



**BITKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
AKTİNOMİSETLER: İZOLASYON, TANI
VE KULLANIM ÖZELLİKLERİ**

Doktora Tezi

Alper DEDE

ESKİŞEHİR, 2020

**BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ AKTİNOMİSETLER: İZOLASYON, TANI
VE KULLANIM ÖZELLİKLERİ**

Alper DEDE

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

(İkinci Danışman: Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN)

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak 2020

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen 1506F534 no.lu proje ve '2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Doktora Burs' programı kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Alper DEDE'nin BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ AKTİNOMİSETLER: İZOLASYON, TANI VE KULLANIM ÖZELLİKLERİ başlıklı tezi 22/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Jüri Üyeleri</u>	<u>Unvan Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN	
Üye	: Prof. Dr. Merih Kıvanç	
Üye	: Doç. Dr. Gökalg İŞCAN	
Üye	: Doç. Dr. Yasemin EVRENOSOĞLU	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Fadime ÖZDEMİR KOÇAK	

Prof. Dr. Murat TANIŞLI

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ AKTİNOMİSETLER: İZOLASYON, TANI VE KULLANIM ÖZELLİKLERİ

Alper DEDE

Biyoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2020

Danışman: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

(İkinci Danışman: Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN)

Bakteriler bitki büyüme düzenleyici ve patojenlerle savaşma özellikleri açısından günümüzde sıklıkla çalışılan mikroorganizma gruplarından birisidir. Aktinomisetler miselli, spor oluşturabilen ve sekonder metabolit üretebilme yeteneğinde olan prokaryotik canlılardır. Bacteria domaini içinde yer alan aktinomisetlerin özellikle antibiyotik üretiminde önemini ortaya koyan çok sayıda çalışma olmasına rağmen, bitki büyümesini düzenleyici-teşvik edici özellikleri üzerinde yapılan çalışmalar sayıca daha azdır.

Bu çalışmada, Türkiye için ticari öneme sahip olan zeytin (*Olea europaea* L.) ve ceviz (*Juglans regia* L.) ağaçlarının rizosfer topraklarından ve bitki bölümlerinden hem serbest hem de endofitik aktinomiset izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan aktinomisetlerin bitki büyümesini düzenleyici bazı özelliklerinden; fosfat çözebilme, indol-3-asetik asit, siderofor, amonyak, kitinaz, proteaz ve beta-galaktozidaz üretebilme potansiyelleri ile çeşitli bitki patojeni küflere karşı antagonistik etkinlikleri araştırılmıştır.

Çalışmalar sonucunda toplam 422 aktinomiset örneği izole edilmiş, biyogübre olma potansiyelinde olduğu belirlenen 89 aktinomisetin 16S rRNA gen bölgelerinin dizilenmesi sonrası *Streptomyces* spp., *Amycolatopsis* spp., *Micromonospora* spp. ve *Nocardiopsis* spp. olarak tanımlanmıştır. EA12 kodlu aktinomisetin “yeni tip tür” olma potansiyeli polifazik taksonomik testler ile kanıtlanmıştır. Ayrıca bazı aktinomisetler, buğday tohumlarının hidroponik çimlendirilmesinde kullanılmış ve bitki büyümesini, kök ve gövde büyümesi bakımından geliştirdiği gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Aktinomiset, Bitki büyümesini düzenleyici bakteriler (BBDB), Hidroponik üretim, Polifazik taksonomi, Biyogübre.

ABSTRACT

PLANT GROWTH STIMULATING ACTINOMYCETES: ISOLATION, IDENTIFICATION AND VARIES OF USAGE

Alper DEDE

Department of Biology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2020

Supervisor: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

(Co-Supervisor: Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN)

Nowadays bacteria are one of the most frequently studied microorganisms in terms of plant growth-promoting and fighting against different pathogens. Actinomycetes are prokaryotic organisms that produce mycelium, spores and are capable of producing secondary metabolites. Although many studies are demonstrating the importance of actinomycetes in the Bacteria domain, especially in the production of antibiotics there are fewer studies on the regulatory-stimulating properties of plant growth.

In this study, free-living and endophytic actinomycetes were isolated from rhizosphere soil and plant parts of olive (*Olea europaea* L.) and walnut (*Juglans regia* L.) trees which are commercially important agricultural products for Turkey. Some of the properties of purified actinomycetes that regulate the plant growth; phosphate solubilization, indole-3-acetic acid, siderophore, ammonia, chitinase, protease, and beta-galactosidase production potentials and antagonistic activities against various plant-pathogen molds were investigated.

As a result, a total of 422 actinomycetes were isolated and 89 actinomycetes determined to be in possible plant biofertilizers were identified as *Streptomyces* spp., *Amycolatopsis* spp., *Micromonospora* spp. and *Nocardiosis* spp. after the sequencing of their 16S rRNA gene regions. The potential of the EA12 encoded actinomycete to be a “new type species” had been proved by polyphasic taxonomy tests. Moreover, some actinomycetes had been used in hydroponic germination of wheat seeds and it had been shown to improve plant growth in terms of root and stem parts.

Keywords: Actinomycete, Plant growth-promoting bacteria (PGPB), Hydroponic production, Polyphasic taxonomy, Biofertilizer.

TEŞEKKÜR

Doktora tez aşamasını gerçekleştirebilmem için tüm imkan ve olanaklarını kullanımına açan, beni her adım attığım yeni işlerde maddi ve manevi destekleyen sayın Hocam Prof. Dr. Kıymet GÜVEN'e çok teşekkür ederim. Ayrıca tez izleme komitesinde bulunan sayın Hocalarım Prof. Dr. Merih KIVANÇ ve Doç. Dr. Gökâl İŞCAN'a da çok teşekkür ederim. SEM görüntüleme analizlerim sırasında ve manevi olarak bana desteğini esirgemeyen sayın Hocam Dr. Öğr. Gör. Meryem Türkay AYTEKİN AYDIN'a da çok teşekkür ederim.

İkinci danışmanım olan sayın Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN'e deneylerinin gerçekleştirilmesi sırasında gerek laboratuvar, gerekse manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Dr. Öğr. Üyesi Hayrettin Saygın'a kemotaksonomik deneylerin yapılmasında yaptığı yardımlar için çok teşekkür ederim.

2211-C yurtiçi öncelikli alanlar bursu ile doktora sürecimde maddi olarak çalışmamı destekleyen TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımlarını esirgemeyen tüm kişilere (özellikle Dr. Gizem ARIK ve öğretim görevlisi Erdoğan ÇAKIR'a) çok teşekkür ederim.

Örnek toplama aşamasından, laboratuvara taşıma süresine kadar yanımda olan benimle üzümlü, benimle sevinen ağabeyim Fatih DEDE, babam Hasan DEDE ve annem Kevser DEDE'ye hayatımın her aşamasında bana destek olmalarından dolayı tüm kalbimle ve içten duygularıyla teşekkür ederim. Ayrıca ÜSTÜNTANIR ailesi bireyelerine de bana verdikleri tüm destekler açısından tüm kalbimle teşekkür ederim.

Doktora sürem dahilinde benimle evlenmeyi seçerek, aldığım kararların şekillenmesinde; birçok deneysel aşamalarımın çözüme ulaşması sırasında gerek fikir verme, gerek yönlendirme bakımından desteğini her zaman ve her platformda gösteren biricik, tatlı ve bir tanecik eşim, Ayça Fulya ÜSTÜNTANIR DEDE'ye tüm kalbimle ve içten duygularıyla teşekkür ederim.

Alper DEDE

22.01.2020

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Alper DEDE

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitki Mikroorganizma Etkileşimleri	3
1.2. Bitki Büyümesini Düzenleyici Mikroorganizmaların Önemi	5
1.3. Mikroorganizmalar ve Biyogübre Oluşturmadaki Rollerini	7
1.4. Mikroorganizmaların Bitki Gelişimini Düzenleyici (Teşvik Edici) Özellikleri.....	8
1.4.1. İndol -3- asetik asit (IAA) üretimi	8
1.4.2. Fosfat çözünebilirliği	9
1.4.3. Siderofor üretimi.....	9
1.4.4. Amonyak (NH ₃) üretimi	10
1.4.5. Giberellin, sitokin ve etilen üretimi	10
1.4.6. Hidrojen siyanid (HCN) üretimi	11
1.4.7. Aminosiklopropan-1-karboksilik asit (ACC) deaminaz üretimi.....	11
1.4.8. Proteaz aktivitesi.....	11
1.4.9. Kitinaz üretimi	12
1.4.10. β-galaktozidaz üretimi.....	12
1.4.11. Bitki gelişimini destekleyici diğer enzim testleri	13
1.5. Antagonistik Özellikleri	13
1.5.1. Antifungal aktivite	14
1.5.2. Antibakteriyel aktivite.....	14
1.6. Bitki Büyümesini Düzenleyici Bakteriler/ Rizobakteriler (PGPB/PGPR) ...	15

1.7. Bitki Büyümesini Düzenleyici Aktinomisetler	17
1.7.1. <i>Nocardia</i> cinsi aktinomisetler.....	20
1.7.2. <i>Amycolatopsis</i> cinsi aktinomisetler	21
1.7.3. <i>Micromonospora</i> cinsi aktinomisetler.....	21
1.7.4. <i>Streptomyces</i> cinsi aktinomisetler	22
1.7.5. Toprak ve bitki bölümlerinde sık karşılaşılan diğer aktinomiset grupları	23
1.7.6. Antifungal aktivite gösteren aktinomisetler	23
1.7.7. Antibakteriyel aktivite gösteren aktinomisetler.....	24
1.7.8. Farklı şekillerde antagonistik özellik gösteren aktinomisetler	24
1.8. Aktinomisetlerin Polifazik Tanılama Aşamaları	24
1.8.1. Fenotipik karakterlere göre tanılama.....	25
1.8.2. Kemotaksonomik karakterlere göre tanılama	25
1.8.3. Moleküler karakterlere göre tanılama	25
2. MATERTAL ve METOD	26
2.1. Materyal.....	26
2.1.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri.....	26
2.1.1.1. Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi 2 (ISP2) besiyeri, Himedia.....	26
2.1.1.2. Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi 3 (ISP3) besiyeri Himedia.....	26
2.1.1.3. Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi 4 (ISP4) besiyeri, Himedia.....	27
2.1.1.4. Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi 5 (ISP5) besiyeri, Himedia.....	27
2.1.1.5. Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi 6 (ISP6) besiyeri, Himedia.....	27
2.1.1.6. Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi 7 (ISP7) besiyeri, Himedia.....	28
2.1.1.7. Bennet's agar (BNT) besiyeri, Himedia	28
2.1.1.8. Triptik soy agar (TSA) besiyeri, Merck.....	29
2.1.1.9. Nutrient agar (NA) besiyeri, Merck.....	29
2.1.1.10. Modifiye gliserol yeast ekstrakt agar (MGYEA) besiyeri.....	29
2.1.1.11. Aktinomiset izolasyon agar (AIA) besiyeri, Himedia	30
2.1.1.12. Skim milk agar (SMA) besiyeri, Himedia	30
2.1.1.13. Pikovskaya's agar (PA) besiyeri, Himedia	31
2.1.1.14. Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyeri, Himedia	31
2.1.1.15. Peptonlu su (Peptone water-PW) besiyeri, peptonlu su agar (PWA).....	31

2.1.1.16. Modifiye Chrome Azurol S agar (MCAS) besiyeri.....	32
2.1.1.17. Uluslararası Streptomyces projesi 9 (ISP9) besiyeri	32
2.1.1.18. Bazal medium besiyeri.....	32
2.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve ayıraçlar	33
2.1.2.1. Kimyasallar	33
2.1.2.2. Ayıraçlar	33
2.1.3. Çalışmada kullanılan toprak lokaliteleri, bitki bölümleri ve patojenik mikroorganizmalar.....	33
2.2. Metod	36
2.2.1. Toprak ve bitki örneklerinin toplanması	36
2.2.1.1. Toprak örneklerinin toplanması	36
2.2.1.2. Endofitik bakteri izolasyonu için bitki örneklerinin toplanması	36
2.2.2. Aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması	36
2.2.2.1. Endofitik aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması... 36	
2.2.2.2. Toprakta serbest halde bulunan aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması	37
2.2.3. Bitki büyüme düzenleyici testlerin belirlenmesi	37
2.2.3.1. Siderofor üretim testi (SÜT)	38
2.2.3.2. Fosfat çözübilme testi (FÇT)	38
2.2.3.3. İndol -3- asetik asit (IAA) üretim testi.....	38
2.2.3.4. Amonyak üretim testi (AÜT)	38
2.2.4. Bitki büyümesini düzenleyici enzim aktivite testleri	38
2.2.4.1. Proteaz üretim testi (PÜT)	39
2.2.4.2. Beta galaktozidaz üretim testi (β -GÜT).....	39
2.2.4.3. Kitinaz üretim testi (KÜT).....	39
2.2.4.4. API ZYM testi	40
2.2.4.5. API 20E testi.....	40
2.2.5. Antagonistik aktivite testleri.....	40
2.2.6. Aktinomisetlerin yağ asidi analizleri.....	41
2.2.7. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu.....	41
2.2.8. 16S rRNA gen bölgesi çoğaltılması, saflaştırılması ve dizilenmesi.....	42
2.2.9. 16S rRNA gen bölgelerinin analizi ve filogenetik dendogramların oluşturulması.....	43

2.2.10. EA12'nin polifazik yöntemler ile tanımlanması	43
2.2.10.1. Farklı besiyerlerinde üreme potansiyellerinin belirlenmesi	43
2.2.10.2. Temel karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme testleri	43
2.2.10.3. Menakinon (respiratuar izoprenoid) analizleri	44
2.2.10.4. Tüm şeker analizleri	45
2.2.10.5. Polar lipid analizi	45
2.2.10.6. Diaminopimelik asit (DAP) analizi.....	47
2.2.10.7. SEM analizi	47
2.2.11. Bitki büyüme testleri	48
3. BULGULAR.....	50
3.1. Aktinomiset İzolasyonu, Saflaştırılması ve Stoklanması.....	50
3.1.1. Endofitik aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması.....	50
3.1.2. Toprakta serbest halde yaşayan aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması	52
3.2. Bitki Büyüme Düzenleyici Testlerin Belirlenmesi	57
3.2.1. Siderofor üretim testi (SÜT)	57
3.2.2. Fosfat çözebilme testi (FÇT)	58
3.2.3. İndol -3- asetik asit (IAA) üretim testi	58
3.2.4. Amonyak üretim testi (AÜT)	58
3.3. Bitki Büyümesini Düzenleyici Enzim Aktivite Testleri	67
3.3.1. Proteaz üretim testi (PÜT)	67
3.3.2. Beta galaktozidaz üretim testi (β-GÜT).....	67
3.3.3. Kitinaz üretim testi (KÜT).....	67
3.3.4. API 20E testi.....	68
3.3.5. API ZYM testi	68
3.4. Antagonistik Aktivite Testleri.....	69
3.5. Aktinomisetlerin Yağ Asidi Analizleri.....	73
3.6. Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu	78
3.7. 16S rRNA Gen Bölgesi Çoğaltılması, Saflaştırılması Ve Dizilenmesi.....	78
3.8. 16S rRNA Gen Bölgelerinin Analizi ve Filogenetik Dendogramların Oluşturulması	79
3.9. EA12'nin Polifazik Yöntemler İle Tanımlanması.....	84
3.9.1. Farklı besiyerlerindeki üreme potansiyelleri	84

3.9.2. Temel karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme potansiyelleri.....	86
3.9.3. Menakinon (respiratuar izoprenoid) analizi	87
3.9.4. Tüm şeker analizi.....	88
3.9.5. Polar lipid analizi.....	89
3.9.6. Diaminopimelik asit (DAP) analizi.....	89
3.9.7. SEM analizi	90
3.10. Bitki Büyüme Testleri.....	91
4. TARTIŞMA, SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	93
Sonuçlar	103
Öneriler.....	104
Kaynaklar	106
EKLER	133
ÖZGEÇMİŞ	144

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. 2014-2018 yılları arasında dünyada ihtiyaç duyulan gübre miktarları (milyon ton)	6
Çizelge 1.2. 2014-2018 yılları arasında Türkiye’de üretilen gübre miktarları (ton)	6
Çizelge 2.1. ISP2 besiyeri içeriği	26
Çizelge 2.2. ISP3 besiyeri içeriği	26
Çizelge 2.3. ISP4 besiyeri içeriği	27
Çizelge 2.4. ISP5 besiyeri içeriği	27
Çizelge 2.5. ISP6 besiyeri içeriği	27
Çizelge 2.6. ISP7 besiyeri içeriği	28
Çizelge 2.7. BNT besiyeri içeriği	28
Çizelge 2.8. TSA besiyeri içeriği	29
Çizelge 2.9. NA besiyeri içeriği	29
Çizelge 2.10. MGYEA besiyeri içeriği	29
Çizelge 2.11. AIA besiyeri içeriği	30
Çizelge 2.12. SMA besiyeri içeriği	30
Çizelge 2.13. PA besiyeri içeriği	31
Çizelge 2.14. SDA besiyeri içeriği	31
Çizelge 2.15. PWA besiyeri içeriği	31
Çizelge 2.16. Mavi boya içeriği.....	32
Çizelge 2.17. ISP9 besiyeri içeriği	32
Çizelge 2.18. Bazal medium besiyeri içeriği	32
Çizelge 2.19. Toplanılan örneklerin özellikleri ve lokaliteleri	34
Çizelge 2.20. Çalışmada kullanılan bitkiler ve bölümleri	35
Çizelge 2.21. Çalışmada kullanılan patojenik küf (fungi) örnekleri ve özellikleri	35
Çizelge 2.22. 16S rRNA gölgesi için evrensel primerler ile yapılan PCR işlemi basamakları	42
Çizelge 2.23. 16 S rRNA bölgesinin çoğaltılması ve dizileme sırasında kullanılan primerler	42
Çizelge 2.24. Çalışmada kullanılan karbon ve azot kaynakları.....	44
Çizelge 2.25. Hidroponik üretim baz sıvı besiyeri içeriği.....	48

Çizelge 2.26. Hidroponik üretim besiyeri karışımı	49
Çizelge 3.1. Aktinomisetlerin izole edildiği bölgeler ve izolat sayıları	50
Çizelge 3.2. Çeşitli bitki bölümlerinden izole edilen endofitik aktinomisetler ve izole edildikleri bölgeler	51
Çizelge 3.3. Ceviz ağaçlarından izole edilen aktinomisetler	53
Çizelge 3.4 Zeytin ağaçlarından izole edilen aktinomisetler	56
Çizelge 3.5. Endofitik aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve bitki büyümesini destekledikleri enzimatik aktivite testi sonuçları	59
Çizelge 3.6. Ceviz ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları	60
Çizelge 3.7. Zeytin ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları	64
Çizelge 3.8. Endofitik aktinomisetlerin patojenik küfler üzerindeki antifungal aktiviteleri	69
Çizelge 3.9. Ceviz ağacı yüzey bölgesi ve rizosfer bölgesinden izole edilen serbest aktinomisetlerin antifungal aktiviteleri	71
Çizelge 3.10. Zeytin ağacı yüzey bölgesi ve rizosfer bölgesinden izole edilen serbest aktinomisetlerin antifungal aktiviteleri	72
Çizelge 3.11. Aktinomisetlerin yağ asidi metil esterleri profilleri	74
Çizelge 3.12. EA12 (Z.4.K.Y.6) kodlu izolatın en yakın akraba tip türlerle karşılaştırılması	80
Çizelge 3.13. EA12'nin 14 gün 30 C°'de inkübasyon sonrası büyüme ve kültürel karakteristikleri	85
Çizelge 3.14. <i>A. magusensis</i> 'in 14 gün 30 C°'de inkübasyon sonrası büyüme ve kültürel karakteristikleri	86
Çizelge 3.15. Farklı azot ve karbon kaynaklarında meydana gelen üreme özellikleri ...	86
Çizelge 3.16. İncelenen bitki sayıları, ortalamaları, maksimum ve minimum değer aralıkları	92
Çizelge 3.17. Kök ve gövde boylarının SPSS'de analizi sonrası $p>0,05$ 'e göre anlamlılık değerleri	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

- Şekil 1.1.** Bitki ve mikroorganizma etkileşimlerinin şematik görüntüsü
(Berendsen vd., 2012)..... 4
- Şekil 1.2.** Bitki büyüme düzenlenmesinin aşamalarının şematik gösterimi
(Ferreira vd., 2019) 15
- Şekil 1.3.** Evrensel filogenetik ağaç, bu ağaç rRNA gen dizilerinin karşılaştırılması
ile oluşturulmuştur. SEOA= son evrensel ortak ata (Madigan vd., 2018)..... 18
- Şekil 1.4.** Farklı aktinomiset cinslerine ait spor ve misel morfolojileri gösterimleri.
Görseller yeniden düzenlenmiştir (Barka vd., 2016; Li vd., 2016)
A) *Nocardia* cinsi bir bakterinin spor ve misel yapısı, B) *Amycolatopsis*
cinsi bir bakterinin spor ve misel yapısı, C) *Micromonospora* cinsi bir
bakterinin spor ve misel yapısı, D) *Streptomyces* cinsi bakterilerin spor ve
misel yapıları 20
- Şekil 2.1.** Zeytin ağaçlarından yapılan örnekleme bölgeleri 34
- Şekil 2.2.** Ceviz ağaçlarından yapılan örnekleme bölgeleri 35
- Şekil 3.1.** A) 1. Ceviz ağacının yapraklarının sterilizasyonu sonrası, besiyeri üzerinde
üremesi görülen bakteriler. B) 1. Zeytin ağacının kök bölgelerinin
sterilizasyonu sonrası, besiyeri üzerinde üremesi görülen bakteriler. C) 5.
Ceviz ağacının dal parçalarının uygun şartlarda kesilip yüzey sterilizasyonu
yapılmasının ardından besiyeri üzerine yerleştirilmeleri..... 51
- Şekil 3.2.** Farklı besiyerlerinde EA1 kodlu aktinomisetin üreme özellikleri. A) ISP4
besiyerindeki subsrat miselyumu gelişimi, B) ISP4 besiyeri hava
miselyumu gelişimi, C) ISP3 besiyerindeki subsrat miselyumu gelişimi,
D) ISP3 besiyerindeki hava miselyumu gelişimi..... 52
- Şekil 3.3.** Farklı besiyerlerinde C4 kodlu aktinomisetin üreme özellikleri. A) ISP4
besiyerindeki subsrat miselyumu gelişim şekli B) ISP4 besiyeri hava
miselyumu gelişim şekli, C) ISP3 besiyerindeki subsrat miselyumu gelişim
şekli D) ISP3 besiyerindeki hava miselyumu gelişim şekli..... 52
- Şekil 3.5.** Bitki büyümesini düzenleyici özelliklerin tespiti için yapılan bazı testler.
A) Siderofor üretimi pozitif bakteriler sarı halkalar oluşturur. B) Fosfat

çözebilen bakteriler besiyerinde temiz halkalar meydana getiriler. C) IAA üretebilen bakterilerin dış ortamına Salkowski ayırıcı ile muamele edildiğinde pembe renk alırlar. D) Amonyak üretebilen bakteriler Nessler ayırıcı ile muamele edildiğinde kırmızımsı bir turuncu renk almaktadırlar	58
Şekil 3.6. Enzimatik aktivite testleri. A) Proteaz üretimi (şeffaf halkalar), B) Beta galaktozidaz üretimi (sarı renk), C) Kitinaz üretimi (şeffaf halkalar)	68
Şekil 3.7. A) Z21 aktinomiseti ile API 20E testi, B) Z164 aktinomiset örneği ile API ZYM testi.....	68
Şekil 3.8. Farklı aktinomisetlerin farklı patojenik küfler üzerindeki etkileri. 4 numaralı küf <i>Fusarium moniliforme</i> , 6 numaralı küf ise <i>Penicillium notatum</i> 'dur.....	70
Şekil 3.9. EA12 (Z.4.K.Y.6) kodlu izolatin yağ asidi metil esterleri profilleri	73
Şekil 3.10. İzole edilen bazı gDNA'ların agaroz jel elektroforez görüntüsü (%0,8 agaroz konsantrasyonu, Bio-Rad Gel Doc™ EZ imager).	78
Şekil 3.11. İzole edilen bazı gDNA'ların agaroz jel elektroforez görüntüsü (%1,2'lik agaroz jel, Bio-Rad Gel Doc™ EZ).....	79
Şekil 3.12. EA12 kodlu (Z.4.K.Y.6) aktinomisetin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır. 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir. <i>Crossiella samanae</i> dış grup olarak seçilmiştir.....	80
Şekil 3.13. Farklı ceviz ağaçlarının rizosfer bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir	81
Şekil 3.14. Farklı zeytin ağaçlarının rizosfer bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı	

olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir.....	82
Şekil 3.15. Farklı bitki bölümlerinden izole edilen endofitik aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir.....	83
Şekil 3.16. İzole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir.....	84
Şekil 3.17. A) EA12 ve B) <i>A. magusensis</i> bakterilerini farklı besiyerleri üzerinde gösterdiği gelişim özellikleri.....	85
Şekil 3.18. EA12 (A) ve <i>A. magusensis</i> (B) bakterilerin farklı azot kaynakları ile üreme özellikleri.....	87
Şekil 3.19. EA12 (A) ve <i>A. magusensis</i> (B) bakterilerin farklı karbon kaynakları ile üreme özellikleri.....	87
Şekil 3.20. EA12 kodlu izolatın menakinon analizi sonuçları.....	88
Şekil 3.21. EA12 kodlu izolatın tüm şeker analizi sonrası şeker profilleri (1.ve 2. sıralarda standartlar 3. sırada ise EA12 izolatı yüklenmiştir.....	88
Şekil 3.22. EA12 kodlu izolatın polar lipid analizi sonuçları A) Tüm lipidler, B) Gliko grupları, C) Amino grupları, D) Fosfo gruplar, E) Kolin grupları.....	89
Şekil 3.23. EA12 kodlu izolatın DAP analizi sonrası meso-DAP içeriği gözlenmektedir.....	90
Şekil 3.24. EA12 kodlu izolatın taramalı elektron mikroskobu görüntüleri. Görüntüleme 30000 büyütmede gerçekleştirilmiştir. ISP3 besiyeri üzerinde 30 C°'de 14 gün boyunca geliştirilen bakteri morfolojisi.....	90
Şekil 3.25. Farklı aktinomisetlerin buğday tohumu üzerindeki büyüme özellikleri. Cetvel 50 cm uzunluğu göstermektedir. A) EA22 ve bitki besini, B) EA12 ve bitki besini, C) Z167 ve bitki besini, D) C72 ve bitki besini, E) C48 ve bitki besini, F) Z109 ve bitki besini, H) negatif (bitki besini içeren), G) negatif (tohum ve distile su).....	91

