

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
BİRDENLİK MERKEZİ

*Azospirillum brasilense* ve BAZI *Rhizobium* SUŞLARININ TÜRKİYE'DE  
YETİŞTİRİLEN YAYGIN FASULYE (*Phaseolus vulgaris*) ÇEŞİTLERİNDE  
NODULASYONA VE BİTKİ BÜYÜMESİNE ETKİSİ

Mehmet ÖĞÜT

DOKTORA TEZİ  
TOPRAK ANABİLİM DALI

109477

2001 - TOKAT

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ





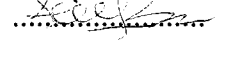
**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

***Azospirillum brasilense* ve BAZI *Rhizobium* SUŞLARININ TÜRKİYE'DE  
YETİŞTİRİLEN YAYGIN FASULYE (*Phaseolus vulgaris*) ÇEŞİTLERİNDE  
NODULASYONA VE BİTKİ BÜYÜMESİNE ETKİSİ**

**709477**

**Mehmet ÖĞÜT  
DOKTORA TEZİ**

Bu tez, 06/07/2001 tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından  
oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı-Soyadı	İmza
Başkan : Prof. Dr. Mustafa Kılıç	
Üye : Prof. Dr. Abdulreşit Brohi	
Üye : Doç. Dr. İzzet Kadioğlu	
Üye : Yard. Doç. Dr. Fatih Er	
Üye : Yard. Doç. Dr. Sabit Erşahin	

**ONAY:**

Bu tez, 14/3/2001 tarih ve 08.. sayılı Enstitü Yönetim Kurulu tarafından  
belirlenen jüri üyelerince kabul edilmiştir.



T-109477

## ÖZET

***Azospirillum brasilense* ve BAZI *Rhizobium* SUŞLARININ TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN YAYGIN FASULYE (*Phaseolus vulgaris*) ÇEŞİTLERİNDE NODULASYONA VE BİTKİ BÜYÜMESİNE ETKİSİ**

**Mehmet ÖĞÜT**

**Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Toprak Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi  
2001, 112 sayfa**

**Danışman: Prof. Dr. Mustafa Kılıç**

**Jüri : Prof. Dr. Abdulreşit Brohi      Jüri : Yard. Doç. Dr. Fatih Er  
Jüri : Doç. Dr. İzzet Kadioğlu      Jüri : Yard. Doç. Dr. Sabit Erşahin**

*Azospirillum*, mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, aşındaki *Azospirillum:Rhizobium* oranına bağlı olarak fasulyede nodülasyonu ve bitki büyümesini etkilemektedir. *Azospirillum*'un sinerjistik etkisinin fasulye çeşitlerinden bağımsız olup olmadığı belirlenmemiştir. İki faktör (*Azospirillum* ve *Rhizobium* yoğunlukları) içeren, genelleştirilmiş tesadüf blokları (fasulye çeşitleri) deneme desenine göre düzenlenmiş 3 tekrarlı bir saksı denemesi kurulmuştur. Bitkiler, kum+perlit karışımında, gerektiğince azot içermeyen mineral besin ve saf su ilavesi yapılarak 7 hafta boyunca beslenmiştir. *Rhizobium* (*Rhizobium etli* ve *Rhizobium tropici* karışımı) aşılması,  $10^6$  kob ml<sup>-1</sup> seviyesinde, tüm nodülasyon verilerini (kök sisteminin ilk 5 cm'lik kısmında, ilk 5 cm'lik kısmın dışında kalan bölgedeki ve toplam nodül sayısı ve ağırlığı) artırmıştır (p< 0.05). Ancak, *Rhizobium* seviyesinin daha fazla artırılması, kökün ilk 5 cm'lik kısmındaki nodül sayısı hariç nodülasyon verilerinde LSD testine göre fark yaratmamıştır (p<0.05). *Rhizobium*, sap ve kök ağırlığı, % kök azotu ve bitki boyunu artırmıştır (p<0.05). *Azospirillum brasilense* Sp7, nodül ve sap ağırlıklarını artırmıştır (p<0.05). LSD testlerine göre, gerek nodülasyon ve gerekse bitki büyümesi açısından en iyi çeşit şekerdir (p<0.05). Bitki destekleyebileceği kadar nodül oluşumuna izin vermektedir ya da rizosferdeki aşılınmış bakteri yoğunluğu başlangıç aşısı yoğunluğu ne olursa olsun zamanla belirli bir dengeye ulaşmaktadır. Dolayısıyla, aşındaki *Rhizobium* seviyesinin belirli bir noktanın üzerine çıkarılmasının nodülasyon açısından bir anlamı yoktur. Bu çalışmanın sonuçları, *Azospirillum*'un bitki büyümesini artırarak daha fazla karbonun nodül işleyişine ayrılmasını sağladığını göstermiştir. Bu çalışma, daha önceki tezlere ilave olarak, *Azospirillum*'un fasulyede bitki büyümesine direk etkisi olduğunu öne sürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium tropici*, fasulye, nodülasyon, bitki büyümesi.

## ABSTRACT

**THE EFFECTS of *Azospirillum brasilense* and SOME *Rhizobium* STRAINS  
ON NODULATION AND PLANT GROWTH OF DRY BEAN  
(*Phaseolus vulgaris*) CULTIVARS GROWN IN TURKEY**

**Mehmet ÖĞÜT**

**Gaziosmanpaşa University  
Graduate School of Natural and Applied Science  
Department of Soil Science**

**Ph.D. Thesis  
2001, 112 pages**

**Advisor : Prof. Dr. Mustafa Kılıç**

**Member : Prof. Dr. Abdulreşit Brohi    Member : Assis. Prof. Fatih Er  
Member : Assoc. Prof. İzzet Kadioğlu    Member : Assis. Prof. Sabit Erşahin**

*Azospirillum*, although the exact mechanism(s) has not been identified, affects nodulation and plant growth in dry bean depending on *Azospirillum*:*Rhizobium* cell ratio in inoculant. Whether *Azospirillum*'s synergistic effect is additive with respect to bean cultivar is not known. A pot experiment, designed as a generalized randomized blocks (bean cultivars) with 2 factors (*Azospirillum* density and *Rhizobium* density) and 3 replications, was conducted. Plants were grown in a sand+perlite mixture for 7 weeks, adding solution of nitrogen free dilute mineral salts and water as needed. *Rhizobium* inoculation at  $10^6$  cfu ml<sup>-1</sup> increased all nodulation values (nodule number and dry weight in the first 5 cm of root system, the root system excluding the first 5 cm and total root) at 5 % significance level. However, increasing the *Rhizobium* density further did not change the nodulation parameters except for the nodule number in the top 5 cm of root system at the 5 % significance level as per the LSD test. *Rhizobium* increased the shoot and root dry weights, root nitrogen content and plant height ( $p<0.05$ ). *Azospirillum* increased nodule and shoot weights ( $p<0.05$ ). Based on the LSD tests, the best cultivar in terms of both nodulation and plant growth was şeker ( $p<0.05$ ). Either the plant supported only a limited number of nodules or the population of inoculated microbes reached an equilibrium level by time regardless of the initial cell density in inoculants. Therefore, increasing the *Rhizobium* cell density in inoculant above certain levels is not suggested in terms of nodulation. The results of this study indicated that *Azospirillum* could provide the nodules with more carbon to function by affecting the plant growth. The results also proved that *Azospirillum* had a direct effect on plant growth in bean.

**KEY-WORDS:** *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium tropici*, bean, nodulation, plant growth.

**TEŞEKKÜR**

Bu tezin tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen değerli tez izleme komitesi üyeleri, başta danışmanım Prof. Dr. Mustafa Kılıç olmak üzere Prof. Dr. Abdulreşit Brohi ve Doç. Dr. İzzet Kadioğlu'na teşekkür ederim. Tezimin sınav jürisinde yer alarak değerli katkılarda bulunan Yrd. Doç. Dr. Fatih Er ve Yrd. Doç. Dr. Sabit Erşahin'e teşekkür ederim. Toprak bölümünün değerli akademik ve idari personeli rahat bir çalışma ortamı sağlayarak bu teze katkıda bulunmuştur. Tezimin belirli bölümlerinde bana yardımcı olan arkadaşlarım Ziraat Yüksek Mühendisi Arif Aktaş ve Erdiñ Savaşlı'ya; 1998-1999 döneminin değerli staj öğrencilerine teşekkür ederim. Bu çalışma değerli eşim Fatma'nın gönül desteği olmaksızın herhalde bitirilemezdi.



## İÇİNDEKİLER

Özet .....	I
Abstract .....	II
Teşekkür .....	III
İçindekiler .....	IV
Şekiller listesi .....	VII
Çizelgeler listesi .....	IX
1. Giriş .....	1
2. Literatür özetleri .....	5
2.1. Fasulye ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )- <i>Rhizobium</i> ortak yaşamı .....	5
2.1.1. Fasulyenin insan beslenmesindeki önemi .....	5
2.1.2. Baklagil- <i>Rhizobium</i> ortak yaşamının ana hatları ve fasulyede durum .....	5
2.1.3. Simbiyotik azot fiksasyonu sistemlerinin temel sorunları .....	9
2.1.4. Fasulyede <i>Rhizobium</i> aşılması ve ilişkili sorunlar .....	10
2.1.5. Fasulyede azot fikse eden mikroorganizmalar .....	11
2.1.6. Fasulye bitkisi ve bazı baklagillerdeki konuk×suş etkileşimleri .....	12
2.2. <i>Azospirillum</i> -Bitki ilişkileri .....	13
2.2.1. <i>Azospirillum</i> -Bitki ilişkisinin doğası .....	13
2.2.2. <i>Azospirillum</i> bakterilerinin tanımı .....	15
2.2.3. <i>Azospirillum</i> aşılması ve ilişkili problemler .....	16
2.2.4. <i>Azospirillum</i> bakterisinin de yer aldığı çoklu aşılama .....	17
2.2.5. Baklagillerde “ <i>Rhizobium</i> yardımcısı” olarak <i>Azospirillum</i> ve fasulyede durum .....	18
3. Materyal ve metot .....	20
3.1. Materyal .....	20
3.1.1. Bakteri kültürleri .....	20
3.1.2. Fasulye çeşitleri .....	20
3.1.3. Bitki besiyeri malzemeleri .....	20
3.2. Mikrobiyal kültürlerin hazırlanması .....	21

3.3.	Tohumların çimlendirilmesi ve aşılama .....	22
3.4.	Bitki besiyerinin hazırlanması ve bitki gelişimi .....	23
3.5.	Hasat .....	24
3.6.	Bitki analizleri .....	25
3.6.1.	Nodül sayımı ve tartımı .....	25
3.6.2.	Kök ve sap tartımı .....	25
3.6.3.	Kök ve sap azot içeriklerinin belirlenmesi .....	26
3.7.	İstatistiksel analizler .....	26
4.	Araştırma sonuçları .....	28
4.1.	Üst nodül sayısı .....	28
4.2.	Alt nodül sayısı .....	32
4.3.	Toplam nodül sayısı .....	37
4.4.	Üst nodül ağırlığı .....	41
4.5.	Alt nodül ağırlığı .....	45
4.6.	Toplam nodül ağırlığı .....	49
4.7.	Sap ağırlığı .....	54
4.8.	Kök ağırlığı .....	58
4.9.	Sap N-kapsamı .....	62
4.10.	Kök N-kapsamı .....	65
4.11.	Bitki boyu .....	69
5.	Tartışma .....	74
5.1.	Nodülasyon .....	74
5.2.	Bitki Büyümesi .....	80
5.3.	Sonuç ve Öneriler .....	86
	Kaynaklar .....	87
	Ekler .....	103
	Ek 1. Bakteriler için Besiyerleri ve Bitki Besin Solüsyonu Hazırlanması.	103
	Ek 1. a. Yeast mannitol agar .....	103
	Ek 1. b. Sıvı malat minimal besiyeri .....	103
	Ek 1. c. Bitki besin solüsyonu .....	104
	Ek 2. Fotoğraflar .....	105

Ek 2. a. Şeker çeşidinde R6, R7 ve R8 seviyelerindeki bitkiler .....	105
Ek 2. b. Şeker çeşidinde A6, A7 ve A8 seviyelerindeki bitkiler .....	106
Ek 2. c. Tüm çeşitlerde R0 seviyesindeki bitkiler .....	107
Ek 2. d. Tüm çeşitlerde A0 seviyesindeki bitkiler .....	109
Ek 3. Her Çeşide Özel LSD Testi Sonuçları .....	111
Özgeçmiş	





## ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında üst nodül sayısı .....	28
4.1.2. Üst nodül sayısında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi .....	30
4.1.3. Üst nodül sayısında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	30
4.1.4. Üst nodül sayısında <i>Rhizobium-Çeşit</i> ilişkisi .....	32
4.2.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında alt nodül sayısı .....	33
4.2.2. Alt nodül sayısında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi .....	34
4.2.3. Alt nodül sayısında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	35
4.2.4. Alt nodül sayısında <i>Rhizobium-Çeşit</i> ilişkisi .....	36
4.3.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında toplam nodül sayısı.....	37
4.3.2. Toplam nodül sayısında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi .....	39
4.3.3. Toplam nodül sayısında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	39
4.3.4. Toplam nodül sayısında <i>Rhizobium-Çeşit</i> ilişkisi .....	40
4.4.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında üst nodül ağırlığı.....	41
4.4.2. Üst nodül ağırlığında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi .....	43
4.4.3. Üst nodül ağırlığında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	43
4.4.4. Üst nodül ağırlığında <i>Rhizobium-Çeşit</i> ilişkisi .....	45
4.5.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında alt nodül ağırlığı .....	46
4.5.2. Alt nodül ağırlığında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi .....	47
4.5.3. Alt nodül ağırlığında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	48
4.5.4. Alt nodül ağırlığında <i>Rhizobium-Çeşit</i> ilişkisi .....	49
4.6.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında toplam nodül ağırlığı .....	50
4.6.2. Toplam nodül ağırlığında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi.....	51
4.6.3. Toplam nodül ağırlığında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	52
4.6.4. Toplam nodül ağırlığında <i>Rhizobium-Çeşit</i> ilişkisi .....	53
4.7.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında sap ağırlığı .....	54
4.7.2. Sap ağırlığında <i>Azospirillum-Rhizobium</i> etkileşimi .....	56
4.7.3. Sap ağırlığında <i>Azospirillum-Çeşit</i> ilişkisi .....	56

4.7.4. Sap ağırlığında <i>Rhizobium</i> -Çeşit ilişkisi.....	57
4.8.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında kök ağırlığı .....	58
4.8.2. Kök ağırlığında <i>Azospirillum</i> - <i>Rhizobium</i> etkileşimi .....	59
4.8.3. Kök ağırlığında <i>Azospirillum</i> -Çeşit ilişkisi .....	60
4.8.4. Kök ağırlığında <i>Rhizobium</i> -Çeşit ilişkisi .....	61
4.9.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında sap N-kapsamı .....	62
4.9.2. Sap N-kapsamında <i>Azospirillum</i> - <i>Rhizobium</i> etkileşimi .....	63
4.9.3. Sap N-kapsamında <i>Azospirillum</i> -Çeşit ilişkisi .....	64
4.9.4. Sap N-kapsamında <i>Rhizobium</i> -Çeşit ilişkisi.....	65
4.10.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında kök N-kapsamı .....	66
4.10.2. Kök N-kapsamında <i>Azospirillum</i> - <i>Rhizobium</i> etkileşimi .....	67
4.10.3. Kök N-kapsamında <i>Azospirillum</i> -Çeşit ilişkisi .....	68
4.10.4. Kök N-kapsamında <i>Rhizobium</i> -Çeşit ilişkisi .....	69
4.11.1. <i>Azospirillum</i> ve <i>Rhizobium</i> uygulamalarında bitki boyu .....	70
4.11.2. Bitki boyunda <i>Azospirillum</i> - <i>Rhizobium</i> etkileşimi .....	71
4.11.3. Bitki boyunda <i>Azospirillum</i> -Çeşit ilişkisi .....	72
4.11.4. Bitki boyunda <i>Rhizobium</i> -Çeşit ilişkisi .....	73

## TABLOLAR LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.1.1. Üst nodül sayısına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	29
4.1.2. Üst nodül sayısına ait LSD test sonuçları .....	29
4.1.3. Üst nodül sayısına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları.....	31
4.2.1. Alt nodül sayısına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	33
4.2.2. Alt nodül sayısına ait LSD test sonuçları .....	33
4.2.3. Alt nodül sayısına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	35
4.3.1. Toplam nodül sayısına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	38
4.3.2. Toplam nodül sayısına ait LSD test sonuçları .....	38
4.3.3. Toplam nodül sayısına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	40
4.4.1. Üst nodül ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	42
4.4.2. Üst nodül ağırlığına ait LSD test sonuçları .....	42
4.4.3. Üst nodül ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	44
4.5.1. Alt nodül ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	47
4.5.2. Alt nodül ağırlığına ait LSD test sonuçları .....	47
4.5.3. Alt nodül ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları.....	49
4.6.1. Toplam nodül ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	50
4.6.2. Toplam nodül ağırlığına ait LSD test sonuçları .....	51
4.6.3. Toplam nodül ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	53
4.7.1. Sap ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	55
4.7.2. Sap ağırlığına ait LSD test sonuçları .....	55
4.7.3. Sap ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	57
4.8.1. Kök ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	59
4.8.2. Kök ağırlığına ait LSD test sonuçları .....	59
4.8.3. Kök ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	61
4.9.1. Sap N-kapsamına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	63
4.9.2. Sap N-kapsamına ait LSD test sonuçları .....	63
4.9.3. Sap N-kapsamına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	64

4.10.1. Kök N-kapsamına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu .....	66
4.10.2. Kök N-kapsamına ait LSD test sonuçları .....	67
4.10.3. Kök N-kapsamına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	68
4.11.1. Bitki boyuna ait ANOVA,(varyans analizi) tablosu .....	70
4.11.2. Bitki boyuna ait LSD test sonuçları.....	71
4.11.3. Bitki boyuna ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları .....	72



## 1. GİRİŞ

Günümüzde 6 milyar olan dünya nüfusunun % 1.4'lük ortalama artış hızıyla 2025 yılında 8.3 milyara ulaşması beklenmektedir (Mannion, 1998). Dünya'da ortalama günlük kişi başına düşen azot tüketimi 11 g'dır, yani insanlar yılda 24 milyon ton azot tüketmektedir (Fink et al., 1999). İnsanlar, beslenme gereksiniminin yaklaşık % 80'ini bitkilerden karşılar ve bu yolla fotosentezle fikse edilen karbonun yaklaşık % 40'ı harcanmış olur. Bitkiler, insan beslenmesinde çok önemli bir yer tutar ve bitkilerin sürdürülebilir tarımının yapılabilmesi, önümüzdeki yüzyılın en ciddi hedeflerinden birisi olacaktır. Tarım uygulamalarının, doğal kaynakların etkinliğinin ve korunmasının sağlanması, bu arada çevrenin canlılar için yaşanabilir hale getirilmesi, hedefleriyle uyumlu olması gerekmektedir.

Yemelik dane baklagiller arasında değerlendirilen fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) protein içeriği yönünden oldukça zengindir (Şehirli, 1988) ve dünyada yaygın olarak yetiştirilmektedir. Türkiye'de yıllık üretim, 1997 rakamlarına göre, 235 bin ton ve kişi başına tüketim  $2.5 \text{ kg}^{-1}$  'dir (FAO, 1999). Fasulye daha çok gelişmekte olan ülkelerde yetiştirilip büyük oranda iç tüketimi sunulmaktadır. Toplam fasulye üretimi gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık 15 milyon ton  $\text{y}^{-1}$  iken, bu değer gelişmiş ülkelerde yaklaşık 2.5 milyon ton  $\text{y}^{-1}$  'dir. Dünyanın başta gelen fasulye üreticileri arasında Hindistan (3.6 milyon ton), Brezilya (3.0 milyon ton), ABD (1.4 milyon ton), Meksika (1.0 milyon ton) ve Endonezya (0.9 milyon ton) yer almaktadır. ABD fasulyenin büyük üreticilerinden olmasına rağmen kişi başına tüketim gelişmekte olan ülkelere göre çok geridir ( $3.3 \text{ kg y}^{-1}$ ). Bu değer, Brezilya'da 19.0 ve Meksika'da  $12.8 \text{ kg y}^{-1}$  'dir. Buna karşın Avustralya, Almanya, Fransa ve Hollanda gibi gelişmiş ülkelerde fasulye üretimi yok gibidir ve  $1.0 \text{ kg y}^{-1}$  kişi<sup>-1</sup> 'yi geçmeyen değerlerle tüketilir. Bunun nedeni büyük olasılıkla, gelişmiş ülkelerde tüketimin daha çok hayvansal ürünlere yönelmiş olmasıyla açıklanabilir. Öte yandan fasulye gibi bitkisel ürünler daha uzun yıllar gelişmekte olan ülke insanların ağırlıklı besin kaynağı olacaktır.

Kültüre alınan tüm bitkilerde olduğu gibi, fasulye de, büyümesi için önemli ölçüde

azota gereksinim duyar. Toprakların büyük bir kısmı mineral azot yönünden fakirdir ve azot ya değişik yollarla (denitrifikasyon, yıkanma, volatilizasyon gibi) bitki kök bölgesinden uzaklaşabilir ya da immobilizasyonla bitkiler için elverişsiz formlara dönüşebilir. Bu yüzden modern tarım uygulamaları arasında azot gübrelemesi önemli bir yer tutmaktadır. Fakat, azotlu gübrelerin üretim maliyetlerinin yüksek olması ve/veya üretim ve tarla uygulaması sonrası aşamalarında çıkabilecek çevresel yan etkiler azotlu gübre uygulamalarını sınırlamaktadır. Sonuç olarak, bitkisel üretim maliyetleri yükselmekte ve/veya yanlış ya da bilinçsiz uygulamalarla çevreye zarar verilebilmektedir. Bu zararlar arasında, dünyanın bir çok yerinde görüldüğü gibi, topraktan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) yıkanması sonucu oluşan potansiyel taban suyu kirlenmesi (Jensen et al., 1994) ve uzun yıllar asit karakterli azotlu gübreler uygulanması ve nitrifikasyon sonucu oluşan toprak asitleşmesi sayılabilir (Rulkens and Tenhave, 1994).

Azotlu gübre uygulamaları tamamen terk edilemez, çünkü üreticiler, bu uygulamaların bitki gelişmesi üzerindeki direk olumlu etkilerini defalarca tecrübe etmiş ve artık azotlu gübre uygulaması, değişik pek çok tarım şekli ve çevresel koşul için, standart tarımsal bir faaliyet haline gelmiştir. Ancak, en azından fasulye gibi baklagillerde, simbiyotik azot fiksasyonu (*Rhizobium* aşılması) bitkinin azot ihtiyacının belirli bir kısmını karşılayabilir. Böylece, azotlu gübre girdisi azaltılarak net kar artırılmış ve potansiyel çevre kirlenmesi riski belli ölçülerde azaltılmış olur.

Günümüzde, *Rhizobium* aşu uygulamaları, Avrupa ve Amerika'nın yanı sıra önemli fasulye üreticilerinden olan Meksika ve Brezilya'da da yaygındır. Motsara et al. (1995) 24 ülkede *Rhizobium* aşuları üreten 170 organizasyon tespit etmiştir. Bunların arasında, uzun yıllar faaliyet gösteren ve büyük ölçekli üretim yapan iki firma göze çarpmaktadır: A.B.D.'de üretim yapan Niftal ve A.B.D. ve Fransa'da çalışan Lipha Tech. Tüm bunlara rağmen, baklagil yetiştiriciliğinde simbiyotik azot fiksasyonu sistemlerinin kullanımı azalmaktadır (McCown, 1996; Smil, 1997). Bu azalma intensif tarımın yoğun olarak yapıldığı Avrupa ve A.B.D.'de çok daha belirgindir. Bu azalmaya neden olan faktörler arasında ucuz azotlu gübre bulma imkanı, hayvan gübrelerinin toprağa uygulanması ve yeşil gübreleme yer almaktadır. Örneğin, Danimarka'da nitrat yıkanma ortalaması 74 kg N

ha<sup>-1</sup> yıl<sup>-1</sup>'dir, fakat bu ortalama ahır gübresi uygulandığında 105 kg N ha<sup>-1</sup> yıl<sup>-1</sup>'a ulaşmaktadır (Jensen et al., 1994).

Simbiyotik azot fiksasyonunun yeri intensif tarımda oldukça sınırlıyken, extensif tarım için pek çok fırsatlar ortaya çıkmaktadır. Gelişmekte olan çoğu ülkede, azotlu gübrelerin kullanılabilirdiği yüksek gelir getiren ürünler hariç tutulursa, azot fiksasyonu baskın azot girdisi olarak tarım sistemlerinde kullanılmaktadır. Bu tür bir tercih gübre fiyatlarının pahalı olması, pazar değişiklikleri ve düşük ya da düzensiz yağış nedeniyle azotlu gübre kullanımı ekonomisinin etkilenmesi sonucu oluşmaktadır. Örneğin, Döberiner et al. (1995) Brezilya'da baklagil ve ilişkili azot fiksasyonu yoluyla yılda 1.8 milyar dolardan daha fazla ek gelir sağlandığını hesaplamıştır. Bu yüksek rakama ulaşılmasının arkasında, azot fiksasyonu üzerinde, özellikle de Dr. Döberiner'in laboratuvarında, yıllardır devam eden çalışmalar yatmaktadır (Döberiner, 1997).

Türkiye'deki durum hem bilimsel çalışmalar ve hem de üretim teknolojileri açısından çok geridir. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü (Ankara) gibi birkaç kurumun çabaları ve üniversitelerde, özellikle ziraat fakültelerinin toprak bölümlerindeki bazı araştırmacıların çalışmaları dışında, biyolojik azot fiksasyonu bilimi ve teknolojisi Türkiye'de yok gibidir. Bunun nedenleri arasında, ülkeye özgü bilimsel çalışmaların azlığı (ya da bu çalışmaları yürütmek için donanımlı laboratuvar ve teknik personel yetersizliği), uygun aşı üretim teknolojilerinin geliştirilememesi, çiftçilerin bu tür bir uygulamayı kabul etmedeki isteksizlikleri ve etkin bir tarımsal haberleşme ağının olmaması sayılabilir.

*Rhizobium* aşılara ilişkin bilgi ve teknoloji Türkiye'de düşük bir seviyede de olsa vardır, buna karşın ilişkili (associative) azot fikse edicisi olan *Azospirillum* bakterisi hakkında herhangi bir çalışma bile yoktur. Bakterinin öneminin, 1970'li yıllarda daha iyi kavranmasından (Döberiner and Day, 1976; Tarrand et al., 1978) bu yana, üzerinde Dünya çapında pek çok araştırma yapılmıştır. Pek çok bitkiye bu arada fasulyeye de aşılabilen bakteri, 1990'a kadar yapılan tarla çalışmalarının % 70'inde verim artışına neden olmuştur (Okon and Labandera-Gonzales, 1994). Verim artışları ortalama % 10 ile 30 arasında değişmiş, fakat % 270'e kadar çıkabilmiştir. *Azospirillum* bakterisinin bitki

üzerindeki olumlu etkileri çoğu çevrelerin dikkatini çekmiştir. Örneğin, NATO'nun bilimsel çalışmalarla ilgili kurulu bakteri üzerinde çalışma yapacak bir ekip oluşturmuş ve bu ekip konuyla ilgili bilgileri bir kitap halinde özetlemiştir (Anonymous, 1995).

Bir rizosfer bakterisi olan *Azospirillum*'un bitki gelişmesi üzerindeki olumlu etkileri arasında, bitkilere indolasetik asit (IAA), gibberilin, ve sitokinin gibi fitohormonlar vermesi (Patten and Glick, 1996; Rademacher, 1994), azot fiksasyonu (Boddey and Döberiner, 1988), nitrit oluşumu (Bothe et al., 1992), bitki gelişmesindeki genel iyileşmeler (Fallik et al., 1994; Sarig et al., 1992) ve mineral alımının artırılması (Bashan et al., 1990) sayılabilir.

*Azospirillum* kültürü yapılan çok değişik bitkilerin köklerini kolonize edebilmektedir (Bashan and Holguin, 1997a). Araştırmalar daha çok buğday ve mısır gibi tahıllarda yoğunlaşmıştır (Okon and Labandera-Gonzales, 1994). Bakteri, bunun yanı sıra, ayçiçeği (Fages and Arsac, 1991), şeker kamışı (Favilli et al., 1993) ve havuç (Govedarica et al., 1993) gibi bitkilerde de verim artışına neden olmuştur. Son zamanlarda *Azospirillum* bakterisi, nodülasyonu, nodül işleyişini ve muhtemelen bitki metabolizmasını olumlu etkilemesi nedeniyle bir *Rhizobium* yardımcısı olarak değerlendirilmektedir (Andreeva et al., 1993). *Azospirillum* ve *Rhizobium* ikili-aşılması mercimekte (Yadav et al., 1992), nohutta (Del Galli and Fabri, 1991), yoncada (Itzigsohn et al., 1993) ve fasulyede (Burdman et al., 1997) nodülasyon ve çoğu bitki parametrelerinin sadece *Rhizobium* aşılmasına göre daha fazla artırmıştır.

Bu çalışmanın amacı aşağıdaki hipotezleri test etmektir.

- *R. tropici* ve *R. etli* aşılması, Türkiye'de yetiştirilen tescilli fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşitlerinde nodulasyonu ve bitki büyümesini olumlu yönde etkiler.
- Bu fasulye çeşitlerinde, *Azospirillum* + *Rhizobium* aşılması, nodulasyonu ve bitki büyümesini sadece *Rhizobium*'la yapılan aşılama göre daha fazla artırır.
- Bir önceki ifade edilen etki fasulye çeşitlerinden bağımsızdır.



## 2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

### 2.1. Fasulye (*Phaseolus vulgaris*)-*Rhizobium* ortak yaşamı

#### 2.1.1. Fasulyenin insan beslenmesindeki önemi

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) yüzyıllardır yetiştirilen bir bitki olup kökeni konusunda değişik görüşler mevcutsa da büyük olasılıkla Batı Asya olduğu ileri sürülmektedir (Akçin, 1988). Dünya'ya değişik yollarla taşınmış ve şu anda özellikle ılıman iklim kuşağında yetiştirilmektedir. Fasulyenin Türkiye'de tarımı nispeten yenidir, fakat, Türk insanının mutfağında önemli bir yeri vardır. Bunun en önemli nedenlerinden biri kuşkusuz fasulyenin yaklaşık %24 gibi yüksek bir oranda protein içermesidir (Şehirli, 1988).

#### 2.1.2. Baklagil-*Rhizobium* ortak yaşamının ana hatları ve fasulyede durum

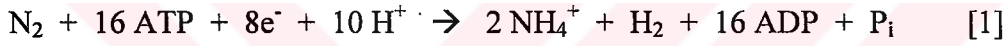
Simbiyotik azot ( $N_2$ ) fiksasyonunun önemi muhtemelen ilk defa Hellriegel ve Wilfarth'ın 19. yüzyıl sonlarında yaptığı deneylerle anlaşılmıştı (Paul, 1989). Sonrasında yapılan çalışmalar simbiyotik azot fiksasyonunun doğasına büyük ölçüde ışık tuttu (Burris, 1988). Özellikle moleküler ve hassas analitik tekniklerin gelişimine paralel olarak, simbiyotik azot fiksasyonu bilimi büyük ölçüde ilerledi (Graham et al., 1988; Shantharam and Mattoo, 1997).

Baklagil-*Rhizobium* ortak yaşamında baklagil bitkisi *Rhizobium*'a enerji kaynakları ve topraktaki biyotik ve çevresel streslere karşı güvenli bir ortam ve buna karşılık *Rhizobium* bitkiye indirgenmiş azot sağlar. Bakteriler bitkinin kılcal köklerini işgal eder ve nodül gelişiminin olacağı yerdeki korteks hücrelerinde çoğalmaya başlar. Bakteriler nodüllerde azotun amonyağa ( $NH_3$ ) dönüşmesini katalize eden nitrogenaz enzimini bulunduran "bakteroid" formuna dönüşürler. Nitrogenaz enzimi oksijene ( $O_2$ ) karşı oldukça duyarlı olmasına rağmen, azot fiksasyonu reaksiyonu ATP üretimi için oksijene

gerek duymaktadır. Bu sorun, “leghemoglobin” adındaki bir proteinin bakteroidin solunumsal prosesleri için gerekli olan oksijen akımını kontrol etmesiyle aşılmaktadır. Bitki, nodül dokularında oluşmuş olan amonyağı ksilem demetlerinden hızlıca çekmek için aminasyon ve amino transfer reaksiyonları yapmaktadır. Baklagil-*Rhizobium* ortak yaşamı hakkında detaylı bilgi vermek, bu tezin amaçlarını aşmaktadır. Fakat, infeksiyon ve nodülasyon, simbiyotik azot fiksasyonunun biyokimyası, bitkide amonyak asimilasyonu ve simbiyotik azot fiksasyonunu etkileyen faktörler konularını biraz daha açmak sonraki tartışmaları desteklemek açısından yararlı olacaktır. Bu konulara ilişkin aşağıdaki özetler her özetin sonunda verilen kaynaklardan yararlanılarak yapılmıştır.

İnfeksiyon işlemi *Rhizobium* bakterilerinin bitki kök salgılarına pozitif kemotaksisiyle (hareketli bir organizmanın bir kimyasal maddeye referans olarak yönlendirilmiş hareketi) başlamaktadır. Kemotaksis nodülasyon için zorunlu değildir, fakat rizosfer yerleşmesinde bir avantaj sağlar. Spesifik *Rhizobium*'un kök yüzeyine, özellikle de kılcal köklere tutunması, bitki lektini ve bakterinin özel polisakkaritinin birbirine yapışması sonucu oluşmaktadır. *Rhizobium* bakterileri, nodülasyon genleri tarafından sentezlenen Nod faktörleri sayesinde, kök yüzeyinde kılcal kök dallanması, bozulması ve kıvrılmasına neden olur. Genç kılcal kökler yeter miktarda *Rhizobium*'u paketlemek için kıvrılır. Hücre duvarının hidrolize olması sonucu kök hücre duvarında lokal yaralar oluşmaktadır. *Rhizobium* bakterileri kök hücrelerinin hidrolize olduğu bölgelerden içeri girer ve plasma membranına içine girmek yoluyla penetre olurlar. Bitki, içeriye doğru büyüyen bir “tüp” oluşturacak şekilde yeni hücre duvarı materyalleri biriktirir. Bu tüp hızla çoğalan bakteriler tarafından doldurulur ve bir “infeksiyon ipi” oluşur. İnfeksiyon ipi bir uç büyümesi prosesiyle kılcal kök hücrelerinin daha içerideki duvarlarına doğru büyür. Eş zamanlı olarak, özel korteks hücreleri bölünerek nodülün “ilk halini” oluşturur ve infeksiyon ipi bu ilk hale doğru büyür. Kortikal hücrelerde, infeksiyon ipinin ilerlemesine hazırlanacak şekilde çekirdek hücre merkezine hareket eder ve ilave hücre duvarları meydana gelir. Hücre içindeki bakteriler çubuk şeklini kaybederek pleomorfik olur ve azot fiksasyonu için gerekli nitrojenaz enzimini sentezlerler. İnfeksiyon ve nodülasyon konusunda daha detaylı bilgi için van Rhijin and Vanderleyden (1995) ve Vincent (1980)'e bakılabilir.

Nitrogenaz enzimi, fonksiyonel olabilmesi için gerekli olan iki parçadan oluşur. Bunlardan birincisi, dinitrogenaz (parça I ya da FeMo protein), substratı bağlar ve elektronlar ilave edilirken onu tutar. İkincisi, dinitrogenaz redüktaz (parça II ya da Fe protein) dinitrogenazdaki Fe atomlarına elektronların Mg:ATP hızlandırılmış transferini sağlar. Her iki parça, özellikle de ikincisi oksijene aşırı derecede duyarlıdır. Nitrogenaz azotun indirgenmesi işlemini kısaca şöyle yapmaktadır. Elektronlar normal metabolik yollardan ferrodoksin ve dinitrogenaz redüktaza gelmektedir. Bu, ATP ile kompleks oluşturunca bir inorganik fosfatın (P<sub>i</sub>) salınacağı şekilde ADP oluşmakta ve dinitrogenaz indirgenmektedir. Dinitrogenaz ise elektronları azot (N<sub>2</sub>) dahil ortamda bulunabilecek asetilen, azit, nitros oksit ve hidrojen iyonu gibi substratlara yönlendirmektedir. Sonuçta, azot aşağıdaki genel formülde gösterildiği gibi amonyuma (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) indirgenmektedir.



