

BAKLAGİLLERDE SİMBİYOTİK AZOT FİKSASYONUNA ETKİ EDEN BAZI FAKTÖRLER

Erdal ELKOCA¹

Faik KANTAR⁽¹⁾

ÖZET : Baklagil-*Rhizobium* bakterisi arasında tesis edilen ortak yaşam neticesinde, havada serbest halde bulunan azot bitkinin istifadesine sunulmaktadır. Simbiyotik yolla bağlanan bu azot tarımsal açıdan büyük bir kaynak oluşturmakta, böylece bir taraftan azotlu gübre masraflarının azaltılmasında, diğer taraftan mineral azotlu gübrelerin üretimi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan çevre kirliliği probleminin giderilmesinde önemli bir alternatif olmaktadır. Ancak, simbiyotik yolla bağlanan azot miktarı üzerine sıcaklık, toprak rutubeti, tuzluluk, toprak reaksiyonu, suş, konukçu ve besin elementleri gibi pek çok faktör etki etmekte ve bu faktörlere bağlı olarak fikse edilen azot miktarı önemli ölçüde azalabilmektedir.

Bu makalede, baklagil bitkilerinde simbiyotik yolla fikse edilen azot miktarı üzerine etki eden faktörler ana başlıklar halinde sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Simbiyotik azot fiksasyonu, fiksasyona etki eden faktörler, baklagiller

SOME FACTORS AFFECTING SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION IN LEGUMES

SUMMARY : Atmospheric N is transferred to available forms for plants owing to legume-*Rhizobium* symbiosis. Symbiotically fixed N is of agricultural importance reducing N-production costs and environmental pollution. However, many factors affect this symbiosis and eventual amount of N fixed.

This work reviewed and highlighted recent studies on the factors affecting symbiotic N fixation.

Key Words: Symbiotic nitrogen fixation, factors affecting nitrogen fixation, legumes

GİRİŞ

Azot genellikle bitki verimini belirleyen en önemli faktör olarak kabul edilmektedir (Vouillot ve ark., 1998). Gerek dünya protein ihtiyacının giderek artması, gerekse mineral azotlu gübrelerin üretimi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan çevre sorunları nedeniyle simbiyotik azot fiksasyonunun önemi giderek artmaktadır. Diğer taraftan, dünyada ve ülkemizde nüfus hızla artmakta ve azotlu gübre üretmek için gerekli enerji kaynakları azalmaktadır. Azotlu gübrelerden 1 kg üretmek için 20.000 kcal'lik enerjiye ihtiyaç duyulduğu dikkate alındığında (Gök ve Martin, 1993), biyolojik azot fiksasyonunun önemi kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Dünyada, biyolojik yolla bağlanan azot miktarının 175 milyon ton/yıl olduğu kabul edilmektedir. Bu azotun yaklaşık % 50'si baklagil-*Rhizobium* birliği tarafından sağlanmaktadır (Sarioğlu ve ark., 1993).

Rhizobium bakterileri tarafından fikse edilen azot miktarı üzerine pek çok faktör etki etmektedir. Her şeyden önce, etkili bir simbiyosisin tesis edilerek yüksek bir azot fiksasyonunun sağlanabilmesi için şu şartların gerçekleşmesi gerekmektedir: (a) *Rhizobium* bakterisi topraktaki diğer mikroorganizmalarla rekabet ederek hayatta kalabilmeli ve kolonize olabilmelidir; bu aşama, toprak verimliliği ve ekstrem toprak sıcaklıkları tarafından olumsuz yönde etkilenmektedir, (b) hızlı bir kolonizasyondan sonra, iyi bir

kök enfeksiyonu ve etkili bir nodül teşekkülü için konukçu ve bakteri uyum içerisinde olmalıdır, (c) bu iki şart gerçekleştikten sonra maksimum fiksasyon için çevre faktörleri uygun durumda bulunmalıdır (Bordeleau ve Prevost, 1994).

Bu derlemede, baklagil bitkilerinde simbiyotik yolla fikse edilen azot miktarı üzerine etki eden faktörler ana başlıklar halinde ele alınarak irdelenmiştir.

Sıcaklık

Toprak sıcaklığı hem nodül teşekkülü hem de nodül aktivitesi üzerine önemli ölçüde etki etmektedir. Azot fikse eden bitkilerin azotla gübrelenmiş bitkilere nazaran ekstrem toprak sıcaklıklarına daha hassas olduğu ortaya konulmuştur (Gibson, 1961). Diğer taraftan, gerek düşük gerekse yüksek hava sıcaklıkları, fotosentezi önemli ölçüde azaltarak azot fiksasyonunu sınırlandırmaktadır. Sıcaklığın artması ile birlikte solunum da hızlanmakta ve simbiyosisin için ihtiyaç duyulan karbon kaynakları hızla tüketilmektedir.

Tropik orijinli baklagillerde nodül aktivitesi için gerekli optimum sıcaklık dereceleri ılıman iklim baklagillerine nazaran daha yüksektir. Nitekim, tropik orijinli baklagillerde 20 °C'nin altında çok az bir nodül aktivitesi görülürken, ılıman şartlara adapte olmuş baklagillerde yüksek sıcaklıklar,

¹ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 25240, Erzurum
Geliş Tarihi : 26.10.2000

nodüllerde yapı ve fonksiyon bozukluklarına sebep olarak azot fiksasyon etkinliğini önemli ölçüde düşürmektedir.

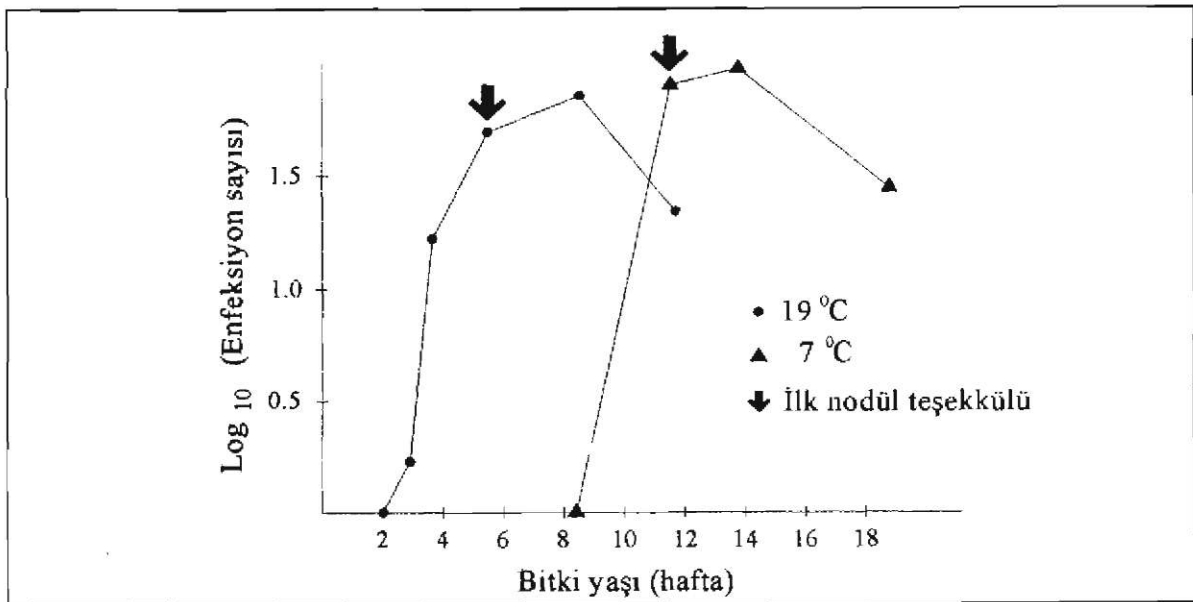
Genel olarak, 30 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar nitrojen fiksasyonunu azaltmaktadır (Gibson, 1961). Yeraltı üçgülünde (*Trifolium subterraneum*) 4 farklı *Rhizobium trifolii* ırkı kullanılarak yapılan bir araştırmada, ırklardan sadece bir tanesinde nitrogenaz aktivitesi 30 °C'de hızlı bir artış göstermiştir (Pankhurst ve Gibson, 1973). Yüksek sıcaklıkların (30 °C ve üzeri) nohutta nodül kuru ağırlığı, nitrogenaz aktivitesi ve bitki gelişmesinde önemli azalmalara neden olduğu rapor edilmiştir (ICRISAT, 1983). Fasulyede, 30 °C gündüz/20 °C gece sıcaklık şartlarında hızlı bir nodül teşekkülü meydana gelmekte, ancak sıcaklığın yüksek olması nodüllerin kısa sürede bozulmasına sebep olarak azot fiksasyon periyodunu daraltmaktadır (Graham, 1979).

