

AZOSPIRILLUM BRASILENSE VE İKİ RHIZOBIUM TÜRÜNÜN BAZI YAYGIN FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) ÇESİTLERİNDE NODULASYONA ETKİSİ

Mehmet ÖGÜT

Mustafa KILIÇ

A.Resit BROHI

Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü, TOKAT

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Azospirillum ve Rhizobium ikili asilamasının fasulyenin nodülasyonundaki sinerjistik etki-sinin fasulye çeşitlerinden bağımsız olup olmadığını test etmektir. İki faktör (Azospirillum brasiliense Sp7 ve Rhizobium yoğunlukları) içeren, genelleştirilmiş tesadüf blokları (fasulye çeşitleri) deneme desenine göre düzenlenmiş 3 tekrarlı bir saksı denemesi kurulmuştur

Rhizobium (*Rhizobium etli* ve *Rhizobium tropici* karışımı) inokulasyonu, 10^6 kob (koloni oluşturan birim) mt^{-1} 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 ($p < 0.05$). LSD testlerine göre, nodülasyon açısından en iyi çeşit sekerdir ($p < 0.05$). Azospirillum nodül ağırlığını artırmıştır ($p < 0.05$).

Muhtemelen rizosferdeki inokule edilen bakteri yoğunluğu başlangıç inokulum yoğunluğundan bağımsız olarak zamanla belirli bir dengeye ulaşmaktadır. Bitki destekleyebileceği kadar nodül oluşumuna izin vermektedir. Dolayısıyla, Rhizobium ve Azospirillum içeren inokulumdaki Rhizobium yoğunluğunun belirli bir seviyenin üzerine çıkarılmasının nodülasyon açısından bir anlamı yoktur. Azospirillum'un sadece nodül ağırlığını artırmış olması, bu bakterinin bitki gelişmesini artırarak dolaylı yoldan nodülasyonu etkilediğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Rhizobium etli*, *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasiliense* Sp7, *Phaseolus vulgaris* L.

THE EFFECTS OF AZOSPIRILLUM BRASILENSE AND TWO RHIZOBIUM SPECIES ON THE NODULATION OF BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVARS

ABSTRACT

The objective of this study is to determine whether the synergistic effect of *Azospirillum* and *Rhizobium* double inoculation on nodulation in common bean is additive with respect to bean cultivar. A pot experiment, designed as a generalized randomized block (bean cultivars) with 2 factors (*Azospirillum brasiliense* Sp7 density and *Rhizobium* density) and 3 replications, was conducted.

Rhizobium (a mixture of *Rhizobium etli* and *Rhizobium tropici*) inoculation at 10^6 cfu mt^{-1} 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. *Azospirillum* increased nodule weights ($p < 0.05$). Based on the LSD tests, the best cultivar in terms of nodulation was seker ($p < 0.05$).

The population of inoculated microbes probably reached an equilibrium level by time regardless of the initial cell density in inoculants. The plants supported only a limited number of nodules. 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.

Key Words: *Rhizobium etli*, *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasiliense* Sp7, *Phaseolus vulgaris* L.

GİRİŞ

Fasulye zayıf bir azot fikse edicisi olarak değerlendirilmektedir (Graham ve Ranalli, 1997). Bazi genetik ve çevresel faktörler bu duruma katkıda bulunmaktadır. Bu faktörler arasında genomlardaki yenden düzenlemeler (Martinez ve ark., 1988), fasulyenin marjinal koşullarda yetistirilmesi ve ıslah çalışmalarında azot fiksasyonunun dikkate alınmaması (Graham ve Ranalli, 1997) sayılabilir. Yüksek sıcaklık, toprak kuruluğu ve düşük toprak verimliliği nedeniyle bitki iyi gelişemediği için yeter miktarda fotosentez ürünleri nodül gelişimi ve işleyişine ayrılmamaktadır (Graham, 1981). Kısa vejetasyon süresine sahip determinat bodur tip fasulyeler nodül gelişimi ve işleyişini için süre az olduğundan azot fiksasyonundan yeterince yararlanamamaktadır (Isoi

ve Yoshida, 1991; Chaverra ve Graham, 1992; Schroder, 1992).

