



T.C.

MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

BAKLAGİL NODÜLLERİNDEN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN BAZI FUNGAL BİTKİ
PATOJENLERİNE KARŞI ANTAGONİSTİK
AKTİVELERİ

Ahmet ŞİMŞEK

Mardin 2025

T.C.
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

BAKLAGİL NODÜLLERİNDEN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN BAZI FUNGAL BİTKİ
PATOJENLERİNE KARŞI ANTAGONİSTİK
AKTİVELERİ

Ahmet ŞİMŞEK

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi İnci GÜLER GÜNEY

Mardin 2025

T.C.
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ ONAYI

Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalı 21202007 numaralı öğrencisi Ahmet ŞİMŞEK'in hazırladığı "Baklagil Nodüllerinden İzole Edilen Bakterilerin Bazı Fungal Bitki Patojenlerine Karşı Antagonistik Aktifeleri" başlıklı çalışma, 10/01/2025 tarihinde yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri	Unvanı, Adı SOYADI	İmza
Danışman Üye	Dr. Öğr. Üyesi İnci GÜLER GÜNEY	
Üye	Prof. Dr. Sibel DERVİŞ	
Üye	Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK	

Onay

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20.... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../20....

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Ahmet KAYAOĞLU

ETİK BEYAN

Mardin Artuklu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tez çalışmasının hazırlık, bilgi, belge, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarda bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun davrandığımı,
- Tez çalışmasında kullanılan tüm eserlere eksiksiz atıf yaptığımı ve kullanılan tüm eserlere kaynaklar/kaynakçada yer verdiğimi,
- Tez çalışmasının özgün olduğunu,
- Tez çalışmasının Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” ile tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabullendiğimi bildiririm.

İmza

Ahmet ŞİMŞEK

(10/01/2025)

ÖZET

MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAKLAGİL NODÜLLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN BAZI FUNGAL BİTKİ PATOJENLERİNE KARŞI ANTAGONİSTİK AKTİVELERİ

Ahmet ŞİMŞEK

Bu çalışmada, bezelye, mercimek ve nohut kök nodüllerinden izolasyon yapılmıştır. 80 bakteri izole edilmiş bunlardan etkili olan 20 tanesi diğer çalışmalar için seçilmiştir. Bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal analizleri yapılarak bakterilerin tanımlaması yapılmıştır. Mercimekten (*Lens culinaris* M.) izole edilen RM1 izolatının *Stenotrophomonas* sp., RM2 izolatı ve RM3 izolatının *Bacillus megaterium*; bezelyeden (*Pisum sativum* L.) izole edilen B3P9 izolatının *Stenotrophomonas* sp., olduğu ve RB30 izolatının *Bacillus megaterium*, nohuttan (*Cicer arietinum* L.) izole edilen RN2 izolatının *Paenibacillus polymaxa* ve RN5 izolatının *Bacillus mojavensis* olduğu Maldi-tof cihazı ile tür tanımları yapılmıştır. İzolatların %65'i %10'luk tuza toleranslılık göstermiştir. Enzim aktivitesinde fosfatazda RM6, RN3, RB24, RB26 ve RB29 izolatları pozitif sonuç vermiştir. Arjinin dehidrolaz testinde %40'ı, levan testine %30'u pozitif sonuç vermiştir. İzolatlar *Fusarium pseudograminearum*'a karşı RN2 izolatı % 80.91 ve *Neoscytalidium dimidiatum*'a karşı %97.62 inhibisyon oranıyla en etkili antagonistik aktivite göstermişlerdir. İzolatlardan RN2 mercimek tohumuna inokulasyonu sonucu negatif kontrole kıyasla çimlenme hızını %33, çimlenme gücünü %42.7 ve kök uzunluğunu %123 ve koleoptil uzunluğunu %91.62 arttırmıştır. *Fusarium pseudograminearum*+RN2 inokulasyonunda çimlenme hızını %75.3, çimlenme gücünü %49.8, kök uzunluğunu %122 ve koleoptil uzunluğunu %65 arttırmıştır. *Neoscytalidium dimidiatum*+RN2 uygulamasında kontrole göre inokulasyonunda çimlenme hızını %76.1, çimlenme gücünü %84.9, kök uzunluğunu %55 ve koleoptil uzunluğunu %131.3 arttırmıştır. Sonuç olarak bu çalışma, *Paenibacillus polymaxa* (RN2) izolatının hem bitki gelişimini teşvik etmede hem de hastalıklara karşı etkili olduğu için *in vivo* çalışmalar yapıldıktan sonra önerilebilecektir.

Anahtar kelime: Biyolojik kontrol, *Lens culinaris*, Çimlenme, *Bacillus* sp., Endofitik bakteri

ABSTRACT

MARDIN ARTUKLU UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF EDUCATION
BIOLOGY DEPARTMENT

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF BACTERIA ISOLATED FROM LEGUME NODULES AGAINST SOME FUNGAL PLANT PATHOGENS

Ahmet ŞİMŞEK

In this study, isolations were made from root nodules of pea, lentil and chickpea. 80 bacteria were isolated and 20 of them were selected for further studies. Bacteria were identified by morphological, physiological and biochemical analyses. RM1 isolate isolated from lentil (*Lens culinaris* M.) was *Stenotrophomonas* sp., RM2 isolate and RM3 isolate were *Bacillus megaterium*; B3P9 isolate isolated from pea (*Pisum sativum* L.) was *Stenotrophomonas* sp., RB30 isolate was *Bacillus megaterium*, RN2 isolate isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) was *Paenibacillus polymaxa* and RN5 isolate was *Bacillus mojavensis*. Species identifications were made using Maldi-tof device. 65% of the isolates showed tolerance to 10% salt. In enzyme activity, phosphatase, RM6, RN3, RB24, RB26 and RB29 isolates gave positive results. In arginine dehydrolase test 40% and in levan test 30% were positive. Isolates showed the most effective antagonistic activity against *Fusarium pseudograminearum* with 80.91% and against *Neoscytalidium dimidiatum* with 97.62% inhibition rate. As a result of inoculation of RN2 isolates to lentil seeds, germination rate was increased by 33%, germination power by 42.7%, root length by 123% and coleoptile length by 91.62% compared to negative control. *Fusarium pseudograminearum*+RN2 inoculation increased germination rate by 75.3%, germination power by 49.8%, root length by 122% and coleoptile length by 65%. In *Neoscytalidium dimidiatum*+RN2 application, germination rate increased by 76.1%, germination power by 84.9%, root length by 55% and coleoptile length by 131.3% compared to control. As a result, this study can be recommended after in vivo studies are conducted because *Paenibacillus polymaxa* (RN2) isolate is effective both in promoting plant growth and against diseases.

Keywords: Biological control, *Lens culinaris*, Germination, *Bacillus* sp., Endophytic bacteria

TEŞEKKÜR

Öncelikle, bu çalışmanın temelinde büyük emeği olan danışmanım Dr. Öğr. Üyesi İnci GÜLER GÜNEY'e, bana rehberlik ederek bu süreci verimli bir şekilde geçirmemi sağlayan derin bilgisi, sabrı ve her biri birer işaret fişegi gibi parlayan öğütleri ve yönlendirmeleri için teşekkür ederim. Onun katkıları sadece bu tezde değil, hayatımda da iz bırakarak kıymetli hazineler oluşturmuştur. Ayrıca, bu zorlu süreçte yanımda olan, zaman zaman bir arkadaş, zaman zaman bir motivasyon kaynağı olan Dincer DİNÇ'e, desteği ve katkıları için içten teşekkürlerimi sunarım. Bana her daim güç veren, sabırla destekleyen, sevgi ve anlayışla yanımda olan eşime ve aileme minnettarım. Çalışmanın ortaya çıkmasında ve her aşamasında bana değerli katkılarda bulunan, yol gösterici olan herkese minnettarlığımı sunar, onların desteği olmadan bu çalışmanın mümkün olamayacağını belirtmek isterim.

OCAK, 2025
Ahmet ŞİMŞEK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ	1
BİRİNCİ BÖLÜM	3
KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
GENEL BİLGİLER	5
1.1. Mercimek bitkisinde <i>Rhizobium</i> bakterileri ile simbiyotik ilişki.....	5
1.2. Baklagil bitkilerinin kök nodüllerinde yaşayan endofitik bakteriler.....	5
1.3. Azot bağlayan endofitik bakterilerin Antifungal aktiviteleri	7
İKİNCİ BÖLÜM	8
METERYAL VE METOD	8
2.1. Materyal	8
2.2. Yöntem.....	8
2.2.1. Nodül örneklerinin toplanması, bakteri izolasyonu.....	8
2.2.2. Bakteri izolasyonu yöntemi.....	9
2.2.3. İzolatların Saklanması	9
2.2.4. Bakterilerin Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi	10
2.2.5. İzolatların Biyokimyasal Özellikleri	11
2.2.6. Enzim Aktiviteleri	12
2.2.7. Siderofor üretimi	13
2.2.8. Antagonistik aktivite	13
2.2.9. İzolatların Mercimek Çimlenme parametrelerinin in vitro Koşullarda Belirlenmesi.....	13
2.2.10. İzolatların maldı-tof ms cihazı ile Belirlenmesi	14
2.2.11. İstatistik analiz.....	14
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM	15
BULGULAR	15
3.1. Nodül örneklerinin toplanması ve bakterilerin izolasyonu	15
3.2. İzolatların Saklanması.....	16

3.3. Bakterilerin Morfolojik olarak Özelliklerinin İncelenmesi.....	16
3.3.1. Gram boyama	16
3.3.2. Hareketlilik Testi	16
3.3.3. Katalaz.....	16
3.3.4. Oksidaz	17
3.4. İzolatların Biyokimyasal Özellikleri	17
3.4.1. İzolatların farklı konsantrasyonlardaki tuza toleranslılıkları.....	17
3.4.2. İzolatların Farklı Sıcaklık Derecelerine Toleranslılıkları	17
3.4.3. Brom Tyhmol Mavili YMA’da Gelişim.....	17
3.4.4. Kongo Kırmızılı YMA’da Gelişim	18
3.4.5. Levan üretimi.....	19
3.5. Enzim Aktiviteleri.....	19
3.5.1. Fosfataz aktivitesi	19
3.5.2. Arjinin dehidrolaz:.....	20
3.5.3. Nitrat redüksiyonu: Tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir.	20
3.6. Siderofor Üretimi	20
3.7. Antagonistik Aktivite	21
3.7.1. Bakterilerin <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> ’a karşı antagonistik aktiviteleri	21
3.7.2. Bakterilerin <i>Fusarium pseudograminearum</i> ’a karşı Antifungal Aktiviteleri	23
3.8. İzolatların Mercimek Çimlenme parametrelerinin in vitro Koşullarda Belirlenmesi	24
3.9. Maldi-tof cihazı ile tür tanımları	27
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM.....	15
TARTIŞMA.....	15
SONUÇ ve ÖNERİLER	31
KAYNAKÇA.....	32
ÖZGEÇMİŞ	38

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Örneklerin alındığı bitki ve izolatların kodları	15
Tablo 2. İzolatların biyokimyasal ve enzim aktiviteleri.....	19
Tablo 3. İzolatların <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> ve <i>Fusarium pseudograminearum</i> karşı antagonistik aktiviteleri.....	22
Tablo 4. Bakteri ve patojenlerle inokule edilen mercimek tohumlarının bitki büyüme parametrelerine etkisi.....	24



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Nodül örneklerinin toplandığı yerlerin haritada görünümü	9
Şekil 2. İzolatlardan RB29 Gram boyamasının mikroskoptaki görünümü	16
Şekil 3. İzolatların farklı konsantrasyonlardaki tuza toleranslılıkları.....	17
Şekil 4. İzolatların Kongo Kırmızılı YMA'da Gelişimleri.....	18
Şekil 5. Brom Tyhmol Mavili YMA'da Gelişimi	18
Şekil 6. RM5, RN5, RN3 VE RB2 izolatlarının fosfataz aktivitesi	20
Şekil 7. RN3, RN4, RN5 ve RN6 izolatlarının siderofor üretimi.....	21
Şekil 8. a) RM2, RM3, RM4 ve RM5 izolatlarının <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> 'a karşı antagonistik aktiviteleri; b) Kontrol <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	22
Şekil 9. a) RM1, RM6, RM10 ve RM11 izolatlarının <i>Fusarium pseudograminearum</i> 'a karşı antagonistik aktiviteleri; b) Kontrol <i>F. pseudograminearum</i> ; c) RM2, RM3, RM4 ve RM5 izolatlarının <i>F. pseudograminearum</i> 'a karşı antagonistik aktiviteleri.....	23
Şekil 10. a) RB20, RB26, RB27 ve RB33 izolatlarının <i>Fusarium pseudograminearum</i> 'a karşı antagonistik aktiviteleri; b) Kontrol <i>F. pseudograminearum</i> ; c) RB2, RB24, RM29 ve RB30 izolatlarının <i>F. pseudograminearum</i> 'a karşı antagonistik aktiviteleri.....	23
Şekil 11. RN2 Ve RN5 izolatları ve <i>Fusarium pseudograminearum</i> ile inokule edilmiş mercimek tohumları; a) RN2 izolatu ve <i>Fusarium pseudograminearum</i> ile bulaşık mercimek tohumları; b) Kontrol <i>Fusarium pseudograminearum</i> ile bulaşık mercimek tohumları (bakteri yok); c) RM2 izolatu ve <i>Fusarium pseudograminearum</i> ile bulaşık mercimek tohumları	26
Şekil 12. a) RN2+RB30 izolatlarının karışımı ve <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> ile bulaşık mercimek tohumları; b) Kontrol <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> ile bulaşık mercimek tohumları (bakteri yok); c) RN2+ RM2+RB30 izolatlarının karışımı ve <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> ile bulaşık mercimek tohumları	26