Düşük sıcaklıklar kök tüylerinin enfeksiyonunu geciktirmekte (Şekil 1), nodül gelişimi ve leghemoglobin üretimini sekteye uğratmakta, fikse edilen azotun nodülden ihracını engellemekte, nodülasyonu ve nitrogenaz aktivitesini azaltmaktadır (Roughley ve Dart, 1970; Waughman, 1977). Diğer taraftan düşük sıcaklık, soğuk bölgelerde mikrobiyal aktiviteyi sınırlayan en önemli faktördür. Nitekim, 15 °C'nin altındaki sıcaklıklar genellikle fiksasyonunu azaltmakta, sıcaklık 8 °C'ye düştüğünde nodül gelişmesi ve nitrogenaz aktivitesi tamamen engellenmektedir (Bordeleau ve Prevost, 1994). *Rhizobium* bakterileri ise genelde 4 °C'ye tolerans

göstermelerine rağmen bu sıcaklık derecesinde çok az bir gelişme gösterebilmektedirler (Trinick, 1982). Ancak, *Rhizobium* suşları arasında düşük sıcaklığa tolerans bakımından farklılıklar bulunabilmektedir. Sıcaklığın düşük olduğu ortamlardan izole edilen suşlar, sıcak ortamlardan izole edilen suşlara nazaran daha düşük sıcaklıklarda nodül oluşturabilmektedirler. Nitekim, İskandinavya'nın kuzey bölgelerindeki üçgül bitkilerinden izole edilen suşlar, güney bölgelerden izole edilen suşlara oranla düşük sıcaklıklara daha iyi adapte olmuş ve 10 °C'de daha hızlı bir gelişme göstermişlerdir (Ek-lander ve Fahraeus, 1971).

Toprak Rutubeti

Simbiyotik azot fiksasyonu kurağa oldukça hassastır (Serraj ve ark., 1999). Özellikle yarı kurak bölgelerde, bitkiler gelişme dönemleri boyunca nem stresine maruz kalabilmekte ve buna bağlı olarak fikse edilen azot miktarı sınırlanmaktadır. Tarla şartlarında toprağın çok az miktarda rutubet ihtiva etmesi, bitki tohumlarının etkili bakteri ile aşılması halinde dahi azot tespitinin azalmasına neden olmaktadır (Sprent, 1984). Nodüllerdeki düşük su potansiyeli ve buna bağlı olarak düşük nodül respirasyonu, azot fiksasyon kapasitesini direkt olarak azaltabilmektedir (Pankhurst ve Sprent, 1975). Su stresi nodüller üzerindeki bu direkt etkisi yanında, fotosentezi azaltmak suretiyle de fiksasyon üzerine dolaylı etkide bulunmaktadır.



Şekil 1. Toprak sıcaklığının *T. subterraneum*'da kök enfeksiyonu üzerine etkisi (Roughley ve Dart, 1970).
Figure 1. The effect of soil temperature on root infection of *T. subterraneum*

Kurak topraklarda, normal kök tüyleri yerine bakteri enfeksiyonunu zorlaştıran kısa kalın kök tüyleri meydana gelmektedir (Lie, 1981). Toprak nem içeriği % 3.5'e düştüğünde *T. subterraneum*'da enfeksiyon iplikçiklerinin sayısı azalmakta, nodülasyon tamamen durmakta, kök ve kök tüylerinin gelişimi engellenmektedir (Worrall ve Roughley, 1976). Sulama yapıldığında tüyler normal bir gelişme göstermekte ve enfekte olmaktadır. Toprak rutubet miktarı % 8'in altına düştüğünde çayır üçgülü nodülleri çok az bir aktivite gösterirken, ak üçgül toprak rutubetine daha fazla hassasiyet göstermekte ve toprak rutubeti tarla kapasitesinin % 50'sine düştüğünde nodül aktivitesinde bariz azalmalar meydana gelmektedir (Foulds, 1978). Su stresi bitkinin azot içeriğini azaltmaktadır. Bu durum, su stresinin azot fiksasyonu üzerindeki etkisinin bitki büyümesi üzerindeki etkisinden daha fazla olduğunu ifade etmektedir (Engin ve Sprent, 1973). Nitekim, pek çok baklagil yem bitkisinde yaprak su potansiyeli ile azot fiksasyonu arasında yakın bir korelasyon bulunduğu bildirilmektedir (Aparicio-Tejo ve ark., 1980).

Kurağa tolerans bakımından bakteri suşları arasında farklılıklar bulunmakta (Athar ve Johnson, 1996), bu nedenle su stresinin azot fiksasyonu üzerindeki olumsuz etkisinin hafifletilmesi amacıyla, kurak bölgelere ekilecek tohumların aşılmasında o bölgelerden izole edilen; kuraklığa ve sıcağa adapte olmuş *Rhizobium* suşlarının kullanılması ve kuraklığın uzun süre devam ettiği durumlarda aşılınmış tohumların kısmen derin ekilmesi faydalı olmaktadır. Diğer taraftan, su noksanlığı şartlarında fikse edilen azot miktarı bakımından baklagil çeşitleri arasında genetik bir varyasyonun bulunması, kurak şartlarda azot fiksasyon kabiliyeti yüksek çeşitlerin seleksiyonuna ve ıslahına imkan tanımaktadır (Serraj ve ark., 1999).

