

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAKRO BESİN ELEMENTLERİNİN MİKROORGANİZMALARLA ÜRETİMİ VE
TOPRAKSIZ SERA ORTAMINDA UYGULAMALARI**

FATEME FROOTAN

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM İŞILDAK**

İSTANBUL, 2014

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MAKRO BESİN ELEMENTLERİNİN MİKROORGANİZMALARLA ÜRETİMİ VE
TOPRAKSIZ SERA ORTAMINDA UYGULAMALARI**

Fateme FROOTAN tarafından hazırlanan tez çalışması 19.11.2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Mustafa CEMEK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Erkan ŞAHİNKAYA
Medeniyet Üniversitesi

Prof. Dr. Murat GÜNAYDIN
İÜ, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Yrd. Doç. Dr. Muhammet U. KAHVECİ
Yıldız Teknik Üniversitesi

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2011-07-04-GEP02 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Laboratuvar ve tez aşamasında bilgi, deneyim ve tecrübesiyle bana yol gösteren, karşılaştığım tüm sorunlar için sabırla çözüm üreten, akademik çalışma hayatım dışında da her konuda fikir ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK'a,

Hayatım boyunca kalbimi huzurla doldurup yoluma ışık tutan, hiçbir zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babam Faramarz FROOTAN ve annem Mehri TOFANGSAZAN ve sevgili aileme,

Yaşamım boyunca ruhumu ısıtan can dostlarım ve arkadaşlarıma,

Saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eylül, 2014

Fateme FROOTAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa	
SİMGE LİSTESİ.....	ix
KISALTMA LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xvi
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	1
1.3 Hipotez	1
BÖLÜM 2	3
TEORİK BİLGİLER.....	3
2.1 Rhizomikroorganizmalar	3
2.1.1 Azot Döngüsü	3
2.1.2 Fosfor Döngüsü	5
2.2 Biyogübreler.....	7
2.2.1 Bazı Ticari Biyogübreler	9
2.3 Kompost.....	10
2.3.1 Kompost İçeriği	11
2.3.2 Kompostlama Yaklaşımları.....	13
2.4 Hidroponik Tarım	14

2.4.1	Sıvı (Agregat Olmayan) Hidroponik Sistemler	14
2.4.2	Besleyici Film Tekniği (NFT)	14
2.4.3	Aeroponik (Kök Islatma Tekniği)	16
2.4.4	Derin Su Kültürü	17
2.4.5	Akuaponik	18
2.4.6	Katı (Agregat) Hidroponik Sistemler	19
2.4.7	Açık Sistemler	21
2.4.8	Kanal (Bitki Yatağı) Kültürü	21
2.4.9	Torba Kültürü	22
2.4.10	Kaya Yünü	23
2.4.11	Kum Kültürü	24
2.4.12	Perlit	25
2.4.13	Kapalı Sistemler	25
2.4.14	Çakıl	25
2.4.15	NFT veya Kaya Yünü	26
2.5	Hidroponik Tarımda Organik Gübre Kullanımı	27
2.6	Hidroponik Tarımda Biyolojik Gübre Kullanımı	28
2.7	Ekmeden Önce Tohum Ön İşlemi (Seed Priming)	29
2.8	Potansiyometri	30
2.8.1	Potansiyometri Tekniğinin Tayin İlkesi	32
2.9	Sensörler (Elektrotlar)	33
2.9.1	Referans Elektrotlar	34
2.9.2	Gümüş/Gümüş Klorür Referans Elektrodu	35
2.9.3	Kalomel Referans Elektrot	36
2.9.4	Diğer Tip Referans Elektrotlar	37
2.9.5	İyon Seçici Elektrotlar (ISE)	38
2.9.6	Cam İyon Seçici Elektrotlar	39
2.9.7	Kaplama Tel Elektrotlar	40
2.9.8	Katı Hal İyon Seçici Membran Elektrotlar	40
2.9.9	Sıvı Membran İyon Seçici Elektrotlar	41
2.9.10	Kompozit Elektrotlar	44
2.9.11	İyon Seçici Elektrotların Performans Özellikleri	45
2.9.12	Seçicilik	45

2.9.13	Cevap Zamanı.....	46
2.9.14	Tayin Limiti.....	48
2.9.15	Tekrarlanabilirlik	49
2.9.16	Doğrusal Çalışma Aralığı	49
2.9.17	Kullanım Ömrü	49
2.9.18	pH Çalışma Aralığı	49
2.9.19	İyon-Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları	50
2.9.20	ISE'lerin Avantajları.....	50
2.9.21	ISE'lerin Dezavantajları	50
2.10	Spektroskopi	51
2.10.1	UV-Visible (UV-VIS) Spektrofotometre	52
2.10.2	Görünür Bölgede Çalışan Cihazlar	55
2.10.3	Ultraviyole - Görünür Bölgeyi Kapsayan Tek - Işın Yollu Cihazlar	57
2.10.4	Tek-Işınlı (Yollu) Bilgisayarlı Spektrofotometreler	59
2.10.5	Ultraviyole - Görünür Bölgede Çalışan Çift - Işın Yollu Cihazlar.....	60
2.10.6	Çok Kanallı Absorbsiyon Cihazları	61
2.10.7	Absorpsiyon Ölçümleri ile Kantitatif Analizler	63
2.10.8	Absorblayıcı Maddelere Uygulama.....	64
2.10.9	Absorbsiyon Yapmayan Maddelere Uygulama.....	65
2.10.10	Dalga Boyu Seçimi.....	66
2.10.11	Absorbansı Etkileyen Değişkenler.....	66
2.10.12	Hücrelerin Temizlenmesi ve Kullanılması	66
2.10.13	Absorbsiyon ve Konsantrasyon İlişkinin Saptanması	67
2.10.14	Standart Katma (İlave) Yöntemi.....	67
2.11	Günümüzde Gerçekleştirilen Nitrat Ölçüm Yöntemleri.....	68
2.12	Fosfat Ölçüm Yöntemleri	69
BÖLÜM 3		71
DENEYLER.....		71
3.1	Mikroorganizmalar.....	71
3.1.1	Azot Mikroorganizmaları	71
3.1.2	Fosfat Mikroorganizmalarının İzolasyonu ve Tanımlanması	74
3.1.2.1	Bakteriyal İzolatların Fosfataz Aktivitesi	79
3.1.2.2	Bakteriyal İzolatların Karakterizasyonu	79

3.1.2.3 İzolatların Büyüme İndeksleri	83
3.2 Kompost Düzeneği	83
3.3 Diğer Kompost Zenginleştirici Setlerin Kurulması.....	84
3.4 Sensörlerin Hazırlanması	85
3.4.1 Nitrat Sensörü	85
3.4.2 Amonyum Sensörü.....	86
3.5 Ölçümler.....	87
3.5.1 Nitrat ve Amonyum Potansiyometrik Ölçümü	87
3.5.2 Fosfatın Kolorimetrik Ölçümü.....	102
3.6 Bitki Yetiştirme	106
3.6.1 Tohum Yetiştirme (Seed Priming)	107
3.6.2 Fide Yetiştirme	108
BÖLÜM 4	112
SONUÇ ve ÖNERİLER	112
4.1 Azot Fiksasyonu Yapan Mikroorganizmalar	112
4.2 Topraktan Elde Edilen Mikroorganizma İzolatları.....	112
4.3 Ölçümler.....	121
4.5 Fide Yetiştirme	127
4.5.1 Fideler	127
4.6 Tartışma ve Öneriler	145
KAYNAKLAR	147
MOST PROBABLE NUMBER (MPN)	159
A-1 Genel Bilgiler	159
A-2 MPN Çeşitleri.....	159

SİMGE LİSTESİ

C:N	Karbon/nitrat oranı
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
gr	Gram
kgr	Kilogram
mgr	Miligram
L	Litre
m	Metre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
mV	Milivolt

KISALTMA LİSTESİ

BNF	Biyolojik azot fiksasyonu
CFU	Colony forming unit (Koloni şekillendiren birim)
EC	Elektriksel iletkenlik
EM	Efektif mikroorganizma
EMS	Elektromanyetik spektrum
GI	Büyüme indeksi
IAA	Indole-3-acetic acid (Oksin)
ISE	İyon seçici elektrot
IUPAC	Uluslar arası temel ve uygulamalı kimya birliği
MPN	Most probable number (En çok olası sayı)
NFT	Besleyici film tekniği
OD	Optikal dansite
PGPR	Plant growth promoting rhizobacteria (Bitki büyümesini teşvik eden rhizobakteri)
PSB	Fosfat çözen mikroorganizma
PVK	Pikovskaya agar besiyeri
SE	Komşu buluşma noktaları arasındaki mesafe
SD	Çatışmanın buluşma noktasından uzaklığı

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Azot döngüsünün şematik gösterimi	4
Şekil 2. 2 Fosfor döngüsü	6
Şekil 2. 3 Kompostlama işlemi.....	10
Şekil 2. 4 Kompost kurtçukları.....	13
Şekil 2. 5 NFT hidroponik sistemi	15
Şekil 2. 6 Aeroponik hidroponik sistemi.....	16
Şekil 2. 7 Derin su kültünün şematik gösterimi.....	17
Şekil 2. 8 Akuaponik hidroponik sistemin şematik gösterimi	18
Şekil 2. 9 Torba kültürü	22
Şekil 2. 10 Kaya yünü.....	23
Şekil 2. 11 Potansiyometrenin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi.....	31
Şekil 2. 12 Basit bir potansiyometrik sistem	31
Şekil 2. 13 Örnek bir elektrokimyasal hücre	34
Şekil 2. 14 Ag/AgCl referans elektrot	35
Şekil 2. 15 Kalomel referans elektrotun yapısı.....	37
Şekil 2. 16 Membran çözelti ara yüzeyindeki iyon değişimi.....	39
Şekil 2. 17 F- iyonu seçici katı hal kristalin elektrot.....	41
Şekil 2. 18 Sıvı membran iyon seçici bir elektrot.....	42
Şekil 2. 19 Katı Hal Kompozit Elektrot	45
Şekil 2. 20 IUPAC'a göre cevap zamanı (t_{95})	47
Şekil 2. 21 IUPAC'a göre cevap zamanı ($\Delta E/\Delta t$).....	47
Şekil 2. 22 İyon seçici elektrotların tayin sınırlarının belirlenmesini gösteren örnek bir grafik.....	48
Şekil 2. 23 Işık belli bir konsantrasyonda çözeltiyi içeren ortamdan geçerken, absorpsiyon sebebiyle ışık şiddeti P_0 'dan P 'ye düşer.	52
Şekil 2. 24 Elektromagnetik spektrumun sınıflandırılması.....	53
Şekil 2. 25 Tipik bir görünür spektrofotometrenin çalışma prensibi	56
Şekil 2. 26 UV-VIS spektrofotometre cihazının şematik görüntüsü	57
Şekil 2. 27 Ultraviyole-görünür bölgede çalışan çift-ışın yollu spektrofotometre cihazının parçaları	60
Şekil 3. 1 PVK besiyerinde bulunan kolonilerin etrafındaki halkalar.....	75
Şekil 3. 2 Başlangıç kompost düzeneği.....	84
Şekil 3. 3 Seçici nitrat sensörü	86
Şekil 3. 4 Potansiyometrik ölçüm düzeneği	87

Şekil 3. 5	Bitki yetiştirme düzeneği	109
Şekil 4. 1	Dört farklı besiyeri için hesaplanan MPN değerleri ve kıyaslanması	114
Şekil 4. 2	<i>PSBI</i> ve <i>PSBVII</i> izolatlarının büyüme indeksi	120
Şekil 4. 3	<i>PSBIII</i> izolatının büyüme indeksi	120
Şekil 4. 4	Kontrol kompost ve deney kompostundaki nitrat iyonu oranı . 121	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 4. 5	Kontrol kompost ile deney kompostundaki amonyum konsantrasyonu (gr/l).....	123
Şekil 4. 6	Kontrol kompost ile deney kompostundaki 20 günde fosfat konsantrasyonu (mg/l)	124
Şekil 4. 7	Altı farklı deney setindeki nitrat iyonu konsantrasyonu (gr/l).....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.125
Şekil 4. 8	Fidelerin ilk gün ekildikleri zamanki kökleri	128
Şekil 4. 9	Domates yetiştirme ortamlarında nitrat konsantrasyonu (gr/l).....	129
Şekil 4. 10	Fidelerin ekildikten üç gün sonraki kökleri	131
Şekil 4. 11	Her grubun kontrol fidelerinin ilk günkü halleri	133
Şekil 4. 12	Yedinci gündeki fide uzunluklarının ilk gün ile kıyaslanması	134
Şekil 4. 13	Fidelerin yedi gün sonraki durumları	137
Şekil 4. 14	Nitrat grubu fidelerin mikroskop altındaki görüntüsü.....	138
Şekil 4. 15	İkinci haftadan sonra farklı gruplardaki fidelerin kök uzunluğu bakımından kıyaslanması	138
Şekil 4. 16	Gelişen tomurcuklar.....	139
Şekil 4. 17	Üçüncü haftada izlenen domates çiçekleri	142
Şekil 4. 18	İlk gelişen domates meyvesi	143
Şekil 4. 19	Catia programı ile tasarlanan hidroponik seraya biyolojik fertilizer uygulama sistemi	146

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1	Kompostlama parametreleri.....	12
Çizelge 2. 2	Bazı katı hal iyon seçici elektrotlar ve çalışma aralıkları (Fry ve Langley, 2001).....	41
Çizelge 2. 3	Bazı sıvı membran iyon seçici elektrotlar ve özellikleri.....	42
Çizelge 2. 4	Elektromagnetik spektrum batları ve sayısal özellikleri.....	53
Çizelge 2. 5	Bazı organik kromoforlar.....	65
Çizelge 3. 1	Azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların ölçülen OD değerleri.....	74
Çizelge 3. 2	Azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların hesaplanan CFU/ml değerleri.....	75
Çizelge 3. 3	5-tüplü MPN ve %95'lik güvenlilik aralığı.....	76
Çizelge 3. 4	Mikroorganizma izolatlarının 600 nm'de ölçülen optikal yoğunlukları..	78
Çizelge 3. 5	Seçilen izolatların hesaplanan CFU/ml değerleri.....	83
Çizelge 3. 6	Hazırlanan kontrol kompost içerisindeki nitratın 60 günlük konsantrasyonu.....	88
Çizelge 3. 7	Hazırlanan azot fiske eden mikroorganizma ilaveli kompostun içindeki nitratın 60 günlük konsantrasyon değerleri.....	91
Çizelge 3. 8	Kontrol kompostun amonyum değerleri.....	95
Çizelge 3. 9	Mikroorganizma ilaveli kompostun amonyum değerleri.....	99
Çizelge 3. 10	Kontrol kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyon.....	103
Çizelge 3. 11	Deney kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu.....	105
Çizelge 4. 1	İzolatların bazı özellikleri.....	113
Çizelge 4. 2	İzolatların pigmentasyon ve bazı karbon kaynağı kullanımları (CFU).....	116
Çizelge 4. 3	Üç seçilen izolatın tanımlanması için yapılan bazı biyokimyasal testlerin sonuçları.....	117
Çizelge 4. 4	Deney setleri arasındaki bazı istatistiksel değerler.....	127
Çizelge 4. 5	İlk güne ait fidelerin bazı fiziksel özellikleri ile ilgili ölçümler.....	128
Çizelge 4. 6	Fidelerin yedinci gün ölçümleri.....	135
Çizelge 4. 7	Ondördüncü günde bitkilerin fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi.....	141
Çizelge 4. 8	Yirmibirinci günde bitkilerin fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi.....	142
Çizelge 4. 9	Bir ayın sonunda deney bitkilerinin bazı fiziksel özellikleri.....	143

MAKRO BESİN ELEMENTLERİNİN MİKROORGANİZMALARLA ÜRETİMİ VE TOPRAKSIZ SERA ORTAMINDA UYGULAMALARI

Fateme FROOTAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim Işıldak

Günümüzde hidroponik ekim tekniklerine gösterilen rağbet gün geçtikçe artmaktadır. Bunun temel sebepleri; daha küçük bir alanda fazla sayıda bitki üretebilmek, kurak ve çorak bölgelerde bile hasat elde edebilmek, tamamen kontrol edilen koşullar altında üretimin sağlanması, hastalıkların izlenerek ortadan kaldırılması olarak sayılabilir. Ayrıca kapalı devirdaimli hidroponik sistemde su ve fertilizer korunmuş olur. Buna karşın topraklı sistemlerde su ve gübre kullanımının verimi oldukça düşüktür. Bununla beraber hidroponik ekim sistemlerinde en önemli faktör suya aktarılan besleyici maddelerin kalitesi ve miktarıdır. Fakat geleneksel hidroponik uygulamalarında genellikle inorganik gübreler kullanılmaktadır. Zira bazı organik maddeler burada fitotoksik etki yaparak bitki gelişimini önleyebilir. Halbuki kaynakların geri dönüşümü açısından organik ve biyolojik gübre kaynaklarının hidroponik kültürlerde kullanımı oldukça önemlidir.

Bu çalışmada ise, esansiyel elementlerin organik maddelerden temini hedeflenmiştir. Bu amaçla azot fiksasyonu yapan ve fosfatı çözebilir hale getiren bazı mikroorganizmalar kullanılarak bitkilerin ihtiyacı olan azot ve fosfat elementleri kompost kaynaklı organik bileşenlerin işlenmesi ile elde edilmiştir. Bitkilerin potasyum ihtiyacı ise, odun külünden temin edilmiştir.

Diğer yandan, kompost örnekleri yukarıda anlatılan mikroorganizmalar ile zenginleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan kompost örnekleri içindeki azot ve fosfor formları potansiyometrik ve spektrofotometrik yöntemler ile ölçülmüştür.

Potansiyometrik ölçümlerin yapılabilmesi için iyon seçici nitrat ve amonyum sensörleri hazırlanmıştır.

Bitki yetiştirme deneyinin sonuçları değerlendirildiğinde domates bitkisinin mikroorganizma ilaveli kompostlar ile beslendiğinde oldukça iyi bir gelişim sergilediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Biyofertilizer, esansiyel elementler, hidroponik ekim, kompost, sensör.

**FORMATION OF MACRONUTRIENTS BY MICROORGANISMS AND THEIR
APPLICATION IN HYDROPONIC GREENHOUSE CONDITIONS**

Fateme FROOTAN

Department of Bioengineering

PhD. Thesis

Advisor: Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Nowadays demand for hydroponics culture techniques is increasing every day. Some of the reasons could be counted as follows; to generate too many crops in a small area, to harvest crops in arid and desert regions, to be provided of production in completely controlled conditions, to clear away of plant diseases by monitoring them. Furthermore, water and fertilizer will be protected in a recirculation hydroponic system. On the other hand, efficiency of usage of water and fertilizer is quite low in earthy systems. In addition to this fact, the quality and quantity of nutrients transferred through water are the most important factor in hydroponic cultivation systems. But generally inorganic fertilizers are used in the conventional hydroponic applications. That is why; some organic materials could have phytotoxic effect and cause to prevent the growing of plant. Whereas according to recycling of sources, applying of organic and biologic fertilizer sources in hydroponic cultures is very important.

In this study, it was targeted to recruit the essential elements from organic materials. For this purpose, some of the bacteria which can fixate nitrogen and solve phosphate were used to provide nitrogen and phosphorous elements which is in need of the plants by processing of the organic matters found in the compost. Necessity of potassium of the seedlings was achieved by wood ashes.

On the other hand, the compost samples were enriched by above mentioned microorganisms. Nitrogen and phosphorous forms in the compost specimens which prepared in this manner were measured with potentiometer and spectrophotometer methods. According to perform potentiometric measurement nitrate and ammonium ion selective sensors were prepared.

When the result of crop raising study evaluated; it was shown that tomato crops which were nourished with microorganisms' added compost displayed considerably good growing.

Keywords: Biofertilizer, essential elements, hydroponic cultivation, compost, sensor.

1.1 Literatür Özeti

Organik gübrelerin hidroponik sistemlerde (organik hidroponik) kullanımı uzayda bitki yetiştirmek üzere araştırılmıştır [1], [2]. Söz konusu gübrelerin hidroponik kültürlerde doğrudan kullanımının bitki büyümesini engellediği görülmüştür [3]. Organik gübreler hidroponik sisteme eklenmeden önce mikrobiyal olarak ön işlemden geçirilmelidir [4], [5]. Ön işlem iki veya daha fazla haznede organik azotlu bileşenlerin amonifikasyonu ve nitrifikasyonu şeklinde gerçekleştirilir. Fakat bu yolla nitrat üretiminin verimi %30'dan az olarak rapor edilmiştir [4].

1.2 Tezin Amacı

Amacımız yararlı mikroorganizma kültürlerinin sürdürülebilirliğini sağlayıp hidroponik tarımda uygulamak üzere hazırlanan kompost sistemlerine ilave ederek bitkilerin kullanabileceği azot ve fosfat formlarını sensörler ve spektroskopik yöntemlerle ölçmektir.

1.3 Hipotez

Daha önce topraklı kültürlerde yapılan çalışmalarda toprağa kompost ve fertilize ilave edildiğinde oradaki mevcut mikroorganizma suşlarında artış olduğu ve daha fazla mikroorganizma suşlarının büyümeye başladığı izlenmiştir [6]. Buradan yola çıkarak evsel atıklardan hazırlanan kompostun azot fiksasyonu yapan ve fosfatı çözebilen mikroorganizmalarla zenginleştirilmesi amaçlanmıştır.

Sonuç itibariyle kompost içindeki organik bileşenler zaten kompostta bulunan saprofitik ve toprak mikroorganizmalarının yanı sıra bitkilerin gerekli esansiyel elementlerini sağlayan mikroorganizmaların katılması ile desteklenir.

BÖLÜM 2

TEORİK BİLGİLER

Toprakta bulunan bazı mikroorganizmalar toprakta bulunan maddelerden gerekli enerji kaynaklarını ulaşımaya çalışırken orada bulunan organik maddeleri de parçalayıp bitkilerin kullanabileceği formlara çevirirler.

2.1 Rhizomikroorganizmalar

“Rhizosphere” terimi ilk defa 1940 yılında Alman bitki fizyolojisti ve toprakkilimcisi tarafından kök anlamına gelen latin "rhiza" kelimesinden türetilerek kullanılmıştır [7]. Rhizosfer toprağın ince bir katmanı olup köklerin sekresyonu ve ilgili toprak mikroorganizmaları ile doğrudan ilişkidir. Söz konusu bölge, bitki kökleri tarafından serbest bırakılan protein ve karbohidratlar gibi çoğu kimyasalın yanısıra çok sayıda mikroorganizmayı da barındırmaktadır. *Protozoa* ve *nematodlar* da rhizosferde bolca bulunmaktadır [7].

Rhizosferde bulunan yararlı mikroorganizmalar toprağın kalitesini iyileştirdiği gibi bitki üretimi ve korumasını da arttırır. Bununla birlikte doğal kaynakları korumakta ve sonuç itibarıyla sürdürülebilir tarımsal üretimi ve güvenli bir çevreyi meydana getirir [7].

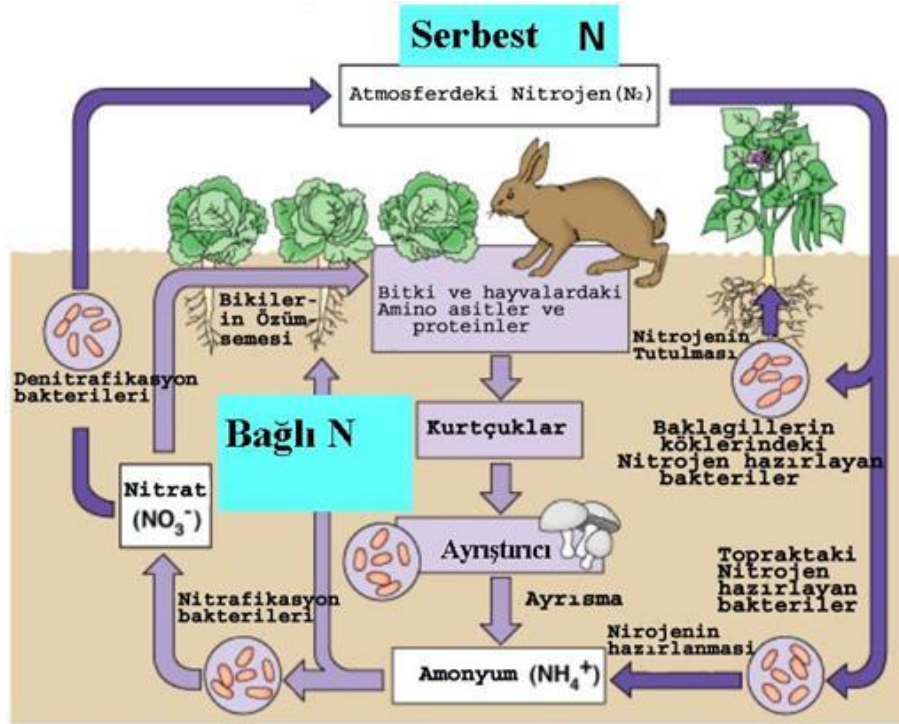
2.1.1 Azot Döngüsü

Azot (nitrojen (N)), protein yapı taşları olan amino asitlerin ve nükleik asit moleküllerinin yapısında yer aldığından bütün organizmalar için önemli bir kimyasal elementtir. Atmosferin % 80'ini azot gazı oluşturur. Fakat moleküler azot çok stabil olduğundan canlılar, moleküler azotu direk olarak atmosferden alıp diğer elementlere

bağlayamazlar. Herşeyden önce moleküler azotun (N_2) ayrılması gerekir. Moleküler azotun ayrılması ve hidrojen veya oksijenle bağlanması için büyük enerji gerekmektedir. Haber-Bosh prosesi ile azotlu gübre üretimi 400–500 °C sıcaklık 200 bar basınç altında gerçekleşmekte ve 1 kg azotlu gübre üretimi 1,5 kg petrole mal olmaktadır.

Bitkiler için ise, nitrojen elementi ptoteinlerin yapısında bulunmakla beraber klorofil oluşumu için de gerekmektedir. Söz konusu elementin eksikliği yeşil bitkilerin gelişim eksikliği ile fark edilmektedir.

Azot döngüsü beş aşamadan oluşmaktadır: 1) azot fiksasyonu, 2) nitrifikasyon, 3) azot asimilasyonu, 4) amonifikasyon ve 5) denitrifikasyon. Azot asimilasyonu hariç diğer bütün aşamalar bakteriler tarafından gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2.1 Azot döngüsünün şematik gösterimi

1. Azot Fiksasyonu: Azot fiksasyonunun ilk basamağında azot gazı (N_2) canlıların kullanabileceği form olan amonyağa (NH_3) dönüştürülür. Yakma, volkanlar, şimşekler ve endüstriyel proseslerle önemli miktarda fikse edilmesine rağmen, azot fiksasyonunun büyük bir kısmı biyolojik bir işlemdir. Biyolojik azot fiksasyonu sırasında toprak ve suda yaşayan fotosentetik cyanobakter, baklagil köklerinde yaşayan

Rhizobium bakterileri gibi organizmaları nitrojenaz enzimleriyle azotu hidrojene bağlarlar. Rhizobium ve konuk bitki simbiyotik yaşam sürdürür; bitki azotu bakteriden sağlarken, bakteri bitkiden gerekli karbonhidratı elde eder. Azot gübresi üretimi yüksek basınç ve sıcaklık altında yapılır. Hâlbuki biyolojik azot fiksasyonu normal atmosfer basıncı ve sıcaklıkta gerçekleşmektedir. Bununla birlikte azot bağlayan bakteri 1 gr azot için 12 gr glikoz harcamaktadır.

2. Nitrifikasyon: Amonyakın (NH_3) toprak bakterileri tarafından nitrata (NO_3) dönüştürülmesine nitrifikasyon olarak bilinir. Nitrifikasyon iki aşamalı olup *Nitrosomonas* ve *Nitrococcus* bakterileri tarafından amonyağın nitrite (NO_2), *Nitrobacter*'ler vasıtasıyla nitritin nitrata oksitlenmesini içerir.

3. Asimilasyon: Asimilasyon, azot fiksasyonu ve nitrifikasyonu ile ortaya çıkan nitrat ve amonyağın bitki kökleri tarafından absorbe edilip, bitki proteinleri ve nükleik asitlere bağlanması işlemidir. Hayvanlar bitkileri yediğinde bitkisel proteinlerdeki azotu tekrar asimile edip hayvansal bileşiklere çevirir.

4. Amonifikasyon: Canlılar üre (idrar) ve ürik asit (kuşlar) gibi azot içeren atıklar üretirler. Söz konusu maddelerin ve ölü organizmalardaki azotun ayrıştırılması ile abiyotik çevreye amonyak geri verilir. Biyolojik azot bileşiklerinin amonyağa çevrilmesi amonifikasyon olarak isimlendirilir. Amonifikasyonla azot döngüsüne katılan amonyak tekrar nitrifikasyon ve asimilasyon için hazır hale gelir.

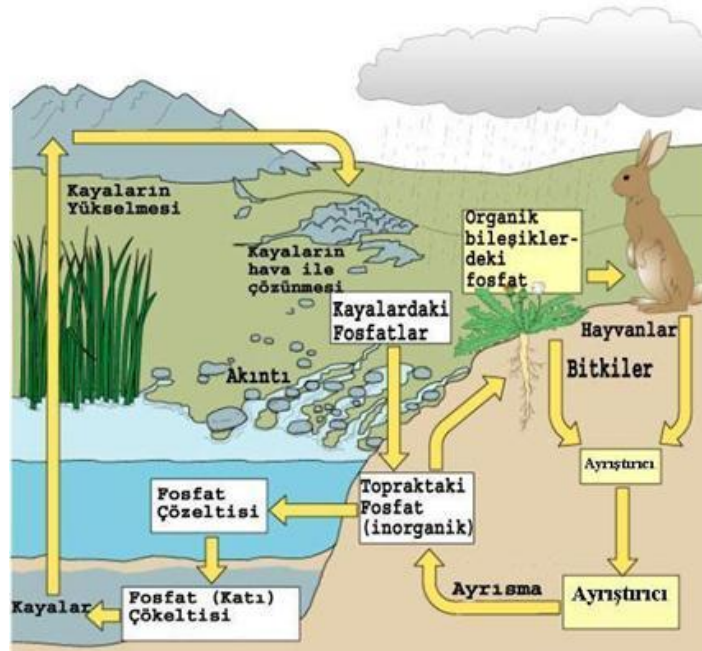
5. Denitrifikasyon: Nitratin (NO_3) moleküler azota (N_2) dönüştürülmesine denitrifikasyon denir. Anaerobik denitrifikasyon bakterileri azotu atmosfere geri döndürürler.

2.1.2 Fosfor Döngüsü

Fosfor bitkilerin büyümesi ve hayatta kalması için gerekli bir element olup canlı ve cansız sistemlerde, fosfat olarak bulunur. Fosfor, azottan sonra bitkisel verim elde etmek için en önemli elementtir. Fosfor elementi bütün biyokimyasal işlemlerde, enerji aktarımı reaksiyonlarında, fotosentez ve genetik verilen intikal edilmesinde büyük bir rol oynar [8]. Fosfor gaza dönüşüp atmosfere geçmediği için fosfor döngüsü, karalardan sulara, sulardan karalara doğru gerçekleşir. Fosforon kaynağı, fosfatlı

kayaçlardır. Fosfatlı kayaçlar, yağmur, rüzgâr gibi etkenlerle aşındıkça inorganik fosfat olarak yavaş yavaş toprağa taşınır. Çözünmüş inorganik fosfat genellikle denizlerde ortofosforik asidin (H_3PO_4) iyonik formu şeklinde bulunmaktadır [9]. Fosfat iyonlarının negatif yüklü olmaları sebebiyle çamurun havalandırılmasından sonra hızlı bir şekilde absorbe edilip çözünmez alüminyum, kalsiyum ve demir fosfatları oluştururlar. Fungus ve bakteriler bu bileşenleri çözülebilir hale getirme kabiliyetine sahiptirler [10]. Çok sayıda mekanizma bu işleme dâhil olsa da en önemli işlem organik asitlerin üretimidir [10]. Bu organik asitler fosfatın çözünmez formlarını çözerek ortofosfat gibi bitkilerin yararlanabileceği bileşenlere dönüştürür [11]. Bitkilerdeki organik fosfat, hayvanlara aktarılır. Ölen hayvan ve bitkilerin yapısındaki organik fosfat, saprotrof bakteri ve mantarların metabolizmasıyla fosfat olarak toprağa salınır.

Karasal ekosistemlerde olduğu gibi sucul ekosistemlerde de fosfor döngüsü gerçekleşir. Kayaçlardan sulara taşınan fosfat, suların derinliklerine çöken bitki ve hayvan artıkları sebebiyle ekosistemdeki fosfor belirli oranda azalır. Bu şekilde depolanan fosfor, oluşabilecek jeolojik olayların etkisiyle karalara geçmeleri durumunda, tekrar kullanılabilirler.



Şekil 2.2 Fosfor döngüsü

2.2 Biyogübreler

Biyogübreler mikrobiyal gübreler şeklinde 1970'li yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu gübreler baklagiller ile simbiyotik yaşam sürdüren *Rhizobium*'dan elde edilmiştir. 1980'li yılların başında ise, bu gübreler baklagillerin dışındaki bitkilere de tatbik edilmeye başlanmıştır. Böylece bitki büyümesini teşvik eden mikroorganizmaların (PGRP) geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar başladı.

Biyogübreler, uygulandığında konak bitkinin ihtiyacı olan birincil besin elementlerini temin edip büyümesini teşvik eden canlı mikroorganizmalar veya onların metabolik ürünlerini ihtiva eder. Bu gübreler topraktaki yaşamsal elementlerin teminini azot fiksasyonu, fosfor ve potasyumun çözülmesi, patojen ajanların baskılanması, bitki büyümesini teşvik eden hormonların salgılanması ile sağlayarak bitkilerin verimini artırır [16]. Buna ek olarak, biyogübreler toprağın verimliliğini artırırken, biyolojik aktivitelerini de korur. Ayrıca tarımsal ürünlerin kalitesini de artırır ve ekosistemin sağlığının korunmasını destekler [12]. Buna göre, adı geçen gübreler ekonomik olduğu gibi ekolojik gübre olarak da kabul edilir.

Biyolojik gübre olarak kullanılan mikroorganizmalar gerekli esansiyel elementlerin temin edilmesi dışında köklerin biyokütlesini ve yüzeylerini artırarak gelişimlerini yardımcı olur [14].

Ayrıca, biyogübredeki mikroorganizmalar esansiyel elementlerinin yanı sıra diğer elementlerin alımını da arttırdığı gibi bitkinin genel gelişimi destekler. Sonuç olarak bitkisel üretimi kalitatif ve kantitatif olarak artar [18]. Genel olarak bakıldığında, bitki gelişimini teşvik eden mikroorganizmalar kullanıldığında kök sistemlerinin gelişmesi ile iyonların alınma birimi artar. Diğer yandan ise, bitki büyümesini indükleyen hormonlar büyümenin farklı evrelerinde bitki gelişimini destekleyip daha fazla fotosentetik metabolitlerin sentezi ile ürün miktarında artış izlenir [19].

Günümüzde bitkilerin ihtiyacı olan gerekli azot formlarını temin etmek için kimyasal ve sentetik azotlu gübreler kullanılmaktadır. Böylece toprağa nitratlı gübreler verilerek su kalitesi bozulmaktadır. Yağmur suları vasıtasıyla nitratlı gübreler nehir ve göllere taşınıp oralardaki aşırı alg gelişimi teşvik edilir. Algler ayrışırken suyun çözünmüş oksijenini tüketmekte, bunun sonucunda diğer su canlıları havasızlıktan ölmektedir. Nitratlı

gübreler aynı zamanda toprağın derinliklerine sızarak toprak altı suyunu kirletmektedir. Böylece birçok canlının sağlığı tehlike altına girer.

Toprakta azotun göreceli azalışı düzenli olarak mikrobiyal nitrifikasyon-denitrifikasyonu işlemlerine ek olarak filtreleme (leaching), buharlaşma, toprak erozyonu ve diğer bazı doğal işlemlerle gerçekleşir. Bu günlerde bitkilerin azot ihtiyacının artışı mineral gübrelerin uygulaması ile temin edilmektedir.

Yukarıda sözü edilen çevreyle ilgili sebeplerden dolayı yüzyıla aşındır biyolojik azot fiksasyonu (BNF) ve tarım alanlarında uygulamalı kullanımları, mineral bitki besin maddeleri ile ilgilenen bilim insanlarının dikkatine çekmiştir [20]. Bahsedilen pratik uygulamalar küresel azot döngüsü için önemli bir aşama oluşturduğu gibi yeryüzünde hayatın sürdürülebilmesi için de önem arz etmektedir [21]. Diğer yandan ise, azot fiksasyonu yapan mikroorganizmalar yılda $17,2 \times 10^7$ ton nitrojen fikse ederler [22].

Günümüzde topraklı tarım sistemlerinde azot fiksasyonu için kullanılan bazı mikroorganizmalar şöyledir; *Azotobacter sp.*, *Azospirillum sp.*, *Streptomyces sp.*,

Azotobacter sp. ve *Azospirillum sp.* atmosferdeki azotu fikse ettikleri gibi önemli esansiyel elementler ve makroelementlerin alımı, oksin (IAA) gibi bitki büyümesini düzenleyen hormonların sentezi ve salgılanması, değişik amino asitlerin salgılanması, çeşitli antibiyotiklerin üretimi, hidrojen siyanid ve siderofor üretimi ile topraküstü kısımların ve köklerin gelişmesi ve büyümesine katkıda bulunur. Diğer yandan kökler topraktaki patojenlere karşı korunarak yüzey biriminde verim artışı ile beraber kalite artışı da gözlemlenir [21]. Başka bir araştırmada *Azotobacter* ve *Azospirillum* biyogübre olarak kullanıldığı zaman fosfor ve azot alımının yükseldiği kaydedilmiştir [23].

Kimyasal gübrelerde bulunan fosforun büyük bir kısmı toprağa girdikten sonra çözünmez hale gelir ve bitkiye ulaşamaz. Diğer yandan ise, bu elementin topraktaki hareketi yavaş olup bitki tarafından hızlı emilimi engellenir [18].

Rao ve Sinha (1963) buğday bitkisinin rhizosferinden bazı bakteri ve mantar gruplarını izole etmiştir [24]. Bu mikroorganizmalardan elde edilen saf kültürler toprağa tatbik edildiğinde ekstrakte edilebilen P_2O_5 asidinin miktarı önemli ölçüde artmıştır.

Son yıllarda değişik çalışmalarda rhizosfer ve topraktan izole edilen fosfatı çözen mikroorganizmalar *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Rohnella* ve *Serratia* suşlarına aittir [25], [26], [27], [28], [29], [30], [31].

Bacillus suşu bakteriler asetik asit, propiyonik asit, laktik asit, fumarik asit, süksinik asit gibi organik asitlerin sentezi ile ilk başta pH'yı bölgesel olarak düşürerek toprakta çözünmez formlarda bulunan mineral fosfatlı bileşenlerdeki bağları çözerek onları bitki kökleri tarafından alınabilecek çözünür şekillere çevirirler. *Pseudomonas* bakterileri ise, fosfataz enziminin salgılanması ile organik fosfat bileşenlerinin ayrışmasını ve absorplanmasını sağlar [31].

2.2.1 Bazı Ticari Biyogübreler

Biyolojik Nitroxin gübresi; *Azotobacter* ve *Azospirillum* gibi azot fiksasyonu yapan bakterileri içermektedir. Söz konusu bakteriler simbiyotik organ geliştirmeden kökler ile iş birliğine girerler. Bu bakteriler atmosferik azotu bitkinin kullanabileceği formlara çevirmek için azot fiksasyonunu gerçekleştirirler. Bu işlem için gerekli olan enerjiyi bitkinin kökündeki salgılardan elde ederler [32].

Azotobarvar-1; Green Biotech Firması tarafından hazırlanan 10^7 - 10^8 CFU/ml veya CFU/gr şeklinde canlı *Azotobacter vinelandii* suşu içeren bir mikrobiyal gübredir. Söz konusu ürünün minimum raf ömrü 6 aydır.

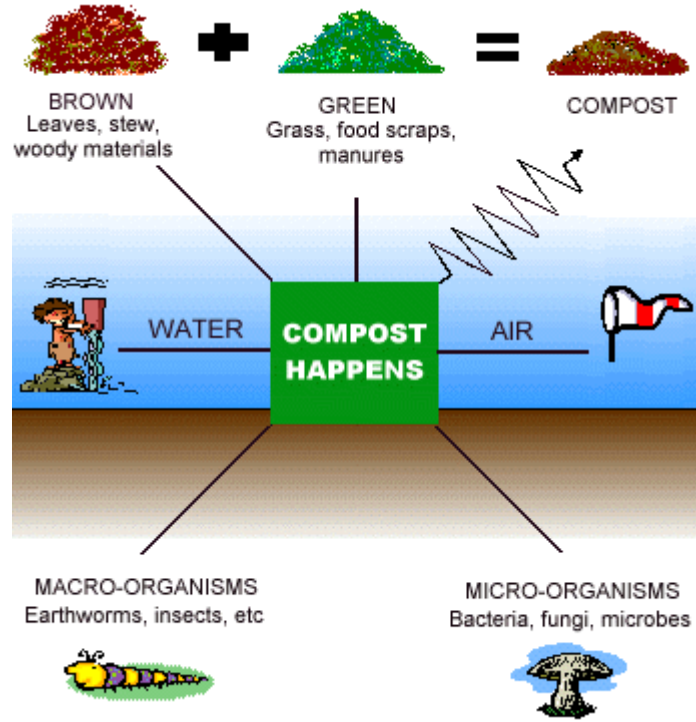
Bu ürünün geliştirilmesi sırasında, araştırmacılar topraktan izole ettikleri 26 *A. vinelandii* suşlarının farklı fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonlarını tanımlamışlar. Moleküler tanımlamanın ardından seçilen O4 izolatu azotun besiyerinde atmosferik azotu $326,4 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1}\text{vial}^{-1}$ oranı ile fiske etme kabiliyetine sahiptir. Bahsedilen suş, %7'ye kadar tuz konsantrasyonlarında, geniş bir pH aralığında (4-11) ve yüksek sıcaklıklarda (45°C) da aktiftir.

Barvar-2; *Pseudomonas* ve *Bacillus* gibi fosfat çözen mikroorganizmalarından oluşmaktadır. Bu bakteriler, özellikle ogzalik asit ve sitrik asit gibi organik asitlerin sentezi ve salgılanması ile az çözünen inorganik fosfatların çözünmesini sağlar. Buna ilaveten fosfataz enziminin salgılanması ile organik fosforlu bileşenlerden de fosforu serbest bırakırlar [32]. Bu ürün Green Biotech Firması tarafından piyasaya sürülmüştür.

2.3 Kompost

Kompostlama tarihçesi Roma İmparatorluğu zamanındaki Gaius Plinius Secundus'a (AD 23-79) kadar geri dönmektedir.

Hayvansal ve bitkisel atıkların nemli ve oksijenli ortamda kontrollü bir biçimde bozunarak geri dönüştürülmesinden elde edilen organik karışım "kompost" olarak isimlendirilir [33].



Şekil 2.3 Kompostlama işlemi

Dekompozisyon işlemi sırasında toplanıp düzenli olarak ıslatılan organik atıklar havalandırılmak üzere sürekli karıştırılır. Böylece kompost bileşenleri içinde yer alan aerobik mikroorganizmalar yardımı ile ayrışma işlemi gerçekleşerek ısı, karbon dioksit ve amonyum meydana gelir [34]. Amonyum daha sonra nitrifikasyon vasıtasıyla bakteriler tarafından bitkilerin kullanabileceği nitrit ve nitrat gibi azot formlarına çevrilir. Kompost, bahsedilen özevlilerinin yanı sıra fertilizer, humik asit temini ve toprağın durumunu iyileştirici etken ve doğal pestisit olarak da kullanılabilir. Farklı ekosistemlerde kompost erozyon kontrolü, yer ve akarsu yenilenmesi (reklamasyon), sulak alan inşası ve yeryüzü örtüsü için önem arz etmektedir [35].

2.3.1 Kompost İçeriği

Birçok organik madde kompostlama işlemi için kullanılabilir. im, yaprak, saman, kuru otlar, imen, gazete parçaları, kâğıt, odun tozu, talaş ve benzeri bahçe atıkları kompost hazırlamak için kullanılır. Bunlara ek olarak, mutfak atıkları da komposta katılır. Fakat yağ, kemik ve et benzeri hayvansal protein kaynakları komposta ilave edilmemelidir. Söz konusu maddeler dekompozisyon işelminin süresini arttırdığı gibi kötü koku oluşumuna da sağlar [36].

Kompostlama işlemi, karbon-azot oranı, nem, partikül boyutu, ısı ve zaman gibi parametrelerden etkilenmektedir (izelge 2.1).

- a) **Karbon/azot oranı:** Kompost oluşumu için biriktirilen organik maddeler içerisindeki karbon/azot (C:N) oranı, dekompozisyon işlemi açısından oldukça önemlidir. Uyugn C:N oranı genellikle diğer gerekli besleyici maddelerin uyugn miktarlarda temin edildiğini gösterir [37].

İdeal aktif kompostlama işlemi açısından, karıştırılan ham maddelerdeki C:N oranı 25:1 ila 30:1 arasında olmalıdır (izelge 2.1). Buna rağmen, başlangıç C:N oranı 20:1 ila 40:1 arasında olduğu zamanlarda bile olumlu sonuçlar alınmaktadır. C:N oranı 20:1 altında olduğuunda mevcut karbon nitrojeni stabilize etmeden tamamen kullanılır. Böylece gereksiz miktarda amonyak ve hoş olmayan koku oluşur. C:N oranı 40:1 değerini geçtiği zamanlarda da kompozisyon işlemi, mikroorganizmaların beslenmesi için yeterli azotun bulunmaması sebebiyle yavaşlar [38].

