

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ ÖZELLİĞE SAHİP BAKTERİLERİN
BUĞDAY RİZOSFERİNDEN İZOLASYONU, SAFLAŞTIRILMASI,
BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE
TANIMLANMASI

SENANUR ACET
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

GEBZE
2023

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ ÖZELLİĞE
SAHİP BAKTERİLERİN BUĞDAY RİZOSFERİNDEN
İZOLASYONU, SAFLAŞTIRILMASI,
BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER BİYOLOJİK
YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI

SENANUR ACET
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ MİNE GÜL ŞEKER

GEBZE
2023

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**ISOLATION, PURIFICATION AND
IDENTIFICATION OF PLANT GROWTH
PROMOTING BACTERIA FROM WHEAT
RHIZOSPHERE BY BIOCHEMICAL AND
MOLECULAR BIOLOGICAL METHODS**

SENANUR ACET
**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE**
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

THESIS SUPERVISOR
ASSIST. PROF. DR. MİNE GÜL ŞEKER

GEBZE
2023



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 26/01/2023 tarih ve 2023/06 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 14/02/2023 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Senanur Acet'in tez çalışması Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

: Dr. Öğr. Üyesi Mine Gül Şeker

ÜYE

: Prof. Dr. Yelda Özden Çiftçi

ÜYE

: Dr. Öğr. Üyesi Stuart James Lucas

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Kimyasal gübrelerin yoğun olarak kullanılmasının çevresel açıdan birçok soruna yol açması bu ürünlere alternatif yeni yaklaşımlara olan ilginin artmasına sebep olmuştur. Bu yaklaşımlar arasında en umut vadeci olanlardan biri ise bitki büyümesini teşvik edici bakterilerden faydalanmaktır. Bu bakteriler hem bireysel olarak hem de mikrobiyal konsorsiyum içerisinde kullanılma ve bitki büyümesini olumlu yönde etkileme potansiyeline sahiptir.

Tez çalışmasında, buğdaya özgü mikrobiyal konsorsiyum temelli biyogübre tasarımıyla kullanılmaya aday bakterilerin izolasyonu, bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinin belirlenmesi ve seçilen izolatların moleküler biyolojik yöntemlerle tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak Ankara, Diyarbakır, Konya, Sivas ve Tekirdağ illerinde bulunan ikişer farklı buğday tarlasından toprak örnekleri alınarak bu topraklarda buğday yetiştirilmiş, buğday rizosferinden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiş, izolatların biyokimyasal testleri yapılmış, bitki büyümesini teşvik edici özellikleri belirlenmiş ve konsorsiyumda kullanılmaya aday izolatlar 16S rDNA yöntemi ile tanımlanmıştır.

Elde edilen 100 izolatın çeşitli düzeylerde azot fikse etme, fosfat çözme, indol-3-asetik asit üretme, siderofor üretme ve biyofilm üretme gibi bitki büyümesini teşvik edici özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Bitki büyümesini arttırma potansiyeli yönünden öne çıkan 19 izolat mikrobiyal konsorsiyumda kullanılmaya aday olarak seçilmiş ve bu izolatlar 16S rDNA analizi ile *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* ve *Bacillus* cinslerine ait türler olarak tanımlanmıştır.

Bu tez çalışması 1210649 numaralı 1001 projesi ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR), Biyogübre, Mikrobiyal Konsorsiyum.

SUMMARY

The intensive use of chemical fertilizers has led to many environmental problems which has led to an increased interest in alternative new approaches to these products. One of the most promising approaches is to take advantage of plant growth promoting bacteria. These bacteria have the potential to be used both individually and in microbial consortia and positively affect plant growth.

In this study, the aim was to isolate the bacteria that can be used in the wheat-specific microbial consortium, to determine their plant growth promoting traits and to identify the selected isolates by molecular biological methods. For this purpose, soil samples were taken from two different wheat fields in Ankara, Diyarbakır, Konya, Sivas and Tekirdağ provinces, bacteria isolation from wheat rhizosphere was performed, biochemical tests of isolates were carried out, plant growth promoting traits were determined and candidate isolates for use in the consortium were identified by the 16S rDNA method.

It was determined that 100 isolates showed plant growth promoting traits such as nitrogen fixation, phosphate solubilization, indole-3-acetic acid production, siderophore production and biofilm production. 19 isolates that stand out for their potential to increase plant growth were selected as candidates for use in the microbial consortium and these isolates were identified as species belonging to *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* and *Bacillus* genera by 16S rDNA analysis.

This thesis was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) 1001 grant (121O649).

Key Words: Wheat, Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), Biofertilizer, Microbial Consortium.

TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans tez çalışmam boyunca göstermiş olduğu ilgisi, anlayışı ve emekleri için değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mine Gül Şeker'e,

Tüm desteği ve yardımları için hocam Prof. Dr. Yelda Özden Çiftçi'ye, bana sunduğu fırsat için hocam Doç. Dr. Özlem Akkaya'ya ve HPLC konusundaki tüm yardımları için hocam Dr. Öğr. Üyesi Özge Dinç'e,

Bu süreçte gösterdiği anlayış ve destek için şefim Dr. Elif Kurt'a,

Bana tecrübelerini aktaran, zor zamanlarımda beni ayağa kaldıran, sevincimi ve üzüntümü paylaşan, iyi ki tanıdığım dediğim dostlarım Açelya Avcı Yaşar, Mihriban Aydoğan Gemici, Nida Arslan, Seray Topçu, İlkay İlhan, Tuğçe Arıt, Hilal Civelek ve Erva Bacacı'ya,

Üzerimdeki emekleri ve bana öğrettikleri için ablam Kübra Trabzonlu'ya,

Sevgisini, ilgisini ve desteğini bir an olsun eksik etmeyen Uğur Erdem'e,

Ve son olarak, beni bugünlere getiren, verdiğim kararlarda bana tereddütsüz destek olan, hayattaki en değerli varlıklarım annem Hülya Acet'e, babam Ahmet Acet'e, canım ablam Mine Acet'e, abim Salih Durak'a ve tek bir gülüşüyle hayatımı güzelleştiren, biricik yeğenim Yiğit Durak'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince beni 2210-A Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu ile, tezimi kapsayan projeyi ise 1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	2
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Topraktaki Mikrobiyal Çeşitlilik	3
2.2. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR)	4
2.3. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Bakterilerin Etki Mekanizmaları	5
2.3.1. Azot Fiksasyonu	5
2.3.2. Fosfatı Çözünür Hale Getirme	6
2.3.3. Siderofor Üretimi	7
2.3.4. İndol-3-Asetik Asit Üretimi	8
2.3.5. Biyofilm Üretimi	9
2.4. PGPR'lerin Biyogübre Olarak Kullanımı	10
2.5. Mikrobiyal Konsorsiyumlar	12
2.6. Buğday Bitkisi	13
3. MATERYAL	15
3.1. Kullanılan Mikroorganizma Suşları	15
3.2. Kullanılan Bitki Materyali	15
4. YÖNTEM	25
4.1. Buğday Tarlalarından Toprak Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Analizi	25

4.2. Sera Koşullarında Buğday Yetiştirilmesi	25
4.3. Rizosferik Toprak Örneklerinin Alınması	26
4.4. Topraktan Total DNA İzolasyonu	27
4.5. Topraktan Bakteri İzolasyonu	27
4.6. İzolatların Ön Tanımlama Testleri	28
4.6.1. Koloni Morfolojisinin İncelenmesi	28
4.6.2. Gram Boyama	28
4.6.3. Katalaz Testi	29
4.6.4. Oksidaz Testi	30
4.6.5. Spor Boyama	30
4.7. İzolatların Biyokimyasal Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Testler	31
4.7.1. IMViC Testi	31
4.7.1.1. İndol Testi	31
4.7.1.2. Metil Kırmızısı (MR) Testi	32
4.7.1.3. Voges-Proskauer (VP) Testi	33
4.7.1.4. Sitrat Testi	34
4.7.2. Oksidasyon-Fermantasyon (O/F) Testi	35
4.7.3. Karbonhidrat Kullanımı Testi	36
4.7.4. Lizin, Ornitin ve Arjinin Dekarboksilaz Testi	37
4.7.5. Üreaz Testi	38
4.7.6. Fenilalanin Deaminaz Testi	39
4.7.7. ONPG Testi	40
4.8. İzolatların Bitki Büyümesini Teşvik Edici (PGP) Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Testler	41
4.8.1. İnorganik Fosfatı Çözünebilir Hale Getirme Kapasitesinin Kalitatif Olarak Belirlenmesi	41
4.8.2. İnorganik Fosfatı Çözünebilir Hale Getirme Kapasitesinin Kantitatif Olarak Belirlenmesi	42
4.8.3. İndol-3-asetik Asit (IAA) Üretme Kapasitesinin Kolorimetrik Yöntemle Belirlenmesi	42
4.8.4. IAA Üretme Kapasitesinin HPLC ile Ölçülmesi	43

4.8.5. Siderofor Üretme Kapasitesinin Kalitatif Olarak Belirlenmesi	44
4.8.6. Siderofor Üretme Kapasitesinin Kantitatif Olarak Belirlenmesi	44
4.8.7. Serbest Azotu Fikse Etme Kapasitesinin Kalitatif Olarak Belirlenmesi	45
4.8.8. İzolatların Biyofilm Oluşturma Kapasitesinin Belirlenmesi	45
4.9. Konsorsiyum Oluşturmaya Aday İzolatların Seçilmesi ve Moleküler Biyolojik Yöntemlerle Tanımlanması	46
4.9.1. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu	46
4.9.2. 16S rDNA Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması	46
4.10. İstatistiksel Analiz	48
5. BULGULAR	49
5.1. Toprak Örneklerinin Alınması	49
5.2. Toprak Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	50
5.3. Sera Koşullarında Buğday Yetiştirilmesi ve Buğdayların Boylarının Ölçülmesi	52
5.4. Topraktan Total DNA İzolasyonu	55
5.5. Topraktan Bakteri İzolasyonu	55
5.6. İzolatların Ön Tanımlama Testleri Sonuçları	56
5.7. İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları	65
5.8. İzolatların Bitki Büyümesini Teşvik Edici (PGP) Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Testlerin Sonuçları	83
5.8.1. İnorganik Fosfatı Çözünür Hale Getirme	83
5.8.2. İndol-3-asetik Asit Üretme	85
5.8.3. Siderofor Üretme	89
5.8.4. Serbest Azotu Fikse Etme	91
5.8.5. Biyofilm Üretme	94
5.9. Konsorsiyum Oluşturmaya Aday İzolatların Seçilmesi ve Moleküler Biyolojik Yöntemlerle Tanımlanması	95
5.9.1. Genomik DNA İzolasyonu	96
5.9.2. 16S rDNA Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve Dizi Analizi	97
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	101

6.1. Gelecek Öngöröleri	109
KAYNAKLAR	110
ÖZGEÇMİŞ	119
EKLER	120



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kisaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar
cm	: Santimetre
Kg	: Kilogram
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
A	: Absorbans
Bç	: Baz Çifti
Bkz	: Bakınız
CAS	: Chrome Azurol S
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EC	: Elektriksel İletkenlik
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
G	: Gram
HCl	: Hidrojen Klorür

HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAA	: İndol-3-asetik Asit
Kg/da	: Kilogram/dekar
KOH	: Potasyum Hidroksit
MR	: Metil Kırmızısı
mS/cm	: Milisiemens/santimetre
NaCl	: Sodyum Klorür
ONPG	: o-nitrofenil-β-D-galaktopiranozid
<i>P. vulgaris</i>	: <i>Proteus vulgaris</i>
PGP	: Bitki Büyümesini Teşvik Edici
PGPR	: Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)
pH	: Power of Hydrogen
Ppm	: Milyonda Bir Birim
Psu	: Siderofor Üretme Yüzdesi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	: Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
S	: Saat
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
TAE	: Tris Asetat EDTA
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
VP	: Voges-Proskauer
w/v	: Ağırlık/hacim
x g	: Yerçekimi İvmesi ile Çarpım

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: PGPR'lerin doğrudan (direkt) ve dolaylı (indirekt) etki mekanizmaları.	5
2.2: Biyofilm oluşumunun şematik gösterimi.	10
2.3: <i>Triticum durum</i> ve <i>Triticum aestivum</i> .	13
3.1: A: Lambda DNA/Hind III MG-LDR-LH3, B: 100 bp ladder plus MG-LDR-100P.	24
4.1: Farklı 5 ilden alınan topraklar kullanılarak hazırlanan saksıların buğday ekiminden sonraki görüntüsü.	26
4.2: Rizosferik toprak örneklerinin alınması.	26
4.3: 10 numaralı izolata ait Gram boyama (Gram pozitif) görüntüsü.	29
4.4: 23 numaralı izolata ait spor boyama görüntüsü.	31
4.5: MR testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol, 3: Negatif kontrol, 4, 6, 10: Pozitif izolatlar, 5, 7, 8, 9: Negatif izolatlar.	33
4.6: VP testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol, 3: Negatif kontrol, 5, 7, 9, 10: Pozitif izolatlar, 4, 6, 8: Negatif izolatlar.	34
4.7: Sitrat testi, 1: Negatif kontrol (<i>E. coli</i>) 2: Pozitif kontrol (<i>K. pneumoniae</i>), 3, 4: Negatif izolatlar, 5, 6: Pozitif izolatlar.	35
4.8: O/F testi, 1-2: <i>E. coli</i> -fakültatif anaerob, 3-4: <i>P. aeruginosa</i> -aerob, 5-6: Aerob izolat, 7-8: Fakültatif anaerob izolat, 9-10: İnert izolat.	36
4.9: Glukoz kullanımı testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (<i>E. coli</i>), 5, 6, 9, 10: Pozitif izolatlar, 3, 4, 7, 8: Negatif izolatlar.	37
4.10: Arjinin dekarboksilaz testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (<i>E. coli</i>), 3: Negatif kontrol (<i>K. pneumoniae</i>), 4, 5, 7, 10: Pozitif izolatlar, 6, 8, 9: Negatif izolatlar.	38
4.11: Üreaz testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (<i>P. vulgaris</i>), 3: Negatif kontrol (<i>E. coli</i>), 4, 6, 8: Negatif izolatlar, 5, 7, 9, 10: Pozitif izolatlar.	39

4.12:	Fenilalanin deaminaz testi, 1: Boş, 2: Negatif kontrol (<i>E. coli</i>), 3: Pozitif kontrol (<i>P. vulgaris</i>), 4, 5, 7, 10: Negatif izolatlar, 6, 8, 9: Pozitif izolatlar.	40
4.13:	ONPG testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (<i>E. coli</i>), 3: Negatif kontrol (<i>P. vulgaris</i>), 4, 7, 10: Negatif izolatlar, 5, 6, 8, 9: Pozitif izolatlar.	41
5.1:	Toprak örneklerinin alındığı noktalar.	49
5.2:	Toprak örneklerinin pH ve EC değerlerine göre değerlendirilmesi.	51
5.3:	Toprak örneklerinin içeriklerine göre değerlendirilmesi.	52
5.4:	Toprak örneklerinin potasyum ve fosfor içeriklerinin dağılımı.	52
5.5:	5 farklı ilde 2 farklı tarladan alınan toprak örneklerine ekimden sonra 3 yapraklı evreye gelen buğdaylar.	53
5.6:	Buğday boylarının ölçülmesi, A: AT1, B: AT2, C: DT1, D: DT2, E: KT1, F: KT2, G: ST1, H: ST2, I: TT1, J: TT2.	54
5.7:	Total DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü, 1: Lambda marker, 2: DT1, 3: DT2, 4: KT1, 5: KT2, 6: AT1, 7: AT2, 8: ST1, 9: ST2, 10: TT1, 11: TT2.	55
5.8:	Bazı izolatların Pikovskaya agarda oluşturdukları çözünürlük zonu.	85
5.9:	Çözünmüş fosfat miktarının belirlenmesi için hazırlanan standart grafik.	85
5.10:	Üretilen IAA miktarının belirlenmesi için hazırlanan standart grafik.	89
5.11:	Bazı izolatların CAS blue agarda oluşturduğu zonlar.	90
5.12:	Bazı izolatların azot içermeyen besiyerindeki görünüşleri.	93
5.13:	İzolatların biyofilm üretme kapasitelerinin mikropalaklarda belirlenmesi.	95
5.14:	Genomik DNA örneklerinin agaroz jeldeki görüntüsü, 1: Lambda marker, 2-15: İzolatlar, 16: Lambda marker, 17-21: İzolatlar.	96
5.15:	PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü, 1: 100 bp marker, 2-20: PZR ürünleri.	97
6.1:	Kırmızı renkli Ankara tarla 1 toprak örneği.	106
6.2:	Seçilen izolatların bitki büyümesini teşvik edici özellikleri.	107

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Türkiye’de buğday üretimi yapılan ilk 10 il.	14
3.1: Kullanılan kimyasallar.	15
3.2: Kullanılan çözeltiler.	18
3.3: Kullanılan besiyerleri.	20
3.4: Kullanılan cihazlar.	22
3.5: Kullanılan kit ve reaktifler.	23
3.6: Kullanılan DNA belirteçleri.	23
4.1: HPLC koşulları.	43
4.2: 16S rDNA bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primerler ve dizileri.	47
4.3: PZR için hazırlanan reaksiyon karışımı.	47
4.4: PZR koşulları.	47
5.1: Toprak toplanan örnekleme lokasyonları.	49
5.2: Toprak örneklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları.	51
5.3: Ortalama buğday boyları.	54
5.4: Total DNA örneklerinin NanoDrop ölçüm sonuçları.	55
5.5: İzolatların toprak örneklerine göre dağılımı.	56
5.6: İzolatların ön tanımlama testi sonuçları.	56
5.7: İzolatların koloni morfolojilerinin değerlendirilmesine ait sonuçlar.	61
5.8: İzolatların hareketlilik, H ₂ S üretimi, IMViC ve üreaz testi sonuçları.	68
5.9: İzolatların oksidasyon-fermantasyon, lizin, ornitin, arjinin dekarboksilaz, fenilalanin deaminaz ve ONPG testi sonuçları.	73
5.10: İzolatların karbonhidrat kullanımı testi sonuçları.	78
5.11: İzolatların kontrole görece inorganik fosfatı çözme miktarları.	83
5.12: İzolatların kontrole görece IAA üretme miktarları.	86
5.13: İzolatların kontrole görece siderofor üretim düzeyleri.	89
5.14: İzolatların kontrole görece siderofor üretme yüzdeleri.	91
5.15: İzolatların kontrole görece azot fikse etme düzeyleri.	92
5.16: İzolatların biyofilm üretme kapasiteleri.	94

5.17: Konsorsiyumda kullanılmaya aday izolatların seçilmesinde gözetilen parametreler.	95
5.18: Genomik DNA örneklerinin NanoDrop ölçüm sonuçları.	96
5.19: İzolatların 16S rDNA dizi analizi sonuçlarına göre tanımlanması (Bkz. Ek B).	98



1. GİRİŞ

Toprak, içerdği organizmaların çeşitliliği ve sayısı bakımından son derece karmaşık bir yapıdır ve toprakta en yaygın bulunan taksonlar mikrobiyal komünitelerdir. Toprak mikrobiyomu, yer aldığı birçok biyolojik sürecin yanı sıra bitki büyümesi ve gelişmesinin arttırılmasında da rol oynayabilir [Chaparro et al., 2012]. Rizosfer, bitki köklerini saran, bitki-bakteri etkileşimlerinin son derece yoğun olduğu ve besince zengin toprak bölgesi olarak tanımlanır. Rizosfer mikrobiyomunda en yaygın bulunan türler bakteriler olup bitki köklerini kolonize ederek bitki büyümesini olumlu yönde etkileyen bakterilere bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler (PGPR) denir [Saharan and Nehra, 2011]. PGPR'ler, azot fikse etme, fosfat çözme, siderofor üretme ya da indol-3-asetik asit üretme gibi direkt mekanizmalarla veya antibiyotik üretme, bitkide sistemik direnci indüklemeye, bitki patojenlerine karşı koruma sağlama gibi dolaylı mekanizmalarla bitki büyümesine katkıda bulunurlar. Bu özellikleri sayesinde PGPR'lerin toprak inokülantları olarak kullanımının kimyasal gübre kullanımını azaltma potansiyeli bulunmaktadır [Ahemad and Kibret, 2014].

Dünya genelinde hızla artan nüfus sebebiyle kısıtlı arazi imkanlarında yüksek verimle ekin yetiştirmek son derece önemli hale gelmiştir. Ancak verimi arttırmak üzere yoğun olarak kullanılan kimyasal gübreler hem çevreyi kirletmekte hem de bitki ve toprak sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir [Singh et al., 2019]. Bu sebeple kimyasal gübreler yerine mikrobiyal gübreler gibi sürdürülebilir ve çevre dostu ürünlerin kullanımı ilgi çekmektedir. Günümüzde *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ve *Serratia* gibi çeşitli cinslere ait türler PGPR olarak değerlendirilmekte ve bu bakterileri içeren biyogübre ürünleri ticari olarak üretilmektedir [Verma et al., 2019].

Yeni biyogübre formülasyonlarının tasarımında kullanılabilecek yenilikçi yaklaşımlardan biri ise bitkiye özgü sentetik mikrobiyal konsorsiyumların kurulmasıdır. Mikrobiyal konsorsiyumlar birkaç bakteri türünün bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinden aynı anda faydalanma imkanı sunduğu için bireysel inokülantlara kıyasla daha yüksek verim sağlama potansiyeline sahiptir. Ayrıca bazı çalışmalarda bireysel olarak bitki büyümesini arttırıcı etki göstermeyen bakterilerin

konsorsiyum içerisinde bitki büyümesini olumlu yönde etkilediği görülmüştür [Compant et al., 2019]. Tüm bunlar değerlendirildiğinde tarımda verimi arttırmaya yönelik daha çevreci, düşük maliyetli ve sürdürülebilir bir yaklaşım olan mikrobiyal konsorsiyum temelli biyogübre tasarımı için aday olabilecek bakteri türlerinin araştırılması önemli ve umut vadeden bir konudur.

1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği

Tez çalışmasının amacı, buğdaya özgü mikrobiyal konsorsiyum temelli yeni biyogübre formülasyonlarında kullanılmak üzere buğday rizosferinden bakteri izolasyonu, saflaştırılması, bu izolatların bitki büyümesini teşvik edici aktiviteleri yönünden bireysel potansiyellerinin araştırılması ve seçilen izolatların tanımlanmasıdır. Bu amaca yönelik olarak Ankara, Diyarbakır, Konya, Sivas ve Tekirdağ illerinde bulunan ikişer farklı buğday tarlasından toprak örnekleri alınmış, bu toprak örneklerinde sera koşullarında buğday yetiştirilmiş, buğday rizosferinden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiş, izolatların biyokimyasal testleri yapılmış ve ardından izolatların fosfat çözme, azot fikse etme, siderofor üretme, indol-3-asetik asit üretme ve biyofilm üretme kapasiteleri belirlenmiştir. Son olarak mikrobiyal konsorsiyumda yer almaya uygun olduğu belirlenen 19 izolat seçilerek bu izolatların moleküler biyolojik yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanması sağlanmıştır.

Yapılan bu çalışma ile biyogübre formülasyonlarında kullanılmaya aday izolatlar elde edilerek literatüre kazandırılmış olacaktır. Ayrıca, buğday bitkisine özgü mikrobiyom belirlenerek bitkiye özel mikrobiyal konsorsiyum kurulması çalışmalarına katkı sağlanmıştır. Bu yaklaşım biyogübre tasarımında kullanılan genel bakteriler yerine bitkiye özgü bakterilerin kullanılmasını içerdiği için yenilikçi bir yaklaşımdır. Buna ek olarak hem ülkemizde hem de dünyada ilgi gören bitki büyümesini teşvik edici bakteriler ve mikrobiyal gübre konularında mevcut literatüre katkı sağlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Topraktaki Mikrobiyal Çeşitlilik

Toprak, son derece karmaşık ve heterojen bir yapıya sahip olup biyolojik çeşitliliğin en önemli kaynaklarından biridir. Küresel olarak bakıldığında pH, organik karbon konsantrasyonu, tuzluluk ve mevcut azot miktarı gibi çevresel toprak koşulları çok ciddi değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenlik toprakta yaşayan makro ve mikroorganizmaların çeşitliliğini de etkiler [Fierer, 2017].

Toprakta milyonlarca organizma bulunmakla birlikte en çeşitli ve en karmaşık organizma grubu mikrobiyal komünitelerdir [Islam et al., 2004]. 1 gram toprak örneğinde yaklaşık 10,000 ila 50,000 farklı mikroorganizma bulunduğu bilinmektedir. Bununla birlikte çeşitli biyotik ve abiyotik faktörler belirli zamanlarda toprakta bulunan mikrobiyal biyokütleyi etkiler. Toprakta bütün mikrobiyal taksonlar eşit yoğunlukta bulunmayıp en yaygın türler bakteri ve funguslardır. Bu gruplar protistalar, arkeler ve virüsler gibi diğer toprak mikrobiyomu üyelerine kıyasla 10^2 - 10^4 kat daha fazla biyokütleye sahiptir [Fierer, 2017].

Toprak mikrobiyomu organik maddelerin ayrıştırılması, besin döngüsünün düzenlenmesi, patojenlere karşı koruma, biyoremediasyon gibi süreçlerde yer alır. Bunun yanı sıra toprak mikroorganizmalarının en önemli özelliklerinden biri de doğrudan ya da dolaylı olarak bitki büyümesini ve gelişmesini arttırmalarıdır [Chaparro et al., 2012].

Toprakta doğal olarak bulunan mikroorganizmalar kullanılarak oluşturulan inokülanlar topraktaki mikrobiyal çeşitliliği arttırmak için kullanılabilir. Çalışmalar, etkin mikrobiyal komünitelerin toprak ekosistemine inoküle edilmesinin toprak kalitesini, toprak sağlığını, ekinlerin büyümesini, gelişimini ve verimini arttırdığını göstermiştir [Singh et al., 2011]. Bitki büyümesini arttırmak amacıyla mikroorganizmaların kullanılması tarım için önemli bir uygulamadır. Son 20-30 yıl içinde sürdürülebilir tarım için PGPR kullanımı ciddi düzeyde artmış ve söz konusu bakteriler ile aşılama yanıt olarak ekinlerin büyüme ve gelişmesinde önemli artışlar görüldüğü bildirilmiştir [Figueiredo et al., 2010].

2.2. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR)

Rizosfer, bitki köklerinin hemen dışını saran, yüksek mikrobiyal aktiviteye sahip ve besince zengin toprak bölgesi olarak tanımlanmaktadır. Rizosferde organik madde döngülerinde ve bitki beslenmesinde görev alan, çok sayıda ve çok çeşitli mikroorganizmalar bulunur [Lagos et al., 2015]. Rizosfer mikrobiyomunu oluşturan mikroorganizmalar arasında funguslar, protozoalar ve algler de bulunmakla birlikte en yaygın bulunan türler bakterilerdir. Bitki köklerini kolonize ederek sahip oldukları metabolik özelliklerle bitki büyümesini olumlu yönde etkileyen bakterilere bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler (PGPR) denir [Saharan and Nehra, 2011].

Bir bakterinin bitki büyümesini teşvik edici rizobakteri olarak tanımlanması için sahip olması gereken özellikler şunlardır: i) bitki köklerini etkin bir şekilde kolonize edebilmelidir, ii) mikrobiyomun diğer üyeleri ile mücadele edebilmeli, çoğalabilmeli ve hayatta kalabilmelidir, iii) bitki büyümesini arttırmalıdır [Ahemad and Kibret, 2014]. Somers ve diğerleri, bitki büyümesini teşvik edici rizobakterileri etki mekanizmalarına dayanarak dört farklı grupta sınıflandırmıştır: i) biyogübreler: besinlerin bitki tarafından alınımını arttıranlar, ii) bitki büyümesini teşvik edenler (stimülatörler): genellikle bitkisel hormon üreterek bitki büyümesini arttıranlar, iii) toprak iyileştiricileri (rizoremediatörler): organik kirleticileri parçalayanlar, iv) biyopestisitler: çoğunlukla antibiyotik veya antifungal metabolitler üreterek hastalıklara karşı koruyanlar [Somers et al., 2004].

Günümüzde *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ve *Serratia* gibi çeşitli bakteri türleri PGPR olarak kabul edilmektedir. Bitkilerle kurduğu ilişkiye göre PGPR'ler simbiyotikler ve serbest yaşayanlar olmak üzere iki temel gruba ayrılır. *Pseudomonas* ve *Bacillus* türleri çoğunlukla serbest yaşayanlar olarak tanımlanırken, *Rhizobium* türleri simbiyotik bitki büyümesini arttırıcılar olarak bilinir [Verma et al., 2019].

PGPR'lerin kullanımının tahıllar, yağ bitkileri ve sebzeler gibi çeşitli ekinlerde verim artışı sağladığı görülmüş ve PGPR'lerin ticari ürünler olarak kullanımı önem kazanmıştır [Saharan and Nehra, 2011]. PGPR'ler bitki büyümesini doğrudan ya da dolaylı mekanizmalar aracılığıyla arttırabilirler. Bitki büyümesini arttıran doğrudan

mekanizmalar azot fiksasyonu, bitkisel hormon üretimi, fosfor, demir ve potasyum gibi mineralleri çözünür hale getirme, siderofor, enzim ve organik asit üretimidir. Dolaylı mekanizmalar ise genellikle antibiyotik üretimi, HCN üretimi, hücre dışı (ekstrasellüler) enzimlerin üretimi, bitkide sistemik direncin teşvik edilmesi ve rizosferde niş için mücadele etme gibi biyokontrol aktiviteleriyle ilişkilidir (Şekil 2.1) [Ahemad and Kibret, 2014], [Figueiredo et al., 2016]. Bu aktivitelere ek olarak PGPR'ler besin eksikliği, tuzluluk, kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi abiyotik stres koşullarıyla mücadelede, çeşitli kirleticilerin topraktan uzaklaştırılmasında ve biyoremediasyonda da görev alırlar [Verma et al., 2019].

Şekil 2.1: PGPR'lerin doğrudan (direkt) ve dolaylı (indirekt) etki mekanizmaları.

2.3.1. Azot Fiksasyonu

Biyolojik azot fiksasyonu, diazotroflar olarak adlandırılan özel bir mikroorganizma grubu tarafından azotun (N_2) amonyağa dönüştürülmesi sürecidir. Bilinen tüm azot fikse eden organizmalar prokaryot olup azot fiksasyonu gerçekleştiren diazotroflar simbiyotik ve serbest yaşayanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Simbiyotik bakteriler bitkiye özgüllük gösterir ve nodüller üretmek için kökleri enfekte ederler. Simbiyotik bakteriler arasında en öne çıkan grup *Rhizobium* türleridir [Kumar et al., 2020]. Serbest yaşayan bakteriler çok çeşitli taksonlara ait olmakla birlikte aralarında en öne çıkan gruplar *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum* ve *Bacillus*'tur.

Tarımsal sistemlerde *Rhizobium* türlerinin küresel ölçekte yıllık 180×10^6 ton azotu fikse edebildiği ve bu durumun ekinlerin veriminde ve kalitesinde artış sağladığı bildirilmiştir. Buna ek olarak biyolojik azot fiksasyonu süreci ile fikse edilen azotun endüstriyel maliyetinin 160-180 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir [Verma et al., 2019]. Bu sebeple azot fikse eden mikroorganizmaların biyogübre olarak kullanımı önem kazanmış ve bu mikroorganizmaların kimyasal azotlu gübrelere alternatif olarak kullanımına dair çalışmalar hız kazanmıştır [Ahmad et al., 2008].

2.3.2. Fosfatı Çözünür Hale Getirme

Fosfor, bitkiler için azottan sonra en önemli ikinci makroelementtir. Bitkilerde fotosentez, enerji transferi, sinyal iletimi, makromolekül biyosentezi ve solunum gibi metabolik süreçlerde önemli rol oynayan fosfor, toprakta hem organik hem de inorganik formda bol miktarda bulunur [Ahmad and Kibret, 2014]. Bitkiler fosforu yalnızca monobazik (H_2PO_4) ve dibazik (HPO_4^{2-}) iyonlar şeklinde çözünür formda absorbe edebilirler. Ancak, topraktaki fosforun yalnızca %1'lik kısmı bitkilerin doğrudan alabileceği uygun form olan çözünür formda bulunurken %90'ı genellikle apatit, hidroksiapatit ve oksiapatit gibi toprak parçaları ve inorganik partiküllere sıkıca bağlıdır [Kumar et al., 2020].

Topraktaki bu fosfor eksikliğini önlemek için tarımsal arazilere yaygın olarak fosfatlı gübreler uygulanmaktadır. Ancak fosfatlı gübrelerin düzenli kullanımı hem maliyetli hem de çevreye zararlı bir uygulamadır. Bu durum fosfor miktarı düşük olan

topraklarda verimi arttırmak için daha ekonomik ve çevreye zararı olmayan seçeneklerin araştırılmasına yol açmıştır [Ahemad and Kibret, 2014].

Toprakta bulunan PGPR'ler fosfatı çeşitli mekanizmalarla çözünür hale getirerek bitkiler tarafından alımını kolaylaştırır. Bu mekanizmalar organik asit, anyon veya proton gibi mineralleri çözen bileşenlerin salınması, ekstrasellüler enzimlerin salınması ve biyolojik fosfat mineralizasyonudur [Singh, 2015]. Fosfat çözebilen PGPR'ler *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* ve *Serratia* gibi çeşitli cinslere ait olup bitki büyümesini arttırmak için kullanılma potansiyeline sahiptir. Ayrıca fosfat çözebilen bakteriler fosfor alımını arttırmalarının yanı sıra biyolojik azot fiksasyonunu da indükleyerek bitki büyüme ve gelişimini arttırırlar [Bhattacharyya and Jha, 2012].

2.3.3. Siderofor Üretimi

Demir (Fe) toprakta en yaygın bulunan elementlerden biri olup dünyada bilinen tüm yaşam formları için hayati bir mikrobeseindir. Aerobik ortamlarda demir temel olarak Fe^{+3} formunda bulunur ve çözünür olmayan hidroksitler ile oksihidroksitler oluşturma eğilimindedir. Bu durum demir alımını hem bitkiler hem de bakteriler için zorlaştırır [Singh, 2015].

Bitki büyümesini teşvik edici bakteriler, ortamdaki demir miktarı yetersiz olduğunda düşük molekül ağırlıklı demir şelatlayıcıları olarak tanımlanan sideroforlar üretirler. Bu durumda, demir seviyesi çok düşük olsa bile demir-siderofor kompleksi oluşturularak bitkilerin demir alımı arttırılır [Riaz et al., 2021]. Bitkiler, demirin şelatlanması ve salınımı, doğrudan demir-siderofor kompleksinin alınması veya ligand değişimi gibi mekanizmalarla bakteriyel sideroforlardan demiri alabilirler. *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Enterobacter* ve *Grimontella* cinsleri etkin siderofor üreticileri olarak bilinir, buna ek olarak *Klebsiella*, *Stenotrophomonas*, *Rhizobium*, *Herbaspirillum* ve *Citrobacter* cinslerinin de siderofor üretebildiği bilinmektedir [Verma et al., 2019].

Siderofor üreten rizobakterilerin toprağa inoküle edilmesi sonucu siderofor aracılı demir alımına bağlı olarak bitki büyüme ve gelişmesinin arttığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [Rajkumar et al., 2010]. Dolayısıyla siderofor üretme

kapasitesine sahip bakteriler yeni biyogübre formülasyonlarının tasarımında önemli adaylardır.

2.3.4. İndol-3-Asetik Asit Üretimi

Bitkisel bir hormon olan oksin, bitki büyüme ve gelişmesini kontrol eden temel bileşendir. En önemli doğal oksinlerden biri ise indol-3-asetik asit (IAA) olup bitkiler, bakteriler ve funguslar tarafından üretilir. Bitkilerde IAA hücre bölünmesinde, uzamada, meyve oluşumunda ve senesensin sona erdirilmesinde görev alır. Ayrıca kök uzamasında, yan kök oluşumunda ve kambiyal farklılaşmada da görevlidir [Duca et al., 2014].

Oksin hormonunun mikroorganizmalar tarafından sentezi uzun süredir bilinmekte olup çeşitli tahılların rizosferinden izole edilen mikroorganizmaların %80'inin oksinleri ikincil metabolit olarak sentezlediği bildirilmiştir [Patten and Glick, 1996]. IAA, temel olarak kök sisteminin gelişmesini artırarak bitki-bakteri etkileşimlerinde önemli rol oynar. Besin maddeleri topraktan kökler aracılığıyla alındığı için kök büyümesinin artırılması bitki büyümesini olumlu yönde etkiler. Bu sebeple bitki büyümesini teşvik edici mekanizmalar arasında IAA üretimi en önemli mekanizmalardan biri olarak görülmektedir [Etesami and Maheshwari, 2018].

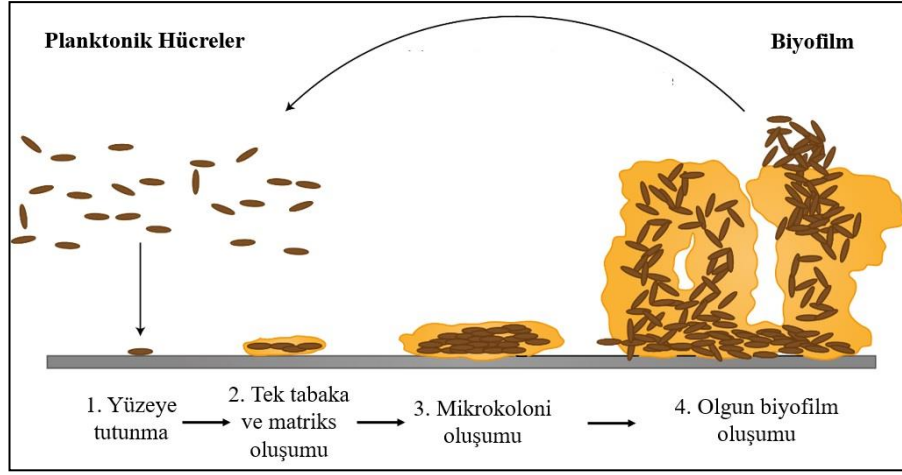
IAA yaygın olarak *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* cinslerine ait türler tarafından üretilir. Mohite, IAA üreten *Bacillus* ve *Lactobacillus* suşlarının inokülasyonu ile buğday bitkisinde büyümenin arttığını bildirmiştir [Mohite, 2013]. Etesami ve diğerleri, IAA üreten rizosferik ve endosferik bakterilerin inokülasyonu ile pirinçte bitki büyümesinin arttığını gözlemlemiştir [Etesami et al., 2015]. Ayrıca oksinlerin sitokin, absisik asit, etilen, jasmonat ve salisilik asit gibi diğer bitkisel hormonların aktivitesini etkileyerek bitkide çeşitli savunma sinyal yollarını kontrol ettiği bildirilmiştir [Verma et al., 2019].