Diğer taraftan, topraktaki su fazlalığı da azot fiksasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Topraktaki su fazlalığı toprağın hava kapasitesini azaltmaktadır. Toprak hava kapasitesindeki azalmaya bağlı olarak, kök bölgesindeki düşük oksijen konsantrasyonu nodülasyonu geciktirmekte ve nodül aktivitesini sınırlandırmaktadır (Pankhurst ve Sprent, 1975). Ayrıca, nodül yüzeyini saran su tabakası oksijen difüzyonunu sınırlandırarak azot fiksasyonunun önemli ölçüde azalmasına neden olmaktadır (Bordeleau ve Prevost, 1994). Ancak uzun süreli su basmalarında, nodül fonksiyonu için yeterli miktarda oksijen temin etmek amacıyla, nodül yüzeyinde girinti ve çıkıntılar gibi yapısal değişiklikler meydana getirilerek nodüllerin yüzey/hacim oranı artırılmaktadır (Bordeleau ve Prevost, 1994). Su fazlalığı durumunda, topraktaki CO₂ miktarı hızla artmakta ve yüksek konsantrasyonlarda nodül

teşekkülüne engel olmaktadır. Diğer taraftan, anaerobik topraklarda etilen gazı üretilmekte ve düşük konsantrasyonlarda dahi nodülasyonu sınırlandırmaktadır (Eaglesham ve Ayanaba, 1984). Tarla şartlarında su fazlalığının sebep olduğu mineral dengesizlikler ve toprak kökenli patojenlerin çoğalmasına bağlı olarak kökler ve nodül aktivitesi olumsuz yönde etkilenmekte, ayrıca anaerobik şartlarda mikrobiyal fermentasyondan kaynaklanan ve fitotoksik olan pek çok ürün meydana gelerek zararın şiddeti artmaktadır.

Tuzluluk

Baklagiller tuzluluğa hassastır (Zahran, 1991). Orta seviyedeki tuzluluk şartlarında pek çok baklagil bitkisinde gelişme azalmaktadır. Toprakta çözünen tuzlar toprak çözeltisinin osmotik potansiyelini düşürerek fizyolojik kuraklığa sebep olmakta; bu durumda toprakta yeterli miktarda su bulunsa dahi bitki gelişmesinde önemli azalmalar meydana gelmektedir. Tuzluluk, bitkilerde osmotik etkilere ilave olarak iyonların toksik etkileri yoluyla da zarar yapabilmektedir.

Tuza maruz kalmış bitkilerde gelişme hızındaki azalmaya bağlı olarak spesifik enzimler, toplam protein ve nükleik asitlerin miktarı azalmakta (Weimberg, 1975); toksik iyonların bitki dokularında birikimine bağlı olarak enzim aktivitesi bozulmaktadır (Bordeleau ve Prevost, 1994). Diğer taraftan, tuzdan etkilenmiş bitkilerde fotosentez oranı azalırken, respirasyon oranı artmaktadır (Shannon, 1979). Tuzluluğun bütün bu olumsuz etkilerine bağlı olarak, tuzlu topraklarda nodülasyon ve nodül aktivitesi önemli ölçüde azalmaktadır.

Bir çok baklagil bitkisi iyonların toksik etkisinden sakınabilmek amacıyla, tuzlu şartlarda iyon alımını sınırlandırarak, iyonların yapraklarda ve diğer bitki dokularında birikimine engel olmaktadır. Bu durumda bitkiler osmotik olarak dengede kalabilmek için düşük molekül ağırlığına sahip çeşitli organik bileşikler sentezlemektedirler (Storey ve Jones, 1975; Abbas ve ark., 1991).

Bazı baklagil bitkileri ise tuzlu şartlarda iyon alımına devam etmekte ve aldıkları iyonları depolayarak yüksek turgor basınçlarını muhafaza etmektedirler (Flowers ve ark., 1977). Bu stratejide bitkinin osmotik olarak dengede kalabilmesi için organik madde sentezine ihtiyaç duyulmadığından daha etkin bir enerji kullanımı sağlanmaktadır (Shannon, 1979). Bu tip bir savunma mekanizmasında, alınan iyonlar gerek bitki gerekse nodül hücrelerinin vakuollerinde depolanmak suretiyle toksik etkileri önlenmekte, bu sayede tuzluluğun bitki gelişmesi ve

nodülasyon üzerindeki engelleyici etkisi hafiflemektedir (Zahran, 1991). Bu durum, tuza toleranslı baklagillerin ıslahında ve seleksiyonunda temel kriterlerden biri olarak dikkate alınmaktadır (Shannon, 1984).

Konukçu bitki, *Rhizobium* ve bu ikisi arasındaki simbiyosisi engelleyen tuz seviyeleri birbirinden farklıdır. Sprent (1984), yonca ve *R. meliloti* arasındaki simbiyosisi etkileyen NaCl konsantrasyonunun, yonca ve *R. meliloti*'nin gelişmesini etkileyen konsantrasyonlarından daha düşük olduğunu bildirmiştir. Genellikle baklagiller *Rhizobium* bakterilerine oranla osmotik strese daha fazla hassasiyet göstermektedirler. Nitekim bazı *Rhizobiumlar*, ortak yaşam kurdukları baklagil türlerine nazaran oldukça yüksek tuzluluk seviyelerinde hayatta kalabilmektedirler. Ayrıca kurak bölgelerden izole edilen *Rhizobiumlar*, tuzlu ve kıraç koşullarda iyi bir nodül teşekkülü sağlamaktadırlar (Bordelcau ve Prevost, 1994).

Toprak Reaksiyonu (pH)

Rhizobium bakterileri en iyi çoğalmayı, pH'sı 6.4-7.2 arasında olan topraklarda gerçekleştirmektedir. Düşük pH şartlarında *Rhizobium* bakterilerinin gelişme ve çoğalması azalmakta, etkisiz bakterilerin sayısı artmakta ve enfeksiyon olumsuz yönde etkilenmektedir (Munns, 1968; Rice ve ark., 1977). Ancak, *Rhizobium* türleri arasında asitliğe tolerans bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Yavaş gelişen *Bradyrhizobium* suşları hızlı gelişen türlere nazaran toprak asitliğine daha fazla tolerans göstermektedirler (Munns ve Keyser, 1981). Diğer taraftan, yoncada nodül oluşturan bakteri suşları arasında da düşük pH'ya tolerans bakımından farklılıkların bulunduğu bildirilmektedir (Rice ve ark., 1977).

Asit topraklar kullanılabilir kalsiyum, magnezyum, fosfor ve molibden yönünden fakir durumda bulunurken, alüminyum ve manganez konukçu bitkiye toksik etki yapacak seviyelere ulaşabilmektedir. Asit topraklarda (pH < 5.0), artan Al seviyesi kök gelişmesini olumsuz yönde etkileyerek nodülasyonu engellemektedir. Asit şartlarda kullanılabilir kalsiyumun azalması alüminyum seviyesinin ise yükselmesi nodül sayısını sınırlandırmaktadır. Hızlı gelişen *Rhizobiumlar* yavaş gelişenlere nazaran alüminyuma daha az tolerans göstermektedirler (Bordelcau ve Prevost, 1994).

