



**BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ HALOFİLİK
BAKTERİLERİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU
VE BUĞDAY TARIMINDA KULLANILMA
POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ**

Alev SEZEN

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Bilim Dalı

Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

2017

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ HALOFİLİK
BAKTERİLERİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE
BUĞDAY TARIMINDA KULLANILMA POTANSİYELLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Alev SEZEN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Botanik Bilim Dalı

ERZURUM
2017

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

**BİTKİ BÜYÜMESİNE TEŞVİK EDİCİ HALOFİLİK BAKTERİLERİN İZOLASYONU,
KARAKTERİZASYONU VE BUĞDAY TARIMINDA KULLANILMA
POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR danışmanlığında, Alev SEZEN tarafından hazırlanan bu çalışma, 12/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Botanik Bilim Dalı'nda doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI

İmza :

Üye : Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 16.02/2017 tarih ve ...7...../..26..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP, projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2015/112

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ HALOFİLİK RİZOBAKTERİLERİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE BUĞDAY TARIMINDA KULLANILMA POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Alev SEZEN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

Bu araştırmada Erzurum ve çevresindeki tuz içeriği yüksek habitatlardan, toplam 257 adet halofilik rizobakteri izole edilmiş ve bu izolatların bitki büyümesini teşvik edici (PGP) çeşitli özellikleri (azot fikse edebilme, fosfat çözebilme, ACC deaminaz, IAA ve siderefor üretebilme) belirlenmiştir. PGP özellikleri bakımından pozitif bulunan 32 adet bakteri tuzlu ve tuzsuz ortamda saksı deneylerine alınmış (sera şartlarında) ve buğday bitkisinin büyüme parametreleri (kök ve gövde boyu, yaş ve kuru ağırlık, protein, klorofil ve karotenoid içeriği) üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, ASD7, ASD8, ASD12, ASD18, ASD19, ASD25, ASD31, ASD36, ASD38, ASD45, ASD48, ASD54, ASD55, ASD58, ASD59, ASD65, ASD68, ASD69 kodlu izolatlar ve ASD-55-57, ASD-8-9, ASD-8-55, ASD-8-9-55, ASD-9-55, ASD-31-55-57 kombinasyonları kök boyunda %1,39-62,53 arasında verim artışı, gövde boyunda %3,50-54,97; yaş ağırlık üzerinde %6,38-78,57; kuru ağırlık üzerinde %2,17-35; çözülmüş protein miktarı üzerinde %0,82-16,55; toplam klorofil miktarı üzerinde %0,85-120,22 ve toplam karotenoid miktarı üzerinde ise %4,70-120,13 oranında artışla başarılı izolatlar olarak değerlendirilmiştir. Bu izolatlar 16S rRNA analizi ile; *Bacillus pumilus* ASD7, *Bacillus pumilus* ASD8, *Staphylococcus sciuri* ASD12, *Bacillus licheniformis* ASD18, *Bacillus cereus* ASD19, *Bacillus pumilus* ASD25, *Bacillus pumilus* ASD31, *Staphylococcus sciuri* ASD36, *Staphylococcus saprophyticus* ASD38, *Staphylococcus saprophyticus* ASD45, *Leucobacter iarius* ASD48, *Sphingomonas echinoides* ASD54, *Bacillus pumilus* ASD55, *Stenotrophomonas maltophilia* ASD58, *Bacillus cereus* ASD59, *Bacillus atrophaeus* ASD65, *Bacillus pumilus* ASD68 and *Bacillus pumilus* ASD69 türleri olarak tanımlanmıştır.

2017, 206 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bitki gelişimini teşvik edici bakteriler, tuzluluk, tuz stresi, halofilik/halotolerant bakteri, buğday.

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

ISOLATION IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PLANT GROWTH PROMOTING HALOPHILIC RHIZOBACTERIA AND DETERMINATION OF THEIR POTENTIALS FOR USE FOR WHEAT FARMING

Alev SEZEN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Department of Botany Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

In this study, totally 257 halophilic rhizobacteria were isolated from the habitats those have high salt content in the Erzurum and vicinity, Turkey. Various plant growth promoting (PGP) traits (nitrogen fixation capacity; phosphate solubilization capability; ACC deaminase, IAA and siderophore production) were determined. Thirty-two isolates those are found to be positive in PGP traits were tested in pots containing soils with and without salt in greenhouse conditions and growth parameters of wheat plant (root and shoot length; wet and dry weight, protein, chlorophyll and carotenoid contents) were determined. As a result ASD7, ASD8, ASD12, ASD18, ASD19, ASD25, ASD31, ASD36, ASD38, ASD45, ASD48, ASD55, ASD58, ASD59, ASD65, ASD68, ASD69 coded isolates and ASD-55-57, ASD-8-9, ASD-8-55, ASD-9-55, ASD-31-55-59 coded combinations were evaluated as successful inoculants. These selected isolates provide increase 1,39-62,53 %; 3,50-54,97%; 6,38-78,57%; %2,17-35%; 0,82-16,55% ; %0,85-120,22 % and 4,70-120,13 % on the root length; shoot length; wet weight; dry weight; dissolved protein, total chlorophyll and carotenoid contents, respectively. By using 16S rRNA analysis, these successful isolates were identified as species of; *Bacillus pumilus* ASD7, *Bacillus pumilus* ASD8, *Staphylococcus sciuri* ASD12, *Bacillus licheniformis* ASD18, *Bacillus cereus* ASD19, *Bacillus pumilus* ASD25, *Bacillus pumilus* ASD31, *Staphylococcus sciuri* ASD36, *Staphylococcus saprophyticus* ASD38, *Staphylococcus saprophyticus* ASD45, *Leucobacter iarius* ASD48, *Sphingomonas echinoides* ASD54, *Bacillus pumilus* ASD55, *Stenotrophomonas maltophilia* ASD58, *Bacillus cereus* ASD59, *Bacillus atrophaeus* ASD65, *Bacillus pumilus* ASD68 and *Bacillus pumilus*.

2017, 206 pages

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria, salinity, salinity stress, halophilic/halotolerant bacteria, wheat

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı tarafından “Halofilik ve Bitki Büyümesini Teşvik Edici Bakteriyal İnokulantların Buğday Tarımında Biyogübre Olarak Kullanılabilme Potansiyellerinin Belirlenmesi” adlı BAP-2015/112 nolu projesi olarak desteklenmiş olup, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

Sadece bu teze başlamamda, yazmamda ve bitirmemde değil en önemlisi hayatımda bana omuz veren, büyük değere sahip olan insanların emeğine sonsuz kere teşekkür borçluyum...

Öncelikle, çalışmalarımın en önemli emeğin sahibi, engin bilgilerinden faydalanmamı sağlayan, insanlığını ve kişiliğini örnek aldığım, gerek bilimde ilerlemeye çalıştığım bu yolda gerekse hayat yolunda yeri geldiğinde hocam olarak, yeri geldiğinde ise ailemden biri olarak düşünmeden, karşılık beklemeden bana her türlü desteğini veren; onu tanıma ve öğrencisi olabilme şerefine nail olabildiğim saygı değer insan, gerçek anlamda her şeyin en değerlisine layık olan ve hayatımdaki en değerli insanlardan biri olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR’a, hakkını asla ödeyemeyecek olsam da tüm emeği, ilgisi ve özverisi için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam esnasında, çalışmamın deneysel prosedürü ile ilgili yapıcı eleştiriler ve öneriler için tez izleme komitesi üyelerim Sayın Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI’ya ve Sayın Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN’a; tez jürimde yer alarak bana bilimsel katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ’ye ve Sayın Arzu Ala GÖRMEZ’e çok teşekkür ederim.

Hayatımda ve çalışmam sırasında manevi destek ve teşviklerini yadsıyamayacağım, her zaman yanımda olan, yüreği güzel, insanlıkları tartışılmaz dostlarım Sayın Dr. Deniz TİRYAKİ'ye, biyolog Gözdenur ÖZGÜRLER'e ve biyolog Ülfet ÇAKALOT'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardım ve destekleri ile yanımda olan arkadaşlarım Özlem GÜLMEZ'e ve Sayın Uzman Murat ÖZDAL'a teşekkür ederim.

Yüreğimin en aydınlık yanı olan, yaşama sebebim, ailem... Keşke yaşasaydı da bu günleri, verdiğim sözü tuttuğumu görseydi ve benimle gurur duysaydı da bu sayede gözlerindeki o mutluluğu görebilseydim dediğim, dürüstlüğü, insanlığını ve yüreğini bize emanet bırakan, kızı olma onuruna sahip olduğum, gerçek anlamda cennetlik olan hayatımdaki en değerlim, yüce insan babam Halit SEZEN'e, her türlü desteklerini benden esirgemeyen; yüreklerine ve var olmalarına sonsuz kere şükrettiğim ve nasıl teşekkür edeceğimi bilemediğim, bu anlamda diyecek söz bulamadığım, hiçbir şekilde haklarını ödeyemeyeceğim, her şeyim annem Nimet SEZEN'e, abladan da öte hayata tutunma sebebim olan ablalarım Gül SEZEN ZENGİN ve Demet SEZEN YANIK'a, abim olsa bu kadar olmaz dediğim enişteden de öte abim Ali ZENGİN'e, her zaman yanımda olarak iyi günde kötü günde diyerek birbirimize söz verdiğimiz, desteğini her an yüreğimde hissettiğim, hayatımın anlamı nişanım Özgün ERDOĞAN'a ve yaşları küçük ama yürekleri bir o kadar da büyük olan, manevi desteğim ve motivasyon kaynağım olan yeğenlerim Hayat Deren ZENGİN ve Deniz Boran ZENGİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. İyi ki varsınız ve iyi ki benim ailemsiniz; şükran, minnet ve yürek dolusu sevgiyle...

Alev SEZEN

Ocak, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Rizosfer ve Bakteriyel Çeşitlilik	2
1.2. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler [Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)].....	4
1.3. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakterilerin (PGPR) Doğrudan ve Dolaylı Etki Mekanizmaları	7
1.4. Bitki Büyümesini Teşvik Eden Doğrudan Mekanizmalar	9
1.4.1. Biyolojik azot fiksasyonu	9
1.4.2. Fosfat çözünürlüğü	11
1.4.3. Fitohormon üretimi.....	13
1.4.3.a. Oksinler	13
1.4.3.b. Giberellinler.....	15
1.4.3.c. Sitokininler	16
1.4.3.d. 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz	16
1.5. Bitki Büyümesini Teşvik Eden Dolaylı Mekanizmalar	18
1.5.1. Hidrojen siyanür (HCN) ve amonyak üretimi	19
1.5.2. Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi	20
1.6. Biyokontrol Ajanı Olarak PGPR (Mikrobiyal Antagonizma).....	21
1.6.1. Antagonistik aktivite olarak sideroforların, bakteriyosinlerin ve antibiyotiklerin üretimi	21
1.6.2. Siderefor üretimi.....	22
1.6.3. Antibiyotik üretimi	25
1.6.4. Bakteriyosinler	26

1.7. Biyogübre Olarak PGPR	26
1.8. Çok Yönlü Ajan Olarak PGPR Uygulamaları.....	28
1.9. Buğday.....	29
1.9.1. Türkiye’de ve Dünya’da buğdayın önemi	29
1.10. Araştırmanın Amacı	31
2. KAYNAK ÖZETLERİ	33
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	45
3.1. Materyal.....	45
3.1.1. Kimyasal maddeler ve besiyerleri	45
3.1.2. Çalışmada kullanılacak bakterilerin izolasyonu için toplanan bitki örnekleri.....	45
3.1.3. Tohumlar	46
3.1.4. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	46
3.2. Yöntem	46
3.2.1. Bitki kök ve rizosfer toprağı örneklerinin alınması ve tanı	46
3.2.2. Bitki kök ve rizosfer toprağı örneklerinden potansiyel bakteri strainlerinin izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması	47
3.2.3. Bitki büyümesini teşvik edici özelliğe sahip potansiyel bakterilerin seçimi (Screening)	48
3.2.3.a. Biyolojik azot fiksasyonu (Serbest azot fiksasyonu) yapabilen mikroorganizmaların kalitatif olarak belirlenmesi	48
3.2.3.b. Biyolojik azot fiksasyonu yapabilen mikroorganizmaların doğrulanması.....	48
3.2.3.c. İnorganik fosfatın (Tri kalsiyum fosfat) mikrobiyal yolla çözünmesinde etkili olan mikroorganizmaların kalitatif olarak belirlenmesi.....	49
3.2.3.d. Sıvı kültür ortamında mikroorganizmaların mikrobiyal yolla çözdüğü inorganik fosfat (Tri kalsiyum fosfat) miktarının ölçümü (Çözünen fosfat miktarının kantitatif tayini)	50
3.2.3.e. İndol-3-asetik asit (IAA) üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi	53
3.2.3.f. 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi	54
3.2.3.h. Siderefor üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi	57

3.2.4. Etkili izolatların tanısı ve karakterizasyonu	58
3.2.4.a. İzolatların morfolojik yapısının ve Gram özelliğinin incelenmesi	59
3.2.4.b. Moleküler yöntemler	59
3.2.5. İzolatların bitki büyümesini teşvik edici potansiyellerini belirlemek amacıyla yapılan saksı deneyleri.....	63
3.2.5.a. Tohumların sterilizasyonu	63
3.2.5.b. İnokulum (Aşı kültürü) hazırlanması	63
3.2.5.c. Saksıların hazırlanması.....	64
3.2.5.d. Denemenin kurulması.....	64
3.2.6. Bitkilerin kök ve gövde uzunlukları	65
3.2.7. Bitkilerin yaş ve kuru ağırlıkları	65
3.2.8. Bitki yaprak dokusunda çözülebilir protein miktarının tayini.....	66
3.2.9. Bitki yaprak dokusundaki klorofil ve karotenoid tayini.....	67
3.2.10. Sonuçların istatistiki olarak değerlendirilmesi	68
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	69
4.1. İzolatların Elde Edildiği Bitkiler	69
4.2. Çalışmada Kullanılacak Yüksek Tuz Konsantrasyonunda Gelişen İzolatların Seçimi	91
4.3. Potansiyel Etkili İzolatların Diğer Özellikleri.....	109
4.3.1. İzolatların inorganik fosfatı çözme potansiyelleri.....	109
4.4. İzolatların İndol-3-Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyelleri.....	111
4.5. İzolatların 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) Deaminaz Üretme Potansiyelleri	114
4.6. İzolatların Siderefor Üretme Potansiyelleri.....	115
4.7. Etkili İzolatların Tanısı ve Karakterizasyonu	117
4.7.1. Klasik ve biyokimyasal yöntemler	117
4.7.2. Moleküler yöntemler	118
4.7.2.a. İzolatların MIS analizi ile tanılanması.....	119
4.7.2.b. İzolatların 16S rRNA analizi sonuçları	119
4.7. Saksı Denemeleri Sonucu Elde Edilen Veriler.....	121
4.7.1. Tuzlu sulama yapılan saksı denemeleri sonuçları	125

4.7.1.a. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde kök ve gövde boyu üzerindeki etkileri	125
4.7.1.b. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri	131
4.7.1.c. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde çözünmüş protein miktarları üzerine etkileri.....	137
4.7.1.d. İzolatlarla inokülasyonun bitki klorofil ve karatenoid miktarı üzerine etkileri	140
4.7.2. Normal sulama yapılan saksı denemeleri sonuçları	147
4.7.2.a. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde kök ve gövde boyuna etkileri	147
4.7.2.b. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri	152
4.7.2.c. Saksı denemeleri sonucunda elde edilen bitki çözünmüş protein miktarları	157
4.7.2.d. Saksı denemeleri sonucunda elde edilen bitki klorofil ve karatoneid miktarları	159
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	166
5.1. İzolatların elde edildiği bitkiler ve elde edilen izolatlar hakkındaki değerlendirmeler.....	167
5.2. İzolatların PGP (Bitki büyümesini teşvik edici) özellikleri	172
5.3. Saksı deneylerinden elde edilen bulgular hakkındaki değerlendirmeler.....	177
KAYNAKLAR	188
ÖZGEÇMİŞ	207

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACC	1-Aminocyclopropone-1-Carboxylic acid (1-Aminosiklopropan-1Karboksilik Asit)
AMF	Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Arbüsküler Mikorizal Fungi)
BNF	Biological Nitrogen Fixation (Biyolojik Azot Fiksasyonu)
BPB	Bromphenol Blue
CAS	Chorome Azurol S
CFU	Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
DAPG	2,4-Diacetylphloroglucinol (2,4-Diastilfloroglusinol)
ddH ₂ O	Deiyonize distile su
dk	Dakika
DNF	Dinitrophenylhydrazine (Difenilhidrazin)
ePGPR	Extracellular Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Hücre Dışı Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler)
EPS	Exopolisaccharides (Eksopolisakkaritler)
g	Gram
g/l	Gram/litre
GA _s	Giberellic Acids (Giberellik Asitler)
HCN	Hidrojen Cyanide (Hidrojen Siyanid)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IAA	Indol-3-Acetic Acid (İndol-3-Asetik Asit)
IBA	Indol-3-Butyric Acid (İndol-3-Bütirik Asit)
ISR	Induced Systemic Resistance (İndüklenmiş Sistemik Direnç)
iPGPR	Intracellular Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Hücre İçi Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler)
LPS	Lipopolysacccharide (Lipopolisakkarit)
M	Molar
mg	Miligram
MIS	Microbial Identification System (Mikrobiyal Tanılama Sistemi)

ml	Mililitre
NBRIP	National Botanical Research Institute's Phosphate Growth Medium
nm	Nanometre
°C	Santigrat Derece
PGP	Plant Growth Promotion (Bitki Büyümesinin Teşviki)
PGPM	Plant Growth Promoting Microorganisms (Bitki Büyümesini Teşvik Edici Mikroorganizma)
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler)
PIPES	Piperazine-N,N'-bis (2-ethanesulfonic acid)
PSM _s	Phosphate Solubilizing Microorganisms (Fosfat Çözücü Mikroorganizmalar)
sn	Saniye
TSA	Tryptone Soy Agar
TSB	Tryptic soy Agar
µg	Mikro gram
%	Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bitki gelişimini uyaran kök bakterileri tarafından bitki gelişimine katkı sağlayan mekanizmalar	7
Şekil 1.2. Çeşitli stres koşullarına karşı PGPR tarafından kök ve sürgünde oluşturulan sistemik dayanıklılık	8
Şekil 1.3. Rizobakteriler tarafından toprak fosforunun çözünmesi.	12
Şekil 1.4. Bakteriyel ACC deaminaz enzimi ve etki mekanizması.	17
Şekil 1.5. a. <i>E. coli</i> 'de enterokelin yoluyla demir alımı b. Enterokelinin formülü.	24
Şekil 3.1. Bakteri inokulasyonu yapılmış NBRIP besiyeri içeren erlenler.....	51
Şekil 3.2. Tri kalsiyum fosfat miktarının ölçümünde kullanılan grafiği oluşturmak için hazırlanan çözeltiler.....	52
Şekil 3.3. IAA miktarının belirlenmesi amacıyla hazırlanan standart grafik	54
Şekil 3.4. ACC deaminaz için hazırlanan standart grafik.....	56
Şekil 3.5. Buğday tohumlarının aşı kültürüyle inokule edilerek ekime hazır hale getirilmesi	64
Şekil 3.6. Protein miktarının belirlenmesi amacıyla hazırlanan standart grafik	67
Şekil 4.1. Bitki örneklerinin toplandığı yapay tuz göletlerinin bulunduğu bölgeyi gösteren uydu görüntüleri.....	70
Şekil 4.2. Bitki örneklerinin toplandığı Dölgah (Yolboyu) bölgesini gösteren uydu görüntüleri	70
Şekil 4.3. Bitki örneklerinin toplandığı Sağır Tepe üzerindeki kaya tuzu bölgesini gösteren uydu görüntüleri.....	71
Şekil 4.4. Bazı izolatların azotsuz besiyerinde gösterdikleri gelişme.....	107
Şekil 4.5. Bazı izolatların yarı katı azotsuz besiyerinde oluşturdukları mavi renk ve yüzeye yakın bölgede oluşturdukları tabaka (ok işareti oluşturulan tabakayı işaret etmekte).....	108
Şekil 4.6. Kontrol grubu ve test edilen bazı bakteri izolatlarının NBRIP-BPB besiyerinde oluşturdukları renk değişimlerinin karşılaştırılması.....	111
Şekil 4.7. Bazı izolatların IAA üretme potansiyellerine göre Salkowski çözeltisi ile oluşturdukları pembe-kırmızı renk değişimlerinin karşılaştırılması	113

Şekil 4.8. Siderefor üretimi yapan bakterilerin CAS Blue Agarda oluşturdukları sarı-turuncu zonlar	117
Şekil 4.9. Saksı deneylerinde kullanılan 32 izolatin 16S rRNA analiz sonuçları.....	120
Şekil 4.10. İzolatlarla inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 5. gündeki görüntüleri	122
Şekil 4.11. İzolatlarla inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri	122
Şekil 4.12. Kontrol grubu ve ASD55 izolatu ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri	123
Şekil 4.13. Kontrol grubu ve ASD65 izolatu ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri	123
Şekil 4.14. Kontrol grubu ve ASD22 izolatu ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri	124
Şekil 4.15. Kontrol grubu ve ASD9 izolatu ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri	124
Şekil 4.16. Kontrol grubu ve ASD-9-55 izolatu ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri	125
Şekil 4.17. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl’li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde kök ve gövde boyu üzerine etkileri.....	127
Şekil 4.18. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl’li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri.....	133
Şekil 4.19. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl’li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde protein miktarı üzerindeki etkileri	138
Şekil 4.20. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl’li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarı	141
Şekil 4.21. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde kök ve gövde boyu üzerindeki etkileri.....	148
Şekil 4.22. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde yaş ve kuru ağırlık üzerindeki etkileri	153
Şekil 4.23. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde çözünmüş protein miktarı üzerindeki etkileri.....	158

Şekil 4.24. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde klorofil a,
klorofil b ve toplam klorofil miktarı 161



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Bitkilerin toplandığı bölge, yükseklik, tarih, bitkinin bilimsel adı, bu bitkilerden elde edilen izolatlar, izolatların MIS tanı sonuçları ve yüzdeleri.....	72
Çizelge 4.2. İzolatların çeşitli konsantrasyonlarda NaCl içeren (1,75M, 2M ve 2,5M NaCl) besiyerinde gelişme potansiyelleri ve elde edilen bulgular	91
Çizelge 4.3. İzolatların azotsuz besiyerinde gelişme potansiyellerinin karşılaştırılması.....	101
Çizelge 4.4. İzolatların inorganik fosfatı çözme potansiyellerinin kalitatif ve kantitatif sonuçlarının karşılaştırılması.....	109
Çizelge 4.5. İzolatların IAA üretimi potansiyellerinin karşılaştırılması.....	112
Çizelge 4.6. İzolatların 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz aktivite sonuçları.....	115
Çizelge 4.7. İzolatların siderefor üretme potansiyellerinin karşılaştırılması	116
Çizelge 4.8. Saksı deneyinde kullanılacak izolatların bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	118
Çizelge 4.9. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Kök boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi	128
Çizelge 4.10. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Gövde boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi.....	129
Çizelge 4.11. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre kök boyu üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları	130
Çizelge 4.12. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre gövde boyu üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları	131
Çizelge 4.13. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Yaş ağırlık ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi.....	134
Çizelge 4.14. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Kuru ağırlık bulgularının istatistiki analizi.....	135

Çizelge 4.15. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre yaş ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları....	136
Çizelge 4.16. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre kuru ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları..	137
Çizelge 4.17. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre çözünmüş protein miktarı üzerindeki bulgularının istatistiki analizleri.....	139
Çizelge 4.18. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Klorofil a miktarı bulgularının istatistiki analizleri.....	142
Çizelge 4.19. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Klorofil b miktarı bulgularının istatistiki analizleri.....	143
Çizelge 4.20. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Toplam klorofil miktarı bulgularının istatistiki analizleri	144
Çizelge 4.21. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Toplam karotenoid miktarı bulgularının istatistiki analizleri	145
Çizelge 4.22. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre toplam klorofil miktarı üzerinde % olarak artış-azalış miktarları	146
Çizelge 4.23. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre toplam karotenoid miktarı üzerinde % olarak artış-azalış miktarları	147
Çizelge 4.24. Normal sulama uygulamalı deneme-Kök boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi.....	149
Çizelge 4.25. Normal sulama uygulamalı deneme-Gövde boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi.....	150
Çizelge 4.26. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre kök boyu üzerinde % olarak artış-azalış miktarları.....	151
Çizelge 4.27. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre gövde boyu üzerinde % olarak artış-azalış miktarları	152
Çizelge 4.28. Normal sulama uygulamalı deneme-Yaş ağırlık bulgularının istatistiki analizi.....	154

Çizelge 4.29. Normal sulama uygulamalı deneme-Kuru ağırlık bulgularının istatistiki analizi.....	155
Çizelge 4.30. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre bitki başına düşen yaş ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları	156
Çizelge 4.31. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre bitki başına düşen kuru ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları	157
Çizelge 4.32. Normal sulama uygulamalı deneme-Protein miktarı bulgularının istatistiki analizi.....	159
Çizelge 4.33. Normal sulama uygulamalı deneme-Klorofil a miktarı bulgularının istatistiki analizleri.....	162
Çizelge 4.34. Normal sulama uygulamalı deneme-Klorofil b miktarı bulgularının istatistiki analizleri.....	163
Çizelge 4.35. Normal sulama uygulamalı deneme-Toplam klorofil miktarı bulgularının istatistiki analizleri	164
Çizelge 4.36. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre toplam klorofil miktarı üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları	165
Çizelge 5.1. Ülkemizde bazı tuz içeriği yüksek habitatalarda en sık görülen halofitik bitkiler	167
Çizelge 5.2. Tuz içeriği yüksek bazı habitatalardan ve araştırmamızda izole edilen başlıca bakteriler	170
Çizelge 5.3. Çeşitli PGPR bakterilerinin fosfat çözücü ve siderefor üretici özelliklerinin karşılaştırılması.....	174
Çizelge 5.4. Çeşitli PGPR bakterilerinin ACC deaminaz ve IAA üretici özelliklerinin karşılaştırılması.....	175
Çizelge 5.5. Bu araştırmada tuzlu sulama yapılan saksı deneylerinde kullanılan izolatlar ile daha önceki araştırmalarda kullanılan izolatların saksı deneylerindeki performanslarının karşılaştırılması.....	182

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun giderek artmasına bağlı olarak, küresel besin üretimi talebindeki artışlar ve çevresel tehlikenin tarımsal üretimde neden olduğu problemler, dünya çapında önemli endişelere yol açmaktadır. Bu sorunlar tüm dünya nüfusu için besin yetersizliğine neden olabilir (Ladeiro 2012). Mevcut dünya nüfusu 7 milyardır ve önümüzdeki 50 yıl boyunca 10 milyara ulaşması beklenmektedir. Bu problemlerin önlenmesi için alınacak en önemli tedbirlerden biri, gerekli tarımsal stratejilerin oluşturulmasıdır (Glick 2014). Bunun için tarımsal üretimin gelecek yıllar boyunca önemli derecede artırılması gerekmektedir.

21. yüzyılın başında, artan toprak ve su tuzluluğu, çevresel kirlilik ve su kaynaklarının kıtlığı gibi olumsuzluklar küresel olarak daha fazla dikkat çekmektedir. Aşırı sıcaklık, kuraklık, toprak tuzluluğu ve sel; tarımsal ürünlerin üretim ve yetiştirilmesini etkileyen çevresel streslerdir. Ekili alanlardaki ürün verimi ve kalitesindeki azalmaya sebep olan en önemli tahrip edici çevresel streslerden biri toprak tuzluluğudur (Yamaguchi and Blumwald 2005; Shahbaz and Ashraf 2013). Tuzluluk, ürün verim ve üretimini engelleyen, bitki büyümesi ve üretiminde hayati bir rol oynayan anahtar faktörlerden biridir. Tuzluluktan etkilenmiş topraklar, önemli kültür bitkileri için dünya çapında büyük bir sınırlayıcı faktör oluşturmuştur (Shannon and Grieve 1999; Bacilio *et al.* 2004). Artan insan nüfusu ve tarım için gereken mevcut arazilerdeki azalma, sürdürülebilir tarım için tehdit oluşturmaktadır (Shahbaz and Ashraf 2013). 2050 yılına kadar öngörülen nüfusun besin ihtiyacını karşılamak için; pirinç (*Oryza sativa* L.), buğday (*Triticum aestivum* L.) ve mısır (*Zea mays* L.) gibi önemli kültür bitkilerinin dane veriminde önemli bir artış (tahmini %50) gereklidir (Godfray *et al.* 2010). Toprak kirliliği, tuzluluk ve çölleşme ile mücadele ederken; Dünya'nın büyüyen nüfusu için gereken acil beslenme ihtiyacı, bitki ve toprak verimliliğine yönelik araştırmalara büyük önem verilmesine neden olmuştur. Bu koşullar altındaki araştırmalar, uygun bir biyoteknolojik çalışma gerektirmekte; bu sadece ürün verimini arttırmak için değil aynı zamanda da toprak mikroorganizmaları ve bitki köklerinin etkileşimi ile toprak sağlığını iyileştirmek için de gerekli olmaktadır (Lugtenberg *et al.* 2002).

Tuz stresi altındaki toprakların, bitki büyümesini baskıladığı bilinmektedir (Paul 2012). Toprak biyotasının, tuza maruz kalmış bitkiler (salinized plant) üzerinde yararlı etkileri olduğu çok iyi bilinmektedir; ancak toprak mikroorganizmalarının tarımsal uygulamalardaki olumlu etkileri ve bunun altında yatan fizyolojik ve moleküler mekanizmaların çoğunun hala aydınlatılması gerekmektedir. Ayrıca; tuzluluğa toleransı olan ürünlerin geliştirilmesi, böyle mikroorganizmaların etki mekanizmalarının anlaşılması ve biyoçeşitliliğin sağlanması amacıyla, çeşitli stratejiler geliştirilmektedir. Tuzcul bitkilerin rizosferinde mevcut olan mikroorganizmaları izole etmek bu amacı sağlamak için etkili bir yol olabilir ve son zamanlarda bu amaçla bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler [Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)] kullanılmıştır (Dimkpa *et al.* 2009). Bu yararlı mikroorganizmalar bitkilerin rizosferinde/endosferinde kolonize olmuşlardır ve bitkilerin büyümesini çeşitli yollarla doğrudan ya da dolaylı mekanizmalarla teşvik etmektedirler (Nia *et al.* 2012; Ramadoss *et al.* 2013). Daha önce yapılan çalışmalar PGPR' nin kullanımının tuzluluğun neden olduğu bitki stresini hafifletmek için umut verici bir alternatif olduğunu göstermektedir (Yao *et al.* 2010). Bu nedenle biyotik ve abiyotik streslerin yönetiminde mikroorganizmaların rolleri oldukça önem kazanmaktadır.

1.1. Rizosfer ve Bakteriyel Çeşitlilik

Bitki köklerinden sızan bileşiklerle ve bu bileşiklerle beslenen mikroorganizmalarla etkileşim içinde olan, yoğun biyolojik ve kimyasal aktivitelerin gerçekleştiği bitki kök sisteminin etrafını doğrudan çevreleyen, muazzam bakteri çeşitliliği barındıran fakat belirgin bir kenarı olmayan, toprağın besin yönünden zengin bölgesi rizosfer olarak adlandırılır.

Bitki kökleri, mekanik destek ile su ve besin alımını kolaylaştırmayı sağlamanın yanında birçok bileşiği sentezler, biriktirir ve salgılarlar (Walker *et al.* 2003). Kökler tarafından toprağa salgılanan kimyasallar genellikle kök sızıntısı olarak adlandırılır. Toprağa sızan çok sayıda kimyasal bileşik, toprağın kimyasal ve fiziksel özelliklerini değiştirir ve bu da kök yüzeyinin hemen yakınında bulunan toprak mikrobiyal

komünitesinin yapısını düzenler (Dakora and Phillips 2002). Bitki kökleri tarafından salgılanan bu bileşikler kimyasal cezbediciler gibi hareket ederler ve toprak mikrobiyal komüniteleri tarafından metabolize edilirler.

Toprağın üst katmanlarındaki bakteriyel populasyon, toprağın gramı başına 10^9 hücre yoğunluğu içerir (Torsvik and Ovreas 2002). Bu hücrelerin çoğu kültüre edilemez. Toprağın kültüre edilmiş ve ayrıntılı olarak çalışılmış mikrobiyal biyokütlesi toplam populasyonun %5'inden daha azını içermektedir (Borneman and Triplett 1997). Toprak mikrobiyal komüniteleri genellikle zor karakterize edilirler, bunun başlıca sebebi onların yoğun fenotipik ve genotipik çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Kök çevresindeki mikrobiyal populasyon; bakterileri, mantarları, mayaları ve protozoonları içerir. Bu mikroorganizmalardan bazıları çeşitli bitkilerle simbiyotik birliktelik oluştururken, bazıları da serbest olarak yaşar. Bu mikroorganizmalar ile bitki kökleri arasındaki etkileşim; bitki için yararlı, zararlı, nötr olabilir ve bazen mikroorganizmaların köklerle etkileşimi, toprak koşullarının etkisiyle değişebilir (Singh and Varaprasad 2008).

İşte bitki kök çevresinde kolonize olan bir grup rizosfer bakterisi, rizobakteri olarak adlandırılır. Farklı bakteri cinslerini içeren rizobakteriler, toprağı meydana getiren önemli elemanlardır. Rizobakteriler, bitkisel üretim için dinamik besin dönüşümüne katılan ve sürdürülebilir ürün üretimi yapmak için çeşitli biyotik faaliyetlerde bulunan, kısacası toprak ekosisteminde en önemli yeri temsil eden canlılardır (Chandler *et al.* 2008; Ahemad *et al.* 2009). Topraktaki besinleri tamamen bitki büyümesini teşvik etmek amacıyla kullanırlar, çok sayıda bitki büyüme düzenleyicisi üretirler, onları inhibe eden fitopatojenlerden bitkileri korurlar, toprak yapısının geliştirilmesi ve ayrılan toksik ağır metal türleriyle kirli toprakların biyoremediasyonunu gerçekleştirirler ve pestisitler gibi ksenobiyotik bileşikleri azaltırlar (Braud *et al.* 2009; Hayat *et al.* 2010; Rajkumar *et al.* 2010; Ahemad and Malik 2011; Ahemad 2012). Bu nedenle, rizobakteriler toprak besinlerinin geri dönüşümünde baskın canlı güçtürler ve sonuç olarak, toprak verimliliği için çok önemlidirler (Glick 2012).

1.2. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler [Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)]

Metabolik yeteneklerinin jeokimyasal besin döngüsünde kritik bir rol oynadığı, hem litosfer hem de hidrosfer de ekstrem ortamları içeren çeşitli ekolojik nişlerin mevcut olduğu mikrobiyal populasyonlar tespit edilmiştir (Daniel 2005; Aeron *et al.* 2011; Jha *et al.* 2011). Toprak bakteri populasyonu, özellikle, hızlı bir şekilde büyüme ve besin kaynağı olarak çok geniş bir oranda farklı maddelerden yararlanma özelliğine sahiptir. Bakteriyel flora, genellikle toprak partiküllerine bağlı ve bitki kökleri ile etkileşim içerisinde olmak üzere toprak içerisinde dağılmıştır. Rizosfer, kök salgıları tarafından etkilenen, en yüksek bakteriyel populasyon ile birlikte bitki kökünü çevreleyen, toprak yoğunluğunu içeren ve en iyi şekilde karakterize edilmiş ekolojik niş olarak Hiltner (1904) tarafından tanımlanmıştır.

Rizosfer, çok sayıda ve çeşitlilikte mikroorganizma tarafından yer edinilmiştir ve kök yüzeyinin %15'i birbirinden farklı bakteriyel türlere ait mikrobiyal populasyonla kaplıdır (Jha *et al.* 2010; Govindasamy *et al.* 2011). Bu mikroorganizma grupları içerisinde en geniş yeri, bitki kökleri ile ilişki içerisinde olan bakteriler oluşturmaktadır. Bu nedenle, rizosferde gerçekleşen “bitki-bakteri etkileşimleri” bitki sağlığının ve toprak verimliliğinin belirleyici faktörleridir ve bu etkileşim biyojeokimyasal döngüler için çok önemlidir. Bitkilerin fotosentetik ürünleri (yaklaşık olarak %5-30), mikrobiyal populasyon tarafından sırayla kullanılan farklı şeker formlarında bitki kökleri tarafından salgılanır (Glick 2014). Rizosferdeki bu bakterilerin sonraki metabolik faaliyetleri ise, bitki kökleri tarafından salgılanan mineral besinlerin taşınması ve alınmasıdır (Glick 1995). İşte, rizosfer ortamına iyi bir şekilde adapte olmak ve bitkilerin kök salgılarını kullanmak yalnızca rizosfer bakterilerinin metabolik yeteneğinden kaynaklanmaktadır.

Son 10 yıldan beri, biyosferin işleyişinde ekolojik bir niş olarak kabul edilen rizosfer, rizosferdeki PGPR'nin mekanizmasını anlamak amacıyla, araştırmalara yardımcı olmada büyük önem kazanmıştır. Rizosfer bakterilerinin bazıları bitkiye zararlı etkide bulunurken, bazıları da bitki büyümesine yardımcı olarak bunun sonucunda bitki sağlığını

geliştirerek yararlı etkiye bulunmaktadır. Bitkiye inoküle edildiğinde pozitif bir etkiye neden olabilen; rizobakteriler PGPR olarak nitelendirilir ve bu bakteriler dolayısıyla rizosfer komuniteleri üzerinde rekabet becerisi gösterebilirler. Genel olarak, rizosferde bulunan bakterilerin yaklaşık %2-5'i PGPR'dir (Antoun and Prévost 2006; Sgroy *et al.* 2009; Jha *et al.* 2010; Siddikee *et al.* 2010). PGPR'ler geleceğin trendini oluşturmaktadır ve sürdürülebilir tarım için potansiyel araçlardır. İyon değişimiyle toprak partiküllerinin adsorbe edilmesi bakteriler tarafından gerçekleştirilen mekanizmalardan biridir. Bir toprağın, bitki büyümesini hızlı bir şekilde sürdürebilmesi için toprak organizmalarının yeterli bir oranda organik kaynaklardan inorganik besinlerin serbest bırakılmasını sağlamasıyla doğal olarak verimli olabileceği bilinmektedir.

Detaylıca geriye bakıldığında, bitki sağlığı için rizobakterilerin önemi, Fransa'da gerçekleşen 4. Uluslararası bakteriyel bitki patojenleri kongresinde Kloepper and Schroth (1978) tarafından vurgulanmıştır ve PGPR terimi 1980'de aynı yazarlar tarafından kullanılmıştır (Good *et al.* 1994). Halen, bu konuda yapılan çalışmaların sayısı artmaktadır. Böylelikle, bitki fizyolojisi ve mikrobiyal ekolojinin temel geleneksel kavramları değişmiş ve bu sayede yeni bir bilim dalı oluşmuştur. Daha sonra, Bashan and Holguin (1998), rizosfer ortamı dışında olmasına rağmen bitki üzerinde yararlı etkiye sahip sayısız bakteri varolduğundan beri PGPR teriminin orjinal tanımının revizyonunu önermişlerdir. PGPR'nin büyütücü etkisi, çeşitli mekanizmalar yoluyla gerçekleşmektedir. PGPR'nin rolü sadece tek bir bakteriyel suşun doğrudan etkisiyle değil, genellikle toprak mikroorganizmaları ve bitki arasında kurulan moleküler diyaloglar yoluyla da gerçekleşmektedir. PGPR, bir ya da daha çok mekanizmayla bitkilerin verimini arttıran, bitkilerin kök yüzeyinde bulunan ve güçlü bir şekilde kökte kolonize olmuş patojenik olmayan bakterilerdir (Babalola 2010). Bu bilgiler ışığında, Somers *et al.* (2004), PGPR'leri işlevsel aktivitelerini göz önünde bulundurarak;

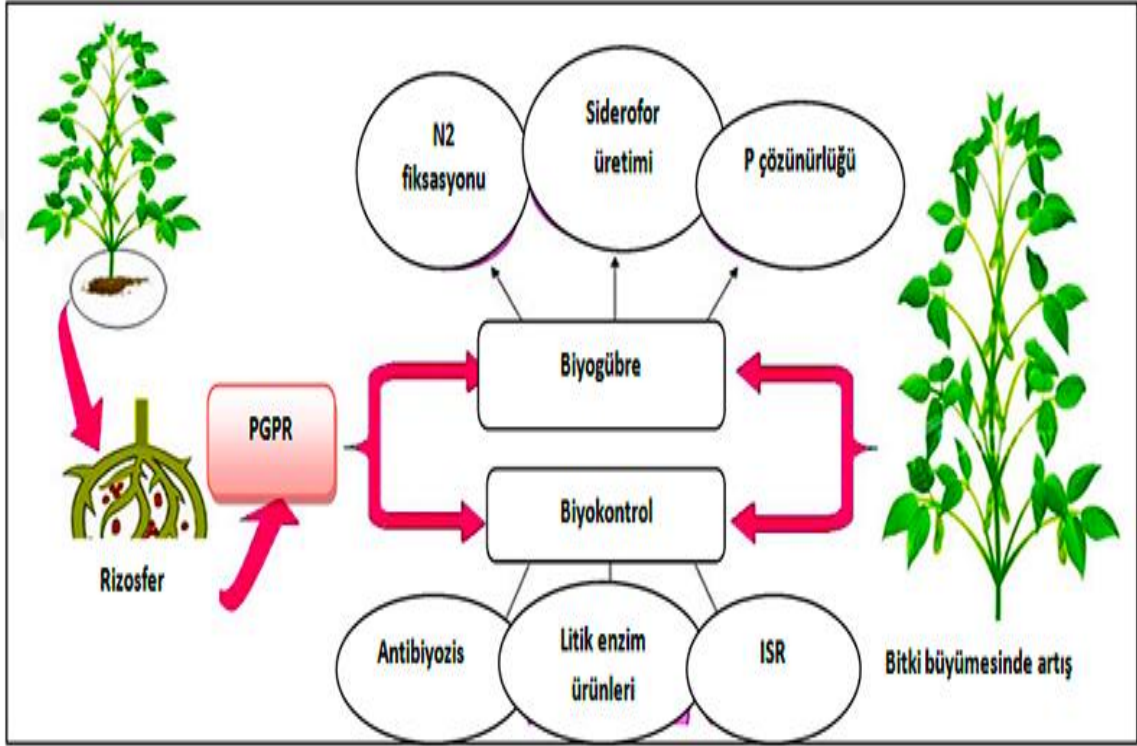
- a. Biyogübreler (bitkiler için gereken besinlerin alınabilirliğini arttıran rizobakteriler)

- b. Fitostimulatörler (bitkisel uyarıcılar, genellikle fitohormonların üretimiyle bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler)
- c. Rizoremediyatörler (organik kirleticileri parçalayan rizobakteriler) ve
- d. Biyopestisitler (özellikle, antibiyotiklerin ve antifungal metabolitlerin üretimiyle bitkisel hastalıkları kontrol altına alan rizobakteriler) şeklinde sınıflandırmıştır (Antoun and Prévost 2006).

Genel olarak PGPR'ler bitki kökü ile kurulan yakınlık derecesine göre; rizosferde, kök korteks hücreleri arasındaki boşlukta lokalize olan ekstraselüler bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler [Extracellular Plant Growth Promoting Rhizobacteria (ePGPR)] ve kök hücreleri içerisinde özellikle özelleşmiş nodüler yapılarda lokalize olan intraselüler bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler [Intracellular Plant Growth Promoting Rhizobacteria (iPGPR)] olarak iki gruba ayrılmışlardır (Figueiredo *et al.* 2011). ePGPR'ye örnek olarak; *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcous*, *Pseudomonas* ve *Serratia* vb. (Bhattacharyya and Jha 2012) ve benzer şekilde iPGPR'ye örnek olarak; *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* ve *Rhizobium* bazı bakteri cinsleri örnek verilebilir.

PGPR'ler, doğrudan ya da dolaylı olarak iki farklı mekanizma ile bitki büyümesine etki edebilirler (Glick 1995). PGPR'ler tarafından bitki büyümesinin doğrudan teşvik edilmesi; atmosferik azotun fıkse edilmesi, çözünemeyen fosfatı çözündürme, etilen regülasyonuna yardımcı ACC deaminazın (1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit) üretilmesi ve bunun yanı sıra IAA, GA ve kinetin gibi fitohormonların bitkiye sağlanması ya da çevreden gelen belirli besinlerin alımının kolaylaştırılmasıyla gerçekleştirilir. Bitki büyümesinin dolaylı olarak teşvik edilmesi ise, indüklenmiş sistemik direnç (ISR), antibiyozis, besin rekabeti, parazitizm, zararlı rizobakterileri baskılayan metabolitlerin üretimi (Hidrojen siyanid, siderofor) gibi mekanizmalarla gerçekleştirilir (Glick 1995). Belirli bir PGPR, bu mekanizmaların bir ya da daha fazlasını kullanarak bitki büyümesi ve gelişmesine etki edebilir. Bir biyokontrol ajanı olarak PGPR'ler, fitohormon olan oksini üreterek, bitki etilen seviyesini azaltarak

(Glick *et al.* 2007) ya da köklerle birlikte azot fiksasyonu (Dobereiner 1992) sağlayarak doğrudan bitki büyümesindeki rolleri ne olursa olsun çeşitli mekanizmalar üzerinden hareket edebilirler (Patten and Glick 2002). Şekil 1.1’de bitki gelişimini teşvik eden rizosfer bakterilerinin etki mekanizmaları özetlenmiştir.

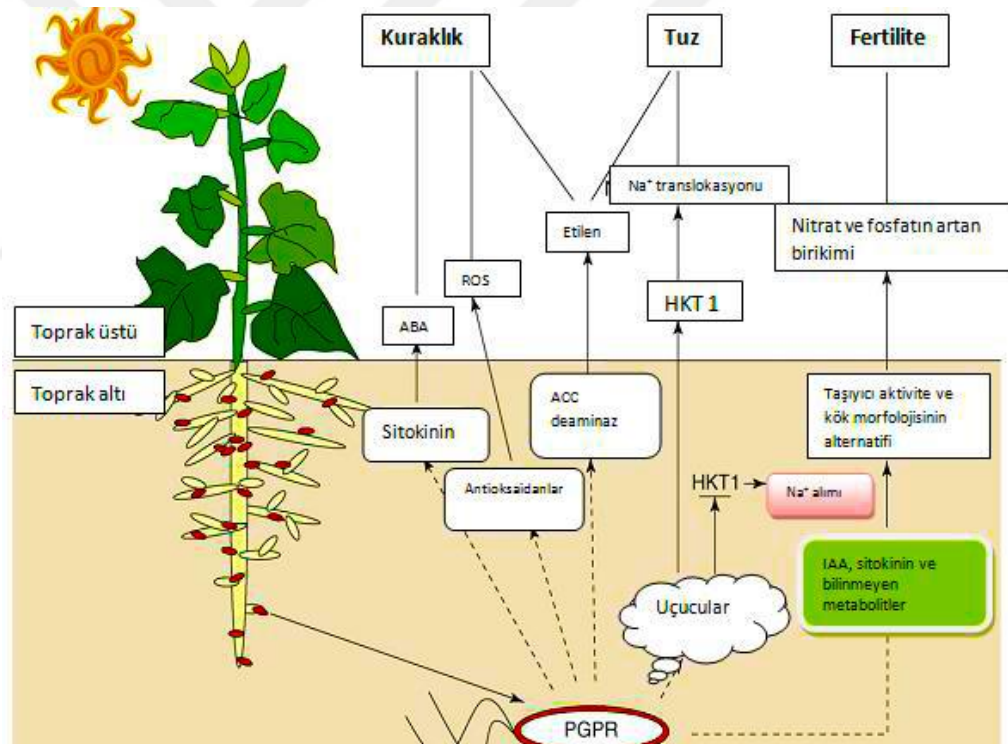


Şekil 1.1. Bitki gelişimini uyarıcı kök bakterileri tarafından bitki gelişimine katkı sağlayan mekanizmalar (Kumar *et al.* 2011)

1.3. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakterilerin (PGPR) Doğrudan ve Dolaylı Etki Mekanizmaları

Bitki büyümesini teşvik [Plant Growth Promotion (PGP)] mekanizmasının eksiksiz bir şekilde anlaşılması ve kuvvetli bir şekilde bitki verimliliğini artıran yöntemleri maksimuma çıkarmak için rizosferik florayı yönetmek (manipüle etmek) kaçınılmazdır. PGP mekanizması doğrudan ve dolaylı olmak üzere gruplandırılmıştır. İkisi arasındaki fark her zaman belirgin değildir. Dolaylı mekanizmalar genel bir kural olarak bitki dışında meydana gelirken doğrudan mekanizmalar ise bitki içerisinde meydana gelir ve

bitki metabolizmasına doğrudan doğruya etki eder (Glick 1995; Vessey 2003; Antoun and Prévost 2006; Siddikee *et al.* 2010). Buna göre, doğrudan mekanizmalar, bitki büyüme düzenleyicilerinin uyumunu (dengesini) etkiler; ya bitkide mevcut olan büyüme düzenleyicilerini kendileri salgırlar ya da bitkide salgılanan hormonların bir kaynağı gibi hareket ederler ve bitki metabolizmasını uyararak onun uyum kapasitesinde bir iyileşmeye önderlik ederler (Govindasamy *et al.* 2011; Glick 2014). Oysa, dolaylı mekanizma, bakterilerden bitkiyi etkilemek için gönderilen sinyale cevap olarak bitkilerin savunmacı metabolik süreçlerinin katılımını gerektirir. Şekil 1.2’de bitkilerde PGPR’ler tarafından oluşturulan ve gözlenen sistemik dayanıklılık şematize edilmiştir (Bayrak vd 2014).



Şekil 1.2. Çeşitli stres koşullarına karşı PGPR tarafından kök ve sürgünde oluşturulan sistemik dayanıklılık (Yang *et al.* 2009)

*Kırık oklar PGPR tarafından salgılanan biyoaktif bileşikler, tam oklar bakteriyel bileşenler tarafından etkilenen bitki bileşiklerini göstermektedir. Bakteriyel ACC deaminaz tarafından etilen öncüsü ACC'nin degradasyonu bitki stresini uzaklaştırır ve kuraklık ve tuz stresleri altında gelişen normal bitkiyi kurtarır. Absisik asit (ABA), 1 – aminosiklopropan - 1- karboksilat (ACC), yüksek - ilgili K⁺ taşıyıcı1(HKT1), indol asetik asit (IAA), artan sistemik tolerans(IST), bitki-gelişimini uyaran rizobakteriler (PGPR), reaktif oksijen türleri (ROS)

1.4. Bitki Büyümesini Teşvik Eden Doğrudan Mekanizmalar

1.4.1. Biyolojik azot fiksasyonu

Azot (N), bitki büyümesi ve verimliliği için en önemli besindir. Atmosferde yaklaşık olarak %78 oranında bulunan azotu bitkiler doğrudan kullanamazlar. Atmosferik azot (N_2), nitrogenaz olarak bilinen bir enzim sistemini kullanarak biyolojik azot fiksasyonu yapan (Biological Nitrogen Fixation: BNF) mikroorganizmalar tarafından, bitkilerin kullanabileceği form olan amonyağa (NH_3) dönüştürülür (Kim and Rees 1994). Azotun bir kısmı Haber-Bosch Yolu (Rubio and Ludden 2008) tarafından endüstriyel olarak sentezlenirken; BNF mikroorganizmaları, biyolojik azot fiksasyonunu gerçekleştirerek atmosferik azotun üçte ikisini oluştururlar. Mikroorganizmalar tarafından fikse edilmiş azot, daha sonra bitkinin kökleri tarafından alınarak bitki tarafından kullanılır.

Azot fiksasyonu özelliğine sahip bakteriyel suşlar iki kategoride sınıflandırılmıştır. Birinci kategori, *Rhizobium* suşları gibi nodül üretmek için kökleri enfekte eden ve özgülüğe sahip olan baklagil bitkileri/kökleri ile ilişkili simbiyotik bakterileri içerir. Bakterilerin diğer grubu, bitkiye özgülüğe sahip olmayan serbest azot fiksasyonu yapıcı (non-simbiyotik) olarak adlandırılırlar (Oberson *et al.* 2013). Serbest azot fiksasyonu yapanlar *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Bacillus* ve *Paenibacillus* suşlarını içerir (Seldin *et al.* 1984; Heulin *et al.* 2002; von der Weid *et al.* 2002; Goswami *et al.* 2015). Non-simbiyotik (Serbest, ortak ve endofit yaşayan) azot fiksasyonu yapan mikroorganizmalar ise çeşitli siyanobakteri cinsleri *Anabaena*, *Nostoc* ile *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconoacetobacter Diazotrophicus* ve *Azocarus* vb. gibi bakteri cinslerini içerir. Ancak; non-simbiyotik azot fiksasyonu yapan bakteriler, konukçu bitki-bakteri ortaklaşa yaşamını gerektiren azot fiksasyonunun yalnızca küçük bir miktarını sağlarlar (Glick 2012). *Rhizobiaceae* familyası (α -proteobacteria) içerisinde yer alan simbiyotik azot fiksasyonu yapan rhizobia, baklagil bitkilerinin köklerini enfekte eder ve baklagil bitkilerinin kökleri ile simbiyotik bir ilişki kurar ve simbiyoz nodül oluşumu ile sonuçlanır (Giordano and Hirsch 2004). Baklagil olmayan

bitkilerle zorunlu olmayan bir etkileşim kurarak azot fikse eden PGPR bakterileri, diazotroflar olarak da adlandırılırlar (Glick *et al.* 1999).

Azot fiksasyonu süreci, nitrogenaz enzim kompleksi (Kim and Rees 1994) ile gerçekleşir. Nitrogenazın yapısı, (i) demir proteini olan dinitrogenaz redüktaz ve (ii) bir metal kofaktör olan dinitrogenazdan oluşan iki bileşenli bir metalloenzim olarak Dean and Jacobson (1992) tarafından izah edilmiştir. Nitrogenaz, bu elektronları N_2 'yi NH_3 'e indirgemek için kullanırken; dinitrogenaz redüktaz yüksek indirgenme gücü ile elektronları sağlar. Metal kofaktöre dayanan üç farklı azot fiksasyon sistemi tespit edilmiştir: a) Mo-nitrogenaz, b) V-nitrogenaz ve c) Fe-nitrogenaz. Yapısal olarak, N_2 fiksasyon sistemi, çeşitli bakteri cinsleri arasında değişim göstermektedir. Birçok azot fiksasyon sistemi, bütün diazotroplarda bulunan molibden nitrogenaz ile gerçekleşmektedir (Bishop and Jorgerger 1990).

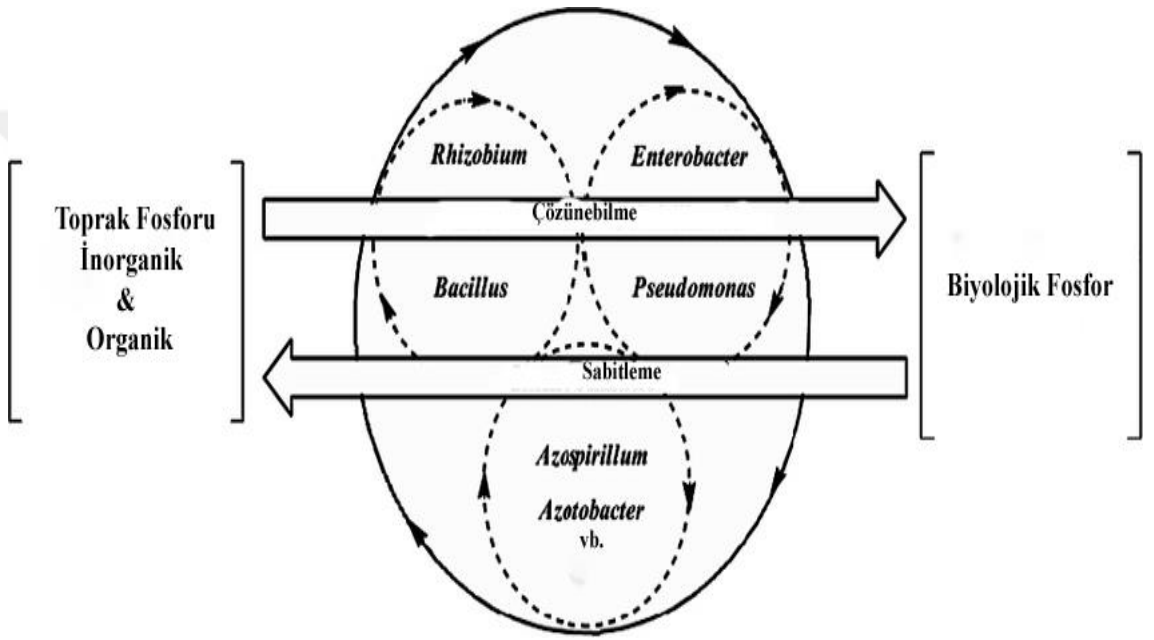
Azot fiksasyonu genleri, hem simbiyotik hem de serbest yaşayan sistemlerde bulunan *nif* olarak adlandırılan genlerdir (Kim and Rees 1994). Nitrogenaz (*nif*) genleri, yapısal genleri; Fe proteinin aktivasyonu ile ilgili genleri, demir molibden kofaktör sentezi, elektron veren ve enzimlerin sentez ve fonksiyonları için gerekli düzenleyici genleri içerir. Diazotroplardaki *nif* genleri, genellikle yirmi farklı protein kodlayan, yedi operon ile 20-24 kb çevresinde bir kümede bulunurlar (Glick 2012). Molibden nitrogenaz enzim kompleksi, *nifDK* ve *nifH* genleri tarafından kodlanan iki protein bileşenine sahiptir. *NifDK* bileşeni, iki kat simetri ile ilgili iki $\alpha\beta$ dimerleri tarafından oluşturulmuş bir heterotetramerik ($\alpha_2\beta_2$) proteindir. *NifDK*, herbir α -alt biriminin (*NifD*) aktif kısmında bir demir molibden kofaktörü (FeMo-co) taşır (Rubio and Ludden 2008). Rizobiumlardaki *nif* genlerinin simbiyotik aktifleştirilmesi, hem simbiyotik hem de serbest yaşayan azot fiksasyon sistemlerinde yaygın olan *fix* genleri olarak adlandırılan diğer bir dizi tarafından düzenlenmiş sapmadaki düşük oksijen seviyesine bağlıdır (Dean and Jacobson 1992; Kim and Rees 1994). Azot fiksasyonu çok enerji gerektiren bir süreç olduğundan, indirgenen azotun her bir molü için en az 16 mol ATP gerekir, bakteriyel karbon kaynaklarının glikojen şeklinde enerji depolaması ile sonuçlanan

glikojen sentezinde ise ATP senteziyle sonuçlanan oksidatif fosforilasyona doğru yönlenmesi avantajlı bir durum olacaktır (Glick 2012).