- b) **Nem:** Nem, kompostlama işleminden sorumlu mikroorganizmaların metabolik süreçlerinin desteklenmesi için gereklidir. Kompostlama maddelerinin nem oranı %40-%65 olacak şekilde ayarlanmalıdır (izelge 2.1). Nem oranı %40'ın altında olduğuunda kompostlamanın önlendiği deneysel olarak ispatlanmıştır [39]. Nem oranı %65'i geçtiği takdirde de su molekülleri, kompostlama maddeleri arasındaki boşluklarda bulunan hava ile yer değiştirir. Sonuç olarak, hava hareketi kısıtlanır ve anaerobik koşullar meydana gelir. Kompostlama süreci ilerlediğinde genellikle su oranı azaldığından kompost içindeki nem miktarı düzenli olarak kontrol edilmelidir [39].

- c) **Partikül büyüklüğü:** Maddelerin partikül boyutu azaldığında aerobik dekompozisyon verimi artmaktadır [40]. Bununla birlikte, çok küçük parçalar hava akışını önlediğinden arzu edilmemektedir. En uygun dekompozisyon koşulları, partikül boyutu 4,5-5 cm arasında olduğunda sağlanır.
- d) **Sıcaklık:** Kompostlama işlemi genellikle mezofilik (10-39,4°C) ve termofilik (39,4°C<) olarak bilinen sıcaklık aralarında meydana gelir. Uzmanlar etkili kompostlama için uygun sıcaklığın 43,3 - 65,5°C arasında olduğuna ifade eder [41]. Termofilik sıcaklıklar, daha fazla patojenin, ot tohumlarının ve böcek larvalarının ortadan kaldırılmasını sağladığından önerilmektedir. Kompost kümesinin sıcaklığı mezofilik aralıkta olduğunda maddelerin karıştırılması tavsiye edilir [41].
- e) **Zaman:** Ham maddelerin komposta çevrilmesi yukarıda anlatılan faktörlere bağlıdır [42]. Müsait koşullar altında dekompozisyon ve stabilizasyon süreçleri için birkaç hafta gerekmektedir.

Çizelge 2.1 Kompostlama parametreleri

Koşullar	Uygun Aralık	Önerilen Aralık
Karbon-Azot oranı (C:N)	20:1-40:1	25:1-30:1
Nem içeriği	%40-65	%50-60
Oksijen konsantrasyonu	%5<	%5<Çok daha fazla
Partikül boyutu (cm)	4,50-5,00	Değişken**
pH	5,5-9,0	6,5-8,0
Sıcaklık (°C)	43,3-65,5	54,4-60

**Özellikle, kompost yığının büyüklüğü ve hava koşullarına bağlıdır.

2.3.2 Kompostlama Yaklaşımları

Geleneksel kompostlama işlemine ek olarak, diğer bazı teknikler de geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları aşağıdaki gibidir;

Kurtçuk kompostlama: Bu yaklaşımda *Hermetia illucens* böceğinin larvaları (Şekil 2.4) mutfak atıkları ve hayvansal dışkıların, kümes hayvanlarının, balıkların, köpek ve domuz gibi hayvanların yemlerine dönüşürken kullanılır [43]. Söz konusu yöntem, olası en hızlı yöntem olup yan ürünleri toprağın verimliliğini arttırmak amacıyla kullanılır.



Şekil 2.4 Kompost kurtçukları

Hamam böceği kompostlama: Bu yöntemde yukarıda anlatılan yönteme benzemekle beraber, burada uygun hamam böceği türleri kullanılmaktadır.

Bokashi: Bu metot sayesinde yemek atıkları mikroorganizma karışımı ile kaplandığından oluşan olumsuz koku azalır. Burada kullanılan mikroorganizmalar, ilk defa 1980'li yıllarda ürün olarak satılan Etkili Mikroorganizma'lardan (Effective Microorganisms (EM1)) elde edilir [44]. EM1, mikroorganizma dışında, bir karbon kaynağının yanısıra pekmez gibi bir şeker de içermektedir.

Kompost çayı: Kompost çayı, kompostun 3-7 gün arasında suda bekletilmesinden elde edilir [35]. Bahsedilen yöntem ilk defa Almanya'da bulunmuştur ve genellikle zararlı fitopatogenik fungusları ile mücadelede kullanılır [45].

2.4 Hidroponik Tarım

Topraksız tarım, bitkilerin toprak kullanılmadan gereksinim duydukları organik ya da inorganik besin maddelerini kontrollü sera koşullarında yetiştirme ortamına verilerek yapılan üretim şekli olarak tanımlanmaktadır [46], [47]. Günümüzde toprakta üretimin yetersiz olduğu ya da mümkün olmadığı (örneğin kurak bölgelerde) ortamlardan yararlanmak amacı ile topraksız tarıma ihtiyaç duyulur. Böylece tarım alanlarından daha fazla yararlanma imkânı elde edilir.

Topraksız tarım genel olarak, su (sıvı) kültürü ve katı ortam kültürü şeklinde uygulanmaktadır [48]. Su kültüründe bitkiler su içerisinde gelişirken kontrollü olarak besin çözeltisi ile beslenirler. Katı ortam kültüründe ise perlit, torf, kaya yünü, çakıl, kum, ve genleşmiş kil gibi organik ve inorganik katı materyaller kullanılır [46].

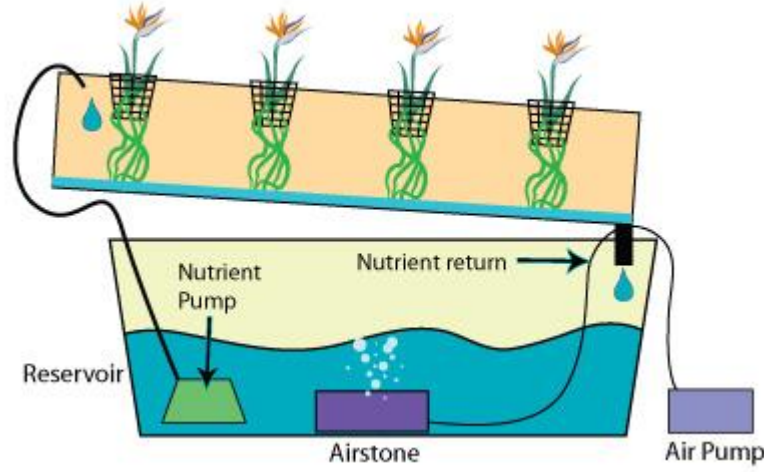
2.4.1 Sıvı (Agregat Olmayan) Hidroponik Sistemler

Sıvı hidroponik yöntemi, bitkilerin herhangi katı bir ortam içermeyen yapılarda özel besin çözeltilerinde veya bu besin çözeltilerinin belli aralıklarla bitki köklerine püskürtülmesi ile yetiştirilmesi yöntemidir [49].

Hidroponik sistemler, su ve besin maddeisinin dolaşımı bakımından, açık ve kapalı sistemler olarak da sınıflandırılabilir [46]. Açık sistemlerde besin çözeltisi bitki köklerine bir kez verilirken yeniden kullanılmaz. Kapalı sistemde ise, çözelti dolaşımı sürekli olarak veya belli aralıklarla sağlanır.

2.4.2 Besleyici Film Tekniği (NFT)

Bu teknikte besin çözeltisinin 0,5 mm ince bir film şeklinde ve belirli bir debi ile akacağı bir kanal bulunmaktadır [50]. Bitki kökleri bu kanaldaki besin çözeltisine doğrudan temas etmektedir. Sistemin temel bileşenleri plastik borular, hava pompası ve tanktaki su pompalarıdır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 NFT hidroponik sistemi

Kanallar genellikle mat plastik borulardan oluşmaktadır. Yetiştirme kabı olarak kullanılan olukların içinden bir besin çözeltisi ince bir tabaka halinde geçer [51]. Kaplarda yerleştirilen bitkilerin köklerini besin solusyonu ile temas ettirerek beslenmeleri sağlanır. Böylece kökler hem beslenip su alabilmekte, hem de yeterli havalanma olanağı bulmaktadır. Oluklardan geçen çözelti daha sonra tankta toplanıp ölçümleri alındıktan sonra gerekli ilaveler yapılarak yeniden kullanılmaktadır.

Böylece su ve besin maddesi kayıpları da en aza indirgenir [46]. Bu yöntem, topraksız kültürün en gelişmiş tekniğidir. Bütünüyle otomatik çalışan bir sisteme ve düzenlemeye gerek duyulmaktadır.

NFT sistemlerinin ortak özelliği, kanallarda bulunan çözeltinin derinliğinin az oluşudur [46]. Akış, genellikle sürekli. Fakat bazı sistemlerde her saat başı birkaç dakika çözelti eklenmesi ile aralıklı olarak da çalıştırılabilir. Aralıklı akışın amacı kök sistemlerinin yeteri kadar havalanmasını sağlamaktır. Ancak hızlı büyüme sırasında akış süresinin kontrolü oldukça önemlidir. Çünkü akış süresi çok kısa veya çok seyrek aralıklarla olursa bitkiler su stresine girebilir [52].

NFT kanallarının tabanında, kapiler hasır kök sisteminin çevresindeki çözelti akıntısının dalgalanmasını önlemek için kullanılır. Aynı zamanda, akış durduğunda bu hasır suyu ve besinleri tutarak stok görevi de yapabilmektedir. NFT sistemlerinde tek sıralı bitki dikiminde 15–20 cm, çift sıralı bitki dikiminde ise, 30–38 cm veya daha geniş kanallar kullanılmaktadır. Kanal uzunluğu maksimum 4–10 m iken, eğimi ise 1/50 veya 1/75

şeklinde ayarlanır. Besin çözeltisi her kanalın yüksek ucundan pompalanarak alttaki uca doğru akarak bitkinin kök hasırını ıslatmaktadır. Kanallardaki akış hızı dakikada 1–2 L olmalıdır.

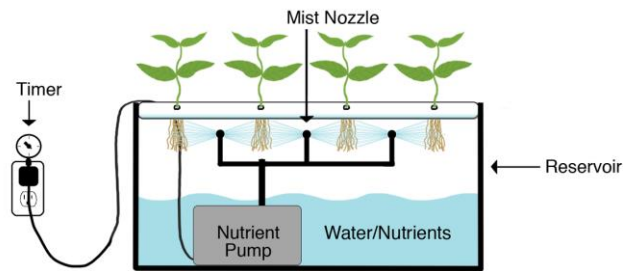
Bu yetiştirme yönteminde fideler yetiştirme ortamıyla birlikte kanalı oluşturacak levhanın ortasına yerleştirilir. Levhanın her iki ucu fidelerin tabanına doğru çekilip buharlaşmayı engellemek için birbirine tutturulur. Fide yetiştirme ortamı bitkiler küçükken gerekli olan besinleri tutmaktadır. Bitkiler büyüdüğünde ise, kanal içinde yayılarak kökleri aracılığı ile besinleri doğrudan alır.

Besin çözeltisi kanalın alt ucuna toplanarak besin çözeltisi tankına akmaktadır. Çözelti yeniden sisteme verilmeden önce tuz bakımından incelenmektedir. NFT yetiştiricilikte uzun gövdeli olarak büyüyen bitkilerin devrilmemesi için bitkilere mutlaka gerekli destek sağlanmalıdır.

2.4.3 Aeroponik (Kök Islatma Tekniği)

Bitkilerin köklerine besin çözeltilerinin sürekli veya aralıklı olarak sis veya buhar halinde püskürtülmesi şeklinde uygulanan yöntem, “aeroponik” yöntemdir [53]. Diğer sistemlere göre su ve gübre tasarrufu sağlayan bu sistemde besin çözeltisini dağıtmaya yarayan başlıklar ve sistemi basınçlı bir şekilde çalıştıran motor düzeneği bulunmaktadır [54].

Bu yöntemde bitkiler, köpük panellere yerleştirilerek bitki kökleri panelin altındaki havada asılı kalacak şekilde yerleştirilir. Kullanılan paneller kök oluşumunu uyarmak ve alg gelişimini önlemek için ışık geçirgenliği olmayan kapalı kutuların üstüne konur (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Aeroponik hidroponik sistemi

Besin çözeltisi köklere ince sis şeklinde püskürtülür. Söz konusu işlem her 2-3 dakikada 1-2 saniye kadar yapılmaktadır. Bu, köklerin nemli tutulması ve besin çözeltisinin havalandırılması için yeterlidir. Bitkiler köklere yapışan çözelti sisinden su ve besini alır.

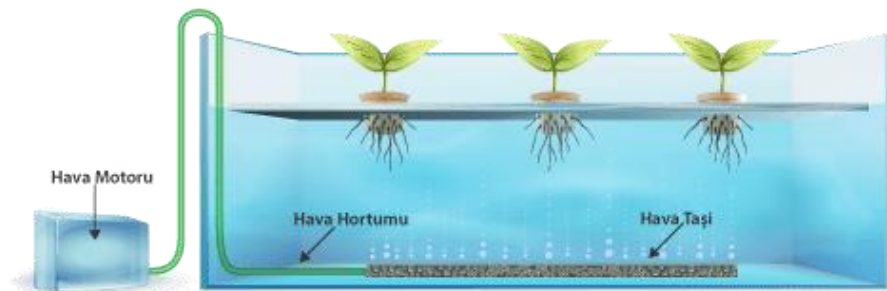
A tipi aeroponik sistemler Arizona’da geliştirilmiştir. Bu yöntemde 1,2 m x 2,4 m ölçüde geniş plastik paneller, tabanda iki panel arasındaki mesafe 1,2 m ve yandan görünümü ikizkenar üçgen olacak şekilde monte edilir. A şeklindeki panel su geçirmez özellikte olup 2,5 cm derinliğindeki besin çözeltisinin toplandığı bir hazneden oluşur.

Yetiştirme ortamında küçük tüplerde bulunan genç bitkiler panel merkezinden 18 cm aralıklarla açılan bölgelere dikilir. Bitki kökleri havada asılı kalacak şekilde, daha önce anlatılan biçimde besin çözeltisi ile sisleme yapılır. Bu sistem genellikle seralarda uygulanmaktadır. Marul, ıspanak gibi kısa boylu ve yapraklı sebzeler için uygundur. Diğer tekniklerde olduğu gibi hava, su, besin maddesi ve ışık bitkinin dört ana gereksimidir. Köklerin en iyi şekilde havalanmasını sağlamak sistemin ana avantajıdır [54].

Bu tekniğin diğer önemli avantajı, alanın maksimum kullanılmasıdır. Diğer sistemlerle karşılaştırıldığında birim alanda yetiştirilen bitki sayısı iki kat daha fazladır [54]. Ancak tek eğimli yüzeyde yetişen bitkilerin farklı yoğunlukta ışık almasıyla düzensiz gelişmeleri bir dezavantaj olarak kabul edilmektedir.

2.4.4 Derin Su Kültürü

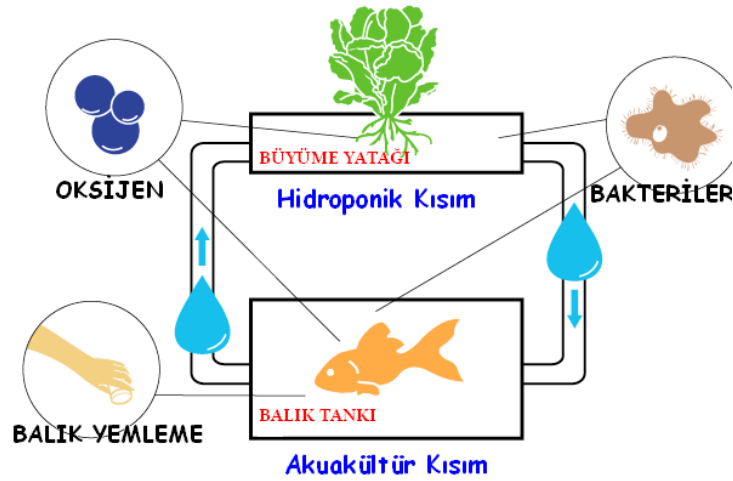
Derin su kültürü sistemleri en basit hidroponik sistemlerden birisidir [55]. Hava motoru sayesinde çıkan hava kabarcıkları, yukarıda asılı duran bitkinin köklerine oksijen verirler (Şekil 2.7). Basit bir sistem olmasına rağmen, inanılmaz sonuçlar elde edilir.



Şekil 2.7 Derin su kültürünün şematik gösterimi

2.4.5 Akuaponik

“Akuaponik” (Şekil 2.8) terimi akuakültür ve hidroponik kelimelerinin birleşiminden meydana gelen geleneksel Akuakültür (akuatik canlılardan olan balık, kerevit, karides üretimi) ile hidroponik sistemin birleşmesi ile sürdürülebilir gıda üretim sistemi alternatiflerindendir [56]. Akuakültürde zamanla suyun kirlendiğinden balıklar için tehlike arz etmektedir. Bu su, hidroponik sistemde yetişen bitkilere filtrelenip gönderilerek, bitkinin ihtiyaç duyduğu hayati besin maddelerini almasına, aynı zamanda akuakültürde yetişen canlıların suyunun temizlenerek kapalı devre simbiyotik yaşamın oluşmasını olanak verir [56].



Şekil 2.8 Akuaponik hidroponik sistemin şematik gösterimi

Akuaponik sistemi üretimin gerçekleştirildiği sahanın büyüklüğü bakımından değişiklik gösterir. Sistemler genellikle taze su içermektedir. Ancak sistemde beslenen balıkların ve yetiştirilen ürünlerin tuz ve demir gibi materyallere duyduğu ihtiyacın dengelenmesine dikkat edilmesi gerekmektedir. Akuakültür canlılarının suyun devir daim yapması akuaponik sistemin önemli hususlarından [56].

Akuaponik sistemler 2 ana kısımdan oluşmaktadır;

- a) Akuakültür Kısım: Bu kısım canlılarının yaşayıp beslendiği, atık ürettiği kısmı olarak da bilinmektedir. Söz konusu kısım, hobi amaçlı kullanılan fanuslardan, balık üretim tesislerinin kullandığı büyük su haznelerine kadar değişen ölçülerde

olabilmektedir. Göl, gölet ya da benzer su birikintilerinde de akuakültür yapılabilir.

Akuaponik sistemde genellikle balık kullanıldığından sistemin büyüklüğü ve üretim amacına göre hangi cins balığın üretiminin gerçekleştireceğinin iyi araştırılması gerekir. Üretilecek bitkilerin özellikle tuz ve demir ihtiyacıyla balıkların beslenmek için kullanacakları gıda ve ortam arasında bir denge olmalıdır. Yosunlanmayı engellemek için ise, balıklar yarı karanlık ortamda tutulur.

b) Hidroponik Kısım: Sistemle daha önceden çimlendirilmiş sebze (lahana, kabak, salata, marul) ve meyve (çilek, domates) gibi bitkilerin yetiştirildiği kısımdır.

Hidroponik kısımda bitkilerin bulunacağı ortam çok önemlidir. Yetiştirilecek bitkilere göre ortam ısı, tuz ve mineral ayarları yapılır.

2.4.6 Katı (Agregat) Hidroponik Sistemler

Topraksız yetiştiriciliğin bu sisteminde bitkinin gelişimi ve tutunması için gerekli olan katı destek, yerel olarak kullanılan katı materyallerden oluşur [57], [58]. Seçilen ortam materyalleri esnek, gevrek, su ve hava tutma kapasitesi iyi ve kolaylıkla drene edebilmelidir. Bunlara ek olarak zehirli maddelerden ve zararlı mikroorganizmalardan arındırılmış olmalıdır. Bu yöntemde bitkiler, torba, tekne, saksı, viol ve benzer biçimlerde kaplara doldurulan organik veya inorganik yapılı substratlara ekilerek yerleştirilir [57]. Besin çözeltisi belli aralıklarla damlama sulama veya yağmurlama sulama ile bu ortama verilir ve bitkiler su/besin maddelerini katı ekim ortamından alır.

Bu tekniklerin tümünde temel prensip, toprak kullanmadan yetiştirilen bitkilerin kök sistemlerine yeterli oranda besin çözeltilerini ulaştırmaktır. Besin maddesi düzeyleri bitki türüne göre hazırlanır. Bitkilerin gelişme devrelerindeki ihtiyaçları göz önüne alınarak besin çözeltilerinin içerikleri değiştirilerek uygulanır. Besin çözeltilerinin pH'ı ve elektriksel iletkenlikleri (EC) bitkilerin optimum isteklerine göre düzenlenmelidir. Tüm bunları sağlamak için çözeltiler özel tanklarda hazırlanıp daha sonra bitkilere verilir.

Yöntemin avantajlarını şöyle sıralanabilir:

- I. Bitkinin kök bölgesi için yeteri kadar nem ve hava sağlanır. Topraklı yetiştiricilikte olduğu gibi bir sıkışma söz konusu olmadığından toprak işleme ve çapalama sorunu ortadan kalkar.
- II. Toprakta bulunan ve toprakla taşınan yabancı ot tohumları bu yöntemde sorun oluşturmaz. Rüzgârla taşınan ot tohumlarının kontrolü mümkündür. Yabancı ot mücadelesine büyük ölçüde gerek kalmadığından bahsedilen sistemler daha ekonomiktir.
- III. Bitkilerin besin maddesi gereksinimi su ile birlikte temin edilir. Ayrıca gübrelemeye gerek kalmaz. Besin maddesi ve gübre kayıpları en aza indiğinden topraklı sistemlerde çevreye verilen zararlar önlenmiş olur.
- IV. Bütün bitkiler eşit miktarda ve dengeli biçimde su-besin maddelerini alır. Böylece daha homojen ve üniform ürün elde edilebilir.
- V. Su ekonomisi sağlanır. Dengeli sulama ve beslemeyle daha verimli ve kaliteli ürünler elde edilir.
- VI. Sistemin sterilizasyonu daha kolaydır.
- VII. Bu sistemler sayesinde bitkisel üretim, bitki yetiştirmeye uygun olmayan, tuzlu, taşlı, çöl ve sığ alanlarda da gerçekleştirilebilmektedir.
- VIII. Besin maddelerinin miktarları ayarlanarak bitkilerin vejetatif veya jeneratif devrede tutulmaları sağlanabilir.
- IX. Bitkiler için su stresi problemi söz konusu olmadığından verim düşüşü gözlenmez.
- X. Topraksız kültür yetiştiriciliği otomasyona uygundur. Sulama ve gübreleme otomatize edilerek iş gücünden tasarruf sağlanabilir.
- XI. Topraksız kültür yetiştiriciliğinde, kök ortamının pH'ı, tuzluluk, besin maddesi ve hava/su oranı dengeli bir şekilde ayarlanabilir.

Yöntemin dezavantajlarını ise, aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- I. Sistemi çalıştırmak için gerekli malzemelerin satın alınması ve kurulması pahalı olduğundan ilk kuruluş maliyeti yüksektir.

- II. Zaman zaman bitki beslenme sorunları ile karşı karşıya kalınabilir. Yöntemin sağlıklı çalıştırılabilmesi için bilgi birikimine sahip kalifiye elemanlara gerek duyulmaktadır.
- III. Düzenli ve kesintisiz elektrik sistemine ihtiyaç vardır. Özellikle NFT sistemindeki elektrik kesintileri çok önemli sorunlar ortaya çıkarılabilir.
- IV. Sonbahar ve ilkbahar devrelerinde sıcak mevsimlerde kök bölgesi sıcaklığı yükselebilir. Bunu engellemek için ek önlemler alınmalıdır.
- V. Çalışmanın temiz olması önemlidir. Özen gösterilmezse bazı kök hastalıklarının ortaya çıkması durumunda besin çözeltisi yolu ile hızlı bir şekilde diğer bitkilere ve bütün sisteme yayılma olasılığı vardır.

2.4.7 Açık Sistemler

Bu yöntemde besin çözeltisi pompa vasıtasıyla bitki kök sistemine verilir [59]. Fazla çözelti toplama haznelerinde tekrar biriktirilir. Besin maddesi içeriği, pH ve EC değeri gibi parametreler bakımından incelendikten sonra tekrar kullanılır. Açık hidroponik sistemlerin çoğunda besin çözeltisinin fazlası tekrar değerlendirilir. Fakat bu değerlendirilme, tekrar bitkilere uygulanması şeklinde gerçekleşmez. Fazla besin çözeltisi buharlaştırma havuzlarında buharlaştırılarak çevredeki bitkilere verilir. Bu sistemler ortamın kompozisyonu ve tuzluluğa daha az hassas olduğundan besin çözeltisi tekrar sisteme verilmez. Anlatılan bu durum yetiştirme ortamları üzerinde daha yaygın çalışmalar yapılmasına sebep olmuştur. Gübreler, sulama suyuna bir enjeksiyon cihazıyla ya da sulama suyu ile büyük bir tankta karıştırılır. Sulama, zaman saati ile programlanarak gerçekleşir. Çok büyük seralarda ise, farklı bölümlerin sulanması için selonoid vanalardan yararlanılır.

2.4.8 Kanal (Bitki Yatağı) Kültürü

Yetiştirilecek bitki türüne göre kanal kültürü hazırlanır. Kanallar 15-20 cm derinlik, 30-120 cm genişlik, % 1-1,5 eğiminde ve sera boyuna göre değişen uzunluktadır [60]. Genellikle bitki dikimi tek sıra şeklinde yapılır. Ancak yatak genişliği uzun olduğu

zamanlarda çift sıra halinde bitki dikimi gerçekleşmelidir. Kanallar, yatay veya tavana asılı dikey olarak yerleştirilebilir.

Yataklar, sera toprağında derince açılmış oyukların plastikle kaplanması ile oluşturulur. Bunun yanı sıra beton, tahta veya metal kontrüksiyon yapı üzerine yerleştirilmiş değişik malzemeler de kullanılabilir. Yetiştirme ortamının yeryüzeyinden ayrılması için yatak veya kanallar su geçirmez materyal ile kaplanır.

Bu yetiştiricilik sisteminde yetiştirme ortamı olarak torf, talaş, Hindistan cevizi tozu, kum, çakıl, peat, perlit gibi materyaller ve karışımları kullanılabilir. Bitkiler bu yapılar içersine doldurulmuş katı ortamların kullanılarak damla sulama ile üretilir. Atık su ise, yataklara verilen eğimden yardımıyla sistemden uzaklaştırılır. Fazla besin çözeltisinin drene olması için yatağın alt kısmına 2,5 cm çaplı delikli borular yerleştirilir. Uzun büyüyen bitkilerden domates, salatalık, vb. bitkiler meyve ağırlığını taşıyabilmeleri için bağlanarak desteklenmelidir.

2.4.9 Torba Kültürü

Bu sistemde bitkiler herhangi katı bir destek maddesi ile doldurulmuş torbalara yerleştirilir (Şekil 2.9). Torba kültüründe kullanılan torbalar değişik büyüklükte ve farklı renklerde olabilirler. Buna rağmen, genellikle iç kısmı siyah, dış kısmı beyaz torbalar tercih edilir [58].



Şekil 2.9 Torba kültürü

Torba kültüründe en çok kullanılan ortamlar %60 torf, %20 vermikülit ve %20 perlitten oluşur. Bu karışımlarının pH değeri 5,2-5,6 arasındadır. Bu katı ortamlar karıştırıldıktan sonra pH ve EC değerleri kontrolleri yapılarak bitkiler yerleştirilir.

Bu yöntemde bitkilere besin çözeltisi damla sulama yöntemi ile verilir. Burada dikkat edilmesi gereken husus, torbaların yan kısımlarında drenaj deliklerinin açılmasıdır.

2.4.10 Kaya Yünü

Kaya yünü, bazaltik kayaların eritilip eriğin liflere dönüştürülmesi ile elde edilir. Lifler eritildikten sonra ortama yapıştırıcı eklenip sıkıştırılmış geniş bloklar elde etmek üzere kurutulur. Daha sonra geniş bloklar, küçük bloklar şeklinde kesilir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 Kaya yünü

Kaya yünlerinin hepsinin yapısı ve kalitesi aynı değildir. En uygun kaya yünü saf bazaltik kayadan elde edilmiş üründür. Kaya yünlerinin eritme işleminden arta kalanlardan lifler üretilmektedir.

Bu kaya yünlerinin metal içeriği fazladır. Kaya yünü, kolaylıkla ısıtılabilir. Ancak sulu olarak kalmamalı ve sıvılar kolayca drene olmalıdır. Kaya yünü'nün ıslanma özellikleri birbirlerinden farklılık gösterir. Kaya yünü lifleri mineral yağ içermeleri sebebiyle doğal olarak hidrofobiktir. Yüksek kaliteli kaya yünlerindeki mineral yağlar, imalat sırasında uzaklaştırılırken içlerine mineral ıslatıcı maddeler katılır.

Kayayünü ilk defa Danimarka'da salatalık yetiştirmek üzere kullanılmıştır [58]. Tarımsal kaya yünü'nün bu formu, doğal olarak su çektiği için kolaylıkla ıslanır. Kaya yünü

üzerinde gelişen bitkiler, kaya yününden çözeltiyi emerek havanın çözeltiye oranının artmasına sebep olur. Buyüzden eğer kök bölgesinde yüksek oranda havaya gereksinim varsa sulamalar arasındaki zamanın fazla olması, hava yüzdesinin artmasını sağlar. Kaya yününden çözeltiye ulaştırmak için gerekli gerilim, sadece kaya yünü kurduğunda artar. Bunun anlamı doymuş kaya yününden bitkinin çözeltiyi almasıdır. Bu sırada kaya yünü kendi neminin %50-70'ini bitkiye verir. Bu sebeple kaya yününden gelişen bitki kaya yünü tamamen kuruyuncaya kadar su stresine girmez.

Kaya yünü bloklarının serada düzenlenmesi bitkiye göre değişir. Genellikle zemin beyaz veya siyah-beyaz polietilen ile kaplanırken kaya yünü blokları sıralara yerleştirilir ve bitkiler için bloklar üzerinde plastik delikler açılır. Su damlatıcıları deliklere yerleştirilir ve sulama sistemi açılır. Böylece bloklar çözelti ile doldurulur. Fideler bloklar üzerine yerleştirilir. Plastik zemin ile bloklarda drenaj delikleri açılır. Kaya yünü sisteminin kuruluşu oldukça basit ve ucuzdur. Bu sistemde her bitkiye bir damlatıcı ve kapasitesi 2 L/saat olan damla sulama sistemi kullanılır. Besinler 2 başlı enjektör ve besin maddesi haznesi kullanılarak verilir.

Sistemin düzenlenmesinde en önemli faktör blokların pH'ı ve EC'sinin ölçülmesidir. Örneklerin mümkün olduğunca sabah saatlerinde alınmaları önerilir. EC ve pH gün içerisinde değişiklik gösterebilir. Bunun içinde bloktaki tuzların konsantrasyonu düzenlenmelidir.

2.4.11 Kum Kültürü

Kum kültürü ile yapılan ekim denemeleri ilk defa 1960'lı yıllarda Arizona Üniversitesindeki araştırmacılar tarafından Danimarka'da yürütülen bir çalışmada başlamıştır [58]. Kum kültüründe, saf su yerine temiz dere kumu kullanılarak makro ve mikro elementlerin solüsyon şeklinde verilmesi ile bitkiler yetiştirilir. Sistemin kurulması için seranın tabanı polietilen bir örtü ile kaplanır. Bu işlem uygun ve ucuz bir yöntemdir. Bu işlemden sonra delikli borular yerleştirilir. Boruların üzerine 30 cm yüksekliğinde kum ilave edilir. Eğer kum, yüzeysel uygulanacaksa ortamdaki nem üniform dağılmayacağından bitki kökleri drenaj borularına doğru gelişir. Bitki yetiştiriciliğinde kullanılan bölgeler düzeltilerek hafifçe eğimli olacak şekilde tasarlanmalıdır. Daha sonra ise, besin çözeltisini dağıtan borular uygun şekilde

yerleştirilir. Hidroponik sistemlerin uygulanacağı bölgelerde sulama suyunun kaliteli olması oldukça önemlidir. Suyun kalitesi için tuzluluk, pH ve zararlı elementlerin bulunup bulunmadığı kontrol edilmelidir. Bitkilerin günde ortalama 8 kere sulandığı yaz aylarında sulama uygulaması büyük bir önem arz etmektedir. Amacına uygun sulamada yetiştiriciliği yapılan alanın tamamından uygulanan suyun % 4-7'sinin drene olacağı göz önünde bulundurarak sulama yapılmalıdır.

2.4.12 Perlit

Perlit volkanik kökenli alüminyum silikattır. Fiziksel olarak stabil ve biyolojik olarak steril olduğundan dolayı mükemmel bir bitki yetiştirme ortamı oluşturmaktadır. Hafif olduğu için işçilikte kolaylık sağlanır. Bitkiler tarafından kolaylıkla alınabilecek su kapasitesi yüksektir. Serbest drenaj özelliği hava kapasitesinin iyi olmasını sağlar. Nötr pH'a sahiptir. Fakat pH 5,0'ın altına düştüğünde alüminyum, zehir etkisi gösterir. Perlit, fiziksel ve kimyasal özellikleri sebebiyle köklendirme ve topraksız yetiştiricilikte tek başına yetiştirme ortamı olarak kullanılır. Aynı zamanda diğer materyallerle de karıştırılarak başarı ile kullanılabilir.

Perlitin kullanıldığı topraksız yetiştiricilik sistemleri yatak sistemi, torba kültürü, kanal yöntemi ve dikey yatay torba kültürüdür.

2.4.13 Kapalı Sistemler

Bu sistemde kullanılan besin çözeltisi yalnız bir kez kullanıldıktan sonra tekrar dolaştırılmadan yenisi ile değiştirilir [58]. Kullanılan besin çözeltisi yeni çözelti ile değiştirilir.

2.4.14 Çakıl

Katı destek olarak çakılın kapalı sistemlerde kullanılması uzun yıllar öncesine dayanır. Bugün hala kullanılmasına rağmen yerini büyük oranda NFT sistemleri ve açık agregat sistemleri almıştır. Diğer kapalı sistemlerde olduğu gibi burada da zehir etkili tuzların oluşumu engellenmelidir. Sistem içinde topraktan kaynaklanan hastalıklar ve nematodların bulunmamasına dikkat edilmelidir. Hastalık bir defa sisteme bulaşırsa besin çözeltisi ile tüm bitkilere bulaşması kaçınılmazdır.

Sistemin temel bölümleri şunlardır:

- i. Aşırı iri kum,
- ii. Besin çözeltisinin toplandığı toplama tankı,
- iii. Pompa,
- iv. Pompanın çalışmasını kontrol eden zaman ayarlayıcı mekanizma.

Bu sistemlerde besin çözeltisi yatakları yetiştirme ortamının yüzeyinde 2 cm yüksekliğinde biriktirilir. Daha sonra tekrar kullanılması için toplama tankına gönderilir. Bu sistemde yetiştirme ortamı olarak kum kullanıldığı için damla sulama sisteminin agregatı yeterince ıslatmış olmasına özen gösterilmelidir.

2.4.15 NFT veya Kaya Yünü

NFT ve kaya yününün birlikte kullandığı bu sistem ilk defa Avrupa'da geliştirilmiştir. Uygulamada üzerinde bitki bulunan küçük kaya yünü yastıkları besin çözeltisinin devir yaptığı kanallar içerisine konur [58]. İki sistemin bir arada kullanıldığı söz konusu sistemde pompaların arızalanması durumunda bitkilerin gelişmesinde olumsuzluklar görülebilir.

Kaya yünü hem açık hem de kapalı sistemlerde kullanılabilir. Açık sistemde besin çözeltisi toplanarak tekrar kullanılır. Katı ortam yetiştiriciliğinde en çok kullanılan sulama sistemi kapalı sulamadır. Açık sistemde çözeltinin besin içeriği sürekli değişir. Domates gibi hızlı gelişen bitkiler gün içinde çok fazla miktarda besin alabilir. Kapalı sistemde üretici besin verme sıklığını artırabilir. Böylece bitkiye ulaşan çözeltinin miktarından emin olunur. Kapalı sulama sisteminin kullanılmasının diğer bir sebebi de hastalıkların yayılmasının engellenmesidir. Katı ortam sistemlerinin büyük çoğunluğunda aynı kök bölgesinden yalnızca birkaç bitki yararlandığından hastalık bu birkaç bitkiye bulaşır. Açık sulama sistemi kullanıldığında bitkilerde hastalıklar daha kolay yayılabilir. Kapalı sulama sistemlerinde temel kural kök bölgesindeki besinlerin düzenlenerek sağlıklı gelişmelerinin sağlanmasıdır. Bu sistemin tek dezavantajı sulama ile verilen gübrenin bir kısmının atılmasıdır. Genellikle uygulanan besin çözeltisinin %15-20'si kaybedilmektedir.

2.5 Hidroponik Tarımda Organik Gübre Kullanımı

Geleneksel hidroponik sistemlerde organik gübreler bitki büyümesini engellediğinden kullanılmaz. Buna göre hidroponik çözeltide bulunan organik bileşenler fitotoksik olarak sayılmaktadır [2], [3], [7], [8], [10], [4], [5]. Buna rağmen, kaynakların geri dönüşümü bakımından organik gübre kaynaklarının hidroponik sistemlerde kullanılması için yöntemlerin geliştirilmesi büyük bir önem arz etmektedir.

Organik gübrelerin hidroponik (organik hidroponik) ortamlarda kullanılması bitkilerin uzay yaşama alanlarında geliştirmeleri için araştırılmıştır [2], [3], [7], [8], [61]. Garland ve arkadaşları (1997) organik gübrelerin direkt kullanımının bitki büyümesi için zararlı olduğunu ispatlamıştır [8]. Sonuç itibarıyla, organik gübreler hidroponik beslenme solusyonuna ilave edilmeden mikroorganizmalar yardımıyla ön işlemden geçirilmektedir [9], [10]. Ön işlem genellikle organik nitrojenli bileşenlerin amonifikasyonu ile nitrifikasyonu için hazırlanan iki veya daha fazla depoda (tankta) meydana gelir. Bununla birlikte, organik gübrelerde bulunan organik azottan nitrat üretim verimi %30'dan daha az olmuştur [9]. Bilindiği üzere, azotun nitrat formu bitkilerin üretimi üzerindeki etkisinden dolayı amonyum nitroje göre tercih edilir [9], [62], [63]. Hidroponik çözeltilerde amonyum karışık azot kaynağının bir parçası olarak kullanılabilir. Fakat birincil azot formu olarak kullanıldığı takdirde ürün (ekin) yetersizliği artar [61], [62], [63]. [64], [65], [66]. Pratikte başarılı bir organik hidroponik sistemi kurabilmek için organik fertilizerlerden verimli bir biçimde nitrat üretilmelidir [6].

Topraklı tarım sistemlerinde, organik gübreler doğrudan toprağa verilebilir. Organik fertilizerlerin toprağa dâhil edilmesi toprak mikroorganizmalarının indirgemesi ile gerçekleşir. Söz konusu mikroorganizmalar amonifikasyon ve nitrifikasyon yardımıyla bitki tarafından rahatlıkla absorbe edilen nitrata çevirirler. Bahsedilen olaylara karışan olan mikrobiyal gruplar hidroponik solusyonda kültüre edilebildiği halde organik gübre kullanımı mümkün olacaktır.

2006 yılında yukarıda anlatılan sorun, Shinohara tarafından balık esaslı eriyebilir gübre kullanılarak ortadan kaldırılmıştır [6]. Bu gübre kompost, deniz suyu, farklı toprak örneklerine ilave edilerek nitrat üretimi gözlemlenmiştir.

2.6 Hidroponik Tarımda Biyolojik Gübre Kullanımı

Günümüzde topraklı tarım sistemlerinde PGPR grubu bakteriler tohumların biyolojik verimlerinin arttırmak için kullanılmaktadır. Uygulanan en verimli yöntemlerden birisi Tohum Priming (Ön-Çimlendirme) yöntemidir. Bu yöntem sayesinde tohumlar ekilecekleri ortama konulmadan oradaki ekolojik koşulların etkisi altında olmaksızın uygun bakteri solusyonları ile muamele edilerek fizyolojik ve biyokimyasal olarak çimlenmeye hazır hale gelirler [67]. Bununla birlikte bitkinin ekilecek bölgede konumunu ve çimlenmesinin iyileştiren bazı fizyolojik ve biyolojik değişimler meydana gelir [68], [69]. Söz konusu yöntem, kimyasal uygulamalara nazaran verimi arttırdığından daha çok tercih edilmektedir.

Hidroponik sistemlerde biyolojik gübrelerin kullanımı ile ilgili örnek sayısı literatürde oldukça azdır.

İlk denemeler oldukça başarısız olmuştur; Arif ve çalışma arkadaşları (1995) *Cyanobacteria*'yı biyofertilizer olarak kullanarak fasulye (*Phaseolus vulgaris*), salatalık (*Cucumis sativus*), kavun (*Cucumis melo*) gibi farklı bitkiler üzerindeki etkilerini incelemiştir [70]. Fakat üçüncü haftada fasulye hariç tüm bitkilerin öldüğü rapor edilmiştir. Ekimin beşinci gününde azot elementi eksikliği bariz bir şekilde izlenmiştir. Buna rağmen bütün bitki varyetelerinde yaprak alanı genişleme göstermiştir [70].

2000 yılında Baset Mia ve arkadaşlarının hidroponik koşullar altında muz bitkisi (*Musa acuminata*) üzerinde yaptıkları çalışmada *Azospirillum* mikroorganizmasını kullanmışlardır [71], [72]. Mikroorganizma aşılı bitkilerin aşılınmamış veya ölü bakteriler ile aşılınmış muzlara nazaran daha çok sürgün büyümesi gösterdikleri izlenmiştir. Bununla birlikte bitki uzunluğu, yaprak sayısı, yaprak alanı, total sürgün ağırlığı ve kuru madde içeriğinin oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Dias ve çalışma arkadaşları (2009) marul (*Lactuca sativa*) ile gerçekleştirdikleri çalışmada biyofertilizerin yanı sıra farklı oranlarda sıvı besleyici solusyon da kullanmışlardır [73]. Daha fazla besleyici solusyon içeriğinin biyogübre ile olan uygulamalarda büyüme parametreleri üzerindeki olumlu etkileri kaydedilmiştir.

Baset Mia ve arkadaşları (2010) muz bitkisi (*Musa acuminata*) ile hidroponik koşullar altında çalışma gerçekleştirmiştir [74]. Söz konusu çalışmada biyolojik gübre olarak

PGPR kullanılmıştır. Mikroorganizma ile aşılanmış bitkilerde kök saçakları ilk yedi günde kayda değer bir biçimde uzama göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre, kök uzunluğu (%33-44), kök yoğunluğu (% 76-168) ve kütlesi (%137-141) PGPR aşıları bitkilerde artış göstermiştir. Buna ek olarak sürgün uzunluğu (%123-202) ve azot verimi (%94-144) şeklinde artmıştır. Bu bitkilerde klorofil içeriği de artış sergilemiştir.

2010 yılında dört farklı ticari biyogübre yardımıyla balkabağı üzerinde gerçekleştirilen çalışmada “Mychorriza” ve “Microalgae” ile beleyici sıvı solusyununun %20 ila %40 azalışının gerçekleştiği uygulamalarda kontrol bitkilerine kıyasla verimin arttığı ifade edilmiştir [75].

Literatürdeki mevcut çalışmaların büyük çoğunluğuna göre, biyogübre uygulamaları bitkisel büyüme ve verim üzerinde dikkate değer bir biçimde olumlu etki göstermektedir.

2.7 Ekmeden Önce Tohum Ön İşlemi (Seed Priming)

Bitki hayat döngüsünde çimlenme ve fide yerleşmesi, en hassas aşamalardan birisidir. Doğal koşullar altında, dormansi (tohum uyku aşaması) çimlenmeyi mevsim değişikliklerinden etkilenerek denetler. Ekin yetiştirilmesinde bitki yoğunluğu ve tekbiçimliliği oldukça büyük bir önem arz etmektedir. Değerli hibrid sebze ve çiçek tohumlarının yetiştirilmesi açısından, elverişsiz çimlenme koşullarının bitki çimlenmesi ve üniformluğuna etkilememesi önemlidir.

“Seed priming” işlemi tohumların kontrollü bir biçimde hidrasyonu ve ardından dehidrasyonu olarak açıklanır [76], [77]. Bu sayede tohumdaki dormansi olayı engellenir ve çimlenme hızlanır [78]. Brocklehurst ve Dearman (1983), havuç (*Daucus carota* L.), kereviz (*Apium graveolens* L.), ve soğan (*Allium cepa* L.) tohumlarına uygulanan priming işleminin ortalama çimlenme hızını artırdığını göstermiştir [79]. Bradford ve arkadaşları (1990) ise, aynı sonucu biber (*Capsicum annuum* L.) için almışlardır [76]. Coolbear ve McGill (1990), priming işlemine tabi tutulmuş domates tohumlarının sıcaklık ve ozmotik strese karşı daha dirençli olduklarını göstermiştir [80].

Günümüzde dört farklı priming metodu kullanılmaktadır. Bunlar hidro priming, ozmotik priming, katı katriks priming ve fıçı (drum) priming teknikleridir.

Hidropriming; tohumların suyu sokulmak suretiyle dormansinin kırılması sağlamak amacıyla uygulanmaktadır [81]. Burada kullanılan suyun havalandırılması tercih edilir. Söz konusu uygulama özellikle kurak bölgelerde bitki yetiştirmek için kullanılır.

Ozmotik priming; ozmotik priming işlemi, ozmo priming veya ozmotik koşullandırma tekniği olarak da bilinmektedir [82]. Bu işlem sırasında tohumlar mannitol, potasyum nitrat (KNO_3), potasyum klorür (KCl), polietilen glikol (PEG), veya sodyum klorür (NaCl) gibi kimyasal solüsyonlara daldırılır. Bunlara ek olarak bitkisel hormonlar veya yararlı mikroorganizmalar bahsedilen çözeltilere eklenebilir.

Katı matriks priming; Bu priming metoduunu uygulanması amacıyla tohumlar çözelmeyen, katı bir matriks içerisinde bekletilir [83]. Bahsedilen matriks vermikülit, diatome toprak veya suyu yüksek derecede absorbe eden başka bir polimer olarak seçilebilir.

Fıçı priming; Bu işlem sırasında, tohumların hidrasyonu dönen bir fıçının içine yerleştirmeleri ile gerçekleştirilmektedir [84]. Burada serbest bırakılan su buharı kontrolü olarak meydana gelir.