Asit şartlarda artan manganez seviyesi, enfeksiyon işlemi ve nitrojenaz aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Bordelcau ve Prevost, 1994). Toksik manganez seviyeleri esas olarak baklagil gelişmesini etkilemekte, ancak baklagil tür ve çeşitleri arasında manganeze tolerans bakımından geniş bir varyasyon

bulunmaktadır (Munns ve Keyser, 1981). Diğer taraftan fosfor, asit topraklarda demir ve alüminyum fosfat halinde çökelmekte ve bu nedenle asidik şartlarda fosfor noksanlığı oldukça yaygın olarak ortaya çıkmaktadır.

Kireç uygulaması bir taraftan rhizobial aktiviteyi teşvik ederek (Mulder ve Van Veen, 1960), diğer taraftan manganez ve alüminyum seviyesini düşürerek asit toprakların nodülasyon üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmektedir. Ancak, bu uygulama kireç ihtiyacının yüksek olduğu geniş alanlarda, yüksek taşıma maliyeti gerektirdiğinden ekonomik olmamaktadır. Bu nedenle bu tip alanlarda, düşük toprak verimliliğine ve pH'ya adapte olmuş baklagillerle birlikte asitliğe ve alüminyuma toleranslı *Rhizobium* suşlarının kullanılması daha uygun bir strateji olmaktadır.

Toprakta azot bileşiklerinin bulunması halinde azot tespitinin durduğu ekstrem pH'larda bitki gelişmesine devam edebilmektedir. Nitekim, ihtiyaç duyduğu azotu fiksasyon yoluyla temin eden baklagil bitkilerinin mineral azotla gübrelenmiş baklagil bitkilerine nazaran toprak pH'sına daha hassas olduğu bildirilmiştir (Andrews, 1976). Diğer taraftan, kırmızı üçgül ortamda amonyum nitrat bulunduğu 4 pH'da gelişmesine devam ettiği halde azot tespiti için pH'nın 5 olmasına ihtiyaç göstermektedir.

Kalsiyum rezervi düşük olan tuzlu topraklarda, değişebilir kalsiyum sodyumla yer değiştirmektedir. Bu tip alanlarda, topraktaki karbonat ve bikarbonat iyonlarının sodyum ile tepkimeye girmesi sonucunda pH yükselmektedir (Hayward ve Wadleigh, 1949). Bu tip topraklar çoğunlukla baklagiller için uygun olarak kabul edilmemektedir. Yapılan bir survey çalışmasında, 8 ayrı baklagil türünden izole edilen 23 *Rhizobium* suşunun tamamının pH'nın 10 olduğu tuz içermeyen koşullarda iyi bir gelişme gösterdiği tespit edilmiştir (Yadav ve Vyas, 1971). Ancak başka bir çalışmada ise, 17 *Bradyrhizobium japonicum* suşundan hiçbirinin pH'nın 8.5 olduğu sıvı ortamda önemli bir gelişme göstermemiştir (Diatloff, 1970). Lüpen'de pH'nın 6'dan yukarı olması nodülasyonu azaltırken (Tang ve Robson, 1993), yoncada yüksek toprak pH'sının kök tüylerinin enfeksiyonunu ve nodülasyonu olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (Lakshmi-Kumari ve ark., 1974).

Suş

Simbiyotik yolla bağlanan azot miktarı üzerine pek çok faktör etki ederken, bu faktörler içerisinde aşılama kullanılan bakterinin etkinliği özel bir önem taşımaktadır. Etkili *Rhizobium* suşlarını içermeyen alanlarda aşılama yapılarak uygun bir konukçu-suş ilişkisinin sağlanması fikse

edilen azot miktarının artırılmasında önemli rol oynamaktadır (Dogbe ve ark., 2000). Diğer taraftan, daha önce baklagil yetiştirilmeyen alanlarda uygun suşlarla yapılan bakteri aşılması verimi önemli ölçüde artırmaktadır (Rai ve Singh, 1979). Ayrıca, toprakta doğal olarak bulunan *Rhizobium* bakterilerinin ancak % 25'inin etkili olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle, baklagil bitkileri yerli *Rhizobium* bakterilerini içeren topraklarda dahi aşlamaya olumlu tepki göstermektedirler (Sharma ve ark., 1983).

Aşılamanın başarılı olabilmesi için aşılama ile toprağa verilen suşların topraktaki sıcaklık, nem ve iyon içeriğindeki dalgalanmalara uyum göstermesi ve diğer *Rhizobiumları* da içeren geniş bir mikroorganizma popülasyonu ile rekabet edip çoğalarak konukçuyu enfekte etmesi gerekmektedir (Schiffmann ve Alper, 1968).

Aşılama da kullanılan *Rhizobium* suşları arasında simbiyotik etkinlik bakımından büyük farklar bulunmakta, üstün *Rhizobium* suşları ile yapılan aşılama nodül sayısını, nodül ağırlığını ve bitkideki azot miktarını önemli ölçüde artırmaktadır (Chaverra ve Graham, 1992). Yoncada, aşılama da kullanılan suşların etkinliğine bağlı olarak dekara 20-40 kg arasında azot bağlandığı, bu nedenle etkinliği yüksek *R. meliloti* suşları ile yapılan aşılamanın yonca verimini artırmadaki en önemli uygulamalardan biri olduğu bildirilmektedir (Provorov ve ark., 1994).

Kanada'da yapılan bir çalışmada, farklı *Rhizobium leguminosarum* suşlarıyla aşılama mercimek bitkileri arasında nodül sayısı, toplam bitki ağırlığı ve azot miktarı bakımından önemli farklılıkların ortaya çıktığı bildirilmiştir (Bremer ve ark., 1990). Saroğlu ve ark. (1993), mercimek bitkilerindeki nodüllerden izole ettikleri *Rhizobium* bakterilerinin etkinliklerini laboratuvar şartlarında test etmişlerdir. Bitkilerin kuru ağırlıkları esas alınarak yapılan değerlendirmede, izole edilen 19 suştan 11'i etkili, 7'si orta derecede etkili, 1 suş ise etkisiz bulunmuştur.

Konukçu

Aynı baklagil türü içerisinde yer alan farklı genotip ve çeşitlerin aşılama ya tepkisi farklı olabilmektedir (Graham, 1981). Nitekim, azot fiksasyon kapasitesi açısından fasulye varyeteleri arasında genetik varyasyonun bulunduğu rapor edilmiştir (Redden ve ark., 1990; Popescu, 1998). Aynı bakteri kültürü ile aşılama yapılmış farklı fasulye hatlarından bazılarında erken nodül teşekkülü tespit edilirken, bazı hatlarda nodülasyon oldukça yavaş seyretmiş ve buna bağlı olarak fikse edilen azot miktarı sınırlı kalmıştır (Kipe-Nolt ve Giller, 1993). Erken çiçeklenen soya ve fasulye varyetelerinde, azot fiksasyon kapasitesinin geçici

varyetelere oranla daha düşük olduğu; bu durumun erkenci varyetelerde azot fiksasyon periyodunun kısa olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Duque ve ark., 1985). Diğer taraftan, aynı bakteri suşu ile aşılama yapılmış bakla çeşitleri arasında nodül sayısı bakımından önemli farklılıkların bulunduğu tespit edilmiştir (El-Sherbeeny ve ark., 1977). Nohutta Kabul genotiplerinin azot fiksasyon kapasitesinin Desi genotiplerine oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Somasegaran ve ark., 1988). Ayrıca, pek çok araştırmacı tarafından suş x konukçu genotip interaksyonunun bitki kuru ağırlığı, azot verimi ve fikse edilen azot miktarı üzerine önemli etkide bulunduğu rapor edilmiştir (Beck, 1992; Luna ve Planchon, 1995; Rodriguez-Navarro ve ark., 1999).

