve solunum gibi süreçlerde kritik rol oynamaktadır (Ham ve ark., 2018; Bouizgarne, 2022). Fosfor toprakta organik ve inorganik fosfatlar olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Asidik topraklarda demir, alüminyum ve kalsiyumun çözünmeyen formları şeklinde (alüminyum fosfat Al_3PO_4 ve demir fosfat Fe_3PO_4), kireçli topraklarda ise kalsiyum fosfat $(Ca_3PO_4)_2$ şeklinde bulunmaktadır (Bakki ve ark., 2024). PGPR arasında, çözünmeyen fosfat formlarını çözebilen bakteriler, fosfat çözen bakteriler (PSB) olarak adlandırılmaktadır ve çoğu toprakta bulunmaktadır; kültürlenebilir popülasyonun yaklaşık %40'ını oluşturdukları tahmin edilmektedir (Richardson, 2001). PSB'ler, çözünmeyen inorganik fosfatları çözerek veya organik fosfat bileşiklerini çözünür formlara mineralize ederek bitkilere kullanılabilir fosfor sağlamak açısından oldukça önemli role sahiptirler (Gyaneshwar ve ark., 2002; Rodríguez ve ark., 2006). Bu doğrultuda Samsun ve Kırklareli'nden izole edilen 8 izolat arasında fosfor kaynağı çözenlerin belirlenmesine yönelik elde edilen bulgular Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. Samsun ve Kırklareli topraklarından Pikovskaya besi yerinde üretilen fosfor kaynağı çözebilen S2 ve K2 suşlarının ve pozitif kontrol (PK) olarak kullanılan *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşlarının zonları. Negatif kontrole (NK) bakteri ekilmemiştir.

İzolatlar arasında S2 suşunda güçlü bir zon gözlenirken, K2 suşunda hafif bir zon gözlenmiştir. Diğer izolatlarda ise zon gözlenmemiştir. Daha net tespit yapabilmek amacıyla zon gösteren S2 ve K2 bakterileri kantitatif analiz edilmiştir. Tablo 3.6'da S2 ve K2 izolatlarının çözünür fosfor miktarları verilmiştir.

Tablo 3.6. Samsun ve Kırklareli'nden izole edilen bakterilerin sağladığı çözünür fosfat miktarları

İzolatlar	**Çözünür TCP (µg/ml)**
S2	**53,34 ± 1,34**^{c}
K2	27,91 ± 0,07^{b}
PK	65,77 ± 0,00^{a}

Tablodaki veriler 3'er tekrarlı ölçülmüştür Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

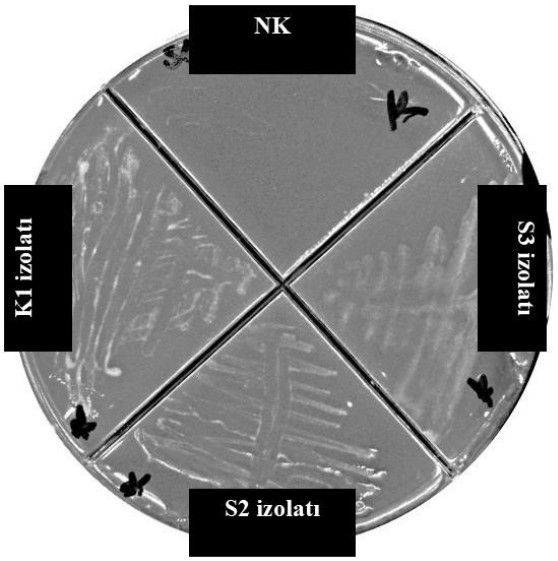
S2 ve K2 izolatlarının çözünür fosfat üretim kapasiteleri kantitatif olarak değerlendirildiğinde, her iki izolatın da trikalsiyum fosfatı çözebilme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. S2 izolatı 53,34 µg/ml ile en yüksek çözünür fosfat konsantrasyonuna ulaşırken, K2 izolatı 27,91 µg/ml değerinde fosfat çözmüştür. Kontrol grubunda (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1) 65,77 µg/ml çözünür fosfat ölçülmüş olup, ona yakın değere sahip S2 izolatının yüksek çözünür fosfat üretimi, fosfor biyoerişilebilirliğini artırma potansiyeline işaret etmektedir.

Literatürde özellikle *Bacillus, Pseudomonas* ve *Serratia* cinslerine ait bakteri suşlarının, dikalsiyum ve trikalsiyum fosfat ile kaya fosfatı gibi çözünmeyen mineral fosfat bileşiklerini çözebilme yeteneğine sahip oldukları bildirilmiştir (Ahmad ve ark., 2022; Bouizgarne ve ark., 2023). Özellikle *Pseudomonas* türleri, bitki rizosferinden sıkça izole edilmekte olup, bitkilerde fosfor kullanılabilirliğini artırma yetenekleri sayesinde bitki sağlığını ve verimliliğini destekleyen bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) olarak tanımlanmaktadırlar (Bouizgarne, 2012). Bu bağlamda, S2 izolatının ortaya koyduğu yüksek çözünür fosfat üretimi, literatürde belirtilen P-çözümleme kapasitesine sahip bakteri gruplarıyla benzer özellikler taşıdığını ve potansiyel bir PGPR adayı olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, K2 izolatının da kayda değer çözünür fosfat

üretimi sergilemesi, bu izolatın da fosfor biyoerişilebilirliğini artırma açısından değerlendirilebilecek bir diğer aday olduğunu ortaya koymaktadır.

3.2.4. Azot sabitleyen bakterilerin kalitatif analizi

Sekiz izolat içinde azot sabitleyen bakterilerin tespiti amacıyla seçici besi yeri olarak Jensen besi yeri kullanılmıştır ve büyüme gözlenene kadar 37°C'de inkübasyon yapılmıştır (Jensen, 1951). Besi yerinde azot kaynağı bulunmadığından, besi yeri üzerinde üreme gösteren bakteriler azotu havadan fikse ettikten sonra biyolojik aktivitelerinde kullandıklarından potansiyel azot sabitleyici bakteriler olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.3'te Jensen besi yerinde üreyebilen S2, S3 ve K1 izolatları paylaşılmıştır. Diğer izolatlar üreyememiştir.



Şekil 3.3. Samsun ve Kırklareli topraklarından izole edilen, Jensens besi yerinde üreyebilen potansiyel azot sabitleyici bakteriler (S2, S3 ve K1 izolatları)

Tüm organizmalar, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomolekülleri sentezlemek için azota (N) ihtiyaç duyar. Ancak doğadaki başlıca azot kaynağı olan atmosferik azot (N_2), ökaryotlar dahil çoğu canlı organizma tarafından kullanılamaz. Biyolojik azot fiksasyonu, N_2'nin amonyağa (NH_3) indirgenmesinden sorumlu olan süreçtir (Newton, 2000; Franche ve ark., 2009) ve bu süreç diazotrof mikroorganizmalar, özellikle de bakteri ve arkeler tarafından gerçekleştirilir (Dixon ve Kahn, 2004). Pirinç ve mısırda

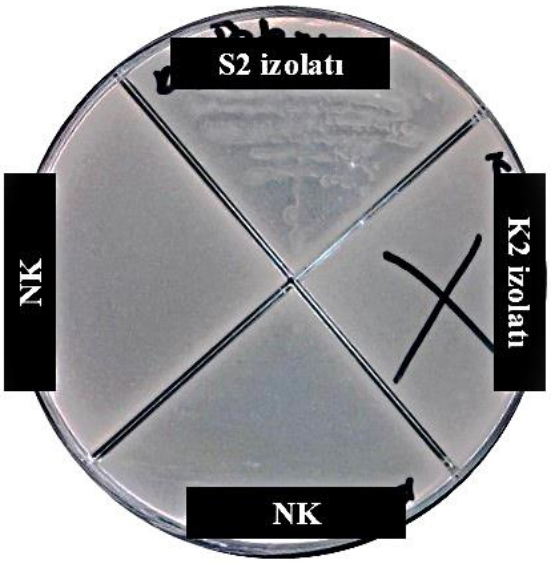
biyolojik azot fiksasyonuna katkının; *Azospirillum, Azoarcus, Herbaspirillum, Bacillus, Enterobacter, Klebsiella* ve *Pseudomonas* gibi türlerden sağlandığı literatürde bildirilmiştir (Boddey ve ark., 1995; Hurek ve ark., 1994; Kirchhof ve ark., 1998; Monteiro ve ark., 2012; Farrar ve ark., 2014). Elde ettiğimiz sonuçlara göre S2, S3 ve K1 izolatlarının azotu fikse edebildikleri belirlenmiştir. Bu bulgu, söz konusu izolatların biyolojik azot fiksasyonu yoluyla bitki beslenmesini destekleyebilecek potansiyele sahip olduğunu ve dolayısıyla tarımsal uygulamalarda biyo-gübre adayı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

3.2.5. Potasyum kaynağı çözen bakterilerin kalitatif analizi

Potasyum (K), büyüme, metabolizma ve bitki gelişiminde hayati rol oynayan temel bir besindir. Azot (N) ve fosfordan (P) sonra, K tarımsal verimliliği sınırlayan en önemli besin maddesidir. Nitrat indirgenmesi, nişasta sentezi, bitki enerji metabolizması, fotosentez ve şeker parçalanması gibi işlemlerden sorumlu 80'den fazla enzimin etkinleşmesi için gerekli bir elementtir. Bitki için yeterli miktarda K bulunmadığında, hücrelerden su kaybolmakta, bitki hücreleri zayıflamakta ve bitki solmaya başlamaktadır. K yetersizliği olan bitkiler zayıf hücre duvarlarına, daha düşük protein ve nişasta miktarlarına sahip olmaktadır (Thornburg ve ark., 2020).

Toprakta bol miktarda K bulunmasına rağmen, toplam miktarın yalnızca %1–2'si bitkiler tarafından kullanılabilir formdadır (Sparks ve Huang, 1985). Geri kalan K, farklı minerallerle birleşmiş halde bulunmaktadır ve bu nedenle bitkiler için erişilemez durumdadır. Mikrobiyal topluluklar, çözünürleştirme, besin maddelerinin bitkiler tarafından kullanılabilirliğini artırma ve besin alımını iyileştirme gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla toprak verimliliğini önemli ölçüde etkilemektedir (Parmar ve Sindhu, 2013). Son yıllarda, potasyum çözünürleştiren mikroorganizmalar bitki gelişimini ve verimini artırmak amacıyla toprak inokulantı olarak dikkat çekmektedir. Bu mikroorganizmalar, toplam topraktaki inorganik ve çözünmeyen potasyum kaynaklarından potasyumu çözünür hale getirerek bitkilere kullanılabilir formda sunmada etkili olmaktadır (Sindhu ve ark., 2016). Elde ettiğimiz sonuçlara göre yalnızca S2 izolatında zon gözlenmiş, diğer izolatlarda gözlenmemiştir (Şekil 3.4). Bu bulgu, S2 izolatının potasyum çözme potansiyeline sahip olduğunu ve bu özelliğiyle bitkiler için potasyumun biyoyararlanımını artırabileceğini göstermektedir. Diğer izolatlarda zon

oluşmaması, bu bakterilerin potasyum çözme yeteneğine sahip olmadığını ya da test edilen koşullar altında bu özelliğin ifade edilmediğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, potasyum çözme kapasitesinin izolat düzeyinde farklılık gösterebileceği ve bu özelliğin tespiti için uygun test koşullarının ve seçilen bakterinin tür/izolat düzeyinde karakterizasyonunun önemli olduğu ortaya konulmuştur.



Şekil 3.4. Samsun ve Kırklareli topraklarından izole edilen, Alexandrov besi yerinde zon gösterebilen S2 izolatı, zon göstermeyen K2 izolatı ve bakteri ekimi yapılmamış Negatif Kontrol (NK)

3.3.Belirlenen Enzim Aktiviteleri Doğrultusunda Bakteri Adaylarının Seçimi

Çalışma kapsamında Samsun ve Kırklareli çeltik tarlalarından izole edilen bakteriler laboratuvar düzeyinde enzimatik olarak test edilmiştir. Toplamda sekiz bakteri izolatı (altısı Samsun, ikisi Kırklareli kökenli) lignin, selüloz ve azot fiksasyonu açısından taranmıştır (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. İzolatların enzimatik aktiviteleri

İzolatlar	48saat sonunda selülolitik aktivite (U/ml)	72saat sonunda selülolitik aktivite (U/ml)	7gün sonunda selülolitik aktivite (U/ml)	24saat sonunda ligninolitik aktivite (%Dek.)	Potansiyel nitrojen fiksasyonu	Fosfat çözünürlüğü	Potasyum çözünürlüğü
S1	0,008±0,00^{ab}	0,013±0,02^{a}	0,035±0,00^{ab}	41,08±0,48^{c}	-	-	-
S2	**0,328±0,02^{c}**	**0,494±0,01^{c}**	**0,467±0,00^{c}**	11,78±0,33^{a}	+	+	+
S3	0,014±0,00^{ab}	0,033±0,00^{ab}	0,029±0,00^{ab}	47,61±0,92^{e}	+	-	-
S4	0,014±0,00^{ab}	0,040±0,00^{ab}	0,048±0,00^{b}	41,72±1,37^{c}	-	-	-
S5	0,019±0,00^{ab}	0,031±0,00^{ab}	0,013±0,02^{a}	42,42±0,45^{cd}	-	-	-
S6	0,016±0,00^{ab}	0,047±0,00^{b}	0,051±0,00^{b}	57,92±0,73^{f}	-	-	-
K1	0,002±0,00^{a}	0,034±0,00^{ab}	0,032±0,00^{ab}	44,64±0,52^{d}	+	-	-
K2	**0,033±0,00^{b}**	**0,043±0,00^{b}**	**0,032±0,01^{ab}**	**36,61±0,97^{b}**	-	+	-

S2 izolatının, tüm zaman noktalarında en yüksek selülolitik aktiviteyi göstermiş olması lignoselülozik materyalin karbon kaynağı olarak daha etkin kullanımını desteklemektedir. S2'nin aynı zamanda potansiyel azot fiksasyonu kabiliyetine sahip olması, tarımsal uygulamalar açısından çok değerli bir özelliktir. Buna ek olarak fosfat çözünürlüğü göstermesi besin elementi mobilizasyonu açısından tarım uygulamalarında katkı sağlayabileceğini ortaya koymaktadır. Bu izolatın hem karbon hem azot hem de fosfor döngüsüne katkı sağlayabilme kapasitesi, onu biyogübre adayı olarak öne çıkarmaktadır.

K2 izolatı ise selülolitik aktivite bakımından 72 saat ve 7. gün ölçümlerinde ortalamanın üzerinde ve istatistiksel olarak anlamlı değerlere ulaşmıştır. Ayrıca, 24 saatlik ligninolitik aktivite oranı %36,61 ± 0,97 ile, bazı yüksek aktivite gösteren izolatlara yakın bir performans sergilemiştir. Her ne kadar K2 izolatı azot fiksasyonu kabiliyetine sahip olmasa da, hem selülolitik hem de ligninolitik enzim aktivitelerinde gösterdiği denge ve tutarlılık, uygulama açısından güvenilirliğini ve pratik uyumluluğunu ön plana çıkarmaktadır. Aynı zamanda fosfat çözünürlüğü göstermesi, besin elementi

mobilizasyonu açısından tarım uygulamalarında katkı sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

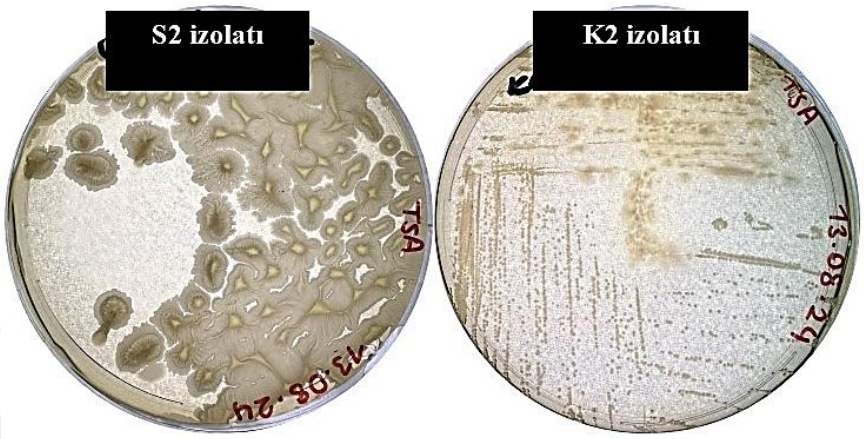
Enzimatik analizler sonucunda bazı izolatlar belirli parametrelerde yüksek aktivite göstermiş olsa da uygulama gruplarında S2 ve K2 izolatlarının seçilmesi, yalnızca sayısal üstünlüklere değil, aynı zamanda çok yönlü biyolojik potansiyele ve uygulama hedefiyle uyuma dayanmaktadır. Bu nedenlerle, S2 ve K2 izolatları, en yüksek değerleri verenlerden ziyade, çok yönlü potansiyel, uygulama uygunluğu ve işlevsel bütünlük göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

3.4.Uygulama için Seçilen Bakteri İzolatlarının Moleküler Tanımlanması

Moleküler tanımlama aşamasında, öncelikle her iki izolatın da cins seviyesindeki sınıflandırılması için 16S rRNA gen dizileri analiz edilmiştir. Ancak, 16S rRNA gen bölgesi özellikle yakın akraba türlerin ayırt edilmesinde tek başına yeterli olmayabileceğinden, tür düzeyinde daha kesin tanımlama için *gyrB* (DNA giraz B alt birimi) ve *rpoB* (RNA polimeraz β alt birimi) gibi housekeeping gen bölgeleri de dizilenmiş ve BLAST karşılaştırmaları yapılmıştır. Dizileme işlemleri, yüksek doğruluk ve güvenilirlik sağlayan Sanger yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ham diziler, BioEdit yazılımı kullanılarak düzenlenmiş ve kalitesiz bazlar temizlenmiştir. Düşük kaliteli uç bölgeler ve primer bağlanma sekansları temizlenmiş, ilk ve son 50 bazlık kısımlar trimlenerek sekans kalitesi artırılmıştır. Ardından ileri ve geri yönlü diziler %85 benzerlik eşiği ile CAP (Contig Assembly Program) kullanılarak hizalanmış ve kontigler oluşturulmuştur. Oluşturulan kontig dizileri, FASTA formatına dönüştürülerek NCBI GenBank Nükleotid Veritabanı'nda BLASTn algoritması ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen hizalama sonuçlarında her izolat için "yüzdelik benzerlik (identity)", "sorgu kapsamı (query coverage)" ve "gaps (boşluklar)" gibi parametreler dikkate alınmış; genel kabul gören yaklaşıma göre, ≥%95 benzerlik ve geniş hizalama kapsamı tür seviyesinde tanımlama için yeterli kabul edilmiştir. Bu yaklaşım, özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi karmaşık tür gruplarında daha doğru ve güvenilir taksonomik sınıflandırma yapılmasına olanak sağlamıştır.

İlk olarak, 16S rRNA gen dizileri kullanılarak yapılan BLAST analizleri sonucunda, iki bakteri izolatının *Bacillus* (S2) ve *Pseudomonas* (K2) cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. Bu sınıflandırma, GenBank veritabanındaki bilinen referans suşlarla

yapılan dizi benzerliğine dayanmaktadır ve izolatların ilgili cinslerin üyeleriyle genetik olarak yakın olduğunu göstermektedir. Bu veriler, GenBank Nükleotid Veritabanı'nda *Bacillus*_S-2 (PV111304) ve *Pseudomonas*_K-2 (PV111305) erişim numaralarıyla kayıtlıdır. Şekil 3.5'te bakterilerin TSA besi yerinde büyütülmüş görselleri verilmiştir.



Şekil 3.5. *Bacillus* (S2) ve *Pseudomonas* (K2) izolatlarının TSA görüntüleri

S2 izolatının *gyrB* gen bölgesi, BLASTn karşılaştırmaları sonucunda hem *Bacillus velezensis* hem de *Bacillus amyloliquefaciens* türleri ile %98 benzerlik göstermiştir. Her iki türle de eşit skor ve hizalanma değerleri elde edilmiş (353/361, %98 benzerlik; %1 boşluk) olup, bu veriler iki tür arasında net bir ayrım yapılmasına olanak tanımamıştır. GAP oranının %1 olması, iki sekans arasında yalnızca küçük sayıda indel (insertion veya deletion) farkı bulunduğunu ve dizilerin büyük ölçüde kesintisiz bir şekilde örtüştüğünü göstermektedir. Bu türler, "operasyonel *B. amyloliquefaciens* grubu" olarak adlandırılan ve *Bacillus subtilis* kompleksine dahil olan, genetik olarak birbirine oldukça yakın taksonlardır (Wang ve ark., 2007). Literatürde bu türler arasında 16S rRNA gen dizilerinin %98,1–99,8 oranında benzerlik gösterdiği ve bu nedenle 16S rRNA dizisinin tür ayrımında yetersiz kaldığı bildirilmiştir. *gyrB* gen bölgesi, bu kompleks içinde daha yüksek çözünürlük sağlamasına rağmen, bu çalışmada elde edilen sonuçlar iki tür arasında açık bir ayrım yapmayı mümkün kılmamıştır. Bu nedenle S2 izolatı, literatürle uyumlu biçimde *B. velezensis* veya *B. amyloliquefaciens* türlerinden biri olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. İzolat, NCBI GenBank sistemine "*Bacillus velezensis* strain BGS2 sequence" adıyla (Erişim No: PV626824) kaydedilmiştir.

K2 izolatına ait *rpoB* gen bölgesi, BLASTn analizleri sonucunda *Ectopseudomonas chengduensis, E. alcaliphila* ve *Pseudomonas sihuiensis* türleriyle

yüksek düzeyde benzerlik göstermiştir. Üç tür için de hizalama sonucu 402/415 (%97) benzerlik oranı, %0,96 boşluk (gap) değeri ile aynı bulunmuştur. Bu veriler, izolatın bu türlerden biriyle genetik olarak güçlü bir ilişki içinde olduğunu, ancak mevcut dizi verisiyle net tür ayrımı yapılamadığını göstermektedir. *E. chengduensis* ve *E. alcaliphila* türleri yakın zamanda *Ectopseudomonas* cinsine aktarılmıştır (Rudra ve Gupta, 2024). Bu taksonlar, rizosfer kolonizasyonu, biyokontrol ve kirletici madde ayrışımı gibi önemli ekolojik işlevlere sahiptir. Örneğin, *Pseudomonas alcaliphila* Ej2 suşunun pirinç yanıklığı hastalığına karşı etkili olduğu, tuz stresi altındaki bitki gelişimini teşvik ettiği ve rizosfer mikrobiyomunu olumlu şekilde düzenlediği raporlanmıştır (Zeng ve ark., 2023). *Pseudomonas alcaliphila* JAB1 suşunun ise aromatik kirleticilerin, özellikle bifenil türevlerinin parçalanmasında başarılı olduğu bildirilmiştir (Ridl ve ark., 2018). *Pseudomonas sihuiensis*'in, IAA (indol asetik asit) ve EPS (ekzosakarit) üretimi yoluyla tuz stresi altındaki nohut bitkisinin büyümesini desteklediği gösterilmiştir (Joshi ve ark., 2021). Ayrıca, *Pseudomonas chengduensis* WD211 suşunun fosfat çözünürlüğü, IAA üretimi ve azot/fosfor asimilasyonu gibi faydalı özelliklerini çeşitli oksijenaz genleri ile desteklediği bilinmektedir (Habibi ve ark., 2019; Peng ve ark., 2023). K2 izolatı, GenBank sistemine "*Ectopseudomonas chengduensis* strain GK2 sequence" adıyla (PV626825) kaydedilmiştir.

Tüm bu moleküler ve literatür ile uyumlu fonksiyonel veriler, S2 ve K2 izolatlarının biyogübre geliştirme ve çeltik atıkları gibi tarımsal lignoselülozik materyallerin sürdürülebilir biyodönüşümünde potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır.

3.5.Bakteri Uygulanan Çeltik Atıklarının İçerik Analizleri

Çeltik samanını oluşturan lignoselüloz yapı selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşmaktadır. Lignoselülozik biyokütlenin %15–30'unu oluşturan ana bileşenlerinden biri olan lignin, bitki hücre duvarlarında bulunan karmaşık ve heterojen yapıda aromatik bir polimerdir ve yenilenebilir kimyasallar üretimi için değerli bir kaynak potansiyeline sahiptir (Granja-Travez ve Bugg, 2018; Kim ve ark., 2024). Selüloz molekülleri ise mikrofibril düzeyinde bir araya gelmiş moleküler demetler şeklinde bulunmaktadır ve ince kristal yapı oluşturarak kimyasal reaktiflerle parçalanması zor bir yapı sergilemektedir (Chen, 2014). Ancak mikrobiyal selüloz ayrıştırması; düşük maliyet, minimum zararlı yan ürün ve nispeten basit işlem koşulları gibi avantajlar sunmaktadır

(Asgher ve ark., 2018). Bu doğrultuda, çeltik samanına S2 ve K2 izolatlarının uygulandığı 30 günlük inkübasyon sürecinin ardından, samanın temel bileşimini incelemek amacıyla gerçekleştirilen GC-MS analizleri, mikrobiyal işlemin saman üzerinde içeriksel dönüşüme yol açtığını ortaya koymuştur (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Çeltik samanlarında selüloz, hemiselüloz ve ligninin parçalanması. NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol.

Tanımlanan bileşik	NK (%Pik Alanı)	PK (%Pik Alanı)	S2 Uygulanmış Çeltik Samanı (%Pik Alanı)	K2 Uygulanmış Çeltik Samanı (%Pik Alanı)
4-Kumarik asit, 2TMS*	1,327	1,351	**2,371 ± 0,20**	0,433 ± 0,01
4-Hydroxybenzaldehyde, TMS*	0,197	0,091	**0,332 ± 0,01**	0,020 ± 0,00
Benzoik asit, TMS*	0,619	0,764	**3,019 ± 0,07**	0,293 ± 0,01
Isoferulic asit, 2TMS*	0,164	0,192	**0,198 ± 0,00**	0,067 ± 0,00
Syringic asit, 2TMS*	0,204	0,424	0,000 ± 0,00	0,113 ± 0,00
trans-Sinapyl alkol, 2O-TMS	0,057	0,052	0,020 ± 0,00	0,029 ± 0,00
o-Vanilin, TMS	0,000	0,030	0,000 ± 0,00	0,010 ± 0,00
Formik asit, TMS*	0,945	0,906	**1,280 ± 0,04**	0,297 ± 0,02
Xylitol, 5TMS*	0,000	0,00	**1,390 ± 0,01**	0,000 ± 0,00
Asetik asit, TMS*	15,534	12,689	15,446 ± 0,44	5,743 ± 0,08
L-(-)-Arabitol, 5TMS*	0,802	1,381	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00
D-Mannitol, 6TMS*	0,000	0,000	**0,314 ± 0,00**	0,130 ± 0,00
D-Sorbitol, 6TMS*	0,000	1,240	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00
D-(+)-Arabitol, 5TMS*	0,000	0,000	0,000 ± 0,00	**0,159 ± 0,00**
1-Triacontanol, TMS*	0,517	0,839	**1,298 ± 0,03**	0,000 ± 0,00

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur. TMS* trimetilsilil türevleri anlamına gelmektedir. TMS grubu, genellikle uçucu olmayan bileşikleri daha uçucu hâle getirmek için kullanılmaktadır. Özellikle gaz kromatografisi (GC) gibi tekniklerde analiz edebilmek için –OH gruplarının üzerine eklenmektedir.

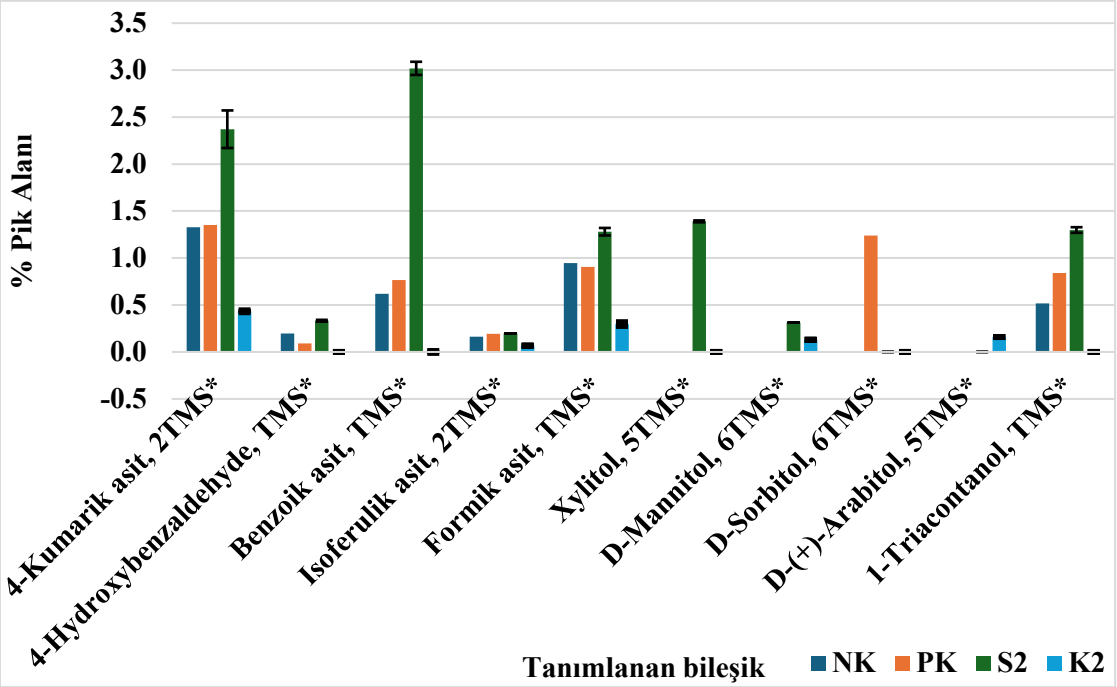
Lignin ayrışımı genellikle koniferil, kumaril ve sinapil alkolleri üzerinden gerçekleşmekte, p-kumarik ve ferulik asit gibi hidroksisinamik asitler bitkilerde lignin öncülleri olarak yer almaktadır ve enzimatik dekarboksilasyonla 4-vinilfenol ve 4-vinilguaiakol gibi değerli türev ürünlere dönüşebilmektedir (Xu ve ark., 2019; Iram ve ark., 2021). Örneğin *Bacillus ligniniphilus* L1 suşunun, alkali lignini karbon kaynağı olarak kullanırken GC-MS analiziyle tanımlanan 15 tip aromatik bileşik ürettiği rapor edilmiştir (Zhu ve ark., 2017).

