



**PALANDÖKEN DAĞINDAN ALINAN RİZOSFERİK VE
NON-RİZOSFERİK TOPRAK ÖRNEKLERİNDE
SOĞUĞA ADAPTE PGPR/PGPB TÜRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Emrah SATICI

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI
2022
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**PALANDÖKEN DAĞINDAN ALINAN RİZOSFERİK VE NON-RİZOSFERİK
TOPRAK ÖRNEKLERİNDE SOĞUĞA ADAPTE PGPR/PGPB TÜRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

(Investigation of Cold Adaptable PGPR/PGPB Species in Rizospheric and Non-Risospheric
Soil Samples Taken From Palandöken Mountain)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emrah SATICI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI

Erzurum
Eylül, 2022

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Emrah SATICI tarafından hazırlanan “*Palandöken Dağından Alınan Rizosferik ve Non-Rizosferik Toprak Örneklerinde Soğuşa Adapte PGPR/PGPB Türlerinin Araştırılması*” başlıklı çalışması 05 / 09 / 2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Biyoloji Ana Bilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Doç. Dr. Murat ÖZDAL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Sinan BAYRAM <i>Bayburt Üniversitesi,</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliđi'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak *Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI* danışmanlığında sunulan “*Palandöken Dağından Alınan Rizosferik ve Non-Rizosferik Toprak Örneklerinde Soğuğa Adapte PGPR/PGPB Türlerinin Araştırılması*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	2	30
Kuramsal Temeller	12	30
Materyal ve Metot	31	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	4	20
Sonuçlar	0	20
Tezin Geneli	16	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Emrah SATICI	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI
5.9.2022	5.9.2022
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimin süresince ve tez çalışmamın tamamlanmasında, değerli bilgilerini paylaşmaktan çekinmeyen, yoğun çalışma temposunda bile bana kıymetli vaktini ayıran ve faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını sunan, her sorunumu güler yüzü ve samimiyeti ile çözüme kavuşturan ve mesleki hayatımda da kendisini ekol olarak takip edeceğim kıymetli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI'ya, tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarında yapmış oldukları destek ve katkılardan dolayı sayın hocalarım Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE'ye ve Prof. Dr. Güleray AĞAR'a teşekkürlerimi bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Varlığıyla her zaman huzur bulduğum, bu süreçteki en büyük destekçilerimden sevgili eşim Zeynep SATICI'ya ve meleklerim kızım Eslem ve oğlum Mehmet Yusuf SATICI'ya da sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Emrah SATICI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PALANDÖKEN DAĞINDAN ALINAN RİZOSFERİK VE NON-RİZOSFERİK TOPRAK ÖRNEKLERİNDE SOĞUĞA ADAPTE PGPR/PGPB TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Emrah SATICI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARADAYI

Amaç: Bu çalışmada Erzurum Palandöken dağının belirli lokasyonlarından alınan rizosferik ve non-rizosferik toprak numunelerinin aseptik koşullarda laboratuvar ortamına taşınmaları, bu numunelerden elde edilen bakteriyel izolatların seçilerek saflaştırılması ve bunlar arasından azot fiksasyonu, fosfat çözme ve IAA üretme bakımından PGPR özellik gösteren bakterilerin konvansiyonel yöntemler kullanılarak yerel bir kültür koleksiyonunun hazırlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada aktif izolatların tanılmasında klasik mikroskopik incelemeler ve moleküler teknikler kullanılmıştır. İzolatların moleküler identifikasyonu evrensel 16S rRNA gen bölgesine spesifik primerlerinin kullanıldığı PCR uygulaması, amplikonların sekans analizleri ve NCBI veri tabanında BLAST analizi uygulanmıştır.

Bulgular: Çalışma sonucunda 321 soğuğa adapte bakteri izolatu elde edilmiş ve bunlar içerisinden azot bağlama, fosfat çözme, IAA ve siderofor üretme özelliklerinden en az bir tanesini gösteren 21 aktif izolat seçilmiştir. Moleküler tanı verileri bu izolatların *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Exiguobacterium* ve *Rhizobium* cinslerine ait olduğunu ortaya koymuştur.

Sonuç: Tez çalışması sonucunda soğuk ekosistemlerde doğal yollarla bitki büyümesini teşvik için geliştirilecek preparatların hazırlanabileceği 21 aktif PGPR/PGPB izolatının yerli bir kültür koleksiyonu oluşturulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Soğuğa Adapte Mikroorganizma, PGPR, PGPB, 16S rRNA.

Eylül 2022, 77 Sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF COLD ADAPTABLE PGPR/PGPB SPECIES IN RIZOSPHERIC AND NON-RIZOSPHERIC SOIL SAMPLES TAKEN FROM PALANDÖKEN MOUNTAIN

Emrah SATICI

Supervisor: Assist. Dr. Mehmet KARADAYI

Purpose: In this study, rhizospheric and non-rhizospheric soil samples taken from chosen locations of Erzurum Palandöken Mountain were transported to the laboratory environment under aseptic conditions, the bacterial isolates obtained from these samples were selectively purified and bacteria showing PGPR properties in terms of nitrogen fixation, phosphate dissolution and IAA production were analyzed locally using conventional methods. It is aimed to prepare a cultural collection.

Method: In this study, classical microscopic examinations and molecular techniques were used for the identification of active isolates. Molecular identification of isolates, PCR application using universal 16S rRNA gene region specific primers, sequence analysis of amplicons and BLAST analysis in NCBI database were applied.

Findings: As a result of the study, 321 cold-adapted bacterial isolates were obtained and 21 active isolates showing at least one of the properties of nitrogen binding, phosphate dissolving, IAA and siderophore production were selected. Molecular diagnostic data revealed that these isolates belonged to *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Exiguobacterium* and *Rhizobium* genera.

Results: As a result of the thesis study, a native culture collection of 21 active PGPR/PGPB isolates was created, in which preparations to be developed to promote plant growth naturally in cold ecosystems can be prepared.

Keywords: Cold Adapted Microorganism, PGPR, PGPB, 16S rRNA.

September 2022, 77 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	viii
GİRİŞ.....	9
KURAMSAL TEMELLER.....	11
Rizosfer	12
Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler/rizobakteriler (PGPR/PGPB)	14
Biyofertilizerler olarak PGPR/PGPB'lerin kullanımı.....	17
Biyostimulant olarak PGPR/PGPB'lerin kullanımı	23
Biyoprotektan olarak PGPR/PGPB'lerin kullanımı.....	31
MATERYAL VE METOT	40
Materyal	40
Kullanılan alet ve cihazlar.....	40
Besiyeri ve çözeltiler.....	40
Yöntem.....	45
Bakteriyel izolasyon çalışmaları	45
Bitki büyümesini teşvik eden bakteriyel izolatların seçilimi	45
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	49
SONUÇLAR.....	54
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	75

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Farklı Bitki Türlerinin Kök Salgılarındaki Çeşitli Bileşikler	14
Tablo 2. PGPR'ler Tarafından Salgılanan Büyüme Teşvik Eden Maddeler.....	17
Tablo 3. Seçilen Bakteriyel İzolatların Bitki Büyümesini Teşvik Etme Potansiyeli.....	49
Tablo 4. Seçilen Bakteriyel İzolatların Tanı Bulguları.....	50



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
°	: Derece
°C	: Santigrat
µl	: Mikrolitre
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etildiamin tetraasetik asit
g	: Gram
g	: Force (Kuvvet)
HCl	: Hidroklorik asit
KCl	: Potasyum Klorür
KI	: Potasyum İyodür
MgSO₄	: Magnezyum Sülfat
MgSO₄ 7H₂O	: Magnezyum Sülfat Heptahidrat
ml	: Mililitre
NaCl	: Sodyum Klorür
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PGPB	: Plant Growth Promoting Bacteria = Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakteriler
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
TBE	: Tris Borate EDTA
TE	: Tris EDTA
µg	: Mikrogram
µM	: Mikromolar

GİRİŞ

Biyolojik açıdan önemli bir fiziksel etken olan soğuk, yaşamsal reaksiyonlar üzerindeki doğrudan ve dolaylı etkilerinden ötürü yer küredeki canlılığı kısıtlayan en önemli faktörlerden birisi olarak kabul edilmektedir (Collins and Margesin, 2019). Bununla birlikte, yer kürenin kutuplar, buzullar, derin okyanus zeminleri ve yüksek dağlar gibi bölgeleri içine alan büyük bir kısmının düşük sıcaklıklara sürekli olarak maruz kaldığı da bilinmektedir. Bu durum, önceleri bu bölgelerde yaşam olamayacağı görüşünü doğurmuş, bu bölgelerin biyoçeşitliliğini ortaya koyacak çalışmaların yapılmasını uzun yıllar ertelemiştir. Ancak, daha sonra ileri mikroskopi tekniklerinin, yeni kültüre alma yaklaşımlarının ve genomik, transkriptomik, proteomik, metagenomik gibi omik teknolojilerin geliştirilmesiyle soğuk bölgelerin de canlılık açısından özellikle de mikrobiyolojik çeşitlilik açısından oldukça zengin olduğu ortaya konulmuş ve bunun bir sonucu olarak soğuk ekosistemlerdeki canlılık faaliyetlerini araştıran çalışma sayısı giderek artmıştır (Singh *et al.*,2014; Koh *et al.*,2017; Raymond-Bouchard *et al.*,2018; Tribelli and Lopez, 2018; Karadayi *et al.*,2021).

Soğuk ekosistemlerin mikrobiyal biyoçeşitliliğini arkeler, bakteriler, mayalar, küfler, siyanobakteriler, mikroalgler ve tek hücreli ökaryotik hayvansal organizmalar oluşturmaktadır (Margesin and Collins, 2019). Genelde, soğuğa adapte mikroorganizmalar olarak adlandırılan bu canlılar düşük sıcaklıklarda yaşamayı mümkün kılan sitoplazmik membran farklılaşmaları, özelleşmiş metabolik yollar, elektron akışları, soğuk aktif enzimler ve antifriz proteinleri gibi çok sayıda mekanizma geliştirmeleriyle karakterize edilirler (Margesin and Miteva, 2011; Karadayi *et al.*,2021). Literatür çalışmaları, soğuğa adapte mikroorganizmalardaki mekanizmaların sadece canlıların soğuk çevrelerdeki zorlayıcı koşullarda hayatta kalmalarında rol oynamadığını, aynı zamanda ekosistemin sürdürülebilirliği açısından elzem olan besin ve madde döngülerinin gerçekleşmesinde de kilit rol oynadığını göstermiştir (Hamdan, 2018).

Öte yandan soğuğa aktif mikroorganizmalar ve bunların ürettikleri özel metabolitler gösterdikleri çeşitli endüstriyel kullanım potansiyelleriyle günümüz biyoteknoloji çalışmalarına ilham kaynağı olmaktadır. Buna soğuğa adapte *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas* türlerinin biyoremediasyonda, antimikrobiyal metabolitler üreten türlerin eczacılıkta, soğuk aktif beta-galaktosidaz, pektinaz, ksilanaz, proteaz, lipaz ve amilaz üreten çeşitli türlerin ise gıda ve deterjan endüstrilerinde kullanımı örnek olarak verilebilir (Ruberto *et al.*,2005; Aislabie *et al.*,2006; Lin *et al.*,2009; Singh *et al.*,2012; Struvay and Feller, 2012;

Adapa *et al.*,2014; Tomova *et al.*2015) Yine soğuga adapte mikroorganizmaların sürdürülebilir ve çevreci tarım uygulamalarının geliştirilmesinde kullanımı da günümüzün popüler araştırma konularından birisi olarak kabul edilmektedir (Khan and Goel, 2008; Mishra *et al.*,2012).

Soğuk iklim koşullarına sahip bölgelerdeki doğal bitki örtüsünün gelişimi ya da zirai üretimin teşvik edilmesinde rol oynayan mikroorganizmalar genellikle bakterileri kapsamakta ve bu nedenle “soğuga adapte bitki büyümesini teşvik edici rizobakteriler (cold-adapted plant growth promoting rhizobacteria, cold-adapted PGPR veya soğuga adapte PGPR)” olarak adlandırılmaktadırlar (Khan and Goel, 2008; Mishra *et al.*,2012; Patni *et al.*,2018). Bu bakterilerin azot bağlama, fosfatlı bileşikleri çözme gibi özellikleriyle topraktaki besleyici elementleri arttırdığı, başta oksinler olmak üzere çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerini (fitohormonlar) salgılayarak ürün verimi üzerine olumlu etki gösterdikleri ve sideroforlar gibi bazı özel bileşenleri üreterek topraktaki bitki patojenlerini baskılayabildikleri bilinmektedir (Vessey, 2003; Ashraf *et al.*,2011; Mutheshilan *et al.*,2012; Bal *et al.*,2013; Singh, 2013). Bu bağlamda soğuga adapte PGPR türleri biyofertilizer, biyostimulan ve/veya biyoprotektan özellikler göstererek soğuk iklim koşullarının hakim olduğu bölgelerde bitkisel üretim için sürdürülebilir ve çevreci alternatifler sunarlar (Backer *et al.*,2018; Basu *et al.*,2021).

Öte yandan soğuga adapte PGPR türleri kullanılarak hazırlanan zirai preparatların ticarileşmesinin önünde halen aşılması gereken sorunların olduğu bilinmektedir. Bu noktada, geliştirilen preparatların benzer iklim koşullarına sahip olsa bile farklı coğrafyalarda aynı verimle çalışmaması örnek olarak verilebilir. Bunun temelinde yerel vejetasyon bölgelerindeki mikrobiyal toplulukların özel olarak kendi konukçularına adapte olma ihtimallerinin yüksek oluşu yatmaktadır. Bu nedenle belli bir ekosistemde kullanılacak en uygun preparatın yine o ekosistemden izole edilecek PGPR türleri ile hazırlanabileceği görüşü ortaya çıkmaktadır (Singh, 2013; Mapelli *et al.*,2013; Yu *et al.*,2014). Sonuç olarak, yerel soğuk ekosistemlerden izole edilecek soğuga adapte PGPR türlerinden hazırlanacak preparatların hem bu bölgelerdeki doğal bitki örtüsünün gelişmesi bakımından hem de tarlalarda zirai üretimin artırılması bakımından ithal preparatlara nazaran daha efektif sonuçlar vereceği açıkça görülmektedir.

Bu ilkeler çerçevesinde hazırlanan tez çalışmamızda, Türkiye'nin en soğuk ekosistemlerinden birisi olan Palandöken Dağı'ndan, azot bağlama, fosfatlı bileşikleri çözme, indol-3-asetik asit ve/veya siderofor üretme özelliklerinden en az birine sahip soğuga adapte PGPR türleri izole edilmiş, bu izolatlar moleküler yaklaşımlarla tanılanmış ve Erzurum'da kullanılacak ticari preparatların geliştirilmesine kaynak sağlaması amacıyla yerel bir kültür koleksiyonu oluşturulmuştur.

KURAMSAL TEMELLER

Nüfus artışına paralel olarak artan gıda üretimi üzerindeki baskı, kimyasal gübre ve diğer tarımsal kimyasalların kullanımını kaçınılmaz kılmıştır. Ancak tarımsal kimyasalların aşırı kullanılması, ekilebilir toprağın biyolojik ve fizikokimyasal yapısının bozulmasına, mahsul verimliliğinde düşüşe ve biyolojik çeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır (Bishnoi, 2018). Günümüz teknolojisinde bu ekolojik ve sosyo-ekonomik problemlere yönelik çözüm arayışları tüm hızıyla devam etmektedir. Örneğin tarımsal kimyasal kullanımının kısmen azaltılması, biyo-atıklardan elde edilen ürünlerin kullanımının teşvik edilmesi, ekin bitkilerinin köklerinde yaşayan faydalı mikroorganizmalardan elde edilen biyo-gübrelerin kullanımının artırılması (Fascella *et al.*2015) gibi çevreye ve toprağa duyarlı, sürdürülebilir tarımın devamlılığını esas alan ve yüksek verimli tarımsal ürün elde edinimi için benimsenmiş etkili stratejiler üzerinde çalışılmaktadır. Tarımsal kimyasalların; çevre kirliliğine neden olması, bitki, hayvan ve insan sağlığını kötü yönde etkilemesi ve mikroorganizmaların bu kimyasallara karşı direnç kazanmış olması nedeniyle (Avis *et al.*,2008) mahsul yetiştiriciliğinde, biyo gübreleyiciler ve biyolojik kontrol ajanları olarak bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR), sentetik tarım kimyasallarına olan bağımlılığı azaltmak için uygun bir ikame olarak öne çıkmaktadır. (Vessey, 2003 ; Anli *et al.*,2020).

Dünya genelinde bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin (PGPR) izolasyonuna yönelik ılıman bölgelerin zirai alanlarında oldukça yoğun çalışmalar yapılmıştır. Ancak son yıllarda; sıcaklık, tuzluluk, asidik, pH veya alkalilik gibi stres faktörlerinden etkilenmiş alanların biyoremediasyonu yapılarak mahsul üretimine kazandırılması çalışmaları bu ekstrem habitatların önemini arttırmıştır. Bunlar içerisinde özellikle soğuk habitatlar, Dünya yüzeyinin çok büyük bir kısmını kaplamaları nedeniyle, geleceğe yönelik gıda güvenliği çalışmalarının en önemli odağı konumunda bulunmaktadır. Abiyotik stres faktörlerinden biri olan soğuk, bitki büyümesi ve mahsul verimi üzerindeki olumsuz etkileri nedeni ile, sürdürülebilir tarımın geleceği ve mahsul kayıplarının önüne geçilmesi için mücadele edilmesi gereken bir etmendir. Çünkü soğuğa veya sıcağa maruz kalma mahsul veriminde kayıplara veya en kötü olasılıkla mahsulün bozulmasına neden olacak şekilde ciddi problemler doğurur (Duncan,2000). Biosferin yaklaşık %80'ninin sürekli 5°C'nin altındaki sıcaklıklarda bulunduğu göz önüne alındığında (Karadayi *et al.*,2021), soğuk stresin neden olduğu kayıpları indirgemede bu soğuk ortamlara özgü bitkilerin köklerinden izole edilecek soğuğa toleranslı mikroorganizmaların zengin bir kaynak oluşturması beklenmektedir.

Soğuk habitat organizmaları, optimal olarak 15°C'nin altında (20°C üst sınır) büyüyen *psikrofiller* ve 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda hayatta kalan ancak 20-25°C'de optimal olarak büyüyen *psikrotolerant* organizmalar olarak tanımlanmıştır (Morita, 1975). Büyük ölçüde veya sürekli don halinde bulunan ortamların her ne kadar yaşama elverişsiz olduğu kanısı hakim olsa da psikrofilik organizmaların bu habitatlarda hayatta kalmayı başardıkları bilinmektedir. Psikrofil, Yunanca soğuk anlamına gelen *psychros* ve soğuk seven anlamına gelen *philos* kelimelerinden türemiştir. Ayrıca *kriyofiller* ve *rigofiller* olarak da adlandırılırlar. Psikrofil terimi ilk kez 0°C'de üreyebilen mikroorganizmalar için kullanılmış olmakla birlikte (Schmidt, 1902), saf bakteri kültürlerinin 0°C'de çoğalma kabiliyetini ilk kez 1887'de Forster göstermiştir (Berry, 1934). Forsterin deniz balıklarından izole ettiği parlak bakteriler aynı yıl içerisinde Fischer'in kültür koleksiyonundaki 2 parlak bakteri suşu ve 14 ek taze izole edilmiş deniz bakteri suşu ile doğrulanmıştır (Fischer, 1888). Forster buna müteakip 1892'de yayımlanmış olduğu başka bir makalede, psikrofilik bakterilerin tatlı ve tuzlu sularda, tatlı ve tuzlu su balıklarının yüzeyinde ve bağırsaklarında, sütte, ette, bahçe toprağında, kanal ve çayır sularında yani doğada geniş çapta yayıldığını göstermiştir. Daha sonra yapılan çok sayıda araştırma, psikrofilik bakterilerin, Dünya'daki en bol, çeşitli ve yaygın olarak dağılmış ekstremofilleri temsil ettiğini fazlasıyla doğrulamıştır (Piette *et al.*, 2011).

Düşük sıcaklıklarda psikrofilik mikroorganizmaların büyüme yeteneği göstermesi sahip oldukları enzimlerin bazı benzersiz özellik göstermelerinden kaynaklanıyor olabilir. Örneğin Brown (1957) birkaç substratın oksidasyon sıcaklık katsayısının psikrofiller için mezofillerden daha düşük olduğunu göstermiştir. Bu, psikrofillerin enzimatik aktivitelerinin, sıcaklıktaki bir düşüşten mezofillerinkinden daha az etkilendiğini gösterir. Ancak yine Brown tarafından yapılan başka bir çalışmada, *Pseudomonas* 'ın psikrofilik bir türü ile *Pseudomonas aeruginosa* 'nın mezofilik bir türünün glukoz ve glukonik asit oksidasyonunu karşılaştırmış ve iki bakteri türünün enzim sistemlerinin sıcaklık ilişkilerini belirleyen fiziksel özellikleri bakımından büyük bir farklılık olmadığı sonucuna varmıştır.

Psikrofilik mikroorganizmalar soğuk ortamlarda hayatta kalabilme yeteneklerinin yanı sıra soğuk ortamların ekstra stres faktörleri olan kuruma, radyasyon, aşırı UV, yüksek veya düşük pH, yüksek ozmotik basınç ve yetersiz besin mevcudiyeti (Tehei *et al.*, 2005; Morgan-Kiss *et al.*, 2006) gibi olumsuz etmenlere karşı direnç göstermeleri nedeni ile bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPR/PGPB) grubu içerisinde büyük bir öneme sahiptirler.

Rizosfer

Rizosfer terimi ilk olarak Hiltner (1904) tarafından mikrobiyal popülasyonların kök faaliyetleri tarafından uyarıldığı kökleri çevreleyen dar toprak bölgesini tanımlamak için

kullanılmıştır. Rizosfer birbiri ile etkileşim halinde olan toprak, rizoplan ve kök bileşenleri ile tanınır. Rizoplan, kökün dış yüzeyi ve buraya yapışan toprak ve döküntü parçacıklarını ifade eder (Barea *et al.*,2005). Organik madde, enerji ve besin maddelerinin sistematik döngüsünün gerçekleştiği toprak ise, en karmaşık habitat olarak solucan ve termitler gibi makro organizmalara; mantar, alg ve bol miktarda bulunan bakteriler gibi mikro organizmalara ev sahipliği yapmaktadır.

Bitki köklerini çevreleyen, biri bitki büyümesini destekleyen rizobakteriler olmak üzere çok sayıda mikroorganizma türü içeren bölge olarak tanımlanan rizosfer; mikrobiyal aktivitesi yüksek ve iyi karakterize edilmiş (Mendes *et al.*, 2011), çeşitli ve eşsiz mikrobiyal koloni tiplerini etkileyen kök eksudaları ile direkt veya indirekt ilişki içerisinde olan biyolojik aktivitenin merkezidir. Rizosferdeki bu bitki, kök ve bakteri arasındaki etkileşimler bitki sağlığı ve toprak verimliliğini belirleyen kriterlerdir. Bu bölgenin mikropları bitkiye besin temin edilmesinde ve bu besinlerin sindiriminde, toprak dokusunu geliştirmede, sinyal bileşikleri salgılamada, antibiyotikler, ikincil metabolitler ve hormonlar gibi hücre dışı molekülleri salgılamada üstlenmiş oldukları önemli görevlerle bitki stres tepkilerini düzenlerler (Leach *et al.*, 2017; Smith *et al.*, 2017).

Bitki kökleri, bitkiye mekanik destek sağlamanın ve su, azot ve fosfat gibi önemli besinlerin alımını kolaylaştırmanın yanı sıra, çeşitli bileşikler salgılayarak bitki büyümesini teşvik eder (Walker *et al.*,2003). Bitki kökleri tarafından salgılanan ve kök eksudaları olarak adlandırılan amino asitler, proteinler, şekerler ve sinyal peptitleri dahil olmak üzere (Tablo 1) farklı organik bileşikler (Dakora ve Philips, 2002; Lucas *et al.*, 2014), mikroorganizmalar için seçici bir ortam oluşturarak rizosferde PGPR oluşumunu destekler (Buée *et al.*, 2009). Aslında, eksudaların bir kısmı mikroorganizmalara karşı rekabet gücünü arttırmak için itici rol üstlenirken, diğerleri mikropları çekmek için cezbedici olarak hareket eder. Rizosferdeki mikrobiyal aktivite, kök şekillenmesini ve bitkilere topraktaki mevcut besinlerin alımını etkileyerek eksudaların kalite ve miktarını değiştirir. (Kang *et al.*,2010).