Besin Elementleri

Herhangi bir besin elementi eksikliği ya nodül aktivitesi üzerine direkt etkide bulunmakta ya da konukçu bitkiyi etkilemek suretiyle indirekt etkide bulunmaktadır. Fiksasyon açısından besin elementleri için ihtiyaç duyulan miktar tür, çeşit ve *Rhizobium* suşları arasında farklılık göstermektedir (Pankhurst, 1981).

Düşük miktarda uygulanan azot nodül teşekkülünü teşvik ederken, artan azot dozları nodül teşekkülünü, sayı ve büyüklüğünü azaltarak azot fiksasyonunu düşürmektedir (Harper, 1974). Başlangıçta meydana gelebilecek azot noksanlığını gidermek amacıyla baklagillere genellikle ekimle birlikte düşük dozlarda azot uygulaması yapılmaktadır. Bu uygulamanın yonca (Richardson ve ark., 1957), börülce (Minchin ve ark., 1981), soya (Allos ve Bartholomew, 1959), bezelye (Oghoghorie ve Pate, 1971), nohut (Saxena ve Sheldrake, 1976) ve fasulyede (Graham, 1981) nodülasyon ve azot fiksasyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan, ekimle birlikte uygulanan düşük azot dozlarına soya (Harper, 1974) ve fasulye (Westermann ve ark., 1981) tepki gösterirken, bezelye (Pate, 1977) ve yonca (Lee ve Smith, 1972) nadiren tepki göstermiştir. Nitekim, başlangıç azotuna ihtiyaç duyulup duyulmamasında, topraktaki elverişli azot miktarı ve toprak sıcaklığı gibi çevre şartları ile *Rhizobium* suşları ve konukçu bitkiyi de içeren pek çok faktör rol oynamaktadır.

Fazla miktarda verilen azot, nitrogenaz aktivitesini ve nodülasyonu azaltmakta (Becana ve Sprent, 1987), kök tüylerinin üretimini ve kıvrılmasını olumsuz yönde etkileyerek (Munns, 1977) enfeksiyon işlemi engellemekte (Munns, 1968) ve leghemoglobin sentezini azaltmaktadır (Bisseling ve ark., 1978). Köklerin karbonhidrat miktarının azalması veya azot içeriğinin artması nodülasyonu engellemektedir. Azotun, nodül

gelişimini ve nitrogenaz aktivitesini engelleyici etkisi çoğunlukla nodüldeki fotosentetik ürünlerin azalmasına bağlanmaktadır (Oghoghorie ve Pate, 1971). İşaretili karbon kullanılarak yapılan çalışmalarda, azot uygulamasının nodüllere olan karbon akışını azaltarak fiksasyonu olumsuz yönde etkilediği (Rabie ve ark., 1980), azotun nitrogenaz aktivitesi üzerindeki bu engelleyici etkisinin ilave ışık (Bethlenfalvai ve Phillips, 1978) ve CO₂ (Hardy ve Havelka, 1976) sağlanarak fotosentezin artırılması suretiyle hafifletildiği bildirilmiştir.

Yapılan pek çok araştırmada, NO₃'ün nodülasyon üzerindeki engelleyici etkisinin diğer azot kaynaklarına göre (NH₄⁺ ve üre) daha fazla olduğu belirlenmiştir (Richardson ve ark., 1957). Diğer taraftan, yaprağa uygulanan ürenin nodülasyonu geciktirdiği ve bu durumun bitki bünyesindeki azot seviyesinin artışıyla kaynaklandığı bildirilmiştir (Cartwright ve Snow, 1962).

Düşük P, K ve S içeren topraklarda yüksek N dozlarının fasulye (Tsai ve ark., 1993) ve soyada (Gates ve Muller, 1979) fiksasyonu olumsuz yönde etkilediği; ancak P, K ve S içeriği bakımından zengin olan topraklarda ise yüksek azot dozlarında dahi, azotun fiksasyon üzerindeki teşvik edici etkisinin devam ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, azot uygulamalarının fiksasyon üzerindeki olumsuz etkisinin hafifletilmesi, fikse edilen azot miktarının artırılması ve yüksek bir verim elde edilebilmesi için, toprakta besin elementleri arasında uygun bir dengenin kurulması gerektiğini göstermektedir.

Fosfor; *Rhizobium* bakterilerinin çoğalması, nodülasyon, azot fiksasyonu ve bitki gelişmesi üzerine önemli etkide bulunmaktadır. *Rhizobium* bakterisinin aktivitesini ve kök gelişmesini artırarak nodül teşekkülünün erken, nodüllerin daha büyük ve fazla sayıda olmasını sağlamaktadır. Yeterli miktarda fosforla gübrelenen bitkilerde fiksasyon daha erken başlamakta ve birim nodül dokusu başına daha fazla azot fikse edilmektedir (Munns, 1977). Fosfor eksikliği, henüz bitki büyümesini sınırlayıcı doza gelmeden önce azot tespitini azaltmaktadır. Bu durum, fosforun azot tespiti üzerine daha çok direkt etkisinin olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan fosfor, baklagillerin molibden alımını artırarak dolaylı yoldan

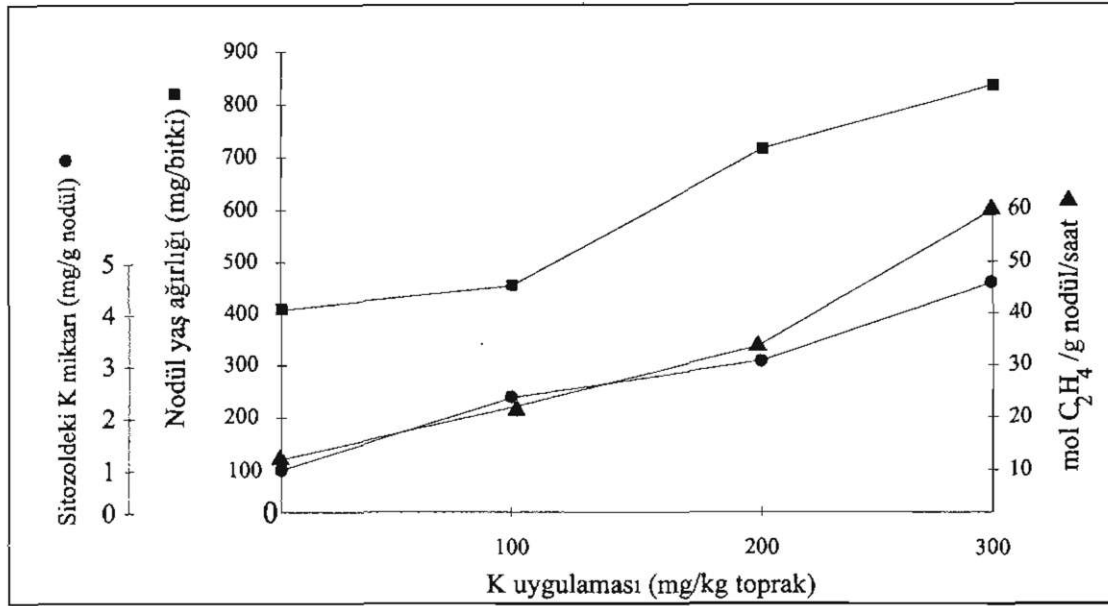
nodüllerin leghemoglobin miktarını ve buna bağlı olarak da azot tespitini artırmaktadır.