Şekil 4.1. Bu çalışmada izole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir..... 100



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
İTU	: İyi Tarım uygulamaları
FAO	: Dünya Gıda Teşkilatı
GDO	: Genetiği değiştirilmiş organizma
cfu/g	: Koloni oluşturan birim / gram
QS	: Quorum sensing
IAA	: İndol-3-asetik asit
<i>ipdc</i>	: İndol-3-pürivat dekarboksilaz
HCN	: Hidrojen siyanid
ACC	: Aminosiklopropan-1-karboksilik asit
β	: Beta
PGPR	: Bitki büyümesini düzenleyici rizobakteriler
PGPB	: Bitki büyümesini düzenleyici bakteriler
iPGPR	: İntraselüler bitki büyümesini düzenleyici rizobakteriler
ePGPR	: Ekstraselüler bitki büyümesini düzenleyici rizobakteriler
PGP	: Bitki büyümesini düzenleyici
G-C	: Guanin-sitozin
Bç	: Baz çifti
SEOA	: Son evrensel ortak ata
PGPA	: Bitki büyümesini düzenleyici aktinomisetler
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DDH	: DNA-DNA hibridizasyonu
ANI	: Ortalama nükleotit benzerliği
ISP	: Uluslararası Streptomyces projesi
BNT	: Bennet
TSA	: Triptik soy agar
NA/ NB	: Nütrient agar / Nutrient broth
MGYEA	: Modifiye gliserol yeast ekstrakt agar
AIA	: Aktinomiset izolasyon agar
SMA	: Skim milk agar
PA	: Pikovskaya's agar

SDA	: Sabouraud dekstroz agar
PW/ PWA	: Peptonlu su/ peptonlu su agar
MCAS	: Modifiye Chrome Azurol S agar
SÜT	: Siderofor üretim testi
FÇT	: Fosfat çözebilme testi
AÜT	: Amonyak üretim testi
PÜT	: Proteaz üretim testi
β-GÜT	: Beta galaktozidaz üretim testi
KÜT	: Kitinaz üretim testi
MIDI	: Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi
KB	: Kilobaz
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
rRNA	: Ribozomal ribo nükleik asit
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
UV	: Ultraviyole
nm	: Nanometre
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
dk	: Dakika
g	: Gram
L	: Litre
ml	: Mililitre
rpm	: Dakika başına devir
C°	: Santrigrat derece
mg	: Miligram
FESEM	: Alan Emisyonlu taramalı elektron mikroskobu
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SPSS	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
<i>chiA</i>	: Kitinaz üretim geni
gyr	: Giraz B
ONPG	: o-nitrofenil- β-D-galaktopiranoz

1. GİRİŞ

Organik tarım, hatalı uygulamalar sonucu kaybolan doğadaki dengeyi yeniden kurmaya yönelik, toprağın verimliliğinde devamlılık sağlayan biyolojik mücadele ile hastalık ve zararlıları kontrol altına alarak, insana ve çevreye dost üretim sistemlerini içeren, sentetik kimyasal gübre ve ilaçların kullanımını yasaklayan, organik ve yeşil gübreleme, ekim nöbeti ve toprak muhafazasını tavsiye eden, üretimden tüketime kadar her aşaması kontrol altında olan ve elde edilen ürünün sertifika ile belgelendiği bir üretim şeklidir (<https://bit.ly/2M3GKR7> erişim tarihi 12.01.2020).

İyi Tarım Uygulamaları (İTU) ise Dünya Gıda Teşkilatı (FAO) tarafından, "tarımsal üretim sisteminin sosyal açıdan yaşanabilir, ekonomik açıdan karlı ve verimli, insan sağlığını koruyan, hayvan sağlık ve refahı ile çevreye önem veren bir hale getirmek için uygulanması gereken işlemler" olarak tanımlanmaktadır. İyi Tarım Uygulamalarının amacı insan sağlığına ve çevreye zarar vermeyecek üretimin yapılmasıdır (<https://bit.ly/2qZztdF> erişim tarihi 12.01.2020). İyi Tarım Uygulamaları ile organik tarım birbirinden farklı üretim yöntemleri uygular. Genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) kullanımının yasak olması, izlenebilirlik, hayvan refahı ile kontrol ve sertifikasyon aşamaları gibi pek çok ortak yönleri olsa da, organik tarımdan farklı olarak, iyi tarım uygulamalarında sentetik kimyasal girdiler (hormonlar, pestisidler dahil tüm bitki koruma ürünleri ve sentetik gübreler) kullanılır. Bu kimyasal girdiler nedeniyle iyi tarım ürünlerinin insan sağlığı, toprak, su kaynakları ve doğa üzerindeki etkileri organik tarım ürünleri ile karşılaştırılmaz (<https://bit.ly/2PXNQYF> erişim tarihi 12.01.2020).

Bakteriler bitki büyüme düzenleyici ve patojenlerle savaşma özellikleri açısından günümüzde sıklıkla çalışılan mikroorganizma gruplarından birisidir. Lokal olarak izole edilen bakterilerin tarımsal üretimi arttırmak için kullanıldığı birçok çalışma vardır (Esitken vd., 2010; Guerrero-Molina vd., 2013; Mirza vd., 2001). Fakat sadece tarımsal üretim arttırımı değil doğru tarımsal üretim şeklini de belirlemek gerekmektedir. Bu sebeple farklı tarım politikalarını uygulama gereksinimi ortaya çıkmaktadır. Türkiye’de gözlenen çalışmalar arasında organik ve iyi tarım uygulamaları öne çıkmaktadır. Havayı, suyu ve toprağı kirletmeden, diğer hastalık ve zararlıların etkisini en aza indirecek tarımsal tekniklerin uygulanmasına organik tarım adı verilmektedir. İyi tarım uygulamalarından farklı olarak herkesin uygulayabileceği bir durumdur. Fakat iyi tarım uygulamaları organik tarım yapılan işletme, arazi, ürün gibi değişkenleri kontrol ederek

halk sağlığının korunduğu bir devlet politikasıdır (<https://bit.ly/2Ekrnzz> erişim tarihi 12.01.2020). Kısacası organik őrın őrutebilmek adına ilgili őrın őrzerinde zararlı olarak nitelendirilen zirai ilaç ve sentetik bryyeme arttırıcı ajanların kullanılmaması gerekmektedir.

Bitki gelişiminin arttırılması, őrzellikle bryyuk iewiczekli tarımsal arazilerde çok iewiczemlidir. Bu amaçla tarımsal araziler őrzerinde kimyasal gubre ve ilaçlar uygulanmakta ve nihayetinde bu biewiczelerde iyi tarım/organik tarım yapılamamaktadır. Bunu iewiczlemek için toprak çeşidine gbre bitki ekimi yapılması ve organik içeriklerin kullanılması gerekmektedir. Bu amaçla toprak ve bitki brynyesinde bulunan ve hem bitki bryyemesini diewiczzenleyebilen hem de patojenlere karşı savaşabilen mikroorganizmaların kullanımı bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır.

Mikroorganizmalar bitki bryyemesini doğrudan ve/veya dolaylı yollarla geliştirme iewiczelliginde olup, “biyogubre” olarak kullanılmaktadırlar (Benidire vd., 2016; Buchholz vd., 2019). Bakteriler bitki hormonu őrutimi, toprakta bulunan içeriklerin bitki tarafından alınabilir forma çevrilmesi, patojenleri engelleyici içeriklerin oluşturulması gibi bitki gelişimini pozitif etkileyen doğrudan etkileri yanında beta galaktozidaz őrutimi, siderofor őrutimi gibi dolaylı etkilere de sahiptir (Esitken vd., 2010; Jha vd., 2012). Yapılan pek çok çalışma ile *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthobacter* cinsi bakterilerin (Bashan vd., 2008; Bashan ve Holguin, 2002; Dodd vd., 2010; Y Ma vd., 2011) bitki bryyemesini diewiczzenleyici-arttırıcı- iewiczellikte olduğu tespit edilmiştir. Endofitik bakteriler de normalde toprak rizosferinde bulunan bakterilerden oluşan bir grup olup, bitki organlarına kiewiczkiler vasıtasıyla girerler ve bitkinin kiewiczk, giewiczvde, dallar, meyve ve iek yapılarında bile bulunabilirler. Patojen olmayıp (Dodd vd., 2010; Rangjaroen vd., 2014), farklı bitki biewiczlelerinde bulunarak bitki patojenleri ile savaşmalarının yanı sıra, birçok endofitik bakterinin bitki bryyemesini diewiczzenleme aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir.

Gynymzde yurt dışında őrutelmif olan bakteriyal solyasyonlar (bitki biyogubresi, advanced nutrients voodoo juice [ileri besin vudu içeriği] 4 litrede 200 milyar bakteri, <https://goo.gl/RyFkEu> erişim tarihi: 15.12.19; bitki biyogubresi, bactogel guerrilla [bakteriyel gerilla] %5 10⁸ cfu/g rizosfer bakterisi <https://goo.gl/3gEHPH> erişim tarihi 12.01.2020) ile tarımsal őrretim arttırılmaya çalışılmaktadır. Bu tip őrrnlerin yurt dışından ithali őrlkemiz ekonomisinde bryyuk kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle yerli biyogubre içeriklerini oluşturacak bakterilerin belirlenmesi iewiczem taşımaktadır.

Türkiye’de zeytin ve ceviz üretimine bakıldığında zeytin üretimi 2017 yılı verilerinde 2,100,000 ton olarak gösterilmiş olup yıllar geçtikçe artan bir üretim grafiğine sahip durumdadır (T.C. Gümrük Ve Ticaret Bakanlığı, 2017 Zeytin ve zeytinyağı üretim raporu, <https://goo.gl/STb6Xh> erişim tarihi 12.01.2020). Ceviz üretimi ise, 2013 yılında yapılan bir araştırmaya göre yıllık 212.140 ton kadar olup gittikçe artan bir ivmeye sahiptir (Şimşek, 2016). Zeytin ve ceviz üretiminde, gübreleme, hastalık ve zararlılarla mücadele gibi teknik ve kültürel uygulamaların yeterli bir şekilde yapılmamasının tarımsal üretimi azaltma potansiyeline karşı önlem alınması gerekmektedir.

Bu nedenlerle bu çalışmanın amaçları; ülkemizde tarımı yoğun olarak yapılan zeytin ve ceviz ağaçlarından serbest ve endofitik aktinomisetlerin izolasyonu, aktinomisetlerin bitki gelişimini düzenleyici özelliklerinin belirlenmesi, antifungal aktivitelerinin belirlenmesi ve moleküler yöntemler ile tanımlanmaları olarak belirlenmiştir.

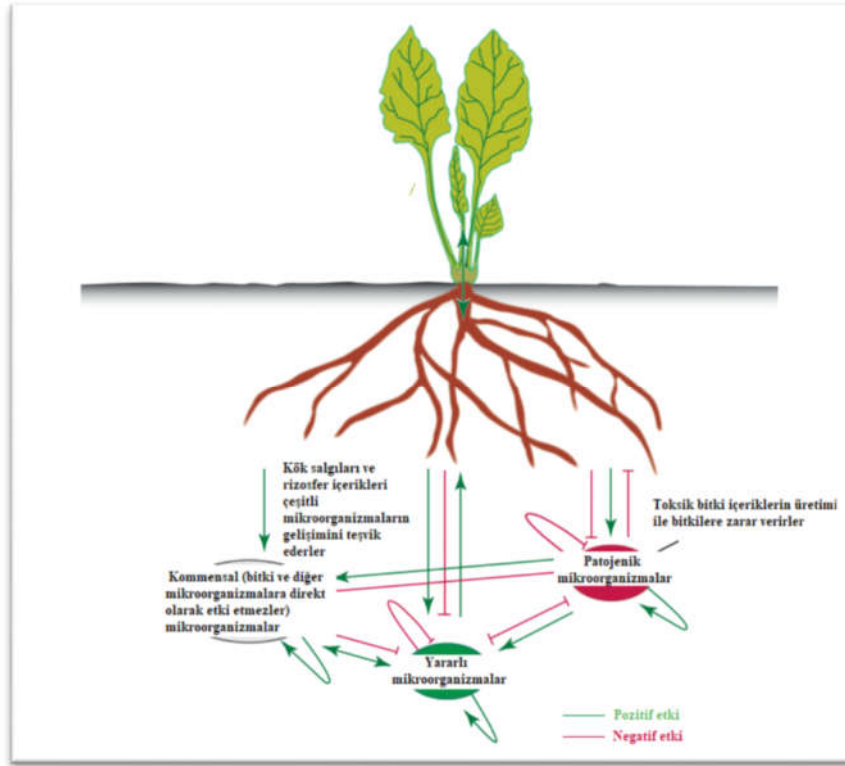
İzole edilen aktinomisetlerin bitkilerin büyümesini teşvik edici özellikleri; indol asetik asit üretimi, siderofor üretimi, çözünmeyen fosfatın parçalanması, amonyak üretimi, beta galaktozidaz üretimi, kitinaz üretimi, proteaz üretimi ve antifungal aktivite testleri ile belirlenmiştir. Moleküler yöntemler kullanılarak, seçilmiş organizmaların cins seviyesinde ayrımı yapılmakla birlikte, filogenetik analizler sonrası yeni tür olma potansiyeline sahip olanlar üzerinde polifazik yaklaşımlar ile tanımlama gerçekleştirilmiştir. Bitki büyüme özellikleri yönünden pozitif olan bazı aktinomisetler seçilerek buğday bitkisi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

1.1. Bitki Mikroorganizma Etkileşimleri

Rizosfer; bitki toprağını saran kök bölgesi ve bunun etrafında bulunan organizmal oluşumların tümü olarak nitelendirilmektedir ve 1904 yılında rizosfer tanımının yapılmasından sonra (Hiltner, 1904), bitki kök sistemi ve bu bölgede oluşan mikrobiyal yük ile ilgili birçok etkileşim mekanizması incelenmiştir ve keşfedilmiştir (Berg, 2009; Dede ve Güven, 2015; Schlaepi ve Bulgarelli, 2015). Bitki tarafından salgılanan musilaj ve diğer kök salguları mikroorganizmalar için besin oluşturmalarından dolayı bu bölgeye doğru pozitif olarak organizmalar çekilmektedirler (Jones vd., 2009) (Şekil 1.1.).

Rizosfer çevresinde etkileşim gösteren mikroorganizmalar yararlı, patojenik veya kommensal olabilirler (Berendsen vd., 2012). Yararlı olarak adlandırılan

mikroorganizmalar bitki ile eş zamanlı olarak bitki yararına doğrudan ve dolaylı olarak çalışan organizmalardır (Lugtenberg ve Kamilova, 2009). Patojenik organizmalar, bitki ve diğer yararlı mikroorganizma gruplarının gelişimini engelleyerek kendi gelişimlerini arttırmaya çalışırlar (Bloemberg ve Lugtenberg, 2001; Srivastava ve Waters, 2012). Kommensal mikroorganizmalar ise diğer organizmaları direk olarak etkilemeden yaşamlarını sürdüren organizmalar olarak isimlendirilebilir (Madigan vd., 2018).



Şekil 1.1. Bitki ve mikroorganizma etkileşimlerinin şematik görüntüsü (Berendsen vd., 2012).

Bitki mikrobiyomu (bitki rizosferi etrafındaki mikroorganizmaların tümü) (Carvalhais vd., 2013) her bitki ve aynı bitkinin farklı toprak yapısı içerisinde bulunmasından dolayı birbirinden farklılık göstermektedir. Patojenik organizmalar doğası gereği yayılımcı özellik gösterdiklerinden daha büyük alanlarda karşımıza çıkabilmektedirler. Fakat belirli bir toprak yapısına sahip özel bir bitkinin mikrobiyomu neredeyse sadece kendine özel olarak gelişim gösterebilir (Berendsen vd., 2012; Schlaeppli ve Bulgarelli, 2015).

Bitki tarafından salgılanan içeriklere çekilen bakterilerin bitkiye doğru hareketleri sonrası birbirleriyle etkileşime geçen mikroorganizmalar, kendi aralarında kurdukları haberleşme ağlarıyla (Quorum sensing-QS) çeşitli biyofilm tabakaları meydana getirebilme potansiyeline sahiptirler. Quorum sensing hem bakteriler, hem de funguslar tarafından sıklıkla kullanılan bir haberleşme ağıdır. Rizosfer tabakasındaki organizmaların yerkürenin biyosfer tabakasında önemli görevleri arasında; parçalanmaya yardımcı hatta parçalanmadan sorumlu olmak (Yanni vd., 1997), bitki gelişimini düzenleyici- arttırıcı ve geliştirici özellikler göstermek (Dede ve Guven, 2018), bitki patojenleri ile savaşmak (Shanmugaiah vd., 2015) ve hatta bitkilerin gelişimini sağlamakla birlikte, dolaylı olarak da olsa ekosistem içerisinde bitkilerin gerçekleştirdiği tüm gelişimsel basamaklardan sorumludurlar.

1.2. Bitki Büyümesini Düzenleyici Mikroorganizmaların Önemi

Bitki büyümesini düzenleyici mikroorganizmaların tüm yaşam bilimleri dalları ile yakından ilgisi bulunmaktadır. Bu organizmalar genel olarak toprak kökenli olduklarından birçok şekilde kullanım alanına sahiptirler. Özellikle antibiyotik üretimi denildiğinde ökaryotik fungus üyeleri ve prokaryotik bakteriler ilk akla gelen organizma gruplarıdır. Bitki gelişimini düzenleme yönünden incelendiklerinde toprakta serbest halde bulunan *Pseudomonas*, *Bacillus* gibi cinsler en fazla rastlanılan bakteriler iken (He vd., 2019), simbiyotik etkileşim göstererek bitki gelişimini sağlayan *Frankia* cinsi aktinomisetler (Benson ve Silvester, 1993), *Rhizobium* bakterileri (Yanni vd., 1997) ilk akla gelen mikroorganizmalardır. Toprakta simbiyotik ilişki olmaksızın serbest halde bulunabilen bakteri grupları ile birçok ticari ürün üretilmekle birlikte, bitki gelişimini arttırıcı olarak tarımsal arazilerde kullanılmaya başlanılmışlardır.

Dünyada ticari kimyasal gübrelerin kullanım oranları incelendiğinde, yıllık olarak tüketilen gübre miktarı 2013 yılında 183 milyon olarak hesaplanmıştır. 2018 yılı sonunda 200 milyon tona ulaştığı gösterilmiştir (Çizelge 1.1.) (<https://bit.ly/36DYAlv> erişim tarihi 12.01.2020).

Çizelge 1.1. 2014-2018 yılları arasında dünyada ihtiyaç duyulan gübre miktarları (milyon ton)

Gübre içeriği*	2014	2015	2016	2017	2018
Azot (N)	113,147	115,100	116,514	117,953	119,418
Fosfat (P ₂ O ₅)	42,706	43,803	44,740	45,718	46,648
Potasyum (K ₂ O)	31,042	31, 829	32,829	33,519	34,456
Toplam	186,895	190,732	793,882	197,190	200,522

* Gübre miktarları, gübre içeriklerinin farklı türevleri olmaksızın gösterilmiştir.

Türkiye’de ise tarımsal gübre (azot, fosfor, potasyum ve türevlerinden üretilen) tüketiminde 2018 verileri açısından incelendiğinde yaklaşık olarak toplamda 19 milyon ton gübre üretilirken, 13 milyon ton tüketildiği kaydedilmiştir. Bu durumda bile dışarıdan ihraç edilen kimyasal gübre miktarı 6 milyon ton olarak karşımıza çıkmaktadır. Azot (N), fosfat (P₂O₅) ve potasyum (K₂O) miktarları ise toplamda yaklaşık 2.1 milyon ton olarak gözlenmektedir (Çizelge 1.2) (<https://bit.ly/2stdWKP> erişim tarihi 12.01.2020). Türkiye’de üretilen ve tüketilen gübre miktarı düşünüldüğünde bu miktar tarımsal arazilere inanılmaz bir yük getirmektedir.

Çizelge 1.2. 2014-2018 yılları arasında Türkiye’de üretilen gübre miktarları (ton)

Gübre içeriği*	2014	2015	2016	2017	2018
Azot (N)	1.492.839	1.486.568	1.896.479	1.764.638	1.527.588
Fosfat (P ₂ O ₅)	570.236	584.569	792.490	754.750	521.058
Potasyum (K ₂ O)	117.167	131.599	118.311	124.945	115.512
Toplam	2.180.242	2.202.735	2.807.280	2.644.333	2.164.158

*Gübre miktarları gübre içeriklerinin farklı türevleri olmaksızın gösterilmiştir.

Tarımsal üretimin devamlı olarak kimyasal gübreler ve diğer içerikler ile desteklenmesi toprak yapısını yıllar boyunca değiştireceğinden bu içeriklerin kullanımı devamlı izlenerek uygun zamanlarda, uygun miktarlarda üretime katılması amaçlanmalıdır. Toprağa ekilen bitkinin bu maddeleri kullanarak ürün meydana getirdiği bir gerçektir. Fakat, bu ürünlerin aşırı kullanımı insan sağlığını olumsuz etkilemektedir (Majumdar ve Gupta, 2000). Organik ve biyogübre içerikli ürünlerin kullanılarak daha sağlıklı ürünlerin üretilmesi tüm zamanların yükselen trendleri arasındadır (Ayoub, 1999; Mahdi vd., 2010). Türkiye’de de organik olarak üretilen gübre üretimi yapan şirketler desteklenmekle birlikte, farklı eğitim birimlerinde de araştırma-geliştirme çalışmaları yapılmaktadır (Cevheri ve Yılmaz, 2016; Tunali vd., 2016). Fakat mikroorganizmaların

kullanıldığı çalışma sayısı çok düşük sayılardadır (Çakmakçı vd., 2016; Fayetörbay vd., 2014; Tunalı vd., 2016).

Kimyasal gübrelerin çok fazla kullanımı sonrası toprakta geri dönüşü olmayan bir birikmeye yol açarak toprak verimini azaltabilmektedir. Bunun önüne geçilebilmesi için mikroorganizma süspansiyonu içeren ürünlerin kullanımı ile birlikte toprak yapısında bulunan bu içeriklerin kullanım oranları arttırmaya yönelik çalışmalar gerçekleştirilir. Örneğin organizmalar azotu toprağa bağlayabilirler (Carberry, 2016), bitki büyüme hormonu üretebilirler (Abd-alla ve Rasmey, 2013), çözünemeyen formdaki fosfatı parçalayabilirler (Tallapragada ve Seshachala, 2012) ve daha birçok farklı özelliğe sahip olabilirler.

Dolayısıyla kimyasal gübreler, herbisitler ya da pestisitlerin kullanımı ile tüm bir tarımsal alan etkilenebileceğinden (Insam, 2001) bu aşamalarda kullanılan içeriklerin organik olarak üretilmesi ve hatta mümkünse o bitkiye uygun organizma grubu içermesi beklenmektedir.

1.3. Mikroorganizmalar ve Biyogübre Oluşturmadaki Roller

Geleneksel organik gübreler yemek atıkları, hayvan gübreleri gibi içerikler ile hazırlanmakla birlikte kimyasal gübreler kadar etkili değildirler (Mishra vd., 2013). Bu yüzden çiftçiler sıklıkla kimyasal gübreler ile bu durumu desteklemeye çalışmaktadırlar.

Biyogübreler ise mikroorganizma süspansiyonu içeren bitki gelişimini arttırıcı içerikler olup, tarımsal uygulamaların en modern ve en iyi uygulamalarından birisidir.

Azospirillum, *Bacillus*, *Trichoderma* gibi farklı cinslere ait mikroorganizmalar ile biyogübre üretimleri gerçekleştirilmiştir. *Azospirillum* cinsleri daha çok azot bağlama yeteneklerinden ötürü Bio-N® isimli ürün ile ticarileştirilmiş iken, *Trichoderma* cinsi ise Bio-Spark® ismiyle, toprak kaynaklı patojenlerin üremesinin durdurulması ve bitki büyümesini geliştirmesi bakımından ticarileştirilmiştir (Bacongus vd., 2012).

Türkiye’de de bazı mikroorganizmalar ile bitki büyümesini düzenleyici içeriklerin üretimi ve kullanımı başlamıştır. Tarım ve Orman Bakanlığına bağlı bir araştırma birimince AZOTEK-1 (*Rhizobium galegae*), AZOTEK-2 (*Rhizobium leguminosarum*) ve AZOTEK-3 (*Rhizobium leucane*) adlarında *Rhizobium* cinsi bakteriler içeren ve nohut,

mercimek, fiğ ve bezelye bitkilerinde ürün arttırıcı özellik sağlayan gübreler üretilmeye başlanmış olup satışı yapılmaktadır (<https://bit.ly/2Pmf4cf> erişim tarihi 12.01.2020).