2.3.5. Biyofilm Üretimi

Biyofilmler, biyotik ya da abiyotik yüzeylere yapışan, birbiriyle yakın temas halinde olan ve kendi ürettiği ekstrasellüler polimerik maddelerden oluşan bir matriks içerisine gömülü, bir ya da birden fazla türe ait mikroorganizmaların oluşturduğu (Şekil 2.2), [Vasudevan, 2014], yapıdır [Seneviratne et al., 2010]. Biyofilm oluşturma yeteneği, rizosferik bakterilerin bitki köklerinin yüzeyine tutunmasına fayda sağladığı için bitki-bakteri etkileşimlerinde önemli rol oynar. PGPR'ler bitki köklerine tutunduğunda faydalı mekanizmalarını bitkiye daha kolay aktarabilir ve iyi biyofilm üretme kapasitesine sahip PGPR'ler, çevresel stresin mevcut olduğu koşullarda bile bitki büyümesini arttırabilir [Santoyo et al., 2021a].

Literatürde, biyofilm oluşturan PGPR'lerin tarla koşullarında planktonik formdaki PGPR'lere kıyasla çok daha etkin olduğunu ve IAA üretimi, azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretimi gibi aktivitelerin biyofilmlerde planktonik hücrelere kıyasla çok daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar yer almaktadır [Seneviratne et al., 2010], [Zhang et al., 2015]. Biyofilmlerin diğer bir avantajı ise antibiyotiklere ve sıcaklık, kuraklık, tuzluluk gibi çevresel stres koşullarına karşı dirençli olmaları, bu sayede de mikroorganizmaların toprakta hayatta kalma şansını arttırmasıdır. Buna ek olarak biyofilmlerde planktonik hücrelere kıyasla çok daha yüksek miktarda antimikrobiyal madde üretildiği ve bu durumun bitki patojenlerine karşı koruma sağladığı bilinmektedir [Haque et al., 2020].

Bitki-bakteri etkileşimlerinde biyofilmlerin önemli yere sahip olduğu ve biyofilm üretme yeteneğine sahip mikroorganizmaların doğal yollarla bitki büyümesinin arttırılmasında etkin rol oynadığı görülmektedir. Dolayısıyla, faydalı biyofilm oluşturan bakterilerin tespit edilmesi ve bunların toprak inokülantları olarak kullanılması yüksek potansiyele sahip bir araştırma konusudur [Seneviratne et al., 2010].



Şekil 2.2: Biyofilm oluşumunun şematik gösterimi.

2.4. PGPR'lerin Biyogübre Olarak Kullanımı

Dünyada hızla artan nüfus sebebiyle kısıtlı arazi kaynaklarında maksimum verimle ekin yetiştirmek son derece önemli hale gelmiştir. Yüksek verime ulaşmak için çiftçiler kimyasal olarak sentezlenmiş azot, fosfor ve potasyum içeren gübreleri yoğun olarak kullanmaktadır. Bu gübrelerin aşırı kullanımı suyun, havanın ve toprağın doğrudan ya da dolaylı olarak kirlenmesine sebep olur [Singh et al., 2019]. Tarımda kimyasal gübrelerin, biyositlerin ve pestisitlerin sürekli kullanımı doğal mikroflorayı ve ekosistemi de olumsuz yönde etkiler. Ayrıca bu ürünlerin uzun süreli kullanımı toprağın ve bitkilerin sağlığına, buna bağlı olarak da çevrenin ve insanların sağlığına zarar verir [Kumar et al., 2017]. Bu sebeple, sürdürülebilir tarım için kimyasal tabanlı ürünler yerine biyolojik temelli yeni ürünlere karşı büyüyen bir ilgi ortaya çıkmıştır.

Son yıllarda bitki-mikroorganizma etkileşimleri alanındaki gelişmelere bağlı olarak biyogübre veya biyoinokülant terimi türetilmiştir. Biyogübre; tohumla, bitki yüzeylerine veya toprağa uygulandığında rizosferi ya da bitkinin iç dokularını kolonize ederek konakçı bitkiye besin sağlayan ve bu sayede bitki büyümesini arttıran canlı mikroorganizmalar içeren maddeler olarak tanımlanmaktadır [Basu et al., 2021]. Biyogübrelerde bulunan mikroorganizmalar, azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, bitkisel hormon üretimi gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla bitki büyüme ve gelişmesine fayda sağlar. Bugüne dek rizosferi veya bitkisel iç dokuları kolonize eden ve tarımsal üretimi arttırmak için kullanılan, bakteri, mantar ve protozoa alemlerine

ait farklı mikroorganizma grupları tanımlanmıştır [Singh et al., 2019]. Bu mikroorganizmalar biyogübre olarak tohuma ya da toprağa uygulandığında çoğalabilir, besin döngüsüne katılabilir ve sürdürülebilir tarım için bitkisel üretimin artırılmasına yardımcı olabilir [Itelima et al., 2018].

Mikrobiyal inokülanların kimyasal gübrelerle kıyasla çevre dostu olmaları, yenilenebilir olmaları, tarımsal patojenlere karşı antagonistik etki göstermeleri ve abiyotik stres koşullarıyla mücadele etmeleri gibi avantajları bulunur [Basu et al., 2021]. Dolayısıyla, bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin kullanımı, bitki büyüme ve gelişmesini arttırmak ya da bitkileri hastalıklara karşı korumak için tercih edilebilecek etkin ve çevre dostu yöntemlerden biridir [Kumar et al., 2017].

Bununla birlikte bütün PGPR'ler biyogübre olarak değerlendirilmez. Bitki büyümesini zararlı organizmalara karşı koruma sağlayarak arttıran bakterilere biyopestisitler denir. Bazı PGPR türlerinin hem biyogübre hem de biyopestisit görevi görerek bitki büyümesini arttırdığı gözlemlenmiştir. Örneğin *Burkholderia cepacia* türlerinin *Fusarium spp.*'ye karşı biyokontrol özellikleri gösterdiği, bunun yanı sıra siderofor üretimi ile mısırdaki büyümeyi teşvik ettiği görülmüştür [Vessey, 2003].

Günümüzde çevre bilincinin artması, çevreyi koruyan yasaların çoğalması ve ekolojik ürünlere olan ilginin genişlemesi sebebiyle mikrobiyal gübrelerle olan talep dünya çapında artmaktadır. Mikroorganizma temelli biyogübrelerin kullanımı farklı çalışmalardan farklı sonuçlar çıkarılması ve laboratuvarlarda elde edilen sonuçlarla tarla koşullarında elde edilen sonuçların değişken olması sebebiyle belli bir miktar güvensizlik yaratmakta ve buna bağlı olarak bu ürünler kimyasal gübrelerle kıyasla daha az tercih edilmektedir [García-Fraile et al., 2015]. Buna rağmen, PGPR içeren biyogübrelerin pazar payı her yıl artmakta ve şu anda 24 ülkede yaklaşık 170 kuruluş ticari olarak mikroorganizma temelli biyogübreler üretmektedir. Biyogübreler toplam gübre pazarının %5'ini oluşturmakta ve 150'nin üzerinde mikrobiyal temelli ürün tarımsal çalışmalarda kullanılmaktadır [Mączik et al., 2020]. Mahsul üretimi için küresel biyogübre pazarının 2022'de 2,02 milyar ABD dolarından 2029'a kadar 4,47 milyar ABD dolarına ulaşması beklenmektedir. Yine de yeterli pazar payı ve uygulama için daha fazla çabaya ihtiyaç vardır [Aloo et al., 2022].

2.5. Mikrobiyal Konsorsiyumlar

Son yıllarda çeşitli bitki büyümesini teşvik edici bakteri türlerinin bitki büyümesi üzerine olumlu etkileri keşfedilmiş ve çok sayıda mikrobiyal ürünün ticarileşmesine yol açmıştır. Bu bakteriler tarafından gösterilen faydalı etkilerin arttırılması için bakteriyel konsorsiyumların tasarımı sürdürülebilir bir strateji olarak ilgi görmektedir [Santoyo et al., 2021b]. Bakteriyel konsorsiyumlar genellikle farklı türlerden iki ya da daha fazla uyumlu bakteri içermekle birlikte, bazı durumlarda aynı türe ait farklı suşun karışımı da yüksek aktivite gösterebilir ve mikrobiyal konsorsiyum olarak kabul edilir [Sarma et al., 2015].

Bakteriyel konsorsiyumların çeşitli bitki büyümesini arttırıcı etkileri ve biyokontrol mekanizmalarını kapsamaları nedeniyle bireysel bakteriyel suşlara kıyasla bitkilerde faydalı özellikleri iyileştirdiği bilinmektedir. Ayrıca, tek bir inokülant olarak PGP aktivitesi göstermeyen bakteri kombinasyonlarının bir konsorsiyum içerisinde etkin olarak bu özellikleri gösterdiği görülmüştür [Compant et al., 2019]. Öte yandan, bazı konsorsiyumların bireysel inokülantlara kıyasla daha az bitki büyümesini teşvik edici özellik gösterdiğinin tespit edilmesi, mikrobiyal konsorsiyum tasarımında akılcı ve bilgi odaklı yaklaşımların gerekli olduğunu göstermektedir.

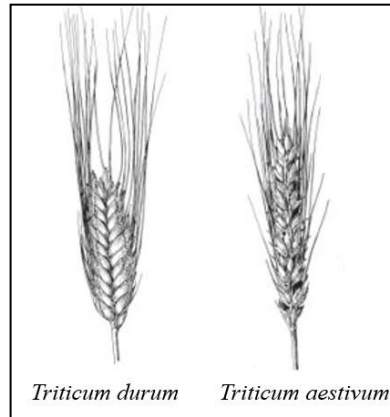
Mikrobiyal konsorsiyumlarda yer alacak mikroorganizmaların seçiminde bu suşların izolasyon kaynakları önemli bir parametredir. Ayrıca, iki veya daha fazla suş bir konsorsiyumda bir araya getirildiğinde bunların bitki büyümesini teşvik etmek için işlevsel olarak rekabet içerisinde olacağı göz önüne alınmalıdır [Santoyo, et al., 2021b]. Tarla koşullarında mikrobiyal konsorsiyumların başarısı olumsuz iklim koşullarına adaptasyon, hayatta kalma ve inokülasyondan sonra toprakta kalıcılık gibi faktörlere, dolayısıyla kullanılan suşların tipine ve işlevine bağlıdır [Bashan et al., 2020].

Bakteriyel konsorsiyumların sera veya tarla koşullarında bitki büyümesini arttırdığını gösteren çeşitli çalışmalar literatürde yer almaktadır. Örneğin, Sohaib ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada *Bacillus* türlerinden oluşan mikrobiyal konsorsiyumun tuz stresi altındaki buğday bitkilerinde fotosentez oranını, karotenoid ve protein miktarını ve buğday verimini arttırdığı görülmüştür [Sohaib et al., 2020].

Pseudomonas, *Xanthomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Brevibacillus* ve *Serratia* gibi çeşitli cinslere ait suşlardan oluşturulan mikrobiyal konsorsiyumların patates, pamuk, nohut, buğday ve domates gibi birçok ekinde büyüme ve gelişmeyi arttırdığı belirtilmiştir [Singh et al., 2014], [Marimuthu et al., 2013], [Goswami et al., 2019].

2.6. Buğday Bitkisi

Buğday (*Triticum* spp.) tek yıllık otsu bir bitki olup Türkiye’de ve dünyada en fazla üretimi yapılan tahıllar arasındadır. Buğday ilk kez Güneydoğu Anadolu bölgesinde kültüre alınmıştır ve bu bölge arpa, çavdar, yulaf gibi tahıl bitkilerinin de doğal yayılış gösterdiği bir bölgedir. Türkiye’de yaklaşık %32’si endemik olmak üzere 11.707 bitki taksonu kayıtlı olup ülkemiz pek çok tarım ürününün genetik çeşitliliğini ve bunların yabani atalarını içeren, değerli gen kaynaklarına sahip bir ülkedir [Özberk, 2016]. Günümüzde iki türe ait buğday çeşitlerinin kültürü yapılmaktadır. Bunlar hekzaploid ekmeklik buğday, *T. aestivum* L. ($2n=42$, AABBDD) ve tetraploid makarnalık buğday *T. durum* ($2n=28$, AABB)’dur (Şekil 2.3) [Web 1, 2022], [Web 2, 2022]. Durum buğdayı çeşitli morfolojik özellikleri, dane kalitesi ve kullanım amacı ile ekmeklik buğdaydan farklıdır. Bu buğday türünde genetik olarak protein içeriği daha yüksek olup bu durum azot gübrelemesinden de etkilenmektedir [Wyzinska and Rozewicz, 2021].



Şekil 2.3: *Triticum durum* ve *Triticum aestivum*.

Buğday, dünya genelinde mısır ve pirinç ile birlikte en çok üretilen tahıllardan biridir ve FAO verilerine göre 2020 yılında dünyada buğday üretimi 776,5 milyon tona ulaşmıştır [Web 3, 2022]. Türkiye’de ise buğday üretimi 2020/2021 sezonunda 20,5 milyon ton olmuştur. TÜİK verilerine göre Türkiye’deki buğday ekim alanları dünya buğday ekim alanlarının %3,2’sini, Türkiye’de ekilen toplam tahıl alanının %44’ünü oluşturmaktadır. Türkiye’de buğday ekim alanı 2020/2021 sezonunda toplam 69,2 milyon dekar olup bu alanın %42’sini oluşturan iller Tablo 2.1’de verilmiştir [Web 4, 2022].

Tablo 2.1: Türkiye’de buğday üretimi yapılan ilk 10 il.

İller	Buğday Üretimi (%)
Konya	%9
Şanlıurfa	%5,8
Ankara	%5,2
Diyarbakır	%3,9
Yozgat	%3,8
Sivas	%3,5
Tekirdağ	%2,8
Çorum	%2,7
Kayseri	%2,7
Mardin	%2,5

Ekmeğin hammaddesi olması sebebiyle yoğun olarak ticaretinin yapılması ve bu sayede ekonomiye katkı sağlaması, yüksek oranda protein ve karbonhidrat içerdiği için besleyici bir gıda olması, depolamasının, taşımalarının, işlenmesinin kolay olması ve geniş kullanım alanları olması gibi faktörler sebebiyle buğday, ülkeler tarafından stratejik olarak yetiştirilmektedir [Sezen, 2017]. Tüm bu özelliklerinden dolayı buğday tarımı yapmak hem Türkiye hem de dünya ülkeleri için önemlidir

Tez çalışması kapsamında konsorsiyumun adayı bakterilerin izolasyonu öncesi zenginleştirilmesi amacıyla saksı denemesinde kullanılan Eminbey çeşidi ise, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü’ne ait bir makarnalık buğday çeşidi olup verim potansiyeli sulamalı şartlarda 500-650 kg/da’ya kadar çıkabilmektedir. Soğuğa ve kışa dayanıklı olup kışlık gelişme tabiatı göstermektedir. Kılçıklı ve beyaz başaklı, orta boylu, sağlam saplıdır ve taneleri uzamış yumurta biçimindedir. Ayrıca protein içeriği ve irmik rengiyle makarnalık kalitesi iyi bir çeşittir [Web 5, 2022].

3. MATERİYAL

3.1. Kullanılan Mikroorganizma Suşları

Bacillus cereus DSMZ 4312, *Enterococcus faecalis* ATCC 8213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* (laboratuvar izolatu), *Proteus vulgaris* (laboratuvar izolatu), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kontrol soyları Gebze Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Mikrobiyota Laboratuvarı stoklarından temin edildi.

3.2. Kullanılan Bitki Materyali

Saksı deneylerinde makarnalık buğday (*Triticum durum* L. cv. Eminbey çeşidi) Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilerek kullanıldı.

Deneylerde kullanılan kimyasallar, çözeltiler, besiyerleri, cihazlar, kit ve reaktifler ile DNA belirteçleri sırasıyla Tablo 3.1, Tablo 3.2, Tablo 3.3, Tablo 3.4, Tablo 3.5 ve Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.1: Kullanılan kimyasallar.

Adı	Markası
Alkoller	
Etil Alkol	Düzey Lab
Gliserol	Sigma Aldrich
Metil Alkol	Honeywell
Amino Asitler	
L-Arjinin	Neofroxx
L-Fenilalanin	Neofroxx
L-Lizin	Neofroxx
L-Ornitin	Neofroxx
L-Triptofan	Sigma Aldrich
Asitler	
Asetik Asit	Merck
Hidroklorik Asit	Sigma Aldrich

Tablo 3.1: Devam.

DL-malik Asit	Thermo Scientific
Nitrik Asit	Sigma Aldrich
Perklorik Asit	Sigma Aldrich
Ayırıcılar	
Bromtimol Mavisi	Sigma Aldrich
Fenol Kırmızısı	Neofroxx
Kovac's Ayırıcı	Biolife
Metil Kırmızısı	Merck
N'N'N'N'-tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin	Sigma Aldrich
Bileşikler	
Agar	Merck
Agaroz	Prona
Amonyum Metavanadat (NH ₄ VO ₃)	Sigma Aldrich
Amonyum Molibdat ((NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄)	Sigma Aldrich
Amonyum Sülfat ((NH ₄) ₂ SO ₄)	Merck
Bakır (II) Sülfat Pentahidrat (CuSO ₄ .5H ₂ O)	Sigma Aldrich
Biotin	Sigma Aldrich
Borik Asit (H ₃ BO ₃)	Sigma Aldrich
Çinko Sülfat Heptahidrat (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	Sigma Aldrich
Demir (II) Sülfat (FeSO ₄)	Sigma Aldrich
Demir (III) Klorür Hekzahidrat (FeCl ₃ .6H ₂ O)	Sigma Aldrich
Dipotasyum Fosfat (K ₂ HPO ₄)	Merck
Disodyum EDTA Dihidrat (Na ₂ H ₂ EDTA.2H ₂ O)	Sigma Aldrich
Disodyum Fosfat (Na ₂ HPO ₄)	Merck
Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA)	Sigma Aldrich
Hekzadesiltrimetilamonyum Bromür (HDTMA)	Sigma Aldrich
Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	Sigma Aldrich
İndol-3-asetik Asit	Sigma Aldrich

Tablo 3.1: Devam.

Magnezyum Sülfat Heptahidrat (MgSO ₄ .7H ₂ O)	Merck
Manganaz (II) Sülfat Monohidrat (MnSO ₄ .H ₂ O)	Sigma Aldrich
Monopotasyum Fosfat (KH ₂ PO ₄)	Sigma Aldrich
Pepton	Fluka
Piperazin	Merck
Potasyum Hidroksit (KOH)	Zag
Potasyum Klorür (KCl)	Sigma Aldrich
Pridoksin	Sigma Aldrich
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma Aldrich
Sodyum Klorür (NaCl)	Merck
Sodyum Molibdat (Na ₂ MoO ₄)	Merck
Sodyum Sitrat (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇)	Sigma Aldrich
Trikalsiyum Fosfat (Ca ₃ (PO ₄) ₂)	Merck
Tris-base	Sigma Aldrich
Üre	Sigma Aldrich
α-naftol	Fluka
Boyalar	
6X Jel Yükleme Boyası	Thermo Scientific
Chrome Azurol S	Sigma Aldrich
Gram Boyama Seti	Sigma Aldrich
Kristal Viyole	Merck
Malaşit Yeşili	Merck
Safe-Red Jel Boyası	Abm
Şekerler	
D(+)-Glukoz	Riedel-De Haen
D(-)-Fruktoz	Riedel-De Haen
D(+)-Ksiloz	Fluka
D(+)-Laktoz	Neofroxx
D(-)-Mannitol	Merck
D(+)-Mannoz	Fluka
D(+)-Sellobiyoz	Fluka
D(+)-Sükroz	Fluka
D(+)-Trehaloz	Fluka
Yağlar	
İmmersiyon Yağı	Merck
Mineral Yağ	Sigma Aldrich

Tablo 3.2: Kullanılan çözeltiler.

Çözelti	Hazırlanışı
%0,02 (w/v) Metil Kırmızısı	0,1 gram metil kırmızısı 300 ml %95 etanolde çözüldü. Üzerine 200 ml dH ₂ O eklendi.
%0,1 Kristal Viyole	0,1 gram kristal viyole 10 ml %95 etanolde çözüldü. Üzerine 90 ml dH ₂ O eklendi. Filtre edildi.
%0,5 Bromtimol Mavisi	5 mg bromtimol mavisi 1 ml dH ₂ O'da çözülüp son hacim 0.2 M KOH ile 10 ml'ye tamamlandı.
%1 (w/v) Malaşit Yeşili	1 gram malaşit yeşili 100 ml dH ₂ O'da çözüldü.
%1 (w/v) N'N'N'N'-tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin	0,1 gram N'N'N'N'-tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin 10 ml dH ₂ O'da çözüldü.
%1,64 Fe-EDTA	0,164 gram Fe-EDTA 10 ml dH ₂ O'da çözüldü.
%10 FeCl ₃	12 gram FeCl ₃ .6H ₂ O 100 ml dH ₂ O'da çözüldü. Üzerine 2,5 ml HCl eklendi.
%3 H ₂ O ₂	3 ml H ₂ O ₂ üzerine 97 ml dH ₂ O eklendi.
%30 Asetik Asit	70 ml dH ₂ O üzerine 30 ml asetik asit eklendi.
%40 (w/v) KOH	20 gram KOH 50 ml dH ₂ O'da çözüldü.
%5 α-naftol	5 gram α-naftol 100 ml %95 etanolde çözüldü.
0.2 M KOH	0,56 gram KOH tartılıp 50 ml dH ₂ O'da çözüldü.
0.5 M EDTA	93,05 gram EDTA 500 ml dH ₂ O'da çözüldü. pH 8'e ayarlandı.
1X TAE Buffer	20 ml 50X TAE buffer üzerine 980 ml dH ₂ O eklendi.
50X TAE Buffer	242 gram Tris-base 700 ml dH ₂ O'da çözüldü. 57,1 ml %100 asetik asit ve 100 ml 0.5 M EDTA eklendi. dH ₂ O ile 1 litreye tamamlandı

Tablo 3.2: Devam.

Barton Reaktifi	0,25 gram amonyum molibdat 4 ml dH ₂ O'da çözüldü. 0,025 gram amonyum metavanadat 6 ml kaynar suda çözüldü. Üzerine 2,5 ml nitrik asit eklendi. 1. ve 2. solüsyon karıştırıldı. dH ₂ O ile 10 ml'ye tamamlandı.
CAS Reaktifi	0,06 gram CAS 50 ml dH ₂ O'da çözüldü. 0,0027 gram FeCl ₃ .6H ₂ O 10 ml 10 mM HCl'de çözüldü. 0,073 gram HDTMA 40 ml dH ₂ O'da çözüldü. 1,5 ml FeCl ₃ çözeltisi ile 7,5 ml CAS çözeltisi karıştırıldı ve HDTMA çözeltisi üzerine eklendi. 4,307 gram piperazin 30 ml suda çözüldü ve pH'ı derişik HCl ile 5.6'ya ayarlandıktan sonra CAS-HDTMA karışımına eklenip distile suyla 100 ml'ye tamamlandı.
Fe-EDTA	3,8 gram Na ₂ H ₂ EDTA.2H ₂ O 10 ml 1 M NaOH içinde çözdürüldü. 2,5 gram FeCl ₃ .6H ₂ O 5 ml dH ₂ O'da çözüldü. İki solüsyon karıştırılıp 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve filtre edildi. Süzüntü iki kez %95 etanolle yıkandı. Oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra toz halinde elde edildi.
Fizyolojik Tuzlu Su	8,5 gram NaCl 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Mavi Boya Çözeltisi	0,06 gram CAS 50 ml dH ₂ O'da çözüldü. 0,0027 gram FeCl ₃ .6H ₂ O 10 ml 10 mM HCl'de çözüldü. 0,073 gram HDTMA 40 ml dH ₂ O'da çözüldü. 1,5 ml FeCl ₃ çözeltisi ile 7,5 ml CAS çözeltisi karıştırıldı ve HDTMA çözeltisi üzerine eklendi. Suyla 100 ml'ye tamamlandı.
Salkowski Ayıracı	1 ml 0.5 M FeCl ₃ .6H ₂ O çözeltisi üzerine 49 ml %35 perklorik asit eklendi.

Tablo 3.3: Kullanılan besiyerleri.

Besiyeri	Hazırlanışı
CAS Blue Agar	100 ml mavi boya çözeltisi hazırlanıp 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. 900 ml steril LB agar içerisine eklendi ve Petri kaplarına döküldü.
Christensen Üre Agar	1 gram pepton, 1 gram glukoz, 5 gram NaCl, 2 gram KH ₂ PO ₄ , 0,012 gram fenol kırmızısı 100 ml dH ₂ O'da çözülüp pH'ı 6.7'ye ayarlandı ve 0,22 µm por çaplı filtreden geçirildi. 15 gram agar 900 ml dH ₂ O'da çözülüp 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. Soğuduktan sonra karıştırılıp yatık olarak katılaşması sağlandı.
Davis Minimal Agar	7 gram KH ₂ PO ₄ , 2 gram KH ₂ PO ₄ , 1 gram (NH ₄) ₂ SO ₄ , 1 gram glukoz, 0,5 gram sodyum sitrat, 0,1 gram MgSO ₄ .7H ₂ O, 15 gram agar 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. pH 7'ye ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Fenilalanin Agar	2 gram L-fenilalanin, 3 gram maya özütü, 5 gram NaCl, 1 gram Na ₂ HPO ₄ , 12 gram agar 1 litre dH ₂ O'da çözülüp pH 7'ye ayarlandı. Tüplere bölünerek 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı ve yatık olarak katılaşması sağlandı.
Fenol Kırmızısı Sıvı Besiyeri (Merck)	15 gram fenol kırmızısı sıvı besiyeri 1 litre dH ₂ O'da çözüldü ve pH 7.4'e ayarlandı. Tüplere bölünerek 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Hugh-Leifson Agar (Conda)	9,8 gram O-F bazal besiyeri 900 ml dH ₂ O'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. Soğuduktan sonra 100 ml %10 glukoz solüsyonu eklendi. Tüplere bölünerek dik şekilde katılaşması sağlandı.
LB Agar (Caisson)	40 gram LB agar 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.

Tablo 3.3: Devam.

LB Sıvı Besiyeri (Caisson)	25 gram LB sıvı besiyeri 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Metil Kırmızısı-Voges Proskauer (MR-VP) Sıvı Besiyeri (Biolife)	17 gram MR-VP sıvı besiyeri 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. Tüplere bölünerek 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Moeller Dekarboksilaz Sıvı Besiyeri (BD)	10,5 gram Moeller dekarboksilaz sıvı besiyeri 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
NFb Agar	5 gram malik asit, 0,5 gram KH ₂ PO ₄ , 0,2 gram MgSO ₄ .7H ₂ O, 0,2 gram NaCl, 10 mg biotin, 20 mg pridoksin, 0,2 gram Na ₂ MoO ₄ , 0,235 gram MnSO ₄ .H ₂ O, 0,28 gram H ₃ BO ₃ , 0,008 gram CuSO ₄ .5H ₂ O, 0,24 gram ZnSO ₄ .7H ₂ O, 15 gram agar, 2 ml %0,5 bromtimol mavisi, 4 ml %1,64 Fe-EDTA 100 ml dH ₂ O'da çözülüp pH 6.8'e ayarlandı. Son hacim dH ₂ O ile 1 litreye tamamlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
ONPG Sıvı Besiyeri (Himedia)	13,10 gram ONPG sıvı besiyeri 1 litre distile suda çözüldü. Manyetik karıştırıcı üzerinde ısıtılarak kaynaması sağlandı. Steril cam tüplere 1'er ml aktararak kullanıldı.
Peptonlu Su (Merck)	25,5 gram peptonlu su 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Pikovskaya Agar	10 gram glukoz, 2 gram (Ca ₃ PO ₄) ₂ , 0,5 gram (NH ₄) ₂ SO ₄ , 0,2 gram KCl, 0,1 gram MgSO ₄ .7H ₂ O, 0,5 gram maya özütü, 0,0001 gram MnSO ₄ .H ₂ O, 0,0001 gram FeSO ₄ , 15 gram agar 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. pH 7'ye ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.

Tablo 3.3: Devam.

Pikovskaya Sıvı Besiyeri	10 gram glukoz, 2 gram $(Ca_3PO_4)_2$, 0,5 gram $(NH_4)_2SO_4$, 0,2 gram KCl, 0,1 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 gram maya özütü, 0,0001 gram $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0,0001 gram $FeSO_4$ 1 litre dH_2O 'da çözüldü. pH 7'ye ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
SIM Agar (Merck)	30 gram SIM besiyeri 1 litre dH_2O 'da çözüldü. Tüplere bölünerek 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. Dik olarak katılaşması sağlandı.
Simmon Sitrat Agar (Acumedia)	24,2 gram Simmon sitrat agar 1 litre dH_2O 'da çözüldü. Tüplere bölünerek 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. Yatık olarak katılaşması sağlandı.
Triptik Soy Agar (Merck)	40 gram Triptik soy agar 1 litre dH_2O 'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.
Triptik Soy Sıvı Besiyeri (Merck)	30 gram Triptik soy sıvı besiyeri 1 litre dH_2O 'da çözüldü. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.

Tablo 3.4: Kullanılan cihazlar.

Cihaz	Markası
+4 °C Buzdolabı	Vestel
-20 °C Derin Dondurucu	Bosch
-80 °C Derin Dondurucu	Thermo Scientific, Forma 86°C ULT Freezer
Biyogüvenlik Kabini	Tezsan
Çalkalayıcı	Labotron
Çeker Ocak	Tezsan
Etüv	VWR, INCU-Line IL 53
Etüv	Heraeus, B6
Güç Kaynağı	Cleaver Scientific, MP-250V
Hassas Terazî	Kern, EW 220-3NM
HPLC	Agilent, 1260 Infinity II Prime LC System

Tablo 3.4: Devam.

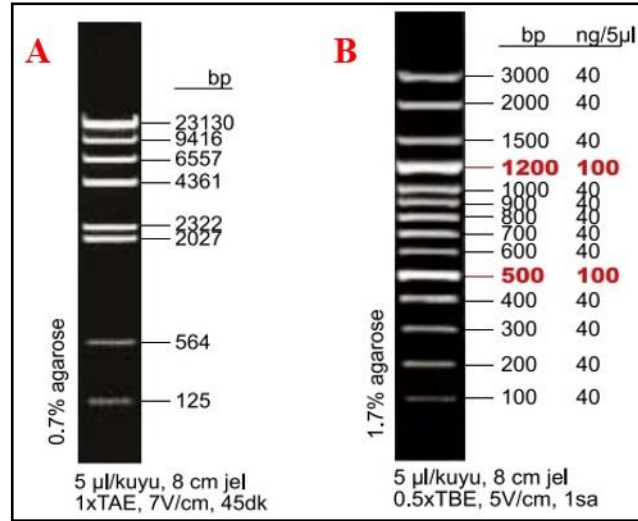
Jel Tankı	BioRad, Mini-Sub Cell GT
Manyetik Karıştırıcı	Daihan Scientific, MSH-20A
Mikroalga	Bluesky
Mikroplaka Okuyucu	BMG Labtech, Fluostar Omega
Mikrosantrifüj	Hermle, Z 216 M
Mikroskop	Nikon, Eclipse E100
Nefelometre	Becton Dickinson, CrystalSpec
Otoklav	ALP, CL 40L
pH Metre	Hanna Instruments, pH 211 Microprocessor pH Meter
Santrifüj	Gyrozen, 124Br
Spektrofotometre	Shimadzu, UV-1800
Spektrofotometre	Thermo Scientific, Nanodrop Lite
UV Görüntüleme Cihazı	Vilber-Lourmat
Vorteks	Daihan Scientific, VM10
Homojenizatör	Retsch, Mixer Mill MM 400

Tablo 3.5: Kullanılan kit ve reaktifler.

Adı	Markası
DreamTaq Green DNA Polymerase	Thermo Scientific
PureLink Genomic DNA Miniprep Kit	Invitrogen
ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit	Zymo Research

Tablo 3.6: Kullanılan DNA belirteçleri.

Adı	Markası
100 bp ladder plus	Hibrogen
Lambda DNA/ <i>Hind</i> III	Hibrogen



Şekil 3.1: A: Lambda DNA/Hind III MG-LDR-LH3, B: 100 bp ladder plus MG-LDR-100P.

4. YÖNTEM

4.1. Buğday Tarlalarından Toprak Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Analizi

Toprak örneklerinin alınması için coğrafi konum olarak birbirlerinden uzaklıkları ve toprak yapılarındaki olası farklılıklar göz önüne alınarak, ülkemizin farklı coğrafik bölgelerini temsil eden ve buğday ekiminin yaygın olarak yapıldığı (Bkz. Tablo 2.1) Ankara, Diyarbakır, Konya, Sivas ve Tekirdağ illeri seçildi. Her bir il için iki farklı buğday tarlası olmak üzere toplamda 10 tarla belirlendi. Bütün tarlalarda birbirine 20 metre uzaklıkta olacak şekilde 12 mikrobölge seçildi ve bu mikrobölgelerin her birinden 0-15 cm derinlikte en az 500 gram olacak şekilde toprak örnekleri alındı.

Alınan tüm toprak örnekleri 4 mm'lik elekten geçirildi ve aynı tarladan gelen örnekler karıştırıldı. Hazırlanan toprak örneklerinden 1 kg ayrılarak Konya Gıda Tarım Üniversitesi Stratejik Ürünler Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SARGEM) fizikokimyasal analizleri yaptırıldı. Kalan toprak örnekleri ise saksı deneylerinde içerikteki bakteri topluluğunun canlandırılarak izolasyonunun sağlanması amacıyla kullanıldı.

4.2. Sera Koşullarında Buğday Yetiştirilmesi

Sera koşullarında buğday yetiştirilmesi için *Triticum durum* L. cv. Eminbey çeşidine ait buğday tohumları kullanıldı. Hazırlanan toprak örnekleri her bir tarla için 3 tekrarlı ve toplamda 30 saksı olacak şekilde saksılara aktarıldı. Her bir saksıya 6 tane buğday tohumu 2 cm derinliğe ekildi ve saksılar sera koşullarında (sıcaklığı gündüz 22 °C/gece 18 °C; fotoperiyodu 16s aydınlık/8s karanlık; nemi %60-65) büyümeye bırakıldı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Farklı 5 ilden alınan topraklar kullanılarak hazırlanan saksıların buğday ekiminden sonraki görüntüsü.

4.3. Rizosferik Toprak Örneklerinin Alınması

Buğdaylar 3-4 yapraklı evreye geldiğinde kökleri ile birlikte saksılardan toplanarak 20 ml steril fizyolojik tuzlu su içeren falkon tüplerine alındı (Şekil 4.2). Kök etrafındaki rizosferik toprağın köklerden tamamen ayrılması sağlandıktan sonra bitkiler çıkarıldı ve iyice çalkalandıktan sonra tüpler 4000 rpm’de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı. Elde edilen toprak örnekleri +4 °C’ye kaldırıldı.



Şekil 4.2: Rizosferik toprak örneklerinin alınması.

4.4. Toprakdan Total DNA İzolasyonu

Rizosferik toprak örneklerinin mikrobiyom profilinin belirlenmesi amacıyla topraktan total DNA izolasyonu ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit ile üreticinin talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi.

Elde edilen total DNA örneklerinden 5 µl alınarak 1 µl yükleme boyası ile karıştırıldı ve %0,8'lik agaroz jele yüklenerek 90 V'ta 20 dakika yürütüldü. Yürütmenin ardından jelde DNA'nın varlığı UV görüntüleme sistemi kullanılarak belirlendi. Aynı zamanda DNA örneklerinin miktarı ve saflığı NanoDrop Lite cihazında ölçüldü. Elde edilen total DNA örnekleri 1210649 no'lu TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında metagenomik analizlerinin yapılması için Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne gönderildi.

4.5. Toprakdan Bakteri İzolasyonu

Toprakdan bakteri izolasyonu için tüm rizosferik toprak örneklerinden birer gram tartılarak 9 ml peptonlu su içeren cam tüplere alındı ve hafifçe vorteks ile karıştırıldı. Her bir örnek için 2 kültür hazırlanarak farklı sıcaklıklarda üreyebilen bakterilerin canlandırılabilmesi amacıyla 30 ve 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından steril fizyolojik tuzlu su ile peptonlu su içindeki toprak örneklerinden 10^{-1} - 10^{-10} 'luk seri dilüsyonlar hazırlanarak 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} ve 10^{-10} dilüsyonlarından 100 µl alındı ve LB agar, Triptik soy agar ve Davis minimal agar besiyerlerine steril Drigalski kullanılarak yayma ekim yapıldı. Petriler 30 ve 37 °C'de 48 saat inkübe edildi.

İnkübasyonun ardından besiyerinde gelişim gösteren koloniler seçilerek çizgi ekim yöntemiyle izolasyon besiyerine ekildi. Her bir farklı koloni tek koloni halinde elde edildikten sonra yeni besiyerine ekilerek saflaştırıldı.

Saflaştırılan izolatların %80 gliserol içerisinde stokları hazırlanarak -20 ve -80 °C'de saklandı.

4.6. İzolatların Ön Tanımlama Testleri

Saflaştırılan izolatların koloni morfolojisi incelendikten sonra Gram boyama, spor boyama, katalaz ve oksidaz testleri gerçekleştirildi.

4.6.1. Koloni Morfolojisinin İncelenmesi

Tüm izolatlar katı besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekilerek 30 ve 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından oluşan kolonilerin rengi, şekli, kenarı, yüksekliği, yüzeyi ve görünümü gibi özellikleri incelenip kaydedildi.

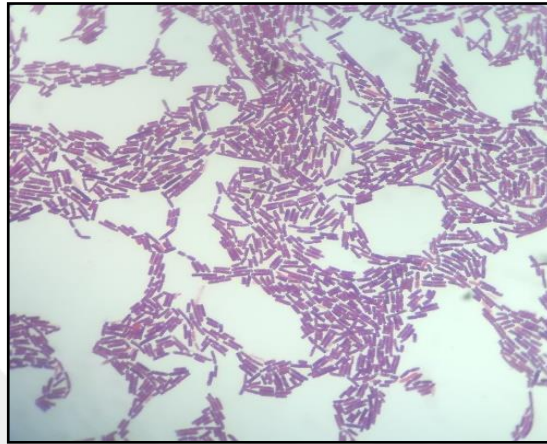
4.6.2. Gram Boyama

Gram boyama, bakterilerin hücre duvar yapılarındaki farklılıklara göre sınıflandırılmasında kullanılan bir diferansiyel boyama yöntemidir. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı kalın bir peptidoglikan tabakasından, Gram negatif bakterilerin hücre duvarı ise ince bir peptidoglikan tabakası ve bunun üzerinde lipit yapılı bir dış membrandan oluşmaktadır. Gram boyama sırasında bakteriler ilk olarak kristal viyole ve lugol ile muamele edilir. Oluşan kristal viyole-lugol kompleksi hücre içine alınır. Ardından renksizleştirme aşamasında kullanılan alkol, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının su kaybederek büzüşmesine, Gram negatif bakterilerin hücre duvarının ise yüksek yağ oranından dolayı çözünmesine ve hücre duvarında porlar oluşmasına sebep olur. Bu yüzden Gram pozitif bakteriler kristal viyole-lugol kompleksini tutarak mor renge boyanırken Gram negatif bakteriler boya kompleksini dışarı bırakarak renksizleşir ve son aşamada uygulanan karşıt boya ile kırmızı-pembe renge boyanırlar [Leboffe, 2011].

