

Azot Fiksasyonu ve Fosfat Çözücü Bitki Gelişimini Teşvik Edici Bakteri Aşılamalarının Arpa Gelişimine Etkisi

Esin ŞAHİN^{1*} Kenan KARAGÖZ² Ramazan ÇAKMAKCI¹ Metin TOSUN¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum (sorumlu yazar, esinsahin@atauni.edu.tr)

² Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum,

Özet: Organik tarım, ürün artışını sağlamak için kullanılan yoğun sentetik kimyasalların toprak kalitesine olan olumsuz etkisini azaltabilmek ve sürdürülebilirliği sağlamak için önemli bir araçtır. Bu yüzden organik tarımda ve özellikle tahıl yetiştiriciliğinde, biyogübre olarak biyoajanların kullanımı önemli bir konudur. Mikroorganizmalar, bitkilerin besin elementi dönüşümlerini gerçekleştirmede ve ihtiyaçlarını olabildiğince gidermede tarımda önemlidirler. Bu araştırmalarda biyolojik gübre olarak kullanılabilir bitki gelişimini teşvik edici on bir farklı bakteri suşunun arpa gelişimi üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Uygulama olarak (1) kontrol (bakteri ve mineral gübre uygulanmamış), (2) *Bacillus megaterium*, (3) *Paenibacillus polymyxa*, (4) *Bacillus subtilis*, (5) *Bacillus atrophaeus*, (6) *Arthrobacter agilis*, (7) *Brevibacillus choshinensis*, (8), *Arthrobacter viscosus*, (9) *Pantoea agglomerans*, (10) *Bacillus pumilus*, (11) *Arthrobacter aurescens*, (12) *Micrococcus luteus* ve (13) mineral NP (40 mg N ve 30 mg P kg toprak) seçilmiştir. Bakteri aşılama, arpa bitkisinde erken gelişme döneminde gövde ağırlığı, bitki yüksekliği, kök uzunluğu ve toplam kök sayısını etkilemiştir. Bakterilerin bitki gelişimine etkisi aşılama yapılan bakteri ırkı ve değerlendirilen parametrelere bağlı olarak değişmiştir. Araştırma sonuçları *B. megaterium*, *Ar. agilis*, *Ar. viscosus*, *Pb. polymyxa*, *B. pumilus* ve *Ar. aurescens* gibi etkin izolatların organik ve sürdürülebilir tarımda biyolojik gübre olarak kullanılabilirliğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Arpa, bitki gelişimi, bitki gelişimini teşvik edici bakteri

The Influence of N₂-Fixing and Phosphate Solubilizing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Barley Growth

Abstract: Organic farming is becoming a major tool for sustaining the soil quality degraded by intensive use of synthetic chemicals for increasing crop production. Therefore, use of bioagents as biofertilizers is an integral part of organic farming especially in cereal cultivation. Microorganisms are important in agriculture in order to promote the circulation of plant nutrients and reduce the need for chemical fertilizers as much as possible. The objective of this studies were to evaluate the effects of eleven plant growth promoting rhizobacteria strains as biofertilizer on seedling growth of barley (*Hordeum vulgare*). The treatments included: (1) Control (no inoculation and fertilizer), (2) *Bacillus megaterium*, (3) *Paenibacillus polymyxa*, (4) *Bacillus subtilis*, (5) *Bacillus atrophaeus*, (6) *Arthrobacter agilis*, (7) *Brevibacillus choshinensis*, (8), *Arthrobacter viscosus*, (9) *Pantoea agglomerans*, (10) *Bacillus pumilus*, (11) *Arthrobacter aurescens* (12) *Micrococcus luteus* and (13) mineral NP fertilizers (40 mg N ve 30 mg P kg soil). PGPR inoculation influenced the weight of shoots, plant height, root length, and total root number per plant in barley during the early stages of growth. Plant-growth responses were variable and depended on the inoculant strain and growth parameters evaluated. These studies showed that effective PGPR species, like *B. megaterium*, *Ar. agilis*, *Ar. viscosus*, *Pb. polymyxa*, *B. pumilus* and *Ar. aurescens* may be used as biofertilizers in organic and sustainable agriculture.