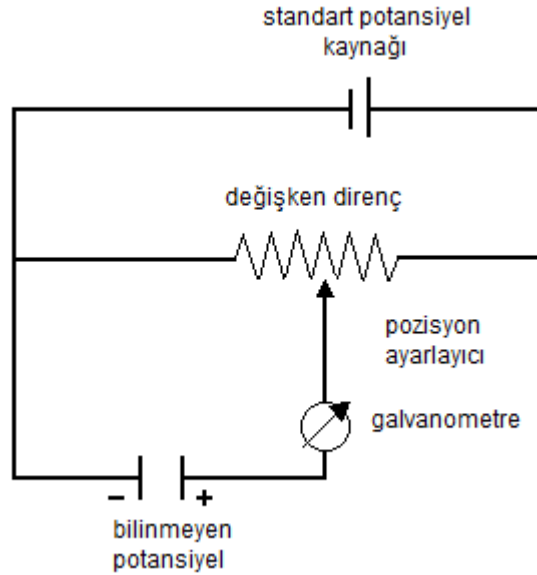
Günümüzde yukarıda anlatılan priming işlemlerine ek olarak bitkiye özgü olarak uygulanan, verim üzerindeki etkisi ispatlanmış yeni yöntemlerden birisi “biyopriming” işlemidir. Biyopriming, çeşitli biyokontrol ajanlarının kullanılması ile priming işlemi sırasında tohumların kaplaması olarak ifade edilmektedir. Sistemik biyoajanın tohuma yerleştirilmesi için çoğunlukla aseton, diklorometan (DCM) ve polietilen glikol (PEG) kullanılır.

Biyopriming tekniği sayesinde bitkiler pek çok hastalığa karşı dirençli hale getirilmeye amaçlanır. Bu amaçla akademik çalışmalar devam ederken, tarımsal alanlarda uygulamaları için çeşitli formülasyonlar denenmektedir. Revaçta olan uygulamalarda biopriming, diğer priming işlemleri ile beraber kullanılır.

2.8 Potansiyometri

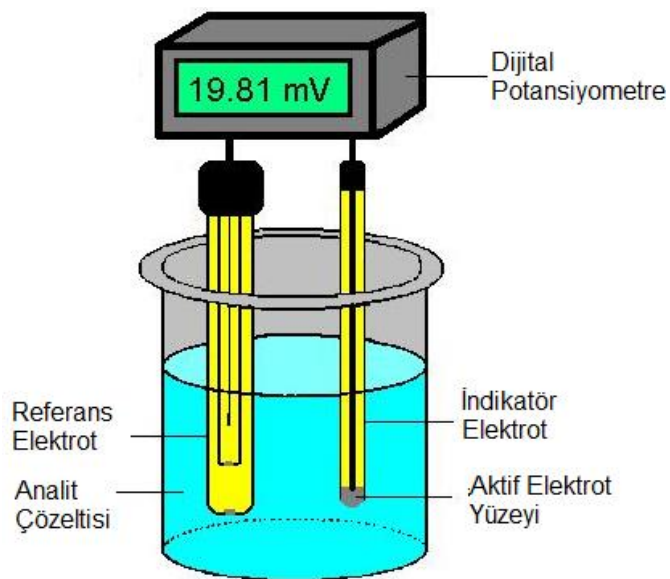
Potansiyometri; akımın çok az geçtiği sistemlerde, indikatör elektrotla referans elektrot arasında ortamdaki iyonların aktivitelerine bağlı olarak değişen potansiyel farkın ölçüldüğü elektrokimyasal bir tayin yöntemidir.

Şekil 2.11’de bir potansiyometrenin çalışma prensibini ifade eden elektriksel bir devre şematik olarak gösterilmiştir. Değişken direnç ayarlanarak, standart potansiyel bilinmeyen potansiyele karşı işaretlenir. İki potansiyel eşit olduğu an, galvanometreden herhangi bir akım geçmediğinden bilinmeyen potansiyel, değişken direncin pozisyonundan okunabilir.



Şekil 2.11 Potansiyometrenin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi

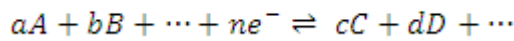
Potansiyometrik sistem, bir test hücresi (elektrolitik çözelti), buna bağlantılı olan indikatör elektrot (değişken potansiyel) ve referans elektrotu (sabit potansiyel) ile yüksek empedanslı bir potansiyometreden oluşur (Şekil 2.12).



Şekil 2.12 Basit bir potansiyometrik sistem

2.8.1 Potansiyometri Tekniğinin Tayin İlkesi

Membran kaplı bir iyon seçici elektrotta, iyon seçici membran vasıtasıyla iç standart ve test çözeltisindeki iyonları birbirinden ayrılır. Elektronlar, iyonlar veya test edilen iyonun yüklü veya nötral kompleksleri, membranın iç kısımlarına doğru iç standart çözeltinin kompozisyonu ile orantılı olarak taşınır. Bu şekilde oluşan faz sınır potansiyeli [85], standart referans elektrot yarı hücresiyle membran elektrot yarı hücresi birleştirilerek ölçülür.



Bir elektrodun potansiyel farkı (E), Nernst (Nernstian) Eşitliğiyle verilmektedir (Eşitlik 2.1).

$$E = E^0 - \frac{R.T}{n.F} \ln \frac{[C]^c \cdot [D]^d \dots}{[A]^a \cdot [B]^b \dots} \quad (2.1)$$

E = İndikatör elektrot potansiyeli

E° = Standart elektrot potansiyeli

R = Gaz sabiti, 8.314 J.mol⁻¹.K⁻¹

T = Sıcaklık, Kelvin (0 °C, 273.15 K)

F = Faraday sabiti (96486 J.volt⁻¹)

[A], [B], [C] ve [D] = Elektrotta hissedilen iyon aktiviteleri

a, b, c ve d = yarı reaksiyonda yer alan her bir türün mol sayısı

n = Alınan-verilen elektron sayısı veya membrandaki aktif iyon yüküdür.

a_i, iyon aktivitesi olmak üzere, eşitlik tek bir iyon için yazıldığında ise, Eşitlik 2.2'ye dönüşür.

$$E = E^0 \pm \frac{R.T}{n.F} \ln a_i \quad (2.2)$$

($\pm$) ; Anyonlar için (-), katyonlar için (+).

Eğer iyon aktivitesi a_1 'den a_2 'ye değişirse potansiyel değişimi Eşitlik 2.3'teki gibi ifade edilir.

$$E = E^0 \pm \frac{R.T}{n.F} \ln \frac{a_2}{a_1} \quad (2.3)$$

Çözeltide iyon aktivitesinin değişiminden kaynaklanan elektrot cevabı logaritmik olarak gözlenir (Eşitlik 2.4).

$$E = E^0 \pm \frac{2,303.R.T}{n.F} \log \frac{a_2}{a_1} \quad (2.4)$$

Ölçümler 25°C de alındığı takdirde sabit sayılar yerine yazılmasıyla Nernst Eşitliği aşağıdaki forma dönüşür.

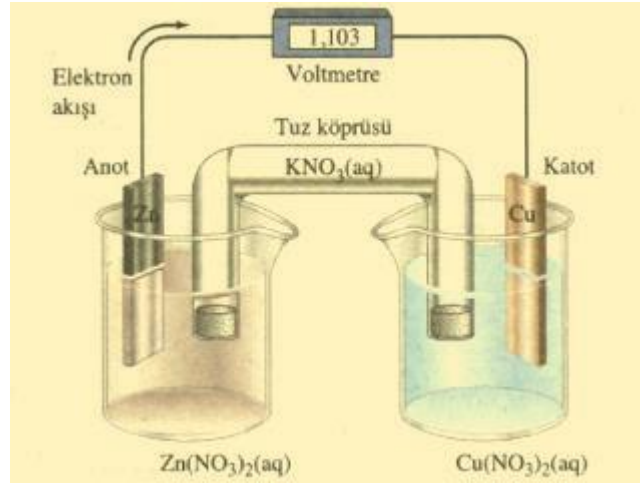
$$E = E^0 \pm \frac{0,0592}{n} \log \frac{a_2}{a_1} \quad (2.5)$$

Buna göre 25°C'de E-log a ilişkisinin teorik değişimi n yüklü iyonlar için 59.2/n mV olarak hesaplanır. Bu değişim genel olarak katyonlar için pozitif anyonlar için ise, negatiftir. Dolayısıyla tek yüklü, iki yüklü ve üç yüklü iyonlar için bu değer sırasıyla 59.2, 29.6, ve 19.8 mV şeklinde ifade edilir [86].

2.9 Sensörler (Elektrotlar)

Elektrot, birden fazla devrenin yanyana getirilmesiyle oluşan ve bu devreler arasındaki potansiyel farkını ölçmeye yarayan düzeneklerdir [87]. Buna göre elektrotlar elektrik iletkenleri olup bir devrenin metal olmayan kısmı ile bağlantıyı sağlar. “Elektrot” kelimesi ilk defa Michael Faraday tarafından kehribar anlamına gelen Yunanca “elektron” kelimesinden türetilmiştir.

Elektrokimyasal hücrelerde elektrotlar anot ve katot olarak birbirinden ayrılmaktadır. Anot, adı geçen hücrede elektronların göçtüğü oksidasyonun meydana geldiği elektrot olarak bilinirken, katot ise, elektronların kabul edildiği redüksiyonun gerçekleştiği elektrot olarak bilinmektedir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 Örnek bir elektrokimyasal hücre

Birincil elektrokimyasal hücrelerde reaksiyon dönüşümlü olmayaıp anot her zaman negatif elektrot iken, katot ise, pozitif yüklüdür. Buna ek olarak sistemin tekrar yüklenmesi söz konusu değildir.

İkincil elektrokimyasal hücrelerde ise, reaksiyonlar dönüşümlü olup hücre deşarj olabildiği gibi tekrardan da yüklenebilmektedir.

2.9.1 Referans Elektrotlar

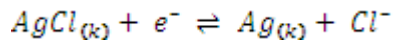
Bir potansiyometrik hücrede potansiyeli değişmeden kalabilen elektrotlara “standart (referans) elektrotu” denir [88]. Diğer bir deyişle, standart elektrot, potansiyeli tam olarak bilinen bir yarı hücredir. Referans elektrotların potansiyeli, üzerinde çalışma yapılan çözeltiye bağlı olmayıp incelenen çözeltide bulunan analitin veya diğer iyonların konsantrasyonundan etkilenmez. Fakat sıcaklıkta meydana gelen değişimler referans elektrotların potansiyellerinde bir miktar değişime sebep olabilir. Referans elektrotlarda bulunan iç çözelti seviyelerinin ölçüm esnasında numune çözeltisinin seviyesinden daha yüksekte tutulması önerilir. Çünkü numuneden gelen bazı iyonlar elektrot içerisine difüze olarak Ag^+ veya Hg_2^{2+} iyonlarıyla çökelek oluşmasına sebebiyet

vereilmektedir. Bundan kaynaklanan hataların en aza indirilmesi için çift bölmeli referans elektrotların kullanılması tercih edilen çözümlerden birisidir [89].

2.9.2 Gümüş/Gümüş Klorür Referans Elektrodu

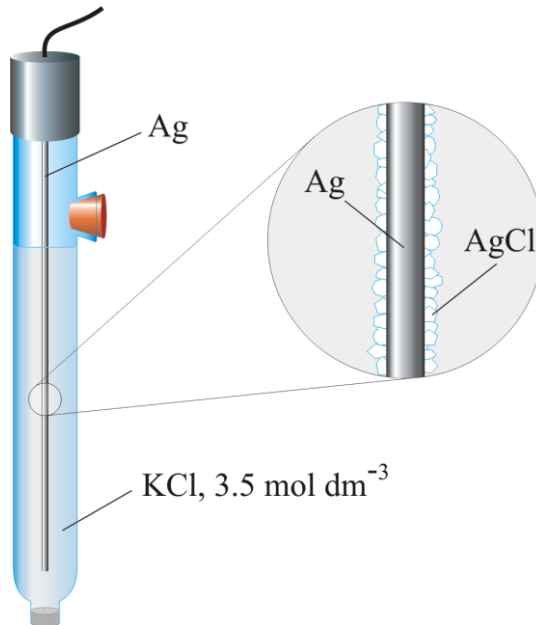
Gümüş/gümüş klorür referans elektrodu, bir gümüş telin yüzeyinin AgCl ile kaplanmasıyla elde edilir (Şekil 2.14). Elektrot derişik KCl çözeltisine yerleştirildiği zaman standart hidrojen elektroduna karşı 25 °C sıcaklıkta 198 mV'luk bir potansiyel üretir. Üretilen potansiyel, Nernst eşitliği ile de tanımlandığı üzere, çözeltinin klorür konsantrasyonu tarafından belirlenmektedir [88].

Klorür konsantrasyonu sabit kaldığı sürece elektrodun potansiyeli de sabit kalır.



$$E = \frac{E_{AgCl}^0}{Ag} - 0.0592 \log[[Cl]^-] \quad (2.6)$$

Bu elektrotta en çok kullanılan elektrolit KCl' dir. KCl, pH ölçümlerinde girişim yapmaz. Diğer yandan potasyum iyonu ile klorür iyonunun mobiliteleri hemen hemen birbirine eşittir. Elektrodun hücre ile bağlantısı gözenekli bir tuz köprüsü ile sağlanır.

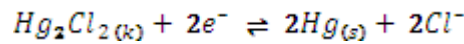


Şekil 2.14 Ag/AgCl referans elektrot

Basit, ucuz, kararlı, toksik etkiye sahip olmaması, üretiminin kolaylığı ve 275 °K'lik sıcaklıkları bile kapsayan geniş bir sıcaklık aralığında kullanılabilmesinden dolayı en yaygın kullanılan referans elektrottur. Buna ek olarak, çok küçük ebatlarda üretilmesi de toksik civa içeren kalomel elektroda karşı en önemli üstünlüklerinden biridir. Fakat adı geçen Ag/AgCl elektrotta, çözeltilerle temas eden tuz köprüsünün çözünmeyen gümüş kompleksleri ile tıkanma eğilimi büyük bir dezavantaj olarak gösterilmektedir [90].

2.9.3 Kalomel Referans Elektrot

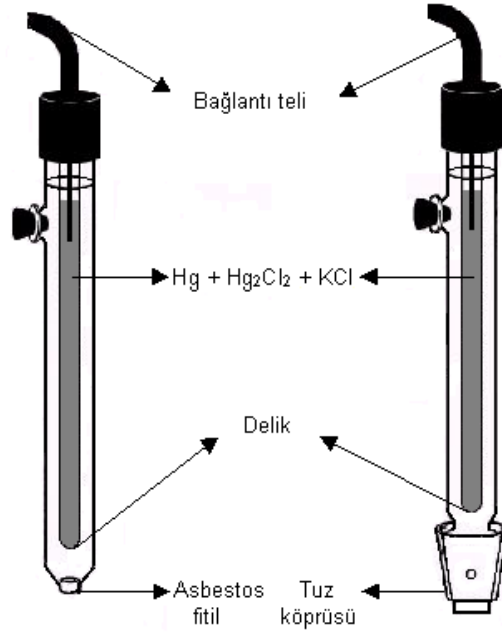
Kalomel elektrot, standart hidrojen elektroduna karşı 25 °C sıcaklıkta yaklaşık 244 mV potansiyel oluşturan bir civa/civa klorür hücresi olarak tanımlanmaktadır [88] (Şekil 2.15). Elektrotta gerçekleşen reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Eşitlik 2.7'den de anlaşıldığı üzere yarı hücre potansiyeli, klorür iyonu konsantrasyonuna bağlıdır.

$$E = E^0_{Hg_2Cl_2/Hg} - 0.0592 \log[[Cl]^-] \quad (2.7)$$

KCl yönünden doymun iç referans çözeltisinin kullanıldığı kalomel elektrot “doymun kalomel elektrot” olarak isimlendirilir. Doymuş KCl çözeltisi kullanılmasının sebebi, sıvının bir miktarının buharlaşması durumunda bile klorür konsantrasyonu değişmemektedir.



Şekil 2.15 Kalomel referans elektrotun yapısı

Sıcaklıktan etkilenme oranı gümüş/gümüş klorür referans elektrotu göre daha fazladır. Bu yüzden 80 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda tercih edilmez [90]. Ayrıca, içerdiği cıvanın toksik olması da önemli bir dezavantajdır. Gümüş/gümüş klorür referans elektrotu göre kirlenmeye daha az eğilimlidir. Çünkü cıva/cıva klorür ara yüzey bir tüpün içerisinde muhafaza edilir ve doğrudan elektrolitle temas halinde değildir.

2.9.4 Diğer Tip Referans Elektrotlar

Son yıllarda gelişen mikro üretim teknikleri iyon seçici elektrotların mikro boyutlarda üretimini imkân vermiştir. Ancak mikro boyutlarda iyon seçici elektrot sistemlerinin üretimi, klasik referans elektrotların özelliklerine sahip mikro boyutlarda uygun referans elektrotların üretilmemesi sebebiyle bazı sorunlarla karşı karşıyadır. Bu sebeple, son yıllarda mikro referans elektrotların üretilmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Kullanımda olan mevcut mikro referans elektrotlar genel olarak bir Ag/AgCl elektrodun, içerisine elektrolit ilave edilmiş polimerik bir maddeyle kaplanması [91], [92], [93] ya da elektrolit içeren hidrojele daldırılmasıyla hazırlanır. Kullanılan hidrojinin bir ucu sıvı temasını sağlayan hidrofobik bir membranla kaplanır. Ramires ve ark. (2005), bakır tel yüzeyine grafit epoksi karışımı uygulayarak kompozit bir referans elektrot üretmişlerdir [94]. Maminska ve Wroblewski (2006), Ag/AgCl'nin yüzeyini önce

poliHEMA ile kaplayıp 0,01 M KCl çözeltisinde koşullandırdıktan sonra, yapısında lipofilik tuz içeren PVC ile kaplayarak bir mikro referans elektrot elde etmişlerdir [95]. PVC membrana eklenen lipofilik tuz büyük anyon ve katyonlardan oluştuğundan, elektrot sinyaline çözeltideki iyonik türlerden gelen etkileri azaltarak sabit ve kararlı bir potansiyel üretilmesine katkı sağladığı ifade edilmiştir. Buna rağmen uzun süreli sabit ve kararlı potansiyele sahip mikro referans elektrotlar hala üretilmemiştir.

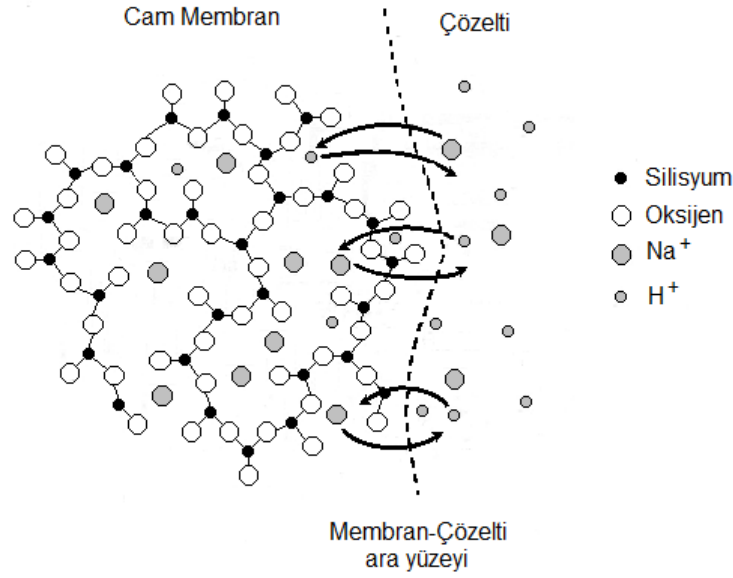
2.9.5 İyon Seçici Elektrotlar (ISE)

İyon seçici elektrotlar (ISE), farklı iyonların varlığında seçici oldukları iyonların aktivitelerinin potansiyometrik olarak belirlenmesine imkân veren elektrokimyasal sensörlerdir. ISE'ler ile yapılan ölçümler genellikle sulu çözeltielerde yapılmaktadır [96]. Bu sensörlerin yüklü türlere karşı cevabı, cam, katı kristal, seramik veya polimer gibi farklı maddelerden hazırlanan iyon seçici membranlar tarafından oluşturulur [97]. İyon seçici elektrotlar, serbest iyonun aktifliğine duyarlı olduğundan iyonik şiddet sabit tutulduğunda konsantrasyon aktiflikle doğru orantılı olup ISE ile konsantrasyonlar elde edilir. Bununla birlikte, hiçbir elektrot sadece tek bir iyonla cevap vermediği halde, belli bir iyonla karşı bariz bir seçicilik gösterir. Sensörlerin seçici özellikleri, membranı oluşturan materyalin yapısı, veya ölçülecek türe özgü kompleks oluşturuucu ajanların membranın yapısına katılmasıyla ortaya çıkar. İyon seçici elektrotlar olarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

- Cam iyon seçici elektrotlar,
- Kaplama tel elektrotlar,
- Katı hal iyon seçici membran elektrotlar,
- Gaz ve enzim elektrotlar,
- Sıvı membran iyon seçici elektrotlar,
- Kompozit elektrotlar.

2.9.6 Cam İyon Seçici Elektrotlar

Seçici membranının ince bir cam parçası olduğu iyon seçici elektrotlar cam elektrot olarak bilinir. Cam elektrodun seçiciliği camın kimyasal bileşimine bağlı olup genel olarak cam elektrotlar, H^+ iyonuna karşı duyarlılıkları ile tanımlamaktadır (şekil2.16).



şekil 2.16 Membran çözelti ara yüzeyindeki iyon değişimi

Konsantrasyonları farklı iki asit çözeltisi özel olarak hazırlanmış bir cam membran ile ayrıldığında protonlar cam membranının silikat yapısındaki hareketli sodyum iyonlarıyla yer değiştirir [96]. Böylece membranın iç ve dış yüzeyindeki H^+ konsantrasyonunun değişimiyle bir potansiyel farkı gözlemlenir. Oluşan bu potansiyel farkı ölçülerek Nernst eşitliğinden H^+ konsantrasyonu hesaplanabilir. Buna göre, pH ile potansiyel fark arasındaki ilişki Eşitlik 2.8'deki gibidir.

$$E_H = k(sbt) - 0.0592.pH \quad (2.8)$$

Buna ek olarak, değişik cam kompozisyonları ile tek yüklü katyonlara (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) duyarlı cam elektrotlar üretilmiştir. Bu cam membranlar; Al_2O_3 , B_2O_3 , SiO_2 , Na_2O , Li_2O , K_2O , GeO_2 , Rb_2O , Cs_2O , CaO gibi metal oksitlerin değişik kombinasyonlarının farklı oranlarda biraraya getirilmeleriyle elde edilmiştir. Örneğin, Eisenman ve ark. (1957) Na^+ ve K^+ -seçici cam elektrotların bileşimlerini % mol cinsinden sırasıyla $SiO_2-Al_2O_3-$

Na_2O (71:18:11) ve $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ (63:7:27:3) olarak göstermişlerdir [98]. Eisenman (1962)'ın bildirdiğine göre Schiller (1924) camın yapısındaki Al_2O_3 ya da B_2O_3 oranının artmasının camın hidrojen iyonu yanında Na^+ iyonuna karşı da duyarlılığının artmasına sebep olmuştur [99]. Eisenman diğer bir çalışmada, K^+ ve H^+ iyonlarına karşı en iyi Na^+ seçiciliğinin lityum-alümino-silikat sisteminde elde edildiğini, membranın Na^+ iyonuna, K^+ iyonundan 100000 kat daha seçici davrandığını ifade etmiştir [99]. Abe ve ark. (1997) yaptıkları bir çalışmada sodyum-alümina-silikat sistemlerinde mol cinsinden $\text{Na}_2\text{O}/\text{Al}_2\text{O}_3$ oranı 1 olduğunda elektrodun düşük Na^+ konsantrasyonlarında bile iyi bir potansiyometrik cevap sergilediğini belirtmişlerdir [100].

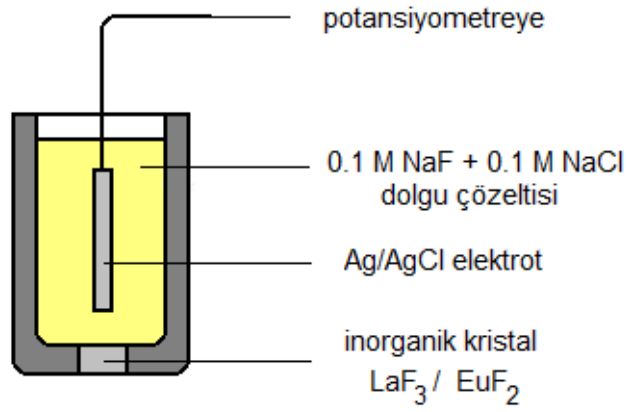
2.9.7 Kaplama Tel Elektrotlar

İndikatör kaplama tel elektrotları, bazı polimer veya sıvı membranların bir metal tel üzerine doğrudan kaplanmasıyla hazırlanır [101], [102], [103], [104], [105]. Burada genel olarak kaplama Pt, Ag, Cu veya Ag/AgCl yüzeyin üzerine yapılmaktadır. Bu tip elektrotlardaki en önemli sorunlardan birisi, kaplanan membranın metal yapı ile uyumsuzluğundan dolayı kaynaklanan, metal yüzeyin tele iyi yapışmamasıdır.

2.9.8 Katı Hal İyon Seçici Membran Elektrotlar

Bu tür elektrotlar, özel yöntemlerle hazırlanan iyonik kristallerden ibaret olup katı materyal, iç çözelti ile dış çözelti arasında bir iyon seçici zar gibi davranmaktadır.

Bu tip elektrotların bir iyonla duyarlılığı, bu iyonun membran matriksi içinde bağlı hareketliliğine ile membranın iyon değişim kapasitesine bağlıdır. Şekil 2.17'de, 1969 yılından beri kullanılan F^- -seçici katı hal kristalin elektrotun şematik yapısı görülmektedir.



Şekil 2.17 F⁻ iyonu seçici katı hal kristalin elektrot

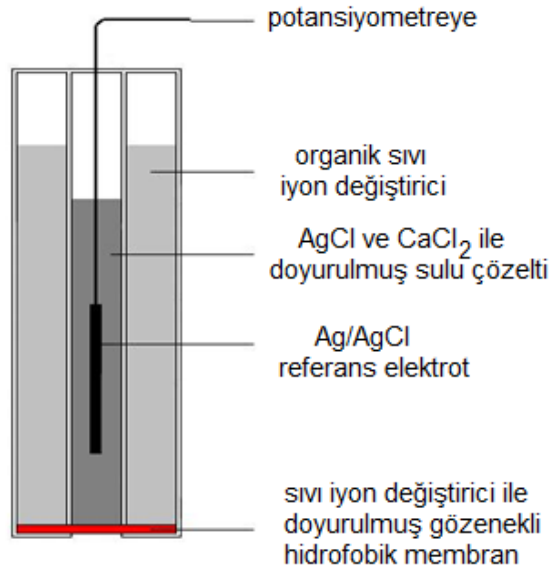
Bu elektrotta membran olarak EuF₃/LaF₃ kristali kullanılmıştır. Diğer yandan bu sınıf elektrotlarda bazı az çözünür tuzların (örneğin Ag₂S) preslenmiş peletleri de membran olarak kullanılabilir [106].

Çizelge 2.2 Bazı katı hal iyon seçici elektrotlar ve çalışma aralıkları [107]

Ölçülen İyon	Membran	Ölçüm Aralığı, M	Ölçülen İyon	Membran	Ölçüm Aralığı, M
F ⁻	LaF ₃	Doygun-1.10 ⁻⁷	Ag ⁺	Ag ₂ S	Doygun-10 ⁻⁸
Cl ⁻	AgCl	1-10 ⁻⁵	Cd ²⁺	CdS/Ag ₂ S	10 ⁻¹ -10 ⁻⁷
Br ⁻	AgBr	1-10 ⁻⁶	Cu ²⁺	CuS/Ag ₂ S	1-10 ⁻⁹
I ⁻	AgI	1-10 ⁻⁸	Pb ²⁺	CuS/Ag ₂ S	10 ⁻¹ -1.10 ⁻⁷
SCN ⁻	AgSCN	1-10 ⁻⁵			

2.9.9 Sıvı Membran İyon Seçici Elektrotlar

Sıvı temelli iyon seçici elektrotların çalışma prensibi katı hal ve cam elektrotların çalışma prensibine benzemektedir. İyon miktarı ile ilişkili bir membran potansiyelinin oluşabilmesi için, membranın her iki yüzeyinde bir iyon değişim dengesi bulunur. Potansiyelin ölçülebilmesi için membrandan çok küçük bir elektrik akımının geçebilmesi gerekmektedir. Cam elektrotta bu akım, cam içerisindeki hareketli H⁺ iyonları ile gerçekleşir. Sıvı membranlarda ise, söz konusu akım, membran içinde hareketli anyon veya katyonlar vasıtasıyla taşınır (Şekil 2.18).



Şekil 2.18 Sıvı membran iyon seçici bir elektrot

Daha önce üzerinde çalışılan bazı sıvı membran iyon seçici elektrotlar ve özellikleri Çizelge 2.3'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.3 Bazı sıvı membran iyon seçici elektrotlar ve özellikleri

ISE	Doğrusal Çalışma aralığı, [2]	İyon değiştirici	Plastikleştirici	pH aralığı	Girişim yapan türler	Referanslar
Ca^{2+}	$8 \times 10^{-7} - 10^{-1}$	Dimetil 1-(4-nitrobenzill)-8-okso-2,8-dihidro-1H-pirazolo[5,1a]izindol-2,3-dikarboksilat	Nitrofenil oktileter (NPOE)	3-11	K^+ , Ba^{2+}	(Zamani ve ark., 2006)
Na^+	$3 \times 10^{-5} - 10^{-1}$	N,N-dialkil-sim-dibenzo-16-crown-5-oksiasetamit	Dioktil sebakat (DOS)	2-9	K^+	(Ohki ve Maeda, 1994)
NO_3^-	$5 \times 10^{-6} - 1$	Trioktilmetil amonyum klorür	Dibütilftalat (DBP)	2-9.5	Salsilat, I^- , Br^- , SCN^- , CN^-	(Ardakani ve ark., 2004)
ClO_4^-	$10^{-6} - 1$	2,2'-[1,2-etandil-bis(nitriloetilidin)]-bis-fenolato uranil	Dibütilftalat (DBP)	3.5-12	Cl^- , F^- , NO_2^- , HCO_3^-	(Ardakani ve ark., 2005)
I^-	$10^{-6} - 10^{-1}$	bis(2-merkaptobenzotiazolat o) civa(II)	Dibütilftalat (DBP)	2.5-11	SCN^- , NO_2^- , ClO_4^-	(Amini ve ark., 2003)

Değişik bileşenler uygun oranlarda bir araya getirilerek sıvı membranlar oluşturulur. Bu bileşenler ve özellikleri kısaca şu şekilde sıralanabilir:

Polimer matriks; Polimer matriksler, içerisine iyonofor maddelerin eklenmesiyle birçok farklı tür için seçici elektrotların oluşturulmasında kullanılır. Polimer matriks membrana mekanik kararlılık sağlamak ile beraber biyolojik uyumluluk, tutunma gibi ek özellikler de kazandırır. ISE hazırlamada kullanılan polimerlerin sahip olması gereken önemli özelliklerden birisi camsı geçiş sıcaklıklarının oda sıcaklığının altında olmasıdır [108]. Silikon [109], bazı metakrilatlar [110] ve poliüretanlar [111] bu özelliği taşıyan polimerler olarak belirtilir. Buna rağmen, en yaygın kullanılan polimer PVC'dir. PVC kullanılarak hazırlanan membranlarda plastikleştirici madde de 1:2 oranla kullanılmalıdır.

Plastikleştirici; Plastikleştiriciler polimer matriksin vizkozitesini azaltmak, membran fazında yer alan bileşenlerin hareketliliğini sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. PVC membranların ağırlıklı bileşenleri olan plastikleştiriciler, hem iyonların organik faza taşınımını, hem de iyonofor maddeyle kompleksleşmelerini etkileyen bir membran çözücüsü olarak işlev görürler [112], [113], [114]. Homojen bir organik faz elde edebilmek için kullanılan plastikleştiriciler polimerle uyumlu olup diğer membran bileşenlerini de içerisinde çözebilmelidir. ISE membranlarının yapılarında en çok kullanılan plastikleştiriciler, 2-nitrofenil oktil eter (o-NPOE, polar) ve bis (2-etilhekzil) sebekat (DOS, apolar)'tır.

Lipofilik iyonik katkı maddesi; lipofilik iyonik katkı maddeleri, iyon değişimine katılmayan lipofilik anyon/kasyon ve iyon değişimine katılan karşıt iyonlardan meydana gelen tuzlardır. İyonik kısımlar nötral iyonik taşıyıcı içeren membranların elektronötralitesini sağlayarak ana iyonla birlikte önemli miktarda karşıt iyonun membran fazına geçişini azaltmaktadır. Böylece membran sadece ana iyon ile aynı yüke sahip iyonlar için geçirgen olup teorik Nernst davranışı sergiler. Ayrıca lipofilik iyonik kısımlar, membranın elektrik direncini azaltırlar. Söz konusu özellik mikro boyutlarda elektrotlar için önem ar etmektedir. ISE membranları çok küçük miktarlarda iyonik katkı maddeleriyle uygun bir şekilde çalıştıkları halde, iyonik kısımların katkı

maddelerinin eklenmesi tavsiye edilir. Lipofilik iyonik kısımların varlığı, ölçülen iyonun toplam konsantrasyonunu membran fazında sabit tuttuğu gibi iyon-iyonofor kompleksinin optimum stokiyometrisi ile membran seçiciliğinin ayarlamasında kullanılabilir [115].

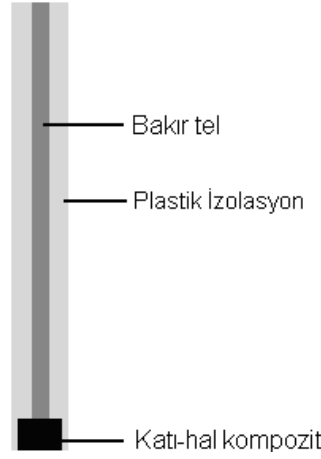
Lipofilik tuz; başlangıçta lipofilik tuz veya lipofilik inert elektrolitlerin membrana eklenmesi, iyon değiştirici özelliği olmadığından membranın elektriksel direncini düşürmek için önerilmiştir [116]. Daha sonra ise, membrana tetradodesilamonyum tetrakis (4-klorofenil) borat (ETH 500) ilavesinin, membranın düşük polarlığa sahip ve düşük miktarda aktif bölge içermesi durumunda, çift yüklü iyonların seçiciliklerini tek yüklü iyonlara karşı artırdığı ifade edilmiştir [117].

İyonofor; iyonoforlar membranın seçiciliğini belirleyen anahtar bileşenlerdir. İdeal durumlarda iyonoforlar hedef iyonla geri dönüşümlü, kısmen güçlü kompleksler oluşturlarken, diğer iyonlarla kompleks oluşturmazlar. Membran bileşimini sabit tutmak amacıyla iyonofor madde membranın içerisinde tutuklanmalıdır. Bu sebeple iyonofor madde, bağlanma merkezleri dışında çok sayıda lipofilik gruplar da bulundurulmalıdır.

Sıvı membran elektrotlarında, membran hidrofobik bir iyon değiştirici emdirilmiş sıvıdan oluşmaktadır. İyon değiştiricilerin genel özelliği, zıt işaretle yüklü bölgelerinden ve organik nötral bölümlerinden küçük iyonları bağlama yeteneği olarak açıklanmaktadır. Membran yüzeyinde iyon-değişim işlemi daha hızlı olup elektrodun seçiciliği özellikle bu iyon değişim işlemi sırasında oluşan kompleksin kararlılığına bağlıdır.

2.9.10 Kompozit Elektrotlar

"Non-konvensiyonel katı hal iyon seçici elektrotlar" olarak da bilinen kompozit elektrotlar, iyon seçici elektrotların yeni bir türü olup 1980'li yıllarda üretilmeye başlanmıştır (Şekil 2.19).



Şekil 2.19 Katı Hal Kompozit Elektrot

Minyatür olarak hazırlanabilme ve uzun ömürlü olma özelliklerinden dolayı ilgi çekici bir elektrot tipi olup karbon ve polimerik inert bir matriks içine organik veya inorganik iyon değişim reçinesinin eklenmesi yoluyla hazırlanmaktadır [118]. Son yıllarda hazırlanan metakrilat ve akrilat temelli kompozit elektrotlar düşük tayin limitlerine sahip olma özellikleri ile dikkat çekmektedir [119].

2.9.11 İyon Seçici Elektrotların Performans Özellikleri

2.9.12 Seçicilik

Sadece tek bir iyonik türü ölçen bir ISE olmadığından A iyonunu ölçmek için kullanılan bir elektrot B iyonuna da duyarlı olabilir. Diğer iyonların varlığı elektrot performansını önemli ölçüde etkiler.

Seçicilik ilk kez Nikolskiy tarafından hidrojen ve sodyum iyonlarına duyarlılık gösteren cam elektrot için kullanılan bir tanımdır. Elektrot potansiyeli, seçicilik katsayıları kullanılarak Nikolskiy-Eisenman eşitliği (Eşitlik 2.9) ile ifade edilmektedir.

$$E = E^{\circ} + \frac{0.0592}{n} \log \left[a_A + \sum \left[\left(k_{A,B}^{pot} a_B^{z_A/z_B} \right) \right] \right] \quad (2.9)$$

a_A = Ölçülecek iyonun aktivitesi

a_B = Girişim yapan iyonun aktivitesi

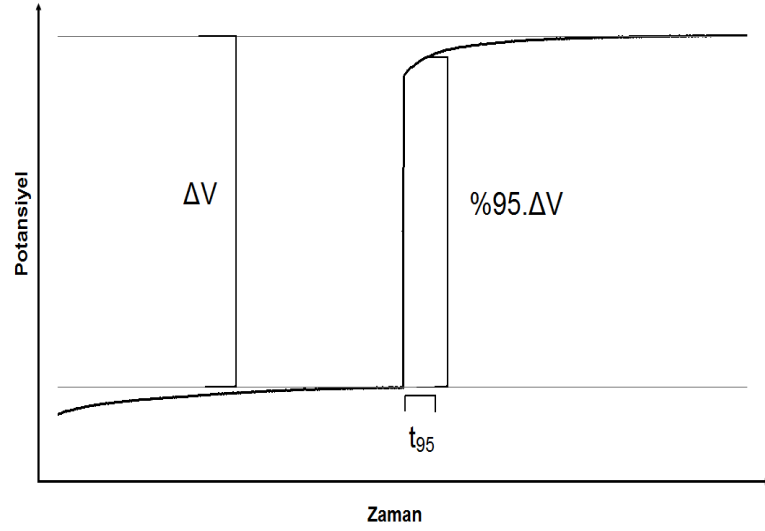
z_A, z_B = Herbir türün yükü

$K_{A,B}^{pot}$ = Seçicilik katsayısı

ISE'lerin seçicilik katsayılarının hesaplanması, temelde karışık çözelti (mixed solution) metotları ile ayrı çözelti (separate solution) metotları olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilir. Bu yöntemler de kendi içlerinde farklı hesaplama şekilleri içerirler [120]. Nikolskiy-Eisenman eşitliğine göre elektrotlar sadece ana iyon için değil, girişim yapan bütün iyonlar için de Nernst cevabı sergiler. Potansiyometrik seçicilik katsayılarının belirlenmesinde kullanılan çoğu deneysel yöntem bu eşitliğe dayanmaktadır. Nikolskiy-Eisenman eşitliği, ana iyon ve farklı yüklü iyonların potansiyele önemli derecede katkıda bulunduğu konsantrasyon aralıklarında, potansiyometrik cevabı doğru olarak tanımlayamadığından iyon karışım çözeltilerinde elektrodun ana iyonla cevabını doğru olarak tanımlamak amacıyla daha karmaşık eşitlikler kullanılmalıdır.

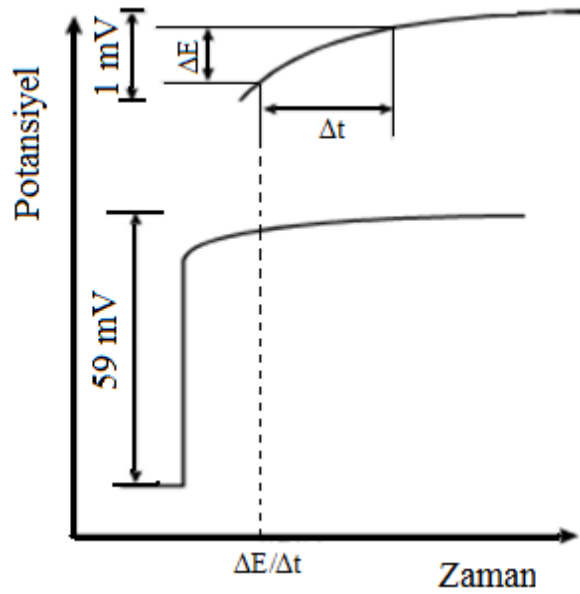
2.9.13 Cevap Zamanı

Cevap zamanı temelde elektrodun fiziksel yapısıyla ilgili bir özellik olup membranın duyarlı kısmıyla çözeltideki iyonlar arasında bir dengenin kurulabilmesi için geçen süre olarak bilinmektedir. Cevap zamanı ile ilgili hesaplamalar için Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından günümüze kadar farklı yöntemler önerilmiştir. Bu yöntemlerden birinde cevap zamanı, dengedeki hallerde gözlenen potansiyel değişiminin % 95'inin gerçekleşmesi için geçen süre (t_{95}) olarak ifade edilir [86] (Şekil 2.20).



Şekil 2.20 IUPAC'a göre cevap zamanı (t_{95})

Diğer bir yöntemde ise, birim zamanındaki potansiyel değişimi için bir ölçüt belirlenir ($\Delta E/\Delta t < 1$ mV gibi). Bu kriterin sağlanabilmesi için geçen süre, cevap zamanı olarak kabul edilmektedir (Şekil 2.21) [121]. Bu kriter, deney koşulları veya ölçümlerden beklenen doğruluk derecesine göre değişebilmektedir. Örneğin klinik ölçümlerde elektrotların potansiyel değişim aralıkları dar olduğundan, bu kriter 0,1 mV/dk olarak seçilebilir.



Şekil 2.21 IUPAC'a göre cevap zamanı ($\Delta E/\Delta t$)

Girişim yapan türler, bir Nernst cevabı oluşturacağından ana iyonların taşınmasını geciktirerek cevap zamanını etkiler. Elektrotların cevap süreleri aşağıdaki işlemlerle kısaltılabilir;

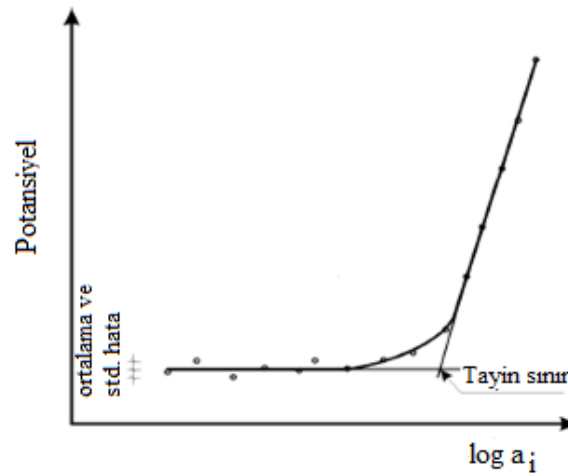
- Etkili karıştırma,
- Membran yüzeyini etkileyebilecek kirliliklerin uzaklaştırılması veya çok küçük membran yüzeyli mikroeletrotlar kullanılması,
- Ölçüm sırasında çözelti konsantrasyonunun düşükten yükseğe doğru ilerlemesi.

Nötral taşıyıcı membranlarda, cevap zamanını etkileyen en önemli faktörlerden birisi çözeltideki iyonun aktif maddeye (ligant veya kompleks) tutunma hızıdır. Buna ek olarak iyon ekstraksiyon kapasitesi, difüzyona karşı direnç, membran kalınlığı ve membrandaki çözücünün polaritesi de cevap zamanını etkileyen diğer faktörlerdir.

2.9.14 Tayin Limiti

İyon seçici elektrotların tayin sınırı, membran ara fazında ölçülebilir bir potansiyel fark meydana getiren en düşük iyon konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır.

İyon seçici bir elektrodun kalibrasyon eğrisi genellikle iki doğrusal kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.22). Pratik kullanımlarda uygun olması açısından sabit ortam ölçümlerinde elektrotların tayin limitleri, bu iki doğrusal bölgenin ekstrapolasyonlarının kesiştiği noktaya karşılık gelen aktivite değeri olarak kabul edilmektedir [86].



Şekil 2.22 İyon seçici elektrotların tayin sınırlarının belirlenmesini gösteren örnek bir grafik

Buna karşılık hareketli ortam ölçümlerinde tayin limiti hareketli faza göre ölçülebilir bir sinyal üreten konsantrasyon değeri olarak bilinmektedir. Gürültü değerinin 3 katı kadar yüksekliğe sahip olan pikler genellikle ölçülebilir sinyal olarak kabul edilmektedir [122].

2.9.15 Tekrarlanabilirlik

Hazırlanan iyon seçici elektrotların tekrarlanabilir potansiyeller vermesi, analiz işlemlerinde hataların en aza indirilebilmesi ve analizin güvenilirliği yönlerinden aranan önemli bir özelliktir. Tekrarlanabilirlik, standart çözeltilerde okunan potansiyel değerlerinin standart sapması olarak açıklanmaktadır [86].

2.9.16 Doğrusal Çalışma Aralığı

Kalibrasyon grafiklerinden elektrotların doğrusal çalışma aralıkları hesaplanabilir. Elektrodun doğrusal çalışma aralığı, kalibrasyon eğrisinde veri noktalarının doğrusallıktan 2 mV'tan daha fazla sapmadığı aralık olarak tanımlanır. Çalışılan aralıktaki konsantrasyon-potansiyel değişiminin doğrusallığı R^2 değeri ile belirlenmektedir.

2.9.17 Kullanım Ömrü

İyon seçici elektrotların en önemli karakteristik özelliklerden birisi kullanım ömürleridir. Elektrotların kullanım ömürleri, Nernst cevabı sergiledikleri süre olarak ifade edilir [123]. Elektrotların kullanım ömürleri, on katlık konsantrasyon değişiminde belirli periyotlarla sergiledikleri potansiyel farklar incelenerek belirlenir. Ölçülen bu potansiyel farkları kullanılarak, zamana karşı grafikler hazırlanır. Eğimde dikkate değer önemli sayılacak bir azalmanın meydana geldiği süre, kullanım ömrü olarak gösterilir.