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	: Santimetre
ml	: Mililitre
L	: Litre
g	: Gram
DSH₂O	: Distile su
mm	: Milimetre
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
NaCl	: Sodyum klorür
dk	: Dakika
°C	: Santigrat Derece
%	: Yüzde

GİRİŞ

Dünya'da artan nüfus talebini karşılamak büyük bir sorun oluşturmakta, tarımsal faaliyetlerin de hızla artan dünya nüfusuna paralel olarak artırılması büyük ölçüde önemli görülmektedir. Öncelikli olarak protein kaynağı bakımından zengin tane baklagil üretiminde büyük bir gelişmenin ortaya konulması önem arz etmektedir (Engin ve Yağmur, 2005). Tüm dünyada baklagiller önemli bitkisel protein kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında baklagiller familyasına ait türlerin gıda güvenliğine olan katkısı bakımından da önemli görülmektedir. Tane baklagiller, insan beslenmesinde; bitkisel proteinlerin % 22'si, karbonhidratların % 7'lik kısmını; hayvan beslenmesinde ise; proteinlerin % 38'ini, karbonhidratların % 5' lik kısmını karşılamaktadır (Şehirli, 1988; Özaktan, 2020).

Tane baklagiller havadaki serbest azotu köklerinde bulunan nodüller sayesinde toprağa bağlayabilme özelliğine sahip olup ayrıca toprak verimliliğinin artırılmasında, sürdürülebilirliğinde, sağlıklı tarımsal üretim ve doğal çevreyi koruma açısından önemli görülmektedir. Tane baklagillerin ekim nöbetine kolayca girebilmeleri, nadas alanlarını azaltmada etkili olmaları nedeniyle, üretim ve tüketim açısından aranan bir kültür bitkisi grubunu oluşturmaktadır (Bolat, ve ark., 2017). Nohut yemeklik tane baklagil bitkisi olarak dünyada en fazla ekimi yapılan, mercimekten sonra sıcaklık ve kuraklığa en dayanıklı bitkiyi oluşturmaktadır (Şehirli, 1988; Özaktan, 2021a,b).

Mikrobiyal gübreler, çevre dostu gübreler olarak bazı toprak kaynaklı hastalıkların kontrol edilmesinde, hastalık ve zararlılara dayanıklılığın artırılmasında, bitkilerde bitki gelişimi ve veriminin artırılmasında, bitkilerin besin elementi alımının artırılmasında, organik artıkların ayrıştırılmasında, toprak yapısı ve verimliliğinin iyileştirilmesinde birçok alanda kullanım göstermektedir (Brewer ve Larkin, 2005).

Bakteriler, bitki ile simbiyotik ilişki kurarak veya özgür canlı varlıklar olarak bitki büyümesini teşvik edebilirler (Araujo ve ark., 2008). Bu özelliklerin yanında *Rhizobium* spp. bakterileri yardımıyla havanın serbest azotunu toprağa bağlayarak yemeklik

baklagiller, ekili buldukları her dekar alana 6.4-21.6 kg arasında değişen miktarlarda saf azot bağlayabilmektedirler (Şehirali, 1988).

Sürdürülebilir tarımda mikroorganizma içeren gübrelerin olumlu yönde çok önemli katkıları bulunmaktadır. Özellikle atmosferdeki elementel azotu toprağa bağlayarak ve/veya toprakta çözünmez halde bulunan makro ve mikro besinleri bitkinin kullanabileceği formlara dönüştürerek uzun vadede toprağın verimliliğini arttırmaktadırlar. Kimyasal gübrelerin doğaya olan olumsuz etkilerinden dolayı mikrobiyal gübreler tarımsal verimliliği artırıcı yönü ve sürdürülebilir tarım için bir alternatif olarak düşünülmesi gerektiği bildirilmiştir (Mahdi ve ark., 2010).

Mercimekte patojenik fungusların bitkilerde gelişme geriliğine, yapraklarda sararma ve dökülmelere, kök ve kök boğazında kahverengileşmeye, kökte zayıflamaya, saçak kök ve nodozite sayısında azalmalara neden olmaktadır. Baklagillerden izole edilecek *Rhizobium* ve diğer biyolojik ajan suşlarının bu bölgeden izole edilmiş olması bitki gelişimine etkisi ve patojenlere karşı etkili olma şansını arttıracaktır. Böylece patojenlere karşı antifungal etki gösteren etkili azot bağlayan bakteriler ile aşılamanın kontrole (bakteri inokule edilmeyen) oranla bitki gelişim parametrelerindeki etkileri değerlendirilecektir.

Bu çalışmada, baklagil bitkilerinin nodüllerinden elde edilen bakterilerin *in-vitro* koşullarda bitki gelişimine ve belli mercimek patojenlerine karşı antagonistik aktiviteleri araştırılacaktır. Bu çalışma sonucunda, Mardin ili mercimek tarımı yapılan alanlar için etkili görülen *Rhizobium* bakterileri ve diğer azot bağlayan bakterilerin kullanılması ile ilgili bilgiler önerilebilecektir.

BİRİNCİ BÖLÜM

KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bahroun ve ark., (2018), baklagil (Fabacea) nodüllerinde bulunan endofitik bakterilerin *Fusarium solani*'ye karşı antifungal aktivitesini ve bunların biyokontrol ajanları olarak potansiyel uygulamalarını araştırmışlardır. Bakla fasulyesi (*Vicia faba*) ve nohut (*Cicer arietinum*) nodüllerinden izole edilen en etkili on altı izolat seçilmiş, tanımlanmış ve diziler Genbank'ta saklanmıştır. Bu suşların tümü *Vicia faba* nodüllerinden izole edilmiştir. Bunlar, siderofor ve oksin üretme özelliklerinin yanı sıra Pyrrolnitrin (PRN), Phenazine (PHZ) gibi antibiyotik bileşiklerinin üretimini kodlayan bazı genlerin ekspresyonunu da içerdikleri belirtilmiştir. Bitki gelişimini teşvik eden ve biyokontrol özelliklerine göre üç suş; *Rahnella aquatilis* B16C, *Pseudomonas yamanorum* B12 ve *Pseudomonas fluorescens* B8P, sera koşullarında üç Faba fasulyesi çeşidinin *F. solani* kök çürüklüğünü baskılamada "in vivo" biyokontrol potansiyelleri açısından analiz edilmiştir. Üç suş, patojen semptom şiddetini önemli ölçüde azalttığı, *R. aquatilis* B16C, üç Faba fasulyesi çeşidi ile en iyi koruma potansiyelini gösterdiği ve sonuç olarak saha uygulaması için biyokontrol ajanı olarak önerilmiştir.

Noel ve ark., (1996), *Rhizobium* bakterilerinin fitohormon üreterek bitki gelişimini direkt olarak etkilediklerini bildirmişlerdir. *Rhizobium* bakterileri gerçekleştirdiği simbiyotik ilişki ile de bitki gelişmesini arttırdığını belirtmişlerdir.

Rhizobium bakterileri ile yapılan aşılama ile mercimek (Gahoonia ve ark., 2005), soya (Lodeiro ve Favelukes 1998), nohut (Öğütçü ve ark., 2008) ve fasulyenin (Küçük ve Kıvanç, 2008) ürün verimi ve azot içeriğinde artış olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmışlardır.

Reitz ve ark. (2002) *Rhizobium* bakterilerinin biyolojik mücadele etmeni olarak toprak kökenli patojenik mikroorganizmalara karşı antagonistik aktivite gösterdikleri böylece bitkiyi koruyarak direncini de arttırdığını rapor etmişlerdir.

Kırmızı yonca (*Trifolium pratense* L.) bitkilerinin yapraklarından, kazık köklerinden ve nodüllerinden elde edilen endofitik bakterileri tanımlamak; ve nodül bakterilerinin tek başına ve *Rhizobium* spp. ile kombinasyon halinde kırmızı yonca fidelerinin büyümesi ve gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Kırmızı yonca bitkilerinin yaprakları, kökleri ve nodüllerinden 14 farklı cinse ait 31 bakteri türü elde edildi. Cins çeşitliliği ve tür sayısı yaprak dokularında en yüksekti. *Bacillus megaterium*, *Bordetella avium* ve *Curtobacterium luteum*, tek başlarına veya *R. leguminosarum* BV *trifolii* ile birlikte kullanıldığında büyümeyi ve nodülasyonu tutarlı bir şekilde desteklediği görülmüştür.

Pantoea, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Agrobacterium* ve *Burkholderia* dahil olmak üzere çeşitli endofitik bakteriler de soya fasulyesi nodüllerinden izole edilmiştir (Li ve ark., 2008). Nodül endofitlerinin aşılmasının soya fasulyesinin büyümesi ve nodülasyonu üzerinde önemli bir etkisi olmadı, ancak suşların çoğu indol-asetik asit (IAA) ürettiği, mineral fosfatı çözebildiği ve azotu sabitleyebildiği; bu da bunların bitki büyümesini teşvik eden bakterileri olduğunu göstermiştir. Nodül endofitlerinin soya fasulyesinde yaygın olduğunu ve çeşitliliğinin bitkinin karakteri ve toprak koşullarından etkilendiğini göstermiştir. *Bradyrhizobium japonicum* ve endofitik *Bacillus suşlarının nifH* genlerinde bulunan %99 benzerlik, simbiyotik bakteriler ve endofitler arasında yatay simbiyotik gen aktarımının gerçekleştiğini güçlü bir şekilde göstermiştir.

GENEL BİLGİLER

1.1. Mercimek bitkisinde *Rhizobium* bakterileri ile simbiyotik ilişki

Mercimek besin amaçlı kullanılan önemli bir yemeklik tane baklagil cinsi olup tanesinde yüksek oranda protein %23.7 bulundurmaktadır (Eser, 1978). Bazı mercimek çeşitlerinin soğuğa dayanılı olması yönüyle kışlık olarak ülkemizin kışı sert geçen bölgelerinde bile yetiştirilmektedir (Çiftçi, 1996)

Mercimek bitkilerinin tohumlarını *R. leguminosarum* izolatları ile aşılanmış ve bitkide nodül sayısının ve nodül kuru ağırlığının önemli derecede artış gösterdiğini ifade etmişlerdir (Patel ve Sanoria, 1982).

Mercimek bitkilerinin tohumlarına *R. leguminosarum* izolatları ile yaptıkları aşılama sonucu kontrole göre aşılamanın yapıldığı bitkilerinde azot miktarının önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir (Rennie ve Dubetz, 1984).

1.2. Baklagil bitkilerinin kök nodüllerinde yaşayan endofitik bakteriler

Baklagil bitkilerinin kök nodülleri, rhizobia olarak bilinen toprak bakterileri tarafından oluşturulan simbiyotik bakterileri oluşturmaktadır. Kök sisteminin bir parçası olarak kök nodülleri, *Agrobacterium tumefaciens*, *A. rhizogenes*, *Phyllobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Bacillus türleri*, *Bacillus*, *Bordetella*, *Curtobacterium* ve *Pantoea* dahil olmak üzere simbiyotik bakterileri ve birçok endofiti barındırmaktadır (De Lajudie ve ark., 1999; Kan ve ark., 2007; Murugesan ve ark., 2011; Saini ve ark., 2013) .

Endofitik kök nodül bakterileri *Phyllobacterium*, *Sphingomonas*, *Rhodopseudomonas*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Mycobacterium*, *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinslerine ait suşlar bulunmuştur.