Gram boyama için elde edilen izolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültürlerinden steril öze ile örnek alındı ve lam üzerine 1 damla su ile yayıldı. Lam ateşten geçirilerek tespit edildikten ve örnek iyice kurutulduktan sonra lam üzerine kristal viyole uygulandı ve 1 dakika bekletildi. Distile su ile yıkamanın

ardından lama lugol damlatılarak 1 dakika bekletildi. Renksizleştirme için lam alkol ile yıkandı. Son olarak lam üzerine safranin uygulandı ve 50 saniye bekletildi.

Kuruyan lamlar ışık mikroskopunda 100x objektifinde immersiyon yağı yardımı ile incelendi ve mor renkli örnekler Gram pozitif, pembe renkli örnekler Gram negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: 10 numaralı izolata ait Gram boyama (Gram pozitif) görüntüsü.

4.6.3. Katalaz Testi

Katalaz, hücresel bir toksin olan hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasından sorumlu enzim olup genellikle aerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler tarafından üretilir. Bakteri kültürüne hidrojen peroksit damlatıldığında gaz kabarcıkları oluşuyorsa ilgili bakteri katalaz pozitif, gaz kabarcığı oluşumu gözlenmiyorsa bakteri katalaz negatif olarak değerlendirilir [Leboffe, 2011].

Katalaz testi için isolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültürlerinden örnek alınarak lama yayıldı. Lam üzerine 1 damla %3 hidrojen peroksit damlatılarak gaz çıkışı incelendi ve + (zayıf), ++ (orta), +++ (iyi), ++++ (çok iyi) olacak şekilde derecelendirildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 8213 suşları kullanıldı.

4.6.4. Oksidaz Testi

Oksidaz testi, elektron taşıma zincirindeki son reaksiyonu katalizleyen sitokrom c oksidaz enziminin bakterilerde bulunup bulunmadığını araştırmaya yönelik bir testtir. Tetrametil-*p*-fenilendiamin gibi boyalar sitokrom c oksidaz varlığında yükseltgenerek mavi renk oluşturur [Alexander and Strete, 2001].

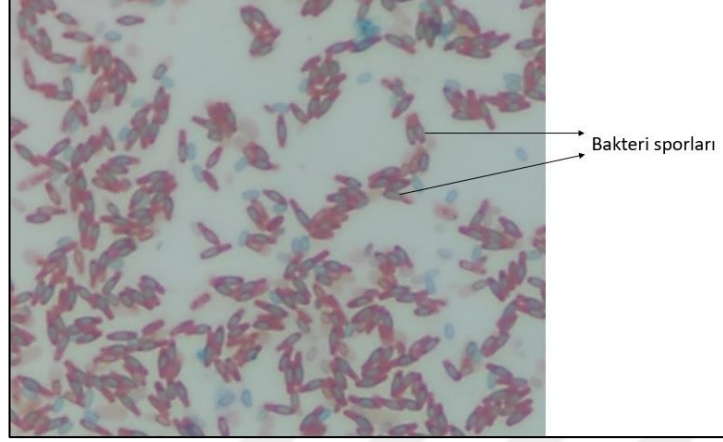
Bu test için ayıraç olarak N’N’N’N’-tetrametil-*p*-fenilendiamin (%1 w/v) hazırlandı ve filtre kâğıdına damlatıldı. İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültürlerinden steril kürdan yardımıyla örnek alınıp ayıraç damlatılmış filtre kâğıdına yayıldı. İlk 20 saniye içinde mavi renk oluşturan izolatlar oksidaz pozitif, beyaz renk oluşturan ya da 20 saniyeden sonra mavi renk oluşturan izolatlar oksidaz negatif olarak değerlendirildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692 ve *S. aureus* ATCC 29213 kontrol suşları kullanıldı.

4.6.5. Spor Boyama

Spor boyama, bakterilerde endosporların varlığının, konumunun ve şeklinin gözlemlenmesi için kullanılan bir diferansiyel boyama yöntemidir. Endosporlar vejetatif hücreye kıyasla çok daha fazla katman içerdiği ve daha korunaklı bir yapı olduğu için basit boyama yöntemleriyle boyanmazlar. Schaeffer-Fulton metodu bakteriyel endosporların boyanmasında en sık kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde bir ısı kaynağı üzerinde malaşit yeşili ile endosporların boyanması sağlanır [Leboffe, 2011].

Spor boyama sırasında katalaz testi için hazırlanan kültürler kullanıldı. Bu kültürler katalaz testinin ardından 5 gün +4 °C’de bekletilerek kültürlerin yaşlanması ve spor üretmesi sağlandı. Kültürlerden alınan örnekler lama yayılarak ateşten geçirme yöntemiyle fikse edildi. Lam üzerine filtre kâğıdı yerleştirilerek hazırlanan preparat kaynar su banyosu üzerine alındı. Filtre kâğıdı üzerine 5 dakika boyunca malaşit yeşili (%1 w/v) damlatılarak kâğıdın kurumasına izin verilmeden boyama gerçekleştirildi. Ardından lam distile su ile yıkanıp 30 saniye safranin ile boyandı.

Kuruyan preparatlar ışık mikroskopunda 100x objektifinde gözlemlenerek endosporların konumu ve şekli değerlendirildi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: 23 numaralı izolata ait spor boyama görüntüsü.

4.7. İzolatların Biyokimyasal Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Testler

4.7.1. IMViC Testi

IMViC testi indol, metil kırmızısı, Voges-Proskauer ve sitrat testlerinden oluşan kombine bir test olup, elde edilen dört farklı test sonucu bir bütün olarak değerlendirilir.

4.7.1.1 İndol Testi

İndol testi, bakterilerde triptofanaz enzimi aracılığıyla indol üretiminin araştırıldığı bir testtir. Bu enzimin varlığında triptofan aminoasidi yıkıma uğratılarak indol, pirüvik asit ve NH_3 oluşturulur. Ortama Kovac's ayracı eklendiğinde, oluşan indolden dolayı yüzeyde kırmızı renkli bir halka oluşur ve test pozitif kabul edilir [Leboffe, 2011].

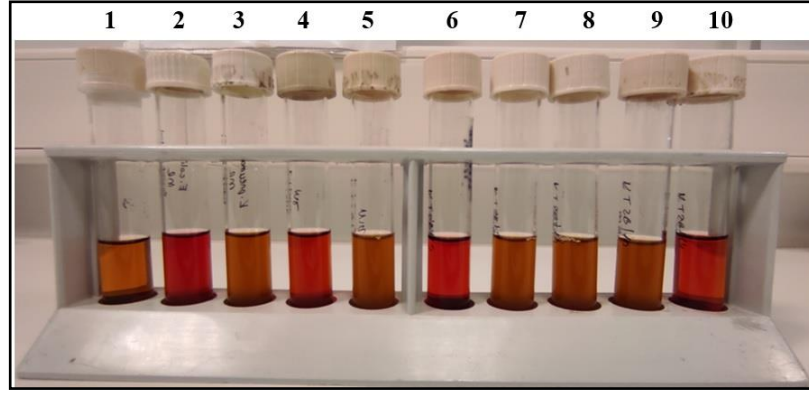
İndol testi için SIM (sülfür-indol-hareketlilik) agar kullanıldı. Bu besiyeri hidrojen sülfür (H_2S) üretimi, indol ve hareketlilik testlerinin eş zamanlı yapılmasına olanak

sağlayan yarı katı bir besiyeridir. İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültürlerinden iğne ile alınarak steril cam tüplerde hazırlanmış SIM agara tek bir ekim hattı oluşturacak şekilde ekim yapıldı. Tüplerin kapakları hafifçe gevşetilerek kültürler 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kültürler ilk olarak H₂S üretimi ve hareketlilik yönünden incelendi. Ardından tüplere 5'er damla Kovac's ayırıcı damlatılarak indol testi gerçekleştirildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *Proteus vulgaris* (H₂S üretimi: +, hareketlilik: +, indol: +) ve *Klebsiella pneumoniae* (H₂S üretimi: -, hareketlilik: -, indol: -) kullanıldı.

4.7.1.2. Metil Kırmızısı (MR) Testi

Metil kırmızısı testi, glukoz fermantasyonu sonucu asidik ürünler oluşturan enterik bakterilerin tespit edilmesine yönelik bir testtir. Tüm enterik bakteriler Embden-Meyerhof-Parnas yolağı ile glukozu pirüvik aside metabolize edebilir. Sonraki aşamada karışık asit yolağını kullanarak pirüvik asitten laktik, formik ve asetik asit üretebilen bakterilere metil kırmızısı pozitif bakteriler denir. Butilen glikol yolağını kullanarak pirüvik asitten nötral ürünler oluşturan bakterilere ise metil kırmızısı negatif bakteriler denir [Alexander and Strete, 2001].

Bu test için izolatların uygun besiyeri içinde 24 saatlik taze sıvı kültürü hazırlandı. Hazırlanan bu kültürden 100 µl alınarak MR-VP sıvı besiyerine ekim yapıldı ve kültürler 30 °C'de 5 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüplere onar damla metil kırmızısı (%0,02 w/v) damlatıldı ve kırmızı renk oluşumu görülen tüpler pozitif, renk değişikliği görülmeyen tüpler negatif kabul edildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* suşları kullanıldı (Şekil 4.5).

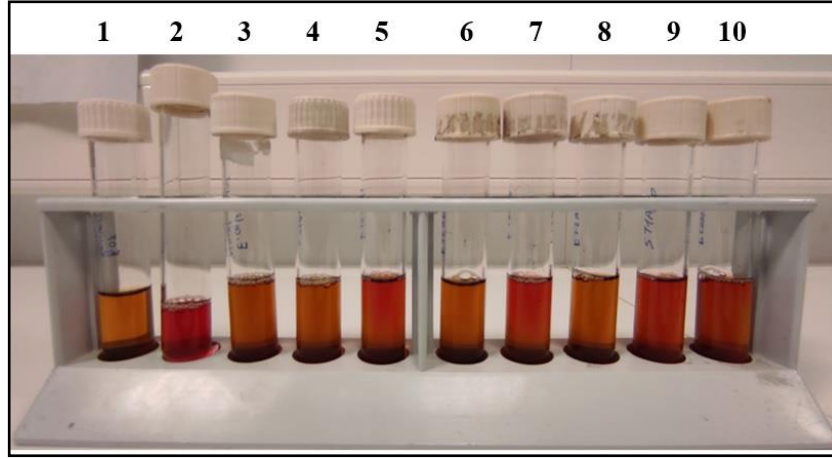


Şekil 4.5: MR testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol, 3: Negatif kontrol, 4, 6, 10: Pozitif izolatlar, 5, 7, 8, 9: Negatif izolatlar.

4.7.1.3. Voges-Proskauer (VP) Testi

Voges-Proskauer testi butilen glikol yolağı aracılığıyla pirüvik asitten asetoin (asetil metil karbinol) gibi nötral yan ürünler üreten enterik bakterilerin belirlenmesine yönelik bir testtir [Alexander and Strete, 2001].

Bu test için izolatların uygun besiyeri içinde 24 saatlik taze sıvı kültürü hazırlandı. Hazırlanan bu kültürden 100 µl alınarak MR-VP sıvı besiyerine ikinci bir set ekim yapıldı ve kültürler 30 °C'de 2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra tüplere sırasıyla 12 damla %5 α-naftol ve 4 damla %40 KOH damlatıldı. Tüpler 30 saniye kuvvetlice çalkalandıktan sonra 1 saat bekletildi ve kırmızı renk oluşumu pozitif, renk değişimi olmaması negatif sonuç olarak değerlendirildi (Şekil 4.6). Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *K. pneumoniae* ve *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı.

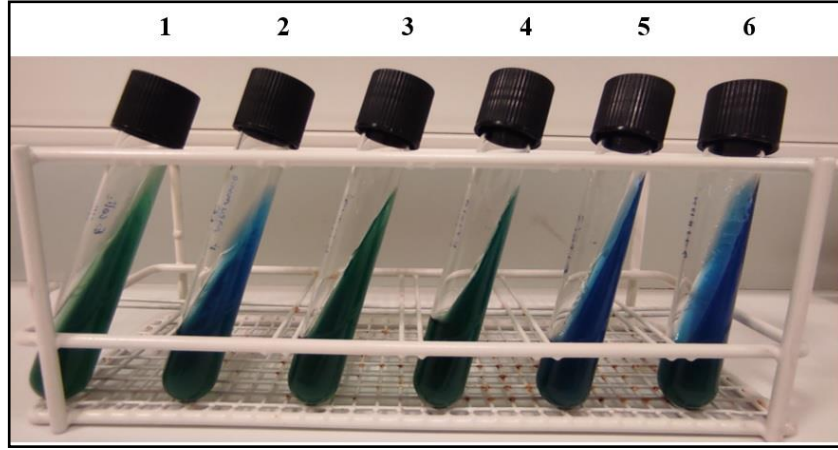


Şekil 4.6: VP testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol, 3: Negatif kontrol, 5, 7, 9, 10: Pozitif izolatlar, 4, 6, 8: Negatif izolatlar.

4.7.1.4. Sitrat Testi

Sitrat testi, karbon ve enerji kaynağı olarak sitratı kullanabilen bakterilerin tespit edilmesine yönelik bir testtir. Sitrataz enzimini üreten bakteriler sitratı metabolize edebilir ve bunun sonucunda bazik yan ürünler oluştururlar. Bu test için kullanılan besiyerinin bileşimine karbon kaynağı olarak sitrat ve pH indikatörü olarak bromtimol mavisi eklenir. Besiyeri pH'ı başlangıçta 6.9'dur ve besiyeri yeşil renktedir. Sitrat metabolizması sonucunda ortam bazikleşir ve pH 7.6 üzerine çıkar. pH'taki bu değişiklik besiyerinin renginin maviye dönüşmesiyle tespit edilir ve sitrat testi pozitif kabul edilir. Sitratı karbon kaynağı olarak kullanamayan bakteriler ise besiyerinde üreyemediği için besiyerinin rengi yeşil olarak kalır [Alexander and Strete, 2001].

Bu test için Simmon sitrat agar kullanıldı. İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültürlerinden iğne ile örnek alınarak besiyerinin yatık kısmına ekim yapıldı. Tüplerin kapakları hafifçe gevşetilerek hazırlanan kültürler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından mavi renk oluşumu görülen örnekler pozitif, yeşil renk görülen örnekler negatif kabul edildi (Şekil 4.7). Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *K. pneumoniae* ve *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı.

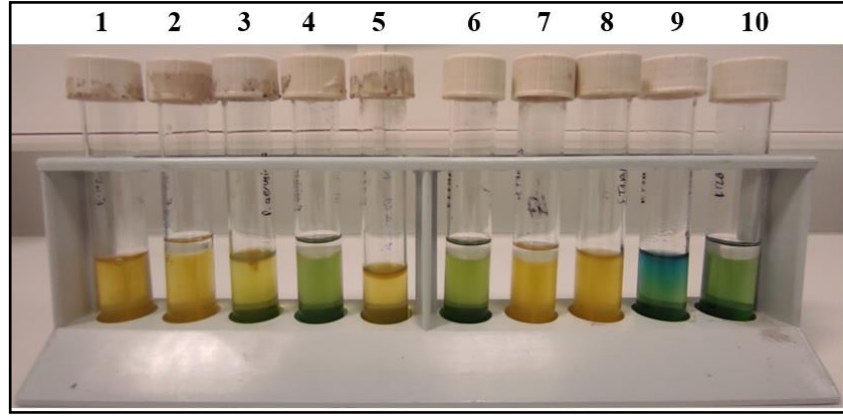


Şekil 4.7: Sitrat testi, 1: Negatif kontrol (*E. coli*) 2: Pozitif kontrol (*K. pneumoniae*), 3, 4: Negatif izolatlar, 5, 6: Pozitif izolatlar.

4.7.2. Oksidasyon-Fermantasyon (O/F) Testi

Oksidasyon-fermantasyon testi bakterilerin karbonhidratları oksidasyon yoluyla mı yoksa fermentasyon yoluyla mı metabolize ettiğini belirlemeye yönelik bir testtir. Karbonhidratları oksidasyon ile metabolize eden bakterilere aerob (A), fermentasyon yoluyla metabolize eden bakterilere fakültatif anaerob (FA) bakteriler denir. Test için kullanılan besiyeri bileşiminde karbonhidrat ve pH indikatörü olarak bromtimol mavisi bulunur. Test edilecek mikroorganizmalardan iki ayrı besiyerine ekim yapılır ve hazırlanan kültürlerden biri aerobik diğeri anaerobik koşullarda inkübe edilir. Bakteri tarafından karbonhidratlar kullanıldığında ortamın pH'ı düşer ve besiyerinin rengi yeşilden sarıya döner. Eğer her iki tüpte de renk değişikliği görülüyorsa bakterinin fermentasyon yoluyla karbonhidratları metabolize ederek asidik yan ürünler ürettiği, yalnızca aerobik koşullarda inkübe edilen tüpte renk değişikliği görülüyorsa bakterinin oksidasyon yoluyla karbonhidratları metabolize ederek asidik yan ürünler ürettiği belirlenir [Alexander and Strete, 2001].

Bu test için tüm izolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültürlerinden iğne öze ile örnek alınarak Hugh-Leifson agara her izolat için 2 ayrı tüp olacak şekilde ekim yapıldı. Tüplerden birine 1 ml steril mineral yağ eklenip kapağı sıkıca parafilmelendi. Diğer tüpün ise kapağı hafifçe gevşetilerek tüpler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 (aerob) ve *E. coli* ATCC 25922 (fakültatif anaerob) kontrol suşları kullanıldı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: O/F testi, 1-2: *E. coli*-fakültatif anaerob, 3-4: *P. aeruginosa*-aerob, 5-6: Aerob izolat, 7-8: Fakültatif anaerob izolat, 9-10: Inert izolat.

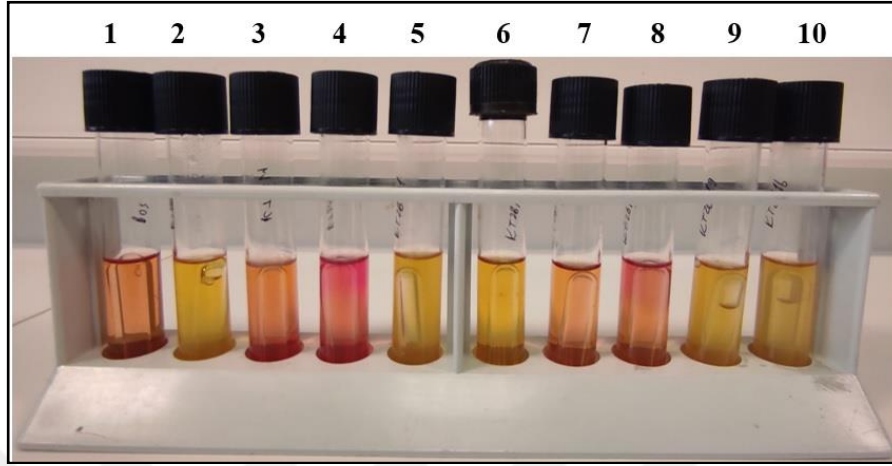
4.7.3. Karbonhidrat Kullanımı Testi

Karbonhidrat kullanım testi, bir mikroorganizmanın çeşitli karbonhidratları fermente edip etmediğini belirlemeye yönelik bir testtir. Karbonhidrat fermantasyonunun son ürünü asit veya asit ile birlikte gaz oluşumdur. Test için pH indikatörü içeren bazal besiyerine seçilen karbonhidrat kaynağı eklenir. Besiyerindeki renk değişikliği fermantasyonun gerçekleştiğini gösterir. Fermantasyon sonucunda gaz oluşumu olup olmadığını tespit etmek için ise tüp içine Durham tüpü yerleştirilir ve oluşan gaz görünür hale getirilir [Alexander and Strete, 2001].

Bu test için fenol kırmızısı sıvı besiyeri kullanıldı. İzolatların karbonhidrat kullanımı glukoz, mannitol, ksiloz, trehaloz, fruktoz, sükroz, sellobiyoz, mannoz ve laktozdan oluşan 9 farklı şeker için test edildi. Ayrıca glukozdan gaz oluşumu da değerlendirildi. Bunun için fenol kırmızısı sıvı besiyeri hazırlandıktan sonra test edilecek şekerler distile suda çözüldü ve 0,22 µm'lik filtreden geçirilerek son hacim %1 (w/v) olacak şekilde besiyerine eklendi. Glukoz içeren besiyerine Durham tüpü yerleştirildi.

İzolatların LB sıvı besiyeri içinde 18-24 saatlik taze kültürü hazırlandı ve kültürden 100 µl alınarak fenol kırmızısı sıvı besiyerine ekim yapıldı. Hazırlanan kültürler 37 °C'de inkübasyona kaldırılarak 24 ve 48. saatlerde elde edilen sonuçlar kaydedildi. Glukoz testi için hazırlanan tüpler gaz oluşumu yönünden de

değerlendirildi (Şekil 4.9). Pozitif kontrol olarak glukoz, mannitol, ksiloz, trehaloz ve laktoz testleri için *E. coli* ATCC 25922; fruktoz testi için *Bacillus cereus* (DSMZ 4312); mannoz, sellobiyoz ve sükroz testleri için *K. pneumoniae* kullanıldı.



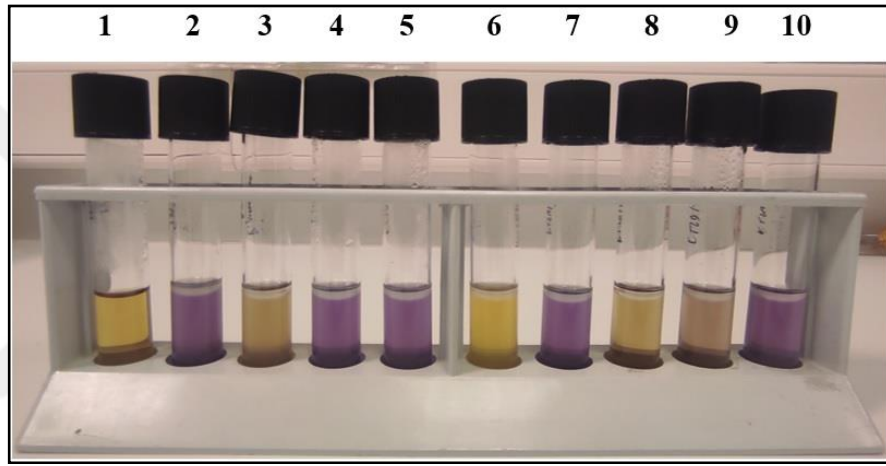
Şekil 4.9: Glukoz kullanımı testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (*E. coli*), 5, 6, 9, 10: Pozitif izolatlar, 3, 4, 7, 8: Negatif izolatlar.

4.7.4. Lizin, Ornitin ve Arjinin Dekarboksilaz Testi

Dekarboksilazlar aminoasit metabolizmasının bir parçası olan dekarboksilasyon işlemini gerçekleştiren bakteriyel enzimlerdir. Bu işlemde aminoasitlerden karboksil grubu uzaklaştırılır ve son ürün olarak aminler üretilir. Her bir aminoasit için ayrı bir dekarboksilaz enzimi bulunmakla birlikte, yalnızca lizin, ornitin ve arjinin dekarboksilazlar enterik bakterilerin birbirinden ayırt edilmesinde kullanılır.

Test için kullanılan dekarboksilaz sıvı besiyeri, test edilecek aminoasidin yanı sıra büyümeyi teşvik etmek için pepton, karbonhidrat kaynağı olarak glukoz ve pH indikatörü olarak brom krezol moru içerir. Bu indikatörün rengi pH 6.8'in üzerindeyse mor, 5.2'nin altındaysa sarıdır [Leboffe, 2011]. Eğer test edilen mikroorganizma; i) glukozu fermente edemiyor ve dekarboksilaz enzimini üretemiyorsa besiyerinin rengi değişmez [dekarboksilaz: (-)], ii) glukozu fermente edebiliyor fakat dekarboksilaz enzimini üretemiyorsa, besiyeri asidikleşir ve rengi sarıya döner [dekarboksilaz: (-)], iii) dekarboksilaz enzimini üretiliyorsa aminler üretilir, besiyeri bazikleşir ve renk mora döner [dekarboksilaz: (+)].

Bu test için Moeller dekarboksilaz sıvı besiyeri kullanıldı. 3 farklı besiyeri hazırlandı ve içlerine lizin (%2), ornitin (%1) ve arjinin (%1) aminoasitleri eklendi. Tüplere beşer ml bölündükten sonra otoklav ile steril edildi. İzolatların sıvı besiyeri içinde 18-24 saatlik taze kültürü hazırlandı ve bu kültürden 100 µl alınarak dekarboksilaz sıvı besiyerine ekim yapıldı. Ardından tüplere 500 µl steril mineral yağ eklendi. Hazırlanan kültürler 37 °C'de 72 saat inkübe edildi (Şekil 4.10). Kontrol mikroorganizmaları olarak *E. coli* ATCC 25922 [lizin: (+), ornitin: (+), arjinin: (+)], *K. pneumoniae* [lizin: (+), ornitin: (-), arjinin: (-)] ve *P. aeruginosa* ATCC 15692 [lizin: (-), ornitin: (-), arjinin: (+)] kullanıldı.

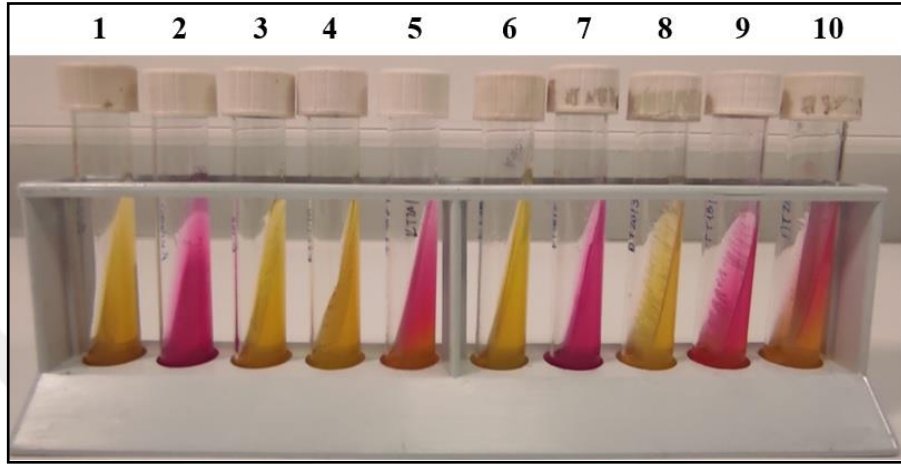


Şekil 4.10: Arjinin dekarboksilaz testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (*E. coli*), 3: Negatif kontrol (*K. pneumoniae*), 4, 5, 7, 10: Pozitif izolatlar, 6, 8, 9: Negatif izolatlar.

4.7.5. Üreaz Testi

Bu test, üreaz enzimi aracılığıyla üreyi hidrolize edebilen bakterilerin belirlenmesine yönelik bir testtir. Üre, aminoasit metabolizmasının bir ürünü olup üreaz enzimi tarafından NH_3 ve karbondioksit parçalanır. Üreaz testi için kullanılan besiyeri %2 oranında üre ve pH indikatörü olarak fenol red içerir. Bu indikatörün rengi pH 8.4'ün altındayken sarı/turuncu, üzerindeyken kırmızı/pembedir. Üre hidrolizi sonucunda ortam bazikleşir ve besiyerinin rengi kırmızı/pembeye döner [Leboffe, 2011].

Üreaz testi için Christensen üre agar hazırlandı. İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültüründen öze ile alınıp agarın yatık kısmına ekildi. Tüplerin kapakları hafifçe gevşetilerek kültürler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *P. vulgaris* ve *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı (Şekil 4.11).



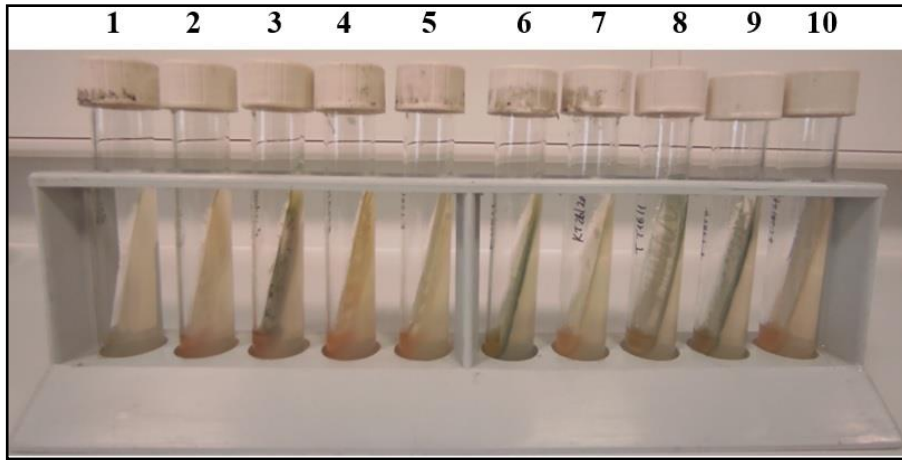
Şekil 4.11: Üreaz testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (*P. vulgaris*), 3: Negatif kontrol (*E. coli*), 4, 6, 8: Negatif izolatlar, 5, 7, 9, 10: Pozitif izolatlar.

4.7.6. Fenilalanin Deaminaz Testi

Bu test, fenilalanin deaminaz enzimini üretebilen bakterilerin tespit edilmesine yönelik bir testtir. Bu enzimi üretebilen mikroorganizmalar fenilalanin aminoasidindeki amino grubunu uzaklaştırıp fenil pirüvik asit ve NH_3 üretirler. Test için kullanılan besiyeri yüksek oranda fenilalanin içerir. İnkübasyonun ardından besiyerine demir klorür (FeCl_3) içeren bir ayıraç damlatıldığında fenil pirüvik asit demir klorürle reaksiyona girerek koyu yeşil bir renk oluşturur. Yeşil renk, fenil pirüvik asidin ve dolayısıyla fenilalanin deaminaz enziminin varlığını gösterir. Renk değişimi olmaması negatif sonucu ifade eder [Leboffe, 2011].

Fenilalanin deaminaz testi için izolatların katı besiyerinde hazırlanmış 18-24 saatlik taze kültüründen özeyle örnek alınarak fenilalanin agarın yatık kısmına ekim yapıldı. Tüplerin kapakları hafifçe gevşetilerek kültürler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüplere 5 damla %10 FeCl_3 çözeltisi eklendi. Pozitif ve negatif

kontrol olarak sırasıyla *P. vulgaris* ve *E. coli* ATCC 25922 kontrol suşları kullanıldı (Şekil 4.12).



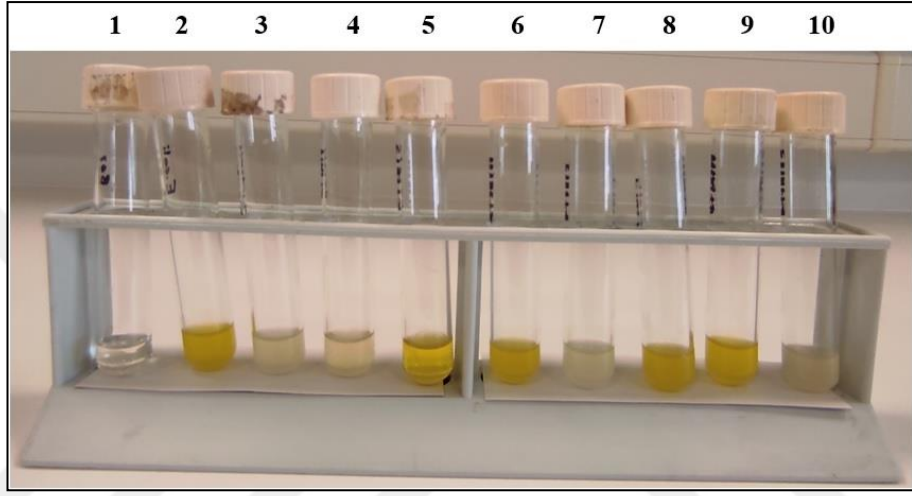
Şekil 4.12: Fenilalanin deaminaz testi, 1: Boş, 2: Negatif kontrol (*E. coli*), 3: Pozitif kontrol (*P. vulgaris*), 4, 5, 7, 10: Negatif izolatlar, 6, 8, 9: Pozitif izolatlar.

4.7.7. ONPG Testi

Bir bakterinin laktozu fermente etme kapasitesi permeaz ve β -galaktozidaz isimli iki enzimin aktivitesine bağlıdır. Permeaz enzimi laktozun bakteriyel hücre duvarına girmesini sağlarken β -galaktozidaz enzimi laktozun glukoz ve galaktoza yıkımını sağlar. Bu enzimler indüklenebilir enzimlerdir ve ortamda yalnızca laktoz bulunduğunda görev yaparlar. Permeaz enzimine sahip olmayan bazı organizmalar geç laktoz fermentörleri olabilir veya laktozu metabolize etmeyebilir. ONPG testi permeaz enzimine sahip olmasa bile β -galaktozidaz enzimine sahip gerçek laktoz fermentörlerinin tespit edilmesini sağlar. Geleneksel laktoz fermantasyonu testi permeaz enzimine sahip olmayan bakterilerin tespit edilmesini sağlayamamaktadır.

ONPG (*o*-nitrofenil- β -D-galaktopiranozid) yapısal olarak laktoza benzeyen renksiz bir madde olup bu testte β -galaktozidaz için substrat olarak kullanılır. Eğer organizma β -galaktozidaz enzimini ürettiyorsa ONPG'yi galaktoza ve sarı renkli bir madde olan *o*-nitrofenole parçalar. Dolayısıyla besiyerinde sarı renk oluşumu varsa ONPG testi pozitif olarak değerlendirilir [Leber, 2016]

ONPG testi için kontrol mikroorganizmalarının ve izolatların %1 laktoz içeren LB sıvı besiyerinde taze kültürü hazırlandı. 1 ml ONPG sıvı besiyeri içeren steril cam tüplere 500 µl inokülasyon yapıldı. Hazırlanan kültürler kapakları hafif gevşek olarak 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından sarı renk oluşumu görülen tüpler pozitif, renk değişimi görülmeyen tüpler negatif olarak değerlendirildi. Bu test için pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *E. coli* ATCC 25922 ve *P. vulgaris* kontrol suşları kullanıldı (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: ONPG testi, 1: Boş, 2: Pozitif kontrol (*E. coli*), 3: Negatif kontrol (*P. vulgaris*), 4, 7, 10: Negatif izolatlar, 5, 6, 8, 9: Pozitif izolatlar.

4.8. İzolatların Bitki Büyümesini Teşvik Edici (PGP) Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Testler

4.8.1. İnorganik Fosfatı Çözünebilir Hale Getirme Kapasitesinin Kalitatif Olarak Belirlenmesi

İzolatların inorganik fosfatı çözebilme kapasitesi Pikovskaya agar kullanılarak belirlendi. İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış taze kültürlerinden iğne ile örnek alınıp iki tekrarlı olacak şekilde ekim yapıldı ve 30 °C'de 7 gün inkübe edildi. İnkübasyonun ardından ekim hattı etrafında berrak bir zon oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirildi. Oluşan zon çapları ölçülerek fosfat çözünürlük indeksi aşağıda belirtilen formül ile hesaplandı [Eramma et al., 2020]. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *P. aeruginosa* ATCC 15692 ve *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı.

$$\text{Fosfat çözünürlük indeksi} = \frac{\text{Zon çapı} - \text{Koloni çapı}}{\text{Koloni çapı}} \quad (4.1)$$

4.8.2. İnorganik Fosfatı Çözünebilir Hale Getirme Kapasitesinin Kantitatif Olarak Belirlenmesi

Ortamda çözünmüş olarak bulunan fosfat miktarı vanadomolibdofosforik asit yöntemi ile belirlendi [Pingale and Virkar, 2013]. İzolatların LB sıvı besiyerinde taze kültürleri hazırlandı ve bakteri yoğunluğu fizyolojik tuzlu su ile 0.5 McFarland'a ayarlandı. Hazırlanan bu kültürden 3 tekrarlı olacak şekilde 30 ml Pikovskaya sıvı besiyeri içeren erlenlere %2'lik aşılama yapıldı ve 30 °C'de 10 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından bakteri kültüründen 4 ml örnek alınıp 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen üst sıvı Whatmann kağıdı ile filtre edildi. Süzüntüden 1 ml örnek alınıp üzerine 250 µl Barton reaktifi eklendi. Çözelti hacmi distile su ile 5 ml'ye tamamlanarak 10 dakika beklendi ve spektrofotometrede 430 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 suşu kullanıldı.

Standart eğri için KH₂PO₄ ile 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.6, 3.2, 4.0, 6.0 ve 8.0 ppm'lik standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilere Barton reaktifi eklendikten sonra çözelti hacmi distile su ile 5 ml'ye tamamlandı ve 10 dakika beklendikten sonra spektrofotometrede 430 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen verilerle standart kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

4.8.3. İndol-3-asetik Asit (IAA) Üretme Kapasitesinin Kolorimetrik Yöntemle Belirlenmesi

İzolatların indol-3-asetik asit üretme kapasitesi Gordon ve Weber tarafından belirtilen kolorimetrik yöntem kullanılarak belirlendi [Gordon and Weber, 1995]. Bunun için izolatların LB sıvı besiyerinde kültürü hazırlandı ve bakteri yoğunluğu fizyolojik tuzlu su ile 0.5 McFarland'a ayarlandı. Elde edilen bu kültürden %0,01 L-triptofan içeren 5 ml LB sıvı besiyerine %2'lik aşılama yapıldı ve kültürler 30 °C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kültürler 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj

edildi. Üst sıvıdan 500 µl alınarak 500 µl Salkowski ayırıcı ile karıştırıldı ve 30 dakika karanlıkta inkübe edildikten sonra spektrofotometrede 530 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

Standart eğri oluşturmak için stok IAA metanolde çözülerek 0.5, 5, 10, 20, 50 ve 100 µg/ml'lik çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerden 500 µl alınıp 500 µl Salkowski ayırıcı ile karıştırıldı ve 30 dakika karanlıkta inkübe edildikten sonra spektrofotometrede 530 nm'de absorbans değerleri ölçülerek konsantrasyon/absorbans grafiği çizildi.

4.8.4. IAA Üretme Kapasitesinin HPLC ile Ölçülmesi

IAA üretme kapasitesinin HPLC ile ölçülmesi için Fett ve diğerleri tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı [Fett et al., 1987]. Bölüm 4.8.3'te belirtilen yöntem kullanılarak 3 tekrarlı olacak şekilde kültürler hazırlandı ve 30 °C'de 72 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kültürler 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvıdan 1 ml örnek alındı. Örnekler 0,22 µm por çaplı filtreden geçirilerek amber viallere alındı ve doğrudan HPLC (1260 Infinity II Prime LC System, Agilent, ABD) ile analiz edildi. HPLC koşulları Tablo 4.1'de belirtilmiştir.