2.9.18 pH Çalışma Aralığı

Elektrotların pH çalışma aralıkları incelenirken, genelde elektrodun seçici olduğu ana iyon konsantrasyonunun 10^{-1} , 10^{-2} veya 10^{-3} M'da sabit tutulduğu, farklı pH'lardaki tampon çözeltiler kullanılır. Bu tampon çözeltilerin pH'sı genelde 2-12 arasında değişmektedir. Bu çözeltilerde bir taraftan potansiyel değerleri okunurken, diğer yandan da potansiyelin pH değerlerine karşı grafiğe çizilir. Potansiyelde önemli bir

değişimin gözlemlenmediği pH aralığı, elektrodun pH çalışma aralığı olarak kabul edilir.

2.9.19 İyon-Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları

2.9.20 ISE'lerin Avantajları

- a) Pek çok kimyasal madde için geniş bir konsantrasyon aralığında doğrusal olarak değişim gösterirler.
- b) Bilinmeyen numunenin bozunmasına sebep olmadan numuneyi ihmal edilebilir ölçüde kirletebilirler.
- c) Cevap süreleri genellikle saniye ve dakika gibi kısa sürelerdir. Bu sebeple klinik ve endüstriyel numunelerin tayininde kullanımları uygundur.
- d) Spektrofotometrik ölçümlere uygun olmayan, koyu renkli ve bulanık çözeltilerde ölçümlere imkan verirler.
- e) Özel olarak hazırlanan ISE'ler ile canlı hücrelerin içi gibi değişik yollarla ulaşılması zor olan ortamlarda da ölçümler alınabilir.
- f) Kromatografide dedektör olarak kullanılabilirler.
- g) Hem pozitif hem de negatif iyon derişimine hassas olduklarından ölçümler alınabilir.
- h) Kullanımları hızlı ve kolaydır [96].

2.9.21 ISE'lerin Dezavantajları

- a) Elektrotlarla çalışılırken olumlu sonuçlar elde edebilmek için çok dikkatli olunmalıdır.
- b) Alınan ölçümlerin kesinliği genellikle % 1'den daha düşüktür.
- c) Proteinler ve diğer organik maddeler tarafından kirletilebilirler. Böylece kararsız potansiyeller elde edilir.

- d) Bazı iyonik türler girişim yapması ile elektrotlar zehirlenir.
- e) Söz konusu elektrotlar kompleks olmayan iyonlara cevap verdiğiinden dolayı ISE'lerle yapılan ölçümlerde ortamda ligant bulunmaması, varsa da ligantların maskelenmesi için gerekli işlemler yapılmalıdır.
- f) Ölçümler sırasında ortamın iyonik şiddeti sabit tutulması analiz işleminin doğruluğu açısından oldukça önemlidir [96].

2.10 Spektroskopi

Spektroskopi, elektromagnetik ışımının ve bazı parçacıkların bir cisim (bir miktar madde) tarafından saçılması, yansıtılması, soğrulması veya salınması ile ilgilenen bilimi dalıdır [124]. Başka bir deyişle, spektroskopi, elektromagnetik dalga ile moleküllerin etkileşmesini inceleyen, atomların elektronik yapılarının tayin edilmesinde kullanılan en önemli deneysel tekniklerden birisidir.

Bu yöntemde bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımaya ölçülüp yorumlanır.

Işıma foton adı verilen enerji paketlerinden oluşur. Bir fotonun enerjisi, ışımının frekansına bağlı olup aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir.

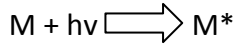
$$E = h\nu = \hbar\omega \quad (2.10)$$

h: Planck sabiti=6,625 x 10⁻²⁷ erg. sn

ν : Frekans (1/s)

E: Enerji (joule)

Absorbsiyon (soğurma), saydam ortamda atom veya moleküllerin elektromagnetik ışımının bazı frekanslarının seçimli olarak şiddetini azaltması sürecinin adıdır. Kuantum teorisine göre, her atom, iyon veya molekül kendine özgü bir takım enerji düzeylerine sahiptir. Bunların en düşük enerjili olanı temel haldir. Oda sıcaklığında pek çok atom veya molekül temel halde bulunur. Fotonun enerjisi, temel hal ile uyarılmış hallerden birinin enerjileri arasındaki farka tam olarak eşit ise, bu fotonun absorplanması mümkündür. Bu şartlar altında, fotonun enerjisi, ilgili atom, molekül veya iyonla aktarılır, onu uyarılmış hal adı verilen daha yüksek enerjili hale geçirir.



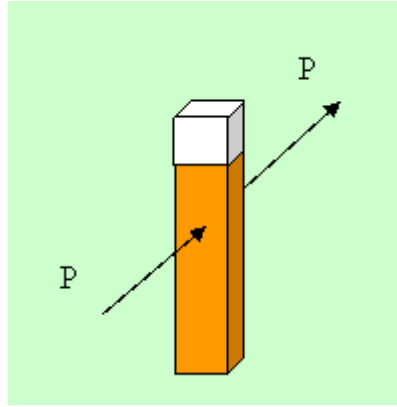
Kısa bir süre sonra, “durulama” adı verilen işlem sırasında uyarılmış haldeki atom veya molekül fazla enerjisini ortamda bulunan diğer türlere aktararak temel hale döner.

Absorbans (Eşitlik 2.12), bir ışının absorblayıcı ortamdan geçmeden önceki şiddetinin geçtikten sonraki şiddetine oranı olarak ifade edilmektedir (Şekil 2.23).

$$T = P / P_0 \quad (2.11)$$

$$A = -\log T = \log (P_0/P) \quad (2.12)$$

T: Geçirgenlik



Şekil 2.23 Işık belli bir konsantrasyonda çözeltiyi içeren ortamdan geçerken, absorsiyon sebebiyle ışık şiddeti P_0 'dan P 'ye düşer.

Lambert-Beer Kanunu'nda ifade edildiği gibi bir çözeltinin tuttuğu ışık, çözeltinin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Eşitlik 2.13).

$$A = abc \quad (2.13)$$

b: Işığın içinden geçtiği ortamın kalınlığı (cm)

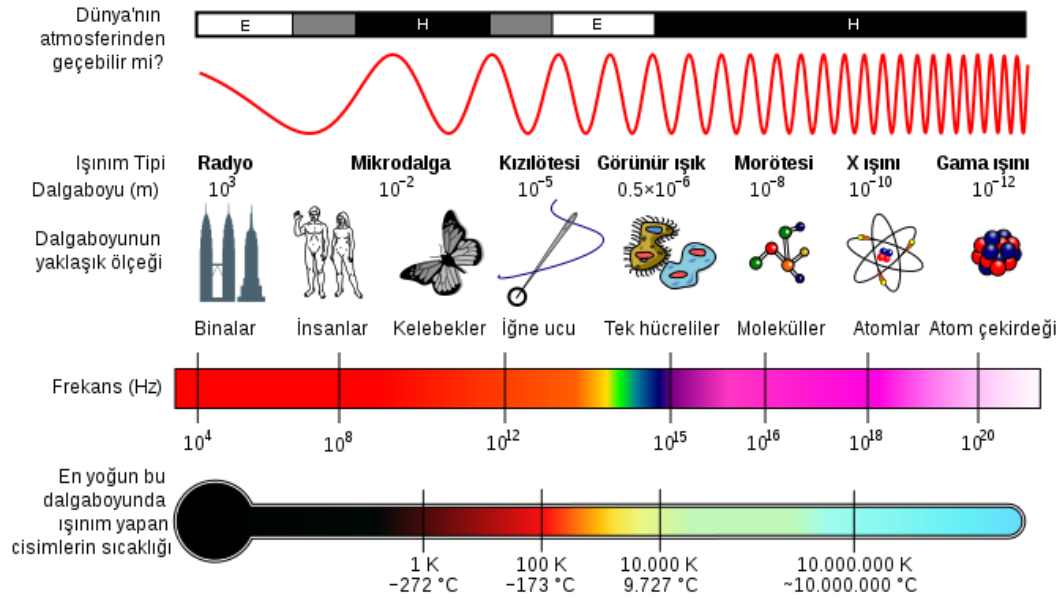
a: Absorbivite (ekstinsiyon katsayısı) (L/g.cm veya L/mol.cm)

c: Konsantrasyon (g/L veya mol/L)

2.10.1 UV-Visible (UV-VIS) Spektrofotometre

“Ektromanyetik spektrum (EMS)”, evrenin herhangi bir yerinde fizik kurallarınca mümkün kılınan tüm elektromanyetik radyasyonu ve farklı ışınım türevlerinin dalga

boyları veya frekanslarına göre söz konusu bu spektrumdaki göreceli yerlerini belirlemektedir (Şekil 2.24).



Şekil 2.24 Elektromagnetik spektrumun sınıflandırılması

EMS, dalgaboylarına göre Gama ışını veya X-ışını gibi atomaltı değerlerden başlayıp kilometrelerce uzunluktaki radyo dalgalarına kadar birçok farklı radyasyon tipini içermektedir. Elektromanyetik epektrum teoride sonsuz ve sürekli olsa da, pratikte kısa dalgaboyu (yüksek frekans) ucunun sınırının Planck uzunluğuna, uzun dalgaboyu (alçak frekans) ucunun sınırının ise, evrenin fiziksel büyüklüğüne eşit olduğu düşünülmektedir (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4 Elektromagnetik spektrum batları ve sayısal özellikleri

Işın Tipi	Frekans (f)	Dalgaboyu (λ)	Enerji
Y (Gama Işınları)	300 EHz - 30 EHz	1 pm - 10 pm	1.24 MeV - 124 keV
HX (Sert X-Işınları)	30 EHz - 3 EHz	10 pm - 100 pm	124 keV - 12.4 keV
SX (Yumuşak X-Işınları)	3 EHz - 30 PHz	100 pm - 10 nm	12.4 keV - 124 eV
EUV (Uzak	30 PHz - 3 PHz	10 nm - 100 nm	124 eV - 12.4 eV

Morötesi)			
NUV (Yakın Morötesi)	3 PHz - 300 THz	100 nm - 1 µm	12.4 eV - 1.24 eV
VIS (Görünür Işık Aralığı)			
NIR (Yakın Kızılötesi)	300 THz - 30 THz	1 µm - 10 µm	1.24 eV - 124 meV
MIR (Orta Kızılötesi)	30 THz - 3 THz	10 µm - 100 µm	124 meV - 12.4 meV
FIR (Uzak Kızılötesi)	3 THz - 300 GHz	100 µm - 1 mm	12.4 meV - 1.24 meV
EHF (Aşırı Yüksek Frekans)	300 GHz - 30 GHz	1 mm - 1 cm	1.24 meV - 124 µeV
SHF (Süper Yüksek Frekans)	30 GHz - 3 GHz	1 cm - 1 dm	124 µeV - 12.4 µeV
UHF (Ultra Yüksek Frekans)	3 GHz - 300 MHz	1 dm - 1 m	12.4 µeV - 1.24 µeV
VHF (Çok Yüksek Frekans)	300 MHz - 30 MHz	1 m - 10 m	1.24 µeV - 124 neV
HF (Yüksek Frekans)	30 MHz - 3 MHz	10 m - 100 m	124 neV - 12.4 neV
MF (Orta Frekans)	3 MHz - 300 kHz	100 m - 1 km	12.4 neV - 1.24 neV
LF (Alçak Frekans)	300 kHz - 30 kHz	1 km - 10 km	1.24 neV - 124 peV

VLF (Çok Alçak Frekans)	30 kHz - 3 kHz	10 km - 100 km	124 peV - 12.4 peV
VF/ULF (Ses Frekansı)	3 kHz - 300 Hz	100 km - 1 Mm	12.4 peV - 1.24 peV
SLF (Süper Alçak Frekans)	300 Hz - 30 Hz	1 Mm - 10 Mm	1.24 peV - 124 feV
ELF (Aşırı Alçak Frekans)	30 Hz - 3 Hz	10 Mm - 100 Mm	124 feV - 12.4 feV

Günümüzde, UV ve görünür bölgede çalışan pek çok ticari cihaz bulunmaktadır. Bunların en basiti kıyaslamanın gözle yapılabildiği kolorimetre cihazlarıdır. En karmaşık cihazlar ise, çift-ışın yollu kaydedicili cihazlardır. Adı geçen cihazlar, 185-3000 nm aralığına kadar geniş bir spektral bölgeyi tarayabilme özelliğine sahiptirler. Bu cihazlardan birisi fotometrelerdir. Fotometreler absorpsiyon analizlerinin yapıldığı basit ve fazla pahalı olmayan cihazlardır. Bir filtreli fotometrenin kullanım rahatlığı, bakım kolaylığı ve sağlamlığı çok gelişmiş spektrofotometrelerde yoktur. Fotometrelerde, çok yüksek spektral saflığın gerekmediğinde, kompleks bir cihazda olduğu kadar doğru sonuçlar elde edilebilir.

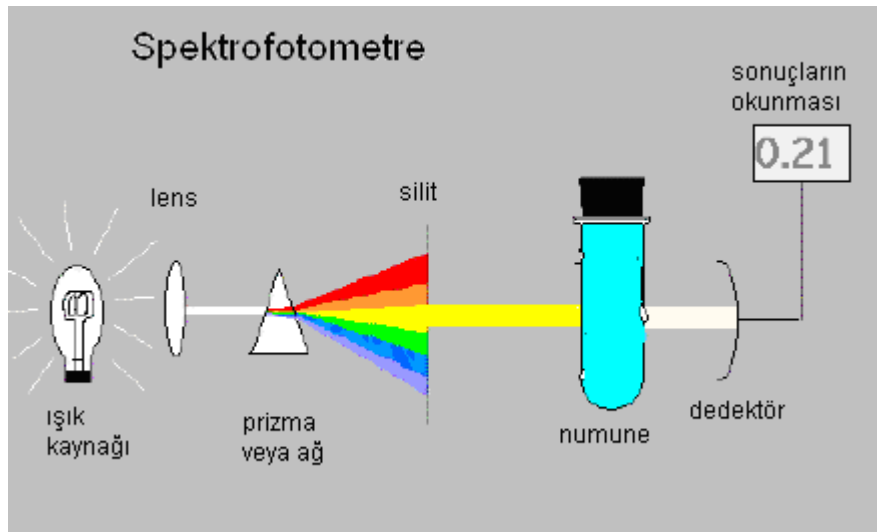
Diğer önemli cihaz grubu ise, spektrofotometre olarak bilinmektedir. Spektrofotometreler genel olarak görünür bölgede çalışan cihazlar ile UV-VIS (görünür bölge) bölgede çalışanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

2.10.2 Görünür Bölgede Çalışan Cihazlar

Görünür bölge (VIS) spektrofotometre cihazları, görünür bölge olan 380-800 nm arasında çalışan spektrofotometrik cihazlardır. Bu limitler içinde fakat değişik aralıklarda çalışmaya yönelik tasarlanmış çok sayıda farklı cihaz bulunmaktadır.

Görünür bölge spektrofotometreleri çoğunlukla basit, tek-yollu, gratingi (prizma sistemi) bulunan ve çok pahalı olmayan aletlerdir. Taşınabilir tipleri çok kullanılır. Genellikle kantitatif analizlere yönelik kullanılırlar.

Şekil 2.25'te tipik bir görünür spektrofotometrenin şematik diyagramı verilmiştir. Bazı cihazlarda, tungsten-filamen ışık kaynağından çıkan ışındaki dalgalanmaları düzenlemek amacıyla kaynaktan önce bir referans fototüp konulur. Böylece lambaya sürekli, sabit bir akım verilme zorunluluğu giderilir. İki fototüp arasındaki sinyal yükseltilerek 5,5 inc skalalı bir ölçme aletine gönderilir. Skala geçirgenlik ve absorbansa göre kalibre edilmiştir.



Şekil 2.25 Tipik bir görünür spektrofotometrenin çalışma prensibi

Diğer bazı spektrofotometrik cihazlarda küvet (örnek hücresi) tutucusundan çıkarıldığı zaman otomatik olarak ışın ile dedektörün arasına giren bir kapak sistemi bulunmaktadır. Böylece %0 T ayarı ve kontrolü yapılabilir. Bazı cihazlarda ise, ışık kontrol sistemi V-şeklinde bir yarıktan oluşur. %100 T ayarı bu yarığın hareket ettirilmesi ile gerçekleştirilir.

“Spektronik 20” adı verilen özel bir VIS spektrofotometre cihazının çalışma aralığı 340-625 nm’dir. Bu aralığın üst sınırı bir fototüp ile 950 nm’ye çıkarılabilir. Cihazda 20 nm genişliğinde band elde edilebilir ve dalga boyu ölçümünde ki hassasiyet 2,5 nm’dır.

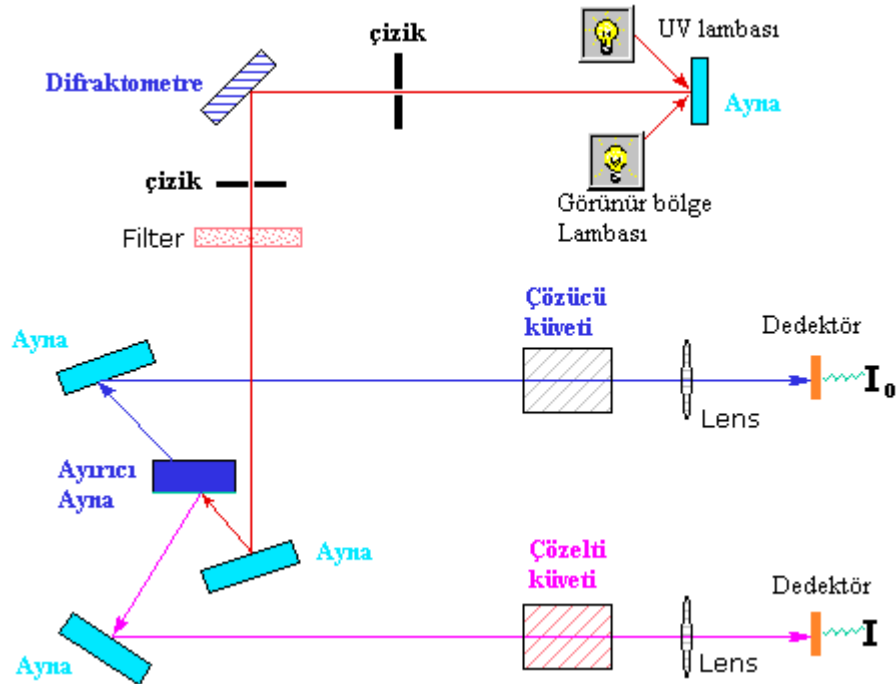
“Turner” adlı görünür bölge spektrofotometre cihazında bir tungsten filamen kaynak, "Ebert yerleşimli" bir düzlem yansıtma gratingi, ve 210-710 nm aralığında hassas bir fototüp dedektör bulunur. Sonuçların okunduğu sistem geçirgenlik ve absorbansa göre

kalibre edilmiştir. Önce, bir kapak ile lamba ve dedektörün birbiriyle ilişkisi kesilerek geçirgenlik sıfıra ayarlanırken ışın yolu üzerine solvent hücresi konulur ve sabit ışık gücü geçirgenlik %100 olacak şekilde ayarlanır. Bu işlemlerden sonra skalada örneğin geçirgenliği veya absorbansı doğrudan okunur. Cihaz 9 nm kalınlığında band verebilir ve dalga boyu 0,2 nm hassasiyetle saptanabilir. Fotometrik doğruluk ise, %0,5 A olarak ifade edilmiştir.

“Turner” cihazına uygun olarak tasarlanıp hazırlanmış çeşitli aksesuarlar bulunmaktadır. Örneğin döteryum lambası ilave ederek 210 nm’ye, ilave bir fototüp ile de 1000 nm’ye kadar ölçmeler yapılabilir.

2.10.3 Ultraviyole - Görünür Bölgeyi Kapsayan Tek - Işın Yollu Cihazlar

UV-VIS spektrofotometre, bir örneğin ultraviyole ve görünür ışıktaki absorpsiyon ve yoğunluğunu ölçer [125]. Adı geçen cihazda, UV ölçümleri için UV lambası (döteryum), görünür ışık ölçümleri için ise, VIS lambası (tungsten halojen) bulunmaktadır (Şekil 2.26).



Şekil 2.26 UV-VIS spektrofotometre cihazının şematik görüntüsü

Bu tip cihazlardan 190-210 nm alt limitlerden 800-1000 nm üst limitlere kadar çıkan modeller vardır. Bunların hepsinde değiştirilebilen tungsten ve hidrojen (veya

deutöryum) lambalar bulunur. Çoğunda dedektör olarak fotomultipler tüpler, dağıtıcı olarak da grating kullanılır. Bazılarında okuma sistemi digital, bazılarında ise, skalalıdır.

Bu tip cihazların performans özellikleri oldukça farklı olduğundan sunuldukları fiyatlar da farklılık gösterir. Örneğin band genişliği 2-8 nm'ye, dalga boyu hassasiyeti 0,5- 2nm ye kadar farklı cihazlar bulunur.

Bazı sistemlerde düzlem grating yerine konkav grating kullanılabilir.

İlk ticari spektrofotometre cihazı 1941 yılında pazara sunulan, ultraviyole ve görünür bölgede çalışabilen, tek-ışın yollu "Beckman DU-2" spektrofotometresidir. Bu cihazda grating yerine bir Littrow prizması bulunur. Optik sistemi oldukça yüksek kalitelidir.

DU-2 spektrofotometrede spektrumun ultraviyole ve görünür bölgelerinde çalışabilen kuartz optik sistemleri bulunmaktadır. Işın kaynakları, kullanım amacına göre değiştirilebilen düşük dalga boylarındaki çalışmalar için döteryum veya hidrojen deşarj tüpleri, görünür bölge için de tungsten filamen lambasıdır (Şekil 2.25). Işın bir çift ayna ile yansıtılarak ayarlanabilir bir slitten (yarık) monokromatör bölmesine geçirilir, buradan ise, paralelleştirici ayna yardımı ile bir Litrow prizmaya gönderilir. Prizmanın konumu ayarlanarak istenilen dalga boyundaki ışık çıkış slitine odaklanır. Optik sistem, slitlerden giren ve çıkan demetler dik bir ekseninde üst üste bulunacak şekilde ayarlanmıştır. Çıkan ışın monokromatörü giriş aynasının üstündeki slitten geçerek terk eder.

Hücre bölmesinde hücrelerinin bulunduğu bir tutucu kompartman vardır. Tutucunun konumu sabit olmadığından hücrelerden herhangi biri ışın yolu üzerine getirilebilir.

Orijinal DU-2 spektrofotometrelerde biri 190-625 nm, diğeri ise, 625-800 nm aralığında olan değiştirilebilir iki dedektör kullanılmaktadır. Gilford, DU-2 cihazında kullanılmak üzere, bir fotometre modernizasyon sistemi geliştirmiştir. Sistemde, iki dedektörün (fototüp) dalga boyu aralığını kapsayan tek bir fotomultiplier kullanılır. Işın dedektörden sonra bir yükseltici devresine gönderilerek transduser sinyali absorbanla doğru orantılı olan voltaja çevrilerek okuma digital olarak yapılır. Yine Gilford'un geliştirdiği bir aksesuar ile hücre taşıyıcı kompartman, saniyede beş devir hızla salınım yaparak örnek ve referans hücrelerini sırayla ışın yolu üzerine getirir. Böylece cihaz

absorbans değerlerini otomatik olarak okur. Dalga boyu, slit-yürütme mekanizması ve bir kaydedici ilave edilerek spektrumun çizilmesi sağlanabilir.

Geliştirilmiş DU-2 spektrofotometrelerde yüksek kaliteli elektronik kompartmanlar kullanılarak fotometrik hassasiyet %0,5 A'ya kadar yükseltilebilir, slit ayarının uygun bir şekilde değiştirilmesiyle 0,5 nm'den daha küçük band genişlikleri elde edilebilir.

Otomatik olmayan DU-2 spektrofotometreler daha çok belirli dalga boylarındaki kantitatif analitik ölçmelerde kullanılır.

2.10.4 Tek-Işınlı (Yollu) Bilgisayarlı Spektrofotometreler

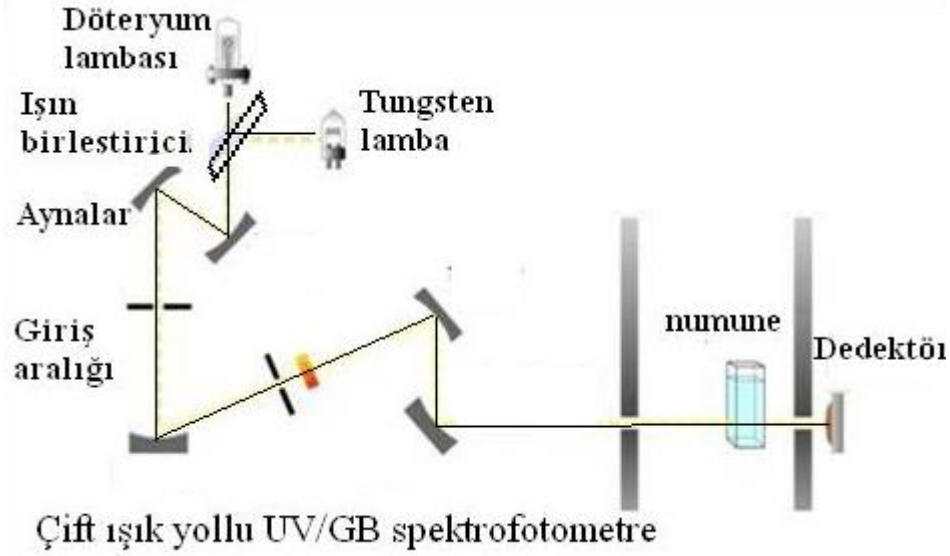
Tek-ışınlı bilgisayarlı spektrofotometreler, 190-800 nm (bir aksesuar ile 900 nm'ye kadar) aralığında çalışan bilgisayarlı, kaydedicili, tek demetli cihazlardır [125]. Bu cihazlarla önce, ışın demeti yolunda referansla bir dalga boyu taraması yapılır. Alınan dedektör çıkışı sayısal veriye dönüştürülerek bilgisayarın hafızasında saklanır. Sonra örnek taranır ve saklanan verinin yardımıyla absorbans hesaplanır. Spektrumun tamamı iki saniye içinde görüntülenir. Tarama hızı 1200 nm/dak'dır. Cihaza bağlı olarak çalışan bilgisayar log absorbans, geçirgenlik, türev alma, görüntüleme, taramaların tekrarlanması, konsantrasyon hesapları, pik konumu ve yükseklik tayinleri, ve kinetik ölçmeler, gibi çeşitli işlemler yapabilir.

Daha önce de değinildiği gibi tek-kanallı cihazların çıkışı yüksek enerjilidir ve gürültü oranları büyüktür ve örnek bölmelerinde gürültü oldukça azdır. Diğer taraftan, referans ve örnek çözeltilerinden alınan dedektör çıkışlarını sırayla kaydetme işlemi, kaynaklar ve dedektörlerdeki Flicker gürültüsü nedeniyle fazla hassas olmaz. İmalatçı firmalar bu kararsızlığın yeni kaynak dizaynı ve fotodedektördeki hafıza etkilerini giderebilecek yeni bir elektronik dizaynla giderilebileceğini belirtmektedirler.

Bu cihazların fotometrik doğrulukları 0,005 A veya %0,3 T olarak saptanmıştır; kayma 0,002A/s'den daha küçüktür. Sabit yarıkların el ile değiştirilmesiyle 0,5, 1, ve 2 nm band genişlikleri elde edilebilir.

2.10.5 Ultraviyole - Görünür Bölgede Çalışan Çift - Işın Yollu Cihazlar

Ultraviyole-görünür bölgede çalışan çift-ışın yollu değişik spektrofotometreler bulunur (Şekil 2.27). Bu tip cihazlar tek-demetli olanlara göre daha pahalıdır. Çok geliştirilmiş olan tipleri genellikle 185-3000 nm gibi geniş bir aralığı kapsamaktadır.



Şekil 2.27 Ultraviyole-görünür bölgede çalışan çift-ışın yollu spektrofotometre cihazının parçaları

Otomasyon parametresine göre ultraviyole-görünür bölgede çalışan çift-ışın yollu spektrofotometreler iki gruba ayrılmaktadır. Otomatik olmayan ultraviyole-görünür spektrofotometre cihazı diğerine göre daha ucuzdur ve ışını dağıtmak ve giriş slitine göndermek için konkav bir gratingden yararlanır. Bir motorla döndürülen sektör aynası, demeti ikiye böler; bunlardan birisi örnekten geçerken diğeri ise, referanstan geçer ve tekrar birleşerek bir alternatif akım sinyali oluştururlar. Bu sinyal büyütülür ve P ve P_0 oranı şekline dönüştürülür. Okuma bir gösterge çizelgesi vasıtasıyla veya digital olabilir, bir kaydedici bulunması halinde veriler grafik olarak da elde edilebilir.

Diğer başka cihaz ise, yüksek performanslı kaydedicili bir spektrofotometredir. Fiyatı basit cihazlara göre fiyatı oldukça yüksektir.

İki cihazın performans özellikleri oldukça farklıdır. Otomatik olmayan cihaz için, 220 nm'de rasgele ışın %0,07'den az, dalga boyu doğruluğu 0,4 nm ve dalga boyu hassasiyeti (tekrarlanabilirliği) 0,2 nm'dir. Aynı özellikler otomatik cihazda sırasıyla

%0,002'den az, 0,2 nm ve 0,1 nm'dir. Otomatik olmayan cihazın potansiyometrik doğrusallığı 0,005-0,01 A, otomatik cihazın ise, 0,0016-0,003 A şeklindedir.

Ayrıca otomatik cihazda sekiz (non-otomatikte üç) kaydedici aralığı, otomatik slit kontrolü, otomatik %0 T ayarı ve konsantrasyonu digital olarak gösteren sistem de bulunur. Birçok uygulamada, basit ve ucuz cihazlar kullanılarak yeterli sonuçlar alınabilir.

2.10.6 Çok Kanallı Absorbsiyon Cihazları

1970'li yılların ortalarında literatürde, spektrokimyasal ölçmelerde dedektör olarak silikon diot dizilerinin ve vidikon tüplerinin kullanıldığı çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Bir monokromatörün odak düzleminde bu tip dedektörlerin bulunması halinde spektrum elektronik tarama (mekanik değil) ile elde edilir; bir spektrumu tanımlayan tüm veriler aynı anda alınır. Kontrol görevi yapan mikroişlemciler gibi çok kanallı dedektörler de çeşitli kaynaklardan sağlanabilir. Bu kaynaklardan bazıları spektrofotometre üreten firmalardır. 1980'e kadar ultraviyole-görünür bölgelerde absorpsiyon analizine uygun elektronik çok kanallı cihazlar üretilemedi.

200-800 nm aralığında absorpsiyon ölçmelerinde kullanılan birçok kanallı (veya paralel yollu) spektrofotometre cihazı diğer ultraviyole-görünür absorpsiyon cihazlarının tersine, örnek hücresi kaynak ve monokromatör arasına yerleştirilmiştir. Spektrumun tüm elementlerinin aynı anda gözlenebilmesi yönünden bu yerleşim konumu zorunludur.

Bu cihazda bir tungsten/halojen lambası ve bir deuteryum lambasından oluşan kaynak sisteminin konumu oldukça ilginçtir; bunlar, lamba odası yarığında 200 nm'den 800 nm'ye kadar sürekli bir ışın demeti verebilecek şekilde yerleştirilmişlerdir. Böylece kaynağın anahtarla ayarlanmasına gerek olmaz. Diğer önmeli bir özellik bir kaynak elipsi ve bir spektrometre elipsi içeren çift elipsoidal optik sistemidir; Bu düzen küresel optiklerle elde edilenden daha yüksek bir ışın enerjisi yaratır.

Lamba yarığı ve örnek bölmesi bir elipsin iki odağında, örnek bölmesi ve monokromatöre giriş sliti diğer elipsin iki odağında bulunur. Bu düzen, referans ve örnek hücreleri arasındaki alanda üç ilave örnek hücresi ve küp köşe aynaları

konulmasına olanak verir. Buradaki beş ışın demeti ile dört örneğin absorpsiyon spektrası 6,4 saniye gibi bir zaman içinde alınabilir.

Bu cihazın önemli bir parçası, bir motor sürücülü dikey şaft üzerine yerleştirilmiş bir çift düz aynadan oluşan servo-kontrollü demet yönlendiricisidir. Üstteki ayna demeti önce referans ve sonra da örnek hücrelerine yönlendirir. Alttaki ayna demeti sırayla spektrografın elipsoid giriş aynasına yansıtır. Giriş yarığının iki çenesinin dış yüzeyleri uygun bir şekilde aynalanarak demetin kenarları iki büyük alanlı fotodioda yansıtılır. Demetin her zaman yarık üzerinde odaklanması ayna şaftının konumu ayarlanarak sağlanır; ayarlama, bir servo mekanizmanın iki diodla kontrol edilmesiyle sağlanır.

Monokromatör, tek bir madde üzerinde yerleştirilmiş iki holografik gratingdir. Gratingler birbirine göre 3,5 derece eğimdedirler; böylece, 200-400 nm aralığında kırılan ışın bir dedektöre yönelirken 400-800 nm aralığındaki diğer dedektöre geçer.

Dedektörlerin her birinde 211 silikon diod, depolama kapasitörleri, ve 1/1 inç kadar uzunluktaki bir yarıiletken çip üzerinde oluşturulmuş transistör anahtarları bulunur; her diodun aktif yüzeyinin boyutları 0,6 x 0,5 mm'dir (yarık görüntüsünün boyutları ile aynıdır). Bu durumda cihazın band genişliği 200-400 nm bölgesinde 1 nm, 400-800 nm bölgesinde 2 nm'dir. Ciplerde, her kapasitörü seri olarak yükle-yebilen devre vardır. Yükleme akımının integrasyonu, kuvvetlendirilmesi ve gürültü düzeltilmesi bir önampifikatörle yapılır. Sinyal bundan sonra bir analog-digital çeviriciden geçerek, absorpsiyon veya geçirgenliğin küçük bir katot-ışını tüpünde görüntülenmesini sağlayan 16-bitlik bir mikro, işlemciye gider. Veriler bir 32K RAM de saklanarak daha sonra bir kaydediciye gönderilebilir. Mikroişlemci diğer bazı fonksiyonları verebilecek şekilde programlanabilir; konsantrasyon ve standart sapmaların hesaplanması, pik maksimalarının bulunması, standartlarla kalibrasyon için eğri yerleştirme, ve absorblayan karışımlardaki her bir bileşenin konsantrasyonunun hesaplanması, gibi. Konsantrasyon hesaplamalarında her bileşenin standart çözeltilerinin spektrumları önceden hafızada depolanır. Bilinmeyen bir maddenin kantitatif verileri, buna en çok benzeyen bir spektrumun saptanması ve hafızadaki bilgilerin senteziyle bulunur.

Tam bir spektrumun alınabilmesi ve işlenebilmesi için gerekli gerçek ölçüm zamanı 1 saniyeden daha azdır [126]. Ölçüm sırası demetin, dedektöre ışın ulaşmayacak şekilde

yönlendirilmesi sırasındaki ölü akımın saptanmasıyla başlar. Yönlendiriciye sonra, demeti örnek konumuna çevirecek şekilde komut verilir. Demetin doğru konumda olduğu belirlendikten sonra her bir diod kapasitörüne seri halde akım yüklemesi başlar. 422 kapasitörün yüklemesi tamamlandığında ışın demeti referans hücreye döndürülür ve aynı işlem tekrarlanır. Son olarak, demet tekrar ölü konuma getirilerek tekrar bir ölü akım ölçümü alınır. İstenilirse, işlem birkaç kez tekrarlatılarak sinyal/gürültü oranlarını yükseltmek için verilerin ortalaması alınabilir.

Fotobozunma göstermeyen (veya çok az gösteren) yüksek derecede foto hassas analitler için bile örneklerin ultraviyole ışınla teması çok kısa tutulmalıdır [127]. Bundan başka, floresans girişi en düşük düzeyde bulunmalıdır; floresans küresel olarak emitlendiğinden, demet yolundaki fraksiyon cihazın gürültü sınırından daha az olur. Son bir önemli konu da ters optik dizaynının, örnek ve referans çözeltileriyle kaynak ve monokromatör arasına yerleştirilmesidir; böylece, spektrofotometrelerde zorunlu olan ışık geçirmez örnek ve referans çözelti bölmelerine gereksinim olmaz.

Buna benzer cihazlarda çok bileşenli karışımların kantitatif analizleri, hızı orta dereceli reaksiyonların ara kademeleri çalışmaları, kinetik incelemeler ve sıvı kromatografisi veya diğer tip kolonlardan alınan bileşenlerin kantitatif analizleri yapılabilir. Cihazın dezavantajları, spektrofotometrik çalışmalarda sınırlı çözünürlük gücü (UV'de 1 nm, görünür bölgede 2 nm) ve çok pahalı olmasıdır.

2.10.7 Absorpsiyon Ölçümleri ile Kantitatif Analizler

Absorpsiyon spektroskopisi kantitatif analizlerde kimyacının yararlandığı en önemli yöntemlerden biridir. Spektrofotometrik ve fotometrik yöntemlerin önemli özellikleri aşağıda sıralanmıştır:

1. Geniş uygulama alanı. Daha önce de değinildiği gibi, pek çok inorganik ve organik madde ultraviyole ve görünür bölgede absorpsiyon yapar, bu sebeple de hassas kantitatif analiz yapılabilir. Ayrıca absorpsiyon yapamayan pek çok madde de uygun kimyasal işlemlerle absorpsiyon özelliği olan maddelere dönüştürülerek analiz edilebilirler.

2. Yüksek hassasiyet. Uygun molar absorbtiviteler 10000-40000 aralığındadır, özellikle inorganik maddelerin bazı yük transfer komplekslerinde bu değer oldukça yüksektir; 10^{-4} – 10^{-5} M konsantrasyonlarda hassas analizler yapılabilir; hatta uygun işlemlerle konsantrasyon 10^{-6} M, 10^{-7} M'a kadar düşürülebilir.

3. Orta-yüksek seçicilik. Bir örnekteki sadece absorblayan kısmın tayin edilebileceği bir dalga boyu bölgesi saptanır ve çalışmalar bu bölgede yapılır. Ayrıca, absorbsiyon bandlarının üst üste düşmesi halinde başka dalga boylarında bulunabilecek absorbsiyon bandları ölçümünden yararlanılarak gerekli düzeltmeler yapılabilir; yani ayırma gibi bir işleme gerek olmaz.

4. Doğru veriler. Tipik spektrofotometrik veya fotometrik işlemlerde konsantrasyon ölçmelerindeki relatif hata %1-3 aralığındadır. Gerekli dikkat ve titizliğin gösterilmesiyle bu hatalar binde birkaç seviyesine kadar düşürülebilir.

5. Kolaylık ve rahatlık. Spektrofotometrik veya fotometrik ölçmeler modern cihazlarda çok kolay ve süratle yapılabilir [128].

Kantitatif absorbsiyon yöntemleri, sadece maddenin miktarını belirten sayısal değerlerin bulunmasına değil, aynı zamanda çeşitli kantitatif kimyasal bilgilerin elde edilmesine de olanak verir.

2.10.8 Absorblayıcı Maddelere Uygulama

Çizelge 2.5'te bazı organik kromofor görülmektedir. Bu gruplardan bir veya daha fazlasını içeren herhangi bir organik maddenin spektrofotometrik analizi yapılabilir; bu tip analizlere literatürde pek çok örnek bulunabilir.

Çizelge 2.5 Bazı organik kromoforlar

Kromofor	Solvent	λ_{max} , nm	ϵ_{max}
Alken	n-Heptan	117	13000
Alkin	n-Heptan	178	10000
		196	2000
		225	160
Karbonil	n-Heksan	186	1000
		280	16
Amido	Su	204	41
Azo	Etanol	339	5
Nitro	İzooktan	280	22
Nitrat	Dioksin	270	12

Bazı inorganik maddeler de absorpsiyon yapabilirler ve doğrudan tayin edilebilirler; çeşitli geçiş metalleri bu tip maddelerdir [129]. Ayrıca, bazı başka tip grupların da özel absorpsiyonları vardır. Bunlar arasında nitrit, nitrat ve kromat iyonları; osmiyum ve rutenyum tetraoksit; moleküler iyod ve ozon sayılabilir.

2.10.9 Absorpsiyon Yapmayan Maddelere Uygulama

Ultraviyole veya görünür bölgede absorpsiyon yapmayan maddelerle reaksiyona girerek absorblayıcı ürün veren çok sayıda madde vardır. Bu tip maddelerin kantitatif analizlerde başarılı olması için, reaksiyonun sonunda örnek ile renkli bir madde vermesi gerekir. Bunlar, kendileri absorblayıcı maddelerdir. Örneğin, geçiş-metal iyonları gibi; ürünün molar absorbtivitesi, reaksiyona giren her iki maddenin molar absorbtivitesinden de daha büyüktür.

İnorganik maddelerin tayini bilinen kompleks yapıcı maddelerle yapılır. Bunlar arasında, demir, kobalt ve molibden için tiyosiyanat iyonu; titanyum, vanadyum ve krom için hidrojen peroksit anyonu; bizmut, palladyum ve tellur için de iyodür iyonu sayılabilir. Bu amaçla kullanılabilen organik şelat yapıcı maddeler katyonlarla kararlı ve renkli bileşikler verdiklerinden daha da önemli bileşiklerdir. Örneğin, demir için o-fenantrolin, nikel için dimetilglioksim, bakır için dietilditiokarbamat, kurşun için de difenilditiyokarbazon kullanılır.

2.10.10 Dalga Boyu Seçimi

Spektrofotometrik absorbans ölçümleri konsantrasyon değişikliği ile absorbans değişikliğinin en fazla olduğu absorbsiyon pikinin bulunduğu dalga boyunda yapılır. Böylece en yüksek hassasiyetle çalışılır. Bu bölgede absorbsiyon eğrisi oldukça düzgündür ve Beer kanunu ile iyi bir uyum içindedir. Ayrıca cihazın dalga boyu ayarından kaynaklanan hatalar da ölçümleri önemli derecede etkilenmez.

Absorbsiyon spektrumdan, bazı hallerde fotometrik bir analiz için uygun filtre seçimi de yapılabilir.

2.10.11 Absorbansı Etkileyen Değişkenler

Bir maddenin absorbsiyon spektrumunu etkileyen değişkenler çözücünün yapısı, çözeltinin pH'ı, sıcaklık, yüksek elektrolit konsantrasyonu ve girişim yapıcı maddelerdir. Değişkenlerin etkileri önceden bilinmelidir ki, absorbansın, bu değişkenlerde olabilecek küçük farklılıklardan etkilenmeyeceği koşullarda yapılması sağlanmalıdır.

2.10.12 Hücrelerin Temizlenmesi ve Kullanılması

Doğru bir spektrofotometrik analizde kaliteli ve aynı özelliklerde hücelere gereksinim vardır. Hücreler, zamanla özelliğinin bozulup bozulmadığını (aşınma, çizikler oluşması gibi) test etmek için birbirine karşı kalibre edilir. Önemli bir konu da hücreleri yıkama ve kurutmada uygun bir teknik kullanılmasıdır. Örneğin, mercek temizlemede kullanılabilecek kalitede bir kâğıt parçası spektro saflıkta metanol ile ıslatılır, hücrenin dış kısımları silinir ve yüzeyde kalan metanolün buharlaşması beklenir.

2.10.13 Absorbsiyon ve Konsantrasyon İlişkisinin Saptanması

Analiz koşulları saptandıktan sonra bir seri standart çözelti kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlanır. Standartlar, örneğin konsantrasyonuna yakın değerlerde olmalıdır.

2.10.14 Standart Katma (ilave) Yöntemi

En ideal durum kalibrasyon standartlarının örnek matrisindeki hem analit hem de diğer maddelerin konsantrasyonlarına yakın miktarlarda bileşen içermesidir. Böylece, örnekteki diğer maddelerin, ölçülen analit absorbansına etkisi en aza indirilmiş olur. Örneğin, renkli pek çok metal iyonu komplekslerinin absorbansı ortamda sülfat veya fosfat iyonlarının varlığında azalır. Çünkü bu iyonlar metal iyonlarıyla renksiz kompleksler oluştururlar. Böyle bir durumda elde edilen absorbans değeri gerçek değerinden düşük olur. Sülfat veya fosfatın matris etkisi standartlara, bu iyonlardan örnekte bulundukları miktara yakın miktarlarda ilavesiyle yenilir. Ancak, topraklar, mineraller ve fabrika külleri gibi örneklerin analizinde, örneğe benzer bileşimde standartların hazırlanması olanaksız veya çok zordur. Bu gibi durumlarda matris etkisini yok edebilmek için "standart ilavesi yöntemi" uygulanır.

Standart katma birkaç şekilde yapılabilir. Fotometrik ve spektrofotometrik çalışmalarda en çok uygulanan yöntem, aynı miktardaki örneklerle standart bir çözeltiden artan miktarlarda ilaveler yapılmasıdır. İlavelerden sonra çözelti sabit bir hacme tamamlanır ve absorbansları saptanır. Örnek miktarı sınırlı ise, belirli bir miktar örneğe standart ilavesi sıra ile yapılır ve ilaveden sonra (ve orijinal örnekte) absorbans ölçülür. Bu yöntem voltammetrik ve potansiyometrik ölçmelerde çok kullanılır.