Endofitik *Bacillus* suşları soya fasulyesi kök nodüllerinden izole edilmiştir (Bai ve ark., 2002). Bu nedenle, çeşitli endofitik bakteriler tarafından bitkilerin iç kolonizasyonu mutlaka patojenik nitelikte olmadığı bilinmektedir. Bazı bitkilerin

(Brezilya şeker kamışı çeşitleri) azot gereksinimlerinin önemli bir yüzdesini N₂ fiksasyonundan sağladığı belirtilmiştir (Boddey ve ark., 1995).

B. pumilus, *S. plymuthica* ve *A. calcoaceticus* türleri daha önce nodüllerde yaşayan endofitik bakteriler olarak kaydedilmemiş ancak *Bacillus* cinsindeki bazı diğer türler nodüllerde bulunmuştur (Bai ve diğerleri, 2002). Diğer Gram pozitif suşlar Firmicutes filumuna aittir. İzolatlar STM 388 ve STM 392 sırasıyla *Paenibacillus* ve *Bacillus* suşlarıdır (Stackebrandt ve Swiderski, 2002). Bunlardan biri olan *Paenibacillus* ve *Bacillus*'un kendisi azot sabitleyicileri içerdiği rapor edilmiştir (Sneath, 1986; Ash ve ark., 1993).

Bacillus cinsi, pirinç endofitlerini (Stoltzfus ve ark., 1997), soya fasulyesi kök nodüllerinden izole edilen bitki gelişimini teşvik eden (PGP) bakterileri (Bai ve ark., 2002) ve baklagil nodülasyon arttırıcıları (Srinivasan ve ark., 1997) içermektedir. Bazı *Paenibacillus* suşları kök yüzey kolonizörleri olup (Bent ve ark., 2002) ve PGP bakterilerini oluşturmaktadır (Timmusk ve Wagner, 1999).

Simbiyotik olmayan endofitler nodüller içinde yaşarlar ancak konakçılarında görünür bir zarar vermezler. Endofitik bakteriler bitkinin içindeki apoplastik boşluklarda yaşarlar veya hücre içi boşlukları işgal ederler (An ve ark., 2001).

Rizobiyaların yanı sıra, çok çeşitli baklagillerin kök nodüllerinden bazı simbiyotik olmayan bakteriler de izole edilmiştir (De Lajudie ve ark., 1999; Gao ve ark., 2001; Zakhia ve ark., 2006; Kan ve ark., 2007). Bu simbiyotik olmayan bakteriler, nodüllerin içinde yaşayan endofitlerdi ve bitkilere görünür bir zarar vermediler. Bu nodül endofitik bakteriler, diğer bitki dokularında yaşayan endofitlerle karşılaştırıldığında yetersiz çalışılmıştır. En çok çalışılan nodül endofitleri *Agrobacterium tumefaciens* suşlarıdır (De Lajudie ve ark., 1999 ; Gao ve ark., 2001 ; Mrabet ve ark., 2006); *Bacillus* ve *Pseudomonas* (Zakhia ve ark., 2006) ve enterobakteriler (Kan ve ark., 2007) de dahil olmak üzere çeşitli bakteriler de nodüllerden izole edilmiştir. Endofitlerin yalnızca nodüllerdeki simbiyotik bakterilerle birlikte var oldukları ve nodülleri oluşturmadıkları ileri sürülmüştür (Wang ve ark., 2006b).

1.3. Azot bağlayan endofitik bakterilerin Antifungal aktiviteleri

Baklagiller, endofitik mikroorganizmalarla etkileşimleri açısından tanımlanan en iyi bitki türlerinden biridir. *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* ve *Mesorhizobium* gibi çeşitli endofitik bakteriler baklagillerle yakın simbiyotik ilişkiler kurar ve köklerde nodülleri geliştirmektedir (Oldroyd ve Downie, 2008). Son zamanlarda nodüllerde mikrobiyal çeşitlilik büyük ilgi görmüştür. *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Cronobacter*, *Enterobacter*, *Mesorhizobium*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Planomicrobium*, *Rhodococcus* gibi çok sayıda gram pozitif ve negatif cinse ev sahipliği yapmıştır (Aserse ve ark., 2013) Bitki hastalıklarını bastırmak için mikroorganizmaların gücünden yararlanmak patojen baskısına karşı en umut verici çözümlerden birini oluşturmaktadır (Kandel ve ark., 2017).

Son zamanlarda, endofitik bakteriler potansiyel bir PGPB grubu olarak kabul edilmiştir (Ren ve ark., 2019). Birçok PGPB doğrudan veya dolaylı olarak bitki büyümesini teşvik eder ve bitki kalitesini iyileştirir. Biyogübreler (Souza ve ark., 2015), biyopestisitler (Keswani ve ark., 2019) ve biyoremediasyon ajanları (Timmusk ve ark., 2017) olarak kullanılabilirler. PGPB ayrıca bitkinin çeşitli abiyotik streslere karşı toleransını artırmada avantajlara sahiptir (Ullah ve ark., 2015). Dolaylı olarak, fungal patojenler *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae* ve *Phytophthora cactorum* gibi patojenik mikroorganizmaların yanı sıra bakteriyel patojenler *Erwinia carotovora*, *Streptomyces scabies* ve *Xanthomonas campestris* (Sessitsch ve ark., 2004) gibi patojenik mikroorganizmaların kontrolüne yardımcı olurlar. *Rhizobia*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Acetobacter*, *Nitrobacter*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Paenibacillus* ve *Stenotrophomonas* cinslerinin bitki büyümesini artırdığı bildirilmiştir (Rajkumar ve ark., 2009; Kumar ve ark., 2013; Weselowski ve ark., 2016).

İKİNCİ BÖLÜM

METERYAL VE METOD

2.1. Materyal

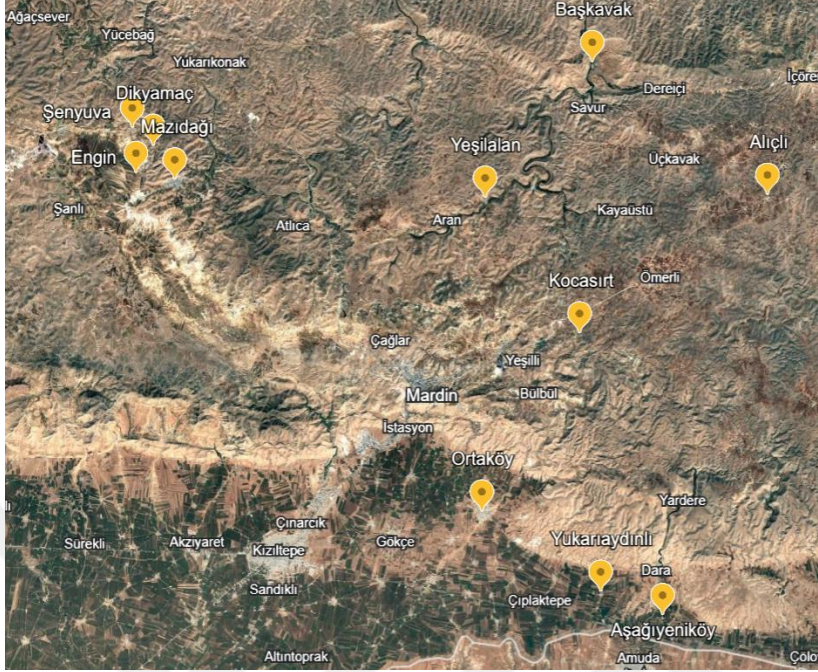
Bu çalışma kapsamında, Mardin ili ve ilçelerinden farklı tarlalardan nodüllerin aktif olduğu dönemde ekili alanlardan bitki köklerinden iri ve pembe renkli nodüller ve silika jel içeren tüpler materyal olarak kullanılmış nodüller tüplerin içerisine konulmuş, örnekler izolasyon çalışmalarına kadar buzdolabında korunmuştur. Bakterilerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi, izolatların biyokimyasal özellikleri, enzim aktiviteleri, antagonistik aktivite ve izolatların mercimek çimlenme parametrelerinde materyal olarak Petriler *in vitro* koşullarda kullanılmıştır. İzolatların tür tayininin teşhisi için Maldi-Tof ms cihazı materyal olarak kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Nodül örneklerinin toplanması, bakteri izolasyonu

Nodül örnekleri, 2023 yılı mayıs ayının ikinci haftası Mardin ili ve ilçelerinden farklı tarlalardan nodüllerin aktif olduğu dönemde toplanmıştır. Mercimekten nodül örneği, Mazıdağı ilçesi Dikyamaç, Şenyuva, Engin mahallelerinden, Artuklu İlçesine bağlı Ortaköy, Yukarıyadınlı, Aşağıyadınlı mahallelerinden surveyler yapılmıştır. Nohut nodül örnekleri, Ömerli ilçesi Kocasirt, Alıçlı, Artuklu Yukarıyadınlı, Aşağıyadınlı, Savur Yeşilalan, Beşkavak mahallerinden ve bezelye nodül örnekleri Savur ve Mazıdağı ilçelerinden ekili alanlardan bitki köklerinden iri ve pembe renkli nodüllerden alınarak, silika jel içeren tüpler içerisine konulmuş, örnekler izolasyon

çalışmalarına kadar buzdolabında korunmuştur. Nodül örneklerinin alındığı yerlerin haritadaki görünümü Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Nodül örneklerinin toplandığı yerlerin haritada görünümü

2.2.2. Bakteri izolasyonu yöntemi

Nodüllerin dış yüzeyleri etanol ve %0,1’lik civa klörür ile sterilize edilmiş; yüzey sterilizasyonundan sonra, içlerinde YEMA (*Yeast Extract Mannitol Agar*) besi yeri bulunan Petrilerde steril koşullarda ezilerek sürme yapılarak ve 28 °C’de 3-5 gün inkübe edilmiştir. Gelişen kolonilerden farklı, temiz koloni seçilerek YEMA’lı tüplere ekim yapılmıştır. Stok kültür olarak tüplerdeki izolatlar, denemelerde kullanılmak üzere +4 °C’de saklanmıştır (Vincent, 1970).

2.2.3. İzolatların Saklanması

Tüm temsilci izolatlar YEMA besiyerine tekrar saflaftırılarak in-vitro koşullarda diğer testlerini yapmak üzere –80 °C’de %30 gliserol içinde saklanmıştır.

2.2.4. Bakterilerin Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi

2.2.4.1. Gram boyama

Taze gelişmiş izolat kültürlerinden bir öze dolusu alınan örnek lam üzerine yayılmış, fiksasyon yapılmıştır. Kristal viyole, gram iyodu, alkol, safranin ile muamele edilmiş lamlar saf suyla yıkanıp kurutulmuştur. Mikroskopta 100“lük objektifte bakılmış pembe-kırmızı görülenler gram negatif, mavi-mor görülen bakteriler ise gram pozitif olarak rapor edilmiştir (Klement, 1968).

2.2.4.2. Hareketlilik Testi

Hareketlilik tespitinde yarı katı besiyeri kullanılmış, içerisinde %0,4-0,5 oranında agar bulunan YMA besiyerine ekim yapılmış ve 24-48 saat 28°C’de inkübe edilmiştir. Besiyerinin yüzeyi ve inokülasyonun yapıldığı hat boyunca sağa veya sola doğru bir dallanma ve yayılma, bakterinin hareketli olduğunu göstermiştir (Çelebi, 2012; Orhan, 2013).

2.2.4.3. Katalaz

24-48 saat taze geliştirilmiş izolatların üzerine %3“lük H₂O₂ eklenip köpürme durumuna bakılmış, köpürme varsa pozitif (+) olarak belirtilmiştir (Holt ve ark., 1994).

2.2.4.4. Oksidaz

Kurutma kâğıdı üzerine bakteri izolatlarından bir öze dolusu taze geliştirilerek örnek alınıp sürülmüştür. Daha sonra oksidaz (Fluka, N,N-dimethyl-p-phnylenediamine oxalate, α -naphtol) dökülüp renk değişimi gözlemlenmiştir. Mavi renk oluşumu pozitif olarak sonuçlandırılmıştır (Holt ve ark., 1994).

2.2.5. İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

2.2.5.1. İzolatların farklı konsantrasyonlardaki tuza toleranslılıkları

%0 ve %10 arası konsantrasyonlarda NaCl eklenmiştir. 28 °C'de 7 gün inkübe edilmiştir gelişme gösterenler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Cappucino ve Sherman, 1992). Deneyler üç paralelli olarak yapılmıştır.

2.2.5.2. İzolatların Farklı Sıcaklık Derecelerine Toleranslılıkları

İzolatların farklı sıcaklık derecelerine toleranslılıkları testinde 4 °C, 15 °C, 27°C, 37 °C ve 41 °C'de gelişimlerine bakılmıştır.