1.4.2. Fosfat çözünürlüğü

Toprakta hem organik hem de inorganik formda bol miktarda bulunan fosfor (P), azottan sonra bitki büyümesini sınırlayıcı besin olarak ikinci önemli sıradadır (Khan *et al.* 2009). Fosforun geniş rezervuarına rağmen, bitkiler için yararlı formlarının miktarı düşüktür. Bitkiler için fosforun bu düşük miktarının sebebi; bitkilerin sadece çözünebilir monobazik (H_2PO_4^-) ve diyabazik (HPO_4^{2-}) iyonları absorbe ederken, topraktaki başlıca fosfor formlarının çözünmeyen formda olmasıdır (Bhattacharyya and Jha 2012). Çözünmeyen P, inositol fosfat (toprak fitatı), fosfomonoester ve fosfotriester içeren çeşitli organik formlardan biri gibi ya da apatit gibi bir inorganik mineral olarak mevcuttur (Glick 2012). Topraklardaki P eksikliğinin üstesinden gelebilmek için, tarımsal alanlarda fosfat içeren gübreler sık olarak uygulanmaktadır. Bitkiler, uygulanan fosfat içeren gübrelerin çok az miktarını ve topraktaki çözünmeyen komplekslere hızla dönüşen geri kalan kısmını absorbe ederler (Mckenzie and Roberts 1990). Ancak fosfat içeren gübrelerin düzenli uygulamaları, sadece pahalı olduğu için değil aynı zamanda çevresel olarak da zararlı oldukları için istenmemektedir. Bu durum, düşük fosfat içeren topraklarda bitkisel üretimi geliştirmek için; ekolojik olarak güvenli ve ekonomik açıdan makul bir seçenek aramaya yol açmıştır. Bu bağlamda, fosfat çözücü aktivitesi olan ve fosfat çözücü olarak adlandırılan mikroorganizmalar [Phosphate Solubilizing Microorganisms (PSM_s)], bitkilere uygun P formlarını sağlayabilirler (Şekil 1.3'te toprak fosforunun rizobakteriler tarafından çözünbilmesi şematize edilmiştir) ve dolayısıyla kimyasal fosfat içeren gübreler için yedek bir temsilci olarak görev yaparlar (Khan *et al.* 2006). Rizosferde yaşayan çeşitli fosfat çözücü mikroorganizmalar, fosfat çözücü bakterilerin (PSB), çeşitli mekanizmalarla yetersiz kullanılan kaynaklardan bitkilere P sağlayabildiği anlaşıldığından beri, gelecek vaat eden biyogübreler olarak kabul edilmektedir (Zaidi *et al.* 2009). *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Serratia* gibi bakteri cinsleri en önemli fosfat çözücü bakteriler olarak

bildirilmektedir (Bhattacharyya and Jha 2012). Tipik olarak, inorganik fosforun çözünmesi, çeşitli toprak bakterileri tarafından düşük moleküler ağırlıklı organik asitlerin bir eylemi sonucunda ortaya çıkar (Zaidi *et al.* 2009). Aksine, organik fosforun mineralizasyonu, farklı fosfatazların çeşitli sentezleri, fosforik esterlerin hidrolizinin katalizi yoluyla gerçekleşir (Glick 2012). Önemli bir şekilde, fosfat çözücülüğü ve mineralizasyonu aynı bakteriyel suşlarda bir arada bulunabilir (Tao *et al.* 2008).



Şekil 1.3. Rizobakteriler tarafından toprak fosforunun çözünmesi (Khan *et al.* 2009).

PSB, yaygın olarak pek çok toprakta bulunmasına rağmen; onların performansları çevresel faktörlerden, özellikle stres şartlarından ciddi olarak etkilenir (Ahemad and Khan 2012a, 2012b, 2012e). Ancak; PSB tek başına kullanılarak bitkiye inoküle edildiğinde (Poonguzhali *et al.* 2008; Chen *et al.* 2008; Ahemad and Khan 2010d; Ahemad and Khan 2011k; Ahemad and Khan 2012e) ya da diğer rizosferik mikroplarla kombinasyon yapılarak bitkiye inoküle edildiğinde yararlı etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Zaidi and Khan 2005; Vikram and Hamzehzarghani 2008). Fosfat çözücü bakteriler bitkilere P sağlamanın yanında, bitki büyümesini teşvik eden önemli maddeleri sentezleyerek ve diğer iz elementlerin varlığını, BNF'nin uyarıcı etkinliğini

arttırarak bitkilerin büyümesini sağlamaktadırlar (Suman *et al.* 2001; Ahmad *et al.* 2008; Zaidi *et al.* 2009).

1.4.3. Fitohormon üretimi

Bitki büyümesi ve gelişmesi; hücre bölünmesi, hücre büyümesi ve hücre farklılaşmasının zamansal ve mekansal sıkı bir koordinasyonunu gerektirir. Bu olayların düzenlenmesi ve kontrol edilmesi, hem biyotik hem de abiyotik faktörler tarafından etkilenebilen kök ve sürgün arasındaki sinyal moleküllerinin alışverişini gerektirir. Bitkiler ve onlarla ilişkili mikroorganizmalar arasında meydana gelen etkileşimler uzun zamandır ilgi çekici olmuştur, bu süreçler hakkında bilgi sahibi olunması yeni tarımsal uygulamaların geliştirilmesine öncülük edebilir. PGPR tarafından bitki büyümesinin teşviki için sağlanan moleküller; indol-3-asetik asit, sitokinin, giberellin ve 1-aminosiklopropan-karboksilat deaminazın mikrobiyal üretimini içerir.

1.4.3.a. Oksinler

Çeşitli bitkilerin rizosferinden izole edilen mikroorganizmaların %80'inin ikinci metabolit olarak, metabolizmasının bir parçası olan indol-3-asetik asit (IAA), indol-3-bütirik asit (IBA), ya da onların prekürsörlerini içeren oksin sentezleyebildiği ve salıverebildiği bildirilmiştir (Patten and Glick 1996). Genellikle, rizobakteriler tarafından sentezlenen IAA pek çok bitki gelişimsel süreciyle ilişkilidir, çünkü bitkisel IAA'nın endojen havuzu toprak bakterileri tarafından salgılanan IAA'nın kazanımıyla değiştirilmiş olabilir (Spaepen *et al.* 2007; Glick 2012). Açıkçası, IAA pek çok mikroorganizmada gen ekspresyonunu etkileyen bir sinyal molekül olarak davranır. Sonuç olarak, IAA rizobakteri-bitki ilişkisinde çok önemli bir rol oynar (Spaepen and Vanderleyden 2011). Dahası, sinyal olarak IAA'nın aşağı regülasyonu, IAA'nın eksojen uygulamasıyla ya da IAA'nın patojen tarafından üretilmesiyle, bakteriyel patojenler için bitkilerin duyarlılıklarının geliştiği kanıtlanmıştır, fitopatogenik bakterilerin sayısına karşı bitki savunma mekanizması ile ilişkilidir (Spaepen and Vanderleyden 2011). IAA, savunma reaksiyonu olarak, bitki büyümesi ve gelişmesinin hemen hemen her yönünü

kapsamaktadır. Bu fonksiyon çeşitliliği olağanüstü IAA kompleksinin biyosenteziyle, taşınımıyla ve sinyal yollarıyla yansıtılmıştır (Santner *et al.* 2009). Genellikle, IAA bitki hücre bölünmesini, uzamasını ve farklılaşmasını etkiler; tohum ve yumru çimlenmesini teşvik eder; ksilem ve kök gelişim hızını artırır; vejetatif büyüme sürecini kontrol eder; yanal ve adventif kök oluşumunu başlatır; ışık, yerçekimi ve çiçeklenme cevabına aracılık eder; fotosenteze etki eder, pigment oluşturur, çeşitli metabolitlerin biyosentezi ve stres koşullarına karşı direnç sağlar. Ayrıca, bakteriyel IAA, kök yüzey alanı ve uzunluğunu artırır ve böylece bitkinin toprak besinlerine ulaşımını sağlar. Ayrıca, rizobakteriyel IAA, bitki hücre duvarlarını gevşetir ve sonuç olarak kök sızıntısını artırarak rizosfer bakterilerinin büyümesini desteklemek için ek besinleri sağlar (Glick 2012). Böylece; rizobakteriyel IAA, hem patogeneze hem de fitostimulasyonda bitki-mikrop etkileşiminde bir efektör molekül olarak tanımlanır (Spaepen and Vanderleyden 2011).

IAA sentezi düzeyini değiştiren önemli bir molekül olan aminoasit triptofan, IAA'nın ana habercisi olarak tanımlanır ve böylece IAA biyosentezi düzeyinin ayarlanmasında bir rol oynar (Zaidi *et al.* 2009). Triptofanla başlayan en az beş farklı yol IAA sentezi içi tanımlanmıştır ve bazı ara maddeler farklı olmasına rağmen bu yolların çoğu bitkilerdekine benzerlik gösterir (Patten and Glick 1996; Spaepen and Vanderleyden 2011): (1) İndol-3-prüvik asit ve indol-3-asetik-aldehit üzerinden IAA oluşumu benzer bakterilerin çoğunda bulunur; *Erwinia herbicola*, *Agrobacterium* ve *Pseudomonas* cinsi saprofitik bakteriler, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* cinslerinin bazı temsilcileri (2) İndol-3-asetik-aldehitin triptofana dönüşümünü, pseudomonadlar ve azosprillalarda oluşturulan triptaminde alternatif bir yol içerebilir ve (3) İndol-3-asetamid üzerinden IAA biyosentezi de fitopatojenik bakteriler; *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* ve *E. herbicola* ile; saprofitik pseudomonadlarda (*Pseudomonas putida* ve *P. fluorescens*, vb.) raporlanmıştır (4) IAA biyosentezinde, siyanobakterilerde (*Synechocystis sp.*) bulunan indol-3-asetonitrilinin triptofana dönüşümünü içerir ve (5) bağımsız triptofan yolu, bitkilerde daha yaygındır, aynı zamanda *Azospirilla* ve siyanobakterilerde de

bulunmuştur. Asidik pH, ozmotik ve matriks stresi ve karbon sınırlaması içeren farklı bakterilerde, IAA sentezi çevresel stres faktörlerini hafifletir (Spaepen *et al.* 2007).

1.4.3.b. Giberellinler

Giberellinleri üreten mikroorganizmalara ilişkin çok az bilgi bulunmaktadır, nodül oluşturan bitkilerin nodüllerinde çok düşük konsantrasyonlarda giberellinler, oksinler ve sitokininleri üretebilen yüksek duplikasyon oranına sahip simbiyotik bakterilerin (*Rhizobium*) bulunduğu bilinmektedir (Atzorn *et al.* 1988). PGPR tarafından giberellin üretimi nadirdir ancak, önceki araştırmalarda *Bacillus pumilus* ve *Bacillus licheniformis* izolatlarının yüksek oranda giberellin ürettiği belirlenmiştir. *Alnus glutinosa*'ın rizosferinden izole edilen bu bakteriler GA1, GA3, GA4 ve GA20 giberellinlerini üretme bakımından çok yeteneklidirler. Bu tip hormonlar, bitki düzenleyicilerinin en büyük grubudur ve 100 farklı molekülden daha fazlasını içeren biyolojik aktiviteye sahiptir. Giberellinler, köklerden bitkinin toprak üstü kısımlarına kadar yer değiştirebilirler bu onların belirgin etkisidir. Bakteriler ayrıca toprak üstü kısımlarında oluşturulan alanlar için besin takviyesini arttıran kök sistemlerini uyaran oksinleri ürettiği zaman, topraküstü kısımlarındaki etkileri dikkate değerdir ve daha çoktur. Atzorn *et al.* (1988) tarafından bakterilere uygulanan fiziko-kimyasal metotlar giberellinlerin karakterizasyonunda ilk raporlamadır ve Atzorn *et al.* (1988) *Rhizobium meliloti*'nin gnotobiyotik kültürlerinde GA1, GA3, GA4 ve GA20 varlığını ispatlamıştır. Zayıf çözünürlük veya güvenilirliğin kullanıldığı tekniklere (TLC, bioassays, HPLC-UV) rağmen, giberellin benzeri maddeleri üreten *Azospirillum* sp. ve *Rhizobium* sp. dışında çok sayıda bakteri türü olduğu iddia edilmiştir. Yapılan çalışmada, *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* ve *Bacillus* spp. gibi bakterilerde giberellin üretimi GC-MS metodu ile teyit edilmiştir.

1.4.3.c. Sitokininler

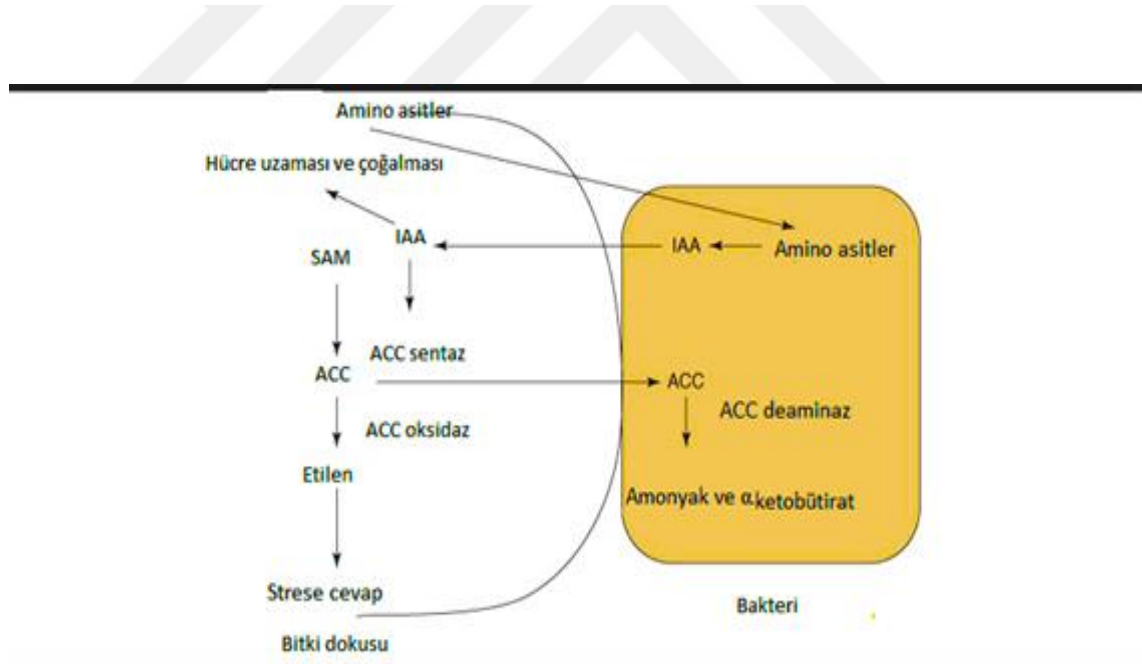
Sitokininler, kültürlerde bitki hücre bölünmesini destekleyen ve koruyan pürin türevleridir ve ayrıca sürgün oluşumu içeren çeşitli farklılaşma süreçleriyle ve birincil kök oluşumu ve kallus oluşumuyla ilgilidirler (Leibfried *et al.* 2005). Transgenik bitkilerdeki endojen sitokininin fazla üretimi, *in vitro* kallusun sitokinin-oksoτροφik büyümesini içeren pleiotropik fenotipik değişikliklere neden olur (Howell *et al.* 2003).

Sitokinin-fazla üreten ve sitokinin-eksikliği olan mutantların analizi, sürgün meristemlerinde ve genç yapraklardaki hücre bölünmesi aktivitesinin düzenlenmesinde bu bileşiklerin uyarıcı bir rolü olduğunu göstermiştir (Frank *et al.* 2002). Oksinler ve sitokininler, bitkilerde birçok önemli gelişme süreçlerinin kontrolünde, özellikle apikal dominansi ile, kök ve sürgün gelişiminde, karşılıklı etkileşim içindedirler. Oksin ve sitokinin arasındaki denge, *in vitro* organogenezisin önemli bir düzenleyicisidir. Kök oluşumunda yüksek bir oksin sitokinin oranı kallus kültürlerinin ortaya çıkmasıyla sonuçlanırken, bu hormonların düşük bir oranında sürgün gelişimini teşvik ettiği bilinmektedir. Birçok çalışma, oksinler ve sitokininler arasındaki sinerjik, antagonistik ve ilave etkileşimlerin varlığını göstermiştir. *Bacillus* OSU-142, *Burkholderia* OSU-7 ve *Bacillus* M-3 strainlerinin sitokinin üretebildiği ve PGPR olarak kullanılabileceği ortaya konulmuştur (Aslantaş *et al.* 2007).

1.4.3.d. 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz

Genel olarak, etilen, bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için gerekli bir metabolittir (Khalid *et al.* 2006). Bu bitki büyüme hormonu yaklaşık olarak tüm bitkiler tarafından endojen olarak üretilir, ayrıca topraktaki farklı biyotik ve abiyotik süreçler tarafından da üretilir ve bitkilerde indüklenen çeşitli fizyolojik değişimler için önemlidir. Etilen, bir bitki büyüme regülatörü olmanın yanı sıra, stres hormonu olarak da belirlenmiştir (Saleem *et al.* 2007). Tuzluluk, kuraklık, toprağın suyu emmesi, ağır metaller ve patojenite gibi nedenlerle meydana gelen benzer stres koşulları altında, endojen etilen seviyesi, etraflı bir şekilde bitki büyümesini önemli ölçüde negatif olarak etkiler.

Örneğin, etilenin yüksek konsantrasyonu yaprak dökümüne sebep olur ve diğer hücrel süreçler ürün performansının azalmasına öncülük eder (Saleem *et al.* 2007; Bhattacharyya and Jha 2012). PGPR'nin sahip olduğu enzim olan 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz; bitkilerdeki etilen düzeylerini azaltarak tuz toleransını indükler ve kuraklık stresini redükler ve böylece bitki büyüme ve gelişimini kolaylaştırır (Nadeem *et al.* 2007; Zahir *et al.* 2008). Yapılan çalışmalarda, ACC deaminaz aktivitesi gösteren bakteri strainleri; *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia* ve *Rhizobium* vb. belirlenmiştir (Nadeem *et al.* 2007; Shaharoon *et al.* 2007a,b; Zahir *et al.* 2008; Zahir *et al.* 2009; Kang *et al.* 2010; Yıldırım *et al.* 2011). Bu tür rizobakteriler etilen prekürsörü ACC'yi tutarak 2-oxo-butanata ve NH_3 'e dönüştürür (Arshad *et al.* 2007). Bitki dokusu ve bakteri arasındaki ACC mekanizması Şekil 1.4'te verilmiştir.



Şekil 1.4. Bakteriyel ACC deaminaz enzimi ve etki mekanizması (Arshad *et al.* 2007).

Aminosiklopropan karboksilat deaminaze köklerdeki ACC'yi α -ketobütirat ve amonyuma dönüştürerek, birçok mekanizma ile bitki gelişimini engelleyen, etilen üretimini kontrol edebilmektedir (Honma ve Shimomura, 1978). ACC deaminaze aktivitesi gösteren bakteri uygulanan bitkiler özellikle düşük etilenden dolayı oransal

olarak daha fazla kök geliştirmekte ve stres koşullarına daha dayanıklı olmaktadır (Burd vd., 2000; Safronova *et al.* 2006). ACC deaminaze içeren bakteriler, farklı bitkisel süreçleri engelleyen etilen miktarını azaltmak, hücre çoğalmasına katkı yapmak ve bitki etilen seviyesi ve ACC sentez enziminin olumsuz etkisi olmaksızın kök ve gövde uzamasını sağlamak suretiyle, bitki gelişmesini olumlu etkilemektedir. Bitki gelişmesindeki artışın; bakteriyel ACC deaminaze aktivitesi gösteren bakterilerin ACC'yi hidrolize edebilme özellikleri dolayısıyla dahili etilen miktarını azaltmaları sonucu, etilenin gelişmeyi engelleme özelliğinin ortadan kalkmasından kaynaklandığı yönünde bulgular ortaya konulmuştur. Fitopatojenik mikroorganizmaların (virüs, bakteri, fungus vb.) etkileri çeşitli stres formları, ACC deaminaz üreticileri tarafından hafifletilir ve poliaromatik hidrokarbonlar, ağır metaller, radyasyon, yaralama, böcek avlanma, yüksek tuz konsantrasyonu, ekstrem sıcaklık, yüksek ışık yoğunluğu, sel stresine karşı ACC deaminaz üreticileri tarafından direnç gösterilir (Lugtenberg and Kamilova 2009; Glick 2012). Sonuç olarak, ACC deaminaz üreten kök bakterilerin tohum/ kök ile inokulasyonunun göze çarpan önemli etkileri; bitki kök uzaması, sürgün gelişiminin teşviki ve rizobiyal nodülasyondaki artış ve çeşitli ürünlerdeki mikorizal kolonizasyonun yanısıra N, P, K alımıdır (Nadeem *et al.* 2007; Shaharoona *et al.* 2008; Nadeem *et al.* 2009; Glick 2012).

1.5. Bitki Büyümesini Teşvik Eden Dolaylı Mekanizmalar

Bitkisel hastalıkları kontrol etmek için mikroorganizmaların uygulanması, biyolojik kontrolün bir şeklidir ve çevre-dostu bir yaklaşımdır (Lugtenberg and Kamilova 2009). Rizobakterilerdeki, bitki büyümesini teşvikin en önemli dolaylı mekanizması biyokontrol ajanları gibi hareket etmeleridir (Glick 2012). Genel olarak, besin rekabeti, niş dışında tutma, indüklenmiş sistemik direnç ve antifungal metabolitlerin üretimi, PGPR'lerdeki biyokontrol aktivitelerinin belli başlı biçimleridir (Lugtenberg and Kamilova 2009). Birçok rizobakterinin, HCN, fenazinler, pirolnitrin, 2,4-disetilfiloglukinol, piyoluteorin, nikotinamid ve tensin gibi antifungal metabolitleri ürettikleri bildirilmiştir (Bhattacharyya and Jha 2012). Bazı rizobakterilerin bitki kökleri ile etkileşimi bitkilerde bazı patojenik bakteri, fungi ve virüslere karşı dirençle

sonlanabilir. Bu olgu, indüklenmiş sistemik direnç olarak adlandırılır (ISR) (Lugtenberg and Kamilova 2009). Ayrıca, ISR bitkiler içinde jasmonat ve etilen sinyallerini kapsar ve bu hormonlar bitki patojenlerinin birçok çeşidine karşı konukçu bitkinin savunma cevabını tetikler (Glick 2012). Birçok özgün bakteriyel bileşenler, lipopolisakkarit (LPS), flagella, siderefor, siklik lipopeptitler, 2-4-diasetilpiloroglukanol, homoserin lakton, aseton ve 2,3-butanediol gibi volatiller ISR'yi indükler (Lugtenberg and Kamilova 2009).

1.5.1. Hidrojen siyanür (HCN) ve amonyak üretimi

Hidrojen siyanür, erken durağan büyüme aşamasında oluşturulur. Bu büyüme bölümünde, enerji depolama veya primer metabolizma yer almaz, ancak genel olarak ekolojik bir rolü olan ve üretici suşlar üzerinde seçici bir avantaj veren bir sekonder metabolit olarak kabul edilir (Vining 1990). HCN üretimi *Pseudomonas*'ların (88,89%) yaygın bir özelliğidir (Ahmad *et al.* 2008). Siyanür, siyanür anyonu (CN^-) ve ayrışmamış HCN içeren serbest siyanür gibi bir çözelti içinde oluşur. Siyanür önemli metabolik süreçlerde rol alan enzimleri inhibe edebilen bir fitotoksik ajandır ve zararlı rizobakteriyel izolatların tipik özelliklerinden biri olarak kabul edilir (Bakker and Schippers 1987). Bununla birlikte, şu anda biyokontrol yöntemleri alanlarındaki uygulamaları artmaktadır (Devi *et al.* 2007). Bazı siyanojenik bakteriler genellikle spesifik konukçu olup konukçu bitkilerinin kökleri ile ilişkilidirler. Bu nedenle, rizobakteriler tarafından bitki rizosferindeki HCN üretimi, istenen bitkilerin büyümesi üzerindeki zararlı etkileri en aza indirmek için ve yabancı otların biyolojik kontrolü için potansiyel ve çevreyle uyumlu bir mekanizmadır (Kremer and Souissi 2001).

Amonyak üretimi azot fiksasyonu ile ilgilidir ve çoğunlukla baklagillere ait rizobakterilerde görülmektedir. Biyolojik azot fiksasyonunun önemli biyokimyasal reaksiyonları, atmosferik saf azotu (N_2) amonyağa (NH_3) dönüştüren baklagiller ile azot fiksasyonu yapan mikroorganizmaların simbiyotik ilişkisi yoluyla ağırlıklı olarak ortaya çıkar. Bitki büyümesini teşvik edici rizobakterilerin bir dizisi C3 ve C4 bitkileri ile etkileşime katılır (örneğin, pirinç, buğday, mısır, şeker kamışı ve pamuk vb.) ve önemli

ölçüde onların vejetatif büyümesini ve tane verimini artırır (Kennedy *et al.* 2004). *Azospirillum* türleri mikraerobik koşullar altında N_2 'yi fikse eden ve otsu bitkilerin rizosferinde yoğun bir şekilde gelişen aerobik heterotroflardır (Kennedy *et al.* 2004). ^{15}N işaretleyici teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalar *Azospirillum brasilense* ve *Azospirillum lipoferum* inokülasyonunun, biyolojik azot fiksasyonu ile buğday bitkisinin N'e %7-12 oranında katkı sağladığını göstermiştir (Malik *et al.* 2002). *Azospirillum brasilense* ile inokülasyon, anlamlı olarak pamuğun N içeriğini 0,91 mg bitki⁻¹kadar artırır (Fayez and Daw 1987). Muthukumarasamy *et al.* 1999 tarafından yapılan çalışmada; *Azospirillum* da (özellikle *Azospirillum* tarafından amonyak üretiminin çalışıldığı sera deneylerinde) şeker kamışı yapraklarının N içeriğini arttırdığı belirtilmiştir.

1.5.2. Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi

Ekzopolisakkaritler, bitki büyümesini teşvik edici rizobakterilerin geniş bir varyetesi tarafından salgılanan karbohidrat polimerleridir. Ekzopolisakkaritler, hücre duvarı ile birleşerek kapsül oluşturabilmektedir (Glick *et al.* 1999). EPS biyofilm oluşumu gibi çeşitli süreçlerde (Bhaskar and Bhosle 2005), kurumaya karşı bakteri hücrelerinin korunması için (Pal 1998), predatörlere karşı birincil hücre fonksiyonları ve antibakteriyel aktivite sağlamak için, jelleşme yeteneği ve kirlenici maddelerin degradasyon kinetiği için (Fusconi and Godinho 2002), biyoremediasyon aktivitesi ve plazma yerine kullanma kapasitesi için de önemli roller üstlenir (Allison 1998). EPS üreten bakterilerin; *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus mutans* benzeri suşlar olduğu bildirilmiştir.

Biyofilm (swarming), *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Escherichia*, *Bacillus* ve *Azospirillum* gibi farklı cinse ait yararlı bakterilerin birlikte ya da bulundukları yüzeye yapıştıkları bir mikroorganizma kümesidir. Birbirine bağlı bu bakteri hücreleri genellikle kendilerince üretilen hücre dışı polimerik bir EPS'nin varlığını gerektirir. Bu polisakkaritler, birçok biyolojik süreçte önemli rol oynar ve patojenlerde virülans belirleyici faktör olarak işlev görebilirler (Wang *et al.* 2008). EPS üretimi bakteriler

arasında çok yaygın bir özelliktir ve belki de herhangi bir yüzeyin başarılı kolonizasyonunu elde etmek için kritik bir belirleyicidir. EPS sentezi stresle ilgili olabilir. Buna ek olarak ekzopolisakkaritler hücre agregasyonu ile ilgili olabilir ve EPS sentezi desikasyon şartları ve besinden mahrum şartlar altında bakterilerin hayatta kalma şansını arttırabilir ve ayrıca yüksek oksijen geriliminin önlenmesiyle azot fiksasyonuna yardımcı olurlar (Glick *et al.* 1999).

1.6. Biyokontrol Ajanı Olarak PGPR (Mikrobiyal Antagonizma)

Beattie (2007)'e göre; bitki hastalıklarının etki alanını ya da şiddetini azaltan bakteriler, genellikle biyokontrol ajanı olarak adlandırılırlar ve bu bakteriler engelleyici olarak başka bir patojene karşı da antagonistik aktivite sergilerler. Aşağıda rizosferik ortamda bakteriyal antagonistik aktiviteler vurgulanmaktadır: 1) Kitinaz, glukonaz, proteaz ve lipaz gibi patojenik mantar hücrelerini lize edebilen hidrolitik enzimlerin sentezi (Neeraja *et al.* 2010; Maksimov *et al.* 2011), 2) Kök yüzeyindeki nişlerde uygun kolonizasyon ve besin rekabeti (Stephens *et al.* 1993; Kamilova *et al.* 2005), 3) Bitkide enfeksiyon tarafından dayatılan strese cevap olarak etilen seviyesini ayarlamak için rol alan ACC deaminaz enzimi üretimi aracılığıyla bitki etilen seviyesinin belirlenmesi (Glick and Bashan 1997; Van Loon 2007), ve 4) Sideroforların ve antibiyotiklerin üretimi.

1.6.1. Antagonistik aktivite olarak sideroforların, bakteriyosinlerin ve antibiyotiklerin üretimi

Antibiyozise katkıda bulunan sideroforları ve metabolitleri üretme yeteneğine sahip olan rizobakteriler, PGPR'leri incelemek için yapılan pek çok çalışmanın odak noktası olmuştur (Maksimov *et al.* 2011). Patojenik ve patojenik olmayan mikroorganizmalar tarafından üretilen, siderofor yoluyla demir iyonu alımı pek çok habitatta yaşayan mikroorganizmalarda görülmektedir. Sideroforun önemi, farklı biyolojik süreçler için esansiyel bir element olan demirle sıkı bir şekilde ilişkilidir (Crosa and Walsh 2002). Diğer yandan, bakteriler savunma sistemleri olarak salgıladıkları çeşitli bileşikler ile de

antimikrobiyal aktivite göstermektedirler. Bu anlamda, streptomycesler ve laktobasiller tarafından üretilen geniş spektrumlu antibiyotikler, laktik asit, lizozimler gibi litik ajanlar, ekzotoksinler ve bakteriyosinlerin sayılabilmektedir (Riley and Wertz 2002). Sideroforlar, bakteriyosinler ve antibiyotikler fitopatojenik çoğalmayı en aza indirmek ve önlemek için kullanılan en etkili üçlü ve bilinen en iyi mekanizmalardır.

1.6.2. Siderefor üretimi

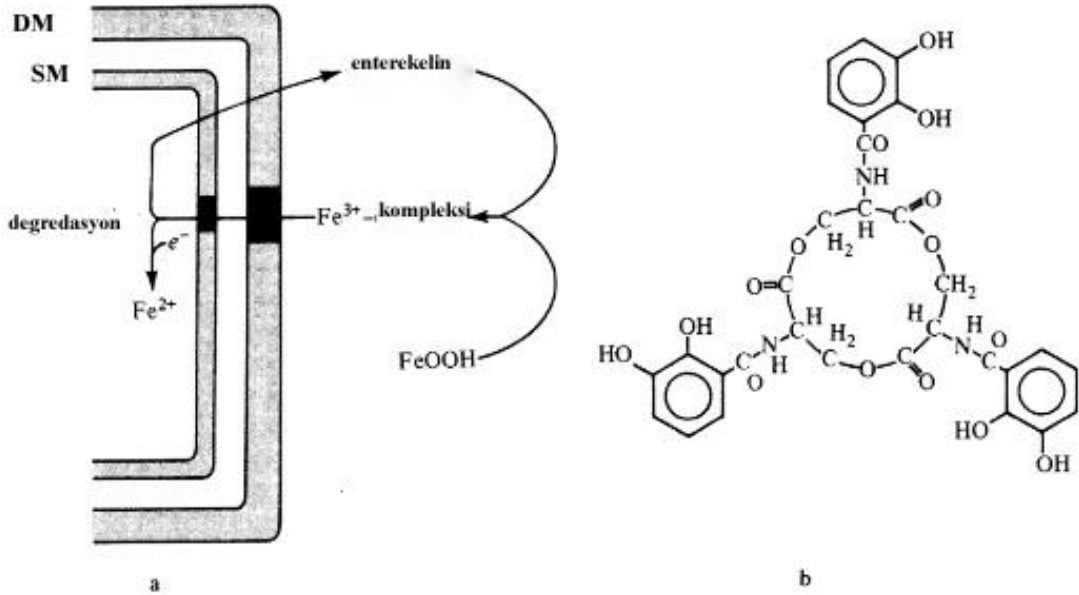
Demir, hayatın hemen hemen tüm yaşam formları için elzem bir besindir. Bazı laktobasiller hariç olmak üzere şimdiye kadar bilinen bütün mikroorganizmaların, esas olarak demire ihtiyaçları vardır (Neilands 1995). Demir, bitkiler için gerekli bir besindir. Respirasyon, fotosentez ve azot fiksasyonu gibi önemli fizyolojik işlemler için gerekli enzimlerin birçoğu için kofaktör olarak görev alır, dolayısıyla demir yoksunluğu pek çok metabolik modifikasyonda sergilenir. Demir, toprakta epeyce çok bulunur, fakat çoğunlukla toprak mikroorganizmaları ve bitkiler için elde edilebilir formda değildir. Aerobik ortamda, demir prensip olarak Fe^{+3} ve çözünemeyen hidroksit ve oksihidroksit gibi formlardan meydana gelmektedir ve hem bitki hem de mikroorganizmaların kullanamayacağı formdadır (Rajkumar *et al.* 2010).

Bakteriler çoğunlukla, demir kompleksi için birleşmede ısrarlı olan siderefor gibi adlandırılan düşük moleküler ağırlıklı demir şelatörlerinin salgılanmasıyla demir edinirler. Siderefor düşük bileşik ağırlıklı (400-1,500 Dalton) tercihen demir şelat (Fe^{+++}) bileşiklerini hücre zarından karşıya geçirerek hücre içine taşır. Ferrikrom, ferrioksamin vb. gibi demir şelatları önceki literatürlerde sidereaminler ve sideramisinler şeklinde iki gruba ayrılmışken, bugün toplu olarak sidereforlar olarak isimlendirilmektedir. Bu moleküller iyonoforlar olarak da bilinmektedirler. Genellikle iki grupta sınıflandırılmışlardır: 1) Hidroksamatlar 2) Katekolatlar. Winkelman ve Dreschel (1997) bakteriyal sidereforları 1) Katekolatlar, 2) Hidroksamatlar, 3) Peptid sidereforları, 4) Mikobaktin, ve 5) Sitrat hidroksamatlar olarak 5 tipte sınıflandırmıştır.

Bakteriler, kompleks için özel olan ve dış hücre zarında yer alan bir reseptörü kullanarak demir-sidereför kompleksini yakalayan sidereförleri orijinal olarak sentezler. Önce demir hücre içinde serbest bırakılır, daha sonra mikrobiyal büyümeyi desteklemek için kullanılabilir. Demir, bakteriler tarafından kullanılan önemli bir mikro besindir ve bakteri metabolizması için esansiyeldir. Toprakta, mikroorganizmalar tarafından doğrudan asimilasyon için mevcut değildir, çünkü doğada daha çok bulunan ferrik demir (Fe^{+3}) çok az çözünür ve mikrobiyal büyümeyi desteklemek için çok düşük konsantrasyondadır. Toprak mikroorganizmaları hayatta kalmak için bu düşük moleküler demir bağlayıcı bileşiği sentezlerler ve salgılarlar. Siderofor üreten bazı önemli bakteriler ve ürettikleri sidereförler *Escherichia coli* (enterobaktin veya enterokelin), *Vibrio cholerae* (vibriobaktin), *Bacillus subtilis* (basillibaktin), ve *Mycobacterium tuberculosis* (mikobaktin), *Streptomyces pilosus* (ferrioksamin B), *Fusarium roseum* (fusarinin C), *Yersinia pestis* (yersiniabaktin), *Azotobacter vinelandii* (azotobaktin), *Saccharopolyspora erythraea* (eritrobaktin) ve *Burkholderia cepacia* (ornibaktin)'dir (Crosa and Walsh 2002). Şekil 1.5'te *Escherichia coli*'nin enterokelin yardımıyla demir alımı şematize edilmiştir. Sidereförler, rizosferdeki Fe^{+3} 'ün çoğunu bağlarlar ve etkin bir şekilde mevcut demirin patojenleri mahrum etmesiyle fungal patojenlerin çoğalmasına engel olurlar (Kloepper *et al.* 1980). Demir eksikliği; büyüme inhibisyonuna, nükleik asit sentezinde sporulasyon inhibisyonunda azalmaya ve hücre morfolojisinde değişimlere neden olduğundan patojenlerin baskılayıcı bir unsur olarak bilinmektedir (Mathiyazhagan *et al.* 2004).

Sidereförlerin çoğu suda çözünebilirler, hücre içi ve hücre dışı sidereförler olarak ayrılabilirler (Khan *et al.* 2009). Hem Gram+ hem de Gram- rizobakterilerdeki, bakteriyal membrandaki Fe^{+3} -sideroför kompleksindeki demir (Fe^{+3}), iç ve dış zarları birbirine bağlayan bir geçit sistemi üzerinden sidereförden hücre içine serbest bırakılan demire (Fe^{+2}) indirgenir (Neilands 1995; Rajkumar *et al.* 2010). Bu nedenle sidereförler, sınırlı demir koşulları altında minerallerden ya da organik bileşiklerden demir çözüldürücü ajan olarak hareket ederler (Indiragandhi *et al.* 2008). Sidereförler yalnızca demirle değil aynı zamanda U ve Np içeren radyonüklidlerin yanısıra Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb ve Zn gibi çevresel tehdit oluşturan ağır metaller ile de kararlı bileşik oluştururlar

(Kiss and Farkas 1998; Neubauer *et al.* 2000). Sidereforların bir metale bağlanması çözünür metal konsantrasyonunu artırır (Rajkumar *et al.* 2010). Bu nedenle, bakteriyel sidereforlar, ağır metallerin topraktaki yüksek seviyelerinin bitkiler üzerinde oluşan yüksek stresinin hafifletilmesine yardımcı olurlar. Bakteriler metal bulunan ortamlarda yaygın olarak bulunurlar ve ağır metallere tutunarak birikirler. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarları metal bağlama özelliğine sahiptir. Bazı bakteriler metal bağlayan polisakkarit üretirler. Buna ilaveten manganez, nikel ve demir gibi metalleri özel reseptörlerle yoluyla absorbe ederler. Demir bulunan ortamda, bakteriler ferrik demiri bağlayan ve taşıyan siderofor üretirler. Bu sideroforlar mineral ya da organik maddelerden demirin hücre dışında çözünür duruma getirilmesinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Siderefor üreten rizobakteriler çeşitli düzeylerde bitki sağlığını geliştirirler; antibiyotik moleküllerini salgılayarak ve patojenler için var olan demirin sınırlandırılmasıyla patojenlerin büyümesine engel olarak diğer mikroorganizmaların büyümesini kısıtlarlar (Jha and Saraf 2015).



Şekil 1.5. a. *E. coli*'de enterokelin yoluyla demir alımı **b.** Enterokelinin formülü (Gottschalk 1986).

1.6.3. Antibiyotik üretimi

Antibiyotikler, diğer mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri ya da büyümeleri için zararlı olan düşük molekül ağırlıklı bileşikler olan organiklerin heterojen bir grubunu kapsamaktadır (Duffy *et al.* 2003).

Haas and Défago (2005)'e göre; antibiyotik bileşiklerinin altı sınıfı (bunlar etki biçimleri kısmen belirlenmiş olanlar) kök hastalıklarının biyokontrolleri ile daha çok ilgilidir; fenazinler, filoroglukinoller, piyoluterin, pirolnitritin, siklik lipopeptitler (hepsi yayılabilir) ve hidrojen siyanürdür (HCN, uçucudur). Antibiyotiklerin pek çok türü, fungal ve bakteriyel suşlardan izole edilmiştir ve bu çeşitlilik genellikle patojen hücre duvarlarının sentezini inhibe eden etki mekanizmalarını içermektedir (Maksimov *et al.* 2011). *P. fluorescens* BL915 suşu tarafından pirolnitritin; *Pseudomonas*lar tarafından 2,4- diasetilfiloroglukinol (DAPG), fenazin; *P. chlororaphis* PCL1391 suşu tarafından fenazin-1-karboksamit; çoğunlukla *Bacillus* spp. tarafından ise polimiksin, sirkulin ve kolistin; *B. cereus* UW85 suşu, zwittermisin A (aminopolyol) ve kanosamin (aminoglikozid) gibi antibiyotikler üretirler. Bir biyolojik çözültinin biyokontrol ajanı olarak hareket etmesi için, bazı araştırmacılar bakterilerle ilgili olarak inokule ürünün formülasyonu ve stoklanması sırasında yüksek populasyon dengesini sunabilen *Bacillus* ve *Paenibacillus* spp. gibi spor yapan Gram pozitif türlerin kullanımını vurgulamışlardır (Emmert and Handelsman 1999; Kokalis-Burelle *et al.* 2006). Siderofor üretiminin yanı sıra, pseudomonad suşlarının biyokontrol yeteneği, bitkideki sistemik direncin indüklenmesine, girişken kök kolonizasyonuna ve antifungal antibiyotiklerin üretimine bağlıdır (Haas and Keel 2003). Bir ya da daha fazla antibiyotik üretimi, en çok fitopatojenlere karşı antagonistik ajanlar olarak hareket eden PGPR'nin yeteneğiyle bağlantılı bir mekanizmadır (Glick *et al.* 2007). Antibiyozun temeli olan biyokontrol aktivitesi son yirmi yılı aşkın zamandır daha iyi anlaşılır hale gelmiştir ve bu hedef patojenin büyümesini azaltan ya da öldüren moleküllerin salgılanması temeline dayanmaktadır (Dowling and O'Gara 1994; Whipps 2001; Lugtenberg and Kamilova 2009).

1.6.4. Bakteriyosinler

Mikrobiyal savunma sistemlerinde kullanılan diğer moleküller bakteriyosinlerdir. Riley and Wertz (2002) tarafından yapılan bir derlemeye göre; bakteriyosinler kritik bir şekilde geleneksel antibiyotiklerden farklıdır; onlar genel olarak nispeten daha dar bir öldürme spektrumuna sahiptir ve üretilen suşla yakından ilgili olan bakterilere karşı yalnızca toksiktirler. Hemen hemen bütün bakteriler en az bir bakteriyosin yapabilir, Gram negatif bakterilerden izole edilen pek çok bakteriyosinin, mevcut bakteriyosinlerin arasındaki rekombinasyonla oluşturulduğunu göstermektedir (Riley 1993). *Escherichia coli*'nin bazı suşları tarafından üretilen bir protein olan kolisinler ilgili suşlar için öldürücüdür ve Gram negatif bakteriler tarafından üretilerek en iyi temsil edilen bakteriyosinlerdir. *E. coli*'den elde edilen Kolisin gibi, *Pseudomonas. aeruginosa* suşundan piyosin, *Enterobacter cloacea*'dan klosin, *Serratia marcescens*'den markeskinler ve *Bacillus megaterium*' dan megasinler de tanımlanmış ve isimlendirilmiştir (Cascales *et al.* 2007). İlginçtir ki; *Bacillus spp.*'den elde edilen bakteriyosinler, insan ya da hayvanlar için patojenik oldukları bilinen bazı Gram pozitif türlerle ek olarak, Gram negatif bakterileri, mayaları ya da fungusları içerebilen, onların daha geniş spektrumlu inhibisyonundan (çoğu laktik bakteriyel bakteriyosinler ile karşılaştırıldığında) dolayı giderek artan bir şekilde önem kazanmışlardır (Abriouel *et al.* 2011).

1.7. Biyogübre Olarak PGPR

Biyogübreler canlı mikroorganizmalar içeren ürünler olarak tanımlanabilir; tohuma, bitki yüzeyine ya da toprağa uygulandığında, rizosfer ya da bitki içerisine kolonize olurlar ve konukçu bitkiye birincil besinleri hazırda bulundurulmasını ya da tedarik edinimini arttırarak bitki büyümesini teşvik ederler (Vessey 2003). Biyogübreler, küresel olarak tarımsal üretim ve ekonomi için çok önemli bir role sahiptir ve organik tarımın çok önemli bir yönü haline gelmiştir. Mishra *et al.* (1995)'a göre biyogübreler, tohuma, köklere ve toprağa uygulamalarda kullanılan azot fiksasyonu, fosfat çözündürücü veya selüloolitik mikroorganizmaların yaşayan ya da latent hücrelerinin bir

karışımıdır ya da bitkiler tarafından kolaylıkla sindirilebilen ya da absorbe edilebilen besinlerin kullanılabilirliğini arttıran mikrobiyal süreçleri hızlandıran ya da mutualistik yararlı mikroorganizmaların miktarının artırılması amacı ile alanları gübrelemek amacıyla üretilen materyallerdir (Mishra *et al.* 2013; Malusá and Vassilev 2014). Bir biyogübrenin, bitkilerin ulaşabileceği besinleri arttırarak ya da topraktan bitkinin aldığı besinlere takviye sağlayarak bitkilerin gelişimini ve büyümesini arttıran bir ya da daha fazla mikroorganizmayı içerecek şekilde formüle edilmiş bir ürün olduğu da ileri sürülmüştür (Malusá and Vassilev 2014). Biyogübre üretimi genellikle bitki büyümesini teşvik eden mikroorganizmalara [Plant growth promoting microorganisms (PGPM)] dayanmaktadır. PGPM, baskın olarak üç mikroorganizma grubu halinde sınıflandırılabilirler: Arbuskular mikorizal fungi (AMF) (Jeffries *et al.* 2003), bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler (PGPR) (Podile and Kishore 2007), ve bitki büyümesi ve beslenmesi için yararlı olabileceğine inanılan azot fikse edici rizobakteriler (Franche *et al.* 2009). Ancak, artan ürün verimi ve toprak verimliliğine katkıda bulunan, biyogübre olarak dünya çapında PGPR'lerin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Bu nedenle, PGPR' nin potansiyel katkısı sayesinde, sürdürülebilir tarım ve ormancılık alanında önemli yol katedilebilmiştir (Khalid *et al.* 2009). Bazı çalışmalarda, büyümeyi teşvik edici etkilere ve bitkilerin biyokontrolünü arttıran etkilere sahip olan PGPR'ler eklenerek hazırlanan formülasyonlar biyogübre özelliği göstermektedirler (Chen *et al.* 2011) *Bacillus* spp. (Gong *et al.* 2006) ve *Pseudomonas* spp. (Leonardo *et al.* 2006) etkili biyokontrol ajanı olarak bildirilmiş iki PGPR'dir. Bu bakteri türleri arasında, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Bacillus cereus* çeşitli mekanizmalarla bitki hastalıklarını kontrol etmede en etkili türlerdendir (Francis *et al.* 2010). Geniş çevresel koşullarda canlı kalmak için özellikle *Bacillus* spp. gibi PGPR'ler endospor oluşturma yeteneğine sahiptir, böylece biyogübrelerin etkili formülasyonlarını oluştururlar (Pérez-Garcia *et al.* 2011). Biyogübrelerdeki PGPR'lerin yeterli yoğunlukları, bitki büyümesi için uygun bir rizosfer oluşmasında ve örneğin N, P, K'nın kullanılabilirliğini arttıran hem de patojen büyümesinin önlenmesi gibi biyolojik süreçler yoluyla önemli elementlerin dönüşümünde yararlı bir rol sağlar (Waddington 1998; Vessey *et al.* 2003). N, P ve K'nın yüksek kullanılabilirliği, toprak verimliliğini arttırabilir, antagonistik izolatların biyokontrol etkilerini geliştirebilir ve topraktaki mikroorganizmaların aktivitelerini devam ettirmesini sağlayabilir (Yang *et al.* 2009).

PGPR'ler toprak, bitki kökleri ve mevcut mikroorganizmalar arasında besin döngüsünün yerini dolduran ya da yeniden inşa edebilen bir bitki besini ve zenginleştirici besin kaynağı olarak hareket ettiklerinde biyogübre olarak sınıflandırılabilir. Burada yakalanmak istenen, "yaşayan" biyogübrelerin kendi kendilerine sürdürüp sürdürülmeyeceği ya da sürekli olarak toprağa yeniden uygulanabilir olup olmadığı ve de aşırı kullanım şeklinin topraktaki mikroorganizma etkileşimini istikrarsızlaştırıp istikrarsızlaştırmayacağıdır (Vejan *et al.* 2016).

1.8. Çok Yönlü Ajan Olarak PGPR Uygulamaları

PGPR'nin etkisi, laboratuvar koşulları altında, sera ve tarla denemelerindeki ürün verimliliği üzerinde değişim göstermektedir. Çünkü, toprak öngörülemez bir ortamdır ve bazen istenen bir sonucu elde etmek zordur. İklimsel değişimler de PGPR etkinliği üzerinde büyük bir etkiye sahiptir ama bazen tarımın normal işleyişi olarak beklenen tarladaki büyüme koşulları elverişsizdir (Zaidi *et al.* 2009). Fosfat çözme, azot fiksasyonu, ACC deaminaz ve antifungal aktivite, IAA ve siderefor biyosentezi vb. gibi bitki büyümesinin teşvikinden ve verim artışından sorumlu olan pek çok mekanizma, "katkı hipotezi" nde öne sürülmüşken, bitki büyümesini teşvik edici özellikler birbirinden bağımsız olarak çalışmaz (Bashan and Holguin 1997). Hem doğal tarımsal ekolojik nişlerde hem de kontrollü toprak çevrelerinde PGPR uygulamaları ile, farklı kültür bitkilerinin verimindeki artış gözlenmiştir. Genetiği değiştirilmiş bitkiler tarafından üretilen besinlere temkinli yaklaşılan son yıllarda PGPR, bitki büyümesinin teşvik edilmesinin bir aracı olarak avantajlı olabilir. PGPR'nin geniş çaplı uygulaması tarım kimyasallarına olan küresel bağımlılığı azaltabilir. Bunun yanında, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çiftçilere kolayca erişilebilen bir yöntem sağlayan avantajlar arasındadır (Gamalero *et al.* 2009).

1.9. Buğday

1.9.1. Türkiye’de ve Dünya’da buğdayın önemi

Artan Dünya nüfusuna paralel olarak, insanların beslenmesi yönünden hayvansal ve bitkisel gıdalara olan gereksinim giderek artmaktadır. Bu ihtiyaca binaen sürdürülebilir tarım ve buna bağlı üretimin artırılması amacıyla çalışmalar halen devam etmektedir. Günümüz koşullarında özellikle bitkisel gıda ihtiyacının karşılanması ancak birim alandan daha fazla elde edilen bitkisel ürün miktarı ile sağlanabilecektir.

İnsan yaşamının sürdürülebilirliğini sağlayan gıdalar çok çeşitli ürünlerden oluşmaktadır ve bu ürünlerin kökenleri, işlenebilirlikleri birbirlerinden farklıdır (Canbas and Fenercioglu 1984). Bu ürünlerin en başında, giderek artan dünya nüfusunda geçmişten günümüze kadar insanlar tarafından temel gıda hammaddesi olarak kullanılan tahıl ve tahıl ürünleri (hububatlar) gelmektedir (Tangüler ve Erten 2009). Tahıl terimi “Gramineae” familyasından hasat edilen ve onların tohumları olan buğday, mısır, çavdar, çeltik, arpa, yulaf, kuşyemi ve darı gibi tanelere verilen isim olarak kullanılmaktadır ve dünyanın pek çok yerinde yaygın olarak bulunarak, yiyecek olarak tüketilen bitkisel ürünler olarak bilinmektedir (Altan 1986). Kullanım alanlarının çeşitliliği, tahıl kaynaklı üretilen mamuller, hayvancılıkta kullanılmak için yem ve tarıma dayalı hammadde sektörüne hammadde temin etmek amacıyla hem ülkemizde hem de dünyada insan beslenmesinde her geçen gün tahılların önemi artış göstermektedir. Ayrıca tarım sektöründe yer edinen tahıl üretimi genel ekonominin de temelini oluşturmaktadır.

İnsanların beslenmesinde önemli bir yere sahip olan tahıllar, insanların günlük olarak ihtiyaç duyduğu protein ve kalorinin %50’sinden fazlasını sağlamaktadır. Beslenmede çok önemli yere sahip olan tahıllar insan metabolizması için gereken enerjinin çoğunu sağladığı gibi aynı zamanda başta tiamin olmak üzere B grubu vitaminler, mineraller ve protein gereksiniminin karşılanmasına da ön ayak olmaktadır (Özer *et al.* 2009). Gelişen dünya ülkelerinde ve ülkemizde tahılların hem hayvan beslenmesindeki önemi

de hem de insan tüketimindeki günlük yeri dikkate alındığında günlük besin tüketiminin $\frac{3}{4}$ 'ünü tahılların oluşturulduğu görülmektedir (Kün 1988).

Dünya'da en çok üretilen tahıllardan biri de buğdaydır. Buğday, Dünya'da üretimi gerçekleştirilen kültür bitkileri arasında ekim alanı bakımından birinci, üretim ve verimde ise mısır ve çeltik gibi diğer tahıl cinslerinden sonra 3. sırada yer almaktadır (Anonim 2013b). Buğday (*Triticum aestivum*, ekmeklik buğday), Dünyada tarımı yapılan ilk bitkilerden tek yıllık otsu bitki cinsi olup, Poaceae familyasının bir türüdür (Rana vd 2011; Singh *et al.* 2012; Durairaj *et al.* 2014). Buğday; ilk insanlar tarafından kültüre alınmış ve MÖ 5000 yıllarında Türkiye'nin kuzeyi ile Kafkasya'nın güneybatısında ortaya çıkarak Mısır ve Mezopotamya aracılığıyla Avrupa ve Asya'ya yayılmıştır (Tay 2014). MÖ 7000-8000 yıllarında Batı Asya'da yetiştirilmeye başlanmış olup, zamanla Asya'nın orta bölgelerine, Güney Avrupa'ya yayıldığı, keşiflerden sonra Avustralya ve Amerika kıtalarına da ulaştığı bildirilmiştir (Dıraman 2004; Dizlek 2010).

Buğdayı diğer tahıllardan ayıran en önemli özellikler;

- Dünya'da ve ülkemizde en temel gıda maddesi olarak kullanılan ekmeğın hammaddesi olması, dolayısıyla hammadde pazarında yoğun olarak ticaretinin yapılması ve bu sayede ekonomiye büyük oranda etki ve katkıda bulunması,
- En çok tüketilen ana besin kaynaklarının başında gelen ekmeğın yapımında kullanılması ve içerisinde %85 oranında Gliadin, Glutenin gibi proteinler bulundurması,
- İnsan beslenmesi için gerekli olan protein, mineral, vitamin gibi pek çok besin ögesini yapısında bulundurması ve ayrıca yetersiz besin ögeleriyle kolaylıkla takviye edilebilmesi,
- Buğday içeriğinin lipitçe düşük, kuru maddece %85-90 oranında olması (Buğday tanesinin kimyasal bileşimi; karbohidratlar (%65-75), proteinler (%7-18), su (%8-14), lipitler (%1-3), mineral maddeler (%1-2) ve eser miktarda vitaminler ile enzimlerden oluşması) (Elgün and Ertugay 1997) bu sayede depolama ve taşımada daha az sorun çıkarması ve

- Pek çok toplumun beslenme alışkanlığına hitap etmesi, farklı yönde kullanım alanlarının çok fazla olması (un, bulgur, ekmek, makarna, kek, bisküvi ve kurabiye gibi pek çok yarı mamul ve/ya mamul ürüne işlenerek insan beslenmesinde, buğday sapları kağıt ve karton sanayiinde ve hayvan beslenmesinde), adaptasyon sınırının genişliği ve üretim, depolama, işleme kolaylığıdır.

Tüm bu özelliklerinden dolayı pek çok ülke tarafından buğday stratejik bir ürün olarak yetiştirilmektedir (Dizlek 2010, Tangüler *et al.* 2015). Bu nedenle kendi ülkemiz ve tüm dünya çapındaki ülkeler için yeterince buğday üretimi yapmak ve stoklarımızda buğday bulundurmak stratejik olarak çok önemlidir.

