



Araştırma Makalesi/Research Article

## ***Rhizobium tropici* Bakterisi ile Enfekte Edilen Fasulye Bitkisinin Azot Kısıtlanan Perlit Kültürü Koşullarındaki Gelişimi**

Onur Sinan Türkmen<sup>1\*</sup> 

Seçkin Kaya<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 17100/Çanakkale.

<sup>2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 17100/Çanakkale.

\* Sorumlu yazar: onurturkmen@comu.edu.tr

Geliş Tarihi: 24.05.2023

Kabul Tarihi: 05.07.2023

### Öz

Çalışma, yapay aydınlatmalı perlit kültürü koşulları altında, *Rhizobium tropici* ile azot fiksasyon durumunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada Hoagland solüsyonu baz alınarak üç azot dozu (%100-50-0) ve *Rhizobium tropici* bakteri suşu, uygulanmıştır. İnorganik azot eklenen ortamdaki *Rhizobium* enfekte edilen bitkilerin bitki boyu gövde yaş ve kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök yaşı ve kuru ağırlığı bakımından daha üstün olduğu belirlenmiştir. Çalışmada *Rhizobium tropici*'nin simbiyotik azot bağlayabilmesi için azotlu gübrenin besleme programına eklenmesinin faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nodülasyon, azot fiksasyonu, hidrofonik, dikey tarım, baklagiller

## **Development of Bean Plant Infected with *Rhizobium tropici* in Nitrogen-Restricted Perlite Culture Conditions**

### Abstract

The study was conducted for nitrogen fixing by *Rhizobium tropici* under controlled perlite culture conditions. The conditions were created to prevent nitrogen leakage with perlite as a substrate, air conditioning unit for climate control and artificial lighting. Three nitrogen doses (100-50-0%) and *Rhizobium tropici* bacteria strain were applied with modified Hoagland solution in perlite substrate. It was determined that *Rhizobium* infected plants in inorganic nitrogen added medium were superior in terms of plant height, stem fresh and dry weight, root length, root fresh and dry weight. In the study, it was concluded that it would be beneficial to add nitrogenous fertilizer to the feeding program in order for symbiotic nitrogen fixation by *Rhizobium tropici*.

**Keywords:** Nodulation, nitrogen fixation, hydroponic, vertical agriculture, beans

### Giriş

Baklagillerin *Rhizobium* bakterisiyle simbiyotik ilişkisi azot döngüsü açısından doğada uyum içindedir. Bakteri inokülasyonu ile havanın serbest azotu bitkiye kazandırılarak azotlu gübreleme maliyeti azaltılabilmektedir. Azotlu gübreler yüksek tarımsal verim için göz ardı edilmeyen girdi maliyetlerinden olup, biyolojik azot fiksasyonu ile tarımsal münavebede (rotasyon) kullanılmaları önemli bir ekonomik avantaj sağlamaktadır. Baklagillerin münavebeye alınması tarımsal maliyet ve toprak yapısının iyileşmesi açısından önemli bir uygulamadır. Diğer yandan baklagillerin yüksek protein içeriğine sahip olması, simbiyotik azot fiksasyonu ve inorganik azot maliyeti hususundaki faydaları nedeniyle, 2016 yılı baklagil yılı olarak ilan edilmiştir. Kuru fasulyenin ülkemizde kişi başı yıllık tüketim miktarı 3.2 kg'dır. Bu oran, 1.35 kg/kişi/yıl olan Avrupa'nın üzerinde, 7.98 kg/kişi/yıl olan G. Amerika'nın altındadır. Dünya fasulye tüketim ortalaması ise 2.33 kg/kişi/yıl'dır (Çiftçi, 2004). Fasulye bitkisi ülkemizde 250,000 ton üretim ile nohut ve mercimekten sonra yemeklik tane baklagil bitkileri üretimi bakımından 3. sırada yer alır. Fasulye bitkisinin etkili bakterisi, *Rhizobium phaseoli* olup ticari açıdan da farklı etkili suşlar geliştirilmiştir (Özdemir, 2002; Çiftçi, 2004). Ticari açıdan farklı koşullar altında üstün özellikli *Rhizobium* türleri geliştirilmiş olup *Rhizobium tropici*

bakterisinin kuraklığa dayanıklı olması yanında fasulye bitkisinde verim artışına katkı sağladığı belirtilmektedir (Dubey ve ark., 2020).