2.2.5.3. Brom Tyhmol Mavili YMA'da Gelişim

0.5 g Bromo thymol blue 100 ml Etil alkol içerisinde çözdürüldükten sonra otoklavlanmış ve bu çözeltiden 5 ml alınıp 1 litre YMA ortamına eklenerek pH 6.8'e ayarlanmıştır (Vincent, 1970; Yao ve ark., 2002; Yıldız, 2007). Hızlı gelişen *Rhizobium* izolatları ise asit reaksiyon vererek ortamı sarıya, yavaş gelişenler maviye dönüşümü izlenmiştir (Ülgen, 1980; Yıldız, 2007).

2.2.5.4. Kongo Kırmızılı YMA'da Gelişim

2.5 g Kongo kırmızı 100 ml distile suda çözdürüldükten sonra otoklavmış, %0.25 suda çözülmüş 10 ml karışım 1 litre YMA besiyerine eklenerek ve steril edilmiştir. Stok kültürlerden alınan izolatlar YMA besiyerinde aktifleştirildikten sonra Kongo kırmızılı YMA besiyerine çizgi ekimi ile inoküle edilmiş, 28°C'de 7 gün boyunca izolatların boyayı absorblama yeteneği değerlendirilmiştir. *Rhizobium* türleri genellikle karanlıkta inkübe edildiğinde Kongo kırmızısını absorbe etmediğinden ve koloniler opak, beyaz veya nadiren pembemsi renk göstermesi beklenmiştir. (Vincent, 1970; Ögütçü ve ark., 2010; Ögütçü ve Algur, 2014).

2.2.5.5. Levan üretimi

Sukroz ve et ekstraktı içeren NA ortamına izolatların çizgi ekimleri yapılmış, mukoid özellikte koloni oluşumu pozitif olarak rapor edilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.2.6. Enzim Aktiviteleri

2.2.6.1. Fosfataz aktivitesi

Pikovskaya ortamına 10 µl alınıp damla şeklinde ekimleri yapılmış, gelişme sonunda koloni etrafındaki açık zon oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kim ve ark., 1998). Ca(PO₄)₂ eklenmeyen ortamlar kontrol olarak değerlendirilmiştir.

2.2.6.2. Arjinin dehidrolaz

Thornley ortamı bulunan tüplere kültürlerden 10 µl inokule edilmiş inkübasyon sonunda renk oluşumlarına bakılmış kırmızı renk verenler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Holt ve ark., 1994).

2.2.6.3. Nitrat Redüksiyonu

Hazırlanan ortamlar (pepton 10g, K₂HPO₄ 5g, agar 2g, yeast ekstrakt 1g, damıtık su 1000ml pH= 7.2) 5 ml hacimli tüplere konulmuştur. Nitrat ayırıcı olarak solüsyon A (5N asetik asit 50 ml ve sulfanilik asit 400 mg,) ve solüsyon B (5N asetik asit 50 ml ve 1- naphthylamine 300mg) kullanılmıştır. 121°C'de 3 dk eritilerek hazırlanan besiyeri 5'er ml olacak şekilde tüplere konulmuş, 121°C'de 15 dk otoklav edilmiştir. Taze bakteri kültürlerinden steril özeyle bakteri alınmış tüplere batırma inokulasyonu yapılmıştır. Tüpler 26°C'de 24-48 saat süreyle inkube edilmiş daha sonra 1 damla gram yodu ardından 0.5 ml solüsyon A ve 0.5 ml solüsyon B tüplerin üzerine damlatılmıştır. Tüplerde rengin kırmızı olması pozitif (+) olarak sonuçlandırılmıştır (Lelliot ve ark., 1966).

2.2.7. Siderofor üretimi

Blue agar ortamı kullanılmış, açık zon renk oluşumu siderofor üretimi için pozitif olarak rapor edilmiştir (Schwyn ve Neilands, 1987).

2.2.8. Antagonistik aktivite

Fungal patojenlerin 7 mm çapındaki fungal disk, farklı *Rhizobium* izolatları ve diğer antagonist izolatlar 5'er cm boşlukla Petri kutularına ekilmi yapılmıştır. 25 °C'de bir hafta inkübasyon süresince patojenin ve antagonistin büyüme miktarının zon çapları ölçülmüş, inhibisyon oranı aşağıdaki formül ile hesaplaması yapılmıştır (2.1) (Ahmad ve ark., 2008). Deneyler 3 paralelli olarak yapılmıştır.

$$\%RI = R - r / R \times 100 \quad (2.1)$$

R: Patojen fungusun bakterisiz taraftaki gelişimi

r: Patojen fungusun bakteriye doğru olan gelişimi

%RI: İnhibisyon oranı

2.2.9. İzolatların Mercimek Çimlenme parametrelerinin in vitro Koşullarda Belirlenmesi

48 saatlik inkübasyon sonrası gelişen bakteriler %1'lik CMC (CarboxyMethylCellulose) ile süspanse (10^8 cfu/ml) edilmiş, süspanسیونun içerisine %1'lik sodyum hipoklorür ile yüzey dezenfeksiyonu yapılarak mercimek tohumları konulmuş, çalkalayıcı inkübatörde 30 dk. 26 °C'de çalkalanarak bakterilerin tohum yüzeyine yapışması beklenmiştir. Her bakteri izolatu için 5 adet tohum kullanılmış, tohumlar bakteriler ile kaplama işlemi sonrası içerisinde steril saf su ile nemlendirilmiş steril kurutma kağıtları bulunan 12 cm'lik Petrilere yerleştirilmiş 27 °C'de 7 gün bekletilmiştir. Çimlenen tohumların kök ve sürgün gelişimleri ölçülerek kontrol olarak yalnızca %1'lik CMC ile muamele edilmiş tohumlar kullanılmıştır. Deneme 3 tekkerrür olacak şekilde yürütülmüştür.

2.2.10. İzolatların maldı-tof ms cihazı ile Belirlenmesi

Etkili bulunan izolatların tür tayini Maldi-tof ms cihazı ile yapılmıştır.

2.2.11. İstatistik analiz

Petri çalışması sonucunda elde edilen verilerin istatistik analizleri tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre JMP (5.0.1) paket programı kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş(Kalaycı, 2005).



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Nodül örneklerinin toplanması ve bakterilerin izolasyonu

İzolasyonu yapılan mercimek, nohut ve bezelye bitkilerin sağlıklı olan pembemsi nodüllerinden etkili görülen 80 bakteri izole edilmiş bunlarında 20 tanesi seçilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Örneklerin alındığı bitki ve izolatların kodları

BİTKİ ADI	KODLARI
MERCİMEK	RM1
MERCİMEK	RM2
MERCİMEK	RM3
MERCİMEK	RM4
MERCİMEK	RM5
MERCİMEK	RM6
MERCİMEK	RM13
MERCİMEK	RM22
NOHUT	RN2
NOHUT	RN3
NOHUT	RN5
NOHUT	RN11
BEZELYE	RB2
BEZELYE	RB20
BEZELYE	RB24
BEZELYE	RB26
BEZELYE	RB27
BEZELYE	RB29
BEZELYE	RB30
BEZELYE	RB33

3.2. İzolatların Saklanması

Tüm temsilci izolatlar saflaştırılmış *in-vitro* koşullarda diğer testlerini yapmak üzere %30'luk gliserolde saklanmıştır.

3.3. Bakterilerin Morfolojik olarak Özelliklerinin İncelenmesi

3.3.1. Gram boyama

RM2, RM3, RB30, RN2 ve RN5 Gram (+) diğer tüm izolatlar Gram (-) sonuç vermiştir. RB29 izolatının mikroskopta Gram negatif görünümü Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. İzolatlardan RB29 Gram boyamasının mikroskoptaki görünümü

3.3.2. Hareketlilik Testi

Tüm izolatlar hareketli sonuç vermiştir.

3.3.3. Katalaz

Tüm izolatlar katalaz pozitif sonuç vermiştir.

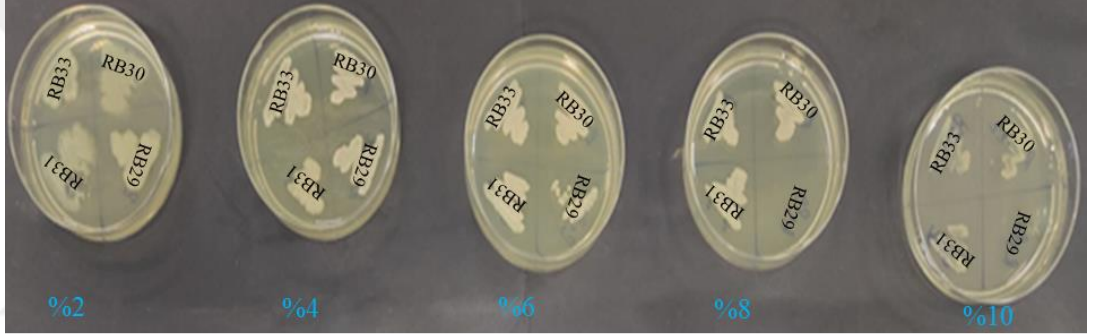
3.3.4. Oksidaz

RM1, RM2, RM3, RB30, RN2 ve RN5 oksidaz negatif diğer tüm sonuçlar pozitif sonuç vermiştir.

3.4. İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

3.4.1. İzolatların farklı konsantrasyonlardaki tuza toleranslılıkları

RB27 ve RB29 izolatları %8'lik konsantrasyonda negatif diğer tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir. RM1, RM2, RM6, RM13, RM22, RB1, RB24, RB26, RB27 ve RB29 %10'luk konsantrasyonda negatif diğer tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir (Şekil 3).



Şekil 3. İzolatların farklı konsantrasyonlardaki tuza toleranslılıkları

3.4.2. İzolatların Farklı Sıcaklık Derecelerine Toleranslılıkları

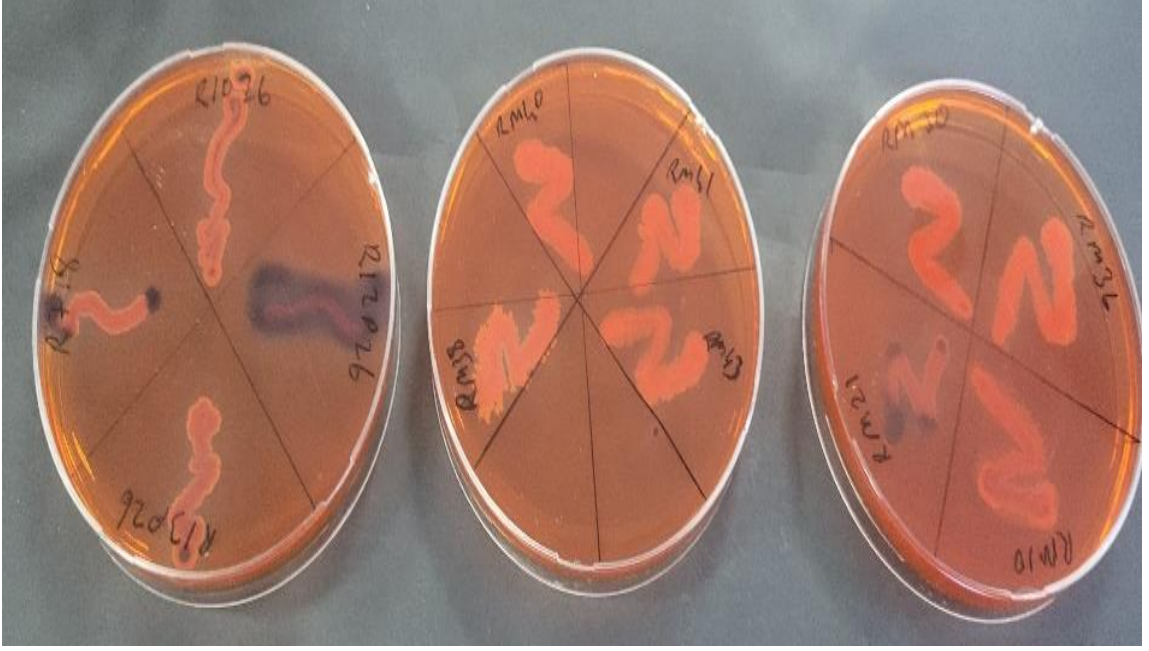
İzolatların farklı sıcaklık derecelerine toleranslılıkları testinde 4 °C'de tüm izolatlar gelişme göstermemiş diğer tüm sıcaklıkta 15°C, 27 °C, 37 °C ve 41 °C'de gelişme göstermişlerdir.