Tablo 4.1: HPLC koşulları.

Dedektör	DAD
Dalga Boyu	254 nm – 280 nm
Akış	0,7 ml/dak
Kolon	SVEA C18 Gold 5 µm 250 x 4,6 mm
Enjeksiyon Hacmi	30 µl
Basınç	112 bar
Mobil Faz	(A)- %1 Asetik asit (%40) & (B)- %100 Metanol (%60)

IAA konsantrasyonunun belirlenmesi için stok IAA metanolde çözülerek 0,39-6,25 µg/ml ve 6,25-500 µg/ml aralığında standartlar hazırlandı. Aynı koşullarda HPLC analizi yapılarak düşük ve yüksek konsantrasyonlar için iki farklı kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

4.8.5. Siderofor Üretme Kapasitesinin Kalitatif Olarak Belirlenmesi

İzolatların siderofor üretme kapasitesi Lakshmanan ve diğerleri tarafından geliştirilen modifiye Chrome azurol S (CAS) agar yöntemi ile belirlendi [Lakshmanan et al., 2015]. 100 ml mavi boya çözeltisi Schwyn ve Neilands tarafından belirtilen şekilde [Schwyn and Neilands, 1987] hazırlanıp 900 ml LB agar besiyerine eklendi ve Petri kaplarına döküldü. İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış taze kültürlerinden steril kürdanla örnek alınıp nokta ekim yöntemiyle CAS blue agar besiyerine ekim yapıldı. Hazırlanan kültürler 30 °C'de 5 gün inkübe edildikten sonra ekim hattı etrafında sarı-turuncu zon oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *P. aeruginosa* ATCC 15692 ve *S. aureus* ATCC 29213 suşları kullanıldı.

4.8.6. Siderofor Üretme Kapasitesinin Kantitatif Olarak Belirlenmesi

İzolatların siderofor üretme kapasitesinin kantitatif olarak belirlenmesi için Arora ve Verma tarafından belirtilen yöntem kullanıldı [Arora and Verma, 2017]. İzolatların LB sıvı besiyerinde kültürü hazırlandı ve bakteri yoğunluğu fizyolojik tuzlu su ile 0.5 McFarland'a ayarlandı. Hazırlanan bu kültürden 10 µl alınarak 1 ml LB sıvı besiyerine inokülasyon yapıldı ve 30 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kültürler 10.000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek üst sıvıdan 500 µl alındı. Üzerine 500 µl CAS reaktifi eklenerek birkaç dakika beklendi ve ardından 630 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Deney her bir örnek için 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 suşu kullanıldı. Referans çözeltisi hazırlamak için 500 µl LB sıvı besiyerine 500 µl CAS reaktifi eklendi. Payne tarafından belirtilen formül kullanılarak izolatların siderofor üretim yüzdesi (psu) belirlendi [Payne, 1994]. Bu formülde Ar referans çözeltinin absorbans değerini, As ise örneklerin absorbansını temsil etmektedir.

$$\text{Siderofor üretim yüzdesi (psu)} = \frac{(Ar - As) \times 100}{Ar} \quad (4.2)$$

4.8.7. Serbest Azotu Fikse Etme Kapasitesinin Kalitatif Olarak Belirlenmesi

Biyolojik azot fiksasyonunu belirlemek için azot içermeyen NFb agar kullanıldı. Bu besiyeri herhangi bir azot kaynağı içermediği için azotu fikse edemeyen mikroorganizmalar besiyerinde gelişim gösteremezler. Azot fiksasyonunun derecesinin tespit edilebilmesi için besiyeri bileşimine bir pH indikatörü olan bromtimol mavisi eklenmiştir. Azot fiksasyonu gerçekleştiğinde ortam bazikleşir ve pH'taki yükselmeye bağlı olarak ekim hattının etrafında mavi renk oluşur [Baldani et al., 2014].

İzolatların katı besiyerinde hazırlanmış taze kültürlerinden iğne öze ile örnek alınıp NFb agar besiyerine nokta ekim yapıldı. Hazırlanan kültürler 30 °C'de 7 gün inkübe edildi. İnkübasyonun ardından besiyerinde oluşan mavi renk değerlendirilerek izolatların azot fikse etme kapasitesi + (çok az), ++ (az), +++ (orta), ++++ (iyi), +++++ (çok iyi) olacak şekilde derecelendirildi. Pozitif ve negatif kontrol olarak sırasıyla *P. aeruginosa* ATCC 15692 ve *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı.

4.8.8. İzolatların Biyofilm Oluşturma Kapasitesinin Belirlenmesi

Literatürde, bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğinin bitki köklerini kolonize etme ile doğrudan ilişkili olduğu ve biyofilm oluşturma özelliğinin bitkiye besin alımında, değişen çevre koşullarına ve stres faktörlerine hızlı tepki vermede fayda sağladığı belirtilmiştir. Dolayısıyla biyofilm oluşturma yeteneğine sahip bakterilerle birlikte yaşayan bitkiler, büyüme ve gelişme açısından avantajlı konuma gelmektedir [Panhwar et al., 2020].

Bu bilgilere dayanarak izolatların biyofilm oluşturma kapasitesi Christensen vd. tarafından belirtilen metoda göre test edildi [Christensen et al., 1985]. Bütün izolatların LB sıvı besiyerinde kültürü hazırlandı ve bakteri yoğunluğu fizyolojik tuzlu su ile 0.5 McFarland'a ayarlandı. Elde edilen bu kültürlerden 100 µl alınıp 3 tekrarlı olacak şekilde 96 kuyulu plaklara ekildi. Üzerine 100 µl %1 glukoz içeren Triptik soy sıvı besiyeri (TSB) eklendi. Plaklar 30 °C'de 72 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından besiyeri çok kanallı pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Plaklar distile su ile

yıkandı ve kuyucuklara 125 µl %0,1 kristal viyole eklendi. 10 dakika inkübe edildikten sonra boya çok kanallı pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Plaklar tekrar distile su ile yıkandı ve tamamen kurumasi sağlandı. Kuruduktan sonra kuyucuklara 200 µl %30 asetik asit eklendi ve pipetaj yapılarak biyofilmin tamamen çözünmesi sağlandı. 15 dakika inkübe edildikten sonra mikropilaka okuyucuda 600 nm’de absorbans değerleri ölçüldü. Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692, negatif kontrol olarak ise ekim yapılmamış besiyeri kullanıldı.

4.9. Konsorsiyum Oluşturmaya Aday İzolatların Seçilmesi ve Moleküler Biyolojik Yöntemlerle Tanımlanması

Biyokimyasal testleri yapılan ve bitki büyümesini teşvik edici özellikleri belirlenen 100 izolat içinden bitki büyümesini en iyi yönde etkileme potansiyeline sahip ve biyokimyasal karakteristikleri farklı olan 19 izolat seçildi. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması için 16S rDNA bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması ve dizilenmesi yöntemi tercih edildi.

4.9.1. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu

İzolatlardan genomik DNA izolasyonu PureLink Genomic DNA Miniprep Kit (Invitrogen) ile üreticinin talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi. Elde edilen genomik DNA örneklerinden 5 µl alınarak 1 µl yükleme boyası ile karıştırıldı ve %0,8’lik agaroz jelle yüklenerek 90 V’ta 20 dakika yürütüldü. Yürütmenin ardından jelde DNA’nın varlığı UV görüntüleme sistemi (Vilber-lourmat, USA) kullanılarak belirlendi. Aynı zamanda DNA örneklerinin miktarı ve saflığı NanoDrop Lite (Thermo Scientific) cihazında ölçüldü.

4.9.2. 16S rDNA Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması

İzolatların tanımlanması amacıyla 16S rDNA bölgesinin çoğaltılması için evrensel 27F/1491R primerleri kullanılarak PZR gerçekleştirildi. Primer dizileri Tablo

4.2’de, PZR için hazırlanan reaksiyon karışımı ve reaksiyon koşulları ise Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’te verilmiştir.

Tablo 4.2: 16S rDNA bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primerler ve dizileri.

Primer Adı	Dizisi	PZR ürün boyutu	Referans
27_F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAGA	1500 bp	[Lane, 1991]
1491_R	ACGGCTACCTGTTACGACTT		[Lane, 1991]

Tablo 4.3: PZR için hazırlanan reaksiyon karışımı.

Reaktif	Miktar
10X DreamTaq Green Buffer	5 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
Forward primer (10 µM)	1 µl
Reverse primer (10 µM)	1 µl
DreamTaq	0,50 µl
Apirojen su	40,50 µl
Kalıp DNA	50 ng

Tablo 4.4: PZR koşulları.

Aşama	Sıcaklık	Süre	Döngü
Denatürasyon	95 °C	3 dakika	-
	95 °C	30 saniye	35 döngü
Bağlanma	58 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son Uzama	72 °C	10 dakika	-

PZR gerçekleştirildikten sonra elde edilen PZR ürünlerinden 6 µl alınarak %1’lik agaroz jele yüklendi ve 90 V’ta 30 dakika yürütüldü. Yürütmenin ardından yaklaşık 1500 baz çiftlik 16S rDNA bölgesinin varlığı UV görüntüleme sistemi kullanılarak belirlendi. PZR ürünlerinin çift yönlü dizi analizi hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. Elde edilen diziler BioEdit programı kullanarak hizalandı ve konsensus diziler oluşturuldu. Konsensus diziler BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) kullanılarak rRNA/ITS veritabanıyla karşılaştırıldı ve izolatların hangi türe ait olabileceği benzerlik oranıyla belirlendi.

4.10. İstatistiksel Analiz

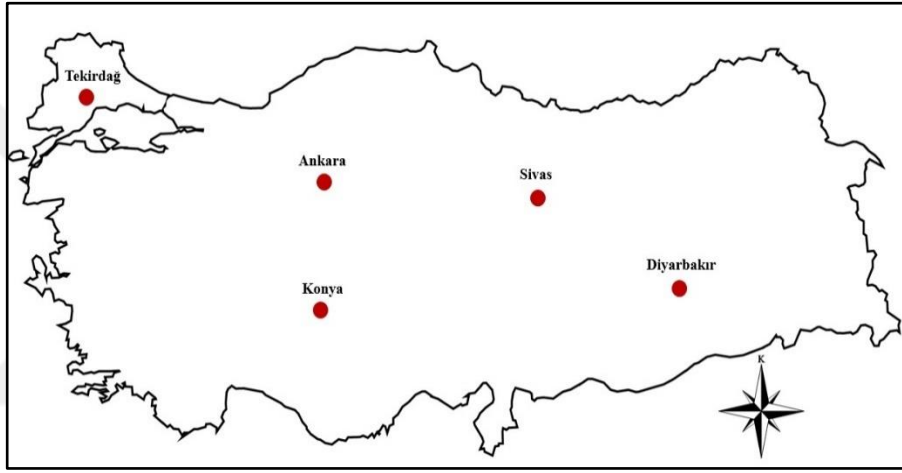
Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri Graphpad Prism 9.5.1 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldıktan sonra LSD (asgari önemli fark) çoklu karşılaştırma testi uygulandı ve $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



5. BULGULAR

5.1. Toprak Örneklerinin Alınması

Buğday yetiştirilmesi ve topraktan bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin izole edilmesi için Tekirdağ, Ankara, Konya, Sivas ve Diyarbakır illerinde bulunan ikişer farklı buğday tarlasından bölüm 4.1’de belirtilen şekilde toplam 10 toprak örneği alınmıştır (Şekil 5.1).



Şekil 5.1: Toprak örneklerinin alındığı noktalar.

Tablo 5.1: Toprak toplanan örnekleme lokasyonları.

Toprak Alınan İller	Toprak Örnekleri	Mevki	Koordinatlar	Ürün Rotasyonu	Üretim Şekilleri	Kodları
Konya	Tarla 1	Çumra	37°34' N 32°47' E	Yok	Geleneksel	KT1
	Tarla 2	Altınekin	32°55' N 38°39' E	Yok	Geleneksel	KT2
Tekirdağ	Tarla 1	Muratlı/İnanlı	41°17' N 27°48' E	Mısır	Geleneksel	TT1
	Tarla 2	Hayrabolu/Delibedir	41°10' N 27°12' E	Mısır	Geleneksel	TT2
Ankara	Tarla 1	Polatlı/Kargalı	39°36' N 32°13' E	Yok	Geleneksel	AT1
	Tarla 2	Polatlı/Beyobası	39°35' N 32°20' E	Yok	Geleneksel	AT2

Tablo 5.1: Devam.

Sivas	Tarla 1	Merkez/Serpincik	39°42' N 36°55' E	Yok	Geleneksel	ST1
	Tarla 2	Merkez/Esenyurt	39°37' N 37°20' E	Yok	Geleneksel	ST2
Diyarbakır	Tarla 1	Yolçatı/Lice	38°24' N 40°41' E	Yok	Geleneksel	DT1
	Tarla 2	Lice	38°25' N 40°42' E	Yok	Geleneksel	DT2

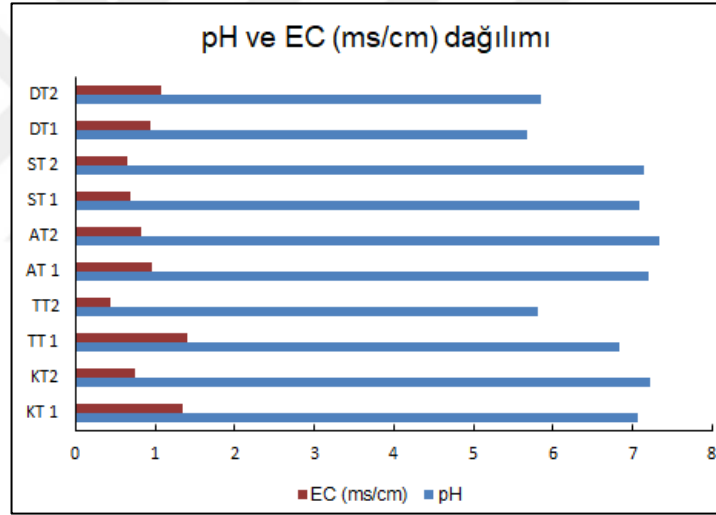
5.2. Toprak Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Tüm toprak örneklerinin fizikokimyasal analizleri hizmet alımı yoluyla Konya Gıda Tarım Üniversitesi Stratejik Ürünler Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SARGEM) yaptırılmıştır. Analiz edilen parametreler ve elde edilen sonuçlar Tablo 5.2'de belirtilmiştir.

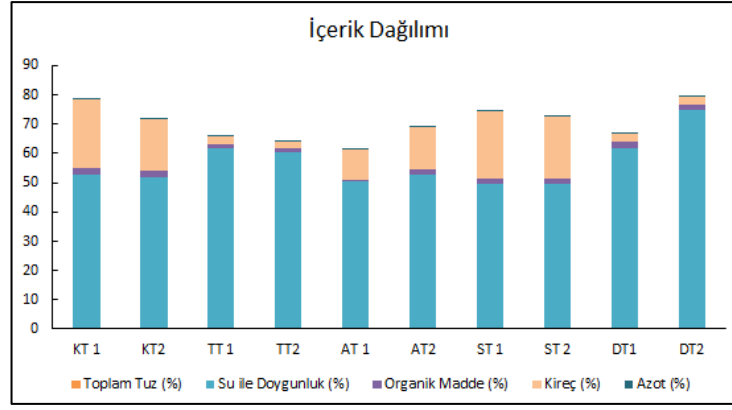
Toprak örnekleri kimyasal özelliklerine göre değerlendirildiğinde (değerlendirme için referans değerleri tablosu Ek A'da sunulmuştur); tamamının tuzsuz, 7 tanesinin nötr (KT1, KT2, AT1, TT1, AT2, ST1, ST2), 3 tanesinin hafif asidik (DT1, DT2 ve TT2) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.2) [Web 6, 2022]. EC değerleri yönünden topraklar 0,43-1,41 mS/cm arasında değişmektedir (Şekil 5.2). Yüzde oranında toplam tuz açısından incelendiğinde ise toprakların 0,017-0,056 arasında tuzluluk oranına sahip olduğu görülmektedir. Su ile doygunluk açısından topraklar %49,50-%74,8 arasında olup, örneklerin tınlı (ST1, ST2, AT1), killi tınlı (AT2, KT1, KT2, TT1, TT2, DT1) ve killi (DT2) özellikte olduğu görülmektedir. Topraklar organik madde açısından değerlendirildiğinde ise topraklarda %0,20-%2,41 arasında organik madde bulunmaktadır. En düşük organik madde içeriği AT1'de iken, en yüksek organik madde içeriği DT1'dedir. Kireçlilik açısından toprakların %2,14-%23,48 arasında olduğu görülmekte ve Trakya toprakları az kireçli iken, en kireçli olanlar Sivas ve Konya topraklarıdır. Fosfor içeriği bakımından en fakir toprak Ankara örnekleri iken, en zengin toprak KT2 ve DT1'dir. Azot içeriği bakımından ise yine Konya toprakları en zengin olup, en fakir ise AT1 örneğidir (Şekil 5.3). Potasyum içeriği bakımından en fakir toprak AT1, AT2, TT1, TT2, ST2 iken en zengin topraklar KT1 ve KT2'dir (Şekil 5.4).

Tablo 5.2: Toprak örneklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları.

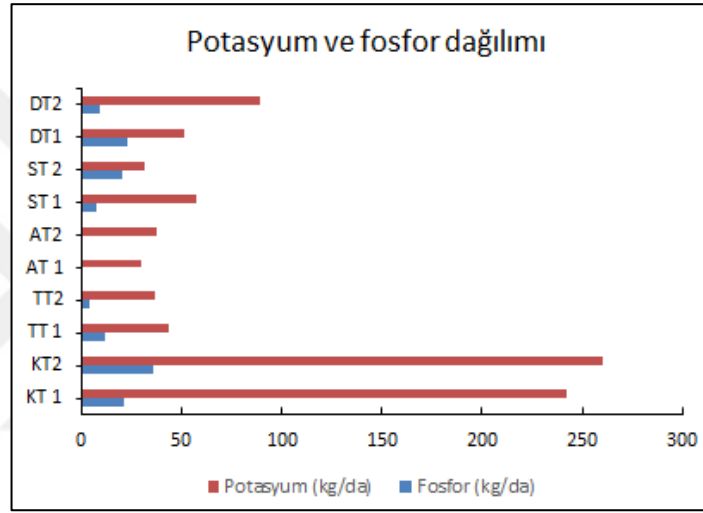
Örnek Adı	pH	EC (ms/cm)	Toplam Tuz (%)	Su ile Doygunluk (%)	Organik Madde (%)	Kireç (%)	Fosfor (kg/da)	Potasyum (kg/da)	Azot (%)
KT1	7,06	1,35	0,046	52,80	2,18	23,48	20,95	241,80	0,235
KT2	7,22	0,74	0,024	51,70	2,24	17,80	35,95	260,40	0,249
TT1	6,83	1,41	0,056	61,6	1,39	2,70	11,28	43,2	0,165
TT2	5,81	0,43	0,017	60,50	1,42	2,14	4,24	36,60	0,124
AT1	7,20	0,96	0,031	50,60	0,20	10,68	0,06	30,00	0,095
AT2	7,33	0,82	0,028	52,80	1,79	14,24	0,06	37,20	0,103
ST1	7,08	0,69	0,022	49,50	2,10	22,78	7,44	57,00	0,204
ST2	7,15	0,65	0,020	49,50	1,79	21,36	20,04	31,50	0,116
DT1	5,67	0,94	0,037	61,60	2,41	2,56	23,30	51,0	0,213
DT2	5,84	1,07	0,051	74,8	1,90	2,84	9,50	89,4	0,199



Şekil 5.2: Toprak örneklerinin pH ve EC değerlerine göre değerlendirilmesi.



Şekil 5.3: Toprak örneklerinin içeriklerine göre değerlendirilmesi.



Şekil 5.4: Toprak örneklerinin potasyum ve fosfor içeriklerinin dağılımı.

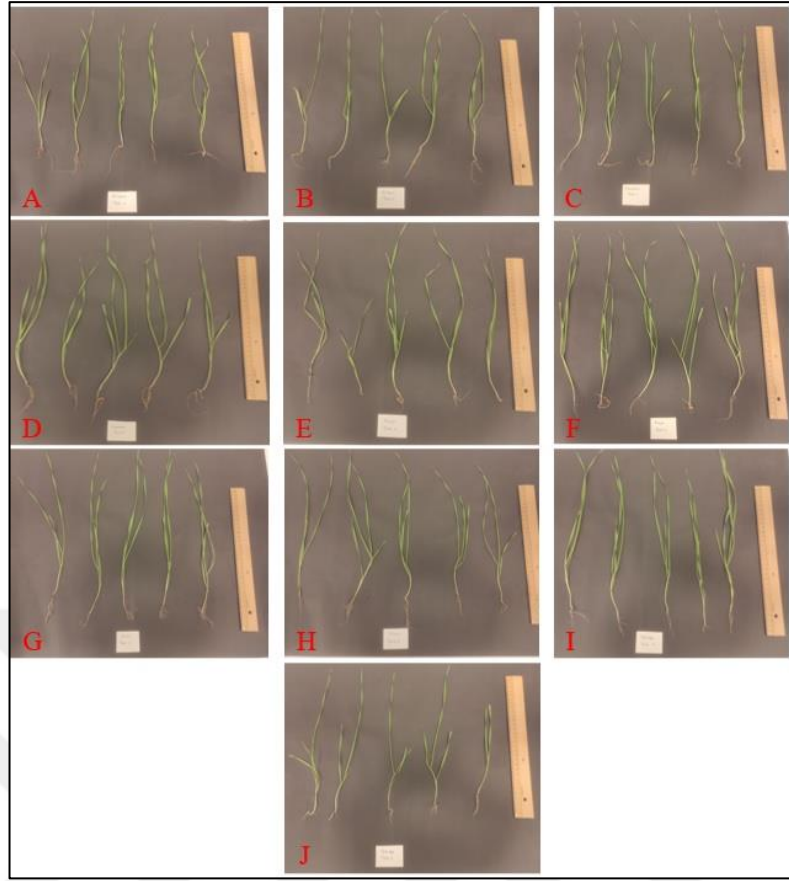
5.3. Sera Koşullarında Buğday Yetiştirilmesi ve Buğdayların Boylarının Ölçülmesi

Buğdaylar 3 yapraklı evreye geldiklerinde toplanarak rizosferik toprak örnekleri alınmış ve tüm bitkilerin kazık kökünden en uzun yaprak ucuna kadar olan uzunluğu ölçülmüştür (Şekil 5.5 ve Şekil 5.6). Her bir tarla için ortalama buğday boyu hesaplanarak Tablo 5.3'te gösterilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre en uzun bitki boyunun Konya tarla 2'den alınan toprak örneklerinde yetiştirilen buğdaylara ait olduğu görülmüştür. En kısa bitki boyu ise Konya tarla 1'den alınan toprak örneklerinde yetiştirilen buğdaylara aittir. Veriler istatistiki olarak incelendiğinde KT2 örneği ile ST1, DT2, ST2 ve TT1 örnekleri arasında anlamlı bir fark bulunmamış olup

AT2, DT1, AT1, TT2 ve KT1 örnekleri arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). KT1 örneği ile bütün örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür.



Şekil 5.5: 5 farklı ilde 2 farklı tarladan alınan toprak örneklerine ekimden sonra 3 yapraklı evreye gelen buğdaylar.



Şekil 5.6: Buğday boylarının ölçülmesi, A: AT1, B: AT2, C: DT1, D: DT2, E: KT1, F: KT2, G: ST1, H: ST2, I: TT1, J: TT2.

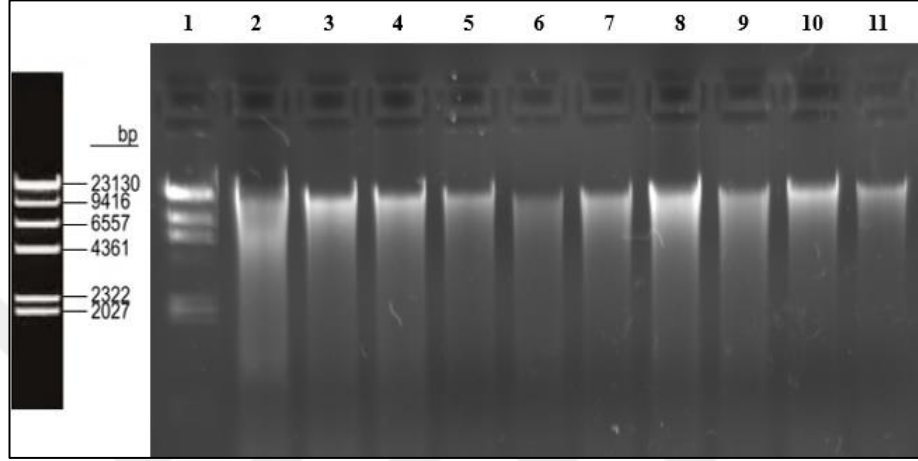
Tablo 5.3: Ortalama buğday boyları.

Tarla Adı	Ortalama Buğday Boyu (cm)
KT1	$27,72 \pm 5,30^c$
KT2	$44,30 \pm 1,23^a$
TT1	$39,87 \pm 0,28^a$
TT2	$35,03 \pm 1,63^b$
AT1	$36,76 \pm 1,26^b$
AT2	$38,49 \pm 0,60^b$
ST1	$43,49 \pm 1,56^a$
ST2	$40,59 \pm 3,72^a$
DT1	$37,90 \pm 3,25^a$
DT2	$41,58 \pm 2,85^a$

*Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p < 0.05$).

5.4. Topraktan Total DNA İzolasyonu

Elde edilen örneklerde DNA'nın varlığı ve bütünlüğü agaroz jel ile belirlenmiştir (Şekil 5.7). Ayrıca DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop cihazında ölçülerek elde edilen sonuçlar Tablo 5.4'te verilmiştir.



Şekil 5.7: Total DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü, 1: Lambda marker, 2: DT1, 3: DT2, 4: KT1, 5: KT2, 6: AT1, 7: AT2, 8: ST1, 9: ST2, 10: TT1, 11: TT2.

Tablo 5.4: Total DNA örneklerinin NanoDrop ölçüm sonuçları.

Örnek Adı	Miktar (ng/μl)	A260/280
DT1	132,1	1.73
DT2	58	1.74
KT1	97,1	1.42
KT2	40,1	1.66
AT1	24,4	1.64
AT2	35,2	1.67
ST1	67,1	1.63
ST2	36,2	1.64
TT1	40	1.64
TT2	25,3	1.67

5.5. Topraktan Bakteri İzolasyonu

10 farklı toprak örneğinden gerçekleştirilen bakteri izolasyonu sonucu toplamda 500 bakteri izolatu elde edilmiştir. İzole edilen bakterilerin toprak

örneklerine göre dağılımı Tablo 5.5'te gösterilmiştir. 500 izolat içinden koloni görünümü açısından birbirinden farklı olduğu düşünülen 100 izolat seçilerek deneylere bu izolatlarla devam edilmiştir.

Tablo 5.5: İzolatların toprak örneklerine göre dağılımı.

Örnek Adı	İzolat Sayısı
KT1	52
KT2	37
TT1	60
TT2	52
AT1	68
AT2	64
ST1	21
ST2	56
DT1	46
DT2	44

5.6. İzolatların Ön Tanımlama Testleri Sonuçları

Seçilen 100 izolatın Gram boyama, spor boyama, oksidaz ve katalaz testleri gerçekleştirilmiş ve koloni morfolojileri incelenmiştir. Test sonuçları Tablo 5.6'da ve Tablo 5.7'de verilmiştir.

Tablo 5.6: İzolatların ön tanımlama testi sonuçları.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	Gram boyama	Hücre şekli	Spor boyama	Katalaz	Oksidaz
1	KT2A/1	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+	-
2	KT2A/2	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
3	KT2A/3	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+	-
4	KT2A/4	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+	-
5	KT2A/5	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
6	KT2A/6	Gram (-)	Basil	-	+++	+
7	KT2A/7	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	+
8	KT2A/8	Gram (-)	Kok	-	++	-

Tablo 5.6: Devam.

9	KT2A/9	Gram (-)	Basil	-	++	-
10	KT2A/10	Gram (+)	Basil	+	+	-
11	KT2A/11	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+++	-
12	KT2A/12	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+++	-
13	KT2A/13	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
14	KT2A/14	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
15	KT2B/1	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
16	KT2B/2	Gram (+)	Basil	+	+++	-
17	KT2B/3	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	++	+
18	KT2B/4	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	+
19	KT2B/5	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	+
20	KT2B/6	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
21	KT2B/7	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+	+
22	KT2B/8	Gram (+)	Basil	+	++++	-
23	KT2B/9	Gram (+)	Basil	+	+++	-
24	KT2B/10	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	+
25	KT2B/11	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	++	+
26	KT2B/12	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	++	+
27	KT2B/13	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	++	+
28	KT2B/14	Gram (-)	Basil	-	+	-
29	KT2B/15	Gram (+)	Basil	+	+	-
30	KT2B/16	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	++	-
31	KT2B/17	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+	-
32	KT2B/18	Gram (-)	Basil	-	+	-
33	KT2B/19	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	++	-
34	KT2B/20	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
35	KT2B/21	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
36	KT2B/22	Gram (-)	Basil	-	+	-

Tablo 5.6: Devam.

37	KT2B/23	Gram (+)	Basil-Streptobasil	+	++	-
38	ST1A/1	Gram (-)	Basil	-	+++	+
39	ST1A/2	Gram (-)	Basil	-	+++	+
40	ST1A/3	Gram (-)	Basil	-	++	-
41	ST1A/4	Gram (-)	Basil	-	++	+
42	ST1A/5	Gram (-)	Basil	-	+	-
43	ST1A/6	Gram (-)	Basil	-	++	+
44	ST1A/7	Gram (+)	Basil	+	+	-
45	ST1A/8	Gram (-)	Basil	-	+	-
46	ST1A/9	Gram (-)	Basil	-	+++	+
47	ST1A/10	Gram (-)	Basil	-	+	-
48	ST1B/1	Gram (-)	Basil	-	++++	-
49	ST1B/2	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++++	+
50	ST1B/3	Gram (+)	Basil	+	++	-
51	ST1B/4	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++++	+
52	ST1B/5	Gram (+)	Basil	+	++	-
53	ST1B/6	Gram (+)	Basil	+	-	+
54	ST1B/7	Gram (+)	Basil	+	+++	-
55	ST1B/8	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++++	+
56	ST1B/9	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
57	ST1B/10	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
58	ST1B/11	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
59	AT1B/1	Gram (+)	Basil	+	+	-
60	AT1B/2	Gram (+)	Basil	+	+++	-
61	AT1B/3	Gram (+)	Basil	+	+	-
62	AT1B/4	Gram (+)	Basil	+	+++	-
63	AT2B/1	Gram (-)	Basil	-	++	+
64	AT2B/2	Gram (-)	Basil	-	++	+
65	AT2B/3	Gram (-)	Kokobasil-kok	-	++	+
66	AT2B/4	Gram (-)	Kokobasil	-	++++	+
67	AT2B/5	Gram (-)	Basil	-	++	-
68	AT2B/6	Gram (-)	Kokobasil	-	++	-
69	AT2B/7	Gram (-)	Basil	-	++	-
70	AT2B/8	Gram (-)	Basil	-	++	-
71	DT1B/1	Gram (-)	Basil	-	++	+
72	DT1B/2	Gram (-)	Basil	-	+	+
73	DT1B/3	Gram (+)	Basil	+	+++	-
74	DT1B/4	Gram (+)	Basil	+	++	-
75	DT1B/5	Gram (+)	Basil	+	+++	-
76	DT2B/1	Gram (+)	Basil	+	++	-

Tablo 5.6: Devam.

77	DT2B/2	Gram (+)	Basil	+	+++	-
78	DT2B/3	Gram (+)	Basil	+	+++	-
79	DT2B/4	Gram (+)	Basil	+	++	-
80	TT1B/1	Gram (+)	Basil	+	++	-
81	TT1B/2	Gram (+)	Basil	+	++	-
82	TT1B/3	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+++	-
83	TT1B/4	Gram (+)	Basil	+	++	-
84	TT2B/1	Gram (-)	Kokobasil-kok	-	+++	-
85	TT2B/2	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	+++	-
86	TT2B/3	Gram (-)	Kok-kokobasil	-	+++	-
87	TT2B/4	Gram (+)	Basil	+	++++	-
88	TT2B/5	Gram (+)	Basil	+	+++	-
89	ST2B/1	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	++	-
90	ST2B/2	Gram (+)	Basil	+	++++	-
91	ST2B/3	Gram (-)	Basil	-	++	-
92	ST2B/4	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+++	-
93	ST2B/5	Gram (-)	Basil	-	+++	-
94	ST2B/6	Gram (-)	Basil-kokobasil	-	+++	-
95	ST2B/7	Gram (+)	Basil	+	++++	-
96	ST2B/8	Gram (-)	Basil	-	+++	-
97	KT1B/1	Gram (+)	Basil	+	++	-
98	KT1B/2	Gram (+/-)	Basil	+	-	-
99	KT1B/3	Gram (+)	Basil	+	++	-
100	KT1B/4	Gram (+)	Basil	+	++	-

Gram boyama sonuçlarına bakıldığında 32 izolatın Gram pozitif, 67 izolatın Gram negatif olduğu ve 1 izolatın (98 numaralı izolat) Gram değişken olduğu belirlenmiştir. Literatürde, rizosferik toprak örneklerinde Gram negatif bakterilerin daha baskın olduğu belirtilmiştir [Karagöz et al., 2012], [Joshi and Bhatt, 2011]. Elde edilen izolatlar arasında Gram negatif izolatların sayıca fazla olması literatürü destekler niteliktedir. Hücre morfolojilerine bakıldığında 58 izolatın basil, 41 izolatın kokobasil ve 1 izolatın kok formunda olduğu gözlemlenmiştir.

98 izolatın çeşitli düzeylerde katalaz pozitif, 2 izolatın katalaz negatif ve 25 izolatın oksidaz pozitif, 75 izolatın oksidaz negatif olduğu belirlenmiştir.

Sadece Gram pozitif izolatlara spor boyama yapılmış ve spor boyama sonucunda 33 adet Gram pozitif izolatın 31 tanesinde endospor varlığı gözlemlenirken 2 tanesinde gözlemlenmemiştir.



Tablo 5.7: İzolatların koloni morfolojilerinin değerlendirilmesine ait sonuçlar.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	Koloni Morfolojisi							
		Rengi	Şekli	Kenarı	Yüksekliği	Yüzeyi	Boyutu	Görünümü	Optik Özelliği
1	KT2A/1	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
2	KT2A/2	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
3	KT2A/3	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
4	KT2A/4	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Dalgalı-düz	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
5	KT2A/5	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
6	KT2A/6	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
7	KT2A/7	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
8	KT2A/8	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Küçük	Mat	Mat
9	KT2A/9	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Parlak
10	KT2A/10	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Büyük	Mat	Mat
11	KT2A/11	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
12	KT2A/12	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Saydam
13	KT2A/13	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
14	KT2A/14	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
15	KT2B/1	Sarı	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
16	KT2B/2	Beyaz	Düzensiz, yayılan	Düzensiz	Düz	Dalgalı	Büyük	Parlak	Yarı saydam

Tablo 5.7: Devam.

17	KT2B/3	Sarımsı beyaz	Düzensiz, yayılan	Filamentli	Düz	Dalgalı	Büyük	Mat	Mat
18	KT2B/4	Sarımsı beyaz	Düzensiz, yayılan	Filamentli	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
19	KT2B/5	Sarımsı beyaz	Düzensiz, yayılan	Filamentli	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
20	KT2B/6	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
21	KT2B/7	Sarımsı beyaz	Düzensiz, yayılan	Filamentli	Düz	Dalgalı	Küçük	Parlak	Yarı saydam
22	KT2B/8	Beyaz	Düzensiz, yayılan bulutsu	Dalgalı-düz	Düz	Düz	Büyük	Mat	Mat
23	KT2B/9	Beyaz	Düzensiz, yayılan bulutsu	Rhizoid	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
24	KT2B/10	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Mat	Mat
25	KT2B/11	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Dalgalı-düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
26	KT2B/12	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Loblu	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
27	KT2B/13	Sarımsı beyaz	Düzensiz, yayılan	Filamentli	Düz	Düz	Büyük	Mat	Mat
28	KT2B/14	Beyaz	Yuvarlak	Dalgalı	Düz	Düz	Orta	Parlak	Saydam
29	KT2B/15	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
30	KT2B/16	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam

Tablo 5.7: Devam.

31	KT2B/17	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Düzensiz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
32	KT2B/18	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Düzensiz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
33	KT2B/19	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
34	KT2B/20	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta-büyük	Mat	Mat
35	KT2B/21	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Saydam
36	KT2B/22	Beyaz	Düzensiz	Düzensiz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
37	KT2B/23	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Mat	Mat
38	ST1A/1	Beyaz	Yuvarlak	Dalgali-düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
39	ST1A/2	Beyaz	Yuvarlak	Dalgali-düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
40	ST1A/3	Beyaz	Yuvarlak	Dalgali-düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
41	ST1A/4	Beyaz	Yuvarlak	Dalgali-düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
42	ST1A/5	Sarı	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
43	ST1A/6	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Mat	Mat
44	ST1A/7	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
45	ST1A/8	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Mat	Mat
46	ST1A/9	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Loblu	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
47	ST1A/10	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Saydam
48	ST1B/1	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Konveks	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
49	ST1B/2	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Konveks	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
50	ST1B/3	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz, yüksek	Düz	Büyük	Mat, bulutsu	Mat

Tablo 5.7: Devam.

51	ST1B/4	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
52	ST1B/5	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Dalgali-düzensiz	Düz	Dalgali	Orta	Parlak	Yarı saydam
53	ST1B/6	Beyaz	Düzensiz	Dalgali-düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Saydam
54	ST1B/7	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Dalgali-düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
55	ST1B/8	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Mat	Mat
56	ST1B/9	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Dalgali	Küçük	Parlak	Yarı saydam
57	ST1B/10	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Dalgali	Küçük	Parlak	Saydam
58	ST1B/11	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Dalgali	Küçük	Parlak	Saydam
59	AT1B/1	Beyaz	Düzensiz	Loblu	Yüksek	Dalgali	Büyük	Mat	Mat
60	AT1B/2	Beyaz	Yuvarlak	Filamentli	Yüksek	Dalgali	Büyük	Mat	Mat
61	AT1B/3	Beyaz	Düzensiz	Loblu	Konveks	Düz	Büyük	Mat	Mat
62	AT1B/4	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
63	AT2B/1	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Yarı saydam
64	AT2B/2	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Dalgali	Orta	Mat	Yarı saydam
65	AT2B/3	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
66	AT2B/4	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
67	AT2B/5	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Büyük	Parlak	Yarı saydam
68	AT2B/6	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam

Tablo 5.7: Devam.