Tablo 1. Farklı Bitki Türlerinin Kök Salgılarındaki Çeşitli Bileşikler

Amino asitler	α -Alanine, b -alanine, asparagines, aspartate, cystein, cystine, glutamate, glycine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, serine, threonine, proline, valine, tryptophan, ornithine, histidine, arginine, homoserine, phenylalanine, c -Aminobutyric acid, α -Aminoacidic acid
Organik asitler	Citric acid, oxalic acid, malic acid, fumaric acid, succinic acid, acetic acid, butyric acid, valeric acid, glycolic acid, piscidic acid, formic acid, aconitic acid, lactic acid, pyruvic acid, glutaric acid, malonic acid, tetronic acid, aldonic acid, erythronic acid
Şekerler	Glucose, fructose, galactose, ribose, xylose, rhamnase, arabinose,
Vitaminler	desoxyribose, oligosaccharides, raffinose, maltose
Purin/nukleoidler	Biotin, thiamin, pantothenate, riboflavin, niacin Adenine, guanine, cytidine, uridine
Enzimler	Acid/alkaline-phosphatase, invertase, amylase, protease
Inorganik iyonlar	HCO_3^- , OH^- , H^+ , CO_2 , H_2

Dakora ve Phillips (2002)

Genellikle bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) olarak adlandırılan, bitki büyümesi için faydalı olan serbest yaşayan toprak bakterileri, bitki kökünü kolonize ederek bitki büyümesini teşvik edebilir. PGPR'ler genel olarak üç farklı yolla bitki büyümesini teşvik ederler: (i) bitkiler için kritik bileşiklerin sentezlenmesi, (ii) P, N, C, K, S vb. besinlerin topraktan alınmasını kolaylaştırma, ve (iii) bitkileri hastalıklardan koruma veya mevcut hastalıkların azaltılması şeklinde.

Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler/rizobakteriler (PGPR/PGPB)

Toprağın hayatı bir bileşeni olan ve on yıllardır mahsul üretiminde kullanılan bakteriler etkili bir besin dönüşümü ve sürdürülebilir mahsul üretimi için toprak ekosisteminin çeşitli biyotik faaliyetlerinde önemli roller üstlenmişlerdir (Ahemad ve diğerleri, 2009; Chandler ve diğerleri, 2008). Örneğin, topraktaki besin maddelerini harekete geçirerek, fitohormonlar üreterek, fitopatojenlerle mücadele ederek, toprağı toksik ağır metallere arındırarak ve kimyasal kullanımı sonucu kirlenmiş toprağı biyolojik olarak iyileştirerek biyotik faaliyetlere katkı sunarlar (Ahemad and Malik, 2011; Hayat *et al.*,2010; Rajkumar *et al.*,2010; Braud *et al.*,2009).

Bitki köklerini ve/veya rizosferi kolonize ederek, bitkiye doğrudan besin temin etme yoluyla bitki büyümesini destekleyen ve bitki hastalıklarına neden olan toprak patojenlerine ve abiyotik/biyotik streslere karşı savunma mekanizmaları geliştiren bakteriler, "Bitki Büyümesini Teşvik eden Rizobakteri" (PGPR) olarak adlandırılmaktadır (Klopper *et al.*,1989). Bitki köklerinin çevresindeki veya köklerin içindeki rizobakterilerin, besinleri çözmede, dönüştürmede ve harekete geçirmede diğer bölgelerdeki toprak bakterilerine kıyasla çok yönlü

olduğu (Hayat *et al.*,2010), ve toprak besinlerinin geri dönüşümünde baskın güç olduğu (Glick, 2012) yapılan çalışmalarla desteklenmiştir.

Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler: (i) kök yüzeyini kolonize etme yeteneklerinin yüksek olması, (ii) bitki büyümesini teşvik ve bitkiyi koruma görevlerini yerine getirmek için gereken süre boyunca hayatta kalmayı ve çoğalmayı başarması, (iii) diğer mikrobiyota'lar ile rekabet gücünün fazla olması, ve (iv) bitki büyümesini teşvik etmesi gibi ayırt edici özelliklerle karakterize edilirler (Kloepper, 1994). Kök çevresinde, kök yüzeyinde, kök dokusunda veya özelleşmiş kök yapıları olan nodüllerin içinde bulunan (Gray and Smith ,2005) PGPR 'lerin bitkilerle arasındaki etkileşimin moleküler araçları henüz tam manası ile açıklanamamış olsa da temelde, doğrudan ve dolaylı mekanizmalarla bitki büyümesini arttıran güçlü PGP ajanları olarak bilinirler (Kishore *et al.*2005; Glick and Babola , 2017). Dolaylı bitki büyümesinin teşviki, küçük metal bağlayıcıları olan sideroforların ve hidrojen siyanür (HCN)'ün üretilmesi yoluyla fitopatogenik organizmaların zararlı etkilerinin önlenmesini içerir. Bununla birlikte toprak kaynaklı bitki patojenlerinin biyolojik kontrolü, antibiyotik sentezi ve bitkilerde geniş bir kök ve yaprak patojen yelpazesine karşı sistemik direnci indüklemeyi içerir (Meena *et al.*,2020). Doğrudan bitki büyümesinin teşviki ise topraktan sabit azot veya çözüldürülmüş mineraller gibi besinleri bitkiye sağlamak ve oksinler, sitokinler, gibberellinler, etilen ve absisik asit gibi fitohormonların üretimini içerir (Parray *et al.*2016; Kalam *et al.*,2020). Bununla birlikte Somers *et al.* (2004), PGPR' yi fonksiyonel aktivitelerine göre bitkiye besin maddelerinin mevcudiyetini arttıran biyogübreler, fitohormon üretimi aracılığıyla bitki büyümesini teşvik eden bitki uyarıcılar, organik kirleticileri indirgeyen rizoremediatörler, antibiyotik ve antifungal metabolitlerin üretimi yoluyla hastalıkları kontrol eden biyopestisitler olarak sınıflandırmışlardır.

Bakterinin köke olan yakınlık derecesine göre PGPR-bitki etkileşimleri değişkenlik gösterir (Gray and Smith, 2005). Bu yakınlık ilişkilerine bağlı olarak PGPR hücre dışı bitki büyüme rizobakterileri (ePGPR) veya hücre içi bitki büyüme rizobakterileri (iPGPR) olarak sınıflandırılır (Martinez-Viveros *et al.*2010). Genel olarak *Azotobacter*, *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Caulobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia* vb. gibi genel bakterileri kapsayan (Gray and Smith 2005) ePGPR, rizosfer, rizoplan veya kök korteks hücreleri arasında bulunur. *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* vb. endofitler ve *Frankia* türlerini içeren iPGPR ise kök hücreleri için özelleşmiş nodüler yapılar içerisinde bulunur (Verma *et al.*,2010; Wang and Martinez-Romero, 2000; Figueiredo *et al.*,2011). *Pseudomonas*, *Rhizobia* ve *Bacillus*, yüksek PGP ve kök kolonileştirme yetenekleri nedeni ile en yaygın olarak bulunan PGPR'ler olarak rapor edilmiştir (Sivasakthi *et al.*,2014).

Bacillus'lar; endospor oluşturma yetenekleri, çok katmanlı hücre duvarına sahip olmaları, ekstrem çevre koşulları ile mücadelede birçok fizyolojik karaktere sahip olması (Shafi *et al.*2017) ve çeşitli ikincil metabolitleri salgılamaları bakımından önemlidir. *Rizobia* türleri ise (*Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium* ve *Sinorhizobium*) bitki büyümesini teşvik edici özelliğinin yanı sıra biyolojik azot fiksasyonu yapma yeteneğine sahip gram negatif bakterilerdir (Podile and Kishore 2006; Dardanelli *et al.*2010; Arora *et al.*2017). *R. leguminosarum viciae* topraktaki fosfatın serbest kalmasında önemli bir rol üstlenir (Abd-Alla, M.H., 1994). *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* ile aşılana mısır ve marul bitkilerinin kuru ağırlıklarında ve fosfor düzeylerinde belirgin şekilde artış görülmüştür (Chabot *et al.*, 1996). Toprak patojenlerine karşı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *Rhizobium* bakterileri (*R. meliloti* 49 nolu izolat) zararlı bir mantar türü olan *Fusarium oxysporum* 'a karşı yonca bitkisinin direncini arttırmıştır (Viands *et al.*, 1980). Ayrıca *Rhizobium* ve diğer mikroorganizmalar, toprak kirleticilerin ve ağır metallerin daha az toksik forma indirgenmesi için rizoremediasyonda aktif rol üstlenirler. *Pseudomonas* ise bitki gelişimini teşvik edici bakteriler olarak tanımlanan, toprakta ve rizosfer bölgesinde en yaygın bulunan bakteri türüdür. Bu bakteri türünün yaygın ve bol çeşitliliği araştırmalar noktasında geniş bir ilgi alanı oluşturmuştur. Örneğin tıbbi öneme sahip ve diğer bakteri türlerine karşı dirençli olan *Pseudomonas aeruginosa* çok sayıda bileşiği parçalama yeteneğine sahiptir. Genellikle yaraların, yanıkların ve kronik cilt ülserlerinin (mavi-yeşil irin) sekonder enfeksiyonlarında görülürler. Kimyasal olarak tanımlanmış minimum ortam dahil olmak üzere yaygın bakteriyolojik ortamların çoğunda büyüme yeteneği gösterirler (Vogel *et al.*,1956). Biyokontrol ajanları olarak da kullanılan *Pseudomonas* türlerinin çeşitliliği zorlu ve olumsuz çevresel koşullara uyum sağlamalarına yardımcı olmuştur (Anayo *et al.*2019). Toprakta kolayca izole edilebilen ve geniş yelpazede karbon ve azot kaynaklarını kullanma yeteneğine sahip olan *Pseudomonas putida* birçok farklı ortamı kolonize etme ve geniş metabolik çok yönlülüğü ile bilinen bir türdür (Nogales *et al.*2008). Bu türlerin haricinde mikrobiyal toplulukların ana bileşenlerinden biride bitki büyümesine katkı sağlayan aktinomisetlerdir (Bhattacharyya ve Jha, 2012; Merzaeva ve Shirokikh 2006). Özellikle *Micromonospora* sp., *Streptomyces* spp., *Streptosporangium* sp. ve *Thermobifida* sp., türleri farklı kök mantar patojenlerine karşı muazzam bir biyokontrol ajanı olarak hareket ederler (Bhattacharyya ve Jha, 2012). Tablo 2'de bazı PGPR türlerinin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri verilmiştir.

Tablo 2. PGPR'ler Tarafından Salgılanan Büyüme Teşvik Eden Maddeler.

<i>Pseudomonas putida</i>	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo-polysaccharides, phosphate solubilization	Ahemad and Khan (2012)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo-polysaccharides, phosphate solubilization	Ahemad and Khan (2012)
<i>Rhizobium</i> sp. (pea)	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo- polysaccharides	Ahemad and Khan (2012)
<i>Mesorhizobium</i> sp.	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo-polysaccharides	Ahemad and Khan (2012)
<i>Rhizobium</i> sp.(lentil)	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo-polysaccharides	Babu <i>et al.</i> ,(2015)
<i>Bradyrhizobium</i> sp. 750	Heavy metal mobilization	Dary <i>et al.</i> ,(2010)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Ralstonia metallidurans</i>	Siderophores	Braud <i>et al.</i> ,(2009)
<i>Pseudomonas</i> sp.	Phosphate solubilization, IAA, siderophore, HCN, biocontrol potentials	Tank and Saraf (2009)
<i>Serratia marcescens</i>	IAA, siderophore, HCN	Selvakumar <i>et al.</i> ,(2008)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ACC deaminase, phosphate solubilization	Shaharoon <i>et al.</i> ,(2008)
<i>Acinetobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	ACC deaminase, IAA, antifungal activity, N ₂ -fixation, phosphate solubilization	Indiragandhi <i>et al.</i> ,(2008)
<i>Enterobacter</i> sp.	ACC deaminase, IAA, siderophore, phosphate solubilization	Kumar <i>et al.</i> , (2008)
<i>Azotobacter</i> sp., <i>Mesorhizobium</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	IAA, siderophore, antifungal activity, ammonia production, HCN	Ahmad <i>et al.</i> ,(2008)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IAA, phosphate solubilization, nitrogenase activity	Jha and Kumar (2007)

Verimlilikleri iklim koşulları, toprak pH' sı, ve mineraller gibi bir dizi abiyotik faktörler ile patojen basıncı ve bakteriyel rizosferin yeterliliği gibi biyotik faktörlere bağlı olan PGPR'lerin (Dutta and Podile , 2010) gelecekte tarımsal sürdürülebilirliğin sağlanabilmesi için biyogübreleme, biyokontrol ve biyo güçlendirme gibi aktiviteler ile mahsul yetiştiriciliğin de daha fazla aktif roller üstlenmesi öngörülmektedir (Rana *et al.*,2015; Shaikh and Saraf, 2017).

Biyofertilizerler olarak PGPR/PGPB'lerin kullanımı

Tohuma, bitki yüzeylerine veya doğrudan toprağa uygulandığında rizosferi veya bitkinin iç kısmını kolonize eden ve konakçıya N ve P gibi hayati besin maddelerini temin

ederek veya bu maddelerin alınımını kolaylaştırarak bitki büyümesini destekleyen canlı mikroorganizmalar içeren madde literatürde biyogübre olarak tanımlanmıştır (Dong, 2019). *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* ve *Sinorhizobium*, biyogübre olarak kullanılmaları nedeniyle güçlü PGPR türleri olarak tanımlanmıştır (Vessey 2003). PGPR'lerin biyogübre ve biyolojik kontrol ajanı olarak toprağa ve/veya bitki köküne uygulanması, tarımsal kimyasalların kullanım miktarının azalmasına ve dolayısıyla mahsul veriminin artmasına, kimyasal gübre kullanımı sonucu tahrip olmuş toprağın iyileşmesine ve girdi maliyetlerinin azalmasına katkı sağlar (Vessey, 2003; Dong *et al.*, 2019). Toprak sağlığı ve biyolojisini koruyan, çevre dostu, abiyotik streslerle mücadele eden ve yenilenebilir besin kaynağı olan mikroorganizmalar, yenilenemez kaynakların kullanımına bağlı olan kimyasal gübrelere kıyasla yüksek çeşitlilikte avantaj sağlar (Bhardwaj *et al.*, 2014; Backer *et al.*, 2018).

Biyogübrelerde bulunan mikroorganizmaların mahsul bitkileri üzerindeki olumlu etkileri ya azot fiksasyonunu sağlamak ya fosfat çözündürmek yoluyla bitki büyümesine destek olmak yada tüm bu özellikleri bünyesinde barındıran bir kombinasyon şeklinde olabilir (Mahanty, 2017). Biyogübrelerin bitkilerin beslenmesini arttırmak için yönettiği bu süreç mikrobun doğal kapasitesini kullanmak suretiyle besinleri parçalamak ve çözündürmek şeklinde gerçekleşmektedir (Sattar *et al.*, 2019). Bununla birlikte biyogübreler, tohum veya toprak aşılama olarak uygulandığında besin döngüsüne katılarak sürdürülebilir tarım için mahsul üretimine yardımcı olabilir (İtelima, 2018; Sun, 2016). Ancak *Rhizobium* gibi bazı aşılama ajanları uzun bir süreden beri piyasada olmasına rağmen, biyogübre olarak etkileri mevcut kimyasal gübrelere kıyasla çok daha azdır (Bashan, 1998; Cook, 1993; Fages, 1992). Bu düşük etkinin nedenlerinden biri uygun olmayan aşılama nedeniyle toprağa giren bakterilerin hızla azalmasıdır. Bakterilerin toprağa transferinden sonra hayatta kalması üzerine yayınlanmış az sayıda çalışma bulunmaktadır (Albareda *et al.* 2009; Dary *et al.* 2010; Staley and Brauer, 2006). Mikroorganizmalar toprağa inoküle edildikten kısa bir süre sonra bakterilerin karşı karşıya kaldıkları stresler nedeniyle bakteri popülasyonunun giderek azaldığı genel olarak kabul edilir (Cosgrove *et al.* 2010; Vanelsas *et al.* 1986). Bu nedenle, toprakta yaşayan yararlı bakteri kaynağı oluşturmak ve bu kaynağın bitkiler için faydalı hale gelmesini sağlamak büyük önem taşımaktadır (Albareda *et al.* 2008; Bashan, 1998). Bu noktada özellikle farklı karakteristik yetenek sergileyen mikroorganizmaların birbirleri ile olan besin sağlama, inhibitör ürünleri uzaklaştırma ve nitrojen fiksasyonu gibi ilişkileri dikkate alındığında karışık bakteri aşılama ajanlarının seçiminin daha büyük bir etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz (Adesemoye *et al.* 2008; Richardson *et al.*, 2009).

Azot fiksasyonu

Bitkilerin büyüme ve gelişmesi için zorunlu ve tüm besinler içinde hayati öneme sahip olan azot elementi, atmosferde (litosfer katmanı) yüksek oranlarda (%78) bulunmasına rağmen bitkiler tarafından doğrudan kullanıma uygun değildir. Bununla birlikte azot, tarım ekosisteminde yağış ve mineral sızıntılarını engelleyici bir faktör olması ve klorofil, enzim ve vitaminlerin yapısında bulunmaları nedeni ile de önem arz etmektedir. Atmosferdeki N₂, *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans* ve *Rhizobium* sp. gibi PGPR suşları tarafından sabitlenerek bitkilerin kullanabileceği forma dönüştürülebilmektedir (Riggs *et al.*2001).

Azotun, bitki büyüme ve üretkenliği için kullanılabilir hale gelmesi hidrojen ve oksijen ile birleşmesine bağlıdır. Hidrojen ve oksijen ile birleşen azot molekülleri arasındaki üçlü bağlar ikili bağa indirgenerek NH₄⁺ (Amonyum) ve NO₂⁻ (Nitrat) formları oluşur. Daha sonra nitrat redüktaz enzimi aracılığıyla Nitrat (NO₃⁻) Nitrit'e (NO₂⁻), nitrik redüktaz enzimi aracılığıyla Nitrit de (NO₂⁻) amonyağa (NH₃) dönüşerek bitki tarafından kullanılabilir hale gelirler (Fritsche, 1990; Umesha *et al.* 2018; Gaby and Buckley, 2012). Yapay olarak 1kg azotlu gübre üretilmesi için 20.000 kcal'lik yüksek bir enerjiye gereksinim duyulurken (Gök ve Martin, 1993) bu dönüşüm, *Azotobacter* spp., *Paenibacillus (Bacillus) polymyxa*, *Burkholderia* spp., *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Anabaena* ve *Herbaspirillum* spp. (Vessey ,2003) vb. türleri tarafından kolayca gerçekleştirilebilir. Bu mikroorganizmalar aracılığıyla azotun kullanılabilir forma dönüştürülmesine “Biyolojik Azot Fiksasyonu” (BNF) denir (Kim and Rees, 1994). Biyolojik azot fiksasyonu hem simbiyotik hem de simbiyotik olmayan etkileşimlerde görülen bir süreçtir (Shridhar, 2012). Atmosferik azotun yaklaşık üçte ikisi BNF aracılığı ile sabitlenirken geri kalanı Haber-Bosch prosesi ile endüstriyel olarak sentezlenir (Rubio ve Ludden, 2008). Araujo ve Hungria (1999), biyolojik azot fiksasyon prosesinin katkısını arttırmak için soya fasulyesi tohumlarının ham veya formüle edilmiş metabolitler veya *Bacillus subtilis* hücreleri ile aşılması yoluyla uygulanabilirliğini göstermiştir. Biyolojik azot fiksasyonu, genellikle ılıman sıcaklıklarda, doğada yaygın olarak bulunan azot fikse eden mikroorganizmalar tarafından gerçekleşir (Raymond *et al.*2004).

Simbiyotik olmayan azot fiksasyonu

PGPR'ler simbiyotik ve simbiyotik olmayan iki mekanizma ile atmosferdeki azotu fikse edebilirler. N-sabitlenme yeteneğine sahip simbiyotik olmayan en yaygın diazotrofik PGPR, *Azospirillum* sp. olarak bildirilmiştir (Bashan *et al.* 2004). Bununla birlikte *Azotobacter*, *Gluconoacetobacter diazotrophicus* ve *Azokarus* türleride non-simbiyotik mikroorganizmalar grubu içerisinde yer alır (Bhattacharyya and Jha, 2012). Bu bakteri türleri konukçu bitkinin ihtiyaç duyduğu nitrojenin yalnızca küçük bir miktarını sağlayabilir (Glick, 2012). Turp ve

pirinç gibi baklagiller grubuna dahil olmayan non-simbiyotik ilişkinin görüldüğü bitkilerde (Gupta *et al.*, 2015), bitkinin ihtiyaç duyduğu azot'un fiksasyonu için nem, oksijen ve organik bir besin kaynağına ihtiyaç vardır. Yaklaşık 30 milyon ton azot dünya genelinde simbiyotik olmayan yolla fikse edilmektedir (Tamer *et al.*, 1994). Non-simbiyotik yolla azot fikse eden organizmalar: 1-Heterotrofik bakteriler (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Achromobacter*, *Azotomonas*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas*, *Bacillus polmyxa* cinsleri), 2-Kemoototrofik bakteriler (*Methanobacillus amelienskii*), 3-Mavi-yeşil algler (*Anabaena*, *anaboenopsis*, *aulosira*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Nostoc*, *Tolypotrix* spp.), 4-Fotosentetik bakteriler (*Chlorobium*, *Cbromatiumi*, *Rhodomicrobium* spp.) olarak bildirilmiştir (Kızıloğlu, 1999).

Simbiyotik azot fiksasyonu

Dünya nüfusunun artışına paralel olarak, protein ihtiyacının artması ve bu ihtiyacı karşılamak üzere kullanılan azot gübrelere üretilmesi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan çevre sorunları dikkate alındığında simbiyotik azot fiksasyonunun önemini giderek arttırdığı söylenebilir. Simbiyotik yolla azot fikse eden bakteriler üç grupta toplanmaktadır: 1-Baklagil bitkilerinin köklerinde yaşayan bakteriler, 2-Baklagil olmayan bitkilerin köklerinde ve üzerinde yaşayan bakteriler, 3-Bazı bitkilerin yapraklarında yaşayan bakteriler (Uyanık *et al.*, 2011). Simbiyotik N-sabitlenme yeteneğine sahip en karakteristik örnek olarak uzun yıllardan beri kullanılan baklagiller ile bunların köklerinde nodül oluşturan *Rhizobium* lar arasındaki ilişki gösterilebilir (Ahmad ve Kibret, 2014). Bu simbiyotik ilişkide baklagiller hem kendi ihtiyacı olan azotu karşılar hem de kendinden sonra ekilecek olan bitkiye azot bakımından zengin bir ortam bırakır, buna karşılık bakteri ise bitkiden kendi ihtiyacı olan karbonhidratları alır. *Rhizobium* bakterisi konukçu bitki üzerinde nodül denen yumrular meydana getirir ve bu yumrular içerisinde azot fiksasyonu yapar. Etkili bir fiksasyonun olabilmesi için bitkinin yetiştiği ortamda kendine özel bakterinin bulunması gerekmektedir. Örneğin, *Rhizobium meliloti* yonca, taş yoncası ve çemende; *Rhizobium trifolii* üçgüllerde; *Rhizobium leguminosorum* fiğ, burçak, mercimek ve bezelyede; *Rhizobium phasoli* fasulyede; *Rhizobium lupini* baklada; *Rhizobium cicer* nohutta; *Rhizobium japonicum* soya ve yerfıstığında etkin olmaktadır. Dünya genelinde biyolojik yolla bağlanan 175 milyon ton/yıl azotun yaklaşık %50'si baklagil – *Rhizobium* simbiyotik birlikteliğinden elde edilmektedir (Mckenzie and Roberts, 1990).

Fosfat çözünürlüğü

Fosfat, toprakta organik ve inorganik formlarda bulunan ve bitki gelişmesini sınırlayan temel bir elementtir (Khan *et al.*, 2009). Bitkide fotosentez, solunum, enerji akışı (Khan *et al.*

2010) gibi metabolik süreçlerde aktif rol üstlenen fosfatın, yetersiz veya kısa tedarik formu genellikle bitki büyümesini sınırlar. Topraklarda primer, hidroksi ve oksit apatit benzeri minerallerde tutulmuş halde bulunmaktadır. Toprakta fazla miktarda fosfat bulunmasına rağmen çözünebilir ve bitkiler tarafından alınabilir ($H_2PO_4^-$ ve $HP0_4^{2-}$) fosfat miktarı 1 ppm'den daha düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Çoğu durumda toprağa düzenli olarak P gübrelenmesi yapılsa dahi, bitkilerin fosfatı alma potansiyeli düşük kalmakta ve uygulanan inorganik fosfor gübresinin %75-90'ı gübrelemeden hemen sonra fikse edilmektedir (Gyaneshwar *et al.* 2002). Bitki tarafından doğrudan alınamayan fosfat, PGPR ler aracılığı ile asitleştirme, şelasyon, değişim reaksiyonları ve glukonik asit üretimi süreçleri ile çözülerek bitkiler tarafından kullanılabilir forma dönüştürülür (Chung *et al.*,2005; Khan *et al.*2009; Coutinho *et al.*2012; Li *et al.*2017).