3.4.3. Brom Tyhmol Mavili YMA'da Gelişim

13 *Rhizobium* bakterisinin hızlı (asit üreten) büyüyen izolatlar olduğu görülmüştür.

3.4.4. Kongo Kırmızılı YMA'da Gelişim

13 *Rhizobium* bakterisinin 2 si zayıf, bir tanesi kongo kırmızılı absorbe etmediği beyaz, opak ve pembemsi koloniler oluşturduğu, diğer izolatların boyayı absorbe edip kırmızımsı koloniler oluşturduğu görülmüştür.



Şekil 4. İzolatların Kongo Kırmızılı YMA'da Gelişimleri



Şekil 5. Brom Tyhmol Mavili YMA'da Gelişimi

Rhizobium bakterileri taze hazırlanmış Brom-Timol Mavili YMA besiyerine ekildiğinde besiyerinin yeşil rengini sarıya (hızlı üreyerek asit reaksiyon oluşturanlar) dönüştürürler. Kongo Kırmızılı YMA besiyerinde karanlıkta inkübe edildiklerinde boyayı absorbe etmediğinden opak, beyaz görünümünde koloniler oluştururlar (Uçar ve Öner, 1988; Kızıloğlu, 1992; Beck ve ark., 1993; Ögütçü, 2000) (Şekil 4 ve Şekil 5).

3.4.5. Levan üretimi

RN3, RN5, RN11, RB2, RB20, RB24 pozitif diğer tüm izolatlar negatif sonuç vermiştir.

3.5. Enzim Aktiviteleri

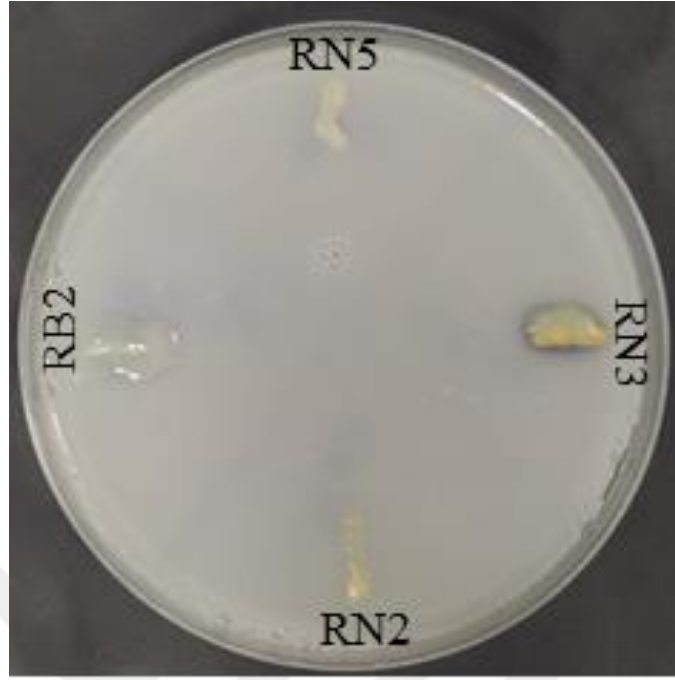
3.5.1. Fosfataz aktivitesi

İzolatlardan RM6, RN3, RB20, RB24 ve RB27 fosfataz aktivitesinde pozitif sonuç vermiş diğer tüm izolat negatif sonuç vermiştir (Tablo 2).

Tablo 2. İzolatların biyokimyasal ve enzim aktiviteleri

Yeni Kod	Gram boyama	Katalaz	Oksidaz	Levan Test	Arjinin Dehidrolaz	Fosfataz	Nitrat Redüksiyon	Siderofor Üretimi
RM1	-	+	-	-	-	-	+	+
RM2	+	+	-	-	-	-	+	+
RM3	+	+	-	-	+	-	+	+
RM4	-	+	+	-	+	-	+	-
RM5	-	+	+	-	-	-	+	+
RM6	-	+	+	-	+	+	+	+
RM13	-	+	+	-	-	-	+	-
RM22	-	+	+	-	-	-	+	-
RN2	+	+	-	-	-	-	+	+
RN3	-	+	+	+	-	+	+	+
RN5	+	+	-	+	-	-	+	-
RN11	-	+	+	+	-	-	+	+
RB2	-	+	+	+	+	-	+	+
RB20	-	+	+	+	-	Z	+	+
RB24	-	+	+	+	-	+	+	+
RB26	-	+	+	-	+	-	+	+
RB27	-	+	+	-	+	+	+	+
RB29	-	+	+	-	+	-	+	+
RB30	+	+	-	-	-	-	+	+
RB33	-	+	+	-	+	-	+	-

-: Negatif; +: Pozitif; Z: Zayıf



Şekil 6. RM5, RN5, RN3 VE RB2 izolatlarının fosfataz aktivitesi

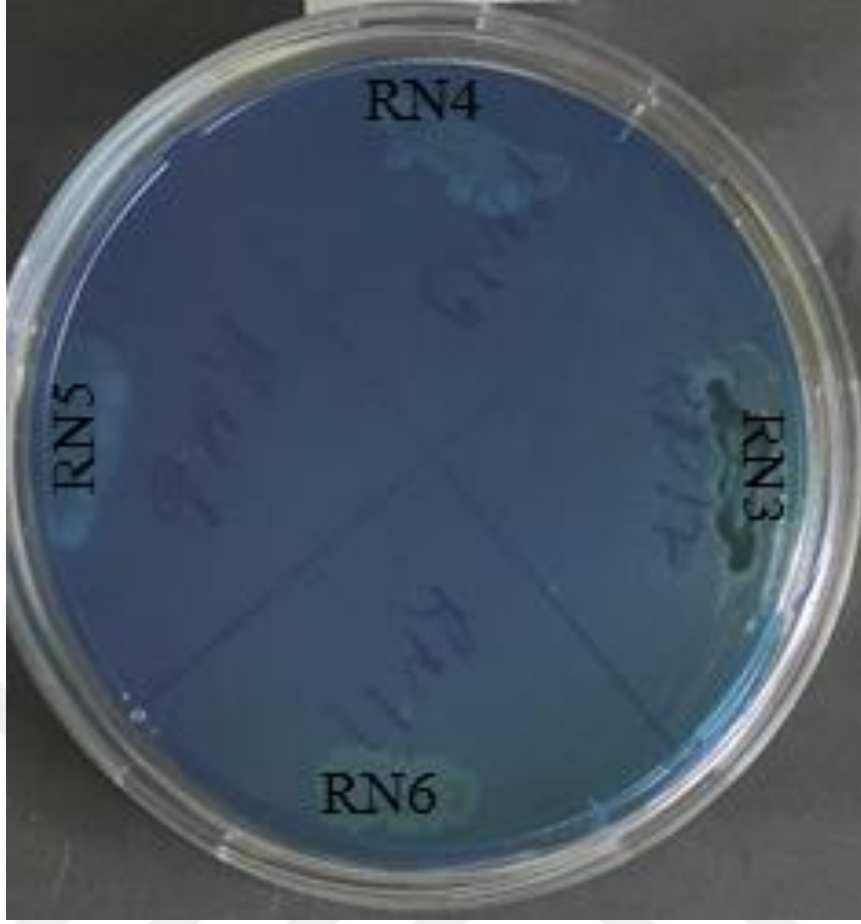
RM5, RN5, RN3 VE RB2 izolatlarının fosfataz aktivitesinde RN3 izolatının fosfataz aktivitesinde pozitif sonuç verdiği Şekil 6'da görülmüştür.

3.5.2. Arjinin dehidrolaz: RM3, RM4, RB2, RB26, RB27, RB29 ve RB31 izolatları pozitif diğer tüm izolatlar negatif sonuç vermiştir (Tablo 2).

3.5.3. Nitrat redüksiyonu: Tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir.

3.6. Siderofor Üretimi

RM4, RM13, RM22, RN5 VE RB33 negatif diğer tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir (Tablo 2).



Şekil 7. RN3, RN4, RN5 ve RN6 izolatlarının siderofor üretimi

Blue agar ortamında RN3 ve RN6 izolatlarının siderofor üretiminin pozitif sonuç verdiği Şekil 7’de görülmektedir.

3.7. Antagonistik Aktivite

3.7.1. Bakterilerin *Neoscytalidium dimidiatum*’a karşı antagonistik aktiviteleri

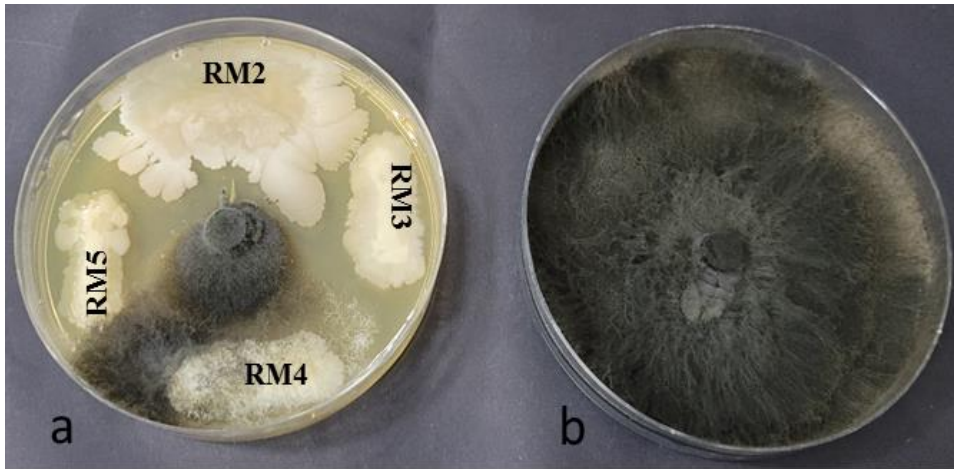
İzolatların *Neoscytalidium dimidiatum*’a karşı antagonistik aktiviteleri % 97,62 ile %50,70 arasında değişiklik göstermiştir (Tablo 3). En yüksek RM2 izolatı % 97,62 oranla etkili olmuştur.

Tablo 3. İzolatların *Neoscytalidium dimidiatum* ve *Fusarium pseudograminearum* karşı antagonistik aktiviteleri

Bakteri Kodu	%RI <i>Nd</i> *	%RI <i>Fp</i> *
RM1	59,05 ^k	66,18 ^{ef}
RM2	97,62 ^a	66,50 ^{ef}
RM3	88,13 ^b	69,21 ^{cd}
RM4	72,86 ^g	60,91 ^g
RM5	80,97 ^d	64,30 ^f
RM6	71,69 ^{gh}	50,79 ^{ij}
RM13	54,79 ^l	49,21 ^j
RM22	70,49 ^h	44,61 ^k
RN2	85,73 ^c	80,91 ^a
RN3	57,11 ^k	71,09 ^c
RN5	78,53 ^e	75,39 ^b
RB2	50,7 ^m	67,09 ^{de}
RB20	64,33 ^l	42,49 ^k
RB24	64,00 ^{ij}	59,09 ^g
RB26	76,20 ^f	53,21 ^{hi}
RB27	73,77 ^g	52,23 ^{hi}
RB29	61,90 ^j	51,70 ^{h-j}
RB30	86,87 ^{bc}	68,61 ^{c-e}
RB31	62,39 ^{ij}	53,82 ^h
RB33	61,90 ^j	60,00 ^g
F değeri	916,35 ^{***}	466,73 ^{***}
Std Hata	0,42	0,48

* Tukey çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir. ***: $P < 0.001$ seviyesinde anlamlı; *F.p.*: *Fusarium pseudograminearum*; *Nd.*: *Neoscytalidium dimidiatum* RI: İnhibisyon oranı

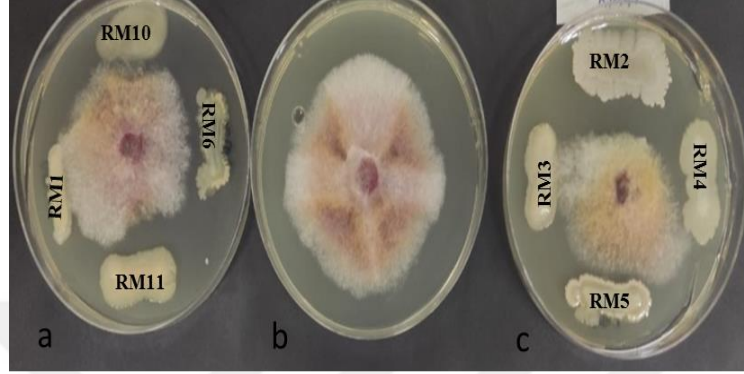
RM2, RM3, RM4 ve RM5 izolatlarının *Neoscytalidium dimidiatum*'a karşı antagonistik aktiviteleri kontrole göre etkili olduğu Şekil 8'de görülmektedir.