Tarım yapılan arazilerde verimliliği olumsuz yönde etkileyen etmenlerden en önemlisi tuzluluktur (Dinç vd 1993). Dünyada ve ülkemizde tarımı yapılan buğday bitkisi, tarımının yapıldığı topraklarda çeşitli sebeplerle giderek artan tuzluluk ve kuraklıktan son derece etkilenmekte ve buğday tarımı bu sebepten büyük zarara uğramaktadır. Dünyada tarım arazilerinin sınırlı olduğu ve besin ihtiyacının katlanarak arttığı ve hem üretici hem de tüketiciler tarafından en önemli sırada yer alan tahıllardan birinin buğday olduğu dikkate alınırsa en azından mevcut arazilerin daha verimli kullanılması gerektiği ve tuzluluk probleminde bir çözüm bulunması gerektiği aşîkardır. Tuzlu topraklarda yetiştirilen buğday bitkisinin ürün veriminde azalma olmakta, toprakta artan osmotik potansiyelden dolayı bitkinin suyu yeteri kadar kullanamaması veya tuzlu topraklarda aşîrı miktarda bulunan Na^+ , Cl^- gibi iyonların neden olduğu toksik etkiler ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden tuzlu toprakların ıslahı ve ekonomik bir şekilde değerlendirilmesi ya da tuzluluk stresine maruz kalan buğday bitkisinin tuza dayanıklılığını arttırmak, tuz stresinin üstesinden gelebilmesi için çalışmalar yapmak son derece önem arz etmektedir.

1.10. Araştırmanın Amacı

İdeal bir sürdürülebilir tarım sistemi; insan sağlığını geliştirir ve korur, hem ekonomik hem de ruhsal olarak üretici ve tüketicilere fayda sağlar, çevreyi koruyarak artan dünya

nüfusu için yeterli gıda üretir. Dünya’da tarımsal üretim için en önemli engellerden birisi çevrede abiyotik stres koşullarının hakim olmasıdır. Tuzluluk, kültür bitkilerinin verimliliğini sınırlandıran en önemli abiyotik stres faktörlerinden birisidir, bu bitkilerden insanlık için hem gıda olarak hem de ekonomik olarak büyük öneme sahip olan tahıllardan biri olan buğday topraktaki yüksek tuz konsantrasyonundan kaynaklanan tuzluluğa karşı oldukça duyarlıdır. Buğday tarımı yapılan alanlarda ortaya çıkan kayıplar çoğunlukla kuraklık ve yüksek toprak tuzluluğundan kaynaklanmaktadır ve tuzluluktan etkilenen arazi alanı her geçen gün artmaktadır. Geniş bir yelpazede bu tür etkiler ile başa çıkmak için yaygın bir oranda adaptasyonlara ve zararı azaltma stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte, bu tür stratejiler uzun süren sonuçsuz ve maliyeti yüksek olan stratejilerdir, kısa vadede de kullanılabilir tuz stresi yönetimi için basit ve düşük maliyetli biyolojik yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Böyle tuzlu koşullara tolerans, genetik çeşitlilik, uyumlu çözümlerin sentezi, bitki büyümesini teşvik edici hormonların üretimi, biyo-kontrol potansiyeli ve kültür bitkileriyle olan etkileşimleri gibi kendilerine özgü özellikleri istismar edilmediği takdirde, halotolerant PGPR’ler bu bağlamda buğday bitkisinin verimliliğini arttırmada önemli rol oynayabilecektir. Çalışmamızda tuzlu habitatlardan halotolerant/halofilik PGPR’ler izole edilerek, bu izolatlardan azot fiksasyonu, fosfat degradasyonu yapabilme, ACC deaminaz, IAA sentezleyebilme, siderefor üretebilme gibi yeteneklere sahip olan izolatlarla tuzluluk stresinin üstesinden gelinmesi, tuzluluk stresine maruz kalmış topraklarda buğday bitkisinin veriminin artırılması amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmamızda elde edilen izolatların, yalnızca tuz stresine maruz kalmış topraklarda değil aynı zamanda normal koşullar altında da bitki büyümesini ve gelişmesini teşvik edici özelliklere sahip olup olmadıklarının belirlenmesi hedeflenmiştir ve buğday yetiştiriciliğinde biyogübre olarak kullanılıp kullanılmayacağı da araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çeşitli çalışmalar tuz stresi altında; halotolerant, halofilik bitki büyümesini teşvik edici rizobakterilerin uygulanmasıyla farklı bitki türlerinin sağlığının ve verimliliğinin arttığını ortaya çıkarmıştır. Bitkiye yararlı rizobakteriler, tarımsal ekosistemleri istikrarsızlaştıran tehlikeli tarım kimyasallarına olan küresel bağımlılığı azaltmaktadırlar. PGPR'ler hem kaynak edinimine yardımcı olarak hem bitki hormon seviyelerini modüle ederek hem de biyokontrol ajanı formunda çeşitli patojenlerin inhibitör etkisini azaltarak, doğrudan ya da dolaylı olarak, bitki büyümesi ve gelişmesini teşvik ederler. Bugünkü görüşler, bitki büyümesini teşvik edici rizobakterilere olan algıyı vurgulamaktadır. Bundan başka, bitki büyümesini teşvik edici rizobakterilerin farklı mekanizmaları ile ilgili açık görüşler, son gelişme ve araştırmalarda detaylı bir şekilde tarif edilmekte, farklı tarımsal ekosistemlerdeki bu yararlı kök bakterilerinin uygulanabilirliğinin örnekleri, gelecekteki anlayışları ve son trendlerini vurgulamak ve geliştirmek amacıyla hem normal hem de stres koşullarında kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Alkali topraklarda gelişen *Prosopis juliflora* rizosferinden, rizoplaninden ve serbest toprağından izole edilen bakteriler, %5 tuz içeren NBRIP sıvı besiyerinde farklı sıcaklık, tuz, pH'da geliştirilmiştir. Test edilen bakteriler arasında kontrol grubuna göre en iyi fosfat çözündürücü etkiyi, NBRI4 suşunun sağladığı görülmüştür ve Johri *et al.* (1999) tarafından yapılan çalışmayla, NBRI4 suşunun fosfat çözündürebilme yeteneğinde kalsiyum tuzunun büyük etkisi olduğu belirlenmiştir.

Bradyrhizobium suşunun tuz toleransının (88 mM, 264 mM and 440 mM NaCl) biyokimyasal ve fizyolojik karakterleri, ekzopolisakkarit üretimi ve plazmit profili, antibiyotiklere direnci, büyüme oranı, farklı karbon kaynaklarını kullanma kapasiteleri Barboza (2000) tarafından değerlendirilmiştir. Çalışmada tuza toleranslı suşlar, ekzopolisakkarit üretimini ve büyüme oranlarını arttırarak C kaynaklarını (yaklaşık 75-85 bileşik) okside etme kapasitesini arttırmıştır. Sonuç olarak olumsuz tuzlu ortamlarda kolonize olmak için en iyi şekilde adaptasyon sağladığı belirtilmiştir. Çalışmada, tuz

stresinin iyileştirme ajanı olarak iş gördüğü ve *Rhizobium*da olduğu gibi plazmitlerin varlığında biyolojik azot fiksasyonu için önemli olduğu vurgulanmıştır.

Tuzdan etkilenmiş alanlarda bulunan *Launea nudicaulis* bıkisinden izole edilen tuza toleranslı çeşitli bakteri izolatlarının *Triticum aestivum* Inq 91 ve Rawal 87 türleri üzerindeki etkileri Afrasayab *et al.* (2001) tarafından çalışılmıştır. Çalışmada inokulasyon yapılan ve yapılmayan tohumlar 10 gün boyunca tuz stresi (0, 50 ve 100 mM NaCl) altında çimlendirilmiş ve geliştirilmiştir. Bakteri inokulasyonları genel olarak her iki türde de çimlenme, filizlenme, yaş ağırlık, oksin ve çözülebilir protein içeriği üzerinde uyarıcı etki gösterirken, kuru madde ağırlığında azalma görüldüğü belirtilmiştir. Tuz stresiyle Inq 91'in gelişimini olumsuz etkilediği ancak, bakteriyel inokulasyonların uygulanmasıyla Rawal 87'ye göre Inq 91'de büyüme gelişiminin görüldüğü rapor edilmiştir.

Bacilio *et al.* (2004) tarafından; yeşil floresan protein geni (GFP) ile etiketlenmiş *Azospirillum lipoferum* JA4 ngfp15 ile kök inokulasyonu yapılmış ve buğday tohumları üzerindeki NaCl stresini azaltma ve kök kolonizasyonu üzerine çalışılmıştır. *A. lipoferum* inoküle edilen buğday bitkisine, 80 mM ve 160 mM NaCl ile devamlı sulama yapılmıştır. Çalışma sonucunda modifiye edilmiş *A. lipoferum*'un NaCl'nin zararlı etkilerini azalttığı ve bitkilerle bakteriler arasındaki etkileşim üzerinde istenmeyen etkilere neden olmadığı ve kökler üzerindeki kolonizasyonu etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Ashraf *et al.* (2004) tarafından beş ekzopolisakkarit (EPS) üreten bakteri uygulamasının orta dereceli tuzlu toprakta yetişen buğday bitkisinin K^+ , Na^+ ve Ca^{2+} alımı ve kuru madde verimi üzerindeki araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan bakteriler tuzdan etkilenmiş topraklarda yetişen buğday bitkisinin rizosfer toprağından izole edilmişlerdir. Çalışma sonunda inokulasyonun köklerdeki kuru madde ağırlığını (%149–527), sürgün sayısını (%85–281) ve rizosfer toprağındaki yoğunluğu (%176–790) arttırdığı ve seçilen EPS üreten bakterilerle yapılan inokulasyonun tuza duyarlı bitkilerde tuzluluğu azaltıcı yararlı bir araç olarak kullanılabileceği önerilmiştir.

Nabti *et al.* (2007), osmotolerant rizosfer suşu olan bakteriyel izolatın [*Azospirillum brasilense* (NH)] inokulasyonu ile tuz stresi altında buğday bitkisinde büyüme parametrelerini incelemiştir. Çalışma sonunda, *A. brasilense* (NH)' nin inokulasyondan sonra 150 mmol/L ve 200 mmol/L NaCl varlığında normal buğday gelişimini sağladığı ve tuzlu şartlar altında, *A. brasilense* Sp7 suşunun halotolerant olmayan tip suşa göre buğdayın bitki büyümesi teşvikinde önemli derecede üstün olduğu belirtilmiştir. Yine çalışmada, osmoprotektif *Ulva lactuca* ekstraktlarının varlığında yapılan saksı ve tarla denemelerinde uygulanan yüksek tuz konsantrasyonlarına rağmen *A. brasilense* (NH) inokulasyonu ile buğday bitkisinin gelişiminde pozitif etki sağladığı sonucuna ulaşılmıştır.

Abbaspoor *et al.* (2009) tarafından yapılan çalışmada, tuzlu şartlar altında iki buğday çeşidinin ürün verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmada, *Pseudomonas fluorescens* 153, 169 ve *Pseudomonas putida* 108 suşları kullanılmıştır. Buğday tohumları bu suşlar ile aşılama sonrası ekilmiştir. Tane verimi, kök kuru ağırlığı (biyolojik verim), sürgün başına tane, tane ağırlığı ve sürgün sayısı olmak üzere beş özellik belirlenmiştir. Sonuçlar %5 düzeyinde tuzluğun azaldığını göstermiştir. Bakteriyel inokulasyonun tane veriminde, tane ağırlığında ve sürgün sayısında önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Genel olarak; bu suşların tuzlu koşullar altında buğday büyümesi ve verimini geliştirdiği ve tuz stresinin aşılmasında kullanılabilecek olduğu sonucuna varılmıştır.

Jalili *et al.* (2009) tarafından yapılan çalışmada, kanola bitkisi (*Brassica napus* L.) büyümesi üzerinde tuzluluğun stres yapıcı etkisini hafifletebilen *Pseudomonas fluorescens* ve *Pseudomonas putida* izolatlarının etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonunda, azot kaynağı olarak ACC'den yararlandıkları, ACC deaminaz üretiminin yanı sıra oksin ve hidrojen siyanid sentezleyebildikleri ve tuz stresi altında bu suşlarla inokulasyon yapılarak çimlenen tohumlarda çok yüksek oranda fide büyümesi gerçekleşeceği görülmüştür.

Upadhyay *et al.* (2009) yaptığı çalışma ile yüksek tuz konsantrasyonunda (%2, 4, 6 ve 8), buğday bitkisinin tuzlu rizosferinden izole ettikleri 130 suşun bitki büyümesini teşvik edici özellikleri bakımından test etmiş, bunlardan 24'ünün %8 NaCl'ye karşı toleranslı olduğu tespit edilmiştir. tuza toleranslı olduğu tespit edilen suşların IAA, siderefor ve giberellin üretebildiği, fosfat çözebildiği belirlenmiştir. yapılan tanı sonuçlarında bu suşların birçoğunun *Bacillus* ve *Bacillus*'dan türemiş suşlar olduğu sonucuna varılmıştır.

Öğütçü *et al.* (2010) tarafından yapılan çalışmada çok yıllık yabani nohut (*Cicer anatolicum*) bitkilerinden izole edilen *Rhizobium leguminosarum* bv. *ciceri* DN1, DN7, TN3 ve TN4 suşlarının tuzlu koşullar altında simbiyotik etkinlikleri test edilmiştir. Bu suşlarla inoküle edilen nohut bitkisi saksılara ekilmiş ve farklı tuz seviyelerinde (0, 50 ve 100 mM NaCl) yetiştirilmişlerdir. Yetiştirilen nohut bitkilerinin kök ve sürgün kuru ağırlığı, kök/sürgün oranı, nodul sayısı ve kuru ağırlığı, bitki klorofil ve azot içeriği, toplam ve fikse edilen azot miktarı gibi parametrelerine bakılmış tuzluluğun konsantrasyonu arttıkça bu parametrelerde azalma gözlenmiştir. Ancak DN7, TN4 ve standart bakteri kültürü ile inoküle edilen nohut, DN1 ve TN3 suşu ile aşıl原因an bitkilere nazaran daha yüksek sürgün kuru ağırlığı, nodul kuru ağırlığı, toplam ve fikse edilen azot miktarına sahip olmuşlardır. Çalışmada, DN7 ve TN4 suşları yabani nohut bitkilerinden izole edilen *Rhizobium leguminosarum* bv. *ciceri* suşları ile yapılan inokülasyonların nohudun tuzlu şartlardaki gelişim ve dayanıklılığını artırabileceğini sonucuna varmışlardır.

Tank and Saraf (2010) tarafından yapılan çalışmada; tuz stresi altında izolatların bitkilerin büyümesini teşvik edici özellikleri test edilmiştir. Seçilen tüm izolatların %6 NaCl konsantrasyonuna uyarlanan ortamda, fosfat çözebilmesinin, fitohorhormon, siderefor ve ACC deaminaz üretebilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir. NT1, laboratuvar koşulları altında fosfat çözücü zon (25 mm), siderefor üretimi (1000 µg ml⁻¹) ACC deaminaz üretebilme potansiyeli (50 µM mg⁻¹h⁻¹) göstermiştir. Diğer taraftan,%2 NaCl stresi altında domates bitkileri üzerinde yapılan saksı çalışmaları C4 ve T15' in en iyi büyüme düzenleyicileri olduğunu kanıtlamıştır. Tuz yokluğunun yanı

sıra aşılama yapılmayan bitkilere kıyasla, tuz eklenmiş C4 suşu ile muamele edilmiş bitkiler %50 oranında kök ve sürgün boyunu arttırmıştır. C4 suşu bitkilerdeki tuz toleransını arttırmanın yanı sıra, bitkiler üzerinde tuz stresini azaltarak NaCl alımını azaltmıştır. C5 suşu topraktaki tuz konsantrasyonunun azalmasının yanı sıra bitkiler tarafından tuz alımının artmasıyla domates bitkisindeki biyokütleyi arttırdığı belirlenmiştir.

Afrasayab *et al.* (2010); farklı kaynaklardan (toprak, bitki) izole edilen bakterilerin ve onların transforme suşlarının 100 mM NaCl stresi altında *Triticum aestivum* var. İnqlab-91 üzerine etkilerini çalışmıştır. Çalışma sonunda, tuz stresinin inokülasyon yapılmamış bitkilerde çimlenmede (%19,4), filiz büyümesinde (%46) ve yaş ağırlıkta (%39) azalmaya sebep olduğu, tuz stresi altında ve tuzsuz ortamlarda hem yabancı hem de transforme suşların çimlenmeyi, filiz büyümesini ve yaş ağırlığını uyarıcı etkide olduğu belirtilmiştir. 100 mM NaCl'li ortamda, *Staphylococcus xylosus* ST-1'in, fide uzunluğunun %25 artmasına sebep olduğu, tuzsuz kontrolle karşılaştırıldığında tuz stresi altında %49 çözülebilir protein içeriğini önemli ölçüde arttırdığı ve 100 mM NaCl'de ana suş PT-5'in, protein içeriğinde %32 artış sağladığı belirtilmiştir. Tuz stresi tohumlardaki oksin içeriğinin artmasını indüklediği ve genel olarak, tuz stresi altında *Bacillus subtilis* HAa2 ve transforme *E. coli*-SP-7-T'nin, kontrolle karşılaştırıldığında oksin içeriğinde %33 ve %30 artışa neden olduğu kaydedilmiştir.

Yıldırım *et al.* (2011) tarafından yapılan çalışmada, PGPR'lerin tuz stresi altındaki marul bitkisinin verimi, besin alımı, klorofil içeriği ve gelişimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tohumların inokülasyonunda yüksek tuz içeriğine sahip topraklardan izole edilen *Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus sphaericus*, *Staphylococcus kloosii* ve *Kocuria erythromyxa* gibi bakteri türleri kullanılmıştır. Saksıların sulanmasında ise 0, 50 ve 100 mM NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Çalışmada tuz stresi altında PGPR'lerin genellikle yapraktaki bitki besin elementleri içeriğini arttırdığı ve tuz stresi altındaki marul bitkisinin büyüme ve beslenme parametreleri üzerindeki tuz stresinin zararlı etkilerini iyileştirdiği sonucuna varılmıştır.

Siddikee *et al.* (2011) tarafından yapılan çalışmada, Kore'nin Incheon şehri yakınlarındaki Yellow Sea çevresinde doğal olarak gelişen halofitik bitkilerin hem rizosferinden hem de kurak topraklardan 140 bakteri izole edilmiştir. Bu isolatlar, indol asit (IAA) üretimi, azot fiksasyonu, fosfor (P) ve çinko (Zn) çözündürücülükleri, tiyosülfat (S_2O_3) oksidasyonu, amonyak (NH_3) üretimi ve proteaz, lipaz, selüloz, pektinaz ve kitinaz gibi ekstraselüler hidrolitik enzimlerin üretimi gibi pek çok bitki büyümesini teşvik edici özellikleri bakımından karakterize edilmiştir. Ayrıca ACC deaminaz üretimi için de test edilmişlerdir. Bu testlerde pozitif çıkan suşlar için 16S rRNA gen sekans analizi yaptırılmış, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Planococcus*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Halomonas*, *Exigubacterium*, *Zhihengliuella* ve *Micrococcus* cinslerine ait oldukları tespit edilmiştir. Bu suşlardan *Brevibacterium epidermidis* RS15, *Micrococcus yunnanensis* RS22 ve *Bacillus aryabhatai* RS341 suşları ile kanola bitkisine tuz stresi (150 mM NaCl) altında inokülasyon yapılmış, sonuçlar inokülasyon yapılmayan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İnokülasyonda kullanılan suşların kök uzamasında ve kuru ağırlık oranında %40 artış sağladıkları görülmüştür. Çalışma sonuçları, sahil topraklarından izole edilen bazı halotolerant bakterilerin, ACC deaminaz aktivitesi aracılığıyla etilen üretimini azaltarak tuz stresi altındaki bitki büyümesini arttırmak için gerçek bir potansiyel olduklarını ortaya koymuştur.

Jha *et al.* (2011) tarafından yapılan çalışmada; önemli ekonomik değere sahip olan ekstrem halofit *Salicornia brachiata* rizosferinden azot fiksasyonu yapan bakteriler izole edilmiştir. Bu bakteriler için, karbon kaynağı olarak malat ve %4 NaCl içeren N-free yarı katı Nfb besiyeri kullanılarak diazotrofik bakterilerin izolasyonu sağlanmıştır. Farklı tuz konsantrasyonları kullanılarak bu bakteriler bitki büyümesini teşvik edici özellikleri bakımından test edilmişlerdir. Bu çalışma ile *Salicornia brachiata*'nın bitki büyümesini teşvik edici potansiyeli ile yeni halotolerant diazotrofik bakteriler için yararlı bir kaynak olduğu belirlenmiştir.

Chakraborty *et al.* (2011) *Cynodon dactylon* rizosferinden % 10 NaCl içeren besiyerinde fakültatif halofit, yüksek tuz toleransı gösteren bakteriler hedefleyerek

yaptıkları çalışmada, bu bakterilerin morfolojik, biyokimyasal, moleküler karakterizasyonlarını yaparak, potansiyel tuz toleranslı PGPR aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışmada *in vivo* ve *in vitro* testlerde *Bacillus cereus* izolatının oldukça etkili olduğu ve bakteri ile *Vigna radiata*, *Cicer arietinum* ve *Oryza sativa* bitkilerinin inokule edildiği (Bu bitkilere 15 gün boyunca haftada üç gün 200 mM NaCl solüsyonu uygulaması) ve sonuç olarak, bu bakteri kök ve sürgün biyokütlesinin yanı sıra, yaprak sayısı, uzunluğu ve yüksekliğinde artış sağladığı ve fidelerin büyümesini teşvik ettiği rapor etmişlerdir. Ayrıca fosfat çözücü etkiye sahip *B.cereus*'un, bitkilerdeki tuz stresine karşı antioksidan cevap sağlayabildiği, askorbat peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesini de arttırdığı kanıtlanmışlardır. Sonuç olarak, bu bakterinin doğrudan ve dolaylı mekanizmaların bir kombinasyonu ile hareket ettiği sonucuna varılmışlardır.

Bir biyokontrol ajanı olan *Streptomyces* (C) izolatının tuzlu şartlar altında bitki büyümesini teşvik edici potansiyelinin test edilmesi amacıyla Sadeghi *et al.* (2012) tarafından yapılan çalışmada; 2,4 µg/ml oksin üreten izolatın 300 mM NaCl'de tuz eklendikten sonra oksin miktarını arttırdığı (4,7 µg/ml) tespit etmişlerdir. Buğday bitkisine bu izolatla yapılan inokulasyon sonucunda kontrole karşılaştırıldığında, kuru ağırlık, kök uzunluğu ve çimlenme oranında önemli artışların meydana geldiği belirtilmiştir. Çalışmada bakteriyel inokulasyon ile normal ve tuzlu topraklardaki buğday kök büyümesi ve N, P, Fe ve Mn konsantrasyonlarında artış görülürken, diğer mikro ve makro besin konsantrasyonlarında önemli bir etki görülmemiştir. Çalışma sonunda; *Streptomyces* C izolatının tuzlu topraklarda biyogübre olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Chookietwattana and Maneewan (2012) tarafından; ACC deaminaz üreten tuza toleranslı etkili bakteri suşları seçilmiş ve tuzlu şartlar altındaki domates (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. *Seeda*) bitkisinin büyümesi ve çimlenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, 0,6 M NaCl'li şartlarda azot kaynağı olarak yüksek ACC deaminaz aktivitesine sahip *Bacillus licheniformis* B2r suşu seçilmiştir. Çeşitli tuzlu koşullarda (0, 30, 60, 90 ve 120 mM NaCl) seçilen bakterinin domates bitkisi ile

inokulasyonunun, 30-90 mM NaCl tuzluluk seviyelerinde çimlenme oranını, çimlenme indeksini, kök uzunluğunu ve kuru ağırlığı önemli derecede arttırdığı raporlanmıştır.

Egamberdieva (2012) tarafından, *Pseudomonas chlororaphis* TSAU13 suşunun tuzlu topraklarda salatalık ve domates de bitki gelişimi ve toprak patojenleri üzerine etkiler araştırılmıştır. Çalışmada *Pseudomonas chlororaphis* TSAU13 izolatının domates ve salatalık bitkisinde %32 kök büyümesini, %43 kuru ağırlığı ve %16 meyve verimini arttırdığı ve *P. chlororaphis* TSAU13 izolatı *Fusarium*’ la enfekte edilmiş bitkilerde önemli derecede hastalıkları azalttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, *P. chlororaphis* TSAU13’in tuzlu şartlar altında ticari seralarda sebze üretiminin geliştirilmesinde büyük bir biyoteknolojik öneme sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Aly *et al.* (2012) tarafından yapılan çalışmada tuzlu topraklarda *Streptomyces* ve *Azotobacter vinelandii* uygulamalarının etkileri incelenmiştir. Farklı NaCl konsantrasyonlarında prolin içeriği artmış fakat toprak inokulasyonları NaCl'nin etkisini azaltmıştır ve aynı tuz seviyelerinde kontrolle kıyaslandığında prolin konsantrasyonunu azaltmıştır. Tuzlu topraklarda *Streptomyces* ve *Azotobacter vinelandii* uygulamalarının her ikisinin de biyogübre olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Toprak tuzluluğu, bitkilerdeki ürün veriminde ciddi azalmaya neden olan, küresel gıda üretim potansiyellerini tehdit eden dikkate alınması gereken en önemli engel olarak kabul edilmektedir. Tuz toleransında etkili bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler ile ekin bitkilerinin inokulasyonu, bitkilere tuz stresi koşulları altında en iyi şekilde hayatta kalması ve sağlıklı ürün verimi elde edilmesi, tuz stresinin etkilerinin üstesinden gelinmesi için kesinlikle yardımcı olacağı Patil (2013) tarafından yapılan çalışmada belirtilmiştir.

In vitro ve *in vivo* koşullarda, tuz stresi altındaki buğdayın (*Triticum aestivum* L. var. TJ-83) büyüme ve verimini artırma potansiyelini değerlendirmek ve ACC deaminaz aktivesi bulunan SAL-15 suşunun IAA üretimini, fosfat çözünürlüğünü ve tuza toleransını karakterize etmek amacıyla Rajput *et al.* (2013) tarafından yapılan

çalışmada, 264,2 µg/mL IAA ürettiği, 16,7 µg/mL inorganik trikalsiyum fosfattan fosfat çözdüğü ve 300 mM NaCl konsantrasyonu olarak azot kaynağı olarak ACC'den yararlandığı tespit edilmiş ve tuz stresi altındaki bitkilerin gelişimini %37 oranında arttırmıştır. Böylelikle, SAL-15 suşunun tuzluluk stresi altındaki buğday bitkisinin ürün gelişimi üzerinde güçlü bir inokulum olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Goswami *et al.* (2014) halotolerant *Suaeda fruticosa* bitkisinin rizosferinden izole edilen bakterilerin IAA üretimi, fosfat çözücülüğünün yanı sıra amonyak, kitinaz, siderefor, HCN üretimi ve antifungal özelliklerini değerlendirilmişlerdir. Bu çalışmada PGP özelliğine sahip *Bacillus licheniformis* suşunun tuzlu şartlarda yerfıstığı (*Arachis hypogaea*) büyüme parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 50 mM NaCl ilave edilmiş toprakta *B. licheniformis* uygulanmış bitkilerin biyomasında, toplam ve kök uzunluğunda sırasıyla %28, %24 ve %17 oranında; NaCl yokluğunda ise %43, %31 ve %39 artış görülmüştür.

Ali *et al.* (2014) tarafından yapılan çalışmada, ACC deaminaz içeren PGPB endofit *Pseudomonas fluorescens* YsS6 ve *Pseudomonas miguale* 8R6 ve ACC deaminaz içermeyen mutantları, tuz yokluğunda ve farklı tuz konsantrasyonları (165 mM ve 185 mM) altında domates bitkisinde büyümeyi teşvik edebilmek amacıyla değerlendirilmiştir. ACC deaminaz aktivitesi gösteren endofit bakteri ile aşılanmış bitkilerin diğer bitkilere göre daha yüksek tazelik, kuru biyomas, klorofil içeriği ve daha büyük sayıda çiçek ve tomurcuk sergilediği belirtilmiştir. Böylelikle, ACC deaminaz aktivitesi ile endofit PGPB'nin kullanımı, yüksek tuz içermesine rağmen, çoğu ürün için normal olarak uygun olmayan topraklardaki bitki büyümesine cevap verebilme yeteneğinde olduğu rapor edilmiştir.

Toprak tuzluluğu, bitkilerin ürün verimini sınırlayan en önemli çevresel faktörlerden biridir. Bu nedenle, tuzluluğun ürün verimini sınırlayan etkilerini etkin bir şekilde aşabilmek, kısa vadede, basit olarak geliştirilebilecek düşük maliyetli biyolojik yöntemlerin geliştirilmesi için önemli stratejilere ihtiyaç bulunmaktadır. Shrivastava and Kumar. (2015); yaptığı çalışmada; eğer mikroorganizmaların tuzlu koşullara

tolerans, genetik çeşitlilik, bitki büyümesini teşvik edici hormonlarının üretimi, biyokontrol potansiyeli, uyumlu maddelerin sentezlenmesi ve onların ekin bitkileri ile etkileşimleri gibi eşsiz özellikleri ortaya çıkarıldığı takdirde mikroorganizmaların bu süreçte önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir.

Raheem *et al.* (2015) tuza toleranslı bakterilerle yaptığı çalışmada normal şartlar altında ve tuzlu şartlarda (0.25M NaCl) ve 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofan varlığında *Pseudomonas stutzeri* S-80 (107 $\mu\text{g ml}^{-1}$) ve *Enterobacter asburiae* S-24'ün (143 $\mu\text{g ml}^{-1}$) oksin ürettiğini kaydetmişlerdir. Saksı deneylerinde; *Morexella pluranimalium* S-29 (100 mM NaCl) ve *E. asburiae* S-24 (150 mM NaCl) kontrole göre buğday bitkisinin yaş ve kuru ağırlığını 1 ve 2,2 kat arttırdığını hasat sonrasında ise, 200 mM tuz stresindeki *E. asburiae* S-24 ve *M. pluranimalium* S-29 sürgün sayısını %94 ve tohum ağırlığını %40 arttırmıştır. Sonuç olarak, yeni *M. pluranimalium* S-29, *E. asburiae* S-24 ve *P. stutzeri* S-80 suşları bitkilerin tuz stresini azaltılmasıyla *Triticum aestivum*'un büyümesini arttırdığı rapor etmişlerdir.

Tuza dayanıklı bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler (ST-PGPR), önemli ölçüde tuzlu topraklardaki buğday bitkilerinin büyüme ve gelişimini etkilemektedirler. Upadhyay and Singh (2015) tarafından yapılan çalışmada, dokuz ST-PGPR ile buğday inokule edilmiş ve bunun sonucunda izolatların buğday büyümesine olumlu etki sağladığı özellikle, *Arthrobacter sp.* SU18 izolatının maksimum gelişme ve kuru ağırlık sağladığı, bütün ST-PGPR'nin kontrole göre toprak sağlığını iyileştirdiği görülmüştür. Tarla denemelerinde ise, 60 ve 90 gün sonunda, en fazla etkinin buğday kök kuru ağırlığında ve sürgün biyokütlesinde gösterildiği, *B. aquimaris* SU8 izolatının, buğdayda total çözülebilir şeker ve yüksek prolin birikimi sağladığı, *B. aquimaris*, SU44 izolatının azalan şekerlerin yüksek birikimiyle sonuçlandığını bildirmişlerdir. ST-PGPR ile inokulasyon yapılan ve yapılmayan buğday bitkileri karşılaştırıldığında, *Bacillus subtilis* SU47 izolatının, buğday yaprağındaki Na içeriğini %23 azaltırken kontrole kıyasla %17,8 verim artışı sağladığı rapor edilmiştir.

Hossain *et al.* (2016) tarafından yapılan çalışmada, morfolojileri ve biyokimyasal karakterleri belirlenen on PGPR bakteri izolatu nohut bitkisine inoküle edilerek gelişmeleri gözlenmiştir. İzolatların çoğunun, 21 gün sonunda hasat edilen nohut bitkisinin sürgün uzunluğunda, kök, gövde uzunluğunda ve kök, gövde kuru madde ağırlığında artış sağladığı ve ayrıca, PGPR izolatlarının tuzlu şartlar altında nohut çimlenme yüzdesini önemli derecede arttırdığı gözlemlenmiş, tuzlu şartlarda bu izolatların biyogübre olarak nohut bitkisine yararlı olacağı bildirilmiştir.

Orhan (2016) tarafından yapılan çalışmada, 18 halotolerant ve halofilik bakterinin *in vitro* ve hidrofonik kültürde bitki büyümesini teşvik edici yetenekleri incelenmiştir. Bu bakterilerden sekizinin topraksız kültürde *Triticum aestivum* üzerine etkileri incelendiğinde, tuz stresi (200 mM NaCl) altında bulunan bitkilerde kök ve sürgün uzunluğunu, toplam taze ağırlığını arttırdığı ve bu bakteri türleri ile aşılınmış bitkilerin büyüme oranlarının %62,2 ile %78,1 arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu bakterilerin tuza karşı hassas bitkiler için alternatif olarak kullanılabilecek bitki büyümesini teşvik edici yeni halofilik ve halo-toleranslı bakteriler olabileceği sonucuna varılmıştır.

Tuzluluk, kurak ve yarı kurak topraklardaki ürün verimini azaltan önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Ekilebilir toprakların yaklaşık olarak %25'i farklı tuz seviyelerinden etkilenmektedir. Buğday bitkisi de, tuzluluğa maruz kalan bu topraklarda tarımı yapılmakta olan çoğu ülkenin en önemli kültür bitkisidir. Pourbabaei *et al.* (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, tuzluluk gibi çeşitli çevresel stres koşullarında bitkilerdeki stres etilenini azaltarak stres koşullarına karşı bitkilerin direncini arttıran ACC deaminaz üreten bakterilerle çalışılmıştır. Çalışmada, ACC deaminaz üreten halotolerant bakteriler kullanılarak etilen üretimi indüklenmiş, buğday bitkisinin büyümesi üzerindeki tuz stresi etkileri hafifletilmiştir.

Singh (2016) tarafından tuz stresi şartları altında buğday bitkisinin büyümesini teşvik etmek için ACC deaminaz aktivitesine sahip bir PGPR olan *Enterobacter* sp. SBP-6'nın etkisi çalışılmıştır. ACC deaminaz üretiminin yanında fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu ve fitohormon üretimi gibi bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip

olan SBP-6 izolatının, buğday bitkisine çeşitli tuzluluk parametrelerindeki (150, 175, 200 mM NaCl) uygulanmasının bitki büyümesinin çeşitli parametreleri ve fotosentetik pigmentler üzerindeki inhibitör etkisini hafiflettiği belirtilmiştir. Saksı deneylerinin sonucunda test izolatı ile inokulasyon, inokulasyon yapılmamış kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bitki biyomasını %10-42, klorofil içeriğini %33-41 oranında arttırdığı, toksik Na^+ içeriğini %19-41 oranında azalttığı ve K^+ alımını ve bitki biyo kütlesini arttırdığı bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada seçilen SBP-6 izolatının tuzlu şartlar altında bitki büyümesini teşvik etmek amaçlı kullanılabileceği belirtilmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal maddeler ve besiyerleri

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta ve kalitede olup, besiyerleri OXOID ve DIFCO firmalarından, diğer kimyasal maddeler ise SIGMA ve MERCK firmalarından temin edilmiştir.

Halofilik-halotolerant bakterilerin gelişimi için kullanılan NaCl içeren besiyeri Brisou *et al.* (1974) tarafından önerilen besiyeri, azot fiksasyonu yapan bakterilerin tespiti için de Burk's N-free besiyeri ve Olivares *et al.* (1996) tarafından önerilen yarı katı JNFb besiyeri verilen formüllere göre laboratuvarımızda hazırlanmıştır.

İnorganik fosfatın mikrobiyal yolla çözünmesinde etkili mikroorganizmaların kalitatif belirlenmesi için NBRIP-BPB (Brom fenol mavisi ilaveli National Botanical Research Institute's Phosphate Growth Medium) besiyerinin modifiye edilmesi sonucu elde edilen sıvı besiyeri kullanılmış ve ortamdaki çözünmüş fosfatın tayininde ise "Vanadomolibdo fosforik asit" yöntemi kullanılarak, inorganik fosfatı mikrobiyal yolla çözen etkili mikroorganizmaların kantitatif olarak belirlenmesi sağlanmıştır. İndol-3-asetik asit (IAA) üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesinde içerisinde L-Triptofan bulunan Luria Bertani sıvı besiyeri (Gordon *et al.* 1951) kullanılırken; bakterilerin siderefor üretimi yaptıklarını belirlemek amacıyla Schwyn ve Neilands (1987) tarafından önerilen prosedür kullanılmıştır (Louden *et al.* 2011).

3.1.2. Çalışmada kullanılacak bakterilerin izolasyonu için toplanan bitki örnekleri

Çalışmada kullanılacak tuzcul bakteri örneklerinin izolasyonu için, Erzurum (Yapay tuz göletleri bölgesi, yeni adı Yolboyu olan Dölgah ve Sağır Tepe) ve civarındaki

tuzlalardan (Kaya tuzu ocakları) Kasım 2013, Nisan-Haziran-Ekim 2014 tarihleri arasında çeşitli yabancı bitki rizosfer örnekleri toplanmış ve ayrıca bitki örneklerinin tuz içeriği yüksek habitatlardan alınmasına dikkat edilmiştir. Toplanan bitki rizosfer örnekleri vakit geçirilmeden laboratuvara getirilerek izolasyon işlemlerine başlanmıştır.

3.1.3. Tohumlar

Çalışmamızda kültür bitkisi olarak kullanılan ve Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilen *Triticum aestivum* cv. Kirik isimli buğday tohumları kullanılmıştır.

3.1.4. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Çalışmada Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Ziraat Fakültesi Bitki Koruma ve Toprak Bölümlerinin laboratuvarlarındaki bulunan çeşitli alet ve cihazlar kullanılmıştır. Bu cihazlarla ilgili marka ve firma bilgileri yöntemlerin anlatıldığı bölümlerde verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki kök ve rizosfer toprağı örneklerinin alınması ve tanı

Çalışmada kullanılacak bakteri örneklerinin izolasyonu için 7 Kasım ve 5 Mayıs 2013 tarihlerinde, 5 Nisan 2014, 31 Haziran ve 12 Ekim 2014 tarihleri arasında Erzurum ve civarındaki tuzla (Kaya tuzu ocakları) ve tuz içeriği yüksek habitatlardan (Yapay kaya tuzu bölgesi, yolboyu ve Sağır tepe) toplanan 57 çeşit yabancı bitki ve bu bitkilere ait rizosfer örnekleri steril plastik poşetler içerisine alınmış, bu örneklerden uygun vasatlara (besiyerlerine) ekim yapılmak üzere laboratuvara taşınmış ve bu sayede tuzcul (halofilik-halotolerant) bakterilerin izolasyon işlemi başlatılmıştır. Toplanan bitki örneklerinin teşhisi Doç. Dr. Meryem Şengül Köseoğlu tarafından, ATA Herbaryumu

koleksiyonu ve teşhis anahtarı yardımıyla, bitkilerin morfolojik ve mikroskopik özellikleri incelenerek yapılmıştır.

3.2.2. Bitki kök ve rizosfer toprağı örneklerinden potansiyel bakteri strainlerinin izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması

Daha önceden çeşitli bitkilerin rizosfer bölgesinden alınan toprak örnekleri ile laboratuvara getirilen bitki köklerine yapışık topraklar iyice karıştırılıp homojenize edildikten sonra her birinden, 10^{-1} – 10^{-6} 'lık seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu örneklerin her birinden, daha önceden hazırlanmış olan 1M NaCl içeren agarlı besiyeri (halotolerant/ılımlı halofil/halofilik/ekstrem halofilik) bakterilerin izolasyonu için; 15 g/L bacto pepton, 5 g/L trptone, 2,5 g/L dekstroza, 15 g/L agar ve NaCl 1 l saf su (saf su cihazı: Nüve NS 112) içerisine eklenerek manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve pH'sı $7\pm0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Otoklavda (Hirayama, JAPAN, HV-50L) 121°C 'de 15 dk. steril edildikten sonra karışım petrilere dökülerek soğumaya bırakılmış ve petrilere yayma ekim yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petriler oda sıcaklığında 2-4 gün süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda 257 adet bakteri kolonisi gelişmiştir. Daha sonra içerisinde 1,75 M, 2 M ve 2,5 M NaCl olacak şekilde modifiye edilerek üç ayrı molaritede hazırlanan besiyerine, 257 bakteri izolatu ekim yapılmıştır. 2-4 günün sonunda bu besiyerlerinde gelişim gösteren izolatlar belirlenmiştir. Bu bakteriler incelenerek belirgin morfolojik karakterlerine göre seçildikten sonra nutrient agar içeren petri plaklarına transfer edilmek suretiyle saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatların her birisine ayrı bir kod numarası verilerek, gliserinli ortamlarda ve yatık agarlarda muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Bitki büyümesini teşvik edici özelliğe sahip potansiyel bakterilerin seçimi (Screening)

3.2.3.a. Biyolojik azot fiksasyonu (Serbest azot fiksasyonu) yapabilen mikroorganizmaların kalitatif olarak belirlenmesi

Saf bakteriler TSA (Tryptone Soy Agar) besiyerinde 24 saat süre ile geliştirilmiştir. Gelişen bakterilerin her biri, içerisinde katı Burk's N-free besiyeri (Wilson and Knight 1952; Park *et al.* 2005) bulunan petrilere çizgi ekim yöntemi ile ekilmiştir. Her bir bakteriden iki ayrı petriye ekim yapılmış, petrilerin biri 25°C'de diğeri ise 30°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Petriler günlük olarak kontrol edilmiştir. İkinci günden itibaren bakteri gelişimi görülen petriler +++ şeklinde, üçüncü günden itibaren bakteri gelişimi görülen petriler -++ şeklinde kodlama yapılarak azot fikse etme potansiyelleri derecelendirilmiştir.

Katı Burk's N-free besiyeri; 10 g/L glikoz, 0.41 g/L KH_2PO_4 , 0.52 g/L K_2HPO_4 , 0.05 g/L Na_2SO_4 , 0.2 g/L CaCl_2 , 0.1 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.005 g/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.0025 g/L $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1.8 g/L agar 1 l saf su içerisine eklenerek manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve pH'sı $7 \pm 0,1$ 'e ayarlanarak, otoklavda 121°C'de 15 dk. steril edilerek hazırlanmıştır.

3.2.3.b. Biyolojik azot fiksasyonu yapabilen mikroorganizmaların doğrulanması

Burk's N-free besiyerinde 30°C'de 3-4 gün sonunda gelişerek azot fiksasyonu yaptığı görülen bakteriler daha sonra TSA besiyerinde 24 saat geliştirilerek içerisinde 5 ml Baldani *et al.* (2014)'e göre hazırlanan yarı-katı JNFb besiyeri içeren steril test tüplerine inoküle edilmiştir. İnokülasyon yapılmayan tüpler kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. İnokülasyon yapılmış tüpler 30°C'lik etüvde 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. 7 günlük inkübasyonun sonunda kontrol grubu olan tüplerde herhangi bir değişim söz konusu olmazken, azot fikse edebilen bakterilerin, mevcut besiyerinde renk değişimine ve besiyeri yüzeyine yakın yerde bir zar tabakası oluşturup oluşturmadıklarına bakılarak

değerlendirilmiştir. Azot fiksasyonu yapan tüplerde sarıdan maviye renk değişimi ve besiyerinin yüzeyine yakın kısımda bir zon oluşturdıkları görülmektedir.

Yarı-katı JNFb besiyeri, 5 g/L malik asit, 0,6 g/L K_2HPO_4 , 1,8 g/L KH_2PO_4 , 0,1 g/L NaCl, 4,5 g/L KOH, 0,02 g/L $CaCl_2$, 1,64'lük 4 ml Fe-EDTA solüsyonu, 2 ml %0,5'lik bromtimol blue solüsyonu, 1 ml vitamin solüsyonu, 2 ml mikronutrient solüsyonu ve 1,9 g agar 800 ml saf su içerisinde çözülerek pH 5,8'e ayarlanmıştır ve daha sonra hacim saf su ile 1 l'ye tamamlanarak 121°C'de 15 dk. otoklavlanarak hazırlanmıştır.

%1,64 g'lık Fe-EDTA: 10 ml hazırlamak için; 1,64 g EDTA 1,7 ml 1N KOH içerisinde çözülerek üzerine 1,56 g $FeSO_4$ ilave edilerek karıştırılmıştır ve hacmi saf su ile 10 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

%0,5'lik Bromtimol blue: 0,01 g bromtimol blue, 0,2 N 2 ml KOH çözülerek hazırlanmıştır.

Vitamin solüsyonu: 100 ml saf su içerisinde 10 mg biotin ve 20 mg pyridoxol- HCl çözündürülerek hazırlanmıştır.

Mikronutrient solüsyon: 1 l'lik saf su içersine 0,4 g $CuSO_4$, 0,12 g $Zn SO_4.7H_2O$, 1,4 g H_2BO_3 , 1 g $Na_2MoO_4.2H_2O$ ve 1,5 g $Mn SO_4.H_2O$ ilave edilip karıştırılarak hazırlanmıştır.

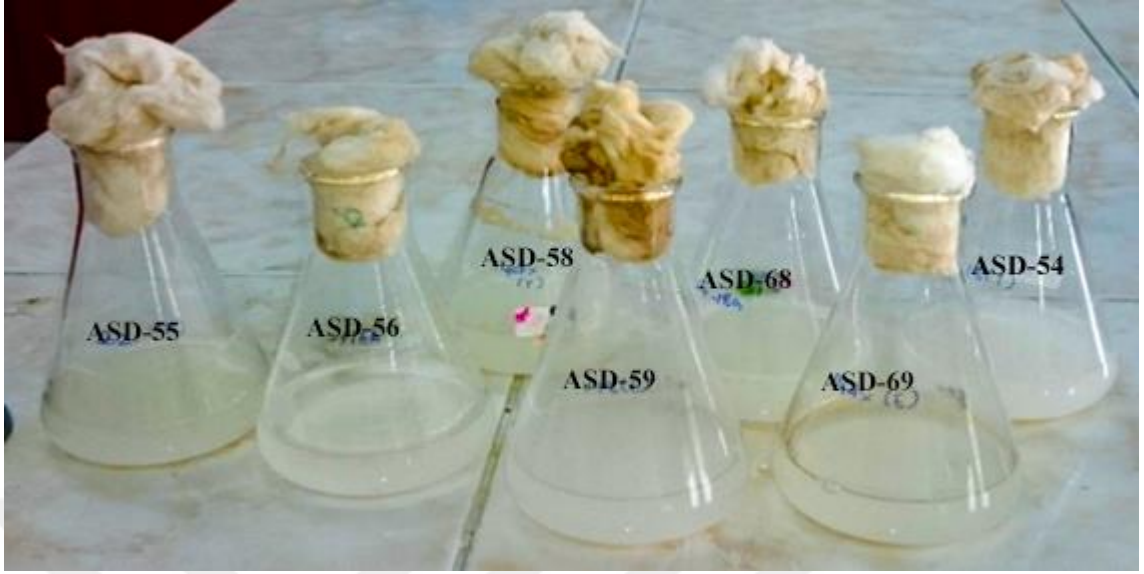
3.2.3.c. İnorganik fosfatın (Tri kalsiyum fosfat) mikrobiyal yolla çözünmesinde etkili olan mikroorganizmaların kalitatif olarak belirlenmesi

İçerisinde 5 ml NBRIP-BPB besiyeri (10 g/L glikoz, 5 g/L $Ca_3(PO_4)_2$, 5 g/L $MgCl_2.6H_2O$, 2,25 g/L $MgSO_4. 7H_2O$, 0,2 g/L KCl, 0,1 g/L $(NH_4)_2SO_4$ ve 0,025 g/L BPB 1) bulunan tüplere, yüksek tuz içeren besiyerinde gelişen saf bakteri kültürlerinden 25 mikrolitre (yaklaşık $0,5-1 \times 10^9$ CFU/ml) inoküle edilmiştir ve kontrol grubu olan

tüplere inokülasyon yapılmamıştır. Daha sonra tüm tüpler 30°C’de ve 180 rpm’de 3 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (inkübatör: Zhicheng ZHWY-200B, CHINA). İnokülasyon sonucunda kontrol grubu olan tüplerin orijinal olan renklerinde (mavi-mor) herhangi bir renk değişimi olmadığı halde, inokülasyon yapılan tüplerin bazılarında farklı derecelerde renk açılımı meydana geldiği, fakat inorganik fosfat içeren ortamda üreyemeyen tüplerde ise kontrol grubunda olduğu gibi herhangi bir renk açılımı-değişimi olmadığı görülmüştür. Renginde açılma gözlenen sıvı kültürlerin her birisi 5000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant alınmış, 1/3 oranında saf su ile seyreltilerek Shimadzu, JAPAN, UVmini-1240 marka spektrofotometrede 600 nm’de absorbans değerleri okunarak kaydedilmiştir (Mehta and Nautiyal 2001; Aydoğan vd 2013). Denemeler üçer tekerrür olarak yürütülmüş ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.2.3.d. Sıvı kültür ortamında mikroorganizmaların mikrobiyal yolla çözdüğü inorganik fosfat (Tri kalsiyum fosfat) miktarının ölçümü (Çözünen fosfat miktarının kantitatif tayini)

Ortamdaki çözünmüş fosfat miktarı “Vanadomolibdo fosforik asit yöntemi” ile belirlenmiştir (Jackson 1973). NBRIP-BPB besiyerine inoküle edilerek, inorganik fosfatı çözmede etkili oldukları belirlenen bakteriler kantitatif olarak da ayrı ayrı test edilmişlerdir. Bu amaçla; içerisinde 100 ml NBRIP besiyeri içeren 250 ml’lik erlenlere, inorganik fosfatı çözmede etkili oldukları kantitatif olarak belirlenen saf bakteriler nutrient agar besiyerinde geliştirildikten sonra birer öze dolusu inokülasyon yapılarak, kontrol grubu ile birlikte 30°C’de ve 180 rpm’de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Şekil 3.1’de bazı bakteri inokülasyonu yapılmış NBRIP besiyerlerinin inkübasyon sonrası görüntüleri bulunmaktadır. 3 günlük inkübasyondan sonra bakteri kültürlerinden 50 ml örnekler alınmıştır. Bulanık olan örneklerin, aktif karbonla 5-10 dk. karıştırılarak ya da Wattman kağıdı ile filtre edilerek berraklaşması sağlanmıştır.



Şekil 3.1. Bakteri inokulasyonu yapılmış NBRIP besiyeri içeren erlenler

Berraklaşan sıvı örneklerin her birinden 35-40 ml alınarak fosfat içerikleri belirlenmiştir. 35-40 ml alınan örneklere vanado-molibdat çözeltisi ilave edilerek spektrofotometrede 470 nm’de absorbans değerleri ölçülmüştür. Seyreltik bir ortofosfat çözeltisinde amonyum molibdat, asit şartlarda heteropoly asit biçiminden, molibdofosforik asite dönüşür. Vanadyumun varlığında, sarı vanadomolibdo fosforik asit oluşur. Sarı rengin şiddeti fosfat konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Daha önceden hazırlanmış standart grafik baz alınarak, absorbans değerleri kaydedilen örneklerin fosfat miktarları mg/L olarak hesaplanmıştır. Standart grafik aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur:

100 ml’lik balon jojeler içersine 1 g/L, 3 g/L, 5 g/L, 7 g/L ve 10 g/L’lik stok fosfat çözeltisi konulmuştur. Her bir örnekten 30 ml alınarak 50 ml’lik balon jojelere konulmuş, üzerlerine vanadat-molibdat çözeltisi eklenmiş ve saf su ilave edilerek 50 ml’ye tamamlanarak seyreltilmiştir. Aynı işlemler, kör numune hazırlamak amacıyla 35 ml saf su ile de tekrarlanarak 10 dk. bekletilmiştir. Bu işlemlerden sonra çözeltilerdeki fosfat içeriğinin miktarına bağlı olarak renklerinde açık sarıdan koyu sarıya doğru bir değişim meydana geldiği görülmüştür (Şekil 3.2). Hazırlanan çözeltiler ve kör numune spektrofotometre küvetlerine konularak 470 nm’de absorbans değerleri ölçülmüş, elde

edilen verilerle standart grafiğın kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 3.2). Analiz sonucunda 65 bakteri izolatının fosfat çözücü potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Tri kalsiyum fosfat miktarının ölçümünde kullanılan grafiğı oluşturmak için hazırlanan çözeltiler

Fosfat analizinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıdaki gibidir:

Amonyum molibdat çözeltisi: 300 ml saf su içerisinde, 25 g amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) çözülerek hazırlanmıştır.

Amonyum metavanadat çözeltisi: 300 ml saf su içerisine 25 g amonyum metavanadat (NH_4VO_3) eklendikten sonra ısıtılarak çözünmesi sağlanmış, soğutulduktan sonra üzerine 330 ml derişik HCl ilave edilmiştir.

Vanadat-molibdat çözeltisi: Amonyum metavanadat çözeltisine amonyum molibdat çözeltisi ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra saf su ile üzeri 1 l'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

Standart stok fosfat çözeltisi: Standart grafiği hazırlamak amacıyla; 219,5 mg susuz KH_2PO_4 'ün saf su içerisinde çözünmesi sağlanmış ve çözelti hacmi 1 l'ye tamamlanarak seyreltilerek hazırlanmıştır.

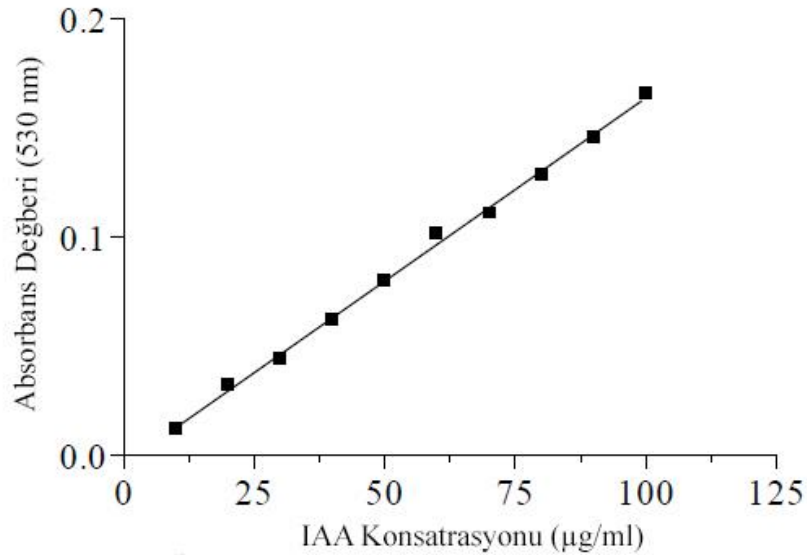
3.2.3.e. İndol-3-asetik asit (IAA) üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi

Azot fikse ettiği belirlenen bakteri izolatları, içerisinde TSB (Tryptic Soy Broth) sıvı besiyeri bulunan erlenlerde 48 saat süre ile geliştirilmiştir. Sarwar *et al.* (1995) tarafından belirtilen yöntem kullanılarak, sıvı kültürde geliştirilen bakteriler 10,000 rpm'de 10 dk. santrifüj (Hettich UNIVERSAL 320) edilmiş, 250 ml'lik erlenler içerisinde 100 ml sterilize edilmiş Luria Bertani ve %0,01g L-triptofan içeren besiyerine (yaklaşık $0,5-1 \times 10^9$ CFU/ml) inokülasyon yapılarak, çalkalayıcıda 30°C'de ve 180 rpm'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, bakteri kültürleri 10,000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

Spektrofotometre kuvvetleri içerisine süpernatanttan 1 ml konularak ve üzerine 3 ml önceden 0,5 M 1 ml FeCl_3 %98'lik 50 ml perklorik asit (HClO_4) içerisine eklenip karıştırılarak hazırlanan Salkowski çözeltisinden eklenerek 30°C'de karanlık ortamda bir saat beklemeye bırakılmıştır. Her bir örnekten üçer tekerrür yapılmıştır.

