

Su Ürünleri Dergisi J.Fish.Aquat.Sci.	Cilt No.18/1 Vol.18/1	Özel Sayı Suppl.	211 - 218 211 - 218	İzmir – Bornova 2001 İzmir – Bornova 2001
--	--------------------------	---------------------	------------------------	--

Çeltik Tarlalarından İzole Edilen Siyanobakterilerin Çeltik Bitkisinin Gelişmesi Üzerine Etkileri

Gönül Dönmez¹ Süleyman Taban² Fatma Varol² Sedat Dönmez³

¹ Ankara Üniv., Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06100, Beşevler, Ankara, Türkiye.

² Ankara Üniv., Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara, Türkiye.

³ Ankara Üniv., Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara, Türkiye.

Abstract : *The effect of Cyanobacteria isolated from Rice Field on Rice Growth.* In this study, 17 cyanobacteria strain were isolated from some water and soil samples of Rice Field of Çorum district. Seven of these cyanobacteria isolates were identified as *Anabaena spp.*, 5 of them as *Nostoc spp.*, 3 of them as *Gloeocapsa spp.* and 2 of them as *Calothrix spp.* Nitrogenase activity of these isolates were determined by acetilen reduction test (as activity/ dry weight) and two of the cyanobacteria (*Anabaena sp.* and *Nostoc sp.*) showed high nitrogenase activity and good growth in BG 11 medium. The effect of these two cyanobacteria on the Rice Plant (*Oryza sativa* L.Cu: Osmançık-97) were searched in green house studies. As a result, one *Anabaena sp.* was shown to increase dry weight, nitrogen ratio and nitrogen uptake of the Rice plant.

Key Words : Cyanobacteria, isolation, nitrogenase activity, Rice

Özet : Çalışmada, Çorum Bölgesindeki çeltik tarlalarından alınan toprak ve su örneklerinden toplam 17 adet siyanobakteri suşu izole edilmiştir. Bu izolatlar teşhis edildiğinde 7 adedinin *Anabaena sp.*, 5 adedinin *Nostoc sp.*, 2 adedinin *Calothrix sp.* ve 3 adedinin de *Gloeocapsa sp.* olduğu tesbit edilmiştir. İzole edilen 4 cinse ait suşların kuru ağırlıkları başına gösterdikleri nitrojenaz enzim aktiviteleri asetilen redüksiyon testiyle belirlenmiştir. Bunlar arasında iki tür, *Anabaena sp.*, *Nostoc sp.*, BG 11 sıvı besiyerinde fazla miktarda gelişip yüksek nitrojenaz enzim aktivitesi göstermiştir. Bu türlerin, çeltik (*Oryza sativa* L.Cu: Osmançık-97) bitkisi ile serada kurulan denemelerde, bitkinin gelişmesi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Denemeler sonucunda *Anabaena sp* suşunun diğerine göre daha fazla bitkinin kuru madde miktarını, azot kapsamını ve azot alımını arttırdığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Siyanobakteri, izolasyon, nitrojenaz aktivitesi, Çeltik

Bu çalışma TÜBİTAK-TOGTAĞ/TARP(2426) ve A.Ü. Araştırma Fonu(2000.07.05.002) tarafından desteklenmiştir.

Giriş

Atmosferdeki serbest azotun mikroorganizmalar aracılığı ile amonyum tuzlarına dönüşmesi olayı azot fiksasyonu olarak bilinmekte, bu işlem simbiyotik ve serbest yaşayan mikroorganizmalar yoluyla gerçekleştirilmektedir. Toprak ve sularda serbest yaşayan çeşitli mikroorganizmalar tarafından fikse edilen azotun yılda 50-100 kg/hektar olduğu saptanmıştır. Bunlar arasında önemli bir yer tutan siyanobakterlerin fikse ettikleri azot miktarının ise yılda 28 kg / hektar olduğu bildirilmiştir (Metting, 1990).

Günümüzde Hindistan'da yaklaşık olarak 2 milyon, Burma'da 40 bin, Çin'de 2 bin ve Amerikada yaklaşık bin hektar tarım arazisinde siyanobakterler gübre olarak kullanılmaktadır. Hindistan'da *Aulosira* sp., *Tolypothrix* sp., *Scytonema* sp., *Nostoc* sp., *Anabaena* sp. ve *Plectonema* sp. türlerinin üretilip çiftçilere gübre olarak dağıtıldığı açıklanmıştır (Metting, 1990).