Şekil 8. a) RM2, RM3, RM4 ve RM5 izolatlarının *Neoscytalidium dimidiatum*'a karşı antagonistik aktiviteleri; b) Kontrol *Neoscytalidium dimidiatum*

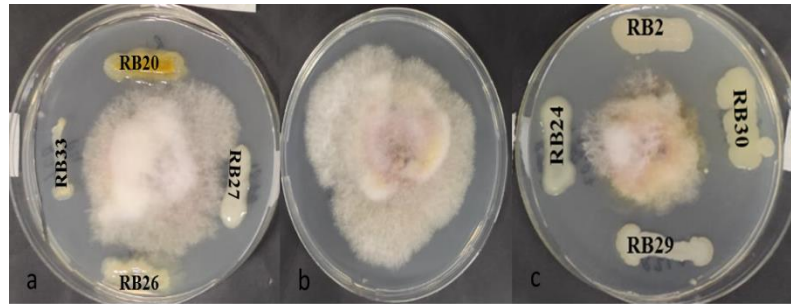
3.7.2. Bakterilerin *Fusarium pseudograminearum*'a karşı Antifungal Aktiviteleri

İzolatların *Fusarium pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri % 80,91 ile %42,49 arasında değişiklik göstermiştir (Tablo 3). En yüksek RN2 izolatu % 80,91 oranla etkili olmuştur.



Şekil 9. a) RM1, RM6, RM10 ve RM11 izoatlarının *Fusarium pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri; b) Kontrol *F. pseudograminearum*; c) RM2, RM3, RM4 ve RM5 izoatlarının *F. pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri

RM1, RM6, RM10 ve RM11 izoatlarının *F. pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri ve RM2, RM3, RM4 ve RM5 izoatlarının *F. pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri kontrole göre etkili oldukları Şekil 9' da görülmektedir.



Şekil 10. a) RB20, RB26, RB27 ve RB33 izoatlarının *Fusarium pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri; b) Kontrol *F. pseudograminearum*; c) RB2, RB24, RB29 ve RB30 izoatlarının *F. pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri

RB20, RB26, RB27 ve RB33 izoatlarının *F. pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri ve RB2, RB24, RB29 ve RB30 izoatlarının *F. pseudograminearum*'a karşı antagonistik aktiviteleri kontrole göre etkili oldukları Şekil 10' da görülmektedir.

3.8. İzolatların Mercimek Çimlenme parametrelerinin in vitro Koşullarda Belirlenmesi

Fusarium pseudograminearum ile bulaşık mercimek tohumlarının bakteri ile muamelesi kontrole göre çimlenme hızında daha etkili sonuç vermiş en etkili izolat RN2 izolatu %80 oranıyla etkili olmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. Bakteri ve patojenlerle inokule edilen mercimek tohumlarının bitki büyüme parametrelerine etkisi

Uygulamalar	*Çimlenme Hızı (%)	*Çimlenme Gücü (%)	*Kök Uzunlukları (cm)	*Koleoptil Uzunları (cm)
RN2 + <i>F.p</i>	70.20 ^a	90.00 ^a	1,11 ^a	1,65 ^a
RM2+ <i>F.p</i>	68.67 ^a	90.00 ^a	0,93 ^b	1,62 ^a
RN5+ <i>F.p</i>	50.00 ^c	70.00 ^b	0,82 ^c	1,55 ^a
RB30+ <i>F.p</i>	69.33 ^a	83.57 ^a	0,73 ^d	1,51 ^{ab}
RN2+RB30+ <i>F.p</i>	49.97 ^c	69.93 ^b	0,71 ^d	1,44 ^{ab}
RN2+RM2+RB30+ <i>F.p</i>	60.13 ^b	90.33 ^a	0,62 ^e	1,32 ^b
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	40.10 ^d	60.10 ^c	0,50 ^f	1,00 ^c
F değeri	140,71 ^{***}	69,13 ^{***}	462,20 ^{***}	23,12 ^{***}
Std Hata	0,9997	1,45	0,01	0,05
RN2 + <i>N.d</i>	69.73 ^a	93.00 ^a	1,93 ^a	1,92 ^a
RM2+ <i>N.d</i>	68.5 ^a	80.13 ^c	1,43 ^b	1,66 ^{ab}
RN5+ <i>N.d</i>	60.30 ^b	90.17 ^b	0,83 ^{ab}	1,27 ^{bc}
RB30+ <i>N.d</i>	69.20 ^a	80.07 ^c	0,93 ^{ab}	1,62 ^{ab}
RN2+RB30+ <i>N.d</i>	60.27 ^b	92.67 ^{ab}	1,83 ^b	1,86 ^a
RN2+RM2+RB30+ <i>N.d</i>	50.30 ^c	70.17 ^d	1,30 ^{ab}	1,51 ^{ab}
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	39.60 ^d	50.33 ^e	0,6 ^b	0,83 ^c
F değeri	601,38 ^{***}	737,93 ^{***}	3,77 ^{**}	14,10 ^{***}
Std Hata	0,46	0,56	0,26	0,10
RN2	80.30 ^a	99.60 ^a	2,23 ^{ab}	3.2 ^a
RM2	70.27 ^c	90.07 ^b	1.83 ^{abc}	2.96 ^a
RN5	70.20 ^c	90.30 ^b	1.73 ^{abc}	2.81 ^{ab}
RB30	80.37 ^a	90.03 ^b	2.27 ^a	2.67 ^{ab}
RN2+RB30	76.00 ^b	99.60 ^a	1.53 ^{bcd}	3 ^a
RN2+RM2+RB30	80.17 ^a	79.93 ^c	1.13 ^{cd}	2.20 ^{ab}
Kontrol	60.37 ^d	69.77 ^d	1.00 ^d	1.67 ^b
F değeri	222.91 ^{***}	727.15 ^{***}	11,32 ^{***}	4.70 ^{**}
Std Hata	0.50	0.39	0.15	0.25

* Tukey çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir. **: P<0.05 seviyesinde anlamlı ***: P<0.001 seviyesinde anlamlı

F.p: *Fusarium pseudograminearum* *Nd:* *Neoscytalidium dimidiatum*

Fusarium pseudograminearum ile bulaşık mercimek tohumlarının bakteri ile muamelesi kontrole göre çimlenme gücü daha etkili sonuç vermiş en etkili izolat RN2 izolatu %90 oranıyla etkili olmuştur. Kök ve koleoptil uzunluklarında da en etkili sonucu RN2 izolatu vermiştir (Tablo 4).

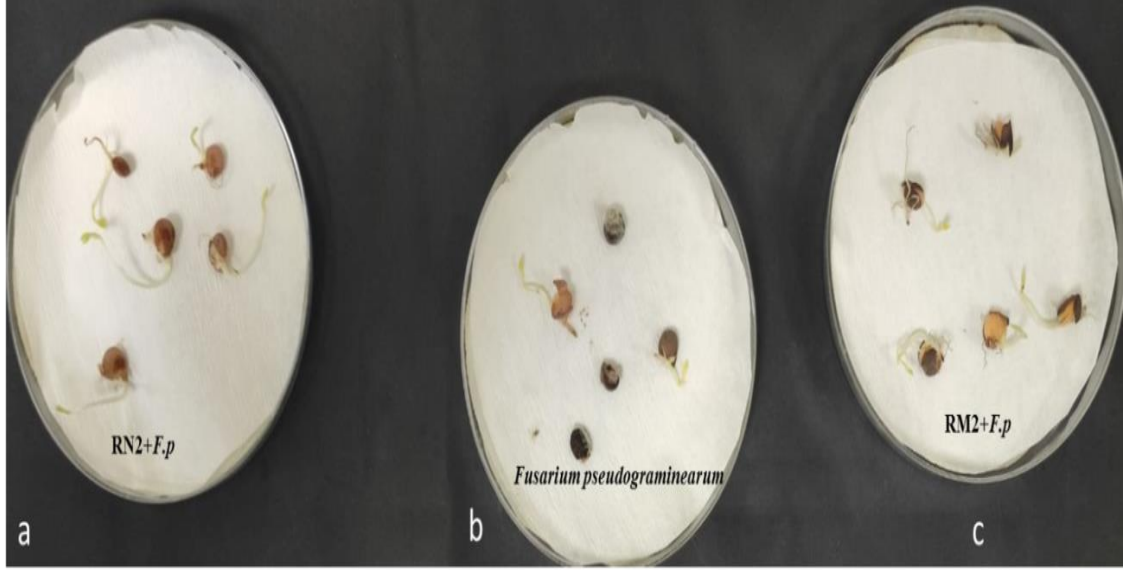
Neoscytalidium dimidiatum ile bulaşık mercimek tohumlarının bakteri ile muamelesi kontrole göre çimlenme hızında daha etkili sonuç vermiş en etkili izolat RN2 izolatu %69.73 oranıyla etkili olmuştur. *Neoscytalidium dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumlarının bakteri ile muamelesi kontrole göre çimlenme gücü daha etkili sonuç vermiş en etkili izolat RN2 izolatu %93 oranıyla etkili olmuştur. Kök ve koleoptil uzunluklarında da en etkili sonucu RN2 izolatu vermiştir (Tablo 4).

Mercimek tohumlarının sadece bakteri ile muamelesi kontrole göre çimlenme hızında daha etkili sonuç vermiş en etkili izolat RN2 izolatu, RB30 ve RN2+RM2+RB30 karışımları %80 oranıyla etkili olmuştur. Mercimek tohumlarının bakteri ile muamelesi kontrole göre çimlenme gücü daha etkili sonuç vermiş en etkili izolat RN2 izolatu ve RN2+RB30 %99.60 oranıyla etkili olmuştur. Kök uzunluğunda RB30 ve bunu RN2ve RM2 izolatu takip etmiş koleoptil uzunluklarında da en etkili sonucu RN2+RB30 karışımı ve RN2 izolatu vermiştir (Tablo 4).

İzolatların *F. pseudograminearum* ve *N. dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumları ve sadece bakteri ile inokule edilmiş mercimek tohumlarının kök uzunlukları istatistiki olarak $p \leq 0.001$ seviyesinde önemli bulunmuştur (Tablo 4).

İzolatların *F. pseudograminearum* ve *N. dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumları ve sadece bakteri ile inokule edilmiş mercimek tohumlarının koleoptil uzunlukları istatistiki olarak $p \leq 0.001$ seviyesinde önemli bulunmuştur (Tablo 4).

RN2 izolatu ve *Fusarium pseudograminearum* ile bulaşık mercimek tohumları ve RM2 izolatu ve *Fusarium pseudograminearum* ile bulaşık mercimek tohumlarının kontrole göre etkin olduğu Şekil 11’de görülmektedir.



Şekil 11. RN2 Ve RN5 izolatları ve *Fusarium pseudograminearum* ile inokule edilmiş mercimek tohumları; a) RN2 izolatı ve *Fusarium pseudograminearum* ile bulaşık mercimek tohumları; b) Kontrol *Fusarium pseudograminearum* ile bulaşık mercimek tohumları (bakteri yok); c) RM2 izolatı ve *Fusarium pseudograminearum* ile bulaşık mercimek tohumları

RN2+RB30 izolatlarının karışımı ve *Neoscytalidium dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumları ve RN2+ RM2+RB30 izolatlarının karışımı ve *Neoscytalidium dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumlarının kontrole göre etkin olduğu Şekil 12’de görülmektedir.



Şekil 12. a) RN2+RB30 izolatlarının karışımı ve *Neoscytalidium dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumları; b) Kontrol *Neoscytalidium dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumları (bakteri yok); c) RN2+ RM2+RB30 izolatlarının karışımı ve *Neoscytalidium dimidiatum* ile bulaşık mercimek tohumları

3.9. Maldi-tof cihazı ile tür tanımları

RM1 izolatu ve B3P9 izolatının *Stenotrophomonas* sp., RM2 izolatu ve RM3 izolatının *Bacillus megaterium*; RB30 izolatının *Bacillus megaterium*, RN2 izolatının *Paenibacillus polymaxa* ve RN5 izolatının *Bacillus mojavensis* olduğu Maldi-tof cihazı ile tür tanımları yapılmıştır.