Topraksız tarım 1600'lü yıllarda Belçikalı araştırmacı Helmount tarafından ilk kez ifade edilmiş olup, 1860'lı yıllarda da Knop ve Sachs tarafından uygulandığı bilinmektedir (Hershey, 1994; Sevgican, 2003). En yaygın kullanılan besin ortamı protokolü, geliştiricisinin ismi ile anılan Hoagland'dır (Hoagland ve Armon, 1950). Topraksız kültürler, yüksek ve stabil verim, etkin hastalık ve zararlı mücadelesi açısından avantaj sağladığı gibi ilk yatırım maliyeti açısından dezavantajlıdır. Topraksız kültür (hidroponik) yöntemlerinde kullanılan substratlar açısından katı ve su kültürü olarak gruplandırılır. Katı ortam kültürleri olarak perlit, hindistan cevizi kabuğu, pomza, vermikulit, torf, saman balyaları, zeolit, çakıl, kum, cam yünü, plastik köpük, talaş, kaya yünü, kavuz, bitki artık ve kabukları, organik artık kompostları, substrat ortamı yaygın olarak kullanılmaktadır (Asri, 2010). Perlit kültürünün diğer kültür yöntemlerine göre avantajı; sistem takibi ve kurulumu kolaydır, ortamın tuttuğu besin elementi stabil olduğundan diğer kültür ortamlarına göre beslenme yetersizliği ve havalanmaya bağlı sorunları daha azdır. Perlitin ucuz bir materyal olması nedeniyle ülkemizde perlit kültürü yönteminin kullanımı yaygındır (Varış, 1998).

Topraksız ortamda bakteri inokülasyonunun fosfor dozları (Vadez ve Drevon, 2001) ile etkileşimleri ve farklı besin içerikleri (Öztekin, 2002) üzerinde etkileri üzerine farklı çalışmalar yapılmıştır. Azotsuz su kültürü ortamında *Rhizobium* nodülasyonu ve azot bağlama verimliliği üzerine olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Paradiso ve ark., 2015; Türkmen ve ark., 2016). Bu çalışmada inorganik azotlu gübre kullanılmaksızın *Rhizobium* bakterisi inokülasyonu ile havanın serbest azotundan faydalanılarak katlı tarım perlit kültürü şartlarındaki fasulye kültürü şartlarında gerçekleşmiştir. Bakteri ve bitkinin simbiyotik yaşam ilişkisinin kontrollü topraksız şartlarda bitki gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir.

### Materyal ve Yöntem

Çalışmalar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre iki faktörlü olarak kurulmuştur. Deneme 4 tekerrürlü olarak ve her tekerrürde 8 bitki olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Türkmen ve diğ., 2016). Besi solüsyonu Hoagland protokol içeriğindeki azot; amonyum nitrat şeklinde; potasyum ve kalsiyum elementleri ise potasyum hidroksit ve kalsiyum karbonat formunda protokoldeki molar ağırlığına uygun şekilde modifiye edilerek uygulanmıştır (Hoagland ve Armon, 1950). Deneme azot dozu ve bakteri olarak iki faktörlü olarak gerçekleştirilmiştir. Bu faktörler %100, %50 azot dozu ve azotlu gübrenin bulunmadığı kontrol grupları ve *Rhizobium tropici* bakterisinin ilave edildiği ve edilmediği uygulamalardır. Besin solüsyonu pH'sı sülfürik asit ile 5.7'ye ayarlanmıştır.