Nitrogenazın asetileni indirgememesinin pratik bir anlamı vardır: bu yolla simbiyotik azot fiksasyonu tahmin edilebilir. Nitrogenazın hidrojeni indirgemesi ise tam bir israftır, çünkü bu indirgemedен oluşan ürün hidrojen gazıdır (H<sub>2</sub>). Bazı mikroorganizmalarda bulunan hidrogenaz enzimi bu yolla kaybedilen enerjinin bir kısmının geri elde edilmesini ve hücrede ATP üretiminde kullanılmasını sağlamaktadır. Nitrogenazın biyokimyası konusunda daha detaylı bilgi için Atkins and Rainbird (1982), Mifflin and Cullimore (1984) ve Paul (1989)' a bakılabilir.

Amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) asimilasyonu bakteroitte değil de bitki sitozolünde amonyum konsantrasyonuna bağlı olarak iki şekilde gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi yüksek amonyum konsantrasyonunda (>1,5 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) fonksiyonel olan glutamat dehidrojenaz (GDH) yoluyla olmaktadır. İkincisi ise daha düşük amonyum konsantrasyonlarında fonksiyonel olan glutamin sentetaz (GS) ve glutamat sentaz (GOGAT) yoluyla olmaktadır. Amonyum bitki sitozolüne ulaşmakta ve burada GS yardımıyla glutamine ve sonrasında GOGAT yardımıyla glutamata dönüşmektedir. Sonuç olarak bir mol glutamat, amonyum ve α-ketoglutaratdan iki mol glutamat oluşmaktadır. Glutamat ksilem yoluyla kökü terk etmeden önce ikincil reaksiyonlarla dönüştürülmektedir. Azotu, bezelye (*Pisum sativum*),

üçgül (*Trifolium spp.*) ve yonca (*Medicago sativa*) gibi ılıman iklim kuşağı baklagilleri asparajin ve glutamin gibi amitler; soya fasulyesi (*Glycine max*) ve kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris*) gibi tropik baklagiller ise allantoin ve allantoinik asit gibi üreidler şeklinde transfer etmektedir. Amonyum asimilasyonu ve translokasyonu konusunda daha detaylı bilgi Havelka et al. (1982) ve Mifflin and Cullimore (1984)' da bulunabilir.

Nodülasyonu ve simbiyotik azot fiksasyonunu sınırlayan faktörlerin en önemlileri arasında mineral azotun varlığı gelmektedir. Amonyumun yüksek orandaki varlığının yeni nitrogenaz enzimi üretimi üzerinde bastırıcı etkisi vardır. Amonyumdan oluşan yüksek oranlardaki glutamin, glutamin sentetazı adenile eder ve sonuçta yeni nitrogenaz üretimi azalmış olur (Paul, 1989). Nitratın ( $\text{NO}_3^-$ ) yüksek orandaki varlığı sonucu karbon büyük ölçüde nitrat asimilasyonunda kullanılmakta ve böylece nodüllerde azot fiksasyonu için gerekli olan karbon sınırlanmaktadır. Benzer şekilde, nitrat asimilasyonu sonucu oluşan fazla nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) hemoglobinle birleşerek, onun nitrogenaz enziminin fonksiyonel olması için gerekli olan oksijen regülasyonu işlevini ortadan kaldırabilir. Nodüllere olan oksijen difüzyonu çok önemlidir ve toprağın kısa süreli de olsa suya boğulması nodüller için ölümcül olabilir. Fotosentez ürünlerinin bolluğu çok önemlidir ve bu ürünlerin oluşumunu, başka bir deyişle bitki gelişimini etkileyen her faktör nodül gelişimini ve işleyişini etkiler. Düşük toprak pH'sı kılcal köklerin infeksiyonunu, erken nodülasyonu ve bitki besin maddelerinin yararışlılığını olumsuz etkiler. Molibden (Mo) dinitrogenaz enziminin kofaktörü olduğu için molibden fakir topraklarda simbiyotik azot fiksasyonu sınırlıdır. Molibdenin yanında diğer mineral besinlerin, özellikle fosforun (P) noksanlığı nodül gelişimini ve işleyişini olumsuz etkilemektedir. Düşük toprak sıcaklıkları kök gelişimini ve nodül işleyişini olumsuz etkiler. Azot fiksasyonunu etkileyen faktörler konusunda daha detaylı bilgi Havelka et al. (1982), Paul (1989) ve Triplett et al. (1989)' da bulunabilir.

Simbiyotik azot fiksasyonu değişik faktörler tarafından kontrol edilip fikse edilen azotun bitkiye belirli bir maliyeti (Atkins and Rainbird, 1982) olsa da, baklagiller bitkiye bağlı olarak azot ihtiyaçlarının yarısına yakını ve daha fazlasını simbiyotik azot fiksasyonundan karşılar. Fasulye bitkisi bu açıdan bakıldığında orta sıralarda yer almaktadır. Örneğin, Witty (1983) fasulye bitkisinin aldığı azotun ortalama % 48 'ini

simbiyotik yolla kazandığını görmüştür. Benzer şekilde, Viera-Vargas et al. (1995) bu ortalamanın yaklaşık % 58 olduğunu belirlemiştir. Bu oran ortalama üçgülde (*Trifolium repens*) yaklaşık % 83 iken (Labandera et al., 1988) soya fasulyesinde (*Glycine max*) yaklaşık % 32' dir (Boddey et al., 1995; Chiu et al., 1990; Witty and Ritz, 1984).

### 2.1.3 Simbiyotik azot fiksasyonu sistemlerinin temel sorunları

Simbiyotik azot fiksasyonu sistemlerinin sorunları üç ana gruba ayrılabilir: i. bakteri kökenli sorunlar; ii. toprak kökenli sorunlar; iii. bitki kökenli sorunlar. Simbiyotik azot fiksasyonundan kazanç sağlamanın en temel koşulları arasında lokal şartlara uyumlu efektif N fikse eden suşları seçmek ve aşığı doğru miktarda canlı hücreyi tarlaya taşıyacak şekilde formüle etmek gelmektedir. Genetik olarak modifiye edilmiş mikroorganizmaların kullanımı, yeni fakat hızla gelişen bir konudur (Abdelgadir and Alexander, 1997; Miranda et al., 1996; Robleto et al., 1997). Çok değişik aşılama teknikleri ve formülasyonları mevcuttur (Bashan, 1998). Fakat, simbiyotik azot fiksasyonu sistemlerinin kullanımı Dünya çapında azalmaktadır (Brockwell and Bottomley, 1995). Bu azalmanın muhtemelen en önemli sebeplerinden birisi düşük kaliteli aşı üretimidir (Gomez et al., 1997; Olsen et al., 1995; Vincent and Smith, 1982). Yeni aşı teknolojilerinin kullanımı ise pek yakın gözükmemektedir (Bashan, 1986; Bashan and Gonzales, 1999).

Simbiyotik azot fiksasyonu yapan bitkiler yapmayanlara göre daha fazla fosfora (P) ihtiyaç duymaktadır (Jugk, 1998; Robson 1983). Bunun nedeni azot fikse eden sistemlerin daha fazla ATP, sinyal transdüksiyonu, membran biyosentezi, nodül gelişimi ve işleyişi için ekstra fosfora gereksinim duymalarından kaynaklanmaktadır. Bitkiler fosforu ortofosfat iyonları ( $H_2PO_4^-$  ve  $HPO_4^{2-}$ ) şeklinde alır, fakat bitkiye yararlı fosfor asit topraklarda Fe ve Al-fosfatlar ve alkali topraklarda Ca-fosfatlar şeklinde çökelmekte ve/veya kil mineralleri ve  $CaCO_3$  yüzeylerine yapışmaktadır (Tisdale et al., 1993). Diğer bir toprak problemi tuzluluktur. Baklagiller ve nodül başlangıcı süreçleri tuzluluğa bakteriden çok daha az dayanıklıdır (Graham, 1992). Toprak bozulması ve çölleşme simbiyotik azot fiksasyonunu olumsuz etkileyen faktörler arasında yer alır (Crowley, 1994; de Oliveira et al., 1998). Asit topraklar ve asitleşme gerek Al ve Mn toksisitesi ve Mo, Ca,

ve P eksikliği yoluyla baklagilin gelişimini olumsuz etkilemekte, gerekse aşılansın bakterinin toprakta yaşamasını ve nodülasyon proseslerini geriletmektedir (Graham, 1992).

Baklagiller, aşı ile verilen *Rhizobium* suşları tarafından değil de, lokal *Rhizobium* suşları tarafından tercihli olarak nodüle edilebilir (Lieven-Antoniou and Whitman, 1997; Montealegre and Graham, 1996; Montealegre et al., 1995). Ya da konuk bitkideki *Rhizobium* etkisi genotipik farklılıklar gösterebilir (Buttery et al., 1997; Ceccatto et al., 1988; Pazdernik et al., 1997; Pazdernik et al., 1996). Chaverra and Graham (1992) suş çeşit etkileşiminin genetik farklılıklardan dolayı çok muhtemel olduğunu belirtmiştir.

#### 2.1.4 Fasulyede *Rhizobium* aşılması ve ilişkili sorunlar

Fasulyede *Rhizobium* aşılmasının en yaygın olarak yapıldığı bölge muhtemelen fasulyenin en çok yetiştirildiği Brezilya, Meksika ve Arjantin gibi ülkeleri kapsayan Güney Amerika'dır (FAO, 1999). Fakat, aşı üretim kalitesi açısından bu bölgede, örneğin Arjantin'in çok başarılı olduğu söylenemez (Gomez et al., 1997). Bu durum Kanada ve ABD gibi gelişmiş ülkelerde de çok farklı değildir (Olsen et al., 1995; Vincent and Smith, 1982). Kullanılan aşılarn kalitesi genelde düşüktür ve bu durum Dünya genelinde azot fiksasyonu sistemlerinin kullanımında bir azalmaya katkıda bulunmuştur (McCown, 1996; Smil, 1997).

Diğer bazı baklagillerle karşılaştırıldığında, fasulyenin zayıf bir azot fikse edicisi olduğunu söylemekte yarar vardır (Graham and Ranalli, 1997). Pek çok genetik ve çevresel faktör bu durumun açıklanmasında yardımcı olabilir. Genomlardaki yeniden düzenlemeler *Rhizobium* suşlarında değişkenliğe ve stabilitenin bozulmasına neden olmaktadır (Martinez et al., 1988). Bu durum *Rhizobium* suşlarının özelliklerini korumada, özellikle bu suşların aşı olarak kullanımı söz konusu olduğunda önemli bir problemdir. Fasulye genelde marjinal çevre koşullarında yetiştirilmektedir ve ıslah çalışmalarında erken çiçeklenme ve kısa vejetasyon süresi gibi özellikler dikkate alınmaktadır (Graham and Ranalli, 1997). Birinci durumda, bitki iyi gelişemediği için yeter miktarda fotosentez ürünleri nodül gelişimi ve işleyişine ayırlanamamaktadır. Marjinal çevre koşullarına örnek olarak yüksek

sıcaklık, toprak kuruluğu ve düşük toprak verimliliği verilebilir (Graham, 1981). İkinci durumda, kısa vejetasyon süresine sahip determinant bodur tip fasulyeler nodül gelişimi ve işleyişi için süre az olduğundan azot fiksasyonundan yeterince yararlanamazlar (Chaverra and Graham, 1992; Isoi and Yoshida, 1991; Schroder, 1992).

Fasulyede aşılama ile ilgili önemli sorunlardan birisi de, aşılama rhizobia'nın lokal şartlara adapte olmuş yerel rhizobia'yla rekabet edememesi sonucu, yerel rhizobianın nodülasyonda üstünlük sağlamasıdır (Streeter, 1994). Bu sorunu aşmak için, Robleto et al. (1997) rizosfer kolonizasyonu ve kök nodülasyonunda üstünlük sağlayan ve kısa spektrumlu bir antibiyotik olan trifolitoksini (TFX) üreten bir *Rhizobium etli* suşu oluşturmuştur. Biyoteknoloji benzer şekilde, fasulyede nodülasyon yapan *Rhizobium*' un sıcaklığa dayanıklılığını (Abdelgadir and Alexander, 1997) ve azot fiksasyon kapasitesini (Miranda et al., 1996) artırmıştır. Fakat bu çalışmalar daha çok deneysel aşamadır, uygulamaya geçilmemiştir.

#### 2.1.5 Fasulyede azot fikse eden mikroorganizmalar

Fasulyede değişik mikroorganizmalar nodülasyon ve azot fiksasyonu yapabilmektedir. Bunlar arasında, i. *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (Jordan, 1984); ii. *R. tropici* (Martinez-Romero et al., 1991); iii. *R. etli* (Segavio et al., 1993); iv. *R. gallicum* ve *R. giardinii* (Amarger et al., 1997). *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* yaygın olarak Avrupa'da görülmektedir (Segavio et al., 1993). *R. tropici* yüksek sıcaklıklara ve asit koşullara dayanıklıdır; genetik açıdan diğer *Rhizobium* türlerine göre daha stabildir, dolayısıyla simbiyotik özelliklerini stresli koşullarda sürdürebilir; dinitrojenaz redüktaz enziminin kodlanmasında görev alan *nifH* geninden (Triplett et al., 1989) tek kopyaya sahiptir; polisakkariti inhibe eden *psi* geniyle hibridize olmaz; ve *Leucaena* sp. de dahil geniş bir konuk yelpazesi vardır (Martinez-Romero et al., 1991). *R. etli* orta Amerika'da (Segavio et al., 1993) ve fasulyenin iki önemli ana orijinden birisi olarak kabul edilen Arjantin'in kuzeydoğusunda bulunmuştur. *Rhizobium etli*, *nifH* geninin birden fazla kopyasına sahiptir; dar bir konuk yelpazesi vardır ve *psi* geniyle hibridize olur (Buttery et al. 1997).

### 2.1.6 Fasulye bitkisi ve bazı baklagillerdeki konuk×suş etkileşimleri

Fasulye genetik açıdan oldukça değişkin bir bitkidir (Singh et al., 1991). Yukarıda özetlendiği gibi, fasulyede nodülasyon yapan rhizobia da genetik açıdan oldukça değişkendir (Hernandez-Lucas et al., 1995; Rodrigues-Navarro et al., 2000). Bu durumları dikkate alan Chaverra and Graham (1992) yaygın fasulyede konuk×suş etkileşiminin çok muhtemel olduğunu belirtmiştir. Hardarson et al. (1993) 37 yaygın fasulye çeşidinde yaptığı çalışmada azot fiksasyonu açısından çok büyük değişkenlik olduğunu görmüştür. Bu araştırmacılar, bazı çeşitlerin yüksek oranda azot fiksasyonunu destekleyebileceklerini, fakat bu çeşitlerin çoğunun istenen tarımsal özelliklere sahip olmadığını belirtmişlerdir. Bu durumun tersine, Buttery et al. (1997) genetik ve orijin açılarından oldukça değişken 15 fasulye çeşidi ve 10 *Rhizobium* suşuyla yaptıkları çalışmada pek çok nodülasyon ve bitki büyüme parametresinde konuk×suş etkileşiminin olmadığını görmüşlerdir. Benzer şekilde, Pacovsky et al. (1984) 10 *Rhizobium* suşu ve 3 yaygın fasulye çeşidiyle yaptıkları çalışmada çeşit×suş interaksiyonunun olmadığını belirlemiştir. Vasquez-Arroyo et al. (1998) 3 fasulye çeşidinde yaptıkları çalışmada azot fiksasyonu açısından önemli bir değişkenlik olmadığını gözlemiştir.

Fasulye dışındaki baklagillerde de çeşit ya da suş değişkenliği ve konuk×suş etkileşimi hakkındaki bilgiler farklıdır. Örneğin, Mytton et al. (1977) 6 bakla (*Vicia faba*) ve 6 *Rhizobium* suşu üzerinde yaptığı çalışmada fikse edilen azottaki değişkenliğin % 74'ünün çeşit×suş interaksiyonundan kaynaklandığını görmüştür. Öte yandan, Roskothen (1989) 50 bakla ve 4 *Rhizobium* suşuyla yaptığı çalışmada çeşit×suş interaksiyonunun çok zayıf olduğunu gözlemiştir. Benzer şekilde, Armarger (1988) baklada çeşit×suş etkileşiminin önemsiz olduğunu bulmuştur.

Buttery and Dirks (1987) 12 *B. japonicum* suşu ve 10 soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merr.) çeşidi üzerinde yaptıkları çalışmada çeşit×suş interaksiyonunun önemsiz olduğunu görmüştür. Tersine, azot fiksasyonu açısından çeşit×suş etkileşimi bezelyede (*Pisum sativum* L.) (Hobbs and Mahon, 1982), börülcede (*Vigna unguiculata*) (Minchin et al., 1978), fısıtkta (*Arachis hypogaea*) (Alwi et al., 1989) ve değişik börülcelerde (*Vigna spp.*)



(Bushby, 1988) önemli çıkmıştır. Sonuç olarak, genelde baklagillerde ve özelde yaygın fasulyede, azot fiksasyonundaki değişkenlik ve konuk×suş etkileşimi hakkında net bir açıklama yoktur.

## 2.2. *Azospirillum*-Bitki ilişkileri

### 2.2.1. *Azospirillum*-Bitki ilişkisinin doğası

*Azospirillum*-bitki ilişkisinin doğasını belirli ölçüde anlayabilmek için *Azospirillum*-kök ilişkisinin nasıl başladığını ve geliştiğini; *Azospirillum*'un bitkideki etki mekanizmalarını; ve genel anlamda *Azospirillum*'un bitki büyümesini nasıl etkilediğini kısaca açıklamak gereklidir. Bu konulara geçmeden önce *Azospirillum*-bitki ilişkisi hakkında iki önemli noktayı vurgulamakta yarar vardır. Birincisi, bu ilişki Rhizobim-baklagil ortak yaşamında olduğu kadar spesifik değildir (nodül oluşumu ve işleyişi olmaz). Bu yüzden, bu ilişki için baklagil-*Rhizobium* ortak yaşamı için kullanılan “symbiosis” yerine daha zayıf bir ortak yaşam olarak kabul edilebilecek “association” terimi kullanılır. Fakat, Kennedy et al. (1997) eksopolisakkarit üretiminin az olduğu bir *Azospirillum brasilense* (Sp7-S) mutantının 2,4-D uygulanmış buğday köklerinde nodül-benzeri (*para*-nodül) yapılar oluşturduğunu bulmuştur. Bu tür çalışmalar henüz deneysel aşamadadır. İkincisi, *Azospirillum*-bitki ilişkisi herhangi özel bir bitkiyle sınırlı değildir ve *Azospirillum*, tahıl olan ya da olmayan bitkilerin, yabancı otların ve çok yıllık bitkilerin köklerini kolonize edebilir (Bashan and Holguin, 1997a).

*Azospirillum* bitki kök salgılarına referans olarak kemotaktik hareket yapar. Bakteriler zayıf bir adsorpsiyondan sonra kendilerini sıkıca kök yüzeylerine bağlarlar. Ana kolonizasyon bölgeleri büyüme noktaları, kılcal kökler ve kök yüzeyleridir. Bu bakteriler kök yüzeyleri ve kendi aralarında bir “fibril” yapısındaki materyal ağıyla bakteriyel agregatlar oluşturur. Canlı kök hücreleri kadar ölü kök hücreleri de kolonize edilir. Aşılınmış bakteriler kılcal kök hücrelerinin içini de kolonize ederler. Bakteriler rizosferle temas halinde olan kök ucu tarafından dikey olarak taşınırlar. Bakteriyel yayılma kökten köke olan göçler yoluyla olmaktadır. Bu durum, *Azospirillum*'un perkole olan su

tarafından pasif dispersiyonunun zor olduğu yarı kurak bölgelerdeki yüksek performansını açıklar (Bashan, 1990; Bashan and Holguin, 1997a; Broek et al., 1998; Baldani et al., 1986; Okon and Kapulnik, 1986 ve Sukiman and New, 1990).

*Azospirillum*'un bitki üzerindeki önerilen etki mekanizmaları çok değişiktir ve tartışmalıdır. Önceleri, *Azospirillum*'un bitki büyümesine ana katkısının azot fiksasyonu yoluyla olduğu düşünülmüştü. Genelde, azot fiksasyonunun bitki kütle artışıdaki payı küçüktür; % 5 ile % 18 arasında değişmekle birlikte, genelde % 5'in altındadır. Dahası, azot fikse etmeyen (Nif-) mutantlar azot fikse edenler (Nif+) kadar bitki büyüme artışına neden olmuştur. Son zamanlarda, *Azospirillum*-bitki sisteminde azot fiksasyonunu artırmak için nodül-benzeri oluşumlar üzerindeki çalışmalar hız kazanmıştır. Ayrıca bakterinin amonyum üretimini artırmak için yollar aranmaktadır (Colnaghi et al., 1997; van Dommelen et al., 1997). Bir diğer mekanizma fitohormon üretimidir. *Azospirillum in vitro* IAA, giberrillin, sitokiyonin üretebilmektedir ve *Azospirillum*'dan saflaştırılmış hormonlar bitki köklerinde *Azospirillum*'a benzer etkiler göstermiştir. Fitohormon etkisinin aleyhine net bir bulgu yoktur. *Azospirillum*'un bitkinin mineral alımını artırdığı yönündeki hipotezler 1980'lerde öne sürülmüştü ve halen bu hipotezi çürütecek net bir bulgu yoktur. *Azospirillum*'un ya nitrat respirasyonu sonucu ya da direk olarak bitkiye verdiği nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) lateral kök oluşumunu, belirgin ölçüde artırmıştır. *Azospirillum* bitki hücre duvarlarını geçen ve bitki membranları tarafından tanınan bir takım sinyal molekülleri göndererek bitki metabolizmasında değişikliklere neden olur. Fakat, bu sinyal moleküllerinin tabiatı bilinmemektedir. 1970'lerde, *Azospirillum*'un bitki kök gelişmesini artırmak yoluyla bitki büyümesinde genel bir iyileşmeye neden olduğu varsayılmıştı. Son olarak, *Azospirillum*-bitki ilişkisinde yukarıdaki mekanizmalardan birden fazlasının eşgüdümlü olarak söz konusu olduğu ileri sürülmüştür (Bashan, 1990; Bashan and Holguin, 1997a; Bashan and Holguin, 1997b).

Sera ve tarla koşullarında büyüyen bitkilerdeki *Azospirillum* etkileri tutarlı değildir. Genel olarak, *Azospirillum* aşılması tarla koşullarında yetiştirilen bitkilerde toplam verimi % 10 ile % 30 arasında artırmıştır. *Azospirillum* aşılması toplam bitki ağırlığını, sap ve tanedeki azot miktarını, tane ağırlığını, bitki yüksekliğini, yaprak büyüklüğünü ve

çimlenme oranını artırmıştır. Özellikle tarlada yetişen tahıllarda, *Azospirillum* aşılamaından dolayı görünür bir farklılık yoktur ve ancak istatistiksel analizler önemli farkları ortaya koyabilmektedir. Okon (1984) *Azospirillum* aşılamaının tarla denemelerinin % 65'inde pozitif etkiye neden olduğu sonucunu çıkarmıştır. *Azospirillum* aşılması, yaz bitkilerinde tüm denemelerin %75 'inde ve kışlık buğdayda ise tüm denemelerin ancak % 50 'sinde artışa neden olmuştur. En yüksek verim artışları, azot gübreleme seviyesi bitki büyümesi için gereken optimum seviyenin altında olduğunda elde edilmiştir. Sulama, *Azospirillum* aşılamaının verimdeki etkisini artırmıştır. *Azospirillum*'un bitki büyümesine etkileri konusu Bashan and Holguin (1997a); Fages, (1994); ve Okon and Labandera-Gonzales (1994)'de daha detaylı olarak özetlenmiştir.

### 2.2.2. *Azospirillum* bakterilerinin tanımı

*Azospirillum* spp. genelde gram (-), çubuk şeklinde, yarıkatı ya da katı besiyerinde çok hareketli ve mineral N kaynağı sağlandığında aerob mikroorganizmalardır. Bakterinin optimum büyüme sıcaklığı 35 ve 37 °C arasında değişmektedir. *Azospirillum* mikroaerofilik (düşük oksijen seviyeli) koşullar, karbon ve enerji kaynağının varlığında azot fikse eder. Azot fikse eden hücrelerde, poli-β-hidroksibütirat (PHB) kuru hücre ağırlığının % 50'si kadar yüksek seviyelere kadar birikebilir. *Azospirillum* malate, süksinat, laktat ve pruvat gibi organik asitlerde iyi gelişmektedir. *Azospirillum*ya ait 5 tür belirlenmiştir, bunlar;

- a. *A. lipoferum* (Tarrand et al., 1978)
- b. *A. brasilense* [(Tarrand et al., 1978) (Brezilya kökenli)]
- c. *A. amazonense* [(Magalhaes et al., 1983) (Amazon bölgesi izolatu)]
- d. *A. halopraeferans* [(Reinhold et al., 1987) (Tuza dayanıklı)]
- e. *A. irakense* (Khamnas and Kaiser, 1991)

*A. lipoferum*'un en belirgin özelliği organik asitlerin karbon kaynağı olduğu besiyerlerinde pleomorfik (hücrelerin ip oluşturacak şekilde dizinim hali) hücre oluşturmasıdır. *Azospirillum lipoferum* malate içeren patates agarında geliştirildiğinde, 48 saat sonra küçük, beyaz ve yuvarlak koloniler oluşturur ve koloniler zamanla büzüşür ve pembeye dönüşür. Büyümesi için biotin gereklidir ve hidrojen (H<sub>2</sub>) litotrofik olarak

büyüyebilir. *A. brasilense* mineral azot içeren sıvı besiyerinde hızlı, homojen ve kümeleşme olmayacak şekilde büyür. Patates agarındaki koloniler *A. lipoferum*'unkine benzerdir. Hücreler C-formlarına (bazı bakteri ve protozoaların etrafının koruyucu bir tabakayla sarılması sonucu oluşan dinlenme hali) dönüşebilir. *A. amazonense* patates agarında beyaz ve yükselmiş kenarlıdır. Nitrojenaz aktivitesi oksijene daha önceki iki türden daha duyarlıdır. Sakkaroz ve glukoz tercih edilen karbon kaynaklarıdır. *A. halopraeferans* kallar otunun (*Leptochloa fusca*) köklerinden izole edilmiştir. Hücreler "S" şeklindedir ve helezonik hücreler alkalın besiyerinde görülür. Patates agarında büyüme yoktur ve optimum büyüme sıcaklığı 41 °C'dir (Döberiner ve Pedrosa, 1987; Holguin et al., 1999).

### 2.2.3. *Azospirillum* aşılması ve ilişkili problemler

*Azospirillum* aşılıarı, *Azospirillum*'un üzerinde 20 yıldan daha fazla bir süredir çalışılıyor olmasına rağmen aşı piyasasına yeni girmektedir (Fages, 1992). Genel olarak, *Azospirillum* temelde *Rhizobium* için planlanmış ve kendi gereksinimlerine pek uymayan torfda formüle edilmiştir (Fallik and Okon, 1996). Sentetik aşılar için henüz bir üretim teknolojisi geliştirilememiştir ve bu aşılardan üretim maliyetleri oldukça pahalıdır (Bashan, 1986; Bashan, 1998). Yine de, sentetik *Azospirillum* aşılıarı yüksek kar getiren ürünlerde kullanılabilir ya da üretim maliyetini düşürmek için kalsiyum sülfat gibi inert bir maddede seyreltilir. Biyoteknolojide gelecekteki gelişmeler bu tür aşılardan daha düşük maliyetle üretimini sağlayacak teknolojiler getirebilir. Ya da, sentetik aşılardan *Azospirillum* da dahil karışık mikroorganizmaların bulunduğu ve bitkiye daha çok yararlı olabilecek şekilde formüle edilebilir. Sonuç olarak, *Azospirillum*'un daha etkin bir aşı haline dönüştürülebilmesi için torf ya da sıvı halindeki formülasyonlardan hücreleri immobilize eden sistemlere doğru bir geçiş yapmak gerekmektedir.

*Azospirillum* aşılamaında en az aşı formülasyonu kadar önemli bir konu aşılama azospirillanın topraktaki etkileşimleridir. Bunun nedeni, *Rhizobium*'la bir kıyaslama yaparak daha iyi açıklanabilir. *Rhizobium* bitki nodüllerine yerleştikten sonra, topraktaki stres faktörlerine ve avlanmaya karşı daha dayanıklı hale gelmektedir. *Azospirillum* ise

büyük ölçüde nodüller kadar güvenli olmayan rizosferi kolonize etmektedir. Her ne kadar kök yüzeylerine güçlü bir adsorpsiyon söz konusu olsa da (Bashan et al., 1991; Michiels et al., 1991), aşılansın *Azospirillum* hücreleri aşılansın *Rhizobium* hücrelerine göre daha fazla strese maruz kalacaktır. Bu yüzden, *Azospirillum*'un topraktaki etkileşimleri *Rhizobium*'a göre daha önem kazanmaktadır.

*Azospirillum*, rizosfer ve rizosfer-harici topraktaki kötü koşullara ve mücadeleye çok uygun bir metabolizmaya sahip bir rizosfer mikroorganizmasıdır, fakat bazı rizosfer-harici topraklarda kötü bir performans gösterebilmektedir (Bashan, 1999). İsrail ve Meksika topraklarında yapılan bir çalışmada, Bashan et al. (1995) aşılansın *Azospirillum brasilense* canlılığıyla kil içeriği, N, organik madde ve su tutma kapasitesi arasında pozitif bir ilişki bulmuştur. Bu faktörlerden hiç biri tek başına canlılığı artırmamış, ancak, bu faktörler beraber fonksiyonel olduklarında canlılık artmıştır. Tek başına *Azospirillum* canlılığını olumsuz etkileyen faktörler yüksek kireç ve kum içeriğidir. Belirgin bir etkisi olmayan faktörler ise % silt, P, ve K, elektriksel iletkenlik, pH ve C:N oranıdır. Genelde köklere olan aşılansın *Azospirillum* hareketi, su potansiyeli tarla kapasitesi civarındayken en hızlı gerçekleşmektedir. Toprak tekstürü kabalaştıkça, hareket hızı artmaktadır (Zhulin and Armitage, 1992). *Azospirillum brasilense* bakterisine spesifik bir bakteriofaj (Germida, 1984) ve *Bdellvibrio* spp. izole (Germida, 1987) edilmiştir.

#### 2.2.4. *Azospirillum* bakterisinin de yer aldığı çoklu aşılamlar

*Azospirillum*'un da yer aldığı karışık mikrobiyal aşılar bitki gelişmesinde birçok faydalar sağlayabilir. Ayrıca, aşılansın her mikroorganizmanın rizosferdeki canlılığı bu mikroorganizmalar arasındaki karşılıklı faydalı etkileşimden (proto-cooperation) dolayı artabilir. *Azospirillum*'un *Pseudomonas striata*, *Bacillus polymyxa*, ya da *Agrobacterium radiobacter* gibi fosfat çözücülerle birlikte aşılansın sorgumda tohum ve kuru madde ağırlığını ve NP alımını (Alagawadi and Gaur, 1992); ve arpada tohum verimini, azot fiksasyonunu ve bitkideki azot birikimini artırmıştır (Belimov et al., 1995). Alagawadi ve Gaur (1992) *Azospirillum*+fosfat çözen mikroorganizma aşılansının bitkinin N ve P gübreleme ihtiyacını ortadan kaldırdığını görmüştür. Benzer şekilde, vesiküler arbuskular

mikorizal mantar (VAM)+*Azospirillum* aşılımları *Azospirillum* aşılımlarına göre pek çok bitki parametresini artırmıştır. İkili aşılımda yer almış mikorizal mantarlara örnek olarak sorgum bitkisinde *Glomus intraradices* (Veerawamy et al., 1992) ve buğdayda *G. macrocarpum* (Al-Nahidh and Gomah, 1991) verilebilir. *Azospirillum*'un, diğer bir ilişkili azot fikse edicisi olan *Azotobacter* ile birlikte aşılması buğdayda bitki büyümesini ve bitkideki IAA, P, Mg, N ve çözünebilir şeker seviyelerini (Elshanshory, 1995); ve şeker kamışında bitki büyümesini (Navale et al., 1995) artırmıştır.

#### 2.2.5. Baklagillerde “*Rhizobium* yardımcısı” olarak *Azospirillum* ve fasulyede durum

*Azospirillum*'un baklagillerde *Rhizobium*'la birlikte aşılması çoğu nodülasyon ve bitki büyümesi parametrelerini sadece *Rhizobium*'la aşılılamaya göre daha iyileştirmiştir. Örneğin, Yahalom et al. (1990) *Azospirillum*'un yoncada (*Medicago polymorpha*) kılcal köklerdeki epidermal-hücrelerin başkalaşmasını artırdığını görmüştür. Sarig et al. (1986) *Azospirillum*'un adi fiğde (*Vicia sativa*) kuru madde verimi, % azot ve asetilen redüksiyon aktivitesini ve nohutta (*Cicer arietinum*) tohum verimini artırdığını gözlemiştir. *Azospirillum* yoncada (*Medicago sativa*) sap ağırlığını, nodül sayısını ve kök yüzey alanını (Itzigsohn et al., 1993) ve kesim verimini (Hassouna et al., 1994); mercimekte (*Lens culinaris*) nodül sayısı, nodül ağırlığı ve tane verimini (Yadav et al., 1992); beyaz üçgülde (*Trifolium repens*) nodül sayısını ve asetilen redüksiyon aktivitesini (Tchebotar et al., 1998) artırmıştır. *Azospirillum* aşılması soya fasulyesinde farklı bitki büyüme değişkenlerini, nodül gelişimi ve işleyişini iyileştirmiştir (Andreava et al., 1993).

*Azospirillum*'un fasulyedeki etkilerini, nodülasyonda artış (Burdman et al., 1997; Neyra et al., 1995); asetilen redüksiyon aktivitesinde artış (Burdman et al., 1997); ve bitki büyümesinde gelişme (Burdman et al., 1997; Kundu et al., 1993; Neyra et al., 1995) şeklinde özetlemek mümkündür. *Azospirillum*'un fasulyede nodülasyonu erkene aldığı ya da kökü nodülasyona daha duyarlı hale getirdiği öne sürülmektedir (Burdman et al., 1997). Benzer şekilde, *Azospirillum*'un üçgülde nodüllerin hemen kenarında kolonize olduğu ve nodülasyon için muhtemel bölge sayısını artırdığı görsel olarak tespit edilmiştir (Tchebotar et al., 1998). *Azospirillum*-*Rhizobium* ikili aşılımlarında bir önemli ayrıntı, *Azospirillum*

etkisinin aşındaki *Rhizobium* : *Azospirillum* hücre oranına bağlı olduğudur. Bu oran, 1:1000 ile 1:1500 arasında olduğunda nodül oluşumu zayıflamaktadır ve 1:2000 olduğunda nodül oluşumu durmaktadır (Plazinske and Rolfe, 1985). Benzer şekilde, Burdman et al. (1997) *Azospirillum* etkisinin bu orana bağlı olarak değiştiğini görmüştür.

Mekanizma tam olarak belirlenmemiş olsa da, *Azospirillum*'un genelde baklagillerde ve özelde fasulyede nodülasyonu ve bitki büyümesini iyileştirdiği bir gerçektir. Bu etkinin, örneğin fasulyede, fasulye çeşitlerinden bağımsız olduğu belirlenmemiştir. Başka bir deyişle, “*Azospirillum*, çeşit farkı gözetilmeksizin fasulye nodülasyonunda ve bitki büyümesinde benzer etkiler gösterir” hipotezi test edilmemiştir.



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bakteri Kùltürleri

Denemede, a. *Rhizobium tropici* (USDA 9030, yabancı tip); b. *Rhizobium etli* (USDA 9032, yabancı tip); c. *Azospirillum brasilense* Sp7 (ATCC 29145, yabancı tip) bakteri kùltürleri kullanılmıştır. Bakterilerden ilk ikisi, Meksika kökenli olup (Martinez-Romero et al., 1991; Segavio et al., 1993) A.B.D. Tarım Bakanlığı'nda (USDA/ARS Beltsville *Rhizobium* Germplasm Collection, Beltsville, MD) çalışan Dr. Van Berkum tarafından temin edilmiştir. *A. brasilense* Sp7 ise Brezilya kökenli olup Almanya'dan (Universitat Köln, Gyrhofstr, FRG) Dr. Zimmer tarafından sağlanmıştır.

##### 3.1.2. Fasulye Çeşitleri

Araştırmada, a. Şahin-90; b. ES-1286; c. 85-AK-38 (Horoz); d. Erzurum şeker ve e. Karacaşehir tescilli fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşitleri kullanılmıştır. Bu çeşitlerden ilk dördü, bodur tipte olup karacaşehir yarı sarılıcıdır. Şahin-90, ES-1286 ve horoz çeşitlerinin tohumları beyaz, büyük ve böbrek şeklindedir. Erzurum şeker tohumları beyaz, orta-boy ve tombul olup karacaşehir tohumları beyaz ve küçüktür. Tüm çeşitler Orta ve Güney Amerika kökenli olup Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nde çalışan Arş. Gör. Oral Düzdemir (Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Tokat) tarafından temin edilmiştir.