Keywords: Barley, plant growth, plant growth promoting rhizobacteria

GİRİŞ

*¹(Sorumlu Yazar) Esin ŞAHİN Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum (esinsahin@atauni.edu.tr)

Dünyada başlıca temel ürünlerden birisi olan arpa, (Eshghi and Akhundava, 2010) serin iklim tahılları içerisinde buğday gibi ilk kültüre alınan bitkilerden birisi olup, iklim istekleri bakımından tahıllar içerisinde seçiciliği en fazla olan bitkidir. Dünyada toplam 55,4 milyon ha. ekim alanına sahip olan arpanın Türkiye'deki ekim alanı 3,4 milyon ha. olup dekara verimi 213 kg'dır (Anonim 2007). Çalışmanın yapıldığı Kuzeydoğu Anadolu Bölgesinde yer alan Erzurum ilinde ise dekara verim oldukça düşük olup bu değer 162,2 kg/da'dır (Anonim 2006). Çeşitli kullanım alanlarına sahip olmakla birlikte başlıca kullanım alanı hayvan yemi ve malt sanayidir. Hayvancılığın oldukça önem taşıdığı Erzurum yöresinde kurak geçen yıllarda hayvan yemi açığı önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durum bölge açısından arpanın önemini ortaya çıkarmakta ve bu duruma bir çözüm olarak da doğal yem alanlarının geliştirilmesinin yanı sıra kesif yem kaynağı olarak arpa yetiştiriciliğine önem verilmesi ve üretiminin artırılması gerekmektedir.

Organik tarım, ürün artışı sağlamak için kullanılan yoğun sentetik kimyasalların toprak kalitesine olan olumsuz etkisini azaltabilmek ve sürdürülebilirliği sağlamak için önemli bir araç olarak ortaya çıkmakta ve bu yüzden organik tarımda ve özellikle tahıl yetiştiriciliğinde, biyogübre kullanımı önemli bir konudur. Mikroorganizmalar, bitki beslenmesinde ve besin elementi döngüsünde önemli rol almaktadır. Bu yüzden sürdürülebilir tarımda bu organizmaların biyogübre olarak kullanımları önemlidir. Türkiye'de bakteri izolasyonu, tanı, karakterizasyonu ve kullanımı amacıyla rizosfer çalışmaları yetersiz olmakla birlikte, son yıllarda hızlanmıştır. Türkiye'de yürütülen kapsamlı tarla denemelerinde PGPR inokulasyonu ile baklagil dışı bitkilerde bitkisel verim % 10-25 oranında artırılabilmiştir. Bu artış fosfat çözücü ve uygun azot fikserlerinin seçilmesi durumunda, biyolojik gübreleme ile tahıllarda ve şeker pancarı gibi bitkilerde verim artışı tarla koşullarında %15-18 olmaktadır (Çakmakçı et al., 1999; 2001, 2006; Şahin et al., 2004). Ülkemizde biyolojik gübre geliştirme amacıyla, *Bacillus*, *Paenibacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait türler başta olmak üzere farklı bitki gelişimini teşvik edici bakterilerle yürütülen araştırmalarda, arpa (Çakmakçı et al., 2007; Canbolat et al., 2006, Salantur et al., 2005), mısır (Ataoglu et al., 2004), arpa ve buğday (Ozturk et al., 2003; Çakmakçı vd., 2008), arpa ve şeker pancarının (Çakmakçı et al., 1999, 2001; Şahin et al., 2004) gelişme ve veriminde önemli artışlar belirlenmiştir. Bu çalışmada farklı kaynaklardan izole edilen, azot fikseri ve fosfat çözücü biyolojik gübre olarak kullanılacak bitki gelişimini teşvik edici on bir farklı bakteri suşunun arpa gelişimi üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Materyal

Bu araştırma 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölüm serasında yürütülmüş olup, denemede bitki materyali olarak Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiş olan iki sıralı ve alternatif özellikli Tarm-92 çeşidi kullanılmıştır.