Azot fikse eden siyanobakterlerin yeşil gübre olarak toprak verimliliğinin arttırılmasında kullanımı ile ilgili pek çok çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda çeşitli çevresel faktörlerin azot fiksasyonuna etkileri araştırılmıştır.

Çeltik verimi, Japonya'dan sonra (6.770 kg/Ha) en yüksek olan İspanya'da (6.185 kg/Ha) çeltik tarımı yapılan bölgelerden alınan toprak ve su örneklerindeki Siyanobakter yoğunlukları saptanarak ortamdaki fosfor ve azotun azot fiksasyonunu olumsuz yönde etkilediği açıklanmıştır (Quesada ve ark., 1997). Toprakta bulunan azot fikse eden Siyanobakterlerin sayısı ve nitrojenaz enzim aktivitesi arasında önemli bir korelasyon olduğu belirlenerek, farklı amonyum konsantrasyonlarının nitrojenaz

enzim aktivitesine etkileri araştırılmıştır (Valiente ve ark., 1997). İmmobilize Siyanobakterler kullanılarak topraklardaki azot fiksasyon oranlarının arttırılması yönünde çalışmalar da yapılmıştır (Kannaiyan ve ark., 1997). Çeltik tarımı yapılan bölgelerdeki Siyanobakter dağılımına, toprak ve su özelliklerinin etkili olduğu belirlenmiştir (Quesada ve Valiente, 1996).

Çeltik tarlalarından izole edilen *Calothrix* D764 suşu ile yapılan denemelerde ışık şiddetinin ve aydınlık karanlık peryotların nitrojenaz enzim aktivitesine etkisi araştırılmıştır (İslam ve Whitton, 1992). Benzer bir çalışmada, İspanya çeltik tarlalarından izole edilen *Nostoc punctiforme*, *Anabaena variabilis*, *Calothrix marchica* ve *Nodularia spumigena* türlerinin nitrojenaz enzim aktivitesine pH, ışık şiddeti ve amonyumun etkisi araştırıldığında, alkali pH'da ortamdaki amonyum miktarındaki artışın nitrojenaz enzim aktivitesini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (Prosperi ve ark., 1993).

Aulosira fertilissimo, *Nostoc muscorum*, *Nostoc spp.* ve *Anabaena* türlerinden oluşan karışımın topraktaki nitrojenaz aktivitesini yaklaşık % 200 oranında arttırarak, çeltik bitkisinin gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir (Ghosh ve Saha, 1993). Yeşil gübre (*Sesbania aculiata*), organik ürün atıkları (yerfıstığı, mısır, hardal) ve inorganik gübrenin çeltik verimine etkisinin incelendiği bir çalışmada, hem organik hem de inorganik gübrenin beraberce kullanıldığında verim artışının görüldüğü ayrıca yeşil gübrenin topraktaki azot miktarını da arttırdığı saptanmıştır (Kumar ve ark., 1999).

Çeltik hastalıklarıyla mücadelede kullanılan pestisitlerin Siyanobakterler üzerindeki olumsuz etkilerini önlemek

Çeltik Tarlalarından İzole Edilen Siyanobakterilerin Çeltik Bitkisinin Gelişimi Üzerine Etkileri

amacıyla, pestisitlere dirençli mutant Siyanobakterler elde edilmiştir (Thomas ve ark., 1992). Bir başka çalışmada ise, *Anabaena siamensis* suşunun ortama amonyum veren mutantları izole edilerek, mutantların atasal tipten daha fazla nitrojenaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Thomas ve ark., 1991).

Çeltik ekim alanı en fazla olan Hindistan'da gübre olarak kullanılan Siyanobakterlerin çeltik verimini önemli ölçüde arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Mishra ve Sharma, 1997; Sharma ve Jain, 1997; Goyal ve Roy, 1996; Chitriv ve ark., 1995).

Ülkemizde bugün 40 000 hektarda ve Güneydoğu Anadolu Projesinin devreye girmesiyle de yaklaşık 20 000 hektarlık tarım arazisinde çeltik üretimi yapılacak olmasına karşın, çeltik alanlarındaki azot fiksasyonu üzerinde her hangibir çalışma yapılmamıştır (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 1995).