Fosfor, azot uygulamalarının fiksasyon üzerindeki zararlı etkisini hafifletmektedir. Toprakta yeterli miktarda fosfor bulunduğu yüksek azot dozlarının dahi nodülasyonu teşvik ettiği bildirilmiştir (Gates ve Wilson, 1974; Gates ve Muller, 1979). Nitekim, fasulyede düşük fosfor seviyelerinde, azotun fiksasyonu teşvik edici özelliğinin ortadan kalktığı ve fasulye çeşitlerinin büyük çoğunluğunun fosfor noksanlığına toleranslı olmadığı rapor edilmiştir (Pereira ve Bliss, 1989).

Yapılan pek çok araştırmada, potasyumun nodül oluşumu, azot tespiti ve baklagil bitkisi üzerine olumlu etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Potasyum konukçu bitkinin gelişmesini artırarak fiksasyon üzerine indirekt etkide bulunmakta, potasyum bulunmadığında fiksasyon fosfor tarafından teşvik edilememekte ve potasyum bitkinin yeşil kısımlarından nodüllere karbonhidrat naklini artırmaktadır.

Fasulyede, ksilemdeki potasyum konsantrasyonun aşılınmış bitkilerde aşılınmamış bitkilere nazaran çok daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Baklada, etkili bir *R. leguminosarum* suşu ile aşılınmış bitkilerin NH₄NO₃ uygulanmış bitkilere oranla sürgünlerinde daha yüksek potasyum içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Yousef ve Sprent, 1983). Nitekim yapılan bir araştırmada, potasyum uygulamasının fasulye ve baklada nodülasyonu ve azot fiksasyonunu artırdığı tespit edilmiştir (Sangakkara ve ark., 1996). Yoncada nodül iriliği ve aktivitesinin nodül sitozolündeki potasyum konsantrasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Duke ve ark., 1980; Şekil 2). Tüylü fiğde yapılan başka bir araştırmada ise potasyum nodül iriliğini artırmış fakat nodül aktivitesi üzerinde etkili olmamıştır (Lynd ve ark., 1981).

Baklagiller diğer bitkilerle benzer mikro besin elementlerine ihtiyaç duymaktadırlar. Ancak baklagiller nitrogenaz ve leghemoglobin üretimi için ilave molibden ve demire ihtiyaç göstermektedirler. Azot fiksasyonuna doğrudan yada dolaylı yoldan etkide bulunan iz elementler Tablo 1'de sunulmuştur.



Şekil 2. Yoncada potasyum gübrelemesinin nodül yaş ağırlığı, nitrogenaz aktivitesi ve nodül sitozolünün potasyum içeriğine etkisi (Duke ve ark., 1980)
Figure 2. The effect of K fertilisation on nodule fresh weight, nitrogenase activity and K content of nodule cytosol of alfalfa

Tablo 1. Baklagillerde Nodülasyon ve Azot Fiksasyonuna Etki Eden Mikro Elementler
Table 1. Micro Elements Affecting Nodulation and Nitrogen Fixation in Legumes

| Mineral | Gerekli Olduğu Yer | Fiksasyona Etkisi |
|-----------|---------------------------|-------------------|
| Magnezyum | Klorofil | İndirekt |
| Demir | Nitrogenaz, leghemoglobin | Direkt |
| Manganez | Bitki gelişimi | İndirekt |
| Bor | Meristematik aktivite | Direkt |
| Çinko | Bitki gelişmesi | İndirekt |
| Bakır | Nodül metabolizması | Direkt |
| Molibden | Nitrogenaz | Direkt |
| Kobalt | Leghemoglobin | Direkt |

Sonuç

Baklagil-*Rhizobium* birlikteliği tarafından tespit edilen azot, tarımsal açıdan büyük bir öneme sahiptir. Ancak, simbiyotik yolla bağlanan azot miktarı üzerine pek çok faktör etki etmekte ve bu faktörlere bağlı olarak fikse edilen azot miktarı önemli ölçüde azalabilmektedir.

Azot fiksasyonuna etki eden faktörlerin bilinmesi; bu faktörlerin simbiyotik sistem üzerindeki fonksiyon ve etki mekanizmalarının çok iyi şekilde anlaşılması, fikse edilen azot miktarının artırılmasına büyük katkıda bulunacak, böylece bir taraftan gübre ihtiyacının azalmasına bağlı olarak gübre masrafları düşerken, diğer taraftan gübrelerin üretilmesi ve

uygulanması esnasında ortaya çıkan çevre kirliliği problemi ortadan kalkacaktır.

KAYNAKLAR

- Abbas, M.A., M.E. Younis, W.M. Shukry, 1991. Plant growth, metabolism and adaptation in relation to stress conditions. XIV. Effect to salinity on the internal solute concentrations in *Phaseolus vulgaris*. J.Plant Physiol. 138: 722-727.
- Allos, M.F., W.V. Bartholomew, 1959. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. Soil Sci. 87: 61-66.
- Andrews, C.S., 1976. Effect of calcium, pH and nitrogen on the growth and chemical composition of some tropical and temperate pasture legumes. I. Nodulation and growth. Aust. J. Agric. Res. 27: 611-623.
- Aparicio-Tejo, P.M., M.F. Saucedo-Diaz, J.I. Pena, 1980. Nitrogen fixation, stomatal response and transpiration in *Medicago sativa*, *Trifolium repens* and *T. subterraneum* under water stress and recovery. Physiologia Plantarum 48: 1-4.
- Athar, M., D.A. Jhonson, 1996. Nodulation, biomass production, and nitrogen fixation in alfalfa under drought. J. Plant Nutrition 19 (1): 185-199.
- Becana, M., J.I. Sprent, 1987. Nitrogen fixation and nitrate reduction in the root nodules of legumes. Physiol. Plant. 70: 757-765.
- Beck, D.P., 1992. Yield and nitrogen fixation of chickpea cultivars in response to inoculation with selected rhizobial strains. Agron. J. 84: 510-516.
- Bethlenfalvy, G.J., D.A. Phillips, 1978. Interactions between symbiotic nitrogen fixation, combined-N application and photosynthesis in *Pisum sativum*. Physiologia Plantarum 42: 119-123.