Metot

Uygulama olarak (1) kontrol (bakteri ve mineral gübre uygulanmamış), (2) *Bacillus megaterium*, (3) *Paenibacillus polymyxa*, (4) *Bacillus subtilis*, (5) *Bacillus atrophaeus*, (6) *Arthrobacter agilis*, (7) *Brevibacillus choshinensis*, (8), *Arthrobacter viscosus*, (9) *Pantoea agglomerans*, (10) *Bacillus pumilus*, (11) *Arthrobacter aureescens*, (12) *Micrococcus luteus* ve (13) mineral NP (40 mg N ve 30 mg P kg toprak) seçilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan bakterilerden *B. megaterium*, *Pb. polymyxa*, *B. subtilis*, *Ar. agilis*, *B. atrophaeus*, *Br. choshinensis*, *Ar. viscosus* ve *P. agglomerans* yabancı buğday; *B. pumilus* ve *Ar. aureescens* sedum, *M. luteus* ise yabancı *Allium* kök rizosferinden izole edilmiştir. Bitki rizosferinden alınan toprak (10 g kök-toprak karışımı) laboratuarda steril koşullarda 100 ml su içine erlene alınarak, çalkalanmış (30 da 150 rpm), 1 g örnek 9 ml steril su ile karıştırılmış, 10 kat seri dilisyonlar hazırlanmış, dilüsyondan 0.1 ml (10⁵) besin ortamına alınarak (NA: nutrient agar) 150 µl/petri olarak 3 tekerrürlü yayma ekim yapılmıştır. 24 saatlik gelişimin ardından uygun dilisyonlardan koloni sayımı ve saflaştırma işlemi yapılmış, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Saf kültürler LB broth-gliseroil içeren tüplerde -80 °C'de korunmuştur. Bakteriler yaklaşık 50 mg canlı hücre TSBA ortamında yetiştirilip hasat edilmiş, 1 ml 1.2M NaOH, %50 metanol ilavesiyle 5 tüp 100°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Hızlı soğutmadan sonra 1.25 ml %50 MTBE hekzan ekstraktı alınarak, 3 ml 0.3 M NaOH ile yıkanmış, FAMEs ekstraktı gaz kromatografisinde (HP6890) silika kapillar kolon ile %5 phenylmethyl silikon kullanılarak ayrılmış, parametreler bilgisayar programı ile otomatik olarak

belirlenmiştir. Peak tanısı kalibrasyon standartlarına göre yapılmış, bakterilere ait FAME profil TSBA 40 ve MIS datalarına göre belirlenmiştir. Bakterilerin fosfat çözücülük aktivitesinin belirlenmesinde NBIRP-BPB sıvı besiyeri kullanılmıştır. Bakterilerin azot fiksasyon yeteneklerinin belirlenmesinde saflaştırılan ve saf kültürde geliştirilen bakteriler azotsuz sukroz besi yerine ekilerek bir hafta boyunca gelişimleri gözlemlenmiş, gelişim gücüne göre pozitif, negatif, kuvvetli pozitif ve zayıf pozitif olarak bakterilerin azot fiksasyon özellikleri değerlendirilmiştir.

Tohumlar %70'lik etanolde 2 dakika ve %1.2'lik sodyum hipokloritte 10 dakika süre ile sterilize edilmiş ve bakteriyel süspansiyon 10^8 cfu/tohum⁻¹ olacak şekilde tohumlara aşılanmıştır. Bu araştırma mineral gübre ve kontrole kıyaslamalı olarak 11 bakteri izolatu aşılmasının arpa gelişmesi üzerine etkisini test etmek amacıyla yürütülmüştür (Çizelge 1). Araştırma tesadüf blokları deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve uygulamalar saksılara tesadüfi olarak dağıtılmıştır. Saksılar çıkıştan itibaren 5 hafta sonra hasat edilmiş, her bir bitkiye ait bitki yüksekliği, kök uzunluğu, sekonder kök sayısı, yaş ve kuru gövde ağırlığı ve kardeş sayısı gibi gelişme parametreleri değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Gübre ve bakteri uygulanmamış kontrole kıyasla, arpa bitki yüksekliği *Arthrobacter viscosus* ve *Arthrobacter agilis*, gövde yaş ağırlığı ise *Bacillus megaterium*, *Arthrobacter agilis*, *Arthrobacter viscosus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus pumilus* aşılmaları ve mineral gübre uygulamalarıyla önemli miktarda artmıştır. Mineral gübre uygulamasına kıyasla bitki yüksekliği *Ar. viscosus*, *Ar. agilis* ve *B. megaterium*, gövde ağırlığı ise *B. megaterium*, *Ar. agilis* ve *Ar. viscosus* aşılalarında yüksek olmakla birlikte ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistikî bakımdan önemli bulunmamıştır (Çizelge 1). Ele alınan her iki parametre açısından da en iyi sonuçları veren bu bakteri ırklarının hem kontrol gruba hem de gübre uygulamasına üstünlük sağladığı görülmüştür. Gövde kuru ağırlığı bakımından ise yine en iyi sonuçlar *B. megaterium* (0,62 g/bitki) ve *Ar. agilis* (0,61 g/bitki) bakterilerinden elde edilmiştir. Bu özellik bakımından çalışmada kullanılan kontrol grup, gübre uygulaması ve bakteri ırkları arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($p < 0.05$).