İzolat Kodları	Bakteri Türleri
RM1	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
RM2	<i>Bacillus megaterium</i>
RM3	<i>Bacillus megaterium</i>
B3P9	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
RB30	<i>Bacillus megaterium</i>
RN2	<i>Paenibacillus polymaxa</i>
RN5	<i>Bacillus mojavensis</i>

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

TARTIŞMA

Baklagil nodülleri sadece azot sabitleyen *Rhizobium* bakterilerini değil, aynı zamanda nodül oluşumunu iyileştiren ve kök bölgesinde besin bulunabilirliğini artıran bitki büyümesini teşvik edici (PGP) bakterilerini de barındırmaktadır (Kumawat vd., 2019). Debnath ve ark. (2023), Hindistan'daki mercimek nodüllerinden *Enterobacter*, *Serratia*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait endofitik bakterileri izole etmişlerdir. Baklagiller nodüllerinde *Rhizobium* bakterileri simbiyotik yaşam sürseler bile, bazı bakteriyel endofitler nodüllerde onlarla bir arada bulunabilir ve PGP özelliklere sahip olabilirler (Muresu ve ark., 2019). Çalışmamızda *Rhizobium* sp. ile birlikte diğer RM1 ve B3P9 izolatının *Stenotrophomonas* sp., RM2, RM3 ve RB30 izolatlarının *Bacillus megaterium*, RN2 izolatının *Paenibacillus polymaxa* ve RN5 izolatının *Bacillus mojavensis* olduğu ve bunların çimlenme hızı, çimlenme gücü, kök uzunluğu ve koleoptil uzunlukları gibi bitki büyüme parametrelerinde etkili olması yönüyle diğer çalışmaların sonuçları ile desteklenmektedir.

Akhtar ve ark. (2010)'da yapmış oldukları çalışmada, mercimekte *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas alcaligenes* ve *Rhizobium* sp. bakterilerinin *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lentis*' fungal patojene karşı antagonistik aktivitesini incelemişlerdir. *F. Oxysporum* patojeninin önemli ölçüde bitki solmasına neden olduğu, bitki büyümesini etkilediğini, kök bölgesindeki rizobakterilerin sayısını ve nodülasyonu azalttığı belirtmiştir. *B. pumilus* ve *P.alcaligenes* inokulasyonu ile bitki büyümesinde, pod sayısında ve nodülasyonda büyük artışa neden olduğu, rizobakterlerle kök kolonizasyonu arttığı, *Fusarium* solmasını azalttığı rapor edilmiştir. *Rhizobium* sp. bitki büyüme parametrelerinde, nodülasyonda çok fazla artışa sebep olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmayı, *Bacillus megaterium* (RB30 VE RM2) ve *Paenibacillus polymaxa* (RN2) izolatlarının *Fusarium pseudograminearum* ve

Neoscytalidium dimidiatum fungal patojenlerine karşı antagonistik etkisi ile desteklemektedir.

Aureobacterium, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas* ve *Burkholderia* dahil endofitik bakterilerin *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii*, *Verticillium dahlia* ve diğer birçok fungal patojene karşı antagonistik aktiviteler gösterdiği belirtilmiştir (Rybakova ve ark., 2016). Çalışmamızda endofitik *Bacillus megaterium* (RB30 ve RM2) ve *Paenibacillus polymaxa* (RN2) izolatlarının *F.pseudograminearum* ve *N. dimidiatum* patojenlerine karşı antagonistik etki görülmüştür.

Mahsul yetiştiriciliğinde mikrobiyal simbiyotiklerin kullanılması, ekolojik açıdan sağlam ve sürdürülebilir bir tarım yöntemi sunmaktadır. İn vitro analizlerden elde edilen sonuçlar, endofitlerinin, muhtemelen N-fiksasyonu, IAA üretimi, fosfat çözündürme ve siderofor üretimi mekanizmaları yoluyla bitki büyümesini artırma potansiyeline sahip olduğunu ancak aynı zamanda konukçu bitkileri patojenin neden olduğu bitki hastalıklarından koruyabileceğini göstermektedir. Moleküler biyoloji ve fonksiyonel genomikteki son gelişmeler, bitki-endofit etkileşimlerine ilişkin mevcut anlayışın genişletilmesine yardımcı olacaktır. Çoklu mikrobiyal suşların tek bir konsorsiyum halinde entegrasyonu, kültür bitkilerine farklı faydalar sağlayabilmektedir. Farklı ekolojik ortamlarda ve tarla koşullarında bitki-endofit etkileşimlerinin sonuçları hakkında daha fazla araştırma yapılması, endofitlerin bitki büyümesini teşvik etme potansiyelinin tamamının kullanılmasında faydalı olabilecektir (Kandel ve ark., 2017). N-fiksasyonu, fosfat çözündürme ve siderofor üretimi mekanizmaları incelenerek bitki büyümesini artırma potansiyeli ve antagonistik aktivitelerinde olumlu sonuç vermesiyle çalışmamızı desteklemektedir.

Baklagillerin nodüllerinde *Rizobium* bakterileri simbiyotik yaşam sürseler bile, bazı bakteriyel endofitler nodüllerde onlarla bir arada bulunabilir ve bitki büyümesini teşvik edici (PGP) özelliklere sahip olabilir (Muresu ve diğerleri, 2019).

Rhizobium türlerinin izolatlarının pamuğun büyümesini ve fizyolojik parametrelerini iyileştirdiğini ortaya koymak için çalışma yapılmıştır. Daha yüksek değerler kök/sürgün uzunluğu ve kütlesi *Rhizobium* türü olan Br5 izolat ile bakteriyel aşılama, kontrolden %16,70 ve %23,80 daha yüksek olan 60,94 g sürgün, 64,40 g kök kütlesi ve Br5 ile pamuk sürgün uzunluğunda %18,3, kök uzunluğunda kontrolden

%24,8 daha yüksek artışlar göstermiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları, *Rhizobium* türlerinin farklı izolatlarının pamuğun büyüme ve verim parametrelerini iyileştirdiğini göstermiştir (Qureshi ve ark., 2019). Yapılan çalışma, etkili bulduğumuz RN2 izolatu kontrole kıyasla %123 kök uzunluğunda artış göstermiş olup, koleoptil uzunluklarında %91.62 artış sağladığını göstermiş olmasıyla çalışmamızı desteklemektedir. Ayrıca, kök uzunluğunda *Fusarium pseudograminearum* ve RN2 bakterisinin tohuma inokulasyonu sonucunda kontrole kıyasla kök uzunluğunu %122 arttırdığı, koleoptil uzunluğunda %65 arttırarak etkili bulunmuştur. *Neoscytalidium dimidiatum* ve RN2 izolatu mercimek tohumuna inokulasyonu sonucu kontrole kıyasla kök uzunluğunda %55, koleoptil uzunluğunda ise %131,3 oranında artış göstererek etkili bulunmuştur.



SONUÇ ve ÖNERİLER

Kullanılan baklagil bitkisi ve bunlardan biri olan mercimek Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde kuru tarımın yapıldığı alanlarda ana ürünlerden birini oluşturmaktadır. Baklagillerin kök nodüllerinden izole edilen *Rhizobium*, *Stenotrophomonas*, *Paenibacillus*, *Bacillus* cinsi bakteriler farklılık göstermiştir. Böylece fikse ettikleri N miktarları da birbirlerinden oldukça farklılık göstermiştir. Farklı *Rhizobium* ve diğer azot bağlayan bakterilerin inokulasyonu ile mercimek ve diğer baklagil bitkilerinde nodül sayısı ve azot alımında etki göstereceği düşünülmektedir.

Çalışmanın sonunda *Rhizobium* ve azot bağlayan bakterilerin hem mercimekte kök uzunluğu, koleoptil uzunluğu, çimlenme hızı ve çimlenme gücü parametreleri göz önünde bulundurularak en etki sonucu RN2 izolatı etkili olduğu görülmüştür.

Fusarium pseudograminearum patojenine karşı ise RN2 izolatında sonra kök ve koleoptil uzunluğunda etkili sonuç vermiştir. Bu çalışma sonucunda, Mardin ili mercimek tarımı yapılan alanlar için etkili görülen *Paenibacillus polymaxa* (RN2), *Bacillus megaterium* (RB30) izolatı ve *Bacillus megaterium* (RM2) biyokontrol özellikleri ve fungisidal aktiviteleri açısından sertifikalı fungusitlerle karşılaştırılarak *in-vivo* koşullarda da etkin görülmesi sonucu kullanılması önerile bilinecektir.

KAYNAKÇA

Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M. S. (2008). Screening of Free-Living Rhizospheric Bacteria for Their Multiple Plant Growth-promoting Activities. *Microbial Araes.*, 163, 173-181.

Akhtar, M. S., Shakeel, U., Siddiqui, Z. A. (2010). Biocontrol of *Fusarium* wilt by *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas caligines*, and *Rhizobium* sp. on lentil. *Turk J. Biol.*, 34, 1-7. Doi:10.3906/biy-0809-12

An, Q. L., Yang, X. J., Dong, Y. M., Feng, L. J., Kuang, B. J., Li, J. D. (2001). Using confocal laser scanning microscope to visualize the infection of rice roots by GFP-labelled *Klebsiella oxytoca* SA2, an endophytic diazotroph. *Acta Bot. Sinica*, 43, 558-64.

Araújo, A. S. F., Figueiredo, M. V. B., Monteiro, R. T. R., 2008. Azot fiksasyonu araştırma ilerlemesi. 1-13. Yeni Bilim Yayıncıları, Brezilya.

Aserse, A. A., Räsänen, L. A., Aseffa, F., Hailemariam, A., Lindström, K. (2013). Diversity of sporadic symbionts and nonsymbiotic endophytic bacteria isolated from nodules of woody, shrub, and food legumes in Ethiopia. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 97(23), 10117-34. Doi: 10.1007/s00253-013-5248-4.

Ash, C., Priest, F. G., Collins, M. D. (1993). Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. Proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1993-1994;64(3-4), 253-60. Doi: 10.1007/BF00873085

Bahroun, A., Jousset, A., Mhamdi, R., Mrabet, M., Mhadhbi, H. (2018). Anti-fungal activity of bacterial endophytes associated with legumes against *Fusarium solani*: Assessment of fungi soil suppressiveness and plant protection induction. *Appl. Soil Ecol.*, 124, 131-140.

Bai, Y. M., Daoust, F., Smith, D. L., Driscoll, B. T. (2002). Isolation of plant-growth-promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules. *Can J. Microbiol.*, 48(3), 230-238. DOI: 10.1139/w02-014.

Beck, D. P., Materon, L. A., Afandi, F. (1993). Practical *Rhizobium*-Legume Technology Manual, International Center for Agricultural Research in The Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria, 1-54.

Bent, E., Breuil, C., Enebak, S., Chanway, C. P. (2002). Surface colonization of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *Latifolia* [Dougl. Engelm.]) roots by *Pseudomonas fluorescens* and *Paenibacillus polymyxa* under gnotobiotic conditions. *Plant Soil* 241, 187-196.

Boddey, RM, De Oliviera, O. C., Urquiaga, S., Reis, V. M., De Olivares, F. L., Baldani, V. L. D., Doebereiner, J. (1995). Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: Contributions and projects for improvement. *Plant Soil*, 174, 195-209.

Bolat, M., Ünüvar, F., Dellal, İ. (2017). Türkiye’de yemeklik baklagillerin gelecek eğilimlerinin belirlenmesi. *Tarım Ekonomisi Araştırmaları Dergisi*, 3(2), 7-18.

Brewer, M. T., Larkin, R. P. (2005). Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection*, 24, 939-950.

Cappuccino, J. C., Sherman, N. (1992). In *Microbiology: A Laboratory Manual* Third Ed. Benjamin/ Cummings Pub. Co., New York, pp. 125-179.

Çelebi, Ö. 2012. *Eurygaster integriceps* (Put.) (Hemiptera: Scutelleridae)’in Bakteriyal Florasının ve Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Belirlenmesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, 1-83, (Yüksek Lisans Tezi).

De Lajudie P., Willems A., Nick G. (1999). *Agrobacterium* bv. 1 strains isolated from nodules of tropical legumes. *Syst. Appl. Microbiol.*, 22, 119–132.

Debnath, S., Chakraborty, S., Langthasa, M. Choure, K., Agnihotri, V., Srivastava, A., Rai, P. K., Tilwari, A., Maheshwari, D.K., Pandey, P. (2023). Non-rhizobial nodule endophytes improve nodulation, change root exudation pattern and promote the growth of lentil, for prospective application in fallow soil. *Front. Plant Sci.*, 14, Article 1152875.

Engin, M., ve Yağmur, M. (2005). Nohut (*Cicer arietinum* L.)’ta fosfor ve azot dozları ile bakteri (*Rhizobium ciceri*) aşılamanın bazı morfolojik özellikler ile tane verimi üzerine etkileri ve bazı bitkisel özellikler arasındaki ilişkiler. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2), 103-112.