Denemelerde kullanılan fasulye tohumluğu Biotek Tohum firmasına ait oturak tipte, Nazende fasulye çeşidi tohum kullanılmıştır. Bakteri suşu olarak *Rhizobacter Argentina SA* firmasına ait liquid inokülant *Rhizobium tropici* ( $1 \times 10^8$  UFC/mL) ve aynı firmaya ait Premax adlı bakteri aktivatörü kullanılmıştır. Bitkilerin yetiştirildiği oda koşulları 24°C'de sabit tutulmuştur. Her bitki 30 000 lüks şiddetinde, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyod olmak üzere beyaz floransans ışığa maruz bırakılmıştır. Dolgu materyali olarak perlit kullanılmış, bitki solüsyon sıvısı her bitkiye lateral boru ile ulaştırılmış, solüsyon sıvı sirkülasyon pompası ile sirküle edilmiştir. Eksilen solüsyon günlük takip edilerek saf su eklenmiştir. Bitkilerin boyları uzadıkça gergi ipiyle yukarıya asılmıştır.

Bitkiler, perlit ortamına aktarılmasını takip eden 40. günde hasat edilmiştir. Elde edilen veriler SAS istatistik paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur.

### Bulgular ve Tartışma

Deneme verileri bitki boyu bakımından incelendiğinde, *Rhizobium* (Rh) içeren grubun bitki boyu ortalamasının *Rhizobium* içermeyen grup ortalamasından daha yüksek olduğu, en yüksek bitki boyunun 28,69 cm ile %50 azot eklenen ve bakteri aşılana olduğu tespit edilmiştir. Azot dozu artışına bağlı gövde ağırlığı ortalamalarında bir artışın gerçekleştiği, bakteri ilave edilen ortamlarda bu artışın daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. En yüksek gövde yaş ağırlığı 26.44 g ortalama ile azot ve bakteri aşılana ortamda tespit edilirken, en düşük gövde yaş ağırlığı ise azot ve Rh içermeyen uygulamada tespit edilmiştir.

Gövde kuru ağırlığına ilişkin bulgularda Rh eklenen ve %50 azot içeren grubun en yüksek kuru ağırlığa sahip olduğu tespit edilmiştir. Azot kullanımına bağlı olarak yaprak sayılarında artışın olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Fasulyede kontrollü azot uygulamasının *Rhizobium* enfeksiyonu ile bitki gelişim parametreleri üzerine etkisi

Figure 1. The effect of controlled nitrogen application on plant growth parameters with *Rhizobium* infection in beans

Kök uzunlukları açısından azot dozu uygulamasına bağlı Rh içermeyen grubun kendi içerisinde istatistiki açıdan bir fark tespit edilmez iken, Rh eklenen ve azot içeren uygulamalarda köklerin daha uzun olduğu tespit edilmiştir.

Kök yaş ağırlıkları bakımından %50 doz azot içeren ve Rh bakterisi aşılama yapılmış ortamdaki bitki köklerinin en yüksek değere sahip olduğu (18.27 g), %100 azot içeren ve Rh bakterisi aşılama yapılmış uygulamanın (13.11 g) onu takip ettiği, diğer tüm uygulamalar arasında ise kendi içerisinde istatistiki açıdan aralarında fark olmadığı belirlenmiştir. Kök kuru ağırlığı bakımından incelendiğinde ise tam doz azot ve Rh içeren ortamdaki bitkilerle (1.63 g), Rh içeren ve yarı doz azotla gübrelenen bitkilerin (1.70 g) kök kuru ağırlıklarının en yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1).

Benton (2005), *Rhizobium* bakterisi inoküle edilmiş baklagil bitkisinin kobalt eksikliğinde nodülün inaktif hale geleceğini ifade etmesine karşın, uyguladığımız solüsyonda kobalt elementi bulunmamaktadır. Ancak kullanılan Premax'ın aynı işlemi göstermesi mümkündür.