Bir örnekten aynı V_x hacminde analit konsantrasyonu C_x olan birkaç kısım alınsın ve hacmi V_t olan volumetrik balonlara konulsun. Balonların her birine, V_s hacminde C_s konsantrasyonunda analit bulunan standarttan değişik hacimlerde ilaveler yapılsın. Sonra renk oluşturan madde konularak her çözelti aynı hacme seyreltilsin. Beer kanunu geçerliyse çözeltilerin absorbansları aşağıdaki eşitlikle verilir (Denklem 2.14).

$$A_s = \epsilon b V_x C_x / V_t + \epsilon b V_s C_s / V_t \quad (2.14)$$

A_s' yi V_s nin fonksiyonu olarak gösteren grafik aşağıdaki ifadeyle gösteren bir doğrudur.

$$A_s = \alpha + \beta V_s \quad (2.15)$$

Eğim β ve kesişim α ,

$$B = \epsilon b C_s / V_t \text{ ve } \alpha = \epsilon b V_x C_x / V_t \quad (2.16)$$

dir. β ve α , en küçük kare analiziyle saptanabilir; bu iki değerin oranından ve C_s , V_x , ve V_s' nin bilinen değerlerinden de C_x hesaplanır.

$$A / \beta = V_x C_x / C_s \quad (2.17)$$

$$C_x = \alpha C_s / \beta V_x \quad (2.18)$$

C_x deki standard sapmanın yaklaşık değeri, C_s , V_s , ve V_t deki kararsızlıkların α ve β 'dakine göre ihmal edilebilir olduğu varsayılarak bulunur. Bu durumda $(s_c/C_x)^2$ nin α ve β 'daki değişikliklerin toplamı olduğu kabul edilebilir. Yani,

$$(s_c / C_c)^2 = (s_r / \alpha)^2 + (s_\beta / \beta)^2 \quad (2.19)$$

Buradaki s_r gerilemedeki standard sapmadır. Bu eşitliğin karekökü alınarak s_c eşitliği yazılır.

$$s_c = C_x \sqrt{(s_r / \alpha)^2 + (s_\beta / \beta)^2} \quad (2.20)$$

2.11 Günümüzde Gerçekleştirilen Nitrat Ölçüm Yöntemleri

Aktif olarak kullanılan yöntemlerin büyük çoğunluğunda örneklerdeki toplam azot ölçümü yapılarak değişik formülasyonlarla mevcut nitrat hesaplanır.

En çok kullanılan azot ölçüm yöntemlerinden bazıları aşağıdaki gibidir;

Mikro Kjeldal analizi; bu yöntem sayesinde genellikle örnekler içerisindeki total azot miktarı ölçülür. Ölçüm almak amacıyla örnek 100 ml'lik Mikro Kjeldahl flasksına konulur. Daha sonra ise, tuz karışımı (50:10:1 oranında K_2SO_4 , $CuSO_4$ ve metalik selenyum) ve 3 ml konsantre H_2SO_4 solusyonu ilave edilir. Özümseme işleminden sonra 100 ml kadar distile su katılır ve soğumaya bırakılır. Distilasyon işlemi için, sindirilmiş örnekler Mikro Kjeldahl distilasyon aparatına doldurulur. İşlemin hızlandırılması için 10 ml %40'lık NaOH çözeltisi ilave edilir. 12 ml'lik Erlen Mayer flasksının içine 10 ml %4'lük borik asit belirteci ve 3 damla kadar indikatör karışımı katılır. Bahsedilen flask

distilasyon aparatının yoğunlaştırıcısının altına yerleştirilir. Titrasyon işlemi için ise, azotu barındıran borik asit ve indikatör karışımı standart HCl çözeltisi ile titre edilir [130].

Örneğin azot yüzdesi miktarı bu denklemden bulunur;

$$\%N = \frac{\text{örneğin titresi} - \text{Şahit titresi}}{\text{örneğin ağırlığı (grX1000)}} \times \text{HCl normalitesi} \times 14 \times 100 \quad (2.21)$$

2.12 Fosfat Ölçüm Yöntemleri

Günümüzde fosfatın ölçülmesi için başvurulanan yöntemlerin büyük çoğunluğunda spektrofotometrik metodlar görülür. Fosfat ölçüm testlerinden bazıları şöyle sıralanabilir; askorbik asit yöntemi, Olsen tekniği, Morgan yöntemi, vs. [131].

Askorbik asit yöntemi; askorbik asit yöntemi genellikle su ve atık suda bulunan ortofosfatlar (PO_4^{-3}), yoğunlaşmış fosfat bileşenleri ($\text{O}_3\text{P-O-(PO}_3\text{)}_x\text{-PO}_3$) (piro, meta ve polifosfatlar), orjinal bağlanmış fosfatlı bileşenlerin ($\text{RO)}_x\text{PO}_4\text{-x}$) ölçülmesinde kullanılır. Fakat günümüzde topraktaki mevcut fosforun ölçülmesi için de başvurulanan yöntemlerden birisi olarak gösterilmektedir.

Askorbik asit yöntemi şöyle uygulanır; ilk başta KH_2PO_4 veya MgPO_4 kullanarak stok çözelti hazırlanır. Daha sonra kalibrasyon eğrisi elde etmek amacıyla bu stok çözeltiden standart solüsyon serisi hazırlanır. Diğey yandan ise, belirteç karışımı (2,5 M sülfürik asit, %4'lük amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (20 gr/500 ml su), potasyum antimonil tartarat ($\text{K(SbO)C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) (1,37 gr/500 ml su), ve askorbik asit (1,76 gr/100 ml su)) 10 sülfürik asit:1 amonyum molibdat:3 potasyum antimonil tartarat:6 askorbik asit oranı ile karıştırılarak hazırlanır. Hazırlanan örneğin 25 ml'si tüpe alınıp 4 ml belirteç karışımı ilave edilir. Tüpün ağzı parafilmle kapatılarak iyice karışması için çalkalanır. 10-30 dakika kadar mavi rengin gelişmesi için bekletildikten sonra spektrofotometre cihazında 880 nm dalda boyunda örneğin absorbands değeri okunur. Son olarak da kalibrasyon eğrisi yardımıyla örneğin konsantrasyonu hesaplanır.

Olsen yöntemi; örneğin 100 ml'sinin üzerine 0,5 M kalsiyum bikarbonat çözeltisi ilave edilir. Yarım saat kadar magnetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra karışımın 15 ml'si 5 ml amonyum molibdat ile karıştırılıp CO_2 gazının çıkmasına desteklemek için elle

yavaşça çalkalanmıştır. Daha sonra 1 ml SnCl_2 eklenip su ile hacim 25 ml'ye tamamlanır.

50ppm'lik KH_2PO_4 stok çözeltisi hazırlandıktan sonra standart kalibrasyon çözelti setleri hazırlanmıştır. Daha sonra her bir çözeltiye 5 ml kalsiyum bikarbonat ile 5 ml molibdat ilave edildikten sonra 40 ml su ile sulandırılır. Son aşamada ise, 1 ml SnCl_2 eklenip çalkalanır. 10 dakika bekledikten sonra spektrofotometrede 690 nm dalga boyunda absorban okunur. Şahit olarak distile su kullanılabilir. Numunenin okunan absorban değeri kalibrasyon eğrisinin yardımıyla konsantrasyon birimine (mg/L) dönüştürülür.

Morgan toprak testi yöntemi; bu testin gerçekleştirilmesi için toprak örneği 1:5 oranında sodyum asetat buffer (pH 4,8) ile ekstraksiyonun gerçekleşmesi amacıyla 15 dakika kadar bekletilir. Daha sonra fosfor miktarı filtre edilen çözeltide spektrofotometrik yöntemle ölçülür.

BÖLÜM 3

DENEYLER

Deney tasarımı başlangıçta mikroorganizmalar temin edilmiştir. Satın alınamayan mikroorganizmalar ise, topraktan izole edilmiştir. Bir yandan mikroorganizma kültürleri ve gerekli analizler yapılırken diğer yandan ise, nitrat ölçümü için sensör tasarımı ve yapımı gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak kompost sistemleri hazırlanmıştır. Kontrol kompostun yanısıra, diğer iki kompost kaplarına yukarıda bahsedilen mikroorganizmalar ilave edilerek potansiyometrik ve kolorimetrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Organik gübre araştırılması için ise, farklı besin maddelerinden setler hazırlanıp nitrat ölçümü yapılmıştır.

Son olarak ön muameleye tabi tutulan domates çekirdekleri büyümeye bırakılmıştır. Eş zamanlı olarak satın alınan domates fideleri ile de pilot bir sistem kurulup bitki gelişimi gözlemlenmiştir.

3.1 Mikroorganizmalar

Deneyde azot fiksasyonu yapan mikroorganizmalar saf kültürler halinde temin edilirken, fosfat çözen mikroorganizmalar Yıldız Teknik Üniversitesi Davutpaşa Kampüsü Biyomühendislik Bölümü etrafındaki toprak örneklerinden izole edilmiştir.

3.1.1 Azot Mikroorganizmaları

Azot mikroorganizmaları *Azotobacter vinelandii*, *Azospirillum sp.*, *Ensifer meliloti* ve *Streptomyces gelaticus* suşları olup DSMZ'den temin edilmiştir.

Azotobacter vinelandii, zorunlu aerobik gram negatif toprak bakterisi olup tamamen aerobik koşullar altında aktivite sergileyen üç farklı nitrojenaz sistemini kullanarak azot fiksasyonunu gerçekleştirir. Normalde nitrojenaz enzimleri aerobik koşullarda inaktif olurlar. Fakat *A. vinelandii* büyümesi esnasında artan aljinat konsantrasyonunu dolayısıyla hücreye oksijen transferi oranı azalır. Bu fenomen nitrojenaz aktivitesine olanak sağlayan daha düşük intrasellüler oksijen konsantrasyonunu oluşturur.

Azospirillum sp. [132], PGPR suşları arasından en iyi şekilde tanımlanmış suştur. *Azospirillum* serbest yaşayan, azot fiksasyonu gerçekleştiren diazotroftur. Bu bakteri köklerle iletişime girerek azot fiksasyonun yanı sıra bitki büyüme hormonlarını sentezler.

Ensifer meliloti [133], azot fiksasyonu yapan gram negatif rhizobium suşudur. Bu bakteriler baklagillerin kökleri ile simbiyotik etkileşime girerek kök nodlarını meydana getirirler.

Streptomyces gelaticus (Waksman 1923) gram negatif bir bakteri olup azot fiksasyonunu gerçekleştirebilir.

Saf kültürden pasajlama yapmak üzere, *Azotobacter* ve *Azospirillum* suşları için Ashby Mannitol (Jones 1913) (20 gr/L glukoz/mannitol, 0,2 gr/L dipotasyum fosfat (K_2HPO_4), 0,2 gr/L magnezyum sülfat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 0,2 gr/L potasyum sülfat (KH_2PO_4), 5 gr/L kalsiyum karbonat ($CaCO_3$), 15 gr/L agar; pH 7,4) besiyeri hazırlanmıştır. Bununla birlikte *Azotobacter* Agar (Mannitol) besiyeri (1 gr/L dipotasyum fosfat (K_2HPO_4), 0,2 gr/L magnezyum sülfat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 0,2 gr/L sodyum Klorür (NaCl), 0,01 gr/L ferrosülfat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 20 gr/L mannitol, 15 gr/L agar (katı besiyeri için); pH $8,3 \pm 0,2$) de hazırlanarak ekimler aseptik koşullarda yapılmıştır. Besiyeri pH'larını ayarlamak için dijital pH metre kullanılmıştır. Daha sonra 120°C'de 15 dakikada 15 lbs basınç altında otoklavlanıp steril Petri kaplarına veya Erlen Mayer camlarına dökülmüştür. Soğuduktan sonra besiyeri kapları kültür için kullanılacağı zamana kadar +4°C'de saklanmıştır.

Ensifer suşu için besiyeri içeriği şöyledir; 0,2 gr/L NaCl, 0,2 gr/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 gr/L K_2HPO_4 , 0,02 gr/L $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 10 gr/L mannitol, 0,4 gr/L yeast extract, ve 15 gr/L agar.

Besiyerinin pH'ı 7,0 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra söz konusu besiyeri otoklavlanıp ekim için hazırlanmıştır.

Streptomyces için ise, aşağıdaki besiyeri hazırlanmıştır:

12,75 gr/L maltoz, 0,78 gr/L pepton, 2,75 gr/L dekstrin, 2,35 gr/L gliserol ve 15 gr/L agar. pH ise, 7,2 olarak ayarlandı. 120°C'de 15 dakikada 15 lbs basınç altında otoklavlanan besiyeri ekim ve pasajlama yapmak üzere uygun kaplara boşaltılmıştır.

Bütün besiyerlerine ana kültürlerden ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra kültürler saflık bakımından gözle kontrol edildi.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'ye [134] göre bazı biyokimyasal tanımlama testleri söz konusu suşların kesinleştirilmesi amacıyla gerçekleştirildi.

Diğer yandan ekimin 24. saatinde bakteriyal kültürlerinin UV-VIS spektrofotometre cihazı kullanılarak 600 nm dalga boyunda optikal yoğunlukları (Optical Density (OD)) (Çizelge 3.1) ölçülmüştür.

Çizelge 3.1 Azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların ölçülen OD değerleri

Mikroorganizma	OD ₆₀₀ (600 nm)
<i>Azotobacter vinelandii</i>	0,470
<i>Azospirillum sp.</i>	0,225
<i>Ensifer meliloti</i>	0,267
<i>Streptomyces gelaticus</i>	0,458

Mikrobiyolojide bakteriyal büyümenin izlenmesi için kullanılan merkezi yöntemlerden birisi, spektrofotometre yardımı ile 600 nm'de optikal dansitenin (OD₆₀₀) ölçülmesidir. OD değerleri ölçüldükten sonra seri dilüsyonlar (10⁻⁹'a kadar) yapılır. Dilüsyonu yapılan örnek agar platelerine üç kopyalı olacak şekilde ekilerek inkübasyona bırakılır. Son olarak da CFU (colony forming unit=koloni şekillendirici birim) koloni sayısı üzerinden

hesaplanır. Her CFU, temelde bölünebilen ve inkübasyondan sonra koloni oluşturabilme kapasitesine sahip olan bir tek canlı hücreyi ifade etmektedir. Sonuç itibarıyla inkübasyondan sonra agarda sayılan koloni sayısı orjinal besiyerindeki mikroorganizmanın CFU'sunu gösterir. CFU/ml aşağıdaki eşitlikten bulunur (Eşitlik 3.1).

$$\text{CFU/ml} = (\# \text{ koloniler}) (\text{dilüsyon faktörü}) / (\text{ekim hacmi ml (genellikle 0,1 ml olarak kullanılır)}) \quad (3.1)$$

Çizelge 3.2 Azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların hesaplanan CFU/ml değerleri

Mikroorganizma	CFU/ml
<i>Azotobacter vinelandii</i>	0,025 x 10 ⁸
<i>Azospirillum sp.</i>	0,006 x 10 ⁸
<i>Ensifer meliloti</i>	0,009 x 10 ⁸
<i>Streptomyces gelaticus</i>	0,012 x 10 ⁸

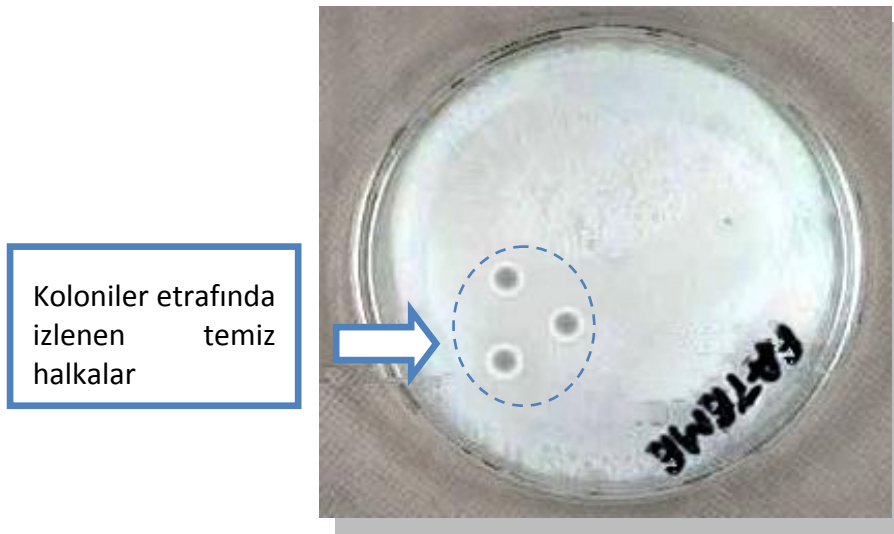
3.1.2 Fosfat Mikroorganizmalarının İzolasyonu ve Tanımlanması

Fosfatı çözülebilir hale getiren mikroorganizmalar (PSB), Yıldız Teknik Üniversitesi, Davutpaşa Kampüsü'ndeki toprak örneklerinden izole edilmiştir. Bu amaçla yaklaşık 20 cm derinlikten, 50 farklı noktadan toprak örnekleri steril plastik poşetler içerisine alınıp laboratuara taşınmıştır. Söz konusu toprak örneklerinin pH'ları 7-7,2 arasında değişmektedir. Toprak örnekleri hava ile kurutulmaya bırakılıp kuruduktan sonra el ile toz haline getirilmiştir. Elde edilen örneklerin elektrik iletkenliği değeri (EC), ortalama 332 µS/cm olarak ölçmüştür. Ekimlerde kullanılmayan fazla toprak örnekleri ise, daha sonra kullanılmak amacıyla +4°C'de steril plastik kilitli poşetlerde saklanmıştır.

PSB'ler örneklerin seri dilüsyonları ve plate yayma metodu ile izole edilmiştir. Bu amaçla toprak örneğinden 1 gr alınarak 9 ml otoklavlanmış distile su ile karıştırılıp 15 dakika boyunca elektrikli çalkalayıcıda çalkalandı. Böylece 10⁻¹ dilüsyonu hazırlandı. Daha sonra bu solüsyondan 1 ml alınarak 9 ml steril distile su ile karıştırılıp 10⁻²'ye

seyreltildi (Alexander, 1965). Seri dilüsyonlar (10^{-1} - 10^{-8}) yapıldıktan sonra her bir dilüsyondan 0,1 ml alınıp katı Pikovskaya's agar besiyerine (PVK) [135] yayılarak ekim yapılmıştır. Literatür taramalarında PVK besiyeri diğer besiyerlerine nazaran *PSB*'ler için seçici özelliğine sahiptir. Pikovskaya's agar besiyerinin içeriği şöyledir; 0,5 gr/L yeast extract, 10 gr/L dekstroz, 0,5 gr/L amonyum sülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), 0,1 gr/L magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 5 gr/l çözünmez trikalsiyum fosfat (TCP) ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), 0,2 gr/L potasyum klorür (KCl), 0,002 gr/L olmak üzere $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve son olarak 15 gr/L agar. Söz konusu besiyeri içeriği karıştırılıp pH 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 120°C 'de 15 dakikada 15 lbs basınç altında otoklavlanıp steril Petri kaplarına dökülmüştür. Soğuduktan sonra besiyeri kapları kültür için kullanılacağı zamana kadar $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Hazırlanan besiyerlere ekim yapıldıktan sonra 25°C 'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bazı Petri kaplarında kolonilerin etrafında halkalar (halo zones) izlenmiştir (Şekil 3.1). Bu halkalar besiyeri içeriğinden bulunan çözünmez trikalsiyum fosfatın mikroorganizmalar tarafından çözündüğünü gösterir.



Şekil 3.1 PVK besiyerinde bulunan kolonilerin etrafındaki halkalar

Halkalar çoğunlukla 48 saatten sonra 10^{-5} dilüsyonlarından yapılan yayma ekimlerine ait Petri'lerde gözlenmiştir. Bunun yanısıra, sayıları az olmakla beraber 10^{-6} ve 10^{-7} ekimlerinde de anlatılan halkalar görünmüştür.

Yukarıda anlatılan ekimlere eş zamanlı olarak literatürde fosfat mikroorganizmalarının izolasyonu için kullanılan birkaç besiyeri daha kullanıldı. Bunlar kalsiyum fosfat besiyeri

(10 gr/L glukoz, 0,5 gr/L yeast extract, 0,1 gr/L kalsiyum klorür (CaCl_2), 0,25 gr/L magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 2,51 gr/L kalsiyum fosfat ($\text{Ca}(\text{PO}_4)$) ve 20 gr/L agar), nutrient agar besiyeri (5 gr/L triptofan, 2,5 gr/L yeast extract, 1 gr/L dektroz, 20 gr/L agar), standart agar besiyeri (5 gr/L trikalsiyum fosfat, 15 gr/L agar) ve Sperber mediumudur [136] (10 gr/L glukoz, 0,5 gr/L yeast extract, 0,1 g/L kalsiyum klorür (CaCl_2), 0,25 gr/L magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 2,5 gr/L trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ve 15 gr/L agar) [136].

Mikroorganizmaların popülasyon yoğunluğu Alexander dilüsyon yöntemi ile hesaplanmıştır [137]. Buna göre her dilüsyondan 1'er ml alınarak 5'li alt seyreltmeler yapılmıştır. Elde edilen en çok muhtemel sayı (Most Probable Number (MPN)) tahmini için 5-tüplü MPN çizelgesi kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 5-tüplü MPN ve %95'lik güvenlilik aralığı

Alt Dilüsyonlar			MPN/g	Güvenlilik Limiti		Alt Dilüsyonlar			MPN/g	Güvenlilik Limiti	
0,1	0,01	0,001		Düşük	Yüksek	0,1	0,01	0,001		Düşük	Yüksek
0	0	0	<1,8	–	6,8	4	0	2	21	6,8	40
0	0	1	1,8	0,09	6,8	4	0	3	25	9,8	70
0	1	0	1,8	0,09	6,9	4	1	0	17	6	40
0	1	1	3,6	0,7	10	4	1	1	21	6,8	42
0	2	0	3,7	0,7	10	4	1	2	26	9,8	70
0	2	1	5.5	1,8	15	4	1	3	31	10	70
0	3	0	5.6	1,8	15	4	2	0	22	6,8	50
1	0	0	2	0,1	10	4	2	1	26	9,8	70
1	0	1	4	0,7	10	4	2	2	32	10	70
1	0	2	6	1,8	15	4	2	3	38	14	100
1	1	0	4	0,7	12	4	3	0	27	9,9	70
1	1	1	6.1	1,8	15	4	3	1	33	10	70
1	1	2	8.1	3,4	22	4	3	2	39	14	100

Çizelge 3.3 5-tüplü MPN ve %95'lik güvenlilik aralığı (devamı)

1	2	0	6,1	1,8	15	4	4	0	34	14	100
1	2	1	8,2	3,4	22	4	4	1	40	14	100
1	3	0	8,3	3,4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	1	10	3,5	22	4	5	0	41	14	100
1	4	0	11	3,5	22	4	5	1	48	15	120
2	0	0	4,5	0,79	15	5	0	0	23	6,8	70
2	0	1	6,8	1,8	15	5	0	1	31	10	70
2	0	2	9,1	3,4	22	5	0	2	43	14	100
2	1	0	6,8	1,8	17	5	0	3	58	22	150
2	1	1	9,2	3,4	22	5	1	0	33	10	100
2	1	2	12	4,1	26	5	1	1	46	14	120
2	2	0	9,3	3,4	22	5	1	2	63	22	150
2	2	1	12	4,1	26	5	1	3	84	34	220
2	2	2	14	5,9	36	5	2	0	49	15	150
2	3	0	12	4,1	26	5	2	1	70	22	170
2	3	1	14	5,9	36	5	2	2	94	34	230
2	4	0	15	5,9	36	5	2	3	120	36	250
3	0	0	7,8	2,1	22	5	2	4	150	58	400
3	0	1	11	3,5	23	5	3	0	79	22	220
3	0	2	13	5,6	35	5	3	1	110	34	250
3	1	0	11	3,5	26	5	3	2	140	52	400
3	1	1	14	5,6	36	5	3	3	180	70	400
3	1	2	17	6	36	5	3	4	210	70	400
3	2	0	14	5,7	36	5	4	0	130	36	400
3	2	1	17	6,8	40	5	4	1	170	58	400
3	2	2	20	6,8	40	5	4	2	220	70	440

Çizelge 3.3 5-tüplü MPN ve %95'lik güvenlilik aralığı (devamı)

3	3	0	17	6,8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	1	21	6,8	40	5	4	4	350	100	710
3	3	2	24	9,8	70	5	4	5	430	150	1,100
3	4	0	21	6,8	40	5	5	0	240	70	710
3	4	1	24	9,8	70	5	5	1	350	100	1100
3	5	0	25	9,8	70	5	5	2	540	150	1700
4	0	0	13	4,1	35	5	5	3	920	220	2600
4	0	1	17	5,9	36	5	5	4	1600	400	4600
						5	5	5	>1600	700	

Bu çizelge kullanılarak bütün farklı besiyerlerindeki populasyon yoğunlukları kıyaslanmıştır (Çizelge 4.1).

MPN dışında sıvı besiyerlerinin OD değerleri ekimden 24 saat sonra spektrofotometre yardımıyla 600 nm'de ölçülmüştür.

Çizelge 3.4 Mikroorganizma izolatlarının 600 nm'de ölçülen optikal yoğunlukları

Mikroorganizma	OD ₆₀₀ (600 nm)
<i>PSB I*</i>	0,416
<i>PSB III*</i>	0,402
<i>PSB VII*</i>	0,453

*Çizelge 4.2'de bilgileri bulunmaktadır. *PSB* deney sırasında izolatların genel isimlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Etrafında temiz halkalar oluşan pozitif *PSB* kolonileri, saf kültür elde etmek için beş defa katı Pikovskaya agar besiyerinde alt kültüre tabi tutulmuştur. Daha sonra saf kültürlerde kolonilerin etrafında oluşan temiz halka boyutları 1, 2, 4, 6 ve 8. günlerde mm olarak üçer defa ölçerek ortalaması alınıp kaydedilmiştir (Çizelge 4.2). İzolatların

inorganik fosfatı (Pi) çözebilme kabiliyetlerinin kıyaslanması için, PVK besiyerindeki saf kültürlerden 25 µl bakteriyal suspansiyon 10⁸ CFU/ml'ye sulandırıldıktan sonra katı PVK besiyerinin ortasına damlatılmıştır. Koloniler etrafında oluşan temiz halkaların boyutu 1, 2, 4, 6 ve 8. günlerde ölçüldü.

Saf kültür elde ettikten sonra, kültürlerin sıvı besiyerinde pasajları da PVK besiyerinde düzenli olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1 Bakteriyal İzolatların Fosfataz Aktivitesi

Toprak örneklerinin fosfataz aktivitesini saptamak amacıyla 50 mg/l 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfat (BCIP) içeren katı PVK besiyerlerine sulandırılmış toprak örneklerinden alınıp ekim yapılmıştır. Platelar 25°C'de 16 saat boyunca koloniler etrafında mavi renk oluşana kadar inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra pozitif koloniler alınıp saf kültürler elde etmek için alt klonlamalar yapılmıştır.

Bakteriyal izolatların fosfataz aktivitesi 1, 2 ve 7. günlerde kolonilerin etrafındaki renk şiddetinin numaralandırılması ile gerçekleştirildi (Çizelge 4.1). Bu amaçla besiyerlerin bir kısmında çözünür KH₂PO₄ bulunurken, diğer besiyerlerde ise, trikalsiyum fosfat eklenmiştir.

3.1.2.2 Bakteriyal İzolatların Karakterizasyonu

a. Morfolojik Karakterizasyon

Bakteriyal izolatlar standart proseslerine uygun olarak koloni morfolojisi, hücre şekilleri ve gram boyama reaksiyonlarına tabi tutuldu.

Gram boyama için kolonilerden öze yardımı ile alınan örnekler lama yerleştirilip alevden üçer defa geçirilerek fiziksel fiksasyon yapılmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar bir dakika boyunca kristal viyole ile daha sonra da bir dakika süre ile lugol ile boyandı. Yıkama işlemi için ise, %95'lik etanol ve su kullanıldı. Son olarak preparatlar fuksinde 20 saniye bekletilip su ile yıkatıldı. Bir damla imersiyon yağı damlatıldıktan sonra preparatlar mikroskopta incelendi. Mor renkli bakteriler gram + işaretlerken, gram - bakteriler pembe rengi ile belirlenir (Çizelge 4.2).

b. Biyokimyasal Karakterizasyon

İzolatların tanımlanması için biyokimyasal reaksiyonlar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'ye [134] göre gerçekleştirildi.

I. Jelatin Hidrolizi (Sıvılaştırılması)

Öze ile izolatlardan alınan örnek Jelatin agar platelerinin tek bir bölgesine nokta ekim şeklinde ekildi ve 30°C'de 72 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonra plateler 20 dakika süreyle %12'lik HgCl₂ solüsyonunda yüzdürüldü. Organizmanın büyüdüğü bölgede boş alanın meydana gelmesi jelatinin mikroorganizma tarafından sıvılaştırıldığına işaret eder.

II. Farklı Şeker Kullanımı

Sitrat testi; bazı bakteri grupları sitratı organik karbon kaynağı olarak ve enerji elde etmek amacıyla kullanabilirler. Bunu gözlemek için Simmon's Sitrat Agar besiyeri (0,2 gr/l magnezyum sülfat, 1 gr/l amonyum dihidrojen fosfat, 1 gr/l dipotasyum fosfat, 2 gr/l sodyum sitrat, 5 gr/l sodyum klorür, 0,08 bromotimol mavisi, 15 gr/l agar; pH 6.8±2) hazırlanmıştır. 35°C'de yapılan ortalama 48 saat inkübasyondan sonra sonuçlar izlenmiştir. Başlangıçta yeşil renkli olan bromotimol mavisi indikatörü, besiyerinin maviye dönmesi haliyle pozitif sonuç olarak tanımlanır.

Diğer karbon kaynaklarının kullanılması ile ilgili testler, "Biolog Microstation sistemi" kullanılarak gerçekleştirildi. Söz konusu sistem bir redoks sistemidir [138]. Bu amaçla, ana bakteriyel suşlarından PVK besiyerinde iki defa olmak üzere alt klonlama yapıldı. İlk ekim için 28°C'de 24 saat beklerken, ikinci ekim için aynı sıcaklıkta 48 saat beklendi. Steril pamuklu çubuk vasıtasıyla kolonilerden, 0,01 M potasyum fosfat buffer (PPB) (pH 7,0) içinde suspansiyon hazırlandı. Diğer yandan her bir karbon bileşeni konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde hazırlandı.

Gram negatif bakterilere özel olarak hazırlanmış Biolog ECO mikropelateleri kullanıldı. 95 çukurun her birinde farklı bir karbon kaynağı bulunurken (burada 31), renksiz tertrazolium boyası da mevcuttur. Bir çukur kontrol olarak boş bırakılır. Hazırlanan bakteriyel hücre süspansiyonundan her bir çukur için mikropipet yardımıyla 150 µl

örnek ilave edilir. Mikroplatin kapağı kapatıldıktan sonra 48 saat inkübasyona bırakıldı. Karbon kaynağı oksidasyona uğratıldığında renksiz tetrazolium boyası mavimsi mor formazana çevrilir. Ekimler üçer defa gerçekleştirildi. Renk izlenmesi pozitif sonuç olarak kabul edildi.

III. Nişasta Hidroliz Testi

Nişasta agar (3 gr/l et ekstraktı, 10 gr/l nişasta, 12 gr/l agar; pH 7,5 ± 0,2) Petri'lerine deney izolatlar ile ekim yapıldıktan sonra 30°C'de 72 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra plateler 30 dakika boyunca Lugol ile muamele edildi. Kolonilerin etrafındaki temiz bölgeler nişastanın kullanıldığını gösterir.

IV. Katalaz Testi

Genellikle aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmalar sahip oldukları katalaz enzimi vasıtasıyla ortamdaki hidrojen peroksidi (H_2O_2) su ve oksijene ayırıştırırlar. Bu test yardımıyla mikroorganizmanın katalaz veya peroksidaz enzimini üretilip hidrojen peroksidi (H_2O_2) indirgeyebilme kabiliyeti araştırılır. Bu testi gerçekleştirmek için, nutrient agarda ekilen izolatlar 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra 1ml %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak hava kabarcıklarının meydana gelmesi takip edildi.

V. Oksidaz Testi

Nutrient agarda 24 saat inkübasyona bırakılan kolonilerin üzerine %1'lik p-aminodimetilanilin okalat ve %1'lik etanol içinde hazırlanmış α -naftol çözeltilerinden iki üç damla ilave edildi. Oluşan mavi renk pozitif sonuç anlamına gelmektedir.

VI. Indol Üretimi

Bu test yardımıyla araştırılan mikroorganizmaların triptofanı hidrolize uğratarak indol oluşurup oluşturmadıkları anlaşılır. İzolatlar triptofan besiyerine 72 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 0,2 ml Kovacs ayırıcı ilave edildiğinde oluşan kırmızı halka triptofanın parçalandığını gösterir.

VII. Voges Proskauer ve Metil Red Testi

Bazı bakteriler, ortamda bulunan glukozu, asetoin, 2,3-bütillen glikol gibi nötral maddelere çeviriler. Bunlar arasından, asetoin ortama bazik bir madde eklendiğinde diasetile okside olur. Söz konusu bu madde de peptondaki kreatin, arjinin veya kreatinin ile reaksiyona girerek kırmızımsı bir renk oluşumuna sebebiyet verir.

10 ml MR-VP Mediumu (glukoz fosfat besiyeri) (7gr/l pepton, 5 gr/l dektroz, 5 gr/l dipotasyum fosfat; pH 6,9 $\pm$ 0,2) hazırlandıktan sonra izolat öze yardımıyla eklenip 96 saat inkübe edildi. Daha sonra besiyeri ikiye bölündü. Tüplerden birisine Voges Proskauer testi için 5 ml %40'lık potasyum hidroksit (KOH) ilave edilip karıştırıldı. Son olarak az miktarda toz kreatin ilavesinden sonra 15 dakika bekletildi. Oluşan kırmızı halka glukozun diasetile oksidasyonuna işaret eder.

Metil red testi yardımıyla, bakterilerin glukozdan organik asitler oluşturmaları araştırılır.

Deneyde saklanan ikinci MR-VP besiyerinin bulunduğu tüpe birkaç damla metil kırmızısı indikatörü damlatıldı. Renk değişimi pozitif sonuç anlamına gelmektedir.

VIII. Hareketlilik Testi

Hareketlilik testi için, yaş preparatlarla asılı damla testi uygulanmıştır. Bu amaçla, lamelin etrafına ince bir hat şeklinde vazelin sürüldükten sonra ortasına bir damla izolat konuldu. Çukur lam bu damlanın üzerine gelecek şekilde kapatılıp ters çevrildi. Preparat mikroskobun immersiyon objektifinde incelendi.

IX. Üreaz Testi

Üreaz testi ile mikroorganizmanın üreaz enzimini üreterek üreyi amonyağa indirgeme kabiliyetleri araştırılır. Söz konusu test için üre besiyeri (20 gr/l üre, 9,5 gr/l dipotasyum fosfat, 9,1 gr/l monopotasyum fosfat, 0,1 gr/l yeast extract, 0,1 fenol kırmızısı; pH 6,8 $\pm$ 0,2) hazırlandı. Ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Pozitif sonuç meydana geldiği takdirde bazik bir ortam oluşacağından pH indikatörü olan fenol kırmızısı yüzünden besiyeri rengi kırmızıya döner.

X. Nitrat İndirgeme Testi

Bazı mikroorganizmalar nitrati, nitrit veya dah sonraki aşamalara indirgeyebilirler. Bu test için hazırlanan besiyeri aşağıdaki gibidir;

1 g/l potasyum nitrat, 3 gr/l et ekstraktı ve 5 gr/l pepton. İnkübasyondan sonra 5 N %30'luk bir litre asetik asit içinde hazırlanan 8 gr sülfonik asit (ayıraç A) ve 5 gr α -Naftilamin ile 5 N %30'luk asetik asit (1 l) (ayıraç B) ayıraçlarından birkaç damla damlatıldı. Kırmızımsı boya olumlu sonuç anlamına gelir.

3.1.2.3 İzolatların Büyüme İndeksleri

Biyokimyasal tanımlama testleri sonucunda seçilen üç izolat grubunun CFU/ml değerleri daha önce anlatıldığı üzere seri dilüsyonlar yapılarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.5)

Çizelge 3.5 Seçilen izolatların hesaplanan CFU/ml değerleri

Mikroorganizma	CFU/ml
<i>PSB I</i>	$0,066 \times 10^8$
<i>PSB III</i>	$0,087 \times 10^8$
<i>PSB VII</i>	$0,057 \times 10^8$

Yukarıda CFU/ml değerleri verilen izolatların büyüme indeksi (GI), ilk 48 saat boyunca minimal sıvı besiyerleri kullanılarak CFU/ml sayısal değerlerinin logaritması alınıp hesaplanmıştır (Şekil 4.2 ve 4.3).

3.2 Kompost Düzenegi

Kompost hazırlamak için kullanılan toprak Yıldız Teknik Üniversitesi, Davutpaşa Kampüsü'nde bulunan Biyomühendislik Bölümü'nün önündeki toprak olup $\frac{1}{4}$ oranla komposta katılabilecek atık maddelerle karıştırılmıştır. Atık maddelerin oranı ise, karbon kaynağı kahverenkli atıkların, azot kaynağı yeşil renkli atıklara oranı 25/1 şeklinde ayarlanmıştır. Atıklar ortalama parçacık boyutları 2 inch (5cm) olacak şekilde parçalanmıştır. Kompostun başlangıç pH'sı 6,5'dur.

Ana kompost karışımı üç kaba (koyu renkli ve delikli) eşit dağıtılacak şekilde bölünmüştür (Şekil 3.3); ilk kaptaki kompost herhangi bir ekleme içermeden kontrol olarak kullanılırken, ikinci kaba azotu fikse eden 4 farklı suşun sıvı besiyerlerinden 100'er ml olmak üzere ilave edilmiştir. Üçüncü kaba ise, her üç pozitif PSB kültürlerinden 100'er ml ekleme yapılmıştır. Kompost, havalandırmak amacıyla günde iki defa karıştırılarak içindeki nem miktarı hygrometre ile ölçülmüştür. Nem oranı ise %60'i geçmeyecek şekilde ayarlanmıştır. Bunun için iki günde bir kompost malzemeleri üzerine su serpiştirilmiştir. Kompost ana maddelerine mikroorganizma ilavesi hızlı fermentasyon compostlama işleminin termofilik evresinden sonra yani on üçüncü günde her 1000 g kompost malzemesine karşılık %0,5 mikrobiyal kültürlerin her birisinden olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Her üç kompost sistemi üçer defa hazırlanıp ölçümleri alınmıştır. Değerlerin aritmetik ortalamaları kaydedilmiştir.



Şekil 3.2 Başlangıç kompost düzeneği

3.3 Diğer Kompost Zenginleştirici Setlerin Kurulması

Destekleyici maddelerin araştırılmasına yönelik altı farklı deney seti kurulmuştur. Bu amaçla mikroorganizmaların yanı sıra deniz suyu, yoğurt suyu ve karışık deney sistemleri tasarlanmıştır.

İlk Set: Kontrol kompost + Su

100ml'lik Erlen Mayer içine 5 mg kompost konuldu. 100 ml distile su ilave edilerek çalkalayıcı inkübatörde 25°C'de 120 rpm ile karıştırılmıştır.

İkinci Set: Kontrol Kompost + Deniz suyu

5 mg kompost içeren 100 ml'lik Erlen Mayer flasklarına yirmi gün boyunca 2,5 ml İstanbul Riva sahilinden alınmış deniz suyu ilave edildi. Flask 100 ml distile su ile doldurularak 25°C'de 120 rpm ile çalkalanmıştır.

Üçüncü Set: Kontrol kompost + Ev yapımı yoğurt suyu

100 ml'lik Erlen Mayer'a 100 ml distile su ve 5 mg kontrol kompost ilave edildikten sonra 2,5 ml/gün ev yapımı yoğurt suyu katılarak 20 gün süresince çalkalanmıştır. Burada kullanılan yoğurt suyunun CFU/ml değeri $0,134 \times 10^8$ şeklinde hesaplanmıştır.

Dördüncü Set: Kontrol Kompost + Ekmek Mayası

Katı ekmek mayası ılık suda çözünerek bu sıvıdan 2,5 ml/gün alınmıştır. 100 ml distile suya 5 mg kontrol kompost ve ekmek mayası sıvısı katılmıştır. Söz konusu solüsyonlar 20 gün 25°C'de 120 rpm'de çalkalanmıştır.

Beşinci Set: Kontrol Kompost + Azot Fiksasyonu Yapan Mikroorganizma Kültürleri

5 mg kompost 100 ml distile suya ilave edilmiştir. Daha sonra 5 farklı azot fikasyonu yapan mikroorganizma suşundan 5 ml alınıp bu solüsyonu katılarak 20 gün boyunca karıştırılmıştır.

Altıncı Set: Kontrol Kompost + Yoğurt Suyu + Azot Bakterileri

5 mg kontrol kompost, 2,5 ml ev yapımı yoğurt suyu ve 5 ml bakteri karışımı 100 ml'lik Erlenlere dolduruldu. Üzerine 100 ml distile su ilave edilerek 20 gün 25°C'de 120 rpm'de inkübasyona bırakılmıştır.

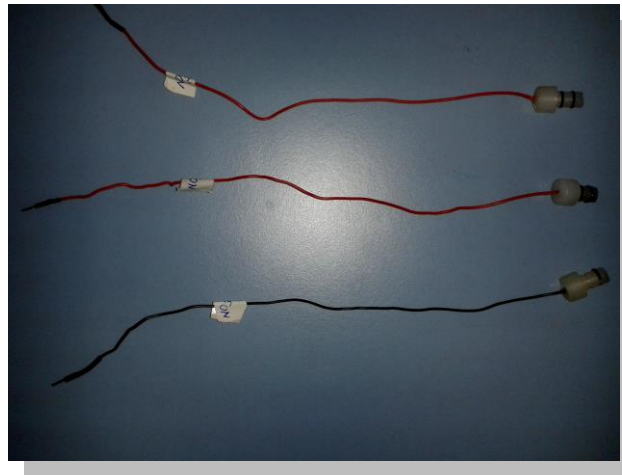
Yukarıda anlatılan her setin ölçümleri gün aşırı gerçekleştirilerek konsantrasyon grafiği çizilmiştir.

3.4 Sensörlerin Hazırlanması

3.4.1 Nitrat Sensörü

Membranlı elektrotlar dört aşamada hazırlanmıştır; katı kontaktın hazırlanması amacıyla küttelece %40 (w/w) grafit, %40 (w/w) epoksi ve %20 (w/w) sertleştirici yeterli miktarda THF ile homojen bir karışım elde edene kadar karıştırıldı. Elektrot gövdesini

oluşturulacak 1,0 mm'lik bakır tel karışımın içindeki THF uçurularak kaplanmak için katı kontakta daldırıldı. Söz konusu teller 24 saat boyunca 50°C'lik etüvde kurutuldu. İkinci aşamada ise, elektrot için membran hazırlandı. Bunun için %4 TDDA-NO₃, %68 DBP ve %28 PVC 500 mg olacak şekilde hazırlandı. Yüzeyleri katı kontakla kaplanmış bakır teller, hazırlanan membran çözeltisine uygun kalınlıkta membran elde edecek şekilde 2-3 defa daldırılarak kaplandı. Membranın kaplanması esnasında, elektrot uçlarına hava kabarcıkları kalmamasına özen gösterildi. Sonraki aşamada kaplanan elektrot membranları 6 saat süresince oda koşullarında ve karanlıkta kurumaya bırakıldı. Son olarak elektrotların koşullandırılması için, hazırlanan elektrotlar 12 saat boyunca 10⁻¹M amonyum nitrat çözeltisine daldırıldı. Elektrotlar, kullanım zamanları dışında oda koşullarında karanlıkta tutuldu. Elektrotlar, ölçümler başlatılmadan önce doğru çalıştıklarını görmek amacıyla denenmiştir (Ek B, Şekil 1).



Şekil 3.3 Seçici nitrat sensörü

3.4.2 Amonyum Sensörü

Amonyum sensörünün bakır katı kontakt elektrotları yukarıda anlatıldığı gibi hazırlandı. Hazırlanan elektrotların yüzeylerinde bulunan olası kirliliklerin temizlemesi amacıyla THF'ye bir kaç kez daldırıldı. Diğer yandan membran kokteyli hazırlandı. Bunun için %29 (%w/w) PVC, %68 2-nitrofeniloktileter (o-NPOE), %1 amonyum iyonofor (nonaktin), %1 di-cyclo-hexyl-18-crown-6 [NaI], ve son olarak %1 potasyum tetrakis borattan oluşan 250 mg kokteyl karışımı 3,5 ml THF yardımıyla çözüldü. Homojen bir karışım elde edildikten sonra hazırlanan kokteyl, kaplama yapılabilmesi üzere uygun viskoziteye ulaşması için oda sıcaklığında, karanlıkta beklemeye bırakıldı. Son olarak, katı kontakt

elektrotları hazırlanan NH_4^+ seçici membran kokteyline 3-4 kez daldırılarak sensörün kendi eksenini etrafında döndürülmesi ile kaplandı. Sensörler karanlıkta ve oda sıcaklığında 3-4 saat kadar kurumaya bırakıldı. Daha sonra bu sensörler, 0,1 M NH_4Cl çözeltisinde 10-12 saat süreyle doyurulmaya bırakıldı. Hazırlanan elektrotlar deney başlatılmadan önce kontrol edilmiştir (Ek B, Şekil 2).

3.5 Ölçümler

3.5.1 Nitrat ve Amonyum Potansiyometrik Ölçümü

Kontrol kompost ve mikroorganizma ile zenginleştirildiği düşünülen kompost örneklerindeki nitratın ölçülmesi için kolorimetrik yöntemlerden potansiyometrik yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla hazırlanan nitrat sensörü ve standart ticari referans elektrodu yüksek empedanslı kutuya bağlanarak Veri Analiz Programı vasıtasıyla günlük ölçümler alınıp kaydedilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Potansiyometrik ölçüm düzeneği

Kompost düzeneği kurulduğu günden itibaren nitrat ölçümü başlanmıştır.

Kompost örneklerinde bulunan nitratın ölçülmesi amacıyla standart çözelti setleri hazırlanmıştır. Söz konusu çözelti grubu 0,1 M'lık amonyum nitrat (NH_4NO_3) stok çözeltisinden, 10^{-1} - 10^{-5} amonyum nitrat çözelti setleri şeklinde hazırlanmıştır. Bu çözeltiler vasıtasıyla kalibrasyon eğrisi elde edildi. 5 mg'lık saf kompost örneği ile 5 mg'lık mikroorganizma ilaveli kompost örnekleri gün aşırı 100'er ml'lik 1N amonyum

asetat çözeltisinde bir saat süresince manyetik karıştırıcıda bekletildikten sonra süzülüp potansiyometride üçer defa olmak üzere ölçümleri alınmıştır. Elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması alınıp günlük değer olarak kaydedilmiştir.