##### 3.1.3. Bitki Besiyeri Malzemeleri

Kullanılan kum [pH: 6.5; Toplam Azot (mg N kg<sup>-1</sup>): 12; Organik Madde (%): 0.01] daha önce Taşlıçiftlik Kampüsü (Tokat) arazisinde depo edilmişti. Çimlendirmede kullanılan torf Klasman-Deilmann GmbH (Almanya) şirketinden sağlanmıştır [pH: 6.0; N (mg L<sup>-1</sup>): 210; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (mg L<sup>-1</sup>): 220; K<sub>2</sub>O (mg L<sup>-1</sup>): 300; Organik Madde (%): 60]. Perlit



inşaat işlerinde kullanılan standart bir malzemeydi.

### 3.2. Mikrobiyal Kültürlerin Hazırlanması

*Rhizobium* kültürleri yeast mannitol agarda (Weaver and Graham, 1994; Ek 1a) 30 °C'de 48 s boyunca geliştirilmiştir. Hücreler steril bir pipetle yüzeyden toplanmış ve steril tuz çözeltisinin içine (8.5 g NaCl · L<sup>-1</sup>) alınmıştır. *Rhizobium* hücrelerini kapsayan süspansiyon çalkalanmış ve optik yoğunluk değerleri spektrofotometrede 630 nm'de okunmuştur. Daha önce *Rhizobium* kültürleri benzer büyüme koşullarında yetiştirilmiş, optik yoğunluk değerleri kaydedilmiş, popülasyon yoğunluğu plak sayımı yöntemiyle (Zuberer, 1994) belirlenmiş ve sonuç olarak bir kalibrasyon eğrisi elde edilmişti. Bu eğrinin yardımıyla bakteri içeren süspansiyonlar steril tuz çözeltisiyle seyreltilmiş ve öngörülen bakteri yoğunlukları [10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, ve 10<sup>8</sup> koloni oluşturan birim (kob) ml<sup>-1</sup>] elde edilmiştir. Bu süspansiyonlarda bulunan *R. tropici* ve *R. etli* hücre sayıları birbirlerine eşittir, başka bir deyişle, süspansiyonlardaki *R. tropici* : *R. etli* oranı 1:1'dir. Bakteri yoğunlukları, aşılama esnasında, süspansiyonlardan örnek alınarak plak sayımı yöntemiyle belirlenmiş ve yaklaşık kalibrasyon eğrisinden hesaplanan değerler elde edilmiştir. Bakteri süspansiyonları aşılamaya kadar 2 s süreyle +4 °C'de bekletilmiştir. Saf *Rhizobium* kültürleri % 20'lik gliserol solüsyonunda -70 °C'de saklanmaktadır.

*Azospirillum* kültürü sıvı malat minimal besiyerinde (Okon et al., 1977; Ek 1b) 30 °C'de 24 s boyunca geliştirilmiştir. Hücreleri içeren sıvı besiyeri 3000 ×g'da 5 dak santrifüj edilmiş ve üzerindeki alikot dökülerek yerine steril tuz çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra hücreleri içeren süspansiyon çalkalanmıştır. Santrifüj etme, steril tuz çözeltisi ilave etme ve çalkalama işlemleri iki kez tekrar edilmiş ve ortaya çıkan süspansiyonun optik yoğunluk değeri 630 nm'de okunmuştur. Daha önce *Azospirillum* kültürü benzer büyüme koşullarında yetiştirilmiş, optik yoğunluk değeri kaydedilmiş, popülasyon yoğunluğu en muhtemel sayı yöntemiyle (Okon et al., 1977) belirlenmiş ve sonuç olarak bir kalibrasyon eğrisi elde edilmişti. Bu eğrinin yardımıyla bakteri içeren süspansiyonlar steril tuz çözeltisiyle seyreltilmiş ve öngörülen bakteri yoğunlukları [10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, ve 10<sup>8</sup> kob

ml<sup>-1</sup>] elde edilmiştir. Mikrobiyal aşının bakteri yoğunluğu aşılama esnasında *Rhizobium*'dakine benzer şekilde kontrol edilmiştir. Bakteri süspansiyonu ve saf bakteri kültürü için saklama koşulları *Rhizobium*'da belirtildiği gibidir.

### 3.3. Tohumların Çimlendirilmesi ve Aşılama

Çimlendirme için kullanılan torf 120 °C sıcaklık ve 1 bar basınç altında 45 dak süreyle sterilize edilmiştir. Tohum çimlendirme viyollerinden yeterli miktarda alınarak yüzey sterilizasyonu yapmak için, % 10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinin içerisinde 3 saat tutulmuş ve daha sonra steril suyla iyice durulanmıştır. Sterilize edilmiş torfdan viyollerin içine yeter miktarda aktarılmıştır. Torfun pH'sı sterilizasyondan sonra nötre yakın olduğu için herhangi bir kireçleme gereksinimi olmamıştır.

Fasulye tohumları önce % 95'lik etil alkolde 2 dak, sonra da % 1'lük sodyum hipoklorit çözeltisinde 1 dak süreyle yüzey sterilizasyonuna tabii tutulmuştur. Yüzey sterilize edilmiş tohumlar 6 kez steril saf sudan geçirilerek herhangi bir kimyasal kalıntısının çimlenme üzerindeki yan etkileri önlenmeye çalışılmıştır. Tohumlar steril torfun içine ekilerek (ekim tarihi: 21-05-1999) 4 gün çıkış için beklenmiş ve daha sonra aşılama geçilmiştir. Bu esnada, sulama sterilize edilmiş suyla pulverize olarak yapılmıştır.

Steril bir pipetle *Azospirillum* ve *Rhizobium* süspansiyonlarından birer ml alınarak bitki kök boğazına verilmiştir. Kontrol uygulamalarına steril tuz çözeltisi (1 ml) ilave edilmiştir. Deney 2 faktör (*Azospirillum* yoğunluğu ve *Rhizobium* yoğunluğu) içeren genelleştirilmiş tesadüf blokları (fasulye çeşitleri) deneme desenine göre yapılmıştır. Denemede her bir uygulama için 3 tekerrür vardır. Bu tür bir deneme deseni blok×uygulama etkileşimini belirleyebilmek için önerilmiştir (Aaron, 1996). Denemede yer alan blok ve faktörler;

Fasulye çeşitleri:	şeker, ES-1280, karacaşehir, horoz ve şahin-90
<i>Azospirillum</i> yoğunluğu:	A0, A6, A7 ve A8 (0, 10 <sup>6</sup> , 10 <sup>7</sup> ve 10 <sup>8</sup> kob ml <sup>-1</sup> )

*Rhizobium* yoğunluğu: R0, R6, R7 ve R8 (0,  $10^6$ ,  $10^7$  ve  $10^8$  kob ml<sup>-1</sup>)  
şeklindedir.

Tohumları torf içerisinde çimlendirmede ve aşılamaadaki amaç bitki kökleri, torf ve mikroorganizmalar arasında iyi bir fiziksel temas sağlamaktır. Bitki gelişme yeri olarak kullanılacak olan kum-perlit karışımı, sulama esnasında bakterilerin aşağı doğru yıkanmasını engelleyemezdi. Öte yandan torf negatif yüklü mikroorganizmaları katyon köprülenmesi yoluyla yıkanmaya karşı büyük ölçüde korur. Ayrıca, aşılama mikroorganizmalar herhangi bir yarışmaya maruz kalmadan kolonizasyon ve nodülasyon yapabileceklerinden, bitki yetişmesi sırasında çıkabilecek yabancı mikroorganizmaların (özellikle *Rhizobium* suşlarının) rizosfer ve nodülasyon üzerindeki etkinliği bu yolla önemli ölçüde azaltılmış olacaktır. Bitkiler ekimden bir hafta sonra, önceden hazırlanmış naylon sera içerisindeki saksılara alındı.

Denemede kullanılan *Rhizobium* : *Azospirillum* oranı 1 : 100 ile 100 : 1 arasında değişmektedir. İkili aşılamaalarda *Rhizobium* : *Azospirillum* oranı çok önemlidir ve bu oranın 1 : 1000 'in altına indiği, başka bir deyişle *Rhizobium* yoğunluğunun *Azospirillum*'unkine göre çok az olduğu durumlarda nodül oluşumu engellenmekte ve hatta durmaktadır (Plazinski and Rolfe, 1985).

### 3.4. Bitki Besiyerinin Hazırlanması ve Bitki Gelişimi

Deneyde kullanılacak saksılar, % 10'luk sodyum hipokloritle doldurulmuş 80 L hacimli plastik kovaların içine 24 saat boyunca bırakılmıştır. Saksılar herhangi bir durulama işlemi yapılmadan deneyin yapılacağı yere götürülmüştür. Sonrasında, deney için yeterli miktarda kum ve perlit alınarak kum:perlit oranı 3:1 olacak şekilde karıştırıldı. Kum-perlit karışımı büyükçe bir naylonun içine alınmıştır. Yaklaşık deneyde kullanılacak hacimdeki bir materyalin sterilizasyonu için önerilen 0.450 ml metil bromid kutusu dışarıyla gaz alışverişi naylon yardımıyla kesilmiş olan kum-perlit karışımının içinde patlatıldı. Üç gün boyunca metil bromitin kum-perlit karışımıyla temasına müsaade

edilmiştir. Sonrasında, naylon açılarak kum-perlit karışımı yüzey sterilizasyonu yapılmış saksıların (yaklaşık 3.0 L hacimli) içine belirli bir hacimde alınmıştır. Saksılar, mikrobiyal bulaşmayı da getirebilecek yağmur ve olumsuz hava koşullarına karşı tabanı naylonla kapatılmış bir naylon seraya alınmıştır.

Çimlenmiş fasulye bitkileri seraya getirilmiş ve her biri torfla birlikte viyollerinden çıkarılarak, her bir saksıya bir bitki olacak şekilde saksılara alınmıştır. Bu sırada, çapraz bulaşmaları önlemek için gerektiğinde dikim sırasında kullanılan steril eldiven bir yenisiyle değiştirilmiştir. Kum ve torf belirli miktarlarda azot içerdiğinden, saksılara deney boyunca azot ilavesi yapılmamıştır. Mineral azotun nodülasyonu ve azot fiksasyonunu engellediği bilinmektedir (Havelka et al., 1982).

Seyreltik bitki besinleri solüsyonu (Weaver and Danso, 1994; Ek 1c), aşılınmış mikroorganizmaların bitki kök sisteminden uzaklaşabileceği kaygısıyla saksı altlıklarından haftada 4 gün sulama gerekikçe verilmiştir. Kalan günlerde ihtiyaç oldukça saf suyla sulama yapılmıştır. Seyreltik bitki besinleri solüsyonu ve saf su her bir saksıya eşit miktarlarda verilmiştir. Bitki büyümesi ekimden itibaren 7 hafta devam etmiştir.

### 3.5. Hasat

Bitki büyümesi tamamlandıktan sonra saksılardan kum-perlit karışımı ve bitkiler dikkatlice çıkarılmıştır. Köklere yapışan kum ve perlit parçacıkları kök ve nodül kaybını en aza indirecek şekilde yerlerinden çıkarılmıştır. Torf parçacıkları, özellikle bitkide azot tayinini olması gerekenden yüksek gösterebileceğinden büyük bir özenle köklerden ayrılmıştır. Bu işlem sırasında gerektiğinde kökler saf su bulunan kovaya daldırılmıştır. Kök temizleme işlemi, köklerde herhangi bir yabancı madde kalmayınca kadar devam ettirilmiştir. Bitkilerin fotoğrafı çekilmiş (Ek 2) ve her biri bir kese kağıdının içine konarak uygulamanın adı ve tekrar numarası kağıdın üstüne kaydedilmiştir. Kese kağıtları laboratuara getirilerek içerisindeki bitkiler ileride açıklanan bazı ön işlemlere tabii tutulmuştur.

### 3.6. Bitki Analizleri

Bitkiler, önce kök boğazından maket bıçağıyla kök ve sap olmak üzere ikiye ayrıldı. Daha sonra, kök boğazından kök derinliğine doğru 5 cm ölçülerek kök, üst kök ve alt kök olmak üzere iki kısma ayrıldı. Her bir bitki için bitki boyu (kök boğazı ile ana gövdenin en üst noktası arası) metal mezüre yardımıyla cm cinsinden kaydedildi.

#### 3.6.1. Nodül Sayımı ve Tartımı

Bitkilerde nodül sayımı ve tartımı, hasadı takip eden 48 saat içerisinde ve herhangi bir kurutma olmaksızın tamamlanmıştır. Böylece nodüllerde su kaybından dolayı herhangi bir eksik sayım ya da tartı noksanlığı sonucu ortaya çıkabilecek deneysel hata en aza indirgenmiştir. Her bir bitkinin üst ve alt kök nodülleri elle ya da metal cımbızla köklerden çıkarılmış ve plastik petri kutularına alınmıştır. Çıkarılan nodüller sayılarak kaydedilmiştir.

Üst ve alt kök nodülleri darası alınmış petri kutularına aktarılarak hassas terazide ağırlıkları alınmıştır. Tartım hassasiyeti virgülden sonra üç sayı olacak şekilde yapılmıştır. Nodülleri çıkarılmış kökler ilgili kese kağıtlarına geri konulmuştur. Sayılan ve tartılan nodüller imha edilmiştir.

#### 3.6.2. Kök ve sap tartımı

Kök ve sap parçalarını bulunduran kese kağıtları 65 °C'deki kuru fırına alınmış ve bu sıcaklıkta 24 saat tutulmuştur. Bu kurutma koşulları bitki parçalarının sabit bir kuru ağırlığa ulaşması için yeterli olmuştur. Alt ve üst kök parçaları birleştirilerek sonraki analizlerde "kök" olarak değerlendirilmiştir. Bitkinin kuru kök ve sap ağırlıkları g cinsinden ve virgülden sonra 3 basamak olacak hassasiyette kaydedilmiştir.

### 3.6.3. Kök ve sap azot içeriklerinin belirlenmesi

Bitkinin kök ve sap kısımları ayrı ayrı öğütülerek küçük naylon poşetlere aktarılmış ve örnek kimliği naylonun üstüne kaydedilmiştir. İki öğütme arasında öğütücü bir fırça yardımıyla temizlenmiştir.

Toplam azot içeriği tayini için modifiye edilmiş Kjeldahl metodu (Bremner and Mulvaney, 1982) kullanılmıştır. Kısaca, 250 mg kurutulmuş öğütülmüş bitki örneği yakma tüplerinin içine alınarak, üzerine 10 ml asit karışımı (25 g salisilik asit 1000 ml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ve yaklaşık 2 g tuz karışımı (200 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 20 g CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O + 2 g Se) ilave edilmiştir. Tüpler yakma fırınına yerleştirilmiş ve yaklaşık 450 °C'de renk yeşilimsi gri oluncaya kadar yanmaya müsaade edilmiştir. Örnekler yakma fırınından alınarak bir başka çeker ocağa yerleştirilmiş ve belirli bir süre soğumaya bırakılmıştır. Sonrasında, bitki örneğini içeren tüp distilasyon aletinin ucuna takılmış ve yaklaşık 10 N NaOH 'den belirli bir miktar ilave edilerek 5 dak boyunca distilasyon işlemi yapılmıştır. Borik asit (20 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 1000 ml<sup>-1</sup> saf su) ve pembe indikatör (0,099 g bromkresol yeşili+0,066 g metil kırmızısı 100 ml<sup>-1</sup> etanol) karışımı içerisinde toplanan amonyak miktarı titrimetrik yöntemle, 0,01 N HCl ve kontrol kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar daha sonra kuru madde üzerinden % N şekline dönüştürülmüş ve bu şekilde rapor edilmiştir.

### 3.7. İstatistiksel analizler

Veriler iki faktör (*Rhizobium* seviyeleri ve *Azospirillum* seviyeleri) içeren genelleştirilmiş tesadüf blokları (fasulye çeşitleri) deneme desenine göre varyans analizine tabii tutulmuştur. Elde edilen F değerleri önem derecelerine göre (p<0.01; p<0.05; önemsiz) rapor edilmiştir. Ayrıca, her bir çeşide ait varyans analizinde elde edilmiş sonuçlar topluca Ek 3'de verilmiştir.

*Azospirillum*, *Rhizobium* ve fasulye çeşitlerinin ortalamaları kendi aralarında en az önemli fark (Least significant difference-LSD) yöntemiyle p<0.05 önem derecesinde

karşılaştırılmış ve sonuçlar, ortalama değerleriyle birlikte alfabetik olarak rapor edilmiştir.

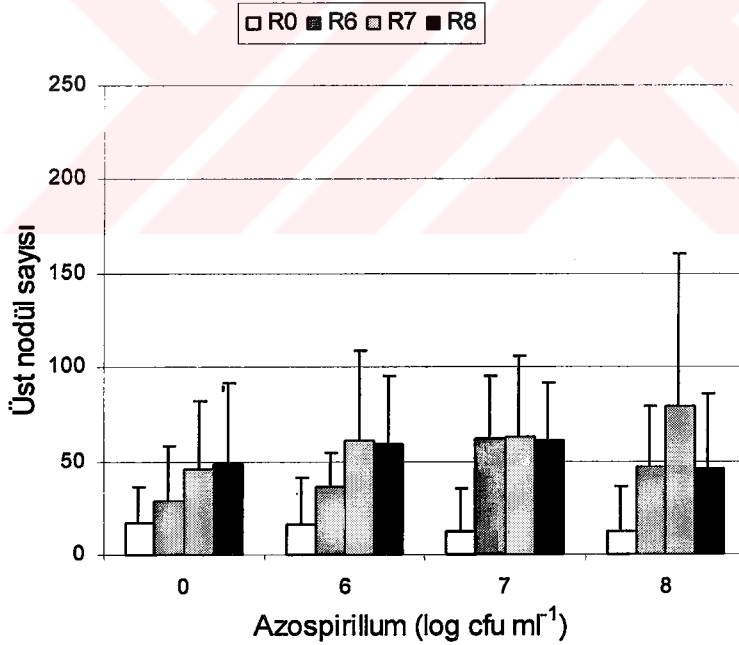
Eğim karşılaştırmaları (trend comparison) sadece sayısal faktörlerde yapılabildiğinden, bu karşılaştırmalar sadece *Azospirillum* ve *Rhizobium* faktörleri için yapılmıştır. Bu tür karşılaştırmalarda birbirini takip eden faktör seviyeleri arasında eşit mesafe olması gerektiğinden, analizde A0 ve R0 seviyeleri dışarıda bırakılarak *Azospirillum* ve *Rhizobium* faktörlerinin sadece  $10^6$ ,  $10^7$  ve  $10^8$  kob ml<sup>-1</sup> seviyeleri alınmıştır. Bu seviyeler logaritmik ıskalada eşit aralıklı (6, 7 ve 8) olarak dizilmiştir. Birinci ve ikinci derece polinom etkileri ve bunların arasındaki etkileşimler için t değerleri önem derecelerine göre ( $p<0.01$ ;  $p<0.05$ ; önemsiz) rapor edilmiştir. Bu işlem her bir veri ve fasulye çeşidi için tekrarlanmıştır. Tüm istatistiksel analizler SPSS 6.1 programında yapılmıştır.



## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

### 4.1. Üst Nodül Sayısı

A0 ve A6 *Azospirillum* uygulamalarında *Rhizobium* seviyesi arttıkça üst nodül sayısı, sırasıyla, kontrolde (R0 seviyesi) ortalama 16,9'dan R8 seviyesinde 48,2'ye ve R0 seviyesinde ortalama 16,2'den R8 seviyesinde 59,2'ye çıkmıştır (Şekil 4.1.1.). A7 uygulamasında *Rhizobium* aşılması üst nodül sayısını artırmış fakat *Rhizobium* seviyeleri arasında önemli bir farka neden olmamıştır. A8 seviyesinde *Rhizobium* uygulaması R0 seviyesinde 12,0 olan üst nodül sayısını R7 seviyesinde yaklaşık 7'ye katlamış fakat R8 uygulaması üst nodül sayısını tekrar düşürmüştür.



Şekil 4.1.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında üst nodül sayısı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Varyans analizinde *Rhizobium* faktörü çok önemli fakat *Azospirillum* faktörü önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.1.1.). LSD testine göre, ortalama en yüksek nodül sayısı R7



Tablo 4.1.1. Üst nodül sayısına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,87**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	23,78**
Çeşit	4	7,70**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	2,25*
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	2,07*
<i>Azosp</i> × <i>Rhizo</i> ×Çeşit	36	1,64*

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

Tablo 4.1.2. Üst nodül sayısına ait ortalamalar

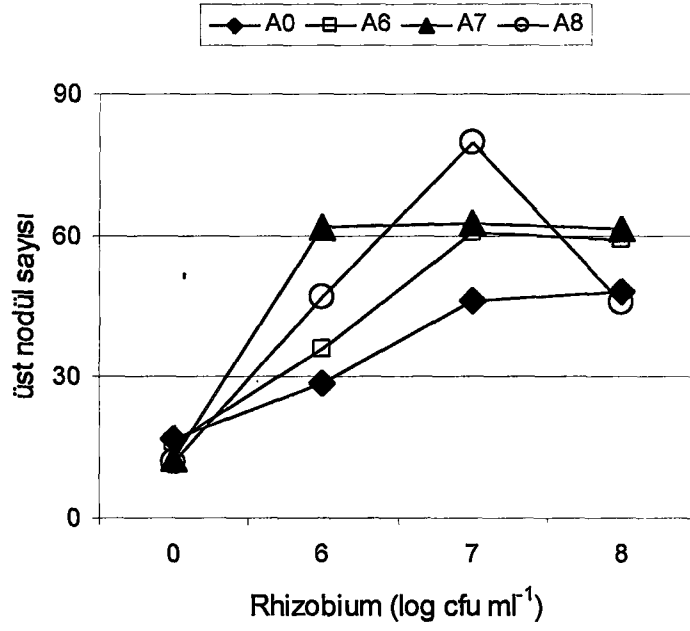
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	14,4 <sup>c</sup>	A0	34,9	Şeker	64,5 <sup>a</sup>
R6	42,9 <sup>b</sup>	A6	42,8	ES-1280	42,0 <sup>b</sup>
R7	61,9 <sup>a</sup>	A7	49,1	K.şehir	44,6 <sup>b</sup>
R8	53,5 <sup>ab</sup>	A8	46,0	Horoz	31,4 <sup>b</sup>
				Şahin-90	33,3 <sup>b</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst-simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

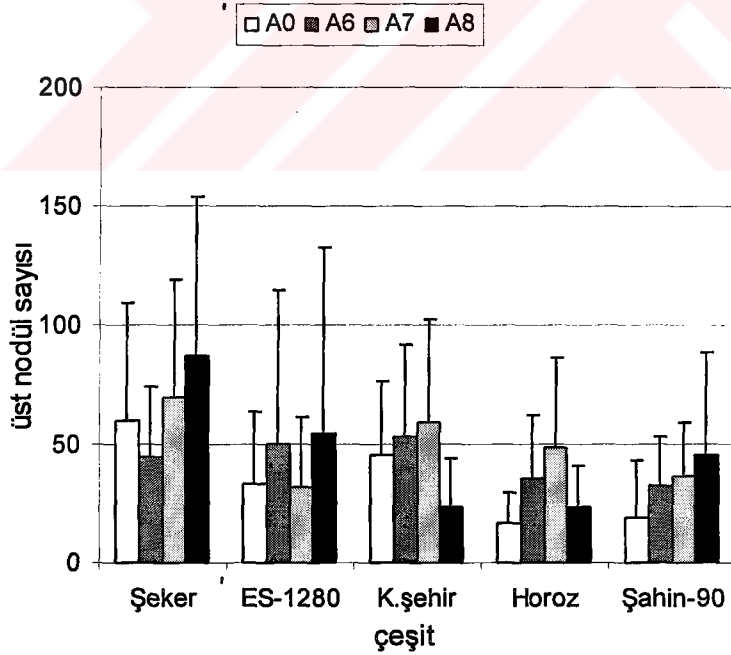
seviyesinde çıkmasına rağmen R7 ve R8 seviyeleri arasında fark yoktur (Tablo 4.1.2.).

*Rhizobium* uygulamaları R7 seviyesine kadar üst nodül sayısını artırmış ve daha sonra üst nodül sayısı *Azospirillum* seviyesine göre değişik bir eğilime girmiştir (Şekil 4.1.2.) *Azospirillum* uygulamasının her ne kadar A7 dozuna kadar üst nodül sayısını herhangi bir *Rhizobium* seviyesi için artırma eğiliminde olduğu görülse de, genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.1.1.).

Çeşit faktörü varyans analizinde çok önemli bulunmuş (Tablo 4.1.1.) ve LSD testine göre ortalama en yüksek nodül sayısı şeker çeşidinde çıkmıştır (Tablo 4.1.2.). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, karacaşehir ve horoz çeşitlerinde A7 seviyesine kadar artan, sonra tekrar azalan bir eğilim vardır (Şekil 4.1.3.). Artan *Azospirillum* uygulamaları üst nodül sayısını şahin-90'da artırırken, şeker ve ES-1280 çeşitlerinde belirgin bir trende neden olmamıştır. *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi önemli çıkmıştır (Tablo 4.1.1.). *Azospirillum* uygulamasının birinci derece polinomları



Şekil 4.1.2. Üst nodül sayısında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi



Şekil 4.1.3. Üst nodül sayısında *Azospirillum*-Çesit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

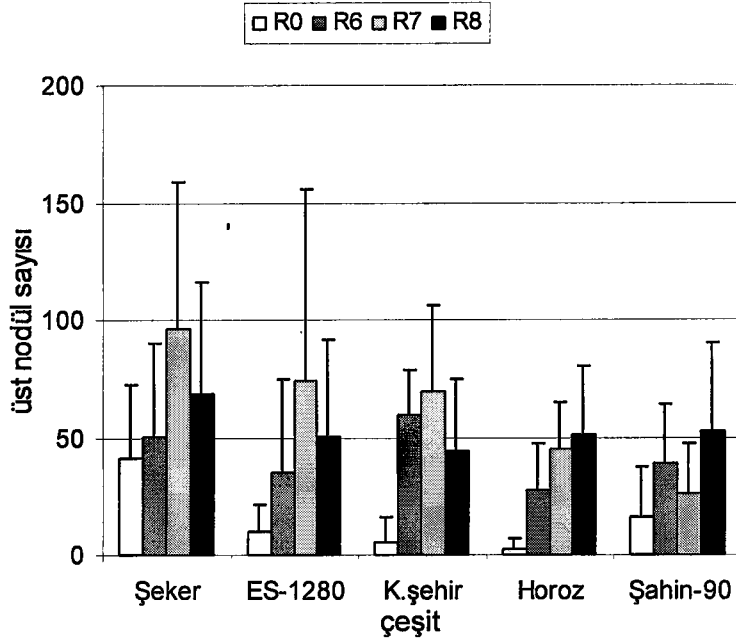
şeker, karacaşehir, ve horoz çeşitlerinde, ikinci derece polinomları Karacaşehir ve horoz'da önemli çıkmıştır (Tablo 4.1.3.). Eğilim karşılaştırmalarında, ES-1280 ve şahin-90 çeşitlerinin dışında kalan tüm çeşitlerde *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarının değişik polinomları arasında önemli ya da çok önemli etkileşimler gözlenmiştir.

Tablo 4.1.3. Üst nodül sayısına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	-	-	4,07 **	öd
$R_I$	-3,45 **	-	-	-	-
$A_B$	2,72 *	-	-3,54 **	-2,48 *	-
$A_I$	-	öd	-3,78 **	-4,32 **	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	3,00 **	-	-	-	-
$R_I \times A_B$	-3,87 **	-	2,77 *	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-2,21 *	-

<sup>B,I</sup> Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*,\*\*.: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

*Rhizobium* faktörü açısından bakıldığında, Şeker, ES-1280, ve Karacaşehir çeşitlerinde R7 seviyesine kadar bir artış gözlenmiş, fakat, R8 seviyesi üst nodül sayısını tekrar geri düşürmüştür (Şekil 4.1.4.). Artan *Rhizobium* uygulamaları horoz çeşidinde bir artışa neden olurken Şahin-90 çeşidinde anlaşılabilir bir trend vermemiştir. *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi varyans analizinde önemli bulunmuştur (Tablo 4.1.1.). *Rhizobium* uygulamasının birinci derece polinomu horoz çeşidinde ve ikinci derece polinomu şekerde önemli çıkmıştır (Tablo 4.1.3.). İkinci derece polinomlar Karacaşehir ve horozda, üçüncü derece polinom ise ancak şeker çeşidinde önemli bulunmuştur. *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi genel modelde önemli bulunmuştur (Tablo 4.1.1.).

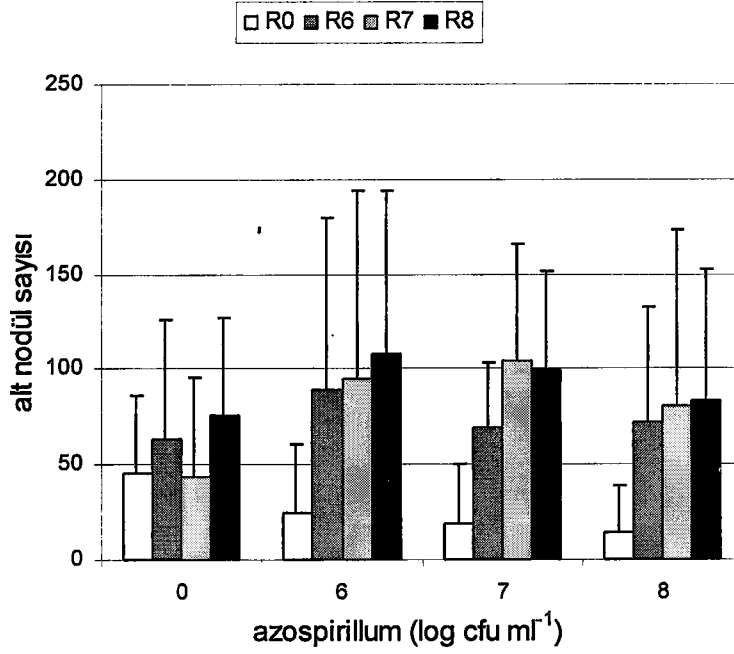


Şekil 4.1.4. Üst nodül sayısında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

## 4.2. Alt Nodül Sayısı

Tüm *Azospirillum* uygulamalarında R6 uygulaması alt nodül sayısında önemli bir artışa neden olmuştur (Şekil 4.2.1). R6 uygulaması, A0, A6, A7, ve A8 uygulamalarında, kontrolde (R0) sırasıyla 45,2; 24,7; 19,4; ve 14,6 olan alt nodül sayısını 63,6; 89,2; 69,1; ve 72,1'e çıkarmıştır. Sonrasında R7 ve R8 uygulamalarında *Azospirillum* seviyesine bağlı olarak önemsiz artma ya da azalmalar gözlenmiştir.

Varyans analizinde, *Rhizobium* faktörü çok önemli fakat *Azospirillum* faktörü önemsiz çıkmıştır (Tablo 4.2.1.). LSD testi *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark bulmuş, ancak, *Rhizobium* uygulamaları arasında herhangi bir fark



Şekil 4.2.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında alt nodül sayısı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Tablo 4.2.1. Alt nodül sayısına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,58**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	16,16**
Çeşit	4	5,81**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	3,34**
Azosp×Rhizo×Çeşit	36	1,67*

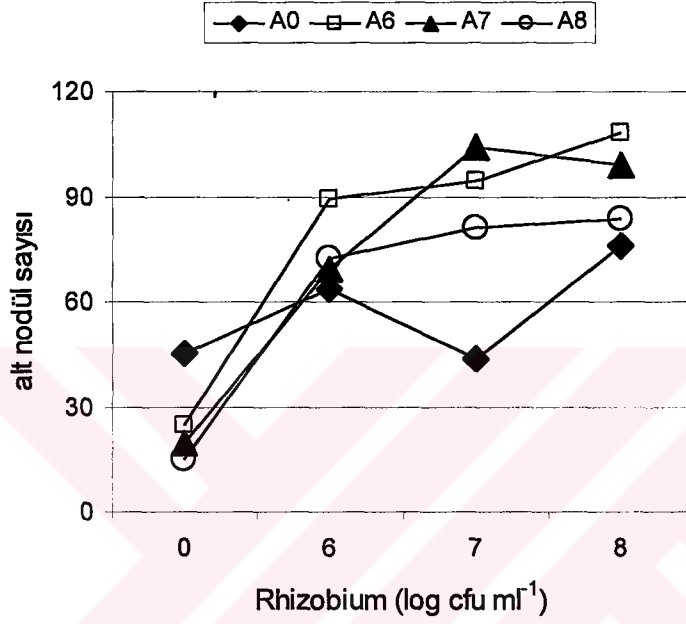
\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

Tablo 4.2.2. Alt nodül sayısına ait ortalamalar

<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	26,1 <sup>b</sup>	A0	57,1	Şeker	72,6 <sup>ab</sup>
R6	73,3 <sup>a</sup>	A6	78,5	ES-1280	89,6 <sup>a</sup>
R7	80,7 <sup>a</sup>	A7	72,5	K.şehir	60,1 <sup>b</sup>
R8	91,5 <sup>a</sup>	A8	62,6	Horoz	37,8 <sup>c</sup>
				Şahin-90	78,2 <sup>ab</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst-simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

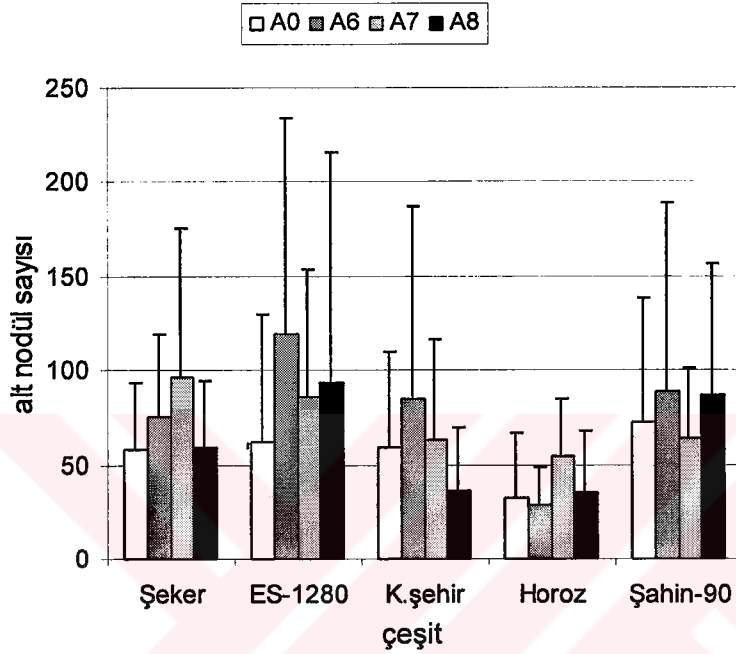
çıkamamıştır (Tablo 4.2.2.). *Rhizobium* uygulamaları, alt nodül sayısını R7 seviyesine kadar artırmış daha sonrasında herhangi bir etkiye neden olmamıştır (Şekil 4.2.2.). Kontrol (R0) uygulamasında belirgin herhangi bir trend yoktur. Genel modelde, *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamaları arasındaki etkileşim önemsiz çıkmıştır (Tablo 4.2.1.).



Şekil 4.2.2. Alt nodül sayısında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

Çeşit faktörü varyans analizinde çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.2.1.). ve LSD testine göre en yüksek alt nodül sayısı ES-1280'de çıkmıştır (Tablo 4.2.2.). LSD testi, ES-1280, şeker, ve Şahin-90 çeşitlerinin ortalamaları arasında herhangi bir fark olmadığını göstermiştir. *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, Şeker, ES-1280, ve karacaşehir çeşitlerinde *Azospirillum* uygulaması belirli bir seviyeye göre alt nodül sayısını artırmış, daha sonra düşürmüştür (Şekil 4.2.3.). Bu seviye, şeker çeşidinde A7; ES-1280 ve karacaşehir çeşitlerinde A6'dır. Horoz ve Şahin-90 çeşitlerinde belirgin bir trend yoktur. *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi genel modelde önemsiz çıkmıştır (Tablo 4.2.1.). *Azospirillum* uygulamasının birinci derece polinomu karacaşehir çeşidinde, ikinci derece polinomu şeker ve horoz çeşitlerinde önemli bulunmuştur (Tablo 4.2.3.). Şeker ve ES-1280

dışında kalan çeşitlerde bazı *Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomlarının etkileşimi önemli çıkmıştır.