69	AT2B/7	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
70	AT2B/8	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
71	DT1B/1	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Yarı saydam
72	DT1B/2	Beyaz	Düzensiz	Düzensiz	Düz	Dalgalı	Orta	Mat	Yarı saydam
73	DT1B/3	Beyaz	Düzensiz	Filamentli	Konveks	Dalgalı	Büyük	Mat	Mat
74	DT1B/4	Beyaz	Düzensiz	Filamentli	Yüksek	Dalgalı	Büyük	Mat	Mat
75	DT1B/5	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Yarı saydam
76	DT2B/1	Beyaz	Düzensiz	Filamentli	Konveks	Dalgalı	Büyük	Mat	Mat
77	DT2B/2	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Konveks	Düz	Büyük	Mat	Mat
78	DT2B/3	Beyaz	Yuvarlak	Filamentli	Konveks	Dalgalı	Büyük	Mat	Mat
79	DT2B/4	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
80	TT1B/1	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
81	TT1B/2	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat
82	TT1B/3	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
83	TT1B/4	Beyaz	Yuvarlak	Filamentli	Düz-yüksek	Düz	Büyük	Mat	Mat
84	TT2B/1	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Mat	Yarı saydam
85	TT2B/2	Beyaz	Yuvarlak	Filamentli	Düz-yüksek	Düz	Orta	Mat	Yarı saydam
86	TT2B/3	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
87	TT2B/4	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
88	TT2B/5	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Mat	Mat

Tablo 5.7: Devam.

89	ST2B/1	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Konveks	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
90	ST2B/2	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Dalgalı	Düz	Dalgalı	Büyük	Parlak	Yarı saydam
91	ST2B/3	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
92	ST2B/4	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
93	ST2B/5	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Küçük	Parlak	Yarı saydam
94	ST2B/6	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Düz	Konveks	Düz	Büyük	Parlak	Yarı saydam
95	ST2B/7	Sarımsı beyaz	Düzensiz	Dalgalı	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
96	ST2B/8	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz	Düz	Orta	Parlak	Yarı saydam
97	KT1B/1	Beyaz	Düzensiz	Filamentli	Yüksek	Dalgalı	Büyük	Mat	Mat
98	KT1B/2	Sarımsı beyaz	Yuvarlak	Dalgalı	Düz	Dalgalı	Orta	Parlak	Yarı saydam
99	KT1B/3	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Büyük	Mat	Mat
100	KT1B/4	Beyaz	Yuvarlak	Düz	Düz-yüksek	Düz	Büyük	Mat	Mat

5.7. İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Seçilen 100 izolata metotta belirtilen şekilde IMViC, hareketlilik, H₂S üretimi, oksidasyon-fermantasyon, karbonhidrat kullanımı, lizin, ornitin, arjinin dekarboksilaz, üreaz, fenilalanin deaminaz ve ONPG testleri yapılmıştır. Bu testlerin sonuçları gruplandırılarak Tablo 5.8, Tablo 5.9 ve Tablo 5.10'da verilmiştir.

Biyokimyasal testlerin sonuçları değerlendirildiğinde izolatların hiçbirinin indol ve H₂S üretimi testi yönünden pozitif sonuç vermediği görülmektedir. İzolatların 43 tanesinin hareketli, 57 tanesinin ise hareketsiz olduğu belirlenmiştir. Literatürde *Enterobacteriaceae* ailesine ait türlerin çoğunlukla MR ve VP testi için ters sonuçlar verdiği belirtilmektedir. Ancak bazı bakteri türlerinin hem MR hem de VP testi için pozitif sonuç verdiği bilinmektedir. İzolatların MR-VP testi sonuçlarına bakıldığında 3 izolatın (TT1B/4, KT1B/1, KT1B/4) hem MR hem de VP testi için pozitif sonuç verdiği görülmektedir. İzolatların 62 tanesi sitrat pozitif, 38 tanesi sitrat negatiftir. İzolatlar oksijen ihtiyaçlarına göre değerlendirildiğinde 17 izolatın aerob, 38 izolatın fakültatif anaerob olduğu görülmüştür. İlginç bir sonuç olarak, izolatların laktoz kullanımını değerlendirmek amacıyla fenol kırmızısı sıvı besiyeri kullanılarak yapılan testte yalnızca 3 izolat pozitif sonuç verirken ONPG testinde 45 izolatın pozitif sonuç verdiği görülmektedir. Bu durum gerçek laktoz metabolizmasının belirlenmesinde ONPG testinin klasik fermentasyon testine göre daha üstün bir yöntem olduğunu göstermektedir. İzolatların yalnızca 9 tanesinin (KT2B/23, ST1A/15, AT2B/1, AT2B/2, DT1B/1, DT1B/2, DT1B/5, TT1B/1, TT1B/2) fenilalanin deaminaz testinde pozitif sonuç verdiği, dolayısıyla bu özelliğin izolatlar arasında nadir bulunan bir özellik olduğu görülmektedir. Son olarak, izolatlardan 35 tanesinin test edilen 9 karbonhidratın hiçbirini için pozitif sonuç vermediği belirlenmiştir.

Tablo 5.8: İzolatların hareketlilik, H₂S üretimi, IMViC ve üreaz testi sonuçları.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	Hareketlilik Testi	H ₂ S Üretimi	IMViC Testi				Üreaz Testi
				İndol	Metil Kırmızısı	Voges-Proskauer	Sitrat	
1	KT2A/1	-	-	-	-	-	+	-
2	KT2A/2	-	-	-	-	-	+	-
3	KT2A/3	-	-	-	-	-	+	-
4	KT2A/4	-	-	-	-	-	+	-
5	KT2A/5	-	-	-	-	-	+	-
6	KT2A/6	-	-	-	+	-	+	-
7	KT2A/7	-	-	-	-	-	+	+
8	KT2A/8	-	-	-	+	-	+	-
9	KT2A/9	-	-	-	-	-	+	-
10	KT2A/10	+	-	-	+	-	-	-
11	KT2A/11	+	-	-	-	+	+	-
12	KT2A/12	+	-	-	-	+	+	-
13	KT2A/13	+	-	-	-	+	+	+
14	KT2A/14	+	-	-	-	+	+	+
15	KT2B/1	-	-	-	-	-	-	-
16	KT2B/2	-	-	-	-	-	-	+
17	KT2B/3	-	-	-	-	-	+	-
18	KT2B/4	-	-	-	-	-	+	-
19	KT2B/5	-	-	-	-	-	+	-
20	KT2B/6	+	-	-	-	+	+	+
21	KT2B/7	-	-	-	-	-	+	-
22	KT2B/8	+	-	-	+	-	-	-

Tablo 5.8: Devam.

23	KT2B/9	-	-	-	-	+	-	-
24	KT2B/10	-	-	-	-	-	+	-
25	KT2B/11	-	-	-	-	-	+	-
26	KT2B/12	-	-	-	-	-	+	-
27	KT2B/13	-	-	-	-	-	+	-
28	KT2B/14	+	-	-	+	-	-	-
29	KT2B/15	-	-	-	+	-	-	-
30	KT2B/16	+	-	-	-	+	+	+
31	KT2B/17	+	-	-	-	+	-	-
32	KT2B/18	+	-	-	-	+	-	-
33	KT2B/19	+	-	-	-	+	+	+
34	KT2B/20	+	-	-	-	+	+	+
35	KT2B/21	+	-	-	-	+	+	+
36	KT2B/22	+	-	-	-	+	+	+
37	KT2B/23	-	-	-	+	-	+	+
38	ST1A/1	-	-	-	-	-	+	-
39	ST1A/2	-	-	-	-	-	+	-
40	ST1A/3	+	-	-	-	+	+	+
41	ST1A/4	-	-	-	-	-	+	-
42	ST1A/5	+	-	-	-	+	-	-
43	ST1A/6	-	-	-	-	-	-	-
44	ST1A/7	-	-	-	+	-	-	+
45	ST1A/8	-	-	-	-	-	+	-
46	ST1A/9	-	-	-	-	-	+	-
47	ST1A/10	+	-	-	-	+	+	+

Tablo 5.8: Devam.

48	ST1B/1	+	-	-	-	+	+	+
49	ST1B/2	-	-	-	-	-	+	-
50	ST1B/3	+	-	-	+	-	-	-
51	ST1B/4	-	-	-	-	-	+	-
52	ST1B/5	-	-	-	-	-	-	-
53	ST1B/6	+	-	-	+	-	-	-
54	ST1B/7	-	-	-	-	-	-	-
55	ST1B/8	-	-	-	-	-	+	+
56	ST1B/9	+	-	-	-	+	+	+
57	ST1B/10	+	-	-	-	+	+	+
58	ST1B/11	+	-	-	-	+	+	+
59	AT1B/1	-	-	-	-	+	-	-
60	AT1B/2	-	-	-	-	+	-	-
61	AT1B/3	-	-	-	-	+	-	+
62	AT1B/4	-	-	-	-	+	-	-
63	AT2B/1	-	-	-	-	-	+	-
64	AT2B/2	-	-	-	-	-	+	-
65	AT2B/3	-	-	-	-	-	+	-
66	AT2B/4	-	-	-	-	-	+	-
67	AT2B/5	+	-	-	-	+	+	+
68	AT2B/6	+	-	-	-	+	+	+
69	AT2B/7	+	-	-	-	+	+	+
70	AT2B/8	+	-	-	-	+	+	+
71	DT1B/1	-	-	-	-	-	+	-
72	DT1B/2	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 5.8: Devam.

73	DT1B/3	+	-	-	-	+	+	+
74	DT1B/4	-	-	-	-	+	-	+
75	DT1B/5	-	-	-	+	-	-	+
76	DT2B/1	-	-	-	-	+	-	-
77	DT2B/2	-	-	-	-	-	-	-
78	DT2B/3	+	-	-	-	+	-	-
79	DT2B/4	-	-	-	-	+	-	-
80	TT1B/1	-	-	-	+	-	-	+
81	TT1B/2	-	-	-	-	-	-	+
82	TT1B/3	+	-	-	-	+	+	-
83	TT1B/4	+	-	-	+	+	-	-
84	TT2B/1	-	-	-	-	-	+	+
85	TT2B/2	+	-	-	-	+	+	+
86	TT2B/3	+	-	-	-	+	+	+
87	TT2B/4	-	-	-	-	-	-	-
88	TT2B/5	-	-	-	-	-	-	-
89	ST2B/1	+	-	-	-	+	+	-
90	ST2B/2	-	-	-	-	-	-	-
91	ST2B/3	+	-	-	-	+	+	-
92	ST2B/4	+	-	-	-	+	+	-
93	ST2B/5	+	-	-	-	+	+	-
94	ST2B/6	+	-	-	-	+	+	-
95	ST2B/7	-	-	-	-	-	-	+
96	ST2B/8	+	-	-	-	+	+	-
97	KT1B/1	+	-	-	+	+	-	-

Tablo 5.8: Devam.

98	KT1B/2	-	-	-	-	-	-	-
99	KT1B/3	+	-	-	-	-	-	-
100	KT1B/4	+	-	-	+	+	-	-

Tablo 5.9: İzolatların oksidasyon-fermantasyon, lizin, ornitin, arjinin dekarboksilaz, fenilalanin deaminaz ve ONPG testi sonuçları.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	O/F Testi			Dekarboksilaz Testi			Fenilalanin Deaminaz Testi	ONPG Testi
		Aerob	Fakültatif anaerob	Inert	Lizin	Ornitin	Arjinin		
1	KT2A/1	+			-	-	+	-	-
2	KT2A/2	+			-	-	+	-	-
3	KT2A/3	+			+	-	+	-	-
4	KT2A/4	+			+	-	+	-	-
5	KT2A/5	+			-	-	+	-	-
6	KT2A/6			+	-	-	-	-	-
7	KT2A/7	+			-	-	+	-	-
8	KT2A/8	+			-	-	-	-	+
9	KT2A/9	+			-	-	+	-	-
10	KT2A/10			+	-	+	+	-	-
11	KT2A/11		+		+	+	-	-	+
12	KT2A/12		+		+	+	-	-	+
13	KT2A/13		+		-	+	+	-	+
14	KT2A/14		+		-	+	+	-	+
15	KT2B/1			+	+	-	-	-	-
16	KT2B/2			+	-	-	-	-	-
17	KT2B/3			+	-	-	-	-	-
18	KT2B/4			+	-	-	-	-	-
19	KT2B/5			+	-	-	-	-	-
20	KT2B/6		+		-	+	+	-	+
21	KT2B/7			+	-	-	-	-	-
22	KT2B/8			+	-	+	+	-	+

Tablo 5.9: Devam.

23	KT2B/9			+	-	-	-	-	+
24	KT2B/10			+	-	-	-	-	-
25	KT2B/11			+	-	+	+	-	+
26	KT2B/12			+	-	-	+	-	-
27	KT2B/13			+	+	-	-	-	-
28	KT2B/14			+	-	-	-	-	-
29	KT2B/15			+	-	-	-	-	-
30	KT2B/16		+		-	+	+	-	+
31	KT2B/17		+		-	-	+	-	+
32	KT2B/18		+		-	+	+	-	-
33	KT2B/19		+		-	+	+	-	+
34	KT2B/20		+		-	+	+	-	+
35	KT2B/21		+		-	+	+	-	+
36	KT2B/22		+		-	+	+	-	+
37	KT2B/23			+	-	-	-	+	+
38	ST1A/1	+			-	-	+	-	-
39	ST1A/2	+			-	-	+	-	-
40	ST1A/3		+		-	+	+	-	+
41	ST1A/4	+			-	-	+	-	-
42	ST1A/5		+		-	-	-	+	+
43	ST1A/6			+	-	-	-	-	-
44	ST1A/7			+	-	-	-	-	-
45	ST1A/8			+	-	-	+	-	-
46	ST1A/9	+			-	-	+	-	-
47	ST1A/10		+		-	+	+	-	+

Tablo 5.9: Devam.

48	ST1B/1		+		-	+	+	-	+
49	ST1B/2	+			-	-	+	-	-
50	ST1B/3			+	-	-	+	-	-
51	ST1B/4	+			-	-	+	-	-
52	ST1B/5			+	-	-	-	-	-
53	ST1B/6			+	-	-	-	-	-
54	ST1B/7			+	-	-	-	-	+
55	ST1B/8	+			-	-	+	-	-
56	ST1B/9		+		-	+	+	-	+
57	ST1B/10		+		-	+	+	-	+
58	ST1B/11		+		-	+	+	-	+
59	AT1B/1			+	-	-	-	-	-
60	AT1B/2		+		-	-	-	-	+
61	AT1B/3			+	-	-	-	-	-
62	AT1B/4		+		-	-	-	-	+
63	AT2B/1			+	-	-	-	+	-
64	AT2B/2			+	-	-	-	+	-
65	AT2B/3			+	-	-	+	-	-
66	AT2B/4			+	-	-	+	-	+
67	AT2B/5		+		-	+	+	-	+
68	AT2B/6		+		-	+	+	-	+
69	AT2B/7		+		-	+	+	-	+
70	AT2B/8		+		-	+	+	-	+
71	DT1B/1			+	-	-	-	+	-
72	DT1B/2			+	-	-	-	+	-

Tablo 5.9: Devam.

73	DT1B/3		+		-	+	+	-	+
74	DT1B/4	+			-	-	-	-	-
75	DT1B/5			+	-	-	-	+	+
76	DT2B/1			+	-	-	-	-	-
77	DT2B/2		+		-	-	-	-	+
78	DT2B/3		+		-	-	-	-	-
79	DT2B/4	+			-	-	-	-	-
80	TT1B/1			+	-	-	-	+	-
81	TT1B/2			+	-	-	-	+	+
82	TT1B/3			+	-	+	+	-	+
83	TT1B/4		+		-	-	+	-	-
84	TT2B/1		+		+	-	-	-	-
85	TT2B/2		+		-	+	+	-	+
86	TT2B/3		+		-	+	+	-	+
87	TT2B/4			+	-	-	-	-	-
88	TT2B/5			+	-	-	-	-	-
89	ST2B/1		+		-	+	+	-	+
90	ST2B/2			+	-	-	-	-	-
91	ST2B/3		+		-	+	+	-	+
92	ST2B/4		+		-	+	+	-	+
93	ST2B/5		+		-	+	+	-	+
94	ST2B/6		+		-	+	+	-	+
95	ST2B/7			+	-	-	-	-	-
96	ST2B/8		+		-	+	+	-	+
97	KT1B/1			+	-	-	-	-	-

Tablo 5.9: Devam.

98	KT1B/2			+	-	+	+	-	+
99	KT1B/3			+	-	-	-	-	-
100	KT1B/4			+	-	-	-	-	-

Tablo 5.10: İzolatların karbonhidrat kullanımı testi sonuçları.

İzolatın Adı	Karbonhidrat Kullanımı																			
	Glukoz		G.G.O.*		Mannitol		Ksiloz		Trehaloz		Fruktoz		Sükroz		Sellobiyoz		Mannoz		Laktoz	
	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s	24 s	48 s
KT2A/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/8	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
KT2A/9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2A/10	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
KT2A/11	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2A/12	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2A/13	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2A/14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*G.G.O.=Glukozdan gaz oluşumu, s=saat

Tablo 5.10: Devam.

KT2B/8	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/9	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KT2B/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/14	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT2B/16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
KT2B/18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/19	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
KT2B/20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/21	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/22	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
KT2B/23	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ST1A/1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1A/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1A/3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ST1A/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1A/5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
ST1A/6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1A/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1A/8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1A/9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 5.10: Devam.

ST1A/10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ST1B/1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ST1B/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
ST1B/3	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
ST1B/4	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ST1B/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1B/6	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ST1B/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1B/8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST1B/9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ST1B/10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ST1B/11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
AT1B/1	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
AT1B/2	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
AT1B/3	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
AT1B/4	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
AT2B/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT2B/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT2B/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT2B/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT2B/5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
AT2B/6	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
AT2B/7	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
AT2B/8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT1B/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 5.10: Devam.

DT1B/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DT1B/3	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT1B/4	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT1B/5	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT2B/1	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT2B/2	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT2B/3	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DT2B/4	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
TT1B/1	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
TT1B/2	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
TT1B/3	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
TT1B/4	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
TT2B/1	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TT2B/2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
TT2B/3	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
TT2B/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TT2B/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST2B/1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
ST2B/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST2B/3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
ST2B/4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
ST2B/5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
ST2B/6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
ST2B/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ST2B/8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-

Tablo 5.10: Devam.

KT1B/1	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
KT1B/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT1B/3	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
KT1B/4	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-

5.8. İzolatların Bitki Büyümesini Teşvik Edici (PGP) Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Testlerin Sonuçları

5.8.1. İnorganik Fosfatı Çözünür Hale Getirme

İzolatların inorganik fosfatı çözünür hale getirme kapasitesi bölüm 4.8.1’de belirtilen şekilde Pikovskaya agar ile kalitatif olarak belirlenmiştir (Şekil 5.8). İnkübasyon sonrası ekim hattı etrafında oluşan şeffaf zonun çapı ölçülerek fosfat çözünürlük indeksi hesaplanmış ve Tablo 5.11’de verilmiştir. İzolatların 45 tanesinin Pikovskaya agarda zon oluşturduğu, 55 tanesinin ise zon oluşturmadığı tespit edilmiştir. Ekim hattı etrafında hiç zon oluşturmayan ve dolayısıyla fosfat çözünürlük indeksi hesaplanamayan izolatlar Tablo 5.11’de yer verilmemiştir.

Pikovskaya agarda inorganik fosfatı çözünür hale getirdiği belirlenen izolatlardan fosfat çözünürlük indeksi 2’nin üzerinde olan 7 tanesi en iyi fosfat çözücü olarak değerlendirilmiş ve bu izolatların fosfat çözme kapasitesi kantitatif olarak da belirlenmiştir. Elde edilen absorbans değerlerinin karşılık geldiği konsantrasyonlar standart eğriden yararlanılarak hesaplanmıştır (Şekil 5.9). Deney her bir izolat için 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve ortalama değerler standart sapmaları ile birlikte Tablo 5.11’de verilmiştir. Buna göre izolatların pozitif kontrole kıyasla daha az miktarda olsa da belirli düzeylerde fosfatı çözünür hale getirebildiği belirlenmiştir. Veriler istatistiki olarak değerlendirildiğinde pozitif kontrol ve izolatlar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). İzolatlar birbiri ile kıyaslandığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tablo 5.11: İzolatların kontrole görece inorganik fosfatı çözme miktarları.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	Fosfat Çözünürlük İndeksi	Fosfat Miktarı (ppm)
Pozitif Kontrol	<i>P. aeruginosa</i>	2,15	5,052±0,964 ^a
1	KT2A/1	1,9	-
2	KT2A/2	2,3	1,861±0,0108 ^b

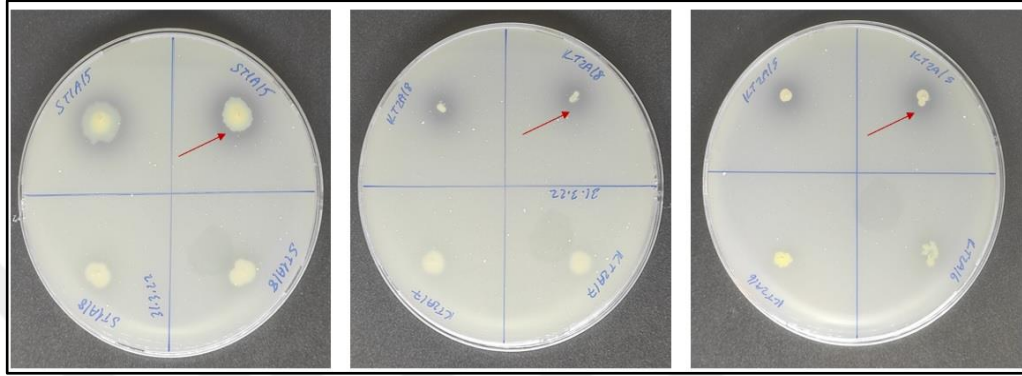
Tablo 5.11: Devam.

3	KT2A/3	2,5	1,884±0,025 ^b
4	KT2A/4	2,15	1,906±0,139 ^b
5	KT2A/5	2,91	2,053±0,013 ^b
6	KT2A/6	1,5	-
7	KT2A/7	1,54	-
8	KT2A/8	3	1,510±0,065 ^b
9	KT2A/9	2,3	1,922±0,057 ^b
11	KT2A/11	1,78	-
13	KT2A/13	1,14	-
14	KT2A/14	1,8	-
20	KT2B/6	1,27	-
30	KT2B/16	1,65	-
31	KT2B/17	1,18	-
33	KT2B/19	1,36	-
34	KT2B/20	2,125	1,505±0,641 ^b
35	KT2B/21	1,4	-
36	KT2B/22	1,14	-
40	ST1A/3	1,44	-
42	ST1A/5	1,3	-
45	ST1A/8	1,18	-
46	ST1A/9	1,28	-
47	ST1A/10	1,45	-
48	ST1B/1	1,4	-
56	ST1B/9	1,2	-
58	ST1B/11	1,3	-
65	AT2B/3	1,09	-
67	AT2B/5	1,54	-
68	AT2B/6	1,65	-
69	AT2B/7	1,4	-
70	AT2B/8	1,8	-
73	DT1B/3	1,43	-
76	DT2B/1	1,13	-
79	DT2B/4	1,2	-
82	TT1B/3	1,5	-
84	TT2B/1	1,29	-
85	TT2B/2	1,309	-
86	TT2B/3	1,325	-
89	ST2B/1	1,5	-
91	ST2B/3	1,3	-
92	ST2B/4	1,58	-

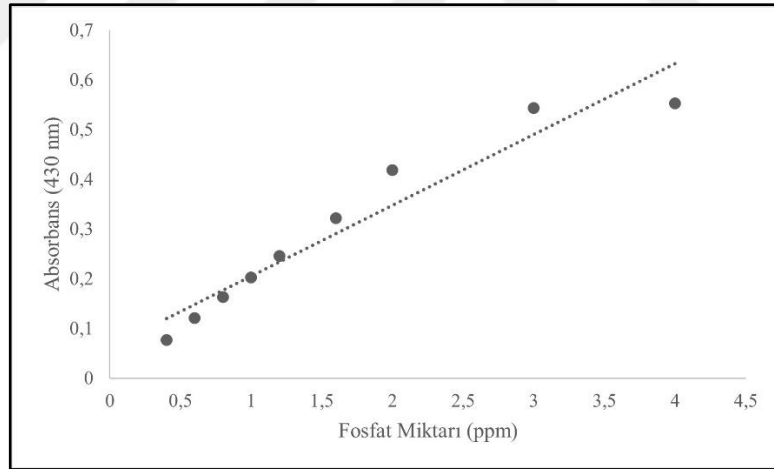
Tablo 5.11: Devam.

93	ST2B/5	1,44	-
94	ST2B/6	1,66	-
96	ST2B/8	1,58	-

*Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p < 0.05$).



Şekil 5.8: Bazı izolatların Pikovskaya agarda oluşturdukları çözünürlük zonu.



Şekil 5.9: Çözünmüş fosfat miktarının belirlenmesi için hazırlanan standart grafik.

5.8.2. İndol-3-asetik Asit Üretme

İzolatların IAA üretme kapasitesi metotta belirtilen şekilde hem spektrofotometrik yöntemle hem de HPLC ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar $\mu\text{g/ml}$ olarak Tablo 5.12’de verilmiştir. HPLC ile pozitif kontrolün 3 katı ve üzerinde

IAA ürettiği belirlenen izolatlara istatistiksel analiz uygulanmış olup analizin sonuçları Tablo 5.12’de belirtilmiştir. Buna göre 73 numaralı izolatın tüm izolatlarla kıyasla daha fazla IAA ürettiği görülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca seçilen bütün izolatların pozitif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde fark gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 5.12: İzolatların kontrole görece IAA üretme miktarları.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	IAA Miktarı $\mu\text{g/ml}$ (Spektrofotometrik Yöntem)	IAA Miktarı $\mu\text{g/ml}$ (HPLC)
Pozitif Kontrol	<i>E. coli</i>	22,181	$2,961 \pm 0,1225^e$
1	KT2A/1	7,877	$2,523 \pm 0,223$
2	KT2A/2	7,962	$2,668 \pm 0,013$
3	KT2A/3	2,729	$2,122 \pm 0,561$
4	KT2A/4	3,869	$2,511 \pm 0,036$
5	KT2A/5	3,742	$1,496 \pm 0,089$
6	KT2A/6	10,240	$1,678 \pm 0,112$
7	KT2A/7	5,556	$1,458 \pm 0,224$
8	KT2A/8	4,544	$25,082 \pm 0,542^b$
9	KT2A/9	14,417	$3,596 \pm 0,344$
10	KT2A/10	10,451	$1,503 \pm 0,007$
11	KT2A/11	4,924	$4,016 \pm 1,208$
12	KT2A/12	6,443	$4,033 \pm 0,653$
13	KT2A/13	11	$10,892 \pm 0,227^{cd}$
14	KT2A/14	10,662	$10,613 \pm 0,229^{cd}$
15	KT2B/1	2,983	$1,101 \pm 0,261$
16	KT2B/2	2,054	$1,174 \pm 0,194$
17	KT2B/3	2,054	$0,798 \pm 0,107$
18	KT2B/4	1,464	$0,635 \pm 0,081$
19	KT2B/5	1,886	$0,771 \pm 0,036$
20	KT2B/6	7,877	$9,563 \pm 0,298^{cd}$
21	KT2B/7	1,886	$4,190 \pm 0,577$
22	KT2B/8	7,371	$9,291 \pm 0,095^{cd}$
23	KT2B/9	3,489	$2,244 \pm 0,433$
24	KT2B/10	3,194	$0,962 \pm 0,129$
25	KT2B/11	4,122	$5,373 \pm 0,118$
26	KT2B/12	1,337	$0,688 \pm 0,108$
27	KT2B/13	1,928	$0,664 \pm 0,036$
28	KT2B/14	2,139	$2,883 \pm 0,474$

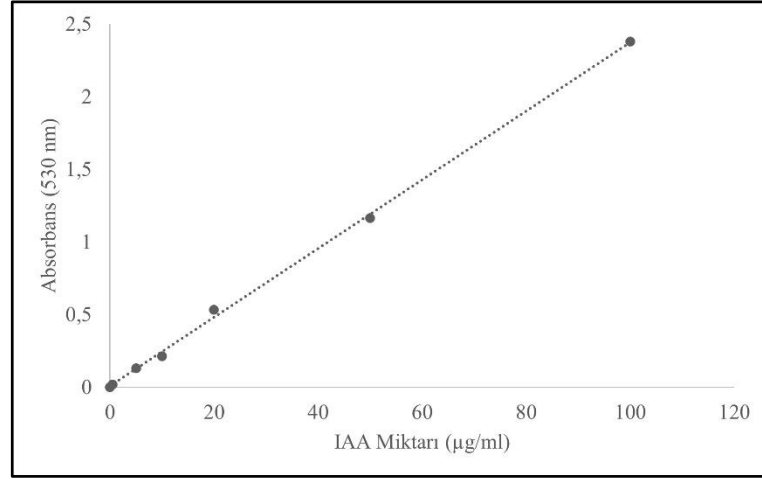
Tablo 5.12: Devam.

29	KT2B/15	3,489	3,640 ± 2,120
30	KT2B/16	13,025	9,690 ± 1,082^{cd}
31	KT2B/17	11,506	1,895 ± 0,069
32	KT2B/18	12,772	2,167 ± 0,079
33	KT2B/19	4,586	13,635 ± 2,064^c
34	KT2B/20	2,687	2,935 ± 0,237
35	KT2B/21	4,881	12,017 ± 1,605^{cd}
36	KT2B/22	4,502	9,476 ± 1,495^{cd}
37	KT2B/23	-0,097	2,190 ± 0,788
38	ST1A/1	3,109	1,905 ± 0,094
39	ST1A/2	4,713	0,412 ± 0,004
40	ST1A/3	13,616	12,650 ± 2,412^{cd}
41	ST1A/4	4,839	1,737 ± 0,030
42	ST1A/5	7,371	2,380 ± 0,175
43	ST1A/6	7,793	1,291 ± 0,043
44	ST1A/7	4,502	1,464 ± 0,085
45	ST1A/8	6,147	2,082 ± 0,627
46	ST1A/9	3,995	1,820 ± 0,179
47	ST1A/10	4,924	17,014 ± 0,813^c
48	ST1B/1	9,354	13,100 ± 0,794^c
49	ST1B/2	7,793	6,815 ± 0,296^d
50	ST1B/3	2,814	0,771 ± 0,022
51	ST1B/4	5,177	1,054 ± 0,036
52	ST1B/5	2,687	0,716 ± 0,056
53	ST1B/6	0,620	0,555 ± 0,035
54	ST1B/7	1,928	1,879 ± 0,128
55	ST1B/8	7,751	1,310 ± 0,055
56	ST1B/9	6,527	11,083 ± 1,479^{cd}
57	ST1B/10	3,911	14,867 ± 1,428^c
58	ST1B/11	3,869	17,524 ± 2,733^c
59	AT1B/1	7,666	1,263 ± 0,025
60	AT1B/2	2,645	1,249 ± 0,011
61	AT1B/3	4,375	1,176 ± 0,144
62	AT1B/4	10,071	1,266 ± 0,023
63	AT2B/1	10,746	12,800 ± 1,302^c
64	AT2B/2	7,033	1,642 ± 0,507
65	AT2B/3	5,261	1,146 ± 0,179
66	AT2B/4	7,793	1,095 ± 0,110
67	AT2B/5	3,616	7,928 ± 0,974^d
68	AT2B/6	3,278	2,684 ± 0,502

Tablo 5.12: Devam.

69	AT2B/7	1,843	15,991 ± 1,332 ^c
70	AT2B/8	4,417	7,869 ± 0,338 ^d
71	DT1B/1	10,578	12,975 ± 0,587 ^c
72	DT1B/2	18,215	1,951 ± 0,705
73	DT1B/3	4,755	45,248 ± 4,924 ^a
74	DT1B/4	5,092	0,876 ± 0,056
75	DT1B/5	2,308	3,419 ± 1,824
76	DT2B/1	5,008	0,796 ± 0,018
77	DT2B/2	5,978	0,878 ± 0,015
78	DT2B/3	2,097	0,933 ± 0,015
79	DT2B/4	5,978	0,958 ± 0,050
80	TT1B/1	1,759	0,396 ± 0,015
81	TT1B/2	0,873	0,909 ± 0,381
82	TT1B/3	5,810	7,574 ± 0,924
83	TT1B/4	3,742	0,877 ± 0,038
84	TT2B/1	3,658	7,263 ± 0,356
85	TT2B/2	2,434	7,020 ± 0,431
86	TT2B/3	3,573	6,370 ± 0,112
87	TT2B/4	0,746	0,582 ± 0,031
88	TT2B/5	-0,097	0,651 ± 0,017
89	ST2B/1	2,898	8,237 ± 1,481
90	ST2B/2	2,603	1,270 ± 0,787
91	ST2B/3	4,037	7,093 ± 1,434
92	ST2B/4	8,215	8,320 ± 3,555
93	ST2B/5	17,919	7,171 ± 1,783
94	ST2B/6	18,679	6,859 ± 1,177
95	ST2B/7	2,139	0,434 ± 0,019
96	ST2B/8	17,033	4,853 ± 1,812
97	KT1B/1	8,383	0,616 ± 0,106
98	KT1B/2	19,016	8,148 ± 2,279
99	KT1B/3	3,236	0,722 ± 0,023
100	KT1B/4	2,603	0,718 ± 0,036

*Aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (p<0.05).



Şekil 5.10: Üretilen IAA miktarının belirlenmesi için hazırlanan standart grafik.

5.8.3. Siderofor Üretme

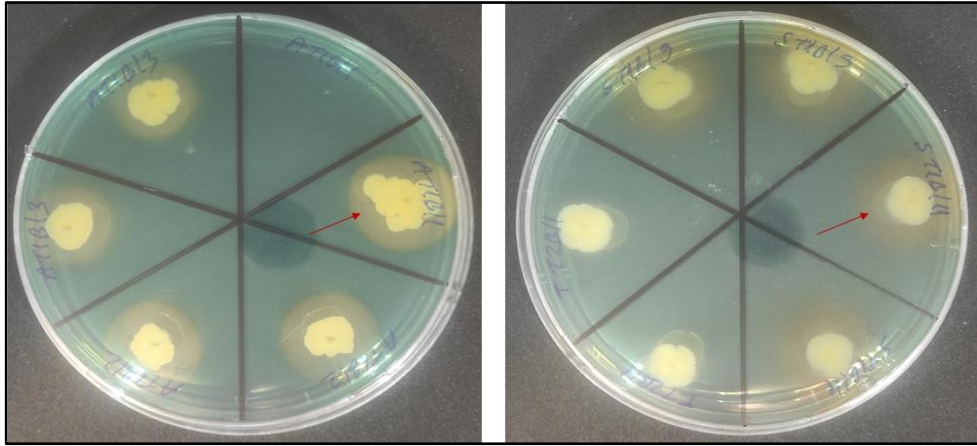
İzolatların siderofor üretme kapasitesi metotta belirtilen şekilde belirlenmiştir. İzolatların oluşturdukları sarı-turuncu zon çapları ölçülerek Tablo 5.13'te verilmiştir. Buna göre 63 izolatın 0,1-1,2 cm aralığında zonlar oluşturarak siderofor ürettiği tespit edilmiştir. 0,5 cm ve üzerinde zon oluşturan 12 izolat en iyi siderofor üreticileri olarak belirlenmiştir. Şekil 5.11'de bazı izolatların CAS blue agar besiyerinde oluşturdukları zonlar görülmektedir.

Tablo 5.13: İzolatların kontrole görece siderofor üretim düzeyleri.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	Zon Çapı (cm)	İzolat Numarası	İzolatın Adı	Zon Çapı (cm)
Pozitif Kontrol	<i>P. aeruginosa</i>	2,1	47	ST1A/10	0,8
1	KT2A/1	0,2	48	ST1B/1	0,95
2	KT2A/2	0,2	55	ST1B/8	0,2
3	KT2A/3	0,2	56	ST1B/9	0,95
4	KT2A/4	0,25	58	ST1B/11	1
5	KT2A/5	0,2	59	AT1B/1	0,9
6	KT2A/6	0,45	60	AT1B/2	1
7	KT2A/7	0,1	61	AT1B/3	0,65
10	KT2A/10	0,1	62	AT1B/4	1,2
11	KT2A/11	0,25	67	AT2B/5	0,15

Tablo 5.13: Devam.

12	KT2A/12	0,2	68	AT2B/6	0,2
13	KT2A/13	0,2	69	AT2B/7	0,2
14	KT2A/14	0,25	73	DT1B/3	0,1
16	KT2B/2	0,4	75	DT1B/5	0,35
22	KT2B/8	0,35	76	DT2B/1	0,7
23	KT2B/9	0,4	78	DT2B/3	0,5
28	KT2B/14	0,1	80	TT1B/1	0,1
30	KT2B/16	0,1	85	TT2B/2	0,1
31	KT2B/17	0,2	86	TT2B/3	0,2
32	KT2B/18	0,4	87	TT2B/4	0,4
33	KT2B/19	0,25	88	TT2B/5	0,3
34	KT2B/20	0,2	89	ST2B/1	0,35
35	KT2B/21	0,2	90	ST2B/2	0,2
36	KT2B/22	0,25	91	ST2B/3	0,15
37	KT2B/23	0,2	92	ST2B/4	0,2
38	ST1A/1	0,25	93	ST2B/5	0,2
39	ST1A/2	0,15	94	ST2B/6	0,1
40	ST1A/3	0,95	95	ST2B/7	0,35
41	ST1A/4	0,1	96	ST2B/8	0,3
43	ST1A/6	0,1	97	KT1B/1	0,8
44	ST1A/7	0,4	98	KT1B/2	0,35
45	ST1A/8	0,1			



Şekil 5.11: Bazı izolatların CAS blue agarda oluşturduğu zonlar.

Siderofor üretme kapasitesi kalitatif olarak belirlenen izolatlardan CAS blue agarda oluşturduğu zon çapı 0,5 cm ve üzerinde olan 12 izolat seçilerek bu izolatların

siderofor üretme kapasitesi kantitatif olarak da belirlenmiştir. İzolatların siderofor üretme yüzdesi (psu) Tablo 5.14’te verilmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde izolatların %42,60 ile %75,49 arasında değişen oranlarda siderofor ürettiği görülmüştür. Seçilen 12 izolattan 9 tanesi pozitif kontrole kıyasla daha az miktarda siderofor üretmekle birlikte 78 ve 97 numaralı izolatların pozitif kontrolden daha fazla, 60 numaralı izolatin ise pozitif kontrole eşit oranda siderofor ürettiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların kalitatif yöntemle elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Tablo 5.14: İzolatların kontrole görece siderofor üretme yüzdeleri.