Elde edilen potansiyel değerlerinden Nerst Eşitliği (Eşitlik 2.5) yardımı ile çözeltilerin konsantrasyonları hesaplanmıştır (Çizelge 3.6 ve 3.7).

Çizelge 3.6 Hazırlanan kontrol kompost içerisindeki nitratın 60 günlük konsantrasyonu

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-1	0,015
Kompost-2	0,015
Kompost-3	0,015
Kompost-4	0,015
Kompost-5	0,015
Kompost-6	0,015
Kompost-7	0,015
Kompost-8	0,015
Kompost-9	0,015
Kompost-10	0,015
Kompost-11	0,015
Kompost-12	0,015
Kompost-13	0,015
Kompost-14	0,015

Çizelge 3.6 Hazırlanan kontrol kompost içerisindeki nitratın 60 günlük konsantrasyonu
(devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-15	0,015
Kompost-16	0,015
Kompost-17	0,015
Kompost-18	0,015
Kompost-19	0,015
Kompost-20	0,015
Kompost-21	0,015
Kompost-22	0,015
Kompost-23	0,015
Kompost-24	0,015
Kompost-25	0,015
Kompost-26	0,049
Kompost-27	0,049
Kompost-28	0,049
Kompost-29	0,049
Kompost-30	0,083
Kompost-31	0,083

Çizelge 3.6 Hazırlanan kontrol kompost içerisindeki nitratın 60 günlük konsantrasyonu
(devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-32	0,133
Kompost-33	0,150
Kompost-34	0,201
Kompost-35	0,218
Kompost-36	0,234
Kompost-37	0,167
Kompost-38	0,133
Kompost-39	0,116
Kompost-40	0,100
Kompost-41	0,066
Kompost-42	0,049
Kompost-43	0,049
Kompost-44	0,032
Kompost-45	0,015
Kompost-46	0,015
Kompost-47	0,015
Kompost-48	0,015

Çizelge 3.6 Hazırlanan kontrol kompost içerisindeki nitratin 60 günlük konsantrasyonu
(devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-49	0,015
Kompost-50	0,015
Kompost-51	0,015
Kompost-52	0,015
Kompost-53	0,015
Kompost-54	0,015
Kompost-55	0,015
Kompost-56	0,015
Kompost-57	0,015
Kompost-58	0,015
Kompost-59	0,015
Kompost-60	0,015

Çizelge 3.7 Hazırlanan azot fikse eden mikroorganizma ilaveli kompostun içindeki nitratin 60 günlük konsantrasyon değerleri

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-1	0,015
NO3-2	0,015
NO3-3	0,015

Çizelge 3.7 Hazırlanan azot fikse eden mikroorganizma ilaveli kompostun içindeki nitratın 60 günlük konsantrasyon değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-4	0,015
NO3-5	0,015
NO3-6	0,015
NO3-7	0,015
NO3-8	0,015
NO3-9	0,015
NO3-10	0,015
NO3-11	0,015
NO3-12	0,015
NO3-13	0,015
NO3-14	0,015
NO3-15	0,015
NO3-16	0,015
NO3-17	0,015
NO3-18	0,032
NO3-19	0,049
NO3-20	0,116

Çizelge 3.7 Hazırlanan azot fikse eden mikroorganizma ilaveli kompostun içindeki nitratın 60 günlük konsantrasyon değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-21	0,251
NO3-22	0,319
NO3-23	0,386
NO3-24	0,471
NO3-25	0,622
NO3-26	0,622
NO3-27	0,622
NO3-28	0,791
NO3-29	0,791
NO3-30	0,875
NO3-31	0,960
NO3-32	1,010
NO3-33	1,044
NO3-34	1,145
NO3-35	1,381
NO3-36	1,466
NO3-37	1,466

Çizelge 3.7 Hazırlanan azot fikse eden mikroorganizma ilaveli kompostun içindeki nitratın 60 günlük konsantrasyon değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-38	1,500
NO3-39	1,533
NO3-40	1,533
NO3-41	1,550
NO3-42	1,634
NO3-43	1,634
NO3-44	1,634
NO3-45	1,634
NO3-46	1,634
NO3-47	1,634
NO3-48	1,634
NO3-49	1,634
NO3-50	1,634
NO3-51	1,634
NO3-52	1,634
NO3-53	1,634
NO3-54	1,634

Çizelge 3.7 Hazırlanan azot fikse eden mikroorganizma ilaveli kompostun içindeki nitratın 60 günlük konsantrasyon değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-55	1,550
NO3-56	1,432
NO3-57	1,432
NO3-58	1,432
NO3-59	1,432
NO3-60	1,432

Amonyum için ise, potansiyometrik ölçümlerin alınması amacıyla 0,1 M stok NH_4Cl çözeltisinden 10^{-1} - 10^{-5} şeklinde kalibrasyon standart setleri hazırlandı. Nitratta olduğu gibi hazırlanan kompost örneklerin potansiyelleri, elektrodun kalibrasyonu yapıldıktan sonra üçer defa ölçülmüştür. Değerlerin ortalaması alındıktan sonra kalibrasyon eğrisi çizilerek Nerst eşitliği vasıtasıyla amonyum konsantrasyonu elde edilmiştir (Çizelge 3.8 ve 3.9).

Çizelge 3.8 Kontrol kompostun amonyum değerleri

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-1	0
Kompost-2	0,008
Kompost-3	0,012
Kompost-4	0,02
Kompost-5	0,07

Çizelge 3.8 Kontrol kompostun amonyum değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-6	0,1
Kompost-7	0,14
Kompost-8	0,16
Kompost-9	0,18
Kompost-10	0,22
Kompost-11	0,25
Kompost-12	0,27
Kompost-13	0,29
Kompost-14	0,29
Kompost-15	0,29
Kompost-16	0,29
Kompost-17	0,29
Kompost-18	0,29
Kompost-19	0,29
Kompost-20	0,31
Kompost-21	0,28
Kompost-22	0,26
Kompost-23	0,23

Çizelge 3.8 Kontrol kompostun amonyum değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-24	0,23
Kompost-25	0,2
Kompost-26	0,19
Kompost-27	0,19
Kompost-28	0,16
Kompost-29	0,16
Kompost-30	0,16
Kompost-31	0,16
Kompost-32	0,16
Kompost-33	0,16
Kompost-34	0,16
Kompost-35	0,16
Kompost-36	0,16
Kompost-37	0,16
Kompost-38	0,16
Kompost-39	0,16
Kompost-40	0,16
Kompost-41	0,16

Çizelge 3.8 Kontrol kompostun amonyum değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
Kompost-42	0,16
Kompost-43	0,16
Kompost-44	0,16
Kompost-45	0,16
Kompost-46	0,16
Kompost-47	0,16
Kompost-48	0,16
Kompost-49	0,16
Kompost-50	0,1
Kompost-51	0,09
Kompost-52	0,05
Kompost-53	0,05
Kompost-54	0,01
Kompost-55	0
Kompost-56	0
Kompost-57	0
Kompost-58	0
Kompost-59	0

Çizelge 3.8 Kontrol kompostun amonyum değerleri (devamı)

Kompost-60	0
------------	---

Çizelge 3.9 Mikroorganizma ilaveli kompostun amonyum değerleri

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-1	0
NO3-2	0,005
NO3-3	0,014
NO3-4	0,01
NO3-5	0,06
NO3-6	0,11
NO3-7	0,17
NO3-8	0,18
NO3-9	0,18
NO3-10	0,2
NO3-11	0,23
NO3-12	0,28
NO3-13	0,29
NO3-14	0,19

Çizelge 3.9 Mikroorganizma ilaveli kompostun amonyum değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-15	0,2
NO3-16	0,21
NO3-17	0,2
NO3-18	0,18
NO3-19	0,16
NO3-20	0,12
NO3-21	0,09
NO3-22	0,05
NO3-23	0,03
NO3-24	0
NO3-25	0
NO3-26	0
NO3-27	0
NO3-28	0
NO3-29	0
NO3-30	0
NO3-31	0
NO3-32	0

Çizelge 3.9 Mikroorganizma ilaveli kompostun amonyum değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-33	0
NO3-34	0
NO3-35	0
NO3-36	0
NO3-37	0
NO3-38	0
NO3-39	0
NO3-40	0
NO3-41	0
NO3-42	0
NO3-43	0
NO3-44	0
NO3-45	0
NO3-46	0
NO3-47	0
NO3-48	0
NO3-49	0
NO3-50	0

Çizelge 3.9 Mikroorganizma ilaveli kompostun amonyum değerleri (devamı)

Örnekler	Konsantrasyon (gr/l)
NO3-51	0
NO3-52	0
NO3-53	0
NO3-54	0
NO3-55	0
NO3-56	0
NO3-57	0
NO3-58	0
NO3-59	0
NO3-60	0

3.5.2 Fosfatın Kolorimetrik Ölçümü

Kompost örneklerinde bulunan organik fosfatın ölçülmesi için kolorimetrik yöntemlerden spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla Olsen Tekniği [139] kullanarak süzölmüş kompost çözeltisi üzerine 100 ml 0,5 M kalsiyum bikarbonat çözeltisi ilave edildikten sonra yarım saat kadar shaker ile karıştırılmıştır. Karışımın 15 ml'si 5 ml amonyum molibdat ile karıştırılıp CO₂ gazının çıkması için yavaşça elle çalkalanmıştır. Daha sonra 1 ml SnCl₂ eklenip su ile 25 ml'ye tamamlanır.

Standart kalibrasyon eğrisini çizmek için ise, 50 ppm KH₂PO₄ stok çözeltisi hazırlandıktan sonra çözelti setleri hazırlanmıştır. Daha sonra her bir çözeltiye 5 ml

kalsiyum bikarbonat ile 5 ml molibdat ilave edildikten sonra 40 ml su ile dilüsyon yapılmıştır. Son olarak da 1 ml SnCl₂ eklenip çalkalanmıştır. 10 dakika sonra 690 nm’de mavi rengin şiddeti ölçülüp kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Şahit olarak distile su kullanılmıştır. Numunenin okunan absorbans değeri kalibrasyon eğrisinin yardımıyla konsantrasyon birimine (mg/l) dönüştürülür (Çizelge 3.10 ve 3.11).

Çizelge 3.10 Kontrol kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu

Günler	Konsantrasyon (mg/l)
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
8	5,01
9	5,04
10	5,07
11	5,11
12	5,19
13	5,21
14	5,25

Çizelge 3.10 Kontrol kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu
(devamı)

Günler	Konsantrasyon (mg/l)
15	5,81
16	6,23
17	6,23
18	6,64
19	6,82
20	6,82
22	6,82
23	6,91
24	7,02
25	7,25
26	8,45
27	8,99
28	9,3
29	9,92
30	10,38
31	10,67
32	10,16

Çizelge 3.10 Kontrol kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu
(devamı)

Günler	Konsantrasyon (mg/l)
33	10,39

Çizelge 3.11 Deney kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu

Günler	Konsantrasyon (mg/l)
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
8	0
9	5
10	5,09
11	5,13

Çizelge 3.11 Deney kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu
(devamı)

Günler	Konsantrasyon (mg/l)
12	5,22
13	5,26
14	14,3
15	14,98
16	16,26
17	17,21
18	17,7
19	17,98
20	19,58
21	20,15
22	20,44
23	23,84
24	33,66
25	33,91
26	33,99
27	34,3
28	35,92

Çizelge 3.11 Deney kompostunun içindeki fosfatın hesaplanmış konsantrasyonu (devamı)

Günler	Konsantrasyon (mg/l)
29	36,38
30	37,67
31	38,16
32	38,39
33	38,68

3.6 Bitki Yetiştirme

Literatürdeki bilgilere dayanarak domates (*Solanum lycopersicum*) tohumları ve domates fideleri (cv. “Almila”) farklı mikrobiyal ve organik karışımlar kullanılarak yetiştirilmeye bırakıldı.

3.6.1 Tohum Yetiştirme (Seed Priming)

Tohumlar (cv. “Almila”) iki grup şeklinde incelemeye alındı. İlk gruptaki tohumlar (n=50), geleneksel olarak uygulanan hydropriming tekniği için filtre kâğıdının ortasına konulup 12 saat boyunca suda bekletildi.

İkinci grup domates tohumları, Bio-Priming işlemine (Biyolojik Tohum İşlemesi) tabi tutuldu. Bu amaçla ilk başta 24 saatlik bakteri katı kültürlerinden bakteriyal hücreler alınarak distile suda süspansiyon oluşturuldu. Daha sonra hücre süspansiyonu 6000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra oluşan pelletler tekrar distile suda çözüldü. Mortensen (1992) yöntemi takip edilerek mikroorganizmaların son yoğunluğu 10^8 olacak şekilde ayarlandı. Hücre süspansiyonu %0,2’lik talk pudrası çözeltisi ile 27°C

sıcaklık altında 150 rpm’de 6 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra hava ile kurumaya bırakıldı.

Bio-priming grubundaki domates tohumları beş eşit desteye (her birinde 50 tohum olacak şekilde) ayrılarak birine azot fikse eden mikroorganizma karışımı ilave edilirken, diğerine fosfatı çözen mikroorganizmalardan katıldı. Üçüncü gruptaki tohumlar her iki mikroorganizma karışımı ile ıslatıldı. Diğer grupta ise, Bio-Priming için yoğurt suyu kullanıldı. Son grup domates tohumları da, yoğurt suyu ve iki kategorideki mikroorganizmalar ile muamele edildi.

Tohumların çimlendirilmesi için kağıt havlu yöntemi kullanıldı [140]. Kontrol ve deney tohumları kağıt havluya sarılarak distile suya konuldu. Tohumlar eşit uzaklıklar ile kağıt havluyla sarıldı. Söz konusu bu kağıt havlular ıslak başka bir kağıt havlu ile kapatılarak kurumasının önlenmesi amacıyla polietilen kitli poşetlere konuldu. 7 gün sonra tohumlar kontrol edilmiştir.

Yukarıda anlatılan söz konusu deneylerin hepsi üçer defa gerçekleştirildi.

3.6.2 Fide Yetiştirme

Domates fidelerini yetiştirmek üzere, derin su kültürü tekniğine dayalı kapalı bir pilot hidroponik sistem kuruldu. Her bir bitki yetiştirme yatağı (Ø 26 cm x 17 cm x 11,40 cm yükseklik) dört fideyi kapsayacak şekilde hazırlandı (Şekil 3.5). Her bir kap 2500 ml içme suyu (pH 7,2) veya hazırlanan hidroponik solüsyonlar ile dolduruldu. Oksijenin sağlanması amacıyla akvaryum hava pompaları ve hava taşları kullanıldı (Şekil 3.5). Hava pompalarının aşırı ısınmasını önlemek için pompalar günde iki defa 15’er dakika kapatıldı. Her beş kabın havalandırılması üç farklı hava pompası (ortalama max. akış hızı: 3,5 l/dakika) ile gerçekleştirildi.



Şekil 3.5 Bitki yetiştirme düzeneği

Bitki yetiştirme kapları şeffaf olduğundan köklerin ışık görmesini en aza indirmek amacıyla her 5 yetiştirme kabının etrafı siyah renkli çöp poşeti ile sarıldı. Söz konusu poşet sadece fotoğraf çekimleri sırasında kaldırıldı.

Bitki yetiştirme deneyine geçmeden önce gerekli kompost ve diğer maddelerin miktarlarının yaklaşık bulunması için 15 günlük bir ön değerlendirme sistemi kuruldu. Bu amaçla sekiz domates fidesi yetiştirildi. Bitkilerde görünen literatürdeki kayıtlı semptomlara bakılarak pilot sistemde kullanılacak maddelerin miktarlarına karar verildi.

Fideler 5 alt grup şeklinde hazırlandı.

1. Medium grubu: İlk uygulamada sadece geleneksel hidroponik solüsyon kullanıldı ($n=20=5 \times 4$). Söz konusu solüsyon içeriği şöyledir: 11,9 mmol/l nitrojen (N) (%1,8 amonyum ve %98,2 nitrat), 1,07 mmol/l fosfat (P), 5,5 mmol/l potasyum [2], 0,91 mmol/l magnezyum (Mg), 0,013 mmol/l mangan (Mn), 0,013 mmol/l bor (B), 0,03 mmol/l demir (Fe), ve 2,63 mmol/l kalsiyum (Ca). Bu kimyasallar 2,5 l içme suyuna karıştırılarak yetiştirme kaplarına doldurulmuştur.
2. Kontrol grubu: İkinci alt gruptaki fideler ($n=20$) kontrol kompostu ile hazırlanan hidroponik solüsyon ile beslendi.
3. Nitrat grubu: Bu gruptaki fidelerin ($n=20$) beslenmesini sağlamak amacıyla, azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların katıldığı komposttan hazırlanan solüsyon kullanıldı.
4. Fosfat grubu: Domates fideleri ($n=20$) fosfatı çözen mikroorganizmalar ile zenginleştirilen kompost solüsyonu ile beslendi.

5. $\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ grubu: Bu gruptaki 20 fideye azot fiksasyonunu gerçekleştiren ve fosfatı çözen mikroorganizmaların katıldığı karışık kompost solüsyonlarından verildi.

Kompost veya mikroorganizma ilaveli kompostlar yirmi gün ön hazırlık işleminden geçirildi. Bunun için 5 gr kontrol kompost 12,5 l suda 20 gün bekletildi. Bu süreç zarfında söz konusu karışım iki hava pompası ile havalandırıldı. Elde edilen solüsyonun nitrat iyonu miktarı 0,182 gr/l iken, amonyum iyonu miktarı 0,019 gr/l olarak ölçülmüştür. Fosfat miktarı ise, 8 mg/l olarak hesaplanmıştır. Kompost grubunun bitki yetiştirme kaplarının her biri 2,5 l'ye tamamlanarak (nitrat iyonu içeriği 11,9 mmol) bu hidroponik solüsyon ile dolduruldu.

Azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların ilave edileceği kompostun hazırlanması için ise, 5 gr komposta 100 ml mikroorganizma karışımı ilave edilerek 19 l suya katıldı. Bu karışımın havalandırılması da iki hava pompası ile gerçekleşti. Yirminci günde ölçülen nitrat ve amonyum miktarları sırasıyla şöyledir: 0,242 gr/l, 0 gr/l. Fosfat miktarı ise, 9,2 mg/l olarak hesaplanmıştır. 10 yetiştirme kabının 5'i tamamen bu hidroponik solüsyon ile hazırlanırken (nitrat iyon miktarının konsantrasyonu 11,9 mmol), diğer 5 yetiştirme kabının yarısı ($\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ grubu) bu solüsyon ile doldurulmuştur (nitrat iyon miktarının konsantrasyonu 11,9 mmol).

Fosfatlı kompost için ise, 12 gün boyunca 19 l suya 5 gr kompost ve 100 ml izole edilen mikroorganizmalardan eklenerek iki hava pompası ile havalandırılması sağlandı. Burada ölçülen başlangıç fosfat miktarı 5,3 mg/l olarak hesaplanmıştır. 5 yetiştirme kabının tamamı bu solüsyon ile 2,5 l'ye tamamlanırken, diğer 5 yetiştirme kabının yarısı ise, bu hidroponik solüsyon ile doldurulmuştur.

Diğer yandan, Medium grubu dışındaki diğer dört alt grubun ikincil besin elementleri, mikronutrientleri ve esansiyel potasyum ihtiyaçlarını karşılamak için ayrı bir kapta hazırlanan istiridye kabuğunun tozu ve odun külü su pompası yardımıyla bitki yetiştirme yataklarına gönderildi. İstiridye kabuğu magnezyum, demir, bor, mangan, çinko, bakır, molibdat ve kalsiyum bakımından zengin olup tamamen organik kaynaklı olduğundan çevre ve bitkiler için tehlike oluşturmamaktadır. Toplanan istiridye kabukları yıkanıp oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra havanda mekanik parçalama

işlemine tabi tutuldu. Her bir bitki yetiştirme kabına 90 gr (1,98 mmol Mg, 1,61 mmol Fe, 0,36 mmol B, 0,255 mmol Mn, 0,013 mmol Zn, 0,00188 mmol Cu, 0,0008 mmol Mo, ve 10,5 mmol Ca) parçalanmış istiridye kabuğu gelecek şekilde besin maddesi kabı hazırlandı. Olası büyük parçaların boruların tıkanmasını önlemek için besin kabına konulan parçalanmış kabuk iki katlı kalın bir tül parçasına sarılarak suya daldırılmıştır.

Kömürcüden temin edilen odun külü ise, esansiyel elementlerden olan potasyumun karşılaması amacıyla kullanılmıştır. Ticari amaçla hazırlanan odun kömürlerinin potasyum içeriği genellikle 1,64 mol/kg şeklinde ifade edilmektedir. Yetiştirme kabı başına 4 gr denk gelecek şekilde odun kömürü besin maddesi kabına konulmuştur. Suyun akışını önlememesi amacıyla odun kömürü suya konmadan evvel iki katlı kalın bir tülbent ile sıkıca sarıldı.

Besin kabının su pompası günde iki defa, 2 saat olmak üzere çalıştırılmıştır.

Fidelerin fotoğraflanması haftalık olarak gerçekleştirilmiştir. Domates fidelerinin bütün olarak uzunlukları, sürgün (gövde) tabanından sürgünün apikal meristemine kadar olarak ölçülmüştür. Gövde kalınlığı ise, dijital kumpas yardımıyla kökün üst kısmından, gövdenin başlangıç noktasından 2 cm yukarıdan ölçüldü. Kök sayısı ve uzunluğu ekildiği günde sıfır olarak kabul edildi. İlgili kök ölçümleri bitkiye zarar vermemek amacıyla ekim kabı dışında, yetiştirme kabındaki beslenme suyuna doğru gelişen kökler ile gerçekleştirildi.

BÖLÜM 4

SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1 Azot Fiksasyonu Yapan Mikroorganizmalar

Azot fiksasyonu yapan mikroorganizma suşlarının sınıflandırılmasını kesinleştirmek için bazı morfolojik ve mikroskopik testler gerçekleştirildi. Bu testlerin sonuçları mevcut suşların doğruluğunu desteklemektedir.

4.2 Topraktan Elde Edilen Mikroorganizma İzolatları

İlk 48 saatte büyük boyutlu temiz halka veya yoğun mavi renk oluşturan 18 *PSB* kültürü kaydeilmiştir. Bazı koloniler ile ilgili veriler birbirlerine çok benzediğinden bilgi tekrarı olmaması amacıyla pozitif sonuçlar arasındaki 10 *PSB* pozitif kültürü ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

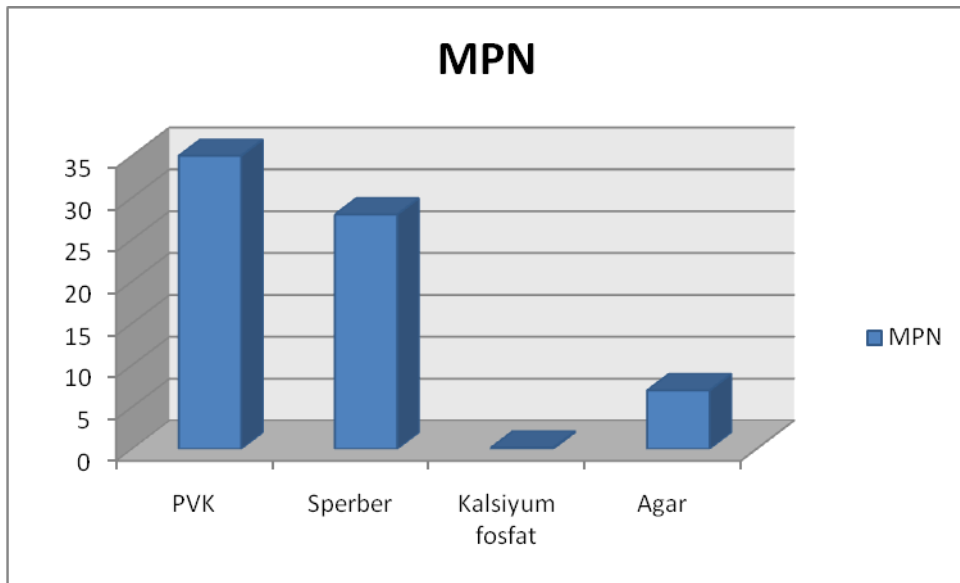
Çizelge 4.1 İzolatların bazı özellikleri

İzolat No.su	Morfolojik Şekil & Gram Boyama	Halka Boyutu (mm)	1	2	4	6	8 Gün	Fosfataz Aktivitesi
<i>PSBI*</i>	Bacillus, Gram-		21	22	22	22	22	+
<i>PSBII</i>	Bacillus, Gram+		11	13	15	16	16	-
<i>PSBIII*</i>	Coccobacillus, Gram-		10	12	13	13	14	+
<i>PSBIV</i>	Bacillus, Gram+		8	9	13	14	14	-
<i>PSBV</i>	Bacillus, Gram-		12	15	18	18	18	-
<i>PSBVI</i>	Bacillus, Gram-		11	11	12	15	16	-
<i>PSBVII*</i>	Bacillus, Gram-		21	21	22	22	22	+
<i>PSBVIII</i>	Bacillus, Gram-		15	19	23	23	22	-
<i>PSBIX</i>	Bacillus, Gram+		13	14	16	16	16	-
<i>PSBX</i>	Bacillus, Gram-		12	13	14	15	14	-

Topraktan Alexander dilüsyon yöntemi ile ekime hazırlanan örneklerin ekimi için literatürde önerilen farklı besiyerleri kullanıldı. Bunlar; standart agar, kalsiyum fosfat, Pikovskaya's ve Sperber besiyerleridir.

Söz konusu katı besiyerlerindeki yayma ekim sonucu gözle kıyaslandığında sonuçlar daha önceki çalışmaları destekler nitelikte olup en çok pozitif temiz halka sayısı büyük bir farkla Pikovskaya's Agar Besiyeri'nde görülmüştür. PVK besiyerinden sonra pozitif sonuçlar sırasıyla Sperber, standart agar ve kalsiyum fosfat besiyerinde izlenmiştir.

Bahsedilen sonucun sayısal kıyaslanması için dört farklı besiyerlerinin saf kültürlerindeki bakteri yoğunluğu Most Probable Number (Ek-1) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla her saf kültürün 10^{-8} 'e kadar dilüsyonu yapıldı. Alt dilüsyonlar ise, 5-tüplü şeklinde gerçekleştirildi. Kaydedilen sonuçlar 5-tüplü Alexander Çizelgesi (Çizelge 3.3) yardımıyla değerlendirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Dört farklı besiyeri için hesaplanan MPN değerleri ve kıyaslanması

*Bütün besiyerlerinde hesaplanan MPN sayılarının 10^8 çarpanları mevcuttur.

En büyük MPN değeri PVK besiyerinde 35×10^8 organizma/ml olarak kaydedilmiştir. İkinci sırada Sperber besiyeri 28×10^8 organizma/ml bulunurken, standart agar ve kalsiyum fosfat besiyerlerindeki MPN değeri sırasıyla 7×10^8 ve $0,15 \times 10^8$ organizma/ml şeklinde hesaplanmıştır.

Mahantesh ve Patil (2011), Pikovskaya's ve kalsiyum fosfat besiyerlerini kıyaslarken mikroorganizma yoğunluğunun PVK besiyerinde daha fazla olduğunu göstermiştir [141]. Baruah [142], aynı işlemi nutrient agar ve kalsiyum fosfat besiyerlei için yapmıştır. Elde ettiği sonuçlara göre nutrient agarda mikroorganizmaların MPN'leri

kalsiyum fosfat besiyerine kıyasla çok daha yüksektir. Söz konusu sonuçlar burada elde edilen sonuçlar ile örtüşmektedir.

İzolatların katı PVK besiyerindeki inorganik fosfatı çözebilme kabiliyetleri kıyaslandığında ilk 24 saatte en büyük temiz halka, *PSBI* (21 mm) ve *PSBVII* (21 mm) izolatlarına aittir. Bu iki izolatu 15 mm ile *PSBVIII* takip etmektedir.

Kültürler fosfataz aktivitesi bakımından bakıldığında ise, en güçlü mavi renk *PSBIII* izolatına aittir. Söz konusu izolatın çözünebilir fosfat bileşeni varlığındaki besiyerinde, mavi renk ilk 168 saatte izlenmemiştir. Fakat trikalsiyum fosfatlı PVK besiyerlerinde ilk 24 saatten itibaren mavi renk şiddetli bir şekilde görülmüştür.

Daha ileri tanımlama işlemleri için en büyük temiz halkayı oluşturan *PSBI* ve *PSB VII*, ve mavi halkanın en şiddetli biçimde gözleendiği *PSBIII* izolatları seçilmiştir. Çeşitli biyolojik ve biyokimyasal testler uygulanmıştır. Söz konusu testler üçer defa tekrar edilmiştir. Gerçekleştirilen biyokimyasal tanımlama testlerinin sonuçları Çizelge 4.2 ve 4.3’de gösterilmiştir. Özellikle karbon kaynağı kullanım testi gram negatif bakterilerin karakterizasyonu için önem arz etmektedir [143].

Çizelge 4.2 İzolatların pigmentasyon ve bazı karbon kaynağı kullanımları (CFU)

İzolat No.su	<i>PSBI</i>	<i>PSBIII</i>	<i>PSBVII</i>
Pigmentasyon	Beyaz	Krem	Sarı, opak
Mannitol	+	-	+
Glukoz	+	+	+
Sukroz	+	-	+
Laktoz	-	-	-
Fruktoz	+	-	+
Maltoz	+	-	+
Gliserol	+	+	+
Inositol	+	-	+

Çizelge 4.3 Seçilen üç izolatin tanımlanması için yapılan bazı biyokimyasal testlerin sonuçları

İzolat No.su	<i>PSBI</i>	<i>PSBIII</i>	<i>PSBVII</i>
Jelatin Hidrolizi	-	-	-
Simmons Testi	+	_*	+
Nişasta Hidrolizi	-	-	-
Katalaz Testi	+	+	+
Oksidaz Testi	-	+	-
İndol Üretimi	-	-	-
V-P Testi	+	-	+
Metil Kırmızı Testi	-	-	-
Hareketlilik	+	+	+
Üreaz	-	-	-
Nitrat İndirgenmesi	+	-	+

Biyokimyasal ve morfolojik tanımlama testlerinin sonuçları doğrultusunda da, literatür ve veri bankaları tarandı. Buna göre, Çizelge 4.1’de bulunan *PSBI**, *PSBVII** ve *PSBIII* izolatları yüksek ihtimalle sırasıyla Enterobacteriaceae familyasından *Pantoea agglomerans** [144] ve Pseudomonadaceae familyasından *Pseudomonas putida* [145] suşlarına aittir.

Pantoea agglomerans gram negatif bir bakteri olup genellikle *Enterobacter agglomerans* olarak isimlendirilir. Söz konusu bakterinin P5 suşu günümüzde bazı ticari biyofertilizer ürünlerinde kullanılmaktadır.

Pseudomonas putida gram negatif çubuk şeklinde saprotrofik toprak bakterilerindendir. 16S rDNA analizine göre farklı soylara sınıflandırılır. Bu bakteri dünyanı ilk patentlenmiş organizmasıdır. Değişik metabolik reaksiyonlarda aktivite gösterebilme kabiliyetine sahiptir. Bu özelliği sayesinde günümüzde biyolojik iyileştirmede (bioremediation) oldukça kullanılır. Örneğin adı geçen bakteriler toluen veya naftalin gibi organik solventleri indirgeyebildikleri için kontamine toprakların temizlenmesinde kullanılır. Bunun yanı sıra, *P. putida* stiren yağını biyolojik olarak degrede olabilen plastiğe (PHA) çevirebildiği için geri dönüşüm işlemlerinde de aktifçe kullanılır [146]. Bunlara ek olarak, biyokontrol özelliklerine sahip olduğundan *Phytium* ve *Fusarium* gibi hastalık ajanlarına karşı aktif bir anatagonist olarak kullanılır [147].

Enterobacteriaceae familyasına ait suşların topraktan izolasyonu ile ilgili literatürde çok farklı veriler bulunmaktadır; Kim ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları çalışmada buğday rhizosferine ait topraktan izole ettikleri mikroorganizmanın *Enterobacter agglomerans* olduğunu ifade etmişler [29]. 1997 yılında yayınlanan bir makalede, topraktan izolasyon yoluyla elde edilen suşun *Enterobacter sp.* olduğu şeklinde açıklamalar bulunmaktadır [148]. Heekyung ve çalışma arkadaşları (2005), topraktan elde ettikleri izolatların *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, ve *Pantoea sp.* suşlarına ait olduğunu göstermiştir. 2009 yılında ise, bir çalışma sırasında ekilen ve ekilmeyen rhizosfer örneklerinden izole edilen suşlardan birisinin *Pantoea agglomerans* olduğu biyokimyasal testlerin yanı sıra moleküler analizlerle de ispatlanmıştır [136].

Yararlı bakteriler, toplu olarak bitki büyümesini teşvik eden rhizibacteria (plant growth promoting rhizibacteria (PGPR)) olarak isimlendirilir. Bu bakteri grupları biyolojik gübrelerin en önemli parçasını oluşturur. Söz konusu bakteriler, bitki büyümesini teşvik ederken bitkinin sağlığını da korur. Bu işlemler besleyici maddelerin mineralizasyonu, fitohormonların sentezi, patojenlerin inhibisyonu veya bu işlemlerin kombinasyonu ile gerçekleştirilir [149]. Bununla beraber, PGPR mikroorganizmaların biyogübre olarak performans sergilemesi hedef bölgelerin biyotik ve abiyotik koşullarından etkilenmektedir. Bu yüzden, birçok araştırmacı bölgesel topraklardan PGPR izolasyonu ve islenmesi ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir.

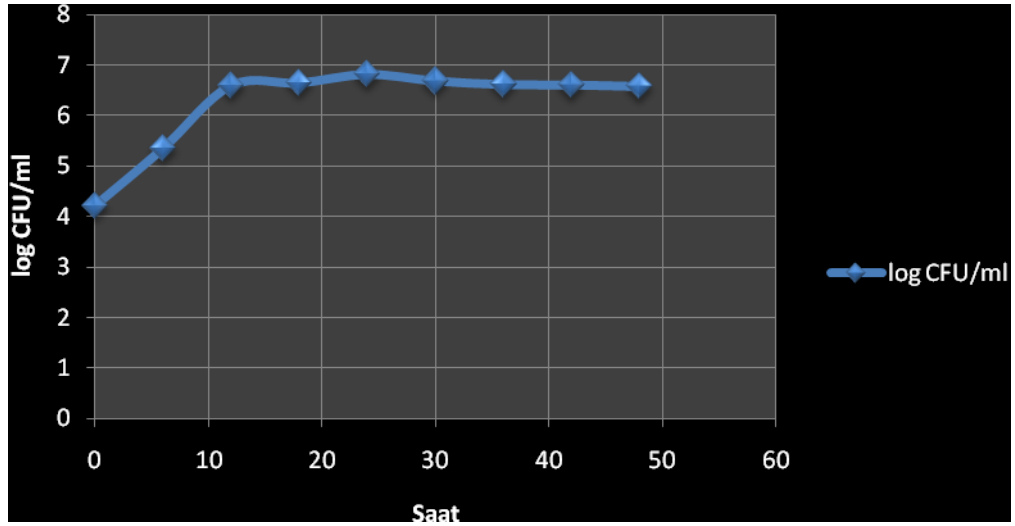
PGPR mikroorganizmaları arasında sürdürülebilir tarıma yönelik kullanılan en büyük gruplarından birisi fosfatı çözen bakteriler (PSB) ekstrem çevre koşullarına gösterdikleri tolerans sebebiyle kurak ve yarı kurak bölgelerde biyogübre olarak kullanılmak üzere ilgi çekmektedir [136]. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda söz konusu bakteri grubundan *Pantoea agglomerans*, *Microbacterium laevaniformans* ve *Pseudomonas putida* suşlarının yüksek sıcaklık, yüksek NaCl konsantrasyonu ve değişik pH aralıklarına (pH 5-11) tolerans gösterdikleri gösterilmiştir [136]. Buna göre bu bakterilerin hepsi yüksek sıcakta hayatta kalabilmiştir. 42°C 'de büyüme indeksi (GI) ve fosfat çözme indeksi (PSI) düşmesi bu mikroorganizmaların yaşama alanlarındaki sıcak yaz akşamlarında hayatlarına sürdürebilmeleri ile açıklanmıştır. Givskov ve arkadaşları (1994) *P. putida*'nın 45°C'de inkübasyonundan saatler sonra da hayatta olduğunu belirtmiştir [150]. Diğer bir çalışmada ise, PSB suşlarının %2,5 NaCl konsantrasyonun bulunduğu tarım alanlarında bile uygulanabildiği ifade edilmiştir [136]. Benzer bir çalışmada, Nautiyal ve çalışma arkadaşları (2000) Hindistan'daki bezelye (*Pisum sativum*) rhizosphereinden izole edilen dört farklı PSB suşunun büyümesi üzerindeki pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonu parametreleri incelenmiştir [151]. Burada açıklanan sonuçlara göre bütün suşların hepsi %5'lik NaCl konsantrasyonunda bile etkili bir şekilde inorganik fosfatı çözebilmiştir. İzolatların birisi %10'luk NaCl çözeltisinde dahi bakteriyel kontrol grubuna göre %18 oranı ile fosfatı çözdüğü gösterilmiştir. Johri ve arkadaşları da (1999) alkali topraktan 4800 bakteri suşu izole etmişlerdir. Bunlar arasındaki 875 PSB izolatının 18'i etkili bir şekilde yüksek pH, sıcaklık ve tuz oranında fosfatı çözebilmiştir [152]. Son ve çalışma ekibi (2006) *P. agglomerans* suşunun R-42 maksimum 1,3 gr/l fosfat çözebilme kabiliyeti ile optimize edilmiş besiyerinde üretilmiştir [153]. Bu suş, farklı pH aralıkları (3-11), sıcaklık (5-45 °C) ve %5'lik NaCl konsantrasyonu gibi değişik çevre faktörlerine tolerans göstermiştir [154].

Buna ek olarak, bu suşlar meyvelerin saklanması sırasında küflerin gelişimini önlemek [154], ağır bitki hastalıklarını engellemek amacıyla biyokontrol ajanı olarak kullanılmaktadır [155].

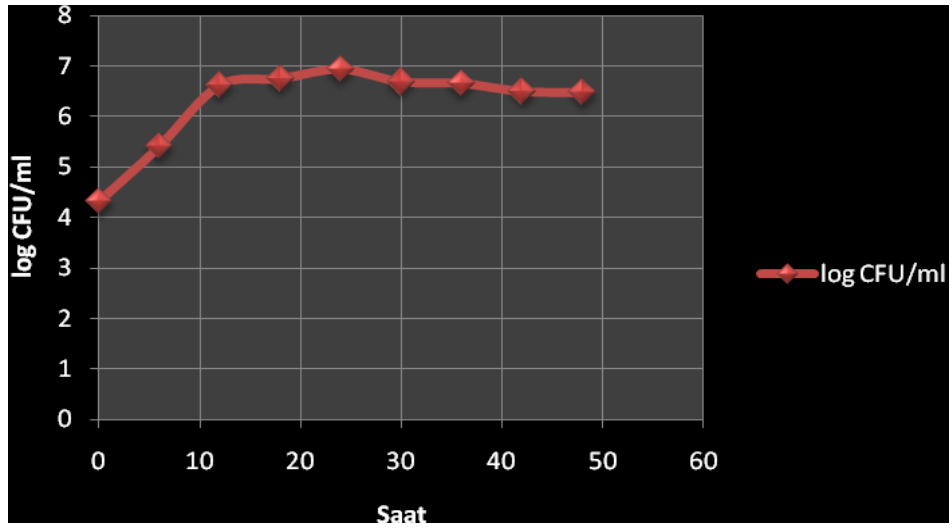
Ayrıca, PSB'ler sitrat, okzalat, glukonat, laktat ve suksinat gibi organik asitleri aktif bir şekilde salgırlar [156]. Bunun sebebi üzerinde farklı tartışmalar bulunmaktadır. Fakat Illemer ve Schinner (1995) respirasyon veya NH₄ asimilasyonu sırasında serbest

birakılan protonların inorganik fosfatın çözebilme mekanizmasında çok önemli rol oynadığı belirtilmiştir [157].

İzolatların suşları hakkında yaklaşık bir tahmin yürütüldükten sonra seçilen mikroorganizmaların CFU/ml değerleri üzerinden 25°C’de Büyüme İndeksleri incelendi (Şekil 4.2 ve 4.3).



Şekil 4.2 *PSBI* ve *PSBVII* izolatlarının büyüme indeksi



Şekil 4.3 *PSBIII* izolatının büyüme indeksi

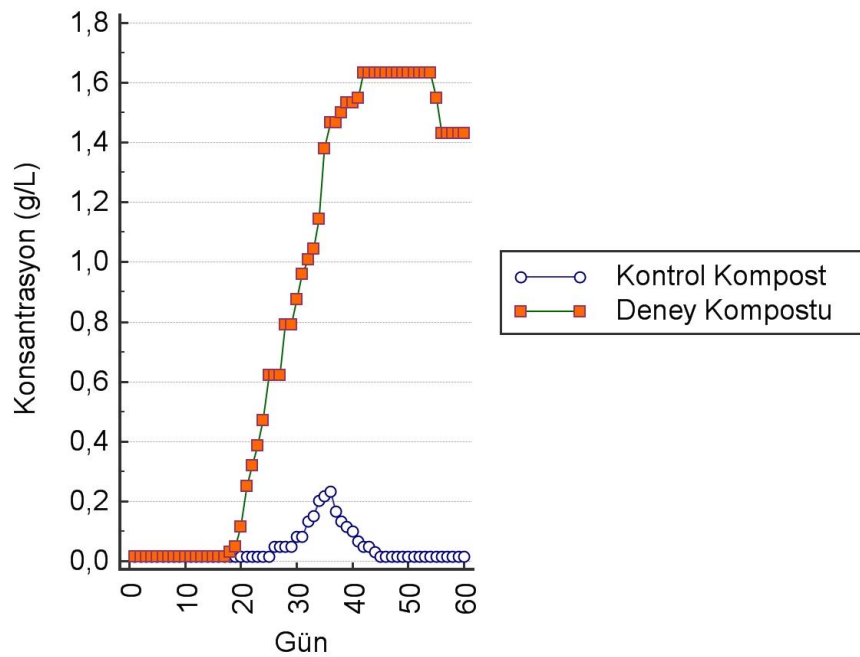
Sonuç itibarıyla, bu çalışmada çok sayıda PSB izolatı arasında fosfat biyogübreleri olarak kullanılabilen iki izolat grubu seçilmiştir. Yukarıda anlatıldığı gibi bu suşların değişik

evre koşullarında dayanıklı oldukları gösterilmiştir. Malboobi ve arkadaşları bu suşların etkili bir şekilde tarla ve sera ortamında uygulanabildiğini göstermiştir.

4.3 Ölçümler

Ekin retimi için arzu edilen azot formu nitrattır. Çoğu sebze ekini nitrata amonyuma tercih etmektedir [62], [9], [63]. Hidroponik solüsyonda, amonyum, nitrata karışık bir biçimde nitrojen kaynağının bir kısmı olarak kullanılabilir. Fakat amonyum primer azot kaynağı olduğu zaman ürün kaybının olasılığı oldukça yüksektir [62], [63], [64], [65], [66]. Elverişli ve başarılı bir organik hidroponik uygulaması için nitratin organik kaynaklardan verimli bir şekilde üretilmesi gerekmektedir. Bununla beraber ekim sırasında bu organik materyaller doğrudan hidroponik kültüre ilave edebilmelidir [6].

Kontrol kompostu ile azot fiksasyonu yapan mikroorganizma ilaveli kompost nitrat miktarının kıyaslanması şekil 4.4'te gösterilmiştir. Analizler ve grafik izimleri Microsoft Excel programı, SPSS ve MedCalc Statistical Software yardımıyla hesaplanmıştır.



şekil 4.4 Kontrol kompost ve deney kompostundaki nitrat iyonu oranı

Kontrol kompostunda başlangıç nitrat iyonu konsantrasyonu 0,015 gr/l olarak ölçülmüştür (şekil4.4).

Şekil 4.4'te de görüldüğü üzere kontrol kompostundaki nitrat iyonu miktarı 36. güne kadar artmıştır. Fakat söz konusu değer 36. günden itibaren ani bir düşüş izlenmiştir. Mikroorganizma ilaveli komposttaki nitrat iyonu değeri, ilk günde 0,015 gr/l olarak kaydedilmiştir. Bu değer mikroorganizma karışımı ilave edildikten hemen sonra 30 küsür gün boyunca sürekli olarak arttıktan sonra sabit kalmıştır

Kontrol komposttaki nitrat iyonu değerinin aritmetik ortalaması 0,04 gr/l (SD 0; SE 0) olarak hesaplanmıştır. Azot fiksasyonu yapan mikroorganizmalar ile zenginleştirilmeye amaçlanan komposttaki aritmetik ortalama ise, 0,84 gr/l (SD 0,6; SE 0) şeklinde ifade edilebilir.