Şekil 4.2.3. Alt nodül sayısında *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

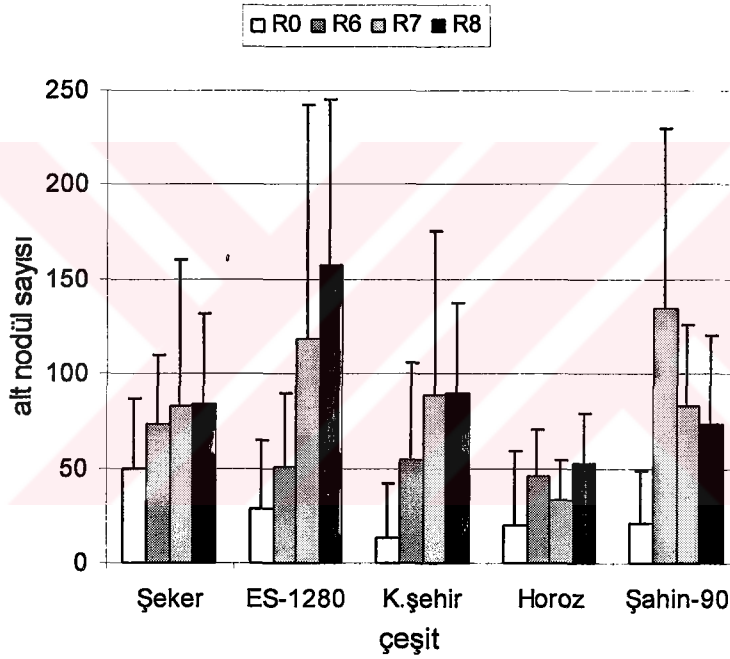
Tablo 4.2.3. Alt nodül sayısına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	2,71 *	-	-	-3,47 **
$R_I$	-	-	-	2,61 *	-
$A_B$	-	-	-2,27 *	-	-
$A_I$	-2,33 *	-	-	-4,67 **	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	-2,55 *
$R_I \times A_B$	-	-	2,33 *	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-

$B, I$ , Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

*Rhizobium* faktörü açısından bakıldığında, artan *Rhizobium* uygulamasıyla alt

nodül sayısı ES-1280 çeşidinde sürekli artmış; karacaşehir ve şeker çeşitlerinde A7 seviyesine kadar artmış, daha sonra sabit kalmıştır (Şekil 4.2.4.). Şahin-90 çeşidinde A6 seviyesinden sonra bir düşme gözlenirken, horozda belirgin herhangi bir trend yoktur. Genel modelde *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.2.1.). *Rhizobium* uygulamasının birinci derece polinomu ES-1280 ve şahin-90 çeşitlerinde ikinci derece polinomu horoz çeşidinde önemlidir (Tablo 4.2.3.). Varyans analizinde *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemli çıkmıştır (Tablo 4.2.1.).

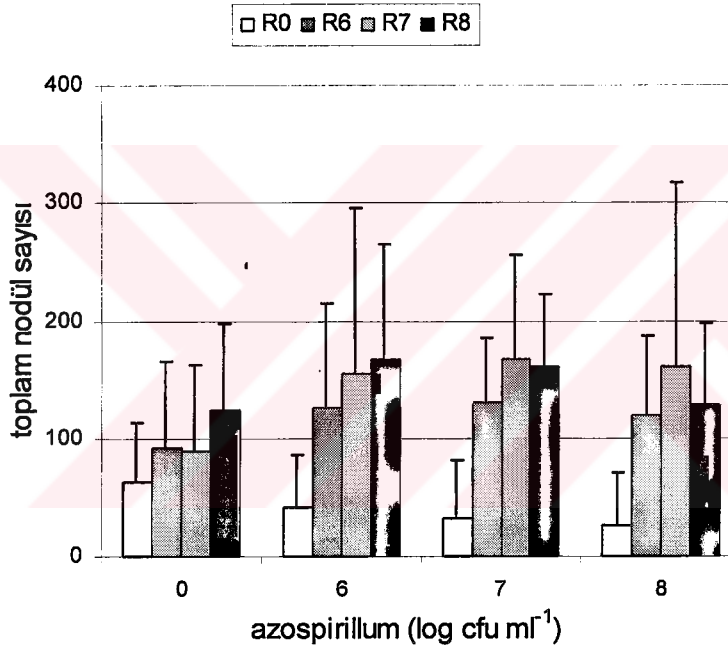


Şekil 4.2.4. Alt nodül sayısında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)



### 4.3. Toplam Nodül Sayısı

*Rhizobium* uygulaması, A0 uygulaması dışındaki tüm *Azospirillum* seviyelerinde, R7 seviyesine kadar artışa neden olmuştur (Şekil 4.3.1.). Toplam nodül sayısı A6, A7, ve A8 uygulamalarının R0 seviyesinde sırasıyla, 40,9; 31,8; ve 26,6 iken R6 seviyesinde bu değerler sırasıyla, 155,0; 166,6; ve 160,3'tür. A0 uygulamasında, toplam nodül sayısı R6 seviyesine kadar yükselmiş (88,5) ve R7 seviyesinde de sabit kalmıştır. Daha sonrasında (R8 seviyesinde) A0 ve A8 uygulamaları hariç belirgin bir artış ya da azalış yoktur.



Şekil 4.3.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında toplam nodül sayısı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Varyans analizinde *Azospirillum* faktörü önemsiz bulunurken *Rhizobium* faktörü çok önemli çıkmıştır (Tablo 4.3.1.). LSD testine göre, *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark çıkmış fakat *Rhizobium* uygulamaları arasında herhangi bir fark çıkmamıştır (Tablo 4.3.2.). *Rhizobium* uygulamaları, alt nodül sayısını, A0 seviyesi hariç, R7 uygulamasına kadar artırmıştır (Şekil 4.3.2.). Sonrasında (R8), A6 ve A7

seviyelerinde sabit kalmış ve A8 seviyesinde düşmüştür. Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.3.1.).

Çeşit faktörü, varyans analizinde çok önemli bulunmuş (Tablo 4.3.1.) ve LSD testine göre şeker, ES-128 ve şahin-90 çeşitleri arasında herhangi bir fark çıkmamıştır. (Tablo 4.3.2.). En düşük toplam nodül sayısına sahip çeşit horozdur. *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, toplam nodül sayısı bazı çeşitlerde belirli bir *Azospirillum* seviyesine kadar artmış sonrasında azalmıştır (Şekil 4.3.3.). En yüksek seviyeler, şeker ve horozda A7; karacaşehirde A6'dır. ES-1280 ve şahin-90 çeşitlerinde belirgin bir trend yoktur. Genel modelde, *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi önemsiz çıkmıştır (Tablo 4.3.1.). *Azospirillum* uygulamasının birinci derece polinomu karacaşehir; ikinci derece polinomu sadece şeker ve horozda önemli çıkmıştır (Tablo 4.3.3.). *Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomları arasında sadece şeker ve karacaşehir çeşitlerinde bazı etkileşimler gözlenmiştir.

Tablo 4.3.1. Toplam nodül sayısına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

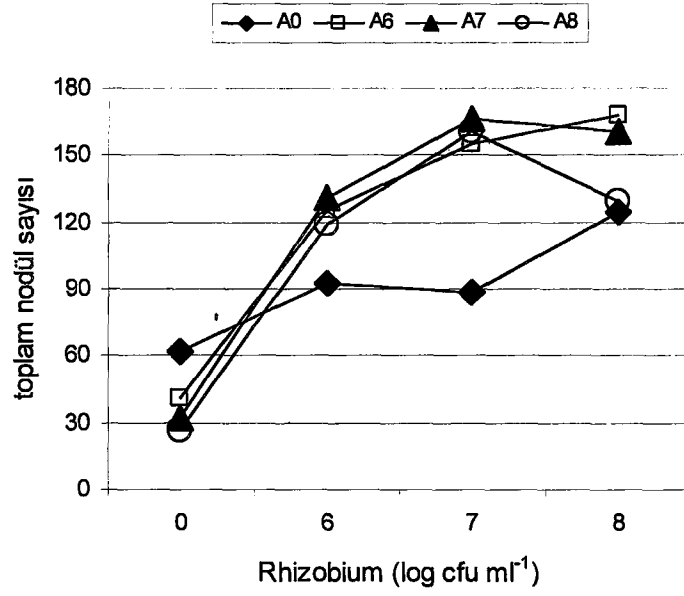
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,95**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	26,50**
Çeşit	4	6,21**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	2,65**
Azosp×Rhizo×Çeşit	36	1,68*

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

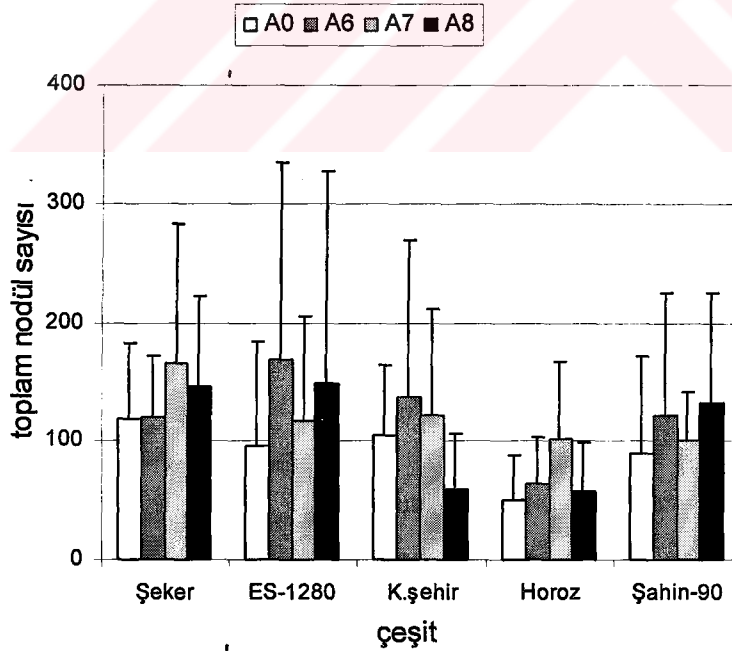
Tablo 4.3.2. Toplam nodül sayısına ait ortalamalar

<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	40,6 <sup>b</sup>	A0	91,7	Şeker	137,1 <sup>a</sup>
R6	116,3 <sup>a</sup>	A6	121,3	ES-1280	131,6 <sup>a</sup>
R7	142,3 <sup>a</sup>	A7	121,7	K.şehir	104,8 <sup>ab</sup>
R8	145,0 <sup>a</sup>	A8	108,6	Horoz	69,2 <sup>b</sup>
				Şahin-90	111,1 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur



Şekil 4.3.2. Toplam nodül sayısında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi



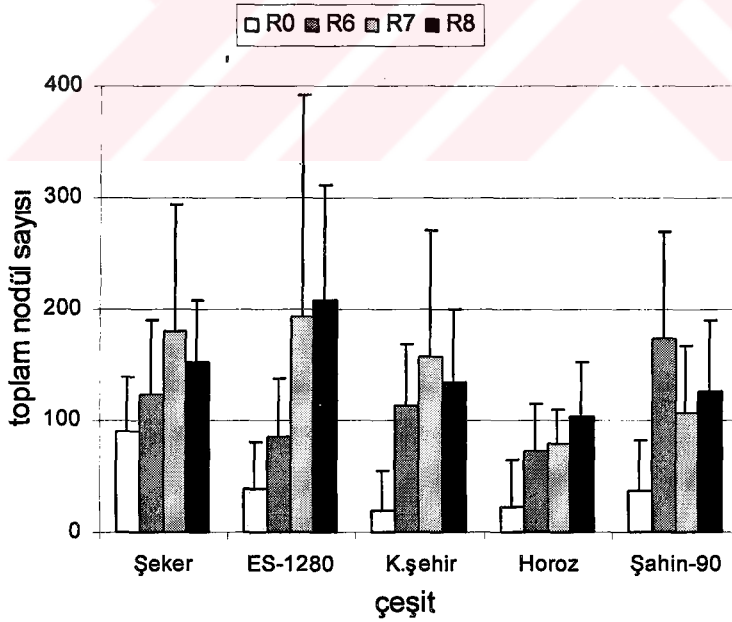
Şekil 4.3.3. Toplam nodül sayısında *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

*Rhizobium* faktörü açısından bakıldığında, toplam nodül sayısı şahin-90 çeşidinin dışında kalan çeşitlerde R7 seviyesine kadar yükselmiştir (Şekil 4.3.4.). Sonrasında daha önemsiz artış ya da azalışlar gözlenmiştir. Şahin-90 çeşidinde belirgin trend yoktur. Genel modelde, *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi çok önemlidir (Tablo 4.3.1.). *Rhizobium*'un birinci derece polinomları sadece horoz ve şahin-90'da önemlidir. (Tablo 4.3.3.).

Tablo 4.3.3. Toplam nodül sayısına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	-	-	3,53 **	-2,88 **
$R_I$	-	-	-	-	-
$A_B$	-	-	-3,22 **	-	-
$A_I$	-2,24 *	-	-	-5,88 **	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_B$	-2,36 *	-	3,03 **	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-

B, I. Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

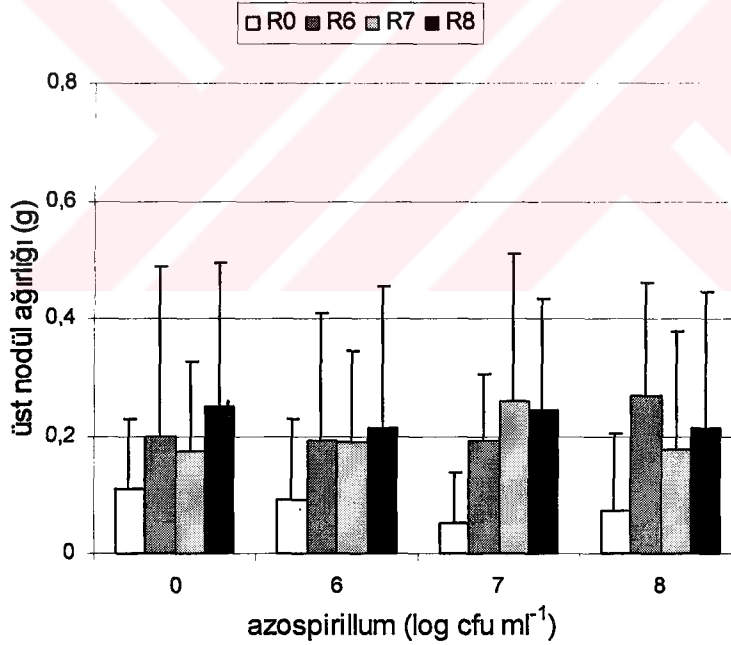


Şekil 4.3.4. Toplam nodül sayısında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

*Rhizobium*un ikinci derece polinomları ise tüm çeşitlerde önemsiz bulunmuştur. Varyans analizinde *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit önemli çıkmıştır (Tablo 4.3.1.).

#### 4.4. Üst Nodül Ağırlığı

*Rhizobium* uygulaması (R6) üst nodül ağırlığını önemli ölçüde artırmıştır (Şekil 4.4.1.). A0, A6, A7, ve A8 uygulamalarının kontrollerinde (R0) üst nodül ağırlığı, sırasıyla, 0,110; 0,091; 0,053; ve 0,072 g iken bu değerler R6 seviyesinde 0,199; 0,191; 0,191; ve 0,269 g değerlerine ulaşmıştır. Daha yüksek *Rhizobium* seviyelerinde, A7 uygulaması hariç, küçük ya da büyük azalmalar gözlenmiştir. *Azospirillum* uygulamaları arasında belirgin bir fark yoktur.



Şekil 4.4.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında üst nodül ağırlığı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Varyans analizinde, daha önceki verilerde olduğu gibi, *Azospirillum* faktörü önemsiz, *Rhizobium* faktörü çok önemli çıkmıştır (Tablo 4.4.1.). LSD testine göre, *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark yoktur (Tablo 4.4.2.).

Aynı şekilde, *Rhizobium* uygulamaları arasında da herhangi bir fark yoktur. R6 seviyesinde *Rhizobium* uygulaması üst nodül ağırlığını tüm *Azospirillum* seviyelerinde artırmıştır (Şekil 4.4.2.). Daha sonrasında (R7), A7 seviyesinde bir artış ve A8 seviyesinde

Tablo 4.4.1. Üst nodül ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,03**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	8,58**
Çeşit	4	4,08**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	3,34**
Azosp×Rhizo×Çeşit	36	1,65*

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

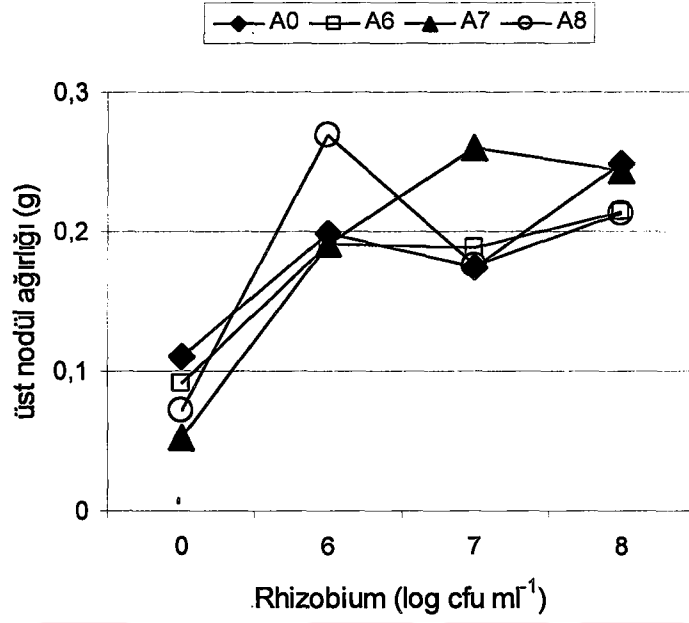
Tablo 4.4.2. Üst nodül ağırlığına ait ortalamalar

<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	0,082 <sup>b</sup>	A0	0,184	Şeker	0,241 <sup>a</sup>
R6	0,212 <sup>a</sup>	A6	0,170	ES-1280	0,197 <sup>ab</sup>
R7	0,201 <sup>a</sup>	A7	0,186	K.şehir	0,198 <sup>ab</sup>
R8	0,230 <sup>a</sup>	A8	0,181	Horoz	0,112 <sup>c</sup>
				Şahin-90	0,156 <sup>bc</sup>

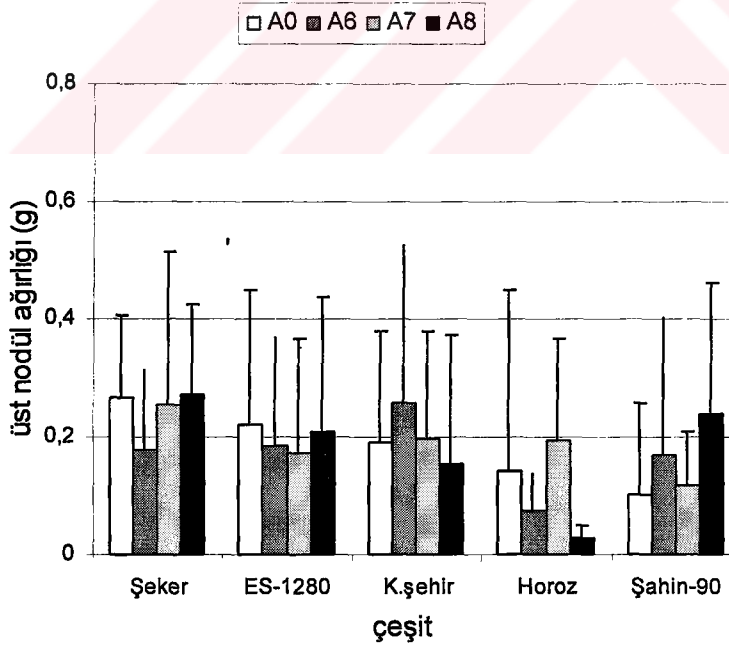
<sup>abcd</sup> Benzer üst-simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

keskin bir düşüş gözlenirken, A0 ve A6 seviyelerinde belirgin bir artma ya da azalma yoktur. Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemsiz çıkmıştır (Tablo 4.4.1.).

Çeşit faktörü varyans analizinde çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.4.1.). LSD testine göre en yüksek üst nodül ağırlığı şekerde çıkmasına rağmen, şeker, ES-1280, ve karacaşehir çeşitleri arasında bir fark yoktur (Tablo 4.4.2.). En düşük üst nodül ağırlığına sahip çeşit horozdur. *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, karacaşehir dışında kalan tüm çeşitlerde anlaşılabilir bir trend yoktur (Şekil 4.4.3.). Karacaşehir çeşidinde



Şekil 4.4.2. Üst nodül ağırlığında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi



Şekil 4.4.3. Üst nodül ağırlığında *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

üst nodül ağırlığı A6 seviyesine kadar artmış sonrasında azalma eğilimine girmiştir. Genel modelde *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.4.1.). *Azospirillum*'un birinci derece polinomları hiçbir çeşitte önemli çıkmazken ikinci derece polinomu sadece horozda önemlidir (Tablo 4.4.3.). *Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomları arasındaki etkileşim sadece horoz çeşidinde önemli bulunmuştur.

*Rhizobium* faktörüne bakıldığında, şeker ve ES-1280'de üst nodül ağırlığı R7 seviyesine kadar artmış sonrasında şekerde düşmüş ve ES-1280'de sabit kalmıştır (Şekil 4.4.4.).Karacaşehirde artan *Rhizobium*'la sürekli bir artış gözlenirken, horoz ve

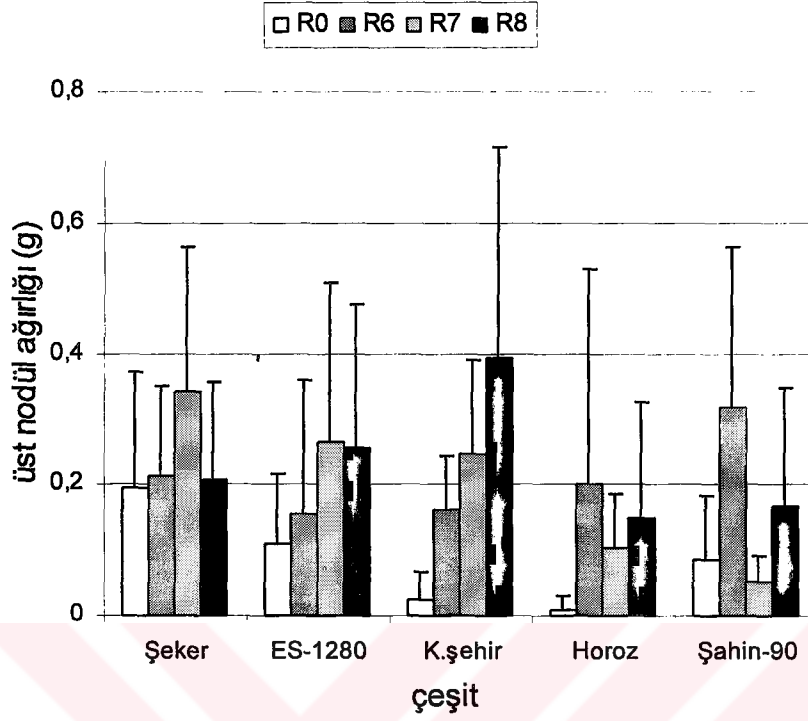
Tablo 4.4.3. Üst nodül ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	-	2,47 *	2,50 *	-
$R_I$	2,82 *	-	-	-	2,94 **
$A_B$	-	-	-	-	-
$A_I$	-	-	-	-6,61 **	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-3,64 **	-
$R_I \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-

B,I. Alf simgeleri ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

şahin-90'da belirgin bir trend yoktur. Genel modelde *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi çok önemli çıkmıştır (Tablo 4.4.1.). *Rhizobium* uygulamasının birinci derece polinomları karacaşehir ve horoz çeşitlerinde, ikinci derece polinomu ise şeker ve şahin-90 çeşitlerinde önemli çıkmıştır (Tablo 4.4.3.). Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemli çıkmıştır (Tablo 4.4.1).



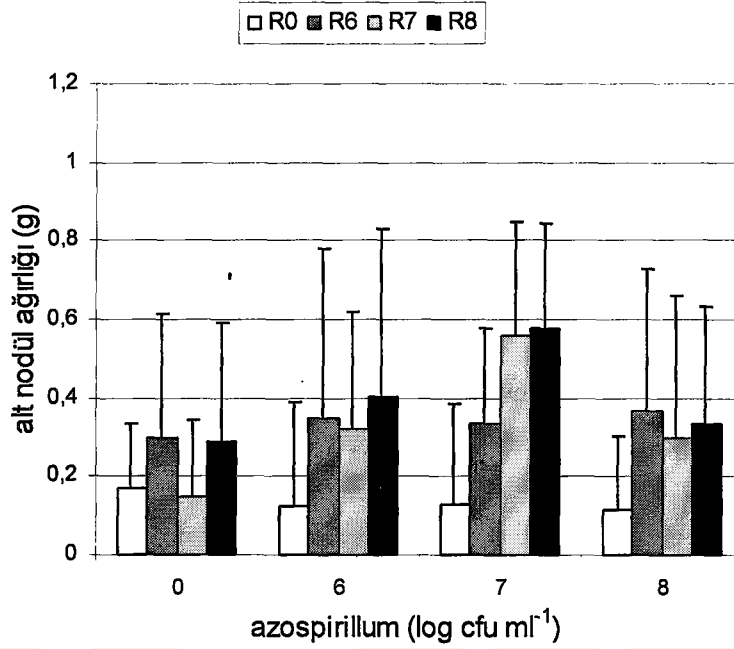


Şekil 4.4.4. Toplam nodül sayısında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.5. Alt Nodül Ağırlığı

R6 uygulaması, alt nodül ağırlığını tüm *Azospirillum* seviyelerinde artırmıştır (Şekil 4.5.1.). A0, A6, A7, ve A8 uygulamalarında ortalama alt nodül ağırlığı sırasıyla, R0 seviyesinde 0,170; 0,124; 0,130 ve 0,111 g'dan R6 seviyesinde 0,299; 0,347; 0,336 ve 0,366 g değerlerine çıkmıştır. R7 uygulaması, A7 dışında kalan tüm *Azospirillum* seviyelerinde belirli düşüslere neden olmuştur. A7 seviyesinde *Rhizobium* seviyesi arttıkça alt nodül ağırlığı sürekli olarak artmıştır. *Azospirillum* uygulamaları arasında, herhangi bir *Rhizobium* uygulaması için en yüksek alt nodül ağırlığı genelde A7 seviyesinde çıkmıştır.

Daha önceki verilerden farklı olarak, varyans analizinde *Azospirillum* ve *Rhizobium* faktörleri çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.5.1.). LSD testine göre en yüksek alt



Şekil 4.5.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında alt nodül ağırlığı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

nodül ağırlığı A7 seviyesinde çıkmış, fakat A7 ve A6 seviyeleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.5.2.). LSD testi *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark bulunmamış ve *Rhizobium* uygulamaları arasında herhangi bir fark çıkmamıştır. R6 uygulaması tüm *Azospirillum* seviyelerinde alt nodül ağırlığını artırmıştır (Şekil 4.5.2.). Sonrasında A7 seviyesinde bir artış, diğer *Azospirillum* seviyelerinde ise bir azalış gözlenmiştir. Genel modele göre, *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi söz konusu değildir (Tablo 4.5.1.).

Çeşit faktörü, varyans analizinde çok önemli çıkmıştır (Tablo 4.5.1.). LSD testine göre, en yüksek alt nodül ağırlığı ES-1280 çeşidinde çıkmasına rağmen, ES-1280, şeker ve şahin-90 çeşitleri arasında bir fark yoktur (Tablo 4.5.2.). En düşük alt nodül ağırlığı ise horozda çıkmıştır. *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, horoz çeşidi dışında kalan tüm çeşitlerde A7 seviyesine kadar bir artma, daha sonra bir azalma gözlenmektedir (Şekil 4.5.3.). Horozda, belirgin bir eğilim yoktur. Genel model *Azospirillum*×Çeşit etkileşimini önemsiz bulmuştur (Tablo 4.5.1.). Eğilim karşılaştırmalarında, *Azospirillum* uygulamasının birinci derece polinomları önemsizdir; ikinci derece

Tablo 4.5.1. Alt nodül ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

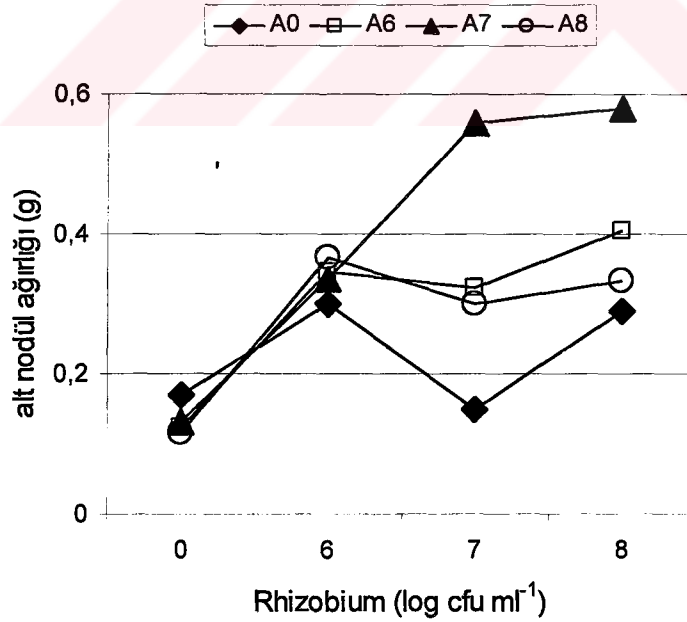
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,42**
<i>Azospirillum</i>	3	4,55**
<i>Rhizobium</i>	3	10,47**
Çeşit	4	5,11**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	3,51**
Azosp×Rhizo×Çeşit	36	öd

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

Tablo 4.5.2. Alt nodül ağırlığına ait ortalamalar

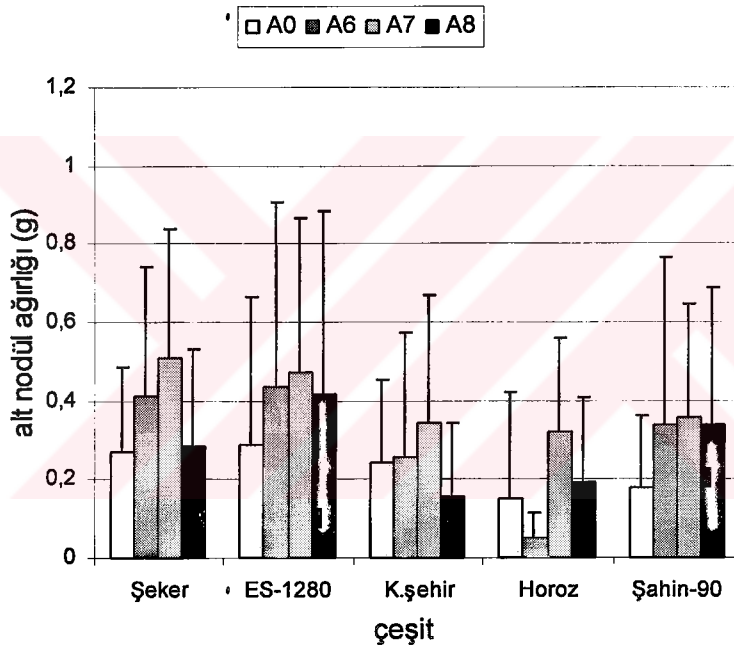
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	0,136 <sup>b</sup>	A0	0,227 <sup>b</sup>	Şeker	0,373 <sup>ab</sup>
R6	0,336 <sup>a</sup>	A6	0,297 <sup>ab</sup>	ES-1280	0,400 <sup>a</sup>
R7	0,334 <sup>a</sup>	A7	0,400 <sup>a</sup>	K.şehir	0,248 <sup>bc</sup>
R8	0,400 <sup>a</sup>	A8	0,278 <sup>b</sup>	Horoz	0,178 <sup>c</sup>
				Şahin-90	0,304 <sup>abc</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst-simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

Şekil 4.5.2. Alt nodül ağırlığında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

polinomlar şeker ve horozda önemli bulunmuştur (Tablo 4.5.3.). *Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomlarının bazı etkileşimleri karacaşehir ve horozda önemli bulunmuştur.

*Rhizobium* uygulaması şekerde alt nodül ağırlığını önemli ölçüde etkilememiştir (Şekil 4.5.4.). ES-1280 çeşidinde, özellikle R7 ve R8 seviyelerinde, önemli artışlara neden olmuştur. Karacaşehir çeşidinde, R7 seviyesine kadar düzenli bir artış sonrada sabitlenme vardır. Horoz ve Şahin-90 çeşitlerinde, *Rhizobium* uygulaması (R6) alt nodül ağırlığını artırmış, ancak daha yüksek seviyeler bir azalışa neden olmuştur. Genel modelde,



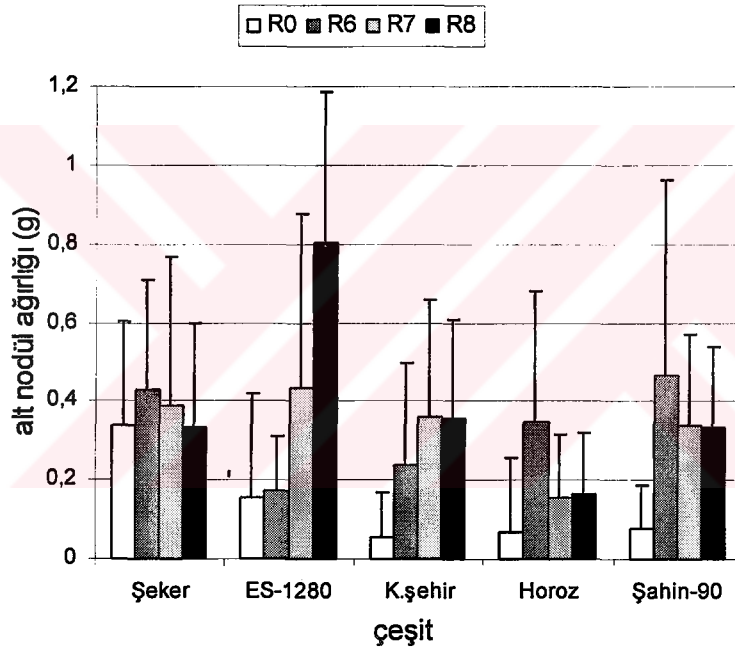
Şekil 4.5.3. Alt nodül ağırlığında *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi çok önemlidir (Tablo 4.5.1.). *Rhizobium*'un birinci derece polinomları ES-1280 çeşidinde önemli çıkarken, ikinci derece polinomlar önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.5.3.). Genel modelde, *Azospirillum* × *Rhizobium* × Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.5.1.).

Tablo 4.5.3. Alt nodül ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	3,42 **	-	-	-
$R_I$	-	-	-	-	-
$A_B$	-	-	-	-	-
$A_I$	-2,49 *	-	-	-6,32 **	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	3,29 **	-
$R_I \times A_B$	-	-	2,42 *	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-

B,I, Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)



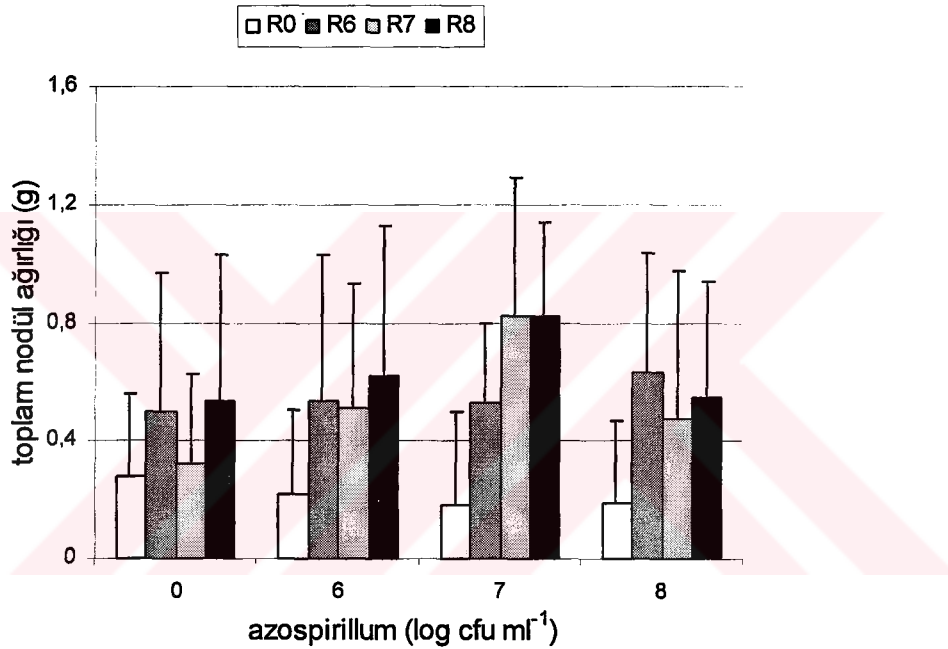
Şekil 4.5.4. Alt nodül ağırlığında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.6. Toplam Nodül Ağırlığı

*Rhizobium* uygulaması (R6), A0, A6, A7, ve A8 seviyelerinde, kontrolde (R0) sırasıyla 0,281; 0,216; 0,184 ve 0,189 g olan toplam nodül ağırlığını, 0,499; 0,538; 0,527

ve 0,635 g'a çıkarmıştır (Şekil 4.6.1.).Bu yükseliş A7 uygulamasında R7 seviyesine kadar yükselmiş daha sonra sabitlenmiştir. Diğer *Azospirillum* uygulamalarının R7 seviyelerinde düşük ya da büyük azalmalar gözlenmektedir.