S2 izolatının uygulandığı çeltik samanında, **4-kumarik asit, 4-hidroksibenzaldehit, benzoik asit, izoferulik asit ve formik asit** gibi fenolik bileşikleri en yüksek oranlarda saptanması lignoselülozik yapının parçalandığını göstermektedir. Bu bileşikler, alelokimyasal olarak sınıflandırılır ve kök gelişimi, besin alımı, fotosentez ve enzimatik aktiviteler üzerinde etkilidir (Bubna ve ark., 2011). Ayrıca S2 grubunda, endüstriyel öneme sahip ksilitol ve güçlü bir bitki büyüme düzenleyicisi olan **1-triakontanol** görülmüştür (Naeem ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2022). Bu bulgular, lignoselülozik biyokütlenin mikrobiyal olarak değerli ürünlere dönüştürülebileceğini ve ksilitol, biyoetanol, endüstriyel enzim gibi ürünlerin üretiminde kullanılabileceğini göstermektedir (Harahap, 2020).

K2 izolatının olduğu grupta ise stres koşullarında ozmoprotektif etkileri olan **arabitol** bileşiği gözlenmiştir (López ve ark., 2019). **Tanımlanan bir diğer bileşik olan asetik asit,** hemiselülozdaki asetil gruplarının hidrolizi sonucu, asetillenmiş pentozanın deasetilasyonu sürecinde oluşmaktadır (Taherzadeh ve ark., 1997). Kontrol grubunda bakteri uygulaması yapılmamasına rağmen, çeltik samanının doğal mikrobiyal florası ve bitki dokusundaki doğal enzimatik süreçler nedeniyle asetik asit gibi bileşiklerin açığa çıktığı görülmektedir. Çeltik samanının yapısında bulunan hemiselülozun asetil grupları, inkübasyon sürecinde ortamda bulunan doğal mikroorganizmalar veya bitki kaynaklı enzimatik aktiviteler sonucu hidrolize olmuş ve bu süreç sonucunda asetik asit oluşmuş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmada gözlemlenen asetik asit miktarlarının, bakteriyel uygulama yapılan gruplarda da benzer şekilde hem bakterilerin hem de bu doğal süreçlerin etkisiyle ortaya çıktığı değerlendirilmektedir. Bu durum, çeltik samanı gibi lignoselülozik atıkların inkübasyon koşullarında dahi mikrobiyal ya da doğal yollarla parçalanarak çeşitli organik asitlerin ve fenolik bileşiklerin açığa çıkabileceğini göstermektedir.

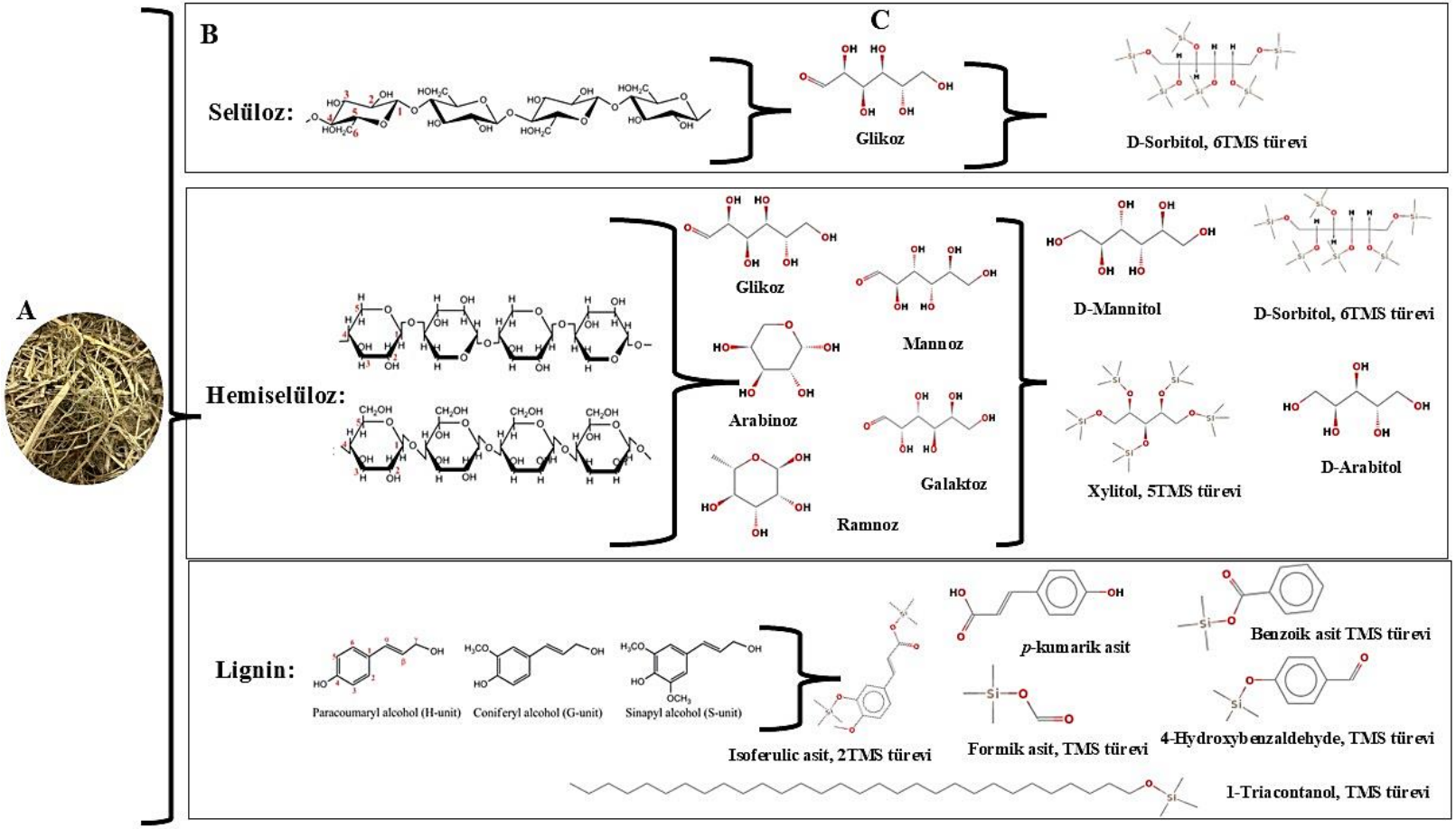
S2 grubunda ksilitol tespit edilmesi, lignoselülozik biyokütlenin mikrobiyal yollarla parçalanması sonucu hemiselülozdan serbestleşen ksilozdan elde edilen ksilitol oluşumunu göstermektedir. Ksilitol; gıda ve tıbbi-farmasötik endüstride yaygın kullanıma sahip, tatlandırıcı özelliği bulunan ve diyabetik diyetlerde glikoz yerine önerilen beş karbonlu bir şeker alkolüdür (Mitchell, 2008). Ayrıca antikaryojenik etkileri olduğu, parenteral beslenme, otitis, osteoporoz ve akciğer enfeksiyonlarının önlenmesinde de önerildiği belirtilmektedir (Choi ve ark., 2000; Villarreal ve ark., 2006). Literatürde, ksilitol üretiminin genellikle hemiselüloz hidrolizatlarında bulunan ksilozdan kimyasal indirgeme veya mikrobiyal fermentasyonla (özellikle *Candida* türleriyle) elde edildiği vurgulanmaktadır (Oh ve Kim, 1998). Bizim çalışmamızda da çeltik samanı atığının mikrobiyal dönüşümü sırasında ksilitol oluşumu, tarımsal atıkların endüstriyel değeri yüksek bileşiklere biyolojik yolla dönüştürülebileceğini desteklemektedir. **Bir diğer tanımlanan bileşik olan benzoik asit**, bitkiler tarafından doğal olarak sentezlenen ve karboksilik asitler grubunda yer alan bir organik bileşiktir. Bitkiler bu bileşiği rizosfere salgılayarak mineral besin maddelerinin alınmasını kolaylaştırmakta, ayrıca toprak ayrışması ve mineral yıkanma hızını artırmaktadır (van Hees ve ark., 2000). Bunun yanı sıra, düşük konsantrasyonlarda uygulandığında lahana ve domates bitkilerinde tuzluluk stresine tolerans kazandırdığı, stres sinyal bileşiği gibi işlev gördüğü bildirilmiştir (Mendoza, 2002). Benzoik asitin aynı zamanda meyve, sert kabuklu yemiş, baharat ve sebze gibi bitkisel kaynaklarda doğal olarak bulunduğu, ayrıca *Pseudomonas* sp. ve *Escherichia coli* gibi mikroorganizmalar tarafından da üretildiği ve fermantasyon sırasında özellikle süt ürünlerinde düzeyinin keskin şekilde arttığı rapor edilmiştir (Joye, 2019). Çalışmamızda, S2 izolatının uygulanmış olduğu çeltik samanında en yüksek benzoik asit konsantrasyonu gözlenmiş olup, bu bulgu hem mikroorganizmaların lignoselülozik atıklar üzerindeki parçalama kapasitesini hem de benzoik asit gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin oluşumundaki potansiyel rolünü ortaya koymaktadır.

Şekil 3.6'da yer alan grafikte bakteriler ile inkübasyon sonrası çeltik samanlarında parçalanma sonrası görülen önemli bileşik türevleri gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Bakteriler ile inkübasyon sonrası çeltik samanlarında parçalanma sonrası görülen önemli türevler (TMS* trimetilsilil türevleri) (NK: Negatif kontrol; PK: Pozitif kontrol; S2 ve K2 ise uygulamada kullanılan izolatları temsil etmektedir)

Şekil 3.7'de selüloz, hemiselüloz ve ligninin kimyasal yapıları ve çalışmamızdaki çeltik samanlarının parçalanması sonucunda görülen türevleri gösterilmiştir.



Şekil 3.7. A) Çeltik samanı **B)** Selüloz, hemiselüloz ve ligninin kimyasal yapıları (Zhang ve ark., 2011) **C)** Selüloz, hemiselüloz ve ligninin parçalanmaları sonucu açığa çıkan bileşikler (NIST Chemistry WebBook)

Ramos ve ark. (2023) tarafından yapılan ve çeltik samanı gibi lignoselülozik atıkların mikrobiyal yollarla parçalanarak fenolik bileşikler ve polisakkarit türevleri gibi katma değerli ürünlere dönüştürülebileceğini ortaya koyan çalışmada tanımlanan fenolik asitler, flavonoidler ve diğer biyolojik olarak aktif bileşiklerin **(4-kumarik asit, ferulik asit vb.)** çeltik samanından çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilebildiği ve bu bileşiklerin gıda, ilaç, biyopaketleme gibi sektörlerde antioksidan, antimikrobiyal veya büyüme düzenleyici olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da, S2 izolatının uygulandığı çeltik atığı grubunda özellikle lignin türevlerinin **(4-kumarik asit, benzoik asit vb.), ksilitol** gibi şeker alkollerinin ve bitki gelişimini uyarıcı etkileri bilinen **1-triakontanol'**un yüksek bulunmasıyla, bu biyolojik dönüşümün gerçekleştiğini desteklenmektedir. Dolayısıyla elde edilen bu bileşiklerin, Ramos ve ark. (2023) tarafından belirtildiği gibi, potansiyel tarımsal ve endüstriyel uygulamalara yönelik değerli hammadde olarak kullanılabileceği ve çeltik samanı gibi atıkların sürdürülebilir şekilde değerlendirilebileceği sonucuna varılmaktadır.

Lignoselülozik biyokütlenin mikrobiyal yolla parçalanması üzerine yapılan çalışmalar, bu süreçte görev alan bakteri türlerinin çeşitliliğini ve işlevsel rollerini ortaya koymaktadır. Özellikle *Streptomyces, Sphingomonas, Pseudomonas, Rhodococcus* ve *Nocardia* gibi bakterilerin, lignini farklı yollarla biyoürünlere dönüştürebilme yetenekleri literatürde ayrıntılı şekilde belgelenmiştir (Xu ve ark., 2018b). Selülolitik bakteri grupları ise *Clostridium, Cellulomonas, Bacillus, Thermomonospora, Ruminococcus, Bacteroides, Erwinia, Acetovibrio* ve *Microbispora* gibi cinsleri içermektedir (Ezeilo ve ark., 2017). Bakteriyel lignoselülazlar, lignoselülozik biyokütlenin karmaşık yapısına uygun olarak çok enzimli kompleksler halinde işlev görmektedir (Rosnow ve ark., 2017). Bakteriler bu biyokütleyi ayrıştırmak için çeşitli mekanizmalar kullanmakta olup, en yaygın yol serbest hidrolitik enzim sistemidir. Bazı bakteriler ise tek bir gen aracılığıyla çoklu enzimatik aktiviteler gerçekleştirebilen çok katalitik enzim sistemlerine sahiptir (Malgas ve ark., 2017). Çok enzimli kompleks üreten bakteriler arasında da yukarıda belirtilen selülolitik cinsler yer almaktadır (Ezeilo ve ark., 2017). Lignin ayrışımı ağırlıklı olarak oksidatif redoks reaksiyonlarıyla (özellikle aerobik koşullarda) gerçekleşirken, selüloz ve hemiselüloz enzimatik hidroliz yoluyla ayrıştırılır. Bu hidrolizi gerçekleştiren bakteriler arasında *Bacillus, Clostridium* ve *Erwinia* gibi cinsler yer alır (Xie ve ark., 2016; Ezeilo ve ark., 2017). Bu iki farklı mekanizma, lignoselülozik yapının yapısal

karmaşıklığını yansıtmakta ve etkili biyolojik dönüşüm için çok işlevli bakteriyel suşların gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan S2 (*Bacillus* sp.) ve K2 (*Pseudomonas* sp.) izolatlarının da hem lignin hem selüloz/hemiselüloz ayrışımında görev alabilen türlerden olması, mikrobiyal bozunma sürecindeki etkinliklerini ve potansiyellerini desteklemektedir.

3.6.Çeltik Samanı ile Birlikte Uygulanan Biyogübre Adaylarının Toprak ve Çeltik Verimi Üzerine Etkilerinin Sera Koşullarında Araştırılması

Çalışma kapsamında, mikrobiyal gübre potansiyeline sahip S2 ve K2 izolatlarının çeltik samanı ile birlikte uygulanarak çeltik bitkisinin gelişimine etkileri, kontrollü sera koşullarında değerlendirilmiştir. Denemelerde kullanılan saksı sistemleri, çeltik tarımına uygun toprak yapısı ile doldurularak farklı uygulama grupları oluşturulmuş ve her grup 5 tekrarlı olacak şekilde düzenlenmiştir. Deneme süresince bitkilerin morfolojik gelişimleri izlenmiş, hasat sonunda biyokütle analizleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.8'de deneysel tasarımı ve uygulama gruplarını temsil eden görseller yer almaktadır.



Şekil 3.8. Sera saksı çalışmalarında kurulan deney gruplarının 40 gün sonra hasat öncesi çekilen fotoğrafı

3.6.1. Sera denemesinde kullanılan Kırklareli'ndeki çeltik tarlası toprağının uygulama öncesi ve sonrası analizleri

Sera denemesinde kullanılan Kırklareli çeltik toprağının inkübasyon öncesi bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 3.9'da verilmiştir,. Toprak reaksiyonu ile toprak verimliliği arasında yakın bir ilişki mevcuttur. Toprak pH'sı toprakta bulunan besin elementlerinin elverişliliğine, toprağa üretkenlik ve verimlilik kazandıran mantar, bakteri ve aktinomisetlerin aktivitesine ve toprak strüktürünün oluşumuna doğrudan ve dolaylı biçimde etkili olmaktadır. Bu nedenle toprak reaksiyonu ile besin elementlerinin alınması ve mikroorganizmaların faaliyetleri arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır (Ergene, 1997). Kırklareli'nden gelen toprak örneğinin pH değeri 7,56 olup hafif alkali grupta yer almaktadır. EC değeri 0,76 dS/m ve tuzsuz toprak grubunda yer almaktadır. Kireç değeri %9,80 olup orta kireçli grupta yer almaktadır. Topraklarda $CaCO_3$, CaOH ve CaO toprak kirecini oluşturur. Eğer bu maddeler toprakta çok fazla ise bu topraklara kireçli topraklar denir. Kireç materyali topraklardaki Zn, Cu, Fe, Mn'ı bitki tarafından alınmaz hale getirdiği için bu topraklarda yetişen bitkilerde kloroz dediğimiz yapraklarda sararmalar meydana gelebilir. Organik madde değeri %1,38 olup az sınıfına girmektedir. Toprak kalitesinin en önemli unsuru toprak organik maddesidir. Toprak organik maddesi toprakların biyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri ile yakından ilgilidir. Organik madde yardımı ile oluşan iyi toprak yapısı su ve havanın toprağın içerisine girmesine, köklerin rahatlıkla hareket etmesine ve mikroorganizmaların sayı ve çeşit olarak çoğalmasına uygun ortamlardır (Günal ve ark., 2015). Toprakların fosfor içerikleri üzerine toprağın oluştuğu ana materyalin cinsi, iklim, dağılıp parçalanma derecesi, organik madde içeriği ve tekstür gibi çok çeşitli etmenler etki yapar (Yıldız, 2003). Toplam fosfor içeriği yönünden incelendiğinde 12,46 kg/da P_2O_5 (alınabilir fosfor) ile fazla grupta yer almaktadır. Ekstrakte edilebilir K, Ca ve Mg 51,34 mg/kg (yeterli sınıfta), 4774 ppm (fazla sınıfta) ve 145,6 ppm (az sınıfta) yer almaktadır. Toprakların mikro element (Fe, Cu, Zn ve Mn) değerleri Kırklaerli toprağı için değerlendirildiğinde; Fe değeri 5,65 ppm (orta sınıfta), Cu değeri 3,86 ppm (yeterli sınıfta), Zn değeri 1,42 ppm (yeterli sınıfta) ve Mn değeri 5,34 (yeterli sınıfta) olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.9. Kırklareli toprak örneklerinin inkübasyon öncesi fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Derinlik (cm)	**Saturasyon** (%) Suyla Doygunluk	**pH** Potansiyometrik	**EC** (dS/m) Potansiyometrik	**Kireç** (%) Kalsimetrik	**Organik Madde** (%) Walkley-Black	**Alınabilir Fosfor** P_2O_5 (kg/da) Spektrofotometrik			**Alınabilir Potasyum** K_2O (kg/da) Amonyum Asetat
0-30	50	7,56 (Hafif Alkali)	0,76 (Tuzsuz)	9,80 (Orta Kireçli)	1,38 **(Az)**	12,46 (Fazla)			51,34 (Yeterli)
Kalsiyum (ppm) Amonyum Asetat	**Magnezyum** (ppm) Amonyum Asetat	**Demir** (ppm) DTPA	**Mangan** (ppm) DTPA	**Çinko** (ppm) DTPA	**Bakır** (ppm) DTPA	**Bünye (%)** Bouyocus **Kil**	**Silt**	**Kum**	**Bünye Sınıfı**
4774 (Fazla)	145,6 (Az)	5,65 (Orta)	5,34 (Yeterli)	1,42 (Yeterli)	3,86 (Yeterli)	47,33	19,53	33,13	Kumlu Killi Tın

Kırklareli'nden temin edilen bu toprak, kumlu killi tın bünyesine sahiptir. Toprak tekstürü (bünye), toprakların katı fazındaki kum, silt ve kilin yüzde oransal dağılımıyla tanımlanmaktadır. Tekstür toprakları tanımlama ve sınıflandırmada kullanılan en önemli fiziksel özelliklerden biri olması yanında, toprağın strüktürü, havalanması ve su hareketini de etkilemektedir (Zhang ve ark., 2005). Toprakta kum miktarının fazla olması toprağın havalanma ve geçirgenliğini artırmaktadır, ancak su tutma kapasitesini ve kohezyonu düşürmektedir (Atalay, 1982). Buna karşılık ağır bünyeli (killi) topraklar yüksek su tutma kapasitesine sahip olmalarına karşın havalanma ve geçirgenlikleri iyi değildir (Scheffer ve Schachtschabel, 1993). Topraktaki teksel (primer) taneciklerin birbirlerine bağlanmaları sonucunda şekillenen ikincil (sekonder) yapılara agregat denilmektedir. Toprakta bitki gelişim için uygun bir hava ve su düzeninin devam ettirilebilmesi için agregatların oluşması, daha da önemlisi bu agregatların dayanıklı (stabil) olması gerekmektedir. Topraklara ilave edilen organik madde agregatlaşmayı sağlamakta, toprakta organik madde attıkça stabilite de artmaktadır (Demiralay, 1993; Özdemir, 1991).

İnkübasyon öncesi toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi, uygulanan biyolojik materyallerin (çeltik atıkları ve bakteriyel biyogübre adayları) toprak üzerindeki etkilerini yorumlayabilmek açısından kritik önem taşımaktadır. Toprağın başlangıç pH değeri, organik madde miktarı, kireç içeriği, makro ve mikro besin elementlerinin düzeyi gibi parametreler, hem mikrobiyal aktiviteleri hem de bitkisel

büyüme ve gelişimi doğrudan etkilemektedir. Bu bağlamda, Kırklareli bölgesinden temin edilen çeltik tarımına ait toprağın başlangıç özellikleri dikkate alınarak inkübasyon süreci başlatılmıştır. İnkübasyon sonrası topraklardaki kimyasal ve biyolojik analizler gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar sırasıyla Tablo 3.10 ve Tablo 3.11'de sunulmuştur. Bu analizlerde referans olarak kullanılan kontrol grubu, herhangi bir uygulama yapılmamış toprağı temsil etmektedir. Tablo 3.8'de yer alan veriler doğrudan tarla toprağını yansıtmakta olup, saksılara konulan topraklarda yalnızca minimal değişikliklerin olacağı öngörüldüğünden, değerlendirmelerde kontrol grubu analizleri esas alınmıştır.

Tablo 3.10. Kırklareli toprak örneklerinin inkübasyon sonrası kimyasal analiz sonuçları

Uygulama grupları	Kimyasal analizler	Ph (4,5-8,5)	EC (dS/m) (0,98-6,07)	Kireç (%) (0-50)	OM (%) (0,70-5,15)	P_2O_5 (kg/da) (3-12)	K (mg/da) (50-100)
Kontrol		7,44±0,07^{a}	2,10±0,56^{a}	9,18±0,87^{a}	1,38±0,08^{a}	24,72±7,15^{a}	205,97±24,37^{a}
Çeltik		7,45±0,10^{a}	1,82±0,51^{a}	8,98 ±0,33^{a}	**1,76±0,21^{b}**	21,57±3,01^{a}	**309,36±16,11^{b}**
Besi yeri		7,46±0,08^{a}	2,60±1,02^{a}	9,01±0,50^{a}	1,24±0,17^{a}	24,72±8,60^{a}	206,30±17,35^{a}
Çeltik + S2		7,42±0,06^{a}	1,75±0,62^{a}	9,11±0,27^{a}	**1,84±0,10^{b}**	24,72±2,27^{a}	**334,19±11,32^{b}**
Çeltik + K2		7,43±0,03^{a}	1,42±0,37^{a}	8,98±0,36^{a}	**1,88±0,14^{b}**	23,30±1,31^{a}	**329,17±14,30^{b}**
S2		7,55±0,06^{a}	1,67±0,39^{a}	9,00±0,34^{a}	1,28±0,12^{a}	23,21±2,41^{a}	197,95±19,00^{a}
K2		7,55±0,06^{a}	1,64±0,82^{a}	9,15±0,44^{a}	1,36±0,15^{a}	25,00±2,87^{a}	212,11±16,42^{a}
	Ca (mg/da) (380-10000)	**Mg (mg/da) (50-1500)**	**Na (mg/da) (50-600)**	**Cu (mg/kg) (0,3-3,1)**	**Fe (mg/kg) (3-50)**	**Zn (mg/kg) (1-8,1)**	**Mn (mg/kg) (5-50,1)**
Kontrol	4097,39±185,29^{ab}	157,74±17,75^{a}	882,41±33,72^{a}	4,68±0,99^{ab}	8,27±2,22^{a}	1,59±0,22^{a}	11,23 ±0,88^{a}
Çeltik	4044,84±113,30^{ab}	**160,56±10,35^{a}**	882,92±17,16^{a}	5,04±0,79^{ab}	6,48±1,33^{a}	1,66±0,07^{a}	**18,08±2,29^{e}**
Besi yeri	4251,83±100,44^{b}	158,73±14,17^{a}	908,08±37,87^{a}	4,43±0,25^{a}	8,58±2,69^{a}	1,56±0,05^{a}	12,41±0,74^{ab}
Çeltik + S2	4039,69±83,13^{ab}	**160,71±8,73^{a}**	883,60±30,76^{a}	4,45±0,14^{a}	6,68±1,01^{a}	1,69±0,03^{a}	**17,53±1,24^{e}**
Çeltik + K2	3968,71±71,56^{a}	157,78±5,22^{a}	**918,95±91,85^{a}**	4,49±0,23^{ab}	6,95±1,40^{a}	**1,73±0,04^{a}**	**16,93±0,71^{de}**
S2	4223,92±81,13^{b}	154,21±10,81^{a}	**954,00±25,30^{a}**	4,53±0,33^{ab}	**9,42 ± 2,78^{a}**	1,66±0,03^{a}	**14,87±0,74^{cd}**
K2	4243,17±169,66^{b}	157,50±14,76^{a}	**937,53±74,08^{a}**	5,61±0,63^{b}	**10,11±1,92^{a}**	1,66±0,06^{a}	**14,29±1,92^{bc}**

Tablodaki veriler 5'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–e), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Değerlerin sınır aralıkları parantez içinde verilmiştir.

İnkübasyon sonrasında gerçekleştirilen kimyasal analizler, çeltik samanı ve bakteri uygulamalarının toprak verimliliği açısından çeşitli parametrelerde farklı düzeylerde etki oluşturduğunu ortaya koymuştur (Tablo 3.10). Toprak pH değerleri tüm gruplarda hafif alkali aralıkta (7,42–7,55) seyretmiş, bakteriyel uygulamaların pH üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak da anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Elektriksel iletkenlik (EC) değeri özellikle besi yeri grubunda artarak 2,60 dS/m seviyesine ulaşırken, Çeltik + K2 grubunda 1,42 dS/m ile en düşük değere ulaşmıştır. Bu durum, besi yeri uygulamasının tuzluluğu artırabileceğini, buna karşın K2 bakterisinin bu etkiyi dengeleyebileceğini düşündürmektedir. İstatistiksel olarak incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Kireç (%) verilerinde de aynı şekilde anlamlı bir fark görülmemiştir.

Organik madde (OM) içeriği incelendiğinde, yalnızca çeltik samanı uygulanan grupta %1,76, Çeltik + S2 grubunda %1,84 ve Çeltik + K2 grubunda %1,88 olarak ölçülmüş; bu değerler kontrol grubundaki %1.38'lik seviyeye göre artış göstermiştir. Özellikle bakteriyel uygulamaların çeltik atıklarıyla birlikte verildiği gruplarda organik madde içeriğinin yükselmesi, mikrobiyal aktiviteyle birlikte lignoselülozik materyalin parçalanmasının daha etkin gerçekleştiğini göstermektedir. Sadece besi yeri veya yalnızca bakteri verilen gruplarda ise organik madde değerleri sırasıyla %1,24 (besi yeri), %1,28 (S2) ve %1,36 (K2) olarak ölçülmüş ve çeltik içeren gruplara göre daha düşük kalmıştır. Bu durum, bakterilerin etkili çalışabilmesi için lignoselülozik bir kaynakla birlikte sunulmasının gerekli olduğunu desteklemektedir. %OM verilerinde, bazı grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları; Besi yeri grubu ile Çeltik, Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları; Çeltik +S2 grubu ile Kontrol, Besi yeri, S2 ve K2 grupları; Çeltik + K2 grubu ile Kontrol, Besi yeri, S2 ve K2 grupları; S2 grubu ile Çeltik , Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları; ve K2 grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında anlamlı farklar gözlenmiştir. Bu sonuçlar, %OM düzeylerinin birçok grup arasında anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Topraktaki alınabilir fosfor (P_2O_5) düzeylerinde, çeltik ve mikrobiyal uygulamaların etkisiyle farklılıklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda 26,87 kg/da olan

fosfor düzeyi, yalnızca çeltik samanı uygulanan grupta 21,57 kg/da'ya düşmüş; bu durum, yüksek lignin ve silika içeriğine sahip saman materyalinin başlangıçta fosforu bağlayıcı etkisiyle açıklanabilir. Buna karşılık, çeltik samanının bakteriyel izolatlarla birlikte uygulandığı gruplarda (Çeltik + S2 ve Çeltik + K2) fosfor içeriği sırasıyla 24,72 ve 23,30 kg/da düzeyine ulaşarak artış göstermiştir. Bu durum, S2 ve K2 izolatlarının fosfat çözündürme yetenekleri sayesinde, samanın neden olduğu fosfor bağlanmasının kısmen dengelendiğini ve toprağın yeniden fosfor yönünden zenginleştiğini ortaya koymaktadır. İstatiksel veriler incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Potasyum (K) içeriği ise özellikle bakterili çeltik uygulamalarında dikkat çekici şekilde yükselmiştir. En yüksek K değeri çeltik + S2 grubunda (334,19 mg/da), ardından çeltik + K2 grubunda (329,17 mg/da) ölçülmüştür. Bu sonuçlar, bakteri uygulamalarının potasyum mobilizasyonuna katkı sağladığını ve bitki erişilebilirliğini artırdığını göstermektedir. K verilerinde, birçok grup çifti arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik +K2 grupları; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları; Besi yeri grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları; Çeltik + S2 grubu ile Kontrol, Besi yeri, S2 ve K2 grupları; Çeltik + K2 grubu ile Kontrol, Besi yeri, S2 ve K2 grupları; S2 grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında anlamlı farklar gözlenmiştir. Bu durum, K düzeylerinin gruplar arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Kalsiyum (Ca) içeriği incelendiğinde, uygulamalar arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubunda 4097,39 mg/da olarak ölçülen Ca, bakteriyel uygulamalarla benzer düzeylerde seyretmiştir (örneğin S2 grubunda 4223,92 mg/da, K2 grubunda 4243,17 mg/da). Bu durum, Ca'nın toprakta göreli olarak durağan bir element olması ve çeltik samanı ya da bakteriyel uygulamalardan kısa vadede doğrudan etkilenmemesi ile açıklanabilir. İstatistik verilerine bakıldığında Besi yeri grubu ile Çeltik + K2 grubu arasında, Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$).