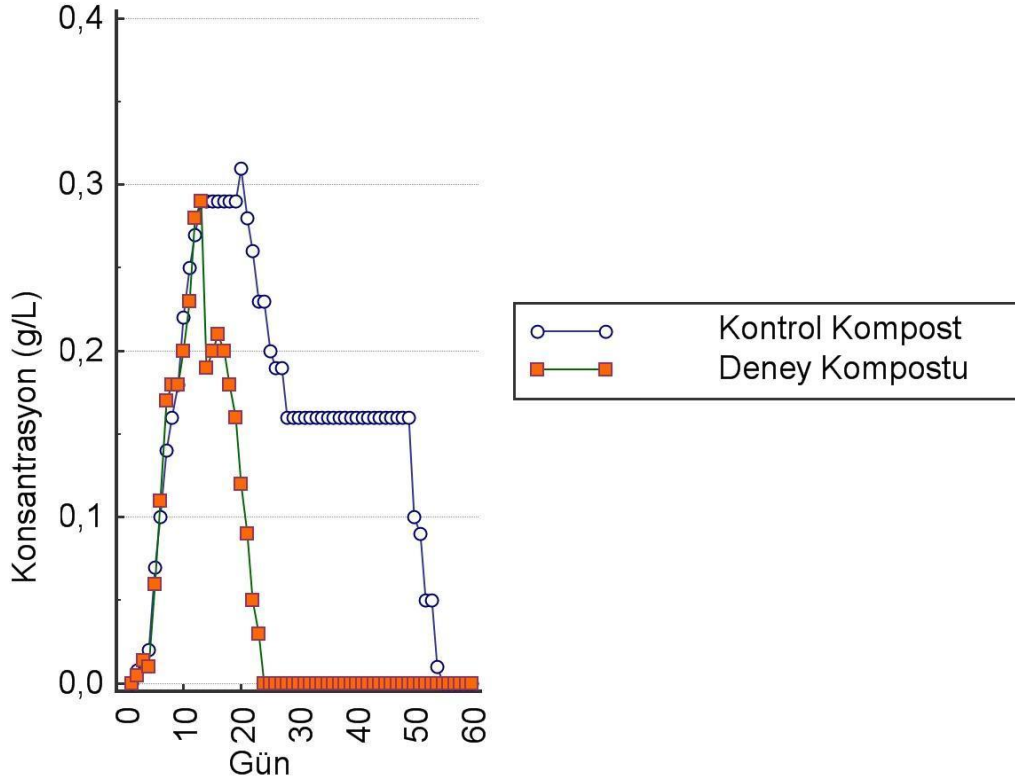
Bu iki kompost sistemi nitrat üretimi bakımından Repeated measures Anova yarımıyla kıyaslandığından ise, $P < 0,0001$ şeklinde hesaplanmıştır. Bu değere göre bu iki kompost sistemindeki nitrat üretim farkı oldukça anlamlıdır. Böylece, kompost, nitrifikasyonu gerçekleştiren mikroorganizma ile zenginleştirildiğinden orada bulunan organik azot kaynaklarının parçalanıp nitratın sentezlendiği öne sürülebilir.

Amonyum bakımından kompostlar incelendiğinde, kontrol kompost sisteminde ikinci günden başlayarak amonyum miktarının 20. gününe kadar arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.5). Kontrol kompostta amonyum konsantrasyonu 20. günde en yüksek seviyede (0,310 gr/l) kaydedilmiştir. Daha sonraki sekiz günde ise, amonyum miktarı azalmıştır. Fakat 28. günden başlayarak amonyum iyonu miktarı 49. güne kadar 0,160 gr/l olarak sabitlenmiştir.

Mikroorganizma katkılı kompostta amonyum konsantrasyonu 13. günde 0,290 gr/l ile en yüksek seviyesinde kaydedilmiştir. 24. günden itibaren de amonyum iyon miktarı tekrar sıfırlanmıştır.

Kontrol kompost amonyum iyonu bakımından kontrol edildiğinde ortalama 0.15 gr/l (SD 0; SE 0) iken, mikroorganizma ilaveli kompostun ortalama değeri ise, 0,03 gr/l (SD 0; SE 0) olarak ölçülmüştür.

Bu iki kompost sistemi amonyum üretimi bakımından Repeated measures Anova yardımıyla kıyaslandığından ise, kontrol kompostundaki amonyum üretiminin deney kompostuna nazaran fazlasıyla anlamlı olduğu ($P < 0,0001$) saptanmıştır.

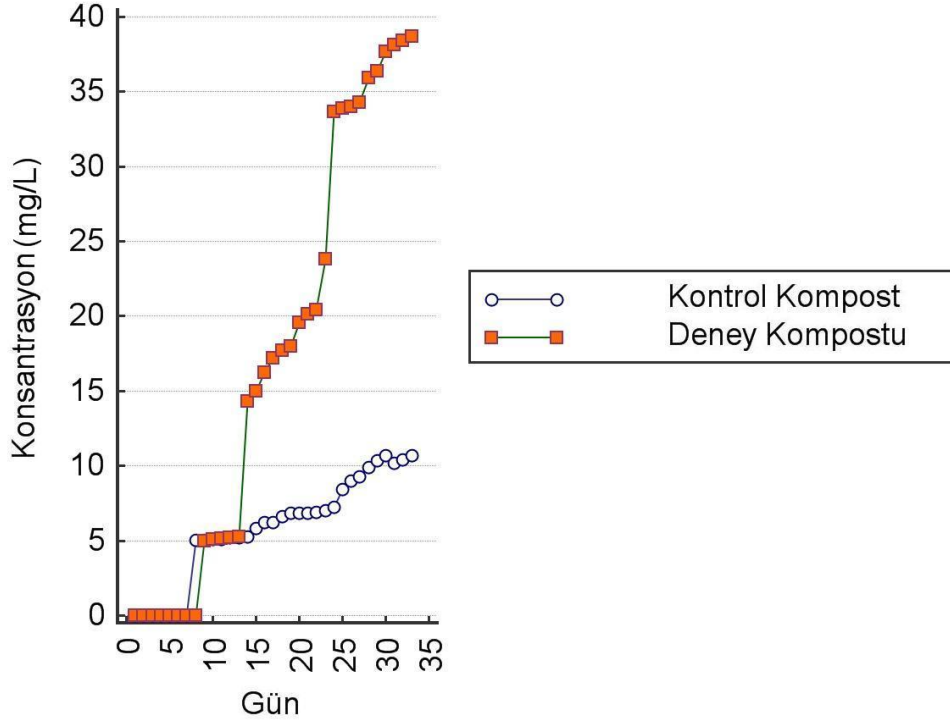


Şekil 4.5 Kontrol kompost ile deney kompostundaki amonyum konsantrasyonu (gr/l)

Kontrol kompost fosfat çözebilen mikroorganizma ilaveli kompost ile kıyaslandığında bariz bir fark izlenmektedir. Her iki kompost sisteminin fosfat konsantrasyonu ilk 13 günde hemen hemen eşittir. Kontrol kompostunda fosfat iyonu kademeli bir artış gösterdiği halde deney kompostunda 13. günde söz konusu iyon miktarında ani bir artış kaydedilmiştir. Kontrol kompostundaki son hesaplanan değer 10,68 mg/l'dir. Deney kompostunda ise, fosfat iyonu 33. günde 38,68 mg/l olarak hesaplanmıştır. Spektrofotometrede fosfat iyonunu ölçerken 40 mg/l konsantrasyonunun üstündeki değerlerin güvenilirliği düşük olduğundan ölçüm alımı bitirilmiştir.

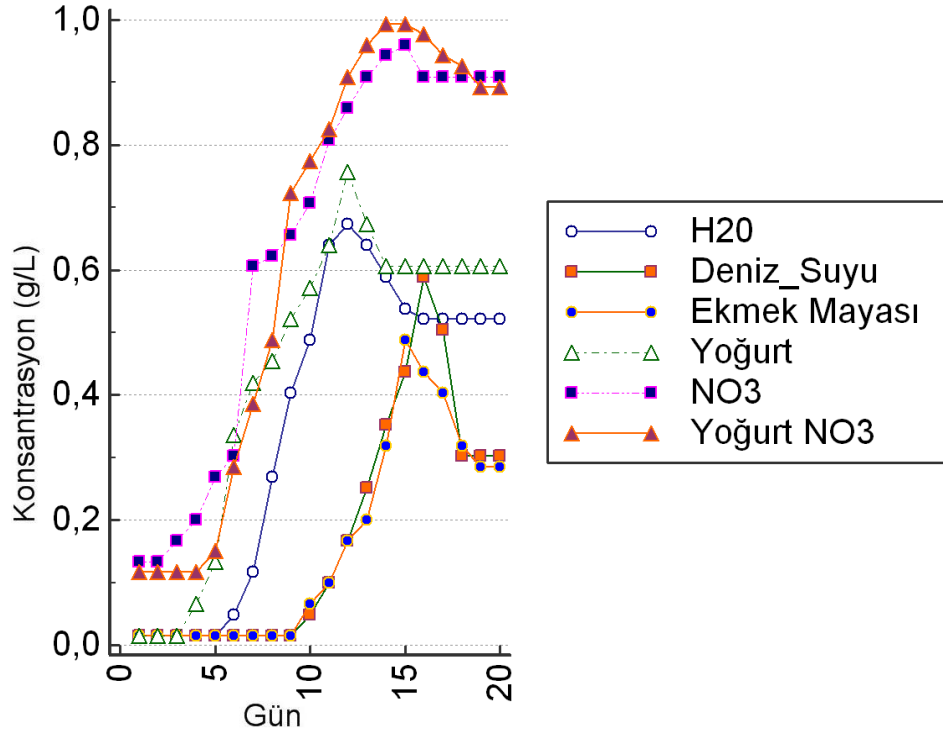
Kontrol kompostunun fosfat iyonu ortalaması 5,79 mg/l (SD 3,4; SE 0,6) olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan mikroorganizma katkılı kompostun fosfat iyonu konsantrasyonunun ortalaması 17,24 mg/l (SD 14,5; SE 2,3) şeklinde ifade edilebilir.

Bu iki kompost arasındaki fosfat farkı istatistiksel olarak oldukça anlamlıdır ($P < 0,0001$).



Şekil 4.6 Kontrol kompost ile deney kompostundaki 20 günde fosfat konsantrasyonu (mg/l)

Deney setlerinin yirmi günlük ölçümleri kıyaslandığında, sadece kontrol kompostundan oluşan ilk setin nitrat iyonu ortalaması 0,35 gr/l (SD 0,2; SE 0), deniz suyunun nitrat konsantrasyon ortalaması 0,17 gr/l (SD 0; SE 0), ekmek mayası flasksındaki nitrat iyonu ortalaması ise, 0,16 gr/l (SD 0; SE 0) olarak hesaplanmıştır. Ev yapımı yoğurt suyu içeren flaskta nitrat iyonu ortalaması 0,44 gr/l (SD 0,2; SE 0) 'dir. Mikroorganizma eklenmiş Erlen'deki 20 günlük artimetik ortalama ise, 0,64 gr/l (SD 0,3; SE 0) şeklinde değerlendirilmiştir. Son örnek, yani mikroorganizma ve yoğurt suyu içeren flaskın nitrat ortalaması 0,62 gr/l (SD 0,3; SE 0) olarak ifade edilebilir.



Şekil 4.7 Altı farklı deney setindeki nitrat iyonu konsantrasyonu (gr/l)

Şekil 4.7’de görüldüğü gibi en düşük nitrat iyonu konsantrasyonu ise, ekmek mayasının kompostta katıldığı Erlen’de ölçülmüştür. Deniz suyunun katıldığı Erlen ise, ekmek mayasından sonra en düşük nitrat konsantrasyonu bakımından ikinci sırada yer almaktadır. Bu sonuca göre deniz suyundaki mikroorganizmalar komposttaki organik azota nitrata çevirerek kompostta bulunan olası mikroorganizmalara destek vermektedir. Shinohara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2011) sadece deniz suyuna herhangi bir mikroorganizma aşısı katılmadığı takdirde bile nitrat üretilmiştir [6]. Bu deneyde organik azot kaynağı olarak balık bazlı çözülebilir fertilizer katılmıştır. Bizim deneyimizde ise, kompost organik azot kaynağı olarak kullanılmıştır.

Nitrat konsantrasyonu bakımından en düşük üçüncü değerler kontrol kompostunun suya katıldığı Erlen’e aittir. Shinohara ve arkadaşları (2011) da sadece kompostun bulunduğu sistemlerde nitrat üretimini rapor etmişlerdir [6].

Setler arasındaki en yüksek nitrat iyon konsantrasyonu azot fiksasyon ilaveli kompost ve yoğurt suyu ile mikroorganizma destekli setlerinde kaydedilmiştir (Şekil 4.7). En yüksek nitrat iyonu konsantrasyon değeri yoğurt suyunun mikroorganizma ve kompost ile hazırlanan Erlen’de 0,99 gr/l olarak ölçülmüştür.

Yoğurtta bulunan *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakteri suşları probiyotik mikroorganizma grubunda olup gram + bakterilerdir. Sözkonusu bakteriler laktik asit, asetik asit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler üreterek istenmeyen mikroorganizmaların çoğalma hızını kontrol ederler. Buna ek olarak, bu bakteriler farklı ekzopolisakkarit (EPS) veya şeker polimerleri üretirler [158]. Ekzopolisakkaritler tek bir şeker türünden oluşabildiği gibi farklı monosakkaritler veya şeker türevlerinden oluşabilirler. Bu polimerler su bağlama kapasiteleri ve pseudoplastik reolojik davranışları sebebiyle pıhtılaşma azaltıcı, viskozite arttırıcı ve yapılaştırıcı (texturizer) olarak gıda endüstrisinde oldukça kullanılmaktadır [159]. EPS üretimi sıcaklık, pH, oksijen basıncı ve karbon/nitrojen oranı [160] gibi kültürün fiziksel koşullarından direkt olarak etkilenmektedir [161]. Degeest ve De Vuyst (1999) yaptıkları çalışmada başlangıç azot konsantrasyonu arttığında sentezlenen yüksek molekül ağırlıklı ekzopolisakkaritlerin düşük molekül ağırlıklı EPS'lere dönüştüğünü rapor etmişlerdir [158]. Buna ek olarak Kubota ve çalışma arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada laktik asit bakterilerinin oluşturdukları biyofilm hücrelerinin çevresel streslere karşı dirençli olduklarını ifade etmişlerdir [162]. Bizim çalışmamızda yoğurt suyunun mikroorganizma ve komposta katıldığı Erlen'deki en yüksek nitrat iyonu konsantrasyonunun kaydedilmesi laktik asit bakterilerinin bu özellikleri ile bağdaştırılabilir. Buna göre laktik asit bakterilerinin sentezlediği ekzopolisakkaritler sayesinde nitrifikasyon gerçekleştirilen mikroorganizmaların su ile etkileşimi azalmış olabilir. Dolayısıyla da olumlu şekilde kompostun içindeki organik azot kaynaklarını kullanarak nitrat üretimi gerçekleşmiş olabilir.

En yüksek üçüncü nitrat konsantrasyonu yoğurt suyunun komposta katıldığı Erlen Mayer'de görülmüştür.

Repeated measures ANOVA ile Pairwise comparison yapıldığında kontrol sistem olarak kabul edilebilen kontrol kompostun su ile hazırlanmış Erlen'deki nitrat değerinin diğer flasklara nazarı farklılıklarının anlamlılığı çizelge 4.4 gibidir.

Çizelge 4.4 Deney setleri arasındaki bazı istatistiksel değerler

Faktörler		Ortalama Farkı	Standart Sapma	P Değeri	95% CI ^a
Kompost + Su	Deniz Suyu	0,180	0,0425	0,0068	0,0371 to 0,322
	Ekmek Mayası	0,194	0,0410	0,0022	0,0563 to 0,332
	Yoğurt	-0,0886	0,0191	0,0027	-0,153 to -0,0246
	NO3	-0,287	0,0250	<0,0001	-0,371 to -0,203
	Yoğurt + NO3	-0,275	0,0280	<0,0001	-0,369 to -0,181

^a Bonferroni corrected

CI: Confidence interval (güven aralığı)

4.5 Fide Yetiştirme

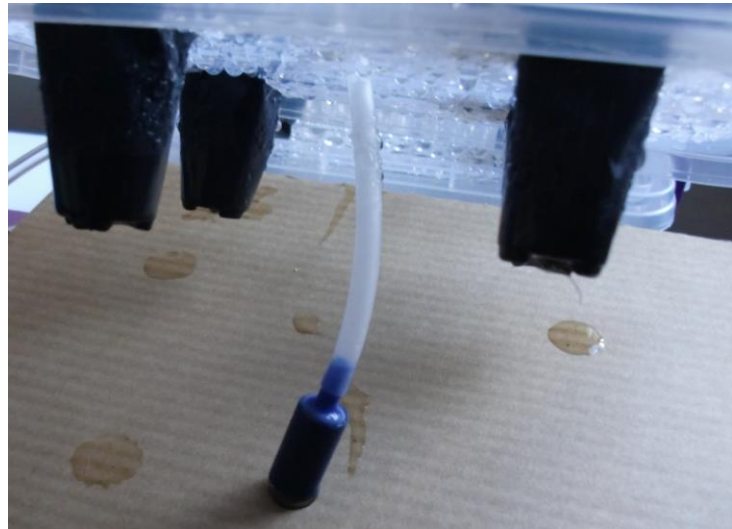
4.5.1 Fideler

Fideler alındığında ortalama boyları 10,14 cm olarak ölçüldü. Ekimin yapıldığı ilk günkü ölçümler ile ilgili veriler Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5 İlk güne ait fidelerin bazı fiziksel özellikleri ile ilgili ölçümler

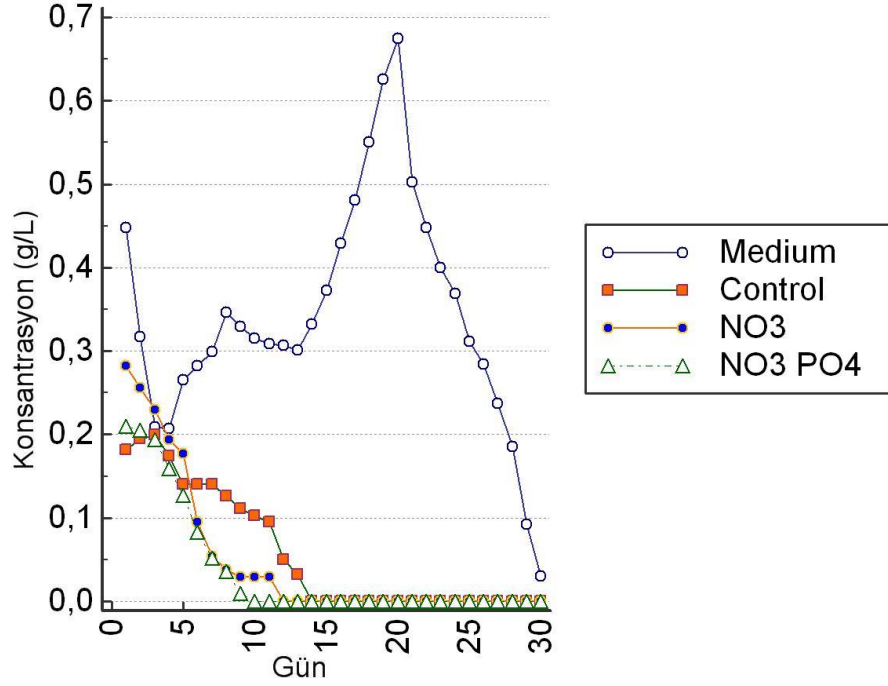
Grup	Bitki Uzunluğu (cm)	Gövde Kalınlığı (cm)	Yaprak Sayısı	Yaprak Alanı (cm ²)	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu (cm)
Medium	11,1	0,67	19,1	6,1	0	0
Kontrol	7,8	0,69	18,6	5,8	0	0
Nitrat	10,0	0,58	16,8	5,6	0	0
Fosfat	8,9	0,71	16,0	6,2	0	0
NO ₃ + PO ₄	12,9	0,68	20,4	5,4	0	0

Deney kısmında da belirtildiği gibi, bitki köklerinin zarar görmesini enellemek için ilk günkü kök uzunluğu sıfır olarak kabul edildi (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Fidelerin ilk gün ekildikleri zamanki kökleri

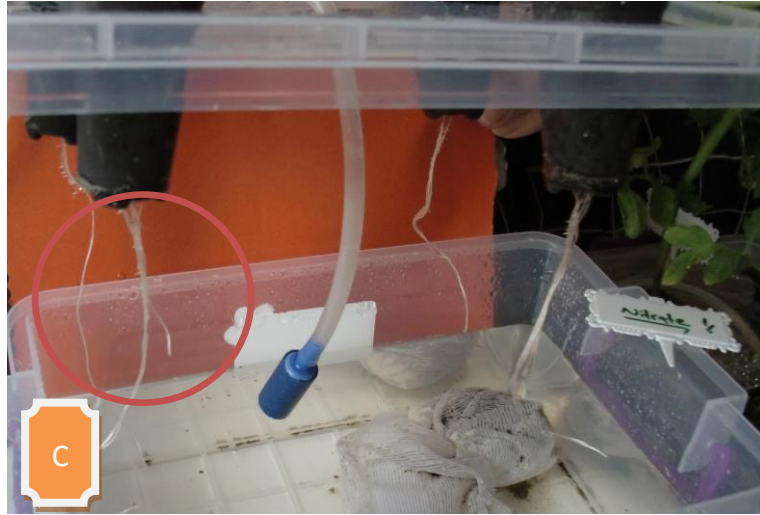
Kompost ile beslenen her dört ayrı grubun (Kontrol, Nitrat, Fosfat ve NO₃ + PO₄ grupları) hidroponik solüsyonunda ekimin ilk otuz gününde nitrat ölçülmüştür (Şekil 4.9). Bununla beraber ilk on günde mikrobiyal kültür solüsyonu ilaveli grupların hiç birinde amonyum saptanmamıştır.



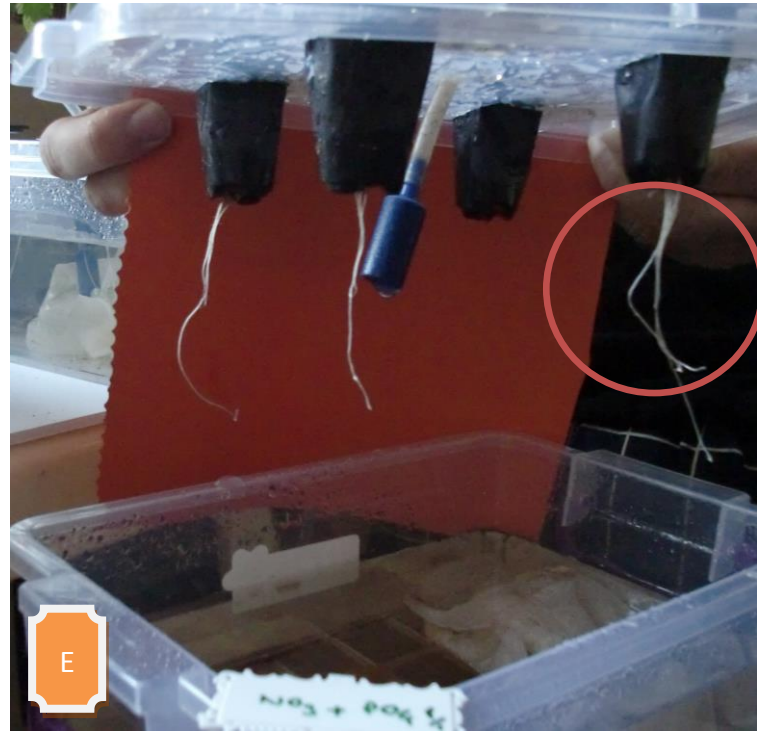
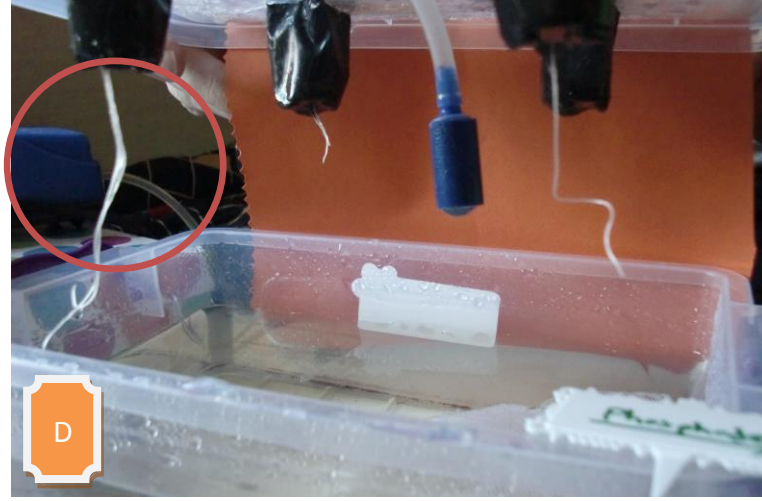
Şekil 4.9 Domates yetiştirme ortamlarında nitrat konsantrasyonu (gr/l)

Üçüncü günde bitkilerin günlük kontrolü sırasında, mikroorganizma ilaveli kompostların konulduğu Nitrat, Fosfat, ve $\text{NO}_3 + \text{PO}_3$ grubundaki domates fidelerinin köklerindeki uzama dikkat çekmiştir (Şekil 4.10). Sentetik kimyasallarla beslenen Medium grubu fidelerinin hiç birinde köklerde uzama görülmemiştir (Şekil 4.10 A). Kontrol grubundaki 20 domates fidesinin sadece 6'sında kök uzaması kaydedilmiştir (Şekil 4.10 B). Fakat söz konusu grup üyelerinin hiç birindeki kök uzunluğu, mikroorganizma ilaveli gruplardaki fidelerin kök uzunluğu ile kıyaslanamayacak kadar kısadır. Bununla beraber kök sayısı da az olup ana kök üzerindeki kök tüyleri izlenmemiştir.

Gözle kıyaslama yapıldığında, üçüncü günde en uzun kökler Nitrat grubundaki fidelede izlenmiştir. Sayısal olarak bakıldığında ise, Nitrat grubu kök gelişimi gösteren fiderler bakımından ilk sıradayken (Şekil 4.10 C), ikinci ve üçüncü sıralarda sırasıyla $\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ fideleri ve Fosfat grubundaki bitkiler yer almaktadır. Nitrat grubunun 20 fidesinin hepsinde kökler ve kökcüklerin gelişimi görülmüştür. $\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ grubu fidelerinin 17'sinde kökler uzamıştır. Fakat ana kök üzerindeki küçük kökcükler sayısal olarak Nitrat grubuna nazaran çok daha azdır (Şekil 4.10 E). Fosfat grubunun 16 fidesinde sadece ana kök şeklinde uzantılar fark edilmiştir (Şekil 4.10 D).



Şekil 4.10 Fidelerin ekildikten üç gün sonraki kökleri (devamı)



Şekil 4.10 Fidelerin ekildikten üç gün sonraki kökleri

Şekil 4.11’de her grubun kontrol yetiştirme kaplarında (fotoğraf çekimi için kontrol grubu olarak seçilmişlerdir) bulunan domates fidelerinin ilk günlük halleri bulunmaktadır.



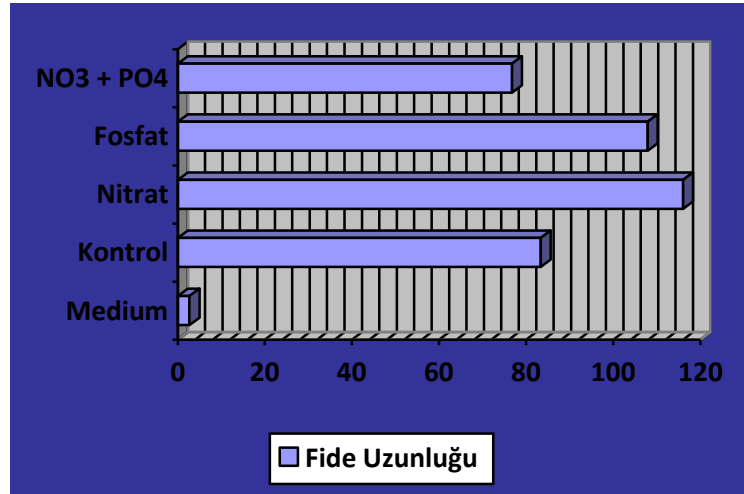
Şekil 4.11 Her grubun kontrol fidelerinin ilk günkü halleri (devamı)



Şekil 4.11 Her grubun kontrol fidelerinin ilk günkü halleri

Ekime takiben yedinci günde yapılan ölçümlere göre Medium grubundaki fidelerin sürgün uzunluğunda neredeyse bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.12). Kontrol grubu fidelerinin uzunluğu ise, $\approx$ % 83 olarak artmıştır. Bu sonuç, hazırlanan kontrol kompostunda bulunan saprofitik mikroorganizmaların atıklardaki organik bileşenleri parçalayıp fide için gerekli besin elementlerini temin edebildiği şekline yorumlanabilir. Zira bitkinin boyundaki gelişim köklerinin yeterli beslenmesi ile doğru orantılıdır.

Şekil 4.12’de da görüldüğü üzere en uzun fideler Nitrat grubuna ($\approx$ % 116) aitken, Fosfat üyeleri bitki uzunluğu ($\approx$ % 108) bakımından ikinci sırada yer almaktadır. Karışım mikroorganizma ilaveli kompostun katıldığı $\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ grubundaki sürgün uzunluğu gelişimi $\approx$ % 77 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Fide uzunluklarındaki artışın yüzde olarak ilk gün ile kıyaslanması

Kök uzunluğu ve sayısı bakımından fideler kıyaslandığında, ilk sırada Nitrat grubundaki fideler bulunmaktadır. Buna ilaveten kök tüyleri sadece bu gruptaki fidelerde görülmektedir. Daha önce *Azospirillum* bakterisi ile gerçekleştirilen bazı çalışmalarda söz konusu bakterinin kök gelişimi ve uzaması üzerinde etkili olduğu ispatlanmıştır [163]. Mia ve arkadaşlarının (2000), hidroponik koşullar altında muz bitkisi (*Musa acuminata*) üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada bakteri kültürü ilavesinin primer, sekonder ve tersiyer köklerin gelişimini (kök yoğunluğu, kök kütlesi, kök uzunluğu ve sayısı) dikkate şayan bir biçimde arttırdığı ifade edilmiştir [163]. Buradaki gözlemler de bu sonuçları doğrular niteliktedir.

NO₃ + PO₄ grubu fideler ortalama 23,7 cm uzunluğundaki kökler ile ikinci sırada yer almaktadır (Çizelge 4.6). Aynı şekilde kök sayısı bu grubun fidelerinde ortalama 15,4 ile göze çarpmaktadır. Burada ilgi çekici husus, bu grubun fideleri kök uzunluğu ve sayısı bakımından ikinci sırada olmalarına rağmen, sürgün gelişimi bakımından bu fideler Kontrol grubundan sonra yer almaktadır.

Mikrobiyal kültürlü kompostla beslenen üç grup arasında daha ılımlı bir gelişim gösteren fideler Fosfat grubu fideleridir. Söz konusu grubun fidelerinin ortalama sürgün uzunluğu 18,5 cm iken, kök uzunluğu 21,6 cm şeklinde hesaplanmıştır. Bu grubun kök sayısı da mikrobiyal kültür ilaveli hidroponik grupları arasında son sırada yer almaktadır. Fakat buna rağmen, Fosfat grubu fidelerinin genel gelişimi Medium ve Kontrol grubu üyelerine nazaran oldukça olumludur.

Genel olarak bakıldığında, yedinci günde en kısa kökler Medium grubu fidelerine aittir. Buna ek olarak en az kök sayısı da aynı grubun üyelerinde izlenmiştir.

Çizelge 4.6 Fidelerin yedinci gün ölçümleri

Grup	Bitki Uzunluğu (cm)	Gövde Kalınlığı (cm)	Yaprak Sayısı	Yaprak Alanı (cm ²)	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu (cm)
Medium	11,4	0,71	22,3	6,5	2,8	6,8
Kontrol	14,3	0,76	23,6	6,9	9,8	13,1
Nitrat	21,6	0,92	35,8	7,2	18,3	25,3
Fosfat	18,5	0,85	25,1	7,0	13,5	21,6
NO ₃ + PO ₄	22,8	0,80	32,9	6,3	15,4	23,7

Bitkilerin yedinci güne ait fotoğrafları aşağıda görülmektedir.



Şekil 4.13 Fidelerin yedi gün sonraki durumları (devamı)



Şekil 4.13 Fidelerin yedi gün sonraki durumları (devamı)



Şekil 4.13 Fidelerin yedi gün sonraki durumları

İkinci hafta sırasında kök tüyleri diğer mikroorganizma ilaveli gruplarda da izlenmeye başlanmıştır. Stereomikroskop ile kökler görüntülendiğinde kök tüyleri üzerinde mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm katmanı özellikle Nitrat grubu fidelerinde rahat bir şekilde izlenmiştir (Şekil 4.14).

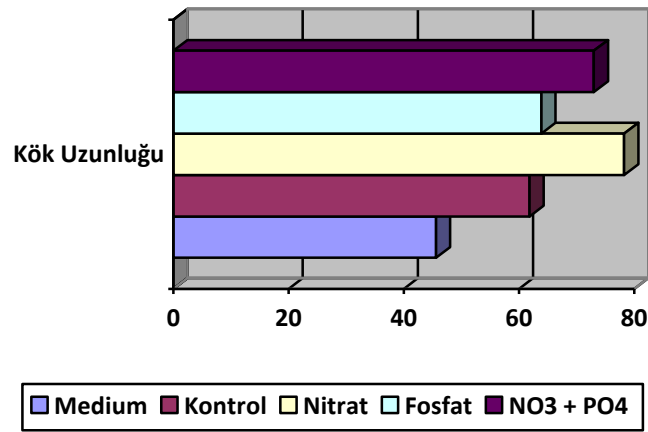


Kök tüyleri
üzerinde gelişen
biyofilmler

Şekil 4.14 Nitrat grubu fidelerin mikroskop altındaki görüntüsü

Fakat en çok kök tüyü gelişimi ilk haftada olduğu gibi Nitrat grubunda kaydedilmiştir. Buna rağmen geleneksel hidroponik sisteminin uygulandığı Medium grubundaki fidelerin hiç birinin köklerinde kök tüyü izlenmemiştir.

İkinci haftanın sonunda fideler kökleri bakımından kontrol edildiğinde (Şekil 4.15), ilk haftada olduğu gibi en çok kök uzaması Nitrat grubunda ($\approx$ % 78) görülmüştür. Aynı şekilde $\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ fideleri ($\approx$ % 73), Nitrat grubunu kök uzaması bakımından takip etmektedir. Mikrobiyal kültür ilaveli gruplar arasında Fosfat grubu en az kök uzamasını ($\approx$ % 64) sergilediği fark edilmiştir. Yalnız bu haftada Kontrol grubunun köklerindeki uzama ($\approx$ % 62) Fosfat grubuna yaklaşmıştır. Medium grubu fidelerinin kökleri ise, en az gelişimi göstermiştir ($\approx$ % 45).



Şekil 4.15 İkinci haftadan sonra farklı gruplardaki fidelerin kök uzunluğu bakımından kıyaslanması

Fide uzunluğu bakımından ise, Medium fideleri (12 cm) en kısa fideler olup en uzun fideler (26,6) Nitrat grubuna aittir (Çizelge 4.6). Sürgün boyunun mikroorganizma ilaveli gruplarda uzun olmasının olası sebebi besin maddelerinin alımının artışı ve dolayısıyla

da fotosentezdeki artış ile bitki gelişiminin artmasıdır. Bu sonuçlar topraklı sistemlerde gerçekleştirilen deneylerin sonuçları ile örtüşmektedir; Hazarika ve arkadaşlarının çay bitkisi (*Camellia sinensis*) üzerinde yaptıkları deneyde biyogübre ile beslenen fideler daha hızlı bir gelişme göstermiştir [160]. Rezene (*Foeniculum vulgare*) üzerinde biyogübre ile yapılan çalışmada sürgün uzunluğunun kontrol bitliklerine nazaran fazla olması dikkat çekmiştir [160]. Aynı şekilde bahçe nanesini (*Mentha piperita*) yetiştirmek için kimyasal gübreler ile biyolojik gübrelerin etkisi kıyaslandığında, biyogübreler ile beslenen bitkilerin sürgünlerinin daha uzun olduğu kaydedilmiştir [161].

İkinci haftada Medium grubu fideleri dışındaki bütün fidelerde gelişen tomurcuk yapıları izlenmeye başlanmıştır (Şekil 4.16). En çok tomurcuk Nitrat grubunda kaydedilmiştir (54). Fosfat grubu fidelerinde ise, yaklaşık 50 tomurcuk izlenmiştir. Tomurcuk başlı dalların mikroorganizma ilaveli kompostlu sistemlerinde fazla oluşu, kullanılan mikroorganizmaların, fidelerin beslenmesini desteklemesinden dolayı kaynaklanan fotosentez ve dolayısıyla da bitkinin genel gelişimindeki artış ile açıklanabilir. Bu sonuçlar Darzi ve arkadaşlarının (2006) rezene (*Foeniculum vulgare*) [162] ve papatya (*Matricaria chamomilla*) deneylerindeki bulguları destekler niteliktedir.



Şekil 4.16 Gelişen tomurcuklar

Daha önceki çalışmalarda azotun büyüme üzerindeki teşvik edici etkisi, özellikle yaprak sayısı ve alanını arttırması Gelder ve Van Gelder (1998) ve Niakan (2004) tarafından

rezene bitkisinde rapor edilmiştir [168]. Rawia ve arkadaşlarının (2006) horozibiği bitkisinde (*Celosia argentea*) yürüttükleri çalışmada azot fiksasyonunu gerçekleştiren mikroorganizmaların aşılандığı bitkilerdeki yaprak alanı genişliği ve fotosentezdeki artışın azot emilimindeki artıştan kaynaklandığı açıklanmıştır [164]. Klorofil yapısının bir kısmı (bir atom nitrojen ve dört karbon atomu klorofil halkasının içinde yer almaktadır) azottan oluştuğu için azotun emilimindeki artışa takiben fotosentezdeki artış da olasıdır [170]. Bu deneyde de azot fiksasyonu yapan mikroorganizmalar azot emilimini arttırdığından (muhtemelen fotosentezi) yaprak gelişimi ve sayısını dikkate değer bir biçimde arttırmıştır. Nitrat grubu fidelerin ortalama yaprak sayısı ilk gündeki 16,8'den 14. günde 51 olarak kaydedilmiştir. Yaprak fotosentezin gerçekleştiği ve asimilatların üretildiği en önemli bitkisel organ olduğundan oldukça önemli bir role sahiptir. Bitkilerde yaprak alanı ve sayısı artığında yeteri miktarda güneş enerjisinden yararlanarak gerekli metabolitlerin üretimi ve fotosentez artar.

Azotobacter ve *Azospirillum* gibi azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların bitki üzerindeki hormon indükleyici etkisinden ötürü bitki gövdesinin morfolojisinde doğrudan değişikliklere (gövde kalınlaşması, yaprak ve dal sayısının artması, tomurcuklu dal başlıklarında artış) sebep olabilirler. Buna ek olarak kök uzunluğu ve sayısında artışını uyardıkları için suya ve besin maddelerine ulaşım kolaylaşır ve toprak üstü organlar daha hızlı gelişir [165]. Bu deneyin sonuçları Ribaud ve çalışma arkadaşlarının (2006) domateste [166] ve Azzaz ve arkadaşlarının (2009) rezenede elde ettikleri bulguları onaylamaktadır [160]. Rasipour ve Asgharzade (2007) soyada (*Glycine max*) fosfat çözen bakteriler ile *Bradyrhizobium japonicum*'un ortaklaşa etkisi üzerinde yaptıkları çalışmada, fosfat çözen mikroorganizmaların toprak üstü bitki kısımlarının kuru ağırlığını ve kök düğümlerinin ıslak ve kuru ağırlığını artırdığı ifade edilmiştir [165].

Çizelge 4.7 Ondördüncü günde bitkilerin fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi

Grup	Bitki Uzunluğu (cm)	Gövde Kalınlığı (cm)	Yaprak Sayısı	Yaprak Alanı (cm ²)	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu (cm)	Tomurcuk Sayısı (Gelişen Tomurcuk)
Medium	12,0	0,75	25,5	6,7	6,5	9,9	0
Kontrol	16,2	0,82	32,3	7,5	15,0	21,2	0,7
Nitrat	26,6	1,04	51,0	9,1	31,7	45,1	2,7
Fosfat	20,0	0,97	41,6	8,8	25,1	38,9	2,5
NO ₃ + PO ₄	24,9	0,94	49,4	8,0	28,2	41,0	2,2

Üçüncü haftada Medium grubunun bazı fidelerinin yapraklarında sararma izlenmiştir. Bu sararma genellikle demir eksikliğine işaret ettiğinden her yetiştirme kabına 0,12 gr FeEDTA ilave edilmiştir. Fakat sempotmlar azalmamıştır.

İkinci haftada olduğu gibi üçüncü haftada da en çok tomurcuk sayısı Nitrat grubunda izlenmiştir. Bir önceki haftada meydana gelen gelişen tomurcukların büyük bir kısmı domates çiçekleri olarak büyümüştür (Şekil 4.17)



Şekil 4.17 Üçüncü haftada izlenen domates çiçekleri

Çizelge 4.8 Yirmibirinci günde bitkilerin fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi

Grup	Bitki Uzunluğu (cm)	Gövde Kalınlığı (cm)	Yaprak Sayısı	Yaprak Alanı (cm ²)	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu (cm)	Tomurcuk Sayısı (Gelişen Tomurcuk)
Medium	14,3	0,79	28,6	7,0	9,6	11,2	0
Kontrol	19,7	0,88	38,1	8,0	18,9	35,3	2,4
Nitrat	41,4	1,24	56,3	10,5	45,4	69,8	6,3
Fosfat	37,8	1,11	46,4	10,1	37,2	62,0	6,1
NO ₃ + PO ₄	39,7	1,06	52,7	9,3	41,0	66,1	5,8

Bir ayın sonunda ilk domates meyvesi Nitrat grubunun kontrol yetiştirme kabında izlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 İlk gelişen domates meyvesi

Çizelge 4.9 Bir ayın sonunda deney bitkilerinin bazı fiziksel özellikleri

Grup	Bitki Uzunluğu (cm)	Gövde Kalınlığı (cm)	Yaprak Sayısı	Yaprak Alanı (cm ²)	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu (cm)	Tomurcuk Sayısı (Gelişen Tomurcuk)
Medium	17,0	0,82	29,5	7,7	11,0	13,9	0
Kontrol	22,5	0,94	39,0	9,4	20,1	39,7	2,7
Nitrat	44,6	1,47	57,8	13,8	47,6	72,0	6,9
Fosfat	39,1	1,32	48,2	12,9	39,5	65,4	6,4
NO ₃ + PO ₄	42,9	1,28	53,1	12,5	43,8	68,1	5,9

Genel olarak fide gelişimini ele aldığımızda, domates fideleri mikrobiyal kültür ilaveli hidroponik gruplarında iyi bir şekilde yetişmiştir. Burada elde edilen sonuçlara göre, biyokütle üretimindeki artış herhangi bir kimyasal ilavesi yapılmadan gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlar daha önce topraklı sistemlerde yapılan çalışmaların sonuçlarını teyit ettirmektedir [167]. Abdelaziz ve arkadaşları (2007) biberiyede (*Rosmarinus officinalis*) azot fiksasyonu yapan bakterilerin etkisini araştırırken,

bitkilerde bazı makro elemnetlerin artışının köklerin yüzey birimindeki artışa, suyun alımının artmasına, fotosentez ve terlemenen artışından kaynaklandığı açıklanmıştır [168]. Söz konusu olaylar doğrudan fizyolojik işlemleri ve karbohidrat kullanımını tetikler. Kader ve arkadaşları (2002) *Azotobacter* kullanımından sonra buğdaydaki (*Triticum aestivum*) azot artışının sebebini, azot fiksasyonunun ardından kök sisteminin gelişmesini, NO_3^- ve NH_4^+ alımındaki artış ve nitrat redüktaz aktivitesinin artması şeklinde ifade etmiştir [169].

Geleneksel hidroponik solusyonu ile beslenen Medium grubu fidelerinin gelişimi ise, oldukça yavaş bir şekilde gerçekleşmiştir. Ortalama bitki uzunluğu ilk günde 11,1 cm iken, 30 gün sonrası ortalama bitki uzunluğu 17 cm olarak kaydedilmiştir.

Domates yetiştirme deneyindeki en ilginç hususlardan birisi, fidelerin oldukça iyi gelişmelerine karşın, biyo-organik hidroponik sistemlerin hiç birisinde ekimin ikinci haftasından itibaren amonyum ve nitrat iyonlarının bulunmayışıdır (Şekil 4.9). Buna rağmen, geleneksel hidroponik solusyon ile beslenen fidelerde bir ay boyunca nitrat ölçülebilmektedir. Mikrobiyal ilaveli solusyonlar ile beslenen fidelerin kök yapılarında oluşan biyofilm katmanının varlığı bir şekilde bu bulguya sebebp olabilmektedir. Buna göre, kök yüzeylerindeki biyofilm hidroponik solusyonda mevcut olan organik bileşenleri önce amonyuma, daha sonra da nitrata çevirmektedir. Söz konusu iyonlar, solusyona bırakılmadan kök vasıtasıyla absorblanmaktadır.

Bitki yetiştirme deneyimizdeki diğer önemli bulgu ise, mikrobiyal hidroponik solusyon ile beslenen domates bitkilerinde kök tüyleri ve biyofilm oluşmasıdır (Şekil. 4.14). Geleneksel inorganik hidroponik solusyonunda yetişen bitkilerde kök tüylerinin az sayıda geliştiği daha önceki çalışmalardan bilinmektedir [170]. Kökcüklerin gelişim mekanizması ile bilgiler az olduğundan bu konu gelecek çalışmalar için önemli bir başlık oluşturabilir. Bu çalışmada da görüldüğü üzere, biyo-organik hidroponik sistemi, rhizobacteria ve kök tüyleri arasındaki iletişimin izlenmesi için uyugun bir ortam hazırlamaktadır. Bu iletişim toprakta da gerçekleşmektedir. Fakat rhizosfer yapısına zarar vermeden bu ilişkiyi izlemek zordur. Geleneksel hidroponik sistemlerde ise, bahsedilen mikroorganizma-kök ilişkisi, mikroorganizmaların sayısal olarak az oluşundan dolayı nadir olarak izlenebilir. Buna kıyasla, burada önerilen mikrobiyal

hidroponik metodu, mikroorganizmalara veya köklere herhangi bir şekilde zarar vermeden söz konusu ilişkinin izlenmesi için oldukça uygundur.