Alfa tarım adlı firma 3 adet biyolojik gübre üretmektedir: Hadrizom; fosfat çözünmesinde görev alan bakteri ve küflerin kullanıldığı (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus megaterium*, *Penicillium bilaii*, *Trichoderma viridae*) bir karışımdır. Hadrofit; (*Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter chroococum*, *Azotosprillum brezilianse*, *Pseudomonas florescence*) yapraklarda azot bağlama, birçok vitamin üretimi ve bitki büyüme düzenleyicileri sentezleme aktivitesine sahiptir. Hadropoly; verimsizleşen toprakların güçlendirilmesini amaçlayan ve içeriğinde *Arthobacter spp.*, *Azotobacter spp.*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter chroococum*, *Trichoderma viride*, *Penicillium bilaiae*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas florescence* bulunduran bir biyogübredir (<https://bit.ly/30l4Qgc> erişim tarihi 12.01.2020).

Mikroorganizmalar biyogübre olarak kullanılmadan önce bazı bitki gelişimini düzenleyici özelliklerin bir veya daha fazlasına sahip olmalı ki tarımsal kullanımlarda kendilerine bir yer bulabilsinler. Bitki gelişimini düzenleyici özellikleri ise hormonal üretimler, enzim üretimleri ve antagonistik içerik üretimleri olarak ayrılabilir.

1.4. Mikroorganizmaların Bitki Gelişimini Düzenleyici (Teşvik Edici) Özellikleri

Mikroorganizmalar bitki gelişimini birçok yönden düzenleyebilme yeteneğindedirler. Bu organizmalar bitki büyümesini direkt, indirekt ya da her iki şekilde birlikte gerçekleştirebilmektedirler. Direkt etki mekanizmalarına hormon üretimleri verilebilirken, indirekt mekanizmalara ise farklı parçalayıcı enzimler örnek gösterilebilir.

1.4.1. İndol -3- asetik asit (IAA) üretimi

IAA üretimi çeşitli bakteriler tarafından üretilmekle birlikte bitki gelişimini pozitif olarak etkilemektedirler (Dobbelaere vd., 1999). IAA üretimi oksin üretimin öncülü olarak bilinmekte hatta içerik direk olarak oksin olarak isimlendirilmektedir (Chapman ve Estelle, 2009). Oksin hormonu bilinen birkaç bitki hormonundan birisi olup kök ve kökçük gelişiminden sorumludur. Doğal ve sentetik yollarla üretilip bitki büyüme arttırıcısı olarak kullanılmaktadır (Peredo ve Simmons, 2018; Woodward ve Bartel,

2005). Triptofan bağımlı olarak üretilmelerinin yanında triptofan olmaksızın üretim gerçekleştirebilen mutant ırkların varlığı tespit edilmiş durumdadır (Peredo ve Simmons, 2018; Woodward ve Bartel, 2005). Bitki rizosferinden izole edilen bakterilerin %80 kadarı IAA üretim kapasitesine sahiptir. *IpdC* geni indol pürivat dekarboksilazın üretimden sorumlu olup IAA üretiminden sorumludur (Patten ve Glick, 2002). Ayrıca *ibr5* geni içeren mutant ırkın oksin üretimi ile ilgili çok güçlü bir ilişkisi bulunmaktadır (Fukaki ve Tasaka, 2009). Bu genin üretilmesi baskılandıktan sonra bitki kökünün lateral olarak uzaması yavaşlamıştır (Strader vd., 2008).

1.4.2. Fosfat çözünebilirliği

Fosfat bitki büyümesi için en önemli besin kaynaklarının başında gelmesine rağmen bazı fosfat formları bitkiler tarafından çözünür hale getirilememekte ve fosfat alımı yeterli seviyelere çıkarılamamaktadır (Gadd vd., 2012). Her toprağın tarım yapılabilecek seviyelere getirilemeyecek durumda olmasından bu bakterilerin ortaya çıkarılması büyük bir öneme sahiptir. Bu bakteriler çözünemeyen ya da daha büyük parça halinde bulunan fosfatların parçalanmasında görev alarak bitki gelişimini pozitif yönde arttırmaktadırlar (El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006; Joseph vd., 2007; Singh vd., 2011). Ayrıca fosfat ve fosfatlı bileşiklerin çözünebilir forma geçmesi sonrası organik asitlerin üretilmesinde kullanılmaları ve bitkilerin kök gelişimlerini arttırdıkları rapor edilmiştir (Bashan vd., 2013; Tallapragada ve Seshachala, 2012).

Çözünemeyen fosfat molekülleri birden farklı şekilde test edilebilmekle birlikte en yaygın olanları bakterilerin bu yapıları çözebilme potansiyellerini ortaya çıkartacak besiyerleri ve içeriklerin oluşturulmasından geçmektedir (Nautiyal, 1999; Pikovskaya, 1948).

1.4.3. Siderofor üretimi

Bakteriler tarafından gerçekleştirilen siderofor üretimi bitkiler açısından iki farklı şekilde etkili olmaktadır (Rajkumar vd., 2010). İlki bitkinin metal alımına yardım etmek, ikincisi ise küf üretiminin engellenmesidir. Bakteriyel sideroforların salgılanması ile birlikte birçok patojenin kontrolü sağlanmıştır (Gram, 1996; Holzberg ve Artis, 1983; Shanmugaiah vd., 2015).

Siderofor üretimi hidrojen siyanid (HCN) üretimi ile desteklenmekte ya da HCN üretimi tek başına olduğu hallerde de antifungal aktivite oluşmasına sebebiyet verebilmektedir (Nagarajkumar vd., 2004). Siderofor üretimi gerçekleştiren birçok bakteri bulunmaktadır (Carlos vd., 2016; Chaiharn vd., 2009; Fernandez vd., 1998; Khamna vd., 2009). Sideroforlar metal iyonları içeren bir besiyerinde metal iyonlarının mikroorganizmalar tarafından kullanılması ile belirlenmektedirler (Schwyn ve Neilands, 1987).

1.4.4. Amonyak (NH₃) üretimi

Amonyak bakteriler tarafından nitrit ve nitrata çevrilerek bitki gelişimini dolaylı olarak arttırmaktadır. Amonyak üretimi pH alkali duruma geldiği zamanlarda artışa geçer (Pearson ve Stewart, 1993). Bununla beraber amonyak üretimi ile bitkiler topraktan azot alımını gerçekleştirirler. Azot alımı amonyağın oksidasyonu ile gerçekleştirilmektedir. Bu kısımda amonyak üretimi gerçekleştiren bakteriler, azot döngüsüne katılan bakterileri destekleyici durumdadırlar. Normal şartlarda topraklarda amonyak çok az miktarlarda olmakta ve olan miktar sülfür ve nitrojen döngülerinde kullanılmaktadır. Azot kaynaklarının toprak örtüsünden çok çabuk kaybolmasından dolayı ekstra azotlu içerik üretimi önem kazanmaktadır (Madigan vd., 2018; Nannipieri vd., 2003; Pearson ve Stewart, 1993).

1.4.5. Giberellin, sitokinin ve etilen üretimi

Giberellinler, oksinler gibi kök büyümesinden ve gelişiminden sorumludurlar (Katznelson ve Cole, 1965). Giberellin hormonu üretebilen *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Nocardia* cinsi mikroorganizmalar çeşitli çalışmalarda rapor edilmişlerdir (Y. Bashan ve De-Bashan, 2005; Harada-Sunao ve Akeda-Iluo, 1997; He vd., 2019).

Sitokininler ise hücre döngülerinde rol alarak bitki hücrelerinin gelişimde rol almaktadırlar. Ayrıca sitokinin hormonundan yoksun bitkilerin dallarının daha kısa kaldığını ve dallarındaki uç meristemlerinin daha küçük olduğu gösterilmiştir (Werner vd., 2001). Bazı çalışmalarda organizmaların sitokinin üretebildiği gösterilmiştir (Feng vd., 2006; Tien vd., 1979; Timmusk vd., 1999).

Etilen üretimi ile meyve oluşumu ve yaprak dökümü gibi olaylar düzenlenmektedir. Ayrıca stres koşulları altında etilen üretimi artırılarak bitkinin daha erken olgunlaşması sağlanmaktadır. Etilen üretimi *Escherichia coli*, *Pseudomonas syringae*, *Fusarium oxysporum* gibi çeşitli mikroorganizmalarda gösterilmiştir (Swarup vd., 2007; Tsavkelova vd., 2006).

1.4.6. Hidrojen siyanid (HCN) üretimi

Hidrojen siyanid üretimi glikoz moleküllerinin parçalanması ile gerçekleşmektedir (Knowles, 1976). Bitkinin besin maddelerini daha iyi sağlamasının yanında üretilen bu içerik patojenik özellikteki organizmaların çoğalmasını baskılayabilmektedir (Barriuso vd., 2008; Gray ve Smith, 2005). Ağır metallerin bulunduğu ortamlarda bu metallerin parçalanmasını sağlayarak bitki gelişimi artırılmaktadır (Y. Bashan ve De-Bashan, 2005; Benidire vd., 2016; Weyens vd., 2009).

1.4.7. Aminosiklopropan-1-karboksilik asit (ACC) deaminaz üretimi

ACC üretimi yapabilen organizmalar yardımı ile bitki grupları farklı stresler altında daha iyi gelişebilmektedirler. Artan insan nüfusu ile tarımsal üretimin çok yüksek seviyelere çıktığı günümüzde çok farklı toprak alanları tarıma açılmış durumdadır. Fakat orman arazileri ve tarıma uygun araziler üzerine yapılan ekimlerin gerçekleşebilmesi için gerekli besin maddeleri ile birlikte uygun mikroorganizmaların bu alanda olması gerekmektedir.

ACC deaminaz üretimi IAA üretimi ile sinerjetik olarak birlikte çalışmaktadır. Bununla birlikte ACC deaminaz üretimi ile taşma, kuraklık, tuzluluk, ağır metal etkisi, organik kirleticiler ve bakteriyel hatta fungal patojenlere karşı mücadele mümkündür (Glick, 2014). ACC deaminaz üretimi ile diğer bir bitki hormonu olan etilen seviyesinin önemli ölçüde düşürüldüğü gösterilmiştir (Nadeem vd., 2010).

1.4.8. Proteaz aktivitesi

Proteazlar proteinlerin peptit ve amino asitlere ayrıştırılmasında görev alan enzim gruplarıdır. Aktinomisetlerin çoğunun saprofitik olmalarından dolayı bitki gelişiminin

desteklendiği durumlarda bu enzimin üretilip üretilmediğinin tespiti daha da önem kazanmaktadır.

Brevundimonas sp., *Trabulsiella guamensis* (Rehbar ve Batool, 2017), *Streptomyces* sp. (Manivasagan vd., 2010), *Enterobacter* sp. (Benidire vd., 2016) gibi mikroorganizmaların proteaz üretebildikleri gösterilmiştir. β -glikozidaz, selülaz, proteaz gibi enzimler karbon, azot ve fosfor döngülerinde önemli rol oynarlar (Gil-Sotres vd., 2005; Guiwei vd., 2008).

1.4.9. Kitinaz üretimi

Kitinaz aktivitesi ile toprak ve toprak altı birçok alanda kitin içeriği bulunan yapı degrade edilerek bu yapıların azot ve karbon kaynağı olarak kullanılması sağlanmaktadır (Olander ve Vitousek, 2000). Kitinaz bitkiler tarafından da üretilmektedirler, fakat bitki tarafından sadece enfeksiyon bölgelerinin bulunduğu kısımlarda salgılanma göstermektedirler (Roberts ve Selitrennikoff, 1988).

Kitinazlar böcek ve mantar yapılarının parçalanmasının yanında patojenik küf ve zararlı böceklerin uzaklaştırılmasında da dolaylı yönden görev almaktadırlar (Biasolo vd., 2016; Kramer ve Muthukrishnan, 1997). Kitinaz aktivitesi ile birçok patojen organizmaya karşı etkinlik gösterip göstermediği incelenmeye çalışılmıştır (Berg vd., 2005; Ozyilmaz ve Benlioglu, 2013; Saxena vd., 2013). Ayrıca kitinazların hiflerin lizisine yol açarak fungal patojenleri öldürdüğü bilinen bir olgudur (El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006).

1.4.10. β -galaktozidaz üretimi

β -galaktozidazlar bitkisel oksin üretiminde görev alan öncül enzimlerin arasındadır (Tanimoto ve Igari, 1976), ayrıca bu enzim aktivitesi ile birlikte birçok bitki gelişim testi gerçekleştirilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 2014; Dekkers vd., 1998; Flores vd., 1990).

Nodülasyonda görev alan gen bölgelerinin belirlenmesi ile legüminoz bitki gruplarında azot alımını önemli seviyelerde arttırdığından bitki büyümesini destekleyici test olarak kullanılabilir (Rillinga vd., 2019; Steenhoudt ve Vanderleyden, 2000).

Beta galaktozidaz üretimi ayrıca birçok ticari üretim potansiyeline sahip olup günümüz endüstriyel alanlarında yüksek talep görmektedir (Princely vd., 2013).

1.4.11. Bitki gelişimini destekleyici diğer enzim testleri

Azot içermeyen toprak yapılarında organizma dağılımının artması sonucu azot bağlayabilme potansiyellerinde artış gözlenebilmektedir (Burns vd., 2013; Venturi ve Fuqua, 2013). Organizmaların fosfatı mineralize edebilme özelliği bir çalışmada kullanılmıştır (Franco-Correa vd., 2010). Bitki gruplarının tuzluluk, ağır metal, kuraklık gibi şartlarda üretilen ACC deaminaz üretimi (Kamnev vd., 2005; Sarkar vd., 2018; Vigani vd., 2018) ile ortaya çıkabilecek özelliklerinin belirlenmesi için farklı ortamlar hazırlanabilir.

Bu testlerin tercihi yapılacak çalışmaya bağlı olarak değişebilecek durumda olsa dahi, topraktan izole edilen aktinomisetlerin yukarıda belirtilen enzimlerinden farklı olarak yine azot, karbon ve fosfor döngülerinde görev alan enzimlerin belirlenerek incelenmesi öngörülmektedir.

Bununla birlikte yine antagonistik etkiye sahip olması muhtemel enzim gruplarının belirlenmesi, bunların saflaştırılması gibi farklı tasarımlar incelenebilir gözükmektedir. Hücre dışına salgılanan birçok enzim ailesi olduğundan ve bunların bazıları çok büyük miktarlarda üretildiğinden bitki gelişimini etkileyebilecek olanların seçilerek çalışılması gerekmektedir.

1.5. Antagonistik Özellikleri

Birçok mikroorganizma patojenik organizmalar üzerinde farklı şekillerde etki göstermektedirler. Mikroorganizmaların antagonistik içerik üretmeleriyle patojenik organizmaları öldürerek veya gelişimini durdurmasından dolayı bitki gelişimi doğrudan veya dolaylı olarak arttırmaktadır. Antagonistik aktivite çoğunlukla başka bir patojen ya da diğer organizmalar ile besin, yaşama alanı gibi sebeplerle rekabet amaçlı olarak ortaya çıkmaktadır.

1.5.1. Antifungal aktivite

Mikroorganizmalar antifungal ajanların üretiminde dünyada ilk sıralarda yer almaktadırlar. Antifungal özellik olması açısından bazı bitkilerce üretilen yapılar bitkileri patojenik organizmalardan koruma amacı üretilmektedirler. Mikroorganizmalar toprak, deniz suları, deniz hayvanları, sediment tabakaları, resifler, algler, süngerler ve daha birçok alandan izole edilebilmekte ve antifungal ajan içerebilmektedirler (Xu vd., 2015). Bazı antifungal ajanlara örnek vermek gerekirse; nistatin (fungisidin) (Hazen ve Brown, 1951) aktinomisetlerden ve viridiofunginler *Trichoderma viride*'den (Pollex vd., 2006) sayılabilir. Serbest yaşayan bakteriler (Schnürer ve Magnusson, 2005), aktinomisetler (Demain, 1999) ve funguslardan (Kearns vd., 2017) yeni antifungal ajanlar üretilmeye devam edilmektedir. Bitki patojeni funguslara karşı etkinliği gösterilen organizmalara örnek vermek gerekirse *Bacillus* (Yuan vd., 2013), *Pseudomonas* (Ligon vd., 2000), *Streptomyces* (Prapagdee vd., 2008), *Nocardia* (Taechowisan vd., 2003) cinsi bakteriler sıklıkla izole edilerek antifungal özellik gösterdikleri rapor edilmiştir. *Fusarium culmorum* (*Fusarium solgunluğu*), *Botrytis fabae* (çikolata damlaları), *Bipolaris sorokiniana* (çökerten), *Verticillium dahliae* (*Verticillium solgunluğu*), gibi patojenik küfler üzerinde rizosfer aktinomisetleri denenerek etkinlikleri belirlenmeye çalışılmıştır (Aouar vd., 2012).

1.5.2. Antibakteriyel aktivite

Antibakteriyel içerikler antifungal ajanlarda olduğu gibi hem bitkisel hem de mikroorganizmalar tarafından üretilebilmektedirler. Antibakteriyel ajanlar antifungallarda olduğu gibi birçok bölgeden izole edilen organizmalarca üretilmektedirler.

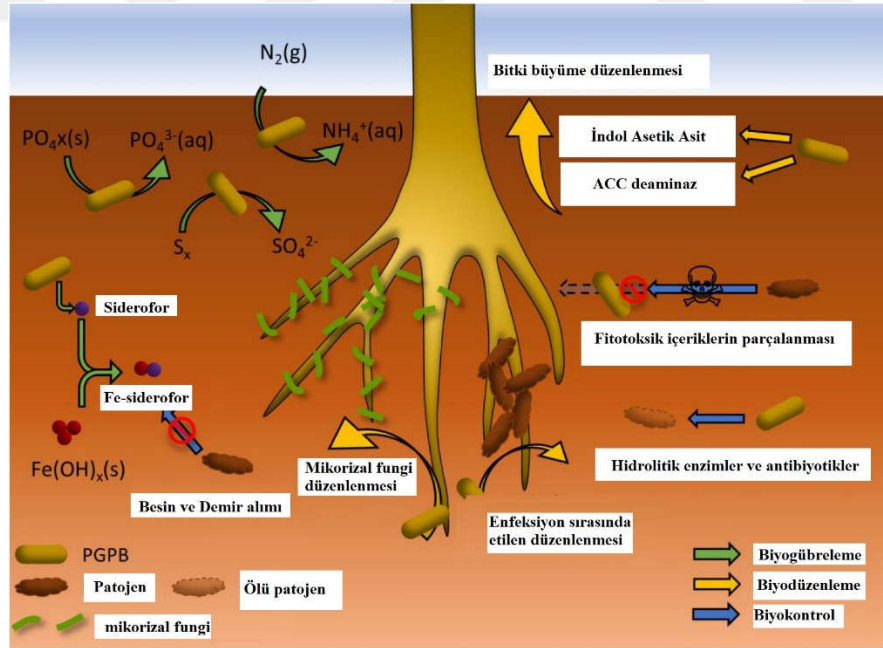
Antibakteriyel ajanların daha sıklıkla çalışıldığı literatürde açıkça gözlenmektedir. Bununla beraber mikroorganizmalarca üretildiği bilinen antibakteriyel ajanlardan bazılarını sıralamak gerekirse; vankomisinler, aktinomisetlerden elde edilmişlerdir (Hoagland vd., 1984), benzilpenisilinler funguslardan elde edilmişlerdir (Panarin ve Solovskii, 1967). Bitki patojeni bakteriler birçok alanda büyük zararlar vermekle birlikte *Pseudomonas syringae* patovarları çok fazla patojenite gösteren gruplardan birisidir. Bunların kontrolü yine kendi cinsinden bakteriler tarafından yapılabilmektedir (Haas ve Défago, 2005). *Xanthomonas campestris* patovarları bir

diğer çok karşılaşılan ve birçok bitki üzerinde patojenite gösteren bakteridir. *Xanthomonas campestris* patovarlarından birisinin *Streptomyces* cinsi bakterilerce üremesinin engellendiğı gösterilmiştir (Dinesh vd., 2017).

1.6. Bitki Büyümesini Düzenleyici Bakteriler/ Rizobakteriler (PGPB/PGPR)

Bitki büyümesini düzenleyici bakteriler ya da rizobakteriler (PGPB ya da PGPR) olarak literatürde incelenmektedirler (Ambrosini ve Passaglia, 2017).

PGPR iki şekilde; ilki bitki hücreleri dışında bulunanlar (ePGPR= ekstraselüler PGPR), diğeri ise kök içerisinde bulunan bakteriler (iPGPR= intraselüler PGPR) olarak incelenmektedirler (Gray ve Smith, 2005). Diğeri bir araştırmada ise rizosferde bulunan bakteriler; nötral, düzenleyici, ya da engelleyici olarak üç şekilde etki gösterebilirler (Antoun ve Prévost, 2005). Başka bir araştırmacının yaptığı çalışmada ise PGPB'lerin biyogübre üretimi, biyodüzenleme ve biyokontrol olmak üzere üç farklı şekilde bitkileri etkilediğı gösterilmiştir (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Bitki büyüme düzenlenmesinin aşamalarının şematik gösterimi (Ferreira vd., 2019)

Bakteriler bitki kök sistemlerinde kolonize olarak bitki büyümesini geliştirmektedirler (Kloepper ve Schroth, 1978). Bitki büyümesini düzenleyici

bakterilere; *Bacillus*, *Pseudomonas* (He vd., 2019), *Arthrobacter* (Tchuisseu Tchakounté vd., 2018), *Lactobacillus* (Çon ve Karasu, 2009), *Rhizobium* (Kang vd., 2019), *Streptomyces* (Sardi vd., 1992), *Psychrobacter* (Ying Ma vd., 2009), *Achromobacter*, *Lysinibacillus* (Sgroy vd., 2009), *Serratia* (Carlos vd., 2016), *Ochrobactrum* (Saikia vd., 2018), *Micromonospora*, *Nocardia* (Khamna vd., 2009) gibi birçok farklı cins örnek olarak verilebilmektedir.

1980 yılından bu yana PGPB tarımsal arazilerde kimyasal gübrelerin yerine kullanılmaya başlanmıştır. PGP özelliği gösteren bir organizma bitkinin endosfer ve filosfer tabakalarından ve toprak katmanlarından izole edilebilmektedir. PGP özelliği gösteren organizmalar sera ve laboratuvar şartlarında denenmekle birlikte ekolojik ve çevresel etkinlikleri genel olarak araştırılmamaktadır. Bununla birlikte yeni yapılacak çalışmalarda bakterilerin toprak, bitki ve çevrelerine olan etkinliklerinin de belirlenmesi hedeflenmektedir (Rillinga vd., 2019).

Antibiyotik dirençliliğinin günümüzde çokça tartışılması PGPR üyelerinin de halen kullanımda olan antibiyotiklerinden dolayı direnç kazanabilme potansiyelleri yönünden incelenmeye alınmış ve daha fazla PGPB üyesinin izole edilerek mevcut antibiyotik içeriklerin kullanımının azaltılması önerilmiştir (Ramakrishna vd., 2019).

Ticari olarak PGPB ile yapılan çalışmalarda ise mikroorganizmaların bazıları kullanılarak bitki gelişimini arttırıcı ticari organik gübre uygulamalarında patentleri alınmaktadır. Bir çalışmada *Bacillus velezensis* bakterisinin azot bağlayabilme özelliği ve bitki büyümesini geliştirmesi adına patent alınmıştır (Woong ve Chang, 2019). Bir diğerinde ise *Cryptococcus podzolicus* türünün azot bağlama özelliğinden dolayı kullanımı patentlenmiştir (Woong ve Chang, 2019).

Bitki büyümesini düzenleyici özellikler farklı tip tarımsal ürünlerde çalışılmaktadır. Arpa, buğday, mısır gibi neredeyse tüm dünyaca bilinen tarımsal araziler ve bunların üretildiği araziler üzerinde birçok çalışma mevcuttur (Ahmad vd., 2007; Beneduzi vd., 2012; Bottner vd., 1999; Jones vd., 2009; Roberts ve Selitrennikoff, 1988). Üzüm bitkisi çok tüketilen ve birçok ticari üretim aşamasında kullanıldığından bu bitkinin mikroorganizmalarca olan ilişkileri sıklıkla incelenmektedir (Aballay vd., 2011, 2012; Biasolo vd., 2016; Compant vd., 2011). Mangrov ormanlarının organizmalarca olan ilişkisi diğer bitki gruplarından farklı olduğundan (kısmi olarak sıvı-toprak karışımında büyümesinden dolayı) çokça incelenen bitki gruplarından (Abdul Malek vd., 2014;

Arumugam vd., 2017; Bashan ve Holguin, 2002). Pamuk bitkisi tekstil, kağıt ve daha birçok endüstri alanında kullanıldığından bu ürünün de sıklıkla toprak mikroorganizma ilişkileri incelenmiştir (Cevheri ve Yılmaz, 2016; Hallmann vd., 1997; Tejada vd., 2006). Domates bitkisi en çok tüketilen ürünlerden birisi olduğundan yine en sık çalışılan bitki gruplarından birisidir (Gamalero vd., 2005; Tan vd., 2006; Tunalı vd., 2016; Xu vd., 2014).