Alt nodül ağırlığında olduğu gibi, toplam nodül ağırlığında da *Azospirillum* ve *Rhizobium* faktörlerinin ikisi de çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.6.1.). LSD testine göre ortalama en yüksek toplam nodül ağırlığı A7 seviyesinde çıkmıştır (Tablo 4.6.2.). Fakat, A6 seviyesi ile A7 ve A8 seviyeleri arasında fark yoktur. LSD testi *Rhizobium*



Şekil 4.6.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında toplam nodül ağırlığı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Tablo 4.6.1. Toplam nodül ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,82**
<i>Azospirillum</i>	3	2,98**
<i>Rhizobium</i>	3	16,01**
Çeşit	4	6,63**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	4,19**
<i>Azosp</i> × <i>Rhizo</i> ×Çeşit	36	1,49*

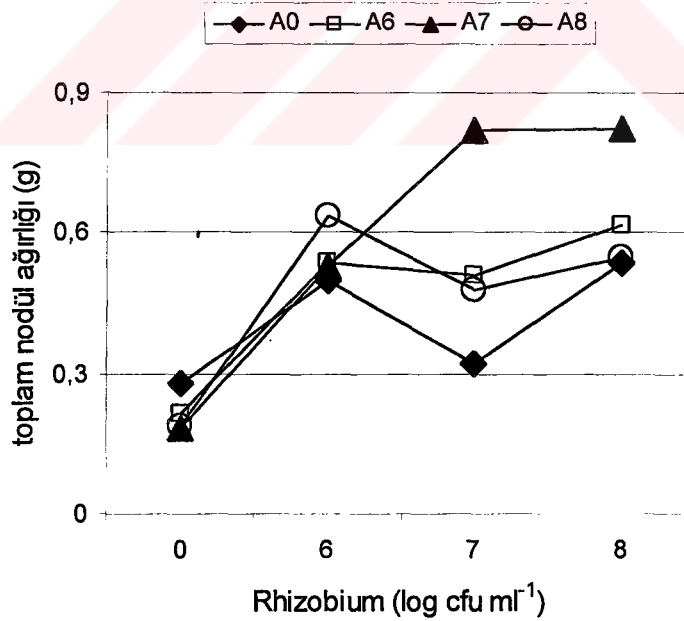
\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

Tablo 4.6.2. Toplam nodül ağırlığına ait ortalamalar

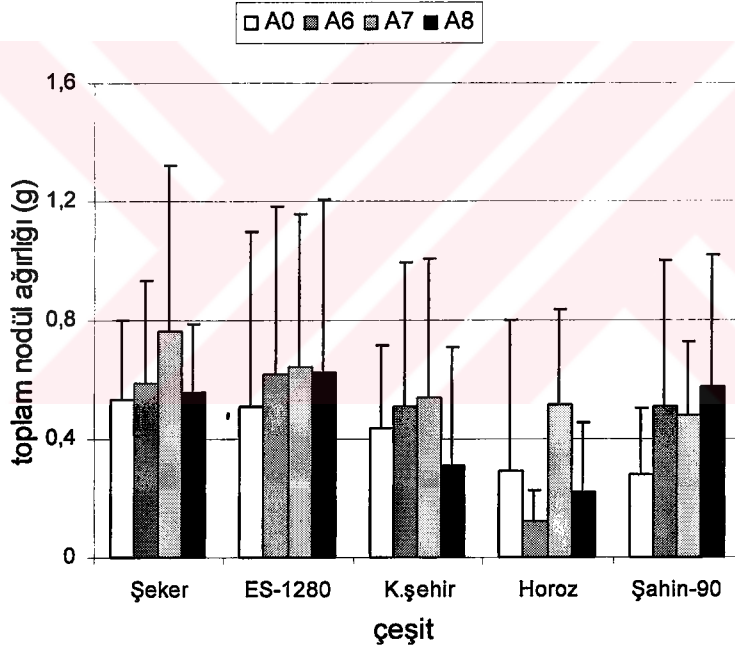
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	0,218 <sup>b</sup>	A0	0,411 <sup>b</sup>	Şeker	0,614 <sup>a</sup>
R6	0,548 <sup>a</sup>	A6	0,467 <sup>ab</sup>	ES-1280	0,597 <sup>a</sup>
R7	0,534 <sup>a</sup>	A7	0,586 <sup>a</sup>	K.şehir	0,446 <sup>ab</sup>
R8	0,631 <sup>a</sup>	A8	0,459 <sup>ab</sup>	Horoz	0,290 <sup>b</sup>
				Şahin-90	0,460 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark bulmasına rağmen, *Rhizobium* uygulamaları arasında herhangi bir fark çıkmamıştır. Alt nodül ağırlığına benzer bir şekilde, R6 uygulaması tüm *Azospirillum* seviyelerinde toplam nodül ağırlığını artırmış, sonrasında A7 seviyesinde bir artış, diğer *Azospirillum* seviyelerinde ise bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.6.2.). Genel modele göre, *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi söz konusu değildir (Tablo 4.6.1.).

Şekil 4.6.2. Toplam nodül ağırlığında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

Çeşit faktörü daha önceki tüm verilerde olduğu gibi, varyans analizinde çok önemli gözükmemektedir (Tablo 4.6.1.). LSD testine göre en düşük alt nodül ağırlığı horozda çıkmıştır (Tablo 4.6.2.). Diğer çeşitler arasında herhangi bir fark yoktur. *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, *Azospirillum* uygulaması ES-1280de belirgin bir farklılığa neden olmamıştır (Şekil 4.6.3.). Şeker ve karacaşehirde A7 seviyesine kadar artan sonra azalan bir eğilim vardır. Horoz ve şahin-90'da belirgin bir trend yoktur. Genel model *Azospirillum*×Çeşit etkileşimini önemsiz bulmuştur (Tablo 4.6.1.). Eğilim karşılaştırmalarında, *Azospirillum*'un birinci derece polinomu hiçbir çeşitte önemli bulunmazken, ikinci derece polinomları şeker ve horozda önemlidir (Tablo 4.6.3.).



Şekil 4.6.3. Toplam nodül ağırlığında *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

*Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomlarının bazı etkileşimleri sadece şeker ve şahin-90 çeşitlerinde önemli bulunmuştur.,

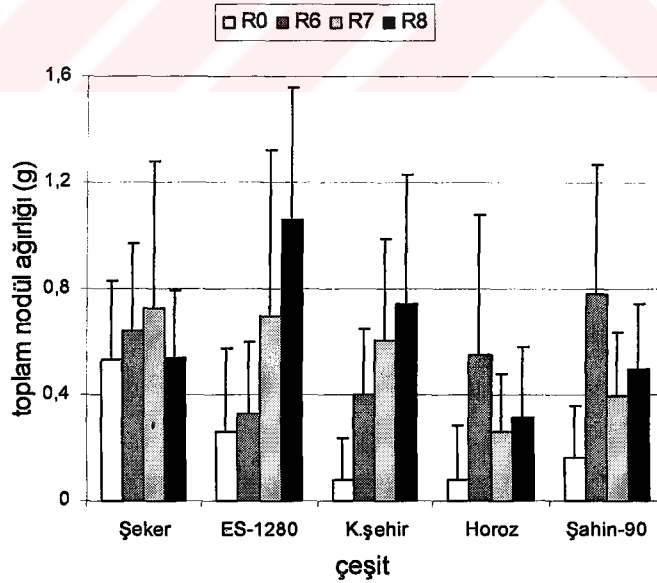


Tablo 4.6.3. Toplam nodül ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	2,54 *	2,27 *	-	-2,94 **
$R_I$	-	-	-	-	2,13 *
$A_B$	-	-	-	-	-
$A_I$	-2,74 *	-	-	-8,91 **	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	-3,88 **
$R_I \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	2,19 *	-	-	-	3,19 **

B, I, Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

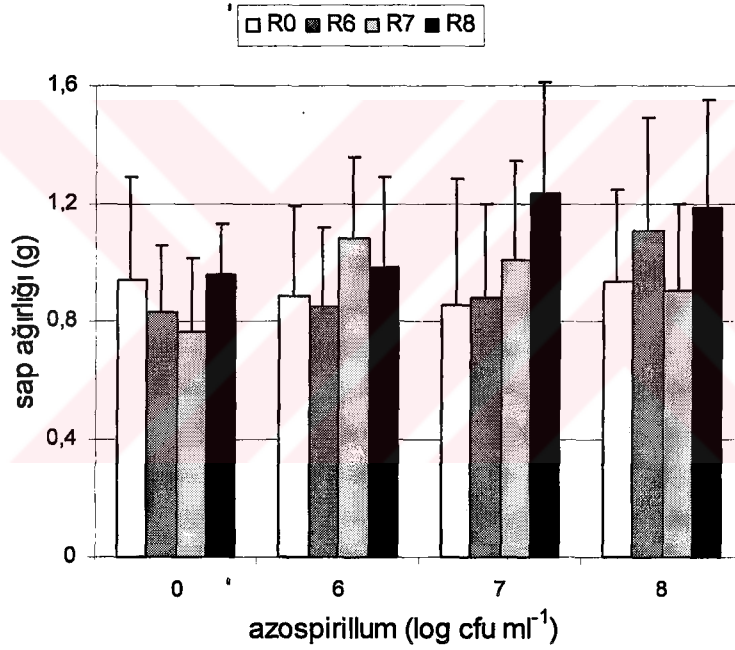
*Rhizobium* seviyesi arttıkça, şeker, karacaşehir ve özellikle ES-1280 çeşitlerinde toplam nodül ağırlığı artma eğilimindedir (Şekil 4.6.4.). Horoz ve Şahin-90 çeşitlerinde *Rhizobium* uygulaması (R6) toplam nodül ağırlığını artırmış, fakat, daha yüksek seviyeler bir azalmaya neden olmuştur. Genel modelde, *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi çok önemlidir (Tablo 4.6.1.). *Rhizobium*'un birinci derece polinomları şeker ve horoz dışında kalan tüm çeşitlerde, ikinci derece polinomu ise, sadece şahin-90'da önemli çıkmıştır (Tablo 4.6.3.). Genel modelde, *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemlidir (Tablo 4.6.1.).



Şekil 4.6.4. Toplam nodül ağırlığında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.7. Kuru Sap Ağırlığı

A7 uygulamasında, sap ağırlığı *Rhizobium* seviyesi arttıkça R0 seviyesinde 0,853 g'dan R8 seviyesinde 1,231 g'a çıkmıştır (Şekil 4.7.1.). A0 ve A6 uygulamalarında *Rhizobium* seviyeleri arasında belirgin bir fark yoktur; A8 seviyesinde R6 uygulaması sap ağırlığını artırırken sonrasında belirgin bir trend oluşmamıştır. *Azospirillum* uygulamaları açısından bakıldığında herhangi bir *Rhizobium* seviyesi için genelde belirgin bir farklılık yoktur.



Şekil 4.7.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında sap ağırlığı (Sütunlar ortalamayı çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Genel modelde hem *Azospirillum*, hem de *Rhizobium* faktörü önemli çıkmıştır (Tablo 4.7.1.). LSD testine göre en yüksek sap ağırlığı A8'de çıkmış, fakat, A8 ile A6 ve A7 uygulamaları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.7.2.). LSD testi *Rhizobium* uygulamaları arasında en yüksek sap ağırlığını R8 seviyesinde bulmuştur. *Rhizobium* uygulaması arttıkça sap ağırlığı sadece A7 seviyesinde artmış diğer *Azospirillum*

seviyelerinde belirgin bir trend vermemiştir (Şekil 4.7.2.). Genel modele göre, *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemli çıkmıştır (Tablo 4.7.1.).

Çeşit faktörü daha önceki tüm verilerde olduğu gibi varyans analizinde çok önemli değildir (Tablo 4.7.1.). LSD testine göre, en yüksek ortalama sap ağırlığı şekerde ve ondan farksız olan şahin-90'da çıkmıştır (Tablo 4.7.2.). Diğer çeşitler arasında herhangi bir fark yoktur. *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, *Azospirillum* seviyesi arttıkça sap ağırlığı şeker çeşidinde artmıştır (Şekil 4.7.3.). Belirgin farklılık ES-1280'de A8 seviyesinde şahin-90'da A6 seviyesinde ortaya çıkmıştır. Karacaşehirde A7 seviyesine kadar artış sonrasında bir düşüş vardır. Horozda belirgin bir farklılık görülmemektedir. Genel model *Azospirillum*×Çeşit etkileşimini önemsiz bulmuştur (Tablo 4.7.1.). Eğilim karşılaştırmalarında, *Azospirillum* uygulamasının birinci ve ikinci derece polinomu sadece şekerde önemlidir (Tablo 4.7.3.). Hiçbir çeşitte, *Azospirillum* ve *Rhizobium* etkileşimi önemli bulunmamıştır.

Tablo 4.7.1. Sap ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu.

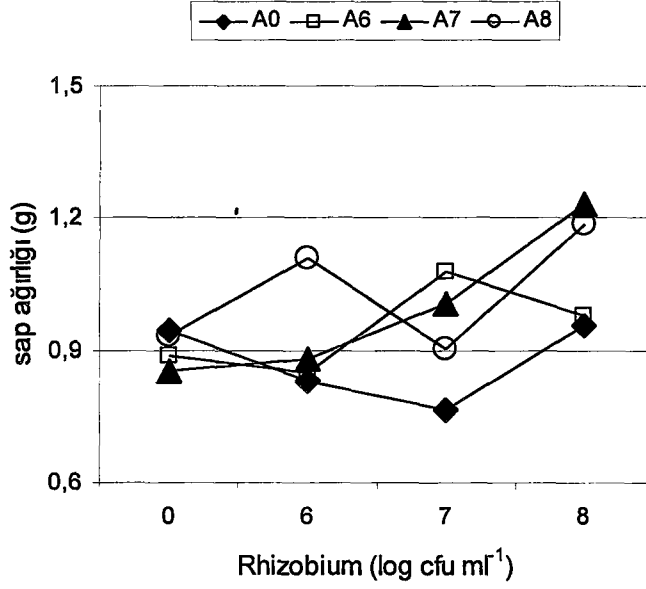
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,23**
<i>Azospirillum</i>	3	3,48**
<i>Rhizobium</i>	3	6,18**
Çeşit	4	12,99**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	2,12*
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Azosp</i> × <i>Rhizo</i> ×Çeşit	36	öd

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

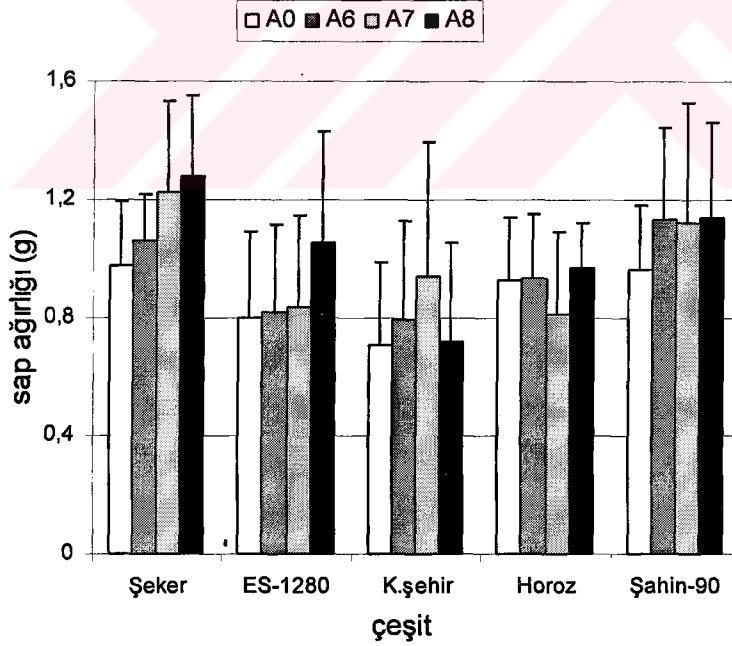
Tablo 4.7.2. Sap ağırlığına ait ortalamalar.

<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	0,904 <sup>b</sup>	A0	0,874 <sup>b</sup>	Şeker	1,129 <sup>a</sup>
R6	0,912 <sup>b</sup>	A6	0,950 <sup>ab</sup>	ES-1280	0,874 <sup>b</sup>
R7	0,940 <sup>b</sup>	A7	0,990 <sup>ab</sup>	K.şehir	0,788 <sup>b</sup>
R8	1,087 <sup>a</sup>	A8	1,032 <sup>a</sup>	Horoz	0,908 <sup>b</sup>
				Şahin-90	1,093 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst-simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur



Şekil 4.7.2. Sap ağırlığında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi



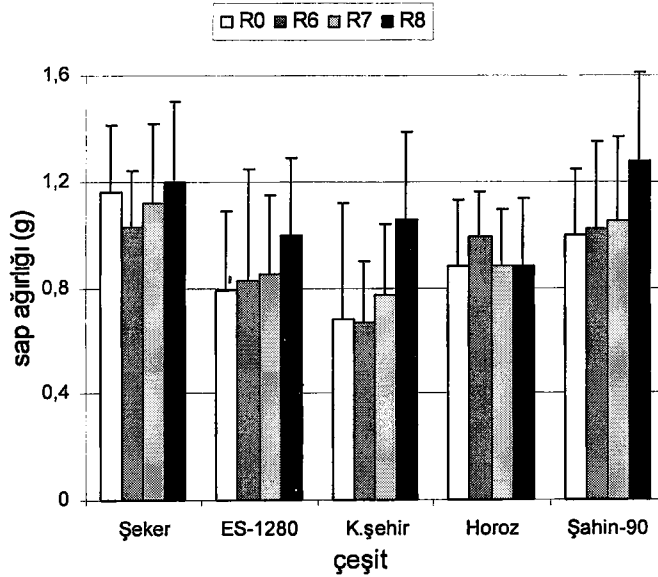
Şekil 4.7.3. Sap ağırlığında *Azospirillum*-Çesit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

*Rhizobium* seviyesi arttıkça, ES-1280, karacaşehir ve şahin-90 çeşitlerinde sap ağırlığı artma eğilimindedir (Şekil 4.7.4.). Şeker ve horoz çeşitlerinde uygulamalar arasında belirgin bir farklılık yoktur. Genel modelde, *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.7.1.). *Rhizobium*'ün birinci derece polinomları şeker ve karacaşehir çeşitlerinde önemli çıkarken, ikinci derece polinomları hiçbir çeşitte önemli değildir (Tablo 4.7.3.). Genel modelde, *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.7.1.).

Tablo 4.7.3. Sap ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları.

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	2,67 *	-	2,81 *	-	-
$R_I$	-	-	-	-	-
$A_B$	2,82 *	-	-	-	-
$A_I$	-2,21 *	-	-	-	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-

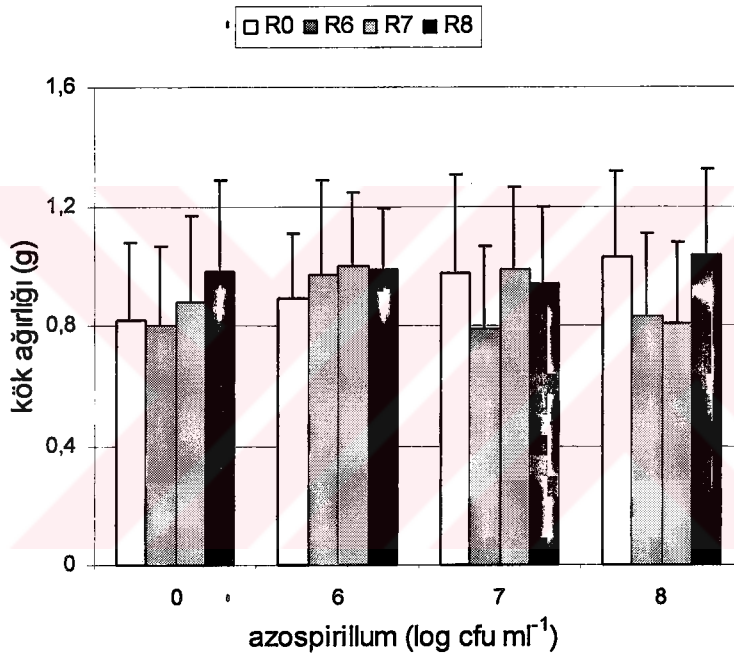
$B, I$ : Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)



Şekil 4.7.4. Sap ağırlığında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.8. Kuru Kök Ağırlığı

A0 ve A6 *Azospirillum* uygulamalarında *Rhizobium* seviyesi arttıkça kök ağırlığı da yavaşça artmaktadır (Şekil 4.8.1.). A0 uygulamasının R0 seviyesinde kök ağırlığı ortalama 0,816 g iken, R8 uygulamasında 0,981 g'a; A6 uygulamasının R0 seviyesinde kök ağırlığı ortalama 0,888 g iken, R6 seviyesinde 0,988 g'a ulaşmıştır. A7 ve A8 seviyelerinde *Rhizobium* uygulaması önce kök ağırlığını düşürmüştü, ancak, daha yüksek *Rhizobium* seviyeleri kök ağırlığını tekrar çıkarmıştır.



Şekil 4.8.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında kök ağırlığı (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Varyans analizinde, *Rhizobium* faktörü çok önemli fakat *Azospirillum* faktörü önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.8.1.). LSD testine göre, ortalama en yüksek kök ağırlığı R8 seviyesinde çıkmış fakat bu seviyeyle R0 ve R7 seviyeleri arasında fark yoktur (Tablo 4.8.2.). Artan *Rhizobium* seviyeleri sadece A0 ve A6 seviyelerinde kök ağırlığını artırmış diğer seviyelerde belirgin bir trend vermemiştir (Şekil 4.8.2.) Genel modelde, *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.8.1.).

Tablo 4.8.1. Kök ağırlığına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

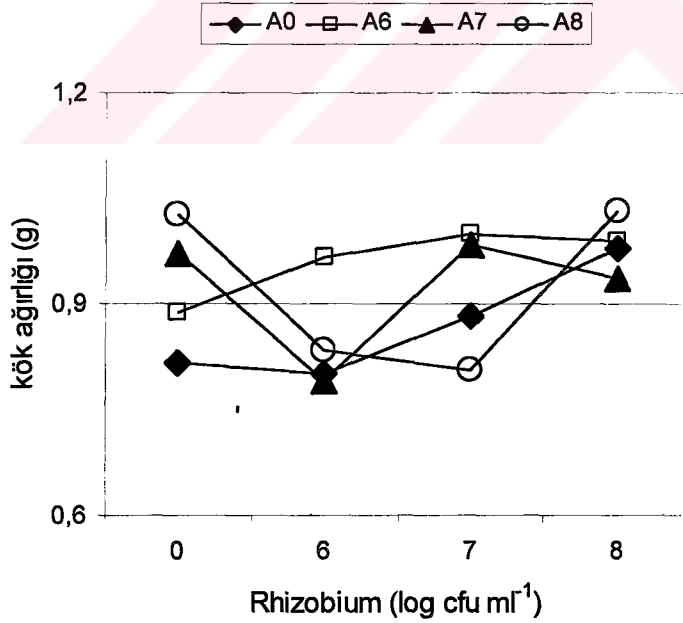
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,15**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	4,15**
Çeşit	4	12,72**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Azosp</i> × <i>Rhizo</i> ×Çeşit	36	öd

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

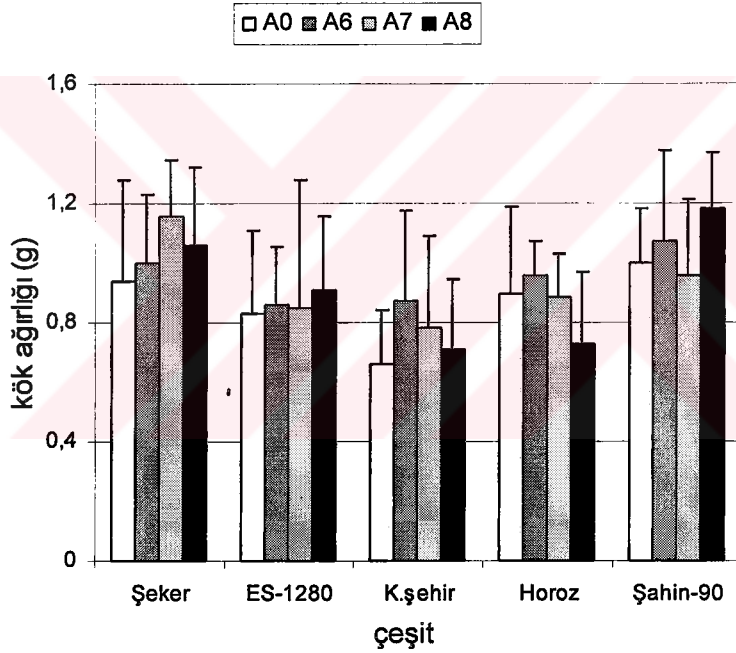
Tablo 4.8.2. Kök ağırlığına ait ortalamalar

<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	0,924 <sup>ab</sup>	A0	0,870	Şeker	1,030 <sup>a</sup>
R6	0,848 <sup>b</sup>	A6	0,960	ES-1280	0,866 <sup>b</sup>
R7	0,920 <sup>ab</sup>	A7	0,923	K.şehir	0,755 <sup>c</sup>
R8	0,985 <sup>a</sup>	A8	0,926	Horoz	0,880 <sup>b</sup>
				Şahin-90	1,059 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst-simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

Şekil 4.8.2. Kök ağırlığında *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

Çeşit faktörü varyans analizinde çok önemli bulunmuş (Tablo 4.8.1.) ve LSD testine göre ortalama en yüksek kök ağırlığı şeker ve şahin-90 çeşitlerinde çıkmıştır (Tablo 4.8.2.). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, şeker, karacaşehir ve horoz çeşitlerinde önce artan sonra azalan bir eğilim vardır (Şekil 4.8.3.). Kök ağırlığının en yüksek noktaya ulaştığı *Rhizobium* seviyeleri şekerde R7 ve karacaşehir ve horozda R6'dır. Genel modelde, *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.8.1.). *Azospirillum* uygulamasının birinci derece polinomu karacaşehir horozda, ikinci derece polinomu şahin-90'da önemli çıkmıştır (Tablo 4.8.3.). Eğilim karşılaştırmalarında, *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarının değişik polinomları arasındaki etkileşimler sadece horoz ve şahin-90 çeşitlerinde önemlidir.



Şekil 4.8.3. Kök ağırlığında *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

*Rhizobium* faktörü açısından bakıldığında, şeker, ES-1280, ve karacaşehir çeşitlerinde R6 uygulaması kök ağırlığında küçük düşüslere neden olmuş daha yüksek seviyelerde yavaş bir şekilde artmıştır. (Şekil 4.8.4.). Artan *Rhizobium* uygulamaları horoz ve şahin-90 çeşitlerinde belirgin bir farklılık oluşturmamıştır. *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi varyans analizinde önemsizdir (Tablo 4.8.1.). *Rhizobium* uygulamasının birinci derece

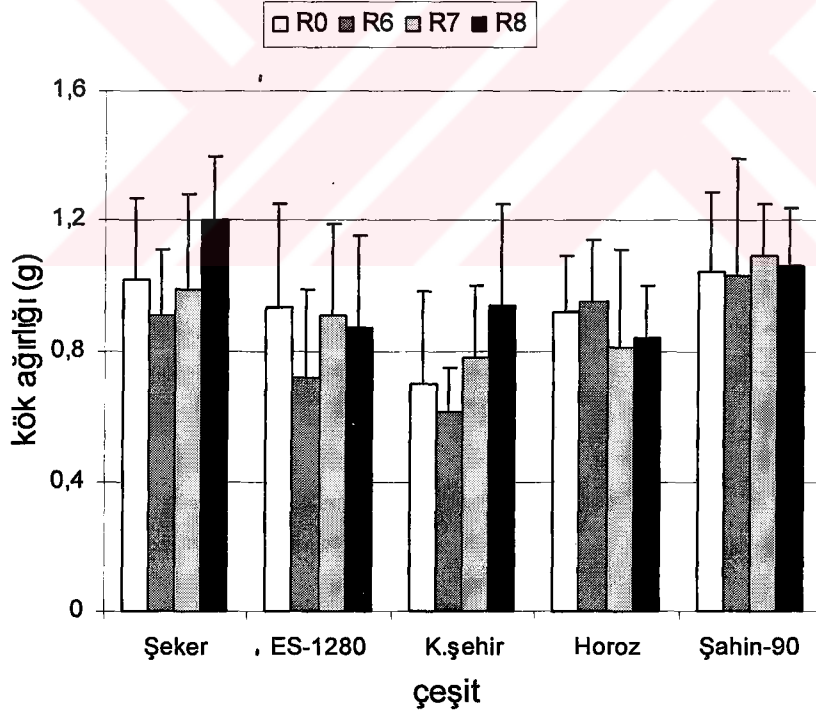


polinomu karacaşehirde önemlidir; ikinci derece polinomlar ise hiçbir çeşitte önemli değildir (Tablo 4.8.3.). *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi genel modelde önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.8.1.).

Tablo 4.8.3. Kök ağırlığına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları.

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	-	3,94 **	-	-
$R_I$	-	-	-	-	-
$A_B$	-	-	-2,52 *	-5,31 **	-
$A_I$	-	-	-	-	2,31 *
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	2,26 *	-
$R_I \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	3,58 **

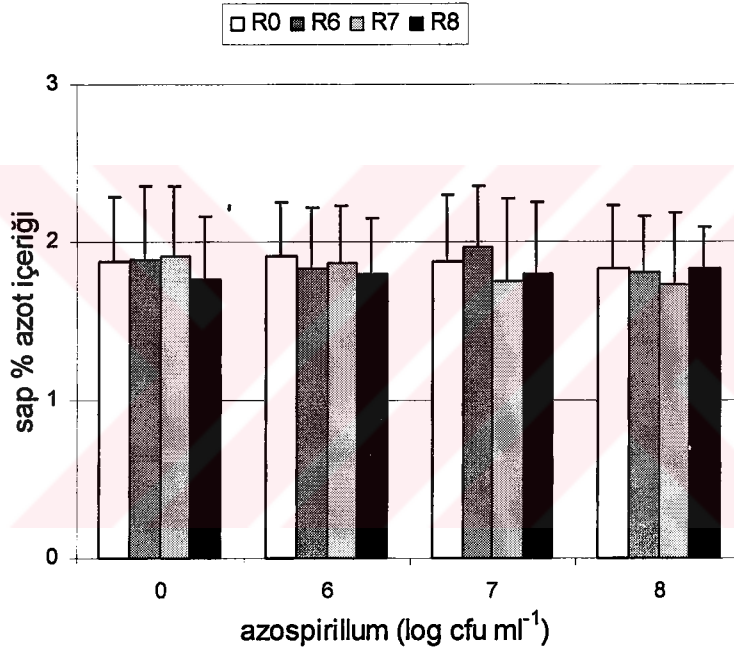
$B, I$ , Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)



Şekil 4.8.4. Kök ağırlığında *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.9. Sap N-kapsamı (%)

Sap N-kapsamında *Rhizobium* ya da *Azospirillum* uygulamaları arasında belirgin bir fark görülmemektedir (Şekil 4.9.1.). Gerek *Azospirillum* ve gerekse *Rhizobium* uygulamalarının ortalaması yaklaşık % 1,85'dir. Genel modelde her iki faktör de önemsiz çıkmış (Tablo 4.9.1.) *Azospirillum* eğrilerinde belirgin bir trend yoktur (Şekil 4.9.2.). Varyans analizi *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimini önemsiz bulmuştur (Tablo 4.9.1).



Şekil 4.9.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında sap azot içeriği (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Varyans analizinde, çeşit faktörü daha önceki verilerde olduğu gibi çok önemlidir (Tablo 4.9.1.). LSD testine göre, en yüksek ortalama sap N-kapsamı ES-1280'de en düşük ortalama sap N-kapsamı karacaşehirde ortaya çıkmıştır (Tablo 4.9.2.). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, şekerde A6 seviyesinde artan sonra azalan bir eğilim vardır (Şekil 4.9.3.). Horoz çeşidinde A8 seviyesi hariç artan bir eğilim vardır. Şahin-90'da *Azospirillum*

uygulamaları arasında belirgin bir fark yoktur ve karacaşehir ve ES-1280 çeşitleri herhangi bir trend vermemiştir. Genel modelde *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi

Tablo 4.9.1. Sap N-kapsamına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

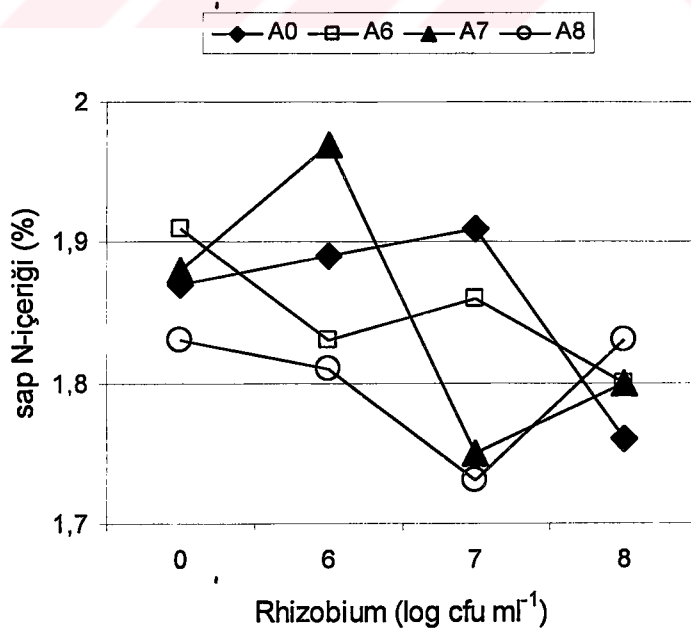
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	3,43**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	öd
Çeşit	4	42,91**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	1,88*
<i>Azosp</i> × <i>Rhizo</i> ×Çeşit	36	öd

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

Tablo 4.9.2. Sap N-kapsamına ait ortalamalar

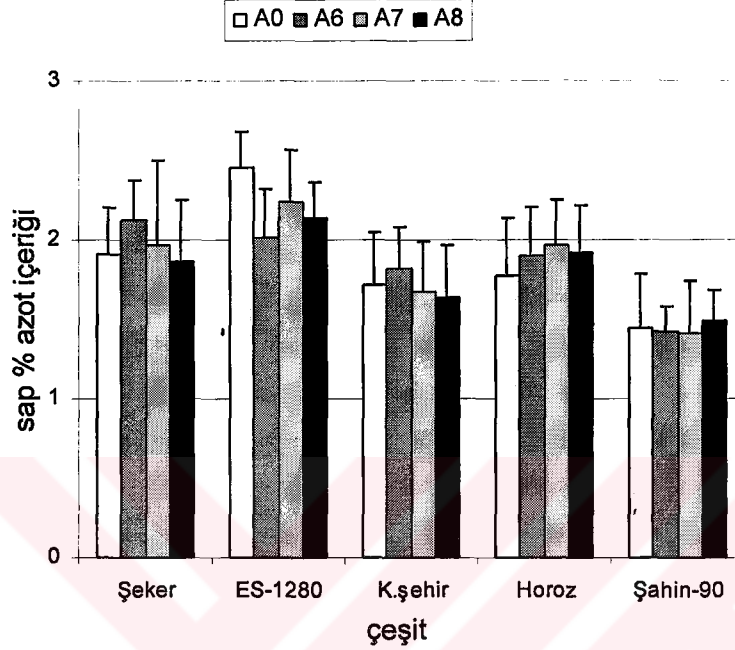
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	1,880	A0	1,864	Şeker	1,974 <sup>b</sup>
R6	1,880	A6	1,855	ES-1280	2,221 <sup>a</sup>
R7	1,818	A7	1,854	K.şehir	1,715 <sup>d</sup>
R8	1,802	A8	1,804	Horoz	1,898 <sup>b</sup>
				Şahin-90	1,446 <sup>c</sup>

abcd Benzer üst simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur



Şekil 4.9.2. Sap azot içeriğinde *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

önemsizdir (Tablo 4.9.1.). *Azospirillum*un hiçbir polinomu hiçbir çeşitte önemli değildir (Tablo 4.9.3.). *Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomlarının değişik etkileşimleri sadece şahin 90 çeşidinde önemli çıkmıştır.