Kimyasal gübre üretim maliyetlerinin yükselmesi, çevrenin ve toprağın zarar görmesi gibi etmenler araştırmacıları doğal olarak meydana gelebilen, güvenilir, alternatif P gübrelerinin araştırılmasına yöneltmiş ve bu araştırmalar neticesinde kaya fosfatı parçalayan bakterilerin izolasyonu, geliştirilmesi ve kullanımı benimsenmiştir. Bu bağlamda, genellikle fosfat çözücü mikroorganizmalar (PSM) olarak adlandırılan, fosfat çözücü aktiviteye sahip bakterilerin (PSB), bitkilere mevcut P formlarını sağlayabileceği ve kimyasal fosfat'lı gübrelerin yerini alabileceği gözlemlenmiştir (Khan *et al.* 2006). Yapılan çalışmalarda tohumların P çözücü bakterilerle aşılması toprakta fiksedilmiş fosforun alınabilirliğinin arttığını göstermiştir (Jones and Darrah, 1994). İnorganik fosfatın bakterilerle doğal olarak çözünebilir hale gelmesi bitki gelişimini teşvik etmiş (Kumar and Narula, 1999; Whitelaw, 2000) ve diğer minerallerin alımını arttırmıştır (Biswas *et al.* 2000a). Fosfat bakterilerinin biyogübre uygulaması ile tarımsal üretimin %10-15 oranda arttığı da ifade edilmiştir (Yadav ve Dadarwal, 1997).

Genel olarak bakteriler, fosfatı çözmek için iki mekanizma kullanır: (1) fosforu harekete geçiren organik asitleri serbest bırakarak fosfat tuzunun kationları ile iyonik etkileşim kurmak ve (2) organik maddeye bağlı fosfat gruplarının salınmasından sorumlu fosfatazların sentezlenmesi şeklinde (Solano *et al.*2009). İnorganik fosforun çözünürlüğü, çeşitli toprak bakterileri tarafından sentezlenen düşük moleküler ağırlıklı organik asitlerin etkisinin bir sonucu olarak meydana gelir (Nautiyal *et al.* 2000; Kumar and Narula, 1999; Vassileva *et al.* 2000). *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Serratia* gibi bakteri cinsleri en önemli fosfat çözücü bakteriler olarak bildirilmiştir (Bhattacharyya and Jha, 2012). Örneğin *Pseudomonas* sp. (Illmer nad Schinner, 1992), *Erwinia* (Liu *et al.* 1992) ve *Ps. cepacia*

(Goldstein *et al.* 1993) türlerinin genel olarak organik asit üretici fosfat çözücü bakteriler olduğu; *Rhizobium leguminosarum* (Hadler *et al.*, 1990), *R. meliloti* (Halder and Chakrabartty 1993), *B. firmus* (Banik and Dey 1982) gibi fosfat çözücülerin ise 2-ketoglükonik asit salgıladığı bilinmektedir. Bu fosfat çözücü bakterilerin sıvı kültür ortamlarında sitrik, glutamik, süksinik asit, laktik, okzalik, maleik, fumarik, tartarik ve ketobütirik gibi organik asitleri ürettiği bilinmektedir (Sundara *et al.* 2002). Mineral fosfatların dışında organik fosfat da topraktaki fosforun kaynağını oluşturmaktadır. Genellikle inositol fosfat, fosfomonoester veya fosfolipit, nükleik asit ve fosfotriester şeklinde bulunan organik P in bitkiler tarafından alınabilmesi için inorganik fosfora hidrolize olması gerekir. Bu hidroliz işlemi toprakta yeter miktarda bulunan fosfataz enzimi (El-Sawah *et al.* 1993; Bishop *et al.* 1994; Kremer, 1994) ile gerçekleşir. *Rhizobium* (Abd-Alla, 1994), *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella* (Thaller *et al.*, 1995), *Pseudomonas* (Glick *et al.*, 1997) ve *Bacillus* (Skrary and Cameron, 1998) cinslerine ait türler bu süreçte temel asit fosfataz aktivitesi gösterirler.

Bakterilerin bitki gelişimi üzerine çok yönlü etkilerinin olduğu ve birçok mikroorganizmanın fosfat alımını arttırdığı bilinmektedir. *B. megaterium*, *B. brevis*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *Xanthomonas maltophilia* suşları iyi bir P çözücü olarak bildirilmiştir (De Freitas *et al.* 1997). PGPR tarafından üretilen oksin hormonu (IAA) (Sheng and Xia, 2006) bitki kök gelişmesini ve kök uzunluğunu sağlarken, IAA üretebilen *Bacillus firmus* P eksikliği olan ve kaya fosfat uygulanan toprakta üretilen pirinçte dane verimi ve P alımını artırmıştır (Data *et al.*, 1982). Bununla birlikte *Pseudomonas putida* ile aşılama yapılan tohumun bitki kök ve gövde gelişiminde artış gösterdiği ve kanola bitkisinde P alımını arttırdığı gözlemlenmiştir (Lifshitz *et al.* 1987). *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Vibrio*, *Xanthobacter*, *Enterobacter*, *Kluyvera*, *Pseudomonas* ve *Chryseomonas* cinslerine ait 13 bakterinin P çözme yeteneğinde oldukları bildirilmiştir (Vazquez *et al.* 2000). *Burkholderia cepacia* mısır ve marul bitkilerine aşılama sonucu önemli miktarda fosfat çözülerek bitkilerin gelişimine pozitif katkı sağlamıştır (Chabot *et al.*, 1996). Bakteriler tarafından salgılanan bitkisel hormon, antibiyotik, siderofor ve diğer maddeler bitkiler için P alınabilirliğini arttırmanın yanı sıra bitki gelişimini de teşvik etmektedir (Kloepper *et al.* 1989). Ancak toprakta doğal olarak bulunan PSB bitki gelişimi için tek başına yeterli olamamaktadır.

Çevresel şartlar, bakteriyel suşlar, toprak koşulları ve konukçu bitki fosfat çözen bakterilerin bitki büyüme ve gelişmesine olumlu etki gösterebilmesi için gerekli faktörlerdir (Şahin *et al.*, 2004). Fosfat çözücü bakteri (PSB) uygulamalarında önemli başarıların elde edilmesi için alternatif bir yaklaşım denenerek farklı mikroorganizmaların kombinasyonu bitkiye inoküle edilmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Zaidi and Khan, 2005; Vikram and

Hamzehzarghani, 2008). *Azotobacter* ile fosfat çözücü bakterilerin birlikte aşılması bitki verimini arttırmanın yanı sıra N ve P alınımını arttırmıştır (Kundu and Gaur 1984; Monib *et al.*, 1984). Fosfat çözücü *Agrobacterium radiobacter*'in *Azospirillum lipoferum* ile birlikte arpa bitkisine inokulasyonu bu bakterilerle yapılan tekli aşılmalara kıyasla dane verimini önemli düzeyde arttırmıştır (Belimov *et al.* 1995). Sonuç olarak bakteri kombinasyonu ile yapılan aşılama besin elementleri dengesini sağlamakta, bu nedenle bitkilerin N ve P alımı önemli miktarda artmaktadır.

Biyostimulant olarak PGPR/PGPB'lerin kullanımı

Bitki biyo-uyarıcıları veya tarımsal biyo-stimülanlar, bitki büyümesini arttıran çeşitli maddeler ve mikroorganizmaları içerir. Bitki biyo-stimülanlarında önemli olan biyostimülanın içerdiği ürünlerden çok, ürünün gördüğü işlevidir. Çünkü bir biyostimülanın sahadaki performansı hava durumu, toprak mikrobiyomu, toprak tipi, mahsul çeşidi, vb. birçok faktörden etkilenebilir.

Avrupa Biyostimülan Endüstri Konseyi (EBIC), araştırmacılar ve ilgili endüstri sektörleri ile yapılan çalışmalar neticesinde; “Bitki biyo-uyarıcı; bitkilere veya rizosfere uygulandığında işlevi, besin alımı, besin verimliliği, abiyotik strese tolerans ve/veya mahsul kalitesi için doğal süreçleri teşvik etmek olan madde(ler) ve/veya mikroorganizmalar içeren bir materyal” olarak tanımlanmıştır.

Gelecekteki gıda taleplerinin daha fazla çevresel bozulmaya neden olmadan karşılanması oldukça güç gibi görünmektedir. Her ne kadar kimyasal gübreler mahsul üretim artışında önemli bir rol oynamış olsa da aşırı konvensiyonel gübre kullanımı toprak verimliliğinde azalma ve çevresel bozulmalara neden olmuştur (Wezel *et al.*, 2014). Bununla birlikte bu fenni gübrelerden daha fazla verim sağlamaları da beklenmemelidir. Bu gıda ve çevresel tehlikelere karşı, içerdiği madde ve benzersiz mikroorganizmalarla biyostimulantlar eşsiz bir alternatif sunmaktadır (Calvo *et al.*, 2014; Mire *et al.*, 2016).

Bu PGPR tabanlı biyostimulantlar konukçu bitkilerle simbiyotik ilişkiler kuran, bitki besin alımını iyileştiren, biyolojik streslere karşı biyokontrol ajanı olarak görev yapan (Bhattacharyya and Jha, 2012) ve bitki gelişimini uyaran, kullanımı basit tarımsal ürünler içerisinde yer almaktadırlar (Walker *et al.*, 2012). Öyle ki, PGPR içerikli biyostimulantlar pirinç, buğday, mısır ve soya fasulyesi gibi birçok bitkide uzun yıllardan beri kullanılmakta olup bununla birlikte tropikal, subtropikal ve ılıman bölge meyve ve sebzelerinde de uygulanmaktadır (Pérez-Montaño *et al.* 2014; du Jardin, 2015). *Allorhizobium*, *Azorhizobium*,

Bradyrhizobium, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* ve *Sinorhizobium* biyogübre olarak hareket etme yetenekleri nedeniyle güçlü PGPR türleri olarak bildirilmiştir (Vessey, 2003).

Mikrobiyal inokulantlar, esas olarak, toprak, bitki, bitki artıkları, su ve kompost gübreler dahil olmak üzere çeşitli ortamlardan izole edilmiş serbest yaşayan bakteriler, mantarlar ve arbusküler mikorizal mantarları (AMF) içerir (Dodd and Ruiz-Lozan, 2012; Vessey, 2003).

Uygun mikrobiyal aşılama türlerinin geliştirilmesi, etkilerinin sürdürülebilirliği bir dizi toprak türü ve çevre şartlarında test edilmiş ve ticari formülasyonlarının yapılmış olması gibi kriterlere bağlıdır (Bashan *et al.*, 2014). Aşılama mikroorganizmaları, seçilen formülasyonda hayatta kalabilmeli ve tarla uygulamalarında aşılama takibinden beklenen etkiyi göstermelidir. Bununla birlikte kaliteli bir PGPR ürünü elde edilmek isteniyorsa konukçu bitkiye özgü yerel suşlardan elde edilecek biyogübre bu ihtiyaca en iyi cevabı verecektir (Reddy *et al.*, 1999; Mire *et al.*, 2016). Farklı kombinasyon PGPR suşlarından oluşan biyostimulantlar, farklı bitki gelişimi ve zorlu çevresel koşullarda, tek bir PGPR suşundan oluşan biyostimulantlara göre daha sağlıklı rekabet etme gücüne sahiptir. Çünkü karışım halindeki PGPR suşlarında artan genetik çeşitlilik sayesinde boş nişlere ulaşma daha fazladır. Örneğin *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a ve *Bacillus pumilus* T4 türlerinin suşlarıyla oluşturdukları kombinasyon sayesinde mikoriza mantarı *Glomus intraradices*'de suni gübre kullanımının %25 oranında azaldığı (Adesemoye *et al.* 2009) bitki gelişimi, verimi ve besin alınımının arttığı rapor edilmiştir (Mire *et al.* 2016). Bazı *Bacillus* suşlarının etkili *Bradyrhizobium* ile birlikte aşılama, Maş fasulyesinin (*Vigna radiata* L.) artan nodülasyonu ve bitki büyümesi ile sonuçlanmıştır (Sindhu *et al.* 2002). Bitki büyüme hormonları olarak bilinen fitohormonlar, yapraklar ve çiçekler gibi bitkilerin çeşitli kısımlarının oluşumu, gelişimi ve meyvelerin olgunlaşması gibi tüm süreçleri etkileyerek bitki büyüme ve gelişmesini artırır (Khalid *et al.* 2006). *Azospirillum*, *Bacillus*, *Rhizobium* gibi önemli PGPR türleri fitohormonlar üreterek kök ve kök tüyü oluşumunu ve bitki streslerini düzenler. 1-amino siklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz enzimi, ortamda aşırı bulunması nedeni ile bitki büyümesini olumsuz etkileyen etilenin üretimini azaltarak bitkide stres düzenlemesi yapar (Bhattacharyya and Jha, 2012). Adesemoye *et al.*, (2010), *Bacillus* spp. üç suşunun karışımının domates büyümesini desteklediğini ve bitkinin tükenmiş gübre (¹⁵N) alımını artırdığını bildirmiştir. Mısır bitkisine PGPR ve AMF kombinasyonu ile sahada yapılan aşılama sonucunda toplam besin içeriğinin ve veriminin arttığı gözlemlenmiştir (Adesemoye *et al.*, 2008).

Oksin hormonu (IAA)

Önemli bir fitohormon olan oksinler hücre genişlemesi, hücre bölünmesi ve doku farklılaşması gibi bitki gelişimi ve büyümesinin birkaç aşamasını kontrol eder. Bununla birlikte

kök tüylerinin uzunluk ve yoğunluğunu uyararak bitki büyüme ve beslenmesine önemli katkı sunan oksin, rizosferik ortamda baskın durumda bulunan PGPR' ler tarafından üretilir. Oksinlerin kök yüzey alanında sağlamış oldukları bu artış sayesinde, bitkinin topraktan büyük miktarda su ve mineral besin maddesi alma potansiyeli artar. Çeşitli mahsullerin rizosferinden izole edilen mikroorganizmaların birçoğunun oksinleri ikincil metabolitler olarak sentezleme kapasitesine sahip oldukları bildirilmektedir (Patten and Glick, 1996). Toprak bakterileri tarafından salgılanan IAA'nın, bitki IAA'sına etki edebilme özelliği nedeni ile rizobakteriler tarafından salgılanan IAA, bitkinin birçok gelişim sürecine müdahale eder (Glick, 2012; Spaepen *et al.*, 2007). Goswami *et al.* (2016) bitki kökleri tarafından üretilen IAA in PGPR tarafından üretilen IAA'den daha etkili olduğunu bildirmiştir. IAA aynı zamanda çeşitli mikroorganizmalarda gen ekspresyonunu etkileyen karşılıklı bir sinyal molekülü görevi üstlenmesi ve bir dizi fito-patojenik bakteriye karşı savunma mekanizmaları geliştirmesi dikkate alındığında, IAA'nın rizobakteri-bitki etkileşimlerinde çok önemli bir rol oynadığı sonucunu çıkarabiliriz (Spaepen and Vanderleyden, 2011). IAA'nın bu kadar çeşitli işlevselliğe sahip olması, IAA biyosentetik, taşıma ve sinyal yollarının olağanüstü karmaşıklığı ile ifade edilir (Santner *et al.* 2009).

Genel bir değerlendirme yapılacak olursa, IAA bitki hücre bölünmesini, uzamasını ve farklılaşmasını etkiler; tohum ve yumru çimlenmesini uyarır; ksilem ve kök gelişimini hızlandırır; bitkisel büyüme süreçlerini kontrol eder; yanal ve adventif kök oluşumunu başlatır; fotosentezi, pigment oluşumunu, çeşitli metabolitlerin biyosentezini ve stresli koşullara karşı direnci etkiler. Kök yüzey alanını ve uzunluğunu artırarak bitkinin toprak besin maddelerine erişimini sağlar. Ayrıca, rizobakteriyel IAA, rizosfer bakterilerinin büyümesini desteklemek için bitki hücre duvarlarını gevşeterek kök eksüdasyonlarının salınımını artırır (Glick, 2012). Böylece, rizobakteriyel IAA'nın bitki-mikrop etkileşimlerinde bir efektör molekül olarak çalıştığını söyleyebiliriz (Spaepen and Vanderleyden, 2011). Mikroorganizmaların IAA üretme yetenekleri, mikroorganizmaların sınıflandırılmasında önemli bir kaynak oluşturur ve bu kaynak organizma oluşum aşamasında IAA'nın fizyolojik rollerini tanımlamada belirteç olarak kullanılır (Bric *et al.*, 1991). Oksinin tuz stresini azaltmadaki rolü tam bilinmesede, IAA'in tuzluluk ve ağır metal stresleri altında bitkilerin kök ve sürgün büyümesini arttırdığı bildirilmiştir (Sheng and Xia, 2006). *Rhizobium legumin-osarum* bv *viciae* ile aşılamanın, *Vicia hirsute*'deki vahşi tip muadili tarafından oluşturulan nodüllerden 60 kata kadar daha fazla IAA içeren potansiyel azot sabitleyici kök nodülleri ürettiği gözlemlenmiştir (Camerini *et al.* 2008).

İlk tanımlanan bitki hormonu olarak bilinen İndol-3- asedik asit'in (IAA) genetik düzeydeki biyosentetik yolu henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa bile, triptofana bağımlı

veya triptofandan bağımsız olmak üzere iki biyosentez yolu bildirilmiştir (Zhao *et al.*,2001). İster bitki tarafından ister mikroorganizma tarafından sentezlenmiş olsun oksinler sadece biyosentetik yolda farklılık gösterir (Ramos *et al.* 2008). Triptofan ile başlayan IAA sentezi için farklı yollar tarif edilmiştir. Bu yollardaki bazı ara maddeler farklılık gösterse bile çoğu yol bitkilerde tarif edilen yollara benzerlik göstermektedir (Spaepen and Vanderleyden, 2011; Patten and Glick, 1996) ; (i) indol-3-piruvik asit ve indol-3-asetik aldehit yoluyla IAA oluşumu, *Erwinia herbicola* gibi bakterilerin çoğunda bulunur; *Agrobacterium* ve *Pseudomonas* cinslerinin saprofitik türlerinde; *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Klebsiella* ve *Enterobacter*'in belirli türlerinde görülür, (ii) Triptofanın indol-3-asetik aldehite dönüştürülmesi, psödomonadlarda ve azospirillada olduğu gibi triptaminin oluşturulduğu alternatif bir yolu içerebilir, (iii) saprofitik pseudomonad'lar gibi (örneğin, *Pseudomonas putida* ve *P. fluorescens*), fitopatojenik bakteriler *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* ve *E. herbicola* için indol-3-asetamid oluşumu yoluyla IAA biyosentezi rapor edilmiştir; (iv) Triptofanın indol-3-asetonitrile dönüşümünü içeren IAA biyosentezi, siyanobakterilerde (*Synechocystis* sp.) görülür ve (v) bitkilerde daha yaygın olan triptofandan bağımsız yol, azospirilla ve siyanobakterilerde görülür. Bununla birlikte, McCue *et al.*, (2000) bakterilerde oksin üretiminin ise proline bağlı pentoz fosfat yolu ile düzenlendiğini bildirmişlerdir.

Sitokininler (CKs)

Bitki büyüme düzenleyicileri olarak bilinen bir diğer önemli fitohormon olan sitokininler, hücre bölünmesi, organ oluşumu ve rejenerasyonu, apikal baskınlık, vasküler gelişim, besin hareketliliği ve yaşlanma dahil olmak üzere çok çeşitli bitki büyüme ve gelişme süreçlerinde rol oynar (Mok, 1994). Aslında bu hormon bitki tarafından sentezlenir ancak bazı PGPR ve maya türlerinden de bu hormon elde edilebilir. *Pseudomonas*, *Azospirillum* ve *Bacillus* (Glick, 2012) gibi farklı cinslere ait olan mikroorganizmalardan elde edilen sitokininlerin de aynı şekilde; biyogenez, apikal baskınlık, yaprak yaşlanması, vasküler farklılaşma, besin mobilizasyonu, sürgün farklılaşması, antosiyanin üretimi ve fotomorfojenik gelişim dahil olmak üzere çeşitli bitki büyümesi ve gelişim süreçlerinde rol aldığı görülmüştür (Davies, 2004). Bazı fitopatojenlerin ve ayrıca *Azotobacter* spp., *Pantoea agglomerans*, *Rhizobium* spp., *Rhodospirillum rubrum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Paenibacillus polymyxa* gibi çeşitli bakterilerin sitokinin hormonu ürettiği de bildirilmiştir (Morris, 1986).

Sitokininler, purinin N⁶ pozisyonunda izoprenenden türetilmiş veya aromatik bir yan zincir taşıyan adenin türevleridir. Bitkiler izoprenoid sitokininleri iki yolla sentezler: birincil

veya de novo sentez yolu ve tRNA bozunma yolu. Çoğu sitokinin, denovo yolu tarafından üretilir (Haberer and Joseph, 2002). İlk doğal olarak tespit edilmiş sitokinin, mısır (*Zea mays*) endosperminden izole edilen trans-zeatindir (tZ) (Miller, 1961). Sonraki yıllarda araştırmacılar birçok bitki türünden sitokinin aktivitesine sahip bileşikler izole etmiş olsalar da (Mok and Mok, 2001), şu anda en yaygın ve en çok çalışılan doğal sitokinler izopenteniladenin (iP) ve tZ'dir. Philip ve Torrey (1972) tarafından *R. leguminosarum* ve *B. japonicum* bakterilerinin 61A68 kültür filtratlarında PGPR tarafından yaygın bir şekilde üretilen zeatin tespit edilmiştir. N⁶-yan zincirinin yapısına göre sitokinler, izoprenoid sitokinler ve aromatik sitokinler olarak sınıflandırılır (Martin *et al.*2001; Mok and Mok, 2001). İzoprenoid sitokinler, bir izopentenil yan zincirine sahiptir ve N⁶-(Δ^2 -izopentenil)-adenin(iP) ve zeatini içerir. Bitki dokularında nispeten düşük miktarda bulunan (Strnad, 1997; Tarkowska *et al.*2003) aromatik sitokinler, kinetin, N⁶-benziladenin (6-BA) ve topolin gibi N⁶ konumunda bir benzil veya hidroksibenzil grubuna sahiptir. Bitkilerdeki sitokinin türevleri genellikle nükleobazlar (serbest bazlar) halinde bulunur. Sitokinlerin aktiviteleri bitki türlerine, dokularına ve gelişim aşamalarına bağlı olarak farklılıklar gösterir. Örneğin, iP ve tZ, *Arabidopsis* ve bir yosundaki (*Funaria hygrometrica*) başlıca sitokinin türevleri iken, mısır ve pirinçte (*Oryza sativa*) yüksek miktarda biyoaktif cis zeatin (cZ) gözlenmiştir (Kudo *et al.*2012; Mok and Mok,2001; Veach *et al.*2003).

İlk yapılan denemelerde, sitokinin biyosentezinin esas olarak köklerde meydana geldiği ileri sürülmüştü, ancak son çalışmalar sitokinin biyosentezinin bitki boyunca gerçekleştiğini gösteriyor. Örneğin, *AtIPT* (*Arabidopsis* geni) genleri, yapraklar, gövdeler, çiçekler ve silikalar dahil olmak üzere sürgünlerin çeşitli dokularında eksprese edilir. *AtIPT1* geni ağırlıklı olarak köklerin, yaprak aksillerinin, ovüllerin ve olgunlaşmamış tohumların vasküler stelinde eksprese edilir; *AtIPT3*, floem bulunan hücrelerde ifade edilir; *AtIPT4* ve *AtIPT8*, olgunlaşmamış tohumlarda eksprese edilir. *AtIPT5*, yan kök, kök kapağında, genç çiçek salkımlarının üst kısımları ve meyve absisyon bölgelerinde ifade edilir. *AtIPT7*, kök uzama bölgesinin endodermisinde, genç yapraklardaki tüylerde ve polen tüplerinde ifade edilir (Miyawaki *et al.*2004). Bu bulgular, *AtIPT* geninin ekspresyonunun uzamsal olarak farklılaştığını ve sitokinlerin biyosentezinin bitkilerde çeşitli bölgelerde gerçekleştiğini göstermektedir.

Sitokinin (CK) biyosentetik genlerinin transkripsiyonu, hormonlar ve makro besinler dahil olmak üzere birçok faktör tarafından modüle edilir. Makrobesinler ayrıca sitokinin biyosentezini de etkiler. Örneğin nitrat, mısırdaki çeşitli sitokinlerin ve *Arabidopsis*'in kökünde tZ-tipi sitokinlerin birikimini destekler (Takei *et al.*2002). Bu sitokinin birikimi muhtemelen

AtIPT3 ekspresyonunun indüklenmesinden kaynaklanmaktadır, çünkü sitokinlerin nitrata bağlı birikimi bir *ipt3* null mutantında büyük ölçüde azaltılmıştır (Takei *et al.*,2004a).

Sitokinler, tuzluluk ve yüksek sıcaklığa karşı bitkilerin direnme gücünü arttırlar. Bitkinin CK'lere verdiği tepkiler, genellikle dışsal olarak uygulanan CK'lere verdikleri tepkilerden değerlendirilir. Sitokinin üretebilme yeteneğine sahip *Bacillus megaterium* bakteri suşunun *Arabidopsis thaliana* bitkisine aşılması ile bitkinin biyokütlesinde artış görülmüştür (Ortiz-Castro *et al.*, 2008). Selvakumar *et al.* (2016) sitokin üreten *Citricoccus zhacaiensis* ve *B. amyloliquefaciens* ozmotolerant suşlarının, su stresi ortamında domatesin büyümesini desteklediklerini bildirmiştir. Sitokinin üretimi ile buğday ve turp bitkilerinde *Pseudomonas* G20-18 'in büyüme teşvik edici özelliği bildirilmiştir (García de Hynes and Nelson 2001).