Bakterilerin bitki çeşitleri üzerindeki patojenler ile savaşılması açısından biyokontrol ve antagonistik özelliklerinin incelenmesi günümüzde en çok başvurulan alanlardan birisidir. Toprak kökenli patojenlerin yada lokal olarak antagonizm gösteren türlerin tespiti ile birlikte bitki büyümesi doğrudan ya da dolaylı (siderofor ve antibiyotik üretimleri ile birlikte) olarak desteklenmektedir. Birçok bakteri grubunun antifungal ve antibakteriyel aktivite gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

1.7. Bitki Büyümesini Düzenleyici Aktinomisetler

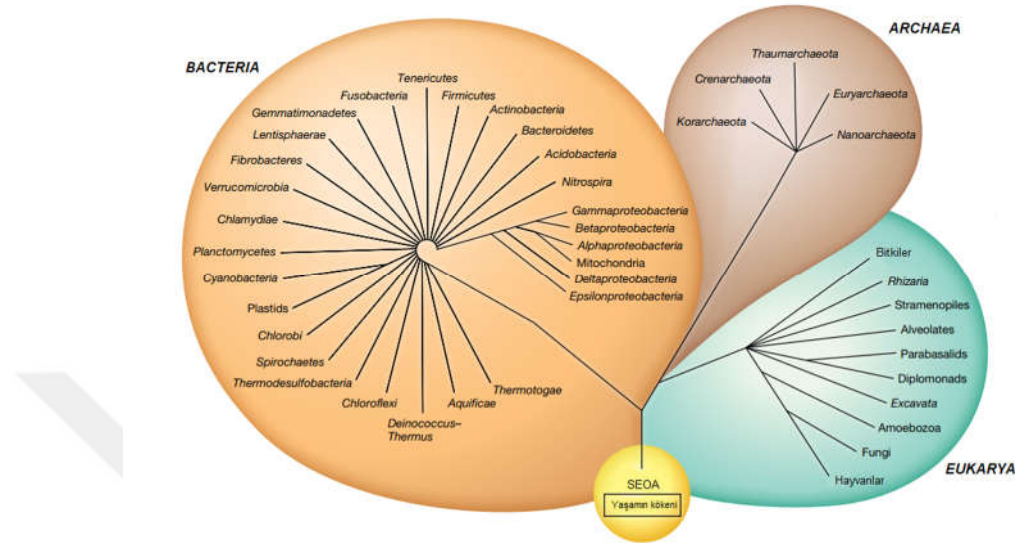
1940'lı yıllarda Waksman tarafından aktinomiset adlandırılması gerçekleştirilmiştir (Waksman, 1940). Bununla birlikte aktinomisetler ile yapılan yoğun çalışmalar 1970'li yıllarda karşımıza çıkmaya başlamıştır (Collins vd., 1977; Lechevalier vd., 1971; Lechevalier vd., 1973).

Yaşam olan neredeyse tüm bölgelerde aktinomisetlere rastlanılmıştır. Bitki toprağı, çöl toprağı, deniz sedimenti, göl sedimenti, nehir sedimenti, bitki bölümleri gibi alanlardan da izole edilmeye devam edilmektedir (Albarracín vd., 2010; Bian vd., 2009; Garcia vd., 2010; Nithya vd., 2018; Veyisoglu vd., 2016; Wink vd., 2004).

Aktinomisetler, filogenetik olarak Firmicutes ve Bacteroidetes şubelerinin arasında Gram pozitif bakteriler ile birlikte sınıflandırılırlar (Şekil 1.3.). Fakat aktinomisetler yüksek guanin-sitozin (GC) içermelerinden kaynaklı olarak tekrar dallanarak Gram pozitif bakteriler şubesinin alt kolu olan yüksek GC içeren bakteriler olarak adlandırılırlar (Parks vd., 2018).

Aktinomisetlerin genom dizileme sonuçları incelendiğinde en küçük genoma *Tropheryma* cinsi üyelerinde karşılaşılmakta olup 925938 baz çifti (bç) içermektedir (Bentley vd., 2003). *Streptomyces* cinsi üyeleri ise bakteria alemi içerisindeki en büyük

genomlu organizmaları içermekle birlikte dokuz milyon baz çiftini geçen bir genom büyüklüğüne sahiptirler (Ay vd., 2018; Chun vd., 1997; Ma vd., 2017; Také vd., 2018).



Şekil 1.3. Evrensel filogenetik ağaç, bu ağaç rRNA gen dizilerinin karşılaştırılması ile oluşturulmuştur. SEOA= son evrensel ortak ata (Madigan vd., 2018).

Aktinomisetlerin incelenbilmesi adına morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik karakterler yanında, kemotaksonomik ve nümerik taksonomi çalışmaları ile incelenerek moleküler sistematik çalışmaları ile desteklenmektedir (Moncheva vd., 2002; Nouioui vd., 2018; Saxena vd., 2013; Whitman vd., 2012). Kısacası bakteri identifikasyonu yapılabilmesi için fenotipik, kemotaksonomik ve genotipik karakterlerin (polifazik taksonomi) incelenilmesine gerek duyulmaktadır (Nie vd., 2012; Tan vd., 2007; Zhao vd., 2010).

Aktinomisetler misel ve spor oluşturmaları yönünden de ayrılmaktadırlar (Li vd., 2016). Diğer bakteriler gibi biyofilm oluşturma, kist oluşturma gibi kendisini savunma mekanizmaları bulunmakla birlikte aktinomisetler misel uçlarından spor meydana getirirler. Hatta bu spor oluşum şekillerine göre aktinomisetlerin cins seviyelerine kadar tespiti gerçekleştirilebilmektedir. Spor oluşumunun gösterilmesi yeni kayıt altına alınmış aktinomisetlerin keşfi açısından büyük bir öneme sahiptir (Waksman, 1940; Waksman ve Henrici, 1943).

Actinobacteria şubesi, Bacteria domaini içerisinde olup, altı sınıfa sahiptir. Bununla birlikte yüksek GC oranına sahip sınıf olan Actinobacteria içerisinde ise 22 takım bulunur (<https://bit.ly/2tp5X1V> erişim tarihi: 28.11.2019). Toprakta en çok karşılaşılan aktinomisetler; Cornebacteriales takımı içerisinde bulunan *Nocardiaceae* ailesine bağlı *Nocardia* cinsi, Micromonosporales takımı içerisinde bulunan ve *Micromonosporaceae* ailesine bağlı *Micromonospora* cinsi, Streptomycetales takımında *Streptomyetaceae* ailesinde bulunan *Streptomyces* cinsleri ve Pseudonocardiales takımı içerisinde *Pseudonocardiaceae* ailesinde bulunan *Amycolatopsis* cinsidir.

Bitki büyümesini düzenleyici aktinomisetler (PGPA) birçok bitki büyüme özelliğini içerebildiğinden PGPB olup olmadıkları belirlenmek adına diğer serbest yaşayan bakterilere göre daha yeni diyebileceğimiz şekilde çalışmaya başlanmışlardır (Glick, 2014; Hamed ve Mohammadipanah, 2014; Qin vd., 2015). Çünkü aktinomisetler, yapılan araştırmalar sonrasında diğer beş bakteri şube içerisinde 2. sırada temsil edilmekle birlikte yüzdesel olarak çok az rastlanılmaktadırlar (%90 Protobacteria, %1.5 Actinobacteria, %1.4 Planctomycetes, %1.1 Verrumicrobia ve %0.5 Acidobacteria) (Santoyo vd., 2016).

Bazı farklı ortamlardan (*Aquilaria crassna* bitkisinden, *Jatropha curcas* bitkisinden) izole edilen siderofor üretimi, fosfat çözünebilirliği, IAA üretimi, amonyak üretimi gibi özellikleri çalışılmıştır (Nimnoi vd., 2010; Vurukonda vd., 2018). Antagonistik içerik üretmeleri bakımından daha fazla çalışmaya konu olmuşlardır (Hamdali vd., 2008a; Kunoh, 2002; Rosenblueth ve Martínez-Romero, 2006; Shimizu vd., 2000).

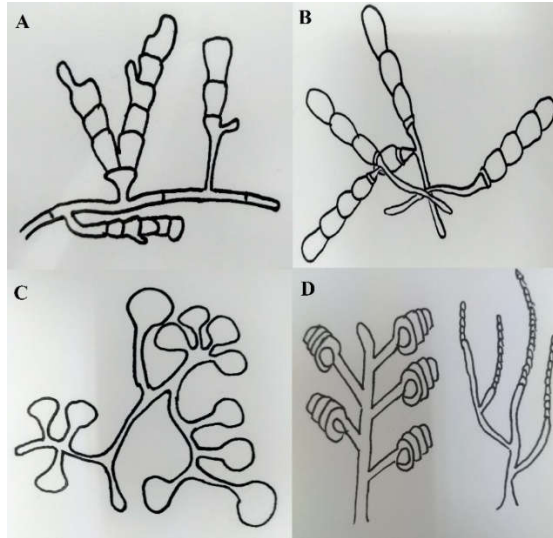
Aktinomisetler bitki büyümesini düzenleyici olarak ticari ürün formlarında çok kullanılmamakla birlikte daha çok akademik çalışmalar içerisinde kullanılmışlardır (Arumugam vd., 2017; Carberry, 2016; Hamed ve Mohammadipanah, 2014; Purushotham vd., 2018). Bu çalışmalarda farklı bitki grupları ve bitki parçaları incelenmiştir. *Tripterygium wilfordii* bitkisinden endofit formda izole edilerek, *Streptomyces* cinsi üyelerle rastlanılmıştır (Miao vd., 2014). *Pseudowintera colorata* (Horopito) bitkisi ile yapılan bir çalışmada endofitik aktinomisetler izole edilmiş olup *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nakamurella* cinsi aktinomisetlerin varlığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada bitki büyümesini düzenleyici özelliklerden fosfat

çözebilme potansiyelleri ve siderofor üretimleri de incelenmiştir (Purushotham vd., 2018).

Bununla birlikte aktinomisetlerden elde edilen abamectin adlı ticari ürün biyo pestisit ve antifungal ajan olarak üretilmekte olup *Streptomyces avermitilis* tarafından üretilmektedir (<https://bit.ly/2tnM6Ad> erişim tarihi: 04.12.2019). Actinovate® ve Actino-Iron® *Streptomyces lydicus* WYEC 108, Arzent™ dört farklı *Streptomyces hygrosopicus* straininden ve Mycostop® ise *Streptomyces griseoviridis* K61 tarafından üretilmektedir (Purushotham vd., 2018).

1.7.1. *Nocardia* cinsi aktinomisetler

Nocardia cinsi aktinomisetler Gram pozitif çubuk şeklinde bakterilerdir. 119 tür içermekle birlikte gün geçtikçe sayısı artmaktadır (<https://bit.ly/301gEUz> erişim tarihi 12.01.2020). Bu bakteriler organik madde içeren toprakların neredeyse tümünde yayılış göstermekle birlikte insanlar üzerinde hastalık yapan türlerinin olduğu bilinmektedir (Lechevalier vd., 1973; Sharma vd., 2016). Spor ve misel yapıları Şekil 1.4.A’da gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Farklı aktinomiset cinslerine ait spor ve misel morfolojileri gösterimleri. GörSELLER YENİDEN DÜZENLENMİŞTİR (Barka vd., 2016; Li vd., 2016) A) *Nocardia* cinsi bir bakterinin spor ve misel yapısı, B) *Amycolatopsis* cinsi bir bakterinin spor ve misel yapısı, C) *Micromonospora* cinsi bir bakterinin spor ve misel yapısı, D) *Streptomyces* cinsi bakterilerin spor ve misel yapıları

T. repens L. bitkisi rizosferinden yapılan örneklemelemler ile izole edilen *Nocardia* gibi aktinomisetler üzerinde bitki gelişim ile aktivitelere den fosfataz aktivitesi, siderofor üretim, fosfat çözünebilirliğine etkisi gibi özellikler incelenmiştir (Franco-Correa vd., 2010). Ayrıca birden fazla patojen üzerinde antagonistik etki varlığı incelenmiştir (Lechevalier vd., 1973; Sharma vd., 2016). Hindistan Guntur bölgesinden yapılan örneklemelemler sonrası izole edilen bakterilerden birisi *Nocardia* cinsine ait olduğu belirlenmiş olup, farklı fizyolojik özellikleri ve antagonistik içerik üretim mekanizmalarını çalışılmıştır (Kavitha vd., 2010).

1.7.2. *Amycolatopsis* cinsi aktinomisetler

Amycolatopsis Gram pozitif, yüksek GC oranı içeren ve filamentöz bir aktinomiset cinsidir. Bu cins birçok tip antibiyotiğin üretilmesini sağlamakla epoksikinomisin (Matsumoto vd., 1997), vankomisin ve ristosetin (Lechevalier vd., 2009) örnek olarak verilebilir. Birçok farklı alandan izole edilebilmektedirler (Camas vd., 2013; Işık vd., 2018; Lee, 2006; Tang vd., 2010; Tatar vd., 2013). Toplamda 76 tip tür ve 4 farklı alt tip bünyesinde bulundurulur (<https://bit.ly/2QvMqWO> erişim tarihi 12.01.2020). Farklı spor oluşturma özelliklerine göre diğer aktinomisetlerden ayrılmaktadırlar (Şekil 1.4.B).

Kamerun topraklarından yapılan örneklemelemler sonrası *Amycolatopsis* cinsi bakteriler izole edilmiştir. Bitki gelişimine düzenleyici özelliklerinin olduğu rapor edilmiş olup, fosfat çözebilme, siderofor üretimi gibi testler ile bu durum gösterilmiştir (Tchuisseu Tchakounté vd., 2018; Zhao vd., 2016). Bir *Amycolatopsis* türünün (S,S)-N,N'-etilediamindisüksinik asit üretebilme potansiyeli belirlenerek yeni tür kaydı için polafazik taksonomi ile isimlendirmesi gerçekleştirilmiştir (Goodfellow vd., 1997). Başka bir çalışmada bitkisel madde içerisinden termofilik bir aktinomiset olan bir tür ilk kez keşfedilerek literatüre kazandırılmıştır (Zhou vd., 2015).

1.7.3. *Micromonospora* cinsi aktinomisetler

Micromonospora cinsi aktinomisetler Gram pozitif reaksiyon gösterip toprakta en sık bulunan aktinomiset gruplarından birisi olarak bilinmektedir (Shirling ve Gottlieb, 1966; Viaene vd., 2016). Spor morfolojisi örneği Şekil 1.4.C'de verilmiştir. Bu cins 84

adet tip türe sahip olmakla birlikte, yedi adet de alt tür içermektedir (<https://bit.ly/37A3jVM> erişim tarihi 12.01.2020). Antibiyotik üretimi açısından başka bir cins olarak karşımıza çıkmaktadır. Ürettiği bilinen antibiyotik olarak gentamisin (Moncheva vd., 2002) örnek verilebilir .

Micromonospora cinsi genel olarak toprak ve su yapılarında saprofitik olarak yaşamlarını sürdürmektedirler. *Jatropha curcas* L. birkisinden endofitik olarak kültüre edilebilir türler üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre; antagonistik içerik üreterek, fosfat çözebilme özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (Qin vd., 2015). *Micromonospora* cinsi bir aktinomiset medikal bitkilerden *Terminalia mucronata* üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda kök bölgesinden izole edilmiştir (Kaewkla vd., 2017). Diğer bir çalışmada *Costus speciosus* denilen bitkinin yaprağından endofitik olarak izole edilebilmiştir (Thawai, 2015). Bir başka çalışmada ise *Pisum sativum* bitkisi kök nodüllerinden izole edilmiş oldukları rapor edilmiştir (Thawai, 2015).

1.7.4. *Streptomyces* cinsi aktinomisetler

Streptomyces cinsi bakteriler Gram pozitif bakteriler olup, en çok rastlanılan aktinomiset cinslerindedir. Aktinomisetler arasında en bilinen cins olmakla birlikte, birçoğu spor oluşturmakta ve toprak kokusu denilen metabolit olan geosmin üretiminden sorumludurlar (Madigan vd., 2018). Bilinen antibiyotik içeriklerin çoğu *Streptomyces* cinsi üyelerinden elde edilmektedir. En bilinen antibiyotik arasında; kloramfenikol, neomisin ve tetrasiklin örnek olarak verilebilir.

Antibiyotik üretiminin yanında antiparazitik ilaç üretimi ve birçok enzim aktivitesinde çalışılmış olan bu cins bakterilere ait kayıt edilmiş 854 tür ve 38 alt tür bulunmaktadır (<https://bit.ly/2FpAGi7> erişim tarihi 12.01.2020). *Streptomyces* cinsi aktinomisetlerin farklı spor oluşturma özellikleri bulunmaktadır (Şekil 1.4.D). Bitki gelişimi açısından IAA üretimi, β -1,3-glukanaz üretimi, HCN üretimi, siderofor üretimi, kitinaz üretimi gibi özellikleri incelenmiştir (Gopalakrishnan vd., 2013; Viaene vd., 2016).

Streptomyces cinsi aktinomisetler ağır metallerin kullanılarak bitki gelişimini arttırdıkları rapor edilmiştir (Rajkumar vd., 2010). *Tripterygium wilfordii* bitkisinden endofitik olarak izole edilmiş olup, çeşitli bitki stresini indükleyen sinyal sistemlerindeki

etkileri çalışılmıştır (Miao vd., 2014). Yüzey sterilizasyonu yapılarak domates bitki köklerinden izole edilen endofitik *Streptomyces* türleri spor zincir morfolojileri ve farklı patojenlere karşı etkinlikleri belirlenmiştir (Sardi vd., 1992). Fas topraklarından izole edilen izolatlar üzerinde farklı besiyerleri üzerindeki gelişim seviyelerinin belirlenmesi, moleküler yöntemler ile tanımlama gibi özellikleri incelenmişlerdir (Oubaha vd., 2019).

1.7.5. Toprak ve bitki bölümlerinde sık karşılaşılan diğer aktinomiset grupları

Agromyces, *Pseudonocardia*, *Glycomyces*, *Promicromonospora*, *Aeromicrobium*, *Kribbella*, *Mycobacterium*, *Nocardiopsis* cinsleri sık karşılaşılan aktinomiset gruplarıdır (Schlatter vd., 2019). *Agromyces* cinsi aktinomisetler petrol kirliliği olan bir bölgeden izole edilmişlerdir (Zheng vd., 2018). Başka bir çalışmada araştırmacılar *Pseudonocardia* cinsi aktinomisetlere mangrov sisteminde rastlamışlardır (Mangamuri vd., 2012). *Glycomyces* cinsi aktinomisetlerin sığ deniz sedimentinden izole edilmişlerdir (Bredholdt vd., 2007). *Promicromonospora* cinsi Çin'deki medikal bitkilerde rastlanmıştır (Zhao vd., 2011). *Aeromicrobium* cinsi bir aktinomiset göl üzerindeki bakterioplanktonların incelenmesi sırasında tespit edilmiştir (Glockner vd., 2000). *Kribbella* cinsi bir aktinomiset ise Karadeniz plato toprağında tespit edilmiştir (Isik vd., 2014). *Mycobacterium* cinsi aktinomisetler genellikle tüberküloz etmeni olarak karşımıza çıkmakta iseler de toprakta ve su kaynaklarından da izole edilebilmektedirler (Narang vd., 2009). Bu kısımda Schlatter ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre yapılan çalışmalar arasında en fazla karşılaşılan cinsler açıklanmaya çalışılmıştır (Schlatter vd., 2019). Bununla birlikte bu demek değildir ki başka cinslere ait aktinomisetler farklı alanlardan da izole edilemeyecektir.

1.7.6. Antifungal aktivite gösteren aktinomisetler

Aktinomisetler dünya üzerindeki en fazla antagonistik ajan üreticisi gruplardan birisi olarak bilinmektedirler. *Streptomyces nodosus* (amfoterisin B) (Linke vd., 1974), *Streptomyces venezuelae* (kloramfenikol) (Matsuoka vd., 1953), *Streptomyces canus* (rezistomisin) (Zhang vd., 2013), *Nocardia transvalensis* (transvalensin) (Hoshino vd., 2004), aktinomisetlerinin her birisi ayrı bir antifungal ajanı üretmektedir (Barka vd., 2016). Yukarıda ismi verilen aktinomisetler gibi doğrudan antifungal üretimin yanında

dolaylı olarak patojenik küflerle de savaşılabilmektedir. Daha önce bahsedilen; sideroforlar, hidrojen siyanidler, kitinaz üretimi, β -1-3 glikozidazlar (Knowles, 1976) vb. gibi enzim aileleri de direkt mekanizmalara yardımcı olmaktadır.

1.7.7. Antibakteriyel aktivite gösteren aktinomisetler

Aktinomisetler antifungal ajanları üretebilme potansiyellerinin yanında antibakteriyel içerikler üretebilmeleri ile de tanınan bir gruptur. *Verrucospora* spp. (abissomisin) (Bister vd., 2004), *Streptomyces anulatus* (aktinomisinler) (Waksman ve Woodruff, 1940), *Micromonospora* spp. (antrasiklin) (Grein vd., 1980), *Streptomyces venezuelae* (kloramfenikol) (Matsuoka vd., 1953), *Streptomyces griseus* (siklohegzimid) (Kominck, 1972) bazı antibakteriyel ajan üreten aktinomisetlere örnek olarak verilebilir (Barka vd., 2016). Antibakteriyel ajan üretimi ile direkt olarak patojenlerle savaşmaktadırlar. Ayrıca bazı antagonistik içerikler birden fazla patojen grubunun gelişimini engelleyebilmektedir (Matsuoka vd., 1953).

1.7.8. Farklı şekillerde antagonistik özellik gösteren aktinomisetler

Aktinomisetler antifungal ve antibakteriyel içerikler üretebilmesinin yanında biyoherbisit/biyopestisit *Streptomyces hygroscopicus* (herbimisin) (Huang vd., 2004), antiparazitik *Streptomyces avermitilis* (avermektinler) (Miller vd., 1979), antiviral *Streptomyces hygroscopicus* (higromisin) (González vd., 1978), antitümör *Streptomyces peucetius* (adriamisin) (Arcamone vd., 1969) gibi içerikler üretebilmeleri ile de bilinmektedirler.

1.8. Aktinomisetlerin Polifazik Tanılama Aşamaları

Aktinomisetlerin tanılması günümüz şartlarında polifazik yani; fenotipik karakterleri (spor morfolojileri, spor dizilişleri, sporangiya yapıları, substrat miselyumu, hava miselyumu, kültürel karakteristikleri, morfolojik incelemeler) (Q. Li vd., 2016), kemotaksonomik karakterleri (yağ asidi profilleri, menakinonları vb.) (Wang ve Jiang, 2016) ve moleküler karakterleri (genom analizleri, 16SrRNA gen bölgesi filogenetik analizleri vb.) (Nouioui vd., 2018) incelenerek tip tür olarak kayıt altına alınabilmektedir.

1.8.1. Fenotipik karakterlere göre tanılama

Aktinomisetler moleküler taksonomik çalışmalar daha fazla yapılmadığı zamanlarda daha çok spor morfolojilerinin belirlenmesi, spor diziliş şekilleri, miselyum renk değişimleri, pigment oluşumları, farklı besiyerlerinde üreme karakterleri, şekerleri ve azot kaynaklarını kullanabilmeleri gibi karakterlere bağlı olarak cins seviyelerine kadar tanımlanabilmekte idiler (Gottlieb, 1961; Shirling ve Gottlieb, 1966; Waksman, 1940; Waksman ve Henrici, 1943).

1.8.2. Kemotaksonomik karakterlere göre tanılama

Kemotaksonomik olarak aktinomisetlerin içerdiği hüresel özelliklerden, polar lipitleri, menakinonları, yağ asitleri, mikolik asitleri, diaminopimelik asitleri, tüm şekerleri bakımından incelenerek tip türler ile karşılaştırılarak tanılama gerçekleştirilmeye çalışılmaktadır (Collins vd., 1977; Lechevalier vd., 1973; Williams vd., 1983).

1.8.3. Moleküler karakterlere göre tanılama

Moleküler karakterlere göre tanılama ile ilgili olarak; tüm bakteri genomu analizleri (Girard vd., 2013), 16S rRNA bölgesi dizileme ve yakın akraba türlerin belirlenmesi (Heuer vd., 1997), farklı gen bölgelerinin çoğaltılarak bunların çoklu gen bölgelerinin dizilenmesi sonrası ortaya çıkan sonuçların incelenmesi (Guo vd., 2008), genom guanin+sitozin oranının belirlenmesi (Bentley vd., 2003) incelenen özellikler arasındadır. Bu tanılama yönteminde de diğerlerinde olduğu gibi en yakın tip türler ile benzerlik ya da farklılıkların belirlenmesi amaçlanmaktadır. DNA-DNA hibridizasyonunda (DDH) karşılaştırma yapılan iki veya daha fazla tür arasında %70'in altında hibridizasyon değerinin gösterilmesi tür tanımlanmasında yeni tür olarak isimlendirme basamaklarına geçiş sırasında kullanılabilen bir deneysel aşamadır (Klappenbach vd., 2007). Ayrıca dizi bilgisi elde edilen organizmaların ortalama nükleotid benzerlik (ANI) (Von Neubeck vd., 2017) değerlerinin incelenmesi ile de türlerin ayırt edilebilmesi gerçekleşmektedir.

2. MATERTAL ve METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri

2.1.1.1. Uluslararası *Streptomyces* projesi 2 (ISP2) besiyeri, Himedia

Çizelge 2.1. ISP2 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Maya özütü	4 g
Arpa özütü	10 g
Glikoz	4 g
Agar	20 g
Sikloheksimid	0,05 g
Tuz	50- 80 g
Distile su	995 ml

Besiyeri pH'sı 7.3'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısı işleme maruz bırakılarak steril edilmiştir, izolasyon sırasında kullanılacak olan ISP2 besiyerine ise sıcaklık 50 C°'ye düştüğünde 5 ml distile su içerisinde çözündürülen 0,05 g sikloheksimid ilavesi gerçekleştirilmiştir. Yeni tür olma potansiyelindeki türlerin yüksek tuzluluk altında üreme potansiyellerinin belirlenmesi için %5'lik ve %8'lik tuz ilaveleri yapılarak besiyerleri hazırlanmıştır.