- Bisseling, T., R.C. Bos, A. Kammen, 1978. The effect of ammonium nitrate on the synthesis of nitrogenase and the concentration of leghaemoglobin in pea root nodules induced by *Rhizobium leguminosarum*. Biochim. Biophys. 539: 1-11.
- Bordeleau, L.M., D. Prevost, 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. Plant and Soil 161: 115-125.
- Bremer, E., C. Van Kessel, L. Nelson, R.J. Rennie, D.A. Rennie, 1990. Selection of *Rhizobium leguminosarum* strains for lentil (*Lens culinaris*) under growth room and field conditions. Plant and Soil 121: 47-56.
- Cartwright, P.M., D. Snow, 1962. The influence of foliar applications of urea on the nodulation pattern of certain leguminous species. Annals of Botany 26: 251-259.
- Chaverra, M.H., P.H. Graham, 1992. Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. Crop Sci. 32: 1432-1436.
- Diatloff, A., 1970. Relationship of soil moisture, temperature and alkalinity to a soybean nodulation failure. Q. J. Agric. Anim. Sci. 27: 279-293.
- Dogbe, W., J.O. Fening, S.K.A. Danso, 2000. Nodulation of legumes in inland valley soils of Ghana. Symbiosis 28 (1): 77-92.
- Duke, S.H., M. Collins, R.M. Soberalske, 1980. Effects of potassium fertilization on nitrogen fixation and nodule enzymes of nitrogen metabolism in alfalfa. Crop Sci. 20: 213-219.
- Duque, F.F., M.C.P. Neves, A.A. Franco, R.L. Victoria, R.M. Boddey, 1985. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N. Plant and Soil 88: 333-343.
- Eaglesham, A.R.J., A. Ayanaba, 1984. Tropical stress ecology of rhizobia, root nodulation and legume fixation. In Current Developments in Biological Nitrogen Fixation, pp 1-35. Ed. N.S. Subba Rao. Edward Arnold Ltd., London, UK.
- Ek-Jander, J., G. Fahraeus, 1971. Adaptation of rhizobia to subarctic environment in Scandinavia. Plant and Soil, Spec., Vol.: 129-137.
- El-Sherbeeney, M., D.A. Lawes, L.R. Mylton, 1977. Symbiotic variability in *Vicia faba*. II. Genetic variation in *Vicia faba*. Euphytica 26: 377-383.
- Engin, M., J.I. Sprent, 1973. Effects of water stress on growth and nitrogen-fixing activity of *Trifolium repens*. New Phytologist 72: 117-126.
- Flowers, T.J., P.F. Troke, A.R. Yeo, 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. Annu. Rev. Plant Physiol. 28: 89.
- Foulds, W., 1978. Responses to soil moisture supply in three leguminous species. II. Rate of N₂(C₂H₂)-fixation. New Phytologist 80: 547-555.
- Gates, C.T., W.J. Muller, 1979. Nodule and plant development in the soybean *Glycine max* (L) Merr.: Growth response to nitrogen, phosphorus and sulfur. Aust. J. Bot. 27: 203-215.
- Gibson, A.H., 1961. Root temperature and symbiotic nitrogen fixation. Nature 191: 1080-1081.
- Gibson, A.H., 1966. Physical environment and symbiotic nitrogen fixation. III. Root temperature effects on shoot and root development and nitrogen distribution in *Trifolium subterraneum*. Aust. J. Biol. Sci. 19: 219-232.
- Gibson, A.H., 1967. Physical environment and symbiotic nitrogen fixation. IV. Factors affecting the early stages of nodulation. Aust. J. Biol. Sci. 20: 1087-1104.
- Gök, M., P. Martin, 1993. Farklı *Rhizobium* bakterileri ile aşılamanın soya, üçgül ve fiğde simbiyotik azot fiksasyonuna etkisi. Doğa Tr. J. of Agricultural and Forestry 17: 759-761.
- Graham, P.H., 1979. Influence of temperature on growth and nitrogen fixation in cultivars of *Phaseolus vulgaris* L., inoculated with *Rhizobium*. J. Agric. Sci. 93: 365-370.
- Graham, P.H., 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*: A review. Field Crops Res. 4: 93-112.
- Hardy, R.W.F., U.D. Havelka, 1976. Photosynthate, a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. In Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants, IBP 7, pp 421-439. Ed. P.S. Nutman. Cambridge University Press, Cambridge.
- Harper, J.E., 1974. Soil and symbiotic nitrogen requirements for optimum soybean production. Crop Sci. 14: 255-260.
- Hayward, H.E., C.H. Wadleigh, 1949. Plant growth on saline and alkali soils. Adv. Agron. 1: 1-38.
- ICRISAT, 1983. Biological Nitrogen Fixation. In ICRISAT Annual Report, pp. 115-118. ICRISAT Patancheru, India.
- Kipe-Nolt, J.A., K.E. Giller, 1993. A field evaluation using the ¹⁵N isotope dilution method of lines of *Phaseolus vulgaris* L. bred for increased nitrogen fixation. Plant and Soil 152: 107-114.
- Lakshmi-Kumari, M., C.S. Singh, N.S. Subba Rao, 1974. Root hair infection and nodulation in lucerne (*Medicago sativa* L.) as influenced by salinity and alkalinity. Plant and Soil 40: 261-268.
- Lee, C., D. Smith, 1972. Influence of nitrogen fertilizer on stands, yields of herbage and protein, and nitrogenase fractions of field-grown alfalfa. Agron. J. 64: 527-530.
- Lie, T.A., 1981. Environmental physiology of the legume-*Rhizobium* symbiosis. In Nitrogen Fixation Vol. 1: Ecology, pp 104-134. Ed. W.J. Broughton. Clarendon Press, Oxford.
- Luna, R., C. Planchon, 1995. Genotype x *Bradyrhizobium japonicum* strain interactions in dinitrogen fixation and agronomic traits of soybean (*Glycine max* L. Merr). Euphytica 86 (2): 127-134.
- Lynd, J.Q., E.A. Hanlon, G.V. Odell, 1981. Potassium effects on improved growth, nodulation and nitrogen fixation of hairy vetch. Soil Sci. Soc. Am. J. 45: 302-306.
- Minchin, F.R., R.J. Summerfield, M.C.P. Neves, 1981. Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*) effects of timing of inorganic nitrogen application on nodulation, plant growth and seed yield. Tropical Agric. 58: 1-12.
- Mulder, E.G., W.L. Van Veen, 1960. The influence of carbon dioxide on symbiotic fixation. Plant and Soil 13: 265-278.
- Munns, D.N., 1968. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. I. Acid-sensitive steps. Plant and Soil 28: 129-146.
- Munns, D.N., 1977. Mineral nutrition and the legume symbiosis. In A Treatise on Dinitrogen Fixation. Section IV Agronomy and Ecology, pp 353-391. Eds. R.W.F. Hardy and A.H. Gibson. John Wiley and Sons, New York.
- Munns, D.N., H.H. Keyser, 1981. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminium and phosphate. Soil Sci. Soc. Am. J. 34: 519-523.
- Oghoghorie, C.G.O., J.S. Pate, 1971. The nitrate stress syndrome of the nodulated field pea (*Pisum arvense* L.). Plant Soil Special Vol.: 185-202.
- Pankhurst, C.E., A.H. Gibson, 1973. *Rhizobium* strain influence on disruption of clover nodule development at high root temperature. J. Gen. Microbiol. 74: 219-231.
- Pankhurst, C.E., J.I. Sprent, 1975. Effects of water stress on the respiratory and nitrogen-fixing activity of soybean root nodules. J. Exp. Bot. 26: 287-304.
- Pankhurst, C.E., 1981. Effect of plant nutrient supply on nodule effectiveness and *Rhizobium* strain competition for nodulation of *Lotus pedunculatus*. Plant and Soil 60: 325-339.