Magnezyum (Mg) düzeyleri 154,21–160,71 mg/da aralığında değişmiş, ancak anlamlı bir artış ya da azalış göstermemiştir. En düşük değer S2 grubunda (154,21 mg/da) ve en yüksek değer Çeltik + S2 grubunda (160,71 mg/da) gözlenmiştir. İstatiksel veriler

incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Sodyum (Na) içeriği ise özellikle S2 (954,00 mg/da) ve K2 (937,53 mg/da) gruplarında, kontrol grubuna (882,41 mg/da) kıyasla artış göstermiştir. Bu artışın, bazı bakteri türlerinin toprakta çözünür tuz formlarını artırarak Na mobilizasyonunu tetiklemesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. İstatiksel veriler incelendiğinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Mikro elementler arasında bakır (Cu), demir (Fe), çinko (Zn) ve mangan (Mn) içerikleri dikkate alındığında, en dikkat çekici artışlar K2 grubunda gözlenmiştir. K2 grubunda Cu 5,61 mg/kg, Fe 10,11 mg/kg ve Zn 1,66 mg/kg düzeylerine ulaşmıştır. Bu değerler kontrol grubundaki karşılıklarına (Cu: 4,68 mg/kg; Fe: 8,27 mg/kg; Zn: 1,59 mg/kg) göre artış göstermiştir. Özellikle Fe artışının, demir redüksiyonunu kolaylaştıran mikrobiyal aktivitelerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Pico ve ark. (2022) çalışmasında, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Azospirillum* cinslerinin pirinç yetiştiriciliğinde Fe, Mn ve Zn çözünürlüğünü artırma potansiyelleri ele alınmış; bu mikroorganizmaların siderofor salgılama, organik asit ve fitohormon üretimi gibi mekanizmalar aracılığıyla bu mikro besin elementlerini bitkiler için erişilebilir hale getirdiği ve kimyasal gübre kullanımının olumsuz etkilerini azaltmada rol oynadığı vurgulanmıştır. Mn düzeyi de, çeltik gruplarının tamamında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiş; en yüksek Mn değeri 18,08 mg/kg ile yalnızca çeltik uygulanan grupta gözlenmiştir. Bu durum, çeltik samanının parçalanması sonucu ortaya çıkan organik asitlerin Mn çözünürlüğünü artırmasıyla açıklanabilir. İstatiksel verilere bakıldığında ise Cu verilerinde, Besi yeri grubu ve K2 grubu ile Çeltik + S2 grubu ve K2 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Fe ve Zn verilerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Mn içeriği açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik + S2, Çeltik + K2, S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları arasında; Besi yeri grubu ile Çeltik + S2, Çeltik + K2 ve S2 grupları arasında; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik + K2 grubu ile K2 grubu arasında arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Genel olarak, toprak analizleri çeltik samanı ve bakteriyel uygulamaların bazı makro ve mikro elementlerin topraktaki düzeylerini artırdığını göstermektedir. K artışı özellikle bakterili çeltik uygulamalarında daha belirgin olurken, sodyum düzeyleri

bakterili gruplarda dikkat çekecek şekilde yükselmiştir. Fe artışı sınırlı düzeyde kalmış, manganez ise en fazla yalnızca çeltik uygulanan grupta artış göstermiştir. Bu bulgular, bazı besin elementlerinin biyoyararlanımında çeltik samanının temel katkı sunduğunu, bakteriyel etkilerin ise elemente ve suşa bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir.

Kimyasal analizlerin ardından, mikrobiyal gübre uygulamalarının toprak biyolojik aktivitesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla mikrobiyal biyokütle karbonu, toplam solunum ve mikrobiyel aktivite parametreleri analiz edilmiştir. Bu kapsamda elde edilen bulgular Tablo 3.11'de sunulmuştur.

Tablo 3.11'de sunulan biyolojik analizler, çeltik samanı ve mikrobiyal uygulamaların toprak biyolojik aktivitesi üzerinde belirgin etkiler yarattığını göstermektedir. CO_2 solunumu verileri, topraktaki mikrobiyal aktivitenin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda CO_2 solunumu 0,073 mg/g toprak/24 saat olarak ölçülmüştür. Bu temel düzeye kıyasla, yalnızca çeltik uygulanan grupta belirgin bir artış gözlenmiş ve solunum 0,097 mg/g seviyesine ulaşmıştır. Bu artış, çeltik samanının mikrobiyal faaliyetleri tetikleyen bir organik karbon kaynağı olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, yalnızca S2 bakterisi uygulanan grupta da solunum değeri kontrol grubuna göre yükselmiş (0,097 mg/g), bu da S2 izolatının tek başına da topraktaki mikrobiyal aktiviteyi artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Ancak yalnızca K2 bakterisinin uygulandığı grupta bu artış daha sınırlı olmuş (0,081 mg/g), bu da K2 izolatının tek başına kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde bir biyolojik uyarım sağladığını düşündürmektedir. Çeltik + S2 (0,088 mg/g) ve Çeltik + K2 (0,085 mg/g) kombinasyonları da kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir; ancak bu gruplardaki değerler, yalnızca çeltik veya yalnızca S2 uygulanan gruplardan düşük kalmıştır. Bu durum, çeltik ve bakteri kombinasyonlarının mikrobiyal toplulukta daha dengeli ve muhtemelen daha sürdürülebilir bir aktivite oluşturduğunu gösterebilir. Ayrıca yalnızca bakteri uygulanan gruplarda gözlenen sınırlı artışlar, bu izolatların toprakta çeltik gibi lignoselülozik bir kaynak olmadan etkili bir şekilde çoğalamadığını ve etkinliğini tam anlamıyla gösteremediğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, hem çeltik atıkları hem de bakteriyel izolatların birlikte kullanımı, mikrobiyal aktivitenin arttırılması açısından sinerjik bir potansiyele sahiptir. CO_2 solunumu verileri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 3.11. Kırklareli toprak örneklerinin inkübasyon sonrası biyolojik analiz sonuçları

Uygulama grupları	CO_2 Solunumu (mg/g toprak/24 saat) (0,5-1,5)	Mikrobiyal Biyokütle (mg/g toprak/24 saat) (0,2-0,6)	qCO_2 (Solunum / Biyokütle) (mg/g toprak/24 saat) (<0,01 iyi) (>0,05 stresli)	Organik C (%) (0,4-3,01)	Corg/Cmic (<10 aktif)
Kontrol	0,073 ± 0,01[a]	10,631 ± 2,97[a]	0,007 ± 0,00[ab]	0,805 ± 0,04[a] (düşük)	0,082 ± 0,03[b]
Çeltik	**0,097 ± 0,02[a]**	**26,078 ± 7,69[b]**	0,003 ± 0,00[a]	**1,022 ± 0,12[b]**(düşük)	0,034 ± 0,01[a]
Besi yeri	0,089 ± 0,01[a]	7,483 ± 2,22[a]	0,012 ± 0,00[c]	0,723 ± 0,10[a](düşük)	0,103 ± 0,03[b]
Çeltik + S2	0,088 ± 0,02[a]	**35,322 ± 3,01[c]**	0,002 ± 0,00[a]	**1,072 ± 0,06[b]**(düşük)	0,030 ± 0,00[a]
Çeltik + K2	0,085 ± 0,02[a]	**36,445 ± 5,41[c]**	0,002 ± 0,00[a]	**1,092 ± 0,08[b]**(düşük)	0,030 ± 0,00[a]
S2	**0,097 ± 0,03[a]**	8,638 ± 3,03[a]	0,012 ± 0,00[bc]	0,745 ± 0,07[a](çok düşük)	0,093 ± 0,03[b]
K2	0,081 ± 0,00[a]	8,631 ± 1,19[a]	0,009 ± 0,00[bc]	0,793 ± 0,09[a](çok düşük)	0,092 ± 0,01[b]
	Dehidrogenaz aktivitesi (µg TPF/g toprak/24 saat) (10-30)	**Üreaz aktivitesi (µg N/g kuru toprak/saat) (20-50)**	**Fosfataz aktivitesi (µg p-nitrofenol/g kuru toprak/saat) (20-60)**	**Arilsülfataz aktivitesi (µg p-nitrofenol/g kuru toprak/saat) (5-20)**	**β-glikosidaz aktivitesi (µg p-nitrofenol/ g kuru toprak/saat) (20-60)**
Kontrol	12,441±0,53[ab]	16,450±5,27[a]	130,959±16,15[a]	15,099±1,86[a]	59,474±12,46[a]
Çeltik	**16,236±2,93[c]**	**41,234±22,75[b]**	**190,442±55,59[bc]**	**24,815±1,23[b]**	**94,087±14,38[b]**
Besi yeri	13,419±0,28[abc]	13,327±2,24[a]	134,670±20,90[ab]	13,275±0,88[a]	61,232±10,09[a]
Çeltik + S2	**14,667±1,12[bc]**	**21,961±1,91[a]**	**180,954±21,81[abc]**	**22,931±1,67[b]**	**99,129±10,05[b]**
Çeltik + K2	**15,753±1,39[c]**	**22,458±1,91[a]**	**215,341±33,06[c]**	**22,708±2,26[b]**	**96,833±11,42[b]**
S2	13,307±0,64[abc]	11,053±0,74[a]	129,932±18,45[a]	13,853±1,12[a]	62,988±11,98[a]
K2	11,569±1,71[a]	12,984±2,20[a]	**148,092±20,94[ab]**	14,194±0,51[a]	66,363±10,45[a]

Tablodaki veriler 5'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Değerlerin sınır aralıkları parantez içinde verilmiştir.

Mikrobiyal biyokütle analizleri, toprakta aktif mikrobiyal populasyonların kütlesel varlığını ortaya koyarak biyolojik canlılığın değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır. Kontrol grubunda mikrobiyal biyokütle 10,631 mg/g toprak olarak ölçülmüş ve bu değer baz alınarak diğer gruplar değerlendirilmiştir. Çeltik uygulaması yapılan grupta biyokütlede dikkate değer bir artış gözlenmiş (26,078 mg/g), bu durum çeltik atıklarının mikroorganizmalar için organik besin kaynağı oluşturarak mikrobiyal gelişimi uyardığını göstermiştir. Çeltik ile birlikte uygulanan bakteriyel izolatlar biyokütlede daha da belirgin artışlar sağlamıştır. Çeltik + S2 grubunda bu değer 35,322 mg/g, Çeltik + K2 grubunda ise 36,445 mg/g olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, bakteriyel izolatların çeltik samanı ile birlikte uygulandığında mikrobiyal aktiviteyi sinerjik biçimde artırarak toprak biyokütlesini güçlendirdiğini ortaya koymaktadır. Buna karşılık yalnızca besi yeri uygulanan grupta biyokütle miktarı 7,483 mg/g ile kontrol grubunun da altındadır, bu da besi yerinin tek başına mikrobiyal gelişimi desteklemediğini göstermektedir. Benzer şekilde yalnızca S2 (8,638 mg/g) ve K2 (8,631 mg/g) izolatlarının uygulandığı gruplarda da kontrol grubuna göre düşük biyokütle değerleri elde edilmiştir. Bu durum, bakteriyel izolatların toprakta etkinliğini gösterebilmesi için lignoselülozik bir substrat olan çeltik samanı ile birlikte uygulanmasının gerekli olduğunu, aksi durumda izolatların toprakta aktif bir mikrobiyal topluluk oluşturmakta zorlandığını göstermektedir. Mikrobiyal biyokütle ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, Çeltik + S2, Çeltik + K2, S2 ve K2 grupları arasımda; Besi yeri grubu ile Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır. Bu bulgular, uygulamaların mikrobiyal biyokütle seviyelerini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde, mikrobiyal biyokütle sonuçları çeltik atıkları ve bakteri kombinasyonlarının toprak biyolojisi üzerinde olumlu etkiler yarattığını ortaya koymaktadır.

qCO_2 (özgül solunum oranı), birim mikrobiyal biyokütle başına düşen CO_2 salınımını ifade eder ve mikrobiyal topluluğun verimliliği ile stres düzeyini değerlendirmede kullanılan önemli bir biyolojik göstergedir. Düşük qCO_2 değerleri

mikrobiyal topluluğun metabolik olarak daha verimli çalıştığını, yüksek değerler ise mikroorganizmaların enerji verimliliğinin düşük olduğunu ve stres altında olduklarını işaret eder. Kontrol grubunda qCO_2 değeri 0,007 mg/g toprak/24 saat olarak ölçülmüştür. Çeltik uygulaması yapılan grupta bu değer 0,003'e düşerek, çeltik atıklarının mikrobiyal topluluklar için enerji verimliliğini artırıcı bir ortam sağladığını göstermiştir. Aynı şekilde, çeltik + S2 ve çeltik + K2 gruplarında qCO_2 değerleri sırasıyla 0,002 olarak hesaplanmıştır ve bu, mikrobiyal topluluğun daha verimli bir şekilde çalıştığını ve stres altında olmadığını göstermektedir. Buna karşın, sadece besi yeri uygulanan grupta qCO_2 değeri 0,012 ile en yüksek seviyede kaydedilmiştir. Bu durum, yeterli mikrobiyal gelişim sağlanmadan yüksek solunum aktivitesi gözlendiğini ve bunun metabolik stres göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde yalnızca S2 ve yalnızca K2 gruplarında da qCO_2 değerleri sırasıyla 0,012 ve 0,009 olup, çeltik atığı olmaksızın bakterilerin toprakta verimli çalışmadığını ve daha fazla enerji harcadıklarını, dolayısıyla potansiyel olarak stres altında olduklarını göstermektedir. Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, çeltik atıkları ile bakterilerin birlikte uygulanmasının mikrobiyal sistemin enerji verimliliğini artırdığı, bu sayede daha düşük qCO_2 ile daha etkili biyolojik aktivite sağlandığı söylenebilir. qCO_2 ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Besi yeri grubu arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları arasında; Besi yeri grubu ile Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

Organik karbon yüzdesi incelendiğinde, yalnızca çeltik uygulanan grupta gözlenen artış (%1,022), çeltik samanlarının doğal ayrışmasıyla toprak organik maddesinin kısmen arttığını göstermektedir. Ancak bu artış, bakteriyel uygulamaların yapıldığı gruplarla kıyaslandığında daha düşük düzeyde kalmıştır. Özellikle çeltik + S2 (%1,072) ve çeltik + K2 (%1,092) gruplarında, kontrol grubuna (%0,805) ve yalnızca çeltik uygulamasına kıyasla daha yüksek organik C seviyeleri elde edilmiştir. Bu durum, çeltik atıklarının mikrobiyal ayrışmasında sadece mevcut toprak mikrobiyotasının değil, uygulanan özel bakteri izolatlarının (S2 ve K2) etkin rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca yalnızca besi yeri (%0,723), sadece S2 (%0,745) ve K2 (%0,793) uygulamaları organik karbon miktarını artırmada yetersiz kalmıştır. Bu da bakterilerin tek başına değil,

çeltik samanı ile birlikte uygulandığında topraktaki lignoselülozik materyali daha etkin şekilde ayrıştırabildiğini ve bu yolla organik madde birikimini anlamlı ölçüde artırabildiğini desteklemektedir. Böylece, çeltik artıkları ile kombine edilen özel izolatların toprağa faydalı karbon girdisini optimize ettiği ortaya konmuştur. Organik karbon yüzdesi ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları; Besi yeri grubu ile Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

Toplam organik karbonun mikrobiyal biyokütleye oranı (Corg/Cmic), topraktaki organik maddenin mikrobiyal topluluk tarafından ne derece verimli kullanıldığını gösteren önemli bir göstergedir. Bu oran düştükçe, mikrobiyal biyokütlenin toprakta biriken organik karbonu daha verimli şekilde kullandığı anlaşılmaktadır. Çalışmada, çeltik + S2 ve çeltik + K2 gruplarında bu oranlar sırasıyla 0,030 olarak belirlenmiş ve tüm gruplar içinde en düşük seviyelerde yer almıştır. Bu durum, söz konusu gruplarda mikrobiyal biyokütlenin daha aktif ve verimli çalıştığını, yani çeltik samanı ile birlikte uygulanan bakteriyel izolatların topraktaki karbonu etkin şekilde mikrobiyal biyokütleye dönüştürdüğünü ortaya koymaktadır. Buna karşın sadece besi yeri uygulanan grupta toplam organik karbonun mikrobiyal biyokütleye oranı 0,103 ile en yüksek değere ulaşmış; bu da mikrobiyal etkinliğin zayıf kaldığını ve organik karbonun yeterince biyokütleye dönüştürülemediğini düşündürmektedir. Kontrol (0,082) ve yalnızca bakteri uygulanan gruplarda (S2: 0,093; K2: 0,092) gözlenen yüksek oranlar da, bakteriyel izolatların tek başına çeltik artıkları olmadan toprakta sınırlı bir etkinlik sergilediğini göstermektedir. Dolayısıyla, bakterilerin organik maddenin dönüşümünde işlevsel olabilmesi için çeltik gibi lignoselülozik atıklarla birlikte uygulanmasının gerekliliği ortaya konmuştur. Corg/Cmic ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları arasında; Besi yeri grubu ile Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik +S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

Toprak mikrobiyal aktivitesinin belirteçlerinden biri olan dehidrogenaz enzimi, mikroorganizmaların solunum faaliyetleri sırasında aktif rol oynamakta olup, toprak biyolojik kalitesinin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, en yüksek dehidrogenaz aktivitesi değeri 16,236 µg TPF/g toprak/24 saat ile yalnızca çeltik uygulanan grupta kaydedilmiştir. Bu durum, çeltik artığının mikrobiyal solunumu tetikleyerek toprak enzim aktivitesini artırdığını göstermektedir. Ancak Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 gruplarında sırasıyla 14,667 ve 15,753 µg TPF/g değerleri ile kontrol grubuna kıyasla belirgin artışlar gözlenmiş, bu da çeltik samanı ile birlikte uygulanan bakteriyel izolatların mikrobiyal solunumda ve toprak biyolojik aktivitesinde katkı sağladığını ortaya koymuştur. Sadece bakteri uygulanan S2 (13,307) ve K2 (11,569) gruplarında ise aktivite değerleri daha düşük seviyelerde kalmış, bu da bakterilerin tek başına toprakta sınırlı bir enzimatik aktivite ortaya koyduğunu; fakat çeltik samanı ile birlikte uygulandıklarında biyolojik süreçleri daha etkin biçimde harekete geçirdiklerini düşündürmektedir. Bu bağlamda, çeltik atıkları ile birlikte uygulanan bakterilerin topraktaki mikrobiyal fonksiyonları artırıcı etkisi açıkça ortaya konmuştur. Dehidrogenaz aktivitesi ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik ve Çeltik +S2 grupları arasında; Çeltik grubu ile K2 grubu arasında; Çeltik + S2 grubu ile K2 grubu arasında; Çeltik + K2 grubu ile K2 grubu arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

Topraktaki üreaz aktivitesi, **mikrobiyal azot mineralizasyon kapasitesinin önemli bir göstergesidir**. Yapılan ölçümler, yalnızca bakteri uygulanan S2 (11,053 µg N/g kuru toprak/saat) ve K2 (12,984 µg N/g kuru toprak/saat) gruplarında düşük düzeyde aktivite ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, bakterilerin çeltik samanı gibi organik bir karbon kaynağı bulunmadığında toprakta sınırlı azot dönüşümüne yol açtığını göstermektedir. Öte yandan, Çeltik + S2 (21,961) ve Çeltik + K2 (22,458) gruplarında aktivitenin belirgin şekilde artması, bakterilerin yalnızca varlıklarıyla değil, organik madde ile etkileşime girdiklerinde biyolojik azot döngüsünü etkin biçimde desteklediklerini göstermektedir. Çeltik grubunda da aktivitenin yüksek düzeyde ölçülmesi (41,234) dikkat çekici olsa da, bu artışın bakteriyel katkı olmaksızın sürdürülebilirliği sınırlı olabilir. Özellikle besi yeri grubunda gözlenen düşük üreaz aktivitesi (13,327), karbon kaynağının tek başına yeterli olmadığını ve mikrobiyal azot metabolizmasında spesifik bakteriyel katkıların belirleyici

rol oynadığını göstermektedir. Bu bulgular, bakteriyel izolatların -özellikle uygun organik matrisle birlikte sağlandığında- topraktaki azot biyodönüşüm süreçlerini etkin şekilde destekleyebileceğini göstermektedir. Üreaz aktivitesi ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, bazı gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik grubu arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, Çeltik +S2, Çeltik + K2, S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır. Bakteriyel aktiviteler, topraktaki biyo-yararlanabilir azot ve amonyum dönüşümünü uyararak, azot verimliliğini etkilemektedir (Lisuma ve ark., 2020). Literatür incelendiğinde rizosfer toprağının, özellikle toprak üreaz aktivitesine bağlı olarak bakteriler aracılığıyla gerçekleşen azot dönüşüm etkinliğinde artış gösterdiği gözlenmiştir (Sun ve ark., 2020; Liu ve ark., 2022).

Fosfataz aktivitesi sonuçları değerlendirildiğinde, en yüksek değer 215,341 µg p-nitrofenol/g kuru toprak/saat ile "Çeltik + K2" grubunda kaydedilmiştir. Bu grubu sırasıyla "Çeltik" (190,442 µg) ve "Çeltik + S2" (180,954 µg) grupları takip etmiştir. Sadece bakterilerin uygulandığı S2 (129.932 µg) ve K2 (148,092 µg) gruplarında ise fosfataz aktivitesi, kontrol grubuna (130,959 µg) yakın ya da çok sınırlı düzeyde artış göstermiştir. Bu durum, bakterilerin tek başına uygulandığında fosfataz aktivitesini anlamlı düzeyde artırmadığını, ancak lignoselülozik bir kaynak olan çeltik samanı ile birlikte uygulandığında özellikle K2 izolatının bu enzimin aktivitesine önemli katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Nitekim K2'nin yalnızca laboratuvar ölçeğindeki fosfat çözünürlük analizlerinde değil, sera koşullarında da fosfor döngüsünü destekleyici potansiyel taşıdığı görülmektedir. Bu da K2 izolatının rizosferdeki mikrobiyal etkileşimleri düzenleyerek fosfataz aktivitesini artırabilen bir mekanizmaya sahip olabileceğini düşündürmektedir. Fosfataz aktivitesi ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, bazı gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri ve S2 grupları arasında; Besi yeri grubu ile Çeltik + K2 grubu arasında; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır. Toprakta besin elementlerinin biyoyararlanabilirliği; toprağın fiziko-kimyasal özellikleri, çevresel koşullar ve mikroorganizmalar ile enzimler tarafından yönlendirilen biyolojik etkileşimler tarafından belirlenmektedir (Richardson ve ark., 2009). Özellikle bakteri faaliyetleri (örneğin asit salgılanması) ile toprak fosfataz aktivitesi, inorganik fosforun

harekete geçirilmesinde güçlü bir rol oynamaktadır. Fosfataz aktivitesindeki artış, rizosfer toprakta biyo-yararlanabilir fosfat seviyesini yükseltmektedir (Hassan, 2017; Khajeeyan ve ark., 2019). Bu nedenle, rizosferdeki inorganik fosfor ile biyo-yararlanabilir fosfor arasındaki dinamik denge, doğrudan toprak fosfataz aktivitesine bağlıdır (Li ve ark., 2020).

Arilsülfataz aktivitesi açısından değerlendirildiğinde, yalnızca çeltik samanı uygulanan grupta (24,815 µg pNP/g) en yüksek değer elde edilmiştir. Çeltik samanı ile birlikte S2 (22,931 µg pNP/g) ve K2 (22,708 µg pNP/g) izolatlarının uygulandığı gruplarda da yüksek düzeyde arilsülfataz aktivitesi gözlenmiştir. Bu gruplardaki değerler, kontrol (15,099 µg pNP/g) ve yalnızca bakteri uygulanan gruplara (S2: 13,853, K2: 14,194 µg pNP/g) kıyasla anlamlı artış göstermiştir. Arilsülfataz enzimi, topraktaki organik kükürtlü bileşiklerden sülfat iyonlarını serbest bırakarak kükürt mineralizasyonunda görev alır ve bu yolla bitkiler için elverişli kükürt formu olan sülfatın sağlanmasına katkı sunar. Toprakta kükürt döngüsünün önemli bir göstergesi olan bu enzim, mikrobiyal aktivite ve toprak biyolojik verimliliği hakkında dolaylı bilgi verir. Bu bulgular, arilsülfataz üretiminin özellikle çeltik samanı gibi organik kükürtlü bileşiklerce zengin lignoselülozik atıkların varlığında uyarıldığını göstermektedir. Organik materyalin parçalanması sırasında oluşan ara ürünlerin, mikroorganizmaların bu enzimi sentezlemesini teşvik ettiği düşünülmektedir. Sadece bakteri uygulanan gruplarda düşük aktivite gözlenmesi ise, izolatların tek başına bu enzimi yüksek düzeyde üretmediğini; ancak çeltik samanı gibi karbon ve kükürt kaynağı içeren substratlarla etkileşimde olduklarında enzimatik olarak aktive olduklarını ortaya koymaktadır. Bu durum, uygulanan bakterilerin organik atıkların biyolojik dönüşüm süreçlerinde kükürt mineralizasyonuna katkı sağlayabilecek potansiyele sahip olduğunu desteklemektedir. Aril sülfataz aktivitesi ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, bazı gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları arasında; Besi yeri grubu ile Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

Beta-glukozidaz aktivitesi, toprakta selüloz ve diğer karbonhidratların mikrobiyal parçalanması sırasında son aşamada görev alan bir enzimdir ve özellikle

glikoz birimlerinin açığa çıkarılmasında rol oynar. Bu enzim, toprakta karbon çevrimi ve mikrobiyal enerji temini açısından kritik öneme sahiptir. Yalnızca çeltik samanı uygulanan ve çeltik + bakteri kombinasyonları içeren gruplarda gözlenen yüksek beta-glukozidaz aktivitesi (sırasıyla 94,087, 99,129 ve 96,833 µg pNP/g), lignoselülozik materyal içeriğinin mikroorganizmaları karbon bazlı enzim üretimine teşvik ettiğini ortaya koymaktadır. Özellikle çeltik + S2 uygulanan grupta en yüksek aktivitenin kaydedilmesi, S2 izolatının çeltik samanının karbon yapısına spesifik enzimatik yanıt verdiğini ve selüloz yıkım sürecine aktif olarak katıldığını düşündürmektedir. Kontrol ve yalnızca besi yeri veya yalnızca bakteri uygulanan gruplarda gözlenen düşük aktivite ise, substrat eksikliğinin veya uygun koşulların bulunmamasının bu enzimatik aktiviteyi sınırladığını göstermektedir. Bu durum, uygulanan bakterilerin potansiyelinin ortaya çıkabilmesi için lignoselülozik substratla etkileşim içinde olmaları gerektiğini destekler niteliktedir. Sonuç olarak, beta-glukozidaz aktivitesindeki artışlar, özellikle çeltik samanı + mikrobiyal uygulamaların karbon döngüsüne katkı sağladığını ve lignoselüloz ayrıştırma sürecini hızlandırabildiklerini göstermektedir. Bu bulgular, S2 ve K2 izolatlarının organik maddenin biyolojik parçalanmasında rol oynayabilecek fonksiyonel mikroorganizmalar olduğunu ortaya koymaktadır. Beta-glukozidaz aktivitesi ölçümlerine ilişkin yapılan çoklu karşılaştırma testleri, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik +K2 grupları arasında; Çeltik grubu ile Besi yeri, S2 ve K2 grupları arasında; Besi yeri grubu ile Çeltik +S2 ve Çeltik + K2 grupları arasında; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında; Çeltik + K2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, inkübasyon sonrası topraklarda yapılan kimyasal ve biyolojik analizler, çeltik samanı ve mikrobiyal uygulamaların toprak kalitesi üzerinde olumlu etkiler yarattığını ortaya koymuştur. Özellikle çeltik samanının S2 ve K2 izolatlarıyla birlikte uygulanması, toplam organik karbon, mikrobiyal biyokütle, beta-glukozidaz ve fosfataz gibi toprak sağlığının temel göstergeleri olan parametrelerde dikkat çekici artışlara neden olmuştur. Fosfataz aktivitesinde en yüksek değerin Çeltik + K2 grubunda gözlenmesi, K2 izolatının fosfor döngüsüne katkı sağladığını desteklemektedir. Sadece çeltik uygulanan grupta gözlenen bazı artışlara rağmen, bu artışların mikrobiyal destekle zenginleştirilmiş gruplarda daha belirgin olması bakteriyel uygulamaların katkısını güçlendirmektedir. Ayrıca, yalnızca besi yeri ya da bakteri

verilen gruplarda gözlemlenen sınırlı yanıt, bakterilerin fonksiyonlarının çeltik samanı gibi lignoselülozik materyallerle birlikte aktive olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, özellikle S2 izolatı, karbon döngüsüne katkı sağlayan enzimatik aktiviteleri ve mikrobiyal biyokütle oluşumunu teşvik etme kapasitesiyle öne çıkarken; K2 izolatı da fosfataz aktivitesini artırarak fosfor döngüsünde destekleyici bir rol üstlenmiştir. Bulgular, bu mikrobiyal uygulamaların sadece organik madde dönüşümünü değil, aynı zamanda toprak fonksiyonlarının sürdürülebilirliği açısından da önemli katkılar sunabileceğini göstermektedir.