Giberellinler (GA)

Bitkilerde bakteriyel olarak sentezlenen hormonların rolü ve bakteriyel sentez yoluğı tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olsa da (Garcia de Salamone *et al.*2001; Kang *et al.*2009) birçok PGPR sitokin ve oksin hormonlarının yanı sıra giberellin hormonunu ürettiğı de bilinmektedir. Giberellin'ler sadece yüksek bitkiler ve mantarlar tarafından değıl (MacMillan, 2002) aynı zamanda bakteriler tarafından da üretilen bir hormondur. Giberellinlerin (GA) endofitik bakteriler tarafından üretiliyor olmaları bu hormonların birçok mahsul bitkisinin büyümesi ve verimi üzerinde faydalı etkilerinin olduğunu gösterir (Piccoli *et al.*, 1999). Gibberellinler (GA'lar), ilk olarak 1920'lerde bilinen bir pirinç patojeni olan *Gibberella fujikuroi*'den izole edilmiştir (Ogas, 2000). GA'lar, bitki büyümesi ve gelişiminin her yönüne dahil gibi görünsede, en karakteristik özelliğı gövde büyümesinin artışına olan etkileridir (Nishijima *et al.*, 1995). Aynı zamanda GA'lar çiçeklerin cinsiyet ifadesini değıştirebilir, meyvenin partenokarpik gelişimini indükleyebilir ve yaşlanmayı geciktirebilir. GA'lar, tohumların ve sporların çimlenmesinde hidrolitik enzimlerin oluşumunu uyarır ve soğan ve yumruların büyümesinde vernalizasyon (soğuga maruz bırakma) ihtiyacını ortadan kaldırır (Martin, 1983). Bu süreçlerin çoğunda giberellinler, diğır fitohormonlar ve ek düzenleyici faktörlerle kombinasyon halinde hareket eder (Trewavas 2000). GA'nın bu özelliğı A. lipoferum suşunun mısır fidelerinde geçici kuraklığı hafifletme yeteneğı üzerine yapılan çalışmada (Cohen *et al.*2001), *Prohexadione-Ca* ve *fluridon* kullanılarak giberellin ve ABA sentezi bloke edilmiştir. Normalde ABA sentezinin inhibisyonu stoma kapanmasının azalmasına neden olduğı için bitkiye zarar vermekteydi. Ancak fideler en fazla zararı bu iki hormonun sentezinin azalmasıyla görmüştür. Buda bize giberellinin diğır hormonlarla birlikte hareket ettiğı sonucunu doğrulamıştır.

Gibberellinlerin rolünü anlamada önemli bir sorun, mevcut bilimsel bilgilerin birçok farklı tür ve çeşitli deneysel modellerden yararlanmasıdır, bu da türler, cinsler ve familya sınırları arasında sonuçları tahmin etmeyi zorlaştırır. Yakın zamana kadar yüksek bitkilerden 136 GA (128 tür), mantarlardan 28 GA (7 tür) ve bakterilerden (7 tür) sadece 4GA (GA1, GA3, GA4, ve GA20) tanımlandığı bildirilmiştir (MacMillan, 2002). Bitkilerden tanımlanan bu 136 gibberellinden 3β-hidroksillenmiş, C19 gibberellinler (GA1, GA3 ve GA4), tek gen bodur mutantları ile yapılan çalışmalarda, bitkilerde sürgün uzamasının teşvik edilmesinde doğrudan etkili oldukları rapor edilmiştir (Crozier *et al.*2000).

Gibberellinler dahil fitohormonların sentezi ve bu hormonların bitki tarafından emilmesi PGPR mahsul verimindeki artışı sağlamadaki mekanizmalarını açıklamada önemli faktörlerden biridir (Cassán *et al.*2001a,b). Bakterilerde fiziko-kimyasal yöntemler kullanılarak yapılan ilk gibberellin karakterizasyonu, *Rhizobium meliloti*'nin GA1, GA4, GA9 ve GA20'nin gnotobiyotik kültürlerinde rapor edilmiştir (Atzorn *et al.*1988). Çok sayıda yapısal molekülden oluşan gibberellinler PGPR türlerinden *Bacillus pumilus* ve *Bacillus licheniformis* suşlarından nadiren üretilebilmektedir. Bununla birlikte *Azospirillum* sp.'nin yüksek bitkilerde gibberellinleri *in vitro* ve *in vivo* metabolize edebildiği bildirilmiştir (Cassán *et al.*2001a,b). PGPR'nin gelişmiş bitki filizi büyümesini teşvik eden (Jha and Saraf, 2015) bazı türleri nispeten büyük miktarlarda gibberellin üretimini destekleyebilir. Bu fitohormon grubu bitkilerde, köklerden toprak üstü kısımlara doğru hareket ederek etkilerini gösterirler (Goswami *et al.*, 2016). MacMillan (2002) tarafından yapılan bir çalışmada *Acetobacter diazotrophicus*, *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *Bacillus lisheniformis*, *B. pumilus*, *Herbaspirillum seropedicea* ve *Rhizobium phaseoli* dahil olmak üzere yedi bakteri türünde dört gibberellin hormonu (GA1, GA3, GA4 ve GA20) tanımlamıştır. Gibberellin üreten PGP suşu *Leifsonia soli* (SE134)'nin salatalık tohumlarında biyokütle, hipokotilin ve kök uzunluklarında artışını sağladığı bildirilmiştir (Kang *et al.*, 2014). Yüksek oranda GA birikimi transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde, hipokotil uzunluğu ve boğum arasında artış, yapraklarda soluk yeşil renk ve çiçeklenmenin hızlandığı gözlenmiştir.

Gibberellin tanımlama işlemi; spektroskopi ve bir analitik kimya işlemi olan HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) gibi yöntemlerle yapılmaktadır (Goswami *et al.*, 2016). *Azospirillum* sp. ve *Rhizobium* sp. türlerinin dışında, TLC, biyoanalizler, HPLC-UV gibi kullanılan tekniklerle, birçok bakteri türünde gibberellin benzeri maddelerin üretimi de iddia edilmiştir. GC-MS (kromatografi-kütle spektrometrisi), gibi kesin fiziko-kimyasal yöntemler kullanılarak, gibberellinlerin üretimi *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* (Bastián *et al.*,1998) ve *Azospirillum* sp.'ye ek olarak *Bacillus* sp.'de doğrulanmıştır.

Etilen

Etilen, hemen hemen tüm bitkilerde endojen olarak üretilen, çok düşük konsantrasyonlarda ($0,05 \text{ mL L}^{-1}$) bile aktif olan, bitki büyüme ve gelişiminde rol alan gaz halindeki bir hormondur. Etilen üretimi, iç sinyaller tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir ve genellikle mekanik stres, hipoksi, üşüme ve beslenme bozuklukları gibi biyotik ve abiyotik streslere yanıt olarak miktarı artar (Iqbal *et al.*2013). Etilen, bitkide besin eksikliklerine karşı fizyolojik ve morfolojik tepkilerin düzenlenmesinde rol oynar (García *et al.*2015). Bitki besin maddeleri Fe ve P'nin eksikliklerine verilen fizyolojik ve/veya morfolojik tepkilerin düzenlenmesinde etilenin rolü olduğu anlaşılmıştır (Lync *et al.*1997). Son çalışmalarda etilenin bu tepki düzenlemelerinin K (potasyum) eksikliği ve S (kükürt) eksikliği gibi diğer besin eksiklikleri durumunda da devreye girdiği anlaşılmıştır. Sonuç olarak çoğu bitki türü bir stres nedeni olan besin eksikliği karşısında strese tepki olarak etilen üretimini artırır (Abeles *et al.*1992).

Etilen hormonu; kök büyümesi, tohum çimlenmesi, yaprak yaşlanma ve dökülmesi, meyve büyüme ve olgunlaşması gibi temel bitki gelişim süreçleri ile birlikte savunma sistemleri ve stres tepkilerini düzenlemede rol oynar. Özellikle abiyotik ve biyotik bitki streslerine göstermiş olduğu tepkilere bakılarak etilenin bir "stres hormonu" olduğunu da söyleyebiliriz (Bhattacharya and Jha, 2012). Stresli koşullar altında üretimi artan etilen, ya bitkinin toleransını artırır ya da stres-tepki semptomlarına bağlı olarak tüm bitkinin büyümesini olumsuz yönde etkiler (Morgan and Drew, 1997; Saleem *et al.*, 2007). Tuzluluk, kuraklık, su birikmesi, ağır metaller ve patojenite gibi stres koşulları altında endojen etilen seviyesi, bitki büyümesini olumsuz yönde etkileyecek şekilde artar. Kök uzaması veya baklagillerdeki azot fiksasyonu (vb.) gibi (Goswami *et al.*, 2016) hayati süreçlerin durmasını engellemeye yönelik bu istenmeyen etilen artışı, PGPR'ler tarafından 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz enzimi sentezlenerek (Glick *et al.*, 2007) önlenmiş olur. ACC deaminaz aktivitesi sergileyen bakteri suşları, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia* ve *Rhizobium* gibi çok çeşitli cinslerde tanımlanmıştır (Nadeem *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2010). Bu bakteriler bitki köklerine bağlanır ve onu amonyak ve α -ketobutirata hidrolize ederek ACC için bir çekim görevi görür ve böylece stresli bitkilerin gelişmekte olan fidelerinde etilen seviyesini düşürür. Fitopatojenik mikroorganizmaların etkileri ve poliaromatik hidrokarbonlar, ağır metaller, radyasyon, yaralanma, böcek predasyonu, yüksek tuz konsantrasyonu, hava akımı, aşırı sıcaklık, yüksek ışık yoğunluğu ve su baskınından kaynaklanan strese direnç gibi çeşitli stres biçimleri ACC deaminaz üreticileri tarafından hafifletilir (Glick, 2012). Strese tepki olarak

üretilen bitki etilen konsantrasyonunu düşürmenin bir diğer yolu amino-etoksi vinil glisin (AVG) ve kobalt gibi kimyasalların kullanımını içerir. Ancak bu yolun pahalı olması ve çevreye toksik olması nedeniyle tercih edilmez (McKeon *et al.*1995).

Etiyole edilmiş bezelyeler, etilene karakteristik bir klasik "üçlü" tepki gösterir. Bu klasik üçlü tepki, gövde uzamasının azalmasını, hipokotilin şişmesini ve büyüme yönündeki değişikliği içerir (Goeschl *et al.*1966). ACC-deaminaz üretebilme yeteneğine sahip bakterilerle yapılan aşılama kanola bitkilerinde tuz direncinin arttığı ve buna bağlı olarak bitki büyümesi ve verimliliğinin arttığı kaydedilmiştir (Cheng *et al.*,2007). Pierik *et al.*, (2006), PGPR'nin aracılık ettiği düşük etilen konsantrasyonunda, *Arabidopsis thaliana*'nın bitki verimi, büyüme performansı ve çimlenme özelliklerinin hızlandığını belirtmişlerdir. Shakir *et al.* (2012) buğday rizosferinden izole ederek örneklendirdikleri 30 izolatu ACC-deaminaz aktivitesi ve kuraklık toleransı yönünden incelediklerinde rizobakteriler ile inoküle edilen bitkilerin veriminde artış görmüş ve ACC-deaminaz üreten rizobakterilerin zararlı etilen seviyesini düşürerek bitkide kök sayısında artışın olduğunu bildirmişlerdir.

Biyoprotektan olarak PGPR/PGPB'lerin kullanımı

Biyokontrol terimi sadece canlı bitkilerdeki hastalıkları kontrol etmek için değil aynı zamanda meyve-sebzelerin depolanması sırasında oluşan hastalıkları kontrol etmek için de kullanılmaktadır. Öyle ki, küresel mahsul veriminin yaklaşık %40'nın hasattan önce %20'si nin ise hasattan sonra zarar gördüğü rapor edilmiştir (Mesterházy *et al.*, 2020). Bu mikropların kullanımı, toprağa ve çevreye aşırı zarar veren kimyasal pestisitlere kıyasla daha fazla seçicilik ve daha az toksisite özelliği gösterir. Bitki hastalıklarının mikrobiyal kontrolü, sadece biyokontrol mikrobu, patojen ve bitkiyi değil, aynı zamanda yerli mikroflorayı, nematodlar ve protozoa gibi makrobiyotaları ve toprak, taşıyıcı veya vermikülit gibi bitki büyüme substratını da içeren karmaşık bir süreçtir (Chin *et al.*2003).

Bitki köklerinde yaşayan ve toprak patojenlerin kontrolünde hayati bir önemi olan PGPR'ler, ya biyokontrol ajanı olarak ya bitki gelişimini uyarıcılar olarak ya da her iki görevi birden icra eden formülasyonlar olarak (Romerio, 2000), çeşitli mantar, bakteri, nematod ve viral hastalıklar gibi toprak patojenlerinin neden olduğu bitki hastalıklarına karşı biyolojik savaş verdikleri bilinmektedir (Kloepper, 1993; Lucas *et al.*, 2000). Bu mikrobiyal kontrol bakterilerinin verimli bir şekilde hareket edebilmeleri için, değişen pH, sıcaklık ve farklı iyon konsantrasyonlarında aktif kalması beklenir. Ancak bu gereksinimleri tek başına bir mikroorganizmanın karşılaması kolay olmadığı için hastalık süreci yönetiminde birkaç biyokontrol ürününün formülasyonu tercih edilir (Copping, 2004). Biyokontrol ve büyümeyi teşvik etme gibi özellikler sergileyen *Pseudomonas* 'lar, biyolojik kontrol yeteneğine sahip

rizobakterilerin en önemli türleri olarak bildirilmiştir. Çünkü bu türler; in vitro ortamlarda hızlı gelişme, birlikte üreme, kök eksüdalarını kullanabilme, rizosferde yüksek kolonize olabilme, diğer mikroorganizmalarla rekabet edebilme ve çevresel streslere uyum sağlama vb. birçok özelliğe sahip oldukları bilinmektedir. Ancak dinlenme sporları (*resting spores*) üretme noktasında yetersiz oluşları ticari formülasyonlarını zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte endofitik olarak rapor edilen farklı bakteri türleri, yani *Alcaligenes* sp., *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Clavibacter michiganensis*, *Curtobacterium* sp., *Flavobacterium* sp., *Kluyvera* sp., *Microbacterium* sp., *Pseudomonas alcaligenes*, *P. putida*, *P. fluorescens* bitki patojenlerine karşı inhibitör olarak kullanılmaktadır (Verma *et al.* 2013; Verma *et al.* 2017).

Toprak patojenlerinin neden olduğu bitki hastalıkları ile mücadele için kullanılan diğer önemli bir grup *Fluorescent pseudomonas* alt türleridir (Weller, 2007). Bu alt türler fitopatojen kontrolü özelliklerinin yanı sıra büyüme teşvik edici hormonları, hidrojen siyanid, katalaz ve antibiyotik üretilen fosfat çözebilirler. Örneğin *Pseudomonas fluorescens* MSP-393 bakterisi tuzlu topraklarda üretilen pirinç bitkisi için biyokontrol ajanı olarak kullanılmaktadır (Negi *et al.*, 2005).

Bitkide, patojenik bakteri, mantar ve virüslerin neden olduğu hastalık durumunda, PGPR biyolojik kontrol ajanı olarak hareket edebilmeleri için; (i) antibiyotik, β -1,3-glukanaz ve/veya kitinaz üretimi, (ii) besin ve niş için yüksek rekabet, (iii) sinyal girişimi, (iv) uyarılmış sistemik direnç, (v) hidrojensiyanür (HCN) ve litik enzim üretim mekanizmalarından birini kullanması gerekir (Podile and Kishore, 2006; Lugtenberg and Kamilova, 2009).

Hidrojen siyanid (HCN) üretiminde PGPR kullanımı

Antagonistik gram-negatif biyokontrol bakterilerinin oluşturduğu, yabancı otları baskılayan uçucu bileşik hidrojen siyanür olarak tanımlanmıştır (Haas and Keel, 2003). Rizosferdeki zararlı mikroorganizmalar tarafından üretilen ve kök gelişimi üzerinde negatif etkisi olan HCN, gaz halinde bulunan sekonder bir metabolittir. Üretilmesi ortamdaki demirin (III) varlığına bağlı olan HCN, topraktaki sınırlı miktardaki demirin, siderofor üreten rizosferik bakteriler tarafından kullanılmasıyla engellenir. Çoğu PGPR hastalık etmeni olan mantarlarla mücadele etmek için lizing enzimler veya hidrojen siyanür gibi hastalık tedavisine alternatif oluşturan antifungal maddeler ürettiği bilinmektedir. Yabancı otlarla mücadelede biyokontrol ajanı olarak kullanılan ve toprak rizosferindeki bitki kökleriyle koloni oluşturabilen bakteri gruplarından biri zararlı rizobakterilerdir (*Deleterious rhizobacteria*). Bitki kök düğümlerinde ve rizosferde bulunan *Bacillus* türlerinin yarıya yakınının, *Pseudomonas* türlerinin ise büyük bir kısmının HCN üretim süreçlerinin ortak özellik olduğu bildirilmiştir (Ahmad *et al.*, 2005; Heydari *et al.*, 2008). Belirli *Floresan psödomonad* lar'ın HCN üretimi yolu ile köklerde

yaşayan patojenlerin işleyişi engellenebilir. Siyanür iyonu çoğu metalloenzimleri, özellikle bakır içeren sitokrom c oksidazları inhibe eder (Blumer ve Haas, 2000).

Lorck (1948) tarafından açıklanan tekniklere göre, HCN üretimi (siyanojenez) ağırlıklı olarak *Pseudomonas* sp. ile nicel olarak ilişkilidir. *Pseudomonas* suşları tarafından üretilen siyanürün, domates kanserini önlediği bildirilmiştir. Gram negatif bakteriler tarafından ikincil bir metabolit olarak oluşan glisin, HCN sentaz tarafından katalize edilir (Castric, 1994). Hidrojen siyanür (HCN) ve CO₂, HCN sentaz tarafından katalize edilen glisin'den oluşturulur. Toprak kaynaklı mantarların neden olduğu kök hastalıklarından bitkiyi koruyan aerobik *P. fluorescens* suşu CHA0 (Voisard *et al.* 1994), *Thielaviopsis basicola*'nın neden olduğu tütün kara kök çürüklüğünü başarıyla bastırmıştır (Laville *et al.*, 1998). Bununla birlikte, *Floresan pseudomonas*'ın agresif kolonizasyon gücü nedeniyle, toprak kaynaklı bitki patojenlerinin kontrolünde etkin bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir (Lugtenberg *et al.*, 2001).

Siderofor üretiminde PGPR kullanımı

Tüm yaşam formlarının ihtiyaç duyduğu ve yeryüzündeki en bol maden yataklarından biri olan demir, toprakta bol miktarda bulunmasına rağmen, ferrik hidroksit (Fe³⁺) polimerleri halinde bulunması nedeni ile bitkiler tarafından doğrudan kullanılamazlar. Bitkiler ya demiri şelatlayabilen ve onu çözebilen organik bileşikler salgılayarak ya da demirin bitki içinde indirgenmesi ve kolayca emildiği organik bileşik ve Fe²⁺ tarafından oluşturulan kompleksi absorbe ederek verimli bir demir emilimi gerçekleştirirler (Ahmed and Holmstrom, 2014). Demir taşıyıcı veya demir şelatlama anlamına gelen siderofor; sitokrom, enzim kofaktörü ve hem veya hem olmayan proteinlerin benzersiz bir bileşeni olarak demirin (Fe³⁺) biyoyararlanımını artırmak için geliştirilmiş önemli bir stratejidir. Sideroforlar, mikroorganizmalar tarafından üretilen genellikle 1 kDa'nın altında olan düşük moleküler ağırlıklı biyomoleküllerdir ve hücreye girerken Fe³⁺ iyonlarıyla güçlü bir afiniteye sahiptir (Ahmed and Kibret, 2014). Ağır metalle kirlenmiş toprakları detoksifiye etme ve bitkilere demir ihtiyacını karşılama gibi önemli özellikleri ile mikrobiyal olarak üretilen sideroforlar sürdürülebilir tarımın vazgeçilmezleri arasındadır (Saha *et al.* 2016).

Hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif rizobakterilerde, bakteri membranı üzerindeki Fe³⁺-siderofor kompleksindeki demir (Fe³⁺), iç ve dış zarları birbirine bağlayan bir geçit mekanizması yoluyla siderofordan hücreye daha fazla salınan Fe²⁺'ya indirgenir. Bu indirgeme işlemi sırasında, siderofor ya yok olur ya da geri dönüştürülebilir (Rajkumar *et al.* 2010). Bu nedenle, sideroforlar, sınırlı demir koşulları altında minerallerden veya organik bileşiklerden gelen demir için çözüldürücü maddeler olarak işlev görür (Indiragandhi *et al.*, 2008).

Sideroforlar sadece demir değil, aynı zamanda Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb ve Zn gibi çevresel sorunlar yaratan diğer ağır metallere de stabil kompleksler oluştururlar (Neubauer *et al.* 2000).

Bitki için olduğu kadar toprak mikrobiyotası için de ihtiyaç duyulan demirin bulunmaması veya kıtlığı nedeniyle toprakta şiddetli rekabet ortaya çıkabilir. Bunun yanı sıra demir asidik topraklarda, bazik topraklara kıyasla daha fazla çözülmüş halde bulunduğu için dolaylı olarak bazik topraklarda az miktarda bulunan demir iyonu için rekabetin daha fazla olduğunu söyleyebiliriz. Bu rekabet ortamında bakteriler, funguslar ve bitkiler demir iyonlarını alabilmek için suda çözünebilen, düşük molekül ağırlıklı ve topraktaki demir iyonlarını hücre içine taşıma yeteneğine sahip sideroforları (Rai and Nabti, 2017) sentezlerler. Bu özellikleri nedeni ile birçok bakteri türü sideroforlar üreterek demirin varlığını arttırmaya yardımcı olurlar (Kloepper *et al.*, 1980; Ahmed and Holmstrom, 2014). Bununla birlikte sideroforlar patojenik mikropları Fe mahrum bırakarak kontrollü bir mücadele gerçekleştirir (Ahmed and Holmstrom, 2014). Demir eksikliği; solunum, fotosentez ve azot fiksasyonu gibi önemli fizyolojik süreçlerde bir dizi enzim için bir kofaktör rolünden dolayı ciddi metabolik değişikliklerde kendini gösterir.

Bacillus megaterium ürettiği siderofor sayesinde çay bitkisi rizosferindeki patojenleri baskılayarak bitki büyümesini teşvik eder. Endorizosferik ortamdan izole edilmiş olan *E. coli* bakterisinin yüksek miktarda siderofor üretilmesi, şeker kamışı ve çavdar otunun gelişimine destek olduğu bildirilmiştir (Kloepperr 1980; Husen, 2003). *Pseudomonas* cinsleri (*Pseudomonas fluorescens* ve *P. aeruginosa*) en çok siderofor üreten bakteri türleri olarak bilinir (Saleem *et al.*, 2002). *Pseudomonas fluorescens* sideroforları, bitkinin topraktan demir alımını arttıran antibiyotik özelliklere sahip pyochelin ve pyoverdinin bileşiklerini serbest bırakabilme yeteneğindedir (Glick, 1995). Nohut (*Cicer arietinum* L.) ve soya fasulyesi tohumunun siderofor üreten floresan *Pseudomonas* ile aşılması sonucu tohum çimlenmesinde ve bitki veriminde artışlar gözlemlenmiştir. *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Agrobacterium* gibi rizobakterilerinde siderofor üreterek birçok bitkinin büyümesine destek oldukları bilinmektedir (Ahemad and Kibret, 2014). Siderofor üreten *Pseudomonas* tarafından toprak kaynaklı bitki patojenlerinin baskılandığını bildirilmiştir (Buysens *et al.*, 1996). İlgili çalışma, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas* ve *Enterobacter* cinslerinin spesifik örneği ile hem gram pozitif hem de gram negatif organizmalarda siderofor üretiminin gerçekleştiğini göstermiştir (Tian *et al.*, 2009). Sonuç olarak, bu özellik, gübre formülasyonunda bileşen oluşturdukları, bitkilerde demir alım kapasitesini düzenlediği ve büyümeyi kolaylaştırdıkları için başta çimenler (fitosideroforlar) olmak üzere bazı bitkiler tarafından da sergilenmektedir.

Sideroforun verimli üretimi; pH, topraktaki demir seviyesi ve formları, diğer eser elementlerin varlığı, yetersiz karbon, azot ve fosfor temini gibi çevresel faktörlerle sınırlanır

(Duffy and Défago, 1999). Bununla birlikte, PGPR'nin siderofor aracılığıyla büyüme teşvik edici aktivitesi, hücre dışı sideroforlar kompleksi oluşumu ile zararlı mikroorganizmaların çevresel demire erişimini engellemek suretiyle olur. Konu ile yapılan çalışmalar, sideroforun PGPR sentezinin sadece bitkilerin büyüme performansını ve stres ortamında adaptasyonlarını iyileştirmekle kalmayıp, aynı zamanda düşük konsantrasyonda bile hem radyoaktif demiri hem de rizosferik metalleri absorbe etme yeteneklerini geliştirdiğini göstermiştir. (Dimkpa *et al.*2009; Robin *et al.*2008). Genel olarak, PGPR tarafından siderofor üretimi, bitki kök patojenlerini kontrol etmede en verimli yoldur.