Bu çalışma, çeltik tarımında maliyeti oldukça arttıran azotlu gübre kullanımına gerek kalmadan, gübre üretiminde starter olarak kullanılabilen özellikte Siyanobakter türlerini izole etmek ve bu türlerin çeltik bitkisinin gelişimine etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Gübre üretim çalışmalarında, o ekosisteme yabancı türler yerine o bölgeden izole edilen türlerin, daha etkili olacağı da düşünülmektedir.

Materyal ve Yöntem

İzolasyon ve İdentifikasyon: Çeltik bitkisinin gelişme süresi boyunca (Mayıs, Haziran, Temmuz 1999) Çorum

bölgesindeki çeltik tarlalarından alınan toprak ve su örnekleri, gerekli dilüsyonlar yapıldıktan sonra azot içermeyen BG 11 besiyerine ekilmiştir (Rippka, 1988a). Sürekli ışık altında (1500 lüks) ve $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de kültürlerin inkübasyonu sonrası gelişen tek koloniler alınarak tekrar taze besiyerlerine aktarılıp saflaştırılmıştır. Filamentli izolatlar yumuşak agarlı BG 11 besiyerinde yüzeyde oluşturulan paralel çizgilerde (steril lamelle besiyeri yüzeyi çizilmiştir) ışığa doğru filamentlerin hareket ettirilmesiyle sürekli pasajlar yapılarak saflaştırılmıştır. İzolatlar sıvı BG11 besiyerinde geliştirilerek kültürde oluşturduğu morfolojik yapılarına göre teşhis edilmiştir (Rippka, 1988b; Bergman ve ark., 1997).

Enzim aktivitelerinin belirlenmesi: Siyanobakteri suşları, BG11 sıvı besiyerlerinde izolasyon işlemindeki şartlarda 20 gün boyunca geliştirilmiştir. Bu süre sonunda suşların oluşturdukları hücre kütlesi kuru ağırlığın ölçümüyle, nitrojenaz enzim aktivitesi ise asetilen redüksiyon testiyle belirlenmiştir. Enzim aktivitesinin tayini için kültürler ağzı lastik tıpa ile kapalı steril şişelere aktarılmıştır. Şişelere asetilen gazı verildikten sonra belirli aralıklarla örnekler alınarak üretilen etilen miktarı gaz kromatografisi ile belirlenmiştir (Henriksson ve ark., 1975; Burlage ve ark., 1998).

Sera denemesi: Evlik köyü (Osmancık-Çorum) çeltik ekim alanlarından verimlilik ilkesine göre alınan toprak örneğinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1 de toplu olarak verilmiştir.

Tablo 1. Denemede kullanılan toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellikler		
Tekstür Sınıfı		Tın
pH	(1/2.5 toprak /su)	8.30
	Saturasyon çamurunda	7.81
Organik Madde, %		0.93
CaCO ₃ , %		5.20
EC. mmhos/cm, saturasyon çamuru		1.38
Tuz, %		0.04
Kasyon değişim kapasitesi, me 100g ⁻¹		18.59
Toplam Azot (N). %		0.08
Değişebilir Potasyum, mg kg ⁻¹		171.30
Değişebilir Sodyum, mg kg ⁻¹		321.00
Bitkiye Yarayışlı Fosfor, mg kg ⁻¹		12.50

Tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülen denemede saksılara mutlak kuru toprak ilkesine göre 2000 g toprak konulmuştur. Ekimden önce tüm saksılara temel gübreleme olarak 40 mg P kg⁻¹ ve 50 mg K kg⁻¹ KH₂PO₄ ten çözelti şeklinde verilmiştir. Denemede azot ve siyanobakteri aşağıdaki plana göre uygulanmıştır.

- Tam kontrol (-N, +P, +K)
Kontrol (+N, 200 mg kg⁻¹, +P, +K)
Siyanobakteri 1 (2 g *Nostoc sp.*, -N, +P, +K)
Siyanobakteri 2 (4 g *Nostoc sp.*, -N, +P, +K)
Siyanobakteri 3 (6 g *Nostoc sp.*, -N, +P, +K)
Siyanobakteri 4 (2 g *Nostoc sp.*, +N 50 mg kg⁻¹, +P, +K)
Siyanobakteri 5 (2 g *Anabaena sp.*, -N, +P, +K)
Siyanobakteri 6 (4 g *Anabaena sp.*, -N, +P, +K)

Siyanobakteri 7 (6 g *Anabaena sp.*, -N, +P, +K)

Siyanobakteri 8 (2 g *Anabaena sp.*, +N 50 mg kg⁻¹, +P, +K)

Saksılara bir gece önceden ıslatılan çeltik (*Oryza sativa* L. Cv:Osmancık-97) tohumlarından 12 adet ekilmiş ve çimlenmeden sonra her saksıda 8 bitki kalacak şekilde seyreltme yapılmıştır. Seyreltme işleminden sonra saksılar göllendirilmiş ve saksılardaki su düzeyi korunmuştur.