3.6.2. Bitki morfolojik analizler

3.6.2.1. Yeşil aksam uzunlukları

Hasat zamanı olan 40. günün sonunda, her uygulama grubuna ait temsili bir saksıdan rastgele seçilen 10 bireyin toprak üstü yeşil aksam uzunlukları, mezura yardımıyla en uzun yaprak ucuna kadar ölçülmüştür. Elde edilen ölçümler üzerinden her grup için ortalama değerler ve standart sapmalar hesaplanmıştır. Bu veriler Tablo 3.12'de sunulmuştur.

Tablo 3.12. Uygulama gruplarının yeşil aksam uzunlukları (cm)

Uygulama grupları	**Ortalama toprak üstü yeşil aksam uzunlukları (cm)**
Kontrol	$38,16 \pm 2,98^{ab}$
Çeltik	$\mathbf{43,1 \pm 2,38^{c}}$
Besi yeri	$37,18 \pm 3,26^{ab}$
Çeltik+S2	$\mathbf{40,88 \pm 2,41^{bc}}$
Çeltik+K2	$39,64 \pm 5,24^{abc}$
S2	$38,02 \pm 4,69^{ab}$
K2	$35,63 \pm 2,31^{a}$

Tablodaki veriler 10'ar bireyde ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

İstatistiksel sonuçlara göre, yeşil aksam uzunluğu verisinde bazı grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Çeltik grubu, Kontrol, Besi yeri, S2 ve K2 gruplarından; S2 grubu ise Çeltik ve Çeltik + S2 gruplarından anlamlı olarak farklılık göstermektedir. Diğer grup çiftleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Elde edilen verilerin ortalamaları alt kümelere ayrılarak sıralandığında, en düşük ortalamaya sahip K2 grubu birinci alt kümeye, en yüksek ortalamaya sahip Çeltik grubu ise üçüncü alt kümeye dahil edilmiştir. Çeltik + S2 grubu ise ortalama değeriyle (40,88) Çeltik grubunun ardından gelmiş ve yine üçüncü alt kümeye dahil olmuştur. Bu durum, Çeltik + S2 grubunun da yüksek değerlere ulaştığını, ancak en yüksek değerin yalnızca çeltik uygulanan grupta gözlendiğini ortaya koymaktadır. Gruplar arasında ortalama değerlerde belirgin bir sıralanma eğilimi bulunmakla birlikte, bazı farkların istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığı görülmektedir.

Literatürde, *Pseudomonas* ve *Bacillus* gibi bakterilerle yapılan uygulamalarda yeşil aksam uzunluğunda önemli artışlar elde edildiği bildirilmektedir (Ali ve ark., 2022; Salisu ve Isiya, 2024). Çalışmamızda ise 40 günlük erken gelişim periyodunda yapılan ölçümlerde, mikrobiyal uygulamaların bitki boyu gibi verim parametrelerinde kontrol ve çeltik grubunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde geçemediği görülmüştür. Bu durumun, uygulama süresinin kısıtlı olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir; daha uzun süreli gözlemlerde mikrobiyal etkilerin daha belirgin hale gelmesi mümkündür. Öte yandan, çeltik samanı uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubuna kıyasla birçok fizyolojik parametrede artış gözlenmiş olup, bu bulgular atık uygulamasının toprak kalitesi ve bitki gelişimi üzerinde destekleyici bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Gelecekte yapılacak daha uzun süreli denemelerde, mikrobiyal inokulantların verim parametrelerine olan etkilerinin daha güçlü biçimde ortaya konması beklenmektedir.

3.6.2.2. Yeşil aksam yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ve %nem

Yeşil aksam yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ile % nem analizleri, bitki büyüme performansının, su içeriğinin etkin kullanımının ve uygulamaların biyokütle üretimi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi açısından önemli parametreler sunmaktadır. Bu kapsamda hasat zamanı olan 40. günde, her uygulama grubundaki 5 tekrar (saksı) üzerinden, her saksıdan rastgele seçilen 6 bitki bireyine ait toprak üstü yeşil aksamlar

toplanarak yaş ağırlıkları hassas terazi ile ölçülmüştür. Ardından, bu örnekler 60 °C sıcaklıkta 72 saat boyunca kurutularak kuru ağırlık değerleri belirlenmiştir. Elde edilen yaş ve kuru ağırlık verilerinden yararlanılarak her grup için ortalama nem oranı hesaplanmıştır. Bu ölçümlere ait ortalama, standart sapma ve nem yüzdeleri Tablo 3.13'te sunulmuştur.

Tablo 3.13. Uygulama gruplarına ait toprak üstü yaş ve kuru ağırlık ölçümleri ile nem oranları

Uygulama grupları	**Yaş ağırlık (gr)**	**Kuru ağırlık (gr)**	**Nem oranı (%)**
Kontrol	$5,29 \pm 1,64^{abc}$	$1,12 \pm 0.29^{ab}$	$78,44 \pm 1,44^{a}$
Çeltik	$\mathbf{6,63 \pm 0,48^{c}}$	$\mathbf{1,51 \pm 0,11^{c}}$	$77,21 \pm 1,00^{a}$
Besi yeri	$4,38 \pm 0,77^{ab}$	$1,03 \pm 0,22^{ab}$	$76,69 \pm 1,15^{a}$
Çeltik+S2	$\mathbf{5,90 \pm 0,63^{bc}}$	$\mathbf{1,36 \pm 0,12^{bc}}$	$76,90 \pm 1,13^{a}$
Çeltik+K2	$\mathbf{5,78 \pm 0,64^{abc}}$	$\mathbf{1,37 \pm 0,14^{bc}}$	$76,28 \pm 0,81^{a}$
S2	$4,23 \pm 1,04^{ab}$	$0,93 \pm 0,18^{a}$	$77,76 \pm 1,34^{a}$
K2	$3,98 \pm 0,65^{a}$	$0,91 \pm 0,15^{a}$	$77,16 \pm 0,70^{a}$

Tablodaki veriler 5'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–f), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Yaş ağırlığı verilerinde yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, Çeltik grubu ile Çeltik+S2 grubu ve K2 grubu) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca, Çeltik+S2 grubu ile K2 grubu arasında da anlamlı fark tespit edilmiştir. Diğer grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar, belirli uygulamaların yaş ağırlığını önemli düzeyde etkilediğini göstermektedir. Kuru ağırlık verilerinde yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, Çeltik grubu ile Kontrol, Besi yeri, S2 ve K2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca Çeltik+S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında da anlamlı fark tespit edilmiştir. Diğer grup çiftlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu

sonuçlar, özellikle bazı uygulamaların kuru ağırlık üzerinde anlamlı etkiler yarattığını göstermektedir.

Bitki kuru ağırlığındaki artış, genellikle bitkinin toplam biyokütlesinin arttığını ve büyüme performansının iyileştiğini göstermektedir. Bu, bitkinin fotosentez kapasitesinin, besin alımının ve genel metabolik etkinliğinin arttığını; dolayısıyla verim potansiyelinin yükseldiğini ve streslere karşı daha dayanıklı hale geldiğini düşündürmektedir. El-Sawah ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, PGPR bakterilerinin (*Bradyrhizobium* sp. ve *Bacillus subtilis*) guar fasülyelerine uygulanması, kontrol bitkilerine kıyasla bitki kuru ağırlığında artış sağlamıştır. Benzer olarak çeltik bitkisinde *Rhizobium* bakterileri uygulaması sonrasında, kuru madde miktarında yaklaşık %20 oranında bir artış sağlarken, çeşitli bitki gelişim parametrelerinde de iyileşmeler gözüktüğü rapor edilmiştir (Chi ve ark., 2005). Bizim çalışmamızda Çeltik grubu, hem yaş hem de kuru ağırlık açısından en yüksek biyokütle üretimini göstermiştir. Mikrobiyal uygulamaların tek başına kullanıldığı gruplarda (S2 ve K2) biyokütle üretimi sınırlı kalırken, çeltik atığı ile birlikte uygulandığında (Çeltik+S2 ve Çeltik+K2) olumlu yönde etkiler gözlenmiştir. Çeltik + S2 grubunda kuru ağırlık, kontrol grubuna göre yaklaşık %21,4; Çeltik + K2 grubunda ise yaklaşık %22,3 oranında artmıştır. Bu durum, mikrobiyal gübrelerin organik madde ile birlikte kullanıldığında daha etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, kontrol grubunda yüksek nem oranı gözlenmesine rağmen düşük kuru madde miktarı, su içeriğinin verimli kullanılmadığını düşündürmektedir.

3.6.3. Biyokimyasal ve fizyolojik analizler

3.6.3.1. Yaprak pigment içeriği ve azot denge indeksi (NBI) analizleri

Bitkisel fizyolojik parametrelerin değerlendirilmesinde yaprak pigmentleri, bitki sağlığı ve stres tepkilerinin belirlenmesinde önemli biyobelirteçlerdir. Bu çalışmada, çeltik bitkilerinden elde edilen yapraklarda klorofil, flavonol ve antosiyanin içerikleri ile azot denge indeksi (NBI) analizleri gerçekleştirilmiştir. Dualex Scientific+ cihazı ile yapılan bu analizler, bitkilerin azot durumu ile fenolik madde birikimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamaktadır. Tablo 3.14'te gösterilen veriler, farklı uygulamaların fotosentetik kapasite, savunma metabolitleri üretimi ve azot kullanım verimliliği üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmeye olanak sağlamaktadır.

Tablo 3.14. Yaprak pigment içeriği ve azot denge indeksi (NBI) analizleri

Uygulama Grupları	NBI (Nitrogen Balance Index) (Azot Denge İndeksi)	Chl (Chlorophyll) (Klorofil)	Flav (Flavonol)	Anth (Anthocyanins) (Antosiyaninler)
Kontrol	19,125 ± 5,58^{abc}	21,611 ± 5,61^{abc}	1,150 ± 0,13^{a}	0,169 ± 0,03^{ab}
Çeltik	**22,724 ± 6,10^{c}**	**24,647 ± 6,43^{c}**	1,094 ± 0,10^{a}	0,161 ± 0,04^{ab}
Besi yeri	17,781 ± 6,30^{ab}	19,720 ± 5,13^{ab}	1,153 ± 0,14^{a}	0,190 ± 0,04^{b}
Çeltik+S2	**23,897 ± 2,85^{c}**	**25,402 ± 3,36^{c}**	**1,068 ± 0,12^{a}**	**0,140 ± 0,0^{a}**
Çeltik+K2	**21,897 ± 3,31^{bc}**	**23,881 ± 3,06^{bc}**	1,103 ± 0,13^{a}	0,158 ± 0,03^{ab}
S2	19,092 ± 2,56^{abc}	21,540 ± 2,54^{abc}	1,134 ± 0,10^{a}	0,170 ± 0,03^{ab}
K2	16,518 ± 2,22^{a}	18,298 ± 2,47^{a}	1,109 ± 0,12^{a}	0,186 ± 0,01^{b}

Tablodaki veriler 15'er bireyde ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

NBI sonuçlarına göre, gruplar arasında bazı ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Çeltik grubu, Besi yeri ve K2 gruplarından; Besi yeri grubu, Çeltik ve Çeltik + S2 gruplarından anlamlı şekilde farklıdır. Ayrıca Çeltik+S2 grubu, Besi yeri ve K2 gruplarından anlamlı şekilde farklılık göstermektedir. Bu sonuçlar, bazı uygulamaların azot dengesi indeksi üzerinde anlamlı etki yarattığını göstermektedir.

Klorofil sonuçlarına göre gruplar arasında bazı ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Çeltik grubu Besi yeri ve K2 gruplarından, Besi yeri grubu Çeltik ve Çeltik + S2 gruplarından, Çeltik + S2 grubu Besi yeri ve K2 gruplarından, Çeltik + K2 grubu K2 grubundan ve son olarak K2 grubu Çeltik, Çeltik + S2 ve Çeltik+K2 gruplarından anlamlı şekilde farklıdır. Flavonol (Flav) düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p

> 0,05). Bu sonuç, uygulamaların flavonol içeriği üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığını göstermektedir. Antosiyanin sonuçlarında ise Çeltik+S2 grubu Besi yeri ve K2 gruplarından anlamlı olarak farklılık göstermiştir ($p < 0,05$).

Yaprak pigment içeriği ve Azot Denge İndeksi (NBI) sonuçları, mikrobiyal uygulamaların bitki fizyolojisi üzerindeki etkilerini değerlendirmek açısından önemli bulgular sunmuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda, Çeltik+S2 uygulama grubunda en yüksek NBI ($23,897 \pm 2,85$) ve klorofil ($25,402 \pm 3,36$) değerlerine ulaşılmıştır. Bu durum, S2 izolatının azot metabolizmasını destekleyici bir rol üstlendiğini ve bitkide fotosentetik kapasiteyi artırdığını göstermektedir. Aynı grupta, flavonol ($1,068 \pm 0,12$) ve antosiyanin ($0,140 \pm 0,00$) düzeylerinin diğer gruplara kıyasla düşük olması, bitkinin çevresel koşullara karşı daha az stres yanıtı verdiğini düşündürmektedir. Tek başına uygulanan S2 izolatı da kontrollere kıyasla klorofil içeriğinde artış sağlamış, flavonol düzeyini düşürmüş ve antosiyanin düzeyini sınırlandırmıştır. Buna karşın, K2 izolatı uygulanan gruplarda NBI ve klorofil değerleri nispeten daha düşük kalmış, antosiyanin birikimi ($0,186 \pm 0,01$) ise en yüksek seviyelerde gözlenmiştir. Bu bulgular, K2'nin azot metabolizmasını doğrudan destekleyici etkisinin sınırlı olduğunu, ancak belirli stres koşullarında savunma yanıtlarını aktive edebilecek özellikler taşıyabileceğini göstermektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, mikrobiyal gübrelerin bitki gelişimi üzerindeki olumlu etkilerine dikkat çekmektedir. Örneğin, El-Sawah ve ark. (2021) PGPR bakterilerinin (*Bradyrhizobium* sp. ve *Bacillus subtilis*) guar fasulyesinde yaprak alan indeksi, klorofil içeriği ve azot alımını artırdığını bildirmiştir. Naher ve ark. (2016) ise *Bacillus* ve *Burkholderia* türü bakterilerin azot fiksasyonu, selülaz ve fosfat çözme aktiviteleri sayesinde pirinç bitkisinde kardeşlenme sayısı, dane verimi, başak uzunluğu, yaprak klorofil içeriği, besin alımı ve protein düzeylerinde artış sağladığını raporlamıştır. Mthiyane ve ark. (2024) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, *Pseudomonas* sp. içeren Tokyo8 biyogübresinin organik gübre ile birlikte uygulanmasının pirinçte büyüme, fotosentetik verimlilik ve klorofil ilişkili gen ekspresyonunu artırdığı, bitki boyu, kardeşlenme sayısı, klorofil içeriği ve net fotosentez oranında olumlu etkiler sağladığı belirtilmiştir. Ancak, aynı çalışmada çeltik samanı ile biyogübre kombinasyonlarında benzer anlamlı artışlar gözlenmemiştir. Bu durum, çeltik samanı ve mikrobiyal inokülantların etkileşiminin, kullanılan suşlar ve çevresel koşullara bağlı olarak

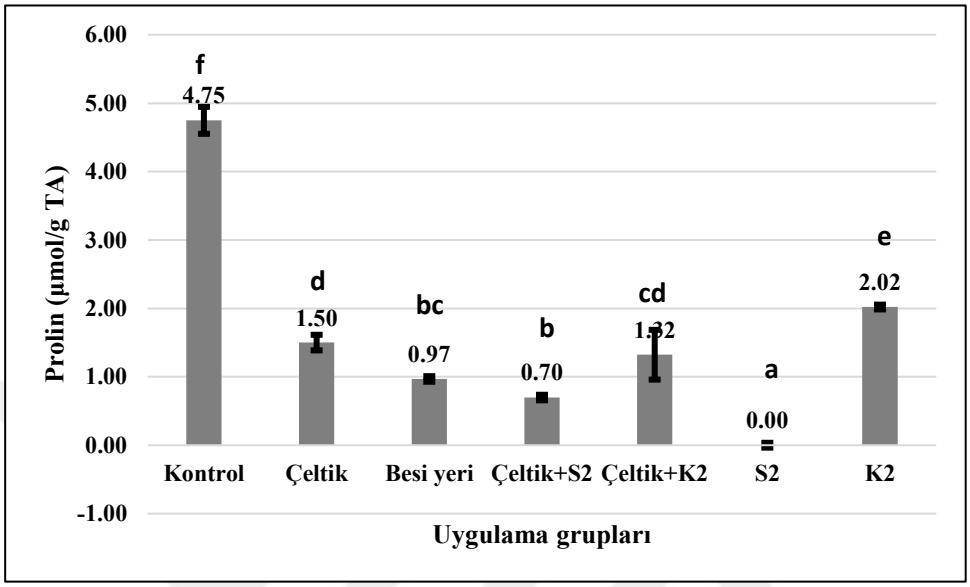
değişkenlik gösterebileceğine işaret etmektedir. Bir diğer çalışmada Shultana ve ark. (2020), *Bacillus tequilensis* UPMRB9 suşunun MR297 çeltik çeşidinde toplam klorofil içeriğini %28 oranında artırdığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise, S2 ve K2 izolatlarının çeltik samanı ile birlikte uygulandığı gruplarda, tek başına uygulandıkları gruplara göre klorofil ve NBI değerlerinde bir miktar artış gözlenmiştir; ancak bu farklar istatistiksel olarak sınırlı düzeydedir. Örneğin, kontrol grubuna göre klorofil içeriğinde yalnızca çeltik uygulamasında %18,9, Çeltik + S2 uygulamasında %24,9 ve Çeltik + K2 uygulamasında %14,5 oranında artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar, çeltik samanının mikrobiyal etkinliği destekleyebileceğini düşündürmekle birlikte, biyogübre uygulamalarının etkilerinin bitki türü, mikrobiyal suş ve uygulama koşullarına göre değişkenlik gösterebileceğini ve elde edilen etkinin büyüklüğünün sınırlı olabileceğini göstermektedir.

3.6.3.2.Prolin içeriği tayini

Çeşitli çevresel stres koşullarına yanıt olarak, birçok bitki türünde sitozolde L-prolin sentezlendiği ve kloroplastlarda biriktiği görülmüştür (Nakashima ve ark., 1998). Bitkilerde L-prolin birikiminin, tuzluluk, kuraklık gibi abiyotik streslerin ve biyotik streslerin neden olduğu ozmotik strese karşı yaygın bir fizyolojik tepki olduğu bilinmektedir (Meena ve ark., 2019). Bu nedenle, çalışmamızda uygulamaların bitkide stres düzeyi üzerine etkisini ortaya koymak amacıyla prolin içeriği tayini yapılmıştır.

Prolin düzeyleri, uygulama grupları arasında anlamlı farklılık göstermiştir. Kontrol grubunda prolin miktarı 4,75 µmol/g TA olarak ölçülmüş ve tüm gruplar arasında en yüksek değeri göstermiştir. Bu durum, hiçbir uygulama yapılmamış bitkilerin çevresel stres altında olduğunu göstermektedir. Çeltik samanı uygulanan grupta prolin düzeyi 1,50 µmol/g TA, yalnızca besi yeri uygulanan grupta ise 0,97 µmol/g TA olarak ölçülmüştür. Mikrobiyal izolatların çeltik samanı ile birlikte uygulandığı gruplarda prolin birikiminin daha da azaldığı görülmüştür. Çeltik + S2 grubunda prolin düzeyi 0,70 µmol/g TA, Çeltik + K2 grubunda ise 1,32 µmol/g TA olarak belirlenmiştir. Sadece izolat uygulanan gruplardan S2'de prolin saptanmamış, K2 grubunda ise bu değer 2,02 µmol/g TA olmuştur (Şekil 3.9). Tüm verilere göre yapılan çoklu karşılaştırma testinde, birçok grup çifti arasında ortalama fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol grubu, diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıdır. Benzer şekilde S2 grubu

da çoğu gruptan anlamlı farklılık göstermektedir. Bu sonuçlar, gruplar arasında prolin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğunu ve bazı grupların birbirinden net şekilde ayrıldığını göstermektedir.



Şekil 3.9. Prolin içeriği grafiği

Şekildeki veriler 3'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–f), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Elde edilen bulgular, çeltik samanı ve mikrobiyal izolatların bitkide stres yanıtını baskılayarak prolin birikimini azalttığını; dolayısıyla fizyolojik stresin hafifletildiğini ortaya koymaktadır. Özellikle S2 izolatının uygulandığı grupta gözlenen minimum prolin düzeyi, bu uygulamanın stres azaltıcı etkisini desteklemektedir. Benzer şekilde, Jawad (2015) çalışmasında da biyokimyasal gübre uygulamalarının prolin birikimini anlamlı şekilde azalttığı ve bunun, bitkilerde stres yanıtının hafiflemesiyle ilişkili olduğunu rapor etmiştir. Jawad (2015) çalışmasında *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum liboferum* ve *Bacillus megaterium* ile azot ve fosfor gübreleri karışımından oluşan biyokimyasal gübre kullanmıştır. Bu sonuç, bizim çalışmamızda elde edilen bulgularla uyumludur; çeltik samanı ve özellikle S2 izolatı uygulamalarının, bitkilerde stres yanıtını baskılayarak prolin birikimini azalttığı ve fizyolojik stresin hafifletilmesine katkı sağladığı görülmüştür.

Elde edilen bulgular, çeltik samanı ve mikrobiyal izolatların, bitkide stres yanıtını

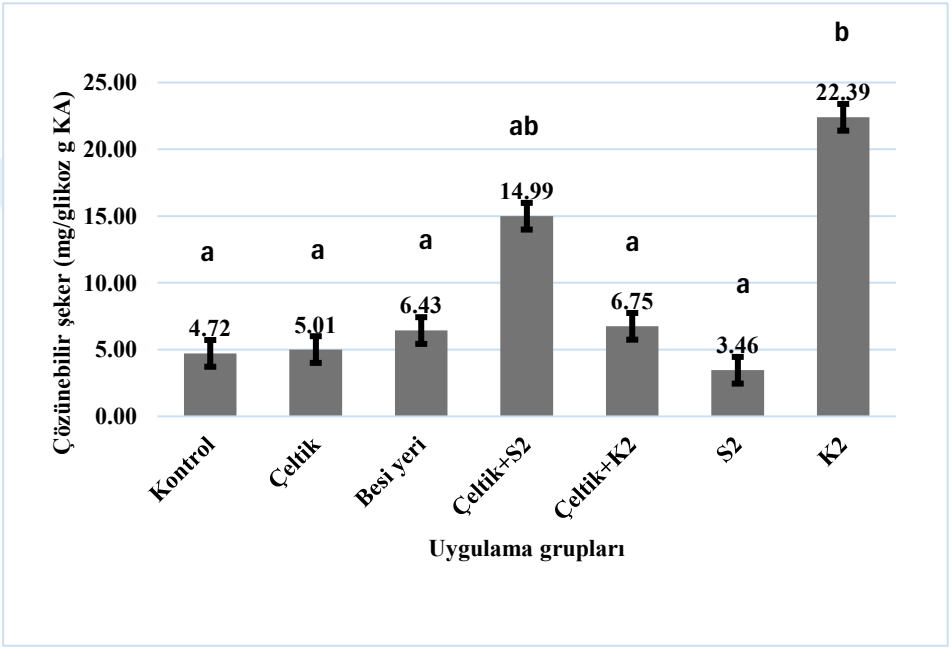
baskılayarak prolin birikimini azalttığını; dolayısıyla fizyolojik stresin hafifletildiğini ortaya koymaktadır. Özellikle S2 izolatının çeltik samanı ile birlikte uygulandığı grupta gözlenen minimum prolin düzeyi, bu uygulamanın stres azaltıcı etkisini desteklemektedir.

3.6.3.3. Toplam çözünebilir şeker (sukroz, fruktoz, glikoz) içeriği tayini

Çözünebilir şekerler (mono ve disakkaritler), tüm canlı hücrelerin yapısı ve işlevi açısından temel bileşenlerdir. Yalnızca modern bitkilerde değil, yaşamın evriminin ilk aşamalarında yani canlılığın ilk ortaya çıkış dönemlerinde (prebiyotik evre) ve ilk basit canlı organizmaların oluştuğu biyotik evrede de önemli rolleri oldukları düşünülmektedir (Hazra ve ark., 2019). Bitkilerde şekerler büyüme ve gelişmenin farklı aşamalarında çeşitli metabolik süreçleri aktif şekilde düzenleyen metabolik substratlar olarak görev yapmaktadırlar (Alagbe ve ark., 2020). Şeker sentezi, bitkide karbondioksidin indirgenmesi yoluyla fotosentez sırasında gerçekleşmektedir ve bu süreçte su moleküllerinin oksidasyonu için güneş enerjisi kullanılmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2002). Glikoz, çimlenme, çiçeklenmeye geçiş, hücre duvarı gelişimi ve yaşlanma gibi süreçleri etkilerken (Dekkers ve ark., 2004); aynı zamanda hücre bölünmesini, kök yapısını ve uzamasını teşvik etmekte, ayrıca sekonder metabolit (glukozinolatlar ve fenolik bileşikler) sentezini düzenlemektedir (Wei ve ark., 2011). Diğer yandan glikoz ve fruktozun bir araya gelerek oluşturdukları sakkaroz-sukroz, hücre genişlemesi ve nişasta sentezine katkı sağlamaktadır (Gibson, 2005). Bitkide şeker durumu, içsel ve çevresel faktörler tarafından şekillenen genel gelişim sürecini kontrol etmektedir (Sedigheh, 2019). Şeker yetersizliği, α-amilaz sentezinin artışı gibi bazı yolları harekete geçirirken (Gill ve ark., 2003), solunum hızı, protein sentezi, şeker metabolizması ve nitrat asimilasyonunda azalmaya neden olmaktadır (Rolland ve Sheen, 2005).

Şekil 3.10'da sunulan grafikte, çeltik bitkilerinin yapraklarında ölçülen çözünebilir şeker (glikoz, fruktoz ve sükroz) içeriklerinin, uygulama gruplarına göre değişimi yer almaktadır. Kontrol grubuna kıyasla, özellikle K2 uygulama grubunda en yüksek çözünebilir şeker miktarı (22,39 mg glikoz/g KA) tespit edilmiştir. Çeltik + S2 grubunda da anlamlı bir artış (14,99 mg) gözlenmektedir. Bu durum, bakteriyel uygulamaların çeltik bitkilerinde karbon metabolizmasını ve şeker birikimini teşvik ederek verim potansiyelini artırabileceğini düşündürmektedir. Sadece S2 ve K2 uygulanan gruplarda ise çözünebilir şeker değerlerinin düşük olması, bu etkilerin çeltik atığı veya bitki varlığıyla sinerjistik

biçimde ortaya çıktığını işaret etmektedir. Çözünebilir şeker verilerinde gruplar arasında yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, K2 grubu ile diğer grupların çoğu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle K2 grubu, Kontrol, Çeltik, Besi yeri, Çeltik+K2 ve S2 gruplardan anlamlı derecede farklılık göstermektedir. Diğer grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, bazı uygulamaların çözünebilir şeker düzeyini önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir.



Şekil 3.10. Çözünebilir şeker içeriği grafiği

Şekildeki veriler 3'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–b), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Bu çalışmada, özellikle K2 uygulama grubunda çözünebilir şeker içeriğinde gözlenen belirgin artış, mikrobiyal uygulamaların bitki metabolizmasını olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, Çınar ve Ünay (2021) tarafından yürütülen bir çalışmada da *Bacillus megaterium, Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas fluorescens* içeren biyogübre uygulamasının, şeker pancarında bitki başına şeker verimini anlamlı düzeyde artırdığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, Mokhtari (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada da *Bacillus lentus* ve *Pseudomonas putida* gibi fosfor çözücü biyogübrelerin, şeker pancarında hem kalite hem de verim parametrelerini olumlu yönde

etkilediği, yaprak alanı, kuru ağırlık ve şeker içeriğinde artış sağladığı rapor edilmiştir. Bu paralel bulgular, fosfor mobilizasyonu sağlayan biyogübrelerin, bitkilerde karbon metabolizması ve fotosentezle ilişkili bileşiklerin (örneğin çözünebilir şekerlerin) birikimini teşvik ederek verim potansiyelini artırabileceğini göstermektedir.

3.6.3.4.Mineral madde analizi (ICP-OES)

Bitki büyümesi ve gelişimi büyük ölçüde besin elementlerinin mevcudiyetine bağlıdır. Bu nedenle, tarım bitkilerinde daha yüksek verimlilik sağlanabilmesi için besin elementlerinin alımı, taşınması, asimilasyonu ve biyolojik etkileşimlerinin dinamiklerinin anlaşılması büyük önem taşımaktadır (Wawrzyńska ve Sirko, 2014). Toprakta doğal olarak çok sayıda element bulunsa da, günümüzde tarım bitkilerinin sağlıklı büyüme ve gelişmeleri için gerekli olan 17 elementin önemli olduğu bilinmektedir. Azot (N), Fosfor (P), Potasyum (K), Kalsiyum (Ca), Sülfür (S) ve Magnezyum (Mg) gibi elementler makro besin elementleri olarak adlandırılmakta ve bitkiler tarafından daha büyük miktarlarda ihtiyaç duyulmaktadır. Demir (Fe), Çinko (Zn), Bakır (Cu), Bor (B), Mangan (Mn), Molibden (Mo), Klor (Cl) gibi elementler ise bitki gelişimi için daha küçük miktarlarda gerekli olan mikro besin elementleri grubunda yer almaktadır (Marschner, 2012).