2.1.1.2. Uluslararası *Streptomyces* projesi 3 (ISP3) besiyeri Himedia

Çizelge 2.2. ISP3 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Yulaf ezmesi	20 g
İz tuzların solüsyonu*	1 ml
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

*1 ml'lik iz tuzların solüsyonu her birinden 0.001 g olmak üzere gümüş sülfat heptahidrat, manganaz klorid tetrahidrat ve çinko sülfat heptahidrat içermektedir.

Besiyeri pH'sı 7,3'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısı işleme maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.3. Uluslararası *Streptomyces* projesi 4 (ISP4) besiyeri, Himedia

Çizelge 2.3. ISP4 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Çözünebilir nişasta	10 g
Dipotasyum fosfat	1 g
Magnezyum sülfat heptahidrat	1 g
Sodyum klorid	1 g
Kalsiyum karbonat	2 g
Demir sülfat heptahidrat	0,001 g
Manganaz klorid heptahidrat	0,001 g
Çinko sülfat heptahidrat	0,001 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH'sı 7,2'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtma işlemine maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.4. Uluslararası *Streptomyces* projesi 5 (ISP5) besiyeri, Himedia

Çizelge 2.4. ISP5 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
L-asparajin	1 g
Dipotasyum fosfat	1 g
İz tuzlar solüsyonu*	1 ml
Gliserol	10 ml
Agar	20 g
Distile su	990 ml

*1 ml'lik iz tuzların solüsyonu her birinden 0.001 g olmak üzere gümüş sülfat heptahidrat, manganaz klorid tetrahidrat ve çinko sülfat heptahidrat içermektedir.

Besiyeri pH'sı 7,4'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtma işlemine maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.5. Uluslararası *Streptomyces* projesi 6 (ISP6) besiyeri, Himedia

Çizelge 2.5. ISP6 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Pepton	15 g
Proteoz pepton	5 g
Maya ekstraktı	1 g
Demir amonyum sitrat	0,5 g
Dipotasyum fosfat	1 g
Sodyum tiosülfat	0,08 g
Agar	15 g
Distile su	995 ml

Besiyeri pH'sı 6,7'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.6. Uluslararası *Streptomyces* projesi 7 (ISP7) besiyeri, Himedia

Çizelge 2.6. ISP7 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
L-asparajin	1 g
L- tirozin	0,5 g
Dipotasyum fosfat	0,5 g
Magnezyum sülfat heptahidrat	0,5 g
Sodyum klorid	0,5 g
İz tuzlar solüsyonu*	1 ml
Agar	20 g
Gliserol	15 ml
Distile su	985 ml

*1 ml'lik iz tuzların solüsyonu her birinden 0.001 g olmak üzere gümüş sülfat heptahidrat, manganaz klorid tetrahidrat ve çinko sülfat heptahidrat içermektedir.

Besiyeri pH'sı 7,3'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.7. Bennet's agar (BNT) besiyeri, Himedia

Çizelge 2.7. BNT besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Maya özütü	1 g
Et özütü	1 g
Kazein enzimik hidrolizat	2 g
Dekstroz	10 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH'sı 7,3'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.8. *Triptik soy agar (TSA) besiyeri, Merck*

Çizelge 2.8. *TSA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Kazeinden elde edilen pepton	17g
Soyadan elde edilmiş pepton	3 g
D-glikoz	2,5 g
Sodyum klorid	5 g
Dipotasyum fosfat	2,5 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH'sı 7,2'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.9. *Nütrient agar (NA) besiyeri, Merck*

Çizelge 2.9. *NA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Etten elde edilen pepton	5 g
Et özütü	3 g
Agar-agar	20 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH:7'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.10. *Modifiye gliserol yeast ekstrakt agar (MGYEA) besiyeri*

Çizelge 2.10. *MGYEA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Proteaz pepton	25 g
Maya ekstraktı	2 g
Gliserol	5 ml
Potasyum fosfat dibazik (K ₂ HPO ₄)	1 g
Agar	20 g
Sikloheksimid	0,05 g
Distile su	995 ml

Besiyeri pH'ı 7'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir. İzolasyon sırasında kullanılacak olan MGYEA

içeriğine sikloheksimid 50 µg/ml olacak şekilde distile suda çözündürülerek 0.2 µm boyutlu filtreden geçirilmiş ve 50 C°'ye düşürülmüş besiyerine eklenmiştir.

2.1.1.11. *Aktinomiset izolasyon agar (AIA) besiyeri, Himedia*

Çizelge 2.11. *AIA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Sodyum kazeinat	2 g
L- asparajin	0,1 g
Sodyum propionat	4 g
Dipotasyum fosfat	0,5 g
Magnezyum sülfat	0,1 g
Demir sülfat	0,001 g
Gliserol	5 ml
Agar	20 g
Distile su	995 ml

Besiyeri pH'ı 8,1'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılıp işleme maruz bırakılarak steril edilmiştir. İzolasyon sırasında kullanılacak olan AIA içeriğine sikloheksimid 50 µg/ml olacak şekilde distile suda çözündürülerek 0.2 µm boyutlu filtreden geçirilmiş ve 50 C°'ye düşürülmüş besiyerine eklenmiştir.

2.1.1.12. *Skim milk agar (SMA) besiyeri, Himedia*

Çizelge 2.12. *SMA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Yağsız süt tozu	28 g
Dekstroz	1 g
Maya özütü	2,5 g
Kazein enzimatik hidrolizat	5 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH:7'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılıp işleme maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.13. *Pikovskaya's agar (PA) besiyeri, Himedia*

Çizelge 2.13. *PA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Maya özütü	0,5 g
Dektroz	10 g
Kalsiyum fosfat	5 g
Amonyum sülfat	0,5 g
Potasyum klorid	0,2 g
Magnezyum sülfat	0,1 g
Manganez sülfat	0,0001 g
Demir sülfat	0,0001 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH:7'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.14. *Sabouraud dektroz agar (SDA) besiyeri, Himedia*

Çizelge 2.14. *SDA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Kazeinin enzimatik olarak öğütülmüş hali	10 g
Dektroz	20 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH:5,6'ya ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.15. *Peptonlu su (Peptone water-PW) besiyeri, peptonlu su agar (PWA)*

Çizelge 2.15. *PWA besiyeri içeriği*

İçerik	Miktar
Etten elde edilen pepton (Sigma)	10 g
Sodyum klorid (Panreac)	5 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH:7'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısıtılma maruz bırakılarak steril edilmiştir. Peptonlu su besiyeri için içeriğe agar eklenmemiştir.

2.1.1.16. Modifiye Chrome Azurol S agar (MCAS) besiyeri

Çizelge 2.16. Mavi boya içeriği

İçerik	Miktar
1- Chrome azurol S* (Sigma)	0,06 g + 50 ml distile suda çözülür
2- Demir (III) klorid hegzahidrat (Sigma)	0,0027g + 10 mM HCl içinde çözülür
3- Hegza adesil trimetil amonyum bisülfat (Sigma)	0,072 g +40 ml distile su içerisinde çözülür.

*Chrome azurol S karışımına, demir (III) klorid hegzahidrat karışımı eklenir, bu birleşik karışıma ise hegzada adesil trimetil amonyum bisülfat karışımı eklenir.

Çizelge 2.1.'deki ISP2 besiyerinin pH'sı 6,8'e ayarlanmıştır, ayrıca Çizelge 2.12.'deki içeriği verilen mavi boya içeriği ayrı bir erlen içerisinde otoklavda 121 C° de 15 dakika ısıtma işlemine maruz bırakılarak steril edilmiştir. ISP2 besiyeri ve mavi boya içerikleri yavaşça aynı erlen içerisine dökülerek homojen oluncaya dek yavaşça karıştırılarak petrilere dökülmüştür.

2.1.1.17. Uluslararası Streptomyces projesi 9 (ISP9) besiyeri

Çizelge 2.17. ISP9 besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Amonyum sülfat	2.640 g
Potasyum di hidrojen fosfat	2.38 g
Di potasyum hidrojen fosfat trihidrat	5.65 g
Magnezyum sülfat heptahidrat	1 g
Bakır sülfat pentahidrat	0.0064 g
Demir sülfat heptahidrat	0.0011 g
Manganaz klorid heptahidrat	0.0079 g
Çinko sülfat heptahidrat	0.0015 g
Agar	15 g

Besiyeri pH:7.0'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C° de 15 dakika ısıtma işlemine maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.1.18. Bazal medium besiyeri

Çizelge 2.18. Bazal medium besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Glikoz	10 g
Magnezyum sülfat	0.5 g
Tuz	0.5 g
Demir sülfat hepta hidrat	0.01 g
Di potasyum fosfat	1 g
Agar	15 g

Besiyeri pH:7.4'e ayarlandıktan sonra otoklavda 121 C°'de 15 dakika ısı işleme maruz bırakılarak steril edilmiştir.

2.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve ayıraçlar

2.1.2.1. Kimyasallar

Ortofosforik asit (Sigma), etilen diamin tetra asetik asit (Sigma), saf alkol (Merck), agaroz (Applichem), SYBR safe DNA jel boyası (Invitrogen), ketakonazol (Applichem), nistatin (Biological Industries) ve sikloheksimid (Serva), ONPG disk (o-nitrofenil- β -D-galaktopiranoz) (Sigma) kullanılmıştır.

2.1.2.2. Ayıraçlar

%2'lik sodyum karbonat (sigma), %0.5'lik pikrik asit (sigma), salkowski ayıracı (1 ml 0.5 M demir klorür solüsyonuna 50 ml % 35'lik perklorik asit eklenir) ve Nessler ayıracı (Fluka) kullanılmıştır. Yağ asidi ayıraçları Sasser'e göre hazırlanmıştır (Sasser, 2001).

2.1.3. Çalışmada kullanılan toprak lokaliteleri, bitki bölümleri ve patojenik mikroorganizmalar

Toprak örnekleri toplanması sırasında baz alınan özellikler; farklı lokalitelerde bulunmaları ve farklı toprak yapılarına sahip olmaları ile belirlenmiştir. Örnekleme sırasında seçilen toprak örneklerinin yanında bitki kısımları da aynı bölgelerden alınmıştır (Çizelge 2.19., Çizelge 2.20., Şekil 2.1. ve Şekil 2.2.). Patojenik organizmalar ise Eskişehir Teknik Üniversitesi kültür koleksiyonunda bulunan ve bitki patojeni olduğu bilinen organizmalardan seçilmiştir (Çizelge 2.21.).

Çizelge 2.19. Toplanan örneklerin özellikleri ve lokaliteleri

Örnek Numarası ve derinlik	Örnek çeşidi	Toplanan bölge
1.Zeytin yüzey	Zeytin toprağı	39°33'43.0"N 27°10'58.6"E
1.Zeytin 13 cm	Zeytin toprağı	39°33'43.0"N 27°10'58.6"E
2. Zeytin yüzey	Zeytin toprağı	39°33'50.8"N 27°11'14.2"E
2. Zeytin kök 15 cm	Zeytin toprağı	39°33'50.8"N 27°11'14.2"E
3. Zeytin yüzey	Zeytin toprağı	39°34'07.5"N 27°10'34.4"E
3. Zeytin kök 14 cm	Zeytin toprağı	39°34'07.5"N 27°10'34.4"E
4. Zeytin yüzey	Zeytin toprağı	39°33'29.0"N 27°10'01.5"E
4. Zeytin kök 19 cm	Zeytin toprağı	39°33'29.0"N 27°10'01.5"E
5. Zeytin yüzey	Zeytin toprağı	39°33'05.9"N 27°10'31.9"E
5. Zeytin kök 15 cm	Zeytin toprağı	39°33'05.9"N 27°10'31.9"E
1.Ceviz yüzey	Ceviz toprağı	39°32'40.0"N 27°10'02.7"E
1. Ceviz kök 16 cm	Ceviz toprağı	39°32'40.0"N 27°10'02.7"E
2. Ceviz yüzey	Ceviz toprağı	39°37'46.8"N 27°37'56.0"E
2. Ceviz kök 12 cm	Ceviz toprağı	39°37'46.8"N 27°37'56.0"E
3. Ceviz yüzey	Ceviz toprağı	39°37'40.7"N 27°37'32.2"E
3. Ceviz kök 13 cm	Ceviz toprağı	39°37'40.7"N 27°37'32.2"E
4. Ceviz yüzey	Ceviz toprağı	39°35'34.7"N 27°36'24.7"E
4. Ceviz kök 16 cm	Ceviz toprağı	39°35'34.7"N 27°36'24.7"E
5. Ceviz yüzey	Ceviz toprağı	39°38'59.6"N 27°51'12.7"E
5. Ceviz kök 15 cm	Ceviz toprağı	39°38'59.6"N 27°51'12.7"E
6. Ceviz dalı	Ceviz dalı	39°47'35.1"N 30°29'55.1"E
7. Ceviz meyve	Ceviz meyvesi	39°79'47.5"N 30°49'69.8"E



Şekil 2.1. Zeytin ağaçlarından yapılan örnekleme bölgeleri

2.2. Metod

2.2.1. Toprak ve bitki örneklerinin toplanması

2.2.1.1. Toprak örneklerinin toplanması

Toprak örnekleri tek kullanımlık steril poşetler içerisine alınıp, mikrobiyal büyümenin engellenmesi adına siyah poşetler içerisinde taşınmışlardır. Bitkilerin yüzey toprağı ve bitki kökü ile ilk karşılaştığı bölgelerden örneklemeler gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2.13.).

2.2.1.2. Endofitik bakteri izolasyonu için bitki örneklerinin toplanması

Seçilen bitki örneklerinin “sağlıklı” yapılarından olmak üzere; bitki kökü ile ilk karşılaştığı kök bölgelerinden, dallarından ve yapraklarından alınan örnekler steril tek kullanımlık poşetler içerisine alınmışlar ve yapılarının sağlıklı kalması adına +4 C°'lik buzdolabında çalışma yapılana dek (2-3 gün) muhafaza edilmişlerdir.

2.2.2. Aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması

Bu tez çalışmasında üstte zeytin ve ceviz ağaçlarının toprak ve bitki bölgelerinden olmak üzere 3 farklı kategoride (zeytin, ceviz ve endofitik Aktinomisetler olmak üzere) ayırım yapılmıştır. Toplamda 422 adet Aktinomiset izole edilmiştir. Bundan sonra yapılacak olan deneyler bu organizmalara ve sıralamalarına göre gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.1. Endofitik aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması

Endofitik aktinomiset izolasyonu (Chanway vd., 2000) yılında yaptıkları metodun modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir.

1. Sağlıklı örnekler akan suda yıkanarak üzerlerinde bulunan toprak vb. parçaları uzaklaştırılmıştır.
2. Yaprak ve dal parçaları yaklaşık 1 cm²'lik alana sahip olacak şekilde, kök parçaları ise yaklaşık 1 cm olacak şekilde kesilmiştir (Şekil 2.3.).
3. %70'lik etanol içerisinde 5 dakika bekletilmiştir.
4. Sodyum hipoklorit solüsyonu içerisinde (%0.9'luk) 20 dakika bekletilmiştir.
5. 3 kere steril distile suda yıkama yapılmıştır.

6. %10'luk sodyum bikarbonat içerisinde 15 dakika bekletilmiştir.
7. 3 kere steril distile suda yıkama yapılmıştır.

Yüzey siterilizasyonu gerçekleştirilen parçalar modifiye edilmiş gliserol yeast ekstrakt agar (MGYEA) ve aktinomiset izolasyon agar içeriğine 50 µg/mL'de olacak şekilde siklohegzimid eklenerek oluşturulmuş besiyerlerine inokule edilerek 28 C°'de, 15-20 gün boyunca inkübasyona bırakılmışlardır.

Endofitik aktinomiset izolasyonu sonrasında, saf olduğu belirlenen aktinomisetlerin spor yapıları oluşturmaları beklenmiş (10-14 gün inkübasyon sonrası) ve sonrasında %20'lik gliserol içerisinde -86 C°'lik derin dondurucuda diğer çalışmalar yapılana kadar saklanmışlardır.

2.2.2.2. Toprakta serbest halde bulunan aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması

Serbest aktinomiset izolasyonu sırasında toplanan toprak örneklerinin 1/9'luk kalsiyum karbonat içerisinde 1 ay kurutulmasının ardından, 1/9'luk dilüsyon serileri hazırlanmış (10^{-5} 'e kadar) ve modifiye edilmiş gliserol yeast ekstrakt agar (MGYEA) üzerine 100 µl olacak şekilde yayılmasının ardından kültürler 28 C°'de, 7-10 gün inkübasyona bırakılmışlardır.

Serbest aktinomiset izolasyonu sonrasında saf olduğu belirlenen aktinomisetlerin spor yapıları oluşturmaları beklenmiş (10-14 gün inkübasyon sonrası) ve %20'lik gliserol içerisinde -86 C°'lik ultra derin dondurucuda diğer çalışmalar yapılana kadar saklanmışlardır.

2.2.3. Bitki büyüme düzenleyici testlerin belirlenmesi

Bitki büyümesinin teşvik edici aktinomisetlerin belirlenmesi amacıyla birçok deney tasarımı gerçekleştirilmiş olup, gerekli adaptasyon çalışmaları yapıldıktan sonra diğer bakterilerden farklı üreme potansiyeli gösteren aktinomisetler üzerinde ilgili testler gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.1. Siderofor üretim testi (SÜT)

Siderofor üretim testi için Schwyn ve Neilands'ın bulduğu tekniğin modifikasyonu kullanılmıştır (Schwyn ve Neilands, 1987). Çizelge 2.1. ve Çizelge 2.12.'de içerikleri verilen besiyerlerine ekimi gerçekleştirilen aktinomisetlerin 28 ± 2 C°'de 10-12 günlük inkübasyonları sonrasında sarı, turuncu, mor ve magenta rengine dönüşen örnekler siderofor pozitif olarak kayıt edilmişlerdir.

2.2.3.2. Fosfat çözübilme testi (FÇT)

Pikovskaya agar besiyeri üzerine ekilen izolatlar 28 ± 2 C°'de 10-15 günlük inkübasyona bırakılmıştır (Pikovskaya, 1948). Fosfat çözebilen bakterilerin besiyeri üzerinde şeffaf zonlar oluşması pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir.

2.2.3.3. İndol -3- asetik asit (IAA) üretim testi

Aktinomiset kültürlerinin peptonlu su besiyerinde 28 ± 2 C°'de 10-12 günlük inkübasyonu sonrasında, gelişen örneklerden 8000 rpm'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Süpernatanttan 2 ml alınarak 2 damla ortofosforik asit ve 4 ml Salkowski ayırıcı ile karıştırılır (Gordon ve Weber, 1951). Pembe renk oluşumu ile indol asetik asit üretiminin pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.3.4. Amonyak üretim testi (AÜT)

Bakteriyel izolatlar amonyak üretimi için peptonlu su içerisinde test edileceklerdir. Taze üretilmiş bakteri kültürleri 10 ml peptonlu su içerisine inokule edildikten sonra 10-15 gün boyunca 28 ± 2 C°'de inkübasyona bırakılmıştır. Nessler ayırıcı (0.5 ml) her bir tüpe eklendikten sonra oluşan sarı, sarı-turuncu renk oluşumu ile amonyak üretimi pozitif olarak kayıt edilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 2014).

2.2.4. Bitki büyümesini düzenleyici enzim aktivite testleri

Bu bölümdeki aktivite testleri bitki büyümesini ikincil olarak etkileme potansiyelinde olan enzim üretim mekanizmaları incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır. Bu enzimlerin üretimleri sayesinde bitki daha iyi üretim gerçekleştirilebilmekle birlikte

aynı zamanda bitkisel hormon üretimlerinin de teşvik edilmelerinden dolayı tercih edilen testler gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.1. Proteaz üretim testi (PÜT)

Protein yapıda makromoleküllerin parçalanarak bitkiler tarafından alınmasının daha çabuk olabilmesi adına proteaz aktivitesi incelenmiştir. Ayrıca proteazlar birçok alanda kullanımı olan bir enzim grubu olduğundan proteaz üretimi pozitif aktinomisetlerin eldesi daha büyük bir önem arz etmektedir.

Deney sırasında sıvı kültür içerisinde aktiveleştirilmiş aktinomisetlerin SMA üzerinde ekilmesinin ardından 28 C°'de 10-14 gün inkübasyona bırakılmaları ile gerçekleştirilmiştir. Besiyerinde meydana gelen şeffaf zonlar proteaz aktivitesi pozitif olarak kayıt edilmiştir (Kazanas, 1968).

2.2.4.2. Beta galaktozidaz üretim testi (β -GÜT)

Aktinomiset örneklerinin peptonlu su besiyerinde üretilmesinin ardından bir tüpün içerisine 150 mikrolitre fizyolojik tuzlu su (%0.9 NaCl) 150 mikrolitre olacak şekilde izolat içeren PW besiyeri içerisindeki izolatların ekimi yapılmıştır. Flores ve arkadaşlarının yaptığı deneyin modifikasyonu ile gerçekleştirilen deneyde (Flores vd., 1990), ONPG disklerinin organizma içeren karışıma aktarımı sonrası 28 C°'de 3 günlük inkübasyondan sonra sarı ve açık sarı renk oluşumu pozitif sonuç olarak kayıt edilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 2014).

2.2.4.3. Kitinaz üretim testi (KÜT)

Aktinomisetlerin 'peptone water' besiyerinde 28±2 C°'de yaklaşık olarak 14 günlük inkübasyonu sonrası modifiye edilerek hazırlanmış ISP2 besiyeri ve askıda kitin içeren ortama inokulasyonu sonrasında 10-14 günlük inkübasyon sonrasında meydana gelen şeffaf zonlar pozitif olarak kaydedilmiştir.

Kitinin askıda kitin formuna dönüştürülmesi işlemi Roberts ve Selitrennikoff'un oluşturduğu yöntemin modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir (Roberts ve Selitrennikoff, 1988) kısaca kitin %37'lik hidrojen klorür içerisinde çözündürüldükten sonra filtrasyon

işlemi ile sıvı kısım uzaklaştırılmıştır ve parçalara ayrılan kitin kurutularak besiyerine aktarılmıştır. Organizmaların optimum büyümesinde sıklıkla kullanılan ISP2 besiyerine literatürde belirtildiği miktarda (%2) uygulanmış ve aktinomisetler besiyeri üzerine inokule edilmiştir.

2.2.4.4. API ZYM testi

Üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. API ZYM testi bitki büyümesini en fazla teşvik etmiş aktinomisetler üzerinde denenmiştir. PW besiyerinde 7-10 gün aktif olarak üretilen bakterilerin test küpürlerine aktarımı üreticinin talimatları dışında tutularak 28 ± 2 C°'de 3 gün ile sınırlı tutulmuştur. API ZYM testinde incelenen enzimler ve deney sırasında göstermesi beklenen renk değişimleri Ek.1'de verilmiştir.

2.2.4.5. API 20E testi

Üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. API 20E testi bitki büyümesini en fazla teşvik etmiş aktinomisetler üzerinde denenmiştir. PW besiyerinde 7-10 gün aktif olarak üretilen bakterilerin test küpürlerine aktarımı üreticinin talimatları dışında tutularak 28 ± 2 C°'de 3 gün ile sınırlı tutulmuştur. API 20E testinde incelenen enzimler, karbon kaynakları ve deney sırasında göstermesi beklenen renk değişimleri Ek.2'de verilmiştir.

2.2.5. Antagonistik aktivite testleri

Saf izolatların uygun besiyerinde çoğaltılmasının ardından seçilmiş bitki patojeni olan türlerin sabaroud dextrose agar (SDA) üzerinde "modifiye edilmiş agar kuyucuk difüzyon" yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Magaldi vd., 2004). Patojen fungusların (Çizelge 3.) sporlarının 1 ml'de 10^6 olacak şekilde ayarlanarak ve SDA üzerine ekimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra aktinomisetlerin peptonlu su (PW) besiyerinde 14 günlük gelişim sürecinin ardından SDA üzerine 19-20 µl mekanik olarak parçalanarak misel içerecek şekilde süspansiyon halinde uygulanmış ve 25 ± 2 C°'de 5-6 günlük inkübasyonları sonrasında meydana gelecek olan temiz halkasal küf üremeyen bölgelerin varlığı ile antifungal özelliğe sahip aktinomisetlerin varlığı olarak kayıt edilmiştir.

2.2.6. Aktinomisetlerin yağ asidi analizleri

Aktinomiset izolatlarının yağ asidi analizleri, üretici firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirilmiştir (Sasser, 2001). Triptik Soy Agar (TSA) besiyerinde çizgi ekim yapılarak (ayrıca saflık kontrolü yapılması açısından) 28 ± 2 C°'de geliştirilen 5-7 günlük kültürlerden steril öze yardımıyla 40-50 mg bakteri örneği toplanmış ve steril tüplere aktarılmıştır. Hücrelerin parçalanması aşaması olan saponifikasyon basamağında önce içerisinde kültür bulunan her tüpe 1 ml 'ayıraç bir' (metanolik baz) eklenmiştir. Daha sonra tüpler $95-100$ C°'ye ayarlanmış su banyosunda beş dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler soğuk su içerisinde hızlıca soğutulmuşlardır. Tüpler tekrar aynı sıcaklıktaki su banyosunda 25 dakika bekletilmiştir. İşlem sonrası örneklerin bulunduğu deney tüpleri tekrar soğutulmuştur. Metilleştirme basamağında, her bir tüpe 'ayıraç iki' (metilleştirme ayıracı) eklenmiş ve tüpler 80 C°'ye ayarlı su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler hızlıca soğutulmuşlardır. Saflaştırma/ ekstraksiyon basamağında soğutulan tüplere 1.25 ml 'ayıraç üç' (ekstraksiyon çözücüsü) eklenmiş ve tüpler rotatorda 10 dakika boyunca ters-düz edilmişlerdir. İşlem sonunda tüpün alt kısmında sulu faz Pasteur pipeti ile ortamdan uzaklaştırılmıştır. Son basamak olan bazik yıkama işleminde ise her bir tüpe 3 ml 'ayıraç dört' eklenerek, 5 dakika boyunca rotatorda ters-düz edilmiştir. Ters- düz işleminden sonra tüplerde meydana gelen organik fazın (en üstte meydana gelen kısım) 2/ 3' ü Pasteur pipeti ile alınarak steril viallere aktarılmıştır. Hazırlanan örnekler Yağ Asidi Analiz Sistemi'ne (Agilent®, 6890N, gaz kromatografisi) verilmiş ve elde edilen pikler Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIDI) tarafından, ACTINI1 veritabanına göre analiz edilmişlerdir.