Şekil 4.9.3. Sap azot içeriğinde *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

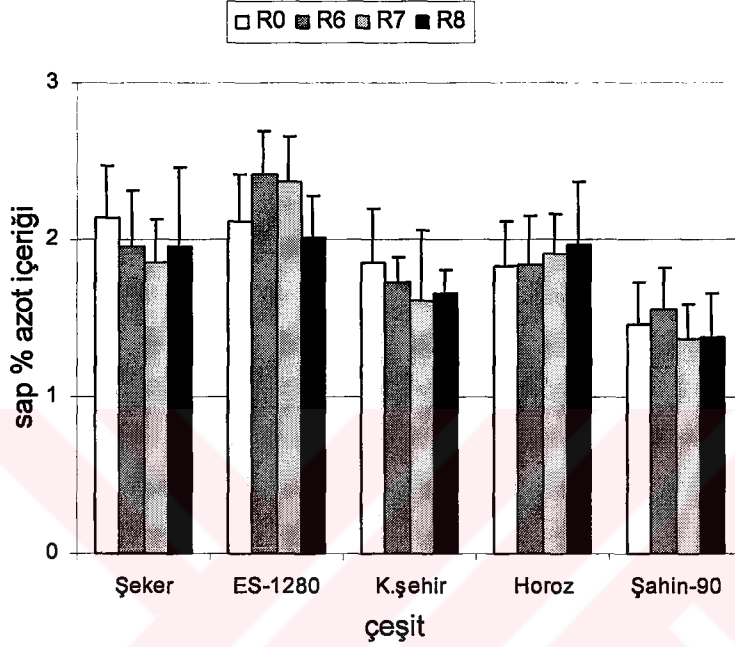
Tablo 4.9.3. Sap N-kapsamına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	-4,08 **	-	-	-
$R_I$	-	-	-	-	2,61 *
$A_B$	-	-	-	-	-
$A_I$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	2,82 *
$R_I \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-2,34 *

$B, I$  Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

*Rhizobium* seviyesi arttıkça, horoz dışında kalan tüm çeşitlerde genel bir düşme eğilimi vardır (Şekil 4.9.4.). Horozda ise aksine bir artma eğilimi vardır. Genel modelde

*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemli çıkmıştır (Tablo 4.9.1.). *Rhizobium*un birinci derecesi ES-1280 ve ikinci derecesi ise şahin-90'da önemlidir (Tablo 4.9.3.). Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.9.1.).

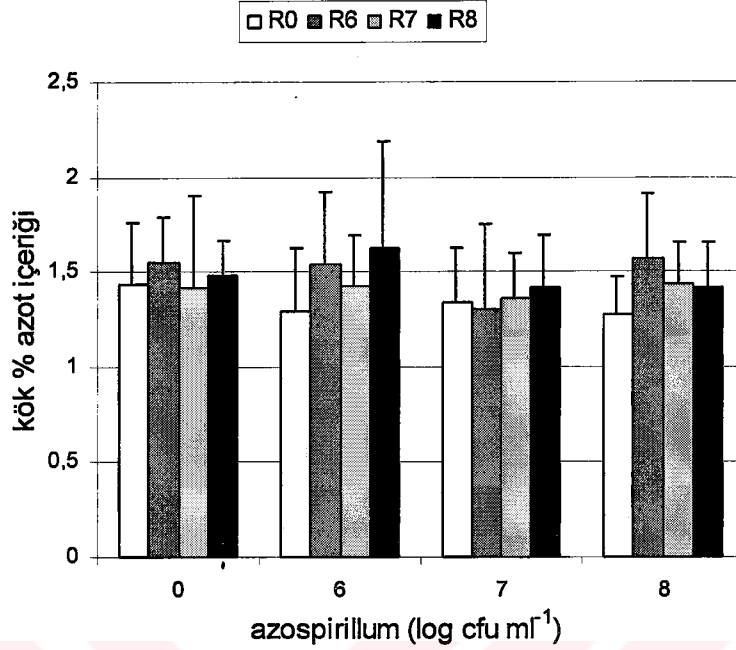


Şekil 4.9.4. Sap azot içeriğinde *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.10. Kök N-kapsamı (%)

A7 seviyesi dışında kalan *Azospirillum* uygulamalarında R6 uygulaması kontrole (R0) göre kök N-kapsamını artırmıştır (Şekil 4.10.1.). *Rhizobium* uygulaması (R6), kök N-kapsamını A0 seviyesinde 1,44'den 1,55'e; A6 seviyesinde 1,29'dan 1,54'e; ve A8 seviyesinde 1,27'den 1,57'ye çıkarmıştır. Daha yüksek *Rhizobium* seviyelerinde belirgin bir trend yoktur. A7 seviyesinde *Rhizobium* uygulamaları arasında önemli bir fark yoktur.

Genel modelde *Azospirillum* ve *Rhizobium* faktörlerinin her ikisi de çok önemli



Şekil 4.10.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında kök azot içeriği (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

bulunmuştur (Tablo 4.10.1.). LSD testine göre, *Rhizobium* uygulamalarının ortalamaları arasında fark vardır (Tablo 4.10.2). Genel olarak *Rhizobium* uygulamaları kontrole (R0) göre kökte daha fazla N biriktirmiştir. *Azospirillum* uygulamalarının ortalamaları arasında fark yoktur. A7 dışında kalan *Azospirillum* eğrilerinde R6 seviyesinde bir artış daha sonra düşüş ve tekrar yükselme eğilimi vardır (Şekil 4.10.2). Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.10.1).

Tablo 4.10.1. Kök N-kapsamına ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

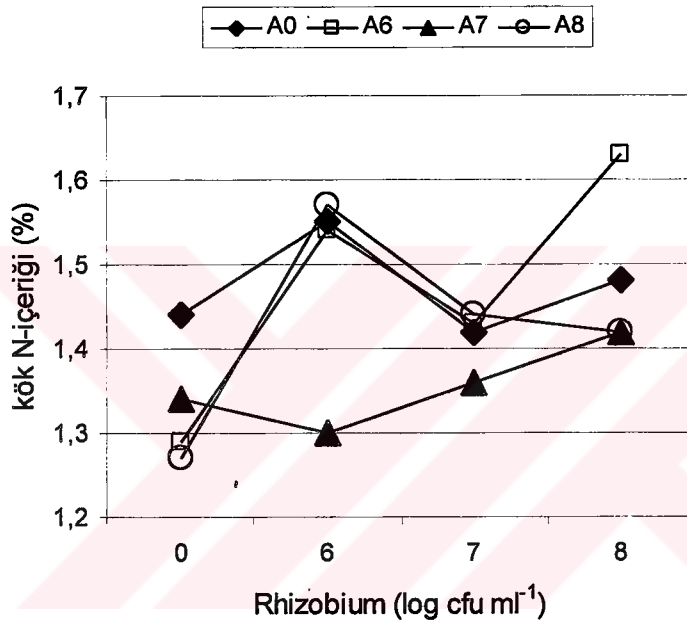
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,48**
<i>Azospirillum</i>	3	2,69**
<i>Rhizobium</i>	3	4,18**
Çeşit	4	11,34**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	öd
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	öd
Azosp×Rhizo×Çeşit	36	2,35**

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

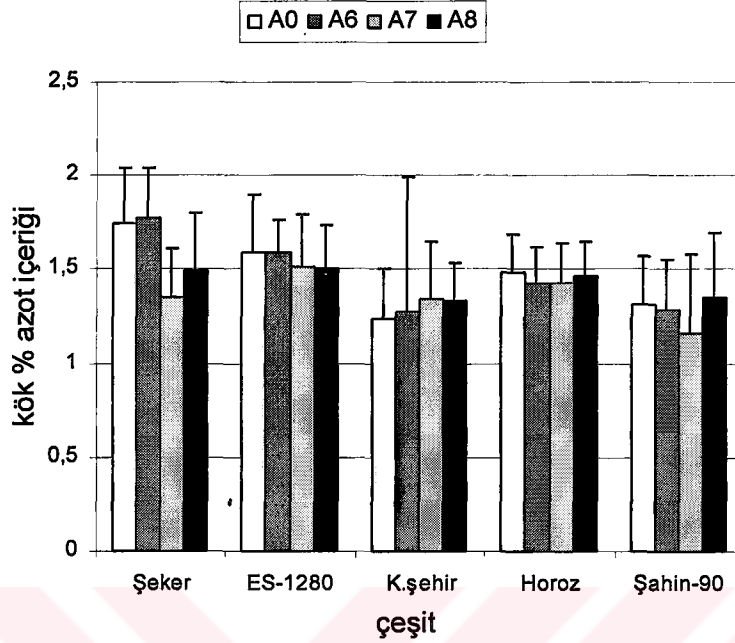
Tablo 4.10.2. Kök N-kapsamına ait ortalamalar

<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	1,341 <sup>b</sup>	A0	1,475	Şeker	1,595 <sup>a</sup>
R6	1,494 <sup>a</sup>	A6	1,473	ES-1280	1,553 <sup>ab</sup>
R7	1,417 <sup>ab</sup>	A7	1,361	K.şehir	1,300 <sup>d</sup>
R8	1,492 <sup>a</sup>	A8	1,429	Horoz	1,455 <sup>b</sup>
				Şahin-90	1,280 <sup>cd</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

Şekil 4.10.2. Kök azot içeriğinde *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

Çeşit faktörü varyans analizinde çok önemli çıkmıştır (Tablo 4.10.1) ve LSD testine göre ortalama en yüksek kök N-kapsamı şekerde en düşük karacaşehirde çıkmıştır (Tablo 4.10.2). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, şeker ve şahin-90'da A7 seviyelerinde bir düşüş gözlenmektedir (Şekil 4.10.3). Diğer çeşitlerde *Azospirillum* uygulamalarının ortalamaları arasında belirgin bir farklılık yoktur. Varyans analizi *Azospirillum*×Çeşit etkileşimini önemsiz bulmuştur (Tablo 4.10.1). *Azospirillum*un birinci ve ikinci derece polinomları sadece şekerde önemli çıkmıştır (Tablo 4.10.3). *Azospirillum* ve *Rhizobium* polinomları arasında sadece şekerde etkileşim vardır.



Şekil 4.10.3. Kök azot içeriğinde *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Tablo 4.10.3. Kök N-kapsamına ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

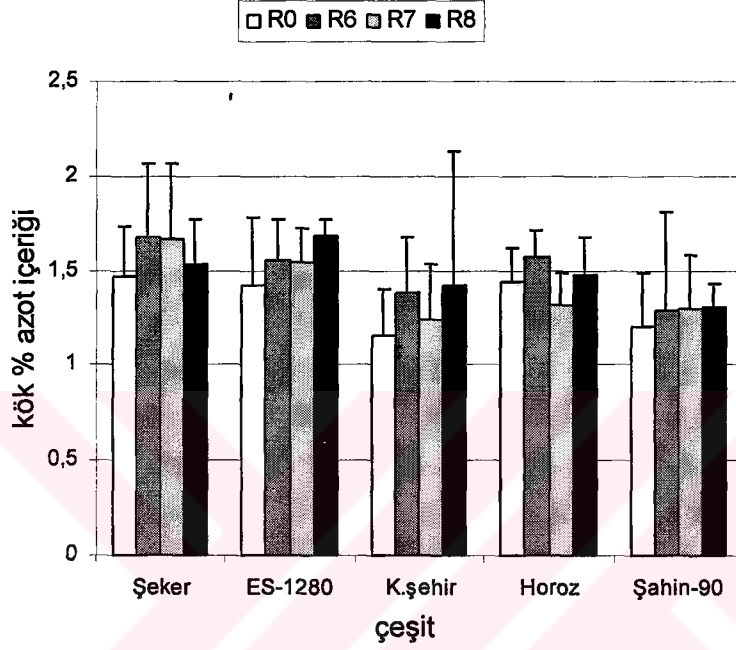
	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	3,65 **	-	-	-
$R_I$	-	-	-	2,76 *	-
$A_B$	-2,55 *	-	-	-	-
$A_I$	-2,85 *	-	-	-	-
$R_B \times A_B$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	-
$R_I \times A_B$	-2,87 *	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	-

$B, I$  Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

*Rhizobium* uygulaması (R6) tüm çeşitlerde az ya da çok bir artışa neden olmuştur (Tablo 4.10.4.). R7 seviyesinde kök N-kapsamı R6'ya göre, şeker, ES-1280, ve şahin-90 çeşitlerinde sabit kalmış diğer çeşitlerde düşmüştür. R8 seviyesi şeker dışında kalan



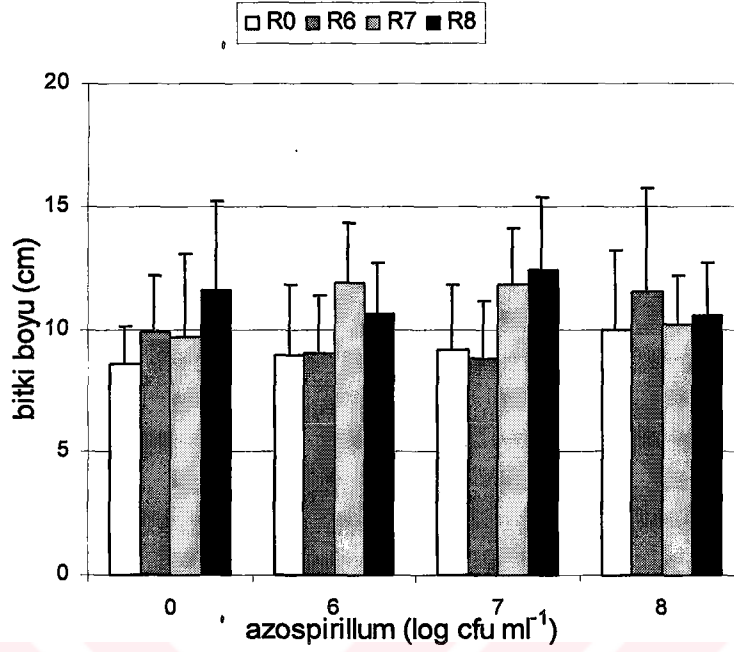
çeşitlerde artışa neden olmuştur. Genel modelde *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.10.1.). *Rhizobium* birinci derece polinomu ES-1280'de; ikinci derece polinomu ise horozda önemli çıkmıştır (Tablo 4.10.3). *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi genelde çok önemlidir (Tablo 4.10.1).



Şekil 4.10.4. Kök azot içeriğinde *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

#### 4.11. Bitki Boyu

Bitki boyu, A8 seviyesi dışında kalan *Azospirillum* uygulamalarında, *Rhizobium* seviyesi arttıkça artma eğilimindedir (Şekil 4.11.1.). Bu yükseliş en belirgin olarak A0 uygulamasında R8 seviyesinde; A6 ve A7 uygulamalarında R7 seviyesinde kendisini göstermiştir. A0, A6 ve A7 uygulamalarında, R0 seviyesinde bitki boyu ortalama 8,53; 8,96 ve 9,14 cm iken R7 seviyesinde bu değerler 9,70;11,86 ve 11,80 cm'dir. A8 seviyesinde *Rhizobium* uygulaması (R6) bitki boyunu biraz artırmışsa da diğer *Rhizobium* ortalamaları arasında belirgin bir fark yoktur.



Şekil 4.11.1. *Azospirillum* ve *Rhizobium* uygulamalarında bitki boyu (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

Genel modelde *Azospirillum* faktörü önemsiz fakat *Rhizobium* faktörü çok önemlidir (Tablo 4.11.1.). LSD testine göre en yüksek boylu bitkiler ortalama R7 ve R8 seviyelerinde çıkmıştır (Tablo 4.11.2.). A6 ve A7 dışında kalan *Azospirillum* eğrileri R6 seviyesinde R7 seviyesine geçerken önemli artışlar kaydetmiştir (Şekil 4.11.2.). Genel model *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimini önemli bulmuştur (Tablo 4.11.1.).

Tablo 4.11.1. Bitki boyuna ait ANOVA (varyans analizi) tablosu

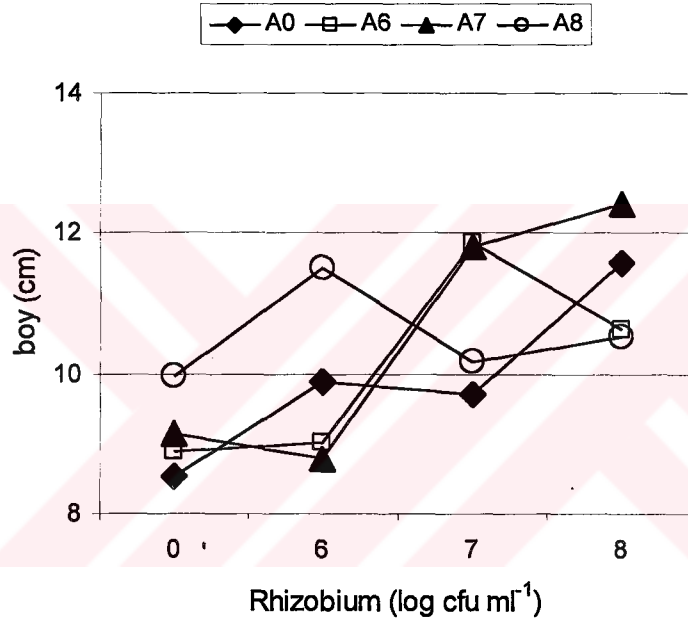
Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	F-değeri
Model	79	2,22**
<i>Azospirillum</i>	3	öd
<i>Rhizobium</i>	3	10,82**
Çeşit	4	13,65**
<i>Azospirillum</i> × <i>Rhizobium</i>	9	2,35*
<i>Azospirillum</i> ×Çeşit	12	öd
<i>Rhizobium</i> ×Çeşit	12	öd
Azosp×Rhizo×Çeşit	36	öd

\*, \*\*, öd: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli, önemli değil

Tablo 4.11.2. Bitki boyuna ait ortalamalar

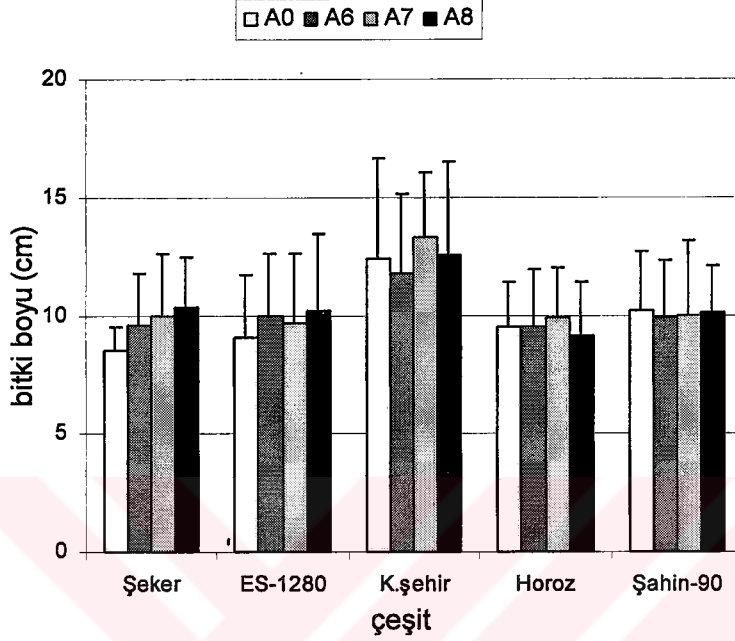
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çeşit	Ortalama
R0	9,1 <sup>b</sup>	A0	9,9	Şeker	9,5 <sup>b</sup>
R6	9,7 <sup>b</sup>	A6	10,1	ES-1280	9,7 <sup>b</sup>
R7	10,9 <sup>a</sup>	A7	10,5	K.şehir	12,5 <sup>a</sup>
R8	11,3 <sup>a</sup>	A8	10,5	Horoz	9,5 <sup>b</sup>
				Şahin-90	10,0 <sup>b</sup>

<sup>abcd</sup> Benzer üst simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre %5 seviyesinde fark yoktur

Şekil 4.11.2. Bitki boyunda *Azospirillum*-*Rhizobium* etkileşimi

Çeşit faktörü tüm verilerde olduğu gibi çok önemlidir (Tablo 4.11.1.) ve LSD testine göre en yüksek boy karacaşehirde ortaya çıkmıştır (Tablo 4.11.2.). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, şeker dışında kalan çeşitlerde ne genel bir eğilim ne de *Azospirillum* uygulamalarının ortalamaları arasında bir fark vardır (Şekil 4.11.3.). Şekerde *Azospirillum* seviyesi arttıkça bitki boyunun artma eğilimi vardır. Genel modelde *Azospirillum*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.11.1.). *Azospirillum*un birinci derece polinomu sadece horozda önemli bulunmuştur (Tablo 4.11.3.). ES-1280 ve karacaşehir

dışında kalan çeşitlerde *Azospirillum* ve *Rhizobium*un değişik polinomları arasında etkileşim vardır.



Şekil 4.11.3. Bitki boyunda *Azospirillum*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

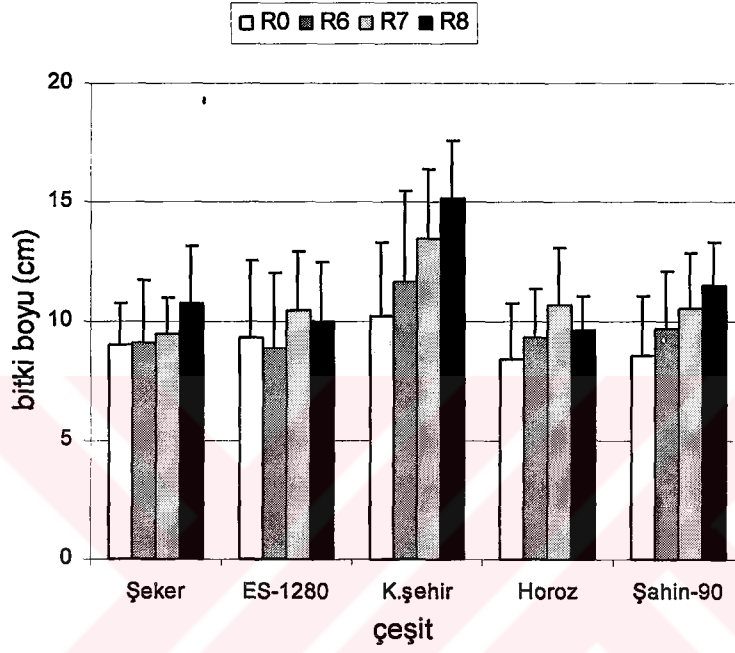
Tablo 4.11.3. Bitki boyuna ait eğilim karşılaştırmaları sonuçları

	Şeker	ES-1280	Karacaşehir	Horoz	Şahin-90
$R_B$	-	-	-	-	3,14 **
$R_I$	-	-	-	-4,93 **	-
$A_B$	-	-	-	-2,51 *	-
$A_I$	-	-	-	-	-
$R_B \times A_B$	-2,77 *	-	-	2,14 *	-
$R_B \times A_I$	-	-	-	-	-5,20 **
$R_I \times A_B$	2,50 *	-	-	-	-
$R_I \times A_I$	-	-	-	-	3,59 **

$B, I$ : Alt simgeler ilişkili uygulamanın birinci (B) ve ikinci (I) dereceden polinomlarını simgelemektedir.  
\*, \*\*: sırasıyla, %5 ve %1 düzeyinde önemli (herhangi bir değer yoksa önemsiz)

*Rhizobium* seviyesi arttıkça karacaşehir, horoz ve şahin-90 çeşitlerinde bitki boyu açısından bir artış eğilimi vardır (Şekil 4.11.4.). Diğer çeşitlerde belirgin bir trend ya da

ortalamlar arasında önemli bir fark yoktur. Genel modelde *Rhizobium*×Çeşit etkileşimi önemsizdir (Tablo 4.11.1.). *Rhizobium*un birinci derece polinomu şahin-90 ikinci derece polinomu ise horozda önemlidir (Tablo 4.11.3.). *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çeşit etkileşimi genel modelde önemsizdir (Tablo 4.11.1.).



Şekil 4.11.4. Bitki boyunda *Rhizobium*-Çeşit ilişkisi (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Nodülasyon

Genelde, R7 uygulaması üst nodül sayısını en yüksek seviyeye çıkarmıştır (Şekil 4.1.1). R8 ve R7 seviyeleri arasında herhangi bir fark olmadığından (Tablo 4.1.2.), üst nodül sayısının R8 seviyesinden sonra nasıl bir trende gireceği noktasında iyi bir tahmin yürütmek mümkün değildir. R8 seviyesinden daha üst seviyelere çıktıkça, üst nodül sayısı sabit kalabilir ya da düşme eğilimine girebilir. Birinci durum, kökte infeksiyon yapılabilecek nokta sayısının belirli olduğu ve belirli bir seviyenin üzerindeki bakteri popülasyonunun nodül sayısına herhangi bir katkısının olmadığı şeklinde açıklanabilir. İkinci durumsa, daha çok, rizosferdeki aşılınmış bakteri yoğunluğunun yüksek popülasyon seviyesinin yaratabileceği çevresel etki(ler)den (ani pH değişimi gibi) dolayı önemli ölçüde düşmesiyle ilgili olabilir. Deneme koşullarında oluşan rizosfer, torf toprağının varlığından dolayı besince zengindi, dolayısıyla, rizosfer besin açısından ancak belirli bir bakteri yoğunluğunu destekleyebilir varsayımı yanlıştır. Rizosfer şu ya da bu şekilde besin maddelerince zengin ve dinamik bir ortamdır (Atkinson and Watson, 2000; Bolton et al., 1993; De Leij and Lynch, 1997).

*Azospirillum*'un üst nodül sayısı üzerinde genelde herhangi bir etkisi gözlenmemiştir (Tablo 4.1.1.). Dolayısıyla, *Azospirillum* ilave aşılmasının nihai olarak daha fazla üst nodül sayısına neden olduğu ve böylece azot fiksasyonunu sadece *Rhizobium*lu aşılmalara göre artırdığı varsayımı çok geçerli değildir. Buna rağmen belki de, *Rhizobium* + *Azospirillum* aşılması *Rhizobium* aşılmasına göre, bitki büyümesinin önceki safhalarında (bitki gelişiminin ilk 20 – 30. gün arası) daha fazla nodül oluşmasına ve bu yolla azot fiksasyonunun artmasına neden olmuştur denilebilir (Burdman et al., 1997; Tchegotar et al., 1998).

Üst nodül sayısı üzerindeki *Azospirillum* etkisi genel modelde önemsiz çıkmasına rağmen bazı çeşitler tek başına ele alındığında önemlidir (Ek 3). Karacaşehir ve horoz

çeşitlerinin birinci ve ikinci derece *Azospirillum* polinomları da önemli çıkmıştır (Tablo 4.1.3.). Bu çeşitlerde, *Azospirillum*'un üst nodül sayısı üzerindeki etkisi A7 seviyesinde maksimum olmuş sonrasında geriye düşmüştür. Bu trendle ilgili açıklamalar *Rhizobium*'dakine benzerdir.

*Rhizobium*'un üst nodül sayısı üzerindeki etkisi genelde *Azospirillum*'a bağlı değildir (Tablo 4.1.1.), fakat, karacaşehir ve horoz çeşitlerinin tek başına varyans analizleri tersini göstermektedir (Ek 3). *Rhizobium* tüm çeşitlerde tek tip ya da aynı yönlü bir etkiye sahip değildir. Örneğin, şekerde 2. derece polinom önemli iken horozda her iki polinomial de önemlidir (Tablo 4.1.3.). *Azospirillum* önemli bir etkiye sahip değilken, *Azospirillum*'un çeşitlerdeki trendleri önemsiz fakat, birbirlerinden farklıdır (Şekil 4.1.3.).

En yüksek üst nodül sayısına sahip çeşit şeker olmuştur (Tablo 4.1.2.). Bitkide nodüllerin daha erken oluştuğunun muhtemel bir göstergesi olarak üst nodül sayısının yüksek olması, azot fiksasyonunun daha fazla olması sonucunu doğurabilir. Bu durum özellikle nodülasyon işleminin nispeten yavaş ve vejetasyon süresinin kısa olduğu, dolayısıyla, azot fiksasyonunun bitkinin azot beslenmesine önemli ölçüde katkı sağlayamadığı fasulyede (Chaverra and Graham, 1992; Isoi and Yoshida, 1991; Schroder, 1992) çok önemlidir. Şeker çeşidi bu anlamda diğer çeşitlerden daha iyi gözükmektedir. Bunu destekleyebilecek ikinci bir gözlem, şeker çeşidinde üst nodül sayısının toplam nodül sayısı içindeki payının en yüksek (% 47) olmasıdır. Bu değer horoz, karacaşehir, ES-1280, ve şahin-90 çeşitlerinde sırasıyla % 44, % 42, % 31, ve % 30'dur. Başka bir deyişle, oluşan nodüllerin yarısına yakın bir kısmı şeker çeşidinde muhtemelen daha erken oluşmuştur.

Denemede R0 (aşılınmamış) seviyesinde nodül oluştuğu gözlenmiştir. Bu durum büyüme esnasında oluşabilecek su ve hava yoluyla lokal *Rhizobium* suşlarının taşınmasının bir sonucu olabilir. Ya da, kullanılan materyallerin (saksılar, kum ve torf gibi) tamamen sterilize olmamasının doğal bir sonucudur. Her iki durumda da oluşan nodüller oldukça azdır. Örneğin, R0 seviyesinde oluşan üst nodüllerin ortalama sayısı R6 seviyesindekilerin ortalamasının üçte birinden ve R7 seviyesindekilerin ortalamasının dörtte birinden daha azdır (Tablo 4.1.2.). Ayrıca, kontrol uygulamasıyla her bir *Rhizobium* uygulaması arasında

nodüle ilişkin tüm veriler için LSD testine göre önemli farklar vardır. Denemenin büyüklüğü ve denemenin yapıldığı koşullar göz önüne alındığında, bu tür bir bulaşma kaçınılmazdır. Bulaşma, bu tür denemelerde, çok daha aseptik şartlarda çalışılabilse de ortaya çıkmaktadır (Burdman et al., 1997) ve sonuçların yorumlanmasında bu durum dikkate alınmalıdır.

Alt nodül sayısına ilişkin en önemli gözlem, *Rhizobium* uygulamasının nodül sayısını artırdığı fakat daha yüksek *Rhizobium* seviyelerinin herhangi bir değişikliğe neden olmadığıdır (Tablo 4.2.2.). Öte yandan, *Rhizobium* seviyesi arttıkça üst nodül sayısının artma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Aşılınmış bakteri yoğunlukları arasındaki farklılıklar, bitki büyümesinin ilk aşamalarında, henüz rizosfer bölgesindeki rhizobia kültürü daha taze olduğu için nodül sayılarında bir farklılığa neden olabilir. Bitki büyümesinin ileri safhalarında, verilen bakteri yoğunluğuna bakılmaksızın, rizosferdeki rhizobia yoğunluğu belirli bir dengeye ulaştığı varsayılırsa, oluşan nodüllerin sayısında da büyük farklılıklar gözlenmez. Bitki gelişmesi esnasında ilave edilen ve oluşan kimyasallar, bitki gelişme ortamının da (saksılar) kapalı olduğu dikkate alındığında, çevresel faktörleri aşılınmış mikroorganizmalar için olumsuz hale dönüştürebilir (düşük pH ya da yüksek tuz konsantrasyonu gibi). Bu ve benzeri hesaplanmamış stresler bitki gelişmesinin ileri aşamalarında aşılınmış mikroorganizmaların belirli bir yoğunlukta dengelenmesini beraberinde getirebilir. Bu arada aşılınmış mikroorganizmalar bitki geliştikçe ve sulama yapıldıkça saksının içine doğru seyrelmektedir. Böylece aşılınan *Rhizobium* bakterileri belirli bir denge yoğunluğuna ulaşabilir ve *Rhizobium* faktörü, R6 ve R8 uygulama seviyeleri arasında, bitki büyümesinin ileri aşamalarında oluşan nodül sayısına (alt nodül sayısı) etki etmeyebilir.

*Azospirillum* uygulamasının, üst nodül sayısından farklı olarak alt nodül sayısına hiçbir çeşitte etkisi yoktur (Ek 3). Bu da, *Azospirillum*'un nodülasyonun erken aşamalarındaki etkisinin bazı çeşitlerde önemli olduğunu, fakat ileri aşamalarındaki etkisinin önemsiz olduğunu göstermektedir. Okon et al. (1995) *Azospirillum*'un nodülasyonu erkene alabileceğini rapor etmiştir. Bu çalışmada, bu etkinin fasulye çeşitlerine bağımlı olduğu bulunmuştur.



*Rhizobium* faktörü toplam nodül sayısını önemli ölçüde etkilemiştir (Tablo 4.3.1.). *Rhizobium* faktörü için en yüksek F-değeri toplam nodül sayısında elde edilmiştir. Fakat, *Rhizobium* uygulaması (R6) toplam nodül sayısında bir artışa neden olduğu halde, daha yüksek *Rhizobium* seviyeleri genelde bir artış trendine neden olmamıştır (Tablo 4.3.2.). Bu durum daha önce verilen iki hipotezi destekler görünmektedir. Bunlardan birincisi, bitki destekleyebileceği kadar nodül oluşturur, dolayısıyla aşılana bakteri yoğunluğu belirli bir seviyeden sonra önemsizdir. İkincisi, bakteri yoğunluğu, başlangıç aşılama yoğunluğu ne olursa olsun, zamanla bir denge yoğunluğuna ulaşmaktadır, böylece yoğunluk belirli bir seviyenin üzerinde nodülasyon açısından önemsiz hale gelmektedir.

Daha önce yapılan bazı çalışmalarda (Kapusta and Rouwenhorst, 1973; Weaver and Frederick, 1974a, 1974b), aşılana *Rhizobium* bakterilerinin lokal *Rhizobium* suşları karşısında rekabet gücünü artırmak için bir alternatif olarak ortaya konulan yüksek aşı yoğunluğu kullanımı hedefine ulaşmamıştır. Yani, aşılana bakteri yoğunluğu belirli bir seviyenin üzerinde ne kadar artırılırsa artırılınsın, aşılana bakteriler lokal *Rhizobium*lar karşısında daha fazla nodül oluşturamamaktadır. Bu sonuçlar, denemeden elde edilen sonuçlar ve yukarıdaki hipotezlere destek vermektedir.

*Azospirillum* faktörü karacaeşehir ve horoz çeşitlerinde önemli çıkmıştır (Ek 3). *Azospirillum* bu çeşitlerde, köklerin nodülasyona daha duyarlı hale gelmesini sağlayabilir, böylece toplam nodül sayısında bir artışa neden olabilir. *Azospirillum*'la fasulye dışındaki baklagillerle yapılmış olan çalışmalar bu hipotezi destekler gözükmektedir (Iruthayathas et al., 1983; Plazinski and Rolfe, 1985; Sarig et al., 1986; Singh and Rao, 1979; Yahalom et al., 1987). Çeşitlerde önemli çıkan polinomların doğası (Tablo 4.3.3.) ve *Azospirillum* çeşit ilişkileri (Şekil 4.3.3.) dikkate alındığında, *Azospirillum*'un toplam nodül sayısını çeşitlerde genelde maksimize ettiği seviye A7'dir denilebilir.

Horoz çeşidi dışarıda bırakıldığında, nodül oluşturma açısından çeşitler arasında önemli bir fark yoktur (Tablo 4.3.2.). Buna bağlı olarak, *R. etli* ve *R. tropici* suşları belirli bir yoğunlukta aşılandığında, çeşitler benzer sayıda nodüller oluşturuyor ve bu anlamda çeşit×*Rhizobium* etkileşimi yoktur genellemeleri yapılabilir. Bu durum Chaverra and

Graham'in (1992) ortaya koyduğu bu tür etkileşimler hem konukçu hem de suş'lardaki genetik değişkenlik nedeniyle olasıdır tezine aykırı gözükmemektedir. Tersine, bu çalışma sonuçlarını destekler şekilde, Buttery et al. (1997) fasulyede çeşit×*Rhizobium* etkileşiminin sadece nodül sayısı için değil aynı zamanda simbiyotik olarak fikse edilen azot için de geçerli olmadığını görmüştür. Sonuç olarak, denemedeki iki *Rhizobium* türü, fasulye çeşitlerinde benzer şekilde nodüller oluşturur ve azot fikse eder varsayımıyla, fasulye bitkisinde genel bir kullanım alanı bulabilir.