Yaprak örneklerinde gerçekleştirilen ICP-OES analizleriyle, farklı uygulamaların bitki dokularındaki mineral madde içerikleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Tablo 3.15'teki **makroelement konsantrasyonu verilerine** göre, kontrol grubunda kalsiyum içeriği %0,76 ± 0,06 olarak ölçülmüş; Çeltik + S2 grubunda %0,83 ± 0,06, Çeltik + K2 grubunda ise %0,85 ± 0,08 bulunmuştur. S2 ve K2 tek başına uygulandığında bu değerler sırasıyla %0,84 ± 0,07 ve %0,88 ± 0,05 olarak kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, özellikle Çeltik + bakteri uygulanan gruplarda kalsiyum içeriğinin kontrol grubuna göre bir miktar arttığını göstermektedir. İstatiksel olarak bakıldığında ise Ca düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Potasyum düzeyleri kontrol grubunda %3,10 ± 0,23 iken, diğer gruplarda %2,68–%2,94 aralığında bulunmuş; bu durum kontrol grubunda potasyum oranının bir miktar daha yüksek olduğunu göstermektedir. K verilerinde, yalnızca Kontrol grubu ile Çeltik grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, gruplar arasında K düzeyinde genel olarak anlamlı farklılık olmadığını göstermektedir. Kontrol grubunda magnezyum içeriği %0,29 ± 0,02 olarak ölçülmüş;

diğer gruplarda bu oran %0,22–%0,27 aralığında, kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Mg verilerinde, yalnızca Kontrol grubu ile Çeltik grubu; Çeltik grubu ile S2 ve K2 grupları; ayrıca S2 grubu ile Çeltik grubu ve K2 grubu ile Çeltik grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Mg düzeylerinde belirli gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir. Fosfor içeriği kontrol grubunda %0,22 ± 0,04 oranıyla en yüksek değerde bulunurken, diğer gruplarda bu oran %0,13–%0,21 aralığında ölçülmüş ve kontrol grubuna göre daha düşük düzeylerde kalmıştır. P verilerinde, Kontrol grubu ile Çeltik ve Besi yeri grupları; ayrıca Çeltik grubu ile S2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, P düzeylerinin bazı gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Kükürt içeriği ise kontrol grubunda %0,27 ± 0,01 oranıyla en yüksek bulunmuş; diğer gruplarda %0,21–%0,27 aralığında, kontrol grubuna kıyasla genellikle biraz daha düşük düzeylerde ölçülmüştür. S verilerinde, Kontrol grubu ile Çeltik grubu; ve Çeltik grubu ile S2 ve K2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, S düzeylerinin bazı gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Tablo 3.15. Çeltik yapraklarındaki makroelement konsantrasyonu (%)

Uygulama grubu	Makroelement Konsantrasyonu (%)				
	Ca (2,2-5,5)	K (2,5-3,7)	Mg (0,4-1,2)	P (0,3-0,7)	S (1-4)
Kontrol	0,76 ± 0,06^{a}	3,10 ± 0,23^{b}	0,29 ± 0,02^{b}	0,22 ± 0,04^{c}	0,27 ± 0,01^{b}
Çeltik	0,74 ± 0,09^{a}	2,68 ± 0,11^{a}	0,22 ± 0,02^{a}	0,13 ± 0,02^{a}	0,21 ± 0,01^{a}
Besi yeri	0,78 ± 0,14^{a}	2,86 ± 0,34^{ab}	0,25 ± 0,03^{ab}	0,15 ± 0,04^{ab}	0,24 ± 0,04^{ab}
Çeltik+S2	**0,83 ± 0,06^{a}**	2,93 ± 0,10^{ab}	0,25 ± 0,01^{ab}	0,16 ± 0,02^{abc}	0,23 ± 0,01^{ab}
Çeltik+K2	**0,85 ± 0,08^{a}**	2,93 ± 0,21^{ab}	0,25 ± 0,02^{ab}	0,16 ± 0,03^{abc}	0,24 ± 0,01^{ab}
S2	**0,84 ± 0,07^{a}**	2,94 ± 0,22^{ab}	0,27 ± 0,01^{b}	0,21 ± 0,03^{bc}	0,27 ± 0,02^{b}
K2	**0,88 ± 0,05^{a}**	2,80 ± 0,14^{ab}	0,26 ± 0,01^{b}	0,18 ± 0,04^{abc}	0,25 ± 0,01^{b}

Tablodaki veriler 5'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Elementlerin sınır aralıkları parantez içinde verilmiştir.

Tablo 3.16'daki **mikroelement verilerine** göre B içeriği kontrol grubunda 6,54 ± 0,60 mg/kg bulunmuş, diğer gruplarda 5,93–7,07 mg/kg aralığında değişmiştir. B düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Cu kontrol grubunda 14,73 ± 2,08 mg/kg iken, besi yeri grubunda 10,58 ± 0,53 mg/kg ve K2 grubunda 13,17 ± 2,02 mg/kg olarak ölçülmüştür. Cu verilerinde, yalnızca birkaç grup çifti arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol. grubu ile Çeltik ve Çeltik + S2 grupları; ayrıca Çeltik grubu ile S2 grubu ve Çeltik + S2 grubu ile S2 grubu arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. Diğer grup çiftleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum, Cu düzeylerinde sınırlı sayıda anlamlı gruplar arası farklılık olduğunu göstermektedir. Fe kontrol grubunda 61,44 ± 9,06 mg/kg iken, S2 (164,45 ± 65,55 mg/kg) ve K2 (157,44 ± 37,14 mg/kg) gruplarında belirgin şekilde artış göstermiştir. Fe verilerinde, bazı grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Kontrol grupbu ile S2 ve K2 grupları; Çeltik grubu ile S2 ve K2 grupları; Besi yeri grubu ile S2 ve K2 grupları; Çeltik + S2 grubu ile S2 ve K2 grupları arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. Mn kontrol

grubunda 57,19 ± 10,63 mg/kg ölçülmüş, K2 grubunda ise 59,69 ± 10,04 mg/kg ile benzer seviyelerde bulunmuştur. Mn verilerinde genel olarak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sadece Çeltik + K2. grubu ile S2 grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Mn düzeylerinde genel olarak gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığını göstermektedir. Nikel (Ni) kontrol grubunda 2,34 ± 0,83 mg/kg iken, S2 (7,02 ± 3,89 mg/kg) ve K2 (7,19 ± 1,39 mg/kg) gruplarında oldukça yüksek bulunmuştur. Ni verilerinde, Kontrol, Çeltik, Besi yeri ve Çeltik + S2 grupları ile S2 ve K2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Ni düzeylerinin bazı gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Zn kontrol grubunda 27,07 ± 6,17 mg/kg, K2 grubunda 30,68 ± 6,74 mg/kg ölçülmüş; Zn düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Mo verilerinde, Kontrol grubu ile Çeltik ve Çeltik + S2 grupları; ayrıca Çeltik grubu ile S2 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu durum, Mo düzeylerinde yalnızca belirli gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, özellikle demir, nikel ve çinko gibi elementlerin bakteriyel uygulamalar sonrası artış eğiliminde olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.16. Çeltik yapraklarındaki mikroelement konsantrasyonu (mg/kg)

Uygulama grubu	Mikroelement Konsantrasyonu (mg/kg)			
	B (35-200)	Cu (5-7)	Fe (120-335)	Mn (60-240)
Kontrol	6,54 ± 0,60^{a}	14,73 ± 2,08^{b}	61,44 ± 9,06^{a}	57,19 ± 10,63^{ab}
Çeltik	5,93 ± 1,17^{a}	10,58 ± 0,53^{a}	**89,66 ± 17,96^{abc}**	45,46 ± 5,81^{ab}
Besi yeri	6,14 ± 1,72^{a}	12,37 ± 3,13^{ab}	57,03 ± 10,31^{a}	49,32 ± 9,36^{ab}
Çeltik+S2	**7,07 ± 0,81^{a}**	10,76 ± 0,94^{a}	70,24 ± 7,58^{a}	49,15 ± 8,02^{ab}
Çeltik+K2	6,74 ± 0,78^{a}	11,72 ± 1,18^{ab}	**114,35 ± 43,48^{abc}**	44,56 ± 4,18^{a}
S2	6,05 ± 1,07^{a}	15,10 ± 2,20^{b}	**164,45 ± 65,55^{c}**	**62,13 ± 8,35^{b}**
K2	6,59 ± 1,14^{a}	13,17 ± 2,02^{ab}	157,44 ± 37,14^{bc}	59,69 ± 10,04^{ab}

Tablo 3.16 (devam) Çeltik yapraklarındaki mikroelement konsantrasyonu (mg/kg)

Uygulama grubu	Mikroelement Konsantrasyonu (mg/kg) (devam)		
	Ni (0,1-1)	Zn (20-60)	Mo (0,5-2)
Kontrol	2,34 ± 0,83[a]	27,07 ± 6,17[a]	1,39 ± 0,26[c]
Çeltik	2,70 ± 0,65[a]	23,49 ± 1,64[a]	0,88 ± 0,13[a]
Besi yeri	1,41 ± 0,26[a]	25,35 ± 3,31[a]	1,04 ± 0,34[abc]
Çeltik+S2	1,67 ± 0,25[a]	24,90 ± 4,57[a]	0,90 ± 0,12[ab]
Çeltik+K2	**5,32 ± 3,24[ab]**	23,79 ± 1,34[a]	1,11 ± 0,22[abc]
S2	**7,02 ± 3,89[b]**	**30,65 ± 5,09[a]**	1,30 ± 0,16[bc]
K2	**7,19 ± 1,39[b]**	**30,68 ± 6,74[a]**	1,25 ± 0,12[abc]

Tablodaki veriler 5'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Elementlerin sınır aralıkları parantez içinde verilmiştir. Elementlerin sınır aralıkları parantez içinde verilmiştir.

Tablo 3.17'de sunulan çeltik yapraklarındaki **esansiyel olmayan element içerikleri** değerlendirildiğinde; Al içeriği kontrol grubunda 8,59 ± 1,96 mg/kg, diğer gruplarda 4,80–12,31 mg/kg aralığında ölçülmüştür. Al verilerinde gruplar arasında yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, yalnızca bazı grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle Çeltik grubu ile Besi yeri, Çeltik + K2 ve K2 gruplar arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. Diğer grup karşılaştırmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu durum, Al düzeylerinde sınırlı sayıda gruplar arası farklılık olduğunu göstermektedir. Cr düzeyleri Kontrol grubunda 3,83 ± 2,00 mg/kg iken, S2 ve K2 gruplarında sırasıyla 24,56 ± 14,10 ve 23,61 ± 6,99 mg/kg'a yükselmiştir. Cr istatistik verilerinde, S2 ve K2 grupları birçok grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar göstermektedir ($p < 0,05$). Özellikle S2 grubu, Kontrol, Çeltik, Besi yeri ve Çeltik + S2 gruplarından; K2 grubu ise Kontrol, Çeltik, Besi yeri ve Çeltik + S2 gruplarından anlamlı şekilde farklıdır. Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark

gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Cr düzeylerinde belirgin gruplar arası farklılıklar olduğunu göstermektedir. Na içeriği Kontrol grubunda 160,77 ± 19,34 mg/kg bulunmuş, Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 gruplarında sırasıyla 258,10 ± 63,71 ve 223,14 ± 78,56 mg/kg'a artış göstermiştir. Na içeriği, Kontrol grubuna kıyasla Çeltik + S2 ve Çeltik + K2 gruplarında artış göstermiş olmakla birlikte, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Cd, Co ve Pb elementleri ise hiçbir grupta saptanmamıştır. Bu bulgular, özellikle Cr ve Na gibi bazı elementlerde bakteriyel uygulamaların etkisiyle artış eğilimi olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.17. Çeltik yapraklarındaki esansiyel olmayan elementler mg/kg

Uygulama grubu	**Esansiyel Olmayan Elementler (mg/kg)**		
	Al (0-200)	**Cd (0,1-0,4)**	**Co (0,1-2)**
Kontrol	8,59 ± 1,96^{ab}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Çeltik	**12,31 ± 6,05^{b}**	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Besi yeri	4,80 ± 1,29^{a}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Çeltik+S2	8,13 ± 1,45^{ab}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Çeltik+K2	4,87 ± 0,83^{a}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
S2	8,94 ± 2,20^{ab}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
K2	6,62 ± 0,87^{a}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Uygulama grubu	**Esansiyel Olmayan Elementler (mg/kg) (devam)**		
	Cr (0,5-3)	**Na (0-100)**	**Pb (0,1-2)**
Kontrol	3,83 ± 2,00^{a}	160,77 ± 19,34^{a}	0,00 ± 0,00
Çeltik	9,13 ± 2,67^{a}	136,29 ± 40,94^{a}	0,00 ± 0,00
Besi yeri	2,30 ± 0,39^{a}	**251,88 ± 96,08^{a}**	0,00 ± 0,00
Çeltik+S2	5,23 ± 1,32^{a}	**258,10 ± 63,71^{a}**	0,00 ± 0,00
Çeltik+K2	**14,84 ± 9,51^{ab}**	**223,14 ± 78,56^{a}**	0,00 ± 0,00
S2	**24,56 ± 14,10^{b}**	**202,86 ± 46,04^{a}**	0,00 ± 0,00
K2	**23,61** ± 6,99^{b}	**193,02** ± 36,89^{a}	0,00 ± 0,00

Tablodaki veriler 5'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Elementlerin sınır aralıkları parantez içinde verilmiştir.

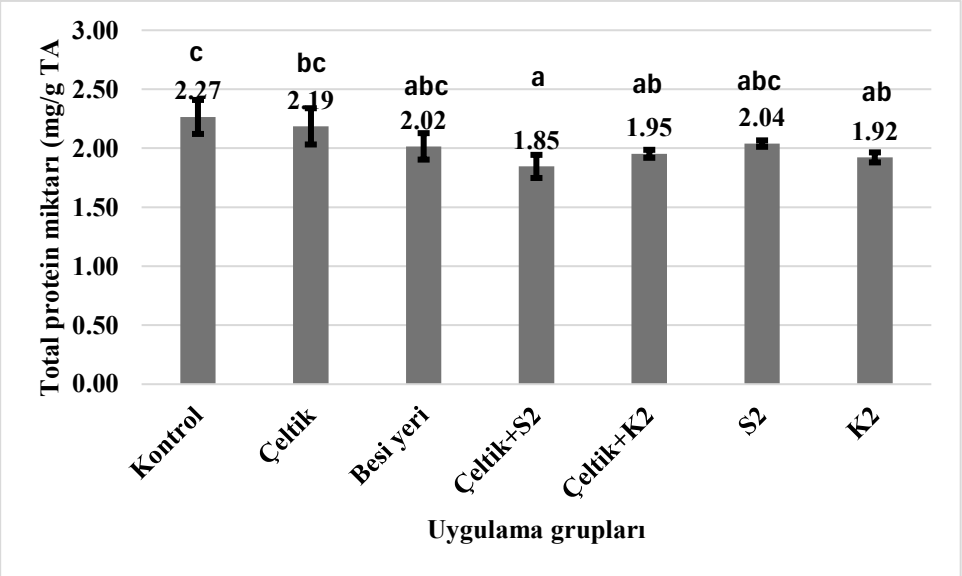
Çeltik yapraklarındaki makro, mikro ve esansiyel olmayan elementlerin konsantrasyonlarına ilişkin elde edilen ICP-MS bulguları, literatürde raporlanan verilerle karşılaştırıldığında bazı benzerliklerin yanı sıra dikkat çekici farklılıklar da ortaya koymuştur. Literatürde, biyogübre veya organik materyal uygulamalarının çeltik dokularındaki besin elementlerinin alımını artırdığı bildirilmiştir (Pico ve ark., 2022; Weinand ve ark., 2023; Sultana ve ark., 2024). Bu çalışma kapsamında elde edilen ICP-OES sonuçları da benzer şekilde, özellikle Fe, Ni ve Cr gibi bazı elementlerin bakteriyel uygulamalar sonrasında anlamlı şekilde arttığını göstermektedir. **Fe, bitkilerin klorofil sentezi ve enzimatik aktiviteleri açısından hayati öneme sahip temel mikroelementlerden biridir**. Tüm canlı organizmalar için gerekli olan bu element; fotosentez, solunum, oksijen taşınımı, oksidatif metabolizma, hücresel proliferasyon, DNA ve RNA sentezi gibi birçok yaşamsal fizyolojik süreçte rol oynamaktadır (Connorton ve ark., 2017; Kroh ve Pilon, 2020). Her ne kadar Fe, yeryüzü kabuğunda oldukça yaygın bulunsa da, çoğunlukla çözünmeyen formlarda bulunduğundan bitkiler tarafından yeterli düzeyde alınamamaktadır (Singh ve Prasanna, 2020). Yapılan ICP-OES analizlerinde, özellikle S2 (%167 artış) ve K2 (%156 artış) uygulama gruplarında, kontrol grubuna kıyasla Fe düzeylerinde anlamlı artışlar kaydedilmiştir. Bu artışlar, bitkisel biyoerişilebilirliği düşük olan Fe'nin mikrobiyal aktivite yoluyla çözünür forma dönüştürülmesiyle ilişkilendirilebilir. Nitekim, bitki gelişimini destekleyen bakterilerin toprakta bulunan ancak bitkiler tarafından doğrudan kullanılamayan demiri şelatlayıcı bileşikler (fitosideroforlar) aracılığıyla bitkiye kazandırdığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Jin ve ark, 2014; Jinal ve ark., 2019). Mevcut çalışmada gözlemlenen demir artışı, bu mekanizmanın devreye girdiğini ve mikrobiyal uygulamaların bitkide Fe alımını anlamlı ölçüde artırabildiğini ortaya koymaktadır.Benzer şekilde, Ni ve Cr düzeylerinde de bakteriyel uygulamaların etkisiyle anlamlı yükselmeler meydana gelmiştir. **Ni, bitkiler için gerekli bir mikro besin elementi olup, üre nitrojeninin (üre-N) üreaz enzimi aracılığıyla metabolize edilmesinde** ve glikoksalaz (Gly) ile glutatyon (GSH) döngüleri aracılığıyla abiyotik ve oksidatif stresin azaltılmasında önemli rol oynamaktadır (Rabinovich ve ark., 2024). Toprakta Ni bulunmasına rağmen, bitkiler bu elementi yeterince alamayabilir. Bunun nedeni, toprakta nikel ile benzer özelliklere sahip olan demir, çinko ve bakır gibi diğer iki değerlikli iyonların daha fazla bulunması ve bitkiler tarafından öncelikli olarak alınmasıdır (Shannon, 1976; Gasparatos ve

Barbayiannis, 2018). Topraktaki diğer katyonlarla (özellikle Fe, Zn ve Cu) olan rekabet, bitkiler tarafından Ni alımını sınırlayabilmektedir. Bu nedenle, Ni çoğunlukla yapraktan uygulama yoluyla ve mevcut gübreleme stratejilerine entegre edilerek verilmekte; böylece biyoyararlanım arttırılmaktadır (Hosseini ve ark., 2013; de Queiroz Barcelos ve ark., 2017; Kumar ve ark., 2018). Ancak çalışmamızda, toprak uygulaması şeklinde verilen mikrobiyal izolatların özellikle S2 ve K2 gruplarında Ni düzeylerinde anlamlı bir artış sağlaması, bu bakterilerin nikelin biyoyararlanımını artırmada etkili olabileceğini göstermektedir. Bu durum, mikrobiyal gübrelerin sadece makro besin maddeleri değil, aynı zamanda mikro elementlerin bitki tarafından alımında da önemli rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Deneme gruplarındaki bazı uygulamalarda yaprak dokusunda Cr ve Na seviyelerinin referans üstü düzeylere ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu durum, ya mevcut toprak koşullarındaki birikimin bitki tarafından alımını artırdığını ya da mikrobiyal uygulamanın element mobilitesine dolaylı etkiler yaptığını düşündürmektedir. Element fazlalığı, bitki metabolizmasında stres oluşturabilecek düzeydedir. Bununla birlikte, Ca ve Zn gibi bazı elementlerde de yükselme eğilimi olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmemiştir. Bu bulgular, mikrobiyal izolatların besin elementi alımını element türüne ve uygulama koşullarına bağlı olarak farklı düzeylerde etkileyebileceğini göstermektedir. Özellikle çeltik samanı ile birlikte uygulanan mikrobiyal izolatların, bazı makro ve mikro elementlerin alımında tek başına uygulamalara kıyasla daha etkili olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, rizosferdeki mikrobiyal aktivitenin besin çözünürlüğünü ve taşınımını artırarak bitki beslenmesini iyileştirebileceğine işaret etmektedir.

3.6.3.5.Total protein miktarı

Toplam protein miktarı, bitkilerde genel metabolik aktivite düzeyinin, büyüme performansının ve fizyolojik durumun önemli bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Çevresel stres koşulları veya uygulanan farklı muamelelerin, bitki protein sentezi ve birikimi üzerindeki etkilerini ortaya koymak amacıyla toplam protein içeriğinin belirlenmesi, bitki metabolizmasının genel durumu hakkında önemli veriler sunmaktadır (Taiz ve ark., 2015). Bu doğrultuda çalışmamızda elde edilen veriler incelendiğinde, Şekil 3.11'de sunulan çeltik yapraklarında ölçülen toplam protein miktarı kontrol grubunda 2,27 mg/g TA olarak belirlenmiştir. Diğer gruplarda bu değer 1,85–2,19 mg/g TA aralığında

olup, genel olarak kontrol grubuna kıyasla protein miktarlarının bir miktar daha düşük olduğu görülmektedir. İstatiksel analizlere göre Kontrol grubu ile Çeltik + S2, Çeltik +K2 ve K2 grupları; ayrıca Çeltik grubu ile Çeltik + S2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grup çiftlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir.



Şekil 3.11. Total protein içeriği grafiği

Şekildeki veriler 3'er tekrarlı ölçülmüştür. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde sunulmuştur. İstatiksel analizde farklı harfler (a–c), anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Literatür çalışmaları incelendiğinde; *Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens, Pseudomonas fluorescens* gibi PGPR bakterilerin ve *Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum* ve *Arthrobacter agilis* gibi fosfat çözebilen bakterilerin arpa bitkisinin tanelerinde total protein miktarlarını artırdığı belirlenmiştir (Gorski ve ark., 2023). Benzer şekilde Naher ve ark. (2016)'nın çalışmasına göre, *Bacillus* ve *Burkholderia* türü bakteri uygulamaları azot fiksasyonu, selülaz ve fosfat çözme aktiviteleri sayesinde pirinç bitkisinde protein içeriğinde artış sağlamıştır. Ayrıca Basu ve ark. (2021), Elkelish ve ark. (2021) ve Sedri ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmalarda da, PGPR bakterilerinin tahıllar da dahil olmak üzere çeşitli bitkilerde total protein içeriklerini artırdığı rapor edilmiştir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar, bakteri ve çeltik atığı uygulamalarının toplam protein içeriği üzerinde belirgin bir artış sağlamadığını, hatta bazı gruplarda hafif bir

azalma eğilimi olduğunu göstermektedir. Toplam protein miktarındaki bu hafif düşüşün, bitkilerin savunma yanıtı, enerji ve metabolik kaynakların farklı yönlere (örneğin, hücresel tamir, stres toleransı, enzim üretimi) yönlendirilmesi, ya da mikroorganizma-bitki etkileşimlerinin protein sentezi üzerindeki düzenleyici etkilerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

3.7.Araştırma Bulgularının Literatürle Karşılaştırılması

Ekolojik açıdan önemli bir **toprak düzenleyici olarak kabul edilen faydalı toprak bakterileri** veya **bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGBR)**, agroekosistemlerde on yıllardır kullanılmaktadır. Genellikle *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp. cinslerine ait olan bu bakteriler, toprak kalitesini artırmaya yönelik birçok olumlu özelliğe sahiptir (Haas ve Défago, 2005; Kalam ve ark., 2020; Khan ve ark., 2019). *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp. gibi toprak düzenleyici bakterilerin rizosferde verimliliği artırdığı en önemli mekanizma rizosferi etkin şekilde kolonize edebilmeleri ve fosfor (P), demir (Fe), azot (N) gibi temel besin elementlerini bitkiler için biyoyararlanabilir hale getirmeleridir. Ayrıca toprakta fizyolojik olarak en aktif fitohormonlardan biri olan indol-3-asetik asit (IAA) gibi faydalı fitohormonlar üretmeleri sayesinde bitki büyümesini doğrudan teşvik ettikleri gösterilmiştir (Berg ve ark., 2014; Qessaoui ve ark., 2019; Wei ve ark., 2019).

PGPR inokulantlarının izolasyonu, tanımlanması ve ticarileştirilmesi, buğday, çeltik, mısır ve soya fasulyesi gibi ticari öneme sahip birçok tarım ürününde bitki büyümesini ve sağlığını desteklemek amacıyla uzun süredir uygulanmaktadır (Etesami ve ark., 2014; Timmusk ve ark., 2017; Backer ve ark., 2018). Bugüne kadar çalışılmış filogenetik olarak farklı PGPR türleri arasında *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp., ticari biyoformülasyonların geliştirilmesinde en fazla öne çıkan cinsler olmuştur (Adesemoye ve ark., 2009; Borriss, 2011; Santoyo ve ark., 2012). Bu bakteriler, rizosferde yaygın olarak bulunan türler olup, çok sayıda büyümeyi destekleyici özelliğe sahiptirler. Aynı zamanda, çevresel nişi erken dönemde kolonize edebilen ve bu alanı kendi lehlerine değiştirebilen potansiyel öncü mikroorganizmalardır (Parret ve ark., 2003; Bottini ve ark., 2004; Humphris ve ark., 2005; Idris ve ark., 2007; Beneduzi ve ark., 2012; El-Sayed ve ark, 2014; Masciarelli ve ark., 2014; Souza ve ark., 2015; Islam ve ark., 2016; Schreiter ve ark., 2018; Ansari ve Ahmad, 2019; Qessaoui ve ark., 2019; Comeau ve ark., 2021).

Bu çalışmada kullanılan mikrobiyal inokulantlar (*Bacillus* sp. ve *Pseudomonas*/*Ectopseudomonas* sp.), çeltik atığı ile birlikte uygulandığında, bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde çeltik bitkisinin gelişimine olumlu katkılar sağlamıştır. Elde edilen veriler, çeltiğin kendi etkisinin de oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Literatürde genellikle sıvı kültürler veya ticari taşıyıcı materyaller (örneğin turba, hindistancevizi kabuğu) kullanılmakla birlikte, bu çalışmada yerel ve tarımsal bir atık olan çeltik atığının taşıyıcı olarak tercih edilmesi, uygulamanın ekonomik ve çevresel açıdan sürdürülebilirliğini artırmıştır. Ayrıca, yalnızca verim ya da azot fiksasyonu gibi sınırlı parametrelerin ötesinde; klorofil içeriği, toplam çözünür şeker, azot dengesi ve mineral madde alımı gibi çok sayıda parametrenin değerlendirilmesi, çalışmanın özgünlük ve kapsamını güçlendirmektedir. Literatürde genellikle "stres toleransı" üzerine yoğunlaşılırken, bu çalışmada düşük prolin düzeyleri bitkilerin stres altında olmadığını işaret etmekte ve mikrobiyal uygulamanın doğrudan fizyolojik gelişimi desteklediği düşünülmektedir. Stres koşullarının olmadığı ortamlarda gözlenen büyüme ve verim artışı, mikrobiyal inokulantların sadece stres azaltıcı değil, aynı zamanda doğrudan büyümeyi teşvik eden etkilerinin de olabileceğine işaret etmektedir. Bu bağlamda, çalışma kullanılan materyal ve çok boyutlu analiz sonuçları açısından literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır.

Çalışmanın bulguları, literatürde daha önce yapılmış benzer PGPR uygulamalarıyla genel olarak uyum göstermektedir. Özellikle *Azospirillum*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* türleriyle gerçekleştirilen çalışmalarda, çeltikte verim artışına ilişkin çeşitli parametrelerin olumlu yönde etkilendiği bildirilmiştir (Tablo 3.18). Ayrıca, Mthiyane ve arkadaşlarının (2024) yaptığı çalışmada, mikrobiyal gübrelerin organik gübrelerle birlikte uygulanmasının pirinçte fotosentetik verimliliği artırdığı ve besin alımını iyileştirdiği gösterilmiştir. Benzer şekilde, *Pseudomonas mosselii* PR5'in farklı uygulama yöntemleriyle hem verimi hem de çeltikte hastalık baskılamayı desteklediği raporlanmıştır. Bu tez çalışmasının farkı, mikrobiyal inokülantların çeltik atığı ile birlikte uygulanmasıdır. Böylece mikrobiyal etkinlik ve organik materyalin katkısı aynı anda değerlendirilmiş, bu da çalışmayı literatürdeki diğer çalışmalardan ayırmıştır. Bu yenilikçi yaklaşım, düşük girdi gerektiren ve çevre dostu tarım uygulamaları açısından önemli bir potansiyel sunmaktadır.