Seyreltme işleminden sonra siyanobakteri uygulanacak saksılara, *Nostoc* ve *Anabaena* türleri yaş ağırlık esasına göre tartılmış ve saf su ile birlikte saksılara verilmiştir. Gelişme süresince periyodik olarak fenolojik gözlemler yapılarak bitkilerin gelişme durumu izlenmiştir.

Bitkiler 7 haftalık gelişme sonunda toprak yüzeyinden kesilmek suretiyle hasat

Çeltik Tarlalarından İzole Edilen Siyanobakterilerin Çeltik Bitkisinin Gelişimi Üzerine Etkileri

edilmiş, yıkanmış, kurutulmuş ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Kuru yakma yöntemi ile yakılan bitki örneklerinde toplam azot Kjeldahl yöntemiyle (Kacar, 1972), toplam fosfor vanadomolibdo fosforik sarı renk yöntemiyle (Kitson ve Mellon, 1944) ve potasyum Fleymfotometrik yöntemle (Kacar, 1972) belirlenmiştir. Denemden elde edilen sonuçların varyans analizleri MINITAB paket programıyla, LSD testi ise MSTAT paket programıyla yapılmıştır.

Bulgular

Çorum bölgesindeki çeltik tarlalarından alınan toprak ve su örneklerinden, toplam 17 adet Siyanobakter izole edilmiştir. Bu izolatlar teşhis edildiğinde 7 adedinin *Anabaena sp.* 5 adedinin *Nostoc sp.* 2

adedinin *Calothrix sp.* ve 3 adedinin de *Gloeocapsa sp.* olduğu tesbit edilmiştir. Saflaştırılan 4 cinse ait toplam 17 suş BG 11 besiyerinde geliştirilerek, suşların kuru ağırlıkları başına ürettikleri nitrojenaz aktiviteleri belirlenmiştir. Genelde kuru ağırlığı fazla olan suşların nitrojenaz aktiviteleri de fazla bulunmuştur. Bazı suşlarda ise yapılan tekrarlar rağmen bunun tersi sonuçlar alınmıştır. Kuru ağırlıkları fazla olmasına karşın nitrojenaz aktiviteleri düşük bulunmuştur. Sonuçta sera denemelerinde kullanılmak üzere, kuru madde miktarı ve nitrojenaz aktivitesi fazla olan, iki siyanobakteri suşu (5 numaralı *Anabaena sp.* ve 12 numaralı *Nostoc sp.*) seçilmiştir (Tablo 2). Bu iki tür sera denemeleri için bol miktarda üretilmiştir.

Tablo 2. İzolatların 1 litre BG 11 besiyerinde oluşturdukları kuru madde miktarları ve nitrojenaz enzim aktiviteleri

İzolatlar	Kuru ağırlık g/l	Nitrojenaz aktivite nMol C ₂ H ₂ h ⁻¹	Nitrojenaz aktivitesi / kuru ağırlık
1- <i>Anabaena sp.</i>	1.4	1500	1071
2- <i>Anabaena sp.</i>	1.6	2400	1500
3- <i>Anabaena sp.</i>	1.2	900	750
4- <i>Anabaena sp.</i>	1.5	2500	1666
5- <i>Anabaena sp.</i>	1.8	4900	2722
6- <i>Anabaena sp.</i>	1.2	800	666
7- <i>Anabaena sp.</i>	1.4	1700	1214
8- <i>Nostoc sp.</i>	1.5	2800	1866
9- <i>Nostoc sp.</i>	1.3	1600	1230
10- <i>Nostoc sp.</i>	1.7	3500	2058
11- <i>Nostoc sp.</i>	1.1	400	363
12- <i>Nostoc sp.</i>	1.6	3700	2312
13- <i>Calothrix sp.</i>	1.2	1200	1000
14- <i>Calothrix sp.</i>	1.0	700	700
15- <i>Gloeocapsa sp.</i>	0.8	300	375
16- <i>Gloeocapsa sp.</i>	0.9	800	888
17- <i>Gloeocapsa sp.</i>	0.8	900	1125