PGPR türleri tarafından antibiyotik üretimi

Hastalık etmenleri ile antagonistik organizmalar arasındaki görülen antibiyosis, rekabet, hiperparatizm ve hipovirulens gibi etkileşimlerin bir sonucu olarak biyolojik bir rekabetin ortaya çıktığı söylenebilir. Antagonistler tarafından salgılanan toksinler, antibiyotikler ve enzimler gibi metabolik salgılar, patojenlerin gelişimini engeller veya patojenleri öldürür, ki bu duruma antibiyosis adı verilir.

Fitopatojenlerle mücadele etmek için kimyasal pestisit kullanımına alternatif diğer bir yol antibiyotik üretimidir. Antibiyotik üretimi, PGPR'ler tarafından sergilenen ve en çok çalışılan biyokontrol stratejilerinden biridir. Amfisin, 2,4-diasetilfloroglusinol (DAPG), oomycin A, fenazin, pyoluteorin, pirrolnitrit, tensin, tropolon ve siklik lipopeptitlerin sentezi PGPR tarafından üretilen antibiyotiklere örnek gösterilebilir (Loper and Gross, 2007). Bunlara ek olarak phloroglucinols (Phl), 2-heksil-5-propil resorsinol (HPR), D-glukonik asit, hidrojen siyanür (HCN) ve 2-hidroksimetilkroman-4-one biyokontrol ajanı olarak başarıyla kullanılmıştır (Perneel *et al.*2008; Kang *et al.*2004). Rizobakteriler tarafından salgılanan çeşitli antibiyotikler hastalık yapıcı bu zararlı mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek bitki köklerinin gelişimini sürdürmesine yardımcı olur. Bilinen yaygın antagonist karakterli PGPR *Pseudomonas* ve *Bacillus* türlerine aittir. Düşük molekül ağırlığına sahip olan antibiyotikler, heterojen organik bileşikler olup fitopatojenlere karşı kullanılan güçlü biyokontrol ajanlarıdır. Biyokontrol ajanı olma özelliği PGPR kendi bitki rizosferi ve endosferini habitat edinmelerinden kaynaklanmaktadır. Toprak patojenlerinin olumsuz etkilerini bertaraf etmek için toprak bakteri ve fungusları gibi canlı gruplar aktif rol oynamaktadırlar. Özellikle PGPR türleri patojenlerin olumsuz etkilerine karşı pantosin, oomycin vb. antibiyotikler üretmek, HCN (hidrojen siyanür) üretmek ve bütanediol, asetonin vb. gibi bileşikler üretmek suretiyle (Ryu *et al.*2003) bitki direnç sistemini teşvik ederek geniş çaplı bir mücadele gösterirler (Principe *et al.*2007; Miransari, 2011).

Toprak patojenlerine karşı en etkili bir tür olan Floresan *Pseudomonas* ların (Weller, 1988); *Viscosinamide*, *Hydrogen cyanide*, *Pyocyanine*, *Phenazine-1-carboxamide*, *Pyrolnitrin* gibi ürettikleri antibiyotikler (Ram *et al.* 2013), domates, okaliptüs, şeker pancarı, turp, tütün ve patates bitkilerinde toprak kökenli fungal ve bakteriyel patojenlerin kontrolünde uygulandıklarında olumlu sonuçlar alındığı görülmüştür. *Bacillus* sp.'lerin ise iturin A, basilisin, fengimisin, subsporin, subtilin gibi ribozomal kökenli antibakteriyel antibiyotikler üreterek domates çökertene neden olan *Rhizoctonia solani* ye karşı etkili oldukları bildirilmiştir (Asaka and Shoda, 1996; Leclere *et al.* 2005). Bu metabolitler, düşük konsantrasyonlarda bile antifungal, antiviral, antioksidan gibi bitki büyümesini teşvik edici özellikler sergilemektedir. Sistemik direnç (ISR) genlerinin uyarılmasına etkili olduğu düşünülen antibiyotiklerin rolü bitki aracılığıyla olmayıp doğrudan antipatojenik olarak etkili olduğu bildirilmiştir (Bakker *et al.* 2003). Bu nedenle, bitkilerde hastalık yönetimi antibiyotiklerin ana işlevidir diyebiliriz.

Uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR)

Bitki eksudatları ve lizatlar'la beslenen (Lynch, 1976) ve kök yüzeyinde yüksek miktarda bulunan epifitik kök bakterilerinin oluşturduğu sistemik dayanıklılık, Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık (ISR) olarak ifade edilir (Van Loon *et al.*, 1998). Bitki verimliliğinin artışı zararlı mikroorganizmaların ve toprak orjinli patojenlerin, PGPR tarafından baskılanması sonucu meydana gelir (Schippers, 1988). ISR, hem toprak ve yaprak patojenlerinin zararları ile hem de virüs, nematod ve böceklerle mücadelede iş gören önemli bir biyokontrol mekanizmasıdır. Patojenler tarafından birincil enfeksiyonu takiben tüm bitki boyunca aktive olan bir savunma durumu olan sistemik kazanılmış direncin (SAR) (Handelsman and Stabb, 1996) aksine, bitkide var olan dayanıklılık mekanizmalarında harekete geçirebilen sistemik direnci indükleme (ISR), bitkilerde organik asitler, salisilik asit, jasmonik asit ve etilen gibi bitki hormonlarını kullanarak çeşitli bitki patojenlerine karşı konakçı bitki savunma tepkisinin uyarılmasını sağlar (Beneduzi *et al.* 2012; Pieterse *et al.* 2014). Konukçu bitkide dayanıklılık tetiklenip harekete geçirildikten sonra koruyucu etki genellikle kalıcı olmaktadır

Bacillus pumilus, *Pseudomonas* sp. ve enterobakteriler biyokontrol formuna katılan suşlar olarak bildirilmiştir. Rhizobacteria aracılı ISR, patojenik mikroorganizmaların aktivitesini ve büyümesini etkiler ve ayrıca yerli rizosfer mikroflorasının büyümesini ve aktivitesini ve eklenen biyolojik kontrol ajanlarını etkileyebilir. Farklı PGPR türlerinin karışımlarının belirli bitkilerin tohumlarına veya fidelerine uygulanması, çeşitli patojenlere karşı indüklenmiş sistemik direncin (ISR) etkinliğinin artmasıyla sonuçlanmıştır (Ramamoorthy *et al.* 2001). PGPR'ler bu etkiyi salisilik asit, siderofor üretimi, lipopolisakkarit, flagella, N-asil homoserin lakton (AHL) molekülleri, antibiyotik üretme, bakteriyel yüzey

bileşenleri ve bakteriyel sekonder metabolitler ile uyararak savunma yanıtı oluşturur (Lugtenberg and Kamilova, 2009). Rizobakteriler, nekroz olayı olmadan sistemik direnci indüklemekte ve konukçu bitkilerde bağışıklık tepkisinin indüklenmesini gerçekleştirmektedir (Van Loon *et al.*, 1998). Bitkiler ise fitohormonlar aracılığıyla bir sinyal iletim yolu oluşturmaktadır. Uyarılmış sistemik dayanıklılığın varlığı konukçu bitkide kök bakterisinin patojenin engellendiği bölgede bulunmaması durumunda anlaşılır. *NPRI* geninden yoksun bitkilerde ISR'nin bulunmayışı, uyarılmış sistemik dayanıklılığın moleküler düzeydeki kanıtıdır (Van Loon *et al.*, 1998).

Tohum kabuğuna *Pseudomonas syringae* suşunun uygulanması, salatalıkta *Erwinia tracheiphila*'nın neden olduğu, yaprak lekesi ve bakteriyel solgunluğu hastalığına neden olan antraknoza (*Colletotrichum lagenarium*) karşı ISR'nin teşvik edilmesi ile hastalık büyük ölçüde iyileşmiştir (Zehnder *et al.* 2001). Elbadry *et al.*, (2006), infaba fasulyesinde (*Vicia faba* L.) görülen, fasulye sarısı mozaikpoti (BYMV) virüsüne karşı *Pseudomonas floescens* ve *Rhizobium leguminosarum* ile yapmış oldukları inokülasyonda, hastalık insidansında (PDI) ve virüs konsantrasyonunda önemli bir azalmanın olduğunu gözlemlemişlerdir. Alstroem (1991), PGPR'nin bakteriyel hastalıklara karşı indüklenmiş sistemik korumasını gözlemek için yaptığı çalışmada, fasulye tohumlarını *Pseudomonas floescens* ile muamele etmiş ve bu suşun *Pseudomonas syringae* pv. *fazolikola*'nın neden olduğu halo yanıklığı hastalığına karşı bitkiyi koruduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, *Pseudomonas putida* suşu 89B-27 ve *Serratia marcescens* suşu 90-166 tarafından *Fusarium oxysporum* tarafından teşvik edilen salatalığın *Fusarium solgunluğuna* karşı sistemik direnç indüklenmesi araştırılmış ve bakteriyel solgunluk insidansında önemli bir azalmanın olduğu kaydedilmiştir (Liu *et al.* 1995)

Bununla birlikte Liu *et al.*, (1995) yapmış olduğu bu çalışmada, tohumları aşılınmamış plakalara kıyasla PGPR suşları ile aşılınmış bitkilerde daha fazla sistemik koruma gözlemlemişlerdir.

Fitoremediasyonda PGPR'nin rolü

Toprak sürekli olarak ve büyük miktarda Hg, Pb, Cr, Co, Zn, Ni ve Cd gibi hem çevreye hemde insan sağlığına zararları olan ağır kimyasallara maruz kalmaktadır. Sanayileşme ve kentleşme süreçlerine ek olarak, tarımsal kalkınma için kullanılan aşırı gübre uygulaması, kanalizasyon ve belediye atıklarının gelişigüzel çevreye salınması ve böcek ilacı kullanımı gibi insan faaliyetleride toprağı kirletmektedir. Her ne kadar bu tarımsal kimyasallar, mahsul büyümesini ve üretkenliğini arttırsada, bitki büyümesini ve mikrobiyal metabolizmayı bozan metal kalıntılar toprağı bırakırlar. Toprağı bırakılan bu metallerin kanserojen, mutajen ve teratojen yapıda olmaları ve biyolojik olarak parçalanamamaları nedeniyle besin zinciri yoluyla

insana bulaşmakta ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Ahemad and Kibret, 2013a). Bununla birlikte bu metallerin eşik sınırı aşması durumunda mikrobiyal çeşitlilik ve toprak verimliliğide etkilenir (Huang *et al.*2009). Bu tür metal yüklü toprakların iyileştirilmesi ve tarımsal uygulamalara kazandırılmaları büyük önem taşımaktadır. Her ne kadar metalle kirlenmiş bu topraklar fizikokimyasal teknoloji ile temizlenebiliyor olsada maliyetin yüksek olması nedeni ile tercih edilmemektedir (Hashim *et al.*2011). Kontamine alanların biyolojik süreçler kullanılarak biyoremediasyonu, tarımda sürdürülebilirlik sorunları ve çevre etiği göz önüne alındığında kimyasal teknolojilere kıyasla, kapsamlı ve ekolojik olarak bir alternatif sunmaktadır (Hashim *et al.*2011).

Toprak rizobakteri destekli fitoremediasyon, farklı biyoremediasyon yaklaşımları arasında ucuz ve çevre açısından güvenli olması nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak uygulamanın uzun zaman alması ve yüksek düzeyde metallerin bitkilerin iyileştirme verimliliğini düşürmesi, bu tekniğin istenmeyen dezavantajlarıdır (Ali *et al.*, 2013). Bu ağır metalle kirlenmiş toprağın dekontaminasyonu, rizosferde ikamet eden büyük toprak mikroorganizmaları konsorsiyumu kullanılarak şelasyon, çözündürme ve mineralizasyon yoluyla gerçekleşir. Geçen son on yıllarda yapılan çalışmalarda, hem ağır metal detoksifiye edici özellikler hem de bitki büyümesini teşvik edici aktiviteler sergileyen birkaç fosfat çözücü bakteri (PSB) araştırılmış ve metalli toprakların fitoremediasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Misra *et al.*2012; Ahemad and Kibret 2013b). Organik asit üretimi, sideroforların salgılanması, IAA üretimi ve ACC deaminaz aktivitesi gibi PSB'nin çeşitli bitki büyümesini teşvik edici özellikleri, bitkilerin fitoremediasyon kapasitesinin artırılmasına katkıda bulunur.

Fitoekstraksiyon ve rizofiltrasyon, fitoremediasyon tekniğinden geliştirilmiş bilinen en iyi iki yoldur (Salt *et al.*1998). Rizofiltrasyon genellikle bitki köklerinin suda ve sulu atık akımlarında bulunan kirleticileri emmek ve/veya soğurmak için kullanılan metottur. Fitoekstraksiyon ise genel olarak kirletici madde biriktiren bitkilerin metalleri ve organik maddeleri bitkinin hasat edilebilir kısımlarında biriktirerek topraktan uzaklaştırma yöntemidir. Bu yöntemin mevcut toprak iyileştirme stratejilerine uygulanabilir bir alternatif olabilmesi için yüksek biyokütleli, hızlı büyüeyebilen bitkilere ihtiyaç vardır.

Bitkilerin toprak çözeltilisinden Fe, Zn ve Mn gibi mikro besin metallerini aldıkları uzun zamanlardan beri bilinen bir gerçektir. Ancak, bitkilerin elementleri toprağın çözünmeyen mineral fazından doğrudan alabilmeleri ve fitoekstraksiyonun başarılı bir şekilde gerçekleşebilmesi için kirlenmeye neden olan metallerin toprakta belirli bir konsantrasyonda mevcut bulunması gerekir. Bu hedef metallerin bitkiye alınımı hücreleri çevreleyen seçici geçirgen zardan, zara gömülü iyon taşıma proteinleri vasıtasıyla olur. Bu nedenle Cd, Pb ve U

gibi kirletici metallerin alınmasına izin vermek için, hedef kirletici metali seçme kapasitesine sahip taşıma proteinleri gerekecektir. Fitoekstraksiyon prosesinin bir diğer önemli bileşeni, ekstrakte edilen metallerin bitkinin hasat edilebilir kısmında, genel olarak yer üstü sürgün biyokütlesinde birikmesidir. Bunu başarmak için metalin kökten sürgüne verimli bir şekilde taşınması önemlidir. Son olarak, aynı anda sürgünlerde yüksek metal(ler) konsantrasyonları ve yüksek bir büyüme oranı elde etmek için, bitkilerin birikmiş metalin toksik etkilerini tolere edebilmeleri gerekecektir.



MATERYAL VE METOT

Materyal

Kullanılan alet ve cihazlar

Kullanılan alet ve cihazlara ait bilgiler aşağıdaki tabloda listelenmiştir.

Kullanılan Cihaz	Marka ve Model Numarası
Azot Tankı	Termo, Electron Corporation
Buzdolabı	Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF
Derin Dondurucu	Nuarie, U.S.A., -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK
Elektroforez Akım Sağlayıcı	OWL OSP300-2Q, U.S.A.
Elektroforez Tankı (Yatay)	OWL B2, U.S.A.
Etüv	Memmert, UN55
Hassas Terazi	Mettler Toledo AL204, CHINA)
Jel Görüntüleme Sistemi	DNR BioImaging Systems MiniBis Pro, ISRAEL
Manyetik Karıştırıcı	Daihan Scientific MSH 20A, KOREA
Mikrodalga Fırın	Arçelik, TÜRKİYE, MD 592
Nanodrop	Qiagen/Qiaxpert 200061 24V F 2.5A
Otoklav	Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253
Otomatik Pipetler	Eppendorf, GERMANY
PCR	Corbett Research CG1-96, AUSTRALIA
pH Metre	InoLab pH730 wtw Series, GERMANY
Saf Su Cihazı	GFL 2004, GERMANY
Santrifüj	Hettich, GERMANY, EBA-20
Steril Kabin	(Esco AC2-4E1, SINGAPORE) 27
Su Banyosu	Memmert WNB14, GERMANY
Vorteks	Velp Scientifica, F202A0173

Besiyeri ve çözeltiler

Kullanılan besiyerlerinin ve çözeltilerin içerikleri ve hazırlanma şekli aşağıda verilmiştir.

Nutrient Agar: Soğuğa adapte bakterilerin izolasyon çalışmalarında, kültür morfolojilerinin incelenmesinde ve izolatların kısa süreli muhafaza edilmesinde temel besiyeri olarak kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Nutrient agar	28 g

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Nutrient Broth: Test bakterilerinin canlandırılması ve gecelik kültürlerinin hazırlanması amacıyla kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Oxoid Nutrient broth No:2	23 g

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Pikovskaya's Agar: Fosfat çözme yeteneğine sahip PGPR izolatlarının seçilimi için kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,21 g
Malt özütü	0,5 g
D-Glukoz	10 g
Ca ₃ O ₈ P ₂	5 g
H ₈ N ₂ O ₄ S	0,5 g
KCl	0,2 g
KH ₂ .PO ₄	0,5 g
MnO ₄ .S	0,0001 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,0002 g
Agar	15 g

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Jenses's Medium: Azot bağlama yeteneğine sahip PGPR izolatlarının seçilimi için kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Sükroz	20,000
K ₂ HPO ₄	1,000
MgSO ₄	0,500
NaClO ₂	0,500
FeSO ₄	0,100

Na ₂ MoO ₄	0,005
CaCO ₃	2,000
Agar	15,000

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Triptofan Katkılı LB Broth: IAA üretme yeteneğine sahip PGPR izolatlarının seçilimi için kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
LB Broth	25 g
L-Triptofan	0,1 g

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Chrome Azurol S (CAS) Agar: Siderofor üretme yeteneğine sahip PGPR izolatlarının seçilimi için kullanılmıştır.

Boya Solüsyonunun Hazırlanışı: (i) 0,06 g CAS 50 ml saf su içerisinde çözülerek I. çözelti hazırlanır. (ii) 0,0027 g FeCl₃-6H₂O 10 ml 10 mM HCl içerisinde çözülerek II. çözelti hazırlanır. (iii) 0,073 g HDTMA 40 ml saf su içerisinde çözülerek III. çözelti hazırlanır. (iv) Daha sonra çözelti I üzerine 9 ml çözelti II'den ve 40 ml çözelti III'ten eklenerek karıştırılır ve otoklavlandıktan sonra oda sıcaklığında saklanır.

Karışım Solüsyonunun Hazırlanışı: (i) 15 g KH₂PO₄, 25 g NaCl ve 50 g NH₄Cl 500 ml saf su içerisinde çözülerek MM9 stok solüsyonu hazırlanır. (ii) 20 g dekstroz 100 ml saf su içerisinde çözülerek dekstroz stok solüsyonu hazırlanır. (iii) 25 g NaOH 150 ml saf su içerisinde çözülerek alkali stok solüsyonu hazırlanır. (iv) 3 g Casamino asit 27 ml suda çözülür ve %3 8-hidroksikinolin çözeltisi ile ekstrakte edilerek Casamino asit solüsyonu hazırlanır.

CAS Agar Hazırlanışı: (i) 100 ml MM9 stok solüsyonu 750 ml saf su içine eklenir. (ii) Daha sonra üzerine 32,24 g PIPES ve 15 g agar eklenerek çözelti otoklavlanır. (iii) Çözeltinin soğumasının ardından üzerine 30 ml Casamino asit solüsyonu ve 10 ml dekstroz stok solüsyonu eklenir. (iv) Son aşamada 100 ml boya solüsyonu eklenerek iyice karışması sağlanır ve çözelti petrilere dökülür.

Uzun Süreli Saklama Besiyerleri: Bakteri izolatlarının -87°C'de uzun süreli muhafaza edilmeleri için kullanılmıştır. Nutrient broth besiyerinin son hacmi %20 olacak şekilde gliserol eklenmesiyle hazırlanmıştır. 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında saklanmıştır.

TE Tamponu: Genomik DNA izolasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Tris-HCl	1,2 g
Etilen diamin tetra asedik asit	0,372 g

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp pH 8'e ayarlandıktan sonra otoklavlanarak 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

%70'lik Etil Alkol: Genomik DNA izolasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Saf etil alkol	700 ml
Ultra saf su	300 ml

700 ml saf etil alkolün hacmi 300 ml saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti kullanılıncaya kadar -20°C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir.

%10'luk SDS çözeltisi: Genomik DNA izolasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Sodyum dodesil sülfat	100 g

100 g sodyum dodesil sülfat 800 ml saf su içerisinde çözüldükten sonra son hacim yine saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiş ve kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır.

Liziz Tamponu: Genomik DNA izolasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Tris-HCl	1,36 g
EDTA	0,422 g
NaCl	0,664 g
%10'luk SDS çözeltisi	250 ml
Triton X-100	22,7 ml

Tris-HCl ve EDTA 650 ml saf su içerisinde tamamen çözülmüş ve çözeltinin pH değeri 8'e ayarlanmıştır. Daha sonra çözeltinin üzerine NaCl eklenmiş ve son hacim 727,3 ml'ye tamamlanmıştır. 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Çözelti otoklavdan çıkartıldıktan sonra uygun sıcaklığa geldiğinde üzerine 250 ml %10'luk SDS ve 22,7 ml Triton X-100 eklenmiş ve kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır.

Proteinaz K: Genomik DNA izolasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
---------------	---------------------

Steril saf su	1 ml
Proteinaz K	20 mg

1 ml steril distile su içerisine 20 mg proteinaz K eklenmiş ve iyice çözüldükten sonra -20°C’de muhafaza edilmiştir.

Ethidyum Bromür Çözeltisi: DNA jel elektroforezi çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Steril saf su	1000 ml
Ethidium bromür	10 g

1000 ml steril saf su içerisinde 10 g ethidium bromür iyice çözülmüş ve amber şişe içerisinde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

10X TBE Tamponu: DNA jel elektroforezi çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Tris-HCl	107 g
Borik asit	55 g
EDTA	5,8 g

500 ml saf su içerisinde tris, borik asit ve EDTA çözülmüştür. Oluşan çözeltinin toplam hacmi saf su ile 1000 ml’ye tamamlanıp pH değeri 8’e ayarlanmış ve 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

0,5X TBE Tamponu: DNA jel elektroforezi çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
10X TBE stok solüsyonu	50 ml
Steril distile su	950 ml

50 ml 10X TBE stok solüsyonu üzerine 950 ml steril distile su eklenmiştir. +4°C’de muhafaza edilmiştir.

1X TBE Tamponu: DNA jel elektroforezi çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
10X TBE stok solüsyonu	100 ml
Steril distile su	900 ml

100 ml 10X TAE stok solüsyonu üzerine 900 ml steril distile su eklenmiş ve kullanılıncaya kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.

6X Yükleme Tamponu: DNA jel elektroforezi çalışmalarında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
Bromfenol blue	0,1 g
Gliserol	40 ml

0,1 g bromfenol blue, 40 ml gliserol içerisinde çözülmüştür. Çözeltinin toplam hacmi 1X TBE ile 100 ml'ye tamamlanmış ve amber şişe içerisinde +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Fizyolojik Su Çözeltisi: Mikrobiyolojik izolasyon çalışmalarında ve seri dilüsyonların hazırlanmasında kullanılmıştır.