Hem fasulye (Singh ve ark., 1991) hem de fasulyede nodülasyon yapan rhizobia (Hernandez-Lucas ve ark., 1995; Rodrigues-Navarro ve ark., 2000) genetik açıdan oldukça degiskendir. Bu durumları dikkate alan Chaverra ve Graham (1992) yaygın fasulyede konukxsus etkilesiminin çok muhtemel olduğunu belirtmiştir. Hardarson ve ark. (1993) 37 yaygın fasulye çeşidinde yaptığı çalışmada azot fiksasyonu açısından çok büyük degiskenlik 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 ve ark. (1997) genetik ve orijin açılarından oldukça de-

gışken 15 fasulye çeşidi ve *Rhizobium etli*'ye bağlı 4 ve *Rhizobium tropici*'ye bağlı 6 susla yaptıkları çalışmada pek çok nodülasyon ve bitki büyüme parametresinde konuk × sus etkilesiminin olmadığını görmüşlerdir. Benzer şekilde, Pacovsky ve ark. (1984) *Rhizobium phaseoli*'ye bağlı 10 sus ve 3 yaygın fasulye çeşidiyle yaptıkları çalışmada çeşit × sus interaksyonunun olmadığını belirlemiştir. Vasquez-Arroyo ve ark. (1998) 3 fasulye çeşidinde yaptıkları çalışmada azot fiksasyonu açısından önemli bir değişiklik olmadığını gözlemiştir.

Azospirillum inokulasyonu fasulye'de nodülasyonu ve azot fiksasyonunu artırmak için değerlendirilebilir. *Azospirillum*'un fasulyedeki etkileri, nodülasyonda (Neyra ve ark., 1995; Burdman ve ark., 1997) ve asetilen redüksiyon aktivitesinde artış (Burdman ve ark., 1997); ve bitki büyümesinde gelişme (Kundu ve ark., 1993; Neyra ve ark., 1995; Burdman ve ark., 1997) şeklinde özetlenebilir. *Azospirillum*'un fasulyedeki muhtemel etkileri arasında bitki gelişmesinin ilk safhalarında nodülasyonu artırmak ve kök nodülasyonuna daha duyarlı hale getirmek yer almaktadır.

Azospirillum diğer baklagillerde de benzer etkiler oluşturmaktadır. *Azospirillum*'un üçgülde nodüllerin hemen kenarında kolonize olduğu ve nodülasyon için muhtemel bölge sayısını artırdığı görsel olarak tespit edilmiştir (Tchebotar ve ark., 1998). *Azospirillum-Rhizobium* ikili inokulasyonlarında önemli bir ayrıntı, *Azospirillum* etkisinin, *Rhizobium* ve *Azospirillum* içeren inokulumdaki *Rhizobium* : *Azospirillum* hücre oranına bağlı olduğudur. Bu oran genelde, 1:1000 ile 1:1500 arasında olduğunda nodül oluşumu zayıflamaktadır ve 1:2000 olduğunda nodül oluşumu durmaktadır (Plazinske ve Rolfe, 1985). Benzer şekilde, Burdman ve ark. (1997) *Azospirillum* etkisinin bu orana bağlı olarak değiştiğini gözlemiştir.

Azospirillum genelde baklagillerde ve özelde fasulyede, *Rhizobium* ve *Azospirillum* içeren inokulumdaki *Rhizobium* : *Azospirillum* oranına bağlı olarak, nodülasyonu ve bitki büyümesini iyilestirebilmektedir. Fakat bu etkinin, örneğin fasulyede, fasulye çeşitlerinden bağımsız olduğu belirlenmemiştir. Bu çalışmanın amacı su hipotezleri test etmek için yapılmıştır. i.) *R. tropici* ve *R. etli*'nin Türkiye'de yetistiren bazı tescilli fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşitlerinde nodülasyona etkileri; ii.) Bu fasulye çeşitlerinde, *Azospirillum* ve *Rhizobium* arasındaki etkileşim; iii.) Bu etkileşimin fasulye çeşitleri ile ilişkisi.

MATERYAL VE METOD

Rhizobium etli ve *Rhizobium tropici* kültürleri, 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 Almanya'dan (Universität Köln, Gyrhofstr, FRG) Dr. Zimmer tarafından sağlanmıştır.

Rhizobium etli ve *Rhizobium tropici*, teksele olarak yeast mannitol agarda (Weaver ve Graham, 1994) 30 °C'de 48 s boyunca geliştirilmiştir. Her iki kültürün içerisindeki hücreler steril tuz çözeltisinin içine (8.5 g NaCl L⁻¹) alınmıştır. Böylece oluşturulan *Rhizobium etli* ve *Rhizobium tropici* süspansiyonları, hücre sayıları birbirine esit olacak şekilde karıştırılmıştır. Bu karışım, *Rhizobium* inokulumunu temsil etmektedir. *Azospirillum brasilense* Sp7 azot içeren sıvı malat minimal besiyerinde (Okon ve ark., 1977) 30 °C'de 24 s boyunca geliştirilmiştir. Hücreleri içeren sıvı besiyeri 3000 ×g'da 5 dak santrifüj edilerek, steril tuz çözeltisinin içine alınmıştır. *Azospirillum* süspansiyonu için bu işlem iki kez tekrar edilmiştir. Tüm bakteri süspansiyonlarının optik yoğunlukları 630 nm'de okunmuştur. Daha sonra, *Rhizobium* ve *Azospirillum* inokulumları ileride belirtilen bakteri yoğunluklarına seyreltilmiştir.