Yukarıda anlatılmaya çalışılan çeşit×*Rhizobium* etkileşimi kavramını, bu denemenin varyans analizindeki çeşit×*Rhizobium* etkileşimi (Tablo 4.3.1.) kavramından ayırmak gerekir. Birinci durumda, herhangi bir varyans analizi olmadan, çeşitler için yapılmış LSD test sonuçlarına (Tablo 4.3.2.) bakılarak, *Rhizobium*'un çeşitlerde benzer sayıda nodül oluşturduğu ve dolayısıyla bu anlamda bir çeşit×*Rhizobium* etkileşiminin olmadığı sonucuna varılmaktadır. İkinci durum ise *Rhizobium* seviyeleri dikkate alındığında, *Rhizobium*'un münferit çeşitler üzerindeki etki tipinin ve yönünün farklı olabileceği, dolayısıyla bu anlamda bir çeşit×*Rhizobium* etkileşiminin olduğu sonucunu ortaya koymaktadır. Örnek olarak horoz ve şahin-90 çeşitlerinin önemli olan birinci derece *Rhizobium* polinomların yönlerinin zıtlığı verilebilir (Tablo 4.3.3.). *Rhizobium* seviyesi arttıkça toplam nodül sayısı horozda sürekli artarken, şahin-90'da R6 seviyesinden sonra düşme eğilimine girmiştir (Şekil 4.3.4.).

Üst nodül sayısının fazlalığı, fasulyede simbiyotik azot fiksasyonunun erkene alınmasının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Aynı şekilde, üst tarafta oluşmuş nodüllerin ağırlığıyla nodüllerin içerisindeki bakteroid popülasyonunun yoğunluğu arasında pozitif doğrusal bir ilişki olabilir. Başka bir deyişle, üst nodül ağırlığı arttıkça erken oluşan nodüller içerisindeki bakteroid sayısı, dolayısıyla simbiyotik azot fiksasyonu artmaktadır varsayımı yapılabilir. Nodül ağırlığındaki artış bakteroid sayısındaki artışla ilişkili olmayıp, nodül içerisindeki infekte olmamış (Bergerson, 1997) ya da infeksiyon bölgesini çevreleyen bitki hücrelerindeki (Shoichiro et al., 1999; Tchepotar et al., 1998) artışın doğal bir sonucu olabilir. Fakat, her iki durumda da, eğer nodül azot fikse eden bir sistem olarak kabul edilirse, bu sistemin ağırlığındaki artış azot fiksasyonunda da bir artışı

getirebilir.

Buttery et al. (1997), nodül ağırlığıyla azot fiksasyonunun bir göstergesi olarak asetilen redüksiyon aktivitesi (Weaver and Danso, 1994) arasında çok önemli bir doğrusal ilişki belirlemiştir. Bu çalışmada, üst nodül ağırlığı ve üst nodül sayısı en fazla olan şeker çeşidi diğer çeşitler arasında kökte birinci ve sapta ikinci sırada % azot içeriğine ulaşmıştır (Tablo 4.9.2. ve 4.10.2.). Deneme koşullarında bitki için iki azot kaynağı vardır: i. torftan ve kumdan kaynaklanan inorganik azot; ii. atmosferik azot. Bunlardan birincisi eser miktardadır (bkz. Materyaller ve Metotlar) ve saksılara herhangi bir mineral azot ilavesi yapılmamıştır. Sonuç olarak, bitki tarafından alınan azotun büyük bir kısmı muhtemelen simbiyotik azot fiksasyonundan karşılanmıştır. Dolayısıyla, bu denemede % azot içeriğindeki artış aynı zamanda azot fiksasyonundaki artışın bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Buttery et al. (1997) ve benim gözlemlerim, nodül ağırlığının artması bitkinin azot fiksasyon kapasitesini artırır varsayımını destekler gözükmektedir.

Alt nodül ağırlığı ve toplam nodül ağırlığında, nodüle ilişkin diğer verilerden farklı olarak *Azospirillum* etkisi gözlenmiştir (Tablo 4.5.2. ve 4.6.2.). Her ikisi de A7 seviyesine kadar artmış sonrasında bir düşüş trendine girmiştir. Daha önceki gözlemlerdeki gibi, genelde A7 seviyesi nodül ağırlığını maksimize etmiştir (Şekil 4.5.3. ve 4.6.3.). Bu durum, toplam nodül ağırlığında ikinci derece *Azospirillum* polinomalleri önemli çıkan şeker ve horoz çeşitlerinde daha belirgindir (Tablo 4.6.3.).

*Azospirillum* toplam nodül sayısına değil de, toplam nodül ağırlığına etki etmiştir. Bu çalışma, “*Azospirillum* nihai olarak *Rhizobium* tarafından nodülasyon yapılabilecek toplam bitki kökü bölgelerinin duyarlılığını artırmaktadır” hipotezini desteklememektedir. Bunun yerine “*Azospirillum* bitkinin daha iyi gelişmesini sağlayarak nodüllerin C metabolizmasını artırmıştır” hipotezi ortaya sürülebilir. Bu varsayım *Rhizobium-Azospirillum* çoklu aşılmasında ilk defa bu çalışmada öne sürülmüştür. Bu varsayımı destekleyen en önemli gözlem *Azospirillum* aşılmasının sap ağırlığını artırmış olmasıdır (Tablo 4.7.1. ve 4.7.2.). Daha önceki çalışmalar *Rhizobium-Azospirillum* çoklu aşılmasının *Rhizobium* tekli aşılmasına göre bitkide daha fazla kütle oluşturduğunu

bulmuştur (Burdman et al., 1997; Itzigsohn et al., 1993; Sarig et al., 1986; Yahalom et al., 1987).

*Rhizobium* seviyesi  $10^6$  köb  $ml^{-1}$  'den  $10^8$  köb  $ml^{-1}$  'ye çıkarıldığı, başka bir deyişle 100 kat artırıldığı halde, üst nodül sayısı hariç nodülasyona ilişkin hiçbir veride artış olmamıştır (Tablo 4.2.2 ve Tablo 4.6.2. arası). Bu da, daha önce ileri sürülen "aşı yoğunluğu ne olursa olsun, aşılana bakteriler zamanla rizosferde belirli bir yoğunluğa ulaşır" tezi bir kenara bırakılırsa, genel olarak nodülasyon daha çok bitki genomu tarafından mı yönlendirilmektedir sorusunu ortaya çıkarmaktadır. Baklagil-*Rhizobium* ortak yaşamında baklagil ortağını inceleyen bazı çalışmalar vardır (De Bruijn et al., 1994; Franssen et al., 1992; Hirsh, 1992; Verma et al., 1992). Nodül spesifik bitki genleri olarak da bilinen nodülinler azot fiksasyonundan çok daha önce, kök nodülü oluşumunun başlangıcında ekspres edilmektedir. Nodülinler fasulyede (Sanchez et al., 1987) olduğu gibi diğer bazı baklagillerde de (Scherez et al., 1990; van de Wiel et al., 1990; Verma et al., 1981) bulunmaktadır. Fakat, gerek bu çalışmalarda gerekse *Rhizobium* ortağını anlatan çalışmalarda (van Rhijn and Vanderleyden, 1995; Vincent, 1980) hangi ortağın ortak yaşamda daha yönlendirici olduğuna dair bir bilgi yoktur.

*Azospirillum* ilave aşısı olsun ya da olmasın, nodülasyona ilişkin en iyi çeşit şekerdir. Şeker çeşidi diğer çeşitler arasında en fazla üst nodül oluşturmuştur (Tablo 4.1.2.) ve diğer nodülasyon verilerinde de, aralarında bazı çeşitlerle istatistiksel fark olmasa da genelde sayısal olarak en yüksek değerlere ulaşmıştır. Bu durum, muhtemelen sadece denemede kullanılan *Rhizobium* suşlarıyla ilişkili olmayıp, bu çeşidin genelde yüksek nodülasyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu tür yüksek nodülasyon gücüne (super-nodulating) sahip baklagillere örnek olarak bir soya fasulyesi mutanti (*Glycine max* cv. nts1007) verilebilir (Ofos-Budu et al., 1995).

## 5.2. Bitki Büyümesi

*Rhizobium* seviyesi arttıkça sap ağırlığı sayısal olarak yükselmiş, fakat bu yükselme ancak R8 seviyesinde fark yaratmıştır (Tablo 4.7.2.). Toplam nodül sayısı ya da ağırlığı ile

sap ağırlığı regresyona tabii tutulmuş ve genelde nodül ağırlıklarının ikinci derece polinomları sap ağırlığında çok önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Fakat, regresyon katsayıları ( $R^2$ ) düşük olduğundan dolayı bu regresyonlar verilmemiştir. Dolayısıyla, “genelde nodül verilerinden herhangi birindeki bir artışa paralel olarak sap ağırlığı artmaktadır” varsayımı çok geçerli değildir. Zaten R8 seviyesindeki sap ağırlığı hariç tutulacak olursa, *Rhizobium* seviyeleri arasında önemli bir fark yoktur. Bitki ağırlığı, azot fiksasyonu ve nodül verileri arasındaki ilişkileri daha sağlıklı biçimde belirlemek bazı moleküler (Cooper et al., 1998; Mahaffee et al., 1997; Perret and Broughton, 1998; Sessitsch et al., 1998; Teaumroong and Boonkerd, 1998; Wilson et al., 1995) ya da analitik (Rennie et al., 1982; Talbott et al., 1982; Vasilas and Ham, 1984; Weaver and Danso, 1994) tekniklerin kullanımıyla mümkün olabilir.

*Azospirillum* genel modelde sap ağırlığına önemli derecede etki etmiştir (Tablo 4.7.1.). Bu etki için, iki değişik fakat birbiriyle bağlantılı mekanizma yoluyla bitki beslenmesinin arttığı ve bu iki mekanizmadan birinin ya da her ikisinin geçerli olduğu öne sürülebilir. Bunlardan birincisi, bitki gelişmesinin erken devrelerinde, *Azospirillum* bitki köklerinin nodülasyona duyarlı bölgelerini genişletmektedir. Bunu, ya zamanla infekte olmuş kılcal köklere dönüşen epidermal hücrelerin oluşumunu hızlandırmakla ya da rhizobia tarafından sonradan doldurulacak ilave infeksiyon sahaları oluşturmakla yapmaktadır (Plazinske and Rolfé, 1985; Yahalom et al., 1987). Fakat, önemle vurgulamak gerekir ki, *Rhizobium* + *Azospirillum*'la aşılansmış bitkilerde oluşan nodüller bitkinin erken gelişme safhalarında (bitki gelişmesinin 20 – 30. gün) sadece *Rhizobium*'la aşılansmış bitkilerdekine göre fazlayken, bu fark zamanla (bitki gelişmesinin 40 – 50. günü) kapanmaktadır (Burdman et al., 1997; Tchebotar et al., 1998).

İkinci mekanizma ise *Azospirillum*'un dolaylı etkisinden daha çok direk etkisiyle ilişkilidir. *Azospirillum* baklagillerde olduğu kadar simbiyotik azot fiksasyonundan yararlanamayan tahıllarda da etkili olmaktadır. Bitki kuru madde artışı için öne sürülen mekanizmalar arasında i. kılcal köklerin gelişmesinin ve dallanmasının teşvik edilmesi (Kapulnik and Okon, 1983; Tien et al., 1979; Umali-Garcia et al., 1980); ii. aşılansmış köklerin mineral alımının artırılması (Kapulnik et al., 1984; Lin et al., 1983); iii. bitki

parçalarında kuru madde akümülyasyonunun artırılması (Sarig et al., 1984; Yahalom et al., 1984); iv. bitkinin su durumunun iyileştirilmesi (Okon, 1984); v. bitkinin azot beslenmesine yardımcı olunması (Kapulnik et al., 1981; Okon et al., 1983) vi. bitkinin yararlanabileceği hormonların salgılanması (Vande Broek and Vanderleyden, 1995); vii. nitrit üretimi (Bothe et al., 1992) bulunmaktadır. Sonuç olarak, *Azospirillum* bitki beslenmesine direk olarak bir katkı sağlamış olabilir. Ayrıca, bitkiler daha iyi geliştiklerinden daha fazla karbonu nodül oluşumuna ve sürekliliğine ayırmışlar, böylece daha ağır nodül sistemi oluşturmuşlardır (Tablo 4.6.2.) denilebilir. Fotosentez ürünlerinin simbiyotik azot fiksasyonunu etkilediği (Havelka et al., 1982) ve bitkideki karbonun yaklaşık % 7'lik bir kısmının nodül devamlılığına ayrıldığı (Brun, 1976) bilinmektedir.

Genelde, *Rhizobium* ve *Azospirillum* seviyeleri arttıkça sap ağırlığı artma trendine girmiştir (Tablo 4.7.2.). Bu gözlem çeşitlerde genelde söz konusudur (Şekil 4.7.3. ve 4.7.4.), ayrıca, şeker ve karacaşehir çeşitlerinin birinci derece polinomalleri önemli çıkmıştır (Tablo 4.7.3.). Genelde sap ağırlığını maksimize eden bakteri seviyeleri  $10^8$  kob  $ml^{-1}$  'dir. Bu durum, bakterilerin sap ağırlığındaki etkilerinin, sadece nodülasyon ve azot fiksasyonu yoluyla kütle kazanımı ile açıklanamayacağının bir başka göstergesidir. Nodülasyona ilişkin veriler (üst nodül sayısı hariç) *Rhizobium* seviyelerinden bağımsızdır. Dolayısıyla, burada daha çok *Azospirillum* etkisinden ve *Azospirillum* × *Rhizobium* sinerjisinden (Tablo 4.7.2.) bahsetmek mümkündür.

Benzer şekilde, *Rhizobium* seviyesi arttıkça kök ağırlığı artma eğilimindedir (Tablo 4.8.2.). *Azospirillum* seviyesinin artması kök ağırlığını artırmıştır, fakat bu artış *Rhizobium*'daki gibi önemli değildir. Bitkinin toplam ağırlığı ele alındığında *Azospirillum* faktörü  $p < 0.05$  seviyesinde önemli çıkmaktadır (veriler gösterilmemiştir). Dolayısıyla, *Azospirillum* seviyesinin artması, *Rhizobium*'da olduğu gibi bitkinin kök kısmında da bir artışa neden olmasa da, bitkinin genelinde bir artışı ortaya çıkarmaktadır. Sonuç olarak, *Azospirillum* aşılması bitki genelinde bir iyileştirme yapmaktadır.

Bakteri aşılmasının bitkinin bir kısmında artışa neden olduğu halde diğer bir kısmında artışa neden olmadığı durumlar vardır. Örneğin, Burdman et al. (1997) fasulye

bitkisinde yaptığı denemede, *Rhizobium*+*Azospirillum* aşılmasının *Rhizobium* aşılmasına göre sap ağırlığını artırdığı halde kök ağırlığını artırmadığını görmüştür. Ofos-Budu et al. (1995) değişik soya fasulyesi çeşitleriyle yaptıkları çalışmada, çeşitler arasında kök ve sap açısından bir fark olmadığı halde, toplam bitki ağırlığı açısından bir fark olduğunu görmüştür.

Çeşit açısından kök ağırlığındaki farklılıklar sap ağırlığındaki farklılıklardan daha belirgin gözükmemektedir (Tablo 4.7.2. ve 4.7.3.). Fakat sonuçta, en yüksek sap ve kök ağırlıklarına sahip çeşitler şeker ve şahin-90'dır. Bu çeşitlerin, özellikle de şekerin diğer çeşitlere göre nodülasyonda daha iyi oldukları görülmektedir. Dolayısıyla, genelde nodülasyonun derecesi ile bitkinin genel gelişme durumu arasında bir ilişki kurulabilir. Fakat, denemedeki veriler, daha öncede belirtildiği, gibi moleküler ya da hassas bir analitik metot kullanılarak elde edilmediği için bu tür bir ilişki net olarak ortaya koyulamamaktadır. Örneğin, bitki kök ya da toplam ağırlığı ile nodülasyon verileri arasındaki doğrusal çoklu regresyonlar önemli çıksa da çok düşük korelasyon katsayılarına sahiptirler (veriler gösterilmemiştir). Benzer şekilde, bitki parçaları ve bakteri seviyeleri arasında ikinci derece önemli regresyonlar çıkmasına rağmen korelasyon katsayıları düşüktür.

*Rhizobium* seviyesi arttıkça saptaki % azot miktarı değişmemektedir (Tablo 4.9.1.). Başka bir deyişle, *Rhizobium* ilavesi bitki sapında bir azot zenginleşmesine neden olmamaktadır. Fakat, sapta toplam alınan N açısından bakıldığında *Rhizobium* faktörü  $p < 0.05$  önem derecesinde önemli bulunmuştur (veriler gösterilmemiştir). Benzer şekilde, de Oliveira et al. (1998) değişik fasulye çeşitleriyle yaptığı çalışmada, çeşitler arasında bitkideki % N açısından bir fark olmadığını, fakat bitkideki toplam N açısından bir fark olduğunu görmüştür. Değişik herbisitlerin ve *B. japonicum* aşılmasının soya fasulyesinin bitki gelişimi ve nodülasyonu üzerindeki etkilerini araştıran Kucey et al. (1988a), bakteri aşılmasının bitkideki % N üzerinde etkisi olmadığı halde bitkideki toplam N üzerinde etkisi olduğunu belirlemiştir. Kucey et al. (1988b) soya fasulyesinde değişik çeşitler ve *B. japonicum* suşları kullanarak yaptığı çalışmada, suşların bitkideki N konsantrasyonunu etkilemediği halde bitkideki toplam azotu etkilediğini tespit etmiştir. Son iki çalışmanın

uygulamaları arasında bitkide simbiyotik yolla fikse edilen N açısından da farklılıklar bulunmaktadır. Sonuç olarak, tez çalışmasında, bitki azotunun çok büyük bir kısmının simbiyotik azot fiksasyonu yoluyla elde edildiği varsayılırsa, *Rhizobium* seviyesi arttıkça simbiyotik azot fiksasyonu artma eğilimindedir denilebilir.

*Azospirillum*'un sap ve kök N konsantrasyonuna herhangi bir etkisi olmamıştır (Tablo 4.9.2.). Benzer şekilde, *Azospirillum* bitkide toplam N akümüasyonunu etkilememiştir (veriler verilmemiştir). Bu durum, *Azospirillum*'un bitkide N beslenmesine yardımcı olarak bitki gelişmesine katkıda bulunduğu yolundaki tezlere (Kapulnik et al., 1981; Okon et al., 1983) ters düşmektedir. Sonuç olarak, *Azospirillum* bitki gelişmesine daha önce bahsedilen N dışındaki mekanizmalarla ve *Rhizobium*'un etkisini artırarak katkı sağlamaktadır denilebilir. *Azospirillum* aşılması bitkinin sap ağırlığını ve nodül ağırlığını artırmıştır.

Sap N içeriği açısından bakıldığında, ES-1286 çeşidi en yüksek değere ulaşmıştır (Tablo 4.9.2.). Daha önceki tüm verilerde, şeker çeşidi en yüksek değerlere ulaşmıştı. Sapta ve bitkideki toplam N açısından bakıldığında, LSD testine ( $p < 0.05$ ) göre yine şeker çeşidi en fazla N biriktirmiştir (veriler gösterilmemiştir). Dolayısıyla, sadece bitki sapı açısından bakıldığında, ES-1286 çeşidi N'u en çok zenginleştirirken, şeker çeşidi en fazla N biriktirmiştir. ES-1286 çeşidi, R6 seviyesinde en yüksek N kapsamına sahipken, *Rhizobium* seviyesinin artmasıyla N içeriği düşmüştür (Şekil 4.9.4.) ve ES-1286 çeşidinin birinci derece *Rhizobium* polinomiali önemli çıkmıştır (Tablo 4.9.3.). *Rhizobium* seviyesinin artırılması her zaman daha fazla N fiksasyonu ile sonuçlanmamaktadır ve bu durum çeşitlere bağlı olarak değişmektedir.

*Rhizobium* aşılması, sap azot içeriğinin tersine, kök N içeriğini artırmıştır, fakat *Rhizobium* seviyeleri arasında herhangi bir fark yoktur (Tablo 4.10.1. ve 4.10.2.). Bu durum, üst nodül sayısı hariç daha önceki nodülasyon verilerine benzerlik göstermektedir. Başka bir deyişle, *Rhizobium* uygulaması ölçülen verilerin artmasına neden oluyor, fakat *Rhizobium* seviyesinin artması bir artış trendini sonuçlamıyor. Bu durum, kısmi sterilizasyon sonucu protozoa gibi bir takım biyotik streslerin yok edilmesi ve uygun bir



hava-su dengesinin kurulması sonucu bitki gelişme ortamındaki aşılınmış mikroorganizmaların, başlangıç sayıları ne olursa olsun, muhtemelen rizosferde bir denge yoğunluğuna ulaşmasının bir sonucu olabilir.

Baklagil-*Rhizobium* çalışmalarında, uygulamanın bitkinin bir kısmını azotça zenginleştirdiği halde diğer bir kısmını zenginleştirmedeği duruma örnek olarak Gulden and Vessey'in (1997) amonyum/nodülasyon ilişkisini inceledikleri çalışma verilebilir. Bu çalışmada, bitki ekiminin 35. gününde, kontrol hariç tutulacak olursa uygulamalar arasında kök azot içeriği açısından herhangi bir fark yoktur, fakat sap içeriği açısından fark vardır.

*Rhizobium* faktörü bitkideki toplam N kapsamını etkilememiştir, fakat bitkideki toplam N miktarını çok önemli derecede ( $p < 0.01$ ) etkilemiştir (veriler verilmemiştir). Sonuç olarak, *Rhizobium* seviyesinin artmasına paralel, bitkide bir N zenginleşmesi söz konusu değildir, fakat toplam azot artmıştır. Toplam azot, R0, R6, R7 ve R8 seviyelerinde sırasıyla 2,95, 2,98, 2,99 ve 3,40 mg N g<sup>-1</sup> olup, LSD testine göre ilk üç seviye arasında fark yoktur. Bu durum, bitki büyümesinde genel olarak, *Rhizobium* ve nodülasyonun etkisi yanında *Azospirillum* ve *Azospirillum/Rhizobium* sinerjisinin de etkili olduğunu göstermektedir.

Şeker çeşidi, en yüksek kök N kapsamına sahiptir (Tablo 4.10.2.). Benzer şekilde, şeker çeşidi, bitkideki toplam N açısından da en yüksek seviyeye sahiptir ve diğer çeşitlerden LSD testine göre farklıdır (veriler verilmemiştir). Bitki ağırlığı açısından da en yüksek seviyeye sahip çeşit şeker olarak belirlenmişti. Sonuç olarak, denemedeki bakteri kültürleri kullanıldığında, nodülasyon ve bitki büyümesi açısından en iyi tepkiyi şeker çeşidi vermektedir. Denemede, bitki hasadına kadar gidilmemiştir, dolayısıyla herhangi bir verim parametresi yoktur. Fakat, Buttery et al. (1997) fasulyede tane verimiyle asetilen redüksiyon aktivitesi (ARA) ve bitkide toplam nodül sayısı arasında önemli ilişkiler bulmuştur. Bu çalışmada, tane verimi ve ARA arasındaki ilişkinin korelasyon katsayısı 0.50 ve tane verimi ve bitkide nodül sayısı arasındaki ilişkinin korelasyon katsayısı 0.47 olarak belirlenmiştir.

Bitki boyu, bitki büyümesinin bir göstergesi olarak kaydedilmiştir. *Rhizobium* seviyesinin artmasına paralel olarak bitki boyu artmıştır, fakat *Azospirillum* faktörünün herhangi bir etkisi olmamıştır (Tablo 4.11.1. ve 4.11.2.). *Rhizobium* genelde nodülasyonu ve bitki büyümesini etkilemiştir. Dolayısıyla, bitki boyunun artması bu iyileşmelerin bir sonucu olabilir. Çeşitler arasında en yüksek boya sahip çeşit karacaşehirdir. Bu durum karacaşehir çeşidinin yarı sarılcı diğerlerinin bodur olmasının bir sonucudur.

### 5.3. Sonuç ve Öneriler

Genelde, *Azospirillum brasilense* Sp7 bakterisinin *Rhizobium etli* ve *Rhizobium tropici* ile birlikte fasulyede kullanılması çoğu nodülasyon ve bitki büyümesi parametrelerini fasulye çeşitlerine bağlı olarak artırmıştır. *Azospirillum* uygulaması daha önceki çalışmalardan farklı olarak nodülasyon parametrelerinden sadece nodül ağırlığını artırmıştır. Genel olarak, optimum *Rhizobium* yoğunluğu  $10^6$  kob ml<sup>-1</sup> bitki<sup>-1</sup> ve optimum *Azospirillum* yoğunluğu  $10^7$  kob ml<sup>-1</sup> bitki<sup>-1</sup> olmuştur. Nodülasyon ve bitki büyümesi parametreleri açısından bakıldığında en iyi çeşit şeker olarak belirlenmiştir.

Denemede kullanılan suşlar hakkında Türkiye’de oldukça sınırlı bilgi mevcuttur. Bu tür çalışmalar, ekonomik olarak daha uygun ve çevreye zararları oldukça sınırlı olan bakteri aşılama yöntemlerini yaygınlaştıracak, bu konudaki bilgi ve deneyimleri artıracaktır. Bu çalışma, fasulyede nodülasyon ve bitki büyümesi parametrelerindeki genel iyileşmelerin, bakteri etkisinin en belirgin olduğu çeşidin ve uygun bakteri aşılama yoğunluklarının belirlendiği öncü bir çalışma olarak kabul edilebilir.

Bundan sonra araştırılması gereken konular arasında en önemlileri şunlardır: a. Uygun aşılama üretim stratejilerinin belirlenmesi; b. *Azospirillum*’un baklagillerde tek aşı olarak kullanılma olanağı; c. *Azospirillum*’un tarlada bulunan yerel suşlar arasında nodülasyona etki açısından seçiciliği; d. *Azospirillum*’un yerel ve aşılama *Rhizobium* suşları arasında nodülasyon açısından bir seçim yapıp yapmadığının belirlenmesi; e. *Azospirillum*’un baklagil bitkilerindeki etki mekanizmasının daha net olarak belirlenmesi.

## KAYNAKLAR

- AARON, D.K., 1995.** Appendix B: Comparing treatment means. p. 1-36. *In* D. K. Aaron (ed.) Design and analysis of experiments with applications to agriculture, biology and related sciences. University of Kentucky press, Lexington, KY, USA.
- ABDELGADIR, A. H., ALEXANDER, M., 1997.** Procedures to enhance heat resistance of *Rhizobium*. *Plant and Soil* 188: 93-100.
- AKÇİN, A., 1988.** Yemelik Dane Baklagiller. Selçuk Üniversitesi Yayınları No:8.
- ALAGAWADI, A.R., GAUR, A.C., 1992.** Inoculation of *Azospirillum brasilense* and phosphate-solubilizing-bacteria on yield of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] in dry land. *Tropical Agriculture* 69: 347-350.
- AL-NAHIDH, S., GOMAH, A.H.M., 1991.** Response of wheat dual inoculation with VA-mycorrhiza and *Azospirillum*, fertilized with NPK and irrigated with sewage effluent. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 5: 83-96.
- ALWI, N., WYNNE, J.C., RAWLINGS, J.O., SCHNEEWEIS, T.J., ELKAN, G.H., 1989.** Symbiotic relationships between *Bradyrhizobium* strains and peanut. *Crop Science* 29:50-54.
- ANDREAVA, I. N., RED'KINA, T.V., ISMAILOV, S.F., 1993.** The involvement of indolasetic acid in the stimulation of *Rhizobium*-legume symbiosis by *A. brasilense*. *Russian Journal of Plant Physiology* 40: 901-906.
- ANONYMOUS, 1995.** *Azospirillum*-VI and related microorganisms: Genetics, physiology, and ecology. *In* I. Fendrick (ed.) NATO ASI Series 6., Ecological Sciences No:37.
- ARMARGER, N., 1988.** The microbial aspects of faba bean culture. p. 173-178. *In* D.P. Back and L.A. Materon (ed.) Nitrogen fixation by legumes in Mediterranean agriculture. International Centre for Agricultural Research in Dry Areas, Aleppo, Syria.
- ARMARGER, N., MACHARET, V., LAGUERRE, G., 1997.** *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. *International journal of systemic bacteriology* 47: 996-1006.
- ATKINS, C.A., RAINBIRD, R.M., 1982.** Physiology and biochemistry in biological nitrogen fixation in legumes. p. 25-52. *In* N. S. Subba Rao (ed.) Advances in Agricultural Microbiology. Butterworth, London.
- ATKINSON, D., WATSON, C.A., 2000.** The beneficial rhizosphere: a dynamic

entity. *Applied Soil Ecology* 15:99-104.

**BALDANI, V.L.D., ALVEREZ, M.A.B., BALDANI, J.I. DÖBERIENER, J., 1986.** Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. *Plant and Soil* 90: 35-46.

**BASHAN, Y., 1986.** Alginate beads as synthetic inoculant carriers for slow release of bacteria that affect plant growth. *Applied and Environmental Microbiology* 51:1089-1098.

**BASHAN, Y., 1990.** Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Canadian Journal of Microbiology* 36: 591-608.

**BASHAN, Y., 1998.** Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnological Advances* 16:729-770.

**BASHAN, Y., 1999.** Interactions of *Azospirillum* spp. in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils* 29: 246-256.

**BASHAN, Y., HOLGUIN, G., 1997a.** *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 103-121.

**BASHAN, Y., HOLGUIN, G., 1997b.** Short- and medium-term avenues for *Azospirillum* inoculation. p. 130-149. *In* Ogoshi et al. (ed.) *Plant growth promoting Rhizobacteria: Present status and future prospects*. Nakashi Printing, Sappora, Japan.

**BASHAN, Y., GONZALES, L.E., 1999.** Long term survival of the plant-growth-promoting bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* in dry alginate inoculant. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51:262-266.

**BASHAN, Y., LEVANONY, H., WHITMOYER, R.E., 1991.** Root surface colonization of non-cereal crop plants by pleomorphic *Azospirillum brasilense* Cd. *Journal of General Microbiology*. 137: 187-196.

**BASHAN Y., PUENTE, M.E., RODRIGUEZ-MENDOZA, M.N., TOLEDO, G., HOLGUIN, G., FERRERA-CERRATO, R., PEDRIN, S., 1995.** Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1938-1945.

**BASHAN, Y., HARRISON, S.K., WHITMOYER, R.E., 1990.** Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *A. brasilense* is not necessarily due to general enhancement of mineral uptake. *Applied and Environmental Microbiology* 56:769-775.

**BELIMOV, A.A., KOJEMIAKOV, A.P., CHUVARLIYEVA, C.V., 1995.** Interaction

between barley and mixed cultures of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria. *Plant and Soil* 173: 29-37.

**BERGERSON, F.J., 1997.** Regulation of nitrogen fixation in infected cells of leguminous root nodules in relation to O<sub>2</sub> supply. *Plant and Soil* 191: 189-203.

**BODDEY, R.M., DOBERIENER, J. 1988.** Nitrogen Fixation associated with grasses and cereals: Recent results and perspectives for future research. *Plant and Soil* 108: 53-65.

**BODDEY, R.M., OLIVEIRA, O.C., ALVES, B.J.R., URQIAGA, S., 1995.** Field application of the 15-N isotope dilution technique for the reliable quantification of plant associated biological nitrogen fixation. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 649-655.

**BOLTON, H., FREDRICKSON J.K., ELLIOT, L.F., 1993.** Microbial ecology of the rhizosphere. p. 27-65. In F. B. Metting (ed.) *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, Inc., NY, USA.

**BOTHE, H., KÖRSGEN, H., LEHMACHER, T., HUNDESHAGEN, B., 1992.** Differential effects of *Azospirillum*, auxin and combined nitrogen on the growth of the roots of wheat. *Symbiosis* 13: 167-179.

**BREMNER, J.M., MULVANEY, C.S., 1982.** Total nitrogen. p. 595-622. In A. L. Page et al. (ed.) *Methods of Soil Analysis, Part II: Chemical and Microbiological Properties*. SSSA Inc., Madison, WI.

**BROCKWEELL, J.M., BOTTOMLEY, P.J., 1995.** Recent advances in inoculant technology and prospects for the future. *Soil Biology and Biochemistry* 27:683-697.

**BROEK, A.V., LAMBRECHT, M., VANDERLEYDEN, J., 1998.** Bacterial chemotactic motility is important for the initiation of wheat root colonization by *A. brasilense*. *Microbiology* 144: 2599-2606.

**BRUN, W.A., 1976.** The relation of N<sub>2</sub> fixation to photosynthesis. p. 135-150. In L. D. Hill (ed.) *World Soybean Research Conference*. The Interstate Printers and Publishers, Inc., Danville, IL, USA.

**BURDMAN, S., KIGEL, J., OKON, Y., 1997.** Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Soil Biology and Biochemistry* 29:923-929.

**BURRIS, R.H., 1988.** Biological nitrogen fixation: A scientific perspective. *Plant and Soil* 108: 7-14.

- BUSHBY, H.V., 1988.** Nodulation, nitrogen fixation and the need for inoculation of *Vigna* species in tropical Australia. p. 418-426. In S. Shanmugasundaram and B.T. Mclean (ed.) Mungbean: Proceedings of the Second International Symposium on Asian Vegetable Resource Centre, Shanhua, Taiwan.
- BUTTERY, B.R. DIRKS, V.A., 1987.** The effects of soybean cultivar, *Rhizobium* strain and nitrate on plant growth, nodule mass and acetylene reduction rate. Plant and Soil 98: 285-293.
- BUTTERY, B.R., PARK S.J., VAN BERKUM, P., 1997.** Effects of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar and *Rhizobium* strain on plant growth, seed yield and nitrogen content. Canadian Journal of Plant Science 77: 347-351.
- CECCATTO, V.M., GOMES, J.E., SARRIES, G.A., MOON, D.H., TSAI, S.M., 1988.** Effects of host plant origin on nodulin activities and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil 204: 79-87.
- CHAVERRA, M.H., GRAHAM, P.H., 1992.** Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. Crop Science 32: 1432-1436.
- CHIU, C.Y., WATANABE, I., YOSHIDA, T., 1990.** Estimation of N<sub>2</sub> fixation of soybean by comparison of different <sup>15</sup>N labeling methods. Soil Science and Plant Nutrition 36: 383-388.
- COLNAGHI, R., GREEN, A., HE, L., RUDNICK, P., KENNEDY, C., 1997.** Strategies for increased Ammonium production in free living or plant associated nitrogen fixing bacteria. Plant and Soil 194: 145-154.
- COOPER, J.E., BJOURSAN, A.J., STREIT, W., WERNER, D., 1998.** Isolation of unique nucleic acid sequences from rhizobia by genomic subtraction: Applications in microbial ecology and symbiotic gene analysis. Plant and Soil 204: 47-55.
- CROWLEY, G.M., 1994.** Groundwater rise, soil salinization and the decline of Casuarina Southeastern Australia during the late quaternary. Australian Journal of Ecology 19: 417-424.
- DE BRUJIN, F.J., CHEN, R.J., FUJIMOTO, S.Y., PINAEV, A., SILVER, D., SZCZYGLOWSKI, K., 1994.** Regulation of nodulin gene expression. Plant and Soil 161: 59-68.
- DE LEIJ, M., LYNCH, J. M., 1997.** Functional diversity of the rhizosphere. p. 38-44. In a. Ogoshi et al., (ed.) Proc. Plant growth promoting rhizobacteria: present status and future prospects. Nakanishi printing, Sapporo, Japan.
- DE OLIVEIRA, W. S., MEINHARDT, L.W., SESSITSCH, A., TSAI, S.M., 1998.** Analysis of *Phaseolus-Rhizobium* interactions in a subsistence farming system. Plant and Soil 204: 107-115.

- DEL GALLO, M., FABRI, P., 1991.** Effect of soil organic matter on chickpea inoculated with *A. brasilense* and *R. leguminosarum* bv. ciceri. *Plant and Soil* 137:171-175.
- DÖBERIENER, J., 1997.** Biological nitrogen fixation in tropics: social and economic contributions. *Soil Biology and Biochemistry* 29:771-774.
- DÖBERIENER, J., PEDROSA, F.O., 1987.** The genus *Azospirillum*. p. 4-57. In J. Döberienner and F. O. Pedrosa (ed.) *Nitrogen fixing bacteria in non-leguminous crop plants*. Springer Verlag, NY, USA.
- DÖBERIENER, J., DAY, J.M., 1976.** Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen fixation sites. p. 518-538. In W. E. Newton and C. J. Nyman (ed.) *Proceedings of the 1<sup>st</sup> Int. Symposium on Nitrogen Fixation*. Washington State Univ. Press, Pullman, Washington, USA.
- DÖBERIENER, J., URQUIAGA, S., BODDEY, R.M., 1995.** Alternatives for nitrogen nutrition of crops in tropical agriculture. *Fertility Resources* 42:339-346.
- ELSHANSHORY, A.R., 1995.** Interactions of *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* and *Streptomyces mutabilis*, in relation to their effect on wheat development. *Journal of Agronomy and Crop Science* 175: 119-127.
- FAGES, J., 1992.** An industrial view of *Azospirillum* inoculants: formulation and application technology. *Symbiosis* 13: 15-26.
- FAGES, J., 1994.** *Azospirillum* inoculants and field experiments. p. 87-110. In Y. Okon (ed.) *Azospirillum/plant associations*. CRC Press, Boca Raton.
- FAGES, J., ARSAC, J.F., 1991.** Sunflower inoculation with *Azospirillum* and other plant growth promoting rhizobacteria. *Plant and Soil* 137:87-90.
- FALLIK, E., OKON, Y., 1996.** Inoculants of *Azospirillum brasilense*: biomass production, survival and growth promotion of *Setaria italica* and *Zea mays*. *Soil Biology and Biochemistry* 28: 123-126.
- FALLIK, E., SARIG, S., OKON, Y., 1994.** Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. p. 77-85. In Y. Okon (ed.) *Azospirillum/plant association*. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- FAO, 1999.** FAO web-sites\ Statistical Facts (1997)\ Bean. <http://www.fao.org>
- FAVILLI, F., PASTORELLI, R., GORI, A., 1993.** Response of sugar beet to *Azospirillum* bacterization in field experiments. *Agriculture in Mediterranean* 123:281-285.