- Pate, J.S., 1977. Nitrogen Assimilation. In *The Physiology of the Garden Pea*, pp 363-383. Eds. J.F. Sutcliffe and J.S. Pate. Academic Press.
- Pereira, P.A.A., F.A. Bliss, 1989. Selection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for N₂ fixation at different levels of available phosphorus under field and environmentally controlled conditions. *Plant and Soil* 115: 75-82.
- Proporov, N.A., U.B. Saimnazarov, T.A. Tanrıverdiev, B.V. Simarov, 1994. The contributions of plant and bacteria genotypes in the growth and nitrogen accumulation of inoculated alfalfa. *Plant and Soil* 164: 213-219.
- Popescu, A., 1998. Contributions and limitations to symbiotic nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Romania. *Plant and Soil* 204 (1): 117-125.
- Rabie, R.M., M. Arima, K. Kumazawa, 1980. Effect of combined nitrogen on the distribution pattern of photosynthetic assimilates in nodulated soybean plant as revealed by ¹⁴C. *Soil Sci. and Plant Nutrition* 25: 467-476.
- Rai, R., S.N. Singh, 1979. Response of strains of *Rhizobium* on nodulation, grain yield, protein and amino acids content of chickpea (*Cicer arietinum* Linn.). *J. Agric. Sci.* 93: 47-49.
- Redden, R.J., A. Diatloff, T. Usher, 1990. Field screening accessions of *Phaseolus vulgaris* for capacity to nodulate over a range of environments. *Aust. J. Exp. Agric.* 30: 265-270.
- Rice, W.A., D.C. Penney, M. Nyborg, 1977. Effects of soil acidity on rhizobia numbers, nodulation and nitrogen fixation by alfalfa and red clover. *Canadian J. Soil Sci.* 57: 197-203.
- Richardson, D.A., D.C. Jordan, E.M. Garrard, 1957. The influence of combined nitrogen on nodulation and nitrogen fixation by *Rhizobium meliloti* Dangeard. *Canadian J. Plant Sci.* 37: 205-214.
- Rodriguez-Navarro, D.N., C. Santamaria, F. Temprano, E.O. Leidl, 1999. Interaction effects between *Rhizobium* strain and bean cultivar on nodulation, plant growth, biomass partitioning and xylem sap composition. *European Journal of Agronomy* 11 (2): 131-143.
- Roughley, R.J., P.J. Dart, 1970. Root temperature and root-hair infection of *Trifolium subterraneum* L. cv. Cranmore. *Plant and Soil* 32: 518-520.
- Sangakkara, R., U.A. Hartwing, J. Nosbergen, 1996. Growth and symbiotic nitrogen fixation of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* as affected by fertilizer potassium and temperature. *J. Science of Food and Agriculture* 70 (3): 315-320.
- Sanoğlu, G., S. Özçelik, S. Kaymaz, 1993. Elazığ ve yöresinde üretilen mercimek bitkilerinden etkili nodözite bakterilerinin (*Rhizobium leguminosarum biovar. viceae*) seçimi. *Doğa Tr. J. of Agricultural and Forestry* 17: 569-573.
- Saxena, N.P., A.R. Sheldrake, 1976. *Pulses Physiology Annual Report 19, Part II: Chickpea Physiology*, pp 176. ICRISAT, Hyderabad, India.
- Schiffmann, J., Y. Alper, 1968. Inoculation of peanuts by application of *Rhizobium* suspension into the planting furrows. *Expl. Agric.* 4: 219-226.
- Serraj, R., T.R. Sinclair, L.C. Purcell, 1999. Symbiotic N₂ fixation response to drought. *J. Experimental Botany* 50: 143-155.
- Shannon, M.C., 1979. In quest rapid screening techniques for plant salt tolerance. *Hortsci.* 14: 587-589.
- Shannon, M.C., 1984. Breeding, selection and the genetics of salt. In *Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement*, pp 231-254. Ed. R.C. Staples. John Wiley, New York.
- Sharma, L.C., S. Saxena, R.K. Jain, J. Parasad, B.N. Reddy, 1983. Survey for nodulation in gram in Rajasthan. *International Chickpea Newsletter* 9: 24-25.
- Somasegaran, P., H.J. Hoben, V. Gurgun, 1988. Effects of inoculation rate, rhizobial competition, and nitrogen fixation in chickpea. *Agron. J.* 80: 68-73.
- Sprent, J.I., 1984. Effects of drought and salinity on heterotrophic nitrogen fixing bacteria and on infection of legumes by rhizobia. In *Advances in Nitrogen Fixation Research*, pp 295-302. Eds. C. Veeger and W.E. Newton. Martinus Nijhoff, The Hague.
- Storey, R., R.G. Wyn Jones, 1975. Betaine and choline levels in plants and their relationships to NaCl stress. *Plant. Sci. Letts.* 4: 161-168.
- Tang, C., A. Robson, 1993. pH above 6.0 reduces nodulation in *Lupinus* species. *Plant and Soil* 152: 269-276.
- Trinick M.J., 1982. *Biology*. In *Nitrogen Fixation Vol. 2: Rhizobium*, pp 76-146. Ed. W.J. Broughton. Clarence Press, Oxford.
- Trinick, M.J., 1982. *Biology*. In *Nitrogen Fixation, Vol. 2: Rhizobium*, pp 76-146. Ed. W.J. Broughton, Clarence Press, Oxford.
- Tsal, S.M., R. Bonetti, S.M. Agbala, R. Rosetto, 1993. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. *Plant and soil* 152: 131-138.
- Vouillot, M.O., P. Huet, P. Boissard, 1998. Early detection of N deficiency in a wheat crop using physiological and radiometric methods. *Agronomie* 18: 117-130.
- Waughman, E.J., 1977. The effect of temperature on nitrogenase activity. *Journal of Experimental Botany* 28: 949-960.
- Weimberg, R., 1975. Effect of growth in highly salinized media on the enzymes of the photosynthetic apparatus in pea seedlings. *Plant Physiol.* 56: 8-12.
- Westermann, D.T., G.E. Kleinkopf, L.K. Porter, G.E. Leggett, 1981. Nitrogen sources for bean seed production. *Agron. J.* 73: 660-664.
- Worrall, V.S., R.J. Roughley, 1976. The effect of moisture stress on infection of *Trifolium subterraneum* L. by *Rhizobium trifolii*. *J. Exp. Bot.* 27: 1233-1241.
- Yadav, N.K., S.R. Vyas, 1971. Response of root-nodule rhizobia to saline, alkaline and acid conditions. *Indian J. Agric. Sci.* 41: 875-881.
- Yousef, A.N., J.I. Sprent, 1983. Effects of NaCl on growth, nitrogen incorporation and chemical composition of inoculated and NH₄NO₃ fertilized *Vicia faba* L. plants. *J. Exp. Bot.* 34: 941-950.
- Zahran, H.H., 1991. Conditions for successful *Rhizobium*-legume symbiosis in saline environments. *Biol. Fertil. Soils* 12: 73-80.