Kontopoulou ve ark. (2017), üçte bir inorganik azot ya da azotsuz ortamda biyolojik azot fiksasyonu ile hektara 54.3 ve 49.2 kg azot bağlanabileceği ifade etmişlerdir. Bu düşüş bizim çalışmamızda da aynı seviyede gerçekleşmiştir. Ortama eklenen inorganik azot miktarı %100'den %50 ve 0'a düşürüldüğünde bitki başına düşen sürgün biyokütlesi sırası ile 191.7 g, 107.4 g, 43.2 g'a düşmüştür.

Fasulye ile *Rhizobium* simbiyotik ilişkisinin fosfor elementiyle bağlantılı olabileceği, nodülde bulunan fosfat ve fitaz aktivitesinin nodül nitrojen fiksasyonu üzerine etkide bulunabileceği ifade edilmiştir (Mandri ve ark., 2012). Bu bulgular ışığında ileride yapılarak çalışmalarda nodülde biriken farklı element ve enzimlerin nodülasyon üzerine etkisinin incelenmesi faydalı olacaktır.

İnorganik azot ilave edilmeyen gruptaki bitkilerin gelişim gösterdiği görülmektedir. Bunun nedeni tohum besisi dokusunda ve molibdik asit muhteviyatında yer alan azot ve azotlu bileşenlerden ileri gelmesi mümkündür (Corke ve Atsmon, 1988).

*Rhizobium* ile enfekte edilen bitkilerin; bitki boyu, gövde yaş ve gövde kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlığı bakımından daha üstün olduğu sonucuna varılmıştır. Bitki gelişim başlangıcında ilave edilen besin maddesi stoğu bitkiler tarafından tüketildiğinde, bakteri içeren grupta simbiyotik azot fiksasyonu ile serbest azotun bitkiye aktarılması devam etmektedir. Ancak azot içermeyen deneme gruplarının, *Rhizobium* ile inoküle edilmiş olsa dahi incelenen kök ve gövde uzunluğu dışındaki parametreler bakımından verimlerinin aynı olduğu görülmektedir ( $p>0.05$ ). Bu durum *Rhizobium* bakterisinin azot bağlayabilmesi için başlangıçta azot ihtiyacına gerek duyduğu, azot içermeyen ortamdaki *Rhizobium* bakterilerinin azot bağlamada başarısız kaldığı görülmektedir (Ntambo ve ark., 2017).

### Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada *Rhizobium* bakterisinin fasulye bitkisinin biyokütle verimi üzerine etkisi incelenmiştir. *Rhizobium* bakterisinin ortama sağladığı biyolojik azot dışındaki diğer besin maddelerinin etkisi bu nedenle göz ardı edilmiştir. Eğer deneme sürecinde eksilen ilave besin madde takviye edilseydi *Rhizobium* etkisi ile gerçekleşecek farklılığın belirlenmesi mümkün olmayacaktır. Farklı çalışmalarda bitki besin maddelerin simbiyosis üzerine etkisinin incelenmesi önemli sonuçlar ortaya koyabilecektir.

Çalışmada yapay aydınlatmalı *in vitro* ortam koşullarında bulunan perlit kültüründe yetiştirilen fasulye bitkisine *Rhizobium tropici* aşılamaıyla, havanın serbest azotunun bitkilere fiksasyonu mümkün olmuştur. Fasulye bitkisine *Rhizobium* aşılmasıyla bitki boyu, gövde yaş ve kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlığı bakımından daha üstün duruma ulaştıkları tespit edilmiştir. Azot içermeyen ortamda *Rhizobium tropici* bakterisinin inokülasyonu gerçekleşmiş olsa da bakteri tarafından bitkiye sağlanan azot miktarının yetersiz olduğu görülmektedir. Baklagil ile *Rhizobium*'un simbiyotik ilişkisinden faydalanabilmek ve bakterinin bitkiye etkin azot bağlayabilmesi için azotlu gübrenin besleme programına eklenmesinin faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