Deneyde kullanılan saksılar % 10'luk sodyum hipokloritte 24 saat yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Deney için yeterli miktarda kum ve perlit alınarak kum:perlit oranı 3:1 olacak şekilde karıştırılmıştır. Sonrasında, 0.8 m³ kum:perlit karışımı büyükçe bir naylon altında 0.450 L metil bromitle sterilize edilmiştir. Saksılar, mikrobiyal bulasmayı da getirebilecek yağmur ve olumsuz hava koşullarına karşı tabani naylonla kapatılmış bir naylon seraya alınmıştır.

Çimlendirme için kullanılan torf sterilize edilmiştir. Tohum çimlendirme yiyolleri yüzey sterilizasyonu yapmak için, % 10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinin içerisinde 3 saat tutulmuş ve daha sonra steril suyla iyice durulanmıştır. Sterilize edilmiş torfdan yiyollerin içine yeter miktarda aktarılmıştır. Torfun pH'si sterilizasyon sonunda nötre yakındır.

Fasulye tohumları önce % 95'lik etil alkolde 2 dak, sonra da % 1'lük sodyum hipoklorit çözeltisinde 1 dak tutulmak suretiyle yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Daha sonra tohumlar, 6 kez steril saf sudan geçirilerek herhangi bir kimyasal kalıntısının çimlenme üzerindeki etkileri önlenmeye çalışılmıştır. Tohumlar steril torfun içine ekilerek 4 gün çimlenme için beklenmiş ve bu esnada sulama, sterilize suyla yapılmıştır.

Sonuçta, fasulye fideleri seraya getirilmiş ve her biri torfla birlikte yiyollerinden çıkarılarak, her bir saksıya bir bitki olacak şekilde saksılara alınmıştır. *Azospirillum* ve *Rhizobium* süspansiyonlarından birer ml alınarak bitki kök bogazına verilmiştir. Kontrol uygulamalarına 1 ml steril tuz çözeltisi (8.5 g NaCl L⁻¹) ilave edilmiştir.

Fasulye çeşitleri: Seker, ES-1280, Karacasehir, Horoz ve Sahin-90

Azospirillum yoğunluğu: A0, A6, A7 ve A8 (0, 10⁶, 10⁷ ve 10⁸ kob ml⁻¹)

Rhizobium yoğunluğu: R0, R6, R7 ve R8 (0, 10⁶, 10⁷ ve 10⁸ kob ml⁻¹)

Deneme 3 tekerrür içeren genelleştirilmiş tesadüf blokları (fasulye çeşitleri) deneme desenine göre yapılmıştır.

Seyreltik bitki besinleri solüsyonu (Weaver ve Danso, 1994) saksı altlıklarından haftada 4 gün sulama gerektikçe verilmiştir. Kalan günlerde ihtiyaç oldukça saf suyla sulama yapılmıştır. Seyreltik bitki besinleri solüsyonu ve saf su her bir saksıya eşit miktarda verilmiştir. Bitki büyümesi ekimden itibaren 49 gün devam etmiştir.

Bitkiler önce kök ve sap olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Daha sonra, kök bogazından kök derinliğine doğru 5 cm ölçülmüş buradan iki kısma ayrılmıştır. Bu parçalarda nodül sayımı ve tartımı yapılmıştır. Veriler varyans analizi ve LSD testine tabii tutulmuştur.

ARASTIRMA SONUÇLARI VE TARTISMA

Nodül Sayıları

A0 *Azospirillum* uygulamasında, *Rhizobium* seviyesi arttıkça üst nodül sayısı, kontrolde (R0 seviyesi) ortalama 16,9'dan R8 seviyesinde 48,2'ye çıkmıştır (Sekil 1A). A6 *Azospirillum* uygulamasında, üst nodül sayısı R0 seviyesinde ortalama 16,2'den R8 seviyesinde 59,2'ye çıkmıştır. Varyans analizinde *Rhizobium* faktörü çok önemli fakat *Azospirillum* faktörü önemsiz bulunmuştur (Tablo 1). LSD testine göre, ortalama en yüksek nodül sayısı R7 seviyesinde çıkmasına rağmen R7 ve R8 seviyeleri arasında fark yoktur (Tablo 2). *Azospirillum* ilave asılanmasının nihai olarak daha fazla üst nodül sayısına neden olduğu ve böylece azot fiksasyonunu sadece *Rhizobium*'lu asılanmalara göre artırdığı varsayımı bu çalışmada geçerli gözükmemektedir.