2.2.7. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu

Aktinomiset izolatlarının bitki büyümesini teşvik edici ve seçilen enzim aktivitelerinden yüksek sayıda pozitif olan örneklerin seçilmesinden sonra bu izolatların peptone water besiyerinde 28 ± 2 C°'de 14 günlük inkübasyonları sonrasında hücre peletleri alınmış ve 1 mM'lık Tris ile bakterilerin üretildiği besiyerinden arındırılması ve bir gün boyunca -80 C°'de bekletilmesinin ardından üretici firmanın talimatlarına uygun olarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonu Wizard® 'Genomic DNA Purification Kit' -genomik DNA saflaştırma kiti- (Promega) ile üreticinin tavsiyesine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

DNA varlığı %0,8'lik agaroz jel üzerinde 1 KB generular markır (Thermo®) ile birlikte gösterilmiştir.

2.2.8. 16S rRNA gen bölgesi çoğaltılması, saflaştırılması ve dizilenmesi

Bakteri domaini için evrensel olan 16S rRNA bölgesinin çoğaltılması sırasında evrensel primerler ile polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirilmiştir (Zhao vd. 2011). PCR döngüleri Çizelge 2.22.'de, kullanılan primerler ise Çizelge 2.23.'te verilmiştir. PCR ile 16S rRNA bölgelerinin çoğaltılması işlemi %1.2'lik agaroz jelde 1 KB generular markır (Thermo®) ile görüntülenmiştir.

Çizelge 2.22. 16S rRNA gölgesi için evrensel primerler ile yapılan PCR işlemi basamakları

PCR basamağı	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon 94 C°	2 dakika	1
Denatürasyon 94 C°	30 saniye	35
Bağlanma 51,6 C°	30 saniye	35
Uzama 72 C°	2 dakika	35
Uzama sonrası 72 C°	5 dakika	1
Sonlanma 4 C°	∞	1

16S rRNA bölgelerinin saflaştırılması için Thermo® Gene Jet PCR saflaştırma kiti üreticinin verdiği yönergelere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak 1500 baz-çifti (bç) büyüklüğündeki bölgelerin kesilerek saflaştırılması sonrasında dizilenmesi için Macrogen® Europe firmasına gönderilmişlerdir. Dizileme işlemi 23 ABI 3730XLs cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2.23. 16 S rRNA bölgesinin çoğaltılması ve dizileme sırasında kullanılan primerler

Primer ismi	Kullanıldığı yer	Baz sıralaması 5'-3'
518F	Dizileme	CCAGCAGCCGCGGTAATACG
800R	Dizileme	TACCAGGGTATCTAATCC
1492R	Dizileme	TACGGYTACCTTGTTACGACTT
337F	Dizileme	GACTCCTACGGGAGGCWGCAG
1492R	16S rRNA bölgesi	TACGGYTACCTTGTTACGACTT
27F	16S rRNA bölgesi	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG

2.2.9. 16S rRNA gen bölgelerinin analizi ve filogenetik dendogramların oluşturulması

16S rRNA gen bölgelerinin en doğru okuma bölgeleri BioEdit programı ile belirlenir (Hall, 1999). Daha sonra aynı organizmanın farklı primerler ile dizilenmiş dizi bilgileri BioEdit programı ile birleştirilir ve 1500 baz çiftinin olabildiğince dizi bilgisi elde edilmiş olunur. Daha sonra EzTaxon server kullanılarak en yakın tip türler ile karşılaştırmaları yapılır (Kim vd., 2012). Olası yeni türlerin analizi için MEGA7 programı kullanılarak benzer türlerin dizi bilgileri CLUSTAL W opsiyonu ile hizalanarak filogenetik dendogramları hazırlanır (Kumar vd., 2016). 16S rRNA bölgelerinin filogenetik dendogramları neighbor-joining (akrabalık-ilişkileri) algoritması kullanılarak oluşturulur. Neighbor-joining (akrabalık ilişkileri) algoritmasının evrimsel uzaklık matrisi hesaplamaları gerçekleştirilmiştir (Jukes ve Cantor, 1969). Bootstrap analizleri ise MEGA7 paket programı kullanılarak 1000 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.2.10. EA12'nin polifazik yöntemler ile tanımlanması

2.2.10.1. Farklı besiyerlerinde üreme potansiyellerinin belirlenmesi

Yeni tür olma olasılığında olan aktinomiset izolatları için MGYEA, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7 (Shirling ve Gottlieb, 1966), BNT, TSA, NA, PWA, ISP2+%5 NaCl ve ISP2+%8 NaCl besiyerleri üzerindeki üreme özellikleri incelenmiştir. Üreme sırasındaki gösterdikleri farklı renk özellikleri Kelly'ye göre belirlenmiştir (Kelly, 1958).

2.2.10.2. Temel karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme testleri

Yeni tür olma olasılığında olan izolatların ISP9 besiyerinde %1'lik karbon kaynağı içerecek şekilde hazırlanarak aktinomisetlerin inokulasyonu gerçekleştirilmiştir (Williams vd., 1983). Test edilen aktinomisetler 30 C°'de 14 gün inkübe edildikten sonra sonuçlar kayıt edilmiştir. Pozitif kontrol olarak D-glikoz negatif kontrol olarak ise ISP9 medium kullanılmıştır.

Azot kaynağını kullanma açısından test edilmeleri için ise bazal medium besiyerinde %0.1 madde içerecek seviyede besiyerine yapılan ekleme sonrası aktinomisetlerin inokulasyon gerçekleştirilmiştir (Williams vd., 1983). Test edilen

aktinomisetler 30 C°'de 14 gün inkübe edildikten sonra sonuçlar kayıt edilmişlerdir. Pozitif kontrol olarak %0,1'lik L-asparajin negatif kontrol olarak ise bazal medium kullanılmıştır. Kullanılan azot ve karbon kaynakları Çizelge 2.24'te verilmiştir.

Çizelge 2.24. Çalışmada kullanılan karbon ve azot kaynakları

Kaynak	Besiyeri	Kullanım amacı	Marka	Kullanılan miktar
Tween 20	ISP9	Deterjan parçalama	Fluka	% 1
Mannoz	ISP9	Karbon kaynağı	Fluka	% 1
D(+) sikloz	ISP9	Karbon kaynağı	Merck	% 1
L-arabinoz	ISP9	Karbon kaynağı	Fluka	% 1
D(+)galaktoz	ISP9	Karbon kaynağı	Merck	% 1
Myo-inositol	ISP9	Karbon kaynağı	sigma	% 1
D(-)früktoz	ISP9	Karbon kaynağı	Merck	% 1
Sükroz	ISP9	Karbon kaynağı	Fluka	% 1
D(+)rafinoz	ISP9	Karbon kaynağı	AppliChem	% 1
Selüloz	ISP9	Karbon kaynağı	Fluka	% 1
L-ramnoz	ISP9	Karbon kaynağı	Sigma	% 1
Suksinik asit	ISP9	Degradasyon	Fluka	% 0.1
L_treonin	Bazal	Azot kaynağı	Fluka	% 0.1
L_prolin	Bazal	Azot kaynağı	Sigma	% 0.1
L-tirozin	Bazal	Azot kaynağı	Merck	% 0.1
L-fenilalanin	Bazal	Azot kaynağı	Fluka	% 0.1
D-arjinin	Bazal	Azot kaynağı	Sigma	% 0.1
DL-metiyonin	Bazal	Azot kaynağı	Aldrich	% 0.1
L-lösin	Bazal	Azot kaynağı	Fluka	% 0.1
L-valin	Bazal	Azot kaynağı	Fluka	% 0.1
L-alanin	Bazal	Azot kaynağı	Fluka	% 0.1

2.2.10.3. Menakinon (respiratuar izoprenoid) analizleri

İzolatların menakinon analizleri Collins'e göre gerçekleştirilmiştir (Collins, 1994). Özetle cam tüplerin içerisine 100 mg örnek tartıldıktan sonra üzerine kloroform/metanol (2:1) karışımı eklenerek 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda bırakılmıştır. Hücre/çözücü karışımı whatman filtre kağıdından süzülerek sıvı kısım rotary evaporatörde kurutulur. Daha sonra çok az miktarda kloroform ve metanol eklenerek uniform şekilde dağılım sağlanır. Bunun ardından ince tabaka kromatografisi (İTK) plaklarına (alüminyum tabaka, 254 nm, Merck) yükleme gerçekleştirilir. İTK plakaları hegzae ve dietil eter (85:15) karışımında bırakıldıktan sonra 254 nm de meydana gelen bantlar işaretlenir ve plaka üzerinden kazınan örnekler izopropanol içerisinde çözündürülerek HPLC ile incelenmiştir.

HPLC ile analiz kısmında ters faz C18 kolonu kullanılmıştır. İzokratik mobil faz olarak, oda sıcaklığında metanol:izopropanol (3:2, v/v) çözeltisi 1 ml/dk akış hızı ile

kullanılmıştır. Örnek incelenmesi için cihaza 20 µl yüklenmiştir. Menakinon bileşikleri 270 nm dalga boyunda incelenmiş ve UV dedektörde (SPD-10A, Shimadzu Co.) görüntülenmiştir. Standart bileşiklerin profilleri ile karşılaştırılarak örneklerin menakinon profilleri belirlenmiştir.

2.2.10.4. Tüm şeker analizleri

Yeni tür olma olasılığı belirlenen izolatanın şeker analizleri Lechevalier ve Lechevalier,'in keşfettiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970). Özetle 50 mg liyofilize örnek üzerine 1 ml 1N sülfirik asit eklenmiştir. 95 C°'de 2 saat ısıtıcıda bekletildikten sonra sıcaklığın oda ısısına düşmesi beklenir. Daha sonra baryum hidroksit çzelitisi ile pH'ı 5-5.5'e ayarlanan örnek 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz temiz bir tüpe aktarılarak liyofilizatörde kurutulmuştur. 0,3 ml distile su içerisinde çözünen kuru örnek 13500 rpm'de yeni bir ependorf kullanılarak santrifüjlenmiştir. Üst faz yeni bir santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Kurutma kağıdı etil asetat: piridin: distile su (100:35:25) çzelitisi içerisinde 1 gün bekletilmiştir. Daha sonra kurutulularak şeker solüsyonları ve standartlar (%1 ramnoz, %1 riboz, %1 ksiloz, %1 arabinoz, %1 mannoz, %1 Glikoz, %1 galaktoz) 5 µl olacak şekilde İTK (alüminyum tabaka, 254 nm, Merck) üzerine eklenmiştir. Çeker ocak içerisinde kurutulmuş plaka yine aynı çözücü içerisinde iki saat yürütülmüştür. Yürütücünün plaka üzerinde ilerlediği alan işaretlendikten sonra aynı işlem iki kere daha tekrarlanmıştır. Daha sonra plaka kurumaya bırakılmıştır ve anilin fitalat ile spreylenecek 5 dakika 105 C°'de bırakıldıktan sonra meydana gelen spotlar şeker profillerini göstermektedir.

2.2.10.5. Polar lipid analizi

Polar lipidlerin analizi Minnikin vd.'lerinin keşfettiği (Minnikin vd., 1984) ve Kroppenstedt ve Goodfellow tarafından modifiye edilen yöntemle uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Kroppenstedt ve Goodfellow, 2006). Özetle; 100 mg liyofilize örnek üzerine tuzlu su: metanol (1:10) çzeltisi ve petrol eterden ikişer ml ilave edilerek ve 30 dakika karıştırılmıştır. 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırılarak 1 ml petrol eter eklenerek 30 dakika karıştırılmıştır. 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj tekrarlanarak süpernatant tekrar atılmıştır. Peletler 99 C°'lik su banyosunda 5 dakika

bekletildikten sonra üzerlerine 2,3 ml kloroform: metanol: %0,3'lük tuzlu su (90:100:30) solüsyonundan eklenmiş ve 1 saat çalkalanmıştır. 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj sonrası üst faz yeni tüp içerisine aktarılmışlardır. Süpernatant üzerine 0,75 ml kloroform: metanol:%0.3'lük tuzlu su (50:100:40) solüsyonundan eklenerek 30 dakika karıştırılmıştır. 1800 rpm'de 5 dakika sonrası süpernatant toplanarak 1,3 ml kloroform ve 1,3 ml %0,3'lük tuzlu su eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra tüm içerik evaporatörde kurutulurak ve üzerine kloroform, metanol (2:1) solüsyonu eklenmiş ve gerekli miktarlarda tüplere aktarılmıştır.

Polar lipid profili belirlenmesi için 4 farklı kromatografi plakası (10x10) kullanılmıştır (alüminyum tabaka, 254 nm, Merck). 20 mikrolitre örnek plakanın köşesine yüklenmiş ve plakalar kurutulmuştur. İlk yürütücü olan kloroform: metanol: saf su (65:25:4) solüsyonu tankın iki tarafından eklenen kurutma kağıtlarıyla birlikte eklenerek çözücünün en üst tabakaya ilerlemesi beklenmiştir. Bu süre sonrası 30 dakika kurumaya bırakılmışlardır. ikinci çözücü olan kloroform: asetik asit: metanol: saf su (80:12:15:4) karışımı kurutma kağıtlarıyla plakalar üzerine çektirilir ve son olarak analiz öncesi 30 dakika boyunca kurutma gerçekleştirilir.

1. plaka: Tüm lipitlerin incelenmesi

%5'lik etanol içerisinde çözünen molibdatofosforik asit ile spreylenen plakalar ilkin 150 C°'de daha sonra ise 170 C°'de 20 dakika bekletilmiştir. Siyah renkli lekeler lipitlerin varlığını göstermektedir.

2. plaka: Amino grupların incelenmesi

Aseton veya metanol içinde çözüldürülen %0,2'lik ninhidrin spreylenecek gerçekleştirilir. 10 dakika 80 C°'de bekletildikten sonra meydana gelen pembe spotlar amino gruplarını göstermektedir.

2. plaka: Fosfo grupların incelenmesi (amino gruplarının belirlenmesinden sonra bu uygulamaya geçilir)

4,5M'lık sülfirik asit içerisinde çözüldürülen %1,3 molibden mavisi ile spreyleneştir. Plaka oda sıcaklığında kurutulduktan sonra meydana gelen mavi spotlar fosfo gruplarını göstermektedir. İkinci plakada hem amino hem de fosfo grupları farklı zamanlarda, aynı plakada incelendiğinden plakadaki sayı artış numarası yukarıda olduğu gibidir.

3. plaka: Gliko gruplarının incelenmesi

α -nafto-sülfürik asit [40.5 ml etanol, 4 ml distile su, 6.5 ml konsantre sülfürik asit ve 10.5 ml α -naftol (1 litre etanolde 15 g) karışımı] ile spreylenen plaka 10 dakika boyunca 80 C°'de bekletilmiştir. Beyaz zemin üzerindeki kahverengi spotlar gliko gruplarını göstermektedir.

4. plaka: Kolin gruplarının incelenmesi

Dragendorff reaktifi ile spreylenen plaka oda sıcaklığında kurutulur ve turuncu noktalar kolin gruplarını göstermektedir (Tindall, 1990).

2.2.10.6. Diaminopimelik asit (DAP) analizi

Diaminopimelik asit analizleri Staneck ve Roberts'a göre gerçekleştirilmiştir (Staneck ve Roberts, 1974). 10 mg liyofilize örnek üzerine 200 μ l 6 N'lik hidroklorik asit eklenerek 100 C°'de 16 saat tutulurlar. 2000 rpm'de santrifüj edilen tüplerin üst süpernatantları 60-70 C°'lik sıcaklıkta kurutulurlar. Buharlaşma gerçekleştikten sonra 0,1 ml distile su içinde örnek çözündürülür.

Metanol: distile su: hidroklorik asit: piridin (80:26:4:10) solüsyonunda İTK plakası 1 gün boyunca tutulur. Plakanın (İTK silika jel 254nm, plastik tabaka 20x20, Merck) 1,5 cm yukarısına 1 cm genişliğinde her bir örnek ve standartlar yüklenir ve çeker ocak üzerinde kurumaya bırakılırlar. Aynı solüsyon içerisinde 3 saat yürütülen plaka %2'lik ninhidrin (aseton ile hazırlanmış) ile spreylenir ve 5 dakika 100 C°'lik etüvde bekletildikten sonra diaminopimelik asitleri belirlenmiştir.

2.2.10.7. SEM analizi

Aktinomisetlerin spor ve miselyum morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla gelişim özelliklerinin incelendiği MGYEA, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7, BNT, TSA, NA, PWA besiyerine ekim sonrası her bir besiyerinden örneklem alınarak yapıları incelenmiştir. Bu işlem için aktinomisetlerin besiyerine tutundukları yüzey üzerinden alüminyum stublar üzerine aktarımı gerçekleştirilmiş olup, 50 nm boyutunda örnek kaplama cihazı ile organik örneğin iletkenliği sağlaması adına altın kaplanması gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bakteri yapılarının incelenmesi adına en az 5000 en fazla

ise 20000 büyütmede FESEM, ZEISS Ultraplus cihazı ile görüntü yakalanmaya çalışılmıştır.

2.2.11. Bitki büyüme testleri

Bitki büyüme testleri bitki kök bölgesinin daha iyi gözlenebilmesi açısından hidroponik yöntem kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Bu yöntem toprak ile yapılan çalışmalarda yaşanılması muhtemel kök kayıplarını engellemek adına gerçekleştirilmiştir. Aktinomisetler 14 gün boyunca peptonlu su besiyerinde geliştirilmişlerdir. Daha sonra yüzer tane olacak şekilde daha önce açıklanan şekilde yüzey sterilizasyonu yapılmış ‘Masaccio’ (geniş adaptasyon kabiliyeti ile yüksek verim ve kalite değerlerine sahip ekmeklik buğday çeşididir, soğuklara tolerant, orta-uzun boylu, sağlam saplı ve yatmaya toleranslıdır. külleme, sarı pas ve kahverengi pas hastalıklarına toleranslıdır, *Triticum aestivum* L.) isimli ticari tohumluk buğday tohumları üzerine inokulasyon gerçekleştirilmiştir. Tohumlar üzerine bakteri besiyeri karışımı uygulandığından negatif kontrolde sadece besiyeri ile tohumlar uygulamaya alınmışlardır. Yarım saatlik bakteri-tohum inokulasyonu sonrasında tohumlar özel bir düzenek ile sıvı bitki besini (besin içeriği Çizelge 2.25. ve Çizelge 2.26.’de verilmiştir) içeren beherlerin üzerine bırakılarak hidroponik üretim ile bitkilerin geliştirilmesi sağlanmıştır. Çimlenmeyi takip eden süreçte bitkilerin sıvı çekme özelliğine göre bitki besini içeren su eklemesi hasat yapılana kadar sürdürülmüştür.

Çizelge 2.25. Hidroponik üretim baz sıvı besiyeri içeriği

İçerik	Miktar
Amonyum sülfat	% 4
Di amonyum fosfat	% 18
Potasyum sülfat	% 38
Magnezyum sülfat	% 0,5
Borik asit	% 0,2
Bakır sülfat	% 0,05
Demir sülfat	% 0,4
Manganez oksit	% 0,2
Molibden oksit	% 0,01
Çinko sülfat	% 0,05

Çizelge 2.26. Hidroponik üretim besiyeri karışımı

İçerik	Miktar
Çizelge 2.25.'deki besiyeri içeriği	2 g
Kalsiyum nitrat	2 g
Magnezyum sülfat	1 g
Steril distile su	4 L

Tohum çimlenmesinin ardından 30 günlük çimlenme sonrası bitkiler tek tek sıvı besiyerinden ayrılarak, kök ve gövde boyları ayrı ayrı ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS programında one way ANOVA test uygulanarak $p < 0,05$ değerine göre istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. Bitki gelişiminin olup olmadığı SPSS programı yardımıyla gösterilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Aktinomiset İzolasyonu, Saflaştırılması ve Stoklanması

12 farklı bitki bölümü ve 20 farklı toprak alanından 422 izolat saflaştırılıp stoklanmıştır. Bunların 33 tanesi endofitik, 389 tanesi ise toprakta serbest halde bulunan aktinomisetlerdir. Aktinomisetlerin izole edildiği bölgelere göre sayısal gösterimi Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Aktinomisetlerin izole edildiği bölgeler ve izolat sayıları

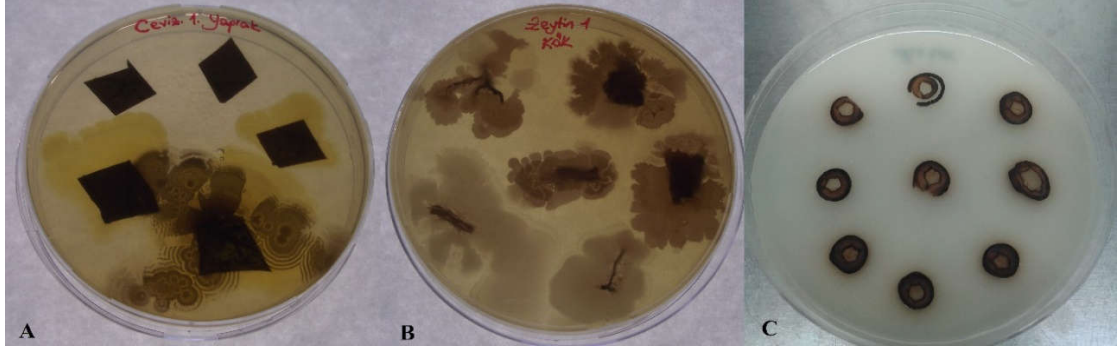
İzolasyon bölgesi	İzolat sayısı
Ceviz ağacı meyvesi	2
Ceviz ağacı dalı	4
Ceviz ağacı yaprağı	4
Zeytin ağacı bitki kökü	23
Zeytin ağacı yüzey toprağı	113
Zeytin ağacı kök bölgesi toprağı	58
Ceviz ağacı yüzey toprağı	101
Ceviz ağacı kök bölgesi toprağı	117
Toplam	422

3.1.1. Endofitik aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması

Çalışma sırasında farklı bitki örneklerinden yapılan yüzey sterilizasyonu sonrasında saf olarak elde edilen endofitik bakteri sayısı 33 olarak kayıt edilmiştir. Çeşitli bitki gruplarının çoğunlukla kök olmak üzere, yaprak, gövde ve meyve kısımlarından aktinomiset izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ceviz ağaçlarından 10, zeytin ağaçlarından ise 23 izolat saflaştırılmıştır.

Şekil 3.1. de izolasyon öncesi (Şekil 3.1.C) ve sonrasındaki (3.1.A ve 3.1.B) ekim şekilleri (Şekil 3.2.) gösterilmiş olup, Çizelge 3.2.'de ise izole edilen endofitik aktinomisetler ve özellikleri sıralanmıştır.

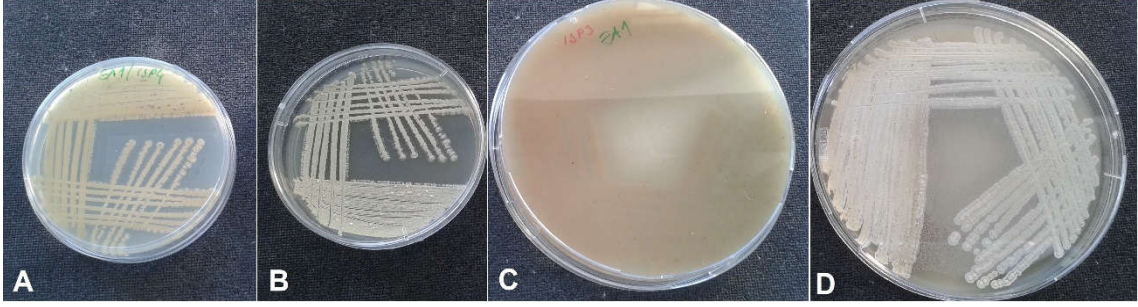
İzolasyon sonrasında ISP3 ve ISP4 besiyerlerine ekim yapılarak saflık kontrolleri gerçekleştirilmiş ve ikili stokları %20'lik gliserol solüsyonunda -86 C° derin dondurucuda saklanmışlardır.



Şekil 3.1. A) 1. Ceviz ağacının yapraklarının sterilizasyonu sonrası, besiyeri üzerinde üremesi görülen bakteriler. B) 1. Zeytin ağacının kök bölgelerinin sterilizasyonu sonrası, besiyeri üzerinde üremesi görülen bakteriler. C) 6. Ceviz ağacının dal parçalarının uygun şartlarda kesilip yüzey sterilizasyonu yapılmasının ardından besiyeri üzerine yerleştirilmeleri.