Bekleme süresinin ardından pembe renk değişimi IAA üretimi için pozitif kabul edilirken renk değişimi göstermeyenler negatif olarak kabul edilmiştir. Ayrıca bekleme süresinin ardından her bir örnek 530 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Sarwar and Kremer 1995; Patten and Glick 2002). IAA üretimi spektrofotometre değerlerine karşılık gelen standart grafik değerleri kullanılarak mg/L olarak hesaplanmıştır. Standart grafik test tüplerine 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 ve 1,0 ml standart IAA çözeltisi konarak hazırlanmıştır. 100 µg/ml IAA standart stok çözeltisi %50 etanolde hazırlanmıştır. Tüplerdeki çözelti distile su ile 2 ml'ye tamamlanmış ve daha sonra üzerlerine 4 ml Salkowski çözeltisi eklenmiştir. Tüpler oda sıcaklığında 25 dakika inkübasyona bırakılmış ve 530 nm'deki absorbans değerleri

ölçülmüştür. IAA çözelti konsantrasyon değerleri 530 nm'deki denk gelen değerlere göre grafik çizilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. IAA miktarının belirlenmesi amacıyla hazırlanan standart grafik

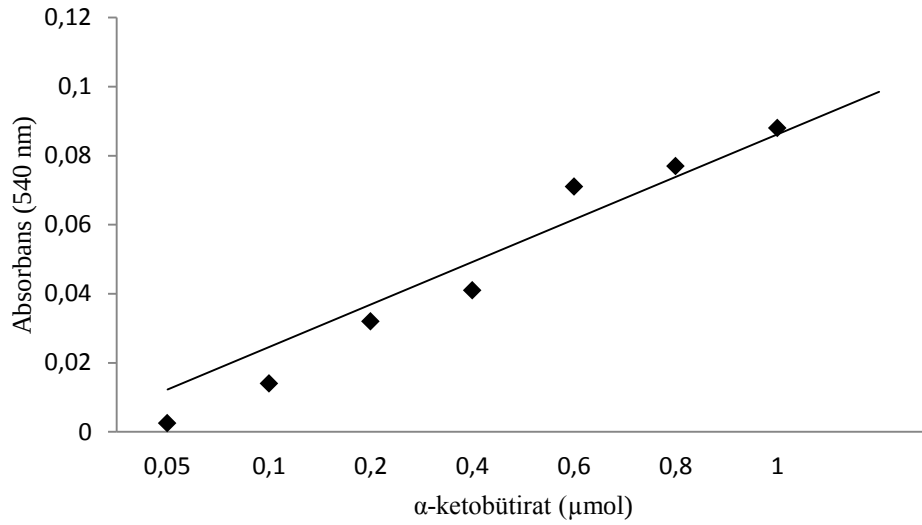
3.2.3.f. 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi

Shrivastava ve Kumar (2013) tarafından önerilen prosedür kullanılarak, bakterilerin ACC deaminaz aktivitelerine bakılmıştır. Bakteriler, 10 ml nutrient agar broth içeren besiyerinde 24 saat 120 rpm'de geliştirilmiştir. Gelişen bakteriler +4°C'de 8000 rpm'de 10 dk. süre ile santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve pelet fizyolojik steril su ile iki kez yıkanmıştır. Yıkanan pelet 7,5 ml JNFb besiyeri içeren tüplere konularak karıştırılmıştır. Tüpler 28°C'de 120 rpm'deki çalkalayıcıda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda 8000 rpm'de +4°C'de 10 dk. süre ile santrifüj edilmiştir. Pelet 0,1 M Tris- HCl tamponunun 1 ml'sinde çözülmüştür. Ardından 15,000 rpm'de +4°C'de 10 dk. santrifüj edilerek pelet alınmıştır. Pelet tekrar 0,1 M Tris- HCl tamponunun 600 µl'sinde çözülmüştür. 30 µl toluen bu karışımın üzerine ilave edilerek 30 saniye yüksek hızda vortekslenmiştir (Jeio Tech, Korea, VM-96EB). Tüpler 1 saat

süre ile +4°C'de tutulmuş ve sonrasında 1200 rpm'de +4°C'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Sonrasında tüplerdeki toluen tabakası (Üstte kalan faz) bir pipetle alınmıştır. Toluenize edilmiş hücreler 2 ayrı tüpe eşit olarak alınmış, tüplerden biri protein tayini için kullanırken diğeri ACC Deaminaz aktivitesi için hemen kullanılmıştır. Bu amaçla:

Toluenize edilmiş hücrelerden 200 µl ayrı bir ependorf tüpüne alınmış, üzerine 20 µl 0,5 M ACC ilave edilerek karıştırılmıştır. 15 dk. 30°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra karışımın üzerine 1 ml 0,56 M'lık HCl ilave edilip karıştırılmış ve 12000 rpm'de +4°C'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 1 ml alınarak başka bir tüpe konmuştur. Üzerine 800 µl 0,56 M'lık HCl ilave edilerek, hafifçe karıştırılmıştır. Bu tüpe %2'lik 2-4-dinitrofenil hidrazinden 300 µl eklenerek karışım 30°C'de 30 dk. inkübasyona bırakılmıştır. Üzerine 2 M'lık NaOH'dan 2 ml ilave edilerek karıştırılan karışımın 540 nm'de absorbans değerleri okunarak kaydedilmiştir. Daha önceden standart grafik baz alınarak, absorbans değerlerine göre nmol α -ketobütirat /g⁻¹ biomass h⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

ACC Deaminaz standart grafiğinin hazırlanışı şu şekildedir: Belirlenen α -ketobütirat konsantrasyonlarına (ACC deaminaz aktivitesi tespit edilirken ACC deaminaz'ın ACC'yi parçalaması esnasında oluşan α -ketobütirat miktarı ölçülmüştür. Bu reaksiyon sonucu oluşan α -ketobütiratın µmol sayısı, örneğin 540 nm'de ölçülen absorbans değeri ile α -ketobütiratın 0.05-1 µmol aralığındaki standart eğri değerleri karşılaştırılarak belirlenmiştir) 300 µl 2,4 Dinitrofenil hidrazin ayracı eklenmiş, vortekslenerek 30°C'de 30 dk. inkübasyona bırakılmıştır. Bu arada α -ketobütiratın fenilhidrazine dönüşmesi beklenmiştir. Daha sonra 2M 2 ml NaOH eklenerek tekrar vortekslenmiş ve her bir örneğin absorbans değeri spektrofotometrede 540 nm'de ölçülmüştür. Kör numune için 300 µl 2,4 Dinitrofenil hidrazin, 700 µl Tris ve 2 ml NaOH kullanılmıştır (Honma and Shimomura 1978; Shrivastava and Kumar 2013). Bu sayede standart grafik oluşturulmuştur (Şekil 3.4). Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıda verilmiştir.



Şekil 3.4. ACC deaminaz için hazırlanan standart grafik

0,1 M Tris-HCl pH: 7,6 çözeltisinin hazırlanması: 1,21 trizma base 80 ml saf suda çözülmüş, 0,1 M HCl ile pH 7,6'ya ayarlanmıştır ve saf su ile çözelti hacmi 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

0,1 M Tris-HCl pH 8,5 çözeltisinin hazırlanması: 1,21 trizma base 80 ml saf suda çözülmüş; 0,1 M HCl ile pH 8,5'e ayarlanmıştır ve saf su ile çözelti hacmi 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

0,5 M'lık ACC çözeltisinin hazırlanması: 10 ml steril su içerisinde 0,5055 g ACC çözümlenerek hazırlanmıştır. Bu çözelti filtreden geçirilmiş ve sterilize edilmiştir. -20°C'de stoklanmıştır.

0,56'lık HCl çözeltisinin hazırlanması: 1,7 ml %37'lik HCl steril saf su içerisine konularak karıştırılmış ve çözelti hacmi 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

%2'lik dinitrofenil hidrazin çözeltisinin hazırlanması: 2 g DNF 100 ml saf suda çözülüp süzülerek hazırlanmıştır.

2 M'lık NaOH çözeltisinin hazırlanması: 80 g NaOH 1 l saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

3.2.3.h. Siderefor üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi

Bakterilerin siderefor üretimi yaptıklarını belirlemek amacıyla Schwyn and Neilands (1987) tarafından önerilen prosedür kullanılmıştır. Bu prosedüre göre bakterilerin siderefor üretimini belirlemek amacıyla kullanılan CAS Blue Agar'ın hazırlanışı aşağıdaki gibidir.

A. Blue Dye Çözeltisi

Çözelti 1: 50 ml distile suda 0,06 g CAS (Fluka kimyasalları) çözülerek hazırlanmıştır.

Çözelti 2: 10 ml, 10 mM HCl'de 0,0027 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözülerek hazırlanmıştır.

Çözelti 3: 40 ml distile suda 0,073 g HDTMA çözülerek hazırlanmıştır.

Daha sonra çözelti 1 ile 9 ml çözelti 2 karıştırılmıştır. Daha sonra çözelti 3 ilave edilmiştir. Çözelti rengi bu sayede maviye dönmüştür. Bu karışım cam şişeye konup otoklavlanarak muhafaza edilmiştir.

B. Karışım Çözeltisi

Minimal Media 9 (MM9) Salt Solution Stock Çözeltisi: 500 ml ddH₂O içerisinde 15 g KH₂PO₄, 25 g NaCl ve 50g NH₄Cl çözülerek hazırlanmıştır.

%20 Glukoz Stock Çözeltisi: 100 ml ddH₂O içerisinde 20 g glukoz çözülerek hazırlanmıştır.

NaOH Stock Çözeltisi: 150 ml ddH₂O içerisinde 25 g NaOH çözülerek hazırlanmıştır ve pH'sı yaklaşık olarak 12'ye ayarlanmıştır.

Casamino asit çözeltisi: 27 ml ddH₂O içerisinde 3 g Casamino asit çözülerek hazırlanmıştır. Varolan demiri ortadan kaldırmak için, kloroformda %3-8 hidroksikinolin ile ekstrakte edilmiş ve filtre sterilize edilmiştir.

C. CAS Agar hazırlanması

750 ml ddH₂O içerisine MM9 salt çözeltisinde 100 ml eklemiş, ardından 32,24 g piperazin-N-N'bis (2- ethanesulfonic asit) PIPES ve 15 g Bacto agar da eklenerek, otoklavlanmış ve 50°C'ye kadar soğuması sağlanmıştır.

MM9/PIPES karışımına steril %20 glukoz çözeltisinden 10 ml, Casamino asit çözeltisinden 30 ml eklemiştir. 100 ml Blue Dye çözeltisinden eklenerek homojen bir çözelti elde edilinceye kadar karıştırılmış ve ardından petrilere kontaminasyon olmayacak şekilde dökülmüştür.

CAS Blue agar hazırlanarak petrilere dökülmüş, ardından petrilere kuyucuklar açılmıştır. Önceden TSB besiyerinde 24 saat süre ile geliştirilen bakteri kültürleri 15,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra yaklaşık $0,5-1 \times 10^9$ CFU/ml OD₆₀₀ olacak şekilde ayarlanmış ve açılan kuyucuklara inokule edilmiştir ve 30°C'de 7 gün etüvde inkübasyona bırakılmıştır. 7 günlük inkübasyon sonucunda besiyerinde meydana gelen sarı-turuncu renk değişimine bakılarak ve bakteriler tarafından oluşturulan zon çapı ölçülerek bu bakterilerin siderefor üretip üretmedikleri belirlenmiştir.

3.2.4. Etkili izolatların tanısı ve karakterizasyonu

Çalışmalarımız sonucunda elde edilen halofilik/halotolerant PGPR oldukları belirlenen ve saksı denemelerinde kullanılan bakteriyel izolatların kesin tanı ve karakterizasyonu için bazı klasik ve biyokimyasal yöntemler ile moleküler yöntemler (MIS ve 16S rRNA analizi) kullanılmıştır.

3.2.4.a. İzolatların Gram yapısının ve morfolojik özelliklerinin incelenmesi

Saflaştırılarak stoklanmış izolatların 24 saatlik genç kültürleri hazırlanmış ve Gram yöntemi ile boyanmıştır. Bu yöntemle bakterilerin Gram özelliği ve aynı zamanda morfolojik yapısı belirlenmiştir (Sarioğlu vd 1993; Beck *et al.* 1993).

24-48 sa'lik bakteri kültürlerinden birer öze dolusu alınarak lam üzerine konulmuş ve üzerine bir damla % 5'lik H₂O₂ ilave edilmiştir. Köpürme oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilerek izolatların katalaz enzimi aktivitesine bakılmıştır (Harley and Prescott 2002; Morello *et al.* 2003). Ayrıca, endospor testi için izolatlar nutrient agara çizgi ekim yapılarak 55-60°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonucu gelişen kolonilerden preparat hazırlanmış ve bu preparatlar alevden geçirilerek fikse edilmiş, malaşit yeşiliyle boyanmıştır. On dakika sonra saf suyla yıkadıktan sonra safranin ile 30 sn. muamele edilmiştir. Tekrar saf suyla boyanın fazlası akıtılarak preparat kurutulmuş ve yağ immersiyon objektifiyle incelenmiştir. İşlem sonunda sporlar yeşil renkte, vejetatif hücreler pembe renkte görülmüştür (Temiz 1996)

3.2.4.b. Moleküler yöntemler

MIS (Microbial Identification System) analizi:

Birçok çalışma ile; kültür ortamlarında gelişebilen mikroorganizmaların yağ asidi profilleri kullanılarak, tanısının veya taksanomik yerlerinin belirlendiği kanıtlanmıştır (Roy 1988; Vauterin *et al.* 1996).

Çalışmada kullanılan bakterilerin yağ asitlerinin saf olarak elde edilebilmesi amacıyla 4 farklı çözelti hazırlanmış ve kullanılmıştır:

Hücre parçalayıcı özelliğe sahip çözelti 1:

Sodyum hidroksit (ACS saflığında)	45 g
Metil alkol (HPLC saflığında)	150 ml
dH ₂ O	150 ml

Öncelikle metil alkol ve saf su 1 l'lik çözelti şişesine konularak, üzerine sodyum hidroksit eklenip iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.

Metilleştirme işlemi için çözelti 2:

Hidroklorik asit (6,00 N)	325 ml
Metil alkol (HPLC saflığında)	275 ml

Sırasıyla hidroklorik asit ve metil alkol çözelti şişesine konulup iyice karıştırılarak hazırlanmıştır.

Saflaştırma işlemi için çözelti 3:

Heksan (HPLC saflığında)	200 ml
Metil-tert-butil eter (MTBE, HPLC saflığında)	200 ml

Çözelti şişesi içerisine öncelikle MTBE üzerine de heksan ilave edilip karıştırılarak hazırlanmıştır.

Bazık yıkama işlemi için çözelti 4:

Sodyum hidroksit (ACS saflığında)	10,8 g
dH ₂ O	900 ml

Katı formdaki sodyum hidroksit çözelti şişesindeki saf su içerisinde iyice çözülerek hazırlanmıştır.

Çalışmamızda etkili oldukları belirlenen bakterilerin MIS analizi aşağıdaki protokole göre yapılmıştır:

Öncelikli olarak istenilen özelliklere uygun olarak izole edilip saflaştırılan bakteriler, tanısı yapılmak üzere, TSA besiyeri içeren petrilere dört fazlı çizgi ekim yapılarak 28-30°C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyonun ardından dört fazlı çizgi ekim yapılmış petrilere gelişen bakterilerin üç ve dört numaralı fazlarından steril bir öze ile toplanarak 5 ml’lik teflon kapaklı test tüplerine alınmış ve etiketlenmiştir.

Her test tüpüne çözelti 1’den 1 ml ilave edilerek 5-10 sn. çalkalanmıştır. Daha sonra 100°C’lik su banyosunda (CB2 5Q2, Grant Instruments Ltd., Barrington, Cambridge) 5 dk. bekletilmiştir. Tekrar 5-10 sn. çalkalanan tüpler 25 dk. süre ile 100°C’lik su banyosunda beklemeye bırakılmıştır. Bu işlem sonucunda canlı bakteri hücreleri parçalanmış ve yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

Test tüplerine çözelti 2’den 2 ml eklenerek 5-10 sn. çalkalanmış, 80°C’lik su banyosunda bekletilmiş ve takiben -80°C’de 5 dk. kadar hızlı soğumaya bırakılmıştır. Bu uygulama ile serbest kalmış yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş olmaktadır ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterler elde edilmektedir. Bu durum yağ asitlerine yüksek sıcaklarda buharlaşma özelliği kazandırmaktadır.

Soğutulmuş tüplere 1,25 ml çözelti 3’ten eklenerek 10 dk. süre ile hematoloji çalkalayışında çalkalanmıştır. Çalkalama sonrasında tüp içerisinde iki ayrı faz oluşmuştur. Tüplerdeki yağ asit metil esterler alt faz olan asidik fazdan ayrılarak üst fazı oluşturan organik sıvı bölgesinde toplanmıştır. Bu nedenle pastör pipeti kullanılarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılarak, organik faz muhafaza edilmiştir.

Son aşamada organik fazı içeren tüplerin her birine 3 ml çözelti 4'ten ilave edilip 5 dk. süreyle hematoloji çalkalayışında çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk. bekletilmiştir. Çözelti 4, bazik bir çözelti olup serbest yağ asit metil esterlerini daha saf olarak elde etmemizi sağlamıştır. Tüplerin içerisinde yine iki ayrı faz oluşmuştur. Tüplerin üst kısmında toplanan, yağ asit metil esterlerini içeren faz pastör pipeti ile alınarak, gaz kromatografi tüplerine aktarılmıştır. Ağzıları sıkıca kapatılan tüpler, MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiştir. MIS cihazı (MIDI, Inc., Newark, USA) çalıştırılarak, sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler tek tek analiz edilmiş ve tanı sonuçları bilgisayardan çıktı olarak alınmıştır (MIS 2005).

16S rRNA analizi

Karşılaştırmalı DNA dizi analizi mikrobiyal tanımlamada en iyi genotipik yöntemdir. En yaygın olan yaklaşım, 16S ribozomal RNA genin 1500 baz dizisinin bir bölümünün veya hepsinin PCR ile çoğaltılması ve DNA dizi analizinin yapılmasıdır. Daha sonra, mikrobiyal baz dizilerini içeren dizi, veri tabanlarındaki diziler ile karşılaştırılmaktadır. Bütün bakterilerde bulunan ve fonksiyonel olarak korunan bu gen dizisi kullanılarak tür teşhisi yapılabilmektedir.

Çalışmamızda en etkili izolatların halotolerant, ılımlı halofil, halofilik ya da ekstrem halofil oldukları aynı zamanda bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip (azot fiksasyonu, fosfat çözücülüğü, IAA üretimi, ACC deaminaz aktivitesive siderefor üretimi vb.) oldukları belirlenmiştir. Daha sonra bu izolatlar bitki üzerindeki etkilerini görmek amacıyla üç kez saksı denemesine tabi tutulmuştur. Denemeler sonucunda en etkili izolat olarak seçilen 32 adet bakteri izolatının, 16S rRNA geni bakımından analizi için Refgen firmasından hizmet alımı yapılmıştır.

3.2.5. İzolatların bitki büyümesini teşvik edici potansiyellerini belirlemek amacıyla yapılan saksı deneyleri

3.2.5.a. Tohumların sterilizasyonu

Çalışmada kullanılacak olan kültür bitkisi olan buğday (*Triticum aestivum* cv. Kirik) tohumları öncelikli olarak %10,0'luk sodyum hipoklorid solüsyonu içerisine konulup karıştırılmış ve 10 dakika solüsyon içerisinde bekletilmiştir. Bekletme süresinin sonrasında buğday öncelikli olarak çeşme suyu ile yıkanmış, ardından 3-5 kez steril distile sudan geçirilerek buğday tohumlarının yüzey sterilizasyonu sağlanmıştır.

3.2.5.b. İnokulum (Aşı kültürü) hazırlanması

Kültür bitkilerinin tohumlarına aşılacak inokulumun hazırlanması amacıyla; saf bakteriler TSA besiyeri içeren petrilerde 24 saat süre ile geliştirilmiştir. Ardından 24 saatlik bakteriler, içerisinde 100 ml TSB besiyeri bulunan 250 ml'lik erlenlere 3 öze dolusu inoküle edilmiştir ve 30°C'de 180 rpm'de 48 saat süre çalkayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda yüzey sterilizasyonu yapılmış buğday tohumları yapılan aşı kültürleri içerisine atılmış ve aşı materyalinin tohumlara daha iyi yapışmasını sağlamak amacıyla hazırlanan %4'lük şeker çözeltisi ilave edilmiştir (İşler ve Coşkan 2009). Bir gece kültür sıvısı içerisinde bekletilerek tohumların su alması sağlanmıştır. Bu sayede buğday tohumları saksı ekimi için hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Buğday tohumlarının aşı kültürüyle inokule edilerek ekime hazır hale getirilmesi

3.2.5.c. Saksıların hazırlanması

Tohumların ekilmesi ve bitkilerin büyümesi için kullanılacak saksılar (11'lik 153x116) %95'lik alkole batırılmış pamuk ile dezenfekte edilerek, içerisi 1/3 oranında kum, toprak ve torf ile doldurulmuştur. Her bir bakteri için üç saksı hazırlanmış (Üç tekerrür) ve saksılar üzerine bakteri kod numaraları yazılarak ekime hazır hale getirilmiştir.

3.2.5.d. Denemenin kurulması

Araştırma, 10 Mayıs-23 Mayıs ve 18 Mayıs-1 Haziran 2016 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölüm'ünden alınan (*Triticum aestivum* cv. Kırık) isimli buğday çeşidi kullanılarak sera koşullarında aşağıda verilen deneme düzenine göre üç tekerrürlü saksı denemesi şeklinde yapılmıştır. Bitkilerin beslenmesi için herhangi bir çözelti kullanılmamıştır.

Deneme; aşısız buğday tohumlarını içeren kontrol grubu (İnokülüm yapılmamış TSB besiyeri + buğday tohumları) ve aşılı buğday tohumlarını içeren gruplar (Her bir bakterinin ayrı ayrı inoküle edilerek hazırlandığı TSB besiyeri + aşı kültürü + buğday tohumları) halinde düzenlenmiştir. Tohumlar her saksıya eşit sayıda ekilerek, sera şartlarında 16 gün büyütülmüştür. Uygulamanın 16 günlük süre zarfında; bitkiler ilk gün normal su ile sulanmış, diğer günler ise tuzlu sulamaya geçilerek, 5'şer günlük 3 dönem halinde sırasıyla 50 mM, 100 mM ve 200 mM NaCl içeren normal su ile sulanmıştır.

Ayrıca benzer bir deneme daha kurulmuş, bu denemede farklı bakteri kültürlerinin de içerisinde yer aldığı saksı grupları hazırlanmıştır. Bu saksı gruplarında deneme aynı şekilde aşısız buğday tohumlarını içeren kontrol grubu ve aşılı buğday tohumlarını içeren gruplar halinde düzenlenmiştir. Ancak bu deneme grubu 16 gün boyunca normal çeşme suyuyla sulanmıştır. 16 günün sonunda iki deneme grubu bitkileri de hasat edilmiştir. Bu aşamada bitkiler kökleri ile birlikte çıkarılarak çeşme suyunda yıkanmış, kök ve gövde uzunlukları, yaş ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür. Ayrıca bitki yaprak örneklerindeki protein, klorofil ve karotenoid tayini yapılmıştır.

3.2.6. Bitkilerin kök ve gövde uzunlukları

Her saksıdan çıkarılan bitkilerin kök ve boy uzunlukları cetvelle ölçülüp ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

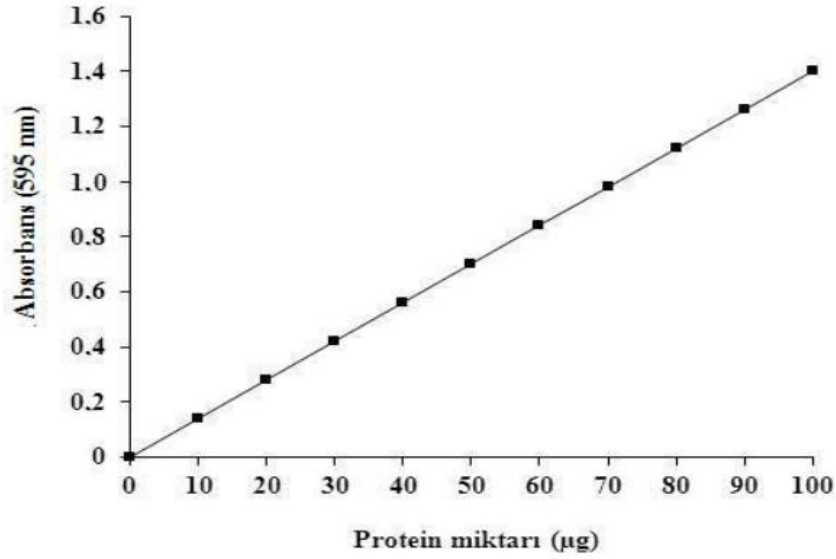
3.2.7. Bitkilerin yaş ve kuru ağırlıkları

Her saksıdan eşit sayıda buğday bitkisi çıkarılarak, hassas terazide (Denver GERMANY, TP- 214) tartılmış ve ortalaması alınarak bitki başına düşen yaş ağırlık hesaplanmıştır. Kuru ağırlık ölçümü ise; yaş ağırlığı ölçülen bitkiler alüminyum folyo içerisine konularak 48 saat 70°C'de etüvde kurumaya bırakılmıştır. Bir bitkinin son iki tartımı eşit olduğunda etüvden çıkarılıp hassas terazide ölçülerek ortalaması alınmış ve bitki başına düşen kuru ağırlık hesaplanmıştır (Kaçar 1972).

3.2.8. Bitki yaprak dokusunda çözülebilir protein miktarının tayini

Protein tayini, buğday bitkisinin yaprak örneklerinde ile Bradford (1976) tarafından önerilen yöntem uygulanarak yapılmıştır. Bu amaçla; buğday bitkisinden alınan 0,5 g'lık yaprak örneklerinin 10 misli hacimdeki pH'sı 6,5 olan 0,1 M fosfat tamponunda havanda ezilerek homojenizasyonu yapılmıştır. Daha sonra santrifüj tüplerine konularak, 15,000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Protein tayini için tüplerdeki süpernatant (Tüplerin üst kısmındaki faz) kullanılmıştır. Spektrofotometre kuvetine 3 ml Coomassie Blue G reaktifi konulur ve süpernatanttan 100 µl alınarak üzerine ilave edilerek karıştırılır. Bir süre reaksiyonun sabitlenmesi beklenir ve 595 nm'de absorbans değerleri ölçülerek protein miktarı spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Ayrıca; 1ml'sinde 1 mg protein içeren standart sığır albümin çözeltisinden 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µg hacimde protein içeren çözeltiler tüplere aktarılmış, saf su ile bütün tüplerin hacimleri 0,2 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplere 3'er ml Coomassie Blue G ilave edilip vorteks ile karıştırılmıştır. Kör numune olarak ise 0,2 ml tampon ve 3 ml Coomassie Blue G reaktifinden oluşan karışım kullanılmıştır. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda, 595 nm'deki absorbans değerlerine karşılık gelen protein değerleri baz alınarak standart grafik oluşturulmuştur (Şekil 3.6)



Şekil 3.6. Protein miktarının belirlenmesi amacıyla hazırlanan standart grafik

Oluşturulan standart grafik yardımıyla, 595 nm’de absorbans değerleri kaydedilen her bir örneğin protein/g doku olarak da sonuçları hesaplanmıştır.

3.2.9. Bitki yaprak dokusundaki klorofil ve karotenoid tayini

Buğday bitkisinden hasat sonrasında 0,5 g’er tartılmıştır. Tartılan örnekler havana alınmış, üzerine önceden hazırlanmış 5 ml soğuk %80’lik aseton (80 ml aseton saf su ile 100 ml’ye tamamlanarak hazırlanmıştır) ilave edilmiş tokmakla ezilerek ekstraktı çıkarılmıştır. Karışım santrifüj tüpüne konularak 15 dakika 3500Xg (6000) rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant alınmış üzeri asetonla 10 ml’ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüpler çalkalanarak ve 645 ve 663 nm’de ayrı ayrı olmak üzere spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür. Spektrofotometrenin sıfır ayarı %80’lik aseton ile yapılmıştır. Karotenoid tayini için de aynı örneklerde ayrıca 450 nm’de okuma yapılmıştır (Strain and Svec 1966).

3.2.10. Sonuçların istatistiki olarak değerlendirilmesi

Denemeler üç tekerrürlü olarak yapılmış elde edilen değerler SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak LSD oklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir (Yıldız 1991).

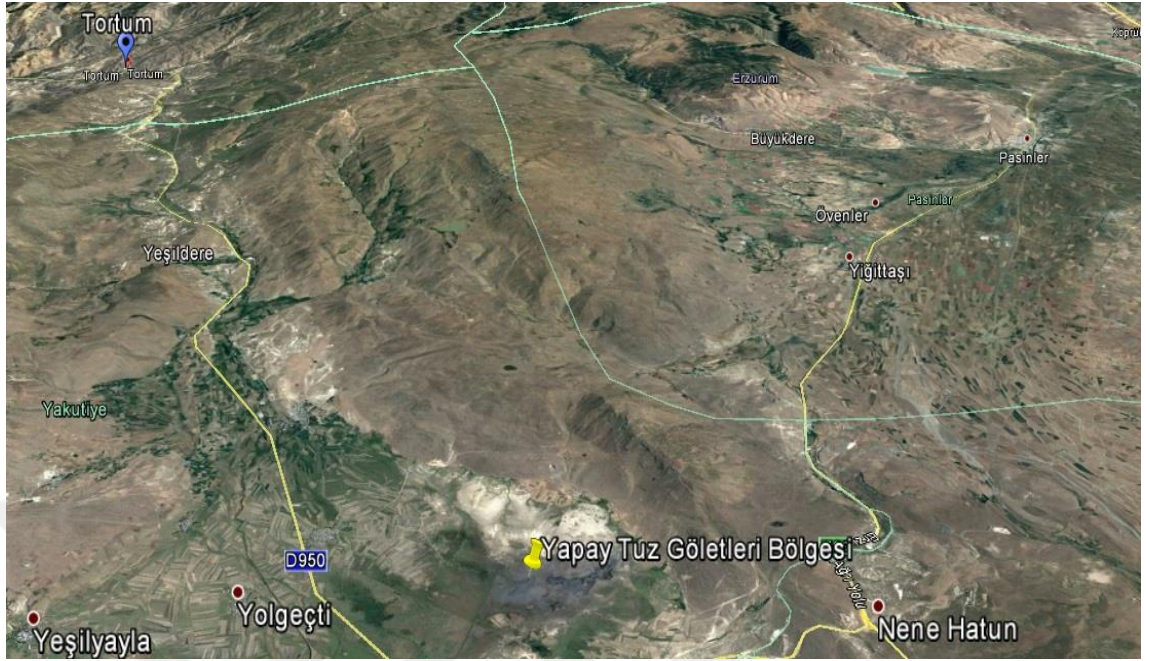


4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. İzolatların Elde Edildiği Bitkiler

Bu çalışmada 2013–2014 nisan, mayıs, haziran, ekim ve kasım aylarında çeşitli bitkiler rizosfer toprağıyla birlikte toplanarak 3.2.2’de belirtilen yöntemle izolasyon ve saflaştırma işlemlerine tabi tutulmuş, halofilik özelliğe ve bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip bakteriler elde edilmeye çalışılmıştır. Bitki ve rizosfer toprağı örneklerinin toplandığı bölgelerden biri (17.05.2013 ve 12.10.2014 tarihlerinde iki kere) Erzurum Tortum yolu istikametinde Tortum ilçesine 40 km mesafede sağ kol üzerindeki yapay tuz göletlerinin bulunduğu bölgedir. Oltu ilçesinin Dölgah (Yeni ismi Yolboyu) yöresi yakınında bulunan Tuzla Mahallesi sınırlarındaki kaya tuzu bölgesi ise ikinci bitki örneği toplama bölgemizdir (05.04.2014 tarihli). Tuzla Mahallesi Oltu’nun güneyinde 18 km mesafede bulunmaktadır. Üçüncü ve son örnek toplama bölgemiz ise Sağır Tepe denen dağ üzerindeki kaya tuzu bölgesidir (07.11.2013 ve 31.06.2014 tarihlerinde iki kere). Bu dağ Tortum’un 15 km kuzeyindeki Esendurak Mahallesi (Eski adı Sağır Köyü) sınırları içerisinde bulunmaktadır.

Örneklerin bulunduğu bölgelerin uydu görüntüleri Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’te, toplanan bitkilerden elde edilen izolatlar, izolatların MIS tanı sonuçları ve yüzdeleri ve konukçu bitki, bitkinin alındığı bölge, tarih, lokaliteleri Çizelge 4.1’de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Bitki örneklerinin toplandığı yapay tuz göletlerinin bulunduğu bölgeyi gösteren uydu görüntüleri



Şekil 4.2. Bitki örneklerinin toplandığı Dölgah (Yolboyu) bölgesini gösteren uydu görüntüleri



Şekil 4.3. Bitki örneklerinin toplandığı Sağır Tepe üzerindeki kaya tuzu bölgesini gösteren uydu görüntüleri

Yapılan çalışmada; halotolerant, halofilik ya da ılımlı halofil özelliğe sahip bakteriler elde etme şansının fazla olacağı düşünülerek, bitki örnekleri tuz içeriği yüksek habitatlardan kaya tuz ocaklarına ve tuz göletlerine yakın yerlerden toplanmıştır.

Çizelge 4.1. Bitkilerin toplandığı bölge, yükseklik, tarih, bitkinin bilimsel adı, bu bitkilerden elde edilen izolatlar, izolatların MIS tanı sonuçları ve yüzdeleri

İzolat Kodu	MIS Tanı Sonucu	MIS Benzerlik İndeksi (SIM)	Konukçu Bitki (Tür/Familya)	Bitkinin Toplandığı Bölge	Yükseklik	Tarih
ASD1	<i>Bacillus pumilus</i>	0,414	<i>Myosotis sp./Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD2	<i>Bacillus subtilis</i>	0,609	<i>Myosotis sp./Boraginaceae</i>	Dölgah	1250m	05.04.2014
ASD3	<i>Bacillus flexus</i>	0,370	<i>Myosotis sp./Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD4	<i>Paenibacillus validus</i>	0,558	<i>Myosotis sp./Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD5	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,665	<i>Myosotis sp./Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD6	<i>Bacillus globisporus</i>	0,389	<i>Artemisia absinthium/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD7	<i>Bacillus filicolonicus</i>	0,659	<i>Medicago sativa/Fabaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD8	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	0,897	<i>Achillea millefolium/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD9	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,387	<i>Avena sp./Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD10	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0,442	<i>Avena sp./Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD11	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,320	<i>Avena sp./Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD12	-	-	<i>Poa bulbosa/Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014

Çizelge 4.1. (devam)

ASD13	-		<i>Poa bulbosa</i> /Poaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD14	<i>Rothia dentocariosa</i>	0,221	<i>Elytrigia repens</i> /Poaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD15	-	-	<i>Elytrigia repens</i> /Poaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD16	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,786	<i>Elytrigia repens</i> /Poaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD17	-	-	<i>Elytrigia repens</i> /Poaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD18	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,712	<i>Elytrigia repens</i> /Poaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD19	<i>Bacillus cereus</i>	0,721	<i>Teucrium chamaedrys</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD20	<i>Arthrobacter globiformis</i>	0,371	<i>Teucrium chamaedrys</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD21	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0,519	<i>Teucrium chamaedrys</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD22	<i>Paenibacillus validus</i>	0,396	<i>Medicago sativa</i> /Fabaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD23	<i>Micrococcus luteus</i>	0,938	<i>Artemisia absinthium</i> /Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD24	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0,513	<i>Artemisia absinthium</i> /Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD25	<i>Brevibacterium epidermidis/ iodinum</i>	0,390	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD26	-	-	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD27	-	-	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD28	<i>Paenibacillus validus</i>	0,460	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD29	<i>Brevibacillus parabbrevis</i>	0,656	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD30	<i>Paenibacillus validus</i>	0,366	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD31	-	-	<i>Plantago cretica</i> /Plantaginaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD32	<i>Paenibacillus validus</i>	0,386	<i>Galium spp</i> /Rubiaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD33	-	-	<i>Galium spp.</i> /Rubiaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD34	<i>Bacillus filicolonicus</i>	0,527	<i>Galium spp.</i> /Rubiaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD35	-	-	<i>Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD36	<i>Bacillus subtilis</i>	0,589	<i>Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri Bölgesi	1760 m	12.10.2014
ASD37	<i>Bacillus subtilis</i>	0,601	<i>Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD38	-	-	<i>Gramineae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD39	-	-	<i>Gramineae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD40	<i>Brevibacillus centrosporus</i>	0,329	<i>Gramineae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD41	-	-	<i>Gramineae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD42	<i>Bacillus flexus</i>	0,508	<i>Lamiaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD43	-	-	<i>Lamiaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD44	-	-	<i>Gramineae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD45	<i>Brevibacterium casei</i>	0,824	<i>Senecio cineraria/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD-46	-	-	<i>Senecio cineraria/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD47	<i>Bacillus flexus</i>	0,430	<i>Senecio cineraria/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD48	-	-	<i>Senecio cineraria/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD49	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0,090	<i>Rumex crispus/Polygonaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD50	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,386	<i>Rumex crispus/Polygonaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD51	<i>Microbacterium liquefaciens</i>	0,532	<i>Rumex crispus/Polygonaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD52	-	-	<i>Equisetum arvense/Equisetaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD53	<i>Bacillus megaterium</i>	0,607	<i>Equisetum arvense/Equisetaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD54	<i>Bacillus megaterium</i>	0,740	<i>Equisetum arvense/Equisetaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD55	<i>Bacillus megaterium</i>	0,482	<i>Achillea millefolium/Asteracea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD56	<i>Bacillus pumilus</i>	0,580	<i>Lamiaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD57	<i>Paenibacillus alginolyticus</i>	0,657	<i>Equisetum arvense/Equisetaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD58	<i>Bacillus megaterium</i>	0,899	<i>Equisetum arvense/Equisetaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD59	<i>Halomonas aquamarina</i>	0,915	<i>Plantago cretica/Plantaginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD60	<i>Halomonas aquamarina</i>	0,957	<i>Plantago cretica/Plantaginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD61	<i>Bacillus cereus</i>	0,543	<i>Plantago cretica/Plantaginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD62	-	-	<i>Plantago cretica/Plantaginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD63	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	0,259	<i>Plantago cretica/Plantaginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD64	<i>Serratia grimesii</i>	0,889	<i>Plantago cretica/Plantaginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD65	<i>Kocuria rosea</i>	0,383	<i>Cirsium arvense/Asteraceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD66	<i>Bacillus subtilis</i>	0,640	<i>Delphinium spp./Ranunculaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD67	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,070	<i>Delphinium spp. /Ranunculaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD68	-	-	<i>Delphinium spp. /Ranunculaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD-69	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0,869	<i>Delphinium spp. /Ranunculaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014

Çizelge 4.1. (devam)

ASD70	<i>Micrococcus luteus</i>	0,782	<i>Delphinium spp. /Ranunculaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD71	-	-	<i>Lolium perenne L./Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD72	-	-	<i>Lolium perenne L./Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD73	-	-	<i>Lolium perenne L./Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD74	<i>Bacillus megaterium</i>	0,628	<i>Lolium perenne L./Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD75	-	-	<i>Lolium perenne L./Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD76	-	-	<i>Lolium perenne L./Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD7	<i>Bacillus megaterium</i>	0,584	<i>Lolium perenne L /Poaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD78	<i>Bacillus megaterium</i>	0,438	<i>Rumex crispus/Polygonaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD-79	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,368	<i>Rumex crispus/Polygonaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD80	-	-	<i>Tanacetum coccineum/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD81	-	-	<i>Tanacetum coccineum/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD82	-	-	<i>Tanacetum coccineum/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD83	-	-	<i>Tanacetum coccineum/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD84	-	-	<i>Tanacetum coccineum/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD85	-	-	<i>Tanacetum coccineum/Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD86	-	-	<i>Tanacetum coccineum</i> /Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD87	-	-	<i>Salvia longipedicellata</i> / <i>Lamiaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD88	-	-	<i>Salvia</i> <i>longipedicellata</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD89	<i>Brevibacillus parabrevis</i>	0,754	<i>Salvia</i> <i>longipedicellata</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD90	-	-	<i>Salvia</i> <i>longipedicellata</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD91	-	-	<i>Salvia</i> <i>longipedicellata</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD92	<i>Bacillus megaterium</i>	0,597	<i>Salvia</i> <i>longipedicellata</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD93	<i>Brevibacillus</i> <i>centrosporus</i>	0,392	<i>Salvia</i> <i>longipedicellata</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD94	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD95	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD96	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD97	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae.	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD98	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD99	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD100	-	-	<i>Cirsium arvense</i> L./Asteraceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD101	-	-	<i>Salvia divinorum</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD102	<i>Bacillus megaterium</i>	0,644	<i>Salvia divinorum</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD-103	-	-	<i>Salvia divinorum</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD104	<i>Bacillus megaterium</i>	0,489	<i>Salvia divinorum</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD105	-	-	<i>Salvia divinorum</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD106	-	-	<i>Salvia divinorum</i> /Lamiaceae	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD107	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD108	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD109	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD110	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD111	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD112	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD113	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD114	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD115	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950m	07.11.2013
ASD116	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950m	07.11.2013
ASD117	-	-	<i>Rumex alpinus</i> /Polygonaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD118	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD119	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD120	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD121	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD122	-	-	<i>Astereceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD123	<i>Sporosarcina psychrophila</i>	0,500	<i>Equisetum arvense</i> /Equisetaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD124	-	-	<i>Equisetum arvense</i> /Equisetaceae	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD125	-	-	<i>Alyssum sp.</i> /Brassicaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD126	-	-	<i>Alyssum sp.</i> /Brassicaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD127	-	-	<i>Alyssum sp.</i> /Brassicaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD128	-	-	<i>Alyssum sp./Brassicaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD129	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,618	<i>Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD130	-	-	<i>Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD131	<i>Bacillus megaterium</i>	0,646	<i>Boraginaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD132	-	-	<i>Helichrysum arenariumL./Asterecaea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD133	-	-	<i>Helichrysum arenariumL./Asterecaea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD134	-	-	<i>Helichrysum arenariumL./Asterecaea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD135	-	-	<i>Helichrysum arenariumL./Asterecaea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD136	-	-	<i>Helichrysum arenariumL./Asterecaea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD137	-	-	<i>Helichrysum arenarium L./Asterecaea</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD138	-	-	<i>Festuca ovina L./Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD139	-	-	<i>Festuca ovina</i> L./Poaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD140	-	-	<i>Festuca ovina</i> L./Poaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD141	-	-	<i>Festuca ovina</i> L./Poaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD142	-	-	<i>Festuca ovina</i> L./Poaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD143	-	-	<i>Festuca ovina</i> L./Poaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD144	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD145	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD146	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD147	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD148	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD149	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD150	-	-	<i>Alyssum linifolium</i> /Brassicaceae	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD151	<i>Yersinia aldovae</i>	0,818	<i>Iris spp.</i> /Iridaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD152	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,557	<i>Iris spp.</i> /Iridaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD153	<i>Bacillus cereus</i>	0,529	<i>Iris spp.</i> /Iridaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD154	<i>Bacillus megaterium</i>	0,629	<i>Iris spp.</i> /Iridaceae	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD155	-	-	<i>Iris spp./Iridaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD156	-	-	<i>Iris spp./Iridaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD157	-	-	<i>Iris spp./Iridaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD158	-	-	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD159	-	-	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD160	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0,357	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD161	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,687	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD162	-	-	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD163	-	-	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD164	-	-	<i>Melilotus officinalisL./Fabaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD165	<i>Paenibacillus validus</i>	0,221	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD166	-	-	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD167	-	-	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD168	-	-	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD169	-	-	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD170	-	-	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD171	-	-	<i>Chenopodium folisum/Chenopodiceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD172	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD173	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	12.10.2014
ASD174	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD175	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD176	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD177	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD178	-	-	<i>Ranunculuaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD179	-	-	<i>Boraginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD180	-	-	<i>Boraginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD181	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,371	<i>Boraginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014

Çizelge 4.1. (devam)

ASD182	<i>Bacillus megaterium</i>	0,629	<i>Boraginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	12.10.2014
ASD-183	-	-	<i>Boraginaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD184	<i>Micrococcus luteus</i>	0,496	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD185	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD186	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD-187	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD188	<i>Bacillus megaterium</i>	0,617	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD189	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD190	<i>Artrobacter viscosus</i>	0,565	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD191	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	0,302	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD192	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD193	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD194	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD195	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD196	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD197	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD198	-	-	<i>Sonchus arvensis</i> L./ <i>Asteraceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013

Çizelge 4.1. (devam)

ASD199	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD200	<i>Artrobacter viscosus</i>	0,361	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	12.10.2014
ASD201	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD202	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD203	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD204	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD205	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD206	-	-	<i>Crucifereae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD207	-	-	<i>Poa bulbosa/Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD209	-	-	<i>Poa bulbosa/Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD210	-	-	<i>Poa bulbosa/Poaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	31.06.2014
ASD211	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD212	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760m	17.05.2013
ASD213	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	17.05.2013
ASD214	-	-	<i>Labiataea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD215	-	-	<i>Labiataea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD216	-	-	<i>Labiataea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014

Çizelge 4.1. (devam)

ASD217	-	-	<i>Labiataea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD218	-	-	<i>Labiataea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD219	-	-	<i>Chenopodium</i> <i>alrina/Chenopodicaea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD220	-	-	<i>Chenopodium</i> <i>alrina/Chenopodicaea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD221	-	-	<i>Chenopodium</i> <i>alrina/Chenopodicaea</i>	Dölgah	1250m	05.04.2014
ASD222	-	-	<i>Chenopodium</i> <i>alrina/Chenopodicaea</i>	Dölgah	1250m	05.04.2014
ASD223	-	-	<i>Chenopodium</i> <i>alrina/Chenopodicaea</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD224	-	-	<i>Taraxacum officinale/Asteraceae</i>	Dölgah	1250m	05.04.2014
ASD225	-	-	<i>Taraxacum officinale/Asteraceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD226	-	-	<i>Taraxacum officinale/Asteraceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD227	-	-	<i>Taraxacum officinale/Asteraceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD228	-	-	<i>Taraxacum officinale/Asteraceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD229	-	-	<i>Taraxacum officinale/Asteraceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD-230	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014

Çizelge 4.1. (devam)

ASD231	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD232	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD233	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD234	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD235	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD236	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Sağır Tepe	1950m	07.11.2013
ASD237	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD238	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Sağır Tepe	1950m	07.11.2013
ASD239	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Sağır Tepe	1950m	07.11.2013
ASD240	-	-	<i>Amaranthaceae</i>	Sağır Tepe	1950 m	07.11.2013
ASD241	-	-	<i>Stipa sp./Poaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD242	<i>Bacillus cereus</i>	0,768	<i>Stipa sp./Poaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD243	<i>Bacillus cereus</i>	0,408	<i>Stipa sp./Poaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD244	-	-	<i>Stipa sp./Poaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD245	<i>Psychrobacter immobilis</i>	0,046	<i>Stipa sp./Poaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD246	<i>Bacillus cereus</i>	0,377	<i>Ranunculaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD247	-	-	<i>Ranunculaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD248	-	-	<i>Ranunculaceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014

Çizelge 4.1. (devam)

ASD249	<i>Achromobacter xylosoxidans-denitrificans</i>	0,481	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD250	<i>Bacillus cereus</i>	0,422	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD251	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD252	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD253	-	-	<i>Gramineae</i>	Yapay Tuz Göletleri	1760 m	12.10.2014
ASD254	-	-	<i>Astereceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD255	-	-	<i>Astereceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD256	-	-	<i>Astereceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014
ASD257	-	-	<i>Astereceae</i>	Dölgah	1250 m	05.04.2014

Çizelge 4.1’de de görüldüğü gibi; bitki örneklerinin toplandığı en yüksek rakım 1950 m ve en düşük rakım 1250 m olarak tespit edilmiştir. Toplanan bitkilerden, 55 tanesi Asteraceae, 34 tanesi Poaceae, 19 tanesi Lamiaceae, 16 tanesi Amaranthaceae, 13 tanesi Plantaginaceae, 13 tanesi Polygonaceae, 13 tanesi Boraginaceae, 12 tanesi Chenopodiaceae, 11 tanesi Iridaceae, 10 tanesi Ranunculaceae, 9 tanesi Fabaceae, 8 tanesi Cruciferae, 7 tanesi Equisetaceae, 5 tanesi de Labiatae, 5 tanesi Ranunculaceae, 5 tanesi Viscaceae, 3 tanesi Rubiaceae, 3 tanesi Gramineae familyasına ait olup, toplam izolat sayısı 257’dir. Bu bitkilerden bazıları çiçeklenme döneminde olmadığından yalnızca familya düzeyinde teşhis edilebilmiştir. Tür veya cins düzeyinde teşhisi yapılan bitkiler ise *Myosotis* sp. (unutma benî), *Artemisia absinthum* L. (Pelin otu), *Medicago sativa* (Yonca), *Achillea millefolium* (Civanperçemi), *Avena* spp. (Yabani yulaf), *Poa bulbosa* (Yumrulu salkım), *Elytrigia repens* (Ayrık otu), *Teucrium chamaedrys* (Dalak otu), *Plantago cretica* (Sinir otu), *Galium* spp. (Yapışkan otu), *Senecio cineraria* (Kül çalısı), *Rumex crispus* (Kıvrıkcık labada), *Equisetum arvense* (Tarla atkuyruğu), *Cirsium arvense* (Köygöçerten), *Salvia divinorum* (Adaçayı), *Delphinium* spp. (Hazeran), *Lolium perenne* L. (İngiliz çimi), *Tanacetum coccineum* (Pire otu), *Salvia longipedicellata* (Duvaklı şalba), *Salvia* spp. (Adaçayı), *Rumex alpinus* (Dağ labadası), *Alyssum* sp. (Kuduzotu), *Helichrysum arenarium* (Altın otu), *Festuca ovina* L. (Yabani koyun yumağı), *Alyssum linifolium* (Çıplak kuduzotu), *Iris* spp. (Süsen), *Melilotus officinalis* L. (Sarı taşyoncası), *Chenopodium folisum* (Cülek), *Sonchus arvensis* L. (Eşek marulu), *Chenopodium alrına* (Tel pancarı), *Taraxacum officinale* (Karahindiba) ve *Stipa* sp. (Çim) gibi türlerden oluşmaktadır.

Tuz içeriği yüksek habitatlardan kaya tuzu ocaklarına ve tuz göletlerine yakın yerlerden toplanan bitki rizosferlerinden 1 M NaCl içeren besiyerine ekim yapılarak izole edilen 257 izolatın MIS analizi yapılmıştır. MIS analizi sonuçlarına göre izolatlardan 54 tanesi *Bacillus*, 5 tanesi *Arthrobacter*, 3 tanesi *Micrococcus*, 2 tanesi *Halomonas*, *Brevibacterium* ve *Stenotrophomonas* cinslerine aittir. *Staphylococcus*, *Microbacterium*, *Serratia*, *Sporosarcina*, *Yersinia*, *Rhodococcus*, *Brevundimonas*, *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Rothia* ve *Achromobacter* 1’er türle temsil edilmektedir. Geri kalan 151

izolatın ise MIS sistemi ile tanısı yapılamamıştır. MIS analizi sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

4.2. Çalışmada Kullanılacak Yüksek Tuz Konsantrasyonunda Gelişen İzolatların Seçimi

Bu çalışmada, tuz içeriği fazla alanlarda yetişen çeşitli bitki rizosfer toprağı örneklerinden izole edilip 1 M NaCl içeren besiyerinde gelişen toplam 257 izolat elde edilmiştir. Elde edilen bu izolatlar halotolerant, ılımlı halofil, ekstreme yakın ya da ekstrem halofil olup olmadıkları bakımından, 3.2.2’de belirtilen yöntemle test edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. İzolatların çeşitli konsantrasyonlarda NaCl içeren (1,75M, 2M ve 2,5M NaCl) besiyerinde gelişme potansiyelleri ve elde edilen bulgular

İzolat No	1,75M NaCl	2M NaCl	2,5M NaCl
ASD1	+	+	-
ASD2	+	+	+
ASD3	+	+	+
ASD4	+	+	-
ASD5	+	+	-
ASD6	+	+	+
ASD7	+	+	-
ASD8	+	+	+
ASD9	+	+	+
ASD10	+	+	+
ASD11	+	+	-
ASD12	+	+	+
ASD13	+	+	-
ASD14	+	+	-
ASD15	+	+	-
ASD16	+	+	-

Çizelge 4.2. (devam)

ASD17	+	+	-
ASD18	+	+	-
ASD19	+	+	-
ASD20	+	-	-
ASD21	+	+	+
ASD22	+	+	+
ASD23	+	+	+
ASD24	+	+	-
ASD25	+	-	-
ASD26	+	-	-
ASD27	+	+	+
ASD28	+	+	+
ASD29	+	-	-
ASD30	+	-	-
ASD31	+	+	+
ASD32	+	+	-
ASD33	+	+	+
ASD34	+	+	-
ASD35	+	+	-
ASD36	+	+	+
ASD37	+	+	+
ASD38	+	+	+
ASD39	+	+	+
ASD40	+	+	+
ASD41	+	+	+
ASD42	+	+	+
ASD43	+	+	+
ASD44	+	+	+
ASD45	+	+	+
ASD46	+	+	+

Çizelge 4.2. (devam)

ASD47	+	+	+
ASD48	+	+	+
ASD49	+	+	+
ASD50	+	-	-
ASD51	+	-	-
ASD52	+	+	-
ASD53	+	-	-
ASD54	+	+	-
ASD55	+	+	-
ASD56	+	+	-
ASD57	+	+	-
ASD58	+	+	-
ASD59	+	+	+
ASD60	+	+	+
ASD61	+	+	-
ASD62	+	+	+
ASD63	+	+	-
ASD64	+	+	+
ASD65	+	-	-
ASD66	+	-	-
ASD67	-	-	-
ASD68	+	+	-
ASD69	+	+	-
ASD70	+	-	-
ASD71	+	+	+
ASD72	+	+	-
ASD73	+	+	+
ASD74	+	-	-
ASD75	+	+	-
ASD76	+	+	+

Çizelge 4.2. (devam)

ASD77	+	+	-
ASD78	+	-	-
ASD79	+	+	-
ASD80	+	+	+
ASD81	+	+	+
ASD82	+	+	+
ASD83	+	+	-
ASD84	+	-	-
ASD85	+	+	+
ASD86	+	+	+
ASD87	+	+	+
ASD89	+	-	-
ASD90	+	+	-
ASD91	+	+	-
ASD92	+	+	-
ASD93	+	+	+
ASD94	+	-	-
ASD95	+	+	-
ASD96	+	+	+
ASD97	+	+	+
ASD98	+	+	+
ASD99	+	+	-
ASD100	+	+	-
ASD101	+	+	-
ASD102	+	-	-
ASD103	+	+	-
ASD104	+	+	-
ASD105	+	+	-
ASD106	+	+	+
ASD107	+	+	+

Çizelge 4.2. (devam)

ASD108	+	+	-
ASD109	-	-	-
ASD110	-	-	-
ASD111	-	-	-
ASD112	-	-	-
ASD113	-	-	-
ASD114	-	-	-
ASD115	-	-	-
ASD116	-	-	-
ASD117	-	-	-
ASD118	-	-	-
ASD119	-	-	-
ASD120	-	-	-
ASD121	+	+	-
ASD122	+	-	-
ASD123	+	+	-
ASD124	+	+	-
ASD125	+	+	-
ASD126	+	+	-
ASD127	+	+	+
ASD128	+	+	-
ASD129	+	+	-
ASD130	+	+	-
ASD131	+	+	-
ASD132	+	+	-
ASD133	+	+	+
ASD134	+	-	-
ASD135	-	-	-
ASD136	-	-	-

Çizelge 4.2. (devam)

ASD137	-	-	-
ASD138	-	-	-
ASD139	-	-	-
ASD140	-	-	-
ASD141	-	-	-
ASD142	-	-	-
ASD143	-	-	-
ASD144	-	-	-
ASD145	-	-	-
ASD146	-	-	-
ASD147	-	-	-
ASD148	-	-	-
ASD149	-	-	-
ASD150	-	-	-
ASD151	+	+	+
ASD152	+	+	-
ASD153	+	+	-
ASD154	+	+	-
ASD155	+	+	+
ASD156	+	+	+
ASD157	+	+	-
ASD158	+	+	+
ASD159	+	+	+
ASD160	+	+	+
ASD161	+	+	-
ASD162	+	+	-
ASD163	+	+	-
ASD164	+	+	+
ASD165	+	+	+

Çizelge 4.2. (devam)

ASD166	+	+	+
ASD167	-	-	-
ASD168	-	-	-
ASD169	-	-	-
ASD170	-	-	-
ASD171	-	-	-
ASD172	-	-	-
ASD173	-	-	-
ASD174	-	-	-
ASD175	-	-	-
ASD176	-	-	-
ASD177	-	-	-
ASD178	-	-	-
ASD179	-	-	-
ASD180	-	-	-
ASD181	+	+	-
ASD182	+	-	-
ASD183	+	-	-
ASD184	+	+	-
ASD185	+	+	+
ASD186	+	+	-
ASD187	+	+	-
ASD188	+	-	-
ASD189	+	+	-
ASD190	+	+	-
ASD191	+	+	+
ASD192	+	+	-
ASD193	+	+	+
ASD194	+	+	-
ASD195	+	+	-

Çizelge 4.2. (devam)

ASD196	+	+	+
ASD197	+	+	+
ASD198	+	+	-
ASD199	+	+	+
ASD200	+	+	+
ASD201	-	-	-
ASD202	-	-	-
ASD203	-	-	-
ASD204	-	-	-
ASD205	-	-	-
ASD206	-	-	-
ASD207	-	-	-
ASD208	-	-	-
ASD209	-	-	-
ASD210	-	-	-
ASD211	-	-	-
ASD212	-	-	-
ASD213	-	-	-
ASD214	-	-	-
ASD215	-	-	-
ASD216	-	-	-
ASD217	-	-	-
ASD218	-	-	-
ASD219	-	-	-
ASD220	-	-	-
ASD221	-	-	-
ASD222	-	-	-
ASD223	-	-	-
ASD224	-	-	-

Çizelge 4.2. (devam)

ASD225	-	-	-
ASD226	-	-	-
ASD227	-	-	-
ASD228	-	-	-
ASD229	-	-	-
ASD230	-	-	-
ASD231	-	-	-
ASD232	-	-	-
ASD233	-	-	-
ASD234	-	-	-
ASD235	-	-	-
ASD236	-	-	-
ASD237	-	-	-
ASD238	-	-	-
ASD23	-	-	-
ASD240	-	-	-
ASD241	+	-	-
ASD242	+	+	-
ASD243	+	-	-
ASD244	+	-	-
ASD245	+	+	-
ASD246	+	-	-
ASD247	+	-	-
ASD248	+	-	-
ASD249	+	-	-
ASD250	+	-	-

*: Çizelgede yer alan +, izolatların NaCl içeren konsantrasyonda gelişim gösterdiğini; - ise gelişme göstermediğini ifade etmektedir.