Rhizobium uygulamaları R7 seviyesine kadar üst nodül sayısını artırmış ve daha sonra üst nodül sayısı *Azospirillum* seviyesine göre değişik bir eğilime girmiştir (Sekil 1B). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında, çeşitlerde ortak bir trend yoktur (Sekil 1C). *Rhizobium* faktörü açısından bakıldığında, Seker, ES-1280, ve Karacasehir çeşitlerinde R7 seviyesine kadar bir artış gözlenmiş, fakat, R8 seviyesi üst nodül sayısını tekrar geri düşürmüştür (Sekil 1D). *Rhizobium* × Çesit ve *Azospirillum* × *Rhizobium* × Çesit etkileşimleri varyans analizinde önemli bulunmuştur (Tablo 1).

Denemede R0 (asılanmamış) seviyesinde nodül oluştuğu gözlenmiştir. Bu durum büyüme esnasında oluşabilecek su ve hava yoluyla lokal *Rhizobium* suslarının taşınmasının bir sonucu olabilir. Fakat,

kontrol uygulamalarında nodülasyon minimum seviyededir.

Toplam nodül sayısı R6 seviyesiyle birlikte artmış ve R7 seviyesine kadar artısa devam etmiştir (Sekil 2A). Daha sonrasında (R8 seviyesinde) A0 ve A8 uygulamaları hariç belirgin bir artış ya da azalış yoktur. Varyans analizinde *Rhizobium* faktörü çok önemli bulunurken *Azospirillum* faktörü önemsiz çıkmıştır (Tablo 1). LSD testine göre, *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark çıkmıştır (Tablo 2). *Rhizobium* uygulamaları, toplam nodül sayısını, A0 seviyesi hariç, R7 uygulamasına kadar artırmıştır (Sekil 2B). R8 seviyesinde, A6 ve A7 seviyelerinde sabit kalmış ve A8 seviyesinde düşmüştür. Genel modelde *Azospirillum* × *Rhizobium* etkileşimi önemsiz bulunmuştur (Tablo 1).

Muhtemelen bakteri yoğunluğu, başlangıç asılama yoğunluğu ne olursa olsun, zamanla bir denge yoğunluğuna ulaşmaktadır. Böylece, yoğunluk belirli bir seviyenin üzerinde nodülasyon açısından önemsiz hale gelmektedir. Bitki destekleyebileceği kadar nodül oluşturmaktadır, dolayısıyla asılanan bakteri yoğunluğu belirli bir seviyeden sonra önemsizdir.

Literatürdeki bazı çalışmalarda (Kapusta ve Rouwenhorst, 1973; Weaver ve Frederick, 1974a, 1974b), asılanan *Rhizobium* bakterilerinin lokal *Rhizobium* susları karşısında rekabet gücünü artırmak için bir alternatif olarak ortaya konulan yüksek asi yoğunluğu kullanımı hedefine bu çalışmada ulaşmamıştır. Yani, asılanan bakteri yoğunluğu belirli bir seviyenin üzerinde ne kadar artırılırsa artırılsın, asılanan bakteriler lokal *Rhizobium*lar karşısında daha fazla nodül oluşturmamaktadır.

LSD testine göre seker, ES-1280 ve sahin-90 çeşitleri arasında herhangi bir fark çıkmamıştır. (Tablo 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 (Sekil 2C). En yüksek seviyeler, seker ve horoz çeşitlerinde A7; karacasehirde A6'dır. Genel modelde, *Azospirillum* × Çesit etkileşimi önemsiz çıkmıştır (Tablo 1).

Rhizobium faktörü bakımından, toplam nodül sayısı sahin-90 çeşidinin dışında kalan çeşitlerde R7 seviyesine kadar yükselmıştır (Sekil 2D). Sonrasında daha önemsiz artış ya da azalışlar gözlenmiştir. Genel modelde, *Rhizobium* × Çesit etkileşimi çok önemlidir (Tablo 1). Varyans analizinde, *Azospirillum* × *Rhizobium* × Çesit etkileşimi önemli çıkmıştır.

Nodül Ağirliklari

Rhizobium uygulaması (R6) üst nodül ağırlığını önemli seviyede artırmıştır (Sekil 3A). A0, A6, A7, ve A8 uygulamalarının R0 seviyesinde 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. Varyans analizinde, daha önceki verilerde olduğu gibi, *Rhizobium* faktörü çok önemli, *Azospirillum* faktörü önemsiz çıkmıştır (Tablo 1). LSD testine göre, *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol uygulaması (R0) arasında önemli bir fark yoktur (Tablo 2). Aynı şekilde, *Rhizobium* uygulamaları arasında