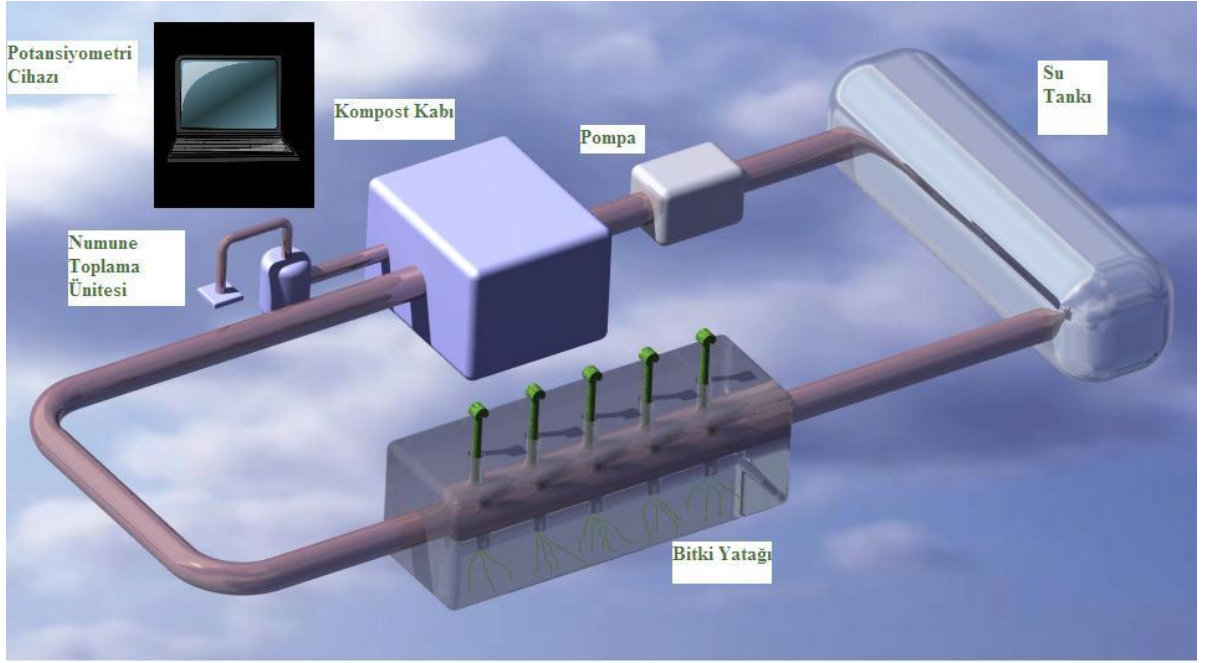
4.6 Tartışma ve Öneriler

Bu çalışmada genel amaç, bitkilerin beslenmesi için gerekli esansiyel besin elementleri olan azot, fosfor ve potasyumun mikrobiyal ve biyolojik kaynaklardan elde etmek olduğundan, mevcut tanımlanmış mikroorganizma suşlarının ve rhizosferden elde edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal tanımlanması yeterli olmuştur. Fakat daha ileri bazı teknikler ile izolatların %100 olarak klasifikasyonu mümkündür. Söz konusu yöntemler, bütün hücrenin hücresel yağ asitlerinin analizi ve 16s ribozomal DNA (rDNA) analizi şeklinde tanımlanabilir. Hücresel yağ asitlerinin analizi, Yağ Asidi Metil Esterler Yöntemi (Fatty Acid Methyl Esters (FAME)) ile ve gaz kromatografisi (GC) ile gerçekleştirilir. Böylece kalite ve miktar bakımından yağ asitleri profiliindeki farklılıklar gösterilerek kayıtları mevcut olan suşlar ile kıyaslanır. Benzerlik oranlarına göre büyük bir doğruluk payı ile doğru tahminler yapılabilir.

Moleküler tanımlama için ise, genomik DNA izolasyonu manuel veya kit ile gerçekleştirildikten sonra Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimeras Chain Reaction (PCR)) yardımıyla 16S rDNA amplifikasyonu gerçekleştirilir. Amplikonlar sekanslaması gerçekleştirilir. Son olarak elde edilen sonuçlar çeşitli bilgisayar programları vasıtasıyla analiz edilerek veri bankalarındaki mikroorganizmalarla kıyaslanır ve benzerlik yüzdeleri kesinleştirilir.

Mikroorganizmaların %100 tanımlanması yapıldıktan sonra uygun biyoreaktör ve Yüksek Hücre Dansiteli Kültür (High Cell Density Culture (HCHC)) yöntemi kullanılarak büyük kitle üretimine geçirilebilir. Böylece gerekli iş gücü azaltılarak sürekli ve yüksek miktarda üretim sağlanır. Yüksek mikrobiyal üretim sağlandığında hidroponik seralarda kullanılmak üzere kültürler uygun formülasyonla liyofilize toz haline getirilebilir.

Şekil 4.19'de hidroponik sistemlerde kullanılmak üzere zenginleştirilmiş kompostla beslemeyi sağlarken Catia 3D Drawing Program (V5 programı) vasıtasıyla tasarlanmıştır.



Şekil 4.19 Catia programı ile tasarlanan hidroponik seraya biyolojik fertilizer uygulama sistemi

Burada da görüldüğü üzere, sistemde dolaşılacak su, pompalar vasıtasıyla mikroorganizmalar ile beslenen hareketli-bölmeli kompost sekmesine aktarılacak. Bu bölümde 7/24 bitkisel besleyici elementlerin ölçümleri on line sistemler ile takip edilebilecek şekilde alınacaktır. Bitkilerin ihtiyaçlarına göre, sadece belli zamanlarda mikrobiyal kültür solusyonu bitki yataklarına aktarılacaktır. Solusyon su tankına gönderilmeden önce tekrar analizlere tabi tutularak ilgili kayıtlar oluşturulacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Ehret, D.L. Menzies, J.G. ve Helmer, T., (2005). "Production and quality of greenhouse roses in recirculating nutrient systems", *Scientia horticulturae*, 106: 103-113.
- [2] Mackowiak, C. ve Wheeler, R., (1996). "Growth and stomatal behavior of hydroponically cultured potato (*Solanum tuberosum* L.) at elevated and super-elevated CO₂", *Journal of plant physiology*, 149: 205-210.
- [3] Garland, J. Mackowiak, C. Strayer, R. ve Finger, B., (1997). "Integration of waste processing and biomass production systems as part of the KSC Breadboard project", *Advances in Space Research*, 20: 1821-1826.
- [4] Strayer, R. Finger, B. ve Alazraki, M., (1997). "Evaluation of an anaerobic digestion system for processing CELSS crop residues for resource recovery", *Advances in Space Research*, 20: 2009-2015.
- [5] Atkin, K. ve Nichols, M., (2003). "Organic hydroponics": *ISHS Acta Horticulturae*
- [6] Vessey, J.K., (2003). "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers", *Plant and soil*, 255: 571-586.
- [7] Giri, B. Giang, P.H. Kumari, R. Prasad, R. ve Varma, A., (2005). *Microbial diversity in soils*, ed. *Microorganisms in soils: Roles in Genesis and functions*. Springer, 19-55.
- [8] Hassanzadeh, H. Pooladi-Darvish, M. ve Keith, D.W., (2007). "Scaling behavior of convective mixing, with application to geological storage of CO₂", *AIChE journal*, 53: 1121-1131.
- [9] Vazquez, P. Holguin, G. Puente, M. Lopez-Cortes, A. ve Bashan, Y., (2000). "Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon", *Biology and Fertility of Soils*, 30: 460-468.
- [10] Jones, D.L., (1998). "Organic acids in the rhizosphere—a critical review", *Plant and soil*, 205: 25-44.
- [11] Sturz, A. ve Christie, B., (2003). "Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria", *Soil and Tillage Research*, 72: 107-123.
- [12] Zaidi, A. Khan, M.S. ve Amil, M., (2003). "Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.)", *European Journal of Agronomy*, 19: 15-21.
- [13] WU, X.-l. GU, X.-p. ve WANG, Y.-d., (2004). "Manufacture, applying and effects of bamboo bio-fertilizers [J]", *Forest Research*, 4: 010.
- [14] Glick, B.R., (1995). "The enhancement of plant growth by free-living bacteria", *Canadian Journal of Microbiology*, 41: 109-117.

- [15] Maleki, N.M.M. ve Balouchi, H., (2013). "Effects of nitrogen and phosphorus chemical and biological fertilizers on yield and yield components of sweet corn (*Zea mays* var *Saccharata*)", *Journal of Plant Production (Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources)*, 20: 37-57.
- [16] Tilak, K. Ranganayaki, N. Pal, K. De, R. Saxena, A. Nautiyal, C.S. Mittal, S. Tripathi, A. ve Johri, B., (2005). "Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria", *Current science*, 89: 136-150.
- [17] Kanimozhi, K. ve Panneerselvam, A., (2010). "Studies on isolation and nitrogen fixation ability of *Azospirillum* spp. isolated from Thanjavur district", *Der Chemica Sinica*, 1: 138-145.
- [18] Mena-Violante, H.G. ve Olalde-Portugal, V., (2007). "Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs", *Scientia horticulturae*, 113: 103-106.
- [19] Sundara-Rao, W. ve Sinha, M., (1963). "Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere", *Indian J. Agric. Sci*, 33: 272-278.
- [20] Halder, A. Mishra, A. Bhattacharyya, P. ve Chakrabartty, P., (1990). "Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*", *Journal of General and Applied Microbiology*, 36: 81-92.
- [21] Krishnaraj, P. ve Gowda, T., (1990). "Occurrence of phosphate-solubilizing bacteria in the endorhizosphere of crop plants", *Current science*, 59: 933-934.
- [22] Ilmer, P. ve Schinner, F., (1992). "Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils", *Soil Biology and Biochemistry*, 24: 389-395.
- [23] Leinhos, V. ve Vacek, O., (1994). "Biosynthesis of auxins by phosphate-solubilizing rhizobacteria from wheat (*Triticum aestivum*) and rye (*Secale cereale*)", *Microbiological research*, 149: 31-35.
- [24] Kim, K. Jordan, D. ve McDonald, G., (1997). "Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity", *Biology and Fertility of Soils*, 26: 79-87.
- [25] S, M.K.K., (1997). *Studies on microbial diversity and their activity in soil under bamboo plantation: University of Agricultural Sciences.*
- [26] Yakhchali, B. Afzal Alghoum, A. Yeganegi, P. Shorgashti, H. Siami, A. ve ALavi, S., (2011). "Optimization of growth condition of BARVAR2 plant growth promoting bacteria", *Iranian Journal of Biology*, 24: 494-506.
- [27] Aghaei, K. Ehsanpour, A.A. Balali, G. ve Mostajeran, A., (2008). "In vitro screening of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars for salt tolerance using physiological parameters and RAPD analysis", *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 3: 159-164.
- [28] Baldwin, K.R. ve Greenfield, J.T., (2006). "Composting on organic farms", Available at: www.carolinafarmstewards.org/wp-content/uploads/2012/12/9-CEFS-Composting-on-Organic-Farms.pdf, 9 Aralık 2012.

- [29] Agrawal, S., (2009). Composting Guidebook for an Organic Farm in Guaimaca, Honduras, ed^{eds}.: Worcester Polytechnic Institute.
- [30] Zhang, W. Han, D. Dick, W. Davis, K. ve Hoitink, H., (1998). "Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and *Arabidopsis*", *Phytopathology*, 88: 450-455.
- [31] Iiyama, K. Stone, B.A. ve Macauley, B.J., (1994). "Compositional changes in compost during composting and growth of *Agaricus bisporus*", *Applied and environmental microbiology*, 60: 1538-1546.
- [32] Morisaki, N. Phae, C.G. Nakasaki, K. Shoda, M. ve Kubota, H., (1989). "Nitrogen transformation during thermophilic composting", *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 67: 57-61.
- [33] Cooperband, L., (2002). The art and science of composting, ed^{eds}. Center for Integrated Agricultural Systems.
- [34] Illmer, P., (2002). Backyard composting: General considerations and a case study, ed. *Microbiology of Composting*. Springer, 133-142.
- [35] Park, W.M. Lamons, K.S. ve Roberts, R.K., (2002). "Factors associated with backyard composting behavior at the household level", *Agricultural and Resource Economics Review*, 31: 147-156.
- [36] Epstein, E., (1996). The science of composting: CRC press.
- [37] Haug, R.T., (1993). The practical handbook of compost engineering: CRC Press.
- [38] Ndegwa, P. Thompson, S. ve Das, K., (2000). "Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids", *Bioresource Technology*, 71: 5-12.
- [39] Freitag, D.G. ve Meihoefer, H., (2000). The use of Effective Microorganisms (EM) in organic waste management, Effective Microorganisms@emtrading.com.
- [40] Tränkner, A., (1992). Use of agricultural and municipal organic wastes to develop suppressiveness to plant pathogens, ed. *Biological control of plant diseases*. Springer, 35-42.
- [41] Douglas, J.S., (1985). Advanced guide to hydroponics: Pelham Books.
- [42] Wong, E., (1972). Hydroponics system and method, Google Patents.
- [43] Jones Jr, J.B., (2012). Hydroponics: A practical guide for the soilless grower: CRC press.
- [44] Jones Jr, J.B., (1982). "Hydroponics: its history and use in plant nutrition studies", *Journal of plant Nutrition*, 5: 1003-1030.
- [45] Burrage, S., (1992). "Nutrient film technique in protected cultivation": *ISHS Acta Horticulturae*.
- [46] Lennard, W.A. ve Leonard, B.V., (2006). "A comparison of three different hydroponic sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an Aquaponic test system", *Aquaculture international*, 14: 539-550.

- [47] Jarrett, A.F. ve Chanter, D., (1981). Design and interpretation of nutrient film technique experiments, eds. South Pacific Soilless Culture Conference - SPSCC. ISHS Acta Horticulturae.
- [48] Christie, C. ve Nichols, M., (2003). "Aeroponics-a production system and research tool": ISHS Acta Horticulturae.
- [49] Hayden, A. Yokelsen, T. Giacomelli, G. ve Hoffmann, J., (2002). "Aeroponics: an alternative production system for high-value root crops": ISHS Acta Horticulturae.
- [50] Zeroni, M. Gale, J. ve Ben-Asher, J., (1983). "Root aeration in a deep hydroponic system and its effect on growth and yield of tomato", *Scientia horticulturae*, 19: 213-220.
- [51] Graber, A. ve Junge, R., (2009). "Aquaponic Systems: Nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production", *Desalination*, 246: 147-156.
- [52] Jensen, M.H., (1997). "Hydroponics worldwide": ISHS Acta Horticulturae.
- [53] Jensen, M.H., (1991). Hydroponic culture for the tropics: opportunities and alternatives: ASPAC Food & Fertilizer Technology Center.
- [54] Darwin, W.B. ve Livengood, J.M., (1977). Hydroponic system convertible to an open or closed system, Google Patents.
- [55] "Topraksız Tarım", Available at: <http://www.topraksizkultur.com/forum/printthread.php?tid=333>, 26 Mayıs 2012.
- [56] Stutte, G.W., (1995). "Nitrogen dynamics in the CELSS Breadboard facility at Kennedy Space Center", *Life support & biosphere science: international journal of earth space*, 3: 67-74.
- [57] Ikeda, H. ve Osawa, T., (1981). "Nitrate-and ammonium-N absorption by vegetables from nutrient solution containing ammonium nitrate and the resultant change of solution pH", *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 50: 225-230.
- [58] Miyata, H. ve Ikeda, H., (2006). "Behavior of nitrogen in the media supplied with the aqueous phase produced by methane fermentation as liquid fertilizer", *Soil Science & Plant Nutrition*, 52: 135-135.
- [59] Trebst, A. Losada, M. ve Arnon, D.I., (1960). "Photosynthesis by isolated chloroplasts XII. Inhibitors of CO₂ assimilation in a reconstituted chloroplast system", *Journal of Biological Chemistry*, 235: 840-844.
- [60] Purich, G.a.B., AV., (1967). "Structure and function of tomato leaf chloroplasts during ammonium toxicity.", *Plant Physiol.*, 42: 1229–1238.
- [61] Givan, C.V., (1979). "Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants", *Phytochemistry*, 18: 375-382.
- [62] Murungu, F. Chiduzo, C. Nyamugafata, P. Clark, L. Whalley, W. ve Finch-Savage, W., (2004). "Effects of 'on-farm seed priming'on consecutive daily

sowing occasions on the emergence and growth of maize in semi-arid Zimbabwe", *Field crops research*, 89: 49-57.

- [63] Ashraf, M. ve Foolad, M., (2005). "Pre-Sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions", *Advances in Agronomy*, 88: 223-271.
- [64] Iqbal, M. ve Ashraf, M., (2005). "Changes in growth, photosynthetic capacity and ionic relations in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) due to pre-sowing seed treatment with polyamines", *Plant Growth Regulation*, 46: 19-30.
- [65] Arif, M. Gupta, R. ve Joshi, M., (1995). "Studies on the use of cyanobacteria as biofertilizer for vegetable cultivation in hydroponic system", Schirmacher oasis region, East Antarctica. Eleventh Indian expedition to Antarctica scientific report. Department of ocean development. Technical publication, 9: 243-246.
- [66] Mia, M.B. ve Shamsuddin, Z., (2013). "Rhizobium as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production", *African Journal of Biotechnology*, 9: 6001-6009.
- [67] Mia, M.B. Shamsuddin, Z. Wahab, Z. ve Marziah, M., (2009). "The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue-cultured banana plantlets under low N-fertilizer regime", *African Journal of Biotechnology*, 8.
- [68] Díaz, B.M. Legarrea, S. Marcos-García, M.Á. ve Fereres, A., (2010). "The spatio-temporal relationships among aphids, the entomophthoran fungus, *Pandora neoaphidis*, and aphidophagous hoverflies in outdoor lettuce", *Biological Control*, 53: 304-311.
- [69] Mia, B. Shamsuddin, Z. Wahab, Z. ve Marziah, M., (2010). "Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen incorporation of tissue-cultured *Musa* plantlets under nitrogen-free hydroponics condition", *Australian Journal of Crop Science*, 4.
- [70] Dasgan, H. Aydoner, G. ve Akyol, M., (2010). "Use of Some Microorganisms as Bio-fertilizers in Soilless Grown Squash for Saving Chemical Nutrients": *ISHS Acta Horticulturae*.
- [71] Bradford, K.J. Steiner, J.J. ve Trawatha, S.E., (1990). "Seed priming influence on germination and emergence of pepper seed lots", *Crop Science*, 30: 718-721.
- [72] Khan, A.A., (1992). "Preplant physiological seed conditioning", *Horticultural reviews*, 13: 131-181.
- [73] Naeem, M. ve Muhammad, S., (2006). "Effect of seed priming on growth of barley (*Hordeum vulgare*) by using brackish water in salt affected soils", *Pakistan Journal of Botany*, 38: 613.
- [74] Brocklehurst, P. ve DEARMAN, J., (1983). "Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. I. Laboratory germination", *Annals of Applied Biology*, 102: 577-584.

- [75] Coolbear, P. ve McGill, C., (1990). "Effects of a low-temperature pre-sowing treatment on the germination of tomato seed under temperature and osmotic stress", *Scientia horticulturae*, 44: 43-54.
- [76] Fujikura, Y. Karssen, C. Kraak, H. ve Basra, A., (1993). "Hydropriming, a simple and inexpensive priming method", Available at: agris.fao.org. Accessed.
- [77] Moradi, A. ve Younesi, O., (2009). "Effects of Osmo-and Hydro-priming on Seed Parameters of Grain Sorghum (*Sorghum bicolor* L.)", *Australian Journal of Basic & Applied Sciences*, 3.
- [78] Taylor, A. Klein, D. ve Whitlow, T., (1988). "SMP: Solid matrix priming of seeds", *Scientia horticulturae*, 37: 1-11.
- [79] Warren, J.E. ve Bennett, M.A., (1997). "Seed hydration using the drum priming system", *HortScience*, 32: 1220-1221.
- [80] Wang, Z. Wang, C. ve Chen, K., (2001). "Two-phase flow and transport in the air cathode of proton exchange membrane fuel cells", *Journal of Power Sources*, 94: 40-50.
- [81] Buck, R.P. ve Lindner, E., (1994). "Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes", *Pure Appl. Chem*, 66: 2527-2536.
- [82] Gileadi, E., (1993). *Electrode kinetics for chemists, chemical engineers, and materials scientists*: VCH New York.
- [83] East, G.A. ve del Valle, M., (2000). "Easy-to-make Ag/AgCl reference electrode", *Journal of Chemical Education*, 77: 97.
- [84] Kobayashi, S., (1997). "Recent experiments on vacuum breakdown of oxygen-free copper electrodes", *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, 4: 841-847.
- [85] Harvey, E. ve Buckley, D., (2000). "Anodic film formation and current oscillations on *inp* electrodes in aqueous (NH₄)₂S", *SOTAPOCS XXXII*, 2000: 265.
- [86] Zhou, J. Ren, K. Zheng, Y. Su, J. Zhao, Y. Ryan, D. ve Wu, H., (2010). "Fabrication of a microfluidic Ag/AgCl reference electrode and its application for portable and disposable electrochemical microchips", *Electrophoresis*, 31: 3083-3089.
- [87] Mamińska, R. Dybko, A. ve Wróblewski, W., (2006). "All-solid-state miniaturised planar reference electrodes based on ionic liquids", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 115: 552-557.
- [88] Kisiel, A. Kijewska, K. Mazur, M. Maksymiuk, K. ve Michalska, A., (2012). "Polypyrrole Microcapsules in All-solid-state Reference Electrodes", *Electroanalysis*, 24: 165-172.
- [89] Valdés-Ramírez, G. Álvarez-Romero, G.A. Galán-Vidal, C.A. Hernández-Rodríguez, P.R. ve Ramírez-Silva, M.T., (2005). "Composites: A novel alternative to construct solid state Ag/AgCl reference electrodes", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 110: 264-270.

- [90] Mamińska, R. ve Wróblewski, W., (2006). "Solid-State Microelectrodes for Flow-Cell Analysis Based on Planar Back-Side Contact Transducers", *Electroanalysis*, 18: 1347-1353.
- [91] Morf, W.E., (2012). *The principles of ion-selective electrodes and of membrane transport*: Elsevier.
- [92] Johnson, R.D. ve Bachas, L.G., (2003). "Ionophore-based ion-selective potentiometric and optical sensors", *Analytical and bioanalytical chemistry*, 376: 328-341.
- [93] Eisenman, G., (1958). Glass electrode for measuring sodium ion, ed^{eds.}: Google Patents.
- [94] Eisenman, G., (1962). "Cation selective glass electrodes and their mode of operation", *Biophysical journal*, 2: 259-323.
- [95] Abe, Y. Nogami, M. ve Maeda, M., (1997). "Mobile hydrogen ion in glass to enable pH-measurement", *Journal of non-crystalline solids*, 209: 204-206.
- [96] Cattrall, R. Tribuzio, S. ve Freiser, H., (1974). "Potassium ion responsive coated wire electrode based on valinomycin", *Analytical chemistry*, 46: 2223-2224.
- [97] Abe, H. ve Kokufuta, E., (1990). "Hydroxide ion-selective polymeric membrane-coated wire electrode based on oxomolybdenum (V) tetraphenylporphyrin complex", *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 63: 1360-1364.
- [98] Ardakani, M.M. Ensafi, A.A. Salavati, N.M. ve Mirhoseini, H., (2003). "Silver (I)-selective coated-wire electrode based on an octahydroxycalix [4] arene derivative", *Analytical sciences: the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 19: 1187-1190.
- [99] Ardakani, M.M. Pourhakkak, P. ve Salavati-Niasari, M., (2007). "Potentiometric coated wire electrode for salicylate based on zinc (II) acetylacetonate", *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18: 782-788.
- [100] Broncová, G. Shishkanova, T.V. Krondak, M. Volf, R. ve Král, V., (2008). "Optimalization of Poly (neutral red) Coated-wire Electrode for Determination of Citrate in Soft Drinks", *Sensors*, 8: 594-606.
- [101] Eggins, B.R., (2008). *Chemical sensors and biosensors*: John Wiley & Sons.
- [102] Fry, C. ve Langley, S., (2004). *Ion-selective electrodes for biological systems*: CRC Press.
- [103] Fiedler, U. ve Růžička, J., (1973). "Selectrode-the universal ion-selective electrode: Part VII. A valinomycin-based potassium electrode with nonporous polymer membrane and solid-state inner reference system", *Analytica chimica acta*, 67: 179-193.
- [104] Tsujimura, Y. Sunagawa, T. Yokoyama, M. ve Kimura, K., (1996). "Sodium ion-selective electrodes based on silicone-rubber membranes covalently incorporating neutral carriers", *Analyst*, 121: 1705-1709.

- [105] Qin, Y. Peper, S. ve Bakker, E., (2002). "Plasticizer-Free Polymer Membrane Ion-Selective Electrodes Containing a Methacrylic Copolymer Matrix", *Electroanalysis*, 14: 1375-1381.
- [106] Yun, S.Y. Hong, Y.K. Oh, B.K. Cha, G.S. Nam, H. Lee, S.B. ve Jin, J.-I., (1997). "Potentiometric properties of ion-selective electrode membranes based on segmented polyether urethane matrices", *Analytical chemistry*, 69: 868-873.
- [107] Ammann, D. Güggi, M. Pretsch, E. ve Simon, W., (1975). "Improved calcium ion-selective electrode based on a neutral carrier", *Analytical Letters*, 8: 709-720.
- [108] Anker, P. Wieland, E. Ammann, D. Dohner, R.E. Asper, R. ve Simon, W., (1981). "Neutral carrier based ion-selective electrode for the determination of total calcium in blood serum", *Analytical chemistry*, 53: 1970-1974.
- [109] Sakaki, T. Harada, T. Kawahara, Y. ve Shinkai, S., (1994). "On the selection of the optimal plasticizer for calix [n] arene-based ion-selective electrodes: possible correlation between the ion selectivity and the 'softness' of the plasticizer", *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry*, 17: 377-392.
- [110] Muslinkina, L., (2004). *Molecular recognition studies with ion-selective membranes: Complexation in the bulk and molecular recognition on the surface*, ed^{eds}. Swiss Federal Institute of Technology, Switzerland.
- [111] Ammann, D. Pretsch, E. Simon, W. Lindner, E. Bezegh, A. ve Pungor, E., (1985). "Lipophilic salts as membrane additives and their influence on the properties of macro-and micro-electrodes based on neutral carriers", *Analytica chimica acta*, 171: 119-129.
- [112] Nägele, M. Mi, Y. Bakker, E. ve Pretsch, E., (1998). "Influence of lipophilic inert electrolytes on the selectivity of polymer membrane electrodes", *Analytical chemistry*, 70: 1686-1691.
- [113] Lee, J.Y. Lee, J.J. Rhim, H.R. Shim, J.P. ve Lee, H.K., (2010). "Thermal Properties of Epoxy Based Expanded Graphite Composite for Bipolar Plate of Polymer Electrolyte Fuel Cells", *Advanced Materials Research*, 123: 1107-1110.
- [114] Michalska, A. Wojciechowski, M. Bulska, E. Mieczkowski, J. ve Maksymiuk, K., (2009). "Poly (n-butyl acrylate) based lead (II) selective electrodes", *Talanta*, 79: 1247-1251.
- [115] Umezawa, Y. Buhlmann, P. Umezawa, K. Tohda, K. ve Amemiya, S., (2000). "Potentiometric selectivity coefficients of ion-selective electrodes. Part I Inorganic cations", *Pure Appl. Chem*, 72: 1851-2082.
- [116] Lindner, E. Toth, K. ve Pungor, E., (1986). "Definition and determination of response time of ion selective electrodes", *Pure Appl. Chem*, 58: 469-479.
- [117] Schöning, M. Krause, R. Block, K. Musahmeh, M. Mulchandani, A. ve Wang, J., (2003). "A dual amperometric/potentiometric FIA-based biosensor for the distinctive detection of organophosphorus pesticides", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 95: 291-296.

- [118] Zare, H. ve Golabi, S., (1999). "Electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) at a chlorogenic acid modified glassy carbon electrode", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 464: 14-23.
- [119] Mukamel, S., (1995). *Principles of nonlinear optical spectroscopy*: Oxford University Press New York.
- [120] Förster, H., (2004). *UV/vis spectroscopy*, ed. Characterization I. Springer, 337-426.
- [121] Perkampus, H.-H. Grinter, H.C. ve Threlfall, T., (1992). *UV-VIS Spectroscopy and its Applications*: Springer.
- [122] Chen, Z. Deutsch, T.G. Dinh, H.N. Domen, K. Emery, K. Forman, A.J. Gaillard, N. Garland, R. Heske, C. ve Jaramillo, T.F., (2013). *UV-Vis spectroscopy*, ed. photoelectrochemical water splitting. Springer, 49-62.
- [123] Harris, D.C. ve Bertolucci, M.D., (1978). *Symmetry and spectroscopy: an introduction to vibrational and electronic spectroscopy*: Courier Dover Publications.
- [124] Crouch, S.R. ve Ingle, J.D., (1988). *Spectrochemical analysis*: Prentice Hall.
- [125] Horneck, D.A. ve Miller, R.O., (1998). *Determination of total nitrogen in plant tissue*, Google Book.
- [126] Pierzynski, G.M., (2000). *Methods of phosphorus analysis for soils, sediments, residuals, and waters*, ed[^]eds.: North Carolina State University Raleigh.
- [127] Xia, Y. Embley, T. ve O'Donnell, A., (1994). "Phylogenetic analysis of azospirillum by direct sequencing of PCR amplified 16S rDNA", *Systematic and applied microbiology*, 17: 197-201.
- [128] Dangeard, P.-A., (1926). *Recherches sur les tubercules radicaux des Legumineuses*: Ed. du botaniste.
- [129] Holt, J.G. Krieg, N.R. Sneath, P.H. Staley, J.T. ve Williams, S.T., (1994). "Bergey's manual of determinative bacteriology", Williams and wilkins, Baltimore: 559-564.
- [130] Pikovskaya, R., (1948). "Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species", *Mikrobiologiya*, 17: 362-370.
- [131] Malboobi, M.A. Owlia, P. Behbahani, M. Sarokhani, E. Moradi, S. Yakhchali, B. Deljou, A. ve Heravi, K.M., (2009). "Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 1471-1477.
- [132] Alexander, M., (1965). "Most-probable-number method for microbial populations", *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*: 1467-1472.
- [133] Stefanowicz, A., (2006). "The Biolog Plates Technique as a Tool in Ecological Studies of Microbial Communities", *Polish Journal of Environmental Studies*, 15.

- [134] Olson, R. Rhodes, M. ve Dreier, A., (1954). "Available phosphorus status of Nebraska soils in relation to series classification, time of sampling and method of measurement", *Agronomy Journal*, 46: 175-180.
- [135] Association, I.S.T., (1993). "International Rules for Seed Testing, 1993": International Seed Testing Association.
- [136] Mahantesh, P. ve Patil, C., (2011). "Isolation and biochemical characterization of phosphate solubilizing microbes", *International Journal of Microbiology Research*, 3: 67-70.
- [137] Barua, S. Tripathi, S. Chakraborty, A. Ghosh, S. ve Chakrabarti, K., (2012). "Characterization and crop production efficiency of diazotrophic bacterial isolates from coastal saline soils", *Microbiological research*, 167: 95-102.
- [138] Snell, J. Hill, L. ve Lapage, S., (1972). "Identification and characterization of *Moraxella phenylpyruvica*", *Journal of clinical pathology*, 25: 959-965.
- [139] Gavini, F., Mergaert, J., Beji, A., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K., De Ley, J. , (1989). "Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov", *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39: 337–345.
- [140] Anzai, Y. Kim, H. Park, J.-Y. Wakabayashi, H. ve Oyaizu, H., (2000). "Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50: 1563-1589.
- [141] Ward, P.G. Goff, M. Donner, M. Kaminsky, W. ve O'Connor, K.E., (2006). "A two step chemo-biotechnological conversion of polystyrene to a biodegradable thermoplastic", *Environmental science & technology*, 40: 2433-2437.
- [142] Amer, G. ve Utkhede, R., (2000). "Development of formulations of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber", *Canadian Journal of Microbiology*, 46: 809-816.
- [143] Vassilev, N. Toro, M. Vassileva, M. Azcon, R. ve Barea, J.M., (1997). "Rock phosphate solubilization by immobilized cells of *Enterobacter* sp. in fermentation and soil conditions", *Bioresource Technology*, 61: 29-32.
- [144] Somers, E. Vanderleyden, J. ve Srinivasan, M., (2004). "Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet", *Critical reviews in microbiology*, 30: 205-240.
- [145] Givskov, M. Eberl, L. Møller, S. Poulsen, L.K. ve Molin, S., (1994). "Responses to nutrient starvation in *Pseudomonas putida* KT2442: analysis of general cross-protection, cell shape, and macromolecular content", *Journal of bacteriology*, 176: 7-14.
- [146] Nautiyal, C.S. Johri, J. ve Singh, H., (2002). "Survival of the rhizosphere-competent biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* NBRI2650 in the soil and phytosphere", *Canadian Journal of Microbiology*, 48: 588-601.

- [147] Johri, J.K. Surange, S. ve Nautiyal, C.S., (1999). "Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils", *Current microbiology*, 39: 89-93.
- [148] Son, H.-J. Park, G.-T. Cha, M.-S. ve Heo, M.-S., (2006). "Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt-and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere", *Bioresource Technology*, 97: 204-210.
- [149] Garcia MC, D.J., Vallejo A, Garcia L, Cartagena MC, (1997). "Effects of applying soluble and coated phosphate fertilizer on phosphate availability in calcareous soils and on P absorption by a Rye-Grass crop", *J Agric Food Chem*, 45: 1931–1936.
- [150] Morales, H. Sanchis, V. Usall, J. Ramos, A.J. ve Marín, S., (2008). "Effect of biocontrol agents *Candida sake* and *Pantoea agglomerans* on *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples", *International journal of food microbiology*, 122: 61-67.
- [151] Igual, J.M. Valverde, A. Cervantes, E. ve Velázquez, E., (2001). "Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture: use of updated molecular techniques in their study", *Agronomie*, 21: 561-568.
- [152] Illmer, P. ve Schinner, F., (1995). "Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms", *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 257-263.
- [153] Vuyst, L. ve Degeest, B., (1999). "Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria", *FEMS microbiology reviews*, 23: 153-177.
- [154] Cerning, J., (1995). "Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria", *Le lait*, 75: 463-472.
- [155] Broadbent, J.R. McMahon, D.J. Welker, D. Oberg, C. ve Moineau, S., (2003). "Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review", *Journal of dairy science*, 86: 407-423.
- [156] Vuyst, D. ve de Ven, V., (1998). "Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth-associated biosynthesis", *Journal of Applied Microbiology*, 84: 1059-1068.
- [157] Kubota, H. Senda, S. Nomura, N. Tokuda, H. ve Uchiyama, H., (2008). "Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress", *Journal of bioscience and bioengineering*, 106: 381-386.
- [158] Mia, M. Shamsuddin, Z. Zakaria, W. ve Marziah, M., (2000). "Growth and physiological attributes of hydroponically-grown bananas inoculated with plant growth promoting rhizobacteria", *Trans. Malaysian Soc. Plant Physiol*, 9: 324-327.
- [159] Hazarika, D. Phookan, A. Saikia, G. Borthakur, B. ve Sarma, D., (2000). "Management of charcoal stump rot of tea with bio control agents", *Journal of Plantation Crops*, 28: 149-153.

- [160] Azzaz, N. Hassan, E. ve Hamad, E., (2009). "The chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of fennel plants treated with organic and bio-fertilizer instead of mineral fertilizer", *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3: 579-587.
- [161] Swaefy Hend, M. Sakr, W.R. Sabh, A. ve Ragab, A., (2007). Effect of some chemical and bio-fertilizers on peppermint plants grown in sandy soil 1. effect on vegetative growth as well as essential oil percentage and constituents. *Annals Of Agricultural Science-Cairo*. 451.
- [162] Darzi, M. Ghalavand, A. ve Rejali, F., (2008). "Effect of mycorrhiza, vermicompost and phosphate biofertilizer application on flowering, biological yield and root colonization in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.)", *Iranian Journal of Crop Sciences*.
- [163] Niakan, M. Khavarinezhad, R.A. ve Rezaei Mohammad, B., (2004). "Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf freash weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita* l", *Iranian Journal Of Medicinal And Aromatic Plants*.
- [164] Eid, R.A. Abo-Sedera, S. ve Attia, M., (2006). "Influence of nitrogen fixing bacteria incorporation with organic and/or inorganic nitrogen fertilizers on growth, flower yield and chemical composition of *celosia argentea*", *World Journal of Agricultural Sciences*, 2.
- [165] Faraji, H., (2009). Evaluation of nitrogen effect on grain yield and seedling product of some sweet corn hybrids in Yasouj, Final Research Report of Yasouj University. 75.
- [166] Ribaud, C.M. Krumpholz, E.M. Cassán, F.D. Bottini, R. Cantore, M.L. ve Curá, J.A., (2006). "Azospirillum sp. promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene", *Journal of plant growth regulation*, 25: 175-185.
- [167] Gharib, F.A. Moussa, L.A. ve Massoud, O.N., (2008). "Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant", *Int. J. Agric. Biol.*, 10: 381-382.
- [168] Abdelaziz, M.E. Pokluda, R. ve Abdelwahab, M.M., (2007). "Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L", *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35: 86-90.
- [169] Kader, M. Mian, M. ve Hoque, M., (2002). "Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat", *J. Biol. Sci*, 2: 259-261.
- [170] Nakano, Y. Watanabe, S. Okano, K. ve Tatsumi, J., (2002). "The influence of growing temperatures on activity and structure of tomato roots hydroponically grown in wet atomosphere or in solution", *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, 71:683-690.

MOST PROBABLE NUMBER (MPN)

En Çok Olası Sayı (Most Probable Number) metodu mikrobiyologlar için faydalı fakat az kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem genellikle bakteriyal sayımın ve mikrobiyal limit testi olarak kullanılmaktadır. Bu test belli bir örnekte var olan canlı mikroorganizmaların konsantrasyon tahminini gerçekleştirmek için kullanılan bir yöntem olup sıvı besiyerlerinin dilüsyonu ile gerçekleştirilir. Özellikle plate sayım yöntemini engelleyen partiküller içeren kültürle uygulanmaktadır.

A-1 Genel Bilgiler

MPN metodunun temel konsepti D-değeri tahmininin fraksiyon negatif yöntemi ile aynıdır. Besiyeri mikroorganizmaların büyümesini destekler ve zaman içinde bulanıklaşır.

MPN testinde örneğin on kat dilüsyon serileri hazırlanır. Daha sonra ise, her bir tüpten 1 ml örnek alınıp üç kopyalı besiyeri tüplerine inkübasyon yapılmak üzere ilave edilir. Dilüsyon arttığında besiyeri tüplerinin herhangi bir mikroorganizma ile inkübe edilememe olasılığı artar. Sonuç itibari ile, az sayıda tekrarlama (replicate) tüplerinde canlı mikroorganizma inkübasyonu gözlemlenebilir.

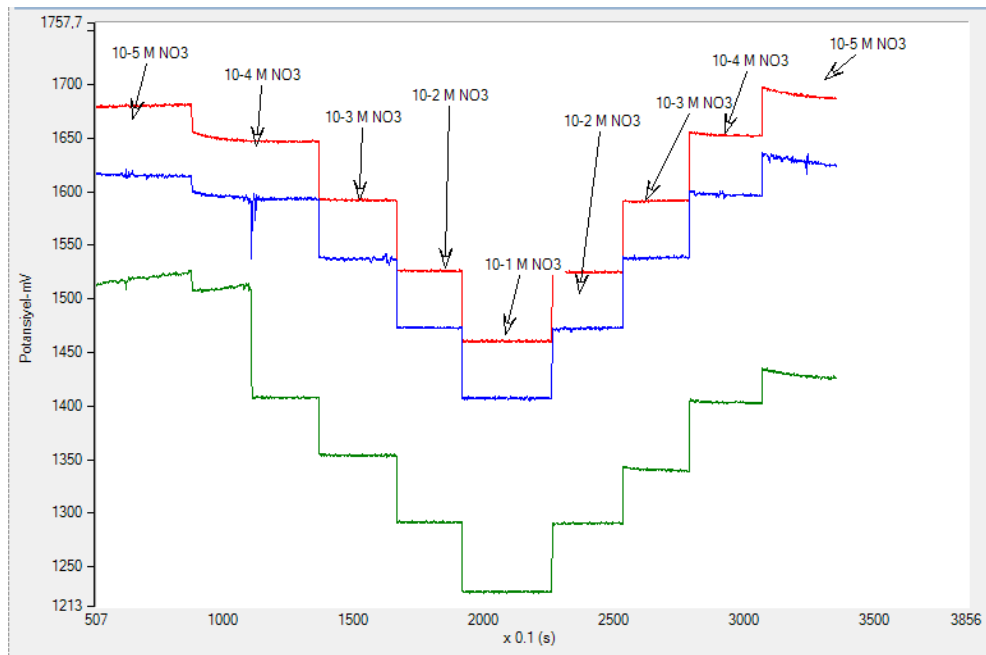
A-2 MPN Çeşitleri

Standart MPN işlemlerinde en az üç dilüsyon, her dilüsyon için de 3, 5 veya 10 tüplü inkübasyonlar gerçekleştirilir. Bakteriyal dağılımın istatistik değişkenliği en iyi şekilde

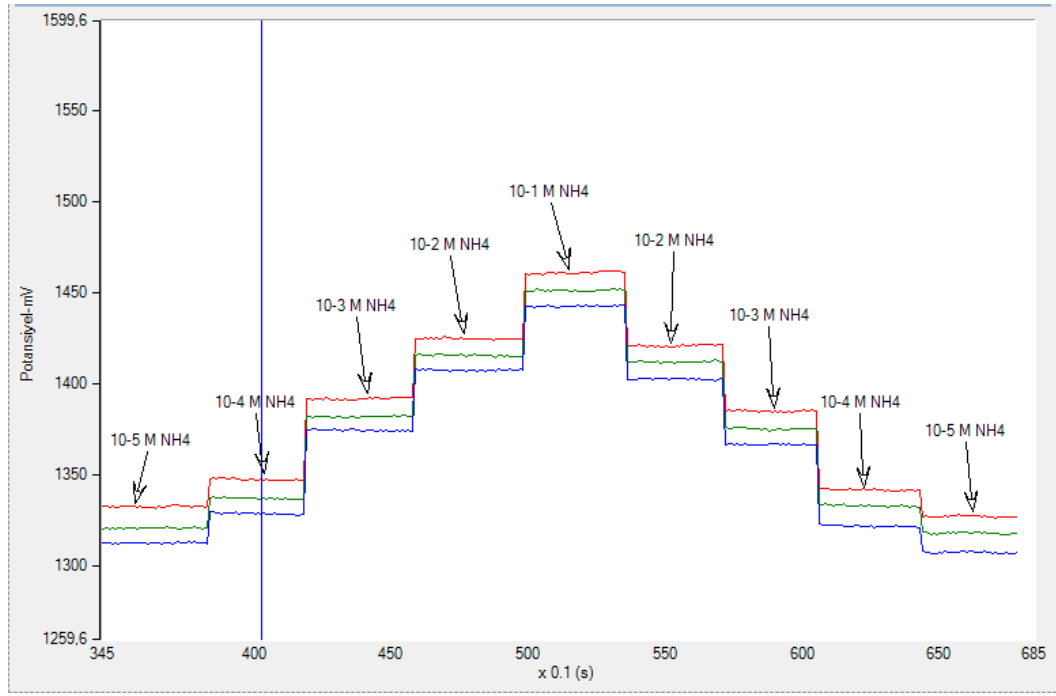
daha fazla sayıda tüple elde edilebilir. İnkübasyondan sonra pozitif veya negatif tüpler kaydedilerek standardize edilen MPN çizelgeleri ile hacim birimindeki mikroorganizmaların en çok olası sayısı tahmin edilir.

SENSÖRLERİN DENENMESİ

Deney sırasında hazırlanan nitrat ve amonyum sensörleri, standart deney çözelti setleri ile denenmiştir (Şekil B.1 ve B.2).



Şekil B.1 Nitrat sensörünün amonyum nitrat çözelti setleri ile kontrolü



Şekil B.2 Amonyum sensörlerinin ölçümlerden önce denenmesi

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fateme FROOTAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 16.09.1982 Paris/Fransa
Yabancı Dili : Farsça, İngilizce, Fransızca, Arapça
E-posta : fatemef@yahoo.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2009
Lisans	Biyoloji-Biyoteknoloji	İstanbul Üniversitesi	2005
Lise	Fen Bilimleri	İran Fajr Lisesi	2000

YAYINLARI

Makale

1. Frootan, F. ve İsilak, I., (2014). "Isolation and characterization of some phosphate solubilizing microorganisms from rhizosphere", International Journal of Biosciences (IJB), 5: 260-265.

2. Tabib, M. Frootan, F. ve Askari Hesni, M., (2014). "Genetic diversity and phylogeography of hawksbill turtle in the Persian Gulf", Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES), 4: 51-57.
3. Frootan, F. Nikbakht, Gh. Ozdemir Ozgenturk, N. ve Un, C., (2011). "Prion protein coding gene (PRNP) variability in sheep from Turkey and Iran", Biochemical Genetics, 50: 277-84.
4. Tabib, M. Zolgharnein, H. Mohammadi, M. Salari-Aliabadi, M. A. Qasemi, A. Roshani, S. Rajabi-Maham, H. ve Frootan, F., (2011). "mtDNA variation of the critically endangered hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) nesting on Iranian islands of the Persian Gulf", Genetics and Molecular Research (GMR), 10: 1499-503.

Bildiri

1. Fateme FROOTAN, İbrahim İŞILDAK, Utilization of Microorganisms as Biofertilizer Source for a Smart Wastles Hydroponic System, XI. IUGEN International Molecular Biology and Genetics Student's Winter School, İstanbul, Türkiye (2014).
2. Fateme FROOTAN, Mehdi TABİB, mtDNA Variation of the Critically Endangered Hawksbill Turtle (*Eretmochelys imbricata*) Nesting on Iranian Islands of the Persian Gulf, The 8th International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics, Ankara, Türkiye (2013).
3. Fateme FROOTAN, Nehir ÖZDEMİR, Cemal ÜN, Gholamreza NIKBAKHT, Comparison of *PRNP* Genotypes in Native Iranian and Turkish Sheep Breeds, HIBIT 2012 The Fifth International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics, Antalya, Türkiye (2010).
4. Fateme FROOTAN, Türkiye ve İran Koyun Irklarında Prion Geni Analizi, International VII IUGEN Molecular Biology and Genetics Student's Winter School, İstanbul, Türkiye (2010).
5. Fateme FROOTAN, Nehir ÖZDEMİR, Cemal ÜN, Gholamreza NIKBAKHT, Prion Gene Analysis in Native Iranian and Turkish Sheep Breeds, 11th Iranian Genetics Congress, Tehran, İran (2010).

ÖDÜLLERİ

1. İkincilik Poster Ödülü, (Türkiye ve İran Koyun Irklarında Prion Geni Analizi), International VII IUGEN Molecular Biology and Genetics Student's Winter School, İstanbul, Türkiye (2010).