Çizelge 3.2. Çeşitli bitki bölümlerinden izole edilen endofitik aktinomisetler ve izole edildikleri bölgeler

Örnek adı	Örnek numarası	İzole edildiği kısım
C.1.Y.Y.1	EA1	1. ceviz ağacının yaprağından
C.1.Y.2	EA2	1. ceviz ağacının yaprağından
C.1.Y.Y.2	EA3	1. ceviz ağacının yaprağından
C.1.Y.2	EA4	1. ceviz ağacının yaprağından
Z.1.K.21.1	EA5	1. zeytin ağacının kökünden
Z.2.K.Y.4.3.2	EA6	2. zeytin ağacının kökünden
Z.2.K.Y.6	EA7	2. zeytin ağacının kökünden
Z.2.K.Y.8.1	EA8	2. zeytin ağacının kökünden
Z.2.K.Y.1	EA9	2. zeytin ağacının kökünden
Z.1.K.22	EA10	1. zeytin ağacının kökünden
Z.3.K.Y.5	EA11	3. zeytin ağacının kökünden
Z.4.K.Y.6	EA12	4. zeytin ağacının kökünden
Z.2.K.6.1	EA13	2. zeytin ağacının kökünden
Z.2.K.6.2	EA14	2. zeytin ağacının kökünden
Z.4.K.Y.3	EA15	4. zeytin ağacının kökünden
Z.4.K.6.1	EA16	4. zeytin ağacının kökünden
Z.4.K.6	EA17	4. zeytin ağacının kökünden
Z.4.K.6.2	EA18	4. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.22	EA19	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.23	EA20	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.23.1	EA21	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.24	EA22	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.25	EA23	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.32	EA24	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.33.1	EA25	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.34	EA26	5. zeytin ağacının kökünden
Z.5.K.35	EA27	5. zeytin ağacının kökünden
C.6.G.31	EA28	6. ceviz ağacının gövdesinden
C.6.G.36	EA29	6. ceviz ağacının gövdesinden
C.6.G.37	EA30	6. ceviz ağacının gövdesinden
C.6.G.10	EA31	6. ceviz ağacının gövdesinden
C.7.E.A.M.12	EA34	7. ceviz ağacının meyvesinden
C.7.E.A.M.13	EA35	7. ceviz ağacının meyvesinden

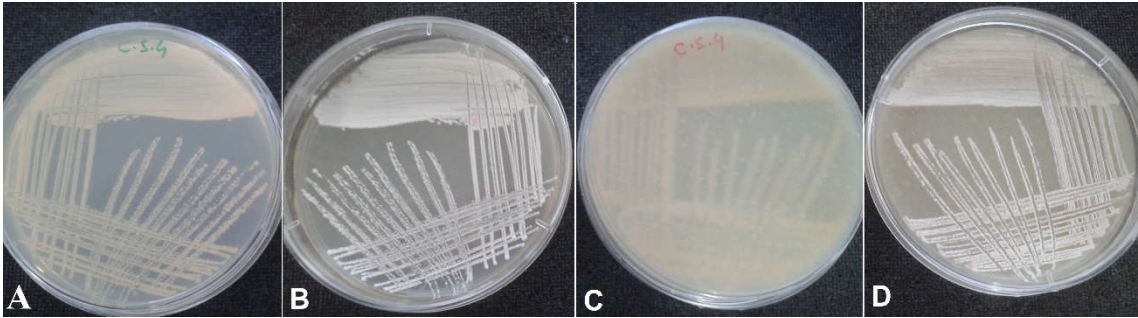


Şekil 3.2. Farklı besiyerlerinde EAI kodlu aktinomisetin üreme özellikleri. A) ISP4 besiyerindeki substrat miselyumu gelişimi, B) ISP4 besiyeri hava miselyumu gelişimi, C) ISP3 besiyerindeki substrat miselyumu gelişimi, D) ISP3 besiyerindeki hava miselyumu gelişimi

3.1.2. Toprakta serbest halde yaşayan aktinomiset izolasyonu, saflaştırılması ve stoklanması

Toprakta serbest halde yaşayan aktinomisetlerin izolasyonu sırasında seri dilüsyonlar gerçekleştirilerek MGYEA agar petrileri üzerinde yapılan ekimler sonrasında 171 izolat zeytin ağaçlarının yüzey ve kök bölgelerinden, 218 izolat ise ceviz ağaçlarının yüzey ve kök bölgelerinden (rizosferden) izole edilmişlerdir.

Ceviz aktinomisetleri, 5 farklı ceviz ağacından olacak şekilde 101 tanesi yüzey topraklarından, 117 tanesi ise kök bölgesinden izole edilmişlerdir. ISP3 ve ISP4 besiyerlerinde farklı üreme potansiyellerini belirlemek için ekildikleri sırada, tek kolonilerin elde edilmesi ile birlikte organizma saflık kontrolleri yapılmıştır (Şekil 3.3.). Saf oldukları belirlenen izolatlar kısa kodlar oluşturularak %20'lik gliserol içerisinde -86 C°'lik ultra derin dondurucuda diğer çalışmalar yapılana kadar saklanmışlardır, ceviz ağacı rizosferinden izole edilen aktinomisetlerin listesi Çizelge 3.3.'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Farklı besiyerlerinde C4 kodlu aktinomisetin üreme özellikleri. A) ISP4 besiyerindeki substrat miselyumu gelişim şekli B) ISP4 besiyeri hava miselyumu gelişim şekli, C) ISP3 besiyerindeki substrat miselyumu gelişim şekli D) ISP3 besiyerindeki hava miselyumu gelişim şekli

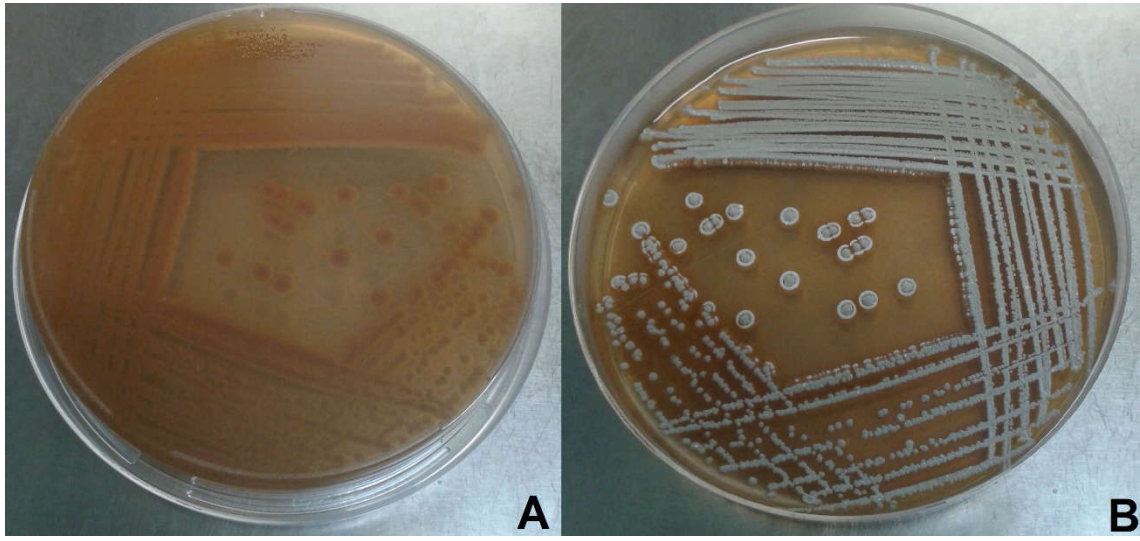
Çizelge 3.3. Ceviz ağaçlarından izole edilen aktinomisetler

İzolat numarası	İzole edildiği bölge	İzolat	İzole edildiği bölge
C.S.1.Y.1.2	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.5	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.2.1	1. ceviz yüzey	C.S.2.K.8.1	2. ceviz kök bölgesi
C.S.1.Y.2.2	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.5.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.5	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.5.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.6.1	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.6.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.6.2	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.6.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.8.1	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.9.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.8.2	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.9.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.10.2	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.10	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.11	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.12.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.12.1	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.12.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.12.2	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.13.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.Y.12.3	1. ceviz yüzey	C.S.3.Y.13.2	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.27.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.17.1	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.27.4	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.17.2	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.1.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.19.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.7.1.1	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.20.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.7.2.1	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.20.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.7.2	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.21	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.8.1	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.22	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.8.2	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.24.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.9	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.24.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.10.2	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.24.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.11	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.24.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.12.1	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.24.3	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.12.2	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.25	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.12.3	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.26	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.5.2.1	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.27.1.1.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.5.2.2	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.27.1.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.5	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.27.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.5.1	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.27.2.1	3. ceviz yüzey
C.S.1.K.5.2.3	1. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.27.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.2.1	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.3.1 (31)	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.2.2	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.3.2 (32)	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.3.1	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.5.1	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.3.2	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.16.1	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.4	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.11.1.1	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.6	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.11.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.7	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.11.2.1	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.11	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.11.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.17	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.11.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.19.1	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.16.3	3. ceviz yüzey
C.S.2.Y.26	2. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.1.1	3. ceviz yüzey
C.S.2.K.6	2. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.27.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.4	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.1.3	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.5	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.2.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.7	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.2.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.9	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.2.1	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.9.1.1	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.9.1.2	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.27.2.2	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.20	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.29.1.1	3. ceviz yüzey
C.S.5.Y.2	5. ceviz yüzey	C.S.3.Y.29.1.2	3. ceviz yüzey
C.S.2.K.8	2. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.29.2	3. ceviz yüzey
C.S.3.Y.2	3. ceviz yüzey	C.S.3.Y.29.3	3. ceviz yüzey

Çizelge 3.3. (devam) Ceviz ağaçlarından izole edilen aktinomisetler

İzolât	İzole edildiği bölge	İzolât	İzole edildiği bölge
C.S.3.Y.32.1.1	3. ceviz yüzey	C.S.4.K.28.1	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.8	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.28.1	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.9.1	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.30.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.18	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.30.3	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.23.1	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.31	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.23.2	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.32.1	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.23.3	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.32.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.23.1.2	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.33	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.23.1.2	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.34.1.1	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.23.2.1	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.34.1.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.24.2	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.34.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.25	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.1.1	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.28.1	3. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.1.3	4. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.28.2	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.1	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.28.2.1	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.2	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.29	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.3	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.30	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.4	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.31	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.6	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.32	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.5	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.33	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.3.1	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.34.1	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.3.2	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.35	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.3.3	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.37	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.3.4	5. ceviz kök bölgesi
C.S.3.K.39	3. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.5.1	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.Y.9.1.1	4. ceviz yüzey	C.S.5.K.5.2	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.Y.9.2	4. ceviz yüzey	C.S.5.K.5.4	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.Y.15	4. ceviz yüzey	C.S.5.K.5.3	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.Y.16	4. ceviz yüzey	C.S.5.K.10.1	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.Y.4	4. ceviz yüzey	C.S.5.K.10.2	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.2.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.27	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.4.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.13.3	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.4.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.30	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.11.1.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.11.1.3	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.11.1.3	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.Y.32.2	3. ceviz yüzey
C.S.4.K.11.1.4	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.K.10	3. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.11.2.3	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.K.16	3. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.12	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.K.23.2	3. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.13.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.K.16	3. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.13.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.3.K.28.1	3. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.13.3	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.11.1.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.13.4	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.11.2.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.14.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.14.2	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.14.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.18.3	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.18.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.27.3	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.18.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.4.K.30.1	4. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.19.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.4	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.19.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.2.5	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.22	4. ceviz kök bölgesi	C.S.5.K.10.3	5. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.23.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.2.Y.19.2	2. ceviz yüzey
C.S.4.K.23.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.5.Y.7.1.1	5. ceviz yüzey
C.S.4.K.24	4. ceviz kök bölgesi	C.S.5.Y.2.2	5. ceviz yüzey
C.S.4.K.25.1	4. ceviz kök bölgesi	C.S.2.K.8.1	2. ceviz kök bölgesi
C.S.4.K.25.2	4. ceviz kök bölgesi	C.S.1.Y.4.2	1. ceviz yüzey
C.S.4.K.27.1	4. ceviz kök bölgesi		
C.S.4.K.27.2	4. ceviz kök bölgesi		

Zeytin rizosferindeki aktinomisetlerin 113 tanesi yüzey topraklarından, 58 tanesi ise kök bölgesi rizosfer topraklarından izole edilmişlerdir. ISP3 ve ISP4 besiyerlerinde farklı üreme potansiyellerini belirlemek için ekildikleri sırada, tek kolonilerin elde edilmesi ile birlikte organizma saflık kontrolleri yapılmıştır. Saf oldukları belirlenen izolatlar %20'lik gliserol içerisinde -86 C°'lik ultra derin dondurucuda diğer çalışmalar yapılana kadar saklanmışlardır (Şekil 3.4.). İzole edilen aktinomisetlerin sıralı listesi Çizelge 3.4.'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Z.S.1.Y.11.1 izolat numaralı Z53 kodlu aktinomisetnin ISP4 besiyerine inokulasyonu. A) Substrat miselyumu gelişimi B) hava miselyumu gelişimi

Çizelge 3.4 Zeytin ağaçlarından izole edilen aktinomisetler

İzolot	İzole edildiği bölge	İzolot	İzole edildiği bölge
Z.S.1.Y.12.1	1. zeytin yüzey	Z.S.1.Y.11.3	1. zeytin yüzey
Z.S.1.Y.12.2	1. zeytin yüzey	Z.S.2.K.6	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.13.1	1. zeytin yüzey	Z.S.2.K.7	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.13.2	1. zeytin yüzey	Z.S.2.K.9.1	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.4.1	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.9.2	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.4.2	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.13.1	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.4.3	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.13.2	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.5	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.13.4	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.10	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.17.2	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.2.K.1.1	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.18.1	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.2.K.1.2	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.K.18.2	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.3.Y.3.1	3. zeytin yüzey	Z.S.2.K.19.1	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.3.Y.3.2	3. zeytin yüzey	Z.S.2.K.19.2	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.3.Y.4	3. zeytin yüzey	Z.S.2.K.23.1	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.4.Y.19.1	4. zeytin yüzey	Z.S.2.K.23.2	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.4.Y.19.2	4. zeytin yüzey	Z.S.2.K.23.3	2. zeytin kök bölgesi
Z.S.4.Y.19.3	4. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.2.1	2. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.20	4. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.2.2	2. zeytin yüzey
Z.S.4.K.13.1	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.2.3	2. zeytin yüzey
Z.S.4.K.30.1.1	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.3.1	2. zeytin yüzey
Z.S.4.K.30.2	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.3.2	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.2	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.4	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.20.1	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.5	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.23.1	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.6.1	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.23.3	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.6.2	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.23.2	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.6.3	2. zeytin yüzey
Z.S.5.K.10.2	5. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.6.4	2. zeytin yüzey
Z.S.1.Y.5	1. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.6.5	2. zeytin yüzey
Z.S.2.K.3.1	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.8	2. zeytin yüzey
Z.S.2.K.24.1	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.9.1	2. zeytin yüzey
Z.S.2.K.24.2	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.9.2	2. zeytin yüzey
Z.S.2.K.24.3	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.9.3	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.2	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.14	2. zeytin yüzey
Z.S.5.Y.8	5. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.16	2. zeytin yüzey
Z.S.1.Y.6	1. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.15.1.1	2. zeytin yüzey
Z.S.2.K.5.1	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.15.1.2	2. zeytin yüzey
Z.S.2.K.26	2. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.15.2.1	2. zeytin yüzey
Z.S.1.K.2	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.2.Y.15.2.2	2. zeytin yüzey
Z.S.1.K.3	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.4.K.30.1.1	4. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.6.1	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.4.K.30.1.2	4. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.6.2	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.1.K.4	1. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.8.1	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.1.K.6.1	1. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.K.8.2	1. zeytin kök bölgesi	Z.S.1.K.6.2	1. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.1.1	1. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.23.2	5. zeytin yüzey
Z.S.1.Y.1.2.1	1. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.15.2.1	2. zeytin yüzey
Z.S.1.Y.2	1. zeytin yüzey	Z.S.2.Y.15.2.2	2. zeytin yüzey
Z.S.1.Y.3.1	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.6	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.3.2	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.7	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.4	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.14	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.5	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.15.1	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.7	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.15.2	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.10	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.16.1	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.11.1	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.16.2	3. zeytin kök bölgesi
Z.S.1.Y.11.2	1. zeytin yüzey	Z.S.3.K.23	3. zeytin kök bölgesi

Çizelge 3.4. (devam) Zeytin ağaçlarından izole edilen aktinomisetler

İzolot		İzolot	
Z.S.3.Y.1.1.1	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.2.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.1.1.2	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.2.2	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.1.2.1	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.6.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.1.2.2	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.6.2	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.5	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.7.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.7.1	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.7.2	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.7.2	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.8.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.8	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.8.2	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.9.1	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.9	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.9.2	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.11	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.10.1	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.12.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.10.2	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.12.2	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.11	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.14	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.13.2	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.12.1.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.17.1	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.13.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.19	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.15.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.20	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.18.1	5. zeytin yüzey
Z.S.3.Y.21	3. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.18.2	5. zeytin yüzey
Z.S.4.K.6	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.5.Y.19.1	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.2	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.19.2	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.14	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.20	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.17	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.21	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.18.1	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.22	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.18.2	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.28.1	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.21	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.28.2	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.22.1	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.30.1	5. zeytin yüzey
Z.S.4.Y.22.2	4. zeytin yüzey	Z.S.5.Y.30.2	5. zeytin yüzey
Z.S.4.K.23	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.5.K.9	5. zeytin kök bölgesi
Z.S.4.K.18.1	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.5.Y.7.2.1	5. zeytin yüzey
Z.S.4.K.18.2	4. zeytin kök bölgesi	Z.S.5.Y.7.2.2	5. zeytin yüzey
Z.S.5.K.7.1	5. zeytin kök bölgesi	Z.S.3.Y.21.1	3. zeytin yüzey
Z.S.5.K.10.1	5. zeytin kök bölgesi		

3.2. Bitki Büyüme Düzenleyici Testlerin Belirlenmesi

3.2.1. Siderofor üretim testi (SÜT)

Siderofor üretiminde; sarı, turuncu, mor ve magenta renklerine dönüşen örnekler pozitif olarak kayıt edilmiştir. 195 aktinomiset MCAS üzerindeki aktivitesi sonrası pozitif oldukları belirlenmiş 56 tanesi üzerinde belirleyici ayırım yapılamamıştır (Çizelge 3.5.-3.7.) Siderofor üretebilen aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.5.A.'da gösterilmiştir.

3.2.2. Fosfat çözübilme testi (FÇT)

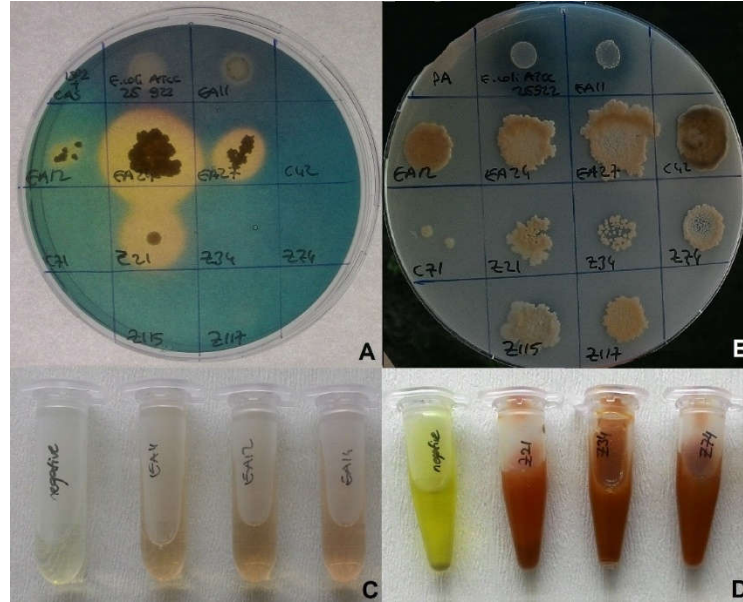
Agar üzerinde belirlenen şeffaf zonlar pozitif olarak kayıt edilmiştir. Toplamda 165 izolatın fosfat çözübilme aktivitesi bulunmaktadır (Çizelge 3.5.-3.7.). Fosfat çözübilme aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.5.C.'de gösterilmiştir.

3.2.3. İndol -3- asetik asit (IAA) üretim testi

Pembe renk oluşumu ile indol asetik asit üretiminin pozitif olduğu izolatlar belirlenmiştir. 214 izolat pozitif olarak kayıt edilmiştir. Pembe renk oluşumunun belirlenemediği izolat sayısı ise 42 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.5.- 3.7.). IAA üretebilen aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.5.B.'de gösterilmiştir.

3.2.4. Amonyak üretim testi (AÜT)

Nessler ayıracağı tüpe eklendikten sonra oluşan sarı, sarı-turuncu renk pozitif olarak kayıt edilmiştir. Toplamda 376 aktinomiset izolatı amonyak üretmiştir (Çizelge 3.5.- 3.7.). Amonyak üretebilen aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.5.D.'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Bitki büyümesini düzenleyici özelliklerin tespiti için yapılan bazı testler. A) Siderofor üretimi pozitif bakteriler sarı halkalar oluşturur. B) Fosfat çözübilme bakterilerin besiyerinde temiz halkalar meydana getirirler. C) IAA üretebilen bakterilerin dış ortamına Salkowski ayıracağı ile muamele edildiğinde pembe renk alırlar. D) Amonyak üretebilen bakterilerin Nessler ayıracağı ile muamele edildiğinde kırmızımsı bir turuncu renk almaktadırlar.

Çizelge 3.5. Endofitik aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve bitki büyümesini destekledikleri enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	İAA	AÜT	PÜT	β-GÜT	KÜT
C.1.Y.Y.1	EA1	+		+	+	+	+	+
C.1.Y.2	EA2	+	+	+	+	+	+	+
C.1.Y.Y.2	EA3	+	+	+	+	+	+	+
C.1.Y.2	EA4		+	+	+	+	+	+
Z.1.K.21.1	EA5			+	+		+	+
Z.2.K.Y.4.3.2	EA6	+		+	+	+	+	+
Z.2.K.Y.6	EA7		+	+	+			+
Z.2.K.Y.8.1	EA8		+	+	+	+	+	+
Z.2.K.Y.1	EA9			+	+		+	+
Z.1.K.22	EA10			+	+		+	+
Z.3.K.Y.5	EA11			?	+		+	+
Z.4.K.Y.6	EA12			+	+		+	+
Z.2.K.6.1	EA13		+	+	+			+
Z.2.K.6.2	EA14	+	+	+	+	+	+	+
Z.4.K.Y.3	EA15		+	+	+			+
Z.4.K.6.1	EA16		+	+	+	+	+	+
Z.4.K.6	EA17	+	+	+	+			+
Z.4.K.6.2	EA18	++	+	+	+			
Z.5.K.22	EA19		+	+			+	+
Z.5.K.23	EA20		+	+	+	+		+
Z.5.K.23.1	EA21	+		+		+	+	+
Z.5.K.24	EA22		+	+	+	+	+	+
Z.5.K.25	EA23		+	+	+		+	+
Z.5.K.32	EA24	+	+	+	+	+	+	+
Z.5.K.33.1	EA25		+	+	+	+	+	+
Z.5.K.34	EA26		+	+	+	+	+	+
Z.5.K.35	EA27		+	+	+	+	+	+
C.6.G.31	EA28			?	++	+		+
C.6.G.36	EA29			+	++	+	+	+
C.6.G.37	EA30		++			?	+	
C.6.G.10	EA31		++			+	+	
C.7.E.A.M.12	EA34	te	te	te	te	te	te	te
C.7.E.A.M.13	EA35	te	te	te	te	te	te	te

+ = pozitif sonuçlar, += kısmen pozitif sonuçlar, boş kısımlar negatif sonuçlar, ? = belirlenemeyen sonuçlar. + seviyesi deney pozitifliği artışı ile orantılıdır. te = PGP özellikleri bakımından test edilmemiş.