da herhangi bir fark yoktur. *Rhizobium* uygulaması R6 seviyesinde üst nodül ağırlığını tüm *Azospirillum* seviyelerinde artırmıştır (Şekil 3B). Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium* etkileşimi önemsiz çıkmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Tüm verilere ait ANOVA (varyans analizi) sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Üst Nodül Sayısı	Toplam Nodül Sayısı	Üst Nodül Ağırlığı	Toplam Nodül Ağırlığı
Model	79	2.87**	2.95**	2.03**	2.82**
<i>Azospirillum</i>	3	öd	öd	öd	2.98**
<i>Rhizobium</i>	3	23.78**	26.50**	8.58**	16.01**
Çesit	4	7.70**	6.21**	4.08**	6.63**
<i>Azospirillum</i> x <i>Rhizobium</i>	9	öd	öd	Öd	Öd
<i>Azospirillum</i> x Çesit	12	2.25*	öd	Öd	Öd
<i>Rhizobium</i> x Çesit	12	2.07*	2.65**	3.34**	4.19**
<i>Azospirillum</i> x <i>Rhizobium</i> x Çesit	36	1.64*	1.68*	1.65*	1.49*

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

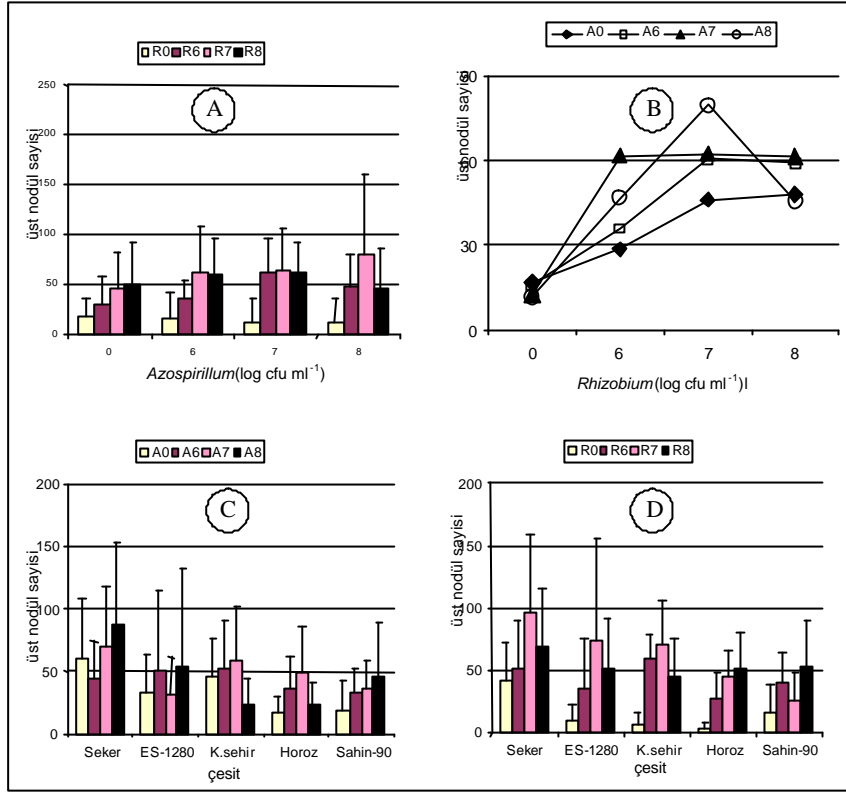
Tablo 2. Tüm verilere ait ortalamalar ve LSD test sonuçları

Üst Nodül Sayısı					
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çesit	Ortalama
R0	14.4 ^c	A0	34.9	Seker	64.5 ^a
R6	42.9 ^b	A6	42.8	ES-1280	42.0 ^b
R7	61.9 ^a	A7	49.1	Karacasehir	44.6 ^b
R8	53.5 ^{ab}	A8	46.0	Horoz	31.4 ^b
				Sahin-90	33.3 ^b
Toplam Nodül Sayısı					
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çesit	Ortalama
R0	40.6 ^b	A0	91.7	Seker	137.1 ^a
R6	116.3 ^a	A6	121.3	ES-1280	131.6 ^a
R7	142.3 ^a	A7	121.7	Karacasehir	104.8 ^{ab}
R8	145.0 ^a	A8	108.6	Horoz	69.2 ^b
				Sahin-90	111.1 ^a
Üst Nodül Ağırlığı					
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çesit	Ortalama
R0	0.082 ^b	A0	0.184	Seker	0.241 ^a
R6	0.212 ^a	A6	0.170	ES-1280	0.197 ^{ab}
R7	0.201 ^a	A7	0.186	Karacasehir	0.198 ^{ab}
R8	0.230 ^a	A8	0.181	Horoz	0.112 ^c
				Sahin-90	0.156 ^{bc}
Toplam Nodül Ağırlığı					
<i>Rhizobium</i>	Ortalama	<i>Azospirillum</i>	Ortalama	Çesit	Ortalama
R0	0.218 ^b	A0	0.411 ^b	Seker	0.614 ^b
R6	0.548 ^a	A6	0.467 ^{ab}	ES-1280	0.597 ^a
R7	0.534 ^a	A7	0.586 ^a	Karacasehir	0.446 ^{ab}
R8	0.631 ^a	A8	0.459 ^{ab}	Horoz	0.290 ^b
				Sahin-90	0.460 ^a