### Teşekkür

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: FBA-2017-1094

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### Kaynaklar

- Asri, F.O., 2010. Topraksız tarım. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Çiftçi Eğitim Yayın Dairesi Başkanlığı. Yayın No:59, 36s.
- Benton, J. J., 2005. Hydroponics a practical guide for the soilless grower. Second Edition, CRC Press, 423 p.
- Corke, H., Atsmon, D., 1988. Effect of nitrogen nutrition on endosperm protein synthesis in wild and cultivated barley grown in spike culture. Plant Physiol. 87(2): 523-528.

- Çiftçi, C.Y., 2004. Dünya’da ve Türkiye’de yemeklik tane baklagiller tarımı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Yayınlar Dizisi, No: 5 Kızılay/Ankara, 200 s.
- Dubey P, Kumar V, Ponnusamy K, Sonwani R, Singh AK, Suyal DC, Soni R (2020) Microbe assisted plant stress management. In: De Mandal S, Bhatt P (eds) The recent advancements in microbial diversity, 1st edn. Academic Press, Cambridge, MA, 351–378 p.
- Hershey, D.R., 1994. Solution culture hydroponics: history and inexpensive equipment. The American Biology Teacher. 56(2): 111-118.
- Hoagland, D.R., Arnon D.I., 1950. The Waterculture method for growing plants without soil. California Agriculture Experiment Station Circular, 347 p.
- Kontopoulou, C.K., Liasis, E., Iannetta, P.P.M., Tampakakia, A., Savvas, D., 2017. Impact of rhizobial inoculation and reduced N supply on biomass production and biological N<sub>2</sub> fixation in common bean grown hydroponically. J. Sci. Food Agric. 97: 4353–4361.
- Mandri, B., Drevon, J.J., Bargaz, A., Oufdou, K., Faghire, M., Plassard, C., 2012. Interactions between common bean genotypes and rhizobia strains isolated from Moroccan soils for growth, phosphatase and phytase activities under phosphorus deficiency conditions. Journal of Plant Nutrition. 35(10): 1477-1490.
- Ntambo, M.S., Chilinda, I.S., Taruvinga, A., Hafeez, S., Anwar, T., Sharif, R., Chambi, C., Kies, L., 2017. The effect of *Rhizobium* inoculation with nitrogen fertilizer on growth and yield of soybeans (*Glycine Max* L.). International Journal of Biosciences. 10(3): 163-172.
- Özdemir, S., 2002. Yemeklik baklagiller. Hasad Yayıncılık, Kadıköy-İstanbul. 223 s.
- Öztekin, G.B., 2002. Kapalı sistem topraksız fasulye yetiştiriciliğinde farklı besin eriyiklerinin verim üzerine etkileri. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 112 s.
- Paradiso, R., Buonomo, R., Dixon, M.A., Barbieri, G., De Pascale, S., 2015. Effect of bacterial root symbiosis and urea source of nitrogen on performance of soybean plants grown hydroponically for bioregenerative life support systems (BLSSS). Frontier Science Open Access. 888(6): 1-12.
- Sevgican, A., 2003. Örtüaltı sebzeçiliği (Topraksız Tarım) (2. Baskı). Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No. 526, Ege Üniversitesi Basımevi: Bornova İzmir. 168 s.
- Türkmen O.S. Özçelik F. Nizam Ö., Baytekin H., 2016. Fasulye kültüründe azotun *rhizobium* bakterisi nodülasyonu ve bitki gelişimi üzerine etkisi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 25 (Özel sayı-1): 201-205.
- Vadez, V., Drevon, J.J., 2001. Genotypic variability in phosphorus use efficiency for symbiotic N<sub>2</sub> fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris*). Agronomie. 21: 691–699.
- Varış, S., 1998. Sera sebzelerinin perlit doldurulmuş torbalarda topraksız yetiştirilmesi (3. Baskı). Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları. No:128. 15s.