<u>İçerik</u>	<u>1000 ml için</u>
NaCl	8,5 g

Yukarıda verilen maddeler 1000 ml distile su içinde çözülüp, otoklavlanarak 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

Yöntem

Bakteriyel izolasyon çalışmaları

Bakteriler Rizosfer (RS), rizoplan (RP), filoplan (PP) ve non-rizosferik (NR) bölgelerden alınan toprak numunelerinden izole edilmiştir. Rizosferik örneklemeler *Achillea*, *Mentha*, *Utrica* ve *Alkanna* cinslerine ait bitkilerin köklerinden ve çevresindeki topraktan yapılmış, bitki numunelerinin teşhisi Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Rizosferik bakterilerin izolasyonu için, köklere yapışık topraktan 1 g alınarak, 10 ml %0,85 (w/v) fizyolojik su (NaCl) içinde süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyon karışımı kuvvetli bir şekilde vortekslenmiş, seri olarak dilüe edilmiş ve Luria-Bertani (LB) agar üzerine ekimi yapılmıştır. Rhizoplan bakterilerinin izolasyon işlemi için kökler iyice yıkandıktan sonra, tuzlu su içinde süspansiyon edilmiş ve elde edilen süspansiyonun ekimi yapılmıştır. Benzer şekilde filoplan ve non-rizosferik numunelerden alınan 1 g toprak tuzlu su içinde süspansiyon edilmiş, süspansiyonun sıvı kısmı seri olarak seyreltildikten sonra ekimi yapılmıştır. Petri kaplarına yapılan inokülasyon işlemlerinden sonra hazır hale gelen tüm numunelerimizden farklı morfolojiye sahip koloniler elde edebilmek için 10°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Bitki büyümesini teşvik eden bakteriyel izolatların seçilimi

Azot Bağlayan İzolatların Seçilimi

Bitki büyümesini teşvik eden en önemli elementlerden birisi olan azotun havadan toprağa bağlanmasını sağlayan PGPR izolatlarının seçilimi için içeriğinde azot bulunmayacak şekilde formüle edilmiş olan Jansen's medium besiyerinin agar plakaları kullanılmıştır. Bu

amaçla 10 µl gecelik kültür plakalar üzerine çizgi ekim yapılarak inoküle edilmiş, 7 gün boyunca 10 °C'de inkübe edilmiştir. Çalışma sonunda bakteriyel kolonilerin oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Fosfat Çözen İzolatların Seçilimi

Toprakta çözünmemiş halde bulunan Fosfatın bitki tarafından kullanılabilir hale gelebilmesi için organik asitlerle mineralizasyonu gerekmektedir. Bu nedenle PGPR özellik gösteren bakterilerin ürettiği organik asitler fosfat çözmeleri bakımından önemli olup çalışmamızda izolatların fosfat çözebilmeye yetenekleri Pikovskaya agar plakaları kullanılarak değerlendirilmiştir. Özetle, 10 µl gecelik kültür plakalar üzerine noktasal aşılama yapılarak, 7 gün boyunca 10°C'de inkübe edilmiştir. Çalışma sonunda koloniler etrafında şeffaf zonların gözlemlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

IAA Üreten İzolatların Seçilimi

Bitki büyümesini teşvik eden ve ilk tanımlanan bitki hormonu olarak bilinen indol-3-asedik asit üreten izolatların seçimi için; izolatlar %1 triptofan ihtiva eden LB broth besiyerine inoküle edilerek 10°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi sonrasında kültürler 6000 rpm de 30 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üstte kalan sıvıdan (süpernatant) 2 ml alınarak 2 damla ortho-fosforik asit ile karıştırılmış ve hazırlanan bu karışımın tamamı içerisinde 4 ml Salkowski çözeltisi (50 ml of %35 of perklorik asit + 1 ml of 0.5 M FeCl₃ solüsyonu) bulunan steril cam tüplere aktarılmıştır. Bu işlemler sonucunda, tüplerdeki besiyeri renginin açık sarıdan kırmızı-pembe renge dönmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Siderofor Üreten İzolatların Seçilimi

Yeryüzünün en bol bulunan madenlerden biri olan demir, toprakta bol miktarda bulunmasına rağmen bitkiler tarafından doğrudan kullanılmayan formda (Fe⁺³) bulunur. Bitkiler demiri ya organik bileşikler salgılayıp demiri şelatlamak suretiyle yada demirin bitki içinde indirgendiği ve kolayca emildiği organik bileşik ve Fe²⁺ tarafından oluşturulan kompleksi absorbe ederek verimli bir demir emilimi gerçekleştirirler. Yapmış olduğumuz çalışmada siderofor üretimi yapan izolatların seçilimi için Chrome Azurol S (CAS) agar besiyeri kullanılmıştır. Bu amaçla, CAS agar plakası üzerine çizgi ekim ile 10 µl gecelik kültürler aşılanmış ve 10°C'de 7-14 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda mavi agar üzerindeki kolonilerin etrafında turuncu renkli halkaların görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Soğuga Adapte PGPR/PGPB İzolatlarının Moleküler Tanısı

DNA izolasyonu

İzolatların genomik DNA izolasyonu için aşağıda detayları verilen protokol uygulanmıştır. Bu protokole göre:

1- Uygun besi yerlerinde geliştirilen genç kültürler öze yardımı ile 1 öze dolusu toplanarak 2 ml'lik steril tüplere aktarılır.

2- 567 µl Tris-EDTA tamponu eklenir ve iyice karıştırılır.

3- Daha sonra örneklerin üzerine 30 µl %10'luk SDS ve 3 µl proteinaz K eklenir. Hafifçe karıştırılan örnekler 37 °C'de 60 dk beklemeye bırakılır.

4- Süre sonunda 100 µl 5M NaCl eklenir ve karıştırılır.

5- 80 µl 65 °C CTAB/NaCl çözeltisi eklenerek hızlıca karıştırılır ve 65 °C'de 10 dakika bekletilir.

6- 780 µl Kloroform:İzoamil alkol (24:1) eklenerek hafifçe karıştırılır.

7- 4 °C'de 12000 rpm hızda 5 dakika santrifüjlenir ve üst faz yeni tüpe aktarılır.

8- Alınan üst faza eşit hacimde Fenol:Kloroform:İzoamil alkol (25:24:1) eklenerek hafifçe karıştırılır.

9- Santrifüj işlemi tekrarlanır ve üst faz yeni tüpe aktarılır.

10- Alınan üst faza 0,6 hacimde soğuk (-20 °C) izopropanol eklenerek hafifçe karıştırılır.

11- 4 °C'de 12000 rpm hızda 10 dakika santrifüjlenir ve üst faz ortamdan uzaklaştırılır.

12- Pelet %70'lik alkol ile yıkanır ve oda sıcaklığında kurutulur.

13- Kuruyan pelet 100 µl TE tamponunda çözülerek %0,6'lık agaroz jelinde yürütülür. Jelde tek parça bant veren örnekler PCR çalışmaları için seçilerek kullanılmaya kadar +4 °C'de saklanır.

16S rRNA PCR

PCR çalışmaları için literatür tarafından önerilen 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') primer çifti seçilmiştir.

PCR'ı yapılacak örnek için 3 µl 10 x PCR tamponu (100 mM Tris – HCl, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, %0.01 jelatin pH: 8.3), 0.6 µl dNTP (deoksinükleotidtrifosfatlar: dATP, dGTP,

dCTP, dTTP – 10mM), 3 µl forward primer, 3 µl reverse primer, 1.2 µl DMSO, 0.6 µl MgCl₂ (50 µM), 0.3 µM/mL taq DNA polimeraz ve 15.3 µl sdH₂O ile 27 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlanmış ve karışıma son olarak 3 µl örnek DNA (100 ng/µl) eklenerek son hacim 30 µl'ye tamamlanmıştır.

PCR koşulları; 95 °C'de 2dk denatürasyon, bunu takiben 36 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dk denatürasyon, 54 °C'de 1 dk bağlanma ve 72 °C'de 2 dk uzama basamakları ve son olarak 72 °C'de 5 dk uzama basamağından oluşacak şekilde programlanmıştır. Oluşan ampliconlar %1'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir.

PCR Ürünlerinin Sekans Analizi ve Değerlendirme Çalışması

PCR ürünlerinin sekans analizleri hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Elde edilen dizi verileri izolatların nihai tanımlarının yapılması ve kültür koleksiyonunun oluşturulması için NCBI'ın veri tabanında BLAST uygulaması kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Tez çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen bakteriyel izolasyon çalışmaları ile Palandöken Dağı'ndan alınan rizosferik ve non-rizosferik toprak örneklerinden toplam 325 bakteriyel izolat elde edilmiştir.

Bu izolatlar ile gerçekleştirilen PGPR/PGPB seçim çalışmalarında ise 47 izolatın azot bağlama, fosfat çözme, IAA üretme ve siderofor üretme PGPR/PGPB aktivitelerinden en az bir tanesini zayıf, orta ya da güçlü seviyede gösterdiği tespit edilmiştir.

Daha sonra literatür bilgileri de göz önünde bulundurularak multipotent PGPR/PGPB özellikli ve en az bir özellik yönünden güçlü aktivite gösteren aktif 21 izolat ileri tanılama çalışmaları ve kültür koleksiyonu için seçilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Seçilen Bakteriyel İzolatların Bitki Büyümesini Teşvik Etme Potansiyeli

Örnek Kodu	Azot Bağlama	Fosfat Çözme	IAA Üretimi	Siderofor Üretimi
ES-1	++	+++	+	++
ES-2	+	+++	+	+++
ES-3	+++	-	+	-
ES-4	+++	+	-	-
ES-5	-	+++	-	-
ES-6	++	-	+++	-
ES-7	+	-	+++	-
ES-8	+++	-	+	+++
ES-9	+	++	+++	+
ES-10	-	-	+	+
ES-11	-	+++	+	-
ES-12	-	+++	++	+
ES-13	+++	+	+	+++
ES-14	+	+	+++	+
ES-15	-	+	+++	++
ES-16	-	+++	+	+
ES-17	++	+++	+	+
ES-18	+	-	+++	+++
ES-19	+	+++	+++	-
ES-20	+	+++	-	-
ES-21	++	+	+++	-

Yapılan moleküler tanı analizleri sonucunda 21 aktif PGPR/PGPB izolatının 16S rRNA gen bölgeleri NCBI veri tabanında değerlendirilmiş ve izolatlara ait bulgular Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4. Seçilen Bakteriyel İzolatların Tanı Bulguları

Örnek Kodu	Değerlendirilen Baz Sayısı	% Eşleşme	Tanı
ES-1	++	100	<i>Bacillus subtilis</i>
ES-2	+	100	<i>Bacillus sp.</i>
ES-3	+++	100	<i>Rhizobium sp.</i>
ES-4	+++	100	<i>Rhizobium sp.</i>
ES-5	-	100	<i>Exiguobacterium sp.</i>
ES-6	++	100	<i>Bacillus megaterium</i>
ES-7	+	100	<i>Bacillus atrophaeus</i>
ES-8	+++	100	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
ES-9	+	100	<i>Acinetobacter johnsonii</i>
ES-10	-	100	<i>Bacillus simplex</i>
ES-11	-	99	<i>Bacillus sp.</i>
ES-12	-	100	<i>Bacillus cereus</i>
ES-13	+++	100	<i>Bacillus atrophaeus</i>
ES-14	+	99	<i>Acinetobacter sp.</i>
ES-15	-	99	<i>Enterococcus sp.</i>
ES-16	-	100	<i>Bacillus sp.</i>
ES-17	++	100	<i>Bacillus atrophaeus</i>
ES-18	+	100	<i>Enterococcus sp.</i>
ES-19	+	100	<i>Bacillus sp.</i>
ES-20	+	100	<i>Bacillus sp.</i>
ES-21	++	100	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>

Soğuk bir gezegen olan Dünya'mızdaki biyosferin yaklaşık %85'inin sürekli olarak 5 °C'nin altındaki sıcaklıklara maruz kaldığı bilinmektedir. Yer kürenin soğuk habitatları olarak bilinen bu özel ekosistemlere kutuplar (arktik ve antarktik), derin okyanus dipleri ve yüksek dağlar örnek olarak gösterilmektedir. Sahip oldukları uç özelliklerden dolayı önceleri bu ekosistemler canlı biyoçeşitliliği yönünden fakir olarak düşünülmüş ve araştırmalarda ihmal edilmiş olsa da günümüzde başta soğuğa adapte mikroorganizmalar olmak üzere yüksek biyoçeşitliliğe sahip oldukları bilinmektedir (Singbaraunah et al. 2014; Koh et al., 2017; Raymond-Bouchard et al., 2018; Tribelli and Lopez, 2018; Karadayi et al., 2021).

Soğuğa adapte mikroorganizmalar soğuk ekosistemlerin sürdürülebilirliğinde hayati bir rol oynar ve bu ekosistemlerin hem florasını hem de faunasını etkiler. Ayrıca bu mikroorganizmalar tarafından geliştirilen adaptasyon mekanizmalarının keşfedilmesi de soğuğa adapte mikroorganizmaların yüksek biyoteknolojik potansiyellerinin kullanıldığı teknolojilerin geliştirilmesi açısından önemlidir. Örneğin, soğuk ortamlarda yaşayan ve optimum büyüme sıcaklıkları $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ile $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında değişen soğuğa adapte mikroorganizmalar ve bunların soğuk aktif ürünleri deterjan endüstrisi, biyoteknoloji, tıbbi ve moleküler tanı, tekstil, biyoremediasyon, atık işleme, gıda üretimi, zirai uygulamalar, madencilik gibi birçok alanda ticari ve endüstriyel öneme sahiptir (Morita,1975; Ruberto *et al.*,2005; Aislabie *et al.*,2006; Lin *et al.*,2009; Singh *et al.*,2012; Struvay and Feller, 2012; Adapa *et al.*,2014; Tomova *et al.*,2015). Özellikle Dünya nüfusuna bağlı olarak artan gıda talebinin önemli bir sorun olduğu günümüzde, zirai uygulamalar alanında soğuğa adapte bitki büyümesini teşvik bakteriler önemli bir yer teşkil etmektedir (Khan and Goel, 2008; Mishra *et al.*, 2012).

Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB) olarak bilinen mikroorganizmalar sahip oldukları azot bağlama, fosfat çözme, bitki büyümesini teşvik edici hormon ya da siderofor üretme gibi çeşitli mekanizmalarla bitki büyümesini ve sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak etkilerler. Başta *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* olmak üzere pek çok bakteri cinsinin çeşitli üyelerinin bitki büyümesine ve gelişmesine yardımcı olan metabolitler sentezleyebildiği ve soğuk ekosistemlerde zirai ürün verimini arttırdığı bilinmektedir (Khan and Goel, 2008; Mishra *et al.*, 2012; Verma *et al.*, 2014).

Bu bilgiler çerçevesinde, gelecekte soğuk aktif biyofertilizer, biyostimulan ve/veya biyoprotektan preparatların endüstriyel üretimine kaynak sağlayacak soğuğa adapte PGPB/PGPR izolatlarının yerli bir kültür koleksiyonunu oluşturmak amacıyla yapılan tez çalışmamızda ülkemizin en soğuk ekosistemlerinden birisi Pakandöken Dağı çalışma alanı olarak seçilmiş ve nihayetinde 21 aktif PGPR/PGPB izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlardan 12 tanesi (ES1, ES2, ES6, ES7, ES10, ES11, ES12, ES13, ES16, ES17, ES19, ES20) *Bacillus* cinsine ait türler olarak tanımlanmıştır (Tablo 4).

Bacillus türleri toprakta en bol bulunan bakteri gruplarından birisidir. Literatürde iyi bilinen azot bağlama, fosfat çözme, fitohormon üretme, siderofor üretme özelliklerinin yanı sıra indüklenmiş sistemik direnç (ISR), biyofilm oluşumu ve lipopeptit üretimi gibi özellikleriyle de bitkilerde biyotik ve abiyotik stres toleransını indükleyen mikroorganizmalardır. Yine agroekosistemlerde etkili bir denitrifikasyon ajanı olarak işlev gördükleri bilinmektedir. Ayrıca biyoremediasyon teknolojilerinde *Bacillus* türleri metalle kirlenmiş toprağı arındırma

işlemlerinde kullanılır (Mahapatra *et al.* 2022). Tez çalışmamızın konusu olan soğuk habitatlar açısından ise *Bacillus* sporları dayanıklı ve uzun ömürlü olmalarıyla zorlu çevre koşulları altında hayatta kalmayı başarırlar (Nicholson *et al.* 2020).

Çalışmamızda ayrıca PGPR/PGPB izolatlarından 2 tanesi (ES3 ve ES4) literatürde önemli azot bağlayıcılar olarak bilinen *Rhizobium* cinsinin üyeleri olarak tanımlanmıştır (Tablo 4). Azot, esas olarak bitkideki ana metabolizmadan sorumlu olan proteinin yapı taşı olarak görev yapan, bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için ihtiyaç duyulan temel elementlerden biridir. *Rhizobium* türleri atmosferik azotu toprağa bağlayarak bitki büyüme gelişmesine katkı sunan önemli PGPR/PGPB türleri olarak kabul edilmektedir. Özellikle baklagillerin köklerinde nodül oluşumu gerçekleştirerek atmosferik azotu bağlama etme yetenekleri uzun zamandan beri bilinmektedir. Bununla birlikte *Rhizobium* türlerinin baklagil olmayan bitkilerde de bitki büyümesini teşvik edici (PGP) aktiviteler sergileyebildikleri yapılan son çalışmalarda görülmüştür (Yanni *et al.*, 1997). Besinlerin mobilizasyonu ve verimli alımı, stres direncinin artırılması, çözünmeyen fosfatların çözünmesi, sistemik hastalık direncinin indüklenmesi, fitohormonların, vitaminlerin (Dobbelaere *et al.*, 2003) ve sideroforların üretimi gibi PGP aktivitelerinde önemli roller üstlenmektedir (Dakora, 2003). Güncel çalışmalarda *Rhizobium* türlerinin toprakta güçlü bitki büyümesini teşvik edici etkilere sahip olduğu bulunmuştur (Xingyan Tan *et al.*, 2019).

ES5 ve ES21 izolatları ise *Exiguobacterium* cinsinin üyeleri olarak tanımlanmıştır. *Exiguobacterium* olağanüstü çeşitliliğe sahip ve çeşitli aşırı ortamlara adapte olma yeteneği yüksek çok yönlü bir cinstir. Literatür bilgileri doğrudan ve dolaylı mekanizmalarla bitki büyümesini teşvik etmesi nedeni ile kimyasal yoğun tarım uygulamalarını en aza indirerek ve sürdürülebilir tarımsal üretimi geliştirmek için çevre dostu biyolojik alternatifler tasarlamada önemli bir kaynak olarak kullanılabilmesine işaret etmektedir (Chauhan *et al.* 2015).

Tezimizde soğuğa adapte PGPR/PGPB türlerinin temsil edildiği bir diğer grup ise *Acinetobacter* cinsidir (ES8, ES9 ve ES14). Literatüre göre *Acinetobacter* cinsinin üyeleri aromatik bileşiklerin mineralizasyonuna katkıda bulunan önemli toprak organizmalarıdır. Bu cinsin üyeleri ayrıca toprak, deniz balıkları, tatlı su balıkları ve sebzeler gibi birçok yerde bulunabilir (Von Graevenitz, 1995). Güncel bir çalışmada Gulati ve arkadaşları (2009) tarafından Hint Himalaya bölgesinin soğuk çöllerinden izole edilen *Acinetobacter rhizosphaerae*'nin rizosferde yetkin bir fosfat çözücü olduğu bildirilmiştir. Yine Rokhbakhsh ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan bir diğer çalışmada *Pennisetum glaucum*'un rizosferinden izole edilen *Acinetobacter* türlerinden iki izolatu (*Acinetobacter* sp. PUCM1007 ve *A. baumannii* PUCM1029) indol asetik asit (10-13 µg/ml) ürettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca

bu çalışmanın mineral çözücü suşları arasında, *A. calcoaceticus* PUCM1006'nın fosfat verimli bir şekilde (84 mg/ml) çözüldüğü de tespit edilmiştir.

Tez çalışmamızda PGPR/PGPB türlerinin bir diğer temsilcisi de *Enterococcus* türleri olmuştur (ES15 ve ES18). *Enterococcus* türleri için olağan ekolojik niş, insanların ve diğer hayvanların bağırsaklarıdır. Ancak enterokoklar toprakta, bitkilerde veya süt ürünleri gibi birçok yerde serbest olarak bulunabilir (Devriese *et al.*, 1995). Güncel çalışmalarda ise tezimizdeki bulguları destekler nitelikte bu cinsin üyelerinin önemli PGPR mekanizmalarına sahip oldukları ve çeşitli ekosistemlerde bitki büyümesini teşvik edici özellik gösterebildikleri rapor edilmiştir (Chandran *et al.* 2021).



SONUÇLAR

Hazırlanan tez çalışması sonucunda Türkiye'nin en önemli soğuk ekosistemlerinden birisi olan Palandöken Dağı'ndan alınan rizosferik ve non-rizosferik toprak örneklerinden toplam 325 bakteriyel izolat elde edilmiştir. Yapılan PGPR analizleri neticesinde ise 47 izolatın azot bağlama, fosfat çözme, IAA üretme ve siderofor üretme PGPR/PGPB aktivitelerinden en az bir tanesini zayıf, orta ya da güçlü seviyede gösterdiği tespit edilmiştir. Bunlar arasından en güçlü 21 tanesi seçilmiş, moleküler tanıları yapılmış ve kültür koleksiyonu hazırlanmıştır.

Tanı verilerine göre kültür koleksiyonunu oluşturan soğuğa adapte PGPR/PGPB izolatlarının 12 tanesi *Bacillus* (ES1, ES2, ES6, ES7, ES10, ES11, ES12, ES13, ES16, ES17, ES19 ve ES20), 2 tanesi *Rhizobium* (ES3 ve ES4), 2 tanesi *Exiguobacterium* (ES5 ve ES21), 3 tanesi *Acinetobacter* (ES8, ES9 ve ES14) ve 2 tanesi de *Enterococcus* (ES15 ve ES18) cinslerine ait türler olmuştur.

Sonuç olarak, tez çalışmamız ile elde edilen soğuğa adapte PGPR/PGPB türleri ile oluşturulan kültür koleksiyonu başta Erzurum olmak üzere soğuk iklim şartlarının etkili olduğu benzer bölgelerde doğal yollarla zirai üretimin artırılmasında kullanılabilecek yerli PGPR/PGPB temelli biyofertilizer, biyostimulan ve biyoprotektan preparatların geliştirilmesi için kaynak sağlayabilecek olmasıyla önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abd-Alla, M. H. (1994). Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar.viceae phosphatases. *Biol. Fertil Soils*. 18, 216-218.
- Abeles, F. B., Morgan, P. W., and Saltveit, M. E. (1992). *Ethylene in Plant Biology*, 2nd Edn. San Diego, CA: AcademicPress.
- Adapa, V., Ramya, L. N., Pulicherla, K. K., and Rao, K. R. S. (2014). Cold active pectinases: advancing the food industry to the next generation. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(5), 2324-2337.
- Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW (2008). Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Can J Microbiol* 54:876–886.
- Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW (2010). Increased plant uptake of nitrogen from ¹⁵N-depleted fertilizer using plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl Soil Ecol* 46:54–58.
- Adesemoye, A.O., Torbert, H., Kloepper, J., (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, 58, 921-929.
- Ahemad M, Kibret M (2013a). Recent trends in microbial biosorption of heavy metals: a review. *Biochem Mol Biol* 1:19–26.
- Ahemad M, Kibret M (2013b). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J King Saud Univ Sci*. doi:10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Ahemad, M., and Khan, M. S. (2012). Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere. *Chemosphere*, 86(9), 945-950.
- Ahemad, M., and Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King saud University-science*, 26(1), 1-20.
- Ahemad, M., Khan, M.S., (2009). Effect of insecticide-tolerant and plant growth promoting Mesorhizobium on the performance of chickpea grown in insecticide stressed alluvial soils. *J. Crop Sci. Biotechnol.* 12, 213–222.
- Ahemad, M., Malik, A., (2011). Bioaccumulation of heavy metals by zinc resistant bacteria isolated from agricultural soils irrigated with wastewater. *Bacteriol. J.* 2, 12–21.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S., (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and *Fluorescent pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29, 29-34.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S., (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol. Res.* 163, 173–181.
- Ahmed, E., Holmström, S.J. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications, *Microbial Biotechnology* 7(3) 196-208.
- Aislabie, J., Saul, D. J., and Foght, J. M. (2006). Bioremediation of hydrocarbon-contaminated polar soils. *Extremophiles*, 10(3), 171-179.

- Albareda, M., Rodriguez-Navarro, DN., Temprano, FJ. (2009). Soybean Inoculation: dose, N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil. *Field Crop Res* 113:352–356.
- Ali, H., Khan, E., Anwar, SM. (2013). Phytoremediation of heavy metals- concepts and applications. *Chemosphere* 91:869–881.
- Alstroem S. (1991). Induction of disease resistance in common beans susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J Gen Appl Microbiol* 37(6):495–501.
- Anayo, O. F., Peter, O. C., Nneji, U. G., Obinna, A., Scholastica, E. C., and Mistura, L. O. (2019). The Beneficial Roles of Pseudomonas in Medicine, Industries, and Environment: A. Pseudomonas Aeruginosa: An Armory Within, 97.
- Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A., ... and Meddich, A. (2020). Biofertilizers as strategies to improve photosynthetic apparatus, growth, and drought stress tolerance in the date palm. *Frontiers in plant science*, 11, 516818.
- Araujo, FF., Hungria, M. (1999). Nodulac,ã o e rendimento de soja co-infectada com Bacillus subtilis e Bradyrhizobium japonicum / Bradyrhizobium elkanii. *Pesq Agropec Bras* 34:1633–1643.
- Arora, N. K., and Verma, M. (2017). Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. *3 Biotech*, 7, 381.
- Asaka, O., and M. Shode. (1996). *Applied Env. Microbiology* 62, 4081-4085.
- Ashraf, M.A., Rasool, M., Mirza, M.S., (2011). Nitrogen Fixation and Indole Acetic Acid Production Potential of Bacteria Isolated from Rhizosphere of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), *Advances in Biological Research*, 6, 348–355.
- Atzorn R., Crozier A., Wheeler C., Sandberg G. (1988). Production of gibberellins and Indole 3-acetic acid by Rhizobium phaseoli in relation to nodulation of Phaseolus vulgaris roots. *Planta* 175:532–538.
- Avis, T. J., Gravel, V., Antoun, H., Tweddell, R. J. (2008). Multifaceted beneficial effects.
- Babalola, O. O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol. Lett.* 32, 1559–1570. doi: 10.1007/s10529-010-0347-0.
- Babu, S., Prasanna, R., Bidiarani, N., Nain, L., and Shivay, Y. S. (2015). Synergistic action of PGP agents and Rhizobium spp. for improved plant growth, nutrient mobilization and yields in different leguminous crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 456-464.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... and Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 1473.,
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... & Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 1473.
- Bakker, P. A. H. M., Ran, L. X., Pieterse, C. M. J. and Van Loon, L. C. (2003). Understanding the involvement of induced systemic resistance in rhizobacteria-mediated biocontrol of plant diseases. *Can. J. Plant Pathol.* 25:5–9.