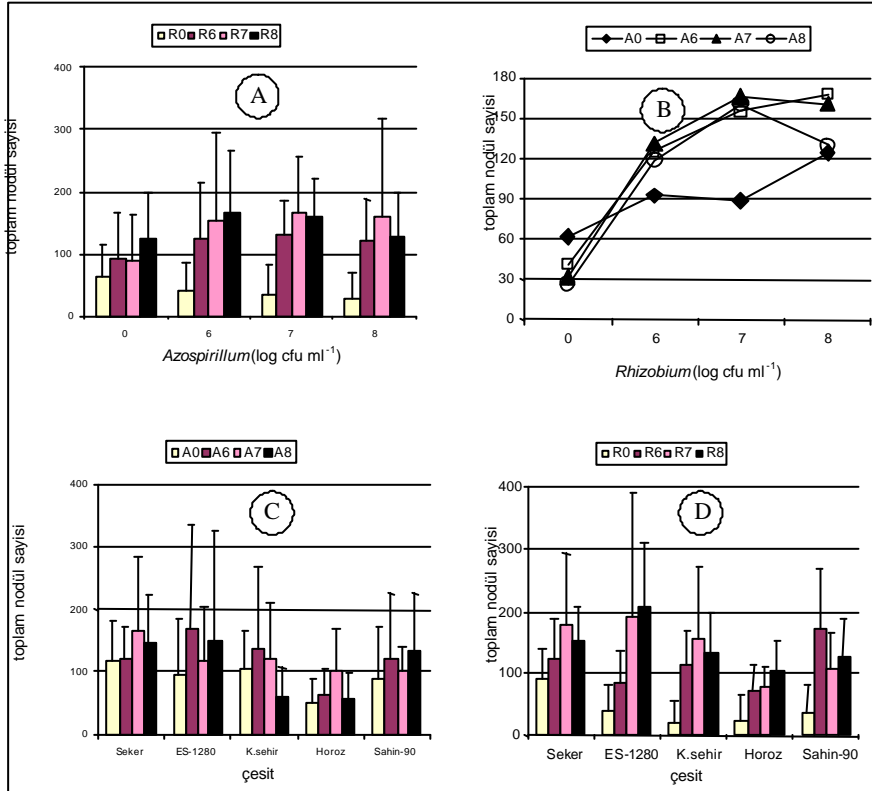
^{abcd} Benzer üst simgelere sahip ortalamalar arasında LSD değerlendirmesine göre % 5 seviyesinde fark yoktur.

Çesit faktörü varyans analizinde çok önemli bulunmuştur (Tablo 1). LSD testine göre en yüksek üst nodül ağırlığı sekerde çıkmasına rağmen, seker, ES-1280, ve karacasehir çeşitleri arasında bir fark bulunmamaktadır (Tablo 2.). *Azospirillum* faktörü açısından bakıldığında çeşitlerde belirgin bir trend gözlenmemiştir (Şekil 3C). Genel modelde *Azospirillum* × Çesit etkileşimi önemsizdir (Tablo 1).

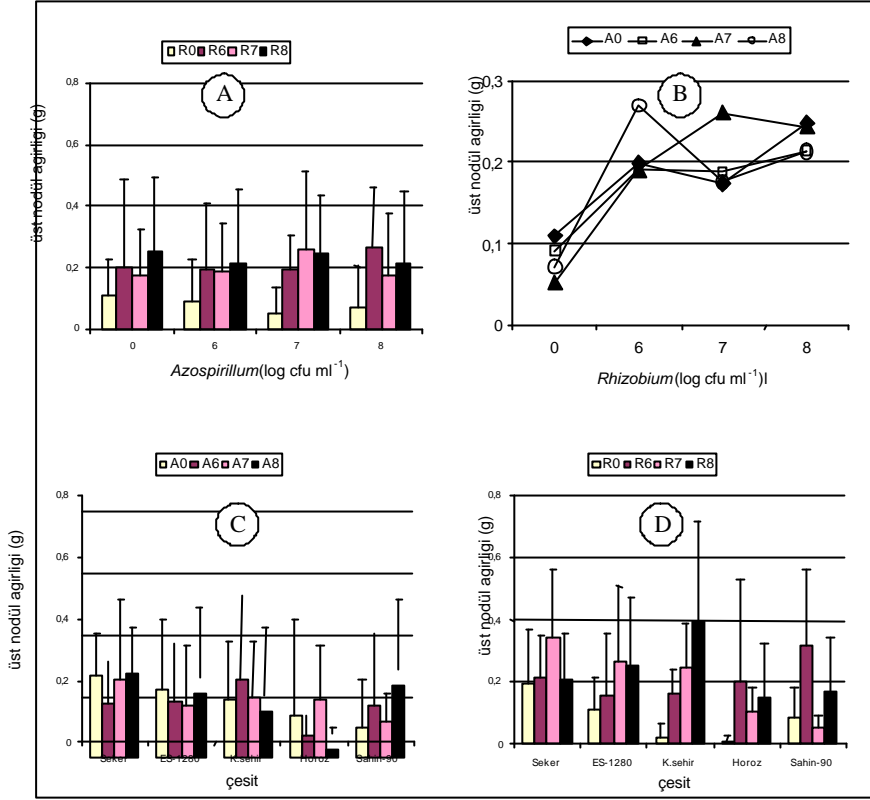
Rhizobium faktörü açısından, seker ve ES-1280'de üst nodül ağırlığı R7 seviyesine kadar artmış sonrasında sekerde düşmüş ve ES-1280'de sabit kalmıştır (Şekil 3D). Varyans analizinde *Rhizobium* × Çesit etkileşimi çok önemli çıkmıştır (Tablo 1). Genel modelde *Azospirillum*×*Rhizobium*×Çesit etkileşimi önemli çıkmıştır (Tablo 1).