Çeltik ekimi yapılan alandan alınan denemede, çeltik bitkisi siyanobakteri ve toprak örneği ile serada kurulan azot uygulamalarına farklı tepkiler

göstermiştir (Tablo 3). Yaş ağırlık esasına göre artan düzeylerde uygulanan siyanobakterilerin çeltik bitkisinin kuru madde miktarı üzerine etkileri önemli ($p<0.001$) bulunmuştur. En fazla kuru madde toprağa 200 mg N kg^{-1} uygulamasında elde edilmiş ve bunu $2 \text{ g Anabaena sp.} + 50 \text{ mg N kg}^{-1}$ uygulaması takip etmiştir.

Çeltik bitkisinin azot kapsamları ve azot alımları üzerine siyanobakteri uygulaması önemli ($P<0.001$) etkide bulunmuş ve bitkinin azot kapsamını ve alımını azot uygulanmayan bitkilere göre önemli miktarda artırmıştır.

Tablo 3. Siyanobakteri uygulamasının çeltik bitkisinin kuru madde miktarı, azot kapsamı ve azot alımı üzerine etkileri

Uygulamalar	Kuru Madde, g saksı ⁻¹		Azot kapsamı, mg kg ⁻¹		Azot alımı, mg bitki ⁻¹	
	<i>Nostoc sp.</i>	<i>Anabaena sp.</i>	<i>Nostoc sp.</i>	<i>Anabaena sp.</i>	<i>Nostoc sp.</i>	<i>Anabaena sp.</i>
Tam kontrol (- N, 40 mg P kg ⁻¹ , 50 mg K kg ⁻¹)	0.72		1.26		9.12	
Kontrol(200 mg kg ⁻¹ , 40 mg P kg ⁻¹ , 50 mg K kg ⁻¹)	1.56		3.56		55.63	
2 g siyanobakteri	0.71	0.64	1.32	1.41	9.44	9.07
4 g siyanobakteri	0.69	0.45	1.15	1.54	10.03	7.01
6 g siyanobakteri	0.79	0.78	2.15	1.84	16.87	14.32
2 g siyanobakteri + 50 mg kg ⁻¹ azot	0.41	1.15	3.69	3.86	16.50	44.42
Uygulamalar (U)	**		Öd	***		
Siyanobakteri (S)	***		***	***		
U x S interaksyonu	***		***	***		
LSD _{int}	0.21		9.13		6.46	

** $P<0.05$, *** $P<0.001$, öd: önemli değil

Tartışma ve Sonuç

Birim alanda en yüksek Gayri Safi Hasıla getiren ürünlerden biri olan çeltik, 40 bin hektar ekiliş ve 257 bin ton üretimi ile 22 bin çiftçi ailesi ve çok sayıda mevsimlik işçilerin geçim kaynağını teşkil etmektedir. Ekonomik değeri yüksek bir bitki olan çeltiğin Türkiye hububat üretimi içindeki payı %1.3'tür. Türkiye'nin 34 ilinde çeltik tarımı yapılmakta olup, Güneydoğu Anadolu Projesinin devreye girmesiyle pirinç üretiminde % 50 oranında bir artışın sağlanacağı düşünülmektedir (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 1995).

Birçok ülkede, azot fiksasyonu yukarıda belirtildiği gibi pek çok açıdan incelenmesine karşın, ülkemizde bu konu baklagil ekim alanlarında *Rhizobium* türlerinin kullanımı olarak ele alınmış ve bu konuyla ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Ancak azot fikse eden siyanobakterilerin gübre olarak kullanımıyla ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışma sonucu elde edilen verilerin, ülkemizde yeşil gübre üretim çalışmalarına başlangıç oluşturacağı düşünülmektedir. Çalışmada, *Anabaena*

Çeltik Tarlalarından İzole Edilen Siyanobakterilerin Çeltik Bitkisinin Gelişimi Üzerine Etkileri

sp. sera denemelerinde görüldüğü gibi, edilmiştir. Daha sonra yapılacak yeşil gübre üretiminde kullanım çalışmaları bu türün optimum geliştiği ve potansiyeline sahip bir tür olarak izole azot fikse ettiği şartlar belirlenecektir.