Çizelge 1. Mineral gübre ve bitki gelişimini teşvik edici bakteri aşılalarının arpa gelişimi üzerine etkisi.

Uygulama	Bitki yüksekliği (cm) *	Gövde yaş ağırlığı (g/bitki)	Gövde kuru ağırlığı (g/bitki)	Kök uzunluğu (cm)	Sekonder kök sayısı (adet/bitki)	Kardeş sayısı (adet/bitki)
Kontrol**	37,86 b-d	1,96 d-e	0,56±0,06 a	36,33±3,2 a-d	4,78±0,35 c	2,44±0,10
NP	41,20 a-c	2,62 a-c	0,59±0,10 a	31,33±3,8 cd	5,78±0,54 a-c	2,45±0,25
<i>B. megaterium</i>	41,41 ab	2,83 a	0,62±0,07 a	31,33±3,5cd	6,61±0,42 ab	2,67±0,44
<i>Pb. polymyxa</i>	40,86 a-d	2,58 a-c	0,55±0,05 a	41,33±4,6ab	6,06±0,54 ab	2,78±0,19
<i>B. subtilis</i>	38,39 b-d	2,42 a-d	0,53±0,11 a	34,67±6,1a-d	6,11±0,26 ab	2,72±0,48
<i>Ar. agilis</i>	42,97 a	2,79 ab	0,61±0,08 a	32,00±4,0 b-d	6,89±0,19 a	2,61±0,35
<i>B. atrophaeus</i>	39,38 a-d	2,23 b-e	0,47±0,05 ab	32,67±5,0 a-d	5,50±0,60 bc	2,56±0,42
<i>Br. choshinensis</i>	39,61 a-d	2,52 a-d	0,55±0,12 a	31,00±2,6 cd	6,06±0,54 ab	2,50±0,29
<i>Ar. viscosus</i>	43,08 a	2,69 ab	0,53±0,06 ab	27,33±6,7 d	5,78±0,42 a-c	2,33±0,17
<i>B. pumilus</i>	39,14 b-d	2,57 a-c	0,54±0,12 a	33,67±2,3 a-d	5,55±0,95 bc	2,67±0,17
<i>Ar. aurescens</i>	37,53 cd	2,35 a-e	0,52±0,11 ab	42,33±5,1 a	6,61±0,96 ab	2,78±0,25
<i>P. agglomerans</i>	37,68 b-d	1,84 e	0,37±0,01 b	31,00±7,2cd	6,50±0,72 ab	2,39±0,38
<i>M. luteus</i>	37,21 d	2,09 c-e	0,46±0,09 ab	38,33±8,5 a-c	5,72±0,75 a-c	2,22±0,69

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ($p < 0.05$) değildir, ± standart hata

** Kontrol (bakteri ve mineral gübre uygulanmamış), NP (40 mg N ve 30 mg P kg toprak); *Bacillus megaterium*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis*, *Arthrobacter agilis*, *Bacillus atrophaeus*, *Brevibacillus choshinensis*, *Arthrobacter viscosus*, *Bacillus pumilus*, *Arthrobacter aurescens*, *Pantoea agglomerans*, *Micrococcus luteus*.

Bitki kök uzunluğu, *Ar. aurescens*, *Pb. polymyxa*, *M. luteus* aşılalarıyla istatistikî bakımdan önemsiz olmakla birlikte artmış, diğer bakteri aşılaları ve mineral gübreleme ile azalmıştır.

Sekonder kök sayısı bakımından ise ilk sırada 6,89 adet/bitki ile *Ar. agilis* yer alırken, bunu 6,61 adet/bitki ile *B. megaterium* ve *Ar. aureescens* bakterileri izlemiştir. Bu bakterilere benzer olarak *P. agglomerans*, *B. subtilis*, *Pb. polymyxa* ve *Br. choshinensis* aşılamalarıyla da arpa sekonder kök sayısı artmış ve artış oranları istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. Buradan da çalışmada kullanılan tüm bakteri gruplarının sekonder kök oluşumunu teşvik ettiği sonucuna varılmıştır (Çizelge 1).