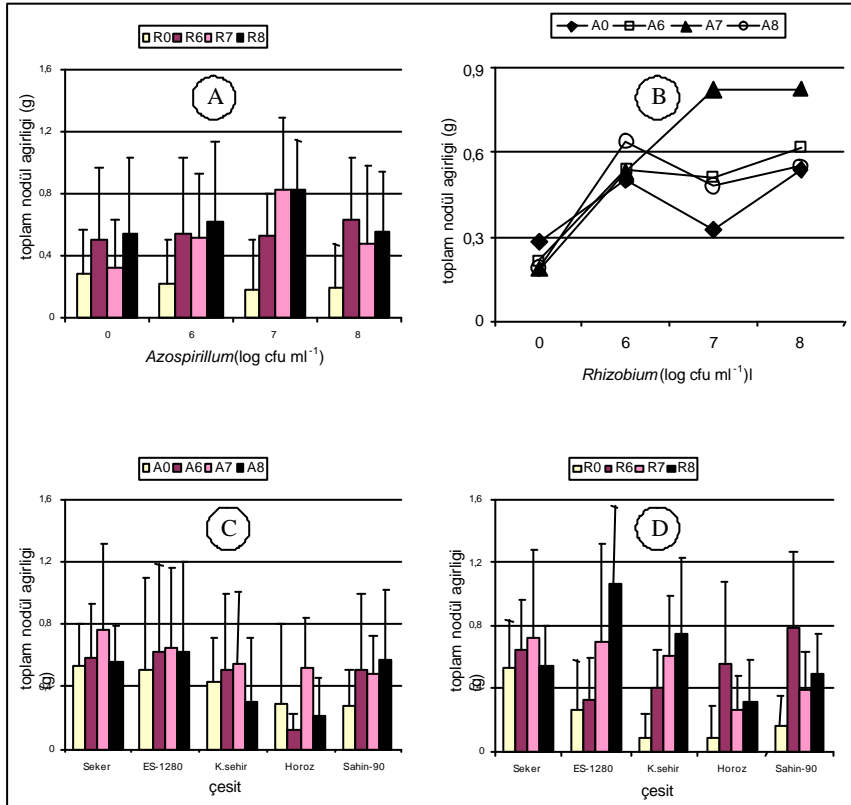
Sekil 1. Üst nodül sayısı ve (A): *Azospirillum* yoğunluğu; (B): *Rhizobium* yoğunluğu; (C): Çesit-*Azospirillum*; (D): Çesit-*Rhizobium* ilişkileri. (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)



Sekil 2. Toplam nodül sayısı ve (A): *Azospirillum* yoğunluğu; (B): *Rhizobium* yoğunluğu; (C): Çesit-*Azospirillum*; (D): Çesit-*Rhizobium* ilişkileri. (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)



Sekil 3. Üst nodül ağırlığı ve (A): *Azospirillum* yoğunluğu; (B): *Rhizobium* yoğunluğu; (C): Çeşit-*Azospirillum*; (D): Çeşit-*Rhizobium* ilişkileri. (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)



Sekil 4. Toplam nodül ağırlığı ve (A): *Azospirillum* yoğunluğu; (B): *Rhizobium* yoğunluğu; (C): Çeşit-*Azospirillum*; (D): Çeşit-*Rhizobium* ilişkileri. (Sütunlar ortalamayı ve çubuklar +1 standart sapmayı göstermektedir.)