Tablo 3.18. Pirinç yetiştirilmesinde denenen biyogübreler ve etki mekanizmaları

Kullanılan Mikroorganizma	**Etki Mekanizmaları**	**Formül**	**Sağladığı Yararlar**	**Referans**
-*Azorhizobium caulinodans*	Azot fiksasyonu	-Hindistan cevizi kabuğu/Hindistan cevizi torfu ile birlikte uygulama -Çeltik samanı ile birlikte uygulama -Turba toprağına uygulama -Şeker kamışı posası ile uygulama	-*Azorhizobium* 'un pirincin köklerini ve rizosferini kolonize etmek için yerel toprak mikroflorasıyla oldukça rekabetçi olduğu kanıtlanmıştır. - Taşıyıcı materyaller arasında, turba ve hindistancevizi tozu 12 ay boyunca yüksek bakteri canlılığı sağlarken, bagas ve çeltik samanı taşıyıcılarda bakteri sayısı 3 aydan sonra ciddi azalma göstermiştir. -Doğrudan verim katkısı henüz araştırılmamıştır	Van ve ark., 2000
-*Pseudomonas* spp. -*Bacillus amyloliquefaciens* -*Bacillus subtilis*	Azot fiksasyonu	Tarlaya katı şekilde (yağmur zamanı)	-Tahıl ve saman verimi -Toplam N alımı -N yüzdesi açısından tahıl kalitesinde artış	Cong ve ark., 2009
Azosprillum sp. B510	Azot fiksasyonu IAA sentezi	Saksı ve tarla denemelerinde tohum zamanı sıvı uygulama	-Kardeşlenme sayısı -Ticari düzeyde tohum veriminde artış	Isawa ve ark., 2010
-*Stenotrophomonas maltophilia* (PM-1, PM-26 -*Bacillus fusiformis* (PM-5, PM-24) -*Pseudomonas fluorescens* (PM-13)	IAA sentezi Nitrojenaz aktivitesi	Toprağa uygulama	Verim artırıcı	Park ve ark., 2005
Azosprillum sp. B510	Azot fiksasyonu IAA sentezi	Tarlada tohum zamanı sıvı olarak uygulama	-Kardeşlenme sayısı -Sürgün uzunluğu -Çeltik rizosferindeki yararlı bakteri popülasyonlarında artış	Bao ve ark., 2013
Pseudomonas aeruginosa, *Pseudomonas putida,* *Pseudomonas cepacia* *Pseudomonas fluorescens*	-IAA sentezi -Hidrojen -Siyanür salınımı, -Siderofor üretimi -Fosfor çözünürlüğü	Toprağa uygulama	Cu, Cr, Ni ve Cd gibi ağır metallere karşı direnç gösterme	Deshwal ve Kumar, 2013

Tablo 3.18 (devam) Pirinç yetiştirilmesinde denenen biyogübreler ve etki mekanizmaları

Kullanılan Mikroorganizma	**Etki Mekanizmaları**	**Formül**	**Sağladığı Yararlar**	**Referans**
Bacillus subtilis, *Pseudomonas fluorescens* *Azospirillum brasilense*		İnorganik gübre ile konsorsiyum şeklinde	-Kimyasal azot gübre kullanımında %25 oranında bir azaltım -Çeltik verimininde olumlu etkiler	Elekhtyar, 2015
Azospirrilum spp. *Azoarcus* *Brevibacterium* *Bradyrhizobium* *Burkholderia* sp. *Diazotroph* *Herbaspirillum* *Lysinibacillus* *Pseudomonas* sp. *Rhizobium* spp. *Xylanilyticus*	-IAA sentezi -RuBisCO (Ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz) aşırı ekspresyonu -Siderofor üretimi -Nitrojenaz aktivitesi, -Fosfat çözünürlüğü -Besin alımının artması	Genelde toprağa uygulama	-Pirinç veriminde artış, -bazı proteinlerin indüklenmesiyle büyüme teşviki, -Fide canlılığının artırılması -Antibiyotik ve fungisit direncinin indüklenmesi Kkuraklık direnci -Besin alımının artırılması -Antibiyotik, tuz ve fungisit direncinin sağlanması	Kandasamy ve ark., 2009 Gopalakrishnan ve ark., 2012 Hasan ve ark., 2014 Sharma ve ark., 2014 Tan ve ark., 2015 Yuwariah ve ark., 2017
Bacillus sp. (Sb13 JQ820254, Sb26 JQ820256) *Burkholdera* sp. (Sb16 JQ820255)	-Azot fiksasyonu -Selülaz aktivitesi	Turba toprağına katı şekilde	-Kardeşlenme sayısında artış -Dane veriminde artış -Başak uzunluğunda artış -Yaprak klorofili, besin alımı, protein içeriğinde artış	Naher ve ark., 2016
Bacillus sp. (PSB9 JX103826, PSB16 JX103827)	Fosfat çözebilme			
Burkholderia thailandensi (074312.1) *Burkholderia seminalis* (025363.1) *Sphingomonaspituitosa*(042635.1)	-Azot fiksasyonu -Fosfat çözebilme	Turba toprağına katı şekilde	Pirinçte verim artırıcı	Nguyen ve ark., 2017
Bacillus amyloliquefaciens NBRI-SN13	-Abiyotik stres toleransını artırma -Stresle ilişkili gen ekspresyonlarının modülasyonu	Hidroponik sistemde	-Stres yönetimi sırasında osmo-koruma mekanizmalarının ve savunma ile ilişkili genlerin ifadesinin olumlu yönde düzenlenmesi - Hem abiyotik hem de biyotik streslerin hafifletilmesi	Tiwari ve ark., 2017

Tablo 3.18 (devam) Pirinç yetiştirilmesinde denenen biyogübreler ve etki mekanizmaları

Kullanılan Mikroorganizma	**Etki Mekanizmaları**	**Formül**	**Sağladığı Yararlar**	**Referans**
Azobacter	Azot fiksasyonu	Toprağa uygulama	-Verimde %10-35 artış -20-25 kg N/ha artış	Buddhika ve ark., 2021
Azosprillum	Azot fiksasyonu	Toprağa uygulama	Verimde %10-20 artış	Buddhika ve ark., 2021
Bacillus, PseudomonasAzospirillum	-Siderofor salgılama -Organik asit ve -Fitohormon üretimi	Toprağa uygulama	Fe, Mn ve Zn çözünürlüğünü artırma	Pico ve ark., 2022
Bacillus pumilus	Antifungal enzim üretimi	Hidroponik sistemde	Kahverengi leke hastalığının azaltılması	Weinand ve ark., 2023
Bacillus megaterium	Oksin üretimi	Hidroponik sistemde	Büyümeyi teşvik edici oksin üretimi	Weinand ve ark., 2023
Bacillus cereus MKGB, *Pseudomonas fluorescens* MKGPf *ve Azospirillum oryzae* MKGAz	Azot fiksasyonu	Toprağa uygulama	-Çimlenmede artış -Bitki boyunda artış -Kardeşlenme ve başak sayısında artış -Saman biyokütlesinde artış -Pirinç veriminde artış	Giri ve ark., 2023
Pseudomonas sp.	-Bitki büyümesini teşvik eden hormon üretimi -Fosfat çözebilme -Demir şelasyonu	Toprağa uygulama	-Bitki boyu -Kardeşlenme sayısı -Klorofil içeriği -Net fotosentez oranında belirgin artış	Mthiyane ve ark., 2024
Bacillus altitudinis LZP02	-Azot fiksasyonu -Bakteriyel kemotoksi	Toprağa uygulama	Rizosferde *Novosphingobium*, *Acidovorax*, *Sphingomonas* ve *Devosia* gibi yararlı bakterilerin uyarılması	Chang ve ark., 2024
Pseudomonas mosselii PR5	-Bitki büyümesini teşvik eden hormon üretimi -Besin alımının iyileştirilmesi - Antagonistik etki	-Fide ön işlemi -Yapraktan uygulama	- Fide ön işleminde bitki gelişiminde, verimde ve besin alımında artış - Yapraktan uygulamada birçok besin elementinin konsantrasyonunda önemli ölçüde artış -Doğal olarak gelişen çeltik yanıklığı hastalığında baskılama	Sultana ve ark., 2024

Sonuç olarak, bu çalışmada çeltik samanı ve mikrobiyal izolatların (S2 ve K2) hem tek başına hem de çeltik samanı ile birlikte uygulanmasının çeltik bitkisi üzerindeki fizyolojik ve mineral içerik parametrelerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, özellikle mikrobiyal izolatların çeltik samanı ile birlikte uygulanması durumunda, tekil uygulamalara kıyasla biyokütle artışı, toplam protein düzeylerinin korunması ve prolin birikiminin azalması gibi olumlu etkilerin daha belirgin olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Fe, Ni ve Zn gibi bazı mikroelementlerin bitki dokularında artış göstermesi, mikrobiyal uygulamaların besin alım kapasitesini artırabileceğine işaret etmektedir. Bu çalışma, literatürde yaygın olarak yer alan tekil mikrobiyal uygulamalardan farklı olarak, mikrobiyal izolatların tarımsal bir atık olan çeltik samanı ile birlikte uygulanmasının sinerjik etkilerini ortaya koymuştur. Bu yönüyle sadece mikrobiyal gübreleme değil, aynı zamanda atıkların yeniden değerlendirilmesi açısından da yenilikçi ve çevre dostu bir yaklaşım sunmaktadır. Elde edilen veriler, sürdürülebilir tarım uygulamalarında mikrobiyal ajanların organik materyallerle birlikte kullanımının değerlendirilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

4. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, lignoselülozik bir tarımsal atık olan çeltik samanının, mikrobiyal izolatlarla birlikte kullanımının toprak kalitesi ve buna bağlı olarak çeltik verimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sera koşullarında gerçekleştirilen inkübasyon deneyleri sonucunda, *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerine ait izolatların çeltik samanı ile birlikte uygulandığında toplam organik karbon, mikrobiyal biyokütle ve enzimatik aktivitelerde anlamlı artışlar sağladığı belirlenmiştir.

%98 *Bacillus velezensis/B. amyloliquefaciens* grubuna benzerlik gösterdiği BLAST analizleriyle belirlenen S2 izolatı, güçlü selülolitik ve ligninolitik kapasitesi, potansiyel azot fiksasyon yeteneği, fosfat ve potasyum çözme kabiliyeti ile dikkat çekmiştir. Ayrıca çeltik samanını parçalaması sonucu xylitol ve 1-triakontanol gibi tarımsal öneme sahip metabolitlerin sentezlemesinde rol oynama kapasitesiyle, hem bitki büyümesini teşvik edici etkilere hem de organik atıkların biyolojik dönüşümü açısından yüksek potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

%97 *Ectopseudomonas chengduensis, E. alcaliphila* ve *Pseudomonas sihuiensis* türleriyle yakınlık gösteren K2 izolatı ise kararlı lignoselülotik aktivitesi, fosfat çözme yeteneği ve arabitol gibi osmoregülasyonla ilişkili bileşik elde etmedeki performansıyla dikkat çekmiş, çevresel stres koşullarına (örn. kuraklık, tuzluluk) dayanıklılığın artırılmasında potansiyel destekleyici bir ajan olduğunu göstermiştir. Ayrıca, fosfataz ve arilsülfataz aktivitelerinde gözlenen artışlar, K2'nin rizosferdeki mikrobiyal dinamikleri olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

İnkübasyon sonrası topraklarda yapılan kimyasal ve biyolojik analizler genel olarak değerlendirildiğinde, çeltik samanı ve mikrobiyal uygulamaların toprak kalitesi üzerinde olumlu etkiler yarattığını ortaya koymuştur. Tablo 4.1'de ve 4.2'de görüldüğü üzere çeltik samanı ile S2 ve K2 izolatlarının ayrı ayrı toprakla inkübe edilmesinin ardından yapılan ölçümler sonucunda elde edilen kimyasal ve biyolojik veriler, bu uygulamaların toprak kalitesi üzerinde genel olarak olumlu etkiler yarattığını ortaya koymuştur. Uygulama sonrası gruplarda toplam organik karbon, mikrobiyal biyokütle, β-glukosidaz ve fosfataz gibi toprak sağlığının temel göstergeleri olan parametrelerde dikkat çekici artışlar gözlenmiştir. Fosfataz aktivitesinde en yüksek değerin "Çeltik + K2" grubunda gözlenmesi, K2 izolatının fosfor döngüsüne katkı sağladığını desteklemektedir.

Sadece çeltik uygulanan grupta gözlenen bazı artışlara rağmen, bu artışların mikrobiyal destekle zenginleştirilmiş gruplarda daha belirgin olması bakteriyel uygulamaların katkısını güçlendirmektedir. Ayrıca, yalnızca besi yeri ya da bakteri verilen gruplarda gözlemlenen sınırlı yanıt, bakterilerin fonksiyonlarının çeltik samanı gibi lignoselülozik materyallerle birlikte aktive olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, özellikle S2 izolatı, karbon döngüsüne katkı sağlayan enzimatik aktiviteleri ve mikrobiyal biyokütle oluşumunu teşvik etme kapasitesiyle öne çıkarken; K2 izolatı da fosfataz aktivitesini artırarak fosfor döngüsünde destekleyici bir rol üstlenmiştir. Bulgular, bu mikrobiyal uygulamaların sadece organik madde dönüşümünü değil, aynı zamanda toprak fonksiyonlarının sürdürülebilirliği açısından da önemli katkılar sunabileceğini göstermektedir.

Tablo 4.1. Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının bazı önemli toprak kimyasal parametrelerine etkisi

Parametre	**Çeltik**	**Besi yeri**	**Çeltik + S2**	**Çeltik + K2**	**S2**	**K2**
Organik Madde (OM)	**	--	***	***	--	*
K (mg/da)	***	*	****	***	-	*
Na (mg/da)	*	*	*	*	*	**
Mg (mg/da)	*	*	*	*	*	-
Fe (mg/kg)	--	*	--	--	**	**
Mn (mg/kg)	****	**	***	***	***	**
Cu (mg/kg)	*	-	-	-	-	**
Zn (mg/kg)	*	-	*	*	*	*

Kontrole göre yüzde değişimlerin etki düzeyi şu şekilde derecelendirilmiştir: %0–10 arası artışlar * ile, %10–30 arası artışlar ** ile, %30–60 arası artışlar *** ile, %60–100 arası artışlar **** ile ve %100'ün üzerindeki artışlar ***** ile gösterilmiştir. Aynı şekilde, azalışlar da – sembolleriyle ifade edilmiştir.

Tablo 4.2. Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının bazı önemli toprak biyolojik ve enzim aktiviteleri parametrelerine etkisi

Parametre	Çeltik	Besi yeri	Çeltik + S2	Çeltik + K2	S2	K2
CO_2 Solunumu	***	**	**	**	***	**
Mikrobiyal Biyokütle	*****	--	*****	*****	--	--
Organik C (%)	**	--	***	***	-	*
Corg/Cmic	-----	**	----	----	**	**
Dehidrogenaz Aktivitesi	***	*	**	**	*	-
Üreaz Aktivitesi	*****	--	***	***	---	--
Fosfataz Aktivitesi	***	*	***	****	-	**
Arilsülfataz Aktivitesi	****	--	***	***	-	-
Beta Glikosidaz Aktivitesi	***	*	****	****	*	**

Kontrole göre yüzde değişimlerin etki düzeyi şu şekilde derecelendirilmiştir: %0–10 arası artışlar * ile, %10–30 arası artışlar ** ile, %30–60 arası artışlar *** ile, %60–100 arası artışlar **** ile ve %100'ün üzerindeki artışlar ***** ile gösterilmiştir. Aynı şekilde, azalışlar da – sembolleriyle ifade edilmiştir.

Mikrobiyal uygulamaların bitki gelişimi üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, özellikle Çeltik + S2 grubunda yeşil aksam uzunluğu ile yaş ve kuru ağırlık değerlerinin, yalnızca çeltik uygulanan grup dışındaki tüm gruplara kıyasla yüksek olduğu görülmüştür. Yalnızca çeltik uygulanan grupta da kontrol grubuna göre birçok parametrede artış gözlenmiş olup, bu durum çeltik samanının erken dönemde bitki gelişimini destekleyici etkisini ortaya koymaktadır. Pigment analizlerinde ise, mikrobiyal uygulamalar ile yalnızca çeltik uygulaması arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir; bu durum pigment içeriklerinin erken dönemde bakteriyel uygulamadan bağımsız olarak çeltik kaynaklı etkilerle şekillendiğini göstermektedir. Bununla birlikte, bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde bakteriyel uygulamaların çeltiğe ilave etkiler sağladığı dikkati çekmektedir. Bakteri uygulanmış gruplarda prolin düzeylerinin düşük bulunması

bakteriyel izolatların stres azaltıcı etkisini ortaya koymaktadır. Çözünebilir şeker düzeyleri ise en yüksek olarak Çeltik + S2 ve yalnızca K2 uygulanan gruplarda ölçülmüş olup, bu durum mikrobiyal uygulamaların karbon metabolizmasını olumlu yönde etkilediğine işaret etmektedir. Ayrıca, Fe içeriği açısından Çeltik + K2, S2 ve K2 gruplarında artışlar kaydedilmiştir, bu durum bakteriyel uygulamaların bitki besin elementi alımına katkıda bulunduğunu göstermektedir. Diğer mikroelementlerde ise, kontrol grubuna göre artışlar gözlenmiştir fakat gruplar arası farklar sınırlı kalmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde, uygulamalar yalnızca çeltik bitkisinin yaklaşık 40 günlük erken vejetatif döneminde gerçekleştirilmiş olup, pigment içerikleri açısından bakteriyel katkının erken dönemde sınırlı kaldığı; ancak prolin, şeker ve Fe gibi parametrelerde mikrobiyal uygulamaların çeltiğe ilave katkılar sağladığı görülmüştür. Bu bulgular, söz konusu izolatların potansiyel biyogübre adayı olduğunu ve etkilerinin bitkinin ilerleyen gelişim dönemlerinde daha belirgin hale gelebileceğini göstermektedir.

Tablo 4.3. Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının çeltik bitkisinin gelişim ve fizyolojik parametrelerine etkisi

Parametre	**Çeltik**	**Besi yeri**	**Çeltik + S2**	**Çeltik + K2**	**S2**	**K2**
Yeşil Aksam Uzunluğu	**	-	*	*	-	-
Yaş Ağırlık	**	--	**	*	--	--
Kuru Ağırlık	***	-	**	**	--	--
Nem Oranı	-	-	-	--	-	-
NBI	**	-	**	**	-	--
Klorofil (Chl)	**	-	*	**	-	--
Prolin	----	----	----	----	-----	---
Çözünebilir Şeker	*	***	*****	***	--	*****

Kontrole göre yüzde değişimlerin etki düzeyi şu şekilde derecelendirilmiştir: %0–10 arası artışlar * ile, %10–30 arası artışlar ** ile, %30–60 arası artışlar *** ile, %60–100 arası artışlar **** ile ve %100'ün üzerindeki artışlar ***** ile gösterilmiştir. Aynı şekilde, azalışlar da – sembolleriyle ifade edilmiştir.

Tablo 4.3 (devam) Çeltik atığı ve bakteri uygulamalarının çeltik bitkisinin gelişim ve fizyolojik parametrelerine etkisi

Parametre	Çeltik	Besi yeri	Çeltik + S2	Çeltik + K2	S2	K2
Ca	-	*	*	**	**	**
Fe	***	-	**	****	*****	*****
Mn	--	--	--	--	*	*
Ni	**	---	--	*****	*****	*****
Zn	--		-	--	**	**
Cr	*****	---	***	*****	*****	*****
Al	***	--	-	---	*	--
Na	--	***	****	***	**	**

Kontrole göre yüzde değişimlerin etki düzeyi şu şekilde derecelendirilmiştir: %0–10 arası artışlar * ile, %10–30 arası artışlar ** ile, %30–60 arası artışlar *** ile, %60–100 arası artışlar **** ile ve %100'ün üzerindeki artışlar ***** ile gösterilmiştir. Aynı şekilde, azalışlar da – sembolleriyle ifade edilmiştir.

Çalışmada, çeltik samanı tek başına uygulandığında dahi kontrol grubuna kıyasla birçok toprak ve bitki parametresinde olumlu etkiler göstermiştir. Bu durum, çeltik samanının organik madde kaynağı olarak toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirme potansiyelini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bakteriyel izolatlarla birlikte uygulandığında bazı parametrelerde yalnızca çeltik uygulamasına kıyasla daha yüksek değerler elde edilmiştir. Özellikle bitki bünyesindeki makro ve mikro element artışları ile mikrobiyal biyokütle, β-glukosidaz ve fosfataz aktiviteleri gibi toprak biyolojik göstergelerinde görülen yükselmeler, bakteriyel uygulamaların çeltiğe ilave katkılar sağladığını göstermektedir.

Bu çalışma kapsamında, uygulamaların etkileri çeltiğin yaklaşık 40 günlük erken vejetatif döneminde değerlendirilmiş olup, bu dönem mikrobiyal etkilerin bitki gelişimine tam anlamıyla yansımayabileceği bir evredir. Bazı parametrelerde yalnızca çeltik uygulanan grup ile bakteri+çeltik uygulanan gruplar arasında farkların sınırlı olmasının,

bu erken dönemden kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna rağmen elde edilen veriler, kullanılan izolatların potansiyel biyogübre adayı olabileceğini ve bu potansiyelin ileriki dönemlerde, özellikle bitkinin generatif fazında veya tarla koşullarında yapılacak uzun süreli çalışmalarda daha belirgin hale gelebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, elde edilen veriler, lignin/selüloz parçalayan, fosfat, potasyum çözen ve azot fiksasyonu gerçekleştiren bu yerel kökenli mikroorganizmaların, çeltik tarımında hem atık yönetimi hem de verim artırımı amaçlı kullanılabileceğini ve kimyasal gübre ihtiyacının azaltılmasına katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Mikrobiyal gübre adaylarının bu çok yönlü özellikleri, yalnızca ürün verimini artırmakla kalmayıp, aynı zamanda karbon döngüsüne katkı, toprak organik maddesinin zenginleşmesi ve çevresel ayak izinin azaltılması gibi çok katmanlı faydalar sunmaktadır. Bu bulgular, her iki izolatın da farklı mekanizmalarla bitki gelişimine katkı sunduğunu ve çeltik atığının mikrobiyal dönüşümüyle birlikte kullanıldığında, sürdürülebilir tarım uygulamaları açısından önemli potansiyel taşıdığını göstermektedir. İlerleyen süreçte, saha uygulamaları ve formülasyon optimizasyonlarıyla desteklenecek bu bulguların, çevre dostu tarım sistemlerinin yaygınlaştırılmasına katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

Abdel-Rahman, M.A., El-Din, M.N., Refaat, B.M., Abdel-Shakour, E.H., Ewais, E.E.D. and Alrefaey, H.M. (2016) Biotechnological application of thermotolerant cellulose-decomposing bacteria in composting of rice straw. Annals of Agricultural Sciences, 61(1), pp.135-143.

Acevedo, S., Mrkaic, M., Novta, N., Pugacheva, E., Topalova, P. (2020) The effects of weather shocks on economic activity: what are the channels of impact?. Journal of Macroeconomics, 65, p.103207.

Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., Kloepper, J. W. (2009) Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial ecology*, *58*, 921-929.

Ahmad, A., Moin, S. F., Liaqat, I., Saleem, S., Muhammad, F., Mujahid, T., Zafar, U. (2023) Isolation, solubilization of inorganic phosphate, and production of organic acids by individual and co-inoculated microorganisms. *Geomicrobiology Journal*, *40*(1), 111-121.

Ahmed, M., Ahmad, S., Qadir, G., Hayat, R., Shaheen, F. A., Raza, M. A. (2019) Innovative processes and technologies for nutrient recovery from wastes: A comprehensive review. Sustainability, 11(18), 4938.

Ait Tayeb, L., Ageron, E., Grimont, F., Grimont, P. A. D. (2005) Molecular phylogeny of the genus Pseudomonas based on rpoB sequences and application for the identification of isolates. Research in Microbiology, 156(5-6), 763-773.

Alagbe, E. E., Amlabu, Y. S., Daniel, E. O., Ojewumi, M. E. (2020) Effect of varying drying temperature on the soluble sugar and nutritional content of banana. The Open Chemical Engineering Journal, 14(1).

Alagöz, Z., Yılmaz, E. And Öktüren, F. (2006) Organik Materyal İlavesinin Bazi Fiziksel Ve Kimyasal Toprak Özellikleri Üzerine Etkileri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(2), 245-254.

Ali, Q., Ayaz, M., Mu, G., Hussain, A., Yuanyuan, Q., Yu, C., Gao, X. (2022) Revealing plant growth-promoting mechanisms of Bacillus strains in elevating rice growth and its interaction with salt stress. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 994902.

Ansari, F. A., Ahmad, I. (2019) Fluorescent Pseudomonas-FAP2 and Bacillus licheniformis interact positively in biofilm mode enhancing plant growth and

photosynthetic attributes. *Scientific reports*, *9*(1), 4547.

Arora, M. and Kaur, A. (2019) Azolla pinnata, Aspergillus terreus and Eisenia fetida for enhancing agronomic value of paddy straw. Scientific Reports, 9(1), pp.1-11.

Asgher, M., Wahab, A., Bilal, M., Iqbal, H. M. (2018) Delignification of lignocellulose biomasses by alginate–chitosan immobilized laccase produced from Trametes versicolor IBL-04. *Waste and Biomass Valorization*, *9*, 2071-2079.

Aşık, B.B., Kütük, C. (2012) Çay atığı kompostunun çim alanların oluşturulmasında kullanım olanağı. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 26(2): 47-57.

Atalay, İ. (1982) Toprak Coğrafyası, Ege Üniv. Sosyal Bilimler Fakültesi Yay. No: 8, İzmir.

Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Smith, D. L. (2018) Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, *9*, 1473.

Bakki, M., Banane, B., Marhane, O., Esmaeel, Q., Hatimi, A., Barka, E. A., ... & Bouizgarne, B. (2024). Phosphate solubilizing Pseudomonas and Bacillus combined with rock phosphates promoting tomato growth and reducing bacterial canker disease. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1289466.

Bandounas, L., Pinkse, M., de Winde, J.H., Ruijssenaars, H.J. (2013) Identification of a quinone dehydrogenase from a Bacillus sp. involved in the decolourization of the lignin-model dye, Azure B. New biotechnology, 30(2), pp.196-204.

Bao, Z., Sasaki, K., Okubo, T., Ikeda, S., Anda, M., Hanzawa, E., Minamisawa, K. (2013) Impact of Azospirillum sp. B510 inoculation on rice-associated bacterial communities in a paddy field. *Microbes and environments*, *28*(4), 487-490.

Bari, Q.H., Koenig, A. (2001) Effect of air recirculation and reuse on composting of organic solid waste. Resources Conservation and Recyling, 33(2): 91-111.

Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, *13*(3), 1140.

Başçetinçelik, A., Öztürk, H.H., Kaya, D., Kaçira K., Ekinci, K., Karaca, C. (2006) Türkiye'de biyokütle enerjsi kullanımını geliştirme olanakları. VI. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu, 25-26 Mayıs, Isparta.

Bates, L. S., Waldren, R. P. A., Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39, 205-207.

Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, *35*, 1044-1051.

Berg, G., Grube, M., Schloter, M., and Smalla, K. (2014) Unraveling the plant microbiome: looking back and future

Bilen, S. (2014) Mikrobiyal Gübrede Toprak Özellikleri ve Çevre Şartları. Mikrobiyal Gübre Çalıştayı. 95-102. Ankara.

Boddey, R. M., De Oliveira, O. C., Urquiaga, S., Reis, V. M., De Olivares, F. L., Baldani, V. L. D., Döbereiner, J. (1995) Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: contributions and prospects for improvement. In *Management of Biological Nitrogen Fixation for the Development of More Productive and Sustainable Agricultural Systems: Extended versions of papers presented at the Symposium on Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture at the 15th Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 1994* (pp. 195-209). Springer Netherlands.

Boraste, A., Vamsi, K. K., Jhadav, A., Khairnar, Y., Gupta, N., Trivedi, S., Joshi, B. (2009) Biofertilizers: A novel tool for agriculture. International Journal of Microbiology Research, 1(2), 23.

Borriss, R. (2011) Use of plant-associated Bacillus strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. *Bacteria in agrobiology: Plant growth responses*, 41-76.

Bottini, R., Cassán, F., Piccoli, P. (2004) Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied microbiology and biotechnology*, *65*, 497-503.

Bouizgarne, B. (2012). Bacteria for plant growth promotion and disease management. In *Bacteria in agrobiology: disease management* (pp. 15-47). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Bouizgarne, B. (2022). Phosphate-solubilizing actinomycetes as biofertilizers and biopesticides: bioformulations for sustainable agriculture. In *Microbial BioTechnology for Sustainable Agriculture Volume 1* (pp. 407-428). Singapore: Springer Nature Singapore.

Bouizgarne, B., Bakki, M., Boutasknit, A., Banane, B., El Ouarrat, H., Ait El Maalem,

S., Meddich, A. (2023) Phosphate and potash solubilizing bacteria from Moroccan phosphate mine showing antagonism to bacterial canker agent and inducing effective tomato growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 970382.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1-2), 248-254.

Bubna, G. A., Lima, R. B., Zanardo, D. Y. L., Dos Santos, W. D., Ferrarese, M. D. L. L., Ferrarese-Filho, O. (2011) Exogenous caffeic acid inhibits the growth and enhances the lignification of the roots of soybean (Glycine max). Journal of Plant Physiology, 168(14), 1627-1633.

Buddhika, U. V. A., Abeysinghe, S. (2021) Secondary metabolites from microbes for plant disease management. *Emerging Trends in Plant Pathology*, 331-342.

Cai, Z., Wang, Y., You, Y., Yang, N., Lu, S., Xue, J., Zhao, L. (2024) Introduction of cellulolytic bacterium Bacillus velezensis Z2. 6 and its cellulase production optimization. Microorganisms, 12(5), 979.

Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J. W. (2014) Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and soil, 383, 3-41.

Candemir, F. and Gülser, C. (2007) Changes in some chemical and physical properties of a sandy clay loam soil during the decomposition of hazelnut husk. Asian Journal of Chemistry, 3: 2452-2460.

Chaiharn, M., Lumyong, S. (2009) Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. World Journal of Microbiology and biotechnology, 25, 305-314.

Chang, W., Chen, W., Hu, Y., Wang, Z. (2024) Bacillus altitudinis LZP02 improves rice growth by reshaping the rhizosphere microbiome. *Plant and Soil*, *498*(1), 279-294.

Chaturvedi, S., Upreti, D.K., Tandon, D.K., Sharma, A., Dixit, A. (2008) Biowaste from tobacco industry as tailored organic fertilizer for improving yields and nutritional values of tomato crop. Journal of Environmental Biology, 29(5): 759-763.

Chen, H. (2014) Biotechnology of lignocellulose. Theory and Practice. China: Chemical Industry Press and Springer.

Chi, F., Shen, S. H., Cheng, H. P., Jing, Y. X., Yanni, Y. G., Dazzo, F. B. (2005) Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and

assessment of benefits to rice growth physiology. *Applied and environmental microbiology*, *71*(11), 7271-7278.

Choi, J. H., Moon, K. H., Ryu, Y. W., & Seo, J. H. (2000) Production of xylitol in cell recycle fermentations of Candida tropicalis. Biotechnology Letters, 22, 1625-1628.

Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., Ismail, N. (2021) A review on bacterial contribution to lignocellulose breakdown into useful bio-products. International journal of environmental research and public health, 18(11), 6001.

Comeau, D., Balthazar, C., Novinscak, A., Bouhamdani, N., Joly, D. L., Filion, M. (2021) Interactions between Bacillus spp., Pseudomonas spp. and Cannabis sativa promote plant growth. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 715758.

Cong, P. T., Dung, T. D., Hien, T. M., Hien, N. T., Choudhury, A. T., Kecskes, M. L., Kennedy, I. R. (2009) Inoculant plant growth-promoting microorganisms enhance utilisation of urea-N and grain yield of paddy rice in southern Vietnam. *european journal of soil biology*, *45*(1), 52-61.

Connorton, J. M., Balk, J.,Rodríguez-Celma, J (2017). Iron homeostasis in plants–a brief overview. *Metallomics*, *9*(7), 813-823.

Cui, X., Guo, L., Li, C., Liu, M., Wu, G., Jiang, G. (2021) The total biomass nitrogen reservoir and its potential of replacing chemical fertilizers in China. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 135, 110215.