Köklerin hızlı tesisi, primer köklerin uzaması veya lateral ve kılcak köklerin hızla çoğalması genç bitkiler için önemli bir avantaj olarak ortaya çıkmaktadır. Bitki besin elementlerinin alınımın, bitki isteği, kök sisteminin strüktürü ve dağılımına bağlı olduğu dikkate alınınca, test edilen bakterilerin kök sistemine etkileri dolayısıyla besin alım etkinliğini artırdığı söylenebilir. Bakteri aşılama çalışmalarının lateral ve adventif kök formasyonunu teşvik etmesi, tarımsal üretim için önemli bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır. Kardeş sayısı bakımından ise en iyi sonuçlar *Pb. polymyxa* (2,78 adet/bitki), *Ar. aureescens* (2,78 adet/bitki) ve *B. subtilis* (2,72 adet/bitki)'den elde edilmiştir. Ancak kardeş sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Çizelge 1).

Bitki gelişimini teşvik edici bakteri etkileri kompleks bir süreç olup, bakteri tür ve sayısı, bitki-bakteri kombinasyonu, bitki genotipi, gelişme dönemi, hasat tarihi, bitkisel parametreler, toprak tipi, toprak organik madde miktarı ve çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir (Şahin et al. 2004, Çakmakçı et al. 2006). Bakteri izolatlarının belli bitki türlerinde etkin olduğu (Lucy et al. 2004), etkinliğin bitki türlerine bağlı olduğu (Khalid et al. 2004) vurgulanmıştır. Bitki gelişimini teşvik edici bakteri uygulamaları laboratuvar, sera ve tarla koşullarında yürütülmekte, ancak tarla denemelerinde önceden tahmin edilemeyen bazı koşullar bazen uygun sonuçların alınmasını zorlaştırmaktadır. Diğer taraftan kontrollü koşullarda etkin olabilen bazı bakteri türlerinin tarla koşullarında yetersiz olduğu da bilinen bir gerçektir. Tarım alanlarında uygun olmayan koşullar meydana gelebilmekte ve iklim değişimleri PGPR etkinliğini değiştirebilmektedir. Tarla koşullarında büyük varyasyonlar olsa bile, bu çalışmada olduğu gibi, kontrollü ortamlarda etkin bulunan mikroorganizmaların, farklı bitkilerle test edilmesi, tarla koşullarına taşınması ve adapte edilebilmesi çalışmalarına devam edilmelidir.

KAYNAKLAR

- Anonim. 2006. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Tarım İl Müdürlükleri İstatistikleri. Ağrı, Ardahan, Artvin, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars.
- Anonim. 2007. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>
- Ataoglu, N., Turan, M. and Sezen, Y., 2004. Effects of phosphorus solubilizing bacteria (*Bacillus megatherium*) and growing media on growing performance and mineral contents of corn plant (*Zea mays* L.), Proceedings of the International Soil Congress on Natural Resource Management for Sustainable Development Erzurum, Turkey, 7–10 June (2004), pp. 10–18.
- Canbolat, M., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F. and Aydın, A., 2006. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils*, 42, 350-357.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Algur, O.F., 1999. Sugar beet and barley yields in relation to *Bacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* inoculation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 162(4): 437-442.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Şahin, F., 2001. Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(5): 527-531.
- Çakmakçı, R., Dönmez, F., Aydın, A. and Şahin, F., 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 38 (6): 1482-1487.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F. and Erdoğan, Ü., 2007. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. [Turkish Journal of Agriculture and Forestry](#), 31(3): 189-199.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Turan, M., Öztaş, T., Güllüce, M. ve Şahin, F., 2008. Bitki gelişimini teşvik edici bakteri ve gübre uygulamalarının buğday ve arpa gelişme ve verimi üzerine etkisi. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kong., 8-10 Ekim 2008 Konya, 379-388.
- Eshghi, R. and Akhundova E. 2010. Inheritance of some important agronomic traits in hullless barley. *International Journal of Agriculture & Biology*. 12:73-76.
- Khalid, A., Arshad, M. and Zahir. Z.A., 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96 (3):473–480.

- Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R., 2004. Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86 (1): 1-25.
- Ozturk, A., Caglar, O. and Sahin, F., 2003. Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of nitrogen fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*,166(2):262-266.
- Salantur, A., Ozturk, A., Atken, S., Sahin, F. and Donmez, F., 2005. Effect of inoculation with non-indigenous and indigenous rhizobacteria of Erzurum (Turkey) origin on growth and yield of spring barley. *Plant and Soil*, 275 (1-2):147-156.
- Şahin, F., Çakmakçı, R. and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 265 (1-2): 123-129.

Archived at <http://orgprints.org/27655>