Gahoonia, T. S. , Ali, O. , Sarker, A., Rahman, M. M., Erksine, W. (2005). Root traits nutrient uptake, multi-location grain yield and benefit cost ratio of two lentil (*Lens culinaris*, Medicus.) varieties. *Plant and Soil*, 272, 143-161.

Holt, G. J., Krieg, N. R., Sneath, P. H., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). In: *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology*. ninth ed. The Williams and Wilkins Pub., M. D., USA.

Kalaycı, M. 2005. *Örneklerle Jump Kullanımı ve Tarımsal Araştırma İçin Varyans Analizi Modelleri* (1. Baskı). Eskişehir Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayınları, Yayın No: 21, Eskişehir.

Kan, F. L., Chen, Z. Y., Wang E. T., Tian, C. F., Sui, X. H., Chen, W. X. (2007). Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet Plateau and in other zones of China. *Arch Microbiol.*, 188, 103–115. Doi: 10.1007/s00203-007-0211-3.

Kandel Shyam L. , Firincieli Andrea , Joubert Pierre M. , Okubara Patricia A., Leston Natalie D. , McGeorge Kendra M. , Mugnozza Giuseppe S. , Harfouche Antoine, Kim Soo-Hyung , Doty Sharon L. (2017). An In vitro Study of Bio-Control and Plant Growth Promotion Potential of Salicaceae Endophytes. *Frontiers in Microbiology*, 8. DOI=10.3389/fmicb.2017.00386

Keswani, C., Dilynashin, H., Birla, H., Singh, S. P. (2019). Regulatory barriers to Agricultural Research commercialization: A case study of biopesticides in India. *Rhizosphere*, 11, 100155.

Kızıloğlu, F. T. (1992). Erzurum Yöresinde Üretilen Yeşil Mercimek (*Lens clunaris*) Bitkisinin Etkili *Rhizobium leguminosarum* Suşlarının Seçimi Üzerine Bir Araştırma, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 23 (1), 39-52.

Kim, K. Y., Jordan, D., and McDonald, G. A. (1998). Enterobacter agglomerans, Phosphate Solubilizing Bacteria, and Microbial Activity in Soil: Effect of Carbon Sources. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 995-1003.

Klement, Z. (1968). Pathogenicity factors in regard to relationships of phytopathogenic bacteria. *Phytopathology*, 58, 1218-1222.

Kumar A, Munder A, Aravind R, Eapen SJ, Tümmler B, Raaijmakers JM. (2013). Friend or foe: genetic and functional characterization of plant endophytic *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol.*, 15, 764–79.

Kumawat, K. C., Sharma, P., Sirari, A., Singh, I., Gill, B.S., Singh, U., Saharan, K. (2019). Synergism of *Pseudomonas aeruginosa* (LSE-2) nodule endophyte with *Bradyrhizobium* sp. (LSBR-3) for improving plant growth, nutrient acquisition and soil health in soybean. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 35, 1-17.

Küçük, Ç., Kıvanç, M. (2008). Preliminary Characterization of *Rhizobium* Strains Isolated from Chickpea Nodules. *Afr. Journal of Biotechnology*, 7(6), 772-775

Li, J.H., Wang, E.T., Chen, W.F., Chen, W.X. (2008). Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. *Soil Biol. Biochem.*, 40, pp. 238-246.

Lodeiro, A. R. , Favelukes, G. (1998). Early interaction of *Bradyrhizobium japonicum* and soybean roots, specificity in the process of adsoption. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1405-1411.

Mahdi, S. S., Hassan, G. I., Samoon, S. A., Rather, H. A., Dar, S. A. vd. 2010. Biofertilizers in organic agriculture, *Journal of Phytology*, 2(10), 42-54.

Muresu, R., Porceddu, A., Sulas, L., Squartini, A. (2019). Nodule-associated microbiome diversity in wild populations of *Sulla coronaria* reveals clues on the relative importance of culturable rhizobial symbionts and co-infecting endophytes. *Microbiol. Res.*, 221, pp 10-14.

Murugesan S., Vijayakumar R., Panneerselvam A. (2011). Characterization of *Agrobacterium rhizogenes* isolated from the nodules of some leguminous plants. *World Appl. Sci J.*, 15, 32–37.

Noel, T. C., Sheng, C., Yost, C. K., Pharis, R. P., Hynes, M. F. (1996). *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth promoting rhizobacterium: direct growth promoting of canola and lettuce. *Can. J. Microbiol.*, 42, 279-283.

Oldroyd, G.E. and Downie, J.A. (2008) Coordinating Nodule Morphogenesis with Rhizobial Infection in Legumes. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 519-546. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092839>

Orhan, F. (2013). Doğu Anadolu Bölgesindeki Tuzlu Topraklardan İzole Edilen Tuza Dayanıklı Bakterilerin Moleküler Karakterizasyonu, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 1-201, (Doktora Tezi).

Öğütçü, H., Kasımoğlu C., Elkoca, E. (2010). Influence of *Rhizobium* Strains Isolated from Wild Chickpeas on the Growth and Symbiotic Performance of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Salt Stress, *Turk. J. Agric. For.*, 34, 361-371.

Öğütçü, H. (2000). Yabani Baklagil Bitkilerinden İzole Edilen *Rhizobium* Türlerinin Kültür Bitkilerinde Nodül Oluşturma ve Azot Bağlama Potansiyellerinin Araştırılması, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, 1-111.

Öğütçü, H.; Algur, Ö. F. (2014). Yabani Baklagil Bitkilerinden, Mikrobiyal Gübre Olarak Kullanılan *Rhizobium* spp. Bakterilerinin İzolasyonu, *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(4):181-184.

Öğütçü, H. , Algur, Ö. F. , Elkoca, E. , Kantar, F. (2008). The determination of symbiotic effectiveness of *Rhizobium* strains isolated from wild chickpeas collected from high altitudes in Erzurum. *Turk J. Agric. Res. For.*, 32, 241-248.

Özaktan, H. (2021a). Sieve Analysis for Kernel Size of Some Registered Chickpea Cultivars. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(11), 1953- 1959.

Özaktan, H. (2021b). Technological Characteristics Of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars Grown Under Natural Conditions . *Turkish Journal Of Field Crops*, 26 (2) , 235-243 . DOI: 10.17557/tjfc.1018627.

Özaktan, H., Ciftci, C. Y., Uzun, S., Uzun, O., Kaya, M. (2020). Effects Of Humic Acid, Microbiological Fertilizer And Phosphate Rock On Yield And Yield Components of Field Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fresenius Environmental Bulletin* , Vol.29, No.2, 856-863.

Patel, K. K. ve Sanoria, C. L. (1982). Nodulation potential of isolated of *Rhizobium leguminosarum* from eastern. U.P. *Science and Culture*, 48 (11), 388-389.

Qureshi, A. M., Shahzad, H., Saeed, M. S., Ullah, S., Ali, M. A., Mujeeb, F., Anjum, M. A. (2019). Relative potential of rhizobium species to enhance the growth and yield attributes of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Eurasian J Soil Sci.*, 8(2) 159 – 166.

Rajkumar M, Ae N, Freitas H. (2009). Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere*, 77:153–60.

Reitz, M. , Oger, P. , Meyer, A. , Niehaus, K. , Farrand, S. K. , Halmann, J., Sikora, R. A. (2002). Importance of the O-antigen, core-region and Ripid A of rhizobial

lipopoly saccharides for the induction of systemic resistance in potato to. *Globodera pallida*. *Nematology*, 4, 73-79.

Ren, X., Guo, S., Tian, W., Chen, Y., Han, H., Chen, E., Li, B., Li, Y., Chen, Z. (2019). Effects of plant growth-promoting bacteria (PGPB) inoculation on the growth, antioxidant activity, Cu uptake, and bacterial community structure of rape (*Brassica napus* L.) grown in Cu-contaminated agricultural soil. *Front. Microbiol.*, 10: 1455.

Rennie, R. J. ve Dubetz, S., 1984. Soybean as a N₂-fixing crop, Research Highlights 1983, Research Staion. Lethbridge, Alberta, Agriculture Canada, 76-80.

Rybakova, D., Cernava, T., Köberl, M., Liebming, S., Etemadi, M., Berg, G. (2016). Endophytes-assisted biocontrol: novel insights in ecology and the mode of action of *Paenibacillus*. *Plant Soil*, 405, 125–140. doi: 10.1007/s11104-015-2526-1

Saini R., Dudeja S.S., Giri R., Kumar V. (2013). Isolation, characterization, and evaluation of bacterial root and nodule endophytes from chickpea cultivated in Northern India. *J Basic Microbiol.*, 53:1–8. Doi: 10.1002/jobm.201300173.

Schwyn, B., Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem.*, 160:47-56.

Sessitsch A, Reiter B, Berg G. (2004). Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities. *Can J Microbiol.*, 50:239–49.

Sneath, P. H. A. (Ed.) 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Cilt, 2 Williams & Wilkins, Baltimore.

Souza, R., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet Mol Biol*, 38:401–19.

Srinivasan, M, Petersen, DJ, Holl, FB (1997). Nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* is enhanced by the presence of *Bacillus*. *Canadian Journal of Microbiology*. 43(1): 1-8. <https://doi.org/10.1139/m97-001>.

Stackebrandt, E, Swiderski, J (2002). From Phylogeny to Systematics: The Dissection of the Genus *Bacillus*. Berkeley, R, Heyndrickx, M, Logan, N, De Vos, P (Ed.). Blackwell, Oxford, ss 8–22.

Stoltzfus, J. R, So, R., Malarvithi, P. P., Ladha, J. K., De Bruijn, F. J. (1997). Isolation of endophytic bacteria from rice and assessment of their potential for supplying rice with biologically fixed nitrogen. *Developments in Plant and Soil Sciences*, 194(1–2): 25–36.

Sturz, A. V., Christie, B. R., Matheson, B. G., Nowak, J. (1997). Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biol Fertil Soils*, 25:13–19.

Şehirli S., 1988. Yemelik Dane Baklagiller, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 1089, Ders Kitabı 314.

Timmusk, S., Wagner, E. G. H. (1999) The Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* Induces Changes in *Arabidopsis Thaliana* Gene Expression: A Possible Connection between Biotic and Abiotic Stress Responses. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 12, 951-959. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.11.951>

Timmusk, S., Behers, L., Muthoni, J., Muraya, A., Aronsson, A. C. (2017). Perspectives and challenges of microbial application for crop improvement. *Front Plant Sci.*, 8:49.

Uçar, F., Öner, M. (1988). Nohut Kök Nodüllerinden İzole Edilen *Rhizobium* Suşlarının Morfolojik ve Biyokimyasal Karakterleri, *Doğa Turk Biyol.* (Genetik Mikrobiyoloji, Moleküler Biyoloji, Sitoloji), 12 (2), 135-141.

Ullah, A., Heng, S., Munis, M. F. H., Fahad, S., Yang, X. (2015). Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review. *Environ Exp Bot.*, 117, 28–40.

Ülgen, H. (1975). Baklagil bitkilerinin nodül bakterileri ile aşılması. T.C.Köyşleri Bakanlığı, Topraksu Genel Müdürlüğü, Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü. Genel Yay. No:56, Teknik Yay. No:40, Ankara.

Vincent, J. M. (1970). A Manual For The Practical Study of Root, Nodüle Bacteria. IBP. Handbook No:15, Blackwell Scientific Publications. Oxford, England.

Weselowski, B., Nathoo, N., Eastman, A. W., MacDonald, J., Yuan, Z. C. (2016). Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production. *BMC Microbiol.*,16, 244

Yao, Z. Y., Kan, F. L., Wang, E. T., Wei, G. H., Chen, W. X. (2002). Characterization of Rhizobia That Nodulate Legume Species of The Genus *Lespedeza* and Description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52 (6), 2219–2230.

Yıldız, M. (2007). Van Gölü Havzasındaki Bazı Yabani Mercimek ve Nohut Bitki Kök Nodüllerinden *Rhizobium* Bakterilerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 1-76, (Yüksek Lisans Tezi).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Ahmet ŞİMŞEK
Yabancı Dili	İngilizce
Orcid Numarası	0000-0003-4103-3653
Ulusal Tez Merkezi Referans Numarası	10487832
Lise	Mardin Lisesi
Lisans	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Yüksek Lisans	
Mesleki Deneyim	Biyoloji öğretmeni
Akademik Çalışmalar	Fabaceae Familyasından Elde Edilen Ekstraktların Antifungal Aktivitesinin Değerlendirmesi Üzerine Bir Derleme