Kaynakça

- Bergman, B., J. R. Gallon, A. N. Rai and L. J. Stal. 1997. N₂ fixation by non heterocystous cyanobacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 19: 139-185.
- Burlage, R. S., R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey and G. Saylor. 1998, *Techniques in Microbial Ecology*. Oxford University Press, Inc.
- Chitriv, A. J., G. M. Borkar and V. W. Tarsekar. 1995. Nitrogen fixation with blue green algae and fertility of paddy soil. *J. Soil and Crops.* 5: 169-171.
- Ghosh, T. K., K. C. Saha. 1993. Effects of inoculation with N₂-fixing cyanobacteria on the nitrogenase activity in soil and rhizosphere of wetland rice (*Oryza sativa* L.). *Biol. Fertil. Soils.* 16:16-20.
- Goyal, S. K., N. K. Roy. 1996. Sustainability in rice cultivation through algal biofertilizer. *Agrochemicals and Sustainable Agriculture.* 161-172.
- Henriksson, E., L. E. Henriksson and E. J. Dasilva. 1975. A comparison of nitrogen fixation by algae of temperate and tropical soils. p.36 - 49. *In* W. D. P. Stewart (eds.), *Nitrogen Fixation by Free-Living Microorganisms.* vol 6 Cambridge University Press.
- Islam, R. M., B. A. Whitton. 1992. Cell composition and nitrogen fixation by the deepwater rice-field cyanobacterium (blue-green alga) *Calothrix* D764. *Microbios.* 69: 77-82.
- Kacar, B., 1972. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri.II. Bitki Analizleri. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No, 453, Uygulama Klavuzu No, 155. A.Ü.Basımevi, Ankara.
- Kannaiyan, S., S. J. Aruna, S. P. M. Kumari and D. O. Hall. 1997. Immobilized Cyanobacteria as a biofertilizer for rice crops. *J. Appl. Phycol.* 9:167-174.
- Kitson, R.E., M.G.Mellon, 1944. Colorimetric determination of phosphorus as molybdo-vanadophosphoric acid. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 16: 379-383.
- Kumar, V., B. C. Ghosh and R. Bhat. 1999. Recycling of crop wastes and green manure and their impact on yield and nutrient uptake of wetland rice. *J. Agric. Sci.* 132: 149-154.
- Metting, B. 1990. Microalgae applications in agriculture. *Dev. Ind. Microbiol.* 31:265-270.

- Mishra, V. K., R. B. Sharma. 1997. Effect of fertilizers alone and in combination with manure on physical properties and productivity of entisol under rice-based cropping systems. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 45: 84-88.
- Prosperi, C., C. Luna and E. F. Valiente. 1993. Influence of pH, light intensity and oxygen on the short-term effect of ammonium on nitrogenase activity of cyanobacteria from rice fields. *Environ. Exper. Botany.* 33:545-552.
- Quesada, A., E. F. Valiente. 1996. Relationship between abundance of N₂ fixing cyanobacteria and environmental features of Spanish rice fields. *Microbial Ecology.* 32:59-71.
- Quesada, A., F. Leganes and E. F. Valiente. 1997. Environmental factors controlling N₂ fixation in mediterranean rice fields. *Microbial Ecology.* 34:39-48.
- Rippka, R. 1988a. Isolation and Purification of cyanobacteria. *Methods Enzymol.* 167:3-27.
- Rippka, R. 1988b. Recognition and identification of cyanobacteria *Methods Enzymol.* 167:28-67.
- Sharma, R. S., K. K. Jain. 1997. Agronomic research advances in rice-wheat system in Mahya Pradesh. *Adv. Agric. Res. India.* 7: 139-157.
- Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. 1995. Türkiye Çeltik Üretimini Geliştirme ve Yayım Projesi. Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Bitkisel Üretim Geliştirme Daire Başkanlığı. Ankara
- Thomas, S. P., A. Zaritsky and S. Boussiba. 1991. Ammonium excretion by a mutant of the nitrogen fixing cyanobacterium *Anabaena siamensis*. *Bioresource Technol.* 38: 161-166.
- Thomas, S. P., R. Kamalaveni and S. Shanmugasundaram. 1992. Agrochemical resistant mutants of nitrogen fixing cyanobacterium *Tolypothrix tenuis* as nitrogen fertilizer for rice. *Biotecnol. Letters.* 969-974.
- Valiente, E.F., A. Quesada, C. Prosperi, M. Nieva, F. Leganes and A. Ucha. 1997. Short and long term effects of ammonium on photodependent nitrogen fixation in wetland rice fields of Spain. *Biology and Fertility of Soils.* 24:353-357.