

sunmaktadır.

### 5.3.1.2. Nicholas yöntemi

**Yöntemin esası:** Topraklarda alınabilir mikrobesin maddelerin miktarlarının tayini için geliştirilmiş bulunan bu yöntemin ortaya konulmasında etkili olan faktör, yöntemin uygulanmasında biyolojik indikatör olarak ele alınan *A. niger*'in gelişmesi için azot, fosfor vb. makrobesin maddeleri kadar bakır, demir, mangan, molibden ve çinko gibi mikrobesin maddelerine de gereksinim göstermesi ve bunlardan herhangi birisinin noksantılığında gelişmemesidir. Yöntemin esası ise *A. niger*'in belli miktarlardaki toprak ve aranılan mikrobesin maddesi dışında diğer bütün gerekli besin maddelerini içeren besin çözeltisi karışımında yetiştirmesidir. Bu şartlar altında mantarın gelişmesi doğrudan doğruya ilgili mikrobesin maddesinin toprakta bulunan miktarına bağlı

~~sayadığını bunun aynı zamanda hazırlanacak standart yaparak o besin maddesinin topraktaki alınabilen miktarın tayini yapmak~~

**Yöntemin uygulanması:** Mikrobesin içeriği belirlemeyi amaçlayan diğer yöntemlerde olduğu gibi bu uygulanmasında da ilk olarak kullanılan cam malzemelerin özel bir tür sızamine tabii tutulması ayrıca gerekli besin çözeltisinin hazırlamasında kullanılacak su ve tuzlarında, saf olmadıkları takdirde toplayılmış su kullanılır ya 2 mm'lik elekten elenir, bu yöntemin uygulanmasında toprak miktarı bakır, çinko, mangan yeva molibden için 0.45-0.50 gr arasında olmalıdır. 0.5 gr'ın üstünde ise toprak miktarının taysiye edilmektedir. Eğer toprak ömeklerinin 99.99% çinko含量ları yüksek ise bunlar aynı şekilde oldukça fazla miktarla taysiye edilecektir. Bu yöntemde bakımından bu gibi topraktların önceki bazı islemeleri yapılmaları gereklidir. Bunun için 0.5 gr toprak alınarak küçük bir pyrex camına konulur ve üzerine 1 ml % 85'lik yeniden destille edilmiş yeva banyosu üzerine konularak içerisindeki alkol tamamen uyeşastır. Bu işlem anılan topraklarda organik maddededen gelen mikroorganizmaların gelişimini engellemekte fakat bu topraklardaki mantarlarından etkilenmemesi üzerine çok az etkili olmaktadır.

**Besin çözeltisinin hazırlanması:** Bu ilkel bitkinin geliştirileceği ortama ilave edilecek besin çözeltisinin bileşimi Çizelge 5.13'de yer almıştır.

**Çizelge 5.13. Aspergillus niger'in geliştirileceği ortama ilave edilecek besin çözeltisinin bileşimi (Özbek, 1969)**

Makrobesin maddeleri (g/l)	Mikrobesin maddeleri (mg/l)
Dekstroz	50
KNO <sub>3</sub>	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.5
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.0
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.5
FeCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	20
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	20
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	3
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1

~~Bunlar tartıldıktan sonra yeniden destille edilmiş yeva dayonuzde su havesiyle pH'sı 3.8 olan 1 litrelilik çözelti hazırlanır. Her kültür için bu çözeltiden 50 ml alınarak 500 ml'lik erlenmeyere konulur.~~

## 6.3.2. Biyolojik yöntemler

### 6.3.2.1. Neubauer yöntemi

**Yöntemin esası:** Neubauer ve Schneider (1923) tarafından geliştirilmiş olan bu yöntemin esası, topraklardan fazla mikarda potasyum ve fosfor sümürmek gücünde olan genç bitkilerin bu özelliklerinden yararlanarak topraktaki bitki tarafından alınabilir potasyum ve fosfor miktarlarını tayin etmektir. Genç bitkilerin bu özelliklerinden en iyi şekilde yararlanmak için de, bu yöntemle çalışırken, az mikardaki toprak üzerinde fazla suyda bitki yetiştilirmektedir. Yetişirilen fazla sayıdaki bu bitkiler meydana getirdikten çok dallı kök sistemleriyle ortamda az olan toprakla sıkı bir şekilde temas sağlanmakta ve toprakta bulunan potasyum ve fosforu çok kısa denilebilcek bir süre içerisinde sümürmektedirler. Bitkiler tarafından topraktan sümürtlen potasyum ve fosfor miktarları ise sonradan yapılacak kimyasal analizlerde tespit edilmektedir. Bu duruma göre, Neubauer yöntemi niteliği bakımından sadece biyolojik bir yöntem olmayıp biyolojik yöntemle kimyasal yöntemin bir kombinasyonudur. Çünkü bu yöntemle alınabilir potasyum ve fosforun belirlenmelerinde, kimyasal analiz yöntemlerinde olduğu gibi, bitki köklerinin çözme gücüne mümkün olduğu kadar yaklaşan kimyasal çözeltiler dehil doğrudan doğruya bitki kökleri kullanılmaktadır. Bu bakımından Neubauer