- Bal, H.B., Das, S., Danger, T.K., Adhya, T.K., (2013). ACC Deaminase and IAA Producing Growth Promoting Bacteria from the Rhizosphere Soil of Tropical Rice Plants, *J. Basic Microbiol.*, 53, 972–984.
- Banik, S. and Dey, B.K., (1982). Available phosphate content of an alluvial soil is influenced by inoculation of some isolated phosphatesolubilizing microorganisms. *Plant Soil* 69, 353– 364.
- Baraúna, R. A., Freitas, D. Y., Pinheiro, J. C., Folador, A. R., and Silva, A. (2017). A proteomic perspective on the bacterial adaptation to cold: integrating OMICs data of the psychrotrophic bacterium *Exiguobacterium antarcticum* B7. *Proteomes*, 5(1), 9.
- Barea, J.M., Pozo, M.J., Azcon, R., Aguilar, C.A., (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56, 1761-1778.
- Bashan Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnol Adv* 16:729–770.
- Bashan, Y., G. Holguin, and L. E. de-Bashan. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003). *Canadian Journal of Microbiology* 50: 521–577.
- Bastián, F., Cohen, A., Piccoli, P., Luna, V., Baraldi, R., Bottini, R. (1998). Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. *Plant Growth Regul* 24:7–11.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., and El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140.
- Belimov, A. A., Kojemiakov, P. A. and Chuvarliyeva, C. V. (1995). Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphatesolubilizing bacteria. *Plant Soil* 173, 29–37.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A. and Passaglia, L.M.P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their Potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* 35 (4): 1044-1051.PMCID: PMC3571425.
- Berry, J. A. and Magoon, A. (1934). Growth of microorganisms at and below 0C. *Phytopathology*, 24, 780-796.
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., and Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 66.
- Bhattacharyya, P.N., Jha, D.K., (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1327–1350.
- Bhattacharyya, P.N., Jha, D.K., (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1327–1350.
- Bishnoi, U. (2018). Agriculture and the dark side of chemical fertilizers. *Environ. Anal. Ecol. Stud*, 3.
- Bishop, M.L, Chang, A.C. and Lee, R.W.K. (1994). Enzymatic mineralization of organic phosphorus in a volcanic soil in Chile. *Soil Sci* 157, 238–243.
- Blumer, C. and Haas, D. (2000). Mechanisms, regulation and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch. Microbiol.* 173 (3):170- 177PMID: 10763748.

- Braud, A., Je'ze' quel, K., Bazot, S., Lebeau, T., (2009). Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-, Hg- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophoreproducing bacteria. *Chemosphere* 74, 280–286.
- Bric, JM., Bostock, RM., Silverstone, SR. (1991). Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl Microbiol* 57:535–538.
- Brown, A. D. (1957). Some general properties of a psychrophilic pseudomonad: the effects of temperature on some of these properties and the utilization of glucose by this organism and *Pseudomonas aeruginosa*.
- Buee, M., De Boer, W., Martin, F., Van Overbeek, L., & Jurkevitch, E. (2009). The rhizosphere zoo: an overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors.
- Buysens, S., Heungens, K., Poppe, J. and Hofte, M. (1996). Involvement of pyochelin and pyoverdinin in suppression of *Pythium*-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa*7NSK2. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (3): 865-871. PMID: 16535275.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W., (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*, 383, 3-41.
- Camerini, S., Senatore, B., Lonardo, E., Imperlini, E., Bianco, C., Moschetti, G., Rotino, G.L., Campion, B., Defez, R., (2008). Introduction of a novel pathway for IAA biosynthesis to rhizobia alters vetch root nodule development. *Arch. Microbiol.* 190, 67–77.
- Cassán, F., Bottini, R., Schneider, G., Piccoli, P. (2001a). *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* hydrolyze conjugates of GA20 and metabolize the resultant aglycones to GA1 in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiol* 125:2053–2058.
- Cassán, F., Lucangeli, C., Bottini, R., Piccoli, P. (2001b). *Azospirillum* spp. Metabolize [17,17-2H2]. Gibberellin A20 to [17,17-2H2]Gibberellin A1 in vivo in dy rice mutant seedlings. *PlantCellPhysiol*,42:763–767.
- Castric, P. (1994). Influence of oxygen on the *Pseudomonas aeruginosa* hydrogen cyanide synthase. *Curr. Microbiol.* 29 (1):19- 21.doi:10.1007/BF01570186.
- Cavicchioli, R., Charlton, T., Ertan, H., Omar, S. M., Siddiqui, K. S., and Williams, T. (2011). Biotechnological uses of enzymes from psychrophiles. *Microbial biotechnology*, 4(4), 449-460.
- Chabot, R., Antoun, H., Cescas, M. P. (1996). Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Plant and Soil*. 184, 311-321.
- Chabot, R., Hani, A. and Cescas, P.M., (1996). Growth promotion of maize and lettuce by phosphate solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. *Plant Soil*. 184, 311–321.
- Chandler, D., Davidson, G., Grant, W.P., Greaves, J., Tatchell, G.M., (2008). Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends Food Sci. Tech.* 19, 275–283.
- Chauhan, H., Bagyaraj, D. J., Selvakumar, G., & Sundaram, S. P. (2015). Novel plant growth promoting rhizobacteria—Prospects and potential. *Applied Soil Ecology*, 95, 38-53.
- Cheng, Z., Park, E., Glick, BR. (2007). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can J Microbiol* 53(7):912–918.

- Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J. (2003). Mechanisms of biological control of phytopathogenic fungi by *Pseudomonas* spp. In *Plant-Microbe Interactions*, ed. G Stacey, NT Keen, 6:173–224. St. Paul, MN: Am. Phytopathol. Soc.
- Chung, H., Par, M., Madhaiyan, M., Seshadri, S., Song, J., Cho, H., Sa, T. (2005). Isolation and characterization of phosphate solubilization bacteria from the rhizosphere of crop plant of Korea. *Soil Biol Biochem* 37:1970–1974.
- Cohen, A., Travaglia, C., Reinoso, H., Piccoli, P., Bottini, R. (2001). Azospirillum inoculation and inhibition of gibberellin and ABA synthesis in maize seedlings under drought. *Proc Plant Growth Regul Soc Am* 28:88–93.
- Collins, T., & Margesin, R. (2019). Psychrophilic lifestyles: mechanisms of adaptation and biotechnological tools. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(7), 2857–2871.
- Cook, R. J. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual review of phytopathology*, 31(1), 53–80.
- Copping, L.G. (2004). *The Manual of Biocontrol Agents*. Alton, Hampshire, UK: Br. Crop Prot. Counc. Publ. 702pp. 3rd ed.
- Cosgrove, L., McGeechan, P.L., Handley, P.S., Robson, G.D. (2010). Effect Of biostimulation and bioaugmentation on degradation of polyurethane buried in soil. *Appl Environ Microbiol* 76:810–819.
- Coutinho, F. P., Felix, W. P., and Yano-Melo, A. M. (2012). Solubilization of phosphates in vitro by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. *Ecological Engineering*, 42, 85–89.
- Crozier, A., Kamiya, Y., Bishop, G., Yokota, T. (2000). Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiology, Rockville, pp 850–929.
- Dakora, F.D. 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. *New Phytology* 158: 39–49.
- Dakora, F.D., Phillips, D.A., (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil* 245, 35–47.
- Dardanelli, M. S., Carletti, S. M., Paulucci, N. S., Medeiros, D. B., Rodriguez Caceres, E. A., Vita, F. A., Bueno, M., Fumero, M. V., and Garcia, M. B. (2010). Benefits of plant growth-promoting rhizobacteria and rhizobia in agriculture. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Plant growth and health promoting bacteria, Microbiology monographs* (Vol. 18, pp. 1–20). Berlin: Springer.
- Darling, C. A. and Siple, P. A. (1941). Bacteria of Antarctica. *J. Bacteriol.*, 42, 83–98.
- Dary, M., Chamber-Perez, M.A., Palomares, A.J., Pajuelo, E. (2010). “In situ” phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. *J Hazard Mater* 177:323–330.
- Data, M., Banish, S. and Gupta, R.K. (1982). Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. *Plant Soil*, 69, 365–373.
- Davies, P.J. (2004). *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- De Freitas, J.R., Banerjee, M.R., Germida, J.J., (1997). Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biol Fertil Soils*, 24, 358–364.

- Devriese, L. A., & Pot, B. (1995). The genus enterococcus. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 327-367). Springer, Boston, MA.
- Dimkpa, C.O., Merten, D., Svatos, A., Büchel, G. and Kothe, E. (2009). Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. *J. Appl. Microbiol.* 107:1687-1696.
- Dobbelaere, S., J. Vanderleyden and Y. Okon. (2003). Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Plant and Soil* 22: 107-149.
- Dodd, I. C., and Ruiz-Lozano, J. M. (2012). Microbial enhancement of crop resource use efficiency. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 236-242.
- Dong, L., Li, Y., Xu, J., Yang, J., Wei, G., Shen, L., and Chen, S. (2019). Biofertilizers regulate the soil microbial community and enhance Panax ginseng yields. *Chinese medicine*, 14(1), 1-14.
- Du Jardin, P., (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14.
- Duffy, B.K. and Défago, G. (1999). Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(Suppl 6): 2429-2438.
- Duncan RR. *Plant-Environment Interactions*. New York: Marcel Dekker; (2000).
- Dutta, S., Podile, AR.xq2 (2010). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone. *Crit Rev Microbiol* 36:232–244.
- Elbadry, M., Taha, RM., Eldougdoug, KA., Gamal-Eldin, H. (2006). Induction of systemic resistance in faba bean (*Vicia faba* L.) to bean yellow mosaic potyvirus (BYMV) via seed bacterization with plant growth promoting rhizobacteria. *J Plant Dis Protect* 113(6):247–251.
- El-Sawah, M.M.A, Hauka, F.I.A. and El-Rafey, H.H. (1993). Study on some enzymes cleaving phosphorus from organic substrates in soil. *J Agric Sci* 18, 2775–2785.
- Fages J. (1992). An industrial view of Azospirillum inoculants—formulation and application technology. *Symbiosis* 13:15–26.
- Fascella, G., Montoneri, E., Ginepro, M., & Francavilla, M. (2015). Effect of urban biowaste derived soluble substances on growth, photosynthesis and ornamental value of *Euphorbia x lomi*. *Scientia Horticulturae*, 197, 90-98.
- Feller, G., and Gerday, C. (1997). Psychrophilic enzymes: molecular basis of cold adaptation. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 53(10), 830-841.
- Feller, G., and Gerday, C. (2003). Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nature reviews microbiology*, 1(3), 200-208.
- Fischer, B. (1888). Bakterienwachstum bei 0° C sowie fiber das Photographiren von Kulturen leuchtender Bakterien in ihrem eigenem Lichte. *Centr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I*, 4,89-92.
- Figueiredo, M.V.B., Seldin, L., Araujo, F.F., Mariano, R.L.R., (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. In: Maheshwari, D.K. (Ed.), *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 21–42.
- Fritsche, W. (1990). *Mikrobiologie*. Gustav Fischer Verlag. Jena.
- Gaby, J. C., & Buckley, D. H. (2012). A comprehensive evaluation of PCR primers to amplify the nifH gene of nitrogenase.

- García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., & Nelson, L. M. (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of microbiology*, 47(5), 404-411.
- García, M. J., Romera, F. J., Lucena, C., Alcántara, E., & Pérez-Vicente, R. (2015). Ethylene and the regulation of physiological and morphological responses to nutrient deficiencies. *Plant Physiology*, 169(1), 51-60.
- Georlette, D., Blaise, V., Collins, T., D'Amico, S., Gratia, E., Hoyoux, A., ... and Gerday, C. (2004). Some like it cold: biocatalysis at low temperatures. *FEMS microbiology reviews*, 28(1), 25-42.
- Glick, B. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41, 109-117.
- Glick, B.R, Changping, L. Sibdas, G. and Dumbroff, E.B. (1997). Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biol Biochem* 29, 1233–1239.
- Glick, B.R., (2012). *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications*. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica.
- Goeschl, J.D., Rappaport, L., and Pratt, H.K. (1966). Ethylene as a factor regulating the growth of pea epicotyls subjected to physical stress. *Plant Physiol.* 41(5): 877–884. doi:10.1104/pp.41.5.877. PMID:16656334.
- Goldstein, A.H., Rogers, R.D. and Mead, G. (1993). Mining by microbe. *Bio/Technology* 11, 1250– 1254.
- Goswami, D., Thakker, J.N. Dhandhukia, P.C., (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Soil and Crop Sciences*, 1-19.
- Gök, M., P. Martin, (1993). Farklı *Rhizobium* bakterileri ile aşılamanın soya, üçgül ve fiğde simbiyotik fiksasyonuna etkisi. *Doğa Tr.j. of Agricultural and Foresty* 17: 7 j j 761.
- Gray, E. J., and Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37, 395–412. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.08.030.
- Gray, E.J., Smith, D.L., (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37, 395–412.
- Gulati A, Vyas P, Rai P, Kasana RC (2009) Plant growth promoting and rhizosphere-competent acinetobacter rhizosphaerae strain BIHB 723 from the cold deserts of the Himalayas. *Curr Microbiol* 58:371–377.
- Gupta, G., Parihar, SS., Ahirwar, NK., Snehi, SK., Singh, V. (2015). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J Microb Biochem Technol* 7: 096-102.
- Gyaneshwar, P., Kumar, G.N, Parekh, L.J., Poole, P.S. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil.* 245, 83-93.
- Haas, D., Keel, C. (2003). Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annu Rev Phytopathol* 41(1):117–153.
- Haberer, G., Kieber, J.J., (2002). Cytokinins. New insights into a classic phytohormone. *PlantPhysiol.* 128, 354–362.

- Hadler, A.K. Chakrabarty, P.K., (1993). Solubilization of inorganic phosphate by *Rhizobium*. *Folia Microbiology*, 38, 325-330.
- Hadler, A.K., Mishra, A.K. Bhattacharyya P. and Chakrabarty, P.K. (1990). Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*.. *J Gen Appl Microbiol* 36, 81–92.
- Hamdan, A. (2018). Psychrophiles: ecological significance and potential industrial application. *South African Journal of Science*, 114(5-6), 1-6.
- Hanchi, H.; Mottawea, W.; Sebei, K.; Hammami, R. The genus *Enterococcus*: Between probiotic potential and safety concerns—An Update. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 1791.
- Handelsman, J. and Stabb, E.V. (1996). Biocontrol of soil-borne plant pathogens. *Plant Cell* 8: 1855-1869.
- Hashim, MA., Mukhopadhyay, S., Sahu, JN., Sengupta, B. (2011). Remediation technologies for heavy metal contaminated ground- water. *J Environ Manag* 92:2355–2388.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I., (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol.* 60, 579–598.
- Helmke, E., and Weyland, H. (2004). Psychrophilic versus psychrotolerant bacteria-occurrence and significance in polar and temperate marine habitats. *Cellular and molecular Biology*, 50(5), 553-561.
- Heydari, S., Moghadam, P.R., Arab, S.M., (2008). Hydrogen cyanide production ability by *Pseudomonas Fluorescence* bacteria and their inhibition potential on weed. In proceedings “Competition for resources in a changing world: New drive for rural development”: 7- 9 October 2008, Tropentag, Hohenheim.
- Hiltner, L. (1904). Über nevere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Boden Bakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundung und Broche. *Arbeit. Deut. Landw. Ges. Berlin*, 98, 59-78.
- Hormaeche, E., & Edwards, P. R. (1960). A proposed genus *Enterobacter*. *International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy*, 10(2), 71-4.
- Huang, S., Peng, B., Yang, Z., Chai, L., Zhou, L. (2009). Chromium accumulation, microorganism population and enzyme activities in soils around chromium-containing slag heap of steel alloy factory. *Trans Nonferrous Met Soc China* 19:241–248.
- Husen, E., (2003). Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities *in vitro*. *Indonesian Journal of Agricultural Sciences*, 4, 27-31.
- Hussain, M. B., Mehboob, I., Zahir, Z. A., Naveed, M., & Asghar, H. N. (2009). Potential of *Rhizobium* spp. for improving growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.). *Soil Environ*, 28(1), 49-55.
- Illmer, P. and Schinner, F. (1992). Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biol Biochem* 24, 389–395.
- Indiragandhi, P., Anandham, R., Madhaiyan, M., Sa, T.M., (2008). Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Curr. Microbiol.* 56, 327–333.
- Iqbal, N., Trivellini, A., Masood, A., Ferrante, A., and Khan, N. A. (2013). Current understanding on ethylene signaling in plants: the influence of nutrient availability. *Plant Physiol. Biochem.* 73, 128–138.
- Itelima, J. U., Bang, W. J., Onyimba, I. A., Sila, M. D., & Egber, O. J. (2018). Bio-fertilizers as key player in enhancing soil fertility and crop productivity: a review.

- Jones, D.L. and Darrah, P.R. (1994). Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. *Plant Soil* 166, 247–257.
- Kalam, S.; Basu, A.; Podile, A.R. Functional and molecular characterization of plant growth promoting *Bacillus* isolates from tomato rhizosphere. *Heliyon* 2020, 6, e04734.
- Kang, B.G., Kim, W.T., Yun, H.S., Chang, S.C., (2010). Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnol. Rep.* 4, 179–183.
- Kang, J.G., Shin, S.Y., Kim, M.J., Bajpai, V., Maheshwari, D.K. and Kang, S.C. (2004). Isolation and anti-fungal activities of 2-Hydroxy-methylchroman-4-one produced by *Burkholderia* sp.MSSP. *J. Antibiot.* 57(11):726-731.
- Kang, S. M., Joo, G. J., Hamayun, M., Na, C. I., Shin, D. H., Kim, H. Y., *et al.*,(2009). Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of *Acinetobacter calcoaceticus* and its effect on plant growth. *Biotechnol. Lett.* 31, 277–281.
- Kang, S. M., Khan, A. L., You, Y. H., Kim, J. G., Kamran, M., and Lee, I. J. (2014). Gibberellin production by newly isolated strain *Leifsonia soli* SE134 and its potential to promote plant growth. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 106–112.
- Karadayi, G., Alaylar, B., Karadayi, M., Gürk.k, S., Aksu, Ş., Egamberdieva, D., Güllüce M., 2021. Biodiversity, Ecological, and Commercial Importance of Psychrophilic Microorganisms. *Microbial Communities and their Interactions in the Extreme Environment*, Ed: D. Egamberdieva, N. K. Birkeland, W. J. Li, H. Panosyan. Singapore, 225-247.
- Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A., (2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 473-480.
- Khan, M., and Goel, R. (2008). Principles, Applications and Future Aspects of Cold-Adapted PGPR. *Plant-Bacteria Interactions: Strategies and Techniques to Promote Plant Growth*, 195-212.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., (2006). Role of phosphatesolubilizing microorganisms in sustainable agriculture – a review. *Agron. Sustain. Dev.* 27, 29–43.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., (2009). Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19.
- Khan, MS., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., Wani, PA. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science.* 56(1): 73-98.
- Kızıloğlu, F. T., (1999). Toprak organizmalarının azot formları arasındaki dönüşümlere ve çevreye etkileri. *Çev-Kor.*, 8: 27-30.
- Kim, J., Rees, D.C., (1994). Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry* 33, 389–397.
- Kirchman, D. L., Morán, X. A. G., and Ducklow, H. (2009). Microbial growth in the polar oceans—role of temperature and potential impact of climate change. *Nature Reviews Microbiology*, 7(6), 451-459.
- Kishore, G. K., Pande, S., and Podile, A. R. (2005). Biological control of collar rot disease with broad spectrum antifungal bacteria associated with groundnut. *Canadian Journal of Microbiology*, 51, 122–132.

- Kloepper, J. W. (1993). Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. *Soil Microbial Ecology*, F. Blasne Metting, J. ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 255-274.
- Kloepper, J.W., (1994). Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems). In: Okon, Y. (Ed.), *Azospirillum/Plant Associations*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 111–118.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, R., Zablotowicz, RM. (1989). Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*. 7(2):39-44.
- Koh, H. Y., Park, H., Lee, J. H., Han, S. J., Sohn, Y. C., and Lee, S. G. (2017). Proteomic and transcriptomic investigations on cold-responsive properties of the psychrophilic Antarctic bacterium *Psychrobacter* sp. PAMC 21119 at subzero temperatures. *Environmental microbiology*, 19(2), 628-644.
- Kremer, R. J. (1994). Determination of soil phosphatase activity using a microplate method. *Comun Soil Sci Plant Anal* 25, 319–325.
- Kremer, R.J. and Kennedy, A.C., (1996). Rhizobacteria as biocontrol agents of weeds. *Weed Technology*, 10, 601-609.
- Kudo, T., Makita, N., Kojima, M., *et al.*,(2012). Cytokinin activity of cis-zeatin and phenotypical alterations induced by overexpression of putative cis-zeatin-O-glucosyltransferase in rice. *Plant Physiol*. 160, 319–331.
- Kumar, K.V., Singh, N., Behl, H.M., Srivastava, S., (2008). Influence of plant growth promoting bacteria and its mutant on heavy metal toxicity in *Brassica juncea* grown in fly ash amended soil. *Chemosphere* 72, 678–683.
- Kumar, V. and Narula, N. (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum*. *Biol Fert Soils*, 28, 301-305.
- Kundu, B.S. and Gaur, A.C. (1984). Rice response to inoculation with N₂-fixing and P-solubilizing microorganisms. *Plant Soil* 79, 227–234.
- Laybourn-Parry, J., and Pearce, D. (2016). Heterotrophic bacteria in Antarctic lacustrine and glacial environments. *Polar Biology*, 39(12), 2207-2225.
- Leach, J. E., Triplett, L. R., Argueso, C. T., and Trivedi, P. (2017). Communication in the phytobiome. *Cell* 169, 587–596.
- Leclere, V., Bechet, M., Adam, A., Guez, J.S., Wathelet, B., Ongena, M., Thonart, P., (2005). Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4577–4584.
- Li, Y., Liu, X., Hao, T., and Chen, S. (2017). Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1253.
- Lin, X., Yang, B., Shen, J., and Du, N. (2009). Biodegradation of crude oil by an Arctic psychrotrophic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. P29. *Current microbiology*, 59(3), 341-345.
- Liu, L., Kloepper, J.W., Tuzun, S. (1995). Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695–698.
- Liu, T.S., Lee, L.Y., Tai, C.Y., Hung, C.H., Chang, Y.S., Wolfram, J.H., Rogers R. and Goldstein, A.H. (1992). Cloning of an *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic

- acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB101. *J Bacteriol* 174, 5814–5819.
- Loper, J.E and Gross, H. (2007). Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 265-278.
- Lorck, h. (1948). production of hydrocyanic acid by bacteria. *physiol. plant.*1: 142-146.
- Lucas Garcia, J. A., A. Probanza, B. Ramos, N. Ruiz Palomino, and F. J. Gutierrez Manero. (2000). Effects of inoculation with PGPR on seedling Growth of Different tomato and Pepper Varieties in Axenic Conditions. Fifth International PGPR Workshop, 29 October - 3 November, 2000, Cordoba- Argentina.
- Lucas, J. A., García-Cristobal, J., Bonilla, A., Ramos, B., & Gutierrez-Manero, J. (2014). Beneficial rhizobacteria from rice rhizosphere confers high protection against biotic and abiotic stress inducing systemic resistance in rice seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 44-53.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F. (2009). Plant-growthpromoting bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63:541- 556.
- Lugtenberg, B.J.J., Dekkers, L. and Bloemberg, G.V. (2001). Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 39:461-490.
- Lynch, J. M. (1976). Products of soil microorganisms in relation to plant growth. *Crit. Rev. Microbiol.* 5: 67-107.
- Lynch, J. P., and Brown, K. M. (1997). Ethylene and plant responses to nutritional stress. *Physiol. Plant.* 100, 613–619. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb03067.x
- MacMillan, J. (2002). Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi and bacteria. *J. Plant Growth Reg.* 20, 387-442.
- Mahanty, T.; Bhattacharjee, S.; Goswami, M.; Bhattacharyya, P.; Das, B.; Ghosh, A.; Tribedi, P. Biofertilizers: A potential approach for sustainable agriculture development. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2017, 24, 3315–3335.
- Mahapatra, S., Yadav, R., & Ramakrishna, W. (2022). *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Journal of Applied Microbiology*, 132(5), 3543-3562.
- Mapelli, F., Marasco, R., Rolli, E., Barbato, M., Cherif, H., Guesmi, A., Ouzari, I., Daffonchio, D., Borin, S., (2013). Potential for Plant Growth Promotion of Rhizobacteria Associated with *Salicornia* Growing in Tunisian Hypersaline Soils, *BioMed Research International*, 2013:13.
- Margesin, R., and Collins, T. (2019). Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(6), 2537-2549.
- Margesin, R., and Miteva, V. (2011). Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. *Research in microbiology*, 162(3), 346-361.
- Martin, G.C. (1983). The biochemistry and physiology of gibberellins, vol. 2, p. 395-444. In A. Crozier (ed.). Praeger, New York, USA.
- Martin, R.C., Mok, M.C., Habben, J.E., *et al.*, (2001). A maize cytokinin gene encoding an O-glucosyltransferase specific to cis-zeatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 5922–5926.
- Martinez-Viveros, O., Jorquera, M.A., Crowley, D.E., Gajardo, G., Mora, M.L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J Soil Sci Plant Nutr* 10:293–319.