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi izolatların en az 1,75M olmak üzere 2M ve 2,5M konsantrasyonda NaCl içeren ortamda gelişip gelişmedikleri bakımından test

edilmişlerdir. ASD1, ASD4, ASD5, ASD7, ASD11, ASD13, ASD14, ASD15, ASD16, ASD17, ASD18, ASD19, ASD24, ASD32, ASD34, ASD35, ASD52, ASD54, ASD55, ASD56, ASD57, ASD58, ASD61, ASD63, ASD68, ASD69, ASD72, ASD75, ASD76, ASD77, ASD79, ASD83, ASD-90, ASD91, ASD92, ASD99, ASD-100, ASD-101, ASD-103, ASD104, ASD-105, ASD108, ASD121, ASD123, ASD24, ASD26, ASD29, ASD30, ASD131, ASD132, ASD152, ASD153, ASD154, ASD157, ASD161, ASD162, ASD163, ASD181, ASD184, ASD186, ASD187, ASD189, ASD190, ASD192, ASD194, ASD195, ASD198 ve ASD245 izolatları 1,75M ve aynı zamanda 2M NaCl konsantrasyonunda gelişme göstermiştir; test edilen ASD2, ASD3, ASD6, ASD8, ASD9, ASD12, ASD21, ASD22, ASD23, ASD27, ASD28, ASD31, ASD33, ASD36, ASD37, ASD38, ASD39, ASD40, ASD41, ASD42, ASD43, ASD44, ASD45, ASD46, ASD47, ASD48, ASD49, ASD59, ASD60, ASD62, ASD64, ASD71, ASD73, ASD76, ASD80, ASD81, ASD82, ASD85, ASD86, ASD87, ASD88, ASD93, ASD97, ASD98, ASD106, ASD107, ASD127, ASD-133, ASD-151, ASD-155, ASD156, ASD158, ASD159, ASD160, ASD164, ASD165, ASD166, ASD185, ASD191, ASD193, ASD196, ASD197, ASD199 ve ASD200 izolatları ise hem 1,75M hem 2M ve hem de 2,5M NaCl konsantrasyonunda gelişme göstermiştir. Test edilen izolatlardan; ASD20, ASD25, ASD26, ASD29, ASD30, ASD50, ASD51, ASD53, ASD65, ASD66, ASD70, ASD74, ASD78, ASD84, ASD89, ASD94, ASD102, ASD122, ASD241, ASD243, ASD244, ASD246, ASD247, ASD248, ASD249 ve ASD250 izolatları ise yalnızca 1,75M NaCl konsantrasyonunda gelişme göstermiştir. Ayrıca test edilen ASD109, ASD110, ASD111, ASD112, ASD113, ASD114, ASD115, ASD116, ASD117, ASD118, ASD119, ASD120, ASD135, ASD136, ASD136, ASD137, ASD138, ASD139, ASD140, ASD141, ASD142, ASD143, ASD144, ASD145, ASD146, ASD147, ASD148, ASD149, ASD150, ASD167, ASD168, ASD169, ASD170, ASD171, ASD172, ASD-173, ASD174, ASD-175, ASD176, ASD177, ASD178, ASD178, ASD179, ASD180, ASD201, ASD-202, ASD203, ASD204, ASD205, ASD206, ASD207, ASD208, ASD209, ASD210, ASD211, ASD212, ASD213, ASD214, ASD-215, ASD-216, ASD217, ASD-218, ASD219, ASD220, ASD221, ASD222, ASD223, ASD224, ASD225, ASD226, ASD227, ASD228, ASD229, ASD230, ASD231, ASD-232, ASD2333, ASD234, ASD235, ASD236, ASD237, ASD238, ASD239 ve ASD240 izolatları ise 1,75 M, 2 M ve 2,5 M’da hiçbir gelişme göstermemişlerdir.

1,75M, 2M ve 2,5M tuz konsantrasyonu içeren ortamda gelişme gösterdikleri belirlenen 164 izolatın, azotsuz ortamda üreyip üremedikleri iki farklı sıcaklıkta (30°C ve 25°C) azot içermeyen ortama 3.2.3.c’de verilen belirtilen yöntemle inokule edilerek 2., 3. ve 4. gündeki gelişimleri ve sonuçları Çizelge 4.3’te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. İzolatların azotsuz besiyerinde gelişme potansiyellerinin karşılaştırılması

İzolat No	Azotsuz Ortamda Gelişme (30°C)	Azotsuz Ortamda Gelişme (25°C)
ASD1	-++	-++
ASD2	-±+	-±+
ASD3	---	---
ASD4	+++	+++
ASD5	±++	±++
ASD6	+++	+++
ASD7	+++	+++
ASD8	+++	-±±
ASD9	+++	±++
ASD10	+++	+++
ASD11	---	---
ASD12	±++	±±±
ASD13	+++	±++
ASD14	+++	+++
ASD15	---	---
ASD16	---	---
ASD17	+++	+++
ASD18	-++	--±
ASD19	+++	±++
ASD20	---	---
ASD21	---	---
ASD22	+++	+++
ASD23	+++	+++

Çizelge 4.3. (devam)

ASD24	+++	+++
ASD25	+++	+++
ASD26	---	---
ASD27	±±±	--+
ASD28	---	---
ASD29	---	---
ASD30	±±±	-±±
ASD31	-++	-++
ASD32	---	---
ASD33	---	---
ASD34	+++	±±±
ASD35	---	---
ASD36	+++	-±±
ASD37	---	---
ASD38	+++	±±±
ASD39	---	---
ASD40	-±±	-±±
ASD41	---	---
ASD42	±±±	±±±
ASD43	+++	+++
ASD44	+++	+++
ASD45	+++	+++
ASD46	---	---
ASD47	---	---
ASD48	+++	+++
ASD49	±±±	±±±
ASD50	---	---
ASD51	---	---
ASD52	-±±	---
ASD53	---	---

Çizelge 4.3. (devam)

ASD54	+++	+++
ASD55	±++	±++
ASD56	±++	±++
ASD57	+++	+++
ASD58	+++	+++
ASD59	+++	+++
ASD60	-±+	-±+
ASD61	-++	-±+
ASD62	---	---
ASD63	+++	+++
ASD64	-++	-++
ASD65	+++	±++
ASD66	+++	-±+
ASD67	---	---
ASD68	±++	±++
ASD69	±++	±++
ASD70	---	---
ASD71	---	---
ASD72	---	---
ASD73	---	---
ASD74	---	---
ASD75	---	---
ASD76	---	---
ASD77	---	---
ASD78	---	---
ASD79	---	---
ASD80	---	---
ASD81	---	---
ASD82	---	---
ASD83	---	---

Çizelge 4.3. (devam)

ASD84	---	---
ASD85	---	---
ASD86	---	---
ASD87	---	---
ASD88	---	---
ASD89	---	---
ASD90	---	---
ASD91	---	---
ASD92	---	---
ASD93	---	---
ASD94	---	---
ASD95	---	---
ASD96	---	---
ASD97	---	---
ASD98	---	---
ASD99	---	---
ASD100	---	---
ASD101	---	---
ASD102	+++	+++
ASD103	---	---
ASD104	---	---
ASD105	---	---
ASD106	---	---
ASD107	+++	+++
ASD108	+++	+++
ASD121	-++	-++
ASD122	-±±	-±±
ASD123	---	---
ASD124	---	---
ASD125	---	---

Çizelge 4.3. (devam)

ASD126	---	---
ASD127	---	---
ASD128	---	---
ASD129	---	---
ASD130	---	---
ASD131	---	---
ASD132	---	---
ASD133	---	---
ASD134	---	---
ASD151	---	---
ASD152	---	---
ASD153	---	---
ASD154	+++	+++
ASD155	---	---
ASD156	---	---
ASD157	---	---
ASD158	---	---
ASD159	---	---
ASD160	---	---
ASD161	---	---
ASD162	---	---
ASD163	---	---
ASD164	---	---
ASD165	---	---
ASD166	---	---
ASD181	+++	±±±
ASD182	---	---
ASD183	---	---
ASD184	---	---
ASD185	---	---
ASD186	---	---
ASD187	---	---

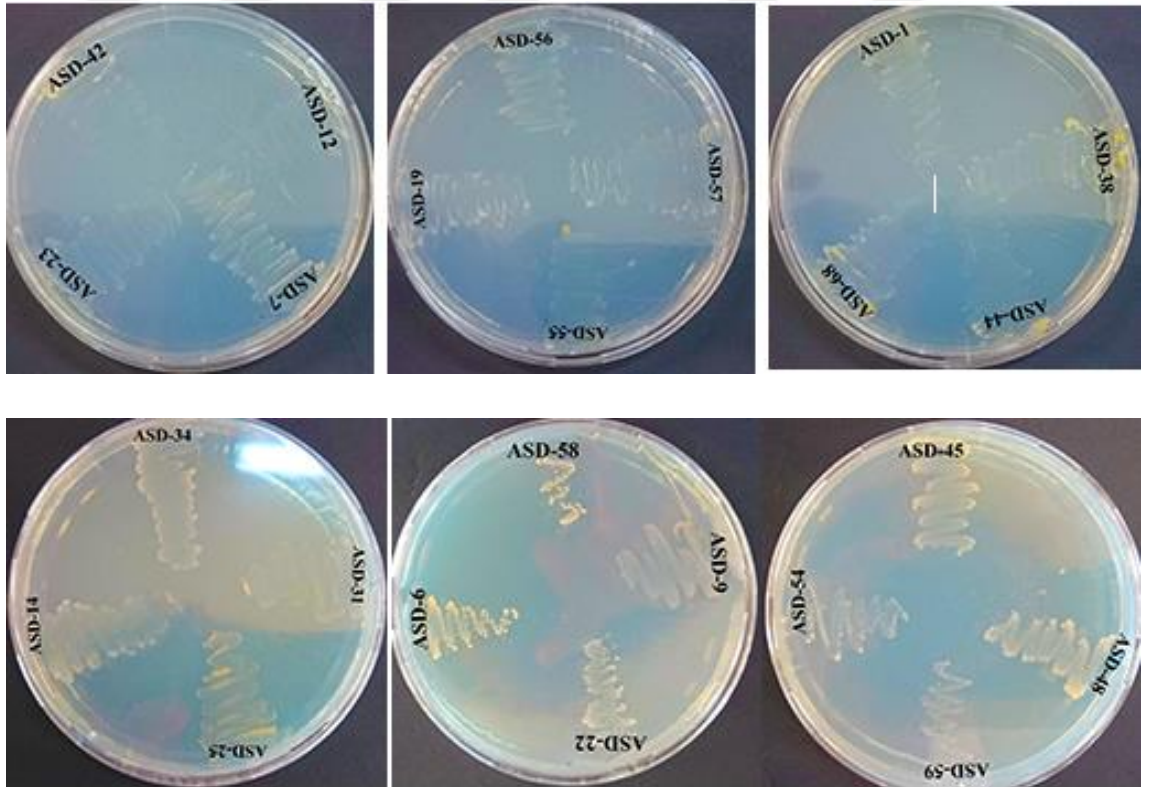
Çizelge 4.3. (devam)

ASD188	---	---
ASD189	---	---
ASD190	---	---
ASD191	---	---
ASD192	---	---
ASD193	---	---
ASD194	---	---
ASD195	-±±	---
ASD196	---	---
ASD197	---	---
ASD198	---	---
ASD199	---	---
ASD200	---	---
ASD241	---	---
ASD242	---	---
ASD243	---	---
ASD244	+++	+++
ASD245	---	---
ASD246	---	---
ASD247	---	---
ASD248	+++	+++
ASD249	---	---
ASD250	---	---

*: Çizelgede yer alan +, izolatların azotsuz besiyerinde gelişme gösterdiğini; ±, izolatların az da olsa gelişme gösterdiğini; - ise gelişme göstermediklerini ifade etmektedir. Her bir sıcaklık için üçer tane olan bu semboller izolatların sırasıyla 2., 3. ve 4. gündeki gelişimlerini temsil etmektedir.

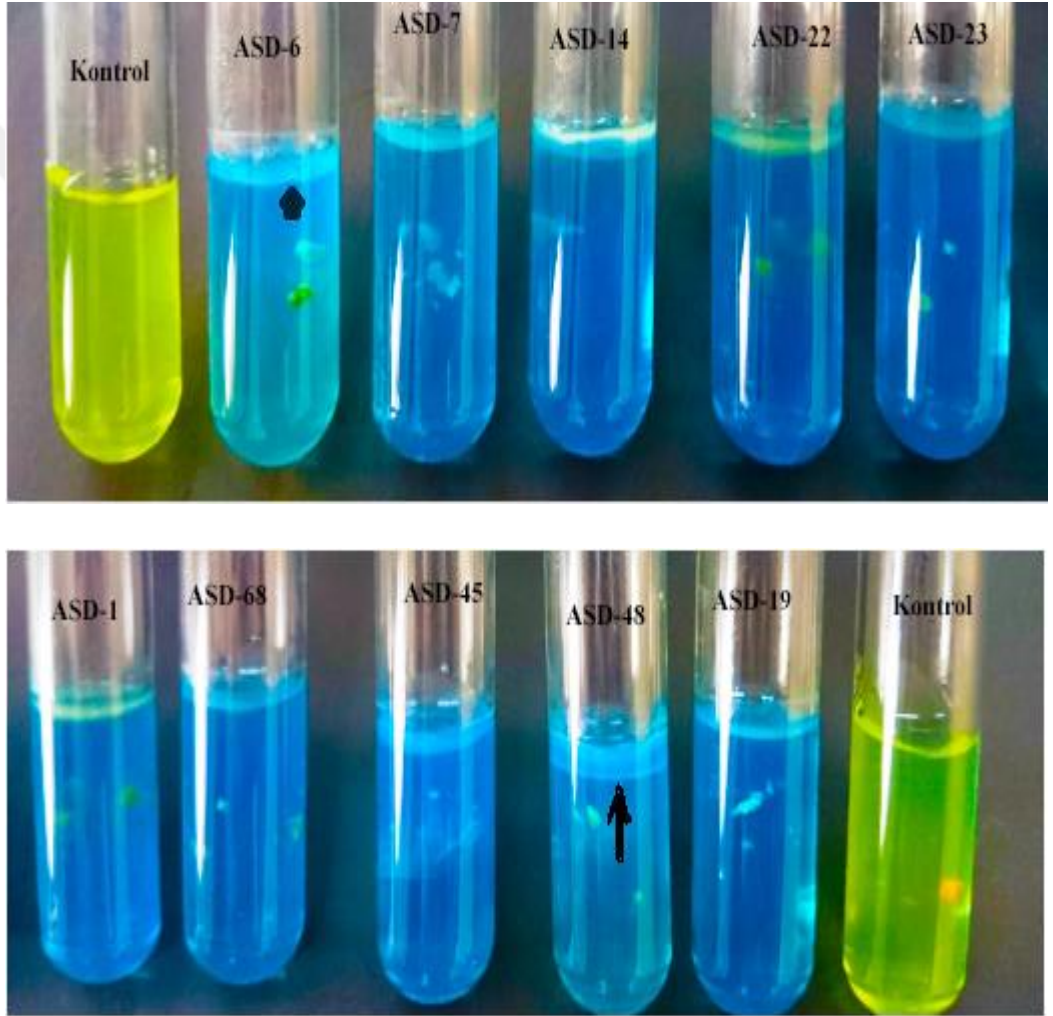
Çizelge 4.3'ten de görüldüğü üzere, azotsuz besiyerine inokule edilerek her iki sıcaklık derecesinde de en iyi düzeyde üreyebilen (Dolayısıyla azot bağlayıcı özelliğe sahip olabilecek) izolatlar; ASD4, ASD5, ASD6, ASD7, ASD10, ASD13, ASD14, ASD22, ASD23, ASD24, ASD25, ASD43, ASD44, ASD45, ASD48, ASD49, ASD54, ASD55, ASD56, ASD57, ASD58, ASD59, ASD63, ASD65, ASD68, ASD69, ASD102, ASD107, ASD108, ASD154, ASD181 ve ASD248'dir. Azotsuz ortamda her iki

sıcaklıkta da 3. gün gelişim gösteren izolatlar ise ASD1, ASD5, ASD55, ASD56, ASD68 ve ASD69 izolatlarıdır. Bunun yanı sıra diğer izolatlar da çok az ve diğer izolatlara göre geç de olsa azotsuz ortamda üreme göstermişlerdir. Şekil 4.4'te bazı izolatların azotsuz besiyerinde gösterdikleri üreme görülmektedir. Test edilen ASD3, ASD11, ASD15, ASD16, ASD20, ASD21, ASD26, ASD28, ASD29, ASD32, ASD33, ASD35, ASD39, ASD41, ASD46, ASD47, ASD50, ASD51, ASD53, ASD62, ASD67, ASD70, ASD101, ASD103, ASD104, ASD105, ASD106, ASD123, ASD124, ASD125, ASD126, ASD127, ASD128, ASD129, ASD130, ASD131, ASD132, ASD133, ASD-134, ASD151, ASD152, ASD153, ASD155, ASD156, ASD157, ASD158, ASD159, ASD160, ASD161, ASD162, ASD163, ASD164, ASD-165, ASD166, ASD182, ASD183, ASD184, ASD185, ASD186, ASD187, ASD188, ASD189, ASD190, ASD191, ASD192, ASD193, ASD194, ASD196, ASD197, ASD198, ASD199, ASD200, ASD241, ASD242, ASD243, ASD245, ASD246, ASD247, ASD249 ve ASD250 izolatları ise azotsuz besiyerinde gelişme göstermemişlerdir.



Şekil 4.4. Bazı izolatların azotsuz besiyerinde gösterdikleri gelişme

Bu izolatların azot bağlayıcılığını teyit etmek amaçla 3.2.3.d.'de belirtilen yöntem kullanılarak gelişimleri gözlenmiştir. Şekil 4.4'te görüldüğü gibi azotsuz ortamda benzer sonuçlar gözlenmiştir. Çizelge 4.2'de verilen ve halotolerant, ılımlı halofil, ekstremlerine yakın ya da ekstremler halofil olduğu belirlenen 164 izolatın 57'sinin aynı zamanda az çok azot da bağlayabildikleri görülmektedir. Dolayısıyla, çalışmanın bundan sonraki kısımlarında da bu etkili potansiyel izolatlar kullanılmıştır.



Şekil 4.5. Bazı izolatların yarı katı azotsuz besiyerinde oluşturdukları mavi renk ve yüzeye yakın bölgede oluşturdukları tabaka (ok işareti oluşturulan tabakayı işaret etmekte)

Şekil 4.5'te görüldüğü gibi azotsuz yarı katı besiyerine inoküle edilen izolatlar, şayet azotsuz ortamda gelişim gösteriyorsa; sarıdan maviye renk değişimi göstermekte ayrıca okla gösterildiği gibi besiyerinin yüzeyine yakın yerde bir tabaka oluşturmaktadır. Fakat

kontrol grubunda olduğu gibi azotsuz besiyerinde gelişme olmadığı takdirde, besiyerinin ana renginde herhangi bir renk değişimi ve tabaka oluşumu görülmemektedir.

4.3. Potansiyel Etkili İzolatların Diğer Özellikleri

4.3.1. İzolatların inorganik fosfatı çözme potansiyelleri

İzolatların inorganik fosfatı çözme potansiyelleri kalitatif ve kantitatif olarak 3.2.3.a ve 3.2.3.b’de verilen yöntemlere göre belirlenmiştir. Belirlenen bu özelliklerin sonuçları Çizelge 4.4’te özetlenmiştir. Kalitatif ve kantitatif sonuçlar karşılaştırılarak incelendiğinde en iyi fosfat çözücü özelliğe sahip izolatlar sırasıyla ASD4 (0,690/97 mg/L), ASD5 (0,250/99,8 mg/L), ASD6 (0,413/98,4 mg/L), ASD8 (0,411/97,06 mg/L), ASD10 (0,828/108,4 mg/L), ASD12 (0,87/110,03 mg/L), ASD14 (0,9/113,8 mg/L), ASD18 (0,104/103,3 mg/L), ASD19 (0,403/136,8 mg/L), ASD22 (0,337/104,13 mg/L), ASD23 (0,132/140,6 mg/L), ASD25 (0,123/116,7 mg/L), ASD31 (0,6/99,5 mg/L), ASD34 (0,147/110,3 mg/L), ASD36 (0,529/98,06 mg/L), ASD38 (0,755/104,7 mg/L), ASD48 (0,588/100,2 mg/L), ASD68 (0,437/103,8 mg/L) ve ASD69 (0,235/97,33 mg/L)’dır. Diğer 17 izolatta önemli düzeylerde $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ’yi çözücü özelliğe sahiptir. Çizelge 4.4’te verilen 57 izolattan 36’sının aynı zamanda da önemli düzeyde fosfat çözücü özelliğe sahip olduğu görülmektedir. Bu 36 izolat dışında kalan 21 izolatın kantitatif olarak fosfat çözücü özelliği test edilmiş ve negatif sonuç alındığı için Çizelge 4.4’te bu izolatlara yer verilmemiştir.

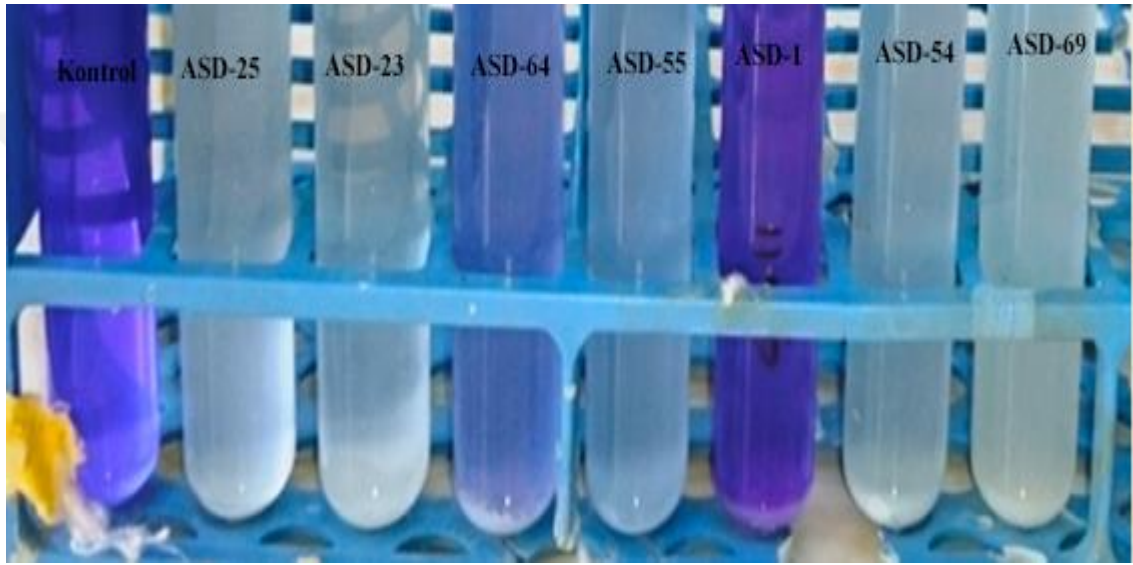
Çizelge 4.4. İzolatların inorganik fosfatı çözme potansiyellerinin kalitatif ve kantitatif sonuçlarının karşılaştırılması

İzolat No	İnorganik P’nin çöz. (Kalitatif/600 nm)	İnorganik P’nin çöz. (Kantitatif- mg/L)
ASD1	0,729	60
ASD4	0,690	97
ASD5	0,250	99,8

Çizelge 4.4. (devam)

ASD6	0,413	98,4
ASD7	0,462	79,2
ASD8	0,411	97,06
ASD9	0,263	70,06
ASD10	0,828	108,4
ASD12	0,87	110,03
ASD14	0,9	113,8
ASD18	0,104	103,03
ASD19	0,403	136,8
ASD22	0,337	104,13
ASD23	0,132	140,6
ASD24	0,490	86,6
ASD25	0,123	116,7
ASD31	0,6	99,5
ASD34	0,147	110,3
ASD36	0,529	98,06
ASD38	0,755	104,7
ASD40	0,841	101,9
ASD42	0,764	112,5
ASD44	0,851	99,6
ASD45	0,949	103,3
ASD48	0,588	100,2
ASD52	0,488	66,6
ASD54	0,1	57,2
ASD55	0,947	82
ASD56	0,758	70
ASD57	0,499	96,7
ASD58	0,14	70,5
ASD59	1,2	59,26
ASD64	0,74	65
ASD65	0,93	91,8
ASD68	0,437	103,8
ASD69	0,235	97,33

Şekil 4.6’da kontrol grubu ve bazı izolatların NBRIP-BPB sıvı besiyerinde gösterdikleri renk değişimleri karşılaştırılmıştır. Fosfat çözücü özellik gösteren izolatlar kontrol grubuna göre besiyerinde renk açılımı sağlarken, fosfat çözücülüğü negatif izolatlar da renk açılımı gözlenmemiştir.



Şekil 4.6. Kontrol grubu ve test edilen bazı bakteri izolatlarının NBRIP-BPB besiyerinde oluşturdukları renk değişimlerinin karşılaştırılması

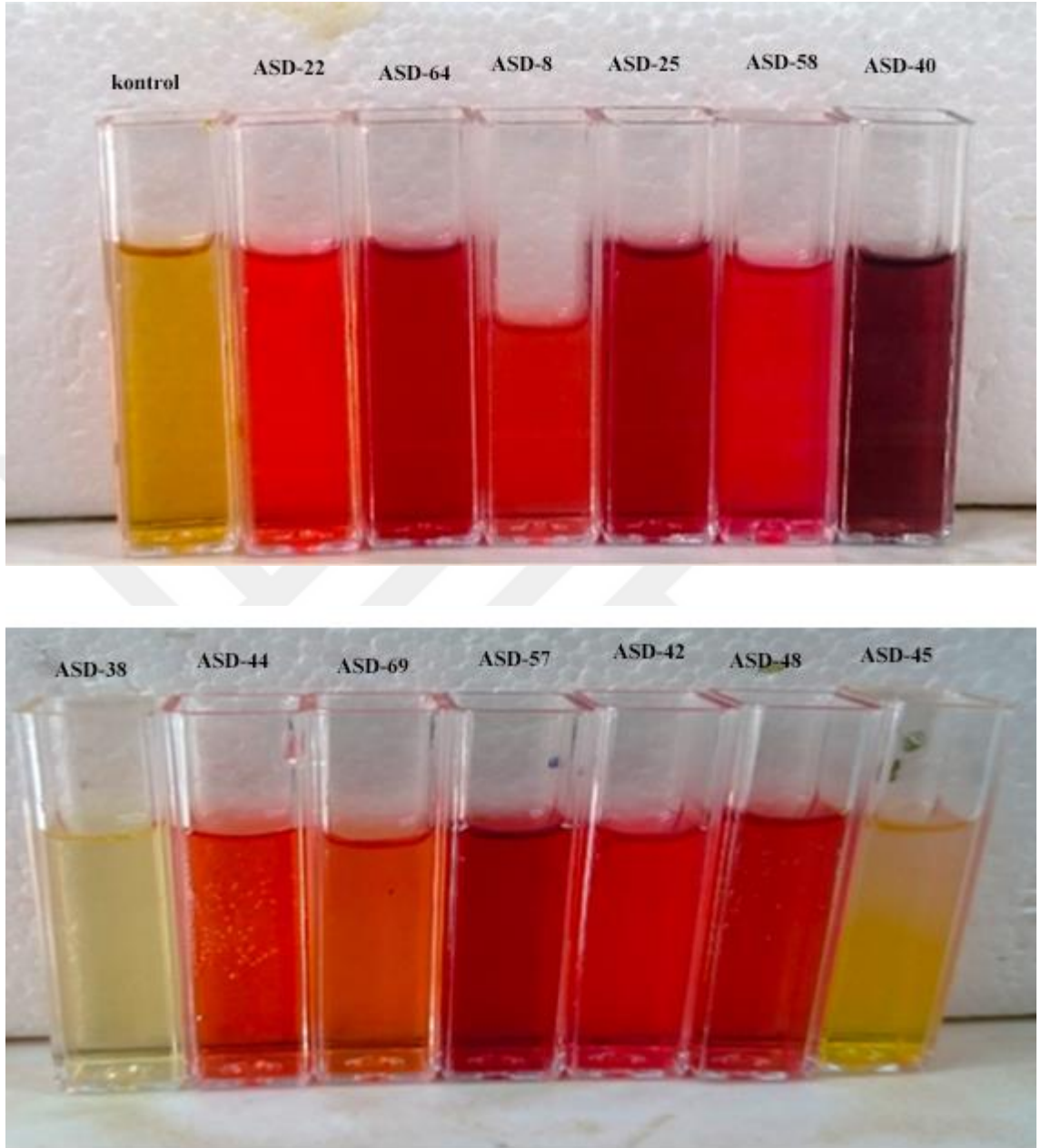
4.4. İzolatların İndol-3-Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyelleri

Fosfat çözücü özellikleri test edilerek belirli seviyede fosfat çözücü oldukları belirlenen 36 izolatın, indol-3-asetik asit (IAA) üretimi yapıp yapmadıkları 3.2.3.e’de belirtilen yöntem kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiş ve sonuçlar mg/L olarak Çizelge 4.5’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. İzolatların IAA üretimi potansiyellerinin karşılaştırılması

İzolat No	IAA üretimi (mg/L)	İzolat No	IAA üretimi (mg/L)
ASD1	59,8	ASD38	7,2
ASD5	33,9	ASD40	190
ASD6	88,8	ASD42	94,4
ASD7	39,4	ASD44	42,7
ASD8	78,8	ASD45	8,3
ASD9	48	ASD48	103,8
ASD12	11,7	ASD51	30,8
ASD14	8	ASD52	24,1
ASD17	53,3	ASD54	60,7
ASD18	20,1	ASD55	61
ASD19	50,6	ASD56	26,6
ASD22	78,8	ASD57	113,2
ASD23	64,2	ASD58	79,7
ASD25	111,7	ASD59	51,8
ASD31	50	ASD64	117
ASD33	22,4	ASD66	60
ASD34	38,3	ASD68	55,7
ASD36	33,7	ASD69	33,8

İzolatlardan IAA üretme potansiyeli bakımından en etkili olanlar sırasıyla; ASD6 (88,8 mg/L), ASD8 (78,8 mg/L), ASD22 (78,8 mg/L), ASD25 (111,7 mg/L), ASD40 (190 mg/L), ASD42 (94,4 mg/L), ASD48 (103,8 mg/L), ASD57 (113,2 mg/L), ASD58 (79,7 mg/L) ve ASD64 (117 mg/L)'dır. Diğer 21 izolatta belirli düzeylerde IAA üretimi yapmaktadırlar. Çizelge 4.4'te verilen 36 izolatın aynı zamanda önemli düzeyde IAA üretimi de yaptıkları Çizelge 4.5'te görülmektedir. Şekil 4.7'de bazı izolatların IAA üretimi yapma potansiyellerine göre oluşturdukları renk değişimleri görülmektedir.



Şekil 4.7. Bazı izolatların IAA üretme potansiyellerine göre Salkowski çözeltisi ile oluşturdukları pembe-kırmızı renk değişimlerinin karşılaştırılması

4.5. İzolatların 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) Deaminaz Aktivite Potansiyelleri

3.2.3.f’de verilen yöntemle izolatların 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz aktivite yetenekleri belirlenerek, sonuçlar Çizelge 4.6’da verilmiştir. ASD1 (1224,49 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD6 (538,368 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD8 (2342,86 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD12 (598,834 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD14 (1136,93 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD18 (5997,31 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD25 (2788,22 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD31 (1201,01 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD55 (696,668 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹), ASD64 (750,394 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹) ve ASD65 (990,704 nmol α -ketobütirat / g⁻¹ biomass h⁻¹) izolatlarının 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz potansiyelleri bakımından en etkili izolatlar olduğu ve 20 izolatın da önemli düzeylerde ACC deaminaz ürettiği görülmektedir. Çizelge 4.5’te verilen IAA üretimi yaptıkları belirlenen 36 izolattan 32’sinin aynı zamanda ACC deaminaz aktivitesine sahip olduğu Çizelge 4.6’da görülmektedir. ASD5, ASD16, ASD17 ve ASD33 izolatları ise ACC deaminaz enzimi bakımından negatif bulunmuştur.

Çizelge 4.6. İzolatların 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz aktivite sonuçları

İzolat No	ACC (nmol α -ketobütirat / g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	İzolat No	ACC (nmol α -ketobütirat / g ⁻¹ biomass h ⁻¹)
ASD1	1224,490	ASD40	108,941
ASD6	538,368	ASD42	143,117
ASD7	232,919	ASD44	93,292
ASD8	2342,860	ASD45	138,074
ASD9	437,788	ASD48	159,691
ASD12	598,834	ASD52	130,085
ASD14	1136,930	ASD54	114,999
ASD18	5997,310	ASD55	696,668
ASD19	154,668	ASD56	171,323
ASD22	229,053	ASD57	118,311
ASD23	454,439	ASD58	110,470
ASD25	2788,220	ASD59	126,160
ASD31	1201,010	ASD64	750,394
ASD34	182,027	ASD65	990,704
ASD36	109,495	ASD68	118,200
ASD38	147,696	ASD69	591,840

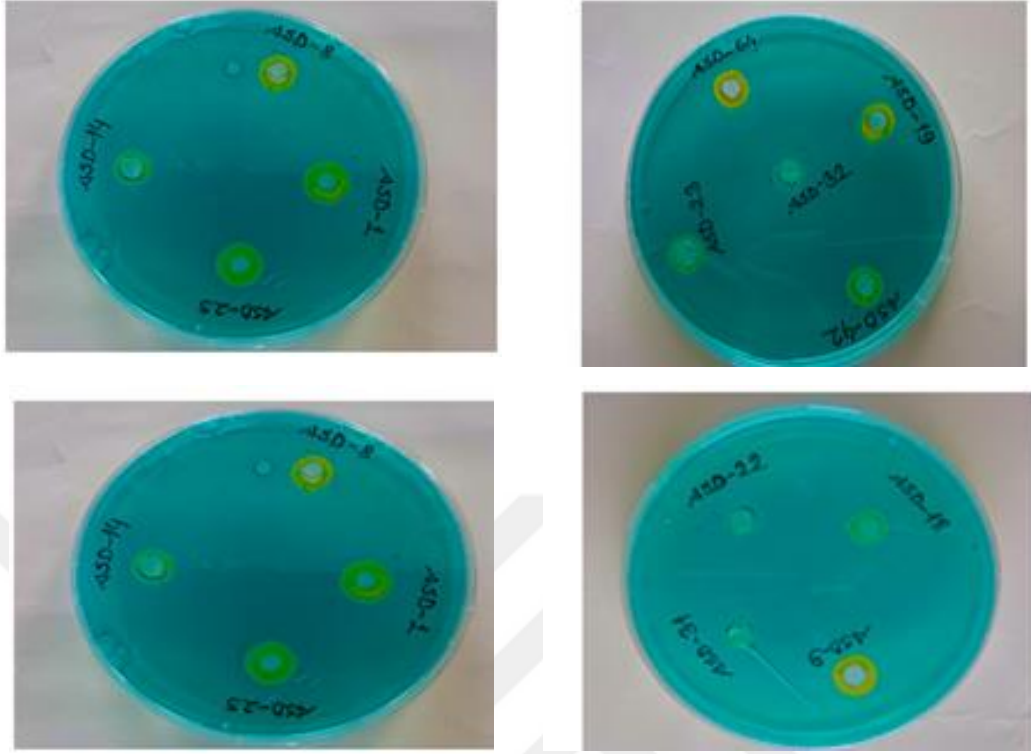
4.6. İzolatların Siderefor Üretim Potansiyelleri

İzolatların siderefor üretim yetenekleri 3.2.3.h’de verilen yönteme göre belirlenerek sonuçlar Çizelge 4.7’de verilmiştir. Ayrıca besiyerinde oluşturdıkları turuncu renkli zonlar Şekil 4.8’de görülmektedir.

Çizelge 4.7. İzolatların siderefor üretme potansiyellerinin karşılaştırılması

İzolat No	Kuyucuk Çapı (cm)	İzolat No	Kuyucuk Çapı (cm)
ASD1	1,2	ASD40	0,6
ASD6	-	ASD42	0,8
ASD7	0,6	ASD44	1,1
ASD8	1,2	ASD45	0,8
ASD9	1,1	ASD48	1,0
ASD12	0,8	ASD52	0,7
ASD14	0,9	ASD54	0,5
ASD18	0,9	ASD55	0,7
ASD19	1,0	ASD56	0,8
ASD22	0,6	ASD57	0,7
ASD23	0,9	ASD58	0,7
ASD25	1,2	ASD59	1,0
ASD31	0,8	ASD64	1,0
ASD34	-	ASD65	1,0
ASD36	1,1	ASD68	0,7
ASD38	1,0	ASD69	1,0

Çizelgeden de anlaşıldığı üzere ASD1 (1,2 cm), ASD8 (1,2 cm), ASD25 (1,2 cm), ASD9 (1,1 cm), ASD36 (1,1 cm) ve ASD44 izolatları önemli düzeyde siderefor üreterek, besiyerinde sarı-turuncu zonlar oluşturmuşlardır. Bu izolatların yanı sıra ASD6 ve ASD34 izolatları petride zon oluşturmamış, böylelikle bu izolatların siderefor üretimi yapmadıkları belirlenmiştir. Ancak bu izolatlar dışında kalan diğer 22 izolatın da önemli düzeyde siderefor üretimi yaptıkları oluşturdukları zonların çapından anlaşılmaktadır. Şekil 4.8’de bazı izolatların CAS Blue Agar besiyerinde gelişimleri görülmektedir.



Şekil 4.8. Siderefor üretimi yapan bakterilerin CAS Blue Agarda oluşturdukları sarı-turuncu zonlar

4.7. Etkili İzolatların Tanısı ve Karakterizasyonu

Farklı tuz konsantrasyonu (1,75M, 2M ve 2,5M) içeren ortamda gelişme gösteren ve potansiyel olarak bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip izolatların tür teşhisleri için klasik (morfolojik ve kimyasal) ve moleküler yöntemler (MIS ve 16S rRNA analizi) kullanılmıştır.

4.7.1. Klasik yöntemler

Saksı deneylerinde kullanılan 32 izolatların gram, endospor ve katalaz testleri yapılmıştır. Bu testlerin sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Saksı deneyinde kullanılacak izolatların bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

ÖZELLİKLER	ASD1	ASD6	ASD7	ASD8	ASD9	ASD12	ASD14
Gram özelliği	+	+	+	+	+	+	+
Endospor	+	+	+	+	+	-	-
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+

ÖZELLİKLER	ASD18	ASD19	ASD22	ASD23	ASD25	ASD31	ASD34
Gram özelliği	+	+	+	+	+	+	+
Endospor	+	+	+	-	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+

ÖZELLİKLER	ASD36	ASD38	ASD40	ASD42	ASD44	ASD45	ASD48
Gram özelliği	+	+	+	+	+	+	+
Endospor	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+

ÖZELLİKLER	ASD52	ASD54	ASD55	ASD56	ASD57	ASD58	ASD59
Gram özelliği	+	-	+	+	-	-	+
Endospor	+	-	+	+	-	-	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+

ÖZELLİKLER	ASD64	ASD65	ASD68	ASD69
Gram özelliği	-	+	+	+
Endospor	-	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+

Bu çizelgeye göre; 32 izolattan 28 tanesi Gram+ özellik, 4 tanesi Gram– özellik göstermiştir. Yine bu izolatlardan 18 tanesi endospor üretirken, geri kalan 14 izolat endospor negatif sonuç vermiştir. Katalaz bakımından ise tüm izolatlar pozitif özellik göstermektedir. Saksı deneylerinde kullanılacak 32 izolatın 16S rRNA analizi ile tür teşhisleri yapılmıştır (Şekil 4.9).

4.7.2. Moleküler yöntemler

4.7.2.a. İzolatların MIS analizi ile tanılanması

Farklı tuz konsantrasyonu içeren ortamda gelişme gösterdikleri belirlenen 164 izolat Mikrobiyal Tanılama Sistemi (MIS) ile analiz edilmiştir. MIS tanı sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

4.7.2.b. İzolatların 16S rRNA analizi sonuçları

Saksı deneylerinde kullanılan 32 izolatın 16S rRNA analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9. Saksı deneylerinde kullanılan 32 izolatın 16S rRNA analiz sonuçları

16S rRNA analizi sonucunda ASD1, ASD7, ASD8, ASD25, ASD31, ASD55, ASD56, ASD68 ve ASD69 izolatları; *Bacillus pumilus*, ASD12, ASD36, ASD42 izolatları; *Staphylococcus sciuri*, ASD38, ASD44 ve ASD45 izolatları; *Staphylococcus saprophyticus*, ASD52 izolatı; *Bacillus simplex*, ASD19, ASD59 izolatları; *Bacillus cereus*, ASD6, ASD9, ASD22 izolatları; *Bacillus endophyticus*, ASD18 izolatı; *Bacillus licheniformis*, ASD65 izolatı; *Bacillus atrophaeus*, ASD34 izolatı; *Paenibacillus lautus*, ASD54 izolatı; *Sphingomonas echinoides*, ASD14, ASD23 izolatları; *Cellulosimicrobium cellulans*, ASD57 izolatı; *Arthrobacter arilaitensis*, ASD48 izolatı; *Leucobacter iarius*, ASD58 izolatı; *Stenotrophomonas maltophilia*, ASD64 izolatı; *Pantoea agglomerans* ve ASD40 izolatı ise *Planococcus citreus* olarak tanımlanmıştır.

4.7. Saksı Denemeleri Sonucu Elde Edilen Veriler

İzolatların buğday tohumlarına inokulasyonu ile iki farklı saksı denemesi gerçekleştirilmiştir. Birinci denemede; saksı başına 100 ml olacak şekilde, bitkiler çeşitli konsantrasyonlarda (birinci gün normal su ile ve 5' er günlük 50mM, 100mM ve 200mM) NaCl içeren su ile ve ikinci deneme ise normal su ile sulanarak 16 gün boyunca gelişimleri gözlenmiştir Tuz stresine karşı inokulantların saksı denemelerinde 5. gün ve 15. günlük genel görüntüleri Şekil 4.10'da ve 4.11'de verilmiştir. Deneme sonuçlarına göre bitki gelişimine en iyi etki gösteren izolatlar ASD-9, ASD-22, ASD-55, ASD-65 ve ASD-9-65'tir (Şekil 4.12-4.16).



Şekil 4.10. İzolatlarla inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 5. gündeki görüntüleri (50 mM'lık NaCl sulama uygulaması yapılmış deneme)



Şekil 4.11. İzolatlarla inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri (200 mM'lık NaCl sulama uygulaması yapılmış deneme)



Şekil 4.12. Kontrol grubu ve ASD55 izolatı ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri
(Farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış deneme)



Şekil 4.13. Kontrol grubu ve ASD65 izolatı ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri
(Farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış deneme)



Şekil 4.14. Kontrol grubu ve ASD22 izolatı ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri
(Farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış deneme)



Şekil 4.15. Kontrol grubu ve ASD9 izolatı ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri
(Farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış deneme)



Şekil 4.16. Kontrol grubu ve ASD-9-55 izolatu ile inokulasyon yapılmış buğday bitkisinin 15. gündeki görüntüleri
(Farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış deneme)

Buğday bitkisine inoküle edilip tuzlu sulama yapılarak gelişimleri gözlemlenen izolatlardan kontrol grubuna göre en iyi gelişme gösteren izolatlar ve kombinasyonlar ASD9, ASD22, ASD55, ASD65 ve ASD-9-55'tir. Bu izolatlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında buğday bitkisi üzerinde sadece yükseklik yani boyca değil, aynı zamanda dirilik ve renk olarak da önemli derecede pozitif etki sağlamışlardır.

4.7.1. Tuzlu sulama yapılan saksı denemeleri sonuçları

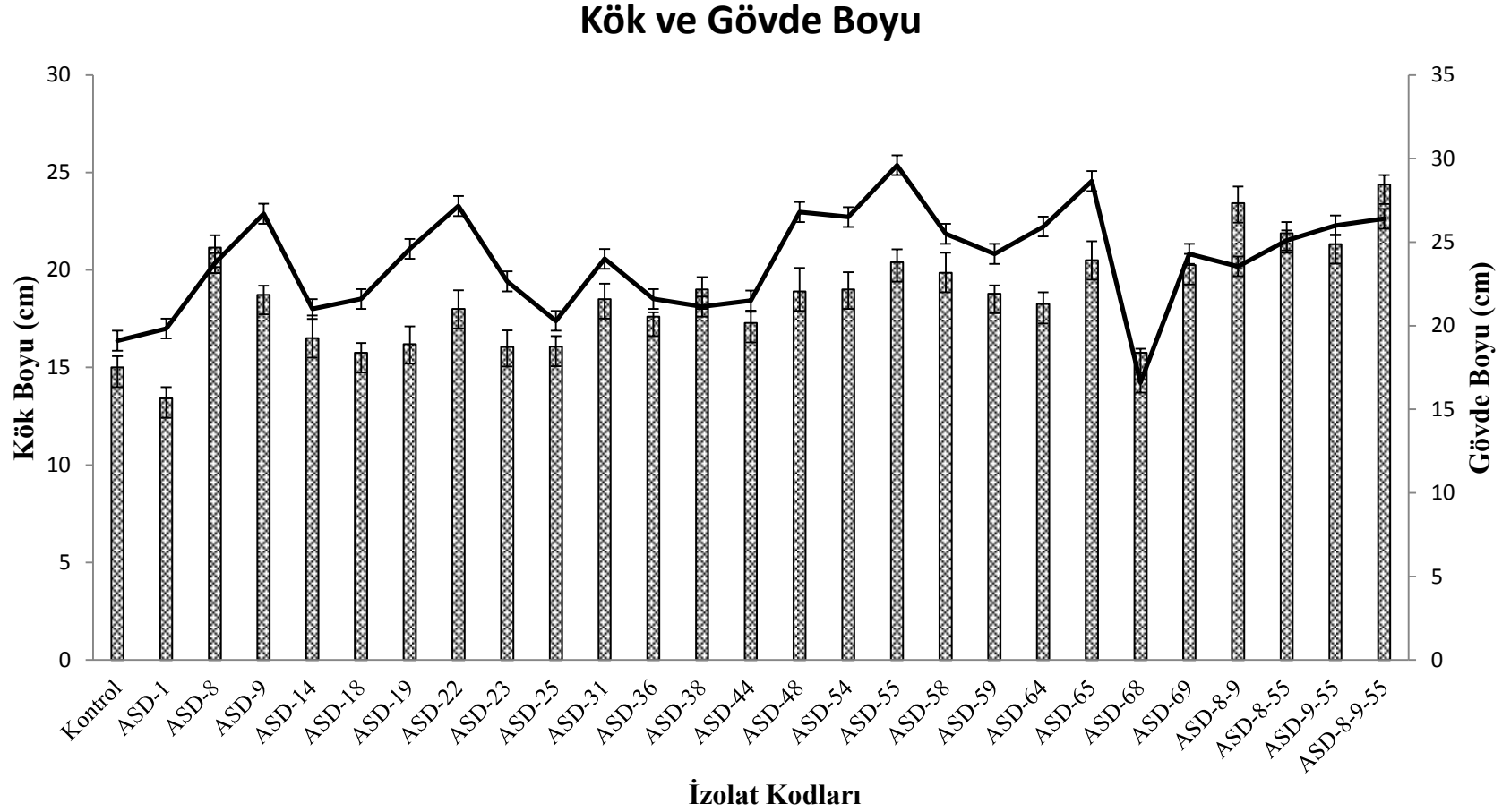
4.7.1.a. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde kök ve gövde boyu üzerindeki etkileri

Buğday bitkisinde farklı izolatlarla inokulasyonun kök ve gövde boyu üzerindeki etkileri Şekil 4.17'de verilmiştir. Şekil 4.17'de görüldüğü gibi tuzlu sulama yapılan, fakat bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre kök boyu üzerinde

maksimum olumlu etkiyi ASD-8-9-55 (ASD8, ASD9 ve ASD55 izolatlarından oluşan karışık kültür) (24,38 cm) kombinasyonlu inokulasyon sağlamış; bu kombinasyonu sırasıyla ASD-8-9 (ASD8 ve ASD9 izolatlarından oluşan karışık kültür) (23,43 cm) ve ASD-8-55 (ASD8 ve ASD55 izolatlarından oluşan karışık kültür) (21,48 cm) kombinasyonları izlemiştir. ASD1 (13,42 cm) izolatu ise; kontrol grubuna göre buğdayda kök boyu üzerinde negatif etki göstermiştir.

Bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre gövde boyu üzerinde maksimum olumlu etkiyi ASD55 (29,6 cm) izolatu sağlamış, bu izolatu sırasıyla (28,65 cm), ASD22 (27,16 cm) ve ASD48 (26,8 cm) izolatları izlemiştir. ASD68 (16,1 cm) izolatu ise kontrol grubuna göre buğdayda gövde boyu üzerinde negatif etki göstermiştir.

Şekil 4.17'den görüldüğü üzere kontrol grubuna göre farklı izolatlarla yapılan inokulasyon buğday bitkisinde kök ve gövde boyunda olumlu etki göstermiş ve genel olarak artış sağlamıştır.



Şekil 4.17. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl’li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde kök ve gövde boyu üzerine etkileri

Kök boyu ölçümlerinden elde edilen değerlerin istatistiki analizleri Çizelge 4.9'da özetlenmiştir. Bu veriler ışığında; bakteri inokulasyonu yapılmamış yalnızca tuzlu sulama yapılmış kontrol grubuna göre ASD-8-9-55, ASD-8-9 kombinasyonları ve ASD-8-55, ASD-9-55, ASD8, ASD65, ASD55 ve ASD69 izolatlarının kök boyu artışına pozitif katkıları istatistiki olarak ($p<0,05$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.9. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-Kök boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi

İzolat No	Kök Boyu (cm)	İzolat No	Kök Boyu (cm)
Kontrol	15,00±0,58 ^{kl}	ASD48	18,90±1,21 ^{efgh}
ASD1	13,42±0,57 ^l	ASD54	19,00±0,89 ^{efgh}
ASD8	21,15±0,63 ^{cd}	ASD55	20,40±0,66 ^{cde}
ASD9	18,72±0,47 ^{efgh}	ASD58	19,86±1,02 ^{defg}
ASD14	16,50±1,17 ^{ijk}	ASD59	18,79±0,42 ^{efgh}
ASD18	15,75±0,51 ^{kj}	ASD64	18,25±0,61 ^{ghl}
ASD19	16,20±0,91 ^{ijk}	ASD65	20,50±0,97 ^{cde}
ASD22	18,00±0,96 ^{ghl}	ASD68	15,75±0,21 ^{jk}
ASD23	16,05±0,85 ^{ijk}	ASD69	20,25±0,57 ^{cdef}
ASD25	16,06±0,55 ^{ijk}	ASD-8-9	23,43±0,85 ^{ab}
ASD31	18,50±0,80 ^{fgh}	ASD-8-55	21,88±0,58 ^{bc}
ASD36	17,61±0,22 ^{hii}	ASD-9-55	21,33±0,48 ^{cd}
ASD38	19,00±0,63 ^{efgh}	ASD-8-9-55	24,38±0,49 ^a
ASD44	17,29±0,57 ^{hij}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

Gövde boyu ölçümlerinden elde edilen değerlerin istatistiki analizleri Çizelge 4.10'da özetlenmiştir. Bu veriler ışığında bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre ASD55, ASD65, ASD22, ASD48, ASD54 izolatlarının ve ASD-8-9-55 kombinasyonunun gövde boyu üzerindeki etkisinin istatistiki bakımdan ($p<0,05$) önemli olduğu görülmektedir. ASD68 izolatı gövde boyu oluşumunda kontrol grubuna göre

daha düşük etki gösterirken, diğer izolatlar genel olarak buğday gövde boyu üzerinde olumlu etki göstererek artış sağlamışlardır.

Çizelge 4.10. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-Gövde boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi

İzolat No	Gövde Boyu (cm)	İzolat No	Gövde Boyu (cm)
Kontrol	19,10±1,10 ^{jk}	ASD48	26,80±1,27 ^{abcd}
ASD1	19,83±0,55 ^{ijk}	ASD54	26,50±0,86 ^{abcde}
ASD8	23,75±1,02 ^{defghii}	ASD55	29,60±1,09 ^a
ASD9	26,70±0,75 ^{abcd}	ASD58	25,50±0,86 ^{bcdef}
ASD14	21±0,57 ^{ijk}	ASD59	24,30±1,55 ^{cdefghi}
ASD18	21,6±0,82 ^{fghij}	ASD64	25,93±1,48 ^{abcde}
ASD19	24,6±0,80 ^{cdefgh}	ASD65	28,65±1,06 ^{ab}
ASD22	27,16±0,95 ^{abc}	ASD68	16,60±1,68 ^k
ASD23	22,65±0,77 ^{efghii}	ASD69	24,30±1,55 ^{cdefghi}
ASD25	20,29±0,71 ^{ijj}	ASD-8-9	23,55±0,83 ^{defghii}
ASD31	24±0,57 ^{cdefghi}	ASD-8-55	25,10±1,09 ^{bcdefg}
ASD36	21,60±1,68 ^{fghij}	ASD-9-55	26,00±0,88 ^{abcde}
ASD38	21,14±2,22 ^{hijj}	ASD-8-9-55	26,40±1,50 ^{abcde}
ASD44	21,50±0,86 ^{ghijj}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

Çizelge 4.11'de izolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinin kök boyu üzerinde oluşturduğu artış ya da azalış yüzde oranları verilmiştir. ASD-8-9-55 (62,53↑), ASD-8-9 (%56,2↑), ASD-8-55 (%45,86↑), ASD-9-55 (%42,2↑) kombinasyonları ve ASD8 (%41↑), ASD65 (%36,6↑) ve ASD55 (%36↑) izolatları kontrol grubuna göre kök boyu üzerinde en yüksek artışı göstermişlerdir. Yalnızca ASD1 (%10,53↓) izolatu kontrol grubuna göre kök boyu üzerinde negatif etki ederek kök boyunda azalmaya sebep olmuştur. Bunun yanı sıra genel olarak Çizelge 4.9'a bakıldığında diğer izolatlar da kontrol grubuna göre önemli artış göstererek kök boyu üzerinde olumlu etki sağlamışlardır.

Çizelge 4.11. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre kök boyu üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Kök Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑	İzolat No	Kök Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑
ASD1	10,53↓	ASD48	26↑
ASD8	41↑	ASD54	26,2↑
ASD9	24,8↑	ASD55	36↑
ASD14	10↑	ASD58	32,4↑
ASD18	5↑	ASD59	25,26↑
ASD19	8↑	ASD64	21,66↑
ASD22	20	ASD65	36,66↑
ASD23	7↑	ASD68	5↑
ASD25	7,06↑	ASD69	35↑
ASD31	23,33↑	ASD-8-9	56,2↑
ASD36	17,4↑	ASD-8-55	45,86↑
ASD38	26,66↑	ASD-9-55	42,2↑
ASD44	14,66↑	ASD-8-9-55	62,53↑

Çizelge 4.12’de izolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinin gövde boyu üzerinde oluşturduğu yüzde artış ya da azalış oranları verilmiştir. Bu veriler ışığında, ASD55 (%54,97↑), ASD65 (%50↑), ASD22 (%42↑), ASD48 (%40,31↑), ASD54 (%38,74↑), ASD9 (%39,79↑) ve ASD-8-9-55 (%38,22↑) izolatları kontrol grubuna göre gövde boyu üzerinde en etkili artışı göstermişlerdir. Hiçbir izolat gövde boyu üzerinde negatif etki göstermemiş aksine tüm izolatlar gövde boyu üzerinde pozitif etki göstererek gövde boyunda artış sağlamıştır.

Çizelge 4.12. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre gövde boyu üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolot No	Gövde Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑	İzolot No	Gövde Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑
ASD1	3,82↑	ASD48	40,31↑
ASD8	31↑	ASD54	38,74↑
ASD9	39,79↑	ASD55	54,97↑
ASD14	9,95↑	ASD58	33,51↑
ASD18	13,09↑	ASD59	27,23↑
ASD19	28,80↑	ASD64	35,76↑
ASD22	42,20↑	ASD65	50↑
ASD23	18,59↑	ASD68	13,09↓
ASD25	6,23↑	ASD69	27,23↑
ASD31	25,65↑	ASD-8-9	23,30↑
ASD36	13,09↑	ASD-8-55	31,41↑
ASD38	10,68↑	ASD-9-55	36,13↑
ASD44	12,57↑	ASD-8-9-55	38,22↑

4.7.1.b. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri

Buğday bitkisinde farklı izolatlarla inokülasyonun, bitki başına düşen yaş ağırlık üzerine etkileri Şekil 4.18'de verilmiştir. Şekil 4.18'de de görüldüğü üzere bakteri inokülasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre maksimum olumlu etkiyi ASD-8-9-55 (0,5) kombinasyonu sağlamış, bu izolatu sırasıyla ASD54 (0,45 g), ASD55 (0,44 g) izolatları ve ASD-8-55 (0,44 g) kombinasyonu izlemiştir. Kontrol grubuna göre buğday bitkisinde yaş ağırlık üzerinde negatif etki gösteren ASD1 (0,27 g), ASD25 (0,25 g) ve ASD68 (0,26 g) izolatları olmuştur.