İzolat Numarası	İzolatin Adı	A ₆₃₀	Psu
Pozitif Kontrol	<i>P. aeruginosa</i>	0,233	%72,13
40	ST1A/3	0,414	%50,51
47	ST1A/10	0,439	%47,61
48	ST1B/1	0,481	%42,60
56	ST1B/9	0,393	%53,02
58	ST1B/11	0,472	%43,59
59	AT1B/1	0,289	%65,47
60	AT1B/2	0,233	%72,15
61	AT1B/3	0,245	%70,72
62	AT1B/4	0,27	%67,78
76	DT2B/1	0,205	%75,49
78	DT2B/3	0,309	%63,08
97	KT1B/1	0,222	%73,50

5.8.4. Serbest Azotu Fikse Etme

Serbest azotu fikse etme kapasitesinin belirlenmesi için izolatlar azot içermeyen besiyerine inoküle edilerek 7 gün inkübe edilmiştir. Besiyerindeki rengin sarıdan maviye dönüşmesi azot fiksasyonunu göstermektedir. İzolatların azot fikse etme kapasitesi pozitif kontrolle kıyaslanarak derecelendirilmiş ve Tablo 5.15’te verilmiştir. Sonuçlara göre izolatların 26 tanesi çok iyi, 21 tanesi iyi, 18 tanesi orta, 11 tanesi az

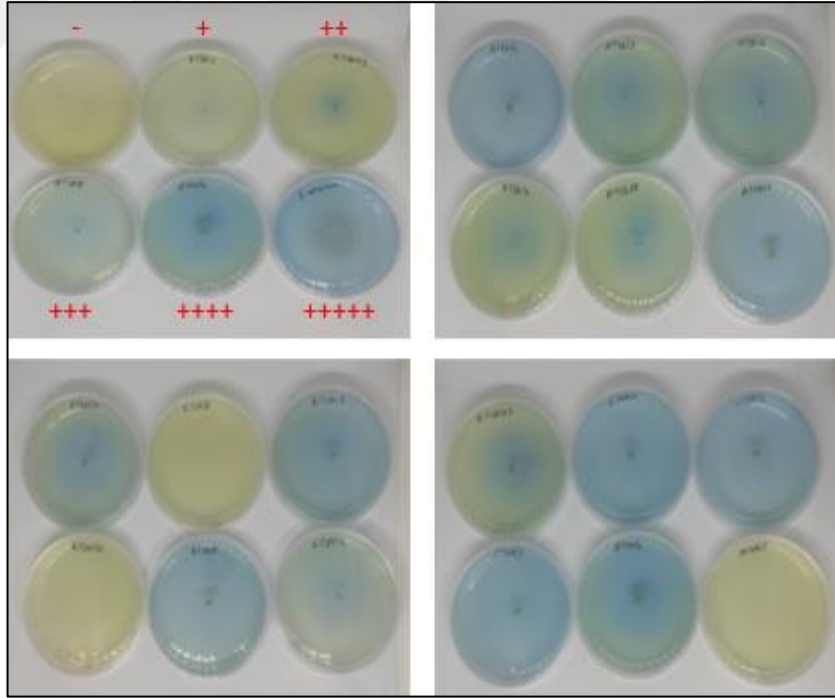
ve 3 tanesi çok az düzeyde azotu fikse etmekte, 21 tanesi azot fikse etmemektedir. İzolatların NFb agarda oluşturdıkları renk değişimi Şekil 5.12’de görülmektedir.

Tablo 5.15: İzolatların kontrole görece azot fikse etme düzeyleri.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	Azot Fiksasyonu	İzolat Numarası	İzolatın Adı	Azot Fiksasyonu
Pozitif Kontrol	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+++++	51	ST1B/4	++++
1	KT2A/1	+++++	55	ST1B/8	+++++
2	KT2A/2	+++++	56	ST1B/9	++++
3	KT2A/3	+++++	57	ST1B/10	++++
4	KT2A/4	+++++	58	ST1B/11	+++
5	KT2A/5	+++++	59	AT1B/1	++++
6	KT2A/6	+++++	60	AT1B/2	++++
7	KT2A/7	++++	61	AT1B/3	++++
9	KT2A/9	+++++	62	AT1B/4	++++
11	KT2A/11	+++++	63	AT2B/1	+++++
12	KT2A/12	++++	64	AT2B/2	+++++
13	KT2A/13	+++++	65	AT2B/3	+++++
14	KT2A/14	+++++	66	AT2B/4	+++++
17	KT2B/3	++	67	AT2B/5	+++
18	KT2B/4	++	68	AT2B/6	+++
19	KT2B/5	++	69	AT2B/7	+++
20	KT2B/6	++++	70	AT2B/8	+++
21	KT2B/7	++	71	DT1B/1	+++++
23	KT2B/9	++++	72	DT1B/2	+++++
24	KT2B/10	++	73	DT1B/3	++++
25	KT2B/11	++	74	DT1B/4	++
26	KT2B/12	++	75	DT1B/5	+++
27	KT2B/13	++	76	DT2B/1	+
30	KT2B/16	+++++	77	DT2B/2	++
31	KT2B/17	+++	78	DT2B/3	+++++
32	KT2B/18	++++	79	DT2B/4	++
33	KT2B/19	+++++	80	TT1B/1	++++

Tablo 5.15: Devam.

34	KT2B/20	++++	81	TT1B/2	+++
35	KT2B/21	++++	82	TT1B/3	+++
36	KT2B/22	++++	83	TT1B/4	+
37	KT2B/23	+++	84	TT2B/1	++++
38	ST1A/1	+++++	85	TT2B/2	+++
39	ST1A/2	+++++	86	TT2B/3	+++
40	ST1A/3	+++++	89	ST2B/1	+++
41	ST1A/4	++++	91	ST2B/3	+++
45	ST1A/8	+++++	92	ST2B/4	+++
46	ST1A/9	+++++	93	ST2B/5	+++
47	ST1A/10	++++	94	ST2B/6	+++
48	ST1B/1	++++	96	ST2B/8	+++
49	ST1B/2	+++++	98	KT1B/2	+



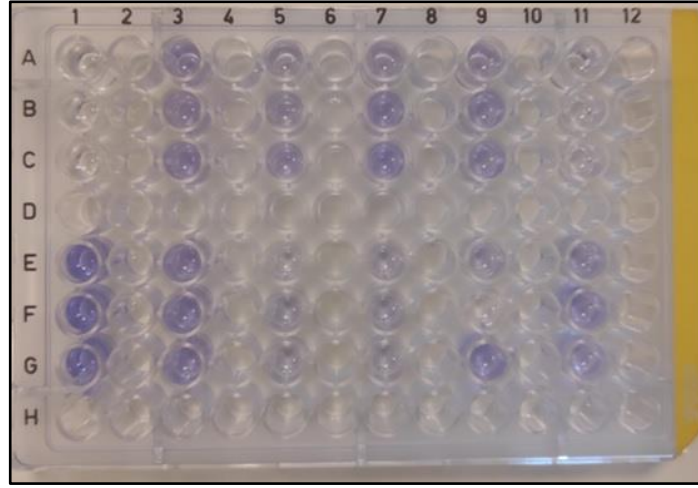
Şekil 5.12: Bazı izolatların azot içermeyen besiyerindeki görünüşleri.

5.8.5. Biyofilm Üretme

İzolatların biyofilm üretme kapasitesi bölüm 4.8.8’de belirtilen şekilde tespit edilmiştir (Şekil 5.13). Absorbans değeri pozitif kontrolün %75’i ve üzerinde ($> 0,66$) olan izolatlar çok iyi, pozitif kontrolün %25-75’i oranında ($0,287-0,66$) olan izolatlar iyi ve pozitif kontrolün %25’inin altında ($<0,287$) olan izolatlar zayıf biyofilm üreticileri olarak değerlendirilmiştir [Lade et al., 2019]. Elde edilen sonuçlar ve izolatların biyofilm üretme düzeyleri Tablo 5.16’da verilmiştir. Buna göre izolatların 2 tanesi çok iyi ve 10 tanesi iyi düzeyde biyofilm üretmektedir. 88 izolat ise biyofilm üretmemekte ya da az düzeyde üretmektedir. Bu izolatlara Tablo 5.16’da yer verilmemiştir.

Tablo 5.16: İzolatların biyofilm üretme kapasiteleri.

İzolat Numarası	İzolatın Adı	A ₆₀₀	Biyofilm Üretimi
Pozitif Kontrol	<i>P. aeruginosa</i>	0,382	+
2	KT2A/2	0,344	+
5	KT2A/5	0,359	+
6	KT2A/6	0,328	+
8	KT2A/8	0,385	+
15	KT2B/1	1,675	++
27	KT2B/13	0,362	+
28	KT2B/14	0,665	++
33	KT2B/19	0,497	+
61	AT1B/3	0,452	+
69	AT2B/7	0,646	+
70	AT2B/8	0,410	+
79	DT2B/4	0,358	+



Şekil 5.13: İzolatların biyofilm üretme kapasitelerinin mikropaklarda belirlenmesi.

5.9. Konsorsiyum Oluşturmaya Aday İzolatların Seçilmesi ve Moleküler Biyolojik Yöntemlerle Tanımlanması

In vitro testlerle bitki büyümesini teşvik edici özellikler gösterdiği tespit edilen, biyokimyasal testlerle metabolik karakteristiklerinin farklı olduğu belirlenen ve görece farklı toprak örneklerinden izole edilen 5, 6, 8, 28, 30, 34, 40, 49, 56, 62, 65, 69, 71, 72, 76, 78, 79, 97 ve 98 numaralı izolatlar moleküler biyolojik yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanmak üzere seçildi. Bu izolatların seçiminde göz önüne alınan parametreler Tablo 5.17’de verilmiştir.

Tablo 5.17: Konsorsiyumda kullanılmaya aday izolatların seçiminde gözetilen parametreler.

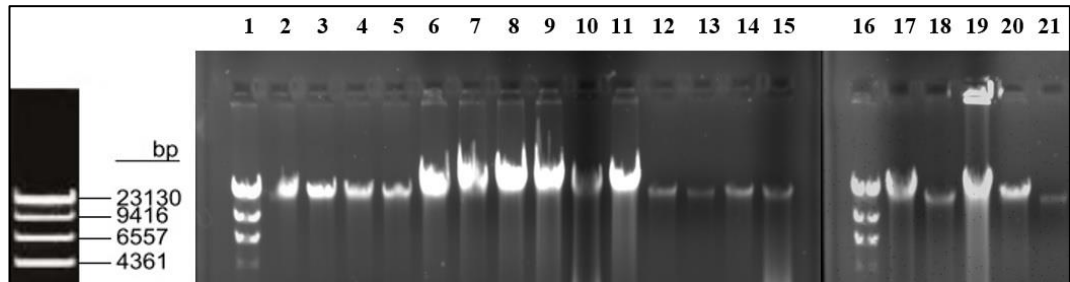
İzolat Numarası	İzolatın Adı	Gram Boyanma Özelliği	Seçimde gözetilen parametreler
5	KT2A/5	Gram (-)	Azot fiksasyonu, fosfat çözebilme, biyofilm üretme
6	KT2A/6	Gram (-)	Azot fiksasyonu, biyofilm üretme, biyokimyasal karakteristiklerindeki farklılıklar
8	KT2A/8	Gram (-)	Fosfat çözebilme, IAA üretme, biyofilm üretme
28	KT2B/14	Gram (-)	Biyofilm üretme
30	KT2B/16	Gram (-)	Azot fikse etme, IAA üretme
34	KT2B/20	Gram (-)	Fosfat çözebilme

Tablo 5.17: Devam.

40	ST1A/3	Gram (-)	Azot fikse etme, IAA üretme, siderofor üretme
49	ST1B/2	Gram (-)	Azot fikse etme, morfolojik farklılıklar
56	ST1B/9	Gram (-)	IAA üretme, siderofor üretme
62	AT1B/4	Gram (+)	Siderofor üretme
65	AT2B/3	Gram (-)	Azot fikse etme, morfolojik farklılıklar
69	AT2B/7	Gram (-)	Biyofilm üretme
71	DT1B/1	Gram (-)	Azot fikse etme, IAA üretme
72	DT1B/2	Gram (-)	Azot fikse etme, IAA üretme
76	DT2B/1	Gram (+)	Siderofor üretme
78	DT2B/3	Gram (+)	Azot fikse etme
79	DT2B/4	Gram (+)	Biyofilm üretme
97	KT1B/1	Gram (+)	Siderofor üretme
98	KT1B/2	Gram (+)	IAA üretme

5.9.1. Genomik DNA İzolasyonu

Toplam 19 izolattan metotta belirtilen şekilde genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen örneklerde DNA'nın varlığı agaroz jel ile belirlenmiştir (Şekil 5.14). Ayrıca DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop cihazında ölçülerek elde edilen sonuçlar Tablo 5.18'de verilmiştir.



Şekil 5.14: Genomik DNA örneklerinin agaroz jeldeki görüntüsü, 1: Lambda marker, 2-15: İzolatlar, 16: Lambda marker, 17-21: İzolatlar.

Tablo 5.18: Genomik DNA örneklerinin NanoDrop ölçüm sonuçları.

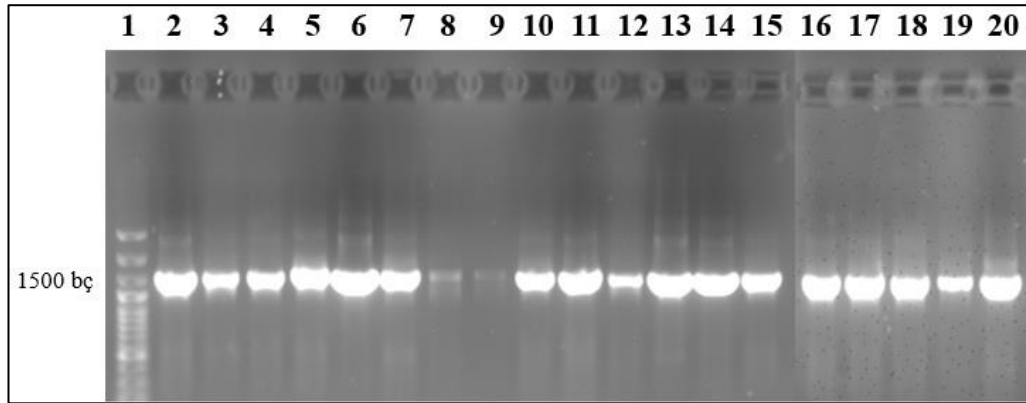
İzolat Numarası	Miktar (ng/μl)	A260/280
5	229	1,88
6	17,8	1,69
8	49,2	1,66

Tablo 5.18: Devam.

28	101,9	1,83
30	156	1,91
34	313,7	1,84
40	253	1,92
49	132,1	1,81
56	153,5	1,74
62	1040,1	2,04
65	158,4	1,85
69	891,2	2,02
71	25	1,71
72	13,8	1,52
76	153,3	2,12
78	279,4	2,09
79	395,7	2,02
97	306,3	2,11
98	202,6	1,87

5.9.2. 16S rDNA Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve Dizi Analizi

İzolatların tür düzeyinde tanımlanması için 16S rDNA bölgesinin PZR ile çoğaltılması metotta belirtilen şekilde gerçekleştirildi. 1500 bç'lik hedef bölgenin varlığı agaroz jel elektroforezi ile gösterildi (Şekil 5.15).



Şekil 5.15: PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü, 1: 100 bp marker, 2-20: PZR ürünleri.

Seçilen 19 izolatın dizi analizi sonuçları BLAST programı kullanılarak analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 5.19'da verilmiştir.

Tablo 5.19: İzolatların 16S rDNA dizi analizi sonuçlarına göre tanımlanması (Bkz. Ek B).

İzolat Numarası	İzolasyon yeri	BLASTn Sonucu (İlk 3 Sonuç)	Benzerlik Yüzdesi	Takson Tahmini
5	KT2	<i>Pseudomonas japonica</i> strain JM19	%99	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Pseudomonas</i> sp. strain MpCh38-6	%99	
		<i>Bacterium</i> strain T2-12	%99	
6	KT2	<i>Pseudomonas</i> sp. strain HU-1	%100	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Pseudomonas putida</i> strain BUMGV3	%100	
		<i>Pseudomonas putida</i> strain JPR22	%100	
8	KT2	<i>Bacterium</i> strain BS0130	%100	<i>Acinetobacter</i> sp.
		<i>Acinetobacter pittii</i>	%100	
		<i>Acinetobacter</i> sp. HN-7	%100	
28	KT2	<i>Bacillus firmus</i> strain KS3-1	%98,43	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Robertmurraya siralis</i> strain FJAT-45361	%98,28	
		<i>Bacillus siralis</i> J28TS8	%98,28	
30	KT2	<i>Bacillus siralis</i> J28TS8	%99,81	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Enterobacter huaxiensis</i> strain AY5	%99,81	
		<i>Pantoea agglomerans</i>	%99,81	
34	KT2	<i>Enterobacter hormaechei</i>	%100	<i>Enterobacter</i> sp.
		<i>Enterobacter hormaechei</i> subsp. <i>xiangfangensis</i>	%100	
		<i>Enterobacter bugandensis</i> strain AC-NR9	%100	
40	ST1	<i>Enterobacter</i> sp. AN3	%99,81	<i>Enterobacter</i> sp.
		<i>Enterobacter huaxiensis</i> strain AY5	%99,81	
		<i>Pantoea agglomerans</i>	%99,81	
49	ST1	<i>Pseudomonas alloputida</i>	%100	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Pseudomonas donghuensis</i>	%100	
		<i>Pseudomonas humanensis</i>	%100	

Tablo 5.19: Devam.

56	ST1	<i>Enterobacter</i> sp. strain AN3	%100	<i>Enterobacter</i> sp.
		<i>Enterobacter huaxiensis</i> strain AY5	%100	
		<i>Enterobacter cloacae</i> strain BB_B2_	%100	
62	AT1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	%100	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	%100	
		<i>Bacillus halotolerans</i> strain B13	%100	
65	AT2	<i>Pseudomonas putida</i> strain NH-001J	%100	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Pseudomonas putida</i> strain pk1	%100	
		<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> FPC 951	%100	
69	AT2	<i>Enterobacter</i> sp. strain 170261	%100	<i>Enterobacter</i> sp.
		<i>Enterobacter hormaechei</i> strain 2020CK-00206	%100	
		<i>Enterobacter cloacae</i> strain BB_B2_	%100	
71	DT1	<i>Pseudomonas knackmussii</i> strain SeaQual_P_B540	%100	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Stutzerimonas stutzeri</i> strain A1	%100	
		<i>Pseudomonas</i> sp. strain CHEN_B1	%100	
72	DT1	<i>Pseudomonas knackmussii</i> strain SeaQual	%100	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Stutzerimonas stutzeri</i> strain HMS12	%100	
		<i>Pseudomonas</i> sp. strain CHEN_B1	%100	
76	DT2	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	%100	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Bacillus</i> sp. strain SAB33	%100	
		<i>Bacillus vallismortis</i> strain SAB12	%100	

Tablo 5.19: Devam.

78	DT2	<i>Bacterium</i> strain L	%100	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Bacillus siamensis</i> strain FMF8	%100	
		<i>Bacillus halotolerans</i> strain DDC4	%100	
79	DT2	<i>Bacillus siamensis</i> strain FMF8	%100	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Bacillus subtilis</i>	%100	
		<i>Bacillus halotolerans</i> strain DDC4	%100	
97	KT1	<i>Bacillus wiedmannii</i> strain MRHKN15	%100	<i>Bacillus</i> sp.
		<i>Bacillus cereus</i> strain 65gite	%100	
		<i>Bacillus cereus</i> strain D10	%100	
98	KT1	<i>Enterobacter asburiae</i>	%98,50	<i>Enterobacter</i> sp.
		<i>Enterobacter</i> sp. strain RNT10	%99,80	
		<i>Enterobacter ludwigii</i> strain ESM19	%99,80	

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Toprak olağanüstü kompleks yapısı sebebiyle farklı şubelere ait birçok organizmaya ev sahipliği yapmaktadır. Toprakta bulunan organizmalar arasında en yaygın bulunan gruplar ise mikrobiyal komünitelerdir. Özellikle, bitki köklerinin etrafını saran ve bitki-bakteri etkileşimlerinin en yoğun gerçekleştiği toprak bölgesi olan rizosferde yer alan mikroorganizmalar sürdürülebilir tarımda kullanılma potansiyelleri açısından önemlidir. Tarımda verimi arttırmaya yönelik olarak kullanılan kimyasal gübre, pestisit ve biyosit gibi ürünler bitki ve çevre sağlığını tehlikeye sokmaktadır. Günümüzde organik gıdalara olan talebin artması, çevre bilincinin yaygınlaşması ve sürdürülebilir tarımda kullanılabilecek yeni yöntem arayışı biyogübre teriminin ortaya çıkmasına ve bu bağlamda PGPR'lerin ilgi görmesine sebep olmuştur.

PGPR'ler, bitkilerle yakın etkileşimlerde bulunan ve doğrudan ya da dolaylı çeşitli mekanizmalarla bitki büyüme ve gelişmesini olumlu yönde etkileyen mikroorganizmalardır. Bu bakteriler çevre dostu ve yenilenebilir olmaları sebebiyle tarımda kimyasal gübrelerle alternatif olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Çeşitli cinslere ait PGPR'lerin biyogübre olarak kullanımının farklı bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumlu yönde etkilediği, ayrıca mahsul verimini arttırdığı literatürde yer alan birçok çalışma ile gösterilmiştir [Haroon, 2022], [Redondo-Gomez, 2021], [Danish, 2020]. Yeni biyogübre formülasyonlarının tasarımıyla kullanılabilecek özgün yaklaşımlardan biri ise birden fazla bakterinin bitki büyümesini arttırıcı özelliklerinden aynı anda faydalanma imkânı sağlayan mikrobiyal komünitelerin kurulmasıdır.

Bu bilgiler ışığında, tez çalışmasında buğdaya özgü mikrobiyal konsorsiyum temelli biyogübre tasarımıyla kullanılmaya aday PGPR'lerin seçilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak, buğday rizosferinden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiş, biyokimyasal testlerle izolatların metabolik karakterleri ortaya koyulmuş, izolatların bitki büyümesini teşvik etme kapasitelerinin belirlenmesi için azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, IAA üretimi, siderofor üretimi ve biyofilm üretimi testleri yapılmıştır. Son olarak elde edilen tüm sonuçlar değerlendirilerek bitki büyümesini teşvik edici

özellikleri bakımından öne çıkan 19 izolat mikrobiyal konsorsiyum tasarımıyla kullanılmaya aday olarak seçilmiş ve bu izolatların moleküler biyolojik yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanması sağlanmıştır.

Tezin temel amacı buğdaya özgü mikrobiyal konsorsiyumda yer almaya uygun bakterileri belirlemek olduğu için aday mikroorganizmaların buğday rizosferinde doğal olarak bulunan bakteriler arasından seçilmesi uygun bir yaklaşımdır. Bu sebeple toprak örneklerinin alınması için toprak yapıları birbirinden farklı, coğrafi konum olarak birbirine uzak ve Türkiye’de buğday üretiminde en yüksek paya sahip 10 il içerisinde yer alan Ankara, Diyarbakır, Konya, Sivas ve Tekirdağ illeri seçilmiştir (Bkz. Tablo 5.1). Bu illerden alınan toprak örneklerinin fizikokimyasal analizleri yaptırılmış ve sera koşullarında buğday yetiştirilerek bitki boyları ölçülmüştür. Yetiştirilen buğdaylar içinde en uzun bitki boyunun KT2’den alınan toprak örneklerinde yetiştirilen buğdaylara, en kısa bitki boyunun ise KT1’den alınan toprak örneklerinde yetiştirilen buğday örneklerine ait olduğu görülmüştür. Toprak analizleri değerlendirildiğinde iki toprak örneğinin de nötr pH’ta, tuzsuz ve killi tınlı olduğu, organik madde, fosfor ve potasyum miktarlarının yüksek olduğu, azot miktarının her iki örnekte de orta olduğu ve iki toprak örneğinin de çok kireçli olduğu görülmektedir. Toprak yapılarındaki bu benzerliğe rağmen yetiştirilen bitkilerin boyları arasındaki farklılığın sera koşullarından olduğu kadar topraktaki mikroorganizmaların sayısı ve çeşidinden de kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Yetiştirilen buğdaylardan rizosferik toprak örnekleri alınmış ve bu toprak örneklerinden total DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen total DNA örnekleri 1210649 numaralı TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında, toprak örneklerindeki mikrobiyom profilinin metagenomik analizlerle belirlenmesi için Sabancı Üniversitesi’ne gönderilmiş ve elde edilen sonuçlar Jana Al Khodor’un yüksek lisans tezi olarak yayınlanmıştır [Al Khodor, 2022].

Topraktaki bakterilerin %99’unun laboratuvar koşullarında kültüre edilemediği bilinmektedir [Bodor et al., 2020], [Davis et al., 2005]. Toprak bakterilerinin kültürlenebilirliğini arttırmak için seyreltik besiyeri kullanımı, besiyerinin substrat konsantrasyonunun azaltılması ve besiyeri içeriğinin azaltılıp inkübasyon süresinin uzatılması gibi yöntemlerin faydalı olduğu görülmüştür [Sarıtürk, 2019]. Bu sebeple rizosferden bakteri izolasyonu için LB agar ve triptik soy agar gibi besin içeriği yüksek

iki besiyerinin yanı sıra yavaş gelişim gösteren bakterilerin de kültürlenebilmesi için minimal agar da kullanılmıştır. Toplamda elde edilen 500 izolatın 219 tanesi LB agardan, 165 tanesi triptik soy agardan, 116 tanesi ise minimal agardan izole edilmiştir. Bu aşamada mümkün olduğunca fazla izolat elde ederek topraktaki bakteriyel çeşitliliğin değerlendirilmesi hedeflenmiş olup izole edilen 500 bakteri içerisinde birbirine morfolojik olarak benzerlik gösteren birçok izolat bulunmaktadır. Toplamda izole edilen 500 izolat içinden morfolojik özellikleri ve izolasyon koşulları farklılık gösteren 100 izolat seçilerek biyokimyasal tanımlama testlerine ve bitki büyümesini teşvik edici özelliklerin belirlenmesine yönelik deneylere 100 izolat ile devam edilmiştir.

Literatürde sıkça yer aldığı üzere topraktaki mikroorganizmalar yüksek düzeyde heterojenite göstermekte ve bu sebeple topraktan izole edilen bakterilerin tanımlanmasında yalnızca biyokimyasal testlerin kullanımı, özellikle yakın akrabalık ilişkisi gösteren türlerin ayırımında hatalı sonuçlar verebilmektedir. Bu yüzden bu bakterilerin tanımlanmasında moleküler yöntemler daha güvenilir yaklaşımlar olarak öne çıkmaktadır [Bing-Ru et al., 2006], [Kaya Özdoğan, 2020]. Tez çalışmasında elde edilen 100 izolatın moleküler yöntemlerle tanımlanması çok maliyetli olacağından bu izolatların Gram boyama, spor boyama, oksidaz, katalaz, IMViC, hareketlilik, H₂S üretimi, oksidasyon-fermantasyon, karbonhidrat kullanımı, dekarboksilaz, üreaz, fenilalanin deaminaz ve ONPG testleri yapılmış olup, bu testlerin sonuçları izolatların tür düzeyinde tanımlanmasından ziyade metabolik karakterlerinin ortaya koyulmasında ve konsorsiyumda kullanılmaya aday mikroorganizmaların seçilmesinde bitki büyümesini teşvik edici testlerin sonuçları ile birlikte değerlendirilerek kullanılmıştır.

Tez çalışmasının amacı yeni biyogübre formülasyonlarının tasarımında kullanılmaya aday bakterilerin belirlenmesi olduğundan, izolatların bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinin tespit edilmesi çalışmanın en önemli kısımlarından birini oluşturmaktadır. PGPR'lerin doğrudan ve dolaylı olarak birçok mekanizma ile bitki büyümesini arttırdığı bilinmekte, fakat bu mekanizmalardan özellikle azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, IAA üretimi ve siderofor üretimi bakterilerin biyogübre potansiyelinin belirlenmesinde öne çıkmakta ve çalışmalarda yaygın olarak test

edilmektedir [Sezen, 2017]. Çalışmada, bahsedilen bu özellikler kalitatif (Pikovskaya agarda çözünürlük zonunun belirlenmesi, CAS blue agarda zon çapının belirlenmesi) ve kantitatif (Vanadomolibdo fosforik asit yöntemi, HPLC) çeşitli yöntemlerle test edilmiş olup buna ek olarak bakterilerin bitki köklerini kolonize etme yeteneğini arttıran ve bu sebeple bitki-bakteri etkileşimlerinde önemli rol oynayan, fakat yapılan çalışmalarda çoğunlukla gözardı edilen biyofilm üretme kapasitesi de test edilmiştir.

Azot bitki beslenmesinde en önemli element olup, biyolojik azot fiksasyonu bitkilerin azot alımını arttırması sebebiyle bitki büyümesini teşvik edici bakteriler için kritik bir özelliktir. İzolatların azot fiksasyonu kapasitesinin değerlendirilmesi için azot içermeyen besiyeri (NFb agar) kullanılmış ve 100 izolatın 26 tanesi çok iyi düzeyde olmak üzere 79 tanesinin belirli seviyelerde azot fiksasyonu yaptığı görülmüştür (Tablo 5.15). Kullanılan yöntem kalitatif bir yöntem olup daha çok ilk seçim (screening) aşamasında önemlidir. Azot fiksasyonunun tespitinde en güvenilir test, kromatografik bir yöntem olan asetilen indirgenmesi testidir [Senthilkumar et al., 2021]. Dolayısıyla izolatlar azot fiksasyonu potansiyeli yönünden oldukça olumlu sonuçlar vermiş olsa da, izolatların azot fiksasyonu kapasitesi kantitatif yöntemlerle (asetilen indirgenmesi testi) doğrulanmalıdır.

İzolatların fosfatı çözünür hale getirme kapasitesinin belirlenmesi için literatürde yaygın olarak tercih edilen yöntemler olan Pikovskaya agarda çözünürlük zonunun taranması ve vanadomolibdofosforik asit yöntemi kullanılmıştır. İzolatların 45 tanesinin Pikovskaya agarda zon oluşturduğu ve fosfat çözünürlük indekslerinin 1,09 ile 3 arasında değiştiği görülmektedir. Fosfat çözünürlük indeksi 2'nin üzerinde olan izolatların fosfat çözme kapasitesi kantitatif yöntemle doğrulanmış, bunun sonucunda izolatların 1,505-2,053 ppm arasında fosfatı çözünür hale getirdiği ve izolatların fosfat çözünürlüğü yönünden birbirine yakın sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir. Örneğin, 2 numaralı izolatın fosfat çözünürlük indeksi 2,3, çözünür hale getirdiği fosfat miktarı ise 1,86 ppm olarak belirlenmiştir. 9 numaralı izolatın fosfat çözünürlük indeksi 2,3, çözünür hale getirdiği fosfat miktarı ise 1,92 ppm olarak belirlenmiştir. Özetle, fosfat çözünürlüğü testi için kalitatif ve kantitatif yöntemlerle elde edilen sonuçlar birbirini doğrular niteliktedir.

İzolatların IAA üretme kapasitesi literatürde yaygın olarak kullanılan kolorimetrik bir yöntem olan Salkowski testi yöntemi ve HPLC analizi ile belirlenmiştir. Bitki hormonlarının analizi çok az miktarda üretildikleri ve özellikle sekonder metabolitler gibi maddeler içerdikleri için zordur. UV spektrometresine dayalı yöntemler kolay ve az maliyetli olduğu için laboratuvarlarda yaygın olarak tercih edilse de özgüllüğünün ve hassasiyetinin düşük olması bu yöntemlerin dezavantajını oluşturmaktadır [Frankenberger and Brunner, 1983]. HPLC gibi kromatografik yöntemler kolorimetrik yöntemlere kıyasla daha hassas oldukları ve aranan ürünün saflığını ortaya koymada daha etkin oldukları için öne çıkmaktadır [Giri et al., 2020]. IAA üretme yeteneğinin rizosfer bakterileri arasında yaygın görülen bir yetenek olduğu bilinmektedir. IAA üretim testi sonuçları değerlendirildiğinde, spektrofotometrik yöntemle izolatların 0,62-19,01 µg/ml aralığında IAA ürettiği tespit edilmiştir. HPLC yöntemiyle ise izolatların 0,39-45,24 µg/ml aralığında IAA ürettiği belirlenmiştir. Kullanılan iki yöntemle elde edilen sonuçlar bazı izolatlar için paralellik gösterse de bazı izolatlar için farklılık göstermektedir. Bu farklılığın HPLC yönteminin spektrofotometrik yöntemle göre daha hassas bir yöntem olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu hassasiyet farkının dışında, kullanılan HPLC metodunun izolatların tamamı için IAA'yı tespit etmede yeterli olmadığı düşünülmektedir. Burada izolatlar besiyerinde büyütüldükten sonra santrifüjlenerek üst sıvı doğrudan HPLC ile analiz edilmiştir. Dolayısıyla besiyerinde bulunan diğer maddelerin ve bakterilerin ürettiği metabolitlerin ölçüm sonucunu etkilemiş olması muhtemeldir. Bu yüzden HPLC yönteminin kullanılması için öncelikle ortamdan IAA'nın izole edilmesi, ardından HPLC'de uygun metot kurularak ölçüm yapılması daha doğru sonuçlar verecektir. IAA üretme kapasitesinin belirlenmesinde spektrofotometrik yöntem ilk seçim (screening) aşamasında kullanılıp öne çıkan izolatların IAA üretme kapasitesinin kantitatif olarak belirlenmesinde bahsedilen IAA izolasyonu ve HPLC yönteminin kullanılması önerilebilir.

İzolatların siderofor üretimi kapasitesi sideroforların tespitinde son derece hassas ve evrensel bir yöntem olan CAS blue agar yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Siderofor üretiminin kantitatif olarak belirlenmesinde ise CAS sıvı deneyi tercih edilmiştir. 63 izolatın CAS blue agar besiyerinde farklı düzeylerde zon oluşturduğu,

dolayısıyla siderofor üretimi yönünden pozitif sonuç gösterdiği belirlenmiştir (Bkz. Şekil 5.11). En iyi siderofor üreticileri olarak seçilen 12 izolatın (40, 47, 48, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 78, 79, 97 numaralı izolatlar) siderofor üretme kapasitesi kantitatif olarak da belirlenmiştir. Buna göre izolatların %42,60 ile %75,49 arasında değişen oranlarda siderofor ürettiği görülmüştür. Ayrıca 78 ve 97 numaralı izolatlar (%75,49 ve %73,50) pozitif kontrolden (*P. aeruginosa*, %72,13) daha fazla siderofor üretmektedir. İzolatlar siderofor üretme potansiyeli yönünden değerlendirildiğinde AT1 örneğinden izole edilen 4 bakterinin (AT1B/1, AT1B/2, AT1B/3, AT1B/4) de iyi siderofor üreticileri olduğu görülmüştür. Ankara tarla 1'den alınan toprak örneğinin kırmızı renkli olduğu ve toprak analizleri içeriğinde test edilmemiş olmasına rağmen bu durumun toprağın yüksek demir içeriğinden kaynaklı olduğu anlaşılmaktadır (Şekil 6.1) [Dwevedi et al., 2017]. Dolayısıyla en iyi siderofor üretme kapasitesine sahip bakterilerin yüksek demir oranına sahip topraklardan izole edilmiş olmasına açıklık getirmektedir.

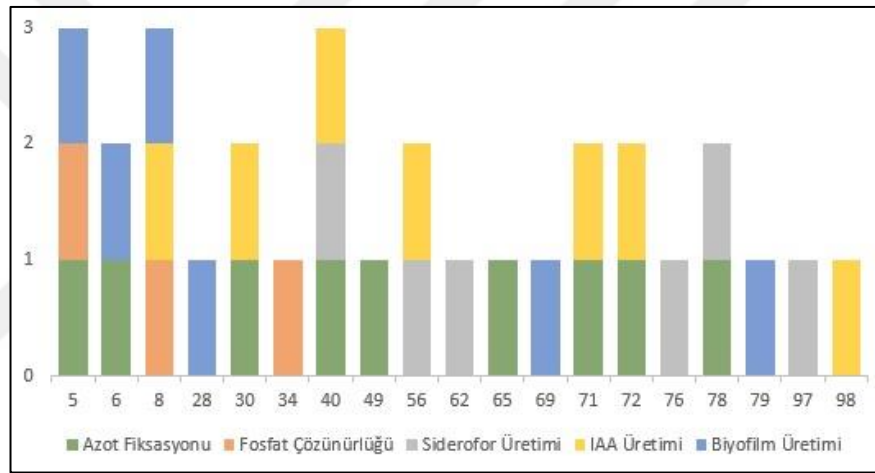


Şekil 6.1: Kırmızı renkli Ankara tarla 1 toprak örneği.

Bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin bitki büyümesini artırma kapasitesi metabolik özellikleriyle ilişkili olduğu kadar rizosferi etkin şekilde kolonize edebilmesine de bağlıdır. Bakterilerin rizosferi kolonize etmedeki etkinliğini belirleyen en önemli mekanizma biyofilm üretimidir. Bu bağlamda izolatların biyofilm

retme kapasitesi kristal viyole testi ile belirlenmiş ve 15 ve 28 numaralı izolatların çok iyi düzeyde, diğeri izolatlardan 10 tanesinin ise iyi düzeyde biyofilm rettiğeri grlmştir. Bu izolatların kurulacak mikrobiyal konsorsiyumda yer almasının etkin biyofilm üretimi ile bitkileri çevresel stres koşullarından ve toprakta artan mikrobiyal rekabetten korumada faydalı olacağeri, buna ek olarak bitkinin besin alma kapasitesini arttırarak bitki büyüme ve gelişmesine katkı sağlayacağeri düşünülmektedir.

Bitki büyümesini teşvik edici özellikleri yönünden değeriendirilen 100 izolat içinden 19 tanesi mikrobiyal konsorsiyum tasarımıda kullanılmaya aday olarak seçilmiştir (Bkz. Tablo 5.17). Seçilen izolatların test edilen 5 farklı özellik içinden en az bir tanesinde çeşitli düzeylerde pozitif sonuç verdiğeri grlmştir (şekil 6.2).



şekil 6.2: Seçilen izolatların bitki büyümesini teşvik edici zellikleri.

Bu izolatlar 16S rDNA analizi ile tür seviyesinde tanımlanmış ve sonuçlar Tablo 5.19'da verilmiştir. BLAST sonuçlarına göre seçilen izolatlar *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* ve *Bacillus* cinslerine ait türlerden oluşmaktadır.