- McCue, P., Zheng, Z., Pinkham, J.L., Shetty, K. (2000). A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. *Proc Biochem* 35:603–613.
- McKenzie, R.H., Roberts, T.L., (1990). Soil and fertilizers phosphorus update. In: Proceedings of Alberta Soil Science Workshop Proceedings, Feb. 20–22, Edmonton, Alberta, pp. 84–104.
- McKeon, T.A., Fernandez-Maculet, J.C., and Yang, S.F. (1995). Bio-synthesis and metabolism of ethylene. In *Plant hormones: phy-siology, biochemistry, and molecular biology*. Edited by P.J.Davies. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Nether-lands. pp. 118–139.
- Meena, M., Swapnil, P., Divyanshu, K., Kumar, S., Tripathi, Y. N., Zehra, A., and Upadhyay, R. S. (2020). PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. *Journal of Basic Microbiology*, 60(10), 828-861.
- Mendes, R., Kruijt, M., Bruijin, I.D., Dekkers, E., Voort, M.V.D., Schneider, J.H.M., Piceno, Y.M., DeSantis, T.Z., Andersen, G.L., Bakker, P., Raaijmakers, J.M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacterial. *Science* 332:1097–1100. doi: 10.1126/science.1203980.
- Merzaeva, O.V., Shirokikh, I.G., (2006). Colonization of plant rhizosphere by actinomycetes of different genera. *Microbiology* 75, 226–230.
- Mesterházy, Á., Oláh, J., and Popp, J. (2020). Losses in the grain supply chain: Causes and solutions. *Sustainability*, 12(6), 2342.
- Miller, C.O., Skoog, F., Okumura, F.S., *et al.*,(1955a). Structure and synthesis of kinetin. *J. Am.Chem. Soc.* 78, 2662–2663.
- Miller, C.O., Skoog, F., Von Saltza, M.H., *et al.*,(1955b). *J. Am. Chem. Soc.* 77, 1392.
- Miransari, M., (2011). Soil microbes and plant fertilization. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92, 875-885.
- Mire, G.L., Nguyen, M.L., Fassotte, B., du Jardin, P., Verheggen, F., Delaplace, P., Jijakli, M. H., (2016). Implementing plant biostimulants and biocontrol strategies in the agroecological management of cultivated ecosystems. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 20 (S1), 299-313.
- Mishra, P. K., Bisht, S. C., Bisht, J. K., and Bhatt, J. C. (2012). Cold-tolerant PGPRs as bioinoculants for stress management. In *Bacteria in agrobiolgy: stress management* (pp. 95-118). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Misra, N., Gupta, G., Jha, P.N. (2012). Assessment of mineral phosphate- solubilizing properties and molecular characterization of zinc- tolerant bacteria. *J Basic Microbiol* 52:549–558.
- Miyawaki, K., Matsumoto-Kitano, M., Kakimoto, T., (2004). Expression of cytokinin biosyn - thetic isopentenyltransferase genes in Arabidopsis: tissue specificity and regulation byauxin, cytokinin, and nitrate. *Plant J.* 37, 128–138.
- Mok, D.W., Mok, M.C., (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu. Rev. Plant Biol.* 52,89–118.
- Mok, MC. (1994). Cytokinins and plant development-an over-view. In: Mok DWS, Mok MC (eds) *Cytokinins: Chemistry,Activity, and Function*. CRC Press, Boca Raton, Florida,pp 155–166.

- Monib, M., Hosny, I. and Besada, Y.B. (1984). Seed inoculation of castor oil plant (*Ricinus communis*) and effect on nutrient uptake. *Soil Biol Conserv Biosphere* 2, 723–732.
- Morgan, P. W., and Drew, M. C. (1997). Ethylene and plant responses to stress. *Physiol. Plant.* 100, 620–630.
- Morgan-Kiss, R. M., Priscu, J. C., Pockock, T., Gudynaite-Savitch, L., and Huner, N. P. (2006). Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, 70(1), 222-252.
- Morita, R. Y. (1975). Psychrophilic bacteria. *Bacteriological reviews*, 39(2), 144-167.
- Morris, R.O. Genes specifying auxin and cytokinin biosynthesis in phytopathogens. *Annual Rev Plant Physiol.* 1986; 37: 509-538.
- Muthezhilan, R., Sindhuja, B.S., Hussain, A.J., Jayaprakashvel, M., (2012). Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Sand Dunes of Chennai Coastal Area, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15, 795–799.
- Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M., Arshad, M., (2007). Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Can. J. Microbiol.* 53, 1141–1149.
- Nam, E., and Ahn, J. (2011). Antarctic marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. KNOUC808 as a source of cold-adapted lactose hydrolyzing enzyme. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 927-936.
- Nautiyal, C. S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R. and Verma, D. (2000). Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microb Lett* 182, 291-296.
- Negi, Y.K., Garg, S.K., Kumar, J., (2005). Cold-tolerant *Fluorescent pseudomonas* isolates from Garhwal Himalayas as potential plant growth promoting and biocontrol agents in pea. *Current Sciences*, 1, 89-25.
- Neilands, J.B. (1989). Siderophore systems of bacteria and fungi. In: Doyle, R.J. (Eds), *Metal Ions and Bacteria*. John Wiley and Sons, New York. 141- 163.
- Neubauer, U., Furrer, G., Kayser, A., Schulin, R., (2000). Siderophores, NTA, and citrate: potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation. *Int. J. Phytoremediation* 2, 353–368.
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J., & Setlow, P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(3), 548-572.
- Nishijima, T., M. Koshioka, H. Yamazaki, and L.N. Mander. (1995). Endogenous gibberellins and bolting in cultivars of Japanese radish. *Acta Hort.* 394, 199-206
- Nogales, J., Palsson, B. Ø., and Thiele, I. (2008). A genome-scale metabolic reconstruction of *Pseudomonas putida* KT2440: iJN746 as a cell factory. *BMC systems biology*, 2(1), 1-20.
- Ogas, J. (2000). Gibberellins. *Cur. Biol.* 10, R48-R48.
- Okeke, B. C. (2008). Bioremoval of hexavalent chromium from water by a salt tolerant bacterium, *Exiguobacterium* sp. GS1. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(12), 1571-1579.

- Parray, J.A.; Jan, S.; Kamili, A.N.; Qadri, R.A.; Egamberdieva, D.; Ahmad, P. Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria. *J. Plant Growth Regul.* 2016, 35, 877–902.
- Patni, B., Panwar, A. S., Negi, P., and Joshi, G. K. (2018). Plant growth promoting traits of psychrotolerant bacteria: A boon for agriculture in hilly terrains. *Plant Science Today*, 5(1), 24-28.
- Patten, C.L., Glick, B.R., (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3- acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42, 207–220.
- Pérez-Montaño, F.P., Alías-Villegas, C., Bellogín, R.A., del Cerro, P., Espuny, M.R., Jiménez-Guerrero, I., López-Baena, F.J., Ollero, F.J., Cubo, T., (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiological Research*, 169, 325-336.
- Perneel, M., D’hont, L., De, Maeyer, K., Adiobo, A., Rabaey, K. and Hofte M. (2008). Phenazines and biosurfactants interact in the biological control of soil-borne diseases caused by *Pythium* spp. *Environ Microbiol* 10:778-788.
- Piccoli, P., Masciarelli, O., Bottini, R. (1999). Gibberellin production by *Azospirillum lipoferum* cultured in chemically-defined medium as affected by oxygen availability and water status. *Symbiosis* 27:135–146.
- Pierik, R., Tholen, D., Poorter, H., Visser, E.J. and Voesenek, L.A. (2006). The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. *Trends plant sci.* 11, 176-183.
- Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., VanWees, S.C. and Bakker, P.A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol* 52:347-375.
- Piette, F., D'Amico, S., Mazzucchelli, G., Danchin, A., Leprince, P., and Feller, G. (2011). Life in the cold: a proteomic study of cold-repressed proteins in the Antarctic bacterium *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125. *Applied and environmental microbiology*, 77(11), 3881-3883.
- Podile, A. R., and Kishore, G. K. (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria. In S. S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant-associated bacteria* (pp. 195–230). Dordrecht: Springer.
- Podile, A.R. and Kishore, G.K. (2006). Plant growth promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam, S.S.(Ed.), *Plant-Associated Bacteria*. Springer, The Netherlands, ISBN 978-1-4020-4538-7, pp. 195-230.
- Principe, A., Alvarez, F., Castro, M., Zachi, L., Fischer, S., Mori, G., Jofr, E., (2007). Biocontrol and PGPR features in native strains isolated from saline soils of Argentina. *Current Microbiology*, 55, 314–322.
- Rai, A., Nabti, E. (2017). Plant Growth-Promoting Bacteria: Importance in Vegetable Production. *Microbial Strategies for Vegetable Production*. pp: 23–48. doi:10.1007/978-3-319-54401-4_2.
- Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M.N.V., Freitas, H., (2010). Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* 28, 142-149.
- Ram, R.L., Maji, C., Bindroo, B.B., (2013). Role of PGPR in different crops-an overview. *Indian J. Seric.* 52(1):1-13.
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R. (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot* 20:1–11.

- Ramos Solano, B., Barriuso Maicas, J., Gutiérrez Mañero, F.J. (2008). Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Plant-Bacteria Interactions*. pp: 41 - 54.
- Rana, A., Kabi, S. R., Verma, S., Adak, A., Pal, M., Shivay, Y. S., Prasanna, R., and Nain, L. (2015). Prospecting plant growth promoting bacteria and cyanobacteria as options for enrichment of macro and micronutrients in grains in rice wheat cropping sequence. *Cogent Food and Agriculture*, 1, 10373–10379.
- Raymond, J., Siefert, J.L., Staples, C.R., Blankenship, R.E., (2004). The natural history of nitrogen fixation. *Mol. Biol. Evol.* 21, 541– 554.
- Raymond-Bouchard, I., Goordial, J., Zolotarov, Y., Ronholm, J., Stromvik, M., Bakermans, C., and Whyte, L. G. (2018). Conserved genomic and amino acid traits of cold adaptation in subzero-growing Arctic permafrost bacteria. *FEMS microbiology ecology*, 94(4), fiy023.
- Reddy, B.P., Rao, K.S., (2009). Biochemical and PCR-RAPD characterization of *Pseudomonas fluorescent* produced antifungal compounds inhibit the rice fungal pathogens *in vitro*. *Electronic Journal of Environmental Agriculture and Food Chemistry*, 8, 1062-1067.
- Richardson, A.E., Barea, J.M., McNeill, A.M., Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321: 305-339.
- Riggs, P.J., Chelius, M.K., Iniguez, A.L., Kaeppler, S.M., Triplett, E.W. (2001). Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. *Aust J Plant Physiol* 28:829–836.
- Robin, A., Vansuyt, G., Hinsinger, P., Meyer, J.M., Briat, J.F. and Lemanceau, P. (2008). Iron Dynamics in the rhizosphere: consequences for plant health and nutrition. *Adv. Agron.* 99:183-225.
- Rokhbakhsh-Zamin, F., Sachdev, D., Kazemi-Pour, N., Engineer, A., Pardesi, K. R., Zinjarde, S., ... & Chopade, B. A. (2011). Characterization of plant-growth-promoting traits of *Acinetobacter* species isolated from rhizosphere of *Pennisetum glaucum*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(6), 556-566.
- Romerio, R. S. (2000). Preliminary results on PGPR research at the Universidade federal de vicosa, Brazil. Fifth International PGPR Workshop, 29 October – 3 November, 2000, Cordoba-Argentina.
- Ruberto, L. A., Vazquez, S., Lobalbo, A., and Mac Cormack, W. P. (2005). Psychrotolerant hydrocarbon-degrading *Rhodococcus* strains isolated from polluted Antarctic soils. *Antarctic Science*, 17(1), 47-56.
- Rubio, L.M., Ludden, P.W., (2008). Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase. *Annu. Rev. Microbiol.* 62, 93– 111.
- Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Wei, H. X., Paré, P. W., and Kloepper, J. W. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(8), 4927–4932.
- Sagar, A., Sayyed, R. Z., Ramteke, P. W., Sharma, S., Marraiki, N., Elgorban, A. M., & Syed, A. (2020). ACC deaminase and antioxidant enzymes producing halophilic *Enterobacter* sp. PR14 promotes the growth of rice and millets under salinity stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(9), 1847-1854.

- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., and Tribedi, P. (2016). Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 3984–3999.
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., Bhatti, A.S. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 34(10): 635–648.
- Salt, D. E., Smith, R., Raskin, I. (1998). Phytoremediation, *Ann. Rev. Plant Physiol Plant Mol Biol* 49,643-668.
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L.I.A., Estelle, M., (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chem. Biol.* 5, 301–307.
- Sattar, A., Naveed, M., Ali, M., Zahir, Z. A., Nadeem, S. M., Yaseen, M., ... and Meena, H. N. (2019). Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: A review. *Applied soil ecology*, 133, 146-159.
- Schippers, B. (1988). Biological control of pathogens with rhizobacteria. *Phil. Trans. R. Soc. London B* 318: 283-93.
- Schmidt-NIELSEN, S. (1902). Ueber einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen. *Centr. Bakteriolog. Parasitenk., Abt. II*, 9, 145-147.
- Selvakumar, G., Mohan, M., Kundu, S., Gupta, A.D., Joshi, P., Nazim, S., Gupta, H.S., (2008). Cold tolerance and plant growth promotion potential of *Serratia marcescens* strain SRM (MTCC8708) isolated from flowers of summer squash (*Cucurbita pepo*). *Lett. Appl. Microbiol.* 46,171–175.
- Shafi, J., Tian, H., and Ji, M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: A review. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 31, 1–14.
- Shaharoon, B., Arshad, M., Khalid, A., (2007). Differential response of etiolated pea seedlings to inoculation with rhizobacteria capable of utilizing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate or L-methionine. *J. Microbiol.* 45, 15–20.
- Shaikh, S., and Saraf, M. (2017). Zinc biofortification: Strategy to conquer zinc malnutrition through zinc solubilizing PGPR's. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*, 1(1).
- Shakir, M.A., Bano, A., Arshad, M., (2012). Rhizosphere bacteria containing ACC deaminase conferred drought tolerance in wheat grown under semi-arid climate. *Soil Environ.*, 31 (1):108-112.
- Sheng, X.F., Xia, J.J. (2006). Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere* 64:1036–1042.
- Shridhar, B.S. (2012). Review: nitrogen fixing microorganisms. *Int. J. Microbiol. Res.* 3(1): 46–52.
- Sindhu, S.S., Gupta, S.K., Suneja, S., Dadarwal, K.R. (2002). Enhancement of green gram nodulation and growth by *Bacillus* species. *Biol Plant* 45:117–120.
- Singh, A. K., Sad, K., Singh, S. K., and Shivaji, S. (2014). Regulation of gene expression at low temperature: role of cold-inducible promoters. *Microbiology*, 160(7), 1291-1296.
- Singh, J.S., (2013). Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Potential Microbes for Sustainable Agriculture.
- Singh, N. K., Bezdan, D., Checinska Sielaff, A., Wheeler, K., Mason, C. E., & Venkateswaran, K. (2018). Multi-drug resistant *Enterobacter bugandensis* species isolated from the

International Space Station and comparative genomic analyses with human pathogenic strains. *BMC microbiology*, 18(1), 1-13.

- Singh, P., Hamid, B., Lone, M. A., Ranjan, K., Khan, A., Chaurse, V. K., and Sahay, S. (2012). Evaluation of pectinase activity from the psychrophilic fungal strain *Truncatella angustata*-BPF5 for use in wine industry. *Journal of Endocytobiosis and Cell Research*, 22, 57-61.
- Sivasakthi, S., Usharani, G., and Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: a review. *Afr. J. Agric. Res.* 9, 1265–1277.
- Skrary, F.A. and Cameron, D.C. (1998). Purification and characterization of a *Bacillus licheniformis* phosphatase specific for D-alpha-glycerphosphate. *Arch Biochem Biophys* 349, 27–35.
- Smith, D. L., Gravel, V., and Yergeau, E. (2017). Editorial: signaling in the phytomicrobiome. *Front. Plant Sci.* 8:611.
- Solano, B.R. and Barriuso J. (2009). Biotechnology of the Rhizosphere. DOI: 10.1007/978-1-4419-0194-1_8.
- Somers, E., Vanderleyden, J., Srinivasan, M., (2004). Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol.* 30, 205–240.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., (2011). Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Remans, R., (2007). Indole- 3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, 425–448.
- Staley, T.E., Brauer, D.K. (2006). Survival of a genetically modified root-colonizing *Pseudomonad* and *Rhizobium* strain in an acidic soil. *Soil Sci Soc Am J* 70:1906–1913.
- Strnad, M., (1997). The aromatic cytokinins. *Physiol. Plant* 101, 674–688.
- Struvay, C., and Feller, G. (2012). Optimization to low temperature activity in psychrophilic enzymes. *International journal of molecular sciences*, 13(9), 11643-11665.
- Sun, B., Bai, Z., Bao, L., Xue, L., Zhang, S., Wei, Y., ... & Zhuang, X. (2020). *Bacillus subtilis* biofertilizer mitigating agricultural ammonia emission and shifting soil nitrogen cycling microbiomes. *Environment International*, 144, 105989.
- Sun, D. Q., Hale, L., and Crowley, D. (2016). Nutrient supplementation of pinewood biochar for use as a bacterial inoculum carrier. *Biol. Fertil. Soils* 52, 515–522.
- Sundara, B., Natarajan, V. and Hari, K., (2002). Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crop Res*, 77 (1), 43-49.
- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F. (2004). Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*.
- Takei, K., Takahashi, T., Sugiyama, T., *et al.*,(2002). Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin. *J. Exp. Bot.* 53, 971–977.
- Takei, K., Ueda, N., Aoki, K., *et al.*,(2004). AtIPT3 is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 45, 1053–1062.
- Tamer, A.Ü., Şahin, N., İpek, K., Kalmış, E., (1994). Ekosistemlerdeki azot devrinde mikroorganizmaların yeri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 3:8-11.

- Tan, X., Liao, H., Shu, L., & Yao, H. (2019). Effect of different substrates on soil microbial community structure and the mechanisms of reductive soil disinfestation. *Frontiers in microbiology*, 10, 2851.
- Tank, N., Saraf, M., (2009). Enhancement of plant growth and decontamination of nickelspiked soil using PGPR. *J. Basic Microbiol.* 49, 195–204.
- Tarkowska, D., Dolezal, K., Tarkowski, P., *et al.*,(2003). Identification of new aromatic cytokinins in *Arabidopsis thaliana* and *Populus x canadensis* leaves by LC-(+) ESI-MS and capillary liquid chromatography/frit-fast atom bombardment mass spectrometry. *Physiol. Plant* 117, 579–590.
- Tehei, M., Zaccai, G. (2005). Adaptation to extreme environments: macromolecular dynamics in complex systems. *Biochim Biophys Acta* 1724: 404–410.
- Thaller, M.C., Berlutti, F., Schippa, S., Iori, P. Passariello C. and Rossolini, G.M. (1995). heterogeneous patterns of acid phosphatases containing low-molecular-mass Polipeptides in members of the family Enterobacteriaceae.. *Int J Syst Bacteriol* 4, 255–261.
- Tian, F., Ding, Y., Zhu, H., Yao, L., Du, B. (2009). Genetic diversity of siderophore-producing bacteria of tobacco rhizosphere. *Braz. J. Microbiol.* 40 (Suppl 2): 276-284.
- Tomova, I., Stoilova-Disheva, M., Lazarkevich, I., and Vasileva-Tonkova, E. (2015). Antimicrobial activity and resistance to heavy metals and antibiotics of heterotrophic bacteria isolated from sediment and soil samples collected from two Antarctic islands. *Frontiers in Life Science*, 8(4), 348-357.
- Trewavas, A. (2000). Signal perception and transduction. In: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiology, Rockville, pp.930–987.
- Tribelli, P. M., and López, N. I. (2018). Reporting key features in cold-adapted bacteria. *Life*, 8(1), 8.
- Umesha, S., Singh, P.K., Singh, R.P. (2018). Microbial Biotechnology and Sustainable Agriculture, In: *Biotechnology for Sustainable Agriculture*. pp: 185-205.
- Uyanık, M., Rezaeieh Afshar Pour K., Delen, Y., Gürbüz B. (2011). Baklagillerde Bakteri Aşılması ve Azot Fiksasyonu. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*, 357,8-12.
- Van Loon, L.C., P. A. H. M. Bakker, and C. M. J. Pieterse. (1998). Systemic Resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36: 453-483.
- Vanelsas, J.D., Trevors, J.T., Jain, D., Wolters, A.C., Heijnen, C.E., Vanoverbeek, L.S. (1992). Survival of, and root colonization by, alginate-encapsulated *Pseudomonas fluorescens* cells following introduction into soil. *Biol Fertil Soils* 14:14–22.
- Vassileva, M., Azcon, R., Barea, J. M. and Vassilev, N. (2000). Rock phosphate solubilization by free and encapsulated cells of *Yarrowia lipolytica*. *Proc Bioch*, 35 693-697.
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M. E., Lopez-Cortes, A., Bashan, Y. (2000). Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol Fertil Soils*, 30,460-468.
- Veach, Y.K., Martin, R.C., Mok, D.W., *et al.*,(2003). O-glucosylation of cis-zeatin in maize. Characterization of genes, enzymes, and endogenous cytokinins. *Plant Physiol.* 131,1374–1380.
- Verma, J.P. *et al.*,(2010). Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production. *Int J Agric Res* 5:954–983.

- Verma, P., Yadav, A.N., Kumar, V., Khan, M.A., Saxena, A.K. (2017). Microbes in Termite Management: Potential Role and Strategies. In: Sustainable Termite Management.
- Verma, P., Yadav, A.N., Kazy, SK., Saxena, A.K., Suman, A. (2013). Elucidating the diversity and plant growth promoting attributes of wheat (*Triticum aestivum*) associated acidotolerant bacteria from southern hills zone of India. *Natl J Life Sci* 10 (2): 219-227.
- Vessey, J.K., (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, 571–586.
- Viands, D. R., Barnes, D. K., Frosheiser, F. I. (1980). An association between resistance to bacterial wilt and nitrogen fixation in alfalfa. *Crop Sci.* 20, 699-703.
- Vikram, A., Hamzhezarghani, H., (2008). Effect of phosphate solubilizing bacteria on nodulation and growth parameters of greengram (*Vigna radiata* L. Wilczec). *Res. J. Microbiol.* 3, 62–72.
- Vogel, H. J., and D. M. Bonner. (1956). Acetyl-ornithinase of *Escherichia coli*: partial purification and some properties. *J. Biol. Chem.* 218:97-106.
- Voisard, C., Bull, C. T., Keel, C., Laville, J., Maurhofer, M., Schnider, U., Défago, G., and Haas, D., (1994). Biocontrol of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: current concepts and experimental approaches, in: *Molecular ecology of rhizospheric microorganisms*. F. O'Gara, D. N. Dowling, and B. Boesten ed., VCH, Weinheim, Germany, pp. 69-89.
- Von Graevenitz, A. (1995). *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Manual of clinical microbiology*, 520-532.
- Walker, T.S., Bais, H.P., Grotewold, E., Vivanco, J.M., (2003). Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiol.* 132, 44–51.
- Walker, V., Couillerot, O., Von Felten, A, Bellvert, F., Jansa, J., Maurhofer, Monika., Bally, R., Moëne-Loccoz, Y., Comte, G., (2012). Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus* consortium under field conditions. *Plant Soil*, 356, 151-163.
- Wang, E.T., Martinez-Romero, E. (2000). *Sesbania herbacea*-*Rhizobium huautlense* nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea* - nodulating rhizobia in different environments. *Microb Ecol* 40:25–32.
- Weller, D.M. (1988). Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26, 379-407.
- Weller, D.M., (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. 97, 253.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.F., Ferrer, A., Peigné, J., (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34 (1), 1-20.
- Yadav, K. S., and Dadarwal, K. R. (1997). Phosphate solubilization and mobilization through soil microorganisms. In: *Biot. Appr. Soil Micr. Sust. Crop Prod.* 293–308. *Sci Publis Jodhpur*.
- Yanni, Y.G., R.Y. Rizk, V. Corich, A. Squartini, K. Ninke, S. Philip-Hollingsworth, G. Orgambide, F. de Bruijn, R. Stoltzfus, D. Buckley, T. Schmidt, P.F. Mateos, J.K. Ladha and F.B. Dazzo. (1997). Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. *Plant and Soil* 194: 99-114.

- Yu, X., Li, Y., Zhang, C., Liu, H., Liu, J., Zheng, W., Kang, X., Leng, X., Zha, K., Gu, Y., Zhang, X., Xiang, Q., Chen, Q., (2014). Culturable Heavy Metal-Resistant and Plant Growth Promoting Bacteria in V-Ti Magnetite Mine Tailing Soil from Panzhihua, China, *PloS One*, 9:9.
- Zaidi, A., Khan, M.S., (2005). Interactive effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of wheat. *J. Plant Nutr.* 28, 2079–2092.
- Zakhia, F., Jungblut, A. D., Taton, A., Vincent, W. F., and Wilmotte, A. (2008). Cyanobacteria in cold ecosystems. In *Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology* (pp. 121-135). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Zehnder, G.W., Murphy, J.F., Sikora, E.J. and Kloepper, J.W. (2001). Application of rhizobacteria for induced resistance. *Eur. J. Plant. Pathol.* 107:39-50.
- Zhao, Y., Christensen, S.K., Fankhauser, C., Cashman, J.R., Cohen, J.D., Weigel, D., Chory, J. (2001). A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science* 291:306–309.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Emrah SATICI
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	
Almanca:	
Rusça:	
Diğer	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	