Çerçioğlu, M. (2019) Sürdürülebilir atık yönetiminde sera atıklarının kompost olarak değerlendirilmesi. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(1), pp.167-178.

Çınar, V. M., Ünay, A. (2021) The effects of some biofertilizers on yield, chlorophyll index and sugar content in sugar beet (Beta vulgaris var. saccharifera L.). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *58*(2), 163-170.

Daniel, A. I., Fadaka, A. O., Gokul, A., Bakare, O. O., Aina, O., Fisher, S., Burt, A. F., Mavumengwana, V., Keyster, M., Klein, A. (2022) Biofertilizer: the future of food security and food safety. Microorganisms, 10(6), 1220.

Dash, N. P., Kaushik, M. S., Kumar, A., Abrahaffi, G., Singh, P. K. (2018) Toxicity of biocides to native cyanobacteria at different rice crop stages in wetland paddy field. Journal of applied phycology, 30, 483-493.

Dash, N. P., Kumar, A., Kaushik, M. S., Abraham, G., Singh, P. K. (2017b) Nitrogenous agrochemicals inhibiting native diazotrophic cyanobacterial contribution in wetland rice

ecosystem. Journal of Applied Phycology, 29, 929-939.

Dash,N. P., Kumat, A., Kaushik, M. S., Abraham, G., Singh, P. K. (2017a) Agrochemicals influencing nitrogenase, biomass of N2-fixing cyanobacteria and yield of rice in wetland cultivation. Biocatalvsis and Agricultural Biotechnology, 9, 2g-34.

De la Luz Mora, M., Cartes, P., Núñez, P., Salazar, M., Demanet, R. (2007) Movement of NO3N and NH4+-N in an Andisol and its influence on ryegrass production in a short term study. J. Soil Sci. Plant. Nutr, 7, 46-63.

de Queiroz Barcelos, J. P., de Souza Osório, C. R. W., Leal, A. J. F., Alves, C. Z., Santos, E. F., Reis, H. P. G., dos Reis, A. R. (2017) Effects of foliar nickel (Ni) application on mineral nutrition status, urease activity and physiological quality of soybean seeds. *Australian Journal of Crop Science*, *11*(2), 184-192.

Dekkers, B. J., Schuurmans, J. A., Smeekens, S. C. (2004) Glucose delays seed germination in Arabidopsis thaliana. Planta, 218, 579-588.

Demiralay, İ. (1993) Toprak fiziksel analizleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 143, pp.13-19.

Deshwal, V. K., Kumar, P. (2013) Plant growth promoting activity of Pseudomonads in Rice crop. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 2(11), 152-157.

Dixon, R., Kahn, D. (2004) Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nature Reviews Microbiology*, *2*(8), 621-631.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, 28(3), 350-356.

El Sheikh, M.A., Eltilib, A.M.A., El Sheikh, E.A.E. (2005) A note on the effect of Phospate Rock, Triple super phospate, Bradyrhizobium and their combinations on the available soil phosporous in Shambat clay soil. Journal of Agricultural Sciences. University of Khartoum, (13)3: 488-492.

Elekhtyar, N. M. (2015) Efficiency of Pseudomonas fluorescens as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of seedling vigor, nitrogen uptake, yield and its attributes of rice (Oryza sativa L.). Int. J. Sci. Res. Agric. Sci, 2, 57-67

Elkelish, A., El-Mogy, M. M., Niedbała, G., Piekutowska, M., Atia, M. A., Hamada, M. M.,Ibrahim, M. F. (2021) Roles of exogenous α-lipoic acid and cysteine in mitigation of drought stress and restoration of grain quality in wheat. *Plants*, *10*(11), 2318.

El-Sawah, A. M., El-Keblawy, A., Ali, D. F. I., Ibrahim, H. M., El-Sheikh, M. A., Sharma, A., Sheteiwy, M. S. (2021) Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria enhance soil key enzymes, plant growth, seed yield, and qualitative attributes of guar. *Agriculture*, *11*(3), 194.

El-Sayed, W. S., Akhkha, A., El-Naggar, M. Y., Elbadry, M. (2014) In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with wild plants grown in arid soil. *Frontiers in microbiology*, *5*, 651.

Ergene, A. (1997) Toprak Biliminin Esasları. Yayın No:0027, Konya.

Eriksen, J. (2005) Gross sulphur mineralisation–immobilisation turnover in soil amended with plant residues. Soil Biology and Biochemistry, 37(12): 2216-2224.

Etesami, H., Mirseyed Hosseini, H., Alikhani, H. A. (2014) Bacterial biosynthesis of 1-aminocyclopropane-1-caboxylate (ACC) deaminase, a useful trait to elongation and endophytic colonization of the roots of rice under constant flooded conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *20*, 425-434.

European Commission. (2015, December 2). Commission adopts ambitious new Circular Economy Package containing waste proposals and comprehensive action plan. Press release. https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_15_6203

European Parliament and Council of the European Union. (2019). Regulation (EU) 2019/1009 of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003. Official Journal of the European Union. http://data.europa.eu/eli/reg/2019/1009/oj

Ezeilo, U. R., Zakaria, I. I., Huyop, F., Wahab, R. A. (2017) Enzymatic breakdown of lignocellulosic biomass: the role of glycosyl hydrolases and lytic polysaccharide monooxygenases. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 31(4), 647-662.

FAO 2002. Global IPM facility available. http://faostat.fao.org/

FAO 2006 Plant nutrition for food security. A guide for integrated nutrient management. FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin, Rome

Farrar, K., Bryant, D., Cope-Selby, N. (2014) Understanding and engineering beneficial plant–microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. *Plant biotechnology journal*, *12*(9), 1193-1206.

Fiske, C. H., Subbarow, Y. (1925) The colorimetric determination of phosphorus. J. biol. Chem, 66(2), 375-400.

Franche, C., Lindström, K., Elmerich, C. (2009) Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants.

Garcha, S., Samredhi (2024) Biofertilizers: An Imminent Approach for Sustainable Agriculture. In Metabolomics, Proteomics and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry, Volume II, Singapore: Springer Nature Singapore.1-14.

Gasparatos, D., Barbayiannis, N. (2018) The origin of nickel in soils. In Nickel in Soils and Plants (pp. 105-128). CRC Press.

Gelman, R.A. (1982) Characterization of carboxymethylcellulose: distribution of substituent groups along the chain. Journal of Applied Polymer Science, 27(8), pp.2957-2964.

Ghose, T. K. (1987) Measurement of cellulase activities. Pure and applied Chemistry, 59(2), 257-268.

Gibson S.I. (2005) Control of plant development and gene expression by sugar signaling. Curr Opin in Plant Biol 8:93–102

Gill, P. K., Sharma, A. D., Singh, P., Bhullar, S. S. (2003) Changes in germination, growth and soluble sugar contents of Sorghum bicolor (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. Plant growth regulation, 40, 157-162.

Giri, K., Mishra, G., Suyal, D. C., Kumar, N., Doley, B., Das, N., Bora, N. (2023) Performance evaluation of native plant growth-promoting rhizobacteria for paddy yield enhancement in the jhum fields of Mokokchung, Nagaland, North East India. Heliyon, 9(3).

Golterman, H.L., Bruijn, P., Schouffoer, J.G.M. (1998) Urea fertilization and the N-cycle of rice-fields in the Camargue (S. France). Hydrobiologia 384, 7–20.

Gopalakrishnan, S., Upadhyaya, H. D., Vadlamudi, S., (2012) Plant growth-promoting traitsof biocontrol potential bacteria isolated from rice rhizosphere. Springerplus, 1, 71.

Gorski, P., Plaza, A., Niewiadomska, A., Gluchowska, K., Rosa, R. (2023) Effect of plant growth-promoting bacteria and undersown crops on the total protein content of spring barley grain grown in organic agriculture. *Journal of Elementology*, *28*(4).

Govers, G., Merckx, R., Van Oost, K., van Wesemael, B. (2012) September. Soil organic carbon management for global benefits: a discussion paper. In Workshop on Soil Organic

Carbon Benefits: A Scoping Study (pp. 10-12).

Granja-Travez, R. S., Bugg, T. D. (2018) Characterization of multicopper oxidase CopA from Pseudomonas putida KT2440 and Pseudomonas fluorescens Pf-5: involvement in bacterial lignin oxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *660*, 97-107.

Guo, X.X., Liu, H.T., Wu, S.B. (2019) Humic substances developed during organic waste composting: Formation mechanisms, structural properties, and agronomic functions. Science of the total environment, 662, pp.501-510.

Gupta, G., Panwar, J., Akhtar, M.S. and Jha, P.N. (2012) Endophytic nitrogen-fixing bacteria as biofertilizer. In Sustainable agriculture reviews (pp. 183-221). Springer, Dordrecht.

Günal, H., Önen, H, Özgöz, E., Erdem, H., Acir, N. (2015) Toprak Kalitesi. Toprak Kalitesi Bilgi Notları. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tokat.

Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L. J., Poole, P. S. (2002) Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and soil*, *245*, 83-93.

Haas, D., Défago, G. (2005) Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature reviews microbiology*, *3*(4), 307-319.

Habibi, S., Djedidi, S., Ohkama-Ohtsu, N., Sarhadi, W. A., Kojima, K., Rallos, R. V., Yokoyama, T. (2019) Isolation and screening of indigenous plant growth-promoting rhizobacteria from different rice cultivars in Afghanistan soils. Microbes and environments, 34(4), 347-355.

Ham, B. K., Chen, J., Yan, Y., Lucas, W. J. (2018) Insights into plant phosphate sensing and signaling. *Current Opinion in Biotechnology*, *49*, 1-9.

Haque, S., Singh, R., Pal, D. B., Harakeh, S., Alghanmi, M., Teklemariam, A. D., Gupta, V. K. (2022) Recent Update on anaerobic digestion of paddy straw for biogas production: Advancement, limitation and recommendations. Environmental Research, 215, 114292.

Harahap, B. M. (2020) Degradation techniques of hemicellulose fraction from biomass feedstock for optimum xylose production: a review. Journal of Tropical Agricultural Engineering and Biosystems-Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem, 8(2), 107-124.

Harindintwali, J.D., Zhou, J., Yu, X. (2020) Lignocellulosic crop residue composting by cellulolytic nitrogen-fixing bacteria: a novel tool for environmental sustainability. Science of the Total Environment, 715, p.136912.

Hasan, M., Bano, A., Hassan, S. G., (2014) Enhancement of rice growth and pro-duction of growth-promoting phytohormones by inoculation with Rhizobium and otherRhizobacteria. World Applied Sciences Journal, 31, 1734–1743.

Hassan, S. E. D. (2017) Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of Teucrium polium L. *Journal of advanced research*, *8*(6), 687-695.

Haygarth, P. M., Bardgett, R. D., Condron, L. M. (2013) Nitrogen and phosphorus cycles and their management. Soil conditions and plant growth, 132-159.

Hazra, A., Dasgupta, N., Sengupta, C., Das, S. (2019) MIPS: Functional dynamics in evolutionary pathways of plant kingdom. Genomics, 111(6), 1929-1945.

Hosseini, H., Khoshgoftarmanesh, A. H. (2013) The effect of foliar application of nickel in the mineral form and urea-Ni complex on fresh weight and nitrogen metabolism of lettuce. Scientia Horticulturae, 164, 178-182.

Humphris, S. N., Bengough, A. G., Griffiths, B. S., Kilham, K., Rodger, S., Stubbs, V., Young, I. M. (2005) Root cap influences root colonisation by Pseudomonas fluorescens SBW25 on maize. *FEMS microbiology ecology*, *54*(1), 123-130.

Hurek, T., Reinhold-Hurek, B., Van Montagu, M., Kellenberger, E. (1994) Root colonization and systemic spreading of Azoarcus sp. strain BH72 in grasses. *Journal of bacteriology*, *176*(7), 1913-1923.

Huynh, T., Vörös, M., Kedves, O., Turbat, A., Sipos, G., Leitgeb, B., Szekeres, A. (2022). Discrimination between the two closely related species of the operational group B. amyloliquefaciens based on whole-cell fatty acid profiling. Microorganisms, 10(2), 418.

Idris, E. E., Iglesias, D. J., Talon, M., Borriss, R. (2007) Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by Bacillus amyloliquefaciens FZB42. *Molecular plant-microbe interactions*, *20*(6), 619-626.

Insights, F.B., 2021. Market research report. Fortune Business Insights, pp.2021-2028.

Iram, A., Berenjian, A., Demirci, A. (2021) A review on the utilization of lignin as a fermentation substrate to produce lignin-modifying enzymes and other value-added products. Molecules, 26(10), 2960.

Isawa, T., Yasuda, M., Awazaki, H., Minamisawa, K., Shinozaki, S., Nakashita, H. (2010). Azospirillum sp. strain B510 enhances rice growth and yield. *Microbes and*

environments, *25*(1), 58-61.

Islam, S., Akanda, A. M., Prova, A., Islam, M. T., Hossain, M. M. (2016) Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect on plant growth promotion and disease suppression. *Frontiers in microbiology*, *6*, 1360.

Jawad, M. M., Al-Shahwany, A. W., Khudhair, S. H. (2015) Effect of Bio-chemical Fertilizer on Proline Accumulation, Catalase and Peroxidase Enzymes Activity in Leaves of Two Wheat Cultivars (Ipa99 and Rabyaa) Under Water Deficit Stress. *Iraqi Journal of Science*, 1350-1358.

Jayakumar, M., Thiyagar, T., Abo, L. D., Arumugasamy, S. K., Jabesa, A. (2024) Paddy straw as a biomass feedstock for the manufacturing of bioethanol using acid hydrolysis and parametric optimization through response surface methodology and an artificial neural network. Biomass Conversion and Biorefinery, 1-23.

Jensen, H.L., 1951, April. Notes on the biology of Azotobacter. In Proceedings of the Society for Applied Bacteriology (Vol. 14, No. 1, pp. 89-94). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

Jin, C. W., Ye, Y. Q.,Zheng, S. J. (2014) An underground tale: contribution of microbial activity to plant iron acquisition via ecological processes. Annals of Botany, 113(1), 7-18.

Jinal, H. N., Gopi, K., Prittesh, P., Kartik, V. P., Amaresan, N. (2019) Phytoextraction of iron from contaminated soils by inoculation of iron-tolerant plant growth-promoting bacteria in Brassica juncea L. Czern. Environmental Science and Pollution Research, 26, 32815-32823.

Joshi, N., Choudhary, L., Sharma, K. P., Iqbal, H. M. (2021) Plant growth potential of salt tolerant endophyte Pseudomonas sihuiensis isolated from chickpea.. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 231 – 238

Joye, I. J. (2019).Acids and bases in food, 1-9.

Jupp, A. R., Beijer, S., Narain, G. C., Schipper, W., Slootweg, J. C. (2021) Phosphorus recovery and recycling- closing the loop. Chem. Soc. Rev. 50, 87–101.

Kalam, S., Basu, A., Podile, A. R. (2020) Functional and molecular characterization of plant growth promoting Bacillus isolates from tomato rhizosphere. *Heliyon*, *6*(8).

Kandasamy, S., Loganathan, K., Muthuraj, R.,(2009) Understanding the molecular basis

ofplant growth promotional effect of Pseudomonas fluorescens on rice through protein profiling.Proteome Science, 7, 47

Karaman, S. (2006) Hayvansal üretimden kaynaklanan çevre sorunları ve çözüm olanakları. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2), pp.133-139.

Kaur, D., Bhardwaj, N. K., Lohchab, R. K. (2017) Prospects of rice straw as a raw material for paper making. Waste Management, 60, 127-139.

Kaushal, M., Wani, S.P. (2016) Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. Annals of Microbiology, 66(1), pp.35-42.

Khajeeyan, R., Salehi, A., Dehnavi, M. M., Farajee, H., Kohanmoo, M. A. (2019) Physiological and yield responses of Aloe vera plant to biofertilizers under different irrigation regimes. *Agricultural Water Management*, *225*, 105768.

Khan, N., Bano, A., Babar, M. A. (2019) The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil. *Archives of microbiology*, *201*(6), 769-785.

Khosravi, F., Khaleghi, M., Naghavi, H. (2022) Screening and identification of cellulose-degrading bacteria from soil and leaves at Kerman province, Iran. *Archives of Microbiology*, *204*, 1-9.

Kırımhan, S. (2005) Organik Tarım Sistemleri ve Çevre. Çevre Yönetimi Dizisi No: 2. ISBN 975-00284-0-6. Ankara

Kim, D., Kim, H. W., Lee, H. (2024) Kraft Lignin Decomposition by Forest Soil Bacterium Pseudomonas kribbensis CHA-19. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *34*(9), 1867.

Kirchhof, G., Baldani, J. I., Reis, V. M., Hartmann, A. (1998) Molecular assay to identify Acetobacter diazotrophicus and detect its occurrence in plant tissues. *Canadian Journal of Microbiology*, *44*(1), 12-19.

Köhler, F.E., Pabst, G., Vogtherr, M. (1887) Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte: Atlas zur Pharmacopoea germanica, austriaca, belgica, danica, helvetica, hungarica, rossica, suecica, Neerlandica, British pharmacopoeia, zum Codex medicamentarius, sowie zur Pharmacopoeia of the United States of America (Vol. 1). FE Köhler.

Kroh, G. E.,Pilon, M. (2020) Regulation of iron homeostasis and use in

chloroplasts. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(9), 3395.

Kumar, K., Gupta, S.C., Baidoo, S.K., Chander, Y., Rosen, C.J. (2005) Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. Journal of Environmental Quality, 34(6), pp.2082-2085.

Kumar, K., Singh, E., Shrivastava, S. (2022) Microbial xylitol production. Applied Microbiology and Biotechnology, 106(3), 971-979.

Kumar, O., Singh, S. K., Latare, A. M., Yadav, S. N. (2018) Foliar fertilization of nickel affects growth, yield component and micronutrient status of barley (Hordeum vulgare L.) grown on low nickel soil. Archives of Agronomy and Soil Science, 64(10), 1407-1418.

Lamba S., Gill R.S. (2024) Microbial decomposer for crop residue management in rice–wheat cropping system. Letters in Applied Microbiology, 77:ovae106.

Latt, Z.K., San S, Y., Kyaw, E.P., Lynn, T.M., Nwe, M.T., Mon, W.W., Aye, K.N. (2018) Using Cellulolytic Nitrogen Fixing Bacterium, Azomonas agilis for effective degradation of agricultural residues. The Open Microbiology Journal, 12, p.154.

Li, H., Qiu, Y., Yao, T., Ma, Y., Zhang, H., & Yang, X. (2020). Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of Avena sativa, Medicago sativa, and Cucumis sativus seedlings. *Soil and Tillage Research*, *199*, 104577.

Liang, Y., Si, J., Nikolic, M., Peng, Y., Chen, W. and Jiang, Y. (2005) Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. Soil Biology and biochemistry, 37(6), pp.1185-1195.

Lim, S.L., Lee, L.H., Wu, T.Y. (2016) Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. Journal of Cleaner Production, 111, pp.262-278.

Lisdiyanti, P., Suyanto, E., Gusmawati, N.F., Rahayu, W. (2012) Isolation and characterization of cellulase produced by cellulolytic bacteria from peat soil of Ogan Komering Ilir, South Sumatera. International journal of environment and bioenergy, 3(3), pp.145-153.

Lisuma, J. B., Zuberi, Z., Ndakidemi, P. A., Mbega, E. R. (2020) Linking rhizosphere bacterial diversity and soil fertility in tobacco plants under different soil types and cropping pattern in Tanzania: A pilot study. *Heliyon*, *6*(7).

Liu, Y., Evans, S. E., Friesen, M. L., & Tiemann, L. K. (2022). Root exudates shift how

N mineralization and N fixation contribute to the plant-available N supply in low fertility soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *165*, 108541.

Liu, Y., Pan, X., Li, J. (2015) Current agricultural practices threaten future global food production. Journal of Agricultural and Environmental Ethics, 28, 203-216.

Lo Cascio, M., Morillas, L., Ochoa-Hueso, R., Delgado-Baquerizo, M., Munzi, S., Roales, J., Spano, D., Cruz, C., Gallardo, A., Manrique, E., Mereu,, S. (2021) Nitrogen deposition effects on soil properties, microbial abundance, and litter decomposition across three shrublands ecosystems from the Mediterranean Basin. Frontiers in Environmental Science, 9, 709391.

López, M. G., Irla, M., Brito, L. F., Wendisch, V. F. (2019) Characterization of D-arabitol as newly discovered carbon source of Bacillus methanolicus. Frontiers in Microbiology, 10, 1725.

Lu, Q., Zhao, Y., Gao, X., Wu, J., Zhou, H., Tang, P., Wei, Z. (2018) Effect of tricarboxylic acid cycle regulator on carbon retention and organic component transformation during food waste composting. Bioresource technology, 256, 128-136.

Ma, D., Chen, H., Liu, D., Feng, C., Hua, Y., Gu, T.,Zhang, K. (2024) Soil-derived cellulose-degrading bacteria: screening, identification, the optimization of fermentation conditions, and their whole genome sequencing. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1409697.

Malgas, S., Thoresen, M., van Dyk, J. S., Pletschke, B. I. (2017) Time dependence of enzyme synergism during the degradation of model and natural lignocellulosic substrates. Enzyme and Microbial Technology, 103, 1-11.

Malusá, E., Vassilev, N. (2014) A contribution to set a legal framework for biofertilisers. Applied microbiology and biotechnology, 98, 6599-6607.

Marschner, H. (2012) Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press.

Masciarelli, O., Llanes, A., Luna, V. (2014) A new PGPR co-inoculated with Bradyrhizobium japonicum enhances soybean nodulation. *Microbiological research*, *169*(7-8), 609-615.

Mclaughlin, A., Mineau, P. (1995) The impact of agricultural practices on biodiversity. Agriculture, Ecosystems & Environment, 55(3), 201 -212.

Meena, M., Divyanshu, K., Kumar, S., Swapnil, P., Zehra, A., Shukla, V., Upadhyay, R. S. (2019) Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental

conditions. *Heliyon*, *5*(12).

Mei, J., Shen, X., Gang, L., Xu, H., Wu, F., Sheng, L. (2020) A novel lignin degradation bacteria-Bacillus amyloliquefaciens SL-7 used to degrade straw lignin efficiently. Bioresource Technology, 310, 123445.

Mendoza, A. B. (2002) Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Buenavista, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Miranda, A. M., Hernandez-Tenorio, F., Villalta, F., Vargas, G. J., Sáez, A. A. (2024) Advances in the Development of Biofertilizers and Biostimulants from Microalgae. Biology, 13(3), 199.

Mitchell, H. (Ed.). (2008). Sweeteners and sugar alternatives in food technology. John Wiley & Sons.

Mokhtarı, N. E. P. (2020) Effects of bio-fertilizers (Bacillus lentus–Pseudomonas putida) and different rates of Triple Superphosphate fertilizers on some attributes of sugar beet (Beta Vulgaris L.). *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, *4*(3), 278-286.

Monteiro, R. A., Balsanelli, E., Wassem, R., Marin, A. M., Brusamarello-Santos, L. C., Schmidt, M. A., Souza, E. M. (2012) Herbaspirillum-plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects. *Plant and Soil*, *356*, 175-196.

Mthiyane, P., Aycan, M., Mitsui, T. (2024) Integrating Biofertilizers with Organic Fertilizers Enhances Photosynthetic Efficiency and Upregulates Chlorophyll-Related Gene Expression in Rice. *Sustainability*, *16*(21), 9297.

Mulumba, L.N., Lal, R. (2008) Mulching effects on selected soil physical properties. Soil and Tillage Research, 98(1), pp.106-111.

Naeem, M., Khan, M. M. A., Moinuddin. (2012) Triacontanol: a potent plant growth regulator in agriculture. Journal of Plant Interactions, 7(2), 129-142.

Naher, U. A., Panhwar, Q. A., Othman, R., Ismail, M. R., Berahim, Z. (2016) Biofertilizer as a supplement of chemical fertilizer for yield maximization of rice. *Journal of Agriculture Food and Development*, *2*(0), 16-22.

Naher, U. A., Panhwar, Q. A., Othman, R., Shamshuddin, J., Ismail, M. R., Zhou, E. (2018). Proteomic study on growth promotion of PGPR inoculated aerobic rice (Oryza sativa L.) cultivar MR219-9. *Pak. J. Bot*, *50*(5), 1843-1852.

Nakashima, K., Satoh, R., Kiyosue, T., Yamaguchi-Shinozaki, K.,Shinozaki, K. (1998)

A gene encoding proline dehydrogenase is not only induced by proline and hypoosmolarity, but is also developmentally regulated in the reproductive organs of Arabidopsis. *Plant Physiology*, *118*(4), 1233-1241.

National Institute of Standards and Technology (NIST). NIST Chemistry WebBook. Available from: https://webbook.nist.gov/ [erişim: Haziran 28 2025].

Newton, W. E. (2000) Nitrogen fixation in perspective. In *Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity* (pp. 3-8). Dordrecht: Springer Netherlands.

Nguyen, T. H., Phan, T. C., Choudhury, A. T., Rose, M. T., Deaker, R. J.,Kennedy, I. R. (2017) Biogro: A plant growth-promoting biofertilizer validated by 15 years' research from laboratory selection to rice farmer's fields of the mekong delta. *Agro-Environmental Sustainability: Volume 1: Managing Crop Health*, 237-254.

Nosheen, S., Ajmal, I., Song, Y. (2021) Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. Sustainability, 13(4), 1868.

Oh, D. K., Kim, S. Y. (1998) Increase of xylitol yield by feeding xylose and glucose in Candida tropicalis. Applied microbiology and biotechnology, 50, 419-425.

Okur, N., Kayıkçıoğlu, H.H., Okur, B. and Delibacak, S. (2008) Organic amendment based on tobacco waste compost and farmyard manure: Influence on soil biological properties and butter-head lettuce yield. Turkish Journal of Agricultural Forestry, 32(2): 91-99.

Özçelebi, M.A., Yılmaz, C. (2020) Samsun'da Çeltik Üretimi ve Pirinç İmalat Sanayi. Kesit Akademi Dergisi, 6(24), pp.324-349.

Özdemir, N. (1991) Toprağa karıştırılan organik artıkların toprağın bazı özellikleri ile strüktürel dayanıklılığı ve erozyona duyarlılığı üzerine etkileri. Fen. Bil. Enstitüsü, Erzurum.

Pacheco, C. M., Bustos, C., Reyes, G., Aguayo, M. G., Rojas, O. J. (2018) Characterization of residues from Chilean blueberry bushes: a potential source of cellulose. BioResources, 13(4), 7345-7359.

Palit, K., Das, S. (2024) Cellulolytic potential of mangrove bacteria Bacillus haynesii DS7010 and the effect of anthropogenic and environmental stressors on bacterial survivability and cellulose metabolism. *Environmental Research*, *252*, 118774.

Palit, K., Rath, S., Chatterjee, S., Das, S. (2022) Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: Threats, vulnerability, and

adaptations. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(22), 32467-32512.

Park, M., Kim, C., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S., Sa, T. (2005) Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research*, *160*(2), 127-133.

Park, S.Y., Jang, S.H., Oh, S.O., Kim, J.A., Hur, J.S. (2014) An easy, rapid, and cost-effective method for DNA extraction from various lichen taxa and specimens suitable for analysis of fungal and algal strains. Mycobiology, 42(4), pp.311-316.

Parmar, P., Sindhu, S. S. (2013) Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. J Microbiol Res, 3(1), 25-31.

Parret, A. H., Schoofs, G., Proost, P., De Mot, R. (2003) Plant lectin-like bacteriocin from a rhizosphere-colonizing Pseudomonas isolate. *Journal of bacteriology*, *185*(3), 897-908.

Peng, H., Wu, H., Gu, W., Lu, Y., Qin, H., You, Y.,Zheng, Y. (2023) Exploring the application potential of aquaculture sewage treatment of Pseudomonas chengduensis strain WD211 based on its complete genome. Genes, 14(12), 2107.

Pico, Y. A. B., Paz, R. A. O., Rayo, S. L. (2022) Optimizing Iron, Manganese, and Zinc Fertilization in Rice (Oryza sativa L.) Through Bacillus, Pseudomonas, and Azospirillum bacteria. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *18*(2), 83-101.

Pikovskaya, R. (1948) Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17: 362–370. Plant Soil, 287, pp.77-84.

Polaris, M.R., 2021. Global biofertilizers market size report. Polaris Market Research.

Polat, K. (2017) Ramsar Alanlarda iklim değişikliği ile mücadele ve uyum açısından İyi Tarım Uygulamalarının rolü: Göksu Deltası örneği. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

Prasad, B. and Sinha, S.K. (2000) Long-term effects of fertilizers and organic manures on crop yields, nutrient balance, and soil properties in rice–wheat cropping system in Bihar. Long-Term Soil Fertility Experiments in Rice-Wheat Cropping Systems. Rice-Wheat Consortium Paper Series, 6, pp.105-119.

Qessaoui, R., Bouharroud, R., Furze, J. N., El Aalaoui, M., Akroud, H., Amarraque, A., Chebli, B. (2019) Applications of new rhizobacteria Pseudomonas isolates in agroecology via fundamental processes complementing plant growth. *Scientific reports*, *9*(1), 12832.

Rabbee, M. F., Ali, M. S., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C., Baek, K. H. (2019) Bacillus velezensis: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes.