Pseudomonas türlerinin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri uzun süredir bilinmekte ve bu türler biyogübre üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. KT2'den ve nötr, killi tınlı, fosfor, potasyum ve azot yönünden zengin özellikteki topraklardan izole edilen 5 numaralı izolat *Pseudomonas japonica*'ya, KT2'den izole edilen 6 numaralı izolat *Pseudomonas* sp. strain HU-1'e, ST1'den izole edilen 49 numaralı ve AT2'den izole edilen 65 numaralı izolatlar sırasıyla *Pseudomonas alloputida*'ya ve

Pseudomonas putida'ya, DT1'den ve hafif asidik, killi tınlı, organik madde ve fosfor yönünden zengin topraklardan izole edilen 71 ve 72 numaralı izolatlar ise *Pseudomonas knackmussi*'ye %100 oranında benzetilmiştir. Literatürde *Pseudomonas* türlerinin bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [Georgieva et al., 2018], [Dharni et al., 2014]. KT2'den izole edilen 8 numaralı izolat *Acinetobacter pittii*'ye %100 oranında benzetilmiştir. Bu türün fosfat çözme ve IAA üretme kapasitesine sahip olduğu literatürde gösterilmiş olup çalışmada elde edilen bulgularla (23,35 µg/ml) uyumludur (Bkz. Tablo 5.12) [Kumari et al., 2018]. KT2, ST1, AT2 ve KT1'den izole edilen 34, 40, 56 ve 69 numaralı izolatlar *Enterobacter* cinsine ait türlere benzetilmiştir. Bu türlerin de bitki büyümesini arttırıcı özellikler gösterdiği ve bunun yanı sıra *Enterobacter cloacae* türünün bitkileri fungal patojenlere karşı koruma ve biyoremediasyon özellikleri de gösterdiği bilinmektedir [Khalifa et al., 2016], [Pattnaik et al., 2020], [Sánchez-Cruz et al., 2020]. KT2, AT1, DT2 ve KT1'den izole edilen 28, 30, 76, 78, 79, 97 ve 98 numaralı izolatlar *Bacillus* cinsine ait türlere benzetilmiş olup *Bacillus* türleri de *Pseudomonas* türleri gibi yaygın bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip olduklarından biyogübre üretiminde sıklıkla tercih edilmektedir. *Bacillus halotolerans* bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinin yanı sıra halofilik bir bakteri olduğu için özellikle buğday gibi tuz stresinden etkilenen bitkilerde verimi artırmak için kullanılabilecek önemli adaylardan biridir [El-Akhdar et al., 2020]. *Bacillus velezensis* ve *Bacillus proteolyticus* ise hem biyogübre hem de biyokontrol ajanı olarak kullanılma potansiyeline sahiptir [Fan et al., 2018], [Kamaruzzaman et al., 2020].

Sonuç olarak buğdaya özgü mikrobiyal konsorsiyum kurulması için aday olabilecek izolatlar belirlenmiş ve bu izolatlar için elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu görülmüştür. İzolatların büyük kısmının biyogübre olarak kullanılma potansiyeli olduğu ortaya koyulmuş olup gelecekte yapılacak çalışmalar ile buğday tarımında kullanılmaya uygun yeni biyogübre formülasyonları tasarlanabilmektedir.

6.1. Gelecek Öngöröleri

Çalışma kapsamında bitki büyümesini teşvik edici özellikleri bakımından öne çıkan ve mikrobiyal konsorsiyumda kullanılmaya aday 19 izolat seçilerek tanımlanmıştır. Bu isolatlar laboratuvar koşullarında olumlu özellikler göstermiş olsa da aynı özelliklerin sera ve tarla koşullarında da gösterildiğini belirlemek gelecekte yapılacak çalışmalar için önemlidir. Bu isolatlar mikrobiyal konsorsiyumda kullanılmaya aday oldukları için yapılması gereken en önemli çalışmalardan biri bu isolatlar arasında besin ve enerji kaynakları için rekabet olup olmadığının, yani bu isolatların birlikte yaşayıp yaşayamadığının belirlenmesidir. Birbiriyle rekabet eden ve dolayısıyla birbirinin büyümesini olumsuz yönde etkileyen isolatların mikrobiyal konsorsiyumda birlikte kullanılması her zaman bitki büyümesi yönünden istenen sonuçları vermeyebileceği için dikkatlice değerlendirilmesi gereken bir durumdur. Buna ek olarak isolatların bireysel olarak gösterdiği bitki büyümesini arttırıcı özelliklerin mikrobiyal konsorsiyum içerisindeyken de aynı şekilde devam edip etmediği belirlenmelidir.

Tüm bu parametreler birlikte değerlendirilip kurulan mikrobiyal konsorsiyum buğday bitkisiyle bir araya getirilerek bitki büyümesi incelenip elde edilen sonuçlar yeni biyogübre formülasyonunun tasarımında kullanılabilir. Bitkiye özgü mikrobiyal konsorsiyum temelli biyogübre yaklaşımı Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen tahıllar olan arpa, pirinç ve yulaf gibi bitkiler için de kullanılabilir. Ayrıca çalışma kapsamında elde edilen birçok izolat henüz tür seviyesinde tanımlanmamış olup bu isolatların da tür seviyesinde tanımlanması biyogübre olarak kullanılma potansiyeline sahip yeni bakterilerin ortaya çıkarılmasını sağlayabilir. Buna ek olarak, isolatların biyogübre tasarımında bireysel olarak da kullanılma potansiyelleri bulunmaktadır. Yapılan çalışma hem bitki büyümesini teşvik edici bakteriler ile ilgili olarak literatüre katkı sağlamakta, hem de topraktan izole edilerek kültür koleksiyonuna katılan isolatların bireysel ya da konsorsiyum içerisinde biyogübre ürünlerine dönüştürülmesi ve ticarileştirilmesi konusunda umut vadetmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahemad M., Kibret M., (2014), "Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective", *Journal of King Saud University-Science*, 26 (1), 1-20.
- Ahmad I., Hayat S., Pichtel J., (2008), "Plant-bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth", Wiley-VCH.
- Alexander S. K., Strete D., (2001), "Microbiology: A Photographic Atlas for the Laboratory", 1st Edition, Benjamin Cummings.
- Aloo B. N., Tripathi V., Makumba B. A., Mbega E. R., (2022), "Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future", *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-15.
- Arora N. K., Verma M., (2017), "Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria", *3 Biotech*, 7 (6):381.
- 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.
- Bashan Y., Prabhu S. R., de-Bashan L. E., Kloepper J. W., (2020), "Disclosure of exact protocols of fermentation, identity of microorganisms within consortia, formation of advanced consortia with microbe-based products", *Biology and Fertility of Soils* 56 (4), 443–445.
- Basu A., Prasad P., Das S. N., Kalam S., Sayyed R. Z., Reddy M. S., Enshasy H. el., (2021), "Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects", *Sustainability* 13 (3), 1–20.
- Bhattacharyya P. N., Jha D. K., (2012)., "Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture", *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28 (4), 1327–1350.
- Bing-Ru L., Guo-Mei J., Jian C., Gang W., (2006), "A Review of Methods for Studying Microbial Diversity in Soils", *Pedosphere*, 16 (1): 18-24.
- Bodor A., Bounedjoum N., Vincze G. E., Erdeiné Kis Á., Laczi K., Bende G., Szilágyi Á., Kovács T., Perei K., Rákhely G., (2020), "Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives", *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 19 (1), 1-22.

Chaparro J. M., Sheflin A. M., Manter D. K., Vivanco J. M., (2012), "Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility", *Biology and Fertility of Soils*, 48 (5), 489–499.

Christensen G. D., Simpson W. A., Younger J. J., Baddour L. M., Barrett F. F., Melton D. M., Beachey E. H., Christensen G. D., Simpson W. A., Beachey E. H., Bisno A. L., Barrett F. F., (1985), "Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to Plastic Tissue Culture Plates: a Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices", *Journal Of Clinical Microbiology*, 22 (6), 996-1006.

Compant S., Samad A., Faist H., Sessitsch A., (2019), "A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application", *Journal of Advanced Research*, 19, 29–37.

Danish S., Zafar-ul-Hye M., Mohsin F., Hussain M., (2020), "ACC-deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria and biochar mitigate adverse effects of drought stress on maize growth", *Plos One*, 15 (4).

Davis K. E. R., Joseph S. J., Janssen P. H., (2005), "Effects of growth medium, inoculum size, and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria", *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (2), 826–834.

Dharni S., Srivastava, A. K., Samad A., Patra D. D., (2014), "Impact of plant growth promoting *Pseudomonas monteilii* PsF84 and *Pseudomonas plecoglossicida* PsF610 on metal uptake and production of secondary metabolite (monoterpenes) by rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* cv. bourbon) grown on tannery sludge amended soil", *Chemosphere*, 117 (1), 433–439.

Duca D., Lorv J., Patten C. L., Rose D., Glick B. R., (2014), "Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions", *International Journal of General and Molecular Microbiology* 106 (1), 85–125.

Dwevedi A., Kumar P., Kumar P., Kumar Y., Sharma Y. K., Kayastha A. M., (2017), "Soil sensors: detailed insight into research updates, significance, and future prospects", *New Pesticides and Soil Sensors*, 561–594.

El-Akhdar I., Elsakhawy T., Abo-Koura H. A., (2020), "Alleviation of Salt Stress on Wheat (*Triticum aestivum* L.) by Plant Growth Promoting Bacteria strains *Bacillus halotolerans* MSR-H4 and *Lelliottia amnigena* MSR-M49", *Journal of Advances in Microbiology*, 20 (1), 44–58.

Eramma, Mahadevaswamy, Rao S., Ramesh Y. M., Naik N. M., (2020), "Isolation and Screening of Phosphate Solubilizing Bacteria from Paddy Rhizosphere Soil", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9 (2), 477–485.

Etesami H., Alikhani H. A., Hosseini H. M., (2015), "Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents", *MethodsX*, 2, 72–78.

Etesami H., Maheshwari D. K., (2018), "Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 225–246.

Fan B., Wang C., Song X., Ding X., Wu L., Wu H., Gao X., Borriss R., (2018), "Bacillus velezensis FZB42 in 2018: The gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol", *Frontiers in Microbiology*, 9 (OCT).

Fett W. F., Osman S. F., Dunn M. F., Millar M. R., (1987), "Auxin Production by Plant-Pathogenic *Pseudomonads* and *Xanthomonads*", *Applied And Environmental Microbiology*, 53 (8), 1839-1845.

Fierer N., (2017), "Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome", *Nature Reviews Microbiology*, 15 (10), 579–590.

Figueiredo M., do V. B., Seldin L., de Araujo F. F., Mariano R. de L. R., (2010), "Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications", 21–43.

Frankenberger W. T., Brunner W., (1983), "Method of Detection of Auxin-Indole-3-Acetic Acid in Soils by High Performance Liquid Chromatography", *Soil Science Society of America Journal*, 47, 237-241.

García-Fraile P., Menéndez E., Rivas R., (2015), "Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry", *AIMS Bioengineering*, 2 (3), 183–205.

Georgieva T., Evstatieva Y., Savov V., Bratkova S., Nikolova D., (2018), "Assessment of plant growth promoting activities of five rhizospheric *Pseudomonas* strains", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 285–292.

Giri R., Meena V., Sharma R. K., (2020), "Production of indole acetic acid by a wood degrading fungus *phanerochaete chrysosporium*", *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 6 (2), 97–101.

Gordon S. A., Weber R. P., (1995), "Colorimetric Estimation Of Indoleacetic Acid", *Plant Physiology*, 192-195.

Goswami S. K., Kashyap P. L., Awasthi S., (2019), "Deciphering rhizosphere microbiome for the development of novel bacterial consortium and its evaluation for salt stress management in solanaceous crops in India", *Indian Phytopathology*, 72 (3), 479–488.

Gupta G., Parihar S. S., Ahirwar N. K., Snehi S. K., Singh V., (2015), "Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture", *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 07 (02), 96-102.

Gupta R. S., Patel S., Saini N., Chen S., (2020), "Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: Description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the *subtilis* and *cereus* clades of species", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (11), 5753–5798.

Haque M. M., Mosharaf M. K., Khatun M., Haque M. A., Biswas M. S., Islam M. S., Islam M. M., Shozib H. B., Miah M. M. U., Molla A. H., Siddiquee M. A., (2020), "Biofilm Producing Rhizobacteria With Multiple Plant Growth-Promoting Traits Promote Growth of Tomato Under Water-Deficit Stress", *Frontiers in Microbiology*, 11, 542053.

Haroon U., Khizar M., Liaquat F., Ali M., Akbar M., Tahir K., Batool S., Kamal A., Chaudhary H. J., Munis M. F. H., (2022), "Halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria induce salinity tolerance in wheat by enhancing the expression of SOS genes", *Journal of Plant Growth Regulation*, 41: 2435-2448.

Islam R., Islam K. R., Wright S. R., (2004), "Soil Microbial Communities Biochar, soil nutrient dynamics and Greenhouse gas emissions View project Impact of sustainable agricultural management practices on soil quality and crop productivity", *Soil Microbial Communities*.

Itelima Bang, W. J., Onyimba I. A., Sila M. D., Egbere O. J., (2018), "Bio-fertilizers as key player in enhancing soil fertility and crop productivity: A Review", *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science*, 6 (3), 73–83.

Joshi P., Bhatt A. B., (2011), "Diversity and function of plant growth promoting Rhizobacteria associated with wheat Rhizosphere in North Himalayan Region", *International Journal Of Environmental Sciences*, 1 (6), 1135-1143.

Kamaruzzaman M. A., Abdullah S. R. S., Hasan H. A., Hassan M., Othman A. R., Idris M., (2020), "Characterisation OF Pb-resistant plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from *Scirpus grossus*", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101456.

Karagöz K., Ateş, F., Karagöz H., Kotan R., Çakmakçı R., (2012), "Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from the rhizosphere of grapevine grown in alkaline and acidic soils", *European Journal of Soil Biology*, 50, 144–150.

Kaya Özdoğan D., (2020), "Ankara İli Topraklarından Bitki Büyümesini Teşvik Edici Bakterilerin İzolasyonu, Tanımlanması ve Genetik Çeşitliliklerinin Belirlenmesi", Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi.

Khalifa A. Y. Z., Alsyeeh A. M., Almalki M. A., Saleh F. A., (2016), "Characterization of the plant growth promoting bacterium, *Enterobacter cloacae* MSR1, isolated from roots of non-nodulating *Medicago sativa*", Saudi Journal of Biological Sciences, 23(1), 79-86.

Kumar A., Verma H., Singh V. K., Singh P. P., Singh S. K., Ansari W. A., Yadav A., Singh P. K., Pandey K. D., (2017), "Role of *Pseudomonas* sp. in sustainable agriculture and disease management", Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture, 2, 195–215.

Kumar M., Kumar V., Prasad R., (2020), "Phyto-Microbiome in Stress Regulation", Springer Nature Singapore.

Kumari P., Meena M., Upadhyay R. S., (2018), "Characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere of *Vigna radiata* (mung bean)", Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 16, 155–162.

Lade H., Park J. H., Chung S. H., Kim I. H., Kim J. M., Joo H. S., Kim J. S., (2019), "Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* clinical isolates is differentially affected by glucose and sodium chloride supplemented culture media" Journal of Clinical Medicine, 8 (11), 1853.

Lagos M. L., Maruyama F., Nannipieri P., Mora M. L., Ogram A., Jorquera M. A., (2015), "Current overview on the study of bacteria in the rhizosphere by modern molecular techniques: a mini-review", Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 15 (2), 504-523.

Lakshmanan V., Shantharaj D., Li G., Seyfferth A. L., Janine Sherrier D., Bais H. P., (2015), "A natural rice rhizospheric bacterium abates arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.)", Planta, 242 (4), 1037–1050.

Lane D. J., (1991), "16s/23s Rrna Sequencing", Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics, 115-175.

Leber A., (2016), "Clinical Microbiology Procedures Handbook", 4th Edition, ASM Press.

Leboffe M. J., (2011), "A Photographic Atlas For The Microbiology Laboratory", 4th Edition, Morton Publishing.

Maçik M., Gryta A., Frac M., (2020), "Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms", *Advances in Agronomy*, 162, 31–87.

Marimuthu S., Ramamoorthy V., Samiyappan R., Subbian P., (2013), "Intercropping System with Combined Application of *Azospirillum* and *Pseudomonas fluorescens* Reduces Root Rot Incidence Caused by *Rhizoctonia bataticola* and Increases Seed Cotton Yield", *Journal of Phytopathology*, 161 (6), 405–411.

Mohite B., (2013), "Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth", *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13 (3), 638-649.

Neilands J. B., Schwyn B., (1987), "Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores", *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56.

Özberk İ., Atay S., Altay F., Cabi E., Özkan H., Atlı A., (2016), "Türkiye'nin Buğday Atlası", WWF-Türkiye.

Panhwar Q. A., Ali A., Depar N., Shah J. A., (2020), "Screening of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable wheat (*Triticum aestivum* L.) crop production", *Pakistan Journal of Botany*, 52 (1), 345–353.

Patten C. L., Glick B. R., (1995), "Bacterial Biosynthesis Of Indole-3-Acetic Acid", *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 207-220.

Pattnaik S., Dash D., Mohapatra S., Pattnaik M., Marandi A. K., Das S., Samantaray D. P., (2020), "Improvement of rice plant productivity by native Cr(VI) reducing and plant growth promoting soil bacteria *Enterobacter cloacae*", *Chemosphere*, 240, 124895.

Payne S. M., (1994), "Detection, Isolation and Characterization of Siderophores", *Methods in Enzymology*, 235, 329-344.

Pingale S. S., Virkar P. S., (2013), "Study of influence of phosphate dissolving micro-organisms on yield and phosphate uptake by crops", *Pelagia Research Library European Journal of Experimental Biology*, 3 (2), 191-193.

Rajkumar M., Ae N., Prasad M. N. V., Freitas H., (2010), "Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction", *Trends in Biotechnology*, 28 (3), 142–149.

Redondo-Gomez S., Mesa-Marin J., Perez-Romero J., Lopez-Jurado J., Garcia-Lopez J. V., Mariscal V., Molina-Heredia F. P., Pajuelo E., Rodriguez-Llorente I. D., Flowers T. J., Mateos-Naranjo E., (2021), "Consortia of plant-growth-promoting rhizobacteria

isolated from halophytes improve response of eight crops to soil salinization and climate change conditions”, *Agronomy*, 11, 1609.

Riaz U., Murtaza G., Anum W., Samreen T., Sarfraz M., Nazir M. Z., (2021), “Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Biofertilizers and Biopesticides”, *Microbiota and Biofertilizers*, 181–196.

Saharan B. S., Nehra V., (2011), “Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review”, *Life Sciences and Medicine Research*, 2011.

Sánchez-Cruz N. D., Meza-Contreras J. C., Escalante F. M. E., Macías-Rodríguez M. E., Salcedo-Perez E., & González-García Y., (2020), “Phosphate Solubilization and Indole-Like Compounds Production by Bacteria Isolated From Forest Soil with Plant Growth Promoting Activity on Pine Seedlings”, *Geomicrobiology Journal*, 37 (10), 909–918.

Santoyo G., Alberto Urtis-Flores C., Damián Loeza-Lara P., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Glick B. R., (2021), “Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR)”, *Biology*, 10, 475.

Santoyo G., Guzmán-Guzmán P., Parra-Cota F. I., de los Santos-Villalobos S., Orozco-Mosqueda M. D. C., Glick B. R., (2021), “Plant growth stimulation by microbial consortia”, *Agronomy*, 11 (2), 219.

Sarıtürk S., (2019), “Topraktan Bakteri İzolasyonları İçin Besiyeri Optimizasyonu Ve Yaygın Olmayan Bakteriyel Çeşitliliğin Belirlenmesi”, *Doktora Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi*.

Sarma B. K., Yadav S. K., Singh S., Singh H. B., (2015), “Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: Readdressing for enhancing efficacy”, *Soil Biology and Biochemistry*, 87, 25–33.

Seneviratne G., Weerasekara M. L. M. A. W., Seneviratne K. A. C. N., Zavahir J. S., Kecskés M. L., Kennedy I. R., (2010), “Importance of Biofilm Formation in Plant Growth Promoting Rhizobacterial Action”, 81–95.

Senthilkumar M., Amaresan N., Sankaranarayanan A., (2021), “Plant-Microbe Interactions Laboratory Techniques”, *Humana Press*.

Sezen A., (2017), “Bitki Büyümesini Teşvik Edici Halofilik Bakterilerin İzolasyonu, Karakterizasyonu Ve Buğday Tarımında Kullanılma Potansiyellerinin Belirlenmesi”, *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi*.

Singh A., Jain A., Sarma B. K., Upadhyay R. S., Singh H. B., (2014), “Rhizosphere competent microbial consortium mediates rapid changes in phenolic profiles in chickpea during *Sclerotium rolfsii* infection”, *Microbiological Research*, 169 (5–6), 353–360.

Singh J. S., Pandey V. C., Singh D. P., (2011), "Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development", Agriculture, Ecosystems and Environment, 140 (3-4), 339–353.

Singh M., Singh D., Gupta A., Pandey K. D., Singh P. K., Kumar A., (2019), "Plant Growth Promoting Rhizobacteria", PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture, 41-66.

Sohaib M., Zahir Z. A., Khan M. Y., Ans M., Asghar H. N., Yasin S., Al-Barakah F. N. I., (2020), "Comparative evaluation of different carrier-based multi-strain bacterial formulations to mitigate the salt stress in wheat", Saudi Journal of Biological Sciences, 27(3), 777–787.

Somers E., Vanderleyden J., & Srinivasan M., (2004), "Rhizosphere bacterial signalling: A love parade beneath our feet", Critical Reviews in Microbiology, 30 (4), 205–240.

Vasudevan R., (2014), "Biofilms: Microbial Cities of Scientific Significance", Journal of Microbiology & Experimentation, 1 (3).

Verma M., Mishra J., Arora N. K., (2019), "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Diversity and Applications", Environmental Biotechnology: For Sustainable Future, 129–173.

Vessey J. K., (2003), 'Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers', Plant and Soil, 255, 571-586.

Web 1, (2022), [http://beta.floranorthamerica.org/Triticum durum#SelectedReferences](http://beta.floranorthamerica.org/Triticum_durum#SelectedReferences), (Eriřim Tarihi: 28/09/2022).

Web 2, (2022), <http://beta.floranorthamerica.org/Triticumaestivum#SelectedReferences>, (Eriřim Tarihi: 28/09/2022).

Web 3, (2022), <https://www.fao.org/3/cc0868en/cc0868en.pdf>, (Eriřim Tarihi: 27/09/2022).

Web 4, (2022), <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge>, (Eriřim Tarihi: 27/09/2022).

Web 5, (2022), <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tarlabitkileri/Sayfalar/Detay.aspx?Sayfald=33>, (Eriřim Tarihi: 27/09/2022).

Web 6, (2022), <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ktae/Belgeler/BGT/ToprakAnalizleriveYorumlanmasi.pdf>, (Eriřim Tarihi: 12/09/2022).

Wyzinska M., Rozewicz M., (2021), "Durum wheat – crop cultivation strategies, importance and possible uses of grain", Polish Journal of Agronomy, 44, 30-38.

Zhang N., Yang D., Wang D., Miao Y., Shao J., Zhou X., Xu Z., Li Q., Feng H., Li S., Shen Q., Zhang R., (2015), "Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 during enhanced biofilm formation regulated by maize root exudates", BMC Genomics, 16 (1), 685.



ÖZGEÇMİŞ

Lise eğitimini Yüksel-İlhan Alanyalı Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2016 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2020 yılında lisans eğitimini tamamlayıp aynı yıl Gebze Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. 2022 yılı itibarıyla Atabay Kimya Sanayi ve Tic. Aş.'de Ar-Ge uzman yardımcısı olarak çalışmaktadır.



EKLER

Ek A: Toprak Analizi Değerlendirme Referans Tablosu

Suyla Doymunluk (%)						
Sınır Değer	<30	31-50	51-70	71-110	>110	
Sonuç	Kumlu	Tınlı	Killi Tınlı	Killi	Ağır Killi	
pH						
Sınır Değer	<4.5	4.5-5.5	5.5-6.5	6.5-7.5	7.5-8.5	>8.5
Sonuç	Kuvvetli Asit	Orta Asit	Hafif asit	Nötr	Hafif alkalın	Kuvvetli alkalın
Toplam Tuz (%)						
Sınır Değer	<0.15	0.15-0.35	0.35-0.65		>0.65	
Sonuç	Tuzsuz	Hafif tuzlu	Orta tuzlu		Çok tuzlu	
Kireç (%)						
Sınır Değer	0-2	2-4	4-8	8-15	15-50	>50
Sonuç	Kireçsiz	Az kireçli	Orta kireçli	Kireçli	Çok kireçli	Çok fazla kireçli
Organik Karbon (%)						
Sınır Değer	<0.40	0.41-0.60	0.61-1.00	1.01-1.80	1.81-3.00	>3.01
Sonuç	Çok aşırı düşük	Çok düşük	Düşük	Orta	Yüksek	Çok yüksek
Organik Madde (%)						
Sınır Değer	<0.70	0.71-1.00	1.01-1.70	1.71-3.00	3.01-5.15	>5.15
Sonuç	Çok aşırı düşük	Çok düşük	Düşük	Orta	Yüksek	Çok yüksek
Toplam Azot (%)						
Sınır Değer	<0.05	0.051-0.150	0.151-0.250	0.251-0.500		>0.501
Sonuç	Çok düşük	Düşük	Orta	Yüksek		Çok yüksek
Fosfor (kg/da)						
Sınır Değer	<3	3-6	6-9	9-12	>12	
Sonuç	Çok az	Az	Orta	Yüksek	Çok yüksek	

Ek B: İzolatların BLAST Analizi Sonuçları

RID: 1PT4XMK013 Job Title:5-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 5-R Query ID: 1cl Query_43055 Length: 521											
Sequences producing significant alignments:											
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Query Score	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession		
Pseudomonas japonica strain JM19 16S ribosomal RNA gene, parti...	Pseudomonas ...	NA	256466	961	961	0.0	100.00	1403	MN758779.1		
Pseudomonas sp. strain Mch38-6 16S ribosomal RNA gene, parti...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	1378	MN830112.1		
Bacterium strain T2-12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	961	961	0.0	100.00	594	MN696282.1		
Bacterium strain T1-8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	961	961	0.0	100.00	613	MN696275.1		
Pseudomonas reidholzensis strain BGN3 6.2 16S ribosomal RNA...	Pseudomonas ...	NA	1781562	961	961	0.0	100.00	1437	MN197576.1		
Bacterium strain BS0051 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	961	961	0.0	100.00	1420	MK823239.1		
Pseudomonas hutimensis strain XWS2 16S ribosomal RNA, partial...	Pseudomonas ...	NA	2707027	961	961	0.0	100.00	1538	NR_165748.1		
Pseudomonas putida strain T21-18-58 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	303	961	961	0.0	100.00	1398	MH972845.1		
Pseudomonas putida gene for 16S rRNA, partial sequence, strain...	Pseudomonas ...	NA	303	961	961	0.0	100.00	1490	AB621834.1		
Uncultured bacterium clone M7 16S ribosomal RNA gene, partial...	uncultured b...	NA	77133	961	961	0.0	100.00	1421	MF631844.1		
Uncultured bacterium clone G9 16S ribosomal RNA gene, partial...	uncultured b...	NA	77133	961	961	0.0	100.00	1430	MF631841.1		
Pseudomonas sp. strain S-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	1440	MG575558.1		
Pseudomonas sp. strain NM 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	1405	MG967453.1		
Pseudomonas putida strain E41 chromosome, complete genome	Pseudomonas ...	NA	303	961	6674	99%	100.00	6093023	CP024085.1		
Pseudomonas sp. strain R357 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	1437	KX618406.1		
Pseudomonas sp. strain R2-66 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	975	MF111276.1		
Pseudomonas sp. strain L-3-6 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	1454	KY852302.1		
Pseudomonas sp. MFA-9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pseudomonas ...	NA	1864599	961	961	0.0	100.00	1478	KX404994.1		
Pseudomonas putida strain M10 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas ...	NA	303	961	961	0.0	100.00	1457	KT792731.1		
Pseudomonas japonica strain IHBB 9162 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	256466	961	961	0.0	100.00	1493	KU921539.1		
Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone AF-36037	uncultured b...	NA	77133	961	961	0.0	100.00	1501	LT595868.1		
Pseudomonas sp. 10Kp8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pseudomonas ...	NA	1729046	961	961	0.0	100.00	1407	KT825698.1		
Priestia taiwanensis strain KNU-AP19 16S ribosomal RNA gene,...	Priestia tai...	NA	1347902	961	961	0.0	100.00	1357	KT945037.1		
Pseudomonas putida strain RCB671 16S ribosomal RNA gene, parti...	Pseudomonas ...	NA	303	961	961	0.0	100.00	1400	KT260883.1		
Pseudomonas sp. strain AMTC9 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	0.0	100.00	1398	OQ569431.1		
Pseudomonas monteilii strain DD232 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	76759	961	961	0.0	100.00	1414	KR822275.1		
Pseudomonas putida strain KAR35 16S ribosomal RNA gene, comple...	Pseudomonas ...	NA	303	961	961	0.0	100.00	1459	KR054997.1		

Şekil B1.1: 5 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RTID: 1NPJU1UK016 Job Title:6-R Program: BLASTN Query: 6-R ID: lcl Query_45965(dna) Length: 577 Database: nt Nucleotide collection (nt)									
Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Pseudomonas sp. strain HU-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp.	NA	306	1066	1066	100%	0.0	100.00	1403
Pseudomonas putida strain BUNGV3 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas ...	NA	303	1066	1066	100%	0.0	100.00	1402
Pseudomonas putida strain JPR22 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas ...	NA	303	1066	1066	100%	0.0	100.00	1402
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(26) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1066	1066	100%	0.0	100.00	1072
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(17) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1066	1066	100%	0.0	100.00	1108
Pseudomonas sp. strain RST-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp.	NA	306	1066	1066	100%	0.0	100.00	1394
Bacterium #MM-B15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium #W...	NA	337289	1064	1064	99%	0.0	100.00	1434
Pseudomonas humanensis strain ZJTR9 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1464
Pseudomonas plecoglossicida strain 19314 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	70775	1061	1061	100%	0.0	99.83	1423
Pseudomonas humanensis strain AC-R6 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1440
Pseudomonas humanensis strain AC-R5 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1442
Pseudomonas humanensis strain AC-NR13 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1443
Pseudomonas humanensis strain AC-NR12 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1446
Pseudomonas humanensis strain AC-NR11 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1444
Pseudomonas humanensis strain GU-RS3 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1247546	1061	1061	100%	0.0	99.83	1446
Pseudomonas sp. strain UYEF16 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1404
Pseudomonas sp. strain L1-3ET-B-OTU28MT(L46) 16S ribosomal RNA,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1388
Uncultured Pseudomonas sp. clone 18-SXT-14 16S ribosomal RNA,...	uncultured P...	NA	114707	1061	1061	100%	0.0	99.83	1426
Uncultured Pseudomonas sp. clone 18-SXT-13 16S ribosomal RNA,...	uncultured P...	NA	114707	1061	1061	100%	0.0	99.83	1423
Uncultured Pseudomonas sp. clone 18-SXT-9 16S ribosomal RNA,...	uncultured P...	NA	114707	1061	1061	100%	0.0	99.83	1425
Uncultured Pseudomonas sp. clone 18-SXT-4 16S ribosomal RNA,...	uncultured P...	NA	114707	1061	1061	100%	0.0	99.83	1429
Uncultured Pseudomonas sp. clone 18-RIF-9 16S ribosomal RNA,...	uncultured P...	NA	114707	1061	1061	100%	0.0	99.83	1427
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(33) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1162
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(29) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1063
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(28) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1079
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(24) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1066
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(20) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp.	NA	306	1061	1061	100%	0.0	99.83	1096

Şekil B1.2: 6 numaralı izolatin 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1MMIXSP4013 Job Title: 8-R Program: BLASTN Query: 8-R ID: lcl Query_33571(dna) Length: 554 Database: nt Nucleotide collection (nt)													
Sequences producing significant alignments:													
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Len	Acc.	Accession		
Bacterium strain BS0130 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1007	1007	98%	0.0	100.00	1418		MK823318.1		
Bacterium strain BS0075 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1007	1007	98%	0.0	100.00	1443		MK823263.1		
Bacterium strain BS0060 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1007	1007	98%	0.0	100.00	1424		MK823248.1		
Acinetobacter pittii strain YH16102 16S ribosomal RNA gene,...	Acinetobacte...	NA	48296	1007	1007	98%	0.0	100.00	1420		KY767495.1		
Acinetobacter sp. HN-7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Acinetobacte...	NA	1662601	1007	1007	98%	0.0	100.00	1441		KT003253.1		
Acinetobacter sp. strain MBWS32.(29) 16S ribosomal RNA gene,...	Acinetobacte...	NA	472	1007	1007	98%	0.0	100.00	1109		OP990163.1		
Acinetobacter sp. PM-14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Acinetobacte...	NA	1214786	1007	1007	98%	0.0	100.00	1498		JX124708.1		
Bacterium strain WG0917 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1445		MN631175.1		
Acinetobacter oleivorans strain YT03 16S ribosomal RNA gene,...	Acinetobacte...	NA	1148157	1005	1005	98%	0.0	100.00	1434		MN173477.1		
Bacterium strain BS2139 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1441		MK825327.1		
Bacterium strain BS1895 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1424		MK825083.1		
Bacterium strain BS1686 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1445		MK824874.1		
Bacterium strain BS0518 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1434		MK823706.1		
Bacterium strain BS0505 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1433		MK823693.1		
Bacterium strain BS0499 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1423		MK823687.1		
Bacterium strain BS0349 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1426		MK823537.1		
Bacterium strain BS0328 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1431		MK823516.1		
Bacterium strain BS0077 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1442		MK823265.1		
Acinetobacter dijksboorniae strain LYC46-3 16S ribosomal RNA,...	Acinetobacte...	NA	1785128	1005	1005	98%	0.0	100.00	1428		MH880845.1		
Bacterium strain M12.33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	1005	1005	98%	0.0	100.00	1350		MH571582.1		
Acinetobacter sp. strain ZX-15 16S ribosomal RNA gene, partial...	Acinetobacte...	NA	472	1005	1005	98%	0.0	100.00	1445		MF148465.1		
Acinetobacter calcoeticus strain N7 16S ribosomal RNA gene,...	Acinetobacte...	NA	471	1005	1005	98%	0.0	100.00	1409		KU041598.1		
Acinetobacter calcoeticus strain R1-1 16S ribosomal RNA gene...	Acinetobacte...	NA	471	1005	1005	98%	0.0	100.00	1440		Q0421667.1		
Acinetobacter sp. strain MBWS4.(15) 16S ribosomal RNA gene,...	Acinetobacte...	NA	472	1005	1005	98%	0.0	100.00	1190		OP990198.1		
Acinetobacter sp. strain XSF-2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Acinetobacte...	NA	472	1005	1005	98%	0.0	100.00	1444		OP566516.1		
Acinetobacter calcoeticus strain TSA-9 16S ribosomal RNA gen...	Acinetobacte...	NA	471	1005	1005	98%	0.0	100.00	1412		OP456641.1		
Acinetobacter pittii strain D1-10 16S ribosomal RNA gene,...	Acinetobacte...	NA	48296	1005	1005	98%	0.0	100.00	1010		OP122973.1		

Şekil B1.3: 8 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PP50TF0013 Job Title:30-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 30-R Query ID: lcl Query_23515 Length: 527									
Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Enterobacter sp. strain AN3 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	98%	0.0	99.81	1404
Enterobacter huaxiensis strain AY5 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	2494702	953	953	98%	0.0	99.81	1440
Enterobacter ludwigii strain D8 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	299767	953	953	98%	0.0	99.81	1413
Enterobacter sp. strain BT22 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	98%	0.0	99.81	1076
Pantoea sp. strain BT3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp.	NA	69393	953	953	98%	0.0	99.81	1076
Digitaria exilis annotation	Digitaria ex...	NA	1010633	953	6928	98%	0.0	99.81	60747861
Digitaria exilis genome assembly, chromosome: UA	Digitaria ex...	NA	1010633	953	6928	98%	0.0	99.81	60747861
Enterobacter sp. strain 301-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	98%	0.0	99.81	1408
Enterobacter sp. strain LZX-4 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	98%	0.0	99.81	1409
Enterobacter ludwigii strain CEB04 chromosome	Enterobacter...	NA	299767	953	7521	98%	0.0	99.81	4892475
Pantoea agglomerans strain R-QL-120-23 16S ribosomal RNA gene,...	Pantoea aggl...	NA	549	953	953	98%	0.0	99.81	1424
Enterobacter ludwigii strain YC-IL1 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	299767	953	953	98%	0.0	99.81	1440
Enterobacter cloacae strain P8-3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1409
Enterobacter cloacae strain P7-3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1413
Enterobacter cloacae strain P7-27 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1406
Enterobacter cloacae strain P7-25 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1413
Enterobacter cloacae strain P7-20 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1412
Enterobacter cloacae strain P7-2 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1413
Enterobacter cloacae strain P7-18 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1408
Enterobacter cloacae strain P7-16 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1405
Enterobacter cloacae strain P7-13 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1390
Enterobacter cloacae strain P6-6 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1401
Enterobacter cloacae strain P6-27 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1400
Enterobacter cloacae strain P4-39 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1410
Enterobacter cloacae strain P3-46 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1397
Enterobacter cloacae strain P3-40 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1400
Enterobacter cloacae strain P3-4 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	98%	0.0	99.81	1413

Şekil B1.5: 30 numaralı izolataın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PR1K4A6013 Job Title: 34-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 34-R Query ID: lcl Query_62179 Length: 541											
Sequences producing significant alignments:											
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
Enterobacter hormaechei strain 2020CK-00199 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	1000	7956	100%	0.0	100.00	4768221	CP118567.1	
Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis strain MDCL 3...	Enterobacter...	NA	1296536	1000	8001	100%	0.0	100.00	4790420	CP115150.1	
Enterobacter hormaechei strain 2020CK-00214 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	1000	8001	100%	0.0	100.00	4744370	CP118195.1	
Enterobacter bugandensis strain AC-NR9 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	881260	1000	1000	100%	0.0	100.00	1444	Q0421715.1	
Klebsiella aerogenes strain AC-R2 16S ribosomal RNA gene,...	Klebsiella a...	NA	548	1000	1000	100%	0.0	100.00	1446	Q0421704.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain AC-R3 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1449	Q0421700.1	
Enterobacter huaxiensis strain AC-NR2 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	2494702	1000	1000	100%	0.0	100.00	1449	Q0421694.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain GU-HP12 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1446	Q0421693.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain GU-HP11 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1446	Q0421692.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP29 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1445	Q0421665.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP18 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1447	Q0421662.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP17 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1446	Q0421661.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP14 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1449	Q0421659.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP13 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1449	Q0421658.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP8 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1450	Q0421655.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP3 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1449	Q0421652.1	
Enterobacter hormaechei subsp. hoffmannii strain DP2 16S...	Enterobacter...	NA	1812934	1000	1000	100%	0.0	100.00	1451	Q0421651.1	
Enterobacter hormaechei strain 2022CK-00700 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	1000	7879	100%	0.0	100.00	4861751	CP117750.1	
Enterobacter hormaechei strain UM_CRE_14 patient 13 isolate...	Enterobacter...	NA	158836	1000	7855	100%	0.0	100.00	4900233	CP116959.1	
Enterobacter hormaechei strain ES1 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	1431	Q0345654.1	
Enterobacter sp. strain S580 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	1000	1000	100%	0.0	100.00	899	Q0271366.1	
Enterobacter hormaechei strain S383 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	901	Q0271346.1	
Enterobacter hormaechei strain S599 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	838	Q0256773.1	
Enterobacter hormaechei strain S522 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	862	Q0256765.1	
Enterobacter hormaechei strain S532 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	928	Q0256720.1	
Enterobacter hormaechei strain S525 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	926	Q0256718.1	
Enterobacter hormaechei strain S518 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	158836	1000	1000	100%	0.0	100.00	918	Q0256717.1	