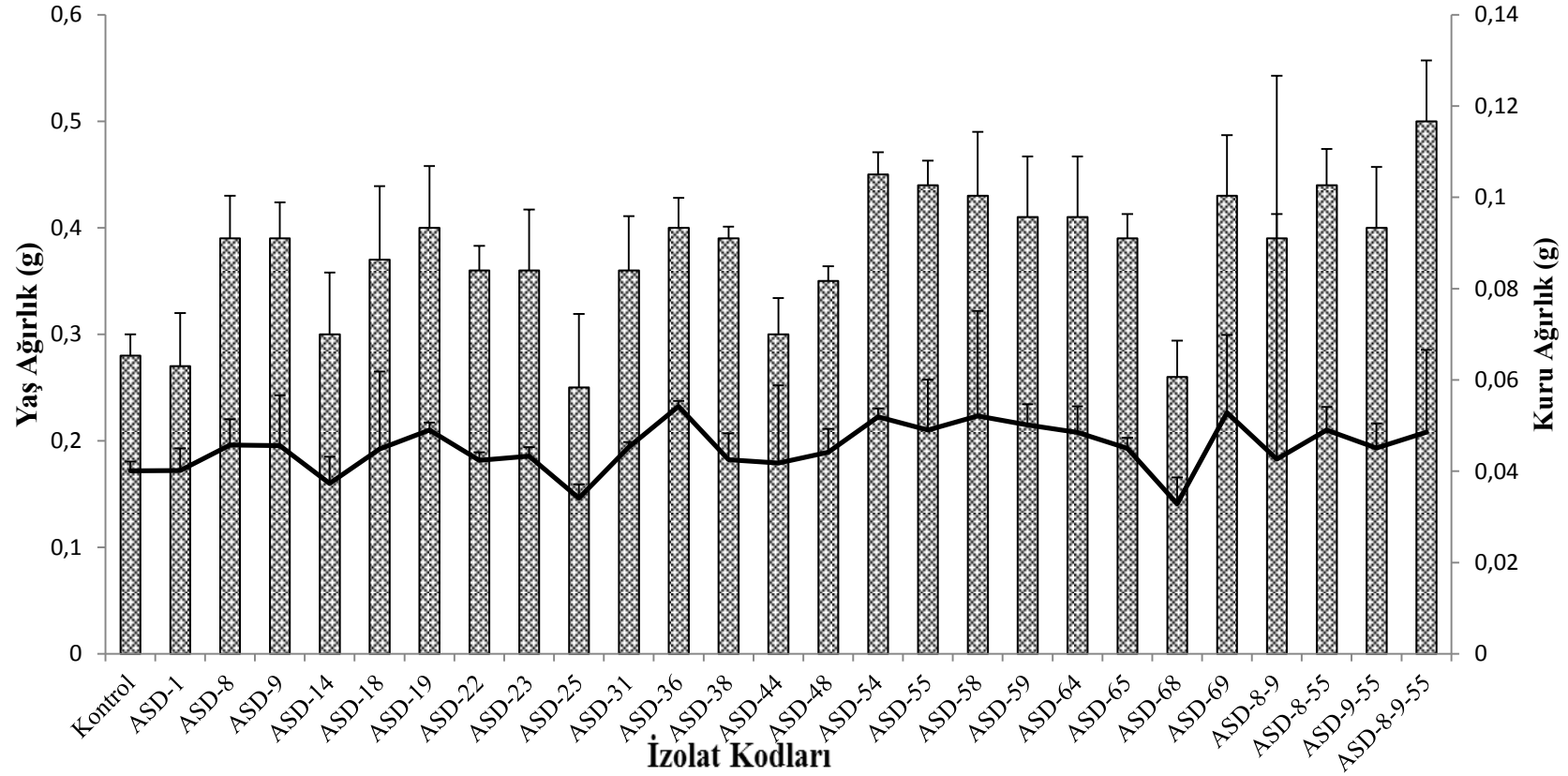
Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun bitki başına düşen kuru ağırlık miktarı üzerindeki etkileri Şekil 4.18'de verilmiştir. Şekil 4.18'den de görüldüğü gibi

bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrole göre kuru ağırlık üzerinde maksimum olumlu etkiyi ASD36 (0,05423 g) izolatu sağlamış, bu izolatu sırasıyla ASD69 (0,05287 g), ASD58 (0,05212 g), ASD54 (0,05193 g), ASD59 (0,05016 g), ASD55 (0,04904 g), ASD64 (0,0485 g), ASD19 (0,04855 g) izolatları ve ASD-8-9-55 (0,04855 g), ASD-8-55 (0,04906 g) kombinasyonları takip etmiştir. Kontrol grubuna göre buğday bitkisinde kuru ağırlık üzerinde negatif etki gösteren ASD14 (0,037 g) ve ASD25 (0,034 g) izolatları olmuştur.

Şekil 4.18'den de anlaşıldığı üzere, bakteri inokulasyonu buğday bitkisinde yaş ve kuru ağırlık üzerine olumlu etki sağlamış, kontrol grubuna göre artışa yol açmıştır.



Yaş ve Kuru Ağırlık



Şekil 4.18. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri

Yaş ağırlık ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizleri ise Çizelge 4.13'te özetlenmiştir. Bu veriler ışığında bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre ASD-8-9-55, ASD54, ASD55, ASD-8-55, ASD69 ve ASD58 izolatlarının istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) artışlar sağladığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-Yaş ağırlık ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi

İzolat No	Yaş ağırlık (g)	İzolat No	Yaş ağırlık (g)
Kontrol	0,28±0,02 ^{cde}	ASD48	0,35±0,014 ^{abcde}
ASD1	0,27±0,05 ^{de}	ASD54	0,45±0,021 ^{ab}
ASD8	0,39±0,04 ^{abcde}	ASD55	0,44±0,023 ^{abc}
ASD9	0,39±0,034 ^{abcde}	ASD58	0,43±0,06 ^{abcd}
ASD14	0,30±0,058 ^{bcde}	ASD59	0,41±0,057 ^{abcde}
ASD18	0,37±0,069 ^{abcde}	ASD64	0,41±0,057 ^{abcde}
ASD19	0,40±0,058 ^{abcde}	ASD65	0,39±0,023 ^{abcde}
ASD22	0,36±0,023 ^{abcde}	ASD68	0,26±0,034 ^e
ASD23	0,36±0,057 ^{abcde}	ASD69	0,43±0,057 ^{abcd}
ASD25	0,25±0,069 ^e	ASD-8-9	0,39±0,023 ^{abcde}
ASD31	0,36±0,051 ^{abcde}	ASD-8-55	0,44±0,034 ^{abc}
ASD36	0,40±0,028 ^{abcde}	ASD-9-55	0,40±0,057 ^{abcde}
ASD38	0,39±0,011 ^{abcde}	ASD-8-9-55	0,50±0,057 ^a
ASD44	0,30±0,034 ^{b^{cde}}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

Kuru ağırlık ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizleri ise Çizelge 4.14'te özetlenmiştir. Bu veriler ışığında bakteri inokulasyonu yapılmamış olan kontrole göre ASD36; ASD69; ASD58; ASD54; ASD59; ASD-8-55; ASD55; ASD64; ASD19 izolatları ve ASD-8-9-55 kombinasyonunun istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) artışlar sağladığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.14. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Kuru ağırlık bulgularının istatistiki analizi

İzolat No	Kuru Ağırlık (g)	İzolat No	Kuru Ağırlık (g)
Kontrol	0,040±0,002 ^{bcd}	ASD48	0,044±0,0051 ^{abcd}
ASD1	0,040±0,0049 ^{abcd}	ASD54	0,052±0,0018 ^{ab}
ASD8	0,046±0,0057 ^{abc}	ASD55	0,049±0,011 ^{abc}
ASD9	0,046±0,011 ^{abc}	ASD58	0,052±0,023 ^{ab}
ASD14	0,037±0,0058 ^{cd}	ASD59	0,050±0,0045 ^{abc}
ASD18	0,045±0,017 ^{abcd}	ASD64	0,049±0,0057 ^{abc}
ASD19	0,049±0,0017 ^{abc}	ASD65	0,045±0,0023 ^{abcd}
ASD22	0,042±0,0018 ^{abcd}	ASD68	0,033±0,0058 ^d
ASD23	0,043±0,002 ^{abcd}	ASD69	0,053±0,017 ^{ab}
ASD25	0,034±0,003 ^d	ASD-8-9	0,043±0,084 ^{abcd}
ASD31	0,045±0,0011 ^{abcd}	ASD-8-55	0,049±0,005 ^{abc}
ASD36	0,054±0,0012 ^a	ASD-9-55	0,045±0,0054 ^{abcd}
ASD38	0,043±0,0058 ^{abcd}	ASD-8-9-55	0,049±0,018 ^{abc}
ASD44	0,042±0,017 ^{abcd}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

İzolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinde, bitki başına düşen yaş ağırlık üzerindeki yüzde artış azalış miktarları Çizelge 4.15’te özetlenmiştir. Bu çizelgeden anlaşıldığı gibi, ASD-8-9-55 (%78,57↑) ve ASD-8-55 (%57,14↑) kombinasyonları ve ASD54 (%60,71↑), ASD55 (%57,14↑), ASD58 (%53,57↑) ve ASD69 (%53,57↑) izolatları kontrol grubuna göre yaş ağırlık üzerinde maksimum olumlu etki göstermiştir. ASD1 (%3,57↓), ASD25 (%10,71↓) ve ASD68 (%7,14↓) izolatları yaş ağırlık üzerinde negatif etki göstermiş ve bitki başına düşen yaş ağırlıkta azalmaya sebep olmuşlardır. Ancak bu üç izolatın dışındaki diğer izolatların tümü yaş ağırlık üzerinde pozitif etki göstermiş ve artış sağlamışlardır.

Çizelge 4.15. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre yaş ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolot No	Yaş ağırlık % Azalış↓Artış↑	İzolot No	Yaş ağırlık % Azalış↓ Artış↑
ASD1	3,57↓	ASD48	25↑
ASD8	39,29↑	ASD54	60,71↑
ASD9	39,29↑	ASD55	57,14↑
ASD14	7,14↑	ASD58	53,57↑
ASD18	32,14↑	ASD59	46,43↑
ASD19	42,86↑	ASD64	46,43↑
ASD22	28,57↑	ASD65	39,29↑
ASD23	28,57↑	ASD68	7,14↓
ASD25	10,71↓	ASD69	53,57↑
ASD31	28,57↑	ASD-8-9	39,29↑
ASD36	42,86↑	ASD-8-55	57,14↑
ASD38	39,29↑	ASD-9-55	42,86↑
ASD44	7,14↑	ASD-8-9-55	78,57↑

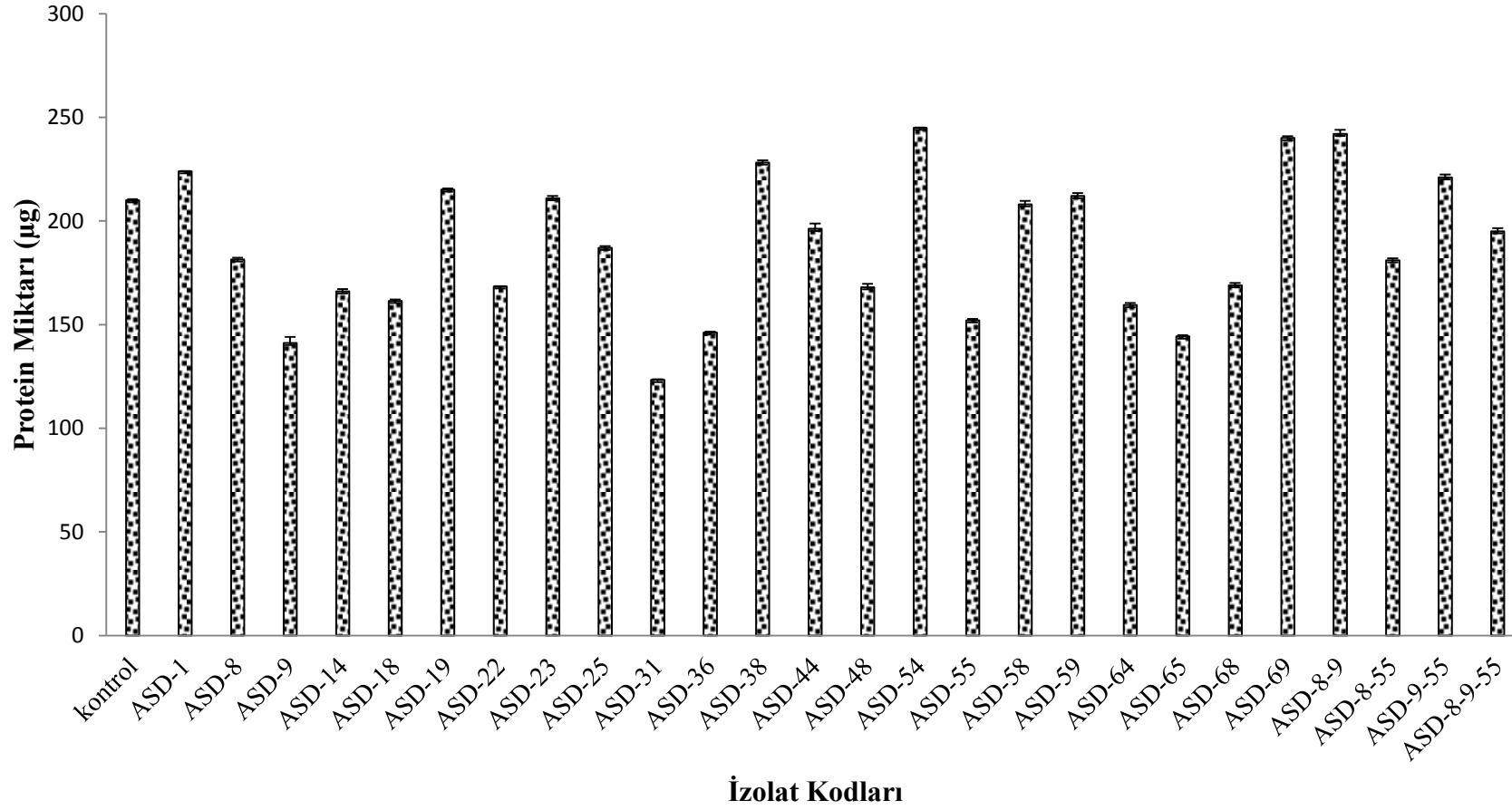
İzolatlarla inokülasyonun buğdayda, bitki başına düşen kuru ağırlık miktarı üzerindeki yüzde artış, azalış oranları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Bu verilere göre; ASD36 (%35↑), ASD69 (%32,5↑), ASD58 (%30↑), ASD54 (%30↑), ASD59 (%25↑), ASD19, ASD55, ASD64 izolatları ve ASD-8-55, ASD-8-9-55 (%22,5↑) kombinasyonları buğday bitkisinde kuru ağırlık üzerinde kontrol grubuna göre maksimum artış sağlamışlardır. Bunun yanı sıra ASD1 izolatu kontrolle aynı gruba girerken; ASD14 (%7,5↓), ASD25 (%15↓) ve ASD68 (%17,5↓) izolatları ise kontrole göre bitki kuru ağırlığında azalmaya sebep olmuşlardır. Genel olarak bakıldığında izolatlar çoğunlukla bitki kuru ağırlığında artış sağlamışlardır.

Çizelge 4.16. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre kuru ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Kuru ağırlık miktarındaki % Azalış↑/ Artış↑	İzolat No	Kuru ağırlık miktarındaki % Azalış↑/ Artış↑
ASD1	↔	ASD48	10,5↑
ASD8	15↑	ASD54	30↑
ASD9	15↑	ASD55	22,5↑
ASD14	7,5↓	ASD58	30↑
ASD18	12,5↑	ASD59	25↑
ASD19	22,5↑	ASD64	22,5↑
ASD22	5↑	ASD65	12,5↑
ASD23	7,5↑	ASD68	17,5↓
ASD25	15↓	ASD69	32,5↑
ASD31	12,5↑	ASD-8-9	7,5↑
ASD36	35↑	ASD-8-55	22,5↑
ASD38	7,5↑	ASD-9-55	12,5↑
ASD44	5↑	ASD-8-9-55	22,5↑

4.7.1.c. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde çözünmüş protein miktarları üzerine etkileri

Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun bitki protein miktarı üzerindeki etkileri Şekil 4.19'da verilmiştir. Şekil 4.19'dan da görüldüğü gibi bakteri inokülasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre protein miktarı üzerinde maksimum olumlu etkiyi ASD54 (244,78), ASD69 (239,70) ve ASD-8-9 (241,99) izolatları sağlamış, bu izolatları sırasıyla ASD38 (228,14) ve ASD-1 (223,80) izolatları izlemiştir. Bu izolatlar dışında kalan ASD8 (181,44), ASD9 (141,07), ASD14 (165,75), ASD18 (161,38), ASD22 (168,39), ASD31 (123,28), ASD36 (146,13), ASD44 (196,19), ASD48 (167,79), ASD55 (151,98), ASD58 (207,83), ASD64 (159,37), ASD65 (144,25), ASD-68 (169,01) izolatları ve ASD-8-55 (180,51), ASD-9-55 (194,40) kombinasyonları buğday bitkisinde kontrol grubuna göre protein miktarında azalmaya neden olmuştur.



Şekil 4.19. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde protein miktarı üzerindeki etkileri

Çözünmüş protein miktarı ölçümlerinden elde edilen değerlerin istatistiki analizleri Çizelge 4.17’de özetlenmiştir. Bu veriler ışığında bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre ASD-8-9 kombinasyonu ve ASD69, ASD54 ve ASD38 izolatlarının çözünmüş protein miktarı üzerine etkisinin istatistiki bakımdan ($p<0,05$) düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.17. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokulasyonun kontrol grubuna göre çözünmüş protein miktarı üzerindeki bulgularının istatistiki analizleri

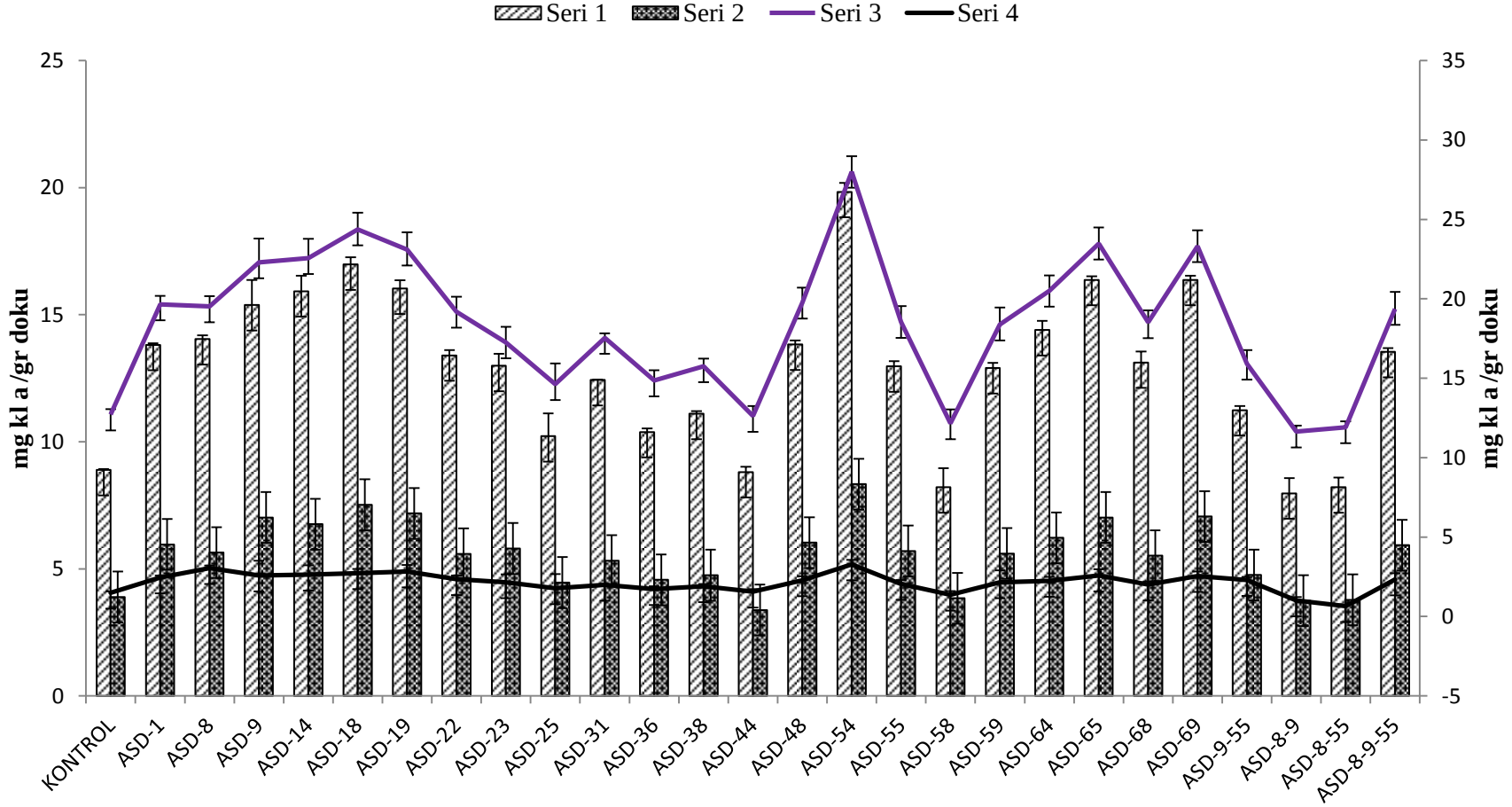
İzolat No	Protein Miktarı (μg)	İzolat No	Protein Miktarı (μg)
Kontrol	210,02 $\pm$ 0,58 ^{de}	ASD48	167,79 $\pm$ 1,72 ^h
ASD1	223,80 $\pm$ 0,11 ^{bc}	ASD54	244,78 $\pm$ 0,10 ^a
ASD8	181,44 $\pm$ 0,81 ^g	ASD55	151,98 $\pm$ 0,77 ⁱⁱ
ASD9	141,07 $\pm$ 3,02 ⁱ	ASD58	207,83 $\pm$ 1,63 ^e
ASD14	165,75 $\pm$ 1,18 ^h	ASD59	211,74 $\pm$ 1,40 ^{de}
ASD18	161,38 $\pm$ 0,70 ^h	ASD64	159,37 $\pm$ 1,06 ^{hi}
ASD19	215,18 $\pm$ 0,49 ^{cde}	ASD65	144,25 $\pm$ 0,65 ⁱ
ASD22	168,39 $\pm$ 0,22 ^h	ASD68	169,01 $\pm$ 1,03 ^h
ASD23	210,88 $\pm$ 1,07 ^{de}	ASD69	239,70 $\pm$ 0,88 ^a
ASD25	186,72 $\pm$ 0,93 ^{fg}	ASD-8-9	241,99 $\pm$ 1,97 ^a
ASD31	123,28 $\pm$ 0,35 ^j	ASD-8-55	180,51 $\pm$ 0,92 ^g
ASD36	146,13 $\pm$ 0,51 ⁱ	ASD-9-55	220,73 $\pm$ 1,40 ^{bcd}
ASD38	228,14 $\pm$ 1,18 ^b	ASD-8-9-55	194,40 $\pm$ 1,52 ^f
ASD44	196,19 $\pm$ 2,55 ^f		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

4.7.1.d. İzolatlarla inokülasyonun bitki klorofil ve karotenoid miktarı üzerine etkileri

Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarı üzerindeki etkileri Şekil 4.20’de verilmiştir. Şekil 4.20’nin ışığında buğday bitkisinde klorofil a miktarı üzerine kontrol grubuna göre en fazla olumlu etkiyi ASD54 (19,83), ASD18 (16,98), ASD65 (16,37), ASD69 (16,37) ve ASD-19 (16,03) izolatları sağlamıştır. Klorofil b miktarı üzerine kontrol grubuna nazaran en fazla olumlu etkiyi ASD54 (8,33), ASD18 (7,52), ASD19 (7,18), ASD69 (7,06) ve ASD65 (7,02) izolatları sağlamıştır. Yine toplam klorofil miktarı üzerine kontrol grubuna göre en fazla olumlu etkiyi ASD54 (27,99), ASD18 (24,36), ASD65 (23,48) ve ASD69 (23,31) izolatları sağlamıştır. Toplam karotenoid miktarı üzerinde en fazla artışı ASD54 (3,28), ASD8 (3,04), ASD19 (2,83) ve ASD18 (2,73) izolatları sağlamıştır.

Şekil 4.20’nin ışığında buğday bitkisinde klorofil a miktarı üzerine kontrol grubuna göre negatif etki ederek azalma gösteren ASD44 (8,81), ASD58 (8,21) izolatları ve ASD-8-55 (7,97), ASD-9-55 (8,21) kombinasyonlarıdır. Klorofil b miktarı üzerine kontrol grubuna nazaran negatif etki gösteren ASD44 (3,38), ASD58 (3,84) izolatları ve ASD-8-55 (3,75), ASD-9-55 (3,78) kombinasyonlarıdır. Klorofil a ve klorofil b miktarı üzerinde negatif etki yapan bu izolatlar ve kombinasyonlar toplam klorofil miktarı üzerinde de negatif etki göstermişlerdir. ASD58 (1,36) izolatu ve ASD-8-55 (1,01), ASD-9-55 (0,66) kombinasyonları ise buğday bitkisinde kontrol grubuna göre toplam karotenoid miktarı üzerinde azalmaya neden olmuşlardır.



Şekil 4.20. Uygulamaların farklı konsantrasyonlarda NaCl'li sulama uygulaması yapılmış buğday bitkisinde klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarı

*seri1: klorofil a; seri2: klorofil b; seri 3: toplam klorofil ve seri4: karotenoid miktarlarını göstermektedir.

Buğday bitkisinde farklı izolatlarla yapılan inokulasyon ve tuzlu sulamanın bitki klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarı üzerindeki etkileri Çizelge 4.18, 4.19, 4.20 ve 4.21’de verilmiştir. Çizelge 4.18’de özetlenen klorofil a miktarı ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizleri ışığında, klorofil a miktarına kontrol grubuna göre en fazla olumlu etkiyi ASD54 (19,83) izolatı sağlamış ve bu izolatı ASD18 (16,98), ASD69 (16,37), ASD65 (16,37) ve ASD19 (16,03) izolatları takip etmiştir. Bu izolatların istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) düzeyde klorofil a artışı sağladıkları görülmektedir.

Çizelge 4.18. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Klorofil a miktarı bulgularının istatistiki analizleri

İzolat No	mg kl a /gr doku	İzolat No	mg kl a /gr doku
Kontrol	8,89±0,27 ¹	ASD48	13,83±0,66 ^{bcdefg}
ASD1	13,81±0,39 ^{bcdefg}	ASD54	19,83±0,72 ^a
ASD8	14,04±0,40 ^{bcdef}	ASD55	12,97±0,71 ^{defgh}
ASD9	15,38±1,44 ^{bcde}	ASD58	8,21±0,63 ¹
ASD14	15,92±1,55 ^{bcde}	ASD59	12,90±1,01 ^{defgh}
ASD18	16,98±0,72 ^{ab}	ASD64	14,40±0,69 ^{bcdef}
ASD19	16,03±1,08 ^{bcd}	ASD65	16,37±1,07 ^{bcd}
ASD22	13,40±0,68 ^{cdefgh}	ASD68	13,12±0,54 ^{cdefgh}
ASD23	12,99±1,31 ^{defgh}	ASD69	16,37±0,76 ^{bcd}
ASD25	10,22±1,37 ^{hi}	ASD-8-9	11,24±0,53 ^{fghi}
ASD31	12,43±0,11 ^{efgh}	ASD-8-55	7,97±0,63 ¹
ASD36	10,38±0,46 ^{ghi}	ASD-9-55	8,21±0,27 ¹
ASD38	11,10±0,39 ^{fghi}	ASD-8-9-55	13,54±0,37 ^{bcdefgh}
ASD44	8,81±0,48 ¹		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

Çizelge 4.19’da özetlenen klorofil b miktarının istatistiksel analizlerine ışığında, kontrol grubuna göre klorofil b miktarı artışında istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) düzeyde

olumlu etkiyi ASD54 (8,33), ASD18 (7,52), ASD19 (7,18), ASD69 (7,06) ve ASD65 (7,02) izolatlarının sağladıkları görülmektedir.

Çizelge 4.19. NaCl’li sulama uygulamalı deneme-Klorofil b miktarı bulgularının istatistiki analizleri*

İzolat No	mg kl b /gr doku	İzolat No	mg kl b /gr doku
Kontrol	3,89±0,04 ^h	ASD48	6,03±0,16 ^{cdef}
ASD1	5,96±0,07 ^{cdef}	ASD54	8,33±0,36 ^a
ASD8	5,64±0,15 ^{def}	ASD55	5,70±0,2 ^{efgh}
ASD9	7,02±0,99 ^{cd}	ASD58	3,84±0,75 ^h
ASD14	6,76±0,61 ^{bcd}	ASD59	5,60±0,21 ^{defg}
ASD18	7,52±0,28 ^{ab}	ASD64	6,22±0,36 ^{cde}
ASD19	7,18±0,33 ^{abc}	ASD65	7,02±0,14 ^{bc}
ASD22	5,89±0,21 ^{cdef}	ASD68	5,52±0,43 ^{defg}
ASD23	5,80±0,47 ^{efgh}	ASD69	7,06±0,16 ^{bc}
ASD25	4,46±0,90 ^{gh}	ASD-8-9	4,76±0,17 ^{fgh}
ASD31	5,32±0,02 ^{efg}	ASD-8-55	3,75±0,6 ^h
ASD36	4,57±0,14 ^{gh}	ASD-9-55	3,78±0,38 ^h
ASD38	4,75±0,11 ^g	ASD-8-9-55	5,93±0,15 ^{cdef}
ASD44	3,38±0,21 ^h		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

Buğday bitkisinde toplam klorofil miktarı ölçümlerinden elde edilen istatistiki analizler Çizelge 4.20’de özetlenmiştir. Bu veriler ışığında buğday bitkisinde toplam klorofil miktarı üzerine istatistiki bakımdan önemli (p<0,05) düzeyde olumlu etkiyi kontrol grubuna göre ASD54, AS-18, AS-65 ve AS-69 izolatları göstermiştir.

Çizelge 4.20. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-Toplam klorofil miktarı bulgularının istatistiki analizleri*

İzolot No	mg toplam kl/g doku	İzolot No	mg toplam kl/g doku
Kontrol	12,71±0,35 ^{ij}	ASD48	19,75±0,95 ^{bcdefg}
ASD1	19,65±0,53 ^{bcdefgh}	ASD54	27,99±0,98 ^a
ASD8	19,53±0,63 ^{bcdeg}	ASD55	18,54±1,01 ^{defghi}
ASD9	22,30±1,49 ^{bcdef}	ASD58	12,16±0,87 ^j
ASD14	22,56±1,22 ^{bcde}	ASD59	18,38±1,08 ^{efghi}
ASD18	24,36±1,06 ^{ab}	ASD64	20,50±0,97 ^{bcdefg}
ASD19	23,09±1,09 ^{bcde}	ASD65	23,48±1,01 ^{bc}
ASD22	19,18±0,95 ^{cdefghi}	ASD68	18,53±0,75 ^{defghi}
ASD23	17,25±0,98 ^{ghii}	ASD69	23,31±1,01 ^{bcd}
ASD25	14,63±1,31 ^{ij}	ASD-8-9	15,92±0,86 ^{ghij}
ASD31	17,54±0,28 ^{fghi}	ASD-8-55	11,64±0,37 ^j
ASD36	14,86±0,65 ^{hij}	ASD-9-55	11,91±0,37 ^j
ASD38	15,76±0,48 ^{ghij}	ASD-8-9-55	19,36±1,08 ^{cdefghi}
ASD44	12,62±0,63 ^{ij}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

Çizelge 4.21'de verilen izolatların buğday bitkisindeki toplam karotenoid miktarı üzerine etkilerine göre; istatistiki bakımdan önemli (p<0,05) düzeyde olumlu etkiyi kontrol grubuna göre ASD54, ASD8, ASD18 ve ASD19 izolatlarının gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4.21. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-Toplam karotenoid miktarı bulgularının istatistiki analizleri

İzolot No	mg toplam karotenoid/g doku	İzolot No	mg toplam karotenoid/g doku
Kontrol	1,49±0,10 ^{cdef}	ASD48	2,27±0,25 ^{abcde}
ASD1	2,45±0,14 ^{abcd}	ASD54	3,28±0,29 ^a
ASD8	3,04±0,16 ^{ab}	ASD55	2,05±0,24 ^{abcde}
ASD9	2,58±0,93 ^{abcd}	ASD58	1,36±0,24 ^{def}
ASD14	2,63±0,59 ^{abcd}	ASD59	2,16±0,75 ^{abcde}
ASD18	2,73±0,27 ^{abc}	ASD64	2,24±0,26 ^{abcde}
ASD19	2,83±0,42 ^{abc}	ASD65	2,58±0,40 ^{abcd}
ASD22	2,35±0,23 ^{abcde}	ASD68	2,01±0,20 ^{abcde}
ASD23	2,16±0,49 ^{abcde}	ASD69	2,54±0,29 ^{abcd}
ASD25	1,78±0,90 ^{bcdef}	ASD-8-9	2,33±0,19 ^{abcde}
ASD31	1,99±0,04 ^{abcde}	ASD-8-55	1,01±0,22 ^{ef}
ASD36	1,73±0,17 ^{bcdef}	ASD-9-55	0,66±0,09 ^f
ASD38	1,90±0,14 ^{bcdef}	ASD-8-9-55	2,33±0,39 ^{abcde}
ASD44	1,56±0,16 ^{cdef}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

İzolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinde, toplam klorofil miktarı üzerindeki yüzde artış, azalış oranları Çizelge 4.22'de verilmiştir. Bu verilere göre; ASD54 (%120,22↑), ASD18 (%91,66↑), ASD65 (%84,74↑) ve ASD69 (83,40↑) izolatları kontrol grubuna göre maksimum olumlu etki göstermiş ve toplam klorofil miktarında büyük oranda artış sağlamışlardır. ASD44 (%0,07↓), ASD58 (%0,87↓) izolatları ve ASD-8-55 (%8,42↓), ASD-9-55 (%6,29↓) kombinasyonları kontrol grubuna göre toplam klorofil miktarında azalmaya sebep olmuşlardır.

Çizelge 4.22. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre toplam klorofil miktarı üzerinde % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Toplam klorofil miktarındaki % azalış↓/artış↑	İzolat No	Toplam klorofil miktarındaki % azalış↓/artış↑
ASD1	54,60↑	ASD48	55,39↑
ASD8	53,66↑	ASD54	120,22↑
ASD9	75,45↑	ASD55	45,87↑
ASD14	77,50↑	ASD58	0,87↓
ASD18	91,66↑	ASD59	44,51↑
ASD19	81,67↑	ASD64	61,29↑
ASD22	50,60↑	ASD65	84,74↑
ASD23	35,72↑	ASD68	45,79↑
ASD25	15,11↑	ASD69	83,40↑
ASD31	38,00↑	ASD-8-9	25,26↑
ASD36	16,92↑	ASD-8-55	8,42↓
ASD38	23,99↑	ASD-9-55	6,29↓
ASD44	0,07↓	ASD-8-9-55	52,32↑

İzolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinde, toplam klorofil miktarı üzerindeki yüzde artış, azalış oranları Çizelge 4.23'te verilmiştir. Çizelge 4.23'e göre; ASD54 (%120,13↑), ASD8 (%104,03↑), ASD19 (%89,93↑) ve ASD18 (%83,22↑) izolatları kontrol grubuna göre toplam karotenoid miktarı üzerinde olumlu etki göstererek artış sağlamışlardır. Yalnızca ASD58 (%8,72↓) izolatu ve ASD-8-55 (%32,21↓) kombinasyonu ise negatif etki göstererek toplam karotenoid miktarı üzerinde azalmaya sebep olmuşlardır.

Çizelge 4.23. NaCl'li sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre toplam karotenoid miktarı üzerinde % olarak artış-azalış miktarları

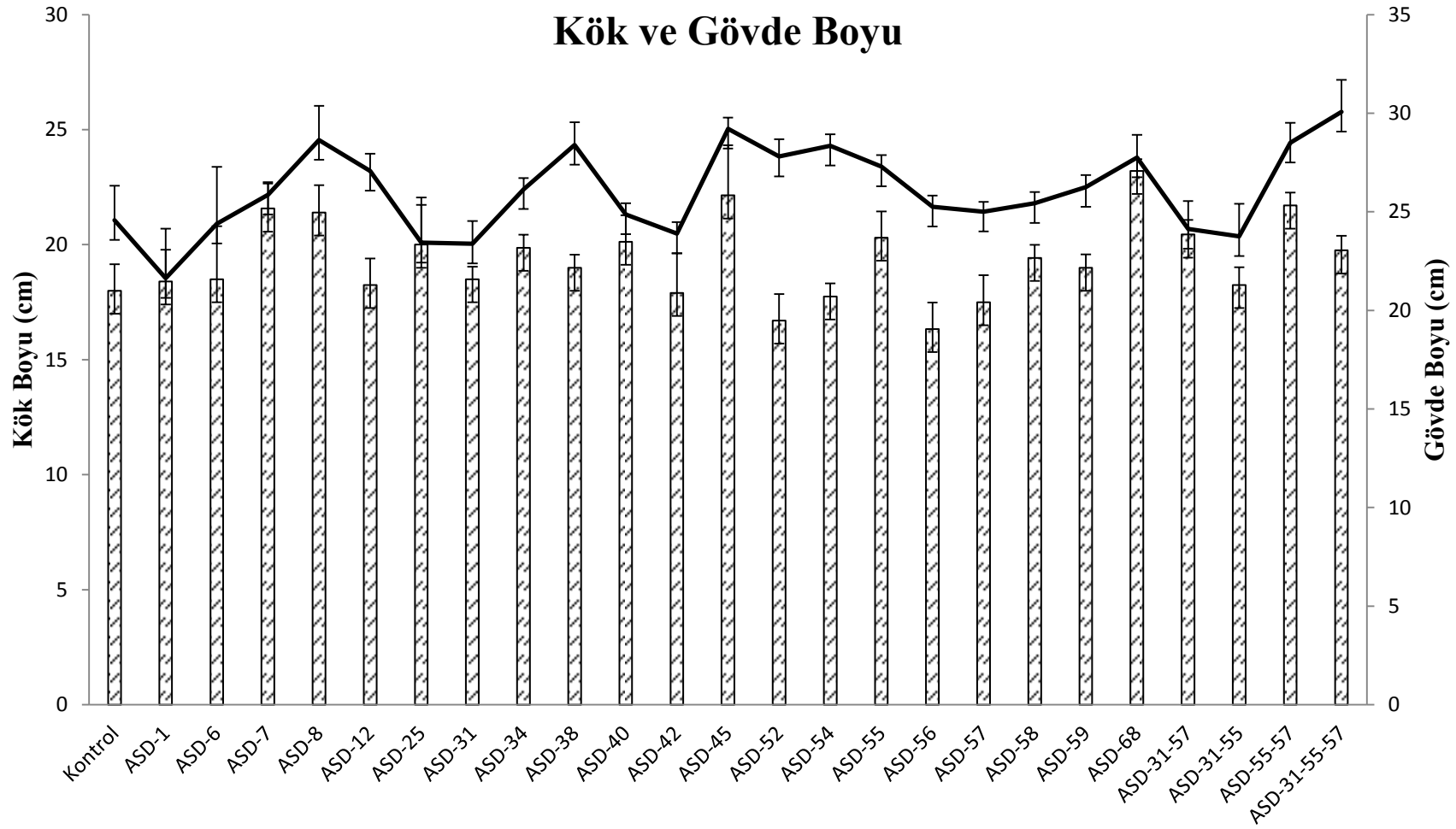
İzolat No	Toplam karotenoid miktarındaki % azalış↓/artış↑	İzolat No	Toplam karotenoid miktarındaki % azalış↓/artış↑
ASD1	64,43↑	ASD48	52,35↑
ASD8	104,03↑	ASD54	120,13↑
ASD9	73,15↑	ASD55	37,58↑
ASD14	76,51↑	ASD58	8,72↓
ASD18	83,22↑	ASD59	44,97↑
ASD19	89,93↑	ASD64	50,34↑
ASD22	57,72↑	ASD65	73,15↑
ASD23	44,97↑	ASD68	34,90↑
ASD25	19,46↑	ASD69	70,47↑
ASD31	33,56↑	ASD-8-9	56,38↑
ASD36	16,11↑	ASD-8-55	32,21↓
ASD38	27,52↑	ASD-9-55	55,70↓
ASD44	4,70↑	ASD-8-9-55	56,38↑

4.7.2. Normal sulama yapılan saksı denemeleri sonuçları

4.7.2.a. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde kök ve gövde boyuna etkileri

Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun kök boyu üzerindeki etkileri Şekil 4.21'de özetlenmiştir. Şekil 4.21'den de görüldüğü gibi bakteri inokülasyonu yapılmamış kontrole göre kök boyu üzerinde maksimum olumlu etkiyi ASD68 (23,2), izolatı sağlamış, bu izolatı sırasıyla ASD-55-57 (ASD-55 ve ASD57 izolatlarından oluşan karışık kültür) kombinasyonu (21,07), ASD45 (22,14), ASD7 (21,57) ve ASD8 (21,4) izolatları izlemiştir.

Şekil 4.21'e göre buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun gövde boyu üzerindeki etkilerine göre ise; ASD-31-55-57 kombinasyonu (30,07) ve ASD45 (29,21), ASD8 (28,64) izolatları maksimum olumlu etki sağlamışlardır.



Şekil 4.21. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde kök ve gövde boyu üzerindeki etkileri

Kök boyu ölçümlerinden elde edilen değerlerin istatistiki analizleri ise Çizelge 4.24'te özetlenmiştir. Bu veriler ışığında; bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre ASD68, ASD45, ASD7, ASD8 izolatlarının ve ASD-55-57 kombinasyonunun kök boyu artışına katkıları istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.24. Normal sulama uygulamalı deneme-Kök boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi

İzolat No	Kök Boyu (cm)	İzolat No	Kök Boyu (cm)
Kontrol	18,00±1,15 ^{bcd}	ASD52	16,70±1,15 ^d
ASD1	18,40±2,30 ^{bcd}	ASD54	17,75±0,57 ^{cd}
ASD6	18,50± 2,30 ^{bcd}	ASD55	20,30±1,15 ^{abcd}
ASD7	21,57±1,15 ^{abc}	ASD56	16,33±1,15 ^d
ASD8	21,4±1,18 ^{abc}	ASD57	17,50±1,15 ^{cd}
ASD2	18,25±1,15 ^{bcd}	ASD58	19,42±0,57 ^{abcd}
ASD25	20,00±1,73 ^{abcd}	ASD59	19,00±0,58 ^{abcd}
ASD31	18,50±0,54 ^{bcd}	ASD68	23,2±0,51 ^a
ASD34	19,86±0,57 ^{abcd}	ASD-31-57	20,44±0,63 ^{abcd}
ASD38	19,00±0,57 ^{abcd}	ASD-31-55	18,25±0,77 ^{bcd}
ASD40	20,13±1,15 ^{abcd}	ASD-55-57	21,70±0,57 ^{abc}
ASD42	17,90±1,73 ^{bcd}	ASD-31-55-57	19,75±0,64 ^{abcd}
ASD45	22,14±2,18 ^{ab}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

Gövde boyu ölçümlerinden elde edilen değerlerin istatistiki analizleri ise Çizelge 4.25'te özetlenmiştir. Bu veriler ışığında bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubuna göre ASD-31-55-57 kombinasyonu, ASD45 ve ASD8 izolatının gövde boyu üzerindeki etkisinin istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.25. Normal sulama uygulamalı deneme-Gövde boyu ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizi

İzolot No	Gövde Boyu (cm)	İzolot No	Gövde Boyu (cm)
Kontrol	24,57±1,75 ^{cdefg}	ASD52	27,80±0,88 ^{abcde}
ASD1	21,63±1,45 ^g	ASD54	28,35±0,58 ^{abcd}
ASD6	24,40±2,88 ^{cdefg}	ASD55	27,30±0,57 ^{abcdef}
ASD7	25,87±0,57 ^{abcdefg}	ASD56	25,25±0,57 ^{bcdefg}
ASD8	28,64±1,73 ^{abc}	ASD57	25,00±0,50 ^{bcdefg}
ASD12	27,07±0,88 ^{abcdef}	ASD58	25,43±0,57 ^{abcdefg}
ASD25	23,43±2,30 ^{fg}	ASD59	26,25±0,62 ^{abcdefg}
ASD31	23,38±1,15 ^{fg}	ASD68	27,75±1,15 ^{abcde}
ASD34	26,14±0,57 ^{abcdefg}	ASD-31-57	24,13±1,42 ^{efg}
ASD38	28,39±1,15 ^{abcd}	ASD-31-55	23,75±1,65 ^{efg}
ASD40	24,86±0,57 ^{bcdefg}	ASD-55-57	28,50±1,01 ^{abcde}
ASD42	23,90±0,58 ^{efg}	ASD-31-55-57	30,07±1,62 ^a
ASD45	29,21±0,57 ^{ab}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

İzolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinde, kontrol grubuna göre kök boyu üzerindeki yüzdece artış, azalış oranları Çizelge 4.26'da verilmiştir. Bu verilere göre; ASD68 (%28,89↑), ASD45 (%23↑), ASD7 (%19,83), ASD8 (%18,89↑) izolatları ve ASD-55-57 (%20,56↑) kombinasyonu maksimum olumlu etki göstererek kök boyu üzerinde artış sağlamışlardır. Bunun yanı sıra ASD42 (%0,56↓), ASD52 (%7,22↓), ASD54 (%1,39↓), ASD56 (%9,28↓) ve ASD57 (%2,78↓) izolatları kök boyu üzerinde negatif etki göstermiş ve azalmaya yol açmıştır.

Çizelge 4.26. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre kök boyu üzerinde % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Kök Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑	İzolat No	Kök Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑
ASD1	2,22↑	ASD52	7,22↓
ASD6	2,77↑	ASD54	1,39↓
ASD7	19,83↑	ASD55	12,78↑
ASD8	18,89↑	ASD56	9,28↓
ASD12	1,39↑	ASD57	2,78↓
ASD25	11,11↑	ASD58	7,89↑
ASD31	2,77↑	ASD59	5,56↑
ASD34	10,33↑	ASD68	28,89↑
ASD38	5,56↑	ASD-31-57	13,56↑
ASD40	11,83↑	ASD-31-55	1,39↑
ASD42	0,56↓	ASD-55-57	20,56↑
ASD45	23↑	ASD-31-55-57	9,72↑

Çizelge 4.27’de izolatlarla inokülasyonun buğday bitkisinde, kontrol grubuna göre gövde boyu üzerinde sağladığı yüzde azalış ve artış miktarları verilmiştir. Bu veriler ışığında; ASD-31-55-57 (%22,39↑) kombinasyonu, ASD45 (%18,88↑) ve ASD8 (%16,56) izolatları gövde boyu üzerinde pozitif etki göstermiş ve önemli oranda artış sağlamışlardır. Gövde boyu üzerinde negatif etki göstererek azalma sağlayan izolatlar ise sırayla; ASD1 (%11,97↓), ASD6 (%0,69↓), ASD25 (%4,64↓), ASD31 (%4,84↓), ASD42 (%18,88↓), ASD-31-57 (%1,80↓) ve ASD-31-55 (%3,34↓)’dir.

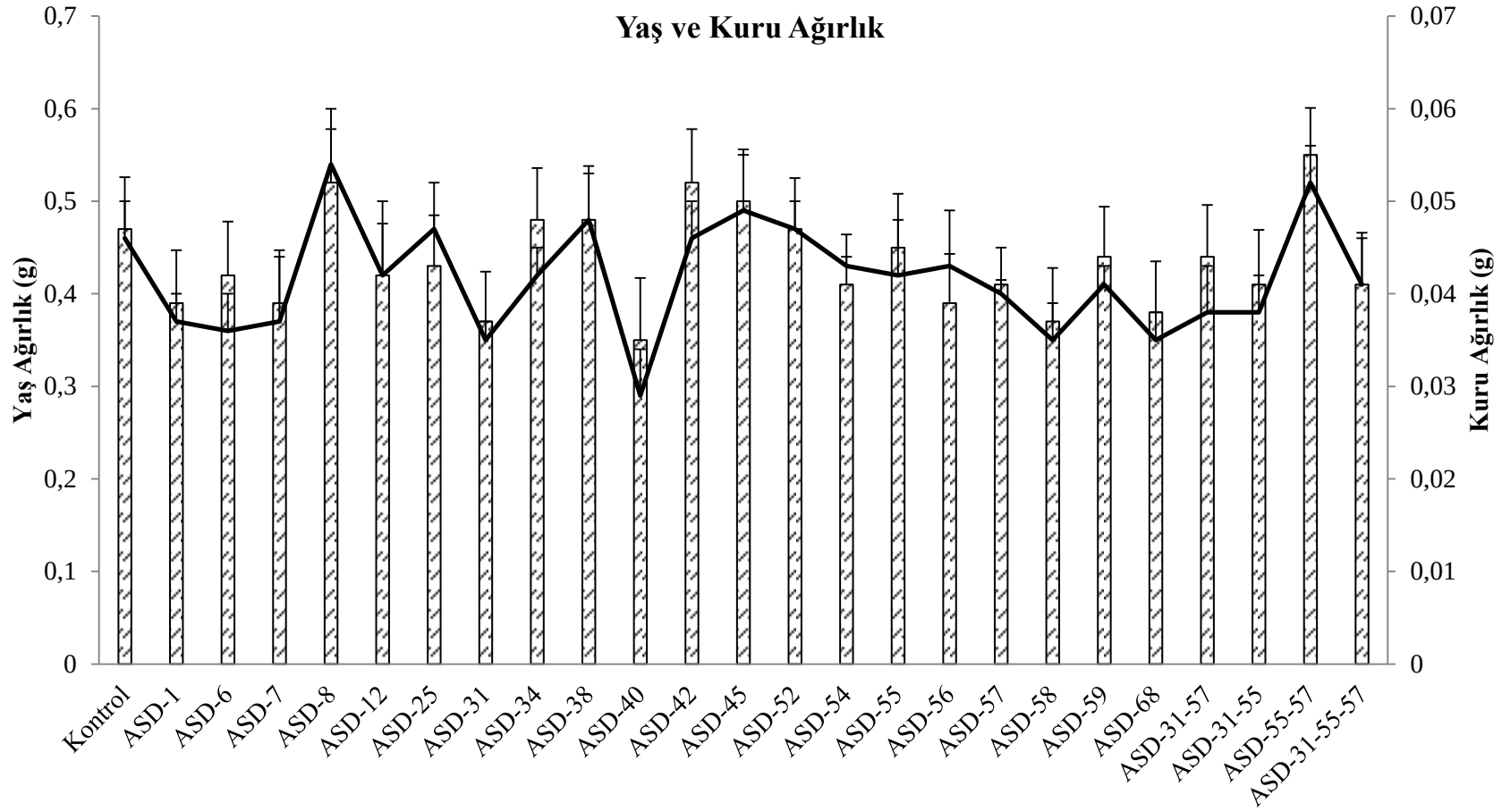
Çizelge 4.27. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre gövde boyu üzerinde % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Gövde Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑	İzolat No	Gövde Boyu Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑
ASD1	11,97↓	ASD52	13,15↑
ASD6	0,69↓	ASD54	15,38↑
ASD7	5,29↑	ASD55	11,11↑
ASD8	16,56↑	ASD56	2,77↑
ASD12	10,18↑	ASD57	1,75↑
ASD25	4,64↓	ASD58	3,50↑
ASD31	4,84↓	ASD59	6,84↑
ASD34	6,39↑	ASD68	12,94↑
ASD38	15,55↑	ASD-31-57	1,80↓
ASD40	1,18↑	ASD-31-55	3,34↓
ASD42	2,73↓	ASD-55-57	16,00↑
ASD45	18,88↑	ASD-31-55-57	22,39↑

4.7.2.b. İnokülasyon uygulamalarının bitkilerde yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri

Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun, bitki başına düşen yaş ve kuru ağırlık üzerindeki etkileri Şekil 4.22’de verilmiştir. Şekil 4.22’den de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre yaş ağırlık üzerinde en önemli olumlu etkiyi ASD-31-55-57 (0,41) kombinasyonunun yaptığı görülmekte diğer izolatlarında kontrol grubuna çok yakın yaş ağırlık miktarına sahip oldukları görülmektedir.

Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun, bitki kuru ağırlığı üzerine etkileri Şekil 4.22’den de görüldüğü üzere kontrol grubuna göre maksimum olumlu etkiyi ASD8 (0,054) izolatı sağlamış, bu izolatı sırasıyla ASD-55-57 (0,052) kombinasyonu ve ASD45 (0,049) izolatları izlemiştir.



Şekil 4.22. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde yaş ve kuru ağırlık üzerindeki etkileri

Bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubu buğday bitkisi ile bakteri inokulasyonlu olan bitkiler karşılaştırılarak yapılan istatistiki yaş ağırlık analiz sonuçları Çizelge 4.28'de verilmiştir. Bu veriler ışığında, ASD-31-55-57 kombinasyonu kontrol grubuna göre daha etkilidir ve istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) düzeyde protein artışı sağladığı görülmektedir. Diğer izolatlar ise kontrol grubuna yakın sonuçlar göstermektedir.

Çizelge 4.28. Normal sulama uygulamalı deneme-Yaş ağırlık bulgularının istatistiki analizi

İzolat No	Yaş Ağırlık Miktarı (g)	İzolat No	Yaş Ağırlık Miktarı (g)
Kontrol	0,47± 0,056 ^{ab}	ASD52	0,47±0,055 ^{ab}
ASD1	0,39±0,057 ^{ab}	ASD54	0,41± 0,054 ^{ab}
ASD6	0,42± 0,058 ^{ab}	ASD55	0,45± 0,058 ^{ab}
ASD7	0,39± 0,057 ^{ab}	ASD56	0,39±0,053 ^{ab}
ASD8	0,52± 0,058 ^{ab}	ASD57	0,41± 0,052 ^{ab}
ASD12	0,42± 0,056 ^{ab}	ASD58	0,37± 0,058 ^b
ASD25	0,43± 0,055 ^{ab}	ASD59	0,44± 0,054 ^{ab}
ASD31	0,37± 0,054 ^b	ASD68	0,38± 0,055 ^b
ASD34	0,48± 0,056 ^{ab}	ASD-31-57	0,44± 0,056 ^{ab}
ASD38	0,48± 0,058 ^{ab}	ASD-31-55	0,41± 0,059 ^{ab}
ASD40	0,35± 0,067 ^b	ASD-55-57	0,55± 0,051 ^{ab}
ASD42	0,52± 0,058 ^{ab}	ASD-31-55-57	0,60± 0,056 ^a
ASD45	0,50± 0,056 ^{ab}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

Kuru ağırlık ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizleri ise Çizelge 4.29'da özetlenmiştir. Bu veriler ışığında kontrol grubuna göre ASD8, ASD45 izolatlarının ve ASD-55-57 kombinasyonunun istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) artışlar sağladığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.29. Normal sulama uygulamalı deneme-Kuru ağırlık bulgularının istatistiki analizi

İzolot No	Kuru Ağırlık Miktarı (g)	İzolot No	Kuru Ağırlık Miktarı (g)
Kontrol	0,046±0,004 ^{cde}	ASD52	0,046±0,003 ^{cde}
ASD1	0,037±0,003 ^{ij}	ASD54	0,043±0,001 ^{efgh}
ASD6	0,036±0,004 ^{ij}	ASD55	0,042±0,006 ^{gh}
ASD7	0,037±0,007 ^{ij}	ASD56	0,043±0,006 ^{defg}
ASD8	0,054±0,006 ^a	ASD57	0,04±0,058 ^{ghii}
ASD12	0,042±0,008 ^{efgh}	ASD58	0,035±0,004 ^j
ASD25	0,047±0,005 ^{cd}	ASD59	0,041±0,002 ^{gh}
ASD31	0,035±0,002 ^j	ASD68	0,036±0,003 ^j
ASD34	0,042±0,003 ^{fgh}	ASD-31-57	0,039±0,005 ^{hij}
ASD38	0,048±0,005 ^c	ASD-31-55	0,037±0,004 ^{ij}
ASD40	0,030±0,005 ^k	ASD-55-57	0,052±0,004 ^{ab}
ASD42	0,046±0,004 ^{cdef}	ASD-31-55-57	0,041±0,005 ^{gh}
ASD45	0,049±0,006 ^{bc}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

İzolatlarla inokülasyonun normal suyla sulanan buğday bitkisinde, yaş ağırlık miktarı üzerindeki yüzdece artış, azalış oranları Çizelge 4.30'da verilmiştir. Bu çizelgeye göre, ASD52 (%↔) izolatu kontrolle aynı oranda yaş ağırlık miktarına sahipken; ASD8 (%10,64↑), ASD34 (%2,13↑), ASD38 (%2,13↑), ASD42 (%10,64↑), ASD45 (%6,38↑) izolatları ve ASD-55-57 (%17,02↑), ASD-31-55-57 (%27,66↑) kombinasyonları kontrol grubuna göre bitki başına düşen yaş ağırlık miktarında artış sağlamışlardır. Bunun dışında kalan diğer izolatlar bitki başına düşen yaş ağırlık miktarında azalmaya neden olmuşlardır.