Molecules, 24(6), 1046.
Rabinovich, A., Di, R., Lindert, S., Heckman, J. (2024) Nickel and Soil Fertility: Review of Benefits to Environment and Food Security. Environments, 11(8), 177.
Rajasulochana, P., Preethy, V. (2016) Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water–A comprehensive review. Resource-Efficient Technologies, 2(4), 175-184.
Ramos, M., Laveriano, E., San Sebastián, L., Perez, M., Jiménez, A., Lamuela-Raventos, R. M.,Vallverdú-Queralt, A. (2023) Rice straw as a valuable source of cellulose and polyphenols: Applications in the food industry. Trends in Food Science & Technology, 131, 14-27.
Randhawa, P.S., Condron, L.M., Di, H.J., Sinaj, S., McLenaghen, R.D. (2005) Effect of green manure addition on soil organic phosphorus mineralisation. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 73(2-3): 181-189.
Rawway, M., Ali, S. G., Badawy, A. S. (2018) Isolation and identification of cellulose degrading bacteria from different sources at Assiut Governorate (Upper Egypt). Journal of Ecology of Health & Environment, 6(1), 15-24.
Richardson, A. E. (2001). Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*, *28*(9), 897-906.
Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., Prigent-Combaret, C. (2009) Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms.
Ridl, J., Suman, J., Fraraccio, S., Hradilova, M., Strejcek, M., Cajthaml, T., Uhlik, O. (2018) Complete genome sequence of Pseudomonas alcaliphila JAB1 (= DSM 26533), a versatile degrader of organic pollutants. Standards in genomic sciences, 13, 1-10.
Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., Bashan, Y. (2006) Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and soil*, *287*, 15-21.
Rolland, F., Sheen, J. (2005) Sugar sensing and signalling networks in plants.
Rosnow, J. J., Anderson, L. N., Nair, R. N., Baker, E. S., Wright, A. T. (2017) Profiling microbial lignocellulose degradation and utilization by emergent omics technologies. Critical reviews in biotechnology, 37(5), 626-640.
Rudra, B., Gupta, R. S. (2024) Phylogenomics studies and molecular markers reliably

demarcate genus Pseudomonas sensu stricto and twelve other Pseudomonadaceae species clades representing novel and emended genera. Frontiers in Microbiology, 14, 1273665.

Saeid, A., Prochownik, E., Dobrowolska-Iwanek, J. (2018) Phosphorus solubilization by Bacillus species. Molecules, 23(11), 2897.

Saha, S., Hariprasad, P. (2022) Paddy straw-based biodegradable horticultural pots: an integrated greener approach to reduce plastic waste, valorize paddy straw and improve plant health. Journal of Cleaner Production, 337, 130588.

Salisu, B. U., Isiya, S. (2024) Biofertilizer production using phosphate-solubilizing Pseudomonas specie isolated from rhizosphere soil: Towards indigenous biofertilizer for enhanced crop productivity in Katsina, Nigeria. *UMYU Journal of Microbiology Research*, *9*(1), 123-133.

Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. D. C., Govindappa, M. (2012) Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of Bacillus and Pseudomonas: a review. *Biocontrol Science and Technology*, *22*(8), 855-872.

Sarangi, S.K., Lama, T.D. (2013) Straw composting using earthworm (Eudrilus eugeniae) and fungal inoculant (Trichoderma viridae) and its utilization in rice (Oryza sativa) groundnut (Arachis hypogaea) cropping system. Indian Journal of Agricultural Sciences, 83(4): 420-425

Scheffer, F., P. Schachtschabel. (1993) Toprak Bilgisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 73, Ders Kitapları Yayın No: 16, Adana.

Schreiter, S., Babin, D., Smalla, K., Grosch, R. (2018) Rhizosphere competence and biocontrol effect of Pseudomonas sp. RU47 independent from plant species and soil type at the field scale. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 97.

Sedigheh, N. (2019) Morphological, biochemical and soluble sugars characters of Aloe vera subjected to saline condition. Egypt Acad J Biol Sci, H Botany 10(1):13–23

Sedri, M. H., Niedbała, G., Roohi, E., Niazian, M., Szulc, P., Rahmani, H. A.,Feiziasl, V. (2022). Comparative analysis of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of rainfed wheat. *Agronomy*, *12*(7), 1524.

Sessitsch, A., Weilharter, A., Gerzabek, M. H., Kirchmann, H., Kandeler, E. (2001) Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. *Applied and environmental microbiology*, *67*(9), 4215-4224.

Setiawati, T.C., Mutmainnah, L. (2016) Solubilization of potassium containing mineral by microorganisms from sugarcane rhizosphere. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 9, pp.108-117.

Sezen, S. (2021) Toprakların Organik Yapısı ve Önemi, https://agrowy.com/, 22 Haziran 2025.

Shannon, R. D. (1976) Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. Foundations of Crystallography, 32(5), 751-767.

Sharma, A., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S. C. (2014) Growth promotion of the rice genotypes by PGPRs isolated from rice rhizosphere. *Journal of soil science and plant nutrition*, *14*(2), 505-517.

Sharma, S., Pappu, A., Asolekar, S. R. (2024) Sustainable recycling of paddy straw through development of short-fiber-reinforced composites: exploring gainful utilization of agricultural waste. Clean Technologies and Environmental Policy, 26(1), 109-127.

Shultana, R., Kee Zuan, A. T., Yusop, M. R., Saud, H. M., El-Shehawi, A. M. (2021) Bacillus tequilensis strain 'UPMRB9'improves biochemical attributes and nutrient accumulation in different rice varieties under salinity stress. *PLoS One*, *16*(12), e0260869.

Simarmata, T., Turmuktini, T., Fitriatin, B.N., Setiawati, M.R. (2016) Application of bioameliorant and biofertilizers to increase the soil health and rice productivity. HAYATI Journal of Biosciences, 23(4), pp.181-184.

Sindhu, S. S., Parmar, P., Phour, M., Sehrawat, A. (2016) Potassium-solubilizing microorganisms (KSMs) and its effect on plant growth improvement. *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture*, 171-185.

Singh, D.,Prasanna, R. (2020) Potential of microbes in the biofortification of Zn and Fe in dietary food grains. A review. Agronomy for Sustainable Development, 40(2), 15.

Singh, M., Singh, D., Gupta, A., Pandey, K. D., Singh, P. K., Kumar, A. (2019) Plant growth promoting rhizobacteria: application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens. In PGPR amelioration in sustainable agriculture (pp. 41-66). Woodhead Publishing.

Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S.,Denef, K. (2004) A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. Soil and tillage research, 79(1), 7-31.

Souza, R. D., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. (2015) Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and molecular biology*, *38*, 401-419.

Soxhlet, F. V. (1879) Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. Polytechnisches Journal, 232(5), 461-465.

Sönmez, İ. (2012). Determination of the optimum mixture ratio and nutrient contents of broccoli wastes, wheat straw and manure for composting. Journal of Food, Agriculture & Environment, 10(3-4): 972-976.

Sönmez, İ., Kalkan, H., Demir, H., Külcü, R., Yaldız, O., Kaplan, M. (2017) Mineral composition and quality parameters of greenhouse-grown lettuce (Lactuca sativa L.) depending on fertilization with agricultural waste composts. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 16(3): 85-95.

Sönmez, İ., Kaplan, M. (2010) Kompost uygulamalarının toprakların pH ve organik madde içeriği üzerine etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5, pp.627-632.

Sparks, D. L., Huang, P. M. (1985) Physical chemistry of soil potassium. Potassium in agriculture, 201-276.

Stewart, W. M., Roberts, T. L. (2012) Food security and the role of fertilizer in supporting it. Procedia Engineering, 46, 76-82.

Sultana, R., Jashim, A. I. I., Islam, S. M. N., Rahman, M. H., Haque, M. M. (2024) Bacterial endophyte Pseudomonas mosselii PR5 improves growth, nutrient accumulation, and yield of rice (Oryza sativa L.) through various application methods. *BMC Plant Biology*, *24*(1), 1030.

Sun, B. O., Gu, L., Bao, L., Zhang, S., Wei, Y., Bai, Z., Zhuang, X. (2020) Application of biofertilizer containing Bacillus subtilis reduced the nitrogen loss in agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *148*, 107911.

Sürek, H. 2002. Çeltik tarımı. Hasad Yayıncılık, İstanbul, 240.

Sürek, H., Beşer, N. (2014) Çeltik Üretimi, Pirince İşleme, Pazarlama ve Tüketimde Kalite ve Kaliteye Etki Eden Unsurlar., Karadeniz Bölgesi'nde Tarımsal Üretim ve Pazarlama Sempozyumu, 15-16.

T.C. Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı/https://iklim.csb.gov.tr "Sözleşme ve Protokoller". Erişim: 10 Ocak 2022.

T.C. Dışişleri Bakanlığı/https://www.mfa.gov.tr/paris-anlasmasi.tr.mfa "Paris Anlaşması". Erişim: 10 Ocak 2022.

Taherzadeh, M. J., Niklasson, C., Lidén, G. (1997) Acetic acid—friend or foe in anaerobic batch conversion of glucose to ethanol by Saccharomyces cerevisiae?. Chemical engineering science, 52(15), 2653-2659.

Taiz, L., Zeiger, E. (2002) Plant physiology, 3rd edn. Sinauer Associates, Sunderland

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., Murphy, A. (2015) Plant physiology and Development.

Tan, K. Z., Radziah, O., Halimi, M. S., (2015) Assessment of plant growth-promoting rhi-zobacteria (PGPR) and rhizobia as multi-strain biofertilizer on growth and N2 fixation of riceplant. Australian Journal of Crop Science, 9, 1257–1264.

Teather, R.M., Wood, P.J. (1982) Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. Applied and environmental microbiology, 43(4), pp.777-780.

Thomas, L., Singh, I. (2019) Microbial biofertilizers: types and applications. In Biofertilizers for sustainable agriculture and environment (pp. 1-19). Springer, Cham.

Thornburg, T. E., Liu, J., Li, Q., Xue, H., Wang, G., Li, L.,Pan, X. (2020) Potassium deficiency significantly affected plant growth and development as well as microRNA-mediated mechanism in wheat (Triticum aestivum L.). *Frontiers in Plant Science*, *11*, 1219.

Timmusk, S., Behers, L., Muthoni, J., Muraya, A., Aronsson, A. C. (2017) Perspectives and challenges of microbial application for crop improvement. *Frontiers in plant science*, *8*, 49.

Tiwari, S., Prasad, V., Chauhan, P. S., Lata, C. (2017) Bacillus amyloliquefaciens confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant response to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in rice. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1510.

Uluslararası Hububat Konseyi (IGC), "Grain market report" http://www.igc.int Son erişim tarihi: 01.10.2022.

Van Hees, P. A. W., Lundström, U. S., Giesler, R. (2000) Low molecular weight organic acids and their Al-complexes in soil solution—composition, distribution and seasonal variation in three podzolized soils. Geoderma, 94(2-4), 173-200.

Van Nieuwenhove, C., Van Holm, L., Kulasooriya, S. A., Vlassak, K., Van Nieuwenhove, C.,Van Holm, L. (2000) Establishment of Azorhizobium caulinodans in the rhizosphere of wetland rice (Oryza sativa L.). *Biology and fertility of soils*, *31*, 143-

149.
Villarreal, M. L. M., Prata, A. M. R., Felipe, M. G. A.,Silva, J. A. E. (2006) Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by Candida guilliermondii. Enzyme and microbial technology, 40(1), 17-24.
Vurukonda, S. S. K. P., Fotopoulos, V., Saeid, A. (2024) Production of a rich fertilizer base for plants from waste organic residues by microbial formulation technology. Microorganisms, 12(3), 541.
Wang, L. T., Lee, F. L., Tai, C. J., Kasai, H. (2007) Comparison of gyrB gene sequences, 16S rRNA gene sequences and DNA–DNA hybridization in the Bacillus subtilis group. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 57(8), 1846-1850.
Wang, Y., Chen, Y., Gao, X., Wang, Q., Cui, M., Zhang, D., Guo, P. (2024) Unveiling the driving role of pH on community stability and function during lignocellulose degradation in paddy soil. Frontiers in Microbiology, 15, 1338842.
Wawrzyńska, A., and Sirko, A. (2014) To control and to be controlled: understanding the Arabidopsis SLIM1 function in sulfur deficiency through comprehensive investigation of the EIL protein family. Front. Plant Sci. 5:575.
Wei, J., Miao, H., Wang, Q. (2011) Effect of glucose on glucosinolates, antioxidants and metabolic enzymes in Brassica sprouts. Scientia Horticulturae, 129(4), 535-540.
Wei, W., Li, Q-T., Chu, Y-N., Reiter, R. J., Yu, X-M., Zhu, D-H., Zhang, W-K., Ma, B., Lin, Q., Zhang, J-S., Chen, S-Y. (2015) "Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants", Journal of Experimental Botany, 66, 695-707.
Wei, Z., Gu, Y., Friman, V. P., Kowalchuk, G. A., Xu, Y., Shen, Q., Jousset, A. (2019) Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Science advances*, *5*(9), eaaw0759.
Weinand, T., El-Hasan, A., Asch, F. (2023) Role of Bacillus spp. Plant Growth Promoting Properties in Mitigating Biotic and Abiotic Stresses in Lowland Rice (Oryza sativa L.). *Microorganisms*, *11*(9), 2327.
Wood, T. M., Garcia-Campayo, V. (1990) Enzymology of cellulose degradation. Biodegradation, 1, 147-161.
World Food and Agriculture–Statistical Yearbook 2024Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) . Rome, Italy: FAO, 2024, 384.
Wu, D., Wei, Z., Mohamed, T. A., Zheng, G., Qu, F., Wang, F., Song, C. (2022)

Lignocellulose biomass bioconversion during composting: Mechanism of action of lignocellulase, pretreatment methods and future perspectives. Chemosphere, 286, 131635.

Wunna, K., Nakasaki, K., Auresenia, J.L., Abella, L.C. and Gaspillo, P.A.D. (2017) Effect of alkali pretreatment on removal of lignin from sugarcane bagasse. Chemical Engineering Transactions, 56, pp.1831-1836.

Wyciszkiewicz, M., Saeid, A., Samoraj, M., Chojnacka, K. (2017) Solid-state solubilization of bones by B. megaterium in spent mushroom substrate as a medium for a phosphate enriched substrate. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 92(6), 1397-1405.

Wyciszkiewicz, M., Sojka, M., Saeid, A. (2019) Production of phosphorus biofertilizer based on the renewable materials in large laboratory scale. Open Chemistry, 17(1), 893-901.

Xie, S., Ragauskas, A. J., Yuan, J. S. (2016) Lignin conversion: opportunities and challenges for the integrated biorefinery. Industrial Biotechnology, 12(3), 161-167.

Xu, R., Zhang, K., Liu, P., Han, H., Zhao, S., Kakade, A., Li, X. (2018)a Lignin depolymerization and utilization by bacteria. Bioresource technology, 269, 557-566.

Xu, W., Yao, J., Liu, L., Ma, X., Li, W., Sun, X., Wang, Y. (2019) Improving squalene production by enhancing the NADPH/NADP+ ratio, modifying the isoprenoid-feeding module and blocking the menaquinone pathway in Escherichia coli. Biotechnology for Biofuels, 12, 1-9.

Xu, Z., Qin, L., Cai, M., Hua, W., Jin, M. (2018)b Biodegradation of kraft lignin by newly isolated Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas putida, and Ochrobactrum tritici strains. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*, 14171-14181.

Yang, J., Zhao, J., Jiang, J., Xu, H., Zhang, N., Xie, J., Wei, M. (2021) Isolation and characterization of Bacillus Sp. capable of degradating alkali lignin. Frontiers in Energy Research, 9, p.807286.

Ye, T., Li, Y., Zhang, J., Hou, W., Zhou, W., Lu, J., Li, X. (2019) Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization affects the flowering time of rice (Oryza sativa L.). Global Ecology and Conservation, 20, e00753.

Yetgin, M.A. (2010) Organik gübreler ve önemi. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Yayınları.

Yıldız, N., Bilgin, N., Aksu, E. (2003) Erzurum-Daphan Ovası topraklarının fosfor

durumunun değerlendirilmesi. GAP. III. Tarım Kongresi, pp.2-3.
Yılmaz, E., Alagöz, Z. (2010) Effects of short-term amendments of farmyard manure on some soil properties in the Mediterranean region-Turkey. Journal of Food, Agriculture & Environment, 8(2): 859-862.
Yu, J., Paterson, N., Blamey, J. and Millan, M. (2017) Cellulose, xylan and lignin interactions during pyrolysis of lignocellulosic biomass. Fuel, 191, pp.140-149.
Yuwariah, Y. (2017) Nitrogenase activity and IAA production of indigenous diazotroph andits effect on rice seedling growth. Journal of Agricultural Science, 39, 31–37.
Zeng, Q., Man, X., Huang, Z., Zhuang, L., Yang, H., Sha, Y. (2023) Effects of rice blast biocontrol strain Pseudomonas alcaliphila Ej2 on the endophytic microbiome and proteome of rice under salt stress. Frontiers in Microbiology, 14, 1129614.
Zhang, X., Yang, W., Blasiak, W. (2011) Modeling study of woody biomass: interactions of cellulose, hemicellulose, and lignin. Energy & Fuels, 25(10), 4786-4795.
Zhang, X., Younan, N.H., O'Hara, C.G. (2005) Wavelet domain statistical hyperspectral soil texture classification. IEEE Transactions on geoscience and remote sensing, 43(3), pp.615-618.
Zheng, L., Song, J., Li, C., Gao, Y., Geng, P., Qu, B. and Lin, L. (2014) Preferential policies promote municipal solid waste (MSW) to energy in China: Current status and prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 36, pp.135-148.
Zhou, J., Xie, Y., Liao, Y., Li, X., Li, Y., Li, S., He, Y. Q. (2022) Characterization of a Bacillus velezensis strain isolated from Bolbostemmatis Rhizoma displaying strong antagonistic activities against a variety of rice pathogens. Frontiers in microbiology, 13, 983781.
Zhou, Q., Fransen, A., & de Winde, H. (2025). Lignin-Degrading Enzymes and the Potential of Pseudomonas putida as a Cell Factory for Lignin Degradation and Valorization. *Microorganisms*, *13*(4), 935.
Zhu, D., Zhang, P., Xie, C., Zhang, W., Sun, J., Qian, W. J., Yang, B. (2017) Biodegradation of alkaline lignin by Bacillus ligniniphilus L1. *Biotechnology for biofuels*, *10*, 1-14.

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI: Gamze KURTULUŞ

ÖĞRENİM DURUMU: Doktora

Derece	Alanı	Okul	Yıl
Ortaöğretim	**Sayısal**	**Kartal Anadolu Lisesi**	**2007-2011**
Lisans	**Biyoloji**	**Marmara Üniversitesi**	**2011-2016**
Ön Lisans	**Sağlık Kurumları İşletmeciliği**	**Anadolu Üniversitesi**	**2013-2015**
Yüksek Lisans	**Biyoloji**	**Marmara Üniversitesi**	**2016-2019**
Doktora	**Biyoloji**	**Marmara Üniversitesi**	**2019-2025**
Ön Lisans	**Tarım Teknolojisi**	**Anadolu Üniversitesi**	**2022-Devam**

Yayınlar

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanmış makale

1. **Kurtuluş, G.,** & Vardar, F. (2021). The effects of chitosan application against aluminum toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots. *Annali di Botanica*, 121-134. **Impact Factor: 1**
2. Alemdar, A., Tan, B., Toksöz, O., **Kurtuluş, G**., Sesal, C., & Odabaş, Z. (2023). Systematically investigation on the spectral, antioxidant and antibacterial properties of fragrant methyl benzoate esters containing electron withdrawing and electron releasing groups. *Journal of Molecular Structure*, 136100. **Impact Factor: 3.841**

3. Yang, J., Woo, J.J., Sesal, C., Gökalsın, B., Eldem, V., Açıkgöz, B., Başaran, T.I., **Kurtuluş, G.** & Hur, J.S. (2024). Continental scale comparison of mycobiomes in Parmelia and Peltigera lichens from Turkey and South Korea. *BMC Microbiology*, 24(1), p.243. **Impact Factor: 4.0**
4. Turkmenoglu, I., **Kurtulus, G**., Sesal, C., Kurkcuoglu, O., Ayyildiz, M., Celiker, S., Ozhelvaci, F., Du, X., Liu, G.Y., Arditi, M. and Akten, E.D., (2024). Effective Drug Design Screening in Bacterial Glycolytic Enzymes via Targeting Alternative Allosteric Sites. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, p.110190. **Impact Factor: 3.391**
5. Sarıoğlu, P., Toksöz, O., **Kurtuluş, G**., Sesal, C., Mertoğlu, B. and Yapsaklı, K., (2025). Evaluation of year-round bioaerosol emissions and quantitative health risk assessment at a municipal solid waste disposal facility. *Atmospheric Pollution Research,* 16(3), p. 102412. **Impact Factor: 3.9**
6. **Kurtuluş, G.,** Kayalı, E., Sesal, N.C. and Vardar, F., (2025). Multifunctional Paddy Cultivated Soil-Borne Bacteria: Potential Biofertilizer. *Letters in Applied Microbiology*. **(Doktora mezuniyeti için aranan yayın şartını karşılan makale). Impact Factor: 2.0, 5 Year Impact Factor: 2.6**

Hakemli ulusal dergilerde yabancı dilde yayınlanmış makale

1. **Kurtuluş, G**., Toksöz, O., & Sesal, C. (2022). Potential application of Trachystemon orientalis L. extracts in the cosmetic industries: Skincare, photoprotective and antiaging ingredients. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, *34*(1), 147-156.

Hakemli ulusal dergilerde Türkçe yayınlanmış derleme

1. **Kurtuluş, G.,** & Vardar, F. (2020). Kitosanın özellikleri, uygulama alanları, bitki sistemlerine etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 32(3), 258-269.

Uluslararası kongre (sempozyum, panel vb.) özet bildiri ve poster

1. Peter B., Zalan C., Dora H., **Kurtuluş G.,** Peter P.& Irma T., Az etilén szerepe a reaktív oxigénés nitrogénformák akkumulációjának szabályozásában

sóstressznek kitett paradicsom növényekben, Sözlü Sunum, **IX. Congress of the Hungarian Free Radical Society , 25 Ağustos 2017, 26 Ağustos 2017.**

2. Attıla Ö., Zalán C., **Kurtuluş G.** & Péter P., A fény szabályozó szerepe a kitozán indukálta sztómazáródásban, Poster Sunumu, **XV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium, 07 Eylül 2017, 07 Eylül 2017.**
3. **Kurtuluş G.** & Vardar F., The Effects of Chitosan Application against Aluminum Toxicity in Wheat (*Triticum aestivum* L.), Poster Sunumu, **IV. International Congress on Applied Biological Sciences (ICABS), 03 Mayıs 2018, 06 Mayıs 2018.**
4. **Kurtuluş G.,** Çetinbaş Genç A., Yanık F.& Vardar F., Borik Asitin *Vibirnum tinus* L. (Caprifoliaceae)' nin in vitro Polen Tüp Uzaması Üzerine Etkisi , Poster Sunumu, **Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi, 26 Ekim 2018, 28 Ekim 2018.**
5. Toksöz O., **Kurtuluş G.,** Sesal N.C., Determination of Potential Sunscreen Efficacy of Acetone and Methanol Extracts of Some Plant Leaves. **5TH Internatıonal Plant Scıence and Technology Congress 28.10.2022 / Onlıne**
6. **Kurtuluş G.,** Toksöz O., Sesal N.C., In Vitro Antioxidant and Photoprotective Activity *of Euphorbia lathyris* L. and *Rosa damascene* P. MILL. Extracts. **II Internatıonal Biology Congress 18-20 May 2022. Kyrgyz Turskish Manas University- Bishkek, Kyrgyzstan**
7. Sarıoğlu P., Toksöz O., **Kurtuluş G.**, Sesal N.C., Mertoğlu B., Yapsakli K., Bioaerosols Emissions And Quantitative Health Risk Assessment Belonging To A Landfill Leachate Treatment Plant In Istanbul. **International Sustainable Resource Recovery Strategies Towards Zero Waste (FULLRECO4US) Istanbul Conference 2023 September 13 – 15, 2023, Istanbul, Türkiye**
8. **Kurtuluş G.**, Sesal N. C. & Vardar F., Indole-3-acetic acid (IAA) Producing Bacteria Inhibit Seed Germination and Stem Elongation in Barley, Özet Bildiri, **9th International Agriculture Congress, 02 Ekim 2023, 04 Ekim 2023.**
9. **Kurtuluş G.**, Başaran T. I., Ouzeir G., Açıkgöz B., Gökalsın B., Şen B., & Sesal N.C., Effects of Growth Media on the Diversity of Culturable Fungi from Lichens of Bursa, Turkey, Online sunum, **4th Internatıonal Eurasıan Mycology**

Congress (EMC'24), September 03-05, 2024 Çanakkale-Türkiye, e-ISBN: 978-625-8278-49-1

10. Başaran T. I., **Kurtuluş G.,** Ouzeir G., Açıkgöz B., Gökalsın B., Şen B., & Sesal N.C., Comparison of Endolichenic Fungi Biodiversity of *Pseudevernia furfuracea* from Bursa-Türkiye, by Advanced Isolation Techniques and Metabarcoding Analysis, Online sunum, **4th Internatıonal Eurasıan Mycology Congress (EMC'24), September 03-05, 2024 Çanakkale-Türkiye, e-ISBN: 978-625-8278-49-1**

Ulusal kongre (sempozyum, panel vb.) özet bildiri ve poster

1. Çetinbaş Genç A., **Kurtuluş G.**, Yanık F & Vardar F., Sıcaklık Stresinin *Vibirnum tinus* L. (Caprifoliaceae)' nin Polen Çimlenmesi ve Polen Tüp Uzaması Üzerine Etkisi, Poster Sunumu, **4.Ulusal Botanik Kongresi, 06 Temmuz 2017, 09 Temmuz 2017.**
2. **Kurtuluş G.,** Sesal N. C. & Vardar F., Yarayışlı Fosfor Bakımından Fakir Topraklarda Sorgum Atıkları ile Birlikte Fosfat Çözücü Bakterilerin Kullanılmasının Arpa Yaprak Gelişimine Etkileri, Özet Bildiri, **10. Ulusal Botanik Kongresi, 13 Eylül 2023, 15 Eylül 2023, 28 - 28.**

Yazılan uluslararası kitaplardaki bölümler

1. Vardar F., Yanık F., **Kurtuluş G.** & A. Çetinbaş Genç, Aluminum-Induced Toxicity and Programmed Cell Death in Plants, M. S. Karagül & B. Yüksel [Editörler], *Advances in Health and Natural Sciences*, ISBN: 978-1-53614-639-4: Nova Science Publishers, 01 Şubat 2019, Kitapta Bölüm.

Yazılan ulusal kitaplardaki bölümler

1. **Kurtuluş G.** & Gökalsın B., Endolikenik Fungusların İzolasyonu ve Biyoteknolojik Önemleri (727-745), Yamaç M., Asan A., & Bıyık H. H., [Editörler], Fungal Biyoteknoloji Uygulamaları, Mikolojik Araştırmalar Derneği No:1, Geliştirilmiş 2. Baskı, ISBN: 978-625-94009-2-1: Mikolojik Araştırmalar Derneği, Ekim 2024, Kitapta Bölüm

Proje katılımcılığı (Doktora Bursiyerliği)

1. 218M320, Glikolitik Enzimlerde Türe Özgü Allosterik Inhibisyon Bölgelerinin Belirlenmesi Ve Ilaç Tasarımında Kullanımı, MAG - Mühendislik Araştirma Destek Grubu, **1001 - Araştırma, ARDEB**, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.03.2019 - 01.09.2022.
2. 221N004, Uzak Doğu Asya Ve Uzak Batı Asya Arasındaki Benzer Konak Liken Soyundan İzole Edilen Endolikenik Mantarların (Elf) Biyoçeşitliliği, **UPAG - Uluslararasi İşbirliği Projeleri Araştirma Destek Grubu**, Uluslararası / KRF-Kore, ARDEB, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.01.2022 - 01.01.2024.
3. 123O668, Toprak İyileştirme ve Çeltik Üretiminde Verimi Artırmak Amacıyla Çeltik Saman Atığı Ile Beraber Uygulanacak Biyogübre Üretimi, TOVAG - Tarim, Ormancilik Ve Veterinerlik Araştirma Destek Grubu, **1003 - Öncelikli Alanlar, ARDEB**, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 25.10.2023 - 25.10.2026. (devam etmekte)

Başarı ödülü / Ulusal kuruluşlar

1. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı**, 2018 - 1, 01.03.2018 - 28.02.2019.
2. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı**, 2022 - 1.
3. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı**, 2023 - 1.
4. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı**, 2023 - 2.
5. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı**, 2024 - 1.
6. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı**, 2024 - 2.
7. BİDEB Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, **2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı,** 2025 - 1.

Yurt Dışı Deneyim

Başlangıç – Bitiş Tarihi	**Programın Adı**	**Kurum/Birim ve Ülke**
04/06/2017–07/08/2017	Erasmus+ Stajyeri	Szeged Üniversitesi, Szeged (Macaristan)
4.10.2024-11.10.2024	221N004, Uzak Doğu Asya Ve Uzak Batı Asya Arasındaki Benzer Konak Liken Soyundan İzole Edilen Endolikenik Mantarların (Elf) Biyoçeşitliliği, UPAG-Uluslararasi İşbirliği Projeleri Araştirma Destek Grubu, Uluslararası / KRF-Kore, ARDEB projesi kapsamında toplantı ve çalıştaya katılım ve sözlü sunum	Sunchon National University (South Korea)

Sertifikalar

Başlangıç – Bitiş Tarihi	Programın Adı	Kurum
01/02/2016–03/08/2016 tarihleri arasında eğitim	Pedagojik Formasyon Programı Sertifikası	Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi, İstanbul (Türkiye)
Kasım 2019	ZEISS on Your Campus İleri Mikroskopi Teknikleri/Advanced Microscopy Techniques	ZEISS Microscopy
Kasım 2023	Tıbbi ve Aromatik Bitki Yetiştiriciliği/Medicinal and Aromatic Plants Cultivation Techniques	Selçuk Üniversitesi
Aralık 2023	Proje Yazma ve Hazırlama/Project Planning and Proposal Writing Sertifikası	Sakarya Üniversitesi

Diğer Etkinlikler

Başlangıç – Bitiş Tarihi	Programın Adı	Kurum
01/01/2016–01/06/2018	Biyoloji bölümünde laboratuvar derslerinde öğrenci asistanlığı	Marmara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
01/02/2016-01/05/2016	Biyoloji öğretmenliği stajı	Atakent Anadolu Lisesi
09/11/2024	NGBB'nin düzenlemiş olduğu "Bilim Günleri"nde "Mikrobiyal Gübre" adlı sunumu yapmak üzere davetli konuşmacı olmak	Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi
2019-devam	İlkokul ve ortaokul düzeyindeki öğrencilere mikroskop temelli bilimsel etkinlikler düzenlenmesi, öğretmenlerle iş birliği içinde okul içi aktivitelerin planlanması; ayrıca çeşitli eğitim sempozyumlarına katılarak mikroskobik gözlem temelli bilim eğitimine yönelik katkı sunulması.	Foldscope Türkiye