Şekil B1.6: 34 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PRD5GM7013 Job Title: 40-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 40-R Query ID: 1cl Query_51349 Length: 519 Sequences producing significant alignments:											
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc.	Len	Accession
Enterobacter sp. strain AN3 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	948	948	99%	0.0	99.81	1404	1404	MT557019.1
Enterobacter huaxiensis strain AY5 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	2494702	948	948	99%	0.0	99.81	1440	1440	MT557013.1
Enterobacter ludwigii strain D8 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	299767	948	948	99%	0.0	99.81	1413	1413	MT374261.1
Enterobacter sp. strain BT22 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	948	948	99%	0.0	99.81	1076	1076	MT355740.1
Pantoea sp. strain BT3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp.	NA	69393	948	948	99%	0.0	99.81	1076	1076	MT355737.1
Digitaria exilis annotation	Digitaria ex...	NA	1010633	948	6867	99%	0.0	99.81	60747861	60747861	LR792838.1
Digitaria exilis genome assembly, chromosome: UA	Digitaria ex...	NA	1010633	948	6867	99%	0.0	99.81	60747861	60747861	LR761623.1
Enterobacter sp. strain 301-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	948	948	99%	0.0	99.81	1408	1408	MT270807.1
Enterobacter sp. strain LZK-4 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	948	948	99%	0.0	99.81	1409	1409	MT270799.1
Enterobacter ludwigii strain CEB04 chromosome	Enterobacter...	NA	299767	948	7476	99%	0.0	99.81	4892475	4892475	CP039741.1
Pantoea agglomerans strain R-QL-120-23 16S ribosomal RNA gene,...	Pantoea aggl...	NA	549	948	948	99%	0.0	99.81	1424	1424	MT078636.1
Enterobacter ludwigii strain YC-111 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	299767	948	948	99%	0.0	99.81	1440	1440	MT002728.1
Enterobacter cloacae strain P8-3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1409	1409	MM181163.1
Enterobacter cloacae strain P7-3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1413	1413	MM181137.1
Enterobacter cloacae strain P7-27 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1406	1406	MM181136.1
Enterobacter cloacae strain P7-25 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1413	1413	MM181134.1
Enterobacter cloacae strain P7-20 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1412	1412	MM181130.1
Enterobacter cloacae strain P7-2 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1413	1413	MM181129.1
Enterobacter cloacae strain P7-18 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1408	1408	MM181127.1
Enterobacter cloacae strain P7-16 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1405	1405	MM181125.1
Enterobacter cloacae strain P7-13 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1390	1390	MM181122.1
Enterobacter cloacae strain P6-6 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1401	1401	MM181114.1
Enterobacter cloacae strain P6-27 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1400	1400	MM181101.1
Enterobacter cloacae strain P4-39 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1410	1410	MM181028.1
Enterobacter cloacae strain P3-46 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1397	1397	MM181005.1
Enterobacter cloacae strain P3-40 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1400	1400	MM181003.1
Enterobacter cloacae strain P3-4 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	948	948	99%	0.0	99.81	1413	1413	MM181002.1

Şekil B1.7: 40 numaralı izolatin 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PTH3PK901N Job Title: 49-R Program: BLASTN Query: 49-R ID: lc1 Query_415655(dna) Length: 521 Database: nt Nucleotide collection (nt)									
Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Pseudomonas allopudida strain Kh7 16S ribosomal RNA, partial...	Pseudomonas ... NA		1940621	963	963	100%	0.0	100.00	1464
Pseudomonas donghuensis strain AFS086977 16S ribosomal RNA gen...	Pseudomonas ... NA		1163398	963	963	100%	0.0	100.00	1537
Pseudomonas hunanensis strain LV 16S ribosomal RNA, partial...	Pseudomonas ... NA		1247546	963	963	100%	0.0	100.00	1428
Pseudomonas juntendi strain BML3 16S ribosomal RNA, partial...	Pseudomonas ... NA		2666183	963	963	100%	0.0	100.00	1533
Pseudomonas juntendi strain BML3 16S ribosomal RNA, partial...	Pseudomonas ... NA		2666183	963	963	100%	0.0	100.00	1432
Pseudomonas laurentiana strain GSL-010 16S ribosomal RNA,...	Pseudomonas ... NA		2364649	963	963	100%	0.0	100.00	1479
Pseudomonas laurentiana strain OC18 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ... NA		2364649	963	963	100%	0.0	100.00	1394
Pseudomonas persica strain VKH13 16S ribosomal RNA, partial...	Pseudomonas ... NA		2576297	963	963	100%	0.0	100.00	1472
Pseudomonas plecoglossicida strain wenn 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ... NA		70775	963	963	100%	0.0	100.00	1000
Pseudomonas putida strain AFS093952 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ... NA		303	963	963	100%	0.0	100.00	1538
Pseudomonas putida strain AFS098108 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ... NA		303	963	963	100%	0.0	100.00	1538
Pseudomonas putida strain BHSAB13 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ... NA		303	963	963	100%	0.0	100.00	1427
Pseudomonas putida strain GWI12077 chromosome, complete genome	Pseudomonas ... NA		303	963	5740	100%	0.0	100.00	6311915
Pseudomonas putida strain OC15 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas ... NA		303	963	963	100%	0.0	100.00	1363
Pseudomonas putida strain PC-578038 chromosome, complete genome	Pseudomonas ... NA		303	963	6742	100%	0.0	100.00	5702045
Pseudomonas putida strain Psp1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas ... NA		303	963	963	100%	0.0	100.00	1529
Pseudomonas putida strain WVTs.T61 chromosome, complete genome	Pseudomonas ... NA		303	963	6742	100%	0.0	100.00	5861051
Pseudomonas sp. strain ACT18 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	844
Pseudomonas sp. strain K-G-100 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1081
Pseudomonas sp. strain K-G-76 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	983
Pseudomonas sp. strain K-G-90 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1152
Pseudomonas sp. strain K-G-91 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1080
Pseudomonas sp. strain K-G-93 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1100
Pseudomonas sp. strain K-G-94 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1100
Pseudomonas sp. strain K-G-96 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1035
Pseudomonas sp. strain K-J-80 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1084
Pseudomonas sp. strain K-J-83 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA		306	963	963	100%	0.0	100.00	1008

Şekil B1.8: 49 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PRRIP2A016 Job Title: 56-R Program: BLASTN Query: 56-R ID: lcl Query_22337(dna) Length: 516 Database: nt Nucleotide collection (nt)									
Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Enterobacter sp. strain AN3 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	100%	0.0	100.00	1404
Enterobacter huaxiensis strain AY5 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	2494702	953	953	100%	0.0	100.00	1440
Enterobacter ludwigii strain D8 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	299767	953	953	100%	0.0	100.00	1413
Enterobacter sp. strain BT22 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	100%	0.0	100.00	1076
Pantoea sp. strain BT3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp.	NA	69393	953	953	100%	0.0	100.00	1076
Digitaria exilis annotation	Digitaria ex...	NA	1010633	953	5507	100%	0.0	100.00	60747861
Digitaria exilis genome assembly, chromosome: UA	Digitaria ex...	NA	1010633	953	5507	100%	0.0	100.00	60747861
Enterobacter sp. strain 301-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	100%	0.0	100.00	1408
Enterobacter sp. strain LZ4-4 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	953	953	100%	0.0	100.00	1409
Enterobacter ludwigii strain CEB04 chromosome	Enterobacter...	NA	299767	953	7521	100%	0.0	100.00	4892475
Pantoea agglomerans strain R-QL-120-23 16S ribosomal RNA gene,...	Pantoea aggl...	NA	549	953	953	100%	0.0	100.00	1424
Enterobacter ludwigii strain YC-IL1 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	299767	953	953	100%	0.0	100.00	1440
Enterobacter cloacae strain P8-3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1409
Enterobacter cloacae strain P7-3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1413
Enterobacter cloacae strain P7-27 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1406
Enterobacter cloacae strain P7-25 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1413
Enterobacter cloacae strain P7-20 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1412
Enterobacter cloacae strain P7-2 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1413
Enterobacter cloacae strain P7-18 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1408
Enterobacter cloacae strain P7-16 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1405
Enterobacter cloacae strain P7-13 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1390
Enterobacter cloacae strain P6-6 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1401
Enterobacter cloacae strain P6-27 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1400
Enterobacter cloacae strain P4-39 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1410
Enterobacter cloacae strain P3-46 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1397
Enterobacter cloacae strain P3-40 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1400
Enterobacter cloacae strain P3-4 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	953	953	100%	0.0	100.00	1413

Şekil B1.9: 56 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PS275WG013 Job Title: 62-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 62-R Query ID: lcl query_53881 Length: 528									
Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Bacillus amyloliquefaciens strain J 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus amyloliquefaciens	NA	1390	976	976	100%	0.0	100.00	1454
Bacillus amyloliquefaciens strain CAU X1 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus amyloliquefaciens	NA	1390	976	976	100%	0.0	100.00	1446
Bacillus amyloliquefaciens strain HBUS67170 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus amyloliquefaciens	NA	1390	976	976	100%	0.0	100.00	1472
Bacillus velezensis strain ZY1 chromosome, complete genome	Bacillus velezensis	NA	492670	976	8785	100%	0.0	100.00	4032733
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain SR3 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1327
Bacillus velezensis strain FX74 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	1471
Bacillus velezensis strain FZB42 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	646
Bacillus velezensis strain HC-5 chromosome, complete genome	Bacillus velezensis	NA	492670	976	8672	100%	0.0	100.00	4237244
Bacillus velezensis strain FC02 chromosome, complete genome	Bacillus velezensis	NA	492670	976	8741	100%	0.0	100.00	3964910
Bacillus velezensis strain TH1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	1501
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB626 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB562 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB555 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB542 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB398 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB397 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB395 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB392 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain BB391 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.	NA	1409	976	976	100%	0.0	100.00	1400
Bacillus halotolerans strain B13 chromosome, complete genome	Bacillus halotolerans	NA	260554	976	9754	100%	0.0	100.00	4200441
Bacillus velezensis strain QZ66 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	1455
Bacillus velezensis strain B8 chromosome, complete genome	Bacillus velezensis	NA	492670	976	8691	100%	0.0	100.00	3929735
Bacillus subtilis strain BM105 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus subtilis	NA	1423	976	976	100%	0.0	100.00	1452
Bacillus velezensis strain V 3.14 plasmid pBvelV314_4, complete...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	4905
Bacillus siamensis strain F2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus siamensis	NA	659243	976	976	100%	0.0	100.00	1435
Bacillus velezensis strain A34 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	1452
Bacillus velezensis strain JTB8-2 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus velezensis	NA	492670	976	976	100%	0.0	100.00	1444

Şekil B1.10: 62 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PSC5E68013 Job Title:65-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 65-R Query ID: lcl Query_47189 Length: 517 Sequences producing significant alignments:										
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Pseudomonas putida strain NH-0013 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	303	955	955	100%	0.0	100.00	1475	OQ555394.1
Pseudomonas juntendi strain GDW21C697WI chromosome, complete...	Pseudomonas ...	NA	2666183	955	6690	100%	0.0	100.00	5494071	CP118677.1
Pseudomonas putida strain pk1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas ...	NA	303	955	955	100%	0.0	100.00	737	OQ520261.1
Pseudomonas sp. strain ACT18 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	844	OP994323.1
Pseudomonas sp. strain MBWS12.(12) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1200	OP990560.1
Pseudomonas sp. strain MBWS12.(5) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1094	OP990554.1
Pseudomonas sp. strain MBWS21.(3) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1216	OP990513.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(33) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1162	OP990511.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(29) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1063	OP990507.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(28) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1079	OP990506.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(26) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1072	OP990505.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(24) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1066	OP990504.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(23) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1078	OP990503.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(20) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1096	OP990500.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(19) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1093	OP990499.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(17) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1108	OP990498.1
Pseudomonas sp. strain MBWS11.(11) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1098	OP990494.1
Pseudomonas sp. strain MBWS15.(18) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1112	OP990424.1
Pseudomonas sp. strain MBWS15.(14) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1173	OP990420.1
Pseudomonas sp. strain MBWS8.(20) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1154	OP990392.1
Pseudomonas sp. strain MBWS14.(9) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1218	OP990361.1
Pseudomonas sp. strain MBWS13.(26) 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1181	OP990277.1
Pseudomonas sp. strain L-G-104 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1045	OP990981.1
Pseudomonas sp. strain L-G-103 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1048	OP990980.1
Pseudomonas sp. strain MBWS4.(8) 16S ribosomal RNA gene, parti...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1184	OP990192.1
Pseudomonas sp. strain L-J-85 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1016	OP990943.1
Pseudomonas sp. strain MBWS4.(2) 16S ribosomal RNA gene, parti...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	955	955	100%	0.0	100.00	1242	OP990186.1

Şekil B1.11: 65 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PSUPP5W013 Job Title: 69-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 69-R Query ID: lcl Query_55783 Length: 523									
Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Enterobacter sp. strain 170261 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1536
Enterobacter hormaechei strain 2020CK-00206 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	966	7691	100%	0.0	100.00	4913168
Enterobacter hormaechei strain 2020CK-00224 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	966	7691	100%	0.0	100.00	4916674
Enterobacter sp. strain AYC2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	979
Enterobacter sp. strain AYb2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	979
Enterobacter sp. strain AYa2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	979
Enterobacter sp. strain APC1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	979
Enterobacter sp. strain APb5 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	979
Enterobacter cloacae strain 5500 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	966	966	100%	0.0	100.00	899
Enterobacter cloacae strain S491 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	550	966	966	100%	0.0	100.00	867
Enterobacter cloacae strain S36_CRE37 chromosome, complete genome	Enterobacter...	NA	550	966	7735	100%	0.0	100.00	4889752
Enterobacter hormaechei strain 2022CK-00493 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	966	7691	100%	0.0	100.00	4774226
Enterobacter sp. strain MBWS15.(7) 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1177
Enterobacter sp. strain MBWS18.(13) 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1245
Enterobacter cloacae strain BB_B2_c 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	550	966	966	100%	0.0	100.00	692
Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis strain LMG 27195...	Enterobacter...	NA	1296536	966	966	100%	0.0	100.00	1404
Enterobacter hormaechei ATCC 49162 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	888063	966	966	100%	0.0	100.00	1404
Enterobacter bugandensis strain EB247 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	881260	966	966	100%	0.0	100.00	1402
Enterobacter sp. strain T10H-37 16S ribosomal RNA gene, partia...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1090
Enterobacter sp. strain T10H-36 16S ribosomal RNA gene, partia...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1037
Enterobacter sp. strain T10H-35 16S ribosomal RNA gene, partia...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1074
Enterobacter sp. strain T10H-34 16S ribosomal RNA gene, partia...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1074
Enterobacter sp. strain K10H-105 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1100
Enterobacter sp. strain K10H-81 16S ribosomal RNA gene, partia...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1144
Enterobacter sp. strain K10H-21 16S ribosomal RNA gene, partia...	Enterobacter...	NA	42895	966	966	100%	0.0	100.00	1050
Enterobacter cloacae strain 2312040 chromosome, complete genome	Enterobacter...	NA	550	966	7591	100%	0.0	100.00	4693348
Enterobacter hormaechei strain 2022CK-00453 chromosome, comple...	Enterobacter...	NA	158836	966	7580	100%	0.0	100.00	4683694
									CP104691.1

Şekil B1.12: 69 numaralı izolatin 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PTPZBEZ0IN Job Title: 71-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 71-R Query ID: lcl Query_107491 Length: 520										
Sequences producing significant alignments:										
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Pseudomonas knackmussii strain SeaQual_P_B540 16S ribosomal RN...	Pseudomonas ...	NA	65741	961	961	100%	0.0	100.00	1405	MT626801.1
Pseudomonas knackmussii strain SeaQual_P_B742/9 16S ribosomal...	Pseudomonas ...	NA	65741	961	961	100%	0.0	100.00	1394	MT626776.1
Stutzerimonas stutzeri strain A1 16S ribosomal RNA gene, parti...	Stutzerimonas...	NA	316	961	961	100%	0.0	100.00	598	MT591282.1
Pseudomonas sp. strain CHEN_B1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	100%	0.0	100.00	1440	OQ283719.1
Uncultured Stutzerimonas sp. clone M3 16S ribosomal RNA gene...	uncultured S...	NA	2901168	961	961	100%	0.0	100.00	1525	OQ338189.1
Stutzerimonas kunningensis strain TCA-133 16S ribosomal RNA...	Stutzerimonas...	NA	1211807	961	961	100%	0.0	100.00	1422	OQ071758.1
Stutzerimonas kunningensis strain TCA-119 16S ribosomal RNA...	Stutzerimonas...	NA	1211807	961	961	100%	0.0	100.00	1415	OQ071744.1
Stutzerimonas kunningensis strain TCA-041 16S ribosomal RNA...	Stutzerimonas...	NA	1211807	961	961	100%	0.0	100.00	1421	OQ071653.1
Stutzerimonas kunningensis strain ICA-129 16S ribosomal RNA...	Stutzerimonas...	NA	1211807	961	961	100%	0.0	100.00	1419	OQ062533.1
Stutzerimonas balearica strain Z8 chromosome, complete genome	Stutzerimonas...	NA	74829	961	3845	100%	0.0	100.00	4410317	CP110110.1
Pseudomonas sp. strain GGD1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp. NA	NA	306	961	961	100%	0.0	100.00	1419	OP954493.1
Stutzerimonas stutzeri strain NFB3 16S ribosomal RNA gene...	Stutzerimonas...	NA	316	961	961	100%	0.0	100.00	1408	OP941463.1
Pseudomonadaceae bacterium T75 chromosome, complete genome	Pseudomonada...	NA	3003241	961	3845	100%	0.0	100.00	4357264	CP113226.1
Pseudomonas songnenensis strain T350 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828135.1
Pseudomonas songnenensis strain T334 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828119.1
Pseudomonas songnenensis strain T333 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828118.1
Pseudomonas songnenensis strain T324 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828109.1
Pseudomonas songnenensis strain T318 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828103.1
Pseudomonas songnenensis strain T309 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828094.1
Pseudomonas songnenensis strain T304 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828089.1
Pseudomonas songnenensis strain T302 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828087.1
Pseudomonas songnenensis strain T287 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828072.1
Pseudomonas songnenensis strain T283 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828068.1
Pseudomonas songnenensis strain T278 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828063.1
Pseudomonas songnenensis strain T264 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM828049.1
Pseudomonas songnenensis strain T206 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM827992.1
Pseudomonas songnenensis strain T202 16S ribosomal RNA gene...	Pseudomonas ...	NA	1176259	961	961	100%	0.0	100.00	1459	MM827988.1

Şekil B1.13: 71 numaralı izolatin 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PU2M123013 Job Title:72-R Program: BLASTN Query: 72-R ID: lcl Query_18589(dna) Length: 521 Database: nt Nucleotide collection (nt)												
Sequences producing significant alignments:												
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession		
Pseudomonas knackmussii strain SeaQual_P_B540 16S ribosomal RN...	Pseudomonas ...	NA	65741	963	963	100%	0.0	100.00	1405	MT626801.1		
Pseudomonas knackmussii strain SeaQual_P_B742/9 16S ribosomal...	Pseudomonas ...	NA	65741	963	963	100%	0.0	100.00	1394	MT626776.1		
Stutzerimonas stutzeri strain HMS12 16S ribosomal RNA gene,...	Stutzerimonas...	NA	316	963	963	100%	0.0	100.00	1433	Q0561303.1		
Stutzerimonas stutzeri strain SOCE 002 chromosome, complete...	Stutzerimonas...	NA	316	963	3841	100%	0.0	100.00	4682793	CP113890.1		
Pseudomonas sp. strain CHEN B1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp.	NA	306	963	963	100%	0.0	100.00	1440	Q0283719.1		
Uncultured Stutzerimonas sp. clone M3 16S ribosomal RNA gene,...	uncultured S...	NA	2901168	963	963	100%	0.0	100.00	1525	Q0338189.1		
Stutzerimonas balearica strain Z8 chromosome, complete genome	stutzerimonas...	NA	74829	963	3852	100%	0.0	100.00	4410317	CP110110.1		
Pseudomonas sp. strain G6D1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp.	NA	306	963	963	100%	0.0	100.00	1419	OP954493.1		
Stutzerimonas stutzeri strain NFB3 16S ribosomal RNA gene,...	Stutzerimonas...	NA	316	963	963	100%	0.0	100.00	1408	OP941463.1		
Pseudomonas songnenensis strain T350 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828135.1		
Pseudomonas songnenensis strain T334 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828119.1		
Pseudomonas songnenensis strain T333 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828118.1		
Pseudomonas songnenensis strain T324 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828109.1		
Pseudomonas songnenensis strain T318 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828103.1		
Pseudomonas songnenensis strain T309 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828094.1		
Pseudomonas songnenensis strain T304 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828089.1		
Pseudomonas songnenensis strain T302 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828087.1		
Pseudomonas songnenensis strain T287 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828072.1		
Pseudomonas songnenensis strain T283 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828068.1		
Pseudomonas songnenensis strain T278 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828063.1		
Pseudomonas songnenensis strain T264 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM828049.1		
Pseudomonas songnenensis strain T206 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM827992.1		
Pseudomonas songnenensis strain T202 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM827988.1		
Pseudomonas songnenensis strain T184 16S ribosomal RNA gene,...	Pseudomonas ...	NA	1176259	963	963	100%	0.0	100.00	1459	MM827970.1		
Stutzerimonas stutzeri strain J38G 16S ribosomal RNA gene,...	Stutzerimonas...	NA	316	963	963	100%	0.0	100.00	1491	OP800247.1		
Pseudomonas sp. strain W6aem 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pseudomonas sp.	NA	306	963	963	100%	0.0	100.00	1402	OP004270.1		
Stutzerimonas stutzeri Psu_ASM-1 gene for 16S rRNA, partial...	Stutzerimonas...	NA	316	963	963	100%	0.0	100.00	1405	LC738839.1		

Şekil B1.14: 72 numaralı izolataın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PU70HK1013 Job Title:76-R Program: BLASTN Query: 76-R ID: lcl query_23381(dna) Length: 518 Database: nt Nucleotide collection (nt)											
Sequences producing significant alignments:											
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
Bacillus amyloliquefaciens strain J 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus amy...	NA	1390	957	957	100%	0.0	100.00	1454	00519936.2	
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain SAB33 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp....	NA	1409	957	957	100%	0.0	100.00	1420	00566855.1	
Bacillus vallismortis strain SAB12 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus val...	NA	72361	957	957	100%	0.0	100.00	1421	00566834.1	
Bacillus subtilis strain SAB10 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sub...	NA	1423	957	957	100%	0.0	100.00	1415	00566832.1	
Bacillus cabrialesii strain SAB2 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cab...	NA	2487276	957	957	100%	0.0	100.00	1419	00566824.1	
Bacillus amyloliquefaciens strain CAU X1 16S ribosomal RNA ge...	Bacillus amy...	NA	1390	957	957	100%	0.0	100.00	1446	00561751.1	
Bacillus subtilis strain MMS 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sub...	NA	1423	957	957	100%	0.0	100.00	1422	00553759.1	
Bacillus subtilis strain NCIB 3610 chromosome, complete genome	Bacillus sub...	NA	1423	957	9576	100%	0.0	100.00	4210909	CP094361.1	
Bacillus velezensis strain XRD006 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	957	8591	100%	0.0	100.00	4371975	CP118911.1	
Bacillus subtilis strain HBUS67249 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sub...	NA	1423	957	957	100%	0.0	100.00	1472	00552711.1	
Bacillus siamensis strain HBUS67233 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	957	957	100%	0.0	100.00	1472	00552695.1	
Bacillus velezensis strain HBUS67228 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus vel...	NA	492670	957	957	100%	0.0	100.00	1472	00552690.1	
Bacillus amyloliquefaciens strain HBUS67170 16S ribosomal RNA...	Bacillus amy...	NA	1390	957	957	100%	0.0	100.00	1472	00552632.1	
Bacillus siamensis strain HBUS67169 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	957	957	100%	0.0	100.00	1472	00552631.1	
Bacillus velezensis strain ZY1 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	957	8619	100%	0.0	100.00	4032733	CP117945.1	
Bacillus cabrialesii strain J043 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cab...	NA	2487276	957	957	100%	0.0	100.00	1414	00538163.1	
Bacillus subtilis strain a-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sub...	NA	1423	957	957	100%	0.0	100.00	1436	00535566.1	
Bacillus subtilis strain MRB1901_230 16S ribosomal RNA gene an...	Bacillus sub...	NA	1423	957	957	100%	0.0	100.00	1643	00534530.1	
Bacillus subtilis strain MRB1901_224 16S ribosomal RNA gene an...	Bacillus sub...	NA	1423	957	957	100%	0.0	100.00	1643	00534529.1	
Bacillus amyloliquefaciens group sp. strain MRB2101_2277 16S...	Bacillus amy...	NA	2908668	957	957	100%	0.0	100.00	2781	00534377.1	
Bacillus amyloliquefaciens group sp. strain MRB2101_2143ZW 16S...	Bacillus amy...	NA	2908668	957	957	100%	0.0	100.00	1457	00533504.1	
Bacillus amyloliquefaciens group sp. strain MRB2101_624 16S...	Bacillus amy...	NA	2908668	957	957	100%	0.0	100.00	1457	00533503.1	
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain SR3 16S ribosomal RNA ge...	Bacillus sp....	NA	1409	957	957	100%	0.0	100.00	1327	00533495.1	
Bacillus velezensis strain F44 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus vel...	NA	492670	957	957	100%	0.0	100.00	1461	00520293.1	
Bacillus velezensis strain F34 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus vel...	NA	492670	957	957	100%	0.0	100.00	1475	00520292.1	
Bacillus velezensis strain FX74 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus vel...	NA	492670	957	957	100%	0.0	100.00	1471	00520291.1	
Bacillus subtilis isolate NRS6160 genome assembly, chromosome:...	Bacillus sub...	NA	1423	957	9576	100%	0.0	100.00	4224542	OX419554.1	

Şekil B1.15: 76 numaralı izolataın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PUF5V6Y01N Job Title:78-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 78-R Query ID: 1cl Query_542653 Length: 538											
Sequences producing significant alignments:											
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
Bacterium strain L 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	994	994	100%	0.0	100.00	1511	OQ349559.1	
Bacillus siamensis strain FMF8 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1432	OM311275.1	
Bacillus halotolerans strain DDC4 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus hal...	NA	260554	994	994	100%	0.0	100.00	1511	OQ306542.1	
Bacillus velezensis strain LFF MYM 5 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	1421	OQ304006.1	
Bacillus velezensis strain SRCM124633 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	994	8879	100%	0.0	100.00	4178716	CP116014.1	
Bacillus velezensis strain SRCM124349 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	994	8868	100%	0.0	100.00	4032295	CP116013.1	
Bacillus velezensis strain SRCM123815 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	994	8862	100%	0.0	100.00	4025330	CP116010.1	
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain DB7 16S ribosomal RNA gen...	Bacillus sp....	NA	1409	994	994	100%	0.0	100.00	1422	OQ271231.1	
Bacillus velezensis strain JH38 large subunit ribosomal RNA...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	1436	OM088348.1	
Bacillus siamensis strain CC13 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1419	OQ244488.1	
Bacillus velezensis strain KJ161 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	1455	OQ223013.1	
Bacillus mojavensis strain XG20 16S ribosomal RNA gene, partia...	Bacillus moj...	NA	72360	994	994	100%	0.0	100.00	1444	OQ222188.1	
Bacillus velezensis strain FJAT-54560 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	994	8951	100%	0.0	100.00	3986575	CP115604.1	
Bacillus amyloliquefaciens strain CRRU18 16S ribosomal RNA gen...	Bacillus amy...	NA	1390	994	994	100%	0.0	100.00	1554	OQ195988.1	
Bacillus velezensis strain Q6 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	1458	OQ165186.1	
Bacillus amyloliquefaciens strain MBUB 0692 chromosome, comple...	Bacillus amy...	NA	1390	994	8951	100%	0.0	100.00	3820102	CP115158.1	
Bacillus subtilis strain MDR 1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sub...	NA	1423	994	994	100%	0.0	100.00	1533	OQ073580.1	
Bacillus halotolerans strain B13 chromosome, complete genome	Bacillus hal...	NA	260554	994	9938	100%	0.0	100.00	4200441	CP114066.1	
Bacillus velezensis strain QZG6 16S ribosomal RNA gene, partia...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	1455	OP985032.1	
Bacillus velezensis strain B8 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	994	8857	100%	0.0	100.00	3929735	CP114038.1	
Bacillus velezensis strain V 3.14 plasmid pBvelV314_4, complet...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	4905	CP111094.1	
Bacillus velezensis strain R 4.6 plasmid pBvelR46_4, complete...	Bacillus vel...	NA	492670	994	994	100%	0.0	100.00	5145	CP111093.1	
Bacillus siamensis strain F2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1435	OM383536.2	
Bacillus siamensis strain HBUAS74060 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1472	OP904275.1	
Bacillus siamensis strain HBUAS74046 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1472	OP904261.1	
Bacillus siamensis strain HBUAS74039 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1472	OP904254.1	
Bacillus siamensis strain HBUAS74036 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	994	994	100%	0.0	100.00	1472	OP904251.1	

Şekil B1.16: 78 numaralı izolataın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PUYR28M01N Job Title:79-R Program: BLASTN Query: 79-R ID: 1c1 Query_269061(dna) Length: 532 Database: nt Nucleotide collection (nt)											
Sequences producing significant alignments:											
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
Bacterium strain L 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	NA	1869227	983	983	100%	0.0	100.00	1511	OQ349559.1	
Bacillus siamensis strain FMF8 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sia...	NA	659243	983	983	100%	0.0	100.00	1432	ON311275.1	
Bacillus halotolerans strain DDC4 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus hal...	NA	260554	983	983	100%	0.0	100.00	1511	OQ306542.1	
Bacillus velezensis strain LFF MYM 5 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	1421	OQ304006.1	
Bacillus velezensis strain SRCM124633 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	983	8779	100%	0.0	100.00	4178716	CP116014.1	
Bacillus velezensis strain SRCM124349 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	983	8768	100%	0.0	100.00	4032295	CP116013.1	
Bacillus velezensis strain SRCM123815 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	983	8763	100%	0.0	100.00	4025330	CP116010.1	
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain DB7 16S ribosomal RNA gen...	Bacillus sp....	NA	1409	983	983	100%	0.0	100.00	1422	OQ271231.1	
Bacillus velezensis strain JH38 large subunit ribosomal RNA...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	1436	ON088348.1	
Bacillus halotolerans strain DMB-2 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus hal...	NA	260554	983	983	100%	0.0	100.00	1304	OQ253560.1	
Bacillus siamensis strain CC13 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sia...	NA	659243	983	983	100%	0.0	100.00	1419	OQ244488.1	
Bacillus velezensis strain KJ161 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	1455	OQ223013.1	
Bacillus mojavensis strain XG20 16S ribosomal RNA gene, partia...	Bacillus moj...	NA	72360	983	983	100%	0.0	100.00	1444	OQ222188.1	
Bacillus velezensis strain FJAT-54560 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	983	8851	100%	0.0	100.00	3986575	CP115604.1	
Bacillus amyloliquefaciens strain CRRU18 16S ribosomal RNA gen...	Bacillus amy...	NA	1390	983	983	100%	0.0	100.00	1554	OQ195988.1	
Bacillus velezensis strain Q6 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	1458	OQ165186.1	
Bacillus amyloliquefaciens strain MBLB 0692 chromosome, comple...	Bacillus amy...	NA	1390	983	8851	100%	0.0	100.00	3820102	CP115158.1	
Bacillus subtilis strain MDR 1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sub...	NA	1423	983	983	100%	0.0	100.00	1533	OQ073580.1	
Bacillus halotolerans strain B13 chromosome, complete genome	Bacillus hal...	NA	260554	983	9827	100%	0.0	100.00	4200441	CP114066.1	
Bacillus velezensis strain QZG6 16S ribosomal RNA gene, partia...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	1455	OP985032.1	
Bacillus velezensis strain B8 chromosome, complete genome	Bacillus vel...	NA	492670	983	8757	100%	0.0	100.00	3929735	CP114038.1	
Bacillus subtilis strain BM105 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sub...	NA	1423	983	983	100%	0.0	100.00	1452	OP964833.1	
Bacillus velezensis strain V 3.14 plasmid pBvelV314_4, complet...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	4905	CP111094.1	
Bacillus velezensis strain R 4.6 plasmid pBvelR46_4, complete...	Bacillus vel...	NA	492670	983	983	100%	0.0	100.00	5145	CP111093.1	
Bacillus siamensis strain F2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sia...	NA	659243	983	983	100%	0.0	100.00	1435	ON383536.2	
Bacillus siamensis strain HBUAS74060 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	983	983	100%	0.0	100.00	1472	OP904275.1	
Bacillus siamensis strain HBUAS74046 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sia...	NA	659243	983	983	100%	0.0	100.00	1472	OP904261.1	

Şekil B1.17: 79 numaralı izolatin 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PV3185E01N Job Title: 97-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 97-R Query ID: lcl Query_71219 Length: 529 Sequences producing significant alignments:									
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len
Bacillus wiedmannii strain MRHKM15 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus wie...	NA	1890302	977	977	100%	0.0	100.00	1437
Bacillus cereus strain PL22-16A chromosome, complete genome	Bacillus cereus NA		1396	977	13586	100%	0.0	100.00	5282712
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain GH2 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1454
Bacillus cereus strain 65gite 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1409
Bacillus cereus strain D10 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	910
Bacillus thuringiensis strain AFS064504 16S ribosomal RNA gene...	Bacillus thu...	NA	1428	977	977	100%	0.0	100.00	1543
Bacillus cereus strain AFS064220 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1539
Bacillus cereus strain AFS072025 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1539
Bacillus cereus strain AFS068308 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1539
Bacillus cereus strain AFS013435 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1539
Bacillus cereus strain AFS074395 16S ribosomal RNA gene, parti...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1539
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain D58 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1126
Bacillus cereus strain gn0387 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1427
Bacillus cereus strain Y9 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	1414
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain XDY16 16S ribosomal RNA gene...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1454
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain XDY12 16S ribosomal RNA gene...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1454
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain XDY1 16S ribosomal RNA gene...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1447
Bacillus thuringiensis strain CP2 16S ribosomal RNA gene,...	Bacillus thu...	NA	1428	977	977	100%	0.0	100.00	1212
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HX0040 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1460
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HX0024 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1454
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HX0010 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1453
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HX0009 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1457
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain FX0011 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1457
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain FX0010 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1462
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain FX0009 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1459
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain FX0001 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	977	977	100%	0.0	100.00	1456
Bacillus cereus strain B41 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus cereus NA		1396	977	977	100%	0.0	100.00	891
									OP218022.1

Şekil B1.18: 97 numaralı izolatın 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

RID: 1PVD68CG013 Job Title: 98-R Program: BLASTN Database: nt Nucleotide collection (nt) Query #1: 98-R Query ID: lcl Query_54311 Length: 532										
Sequences producing significant alignments:										
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Enterobacter asburiae strain M15193 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	61645	937	937	100%	0.0	98.50	1478	MK389325.1
Enterobacter sp. strain RNT10 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1429	MT173802.1
Enterobacter ludwigii strain ESM19 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	299767	933	933	95%	0.0	99.80	1414	MN173463.1
Enterobacter sp. strain snnu 2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1311	MK087735.1
Pantoea agglomerans strain Pg2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea aggl...	NA	549	933	933	95%	0.0	99.80	1380	MK335468.1
Pantoea sp. strain GR3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp.	NA	69393	933	933	95%	0.0	99.80	1368	MH883916.1
Enterobacter asburiae strain 1816 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	61645	933	933	95%	0.0	99.80	1000	MK078044.1
Enterobacter asburiae strain HA08_L29 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	61645	933	933	95%	0.0	99.80	1405	MH064248.1
Enterobacter asburiae strain HA08_L21 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	61645	933	933	95%	0.0	99.80	1414	MH064241.1
Enterobacter asburiae strain HA08_L15 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	61645	933	933	95%	0.0	99.80	1407	MH064235.1
Pantoea sp. strain TAGEM15-70-B6 16S ribosomal RNA gene, parti...	Pantoea sp.	NA	69393	933	933	95%	0.0	99.80	1380	MG584449.1
Enterobacter ludwigii strain GDY 16S ribosomal RNA gene, parti...	Enterobacter...	NA	299767	933	933	95%	0.0	99.80	1412	MF091710.1
Enterobacter sp. strain TCD1-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1447	KY628806.1
Enterobacter sp. strain TV1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1405	KX373988.1
Enterobacter sp. strain BT6 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1403	KX373970.1
Enterobacter sp. strain GT4 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1386	KX373958.1
Enterobacter sp. DBM1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Enterobacter...	NA	1820011	933	933	95%	0.0	99.80	1412	KT957438.1
Lelliottia amnigena strain JPR24 16S ribosomal RNA gene, parti...	Lelliottia a...	NA	61646	933	933	95%	0.0	99.80	1407	KR045591.1
Enterobacter sp. U1WRF0932 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	1644700	933	933	95%	0.0	99.80	1257	KR190274.1
Enterobacter sp. U1WRF0803 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	1644673	933	933	95%	0.0	99.80	1343	KR189913.1
Enterobacter huaxiensis strain AC-H2 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	2494702	933	933	95%	0.0	99.80	1442	OQ421713.1
Enterobacter huaxiensis strain GU-HP2 16S ribosomal RNA gene,...	Enterobacter...	NA	2494702	933	933	95%	0.0	99.80	1442	OQ421688.1
Pantoea sp. strain L-G-73 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea sp.	NA	69393	933	933	95%	0.0	99.80	1097	OP990738.1
Enterobacter sp. strain L-G-66 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1098	OP990731.1
Enterobacter sp. strain L-G-11 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1098	OP990681.1
Enterobacter sp. strain L-J-18 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1060	OP990625.1
Enterobacter sp. strain L-J-3 16S ribosomal RNA gene, partial...	Enterobacter...	NA	42895	933	933	95%	0.0	99.80	1219	OP990610.1

Şekil B1.19: 98 numaralı izolatin 16S rDNA dizisinin BLAST sonucu.

Ek C: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar

Acet S., Özden Çiftçi Y., Gül Şeker M., (2022), "Buğday Rizosferinden İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması ve Bitki Büyümesini Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi", 6. GTÜ Lisansüstü Araştırmalar Sempozyumu, Kocaeli, Türkiye, 1-2 Haziran.

Acet S., Gül Şeker M., Akkaya Ö., Lucas S. J., Özden Çiftçi Y., (2022), "Identification of bacteria isolated from the wheat rhizosphere and determination of their plant growth-promoting properties", 1st International Congress of Biotech Studies, Online, 9-11 Kasım.