Çizelge 4.30. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre bitki başına düşen yaş ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Yaş Ağırlık Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑	İzolat No	Yaş Ağırlık Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑
ASD1	17,02↓	ASD52	↔
ASD6	10,64↓	ASD54	12,77↓
ASD7	17,02↓	ASD55	4,26↓
ASD8	10,64↑	ASD56	17,02↓
ASD12	10,64↓	ASD57	12,77↓
ASD25	8,51↓	ASD58	21,28↓
ASD31	21,28↑	ASD59	6,38↓
ASD34	2,13↑	ASD68	19,15↓
ASD38	2,13↑	ASD-31-57	6,38↓
ASD40	25,53↓	ASD-31-55	12,77↓
ASD42	10,64↑	ASD-55-57	17,02↑
ASD45	6,38↑	ASD-31-55-57	27,66↑

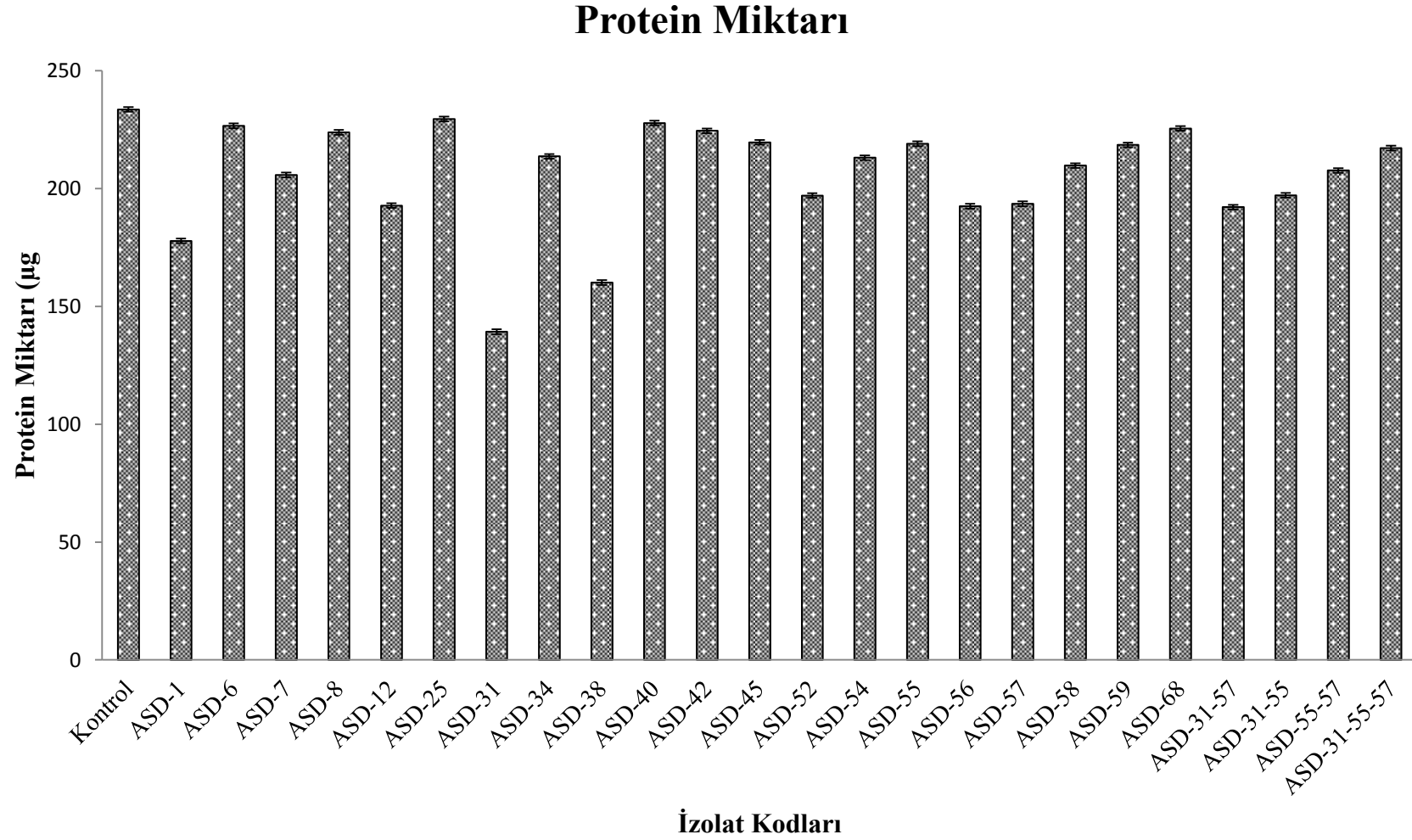
Aşağıdaki Çizelge 4.31’de izolatlarla inokülasyonun normal suyla sulanan buğday bitkisinde bitki başına düşen kuru ağırlık miktarı üzerindeki yüzde artış, azalış oranları verilmiştir. Bu çizelgeden de anlaşıldığı üzere, ASD6 (%21,74↑), ASD8 (%17,39↑), ASD38 (%4,5↑), ASD45 (%6,52↑) izolatları ve ASD-55-57 (%13,04↑) kombinasyonu bitki başına düşen kuru ağırlık miktarı üzerinde önemli miktarda ve yüzdece artış sağlamışlardır. ASD42 ve ASD52 izolatları kontrolle aynı miktarda kuru ağırlık miktarına sahipken; bu izolatlar dışındaki diğer izolatlar kuru ağırlık üzerinde negatif etki sağlayarak yüzdece azalmaya sebep olmuşlardır.

Çizelge 4.31. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre bitki başına düşen kuru ağırlık üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Kuru Ağırlık Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑	İzolat No	Kuru Ağırlık Üzerindeki % Azalış↓/Artış↑
ASD1	19,57↓	ASD52	↔
ASD6	21,74↑	ASD54	6,52↓
ASD7	19,57↓	ASD55	8,70↓
ASD8	17,39↑	ASD56	6,52↓
ASD12	8,70↓	ASD57	13,04↓
ASD25	2,17↑	ASD58	23,91↓
ASD31	23,91↓	ASD59	10,87↓
ASD34	8,70↓	ASD68	21,74↓
ASD38	4,35↑	ASD-31-57	15,22↓
ASD40	34,78↓	ASD-31-55	19,57↓
ASD42	↔	ASD-55-57	13,04↑
ASD45	6,52↑	ASD-31-55-57	10,87↓

4.7.2.c. Saksı denemeleri sonucunda elde edilen bitki çözünmüş protein miktarları

Buğday bitkisinde farklı izolatlar ile inokülasyonun bitki protein miktarı üzerindeki etkileri Şekil 4.23'te verilmiştir. Şekil 4.23'ten de görüldüğü gibi hiçbir izolatın bakteri inokülasyonu yapılmamış kontrolden daha yüksek çözünmüş protein miktarına sahip olmadığı ancak ASD25 ve ASD40 izolatlarının kontrole çok yakın protein miktarı artışı gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.23. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde çözülmüş protein miktarı üzerindeki etkileri

Protein miktarı ölçümlerinden elde edilen bulguların istatistiki analizleri ise Çizelge 4.32’de özetlenmiştir. Bu veriler ışığında, bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol grubu diğer izolatlarla kıyaslandığında değerlerin önemsiz olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.32. Normal sulama uygulamalı deneme-Protein miktarı bulgularının istatistiki analizi

İzolat No	Protein miktarı (µg)	İzolat No	Protein miktarı (µg)
Kontrol	233,56±2,22 ^a	ASD52	197,02±0,58 ⁱ
ASD1	177,775±0,80 ⁱ	ASD54	213,1±2,25 ^{fg}
ASD6	226,6±0,23 ^{abc}	ASD55	219±1,73 ^{def}
ASD7	205,74±0,61 ^h	ASD56	192,5±2,02 ⁱ
ASD8	223,86±1,81 ^{bcde}	ASD57	193,55±3,10 ⁱ
ASD12	192,76±0,084 ⁱ	ASD58	209,735±2,65 ^{gh}
ASD25	229,5±0,86 ^{ab}	ASD59	218,5±0,28 ^{def}
ASD31	139,27±2,06 ^k	ASD68	225,5±1,44 ^{bcd}
ASD34	213,66±2,72 ^{fg}	ASD-31-57	192,1±0,78 ⁱ
ASD38	160,11±1,55 ^j	ASD-31-55	197,165±2,21 ⁱ
ASD40	227,815±0,86 ^{ab}	ASD-55-57	207,655±0,37 ^{gh}
ASD42	224,5±0,34 ^{bcde}	ASD-31-55-57	217,15±2,22 ^{ef}
ASD45	219,605±0,58 ^{cdef}		

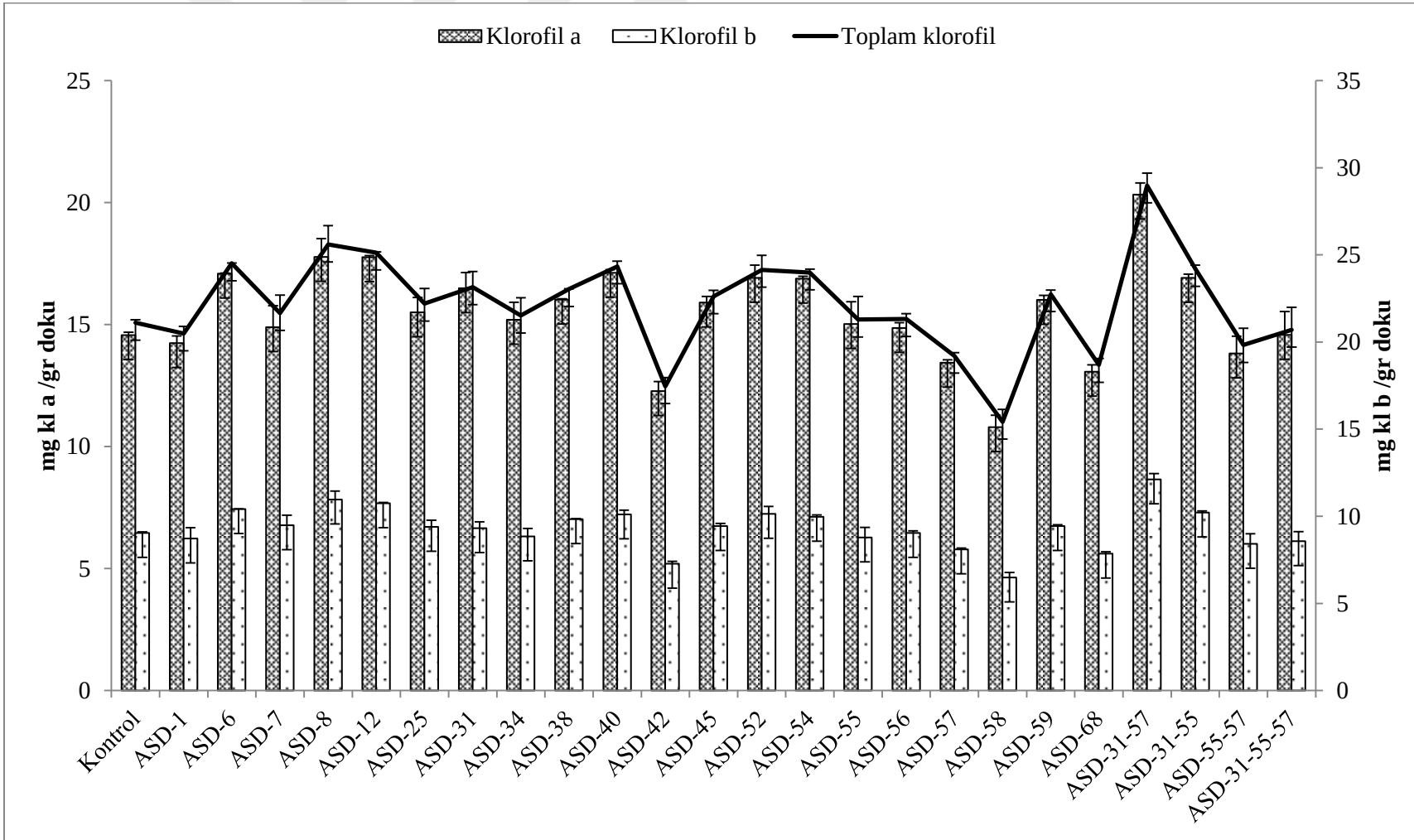
*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

4.7.2.d. Saksı denemeleri sonucunda elde edilen bitki klorofil ve karatoneid miktarları

Buğday bitkisinde farklı izolatlarla yapılan inokulasyonun, bitki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı üzerindeki etkileri Şekil 4.24’te verilmiştir. Şekle göre, klorofil a miktarı üzerindeki en önemli artışı ASD-31-57 (20,33) kombinasyonu sağlamış bu izolatı sırasıyla ASD8 (17,77) ve ASD12 (17,76) izolatları takip etmiştir. Klorofil b miktarı üzerinde en etkili artışı ASD-31-57 (8,65) kombinasyonu sağlamış ve onu

ASD8 (7,83) ve ASD12 (7,67) izolatları takip etmiştir. Yine toplam klorofil miktarı üzerinde ise, ASD-31-57 (28,98), ASD8 (25,59) ve ASD12 (25,13) izolatları çok etkili olmuşlardır. Klorofil a miktarı üzerinde ASD1 (14,24), ASD42 (12,27), ASD57 (13,44), ASD68 (13,07) ve ASD-55-57 (13,82) izolatları negatif etki gösterip azalmaya sebep olmuşlardır. ASD1 (6,23), ASD42 (5,20), ASD57 (5,78), ASD68 (5,61) izolatları ve ASD-55-57 (6,01) kombinasyonu klorofil b miktarı üzerinde de azalmaya sebep olmuşlardır. Yine aynı izolatlar toplam klorofil miktarı üzerinde de negatif etki göstererek azalma göstermişlerdir.





Şekil 4.24. Uygulamaların normal sulama yapılan buğday bitkisinde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı

Buğday bitkisinde farklı izolatlarla yapılan inokulasyonun, bitki klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı üzerindeki etkileri ölçülmüştür. Elde edilen bulguların istatistiki analizleri Çizelge 4.33, 4.34 ve 4.35'te özetlenmiştir. Bu verilere ışığında; Çizelge 4.33'te de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre klorofil a miktarı üzerine en etkili ASD-31-57 kombinasyonu olmuş, onu sırasıyla ASD8 ve ASD12 izolatları izlemiştir. Bu farkın istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.33. Normal sulama uygulamalı deneme-Klorofil a miktarı bulgularının istatistiki analizleri

İzolat No	mg kl a /gr doku	İzolat No	mg kl a /gr doku
Kontrol	14,57±0,11 ^{fgghi}	ASD52	16,91±0,53 ^{bcd}
ASD1	14,24±0,29 ^{ghii}	ASD54	16,88±0,10 ^{bcd}
ASD6	17,09±0,02 ^{bcd}	ASD55	15,02±0,92 ^{efghi}
ASD7	14,89±0,88 ^{efghi}	ASD56	14,86±0,22 ^{efghi}
ASD8	17,77±0,75 ^b	ASD57	13,44±0,11 ^{ijj}
ASD12	17,76±0,07 ^{bc}	ASD58	10,79±0,49 ^k
ASD25	15,50±0,61 ^{defg}	ASD59	16,01±0,19 ^{cdef}
ASD31	16,49±0,64 ^{bcde}	ASD68	13,07±0,28 ^{ij}
ASD34	15,20±0,71 ^{efgh}	ASD-31-57	20,33±0,47 ^a
ASD38	16,02±0,03 ^{cdef}	ASD-31-55	16,91±0,15 ^{bcd}
ASD40	17,12±0,13 ^{bcd}	ASD-55-57	13,82±0,70 ^{hii}
ASD42	12,27±0,39 ^j	ASD-31-55-57	14,58±0,95 ^{fgghi}
ASD45	15,90±0,25 ^{cdefg}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir ($p<0,05$).

Çizelge 4.34'ten anlaşıldığı gibi klorofil b miktarı kontrol grubuna göre maksimum olumlu etkiyi ASD-31-57 kombinasyonu sağlamış bu izolatu ASD8 ve ASD12 izolatları izlemiştir. Bu etkinin istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.34. Normal sulama uygulamalı deneme-Klorofil b miktarı bulgularının istatistiki analizleri

İzolat No	mg kl b /gr doku	İzolat No	mg kl b /gr doku
Kontrol	6,46±0,04 ^{fgghi}	ASD52	7,24±0,30 ^{bcdef}
ASD1	6,23±0,44 ^{ijk}	ASD54	7,12±0,08 ^{bcdefg}
ASD6	7,44±0,01 ^{bcd}	ASD55	6,27±0,42 ^{ijk}
ASD7	6,77±0,42 ^{defghi}	ASD56	6,46±0,09 ^{ghij}
ASD8	7,83±0,35 ^b	ASD57	5,78±0,06 ^{kl}
ASD12	7,67±0,04 ^{bc}	ASD58	4,63±0,21 ^m
ASD25	6,71±0,27 ^{defghii}	ASD59	6,74±0,06 ^{defghii}
ASD31	6,65±0,26 ^{efghii}	ASD68	5,61±0,08 ^{kl}
ASD34	6,32±0,32 ^{hiijk}	ASD-31-57	8,65±0,24 ^a
ASD38	7,02±0,03 ^{cdefgh}	ASD-31-55	7,29±0,07 ^{bcde}
ASD40	7,22±0,17 ^{bcdef}	ASD-55-57	6,01±0,42 ^{ijk}
ASD42	5,20±0,09 ^{lm}	ASD-31-55-57	6,12±0,39 ^{ijk}
ASD45	6,74±0,11 ^{defghii}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

Toplam klorofil miktarı analiz sonuçları Çizelge 4.35'te verilmiştir. Buğday bitkisinin farklı izolatlarla inokulasyonu sonucu kontrol grubuna göre toplam klorofil miktarı üzerine en fazla etkiyi ASD-31-57 kombinasyonu sağlamış, onu ASD8, ASD12 izolatları takip etmiştir ve bu etki istatistiki bakımdan önemli (p<0,05) bulunmuştur.

Çizelge 4.35. Normal sulama uygulamalı deneme-Toplam klorofil miktarı bulgularının istatistiki analizleri

İzolot No	mg toplam klorofil /gr doku	İzolot No	mg toplam klorofil /gr doku
Kontrol	21,11±0,16 ^{efghi}	ASD52	24,14±0,83 ^{bcd}
ASD1	20,49±0,41 ^{ghii}	ASD54	23,99±0,19 ^{bcd}
ASD6	24,51±0,02 ^{bcd}	ASD55	21,29±1,33 ^{efghi}
ASD7	21,66±1,03 ^{efgh}	ASD56	21,32±0,31 ^{efghi}
ASD8	25,59±1,09 ^b	ASD57	19,21±0,17 ^{iiij}
ASD12	25,13±0,04 ^{bc}	ASD58	15,42±0,71 ^k
ASD25	22,20±0,87 ^{defg}	ASD59	22,74±0,24 ^{defg}
ASD31	23,14±0,90 ^{cde}	ASD68	18,69±0,36 ^{ij}
ASD34	21,51±1,03 ^{efghi}	ASD-31-57	28,98±0,71 ^a
ASD38	23,04±0,02 ^{cdef}	ASD-31-55	24,19±0,22 ^{bcd}
ASD40	24,34±0,30 ^{bcd}	ASD-55-57	19,83±0,95 ^{hii}
ASD42	17,46±0,49 ^j	ASD-31-55-57	20,70±1,29 ^{fghi}
ASD45	22,62±0,35 ^{defg}		

*: Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir (p<0,05).

Aşağıdaki Çizelge 4.36'da izolatlarla inokülasyonun normal suyla sulanan buğday bitkisinde bitki başına toplam klorofil miktarı üzerindeki yüzde artış, azalış oranları verilmiştir. Bu verilere göre, ASD-31-57 (%37,28↑) kombinasyonu büyük oranda artış sağlamış bu izolatu ASD8 (%21,22↑) ve ASD12 (%19,04) izolatu takip etmiştir. Genel olarak izolatlar yüzdece artış sağlarken; ASD1 (%2,94↓), ASD42 (%17,29↓), ASD57 (%9,00↓), ASD68 (%11,46↓) izolatları ve ASD-55-57 kombinasyonu (%6,06↓) ise toplam klorofil miktarında azalmaya sebep olmuşlardır.

Çizelge 4.36. Normal sulama uygulamalı deneme-İzolatlarla inokülasyonun kontrol grubuna göre toplam klorofil miktarı üzerindeki % olarak artış-azalış miktarları

İzolat No	Toplam klorofil miktarında % Azalış↓/Artış↑	İzolat No	Toplam klorofil miktarında % Azalış↓/Artış↑
ASD1	2,94↓	ASD52	14,35↑
ASD6	16,11↑	ASD54	13,64↑
ASD7	2,61↑	ASD55	0,85↑
ASD8	21,22↑	ASD56	0,99↑
ASD12	19,04↑	ASD57	9,00↓
ASD25	5,16↑	ASD58	26,95↓
ASD31	9,67↑	ASD59	7,72↑
ASD34	1,89↑	ASD68	11,46↓
ASD38	9,14↑	ASD-31-57	37,28↑
ASD40	15,30↑	ASD-31-55	14,59↑
ASD42	17,29↓	ASD-55-57	6,06↓
ASD45	7,15↑	ASD-31-55-57	1,94↑

Buğday bitkisine farklı izolatlarla yapılan inokülasyon ve normal sulamanın bu bitkideki karotenoid miktarı üzerine etkileri değerlendirilmiş fakat bu uygulamaların karotenoid miktarı üzerinde azalmaya sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle buraya çizelge olarak koymak istatistiki olarak önem teşkil etmemektedir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Mikroorganizmaların toprak verimliliğini arttırmak için kullanılması çok eski tarihlere dayansa da, bilimsel anlamda ilk ciddi PGPR araştırma ve uygulamaları 1970’li yıllarda başlamıştır. Bir başka ifadeyle bu tip çalışmaların tarihi ilk bakışta çok eski gibi görülmektedir. Ancak mikroorganizmaların değişen çevre koşullarına karşı büyük adaptasyon yetenekleri ve bu sayede gen havuzlarını sürekli değiştirebilmeleri, günümüzdeki yeni PGPR izolasyonu ve uygulamaları konulu araştırmaların yoğun bir şekilde devam etmesinin en önemli sebeplerinden biridir. PGPR araştırmalarında bir başka teşvik edici konu da genomları modern tekniklerle (Genetik ve moleküler manpülasyonlar) istenilen yönde kolaylıkla değiştirilebilen mikroorganizmalardan, daha elverişli ve patentli ürünler elde etme ve girift bir ilişkiler ağı olan PGPR-bitki etkileşimlerinin ekolojik ve fizyolojik mekanizmalarını aydınlatma çabalarıdır. Nihayet, küresel iklim değişikliği ve çevre kirliliği gibi global sebeplerle oluşan stres şartlarına dayanıklı ve stres şartlarında kendisinden beklenen PGPR özelliğini devam ettirebilen mikroorganizmaları izole etme çabaları da heyecan verici araştırma konularındandır. Dolayısıyla, PGPR araştırmaları 1970’li yıllarda bilim dünyasının ilgi alanına girmiş olsa da, bugün hala popüleritesini ve güncelliğini koruduğunu söylemek mümkündür. Bu nedenlerle, araştırmamızda, günümüz PGPR çalışmalarında üzerinde fazla yoğunlaşılan tuz stresi-PGPR uygulamaları esas alınarak, yeni halofilik PGPR’lerin izolasyonu ve elde edilen yeni izolatların tuzlu ve normal topraklarda buğday tarımı için kullanılabilirliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla yüksek oranda tuz içeren farklı habitatlardan toplam 57 adet yabancı bitki rizosfer topraklarıyla birlikte alınmış ve bunlardan 257 adet çeşitli düzeylerde tuza dayanıklı bakteri izole edilmiştir. Daha sonra bu bakteriler çeşitli PGP özellikleri (Azot bağlama, çözünmeyen fosfatı çözebilme, IAA üretebilme, ACC deaminaz üretebilme ve siderefor üretebilme) bakımından test edilmişler ve aktivitelerine göre saksı deneylerinde kullanılacak izolatlara (32 adet) karar verilmiştir. Son olarak bu izolatlar hem normal hem de çeşitli oranlarda tuz içeren su ile sulanmak üzere saksı deneylerine alınmış ve sonuçlar literatür ışığında tartışılmıştır.

Bu araştırma “Temel Bilimler” alanında yapılan bir doktora tezi olarak düşünüldüğünde, bulgularımızın tartışılmasında sadece uygulama sonuçlarımız değil, bulguların bize sunduğu temel-biyolojik veriler açıklanmaya çalışılmıştır.

5.1. İzolatların Elde Edildiği Bitkiler Ve Elde Edilen İzolatlar Hakkındaki Değerlendirmeler

Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere tuz içeriği yüksek habitatlardan toplam 57 adet bitki örneği rizosfer topraklarıyla beraber toplanmış ve bunlardan 257 adet bakteri izole edilmiştir. Toplanan bitkilerin cins düzeyindeki sayıları ele alındığında en yüksek bitki türünü temsil eden ilk 5 cins sırasıyla *Rumex* sp., *Plantago* sp., *Equisetum* sp., *Cirsium* sp. ve *Salvia* sp.’dir. Çizelge 5.1’de ülkemizde ve araştırmamızda yer alan bazı tuz içeriği yüksek habitatlarda en sık görülen halofitik bitkiler verilmiştir.

Çizelge 5.1. Ülkemizde bazı tuz içeriği yüksek habitatlarda en sık görülen halofitik bitkiler

Araştırmada Çalışılan Bölgeler	Belirlenen Başlıca Halofitik Bitkiler	Kaynak
Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlasına giderken Konya, Kulu, Kışla mahallesi mevkii Şereflikoçhisar, Hamzalı köyü mevkii Aksaray’a 42 km, İğdeli yaylası	<i>Delphinium</i> L., <i>R. hybrida</i> (L.) DC, <i>Alyssum linifolium</i> Steph. var. <i>linifolium</i> , <i>Astragalus condensatus</i> Ledeb., <i>Medicago minima</i> (L.) Bart var. <i>minima</i> , <i>Onobrychis paucijuga</i> Bornm., <i>Anthemis fumariifolia</i> Boiss., <i>Tanacetum armenum</i> (DC.) Schultz, <i>Myosotis alpestris</i> subsp. <i>Alpestris</i>	Tuğ 2006
Milleyha Sulak Alanı, Samandağ-Hatay	<i>Amaranthus retroflexus</i> L., <i>Anthemis cotula</i> L. <i>Echium angustifolium</i> Miller, <i>Lathyrus annuus</i> L., <i>Medicago marina</i> L., <i>Allium ampeloprasum</i> L., <i>Fumaria capreolata</i> L.	Altay and Ozturk 2012

Çizelge 5.1. (devam)

Tuz Gölü çevresi	<i>Lepidium caespitosum</i> , <i>Astragalus ovalis</i> , <i>Achillea sieheana</i> , <i>Taraxacum tuzgoluensis</i> , <i>Onosma halophilum</i> , <i>Salvia halophila</i> , <i>Asparagus lycaonicus</i> , <i>Limonium lilacinum</i>	Futuna 2010
Tuzgölü'nün güney ve güneybatısı	<i>Kalidiopsis wagenitzii</i> , <i>Limonium anatolicum</i> , <i>Onosma halophilum</i> , <i>Verbascum heliantemoides</i> , <i>Linum seljukorum</i> , <i>Centaurea halophila</i>	Karagöz 2002
Tersakan Gölü'nün güneyi	<i>Onosma halophilum</i> , <i>Hypericum salsugineum</i> , <i>Gypsophila oblanceolata</i> , <i>Silene salsuginea</i> , <i>Asparagus lycaonicus</i>	Karagöz 2002
Bolluk Gölü	<i>Linum seljukorum</i> , <i>Micocnemum coralloides</i> subsp. <i>anatolicum</i> , <i>Limonium anatolicum</i> ,	Karagöz 2002
Cihanbeyli Yavşan Tuzlası	<i>Allium vuralii</i> , <i>Ferula halophila</i> , <i>Limonium iconicum</i> , <i>Sphaerophyza kotschyana</i>	Karagöz 2002
Tuzla kıyıları, Çukurova Deltası'ndaki tuzlu topraklar	<i>Artrochnemum fruticosum</i> , <i>Halocnemum strobilaceum</i> , <i>Halimione portulacoides</i> , <i>Aeloropus littoralis</i> , <i>Artrochnemum glaucum</i> , <i>Juncus acutus</i> ,	Boz and Çakan 2008
Burdur Gölü çevresi	<i>Nigella arvensis</i> , <i>Delphinium peregrinum</i> L., <i>Brassica cretica</i> , <i>Lepidium perfoliatum</i> L., <i>Hibiscus trionium</i> L., <i>Amaranthus retroflexus</i> L. <i>Astragalus lycaonicus</i> ,	Çetin et al. 2013

Çizelge 5.1. (devam)

Erzurum; Tortum yakınlarındaki tuz göletleri bölgesi, Yolboyu yöresi yakınlarındaki kaya tuzu bölgesi ve Sağır Tepe denen dağ üzerindeki kaya tuzu bölgesi	<i>Myosotis sp.</i> <i>Artemisia absinthum L.</i> <i>Medicago sativa</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>Avena spp.</i> , <i>Poa bulbosa</i> , <i>Elytrigia repens</i> , <i>Teucrium chamaedrys</i> , <i>Plantago cretica</i> , <i>Galium spp.</i> , <i>Senecio cineraria</i> ,, <i>Rumex crispus</i> , <i>Equisetum arvense</i> ,	Bu çalışma
Erzurum; Tortum yakınlarındaki tuz göletleri bölgesi, Yolboyu yöresi yakınlarındaki kaya tuzu bölgesi ve Sağır Tepe denen dağ üzerindeki kaya tuzu bölgesi	<i>Delphinium spp.</i> , <i>Salvia divinorum</i> , <i>Tanacetum coccineum</i> , <i>Salvia longipedicellata</i> , <i>Rumex alpinus</i> , <i>Festuca ovina L.</i> , <i>Alyssum linifolium</i> , <i>Alyssum sp.</i> , <i>Sonchus arvensis L.</i> , <i>Chenopodium alrına</i> , <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Stipa spp.</i> , <i>Melilotus officinalis</i> <i>Cirsium arvense</i> ,	Bu çalışma

Bakteriyel izolatların FAME tanı sonuçları (Şekil 4.1 yer alan) dikkate alındığında en yüksek türle temsil edilen ilk 10 cins ise *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Rothia*, *Acinetobacter*, *Brevundomonas* ve *Achromobacter*'dir. Çizelge 5.2'de tuz içeriği yüksek bazı habitatlardan izole edilen başlıca bakteriler ve araştırmamızda izole edilen başlıca bakteriler verilmiştir.

Çizelge 5.2. Tuz içeriği yüksek bazı habitatlardan ve araştırmamızda izole edilen başlıca bakteriler

Araştırmada Çalışılan Bölgeler	Belirlenen Başlıca Halofilik Bakteriler	Kaynak
Kore Cumhuriyeti Incheon şehri yakınlarındaki Sarı Deniz	<i>Bacillus</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Planococcus</i> , <i>Zhihengliuella</i> , <i>Halomonas</i> , <i>Exiguobacterium</i> , <i>Oceanimonas</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Arthrobacter</i> ve <i>Micrococcus</i>	Siddikee <i>et al.</i> 2010
Lonar Soda Gölü	<i>B. megaterium</i>	Hingole and Pathak 2016
Tuzlu habitatlardan	<i>Bacillus</i> ve <i>Hallobacillus</i>	Ramadoss <i>et al.</i> 2013
Hindistan Tamilnadu	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Karthikeyan <i>et al.</i> 2012
İran merkezinde hipersalin bir göl	<i>Salicola</i> , <i>Halovibrio</i> , <i>Halomonas</i> , <i>Oceanobacillus</i> , <i>Thalassobacillus</i> , <i>Halobacillus</i> , <i>Virgibacillus</i> , <i>Gracilibacillus</i> , <i>Salinicoccus</i> ve <i>Piscibacillus</i>	Rohban <i>et al.</i> 2009
Tuz içeriği yüksek habitatlardan	<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>mendocina</i> , <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Halomonas</i> sp., ve <i>Nitrinicola</i> <i>lasisaponensis</i>	Tiwari <i>et al.</i> 2011
Tuzlu topraklardan	<i>Azotobacter</i>	Chaudhary <i>et al.</i> 2013
Tuzla kaplı buğday rizosferinden	<i>Bacillus</i> , <i>Arthrobacter</i> sp.	Upadhyay <i>et al.</i> 2009
Arjantin, Cordoba eyaleti	<i>Bacillus</i> sp., <i>Ochrobactrum</i> sp.	Príncipe <i>et al.</i> 2007
Lonar Soda Gölü	<i>Pseudomonas mendocina</i> , <i>Acinetobacter</i> <i>beijerinckii</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Bacillus</i> <i>subtilis</i>	Hingole and p Pathak 2016
Nanded Maharashtra'daki Tuppa köyü	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Hingole and p Pathak 2016
Erzurum tuzlu topraklardan	<i>Bacillus</i> , <i>Halomonas</i> , <i>Halobacillus</i> , <i>Zhihengliuella</i> , <i>Oceanobacillus</i> , <i>Virgibacillus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Thalassobacillus</i> , <i>Exiguobacterium</i>	Orhan and Gulluce 2015
Hindistan yüksek tuz içerikli bölgelerden	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B.</i> <i>licheniformis</i> , <i>B. firmus</i> , <i>B. horikoshii</i> , <i>B.</i> <i>pumilus</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>B. safensis</i> , <i>B.</i> <i>thuringiensis</i> , <i>B. simplex</i> , <i>B. agri</i> , <i>B. flexus</i> , <i>B.</i> <i>oceanisediminis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. arsenicus</i> , <i>Paenibacillus dendritiformis</i> , <i>Lysinibacillus</i> sp., <i>L. sphaericus</i> , <i>B.</i> <i>marisflavi</i> , <i>Terribacillus</i> sp., ve <i>B. mycoides</i> .	Sharma <i>et al.</i> 2015

Çizelge 5.2. (devam)

Hindistan halotolerant bitki <i>Suaeda fruticosa</i> rizosferinden	<i>Kocuria turfanesis</i>	Goswami <i>et al.</i> 2014
Erzurum; Tortum yakınlarındaki tuz göletleri bölgesi, Yolboyu yöresi yakınlarındaki kaya tuzu bölgesi ve Sağır Tepe denen dağ üzerindeki kaya tuzu bölgesi	<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus globisporus</i> , <i>Bacillus filicolonicus</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Bacillus atrophaeus</i> , <i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>Rothia dentocariosa</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Paenibacillus validus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Brevibacterium epidermidis/iodinum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus gallinarum</i> , <i>Brevibacillus centrosporus</i> , <i>Bacillus flexus</i> , <i>Brevibacterium casei</i> , <i>Pseudomonas pertucinogena</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Paenibacillus alginolyticus</i> , <i>Halomonas aquamarina</i> , <i>Serratia grimesii</i> , <i>Kocuria rosea</i> , <i>Arthrobacter viscosus</i>	Bu Çalışma (MIS Sonuçlarına Göre)
Erzurum; Tortum yakınlarındaki tuz göletleri bölgesi, Yolboyu yöresi yakınlarındaki kaya tuzu bölgesi ve Sağır Tepe denen dağ üzerindeki kaya tuzu bölgesi	<i>Staphylococcus sciuri</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Bacillus simplex</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Planococcus citreus</i> , <i>Bacillus endophyticus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus atrophaeus</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Paenibacillus lautus</i> , <i>Sphingomonas echinoides</i> , <i>Cellulosimicrobium cellulans</i> , <i>Arthrobacter arilaitensis</i> , <i>Leucobacter iarius</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Planococcus citreus</i> , <i>Microbacterium oxydans</i> , <i>Ocenobacillus picturae</i>	Bu çalışma (16S rRNA Sonuçlarına Göre)

Bu bitki ve bakteri cinsleri ve bulunma oranları (Çizelge 5.1 ve Çizelge 5.2) benzer habitatlardan daha önce yapılmış araştırma (Örneğin bitkiler için; Tuğ 2006, Boz and Çakan 2008; Altay and Ozturk 2012; Çetin *et al.* 2013; bakteriler için; Rohban *et al.* 2009; Siddikee *et al.* 2010; Karthikeyan *et al.* 2012; Ramadoss *et al.* 2013; Goswami *et al.* 2014; Sharma *et al.* 2015; Hingole and Pathak 2016) sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, gerek bitki ve bakteri biyoçeşitliliği, gerekse onların % oranları hakkında yorum yapılabilecek verilere ulaşamamıştır. Bu durum beklenen bir sonuçtur. Zira araştırma bölgelerindeki bitkisel ve mikrobiyal floranın biyoçeşitlilik ve yoğunluk bakımından durumu, sadece bulundukları habitatın tuzluluk oranından değil,

iklimsel ve edafik faktörlerinden de büyük ölçüde etkilenmektedir. Fakat yine de toplanan bitki cinslerimizden *Myosotis* sp., *Delphinium* sp., *Tanacetum* sp., *Rumex* sp., *Alyssum* sp. ve *Taraxacum* sp.,'nin, bakteri cinslerimizden *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Kocuria* ve *Acinetobacter*'in önceki çalışma bulgularında da görülmesi dikkat çekici bulunmuştur.

Çizelge 4.2 incelendiğinde total bakteriyel izolatlarımız içerisinde az veya çok halofilik özellik gösterenlerin sayısı 164 (%63,81) dır. 93 adet izolat ise halofilik özellik göstermemiştir. Daha önce belirtildiği gibi Kushner'e (1978, 1993) göre; halofilik olmayanlar (0-1 M), az halofiller (0,2-5,2 M), ılımlı halofiller (0,4-3,5 M), ekstreme yakın halofiller (1,4-4,0 M), ekstrem halofiller (2,0-5,2 M), halotolerantlar (0-> 1 M) ve değişken halofiller (0->3 M) olarak sınıflandırılmışlardır. Ayrıca halofilik izolatlarımızın %90,66'sının Gram +, %9,3'ünün de Gram – olduğu belirlenmiştir.

5.2. İzolatların PGP (Bitki Büyümesini Teşvik Edici) Özellikleri

1.3. bölümünde ayrıntılı olarak belirtildiği üzere rizobakterilerin bitkileri dolaylı ve doğrudan olumlu etkileyen birçok PGP özelliği vardır. Bunlardan bazıları, azot fikse edebilme, topraktaki çözünmeyen fosfat kaynaklarını çözebilme, bitkinin stres şartlarında büyümeye devam etmesini sağlayan ACC deaminaz enzimini üretebilme, bitki büyüme hormonlarını üretebilme, bitki patojenlerini inhibe eden bakteriyosin vb. maddeleri üretebilme, ekzopolisakkarit üretme, siderefor üretme ve bitki patojenlerine karşı bitkisel direnç artışını indükleyebilme (ISR) gibi özelliklerdir. Ancak PGPR özelliklerinden bazıları öne çıkmakta (Azot bağlayabilme, fosfat çözebilme, ACC deaminaz üretebilme, IAA üretebilme ve siderefor üretebilme), diğerleri ise özel amaçlı çalışmalarda değerlendirmeye alınmaktadır. Bu nedenle araştırmamızda yukarıda belirtilen ve birçok araştırmada kullanımı tercih edilen PGP özelliklerinin ölçümü ve analizi yapılmıştır.

Bölüm 3'de açıklandığı üzere izolatların azot bağlama potansiyellerinin belirlenmesinde 3 yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilk yöntem bakterinin azotsuz ortamda üreyerek

koloni oluşturup oluşturmadığı esasına dayalı bir yöntem olup daha çok ilk seçim (Screening) işlemlerinde kullanılmaktadır (Wilson and Knight, 1952; Park *et al.*, 2005). Bu yöntemde pozitif oldukları belirlenen türleri doğrulama metodu olarak da kabul edilebilecek ikinci yöntem tabi tutulmaktadır. Bu ikinci yöntemin esası önceden hazırlana JNFb yarı katı besiyerine inoküle edilen bakterinin, inkübasyon sonunda, besiyeri içeren tüplerde sarıdan maviye renk değişimi ve besiyeri yüzeyine yakın yerde zar tabakası oluşturup oluşturmadığı esasına dayanmaktadır (Olivares *et al.* 1996; Baldani *et al.* 2014). Bilindiğı üzere azot fiksasyonunun tespitinde en güvenilir test “Asetilen redüksiyonu” testidir (Stewart *et al.* 1967; Burlage *et al.* 1998; Divito and Sadras, 2014). İzolatlarımıza, bu testin uygulanmasındaki kromatografik ölçüm işlemine kadar olan bütün aşamalar uygulanmış, ancak üniversitemizdeki kromatografi cihazlarının etilen ölçümüne uygun kolonları bulunmadığından ölçümleri alınamamıştır. Tür sayımız dikkate alınarak hizmet alımı da yapılamamıştır. Bu nedenle “Araştırma ve Bulguları” bölümünde sadece ilk iki yöntemin kullanılmasından elde edilen bulgular verilebilmiştir. Yine literatür bilgilerimize göre diğerk PGP özelliklerinin analizinde bir çok yöntem kullanılsa da araştırmamızda eski ve yeni literatür dikkate alınarak en çok önerilen ve tercih edilen yöntemler [Fosfat çözücülüğü için; NBRIP-BPB besiyerinin kullanıldığı kantitatif tayin yöntemi (Mehta and Nautiyal 2001; Aydoğan vd. 2014) ve Vanadomolibdo fosforik asit yöntemi (Jackson 1973; Gulati *et al.* 2010), IAA ölçümü için Salkowski testi yöntemi (Sarwar and Kremer 1995; Özdal *et al.* 2016), siderefor ölçümü için CAS blue agar yöntemi (Schwyn and Neillands 1987) ve ACC deaminaz üretimi için ACC deaminaz enziminin ölçümü yöntemi (Donate-Correa *et al.* 2005; Shrivastava and Kumar 2013; Sezen *et al.* 2016)] kullanılmıştır.

4.3- 4.7 Çizelgeler incelendiğinde total halofilik izolatlarımızdan 57 tanesi azot bağlama özelliğı (%34,75), 36 tanesi IAA üretme özelliğı (%21,95), 22 tanesi siderefor üretme özelliğı (13,42), 36 tanesi fosfat çözücü özelliğı (%21,95) ve 32 tanesi de ACC deaminaz üretme özelliğı (%19,51) bakımından pozitif bulunmuştur. İzolatlarımızın bu PGP özellikleri ile mukayesesi Çizelge 5.3. çeşitli PGPR bakterilerinin fosfat çözücü ve siderefor üretici ve Çizelge 5.4’te ise ACC deaminaz ve IAA üretici özellikleri verilerek karşılaştırılmıştır.

Çizelge 5.3. Çeşitli PGPR bakterilerinin fosfat çözücü ve siderefor üretici özelliklerinin karşılaştırılması

İzolat	Fosfat (mg/l ya da mm)	Siderefor	Kaynak
<i>R. meliloti</i> strain TAL 1372	186 mg/L	-	Abd-Alla 1994
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i> P31	4-5 mm	3-5mm	Chabot 1996
<i>Rhizopus</i> sp. 68	>10 mm	>10mm	Chabot 1996
<i>Bacillus polymixa</i>	2.23 (µg/ml)	-	Kumar and Narula 1999
VN 35 A. <i>chroococcum</i> mutants	1,98 (mg/L)	-	Kumar <i>et al.</i> 2000
VN 102 A. <i>chroococcum</i> mutants	2,13 (mg/L)	-	Kumar <i>et al.</i> 2000
<i>Pseudomonas</i> sp. NBRI 4014	277.0 µg/mL	+	Gupta <i>et al.</i> 2002
<i>Acinetobacter</i> sp. PRGB15	540 (µg/ml)	-	Indiragandhi <i>et al.</i> 2008
<i>Acinetobacter</i> sp. PRGB16	547 (µg/ml)	-	Indiragandhi <i>et al.</i> 2008
<i>Pseudomonas fluorescens</i> REN13	-	> 6 mm	Etesami <i>et al.</i> 2014
<i>Bacillus</i> sp. SJ-5	170	+	Kumari <i>et al.</i> 2015
<i>B. cereus</i> Pb25	39 (mg L ⁻¹)	2,7 cm	Islam <i>et al.</i> 2016
<i>Enterobacter</i> sp. SBP-6	9,50 µg /ml ⁻¹	+	Singh and Jha 2016
PF17 <i>Pseudomonas</i> sp.	576 (µg/ml)	+	Tewari and Arora 2016
ASD25	116,7 (mg/L)	1,2 (cm)	Bu çalışma
ASD42	112,5 (mg/L)	0,8 (cm)	Bu çalışma
ASD19	136,8 (mg/L)	1,0 (cm)	Bu çalışma
ASD23	140,6 (mg/L)	0,9 (cm)	Bu çalışma
ASD14	113,8 (mg/L)	0,9 (cm)	Bu çalışma
ASD8	97,06 (mg/L)	1,2 (cm)	Bu çalışma
ASD9	70,06 (mg/L)	1,1 (cm)	Bu çalışma
ASD44	99,6 (mg/L)	1,1 (cm)	Bu çalışma

Çizelge 5.4. Çeşitli PGPR bakterilerinin ACC deaminaz ve IAA üretici özelliklerinin karşılaştırılması

İzolat	ACC-deaminase activity (nmol NH ₄ mg ⁻¹ h ⁻¹) ya da (nmol α-ketobutyrate g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	IAA (mg /L)	Kaynak
<i>P. fluorescens</i> LL1	195.10 (nm mg ⁻¹ h ⁻¹)	+	Donate-Correa <i>et al.</i> 2005
<i>P. asplenii</i> AC-1	265 (α-ketobutyrate/mg protein/h (nmol)	0,093	Reed <i>et al.</i> 2005
<i>Pseudomonas putida</i> biotype A (Q7)	278 (nmol NH ₃ g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	31	Shaharoona <i>et al.</i> 2006
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Q14)	333 (nmol NH ₃ g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	23	Shaharoona <i>et al.</i> 2006
<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype G (N3)	207 (nmol NH ₃ g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	29	Shaharoona <i>et al.</i> 2006
<i>P. fluorescens</i>	174.22 (nmol α-ketobutyrate g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	9.5	Arshad <i>et al.</i> 2008
<i>P. putida</i>	168 nmol α-ketobutyrate g ⁻¹ biomass h ⁻¹)	12.1	Arshad <i>et al.</i> 2008
<i>Acinetobacter</i> sp. PSGB03	60,4 (nmol α-KB min/mg protein)	7,9	Indiragandhi <i>et al.</i> 2008
<i>Acinetobacter</i> sp. PSGB04	572 (nmol α-KB min/mg protein)	8,3	Indiragandhi <i>et al.</i> 2008
<i>Acinetobacter</i> sp. PSGB05	133 (nmol α-KB min/mg protein)	8,0	Indiragandhi <i>et al.</i> 2008
<i>Acinetobacter</i> sp. PRGB15	86,5 (nmol α-KB min/mg protein)	8,2	Indiragandhi <i>et al.</i> 2008
<i>Pseudomonas</i> sp.	3470	1,5	Rodriguez <i>et al.</i> 2008
<i>Microbacterium</i> sp. G16	28,5 (mM α KB mg ⁻¹ h ⁻¹)	27.9	Sheng <i>et al.</i> 2008
<i>Burkholderia phytofirman</i> YS3	7520	30,53	Sun <i>et al.</i> 2009
ECP37 <i>Chryseobacterium humi</i>	57 (nmol α-ketobutyrate g ⁻¹ h ⁻¹)	5	Marques <i>et al.</i> 2010
1C2 <i>Ralstonia</i>	6 (nmol α-ketobutyrate g ⁻¹ h ⁻¹)	15	Marques <i>et al.</i> 2010

Çizelge 5.4. (devam)

<i>Pseudomonas fluorescens</i>	170,2 ($\mu\text{mol-ketobutyrate mg}^{-1}$ protein h^{-1})	5,41	Nadeem <i>et al.</i> 2016
<i>Bacillus megaterium</i>	18,9 $\mu\text{mol-ketobutyrate mg}^{-1}$ protein h^{-1})	7,99	Nadeem <i>et al.</i> 2016
<i>Variovorax paradoxus</i>	114,5 ($\mu\text{mol-ketobutyrate mg}^{-1}$ protein h^{-1})	3,25	Nadeem <i>et al.</i> 2016
<i>P. dispersa</i> (PSB3)	207	218	Panwar <i>et al.</i> 2016
<i>Bacillus</i> sp. PVMX4	3920	1,47	Joe 2016
<i>B. cereus</i> Pb25	291 ($\text{M } \alpha\text{-KB mg}^{-1} \text{h}^{-1}$)	19	Islam <i>et al.</i> 2016
<i>Enterobacter</i> sp. SBP-6	284	0,4032	Singh and Jha 2016
<i>Pantoea</i> sp. pp04	1106,66		Li <i>et al.</i> 2016
<i>P. putida</i> UW4	3380	6,49	Kong <i>et al.</i> 2016
ASD64	750,394	117	Bu çalışma
ASD57	118,311	113,2	Bu çalışma
ASD40	108,941	190	Bu çalışma
ASD25	2788,22	111,7	Bu çalışma
ASD1	1224,49	59,8	Bu çalışma
ASD8	2342,86	78,8	Bu çalışma
ASD18	5997,31	20,1	Bu çalışma
ASD14	1136,93	8	Bu çalışma

Bu tablolar dikkatle incelendiğinde, fosfat çözücü özellik bakımından ASD23, ASD19, ASD14 ve ASD25 izolatlarımızın; siderefor üretimi bakımından ASD8, ASD9, ASD14, ASD19, ASD23, ASD25, ASD42 ve ASD45 izolatlarımızın; ACC deaminaz üretimi bakımından ASD18, ASD25, ASD14, ASD8 ve ASD64 izolatlarımızın; IAA üretimi bakımından da ASD25, ASD40 ve ASD64 izolatlarımızın, literatürde belirlenen izolatlardan çok daha yüksek potansiyele sahip oldukları görülmektedir.

5.3. Saksı Deneylerinden Elde Edilen Bulgular Hakkındaki Değerlendirmeler

Önceki bölümlerde açıklandığı üzere PGP özellikleri belirlenen izolatlarımızdan tek bir parametre bakımından iyi olanlar yerine ölçümü yapılan 4-5 parametre bakımından iyi olanlar seçilmiş ve saksı deneylerinde bu izolatlar kullanılmıştır. Hatta bu seçimde çok küçük saksılarda gerçekleştirilen ardından orta boy saksılarda gerçekleştirilen (Bu tez çalışmasında sonuçları verilmeyen) deneme sonuçları da göz önünde bulundurulmuştur. Bitkideki verim artışına çeşitli faktörlerin etkisini araştıran çalışmalarda, bulgular değerlendirilirken bakılan (ölçümü yapılan) en önemli gelişme parametrelerinden olan; bitkide kök ve gövde boyu, yaş ve kuru ağırlık, protein ve klorofil düzeyleridir. Bu parametreler hem fizyolojik araştırmalarda hem de PGPR araştırmalarında en sık kullanılanlardır (Egamberdieva and Kucharova 2009; Ramadoss *et al.* 2013; Singh vd. 2016). Ayrıca yaprak alanı, yaprak sayısı, dallanma vb. parametreler de bazı araştırmacılar tarafından daha spesifik çalışmalarda kullanılmıştır. Bu nedenlerle araştırmamızda inokulantların buğday bitkisindeki erken gelişme dönemindeki etkisini belirlemek için yaygın olarak ölçümü tercih edilen ve önerilen parametreler analiz edilmiştir.

Saksı deney sonuçlarımız Çizelge 4.9-4.36'da özetlenmiştir. Bu sonuçlara göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bitki kök boyunda ASD-8-9-55, ASD-8-9, ASD-8-55, ASD-9-55 kombinasyonları ve ASD8, ASD65 ve ASD69 izolatlarımız tuzlu ortamda; ASD7, ASD8, ASD45, ASD68, izolatları ve ASD-55-57 kombinasyonumuz tuzsuz ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %18,69-%62,53 arasında verim artışı sağlamışlardır. Hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda başarılı bulunan izolatlarımız ise ASD8, ASD25, ASD31, ASD38, ASD55, ASD58, ASD59 ve ASD68'dir. ASD1 izolatımız tuzlu ortamda; ASD42, ASD52, ASD54, ASD56 ve ASD57 izolatlarımız da tuzsuz ortamda kontrole göre kök boyu üzerinde düşmelere yol açmışlardır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bitki gövde boyunda ASD9, ASD22, ASD48, ASD54, ASD55, ASD65 izolatlarımız ve ASD-8-9-55 kombinasyonumuz tuzlu ortamda; ASD8, ASD45 izolatları ve ASD-31-55-57 kombinasyonumuz tuzsuz ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %12,94-%54,97 arasında verim artışı

sağlamışlardır. Hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda başarılı bulunan izolatlarımız ise ASD8, ASD25, ASD31, ASD38, ASD54, ASD55, ASD58 ve ASD59'dur. ASD68 izolatımız tuzlu ortamda; ASD1, ASD6, ASD25, ASD31, ASD42 izolatlarımız ve ASD-31-55, ASD-31-57 kombinasyonlarımız tuzsuz ortamda kontrole göre gövde boyu üzerinde verimde düşmelere yol açmışlardır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yaş ağırlık üzerinde ASD54, ASD55 izolatları ve ASD-8-9-55, ASD-8-55 kombinasyonlarımız tuzlu ortamda; ASD-31-55-57 kombinasyonumuz tuzsuz ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %27,66-%78,57 arasında verim artışı sağlamışlardır. Hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda başarılı bulunan izolatlarımız ise ASD8, ASD31 ve ASD38'dir. ASD-1, ASD25 ve ASD68 izolatımız tuzlu ortamda; ASD1, ASD6, ASD7, ASD12, ASD25, ASD40, ASD52, ASD54, ASD55, ASD56, ASD57, ASD58, ASD59, ASD68 izolatlarımız ve ASD-31-55, ASD-31-57 kombinasyonlarımız tuzsuz ortamda kontrole göre gövde boyu üzerinde verimde düşmelere yol açmışlardır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kuru ağırlık üzerinde ASD19, ASD36, ASD54, ASD55, ASD58, ASD59, ASD64, ASD69, izolatlarımız ve ASD-8-55, ASD-8-9-55 kombinasyonlarımız tuzlu ortamda; ASD8, ASD45 izolatlarımız ve ASD-55-57 kombinasyonumuz tuzsuz ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %6,52-%35 arasında verim artışı sağlamışlardır. Hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda başarılı bulunan izolatlarımız ise ASD8 ve ASD38'dir. ASD1, ASD14, ASD25 ve ASD68 izolatlarımız tuzlu ortamda; ASD7, ASD12, ASD31, ASD34, ASD40, ASD42, ASD52, ASD54, ASD55, ASD56, ASD57, ASD58, ASD59, ASD68 izolatlarımız ve ASD-31-55, ASD-31-57, ASD-31-55-57 kombinasyonlarımız tuzsuz ortamda kontrole göre gövde boyu üzerinde verimde düşmelere yol açmışlardır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çözünmüş protein miktarı üzerinde ASD1, ASD38, ASD54 ve ASD69 izolatlarımız ve ASD-8-9 kombinasyonumuz tuzlu ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %8,63-%16,55 arasında verim artışı sağlamışlardır. Tuzsuz ortamda ise tüm izolatlar kontrole göre azalma göstermiş fakat ASD25 ve

ASD40 izolatlarımız kontrole çok yakın değerler göstermişlerdir. Tuzlu ortamda ise ASD1, ASD38, ASD54 ve ASD69 izolatlarımız ve ASD-8-9 kombinasyonumuz dışındaki tüm izolat ve kombinasyonlarımız kontrole göre protein miktarı üzerinde verimde düşmelere yol açmışlardır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam klorofil miktarı üzerinde ASD18, ASD54, ASD65 ve ASD-69 izolatlarımız tuzlu ortamda; ASD12, ASD8 izolatlarımız ve ASD-31-57 kombinasyonumuz tuzsuz ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %37,28-%120,22 arasında verim artışı sağlamışlardır. Hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda başarılı bulunan izolatlarımız ise ASD8, ASD25, ASD31, ASD54 ve ASD59'dur. ASD44, ASD58 izolatlarımız ve ASD-8-55, ASD-9-55 kombinasyonlarımız tuzlu ortamda; ASD1, ASD42, ASD55, ASD57, ASD58 ve ASD68 izolatlarımız ve ASD-55-57 kombinasyonumuz kontrole göre toplam klorofil miktarı üzerinde verimde düşmelere yol açmışlardır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam karotenoid miktarı üzerinde ASD8, ASD18, ASD19 ve ASD54 izolatlarımız tuzlu ortamda başarılı izolatlar olarak tespit edilmiş olup %89,93-%120,13 arasında verim artışı sağlamışlardır. Tuzsuz ortamda ise hiçbir izolatımız toplam karotenoid miktarı üzerinde pozitif etki sağlamamıştır. ASD58 izolatımız ve ASD-8-55, ASD-9-55 kombinasyonlarımız ise tuzlu ortamda kontrole göre toplam karotenoid miktarı üzerinde verimde düşmelere yol açmışlardır.

Saksı deneyi sonuçarımıza göre genellikle başarılı bulunan ve 16S rRNA analizine göre isimleri *Staphylococcus saprophyticus*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Paenibacillus lautus*, *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus cereus*, *Bacillus endophyticus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus pumilus*, *Sphingomonas echinoides*, *Leucobacter iarius*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Planococcus citreus* ve *Pantoea agglomerans* olan izolatlarımızdan *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus endophyticus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus pumilus*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Pantoea agglomerans* daha öncede PGPR araştırmalarında kullanılan ve az çok başarılı bulunan türlerdir. Araştırmamızda başarılı

bulunan *Sphingomonas echinoides* ve *Leucobacter iarius* türler ise bu çalışmada PGPR başarısı ilk olarak tespit edilen türlerdir.