R6 uygulaması A0, A6, A7, ve A8 seviyelerinde, kontrolde (R0) sirasıyla 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 (Sekil 4A). Toplam nodül ağırlığı *Azospirillum* ve *Rhizobium* faktörlerinin ikisi de çok önemli bulunmuştur (Tablo 1). LSD testine göre ortalama en yüksek toplam nodül ağırlığı A7 seviyesinde çıkmıştır (Tablo 2). LSD testine göre, *Rhizobium* uygulamaları ve kontrol (R0) arasında önemli bir fark yoktur. R6 uygulaması tüm *Azospirillum* seviyelerinde toplam nodül ağırlığını artırmış, sonrasında A7 seviyesinde bir artış, diğer *Azospirillum* seviyelerinde ise bir azalma gözlenmiştir (Sekil 4B.). Genel modele göre, *Azospirillum* × *Rhizobium* etkileşimi söz konusu değildir (Tablo 1).

Azospirillum sadece toplam nodül ağırlığını artırmıştır. Bu çalışma, "Azospirillum, Rhizobium tarafından nodülasyon yapılabilecek toplam bitki kökü bölgelelerinin duyarlılığını artırmaktadır" hipotezine ters düşmektedir. Bunun yerine "Azospirillum bitkinin daha iyi gelişmesini sağlayarak nodüllerin C-metabolizmasını artırmıştır" varsayımı ortaya koyulabilir. Bu varsayım *Rhizobium-Azospirillum* çoklu asilamasında ilk defa bu çalışmada öne sürülmüştür. Bu varsayımı destekleyen en önemli gözlem *Azospirillum* asilamasının sap ağırlığını artırmış olmasıdır (Veriler gösterilmemiştir.).

Çesit faktörü daha önceki tüm verilerde olduğu gibi toplam nodül ağırlığında da, varyans analizinde çok önemli gözükmemektedir (Tablo 1). LSD testine göre en düşük alt nodül ağırlığı horozda olup, diğer çeşitler arasında herhangi bir fark yoktur (Tablo 2). *Azospirillum* faktörüne ilişkin olarak, *Azospirillum* uygulaması ES-1280'de belirgin bir farklılığa neden olmamıştır (Sekil 4C). Seker ve karacasehir çeşitlerinde A7 seviyesine kadar artan sonra azalan bir eğilim vardır. Horoz ve sahin-90'da belirgin bir trend yoktur. Genel model *Azospirillum*×Çesit etkileşimini önemsiz bulmuştur (Tablo 1).

Rhizobium seviyesi arttıkça, seker, karacasehir ve özellikle ES-1280 çeşitlerinde toplam nodül ağırlığı artma eğiliminde olmuştur (Sekil 4D). *Rhizobium* uygulaması (R6), Horoz ve Sahin-90 çeşitlerinde toplam nodül ağırlığını artırmış, fakat, daha yüksek seviyeler bir azalmaya neden olmuştur. Genel modelde, *Rhizobium*×Çesit etkileşimi çok önemlidir (Tablo 1). Varyans analizinde, *Azospirillum* × *Rhizobium* × Çesit etkileşimi önemlidir (Tablo 1).

Azospirillum ilave asisi olsun ya da olmasın, nodülasyona ilişkin en iyi çeşit sekerdir. Seker çeşidi diğer çeşitler arasında en fazla üst nodül oluşturmıştır (Tablo 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* sularıyla ilişkili olmayıp, bu çeşidin ge-

nelde yüksek nodülasyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 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.
- 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.
- Chaverra, M.H., Graham, P.H., 1992. Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. Crop Science 32: 1432-1436.
- 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., Ranalli, P., 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Field crop research 53: 131-146.
- Hardarson, G., Bliss, F.A., Cigales-Rivaró, M.R., Henson, R.A., Kipe-Nolt, J.A., Longeri, L., Manrique, A., Pena-Cabrillas, 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.
- Hernandez-Lucas, I., Segavia, L., Martínez-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.
- Isoi, T., Yoshida, S., 1991. Low nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris*). Soil Science and Plant Nutrition 37:559-563.
- Kapusta, G., Rouwenhorst, D., 1973. Influence of inoculum size on *Rhizobium japonicum* serogroup distribution frequency in soybean nodules. Agronomy Journal 65:916-919.
- Kundu, B.S., Kuhad, M.S, Nanwal, A.S., 1993. Nodulation, nitrogen fixation and biomass of ajmash (*Phaseolus vulgaris* L.) as influenced by *Azospirillum* and *Rhizobium* inoculants. Environment and Ecology 11: 581-583.
- 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.
- 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 Microor-

- ganisms, Genetics, Physiology and Ecology. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Singh, S.P., Nodari, R., Gepts, P. 1991. Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymes. Crop Science 31: 19-23.
- 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.
- Vasquez-Arroyo, J., Sessitsch, A., Martinez, E., Pena-Cabriaes, 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.
- 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.
- 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.