- FINK, C.R., WAGGONER, P.E., AUSUBEL, H., 1999.** Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, 96:1175-1180.
- FRANSSEN, H.J., VIJN, I., YANG, W.C., BISSELING, T., 1992.** Developmental aspects of *Rhizobium*-legume symbiosis. *Plant Molecular Biology* 19:89-107.
- GERMIDA, J.J., 1984.** Spontaneous induction of a bacteriophage during growth of *Azospirillum brasilense* in complex media. *Canadian Journal of Microbiology* 30: 805-808.
- GERMIDA, J.J., 1987.** Isolation of *Bdellvibrio* spp. that prey on *Azospirillum brasilense* in soil. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 459-461.
- GOMEZ, M., SILVA, N., HARTMANN, N., SAGARDOY M., CATROUX, G., 1997.** Evaluation of commercial soybean inoculants from Argentina. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 13:167-173.
- GOVEDARICA, M., MILOSEVIC, N., JARAK, M., VOJVODIC VUKOVIC, M., 1993.** Effectiveness of *A. lipoferum* strains in carrot. *Zemljiste Biljka* 42:121-125.
- GRAHAM, P.H., 1981.** Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. : a review. *Field crops research* 4: 93-112.
- GRAHAM, P.H., 1992.** Stress tolerance in *Rhizobium* and *BradRhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 38: 475-484.
- GRAHAM, P.H., BALE, J., BAKER, D., FRIED, M., ROSKOSKI, J., MACKAY, K.T., CRASSWELL, E., 1988.** The contribution of biological nitrogen fixation to plant production: An overview of the symposium and its implications. *Plant and Soil* 108: 1-6.
- GRAHAM, P., RANALLI, P., 1997.** Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field crop research* 53: 131-146.
- GULDEN, R.H., VESSEY, J.K., 1997.** Low concentrations of ammonium inhibit specific nodulation (nodule number g<sup>-1</sup> root DW) in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *Plant and Soil* 198: 127-136.
- HARDARSON, G., BLISS, F.A., CIGALES-RIVARO, M.R., HENSON, R.A., KIPE-NOLT, J.A., LONGERI, L., MANRIQUE, A., PENA-CABRILAS, J.J. PEREIRA, P.A., SANABRIA, C.A., TSAI, S.M., 1993.** Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. *Plant and Soil* 152: 59-70.
- HASSOUNA, M.G ., HASSAN, M.T., MADKOUR, M.T., 1994.** Increased yields of alfalfa (*Medicago sativa*) inoculated with N<sub>2</sub>-fixing bacteria and cultivated in a



calcareous soil of Northwestern Egypt. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 8: 389-393.

- HAVELKA, U.D., BOYLE, M.G., HARDY, R.W.F., 1982.** Biological nitrogen fixation. p. 365-422. *In* (ed.) Nitrogen in agricultural soils. SSSA, Madison, WI.
- HERNANDEZ-LUCAS, I., SEGAVIA, L., MARTINEZ-ROMERO, E., PUEPPKE, S.G., 1995.** Phylogenetic relationships and host range of *Rhizobium* spp. that nodulate *Phaseolus vulgaris* L. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 2775-2779.
- HIRSH, A.M., 1992.** Developmental biology of legume nodulation. *New Phytopathology* 122: 211-237.
- HOBBS, S.L., MAHON, J.D., 1982.** Heritability of N<sub>2</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) fixation rates and related characters in peas (*Pisum sativum* L.) . *Canadian Journal of Plant Science* 62: 265-276.
- HOLGUIN, G., PATTEN, C.L., GLICK, B.R., 1999.** Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. *Biology and Fertility of Soils* 29: 10-23.
- IOSIPENKO, A., IGNATOV, V., 1995.** Physiological aspects of phytohormone production by *A. brasilense* Sp 7. *NATO ASI Ser.* 37: 307-312.
- IRUTHAYATHAS, E.E., GUNASEKARAN, S., VLASSAK, K., 1983.** Effect of combined inoculation of *Azospirillum* and *Rhizobium* on nodulation and N<sub>2</sub> fixation of winged bean and soybean. *Scientia Horticulturae* 20: 231-240.
- ISOI, T., YOSHIDA, S., 1991.** Low nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Soil Science and Plant Nutrition* 37:559-563.
- ITZIGSOHN, R., KAPULNIK, Y., OKON, Y., DOVRAT, A., 1993.** Physiological and morphological aspects of interactions between *R. meliloti* and alfalfa (*Medicago sativa*) in association with *A. brasilense*. *Canadian Journal of Microbiology* 39:610-615.
- JENSEN, C., STOUGAARD, B., OSTERGARD, H.S., 1994.** Simulation of nitrogen dynamics in farmland areas of Denmark (1989-1993). *Soil Use and Management* 10: 111-118.
- JORDAN, D.C., 1984.** *Rhizobiaceae*. p. 23-244. *In* N. G. Krieg et al. (ed.) *Bergey's manual of systemic bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
- JUNGK, A.O., 1998.** Dynamics of nutrient movement at the soil root interface. p. 529-556. *In* Y. Waisel et al., (ed.) *Plant Roots: the hidden half*. Marcel Dekker, NY, USA.

- KAPULNIK, Y., OKON, Y., KIGEL, J., NUR, L., HENIS, Y., 1981.** Effects of temperature, nitrogen fertilization, and plant age on nitrogen fixation by *Setaria italica* inoculated with *Azospirillum brasilense* (strain Cd). *Plant Physiology* 68: 340-343.
- KAPULNIK, Y., OKON, Y., 1983.** Benefits of *Azospirillum* inoculation on wheat: effects on root development, mineral uptake, nitrogen fixation and crop yield. p. 163-179. *In* W. Klingmuller (ed.) *Azospirillum* II. Birkhauser Verlag Basel Boston Stuttgart.
- KAPULNIK, Y., GAFNY, R., OKON, Y., 1984.** Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv Miriam) in hydroponic systems. *Canadian Journal of Botany* 63: 340-343.
- KAPUSTA, G., ROUWENHORST, D., 1973.** Influence of inoculum size on *Rhizobium japonicum* serogroup distribution frequency in soybean nodules. *Agronomy Journal* 65:916-919.
- KENNEDY, I.R., PEREG-GERK, L.L, WOOD, C., DEAKER, R, GILCHRIST, K., KATUPITIYA, S., 1997.** Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: facilitating the evolution of an effective association between *Azospirillum* and wheat. *Plant and Soil* 194: 65-79.
- KHAMNAS, K.M., KAISER, P., 1991.** Characterization of a pectinolytic activity in *Azospirillum irakense*. *Plant and Soil* 137: 75-79.
- KUCEY, R.M.N., CHAIWANAKUPT, P., ARAYANGKOOL, T., SNITWONGSE, P., SIRIPAIBOL, C., WADISIRISUK, P., BOONKERD, N., 1988a.** Nitrogen fixation (<sup>15</sup>N dilution) with soybeans under Thai field conditions: II. Effect of herbicides and water application schedule. *Plant and Soil* 108: 87-92.
- KUCEY, R.M.N., SNITWONGSE, P., CHAIWANAKUPT, P., WADISIRISUK, P., SIRIPAIBOL, C., ARAYANGKOOL, T., BOONKERD, N., RENNIE, R.J., 1988b.** Nitrogen fixation (<sup>15</sup>N dilution) with soybeans under Thai field conditions: I. Developing protocols for screening *B. japonicum* strains. *Plant and Soil* 108: 33-41.
- KUNDU, B.S., KUHAD, M.S, NANWAL, A.S., 1993.** Nodulation, nitrogen fixation and biomass of rajmash (*Phaseolus vulgaris* L.) as influenced by *Azospirillum* and *Rhizobium* inoculants. *Environment and Ecology* 11: 581-583.
- LABANDERA, C., DANSO, S.K.A., PASTORINI, D., CURBELA, S., MARTIN, V., 1988.** Nitrogen fixation in a white clover-fescue pasture using three methods of nitrogen-15 application and residual nitrogen-15 uptake. *Agronomy Journal* 80: 265-268.

- LIEVEN-ANTONIOU, C.A., WHITMAN, T.S., 1997.** Specificity in the symbiotic association of *Lotus corniculatus* and *Rhizobium loti* from natural populations. *Molecular ecology* 6: 629-639.
- LIN, W., OKON, Y., HARDY, R.W.F., 1983.** Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*. 45: 1775-1779.
- MAGALHAES, F.M., BALDANI, J.I., SOUTO, S.M., KUYKENDALL, J.R., DÖBERIENER, J., 1983.** A new acid tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Bras. Cienc.* 55: 417-430.
- MAHAFFEE, W.F., BAUSKE, E.M., VAN VUURDE, J.W.L., VAN DER VOLF, J.M., VAN DEN BRINK, M., KLOEPPER, J.W., 1997.** Comparative analysis of antibiotic resistance, immunofluorescent colony staining, and a transgenic marker (bioluminescence) from monitoring the environmental fate of a Rhizobacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1617-1622.
- MANNION, A.M., 1998.** Future trends in agriculture: the role of biotechnology. *Outlook on agriculture* 27:219-224.
- MARTINEZ, E., LORES, M., BROM, S., ROMERO, D., DAVILLA, G., PALACIOS, R., 1988.** *Rhizobium phaseoli*: A molecular genetics view. *Plant and Soil* 108: 179-184.
- MARTINEZ-ROMERO, E., SEGOVIA, L., MERCANTE, F.M., FRANCO, A.A., GRAHAM, P., PARDO, M.A., 1991.** *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. Beans and *Leucaena sp.* Trees. *International Journal of Systemic Bacteriology* 41:417-426.
- MCCOWN, R.L., 1996.** Being realistic about no tillage, legume ley farming for the Australian semi-arid tropics. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 36: 1069-1080.
- MICHIELIS, K.W., CROES, C.L., VANDERLEYDEN, J., 1991.** Two different modes of attachment of *Azospirillum brasilense* Sp7 to wheat roots. *Journal of General Microbiology* 137: 2241-2246.
- MIFLIN, B.J., CULLIMORE, J.V., 1984.** Nitrogen assimilation in the legume-*Rhizobium* symbiosis: a joint endeavour. p. 129-167. In Verma and Hohn (ed.) *Plant Gene Research*.
- MINCHIN, F.R., SUMMERFIELD, R.J., EAGLESHAM, A.R.J., 1978.** Plant genotype × *Rhizobium* strain interactions in cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] cv. Walp). *Tropical Agriculture* 55: 107-115.
- MIRANDA, J., MEMBRILLO-HERNANDEZ, J., TABCHE, M.L., SOBERON, M., 1996.** *Rhizobium etli* cytochrome mutant with derepressed expression of cytochrome

terminal oxidases and enhanced symbiotic nitrogen accumulation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 45: 182-188.

**MONTEALEGRE, C., GRAHAM, P.H., 1996.** Preference in the nodulation of *Phaseolus vulgaris* cv. RAB39. II. Effect of delayed inoculation or low cell representation in the inoculant on nodule occupancy by *Rhizobium tropici* UMR 1899. *Canadian Journal of Microbiology* 42: 844-850.

**MONTEALEGRE, C., GRAHAM, P.H., KIPE-NOLT, J.A., 1995.** Preference in the nodulation of *Phaseolus vulgaris* cultivar RAB39. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 992-998.

**MOTSARA, M., BHATTACHARY, P., SRIVASTAVA, B., 1995.** Status of biofertilizer production and commercial producers. p. 95-104. *In* (ed.) Biofertilizer technology, marketing, and usage. New Delhi, India.

**MYTTON, L.R., EL-SHEERBENY, M., LAVES, D.A., 1977.** Symbiotic variability in *Vicia faba* 3. Genetic effects of host plant, *Rhizobium* strain and the host × *Rhizobium* interaction. *Euphytica* 26:785-791.

**NAVALE, A.M., SHINDE, D.B., VAIDYA, B.R., JADHAV, S.B., 1995.** Effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculation under graded levels of nitrogen and growth and yield of sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Indian Journal of Agronomy* 40: 665-669.

**NEYRA, C.A., ATKINSON, A., OLUBAYI, O., 1995.** Coaggregation of *Azospirillum* with other bacteria: basis for functional diversity. p. 429-439. *In* I. Fendrick et al. (ed.) *Azospirillum* VI and Related Microorganisms, Genetics, Physiology and Ecology. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.

**OFOS-BUDU, K.G., NOUMURA, K., FUJITA, K., 1997.** N<sub>2</sub> fixation, N transfer and biomass production of soybean cv. bragg or its supernodulating nts1007 and sorghum mixed-cropping at two rates of N fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 311-317.

**OKON, Y., 1984.** Response of cereal and forage grasses to inoculation with N<sub>2</sub>-fixing bacteria. p. 303-309. *In* C. Weeger and W.E. Newton (ed.) *Advances in nitrogen fixation research*. Martinus Nijhoff, Pudoc Wageningen, The Netherlands.

**OKON, Y., KAPULNIK, Y., 1986.** Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. *Plant and Soil* 90: 3-16.

**OKON, Y., LABANDERA-GONZALES, C.A., 1994.** Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years world-wide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry* 26:1591-1601.

- OKON, Y., HEYTLER, P.G., HARDY, R.W.F., 1983.** N<sub>2</sub> fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria italica*. Applied and Environmental Microbiology 46: 694-697.
- OKON, Y., ITZIGSHON, R., BURDMAN, S., HAMPEL, M., 1995.** Advances in agronomy and ecology of the *Azospirillum*/plant association. p. 635-640. In I. A. T. Khonovich et al. (ed.) Nitrogen fixation: fundamentals and applications. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- OKON, Y., ALBRECHT, S.L., BURRIS, R.H., 1977.** Methods for growing *Spirillum lipoferum* and counting it in pure culture and in associations with plants. Applied and Environmental Microbiology 33:85-88.
- OLSEN, P.E., RICE, W.A., COLLINS, M.M., 1995.** Biological contamination in north American legume inoculants. Soil Biology and Biochemistry 27:699-701.
- PACOVSKY, R.S., BAYNE, H.G., BETHANFALVY, G.J., 1984.** Symbiotic interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. Crop Science 24: 101-105.
- PADZERNIK, D.L., GRAHAM, P.H., VANCE, C.P., ORF, J.H., 1996.** Host genetic variation in the early nodulation and dinitrogen fixation of soybean. Crop Science 36: 1102-1107.
- PADZERNIK, D.L., GRAHAM, P.H., ORF, J.H., 1997.** Variation in the pattern of nitrogen accumulation and distribution in soybean. Crop Science 37: 1482-1486.
- PATTEN, C.L. GLICK, B.R., 1996.** Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology 42:297-220.
- PAUL, E.A., 1989.** Return of nitrogen to soil: Biological nitrogen fixation. p. 164-196. In E. A. Paul (ed.) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press Inc., San Diego, CA.
- PERRET, X., BROUGHTON, W.J., 1998.** Rapid identification of *Rhizobium* strains by targeted PCR fingerprinting. Plant and Soil 204: 21-34.
- PLAZINSKE, J., ROLFE, B.G., 1985.** Influence of *Azospirillum* strains on the nodulation of clovers by *Rhizobium* strains. Applied and Environmental Microbiology 49: 984-989.
- RADEMACHER, W., 1994.** Giberrilline formation in microorganisms. Plant Growth Regulation 15: 303-314.
- REINHOLD, B., HUREK, T., FENRICK, I., POT, B., GILLIS, M., KERSTERS, K., THIELEMANS, S., DE LEY, J., 1987.** *Azospirillum halopraeferans* sp. nov., a

nitrogen-fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Lephtochloa fusca* L. Kunth.). International Journal of Systemic Bacteriology 37: 43-51.

**RENNIE, R.J., DUBETZ, S., BOLE, J.B., MUENDEL, H.H., 1982.** Dinitrogen fixation measured by <sup>15</sup>N isotope dilution in two Canadian soybean cultivar. Agronomy Journal 74: 725-730.

**ROBLETO, E.A., SCUPHAM, A.J., TRIPLETT, E.W., 1997.** Trifolitoxin production in *Rhizobium etli* strain CE3 increases competitiveness for rhizosphere colonization and root nodulation of *Phaseolus vulgaris* in soil. Molecular Plant and Microbe Interactions 10: 228-233.

**ROBSON, A.D., 1983.** Mineral nutrition. p. 35-55. In W. J. Broughton (ed.) Nitrogen fixation of legumes. Clarendon Press, Oxford, UK.

**RODRIGUEZ-NAVARRO, D.N., BUENDIA, A.M., CAMACHO, M., LUCAS, M.M., SANTAMARIA, C., 2000.** Characterization of *Rhizobium* spp. bean isolates from South-West Spain. Soil Biology and Biochemistry 32: 1601-1613.

**ROSKOTHEN, P., 1989.** Genetic effects of host × strain interaction in the symbiosis of *Vicia faba* and *Rhizobium leguminosarum*. Plant Breeding 102: 122-132.

**RULKENS, W.H., TENHAVE, P.J.W., 1994.** Central processing of pig manure in Netherlands. Water Science and Technology 30:157-165.

**SANCHEZ, F., CAMPOS, F., PADILLA, J., BONNEVILLE, J.M., ENRIQUEZ, C., CAPUT, D., 1987.** Purification, cDNA cloning, and developmental expression of the nodule-specific uricase from *Phaseolus vulgaris* L. Plant Physiology 84: 1143-1147.

**SARIG, S., KAPULNIK, Y., NUR, I., OKON, Y., 1984.** Response of non-irrigated *Sorghum bicolor* to *Azospirillum* inoculation. Experimental. Agriculture 20: 59-66.

**SARIG, S., KAPULNIK, Y., OKON, Y., 1986.** Effect of *Azospirillum* inoculation on nitrogen fixation and growth of several winter legumes. Plant and Soil 90:335-342.

**SARIG, S., OKON, Y., BLUM, A., 1992.** Effect of *A. brasilense* inoculation on growth dynamics and hydraulic conductivity of *Sorghum bicolor* roots. Journal of Plant Nutrition 15:805-819.

**SCHEREZ, B., VAN DE WIEL, C., ZALENSKY, A., HORVATH, B., SPAINK, H., VAN ECK, H., ZWARTKRUIS, F., WOLTERS, A.M., GLOUDEMANS, T., VAN KARMEN, A., BISSELING, T., 1990.** The ENOD12 gene product is involved in the infection process during the pea-*Rhizobium* interaction. Cell 60:281-294.

- SCHRODER, E.C. 1992.** Improvement of phaseolus/*Rhizobium* symbiosis, with particular reference to the Caribbean region. P. 79-95. In K. Mulangoy et al. (ed.) Biological nitrogen fixation and sustainability of tropical agriculture. Wiley and Chichester, London, UK.
- SEGA VIO, L., YOUNG, J.P.V., MARTINEZ-ROMERO, E., 1993.** Reclassification of American *Rhizobium leguminisarum* type I strains as *Rhizobium etli* sp. Nov. International Journal of Systemic Bacteriology 43:374-377.
- SESSITSCH, A., WILSON, K.J., AKKERMANS, A.D.L., DE VOS, W.M., 1998.** The *cellB* marker gene. p. 1-15. In A. Sessitsch et al. (ed.) Molecular Microbial Ecology. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- SHANTHARAM, S., MATTOO, A.K., 1997.** Enhancing biological nitrogen fixation: An appraisal of current and alternative technologies for N input into plants. Plant and Soil 194: 205-216.
- SHOICHIRO, A., MINIKAWA, Y., TAKI, H., KHAN, M.K., YUHASHI, K., NAKAYAMA, Y., ASIS, C.A., CHEBOTAR, V., KANG, U., MINAMISAVA, K., RIDGE, R.W., 1999.** Use of *lacZ* and *gusA* reporter genes to trace the infection process of nitrogen-fixing bacteria. JARQ 33: 77-84.
- SINGH, C.S., RAO, N.S.S., 1979.** Associative effects of *Azospirillum brasilense* with *Rhizobium japonicum* on nodulation and yield of soybean (*Glycine max*). Plant and Soil 90: 335-342.
- SINGH, S.P., NODARI, R., GEPTS, P. 1991.** Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymes. Crop Science 31: 19-23.
- SMIL, R., 1997.** Some unorthodox perspectives of agricultural bio-diversity: the case for legume cultivation. Agriculture and Ecosystem Environment 62:135-144.
- ŞEHİRALİ, S., 1988.** Yemeklik dane baklagiller. p. 3-17. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:1089, Ankara.
- STREETER, J.G., 1994.** Failure of inoculant rhizobia to overcome the dominance of indigenous strains for formation. Canadian journal of microbiology 40: 513-522.
- SUKIMAN, H.I., NEW, P.B., 1990.** Relationships between root colonization and initial adsorption of *Azospirillum* to plant roots. Microbial Ecology 20: 65-74.
- TALBOTT H-J., KENWORTHY, W.J., LEGG, J.O., 1982.** Field comparison of the nitrogen-15 and difference methods of measuring nitrogen fixation. Agronomy Journal 74: 799-804.
- TARRAND, J.J., KREIG, N.R., DÖBERIENER, J., 1978.** A taxonomic study of the

*Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. Nov. and *Azospirillum brasilense* sp. Nov. Canadian Journal of Microbiology 24:967-980.

- TCHEBOTAR, V.K., KANG, U.G., ASIS, C.A., AKAO, S., 1998.** The use of GUS-reporter gene to study the effect of *Azospirillum-Rhizobium* coinoculation on nodulation of white clover. *Biology and Fertility of Soils* 27: 349-352.
- TEAUMROONG, N., BOONKERD, N., 1998.** Detection of *Bradyrhizobium spp.* and *B. Japonicum* in Thailand by primer-based technology and direct DNA extraction. *Plant and Soil* 204: 127-134.
- TIEN, T.M., GASKINS, M.H., HUBBEL, D.H., 1979.** Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) *Applied and Environmental Microbiology* 37:1016-1024.
- TISDALE, S.L., NELSON, W.L., BEATON, J.D., HAVLIN, J.L., 1993.** Soil and fertilizer. p. 176-230. In Tisdale et al. (ed.) *Soil Fertility and Fertilizers*. Macmillan Publishing Co., NY, USA.
- TRIPLETT, E.W., ROBERTS, G.P., LUDDEN, P.W., HANDELSMAN, J., 1989.** What's new in nitrogen fixation: researchers are dissecting this process with some practical goals in hand, others in sight. *Features* 55: 15-21.
- UMALI-GARCIA, M., HUBBEL, D.H., GASKINS, M.H., DAZZO, F.B., 1980.** Association of *Azospirillum* with grass roots. *Applied and Environmental Microbiology* 39: 219-226.
- VANDE BROEK, A., VANDERLEYDEN, J., 1995.** Review: genetics of the *Azospirillum* – plant root association. *Critical Reviews In Plant Science* 14: 445-466.
- VANDE WIEL, C., NORRIS, J., BOCHENECK, B., BISSELING, T., HIRSCH, A.M., 1990.** Nodulin gene expression and ENOD2 localization in effective, nitrogen-fixing and ineffective, bacteria free nodules of alfalfa. *Plant Cell* 2:1009-1017.
- VAN DOMMELEN, E., VAN BASTEALAERE, A., KEIJERS, V., VANDERLEYDEN, J., 1997.** Genetics of *Azospirillum brasilense* with respect to ammonium transport, sugar uptake and chemotaxis. *Plant and Sol* 194: 155-160.
- VAN RHIJIN, P., VANDERLEYDAN, J., 1995.** The *Rhizobium*-plant symbiosis. *Microbiological Reviews* 59: 124-142.
- VASILAS, B.L., HAM, G.E., 1984.** Nitrogen fixation in soybeans: an evaluation of measurement techniques. *Agronomy Journal* 76: 759-764.



- VASQUEZ-ARROYO, J., SESSITSCH, A., MARTINEZ, E., PENA-CABRIALES, J.J., 1998.** Nitrogen fixation and nodule occupancy by native strains of *Rhizobium* on different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plant and Soil 204: 147-154.
- VEERASWAMY, J., PADMAVATHI, T., VENKATESWARLU, K., 1992.** Interaction effects of *Glomus intraradices* and *Azospirillum lipoferum* on sorghum. Indian Journal of Microbiology 32: 305-308.
- VERMA, D.P., HU, C.A., ZHANG, M., 1992.** Root nodule development: origin, function and regulation of nodulin genes. Physiology of Plants 85:253-265.
- VERMA, D.P., LEGOCKI, R.P., AUGER, S., 1981.** Expression of nodule-specific host genes in soybean. p. 205-209. In A. H. Gibson and W. E. Newton (ed.) Current Perspectives in Nitrogen Fixation. Australian Academy of Science, Canberra.
- VIERA-VARGAS, M.S., OLIVEIRA, O.C., SOUTO, C.M., CADISCH, G., URQUIAGA, S., BODDEY, R.M., 1995.** Use of different <sup>15</sup>N labelling techniques to quantify the contribution of biological nitrogen fixation to legumes. Soil Biology and Biochemistry 27: 1185-1192.
- VINCENT, J.M., 1980.** Factors controlling the legume-*Rhizobium* symbiosis. p. 103-126. In W. E. Newton and W. H. Johnson (ed.) Nitrogen fixation. University Park Press, Baltimore.
- VINCENT, J.M., SMITH, M.S., 1982.** Evaluation of inoculant viability on commercially inoculated legume seed. Agronomy Journal 74:921-922.
- WEAVER, R.W., FREDERICK, L.R., 1974a.** Effect of inoculum rate competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. I. Greenhouse studies. Agronomy Journal 66: 229-232.
- WEAVER, R.W., FREDERICK, L.R., 1974b.** Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. II. Field studies. Agronomy Journal 66: 233-236.
- WEAVER, R.W., GRAHAM, P.H., 1994.** Legume nodule symbionts. p. 199-222. In Weaver et al. (ed.) Methods of soil analysis: Part 2-Microbiological and biochemical properties. SSSA, Madison, WI.
- WEAVER, R.W., DANSO, S.K.A., 1994.** Dinitrogen fixation. p. 1019-1043. In Weaver et al. (ed.) Methods of soil analysis: Part 2-Microbiological and biochemical properties. SSSA, Madison, WI.
- WILSON, K.J., SESSITSCH, A., CORBO, J.C., GILLER, K.E., AKKERMANS, A.D.L., JEFFERSON, A., 1995.**  $\beta$ -glucuronidase (GUS) transposons from

ecological and genetic studies of rhizobia and other gram-negative bacteria. *Microbiology* 141: 1691-1705.

**WITTY, J.F., 1983.** Estimating N<sub>2</sub> fixation in the field using <sup>15</sup>N-labelled fertilizer: Some problems and solutions. *Soil Biology and Biochemistry* 15: 631-639.

**WITTY, J.F., RITZ, A., 1984.** Slow release <sup>15</sup>N fertilizer formulations to measure N<sub>2</sub>-fixation by isotope dilution. *Soil Biology and Biochemistry* 16: 657-661.

**YADAV, K., PRASAD, V., MANDAL, K., AHMAD, N., 1992.** Effect of coinoculation (*Azospirillum* and *Rhizobium*) on nodulation, yield, nutrient uptake, and quality of lentil in calcareous soils [*Lens culinaris*]. *LENS Newsletter* 19: 29-31.

**YAHALOM, E., KAPULNIK, Y., OKON, Y., 1984.** Response of *Setaria italica* to inoculation with *Azospirillum brasilense* as compared to *Azotobacter chroococcum*. *Plant Soil* 82: 77-85.

**YAHALOM, E., OKON, Y., DOVRAT, A., 1987.** *Azospirillum* effects on susceptibility to *Rhizobium* nodulation and on nitrogen fixation of several forage legumes. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 510-514.

**YAHALOM, E., OKON, Y., DOVRAT, A., 1990.** Possible mode of action of *Azospirillum brasilense* strain Cd on the root morphology and nodule formation in burr medic (*Medicago polymorpha*). *Canadian Journal of Microbiology* 36: 10-14.

**ZHULIN, I.B., ARMITAGE, J.P., 1992.** The role of taxis in the ecology of *Azospirillum*. *Symbiosis* 13: 199-206.

**ZUBERER, D.A., 1994.** Recovery and enumeration of viable bacteria. p. 119-142. *In* R. W. Weaver et al. (ed.) *Methods of soil analysis: Part 2-Microbiological and biochemical properties*. SSSA, Madison, WI.

**EKLER****Ek 1. Bakteriler için Besiyerleri ve Bitki Besin Solüsyonu Hazırlanması****Ek 1.a. Yeast Mannitol Agar**

Tablo 1.a.'da verilen kimyasallar, 1 000 ml saf suda çözdürülmüş, sterilize edilmiş (120 °C ve 1 atm'de 15 dak) ve steril plastik petri kutularına aktarılmıştır.

*Tablo 1.a. Yeast mannitol agarındaki kimyasallar*

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktarı (mg L<sup>-1</sup>)</u>
Agar	15 000
Mannitol	10 000
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	500
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	200
NaCl	100
CaCO <sub>3</sub>	10
Yeast extract powder	500

**Ek 1.b. Sıvı Malat Minimal Besiyeri**

Tablo 1.b.'de verilen kimyasallar 1 000 ml saf suda çözdürülmüş, karışım nötralize edilmiştir. Sonrasında, besiyeri gelişmenin olacağı tüplere alınarak sterilize edilmiştir (120 °C ve 1 atm basınç altında 15 dak).

*Tablo 1.b. Sıvı malat minimal besiyerindeki kimyasallar*

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktarı (mg L<sup>-1</sup>)</u>
Agar	2 000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	400
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	100
DL-Malik Asit	5 000
Yeast extract powder	50
NaOH	4 000
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	200
NaCl	100
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	20
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	2
CaCl <sub>2</sub>	20
NH <sub>4</sub> Cl	1 000
Bromotimol blue (% 0.5lik alkolde)	2 ml

Ek 1.c. Bitki Besin Solüsyonu

Seyreltik bitki besin solüsyonu için gerekli stok solüsyonları, Tablo 1.c.'de verildiği şekliyle hazırlanmış ve biyokimyasal bozunmaya karşı kapalı plastik petlerde +4 °C'de saklanmıştır. Plastik petler ihtiyaç oldukça soğutucudan çıkarılmış, 1 L besin solüsyonu hazırlamak için aşağıdaki tabloda verilen stok miktarları alınarak 1 L saf suyun içine ilave edilmiştir.

Tablo 1.c. *Seyreltik besin solüsyonundaki kimyasallar*

Stok Solüsyonu	Kimyasal	Miktar (g L <sup>-1</sup> )	Stok Miktarı (ml L <sup>-1</sup> )
1	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	93	3
2	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	493	1
3	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	23	1
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	145	
4	CaCl <sub>2</sub>	56	1
5	CaSO <sub>4</sub>		1 g
6 <sup>†</sup>	FeCl <sub>3</sub>	6.5	1
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> EDTA	13.0	
7	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.23	1
	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.16	
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.22	
	CaSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.08	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.025	
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.034	
	NiCl <sub>2</sub>	0.022	

<sup>†</sup> İki demir kaynağı karıştırılmadan önce ayrı ayrı solüsyon haline getirildi.



Ek 2.a. Şeker çeşidinde R6, R7 ve R8 seviyelerindeki bitkiler



Ek 2.b. Şeker çeşidinde A6, A7 ve A8 seviyelerindeki bitkiler



Ek 2.c. Tüm çeşitlerde R0 seviyesindeki bitkiler



Ek 2.c. Tüm çeşitlerde R0 seviyesindeki bitkiler (devam) •





Ek 2.d. Tüm çeşitlerde A0 seviyesindeki bitkiler



Ek 2.d. Tüm çeşitlerde A0 seviyesindeki bitkiler (devam)

Ek 3. Her bir çeşide ait varyans analizi tablosu (ANOVA)

ŞEKER

Varyans Kaynağı	Ser. Der.	USTNS <sup>†</sup>	ALTNS <sup>†</sup>	TOPNS	UNODA	ANODA	TNODA	SAPA	KÖKA	AZOTS	AZOTK	BOY
<i>Azospirillum</i>	3	4,39**	-	3,50*	-	-	-	-	3,25*	-	-	-
<i>Rhizobium</i>	3	-	-	-	-	-	-	6,65**	-	-	9,42**	-
Azosp.×Rhizo.	9	2,72*	-	2,22*	2,71*	-	2,43*	3,21**	-	-	2,99**	3,09**

ES-1286

Varyans Kaynağı	Ser. Der.	USTNS <sup>†</sup>	ALTNS <sup>†</sup>	TOPNS	UNODA	ANODA	TNODA	SAPA	KÖKA	AZOTS	AZOTK	BOY
<i>Azospirillum</i>	3	3,45**	6,03**	5,64**	-	8,00*	6,35**	-	-	7,41**	3,04*	-
<i>Rhizobium</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	6,66*	-	-
Azosp.×Rhizo.	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

KARACAŞEHİR

Varyans Kaynağı	Ser. Der.	USTNS <sup>†</sup>	ALTNS <sup>†</sup>	TOPNS	UNODA	ANODA	TNODA	SAPA	KÖKA	AZOTS	AZOTK	BOY
<i>Azospirillum</i>	3	24,4**	6,09**	14,5**	8,33**	5,16*	10,1**	3,09*	4,17*	-	-	4,84**
<i>Rhizobium</i>	3	8,03*	-	4,61**	-	-	-	-	-	-	-	-
Azosp.×Rhizo.	9	2,51*	2,24*	3,20*	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 3. Her bir çeşide ait varyans analizi tablosu (ANOVA) (devam)

HOROZ

Varyans Kaynağı	Ser. Der.	ÜSTNS <sup>†</sup>	ALTNS	TOPNS	UNODA	ANODA	TNODA	SAPA	KÖKA	AZOTS	AZOTK	BOY
<i>Azospirillum</i>	3	38,6**	3,18*	13,1**	-	-	3,82*	-	-	-	4,46**	3,46*
<i>Rhizobium</i>	3	15,3*	-	6,35**	-	4,74*	5,09**	-	-	-	-	-
<i>Azosp. × Rhizo.</i>	9	4,49**	-	2,28**	-	-	2,35*	-	-	-	2,31*	2,95*

ŞAHİN-90

Varyans Kaynağı	Ser. Der.	ÜSTNS <sup>†</sup>	ALTNS	TOPNS	UNODA	ANODA	TNODA	SAPA	KÖKA	AZOTS	AZOTK	BOY
<i>Azospirillum</i>	3	4,62	11,1**	11,7*	7,01**	4,97**	15,9**	-	-	-	-	5,46**
<i>Rhizobium</i>	3	-	-	-	-	-	3,95*	-	2,90*	-	-	-
<i>Azosp. × Rhizo.</i>	9	-	3,54**	3,00*	-	2,95*	4,95**	2,42*	3,46**	2,61*	-	4,00**

<sup>†</sup> ÜSTNS: Üst nodül sayısı; ALTNS: Alt nodül sayısı; TOPNS: Toplam nodül sayısı; UNODA: Üst nodül ağırlığı; ANODA: Alt nodül ağırlığı; TNODA: Toplam nodül ağırlığı; SAPA: Sap ağırlığı; KÖKA: Kök ağırlığı; AZOTS: Sap azot içeriği; AZOTK: Kök azot içeriği; BOY: Bitki boyu.

\*, \*\*, \*: Sırasıyla, %5 ve %1 düzeylerinde önemli; -: önemsiz

## ÖZGEÇMİŞ

Mehmet Ögüt 1971 yılında Konya'da doğdu ve Üniversite öncesi eğitimini Konya'da tamamladı. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü'ne 1988-1992 yılları arasında devam ederek, 1992 yılında mezun oldu. Yüksek Öğretim Kurumu (YÖK) tarafından 1993'de yapılan yurtdışı lisansüstü sınavını (YLS) kazandı ve Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü'ne Araştırma Görevlisi kadrosunda atandı. 1994'de Amerika Birleşik Devletleri'ne (ABD) gitti. Aynı yıl, University of Kentucky'de yüksek lisans eğitimine başladı ve 1997'de mezun oldu. Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nde 1997'de doktora eğitimine başladı. Mehmet Ögüt evli ve bir çocuk babasıdır.