Tuzlu ortamda (Bazıları hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda) başarılı türlerimizin önemli bir kısmı *Bacillus* ve ona yakın cinslere ait türlerdir. Benzer bulgulara daha önce yapılmış araştırmalarda da ulaşılmıştır (Upadhyay *et al.* 2009; Saleem *et al.* 2007). Bilindiği üzere halofilik organizmaların önemli bir kısmı ekstrem halofil olup Arkea grubundandır ve PGPR çalışmalarının yapıldığı habitatlardan çok daha ekstrem koşullarda yaşarlar. Halofilik olma özelliği sadece bu özelliği kodlayan ve tuza dayanıklılık proteinlerinin translasyonu için gerekli ürünlerin sentezini yöneten özel genlere bağlı olabilir. Nitekim bir çok araştırmacılar; bakterilerdeki tuza dayanıklılık özelliğinin genetik temelini, onların hücre içi ozmotik basıncını dış çevre ozmotik basıncına göre ayarlayan ve başlıcaları ectoine (1,4,5,6-Terahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid) grubundan olan küçük moleküllerin sentezini kodlayan genlere dayandığını belirtmişlerdir (Barth *et al.* 2000; Bursy *et al.* 2008; Sadeghi *et al.* 2014). Ancak; stres koşullarında yaşayan bakterilerdeki bu çeşit dayanıklılık özelliklerini, sadece stresin tek sebebine (Burada tuzluluğa) direnç genlerine bağlamak doğru bir değerlendirme olmayacaktır. Yukarıda da ifade edildiği gibi başarılı izolatlarımızın çoğu *Bacillus* ve ona akraba cinslere mensup türlerdir ve bu cinsler endospor üretebilme ve bu sayede sadece tuz stresine değil, toprak ve iklim şartlarından kaynaklanan hemen her çeşit stres faktörüne dayanıklıdırlar. Dolayısıyla PGPR çalışmalarında rekabet şansları en üstün olan avantajlı bakterilerdir.

Burada temel bilim açısından cevaplanması gereken bir soru da PGP özelliği bakımından başarılı bulunan bazı izolatların saksı deneylerinde neden kontrol grubuyla aynı düzeyde oldukları hatta bazılarının kontrolden de düşük verimlere yol açtığı sorusudur. Bu durum aşağıda sıralanan sebeplerden bir veya birkaçına bağlı olabilir: 1) Bakterilerin fitopatojen özelliği olabilir, 2) Bütün dikkatimize rağmen kültürümüz kontamine olabilir, 3) Bilindiği üzere her PGP özelliği farklı mekanizma ve enzimlerle sağlanmakta ve farklı çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Örneğin fosfat çözücü özellik ortamdaki P kaynağına göre (Organik-inorganik) türden türe olumlu veya

olumsuz etkilenmektedir, IAA, siderefor ve ACC deaminaz üretim yolundaki enzim ve öncü moleküller aktiviteleri için farklı şartlar istemektedir. Örneğin siderefor üretimi demir iyonu konsantrasyonu ile yakından ilişkilidir. Ortamdaki O₂ basıncı ve amonyak oranı azot fiksasyonunu etkiler. Bazı bakteriler mikroaerofilik ortamda azot fiksasyonu yapabilirler. Ortamdaki ışık miktarı, toprak nemi, sıcaklık da N fiksasyonunu etkileyen diğer bazı faktörlerdir. Farklı nitrogenaz kullanan bazı bakteriler molibden olmayan topraklarda kofaktör olarak vanadyum ve demire ihtiyaç duyarlar. Yukarıdaki bilgiler ışığında, açık yüreklilikle ifade etmeliyiz ki; eşit şartlarda olması için büyük özen gösterdiğimiz saksı deneylerinde kullanılan her bir farklı izolatın PGP özelliklerinin hepsini eşit bir şekilde karşılayabildiğimizi, imkan sağlayabildiğimizi söyleyemeyiz. Kullandığımız saksı içeriğinin, ölçümleri yapmadan önce kullandığımız besi ortamının içeriğiyle aynı olması ve ölçümde başarılı görülen her türün saksıda aynı performansı göstermesi beklenemez.

Bu araştırma sonuçlarına göre inokulantlarımızın saksı deneylerine göre oluşturduğu verim artışları, daha önce buğday bitkisinde yapılan PGPR araştırma sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve Çizelge 5.5’te özetlenmiştir.

Çizelge 5.5. Bu araştırmada tuzlu sulama yapılan saksı deneylerinde kullanılan izolatlar ile daha önceki araştırmalarda kullanılan izolatların saksı deneylerindeki performanslarının karşılaştırılması

İnokulasyon yapılan bitki	PGPR olarak kullanılan inokülant	İnokulantın PGPR etki mekanizması	Bitki büyüme parametresi	Bitkideki artış %	Kaynak
Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Enterobacter</i> sp. SBP-6	ACC deaminaz aktivitesi, fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu	Bitki biyoması Klorofil içeriği	10–42 33–41	Singh vd. 2016
Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Hallobacillus</i> sp. SL3, <i>Bacillus halodenitricans</i> PU62	IAA üretimi, fosfat çözücülüğü, siderefor üretimi, ACC deaminaz aktivitesi	Kuru ağırlık Kök boyu	17,4 90	Ramadoss <i>et al.</i> 2013
Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Enterobacter</i> sp. SBP-6	Fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu ve fitohormon üretimi	Klorofil a içeriği Klorofil b içeriği Kök boyu Gövde boyu Kuru ağırlık Yaş ağırlık	16-49 17-39 42,10 33,64 11-34 21-35	Singh and Jha 2016
Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Serratia</i> sp. SL-12	ACC deaminaz aktivitesi	Gövde boyu Kök boyu Yaş ağırlık Kuru ağırlık Klorofil a Klorofil b	35 27 31 34 76 24	Singh and Jha 2016
Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Klebsiella</i> sp	ACC deaminaz aktivitesi	Gövde boyu Kök boyu Yaş ağırlık Kuru ağırlık Klorofil a Klorofil b	47.43 36.05 24.52 22.47 140.74 30.27	Singh <i>et al.</i> 2015

Çizelge 5.4. (devam)

Buğday	<i>P. aureantiaca</i> TSAU22, <i>P. extremorientalis</i> TSAU6 ve <i>P.</i> <i>extremorientalis</i> TSAU20	IAA üretimi,	Gövde boyu Kök boyu	25 21	Egamberdieva 2009
Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Bacillus pumilus</i>	IAA üretimi, fosfat çözücülüğü, siderefor üretimi	Kuru ağırlık Karatenoid içeriği Toplam klorofil içeriği	14,88 8,78 28,55	Tiwari <i>et al.</i> 2011
Buğday	<i>Bacillus atrophaeus</i> ASD65	Fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu ve IAA üretimi, fosfat çözücülüğü, siderefor üretimi	Gövde boyu Kök boyu Yaş ağırlık Kuru ağırlık Klorofil a içeriği Klorofil b içeriği	50 36,6 39,29 12,5 84,14 80,46	Bu çalışma
Buğday	<i>Bacillus pumilus</i> ASD55	Fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu ve IAA üretimi, fosfat çözücülüğü, siderefor üretimi	Gövde boyu Kök boyu Yaş ağırlık Kuru ağırlık Klorofil a Klorofil b	54,97 36 57,14 22,5 45,89 46,52	Bu çalışma

Çizelge 5.4. (devam)

Buğday	ASD-8-9-55 kombinasyon	Fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu ve IAA üretimi, fosfat çözücülüğü, siderefor üretimi	Gövde boyu	38,22	Bu çalışma
			Kök boyu	62,53	
			Yaş ağırlık	78,57	
			Kuru ağırlık	22,5	
			Klorofil a	52,31	
			Klorofil b	52,44	
Buğday	ASD-8-9 kombinasyon	Fosfat çözücülüğü, azot fiksasyonu ve IAA üretimi, fosfat çözücülüğü, siderefor üretimi	Gövde boyu	23,30	Bu çalışma
			Kök boyu	56,2	
			Yaş ağırlık	39,29	
			Kuru ağırlık	7,5	
			Klorofil a	26,43	
			Klorofil b	22,37	

Bu tablonun incelenmesinden; tabloda bulunan ya da çalışmamızda kullandığımız çoğu inokulantımız ve kombinasyonumuz örneğin; ASD55, ASD65 izolatlarımız ve ASD-8-9-55, ASD-8-9 inokulantlarımız daha önceki araştırmalarda kullanılan inokulantlardan çok daha başarılı olmuşlardır. Gerek çalışmamızda bulunan izolatlarla gerekse de kombinasyonlarımızla yapılanlar inokulasyonlar, tuzlu sulama yapılan buğday bitkisi üzerinde önceki çalışmalara nazaran çok daha etkili ve önemli verim artışları sağlamışlardır. Bu bağlamda elde ettiğimiz izolatlarımızın ve oluşturduğumuz kombinasyonlarımızın tuzlu şartlar altında bitki büyümesini teşvik ettiğini ve tuzlu şartlarda buğday bitkisi için biyogübre potansiyelleri olduğunu söyleyebiliriz.



Sonuç ve Öneriler

Bu araştırma sonucu elde edilen somut bulgular ve bu bulgular ışığındaki bazı önerilerimiz aşağıda özetlenmiştir.

1. ASD8, ASD9, ASD19, ASD31, ASD38, ASD48, ASD54, ASD55, ASD58, ASD59, ASD64, ASD65 ve ASD69 kodlu izolatlarımız tuzlu ortamda; ASD7, ASD 8, ASD12, ASD25, ASD31, ASD34, ASD38, ASD40, ASD45, ASD59 ve ASD68 kodlu izolatlarımız tuzsuz ortamda; ASD8, ASD31, ASD38 ve ASD59 kodlu izolatlarımız da hem tuzlu hem de tuzsuz ortamda başarılı bulunmuşlardır. ASD8-9, ASD8-55, ASD9-55 ve ASD8-9-55 kodlu kombinasyonlar tuzlu ortamda; ASD55-57 ve ASD31-55-57 kodlu kombinasyonlar tuzsuz ortamda başarılı olmuştur. ASD68 kodlu izolat ise her iki ortamda da başarısız olmuştur.

2. Tartışma bölümünde de çeşitli vesilelerle belirtildiği gibi PGPR araştırmalarında karşılaşılan en önemli handikap, saksı denemelerinde başarılı olan türlerin tarla denemelerinde başarısız olmalarıdır. Bunun en önemli sebebi, inokülanların tarladaki yerleşik (indigenous) mikroflora ile rekabet edememesidir. Bir başka muhtemel sebep, inokülanların bazı özel mikro element ihtiyaçlarını tarlada bulamamalarıdır. Sebep her ne olursa olsun çalışmayı tarla denemeleriyle devam ettirmek ve yapılacak yeni projelerle tarlada da başarılı olan inokülanlar ile uygun taşıyıcı malzemelerin tespiti de sağlanmak suretiyle biyogübre üretimi çalışmaları sürdürülmelidir.

3. Bu araştırmada proje süresi ve bütçesi dikkate alınarak PGP özelliği en iyi izolatlar arasında oluşturulan birkaç kombinasyon (ASD-8-9, ASD-8-55, ASD-9-55, ASD-8-9-55, ASD-31-55-57, ASD-55-57) denenmiş ve hepsi başarılı olmuştur. Dolayısıyla PGP özelliği iyi olan diğer izolatlar ile 2'li ve 3'lü kombinasyonlar da yeni çalışmalarda değerlendirilmelidir.

4. Bu araştırma sonucunda başarılı bulunan ve 16S rRNA analiziyle tanıları yapılan türlerden *Sphingomonas echinoides* ve *Leucobacter iarius* literatür araştırmalarımıza

göre daha önce bu özellikleri bilinmeyen türlerdir. Bu bulgu bir ilk olma niteliğindedir ve araştırmamıza orijinalite kazandırmaktadır.

5. İnokülanlarla elde edilen verimi artırmak amacıyla, ülkemizin bazı yerel kaynakları ile inokülanların birlikte kullanılması faydalı olabilir. Örneğin daha önce yapılan araştırmalarda Mazı Dağı Fosfatı katkılı topraklar kullanılmış (Aydoğan 2004; Aydoğan and Algur 2014) ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu nedenle pozitif etkili inokülanlarımız Mazı Dağı Fosfatı, diğer yerel fosfat kaynakları veya gıda sanayii atıkları (melas, vinas, peyniraltı suyu vb.) gibi materyallerle birlikte denenmelidir.

6. Bu araştırmada elde edilen izolatların (başarılı veya başarısız) tümü yeni ve orijinal izolatlardır. 257 adet bakteri büyük bir gen kaynağı niteliğindedir. Bu nedenle izolatların biyodegradasyon ve biyoremediasyon çalışmalarında kullanılabilecek büyük bir potansiyele sahip oldukları düşünülerek daha sonra yapılacak biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmak üzere bir kültür koleksiyonunda muhafaza edilmeleri faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abbaspoor, A., Zabihi, H. R., Movafegh, S., Asl, M. A., 2009. The efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of two varieties of wheat in salinity condition. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(4), 824-828.
- Abd-Alla, M. H., 1994. Solubilization of rock phosphates by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. *Folia Microbiologica*, 39(1), 53-56.
- Abriouel, H., Franz, C. M., Omar, N. B., Gálvez, A., 2011. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(1), 201-232.
- Aeron, A., Kumar, S., Pandey, P., Maheshwari, D. K., 2011. Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. *Bacteria in agrobiolgy: Crop ecosystems*. Springer Berlin Heidelberg, 1–36.
- Afrasyab, S. and Hasnain, S., 2001. Salt tolerant bacteria differently affecting the growth of *Triticum aestivum* varieties under NaCl stresses. *Pakistan Journal of Botany*, 33, 153-165.
- Afrasyab, S., Faisal, M., Hasnain, S., 2010. Comparative study of wild and transformed salt tolerant bacterial strains on *Triticum aestivum* growth under salt stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 946-955.
- Ahemad, M., Khan, M. S., 2010d. Phosphate-solubilizing and plantgrowth-promoting *Pseudomonas aeruginosa* PS1 improves greengram performance in quizalafop-p-ethyl and clodinafop amended soil. *Archives Environmental Contamination and Toxicology*, 58(2), 361–372.
- Ahemad, M. and Khan, M. S., 2011k. *Pseudomonas aeruginosa* strain PS1 enhances growth parameters of greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] in insecticide-stressed soils. *Journal of Pest Science*, 84(1), 123–131.
- Ahemad, M. and Khan, M. S., 2012a. Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere. *Chemosphere*, 86(9), 945–950.
- Ahemad, M. and Khan, M. S., 2012b. Ecological assessment of biotoxicity of pesticides towards plant growth promoting activities of pea (*Pisum sativum*)-specific *Rhizobium* sp. strain MRP1. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24(4), 334–343.
- Ahemad, M. and Khan, M. S., 2012c. Evaluation of plant growth promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under herbicide-stress. *Annals of Microbiology*. 62(4), 1531–1540.
- Ahemad, M. and Khan, M.S., 2012d. Effects of pesticides on plant growth promoting traits of Mesorhizobium strain MRC4. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 11, 63–71.
- Ahemad, M. and Khan, M. S., 2012e. Alleviation of fungicide-induced phytotoxicity in greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] using fungicide-tolerant and plant growth promoting *Pseudomonas* strain. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(4), 451–459.
- Ahemad, M. and Khan, M. S., 2012f. Productivity of greengram in tebuconazole-stressed soil, by using a tolerant and plant growthpromoting *Bradyrhizobium* sp. MRM6 strain. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(1), 245–254.

- Ahemad, M. and Khan, M. S., Zaidi, A., Wani, P. A., 2009. Remediation of herbicides contaminated soil using microbes. *Microbes in Sustainable Agriculture*, 261-284.
- Ahemad, M. and Malik, A., 2011. Bioaccumulation of heavy metals by zinc resistant bacteria isolated from agricultural soils irrigated with wastewater. *Journal of Bacteriology*, 2, 12-21.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M. S., 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163(2), 173-181.
- Ali, S., Charles, T. C., Glick, B. R., 2014. Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 160-167.
- Allison, A. G., 1998. Exopolysaccharide production in bacterial biofilms.
- Altan, A., 1986. Tahıl İşleme Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Adana.
- Altay, V. and Ozturk, M., 2012. Land degradation and halophytic plant diversity of Milleyha wetland ecosystem (Samandağ-Hatay), Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, 44, 37-50.
- Aly, M. M., El Sayed, H. E. A., Jastaniah, S. D., 2012. Synergistic effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces* sp. isolated from saline soil on seed germination and growth of wheat plant. *Journal of American Science*, 8(5), 667-676.
- Anonim, 2013b. [http://www.ilpas.com/urun-grubu.php?grup_no=11]. (01.02.2013).
- Antoun, H. and Prévost, D., 2006. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In *PR: biocontrol and biofertilization*. Springer, Nedherlands, 1-38.
- Arshad, M., Saleem, M., Hussain, S., 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. *Trends in Biotechnology*, 25(8), 356-362.
- Arshad, M., Shaharoon, B., Mahmood, T., 2008. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). *Pedosphere*, 18(5), 611-620.
- Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., Mahmood, T., 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3), 157-162.
- Aslantaş, R., Çakmakçı, R., Şahin, F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae*, 111(4), 371-377.
- Atzorn, R., Crozier, A., Wheeler, C., Sandberg, G., 1988. Production of gibberellins and Indole 3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots. *Planta*, 175, 532-538.
- Aydoğan, M. N., 2004. Mazıdağı Fosfat Kayasını Çözen Bakterilerin İzolasyonu ve Çözünme Üzerine Farklı Fiziksel-Kimyasal Parametrelerin Etkisi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

- Aydogan, M. N. and Algur, O. F., 2014. Solubilization of Mazidagi Rock Phosphate by Locally Isolated *Aeromonas hydrophyla* MFB-25. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8, 413-420.
- Babalola, O. O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance, *Biotechnology Letters*, 32:1559–1570.
- Bacilio, M., Rodriguez, H., Moreno, M., Hernandez, Juan-Pablo, Bashan, Y., 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged *Azospirillum lipoferum*. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3), 188– 193.
- Bakker, A. W. and Schippers, B., 1987. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.-mediated plant growth-stimulation. *Soil Biology Biochemistry*, 19: 451–457.
- Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., Baldani, V. L. D., 2014. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, 384(1-2), 413-431.
- Barboza, F., Correa, N. S., Rosas, S. B., 2000. Metabolic and physiological characteristics of salt-tolerant strains of *Bradyrhizobium* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 32(5), 368-373.
- Barth, S., Huhn, M., Matthey, B., Klimka, A., Galinski, E. A., Engert, A., 2000. Compatible-solute supported periplasmic expression of functional recombinant proteins under stress conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1572–9.
- Bashan, Y. and Holguin, G., 1997. *Azospirillum*-plant relationships: Environmental and physiological advances (1990–1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103–121.
- Bashan, Y. and Holguin, G., 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: Biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 1225–1228.
- Bayrak, D. ve Ökmen, G., 2014. Bitki gelişimini uyaran kök bakterileri. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(1), 1-13.
- Beck, D. P., Materon, L. A., Afandi, F., 1993. *Practical Rhizobium–Legume Technology Manual*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, 1–245.
- Beattie, G. A. 2007. Plant-associated bacteria: survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances. In *Plant-associated bacteria*, 1-56, Springer Netherlands.
- Bhaskar, P. V. and Bhosle, N. B., 2005. Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical processes. *Current Science*, 88(1): 45-53.
- Bhattacharyya, P. N. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350.
- Bishop, P. E. and Jorerger, R. D., 1990. Genetics and molecular biology of an alternative nitrogen fixation system. *Annual Review of Plant Biology*, 41(1), 109–125.
- Borneman, J. and Triplett, E. W., 1997. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2647–2653.

- Boz, T. and Çakan, H., 2008. Çukurova deltasındaki tuzcul bitki türlerinin vesikular arbuskular mikorizal birlikteliklerinin incelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Cilt:19-5.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Braud, A., Je'ze'quel, K., Bazot, S., Lebeau, T., 2009. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophoreproducing bacteria. *Chemosphere*, 74(2), 280–286.
- Brisou, J., Courtois, D., Denis, F., 1974. Microbiology Study of a Hypersaline Lake in French Somaliland. *Applied Microbiology*, 27(5), 819-822.
- Burd, G. I., Dixon, D.G., Glick, B.R., 2000. Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal Microbiology*, 46, 237–245.
- Burlage, R.S., R. Atlas, Stahl, D., Geesey, G., and Sayler, G., 1998. *Techniques in Microbial Ecology* Oxford University Press, 8-14. America.
- Bursy, J., Kuhlmann, A. U., Pittelkow, M., Hartmann, H., Jebbar, M., Pierik, A. J., Bremer, E., 2008. Synthesis and uptake of the compatible solutes ectoine and 5-hydroxyectoine by *Streptomyces coelicolor* A3(2) in response to salt and heat stresses. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 7286–729.
- Canbaş, A. and Fenercioğlu, H., 1984. Şalgam suyu üzerinde bir araştırma. *The Journal of Food*, 9(5).
- Cascales, E., Buchanan, S. K., Duché, D., Kleanthous, C., Lloubes, R., Postle, K., ... and Cavard, D., 2007. Colicin biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1), 158-229.
- Chabot, R., Antoun, H., Cescas, M. P., 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. phaseoli. *Plant and Soil*, 184(2), 311-321.
- Chakraborty, U., Roy, S., Chakraborty, A. P., Dey, P., Chakraborty, B., 2011. Plant growth promotion and amelioration of salinity stress in crop plants by a salt-tolerant bacterium. *Recent Research in Science and Technology*, 3(11).
- Chandler, D., Davidson, G., Grant, W.P., Greaves, J., Tatchell, G.M., 2008. Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 275–283.
- Chaudhary, D., Narula, N., Sindhu, S. S., Behl, R. K., 2013. Plant growth stimulation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by inoculation of salinity tolerant *Azotobacter* strains. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(4), 515-519.
- Chen, Z., Ma, S., Liu, L. L., 2008. Studies on phosphorus solubilizing activity of a strain of phosphobacteria isolated from chestnut type soil in China. *Biores. Technol.* 99, 6702–6707.
- Chen, L., Yang, X., Raza, W., Li, J., Liu, Y., Qiu, M., Shen, Q., 2011. *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(5), 1653-1663.

- Chookietwattana, K. and Maneewan, K., 2012. Selection of efficient salt-tolerant bacteria containing ACC deaminase for promotion of tomato growth under salinity stress. *Soil and Environment*, 31(1).
- Crosa, J. H. and Walsh, C. T., 2002. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(2), 223-249.
- Çetin, A., Erdoğan, N., Genç, H., 2013. Flora of the Burdur lake surroundings (Türkiye). *Biological Diversity and Conservation*, 6, 2: 55-76.
- Dakora, F. D. and Phillips, D.A., 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil* 245, 35–47.
- Daniel, R., 2005. The metagenomics of soil. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 470–478.
- Dean, D.R. and Jacobson, M.R., 1992. Biochemical genetics of nitrogenase. In Stacey, G., Burris, R. H., Evans, H. J., eds.), *Biological Nitrogen Fixation*, 763–834.
- Devi, K., Nidhi, S., Shalini, K., David, K., 2007. Hydrogen cyanide producing rhizobacteria kill subterranean termite *Odontotermes obesus* (Rambur) by cyanide poisoning under in vitro conditions. *Current Microbiology*, 54: 74-78.
- Dıraman, H., 2004. Ekmeklik buğdaylarda bazı böcek (Süne Kımıl) enzimlerinin oluşturduğu zararın mekanizması ve biyokimyası. *Akademik Gıda Dergisi*, 2(12), 27-32.
- Dimkpa, C., Weinand, T., Ash, F., 2009. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell and Environment*, 32, 1682–1694.
- Dinç, U., Şenol, S., Kapur, S., Atalay, I., Cangir, C. 1993. Türkiye Toprakları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın, 2, 51.
- Dizlek, H., 2010. Süne zararına uğramış ekmeklik buğdayların bazı niteliklerinin incelenmesi ve iyileştirilmesi olanakları üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Divito, G. A. and Sadras, V. O., 2014. How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis. *Field Crops Research*, 156, 161-171.
- Dobereiner, J., 1992. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. *Symbiosis*.
- Donate-Correa, J., León-Barrios, M., Pérez-Galdona, R., 2005. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. *Plant and Soil*, 266(1-2), 261-272.
- Dowling, D. N. and O'Gara, F., 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. *Trends in Biotechnology*, 12(4), 133-141.
- Duffy, B., Schouten, A., Raaijmakers, J. M., 2003. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 501-538.
- Durairaj, V., Hoda, M., Shakya, G., Babu, S. P. P., Rajagopalan, R., 2014. Phytochemical screening and analysis of antioxidant properties of aqueous extract of wheatgrass. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, S398-S404.
- Egamberdieva, D. and Kucharova, Z., 2009. Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biology and Fertility of Soils*, 45(6), 563-571.

- Egamberdieva, D., 2009. Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(4), 861-864.
- Egamberdieva, D., 2012. *Pseudomonas chlororaphis*: a salt-tolerant bacterial inoculant for plant growth stimulation under saline soil conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(2), 751-756.
- Elgün, A., and Ertugay, Z., 1995. Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, (718), 411.
- Emmert, E. A. and Handelsman, J., 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 171(1), 1-9.
- Etesami, H., Hosseini, H. M., Alikhani, H. A., 2014. Bacterial biosynthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, a useful trait to elongation and endophytic colonization of the roots of rice under constant flooded conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(4), 425-434.
- Fayez, M. and Daw, Z. Y., 1987. Effect of inoculation with different strains of *Azospirillum brasilense* on cotton (*Gossypium barbadense*). *Biology and Fertility of Soils*, 4(9), 1-95.
- Figueiredo, M. V. B., Seldin, L., Araujo, F.F., Mariano, R. L. R., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 21-42.
- Franché, C., Lindström, K., Elmerich, C., 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and Soil*, 321(1-2), 35-59.
- Francis, I., Holsters, M., Vereecke, D., 2010. The Gram positive side of plant-microbe interactions. *Environmental Microbiology*, 12(1), 1-12.
- Frank, M., Guivarc'h, A., Krupkova, E., Lorenz-Meyer, I., Chriqui, D., Schmölling, T., 2002. Tumorous Shoot Development (TSD) genes are required for co-ordinated plant shoot development. *Plant Journal*, 29, 73-85.
- Furtana, G. B., 2010. Tuz gölü çevresindeki bazı endemik halofit bitkilerin ekofizyolojisi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Fusconi, R. and Godinho, M. J. L., 2002. Screening for exopolysaccharide producing bacteria from sub-tropical polluted groundwater. *Brazilian Journal of Biology*, 62(2), 363-369.
- Gamalero, E., Berta, G., Glick, B.R., 2009. The use of microorganisms to facilitate the growth of plants in saline soils. *Microbial Strategies for Crop Improvement*. Springer Berlin Heidelberg, 1-22.
- Giordano, W. and Hirsch, A.M., 2004. The expression of MaEXP1, a *Melilotus alba* expansin gene, is upregulated during the sweet clover-*Sinorhizobium meliloti* interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(6), 613-622.
- Glick, B. R., 1995. Enhancement of plant growth by free living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109-117.
- Glick, B. R. and Bashan, Y., 1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnol Advances*, 15(2), 353-378.
- Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G., and Penrose, D. M., 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. *World Scientific*, 187-189.

- Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., McConkey, B., 2007. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26(5-6), 227-242.
- Glick, B. R., 2012. *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications*. Scientifica.
- Glick, B. R., 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169, 30–39.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M., Toulmin, C., 2010. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327, 812–818.
- Gong, M., Wang, J. D., Zhang, J., Yang, H., Lu, X. F., Pei, Y., Cheng, J. Q., 2006. Study of the Antifungal Ability of *Bacillus subtilis* Strain PY-1 in Vitro and Identification of its Antifungal Substance (Iturin A). *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 38(4), 233-240.
- Good, X., Kellogg, J. A., Wagoner, W., Langhoff, D., Matsumura, W., Bestwick, R. K., 1994. Reduced ethylene synthesis by transgenic tomatoes expressing S-adenosylmethionine hydrolase. *Plant Molecular Biology*, 26, 781–790.
- Gordon, S. A. and Weber, R. P., 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192.
- Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P., Thakker, J. N., 2014. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research*, 169(1), 66-75.
- Goswami, D., Pithwa, S., Dhandhukia, P., Thakker, J. N., 2014. Delineating *Kocuria turfanensis* 2M4 as a credible PGPR: a novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 566-576.
- Goswami, D., Parmar, S., Vaghela, H., Dhandhukia, P., Thakker, J., 2015. Describing *Paenibacillus mucilaginosus* strain N3 as an efficient plant growth Promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food and Agriculture*, 1(1), 1000714.
- Gottschalk, G., 1986. *Metabolic Diversity of Aerobic Heterotrophs*. Bacterial Metabolism, Springer-Verlag, New York, 104-140.
- Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Magheshwaran, V., Kumar, U., Bose, P., Sharma, V., Annapurna, K., 2011. *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: Potential PGPR for sustainable agriculture. In *Plant growth and health promoting bacteria*. Springer Berlin Heidelberg, 333–364.
- Gupta, A., Meyer, J. M., Goel, R., 2002. Development of heavy metal-resistant mutants of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. NBRI 4014 and their characterization. *Current Microbiology*, 45(5), 323-327.
- Gulati, A., Sharma, N., Vyas, P., Sood, S., Rahi, P., Pathania, V., Prasad, R., 2010. Organic acid production and plant growth promotion as a function of phosphate solubilization by *Acinetobacter rhizosphaerae* strain BIHB 723 isolated from the cold deserts of the trans-Himalayas. *Archives of Microbiology*, 192(11), 975-983.
- Haas, D. and Keel, C., 2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 117-153.
- Haas, D. and Défago, G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 307-319.

- Harley, J. and P., Prescott, L. M., 2002. Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition, The McGraw-Hill Companies, New York, 31-36.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60, 579–598.
- Heulin, T., Achouak, W., Berge, O., Normand, P., Guinebretière, M.-H., 2002. *Paenibacillus graminis* sp. nov. and *Paenibacillus odorifer* sp. nov., isolated from plant roots, soil and food. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 607–616.
- Hiltner, L., 1904. On new experiences and problems in the field of soil bacteriology with special regard to green manuring and fallow land. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft*, 98, 59-78.
- Hingole, S. S. and Pathak, A., 2016. Isolation of halotolerant Plant growth promoting *Klebsiella pneumoniae* from. *International Journal of Innovative Biological Research*, 5(1), 5-9.
- Hingole, S. S. and Pathak, A. P. 2016. Characterization of ha promoting *Bacillus megater* lake. *International Journal of Advanced Research and Review*, 1(5), 62-67.
- Hingole, S. S. and Pathak, A. P., 2016. Saline soil microbiome: A rich source of halotolerant PGPR. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 19(3), 231-239.
- Honma, M., and Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42(10), 1825-1831.
- Hossain, M. M., Das, K. C., Yesmin, S., Shahriar, S., 2016. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in seed germination and root-shoot development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under different salinity condition. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 3(1), 105-113.
- Howell, S. H., Lall, S., Che, P., 2003. Cytokinins and shoot development. *Trends in Plant Science*, 8(9), 453-459.
- Indiragandhi, P., Anandham, R., Madhaiyan, M., Sa, T. M., 2008. Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Current Microbiology*, 56, 327–333.
- Islam, F., Yasmeen, T., Arif, M. S., Ali, S., Ali, B., Hameed, S., Zhou, W., 2016. Plant growth promoting bacteria confer salt tolerance in *Vigna radiata*. *Plant Growth Regulation*, 1-14.
- İşler, E. and Coşkan, A., 2009. Farklı Bakteri (*Bradyrhizobium Japonicum*) Aşılama Yöntemlerinin Soyada Azot Fiksasyonu ve Tane Verimine Etkisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(4), 324-331.
- Jackson, M. L., 1973. Soil chemical analysis.
- Jalili, F., Khavazi, K., Pazira, E., Nejati, A., Rahmani, H. A., Sadaghiani, H. R., Miransari, M. 2009. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. *Journal of Plant Physiology*, 166(6), 667-674.
- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J. M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 37(1), 1-16.

- Jha, C. K., Patel, D., Rajendran, N., Saraf, M., 2010. Combinatorial assessment on dominance and informative diversity of PGPR from rhizosphere of *Jatropha curcas* L. *Journal of Basic Microbiology*, 50, 211–217.
- Jha, C. K., Aeron, A., Patel, B. V., Maheshwari, D. K., Saraf, M., 2011. Enterobacter: Role in plant growth. In *Bacteria in agrobiolgy: Plant growth responses*, 159–182. Springer Berlin Heidelberg.
- Jha, B., Gontia, I., Hartmann, A., 2012. The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. *Plant and Soil*, 356(1-2), 265–277.
- Jha, C. K. and Saraf, M., 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *E3 Journal of Agricultural Research and Development*, 5, 108–119.
- Joe, M. M., Devaraj, S., Benson, A., Sa, T., 2016. Isolation of phosphate solubilizing endophytic bacteria from *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn: Evaluation of plant growth promotion and antioxidant activity under salt stress. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(2), 71–77.
- Johri, J. K., Surange, S., Nautiyal, C. S., 1999. Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. *Current Microbiology*, 39(2), 89–93.
- Kaçar, B., 1972. *Toprak ve Bitki Analizleri*, Ankara Üniversitesi. Basımevi, Ankara.
- Kamilova, F., Validov, S., Azarova, T., Mulders, I. and Lugtenberg, B., 2005. Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environmental Microbiology*, 7:1809–1817.
- Kang, B. G., Kim, W. T., Yun, H. S., Chang, S. C., 2010. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports*, 4, 179–183.
- Karagöz, A., 2002. Tuz gölü çevresindeki bitkisel biyolojik çeşitlilik unsurlarının tarımsal kullanım potansiyelleri ve tehdit faktörleri açısından değerlendirilmesi. *Ulusal Kop Bölgesel Kalkınma Sempozyumu*.
- Karthikeyan, B., Joe, M. M., Islam, M. R., Sa, T., 2012. ACC deaminase containing diazotrophic endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Catharanthus roseus* through reduced ethylene levels and induction of antioxidative defense systems. *Symbiosis*, 56(2), 77–86.
- Kennedy, I. R, Choudhury, A. T. M. A., KecSkcs, M. L., 2004. Non-Symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Boilogy and Biochemistry*, 36(8):1229–1244.
- Khalid, A., Akhtar, M. J., Mahmood, M. H., Arshad, M., 2006. Effect of substrate-dependent microbial ethylene production on plant growth. *Microbiology*, 75, 231–236.
- Khalid, A., Arshad, M., Shaharoona, B., Mahmood, T., 2009. Plant growth promoting rhizobacteria and sustainable agriculture. *Microbial Strategies for Crop Improvement*, 133–160.
- Khan, M. S., Zaidi, A., Wani, P. A., 2006. Role of phosphatesolubilizing microorganisms in sustainable agriculture – a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 29–43.

- Khan, M. S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters*, 7, 1–19.
- Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., Naqvi, S. M. S., Rasheed, M., 2009. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 1: 48-58.
- Kim, J. and Rees, D. C., 1994. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*, 33, 389–397.
- Kiss, T. and Farkas, E., 1998. Metal-binding ability of desferrioxamine B. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 32, 385–403.
- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N., 1978. Plant growthpromoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, 879–882.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M. N., 1980. Enhanced plant growth by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature*, 286:885–886.
- Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J. W., Reddy, M. S., 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Applied Soil Ecology*, 31(1), 91-100.
- Kong, Z., Deng, Z., Glick, B. R., Wei, G., Chou, M., 2016. A nodule endophytic plant growth-promoting *Pseudomonas* and its effects on growth, nodulation and metal uptake in *Medicago lupulina* under copper stress. *Annals of Microbiology*, 1-10.
- Kremer, R. J. and Souissi, T., 2001. Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Current Microbiology*, 43: 182–186.
- Kumar, V. and Narula, N., 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*, 28(3), 301-305.
- Kumar, V., Aggarwal, N. K., Singh, B. P., 2000. Influence of analogue-resistant mutants of *Azotobacter chroococcum* solubilizing phosphate on yield and quality of sunflower (*Helianthus annuus*). *Folia microbiologica*, 45(4), 349-352.
- Kumar, A., Prakash, A., Johri, B. N., 2011. *Bacillus* as PGPR in Crop Ecosystem. *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems*, Springer Berlin Heidelberg, 37-59.
- Kumari, S., Vaishnav, A., Jain, S., Varma, A., Choudhary, D. K., 2015. Bacterial-mediated induction of systemic tolerance to salinity with expression of stress alleviating enzymes in soybean (*Glycine max* L. Merrill). *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(3), 558-573.
- Kushner, D. J., 1978. Life in High salt and solute concentrations: halophilic bacteria. *Microbial Life In Extreme Environments*, 317-368.
- Kushner, D. J. 1993. Growth and nutrition of halophilic bacteria in Vreeland RH Hochstein L (eds): *The Biology of Halophilic Bacteria*, 87-103.
- Kün, E., 1988. Serin iklim tahılları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1032.
- Ladeiro, B., 2012. Saline agriculture in the 21st century: Using salt contaminated resources to cope food requirements. *Journal of Botany*.
- Leibfried, A., To, J. P. C., Busch, W., Stehling, S., Kehle, A., Demar, M., 2005. Weschel controls meristem function by direct-regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature*, 438:1172-5.

- Leonardo, D., Blanca, L.F., Landa, B., Weller, D. M., 2006. Host crop affects rhizosphere colonization and competitiveness of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 96, 751–762.
- Li, X., Geng, X., Xie, R., Fu, L., Jiang, J., Gao, L., Sun, J., 2016. The endophytic bacteria isolated from elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) promote plant growth and enhance salt tolerance of Hybrid Pennisetum. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 190.
- Louden, B. C., Haarmann, D., Lynne, A. M., 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology and Biology Education*, 12(1), 51.
- Lugtenberg, B., Chin-A-Woeng, T., Bloemberg, G., 2002. Microbeplant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 373–383.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F., 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541–556.
- Maksimov, I. V., Abizgil'Dina, R. R., Pusenkova, L. I., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(4), 333–345.
- Malik, K. A., Mirza, M. S., Hassan, U., Mehnaz, S., Rasul, G., Haurat, J., Baay, R., Normanel, P., 2002. The role of plant associated beneficial bacteria in rice-wheat Cropping System. In: Kennedy IR, Chaudhry ATMA (Eds.) *Biofertilisers in action*. Rural Industries Research and Development Corporation, Canberra, 73–83.
- Malusá, E. and Vassilev, N., 2014. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(15), 6599–6607.
- Marques, A. P., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A. O., Castro, P. M., 2010. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(8), 1229–1235.
- Mathiyazhagan, S., Kavitha, K., Nakkeerans, S., Chandrasekar, M. K., Renukadevi, P., Krishnamoorthy, A. S., Fernando, W. G. D., 2004. PGPR mediated management of stem blight of *Phyllanthus amarus* (Schum and Thonn) caused by *Corynespora cassiicola* (Berk and Curt) wei. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 37:183–199.
- McKenzie, R. H., Roberts, T. L., 1990. Soil and fertilizers phosphorus update. In: *Proceedings of Alberta Soil Science Workshop Proceedings*, Feb. 20–22, Edmonton, Alberta, pp. 84–104.
- Mehta, S., Nautiyal, C. S., 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology*, 43(1), 51–56.
- MIS, 2005. *MIS Operating Manual*. 125 Sandy Dr. Newark, DE.
- Mishra, O. R., Tomar, U. S., Sharama, R. A., Rajput, A. M. 1995. Response of maize to chemicals and biofertilizers. *Crop Research*, 9: 233–237.
- Mishra, D. J., Rajvir, S., Mishra, U. K., Kumar, S. S., 2013. Role of bio-fertilizer in organic agriculture: a review. *Research Journal of Recent Sciences*, 2, 39–41.
- Morello, J. A., Granato, P.A., Mizer, H. E., 2003. *Laboratory manual and workbook in microbiology applications to patient care* 7th edition. The McGraw-Hill Companies, 304 pages.

- Muthukumarasamy, R., Revathi, G., Lakshminarasimhan, C., 1999. Diazotrophic associations in sugar cane cultivation in South India. *Tropical Agriculture*, 76:171–178.
- Nabti, E., Sahnoune, M., Adjrad, S., Van Dommelen, A., Ghoul, M., Schmid, M., Hartmann, A., 2007. A halophilic and osmotolerant *Azospirillum brasilense* strain from Algerian soil restores wheat growth under saline conditions. *Engineering in Life Sciences*, 7(4), 354–360.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z.A., Naveed, M., Arshad, M., 2007. Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Canadian Journal of Microbiology*, 53, 1141–1149.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Arshad, M., 2009. Rhizobacteria containing ACC-deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. *Canadian Journal of Microbiology*, 55, 1302–1309.
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Naveed, M., Imran, M., Zahir, Z. A., Crowley, D. E., 2016. Relationship between in vitro characterization and comparative efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria for improving cucumber salt tolerance. *Archives of Microbiology*, 198(4), 379–387.
- Neeraja, C., Anil, K., Purushotham, P., Suma, K., Sarma, P., Moerschbacher, B. M. and Podile, A. R., 2010. Biotechnological approaches to develop bacterial chitinases as a bioshield against fungal diseases of plants. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30:231–241.
- Neilands, J. B., 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723–26726.
- Neubauer, U., Furrer, G., Kayser, A., Schulz, R., 2000. Siderophores, NTA, and citrate: potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 2, 353–368.
- Nia, S. H., Zarea, M. J., Rejali, F., Varma, A., 2012. Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. *Journal of Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 113–121.
- Oberson, A., Frossard, E., Bühlmann, C., Mayer, J., Mäder, P., Lüscher, A., 2013. Nitrogen fixation and transfer in grassclover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil*, 371, 237–255.
- Olivares, F. L., Baldani, V. L. D., Reis, V. M., Baldani, J. I. and Döbereiner, J. 1996. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. *Biology and Fertility of Soils*, 21, 197–200.
- Orhan, F. and Gulluce, M., 2015. Isolation and characterization of salt-tolerant bacterial strains in salt-affected soils of east Anatolian region. *Geomicrobiology Journal*, 32(1), 10–16.
- Orhan, F. 2016. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(3), 621–627.
- Öğütçü, H., Kasımoğlu, C., Elkoca, E. 2010. Effects of rhizobium strains isolated from wild chickpeas on the growth and symbiotic performance of chickpeas (*Cicer*

- arietinum* L.) under salt stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 34(5), 361-371.
- Özdal, M., Özdal, Ö. G., Sezen, A., Algur, Ö. F. 2016. Biosynthesis Of Indole-3-Acetic Acid by *Bacillus cereus* Immobilized Cells. Cumhuriyet Science Journal, 37(3), 212-222.
- Özer, E. A., Erginkaya, Z., Özer, M. S., 2009. Nohut Mayalı Ekmeğin Yapılışı ve Fermantasyonunda Rol Alan Mikroorganizmalar II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29.
- Pal, S. S., 1998. Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. Plant and Soil, 198:169–177.
- Panwar, M., Tewari, R., Gulati, A., Nayyar, H., 2016. Indigenous salt-tolerant rhizobacterium *Pantoea dispersa* (PSB3) reduces sodium uptake and mitigates the effects of salt stress on growth and yield of chickpea. Acta Physiologiae Plantarum, 38(12), 278.
- Park, M., Kim, C., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S., Sa, T., 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. Microbiological Research, 160(2), 127-133.
- Patil, A. D., 2013. Alleviating Salt Stress in Crop Plants through Salt Tolerant Microbes.
- Patten, C. L. and Glick, B.R., 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology, 42, 207–220.
- Patten, C. L. and Glick, B. R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68(8), 3795-3801.
- Paul, D., 2012. Osmotic stress adaptations in rhizobacteria. Journal of Basic Microbiology, 52, 1–10.
- Pérez-García, A., Romero, D., De Vicente, A., 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. Current Opinion in Biotechnology, 22(2), 187-193.
- Podile, A. R. and Kishore, G. K., 2007. Plant growth-promoting rhizobacteria. In Plant-associated bacteria. Springer: Dordrecht, The Netherlands, 195-230.
- Poonguzhali, S., Madhaiyan, M., Sa, T., 2008. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria from chinese cabbage and their effect on growth and phosphorus utilization of plants. Journal of Microbiology and Biotechnology, 18, 773–777.
- Pourbabaei, A. A., Bahmani, E., Alikhani, H. A., Emami, S., 2016. Promotion of Wheat Growth under Salt Stress by Halotolerant Bacteria Containing ACC deaminase. Journal of Agricultural Science and Technology, 18(3), 855-864.
- Príncipe, A., Alvarez, F., Castro, M. G., Zachi, L., Fischer, S. E., Mori, G. B., Jofré, E., 2007. Biocontrol and PGPR features in native strains isolated from saline soils of Argentina. Current Microbiology, 55(4), 314-322.
- Raheem, A. and Ali, B., 2015. Halotolerant rhizobacteria: beneficial plant metabolites and growth enhancement of *Triticum aestivum* L. in salt-amended soils. Archives of Agronomy and Soil Science, 61(12), 1691-1705.
- Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M. N. V., Freitas, H., 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. Trends Biotechnology, 28, 142–149.

- Rajput, L. U. B. N. A., Imran, A., Mubeen, F. A. T. H. I. A., Hafeez, F. Y., 2013. Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in saline soil. *Pakistan Journal of Botany*, 45(6), 1955-1962.
- Ramadoss, D., Lakkineni, V. K., Bose, P., Ali, S., Annapurna, K., 2013. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *Springer Plus* 2(6), 1–7.
- Rana, S., Kamboj, J. K., Gandhi, V., 2011. Living life the natural way–Wheat grass and Health. *Functional Foods in Health and Disease*, 1(11), 444-456.
- Reed, M. L. E., Warner, B. G., Glick, B. R., 2005. Plant Growth Promoting Bacteria Facilitate the Growth of the Common Reed *Phragmites australis* in the Presence of Copper or Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Current Microbiology*, 51(6), 425-429.
- Riley, M. A., 1993. Molecular mechanisms of colicin evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 10(6), 1380-1395.
- Riley, M. A. and Wertz, J. E., 2002. Bacteriocins: Evolution, ecology, and application. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 117-137.
- Rodriguez, H., Vessely, S., Shah, S., Glick, B. R., 2008. Effect of a nickel-tolerant ACC deaminase-producing *Pseudomonas* strain on growth of nontransformed and transgenic canola plants. *Current Microbiology*, 57(2), 170-174.
- Rohban, R., Amoozegar, M. A., Ventosa, A., 2009. Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolases from Howz Soltan Lake, Iran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(3), 333-340.
- Roy, M. A., 1988. Use of fatty acids for the identification of phytopathogenic bacteria. *Plant Disease*, USA.
- Rubio, L. M. and Ludden, P. W., 2008. Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase. *Annual Review of Microbiology*, 62, 93–111.
- Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P. A., Javid, M. G., Dalvand, Y., Askari, H., 2012. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1503-1509.
- Sadeghi, A., Soltani, B. M., Jouzani, G. S., Karimi, E., Nekouei, M. K., Sadeghizadeh, M. 2014. Taxonomic study of a salt tolerant *Streptomyces* sp. strain C-2012 and the effect of salt and ectoine on lon expression level. *Microbiological Research*, 169:232–8.
- Safronova, V. I., Stepanok, V. V., Engqvist, G. L., Alekseyev, Y. V., Belimov, A. A. 2006. Root-associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve growth and nutrient uptake by pea genotypes cultivated in cadmium supplemented soil. *Biology and Fertility of Soils*, 42(3), 267-272.
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., Bhatti, A.S., 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34, 635–648.
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L. I. A., Estelle, M., 2009. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology*, 5, 301–307.

- Sarioğlu, G., Özçelik, S., Kaymaz, S., 1993. Elazığ ve Yöresinde Üretilen Mercimek Bitkilerinden Etkili Nodozite Bakterilerinin (*Rhizobium leguminosarum* bv. viciae) Seçimi. Doğa Turkish Journal of Agricultural and Forestry, 17: 569-573.
- Sarwar, M. and Kremer, R. J., 1995. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. Letters in Applied Microbiology, 20(5), 282-285.
- Schwyn, B. and Neilands, J. B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry, 160(1), 47-56.
- Seldin, L., Van Elsas, J. D., Penido, E. G. C., 1984. *Bacillus azotofixans* sp. nov., a nitrogen-fixing species from Brazilian soils and grass roots. International Journal of Systematic Bacteriology, 34, 451-456.
- Sezen, A., Ozdal, M., Algur, O. F., 2016. Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Their Effects on Improving Growth of Wheat. Journal of Applied Biological Sciences, 10(1), 41-46.
- Sgro, V., Cassán, F., Masciarelli, O., Del Papa, M. F., Lagares, A., Luna, V., 2009. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. Applied Microbiology and Biotechnology, 85, 371-381.
- Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, Z. A., Khalid, A., 2006. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biology and Biochemistry, 38(9), 2971-2975.
- Shaharoona, B., Arshad, M., Khalid, A., 2007a. Differential response of etiolated pea seedlings to inoculation with rhizobacteria capable of utilizing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate or L-methionine. Journal of Microbiology, 45, 15-20.
- Shaharoona, B., Jamro, G. M., Zahir, Z. A., Arshad, M., Memon, K. S., 2007b. Effectiveness of various *Pseudomonas* spp. and *Burkholderia caryophylli* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal Microbiology and Biotechnology, 17, 1300-1307.
- Shaharoona, B., Naveed, M., Arshad, M., Zahir, Z.A., 2008. Fertilizer-dependent efficiency of *Pseudomonads* for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). Applied Microbiology and Biotechnology, 79, 147-155.
- Shahbaz, M. and Ashraf, M., 2013. Improving salinity tolerance in cereals. Critical Reviews in Plant Sciences, 32, 237-249.
- Shannon, M. C. and Grieve, C. M., 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. Science Horticulturae, 78, 5-38.
- Sharma, A., Singh, P., Kumar, S., Kashyap, P. L., Srivastava, A. K., Chakdar, H., Sharma, A. K., 2015. Deciphering diversity of salt-tolerant bacilli from saline soils of eastern Indo-gangetic plains of India. Geomicrobiology Journal, 32(2), 170-180.
- Sheng, X. F., Xia, J. J., Jiang, C. Y., He, L. Y., Qian, M., 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. Environmental Pollution, 156(3), 1164-1170.

- Shrivastava, U. and P., Kumar, A., 2013. Characterization and optimization of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase (ACCD) activity in different rhizospheric PGPR along with *Microbacterium* sp. strain ECI-12A. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(1), 11-15.
- Shrivastava, P. and Kumar, R., 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123-131.
- Siddikee, M. A., Chauhan, P. S., Anandham, R., Han, G. H., Sa, T., 2010. Isolation, Characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(11), 1577-1584.
- Siddikee, M. A., Glick, B. R., Chauhan, P. S., Jong Yim, W., Sa, T., 2011. Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(4), 427-434.
- Singh, A. K. and Varaprasad, K. S., 2008. Criteria for identification and assessment of agro-biodiversity heritage sites: Evolving sustainable agriculture. *Current Science*, 94: 1131-1138.
- Singh, N., Verma, P., Pandey, B. R., 2012. Therapeutic potential of organic *Triticum aestivum* linn.(wheat grass) in prevention and treatment of chronic diseases: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(1), 10-14.
- Singh, R. P., Jha, P., Jha, P. N., 2015. The plant-growth-promoting bacterium *Klebsiella* sp. SBP-8 confers induced systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 184, 57-67.
- Singh, R. P. and Jha, P. N., 2016. Alleviation of salinity-induced damage on wheat plant by an ACC deaminase-producing halophilic bacterium *Serratia* sp. SL-12 isolated from a salt lake. *Symbiosis*, 69(2), 101-111.
- Singh, R. P. and Jha, P. N., 2016. Mitigation of salt stress in wheat plant (*Triticum aestivum*) by ACC deaminase bacterium *Enterobacter* sp. SBP-6 isolated from *Sorghum bicolor*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(5), 1-12.
- Somers, E., Vanderleyden, J., Srinivasan, M., 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*, 30, 205–240.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Remans, R., 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31, 425–448.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., 2011. Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(4), a001438.
- Stephens, P. M., Crowley, J. J., and O'Connell, C., 1993. Selection of pseudomonad strains inhibiting *Pythium ultimum* on sugarbeet seeds in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 25:1283-1288.
- Strain, H. H. and Svec, W. A., 1966. Extraction, separation, estimation and isolation of the chlorophylls. *The chlorophylls*, 1, 22-66.
- Stewart, W. D., Fitzgerald, G. P., Burris, N., 1967. In situ studies on N₂ fixation using the acetylene reduction technique. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 58(5), 2071-2078.

- Suman, A., Shasany, A. K., Singh, M., Shahi, H. N., Gaur, A., Khanuja, S. P. S., 2001. Molecular assessment of diversity among endophytic diazotrophs isolated from subtropical Indian sugarcane. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 17, 39–45.
- Sun, Y., Cheng, Z., Glick, B. R., 2009. The presence of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase deletion mutation alters the physiology of the endophytic plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN. *FEMS Microbiology Letters*, 296(1), 131-136.
- Tangüler, H. and Erten, H., 2009. Boza Fermantasyonu ve Fermantasyonda Etkili Olan Mikroorganizmalar. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29.
- Tangüler, H., Eleroğlu, H., Özer, E. A., Işıklı, N. D., 2015. Our Traditional Dessert which is to be Forgotten: UĞUT. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(7).
- Tank, N., and Saraf, M., 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*, 5(1), 51-58.
- Tao, G. C., Tian, S. J., Cai, M. Y., Xie, G. H., 2008. Phosphate Solubilizing and Mineralizing Abilities of Bacteria Isolated From Soils 11 Project Supported by Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, the Ministry of Education of the PR China. *Pedosphere*, 18(4), 515-523.
- Tay, S., 2014. Buğday Çimi Marmelatı: Uhut. 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, Adana, ss. 868- 872.
- Temiz, A., 1996. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Tewari, S. and Arora, N. K., 2016. Fluorescent *Pseudomonas* sp. PF17 as an efficient plant growth regulator and biocontrol agent for sunflower crop under saline conditions. *Symbiosis*, 68(1-3), 99-108.
- Tiwari, S., Singh, P., Tiwari, R., Meena, K. K., Yandigeri, M., Singh, D. P., Arora, D. K., 2011. Salt-tolerant rhizobacteria-mediated induced tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) and chemical diversity in rhizosphere enhance plant growth. *Biology and Fertility of Soils*, 47(8), 907-916.
- Torsvik, V. and Ovreas L., 2002. Microbial diversity and function in soils: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5: 240–245.
- Tuğ, G. N., 2006. Tuz gölü çevresi halofitik vejetasyonda zonlaşmaya etki eden faktörlerin belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Upadhyay, S. K., Singh, D. P., Saikia, R., 2009. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizospheric soil of wheat under saline condition. *Current Microbiology*, 59(5), 489-496.
- Upadhyay, S. K. and Singh, D. P., 2015. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. *Plant Biology*, 17(1), 288-293.
- Van Loon, L. C., 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119:243-254.
- Vauterin, L., Yang, P., Swings, J., 1996. Utilization of fatty acid methyl esters for the differentiation of new *Xanthomonas* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(1), 298-304.

- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., Nasrulhaq Boyce, A., 2016. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. *Molecules*, 21(5), 573.
- Vessey, J. K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571–586.
- Vikram, A. and Hamzehzarghani, H., 2008. Effect of phosphate solubilizing bacteria on nodulation and growth parameters of greengram (*Vigna radiate* L. Wilczec). *Research Journal of Microbiology*, 3, 62–72.
- Vining, L. C., 1990. Functions of secondary metabolites. *Annual Review of Microbiology*, 44: 395-427.
- von der Weid, I., Duarte, G. F., van Elsas, J. D., Seldin, L., 2002. *Paenibacillus brasilensis* sp. nov., a novel nitrogenfixing species isolated from the maize rhizosphere in Brazil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 2147–2153.
- Waddington, S. R., 1998. Organic matter management: From science to practice. *Soil Fertility*, 62, 24-25.
- Walker, T. S., Bais, H. P., Grotewold, E., Vivanco, J. M., 2003. Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology*, 132, 44–51.
- Wang, P. G., Guo, H., Yi, W., Song, J. K. 2008. Current understanding on biosynthesis of microbial polysaccharides. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 8(2), 141-151.
- Whipps, J. M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52(suppl 1), 487-511.
- Wilson, P. W. and Knight, S. C., 1952 *Experiments in bacterial physiology*. Burgess Publishing Company, Minneapolis, MN.
- Winkelman, G. and Dreschel H., 1997. Microbial Siderophores. In: Rehm HJ, Reed G (Eds.) *Biotechnology*, vol 7. VCH Publishers, Weinheim, pp. 199-245.
- Yamaguchi, T. and Blumwald, E., 2005. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends in Plant Science*, 10 (12), 615– 620.
- Yang, J., Kloepper, J. W., Ryu, C. M. 2009. Rhizosphere Bacteria Help Plants Tolerate Abiotic Stres. *Plant Science Conferences*, Vol.14, No.1 Argentina.
- Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., Li, C., 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology*, 46, 49–54.
- Yıldız, N. and Bircan, H., 1991. Araştırma ve deneme metotları. Atatürk Üniversitesi.
- Yıldırım, E., Turan, M., Ekinci, M., Dursun, A., Cakmakcı, R. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria ameliorate deleterious effect of salt stress on lettuce. *Scientific Research and Essays*, 6(20), 4389-4396.
- Zahir, Z. A., Munir, A., Asghar, H. N., Shaharoona, B., Arshad, M., 2008. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of pea (*Pisum sativum*) under drought conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 958–963.
- Zahir, Z. A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S. M., Asghar, H. N., 2009. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Archives of Microbiology*, 191, 415–424.

- Zaidi, A. and Khan, M. S., 2005. Interactive effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 28, 2079–2092.
- Zaidi, A., Khan, M. S., Ahemad, M., Oves, M., 2009. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 56, 263–284.



ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Kırşehir’de doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Kırşehir’de tamamladı. 2004 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2008’de Biyolog olarak mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisans öğrenimine başladı. 2012 yılında yüksek lisans öğrenimini bitirdi ve aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde doktora öğrenimine başladı.