Çizelge 3.6. Ceviz ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
C.S.1.Y.1.2	C1			?	+			
C.S.1.Y.2.1	C2	+		?	+			
C.S.1.Y.2.2	C3							
C.S.1.Y.5	C4	+			+	+		+
C.S.1.Y.6.1	C5			+	+	+	+	+
C.S.1.Y.6.2	C6	+		+	+	+	+	?
C.S.1.Y.8.1	C7	+		+	+			
C.S.1.Y.8.2	C8				+			
C.S.1.Y.10.2	C9		+		+			
C.S.1.Y.11	C10		+		+	+	+	+
C.S.1.Y.12.1	C11			?	+	+	+	+
C.S.1.Y.12.2	C12					+	+	
C.S.1.Y.12.3	C13		+		+		+	+
C.S.4.K.27.2	Z95			++	+	+		
C.S.4.K.27.4	Z96	+			+	+		
C.S.4.K.1.2	Z97				+			+
C.S.1.K.7.1.1	C19	+		+	+	+		+
C.S.1.K.7.2.1	C20	+	+		+			+
C.S.1.K.7.2	C21	+	+		+	+		+
C.S.1.K.8.1	C22	+			+	+	+	+
C.S.1.K.8.2	C23	+		+	+		+	+
C.S.1.K.9	C24			+	+	+	+	
C.S.1.K.10.2	C25	+	+	?	+		+	+
C.S.1.K.11	C26		+	?	+	+	+	+
C.S.1.K.12.1	C27		+		+	+	+	+
C.S.1.K.12.2	C28			?	+	+	+	+
C.S.1.K.12.3	C29			+	+	+	+	+
C.S.1.K.5.2.1	C30		+		+	+		
C.S.1.K.5.2.2	C31				+			
C.S.1.K.5	C32				+			
C.S.1.K.5.1	C33		+		+			
C.S.1.K.5.2.3	C34		+		+			
C.S.2.Y.2.1	C35			+	+	+		+
C.S.2.Y.2.2	C36		+	+	+	+		+
C.S.2.Y.3.1	C37	+			+	+	+	+
C.S.2.Y.3.2	C38				+	+		+
C.S.2.Y.4	C39				+			+
C.S.2.Y.6	C40	+	+		+	+	+	+
C.S.2.Y.7	C41	+			+			+
C.S.2.Y.11	C42		+	+	+	+	+	+
C.S.2.Y.17	C43			+	+			
C.S.2.Y.19.1	C44	+			+	+		+
C.S.2.Y.26	C45				+			
C.S.2.K.6	C46			?	+			+
C.S.5.Y.4	C47			?	+		+	+
C.S.5.Y.5	C48	+	+	+	+	+		+
C.S.5.Y.7	C49							
C.S.5.Y.9	C50				+			
C.S.5.Y.9.1.1	C51		+		+			
C.S.5.Y.9.1.2	C52							
C.S.5.Y.20	C53			+	+	+		+
C.S.5.Y.2	C54	+			+		+	+
C.S.2.K.8	C55			?	+		+	+
C.S.3.Y.2	C56			+	+	+	+	+
C.S.3.Y.5	C57				+	+	+	+

Çizelge 3.6. (devam) Ceviz ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
C.S.2.K.8.1	C58							
C.S.3.Y.2.1	C59		+	+	+			
C.S.3.Y.5.1	C60		++		+			
C.S.3.Y.5.2	C61		+	+	+	++	+	
C.S.3.Y.6.1	C62	+	++	++	+	+		+
C.S.3.Y.6.2	C63		+	+++	+	+		
C.S.3.Y.9.1	C64	+	+	?	+			
C.S.3.Y.9.2	C65		++	?	+			
C.S.3.Y.10	C66		++	?	+		+	+
C.S.3.Y.12.1	C67		+	+			+	+
C.S.3.Y.12.2	C68		+	+	+	++	+	+
C.S.3.Y.13.1	C69			+	++	++	+	+
C.S.3.Y.13.2	C70			+	+		+	+
C.S.3.Y.17.1	C71		+	+++	+	++	+	+
C.S.3.Y.17.2	C72	+	+	+++	+	+	+	+
C.S.3.Y.19.2	C73	+	+++	++	+		+	+
C.S.3.Y.20.1	C74			?	+	++	+	
C.S.3.Y.20.2	C75		+	?	+		+	+
C.S.3.Y.21	C76		+		+		+	+
C.S.3.Y.22	C77		+	?	+		+	+
C.S.3.Y.24.1	C78			+	+	++	+	+
C.S.3.Y.24.2	C79	+	+	++	+	++	+	+
C.S.3.Y.24.2.2	C80		++	++	++	++	+	
C.S.3.Y.24.2.2	C81			++	++	++	+	+
C.S.3.Y.24.3	C82			?	+	+	+	+
C.S.3.Y.25	C83	+	+	?	+			+
C.S.3.Y.26	C84	+		?	+			
C.S.3.Y.27.1.1.1	C85	+	+	+	+	+	+	?
C.S.3.Y.27.1.1.2	C86		+	++	+	+	+	+
C.S.3.Y.27.1.2	C87		+	?	+	+	+	+
C.S.3.Y.27.2.1	C88				+		+	+
C.S.3.Y.27.2.2	C89		+	?	+		+	+
C.S.3.Y.3.1 (31)	C90	+	+		+			+
C.S.3.Y.3.2 (32)	C91		+	?	+		+	+
C.S.3.Y.5.1	C92		+	?	+		+	+
C.S.3.Y.16.1	C93			++	+		+	+
C.S.3.Y.11.1.1	C94		+	++	+	+	+	+
C.S.3.Y.11.1.2	C95	+	+				+	+
C.S.3.Y.11.2.1	C96	+		++	+	++	+	+
C.S.3.Y.11.2.2	C97		++	+	++	++	+	
C.S.3.Y.11.2.2	C98			++	+	+	+	+
C.S.3.Y.16.3	C99		+++	?	+		+	+
C.S.3.Y.27.1.1	C100	+	+	?	+	++	+	
C.S.3.Y.27.1.2	C101			?	+	++	+	+
C.S.3.Y.27.1.3	C102			?	+	++	+	+
C.S.3.Y.27.2.1.2	C103		+	+	++	++	+	+
C.S.3.Y.27.2.1.2	C104		+		++	++	+	
C.S.3.Y.27.2.1	C105	+	+++			++	+	+
C.S.3.Y.27.2.2	C106		++	?	++	+	+	+
C.S.3.Y.27.2.2	C107		++	?	+	++	+	+
C.S.3.Y.29.1.1	C108		+		+		+	+
C.S.3.Y.29.1.2	C109			++				
C.S.3.Y.29.2	C110		++	?	+		+	
C.S.3.Y.29.3	C111	+			+			
C.S.3.Y.32.1.1	C112		+		+		+	+

Çizelge 3.6. (devam) Ceviz ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
C.S.3.K.8	C113	++		+	+			+
C.S.3.K.9.1	C114	+			+	+		+
C.S.3.K.18	C115	++	+++	+	+		+	+
C.S.3.K.23.1	C116	+		+				
C.S.3.K.23.2	C117	+		++	++	+		+
C.S.3.K.23.3	C118	+	++	+				
C.S.3.K.23.1.2	C119		++	++	+	+		
C.S.3.K.23.1.2	C120	+			+			
C.S.3.K.23.2.1	C121	+		++	+	+		
C.S.3.K.24.2	C122			++	+			
C.S.3.K.25	C123			+	+			
C.S.3.K.28.1	C124	+	+	++	+			
C.S.3.K.28.2	C125			++	+			
C.S.3.K.28.2.1	C126	+			+	+	+	+
C.S.3.K.29	C127	+		++	+			+
C.S.3.K.30	C128	+			+			
C.S.3.K.31	C129							+
C.S.3.K.32	C130			+	+			+
C.S.3.K.33	C131			++	+		+	+
C.S.3.K.34.1	C132	+			+			+
C.S.3.K.35	C133		+					
C.S.3.K.37	C134	+	++	?	+			+
C.S.3.K.39	C135			++	+			
C.S.4.Y.9.1.1	C136		+		+			+
C.S.4.Y.9.2	C137		+		+			+
C.S.4.Y.15	C138		++		+		+	+
C.S.4.Y.16	C139		+		+			
C.S.4.Y.4	C140		+++	++			+	+
C.S.4.K.2.1	C141					++		
C.S.4.K.4.1	C142	++			+	++	+	+
C.S.4.K.4.2	C143	++			+	+	+	?
C.S.4.K.11.1.1	C144	+		+		+		+
C.S.4.K.11.1.3	C145	+			+	+		
C.S.4.K.11.1.4	C146				+			++
C.S.4.K.11.2.3	C147	+			+	+		
C.S.4.K.12	C148			+	++	+	+	+
C.S.4.K.13.1	C149		++	+	+		+	+
C.S.4.K.13.2	C150			+		++		+
C.S.4.K.13.3	C151			++	+	+	+	
C.S.4.K.13.4	C152			++	+	+	+	+
C.S.4.K.14.1	C153		++	+	+	+	+	+
C.S.4.K.14.2	C154		++	++	+	+		+
C.S.4.K.18.1	C155		++	+	+	++		
C.S.4.K.18.2	C156		++	+	+	++	+	+
C.S.4.K.19.1	C157			+	+	+		+
C.S.4.K.19.2	C158			+		+		
C.S.4.K.22	C159	+	+	?		+		+
C.S.4.K.23.1	C160	+	++	++	+	+		
C.S.4.K.23.2	C161			++			+	
C.S.4.K.24	C162		++	+	+	+		+
C.S.4.K.25.1	C163	++		++	+			
C.S.4.K.25.2	C164	++		+				
C.S.4.K.27.1	C165	+	+	++	+			
C.S.4.K.27.2	C166				+	++		
C.S.4.K.28.1	C167	+		+++	+	+		

Çizelge 3.6. (devam) Ceviz ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
C.S.4.K.28.1	C168	+	++	++				
C.S.4.K.29	C169		+					+
C.S.4.K.30.2	C170	+		++	+			+
C.S.4.K.30.3	C171	+		+	+			+
C.S.4.K.31	C172			+	+	++	+	+
C.S.4.K.32.1	C173			+	+	+		?
C.S.4.K.32.2	C174		++					
C.S.4.K.33	C175		++					
C.S.4.K.34.1.1	C176				+	+		
C.S.4.K.34.1.2	C177		+	++	+	+		+
C.S.4.K.34.2	C178		++	+	+	+		
C.S.4.K.1.1	C179	+		+	+	++	+	+
C.S.4.K.1.3	C180		++		+	+	+	+
C.S.5.K.2.1	C181			+	+	+		+
C.S.5.K.2.2	C182		++	?	+	+		+
C.S.5.K.2.3	C183		++	+	+	+		
C.S.5.K.2.4	C184		+	?	+	+		
C.S.5.K.2.6	C185				+	+		
C.S.5.K.2.5	C186			++	+	+		+
C.S.5.K.3.1	C187		++	?	+	+		+
C.S.5.K.3.2	C188			+	+		+	+
C.S.5.K.3.3	C189	+	++	?	+	+		+
C.S.5.K.3.4	C190	+	++	?	+			+
C.S.5.K.5.1	C191	+		?	++	+		+
C.S.5.K.5.2	C192					+		+
C.S.5.K.5.4	C193	+			+	+		+
C.S.5.K.5.3	C194				+	+		+
C.S.5.K.10.1	C195			+++	+			
C.S.5.K.10.2	C196		+	++	+			
C.S.4.K.27	C197	+	+	+				
C.S.3.Y.13.3	C198			+	+	+	+	+
C.S.3.Y.30	C199				+	+		
C.S.3.Y.11.1.3	C200	+			+	+	+	?
C.S.3.Y.32.2	C201			?	++	+	+	+
C.S.3.K.10	C202			?	+		+	+
C.S.3.K.16	C203							
C.S.3.K.23.2	C204	+		+	+	+	+	
C.S.3.K.16	C205				+			+
C.S.3.K.28.1	C206	+		+	+			+
C.S.4.K.11.1.2	C207	+			+	+		+
C.S.4.K.11.2.2	C208	+			+			+
C.S.4.K.14.2	C209		+	+	+		+	+
C.S.4.K.18.3	C210				+	+	+	+
C.S.4.K.27.3	C211							
C.S.4.K.30.1	C212	+		+	+			
C.S.5.K.2.4	C213			+	+	+		
C.S.5.K.2.5	C214	+	+	?	+	+		+
C.S.5.K.10.3	C215			?	+			
C.S.2.Y.19.2	C216	+			+	+		+
C.S.5.Y.7.1.1	C217	+	+	?	+			+
C.S.5.Y.2.2	C218	+			+	+	+	+
C.S.2.K.8.1	C219	+			+	+		+
C.S.1.Y.4.2	C220			?	+			

?= belirlenemeyen sonuçlar, += pozitif sonuçlar, boş kısımlar negatif sonuçlardır. + seviyesi deney pozitifliği artışı ile orantılıdır.

Çizelge 3.7. Zeytin ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
Z.S.1.Y.12.1	Z1	+	?	+	++	+	++	
Z.S.1.Y.12.2	Z2	+	?	+	++	+	++	
Z.S.1.Y.13.1	Z3	+	?	+	++	+	++	
Z.S.1.Y.13.2	Z4							
Z.S.1.K.4.1	Z5		+	+	++	+		
Z.S.1.K.4.2	Z6	+	+	+	++	+		
Z.S.1.K.4.3	Z7		+	+	++	+		
Z.S.1.K.5	Z8			++	+	+		
Z.S.1.K.10	Z9	+	+	+	++	++	++	
Z.S.2.K.1.1	Z10		+		++	+	++	+
Z.S.2.K.1.2	Z11	+	++		++	++	++	+
Z.S.3.Y.3.1	Z12	+	+		++		++	+
Z.S.3.Y.3.2	Z13	+	+		++			+
Z.S.3.Y.4	Z14		+		++			
Z.S.4.Y.19.1	Z15	++	+	++	++		++	
Z.S.4.Y.19.2	Z16	+	+	++	++	++	++	
Z.S.4.Y.19.3	Z17		+	++	++	++		
Z.S.4.Y.20	Z18		+		++	+	+	+
Z.S.4.K.13.1	Z19	+	++		++	++	++	+
Z.S.4.K.30.1.1	Z20						+	
Z.S.4.K.30.2	Z21		+	+	++	+	+	+
Z.S.5.Y.2	Z22		?		++		+	
Z.S.5.Y.20.1	Z23				++	++	++	
Z.S.5.Y.23.1	Z24	+	+		++		++	
Z.S.5.Y.23.3	Z25		?		++		+	
Z.S.5.Y.23.2	Z26			+	++	++	+	
Z.S.5.K.10.2	Z27		+		++	++	+	
Z.S.1.Y.5	Z28	+	?		+			
Z.S.2.K.3.1	Z29	+	?		++		++	
Z.S.2.K.24.1	Z30			++		+	+	
Z.S.2.K.24.2	Z31		?		++		++	
Z.S.2.K.24.3	Z32	++		++	++	+	+	+
Z.S.5.Y.2	Z33		?		++	+	++	+
Z.S.5.Y.8	Z34		?	++	++	++	++	+
Z.S.1.Y.6	Z35	+	+		++		+	+
Z.S.2.K.5.1	Z36			+	++	+	+	
Z.S.2.K.26	Z37			+			+	
Z.S.1.K.2	Z38	+	+		++	+	+	
Z.S.1.K.3	Z39	++	+	++	++		++	
Z.S.1.K.6.1	Z40	+	?	+	++	+	+	
Z.S.1.K.6.2	Z41	+	+	+	++			
Z.S.1.K.8.1	Z42	+	?	++	++	+	+	
Z.S.1.K.8.2	Z43	+	?	++	++	+	+	+
Z.S.1.Y.1.1	Z44	+	+		++	+	+	
Z.S.1.Y.1.2.1	Z45	+			++	+	+	+
Z.S.1.Y.2	Z46	+	+		++	+	++	
Z.S.1.Y.3.1	Z47	+	+		++	++	+	+
Z.S.1.Y.3.2	Z48	+	+		++	++	+	+
Z.S.1.Y.4	Z49	+			++		+	
Z.S.1.Y.5	Z50	++	?	+	++		++	
Z.S.1.Y.7	Z51	+	?		++	++	++	
Z.S.1.Y.10	Z52	+	+		++	+	+	
Z.S.1.Y.11.1	Z53	+	+		++		+	
Z.S.1.Y.11.2	Z54				+	++	+	
Z.S.1.Y.11.3	Z55	+			++		+	+

Çizelge 3.7. (devam) Zeytin ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
Z.S.2.K.6	Z56	+	+		++		+	
Z.S.2.K.7	Z57	+	++		++	++	+	+
Z.S.2.K.9.1	Z58			++			++	
Z.S.2.K.9.2	Z59	+		++	+	+		
Z.S.2.K.13.1	Z60			++			+	
Z.S.2.K.13.2	Z61							
Z.S.2.K.13.4	Z62						++	
Z.S.2.K.17.2	Z63			++	+	++	+	
Z.S.2.K.18.1	Z64	+			++	+	++	
Z.S.2.K.18.2	Z65	+		+	++	++	++	
Z.S.2.K.19.1	Z66			+	+		+	
Z.S.2.K.19.2	Z67	+	+	++	+	++	+	+
Z.S.2.K.23.1	Z68							
Z.S.2.K.23.2	Z69	+	++	+	++			+
Z.S.2.K.23.3	Z70		+	+	++		++	
Z.S.2.Y.2.1	Z71	+	?	+	++			+
Z.S.2.Y.2.2	Z72		+	+	++	++	+	+
Z.S.2.Y.2.3	Z73	+	++		++	+	+	
Z.S.2.Y.3.1	Z74	++	?	+	++	++	++	+
Z.S.2.Y.3.2	Z75	+	?	+	++		++	+
Z.S.2.Y.4	Z76	++	+		++		++	
Z.S.2.Y.5	Z77		?		++		++	+
Z.S.2.Y.6.1	Z78	+	?	+	++		++	
Z.S.2.Y.6.2	Z79	+	?	+	++		++	
Z.S.2.Y.6.3	Z80		+	+	++	+	+	+
Z.S.2.Y.6.4	Z81		?	+	++		++	
Z.S.2.Y.6.5	Z82		?		++		++	+
Z.S.2.Y.8	Z83		+		++	++	+	+
Z.S.2.Y.9.1	Z84		?		++		++	
Z.S.2.Y.9.2	Z85		?		++	+	++	+
Z.S.2.Y.9.3	Z86		+	+	++	++	++	+
Z.S.2.Y.14	Z87		?		++	+	++	+
Z.S.2.Y.16	Z88	+	+		++	++	+	
Z.S.2.Y.15.1.1	Z89	+	?		++	++	++	+
Z.S.2.Y.15.1.2	Z90		?		++	+	+	+
Z.S.2.Y.15.2.1	Z91	+	+	++	++		+	+
Z.S.2.Y.15.2.2	Z92			++	+	+		+
Z.S.4.K.30.1.1	C14				+		+	+
Z.S.4.K.30.1.2	C15				+		+	+
Z.S.1.K.4	C16			?	+	+	+	+
Z.S.1.K.6.1	C17	+			+	+		+
Z.S.1.K.6.2	C18				+	+		+
Z.S.5.Y.23.2	Z98		?	+	+	++	+	+
Z.S.2.Y.15.2.1	Z99		?		+	++	+	
Z.S.2.Y.15.2.2	Z100			+	+	+		
Z.S.3.K.6	Z101	+	++	+	+		+	
Z.S.3.K.7	Z102	+			+	+	+	+
Z.S.3.K.14	Z103	+			+			
Z.S.3.K.15.1	Z104			++	+	++	+	
Z.S.3.K.15.2	Z105		?	++	+	+	+	
Z.S.3.K.16.1	Z106	+			+	++		
Z.S.3.K.16.2	Z107				+	+	+	
Z.S.3.K.23	Z108	+		++	+		+	
Z.S.3.Y.1.1.1	Z109	+	++	+	+		+	+
Z.S.3.Y.1.1.2	Z110			++	+	+	+	+

Çizelge 3.7. (devam) Zeytin ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
Z.S.3.Y.1.2.1	Z111	+	++		+	+	+	+
Z.S.3.Y.1.2.2	Z112			++	+		+	+
Z.S.3.Y.5	Z113	+	?		+	+		
Z.S.3.Y.7.1	Z114		?	+	+	+	+	
Z.S.3.Y.7.2	Z115		?	+	+	+	+	+
Z.S.3.Y.8	Z116	+			+			
Z.S.3.Y.9.1	Z117	++	++	++	+	++	+	+
Z.S.3.Y.9.2	Z118	+	?	+	+		+	+
Z.S.3.Y.10.1	Z119				+	++	+	+
Z.S.3.Y.10.2	Z120							
Z.S.3.Y.11	Z121	++	++	+	+	++		
Z.S.3.Y.13.2	Z122		?		+	+		
Z.S.3.Y.17.1	Z123	+	?	++	+			
Z.S.3.Y.19	Z124		++	+	+	++		
Z.S.3.Y.20	Z125		++	++	+	+		
Z.S.3.Y.21	Z126		?		+	+		
Z.S.4.K.6	Z127				+			
Z.S.4.Y.2	Z128		?	+	+	+		
Z.S.4.Y.14	Z129	++	?	+	+		+	+
Z.S.4.Y.17	Z130		++		+	+	↓	+
Z.S.4.Y.18.1	Z131	+	+	+	+	+	+	
Z.S.4.Y.18.2	Z132	++		++	+	++	+	+
Z.S.4.Y.21	Z133			+	+	+		+
Z.S.4.Y.22.1	Z134			+	+	+		+
Z.S.4.Y.22.2	Z135			+	+	+		
Z.S.4.K.23	Z136				+			
Z.S.4.K.18.1	Z137				+		+	
Z.S.4.K.18.2	Z138				+		+	
Z.S.5.K.7.1	Z139	+						
Z.S.5.K.10.1	Z140	+			+	++		
Z.S.5.Y.2.1	Z141			+	+		+	
Z.S.5.Y.2.2	Z142				+		↓	
Z.S.5.Y.6.1	Z143			+	+	+	+	
Z.S.5.Y.6.2	Z144			+	+	++	+	+
Z.S.5.Y.7.1	Z145		?		+		↓	
Z.S.5.Y.7.2	Z146		?		+		+	+
Z.S.5.Y.8.1	Z147		?	+	+		+	+
Z.S.5.Y.8.2	Z148		?	+	+		+	+
Z.S.5.Y.9	Z149		?	+	+		+	
Z.S.5.Y.11	Z150		?	++	+		+	+
Z.S.5.Y.12.1	Z151		?	++	+			
Z.S.5.Y.12.2	Z152				+	++		
Z.S.5.Y.14	Z153	++	?	+	+		+	
Z.S.5.Y.12.1.1	Z154		?		+			
Z.S.5.Y.13.1	Z155				+	++	+	
Z.S.5.Y.15.1	Z156	++	++	++	+	+	+	
Z.S.5.Y.18.1	Z157		?	+	+			
Z.S.5.Y.18.2	Z158				+	+		
Z.S.5.Y.19.1	Z159		?	+	+			
Z.S.5.Y.19.2	Z160		?	+	+			
Z.S.5.Y.20	Z161	+	?	++	+		+	
Z.S.5.Y.21	Z162		?	+	+			
Z.S.5.Y.22	Z163		?	+	+			
Z.S.5.Y.28.1	Z164	++	++		+	++	+	+
Z.S.5.Y.28.2	Z165	+	++		+	++	+	+

Çizelge 3.7. (devam) Zeytin ağacı rizosfer ve yüzey bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ve enzimatik aktivite testi sonuçları

Örnek adı	Örnek no	FÇT	SÜT	IAA	AÜT	PÜT	KÜT	β-GÜT
Z.S.5.Y.30.1	Z166	+	++	++	+	+		
Z.S.5.Y.30.2	Z167	+	++	++	+	+	+	
Z.S.5.K.9	Z168	+	++		+	++	+	+
Z.S.5.Y.7.2.1	Z169			++	+			+
Z.S.5.Y.7.2.2	Z170	+	?	+	+			
Z.S.3.Y.21.1	Z171	+	++		+	+	+	

?= belirlenemeyen sonuçlar, += pozitif sonuçlar, += kısmen pozitif sonuçlar, boş kısımlar negatif sonuçlar. + seviyesi deney pozitifliği artışı ile orantılıdır.

3.3. Bitki Büyümesini Düzenleyici Enzim Aktivite Testleri

3.3.1. Proteaz üretim testi (PÜT)

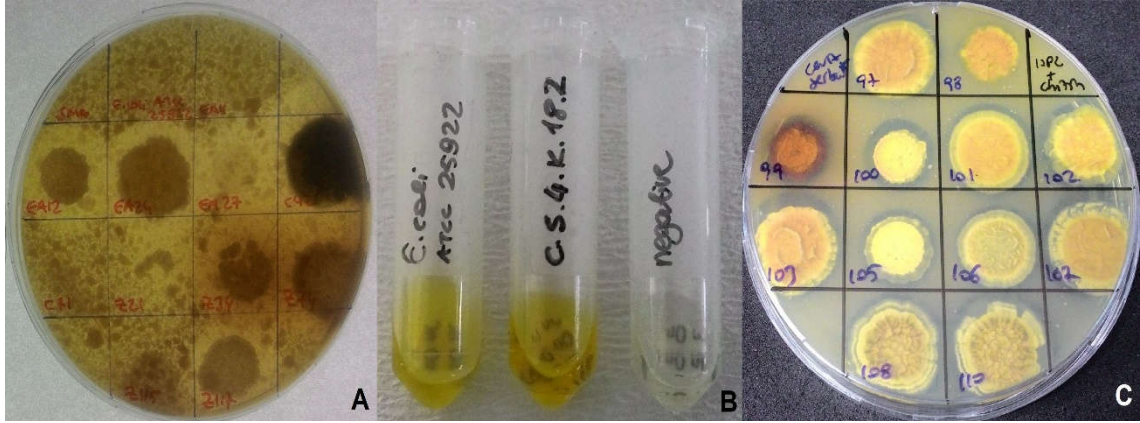
SMA besiyerinde izolatların bir haftalık inokulasyonu sonrası meydana gelmiş olan şeffaf zonların görülmesi, test edilen aktinomisetin proteinleri parçalayan enzimlere sahip olduğunu göstermiştir. Toplamda 228 aktinomiset örneği proteaz üretebilmektedir, bir tanesinde ise sonuç belirlenememiştir (Çizelge 3.5.-3.7.). Proteaz üretebilen aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.6.A’da gösterilmiştir

3.3.2. Beta galaktozidaz üretim testi (β-GÜT)

Sarı ve açık sarı renk oluşturan aktinomisetler beta galaktozidaz pozitif olarak kayıt edilmişlerdir. Toplamda 221 aktinomiset örneği beta galaktozidaz üretebilen özelliği göstermiş, 4 tanesinin ise sonucu belirlenememiştir (Çizelge 3.5.-3.7.). Beta galaktozidaz üretebilen aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.6.B’de gösterilmiştir.

3.3.3. Kitinaz üretim testi (KÜT)

Çözünemeyen kitinin ISP2 besiyerine eklenmesi ile besiyeri üzerinde meydana gelen şeffaf zonlar, kitinaz üretebilen aktinomiset örneğini göstermiştir. Toplamda 230 aktinomiset kitinaz üretmiş, 7 tanesi ise kısmi üretim göstermiştir (Çizelge 3.5.-3.7.). Kitinaz üretebilen aktinomisetlerden bazıları Şekil 3.6.C’de gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Enzimatik aktivite testleri. A) Proteaz üretimi (şeffaf halkalar), B) Beta galaktozidaz üretimi (sarı renk), C) Kitinaz üretimi (şeffaf halkalar)

3.3.4. API 20E testi

API 20E testi üreticinin önerdiği yönerge ile gerçekleştirilmiş, sonuçlar renk değişimi olarak pozitif veya negatif olarak kaydedilmişlerdir. Sonuçlar Ek 1.'de ve bir örnek ise Şekil 3.7.A'da verilmiştir.

3.3.5. API ZYM testi

API ZYM testi üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar üreticinin verdiği listeye göre pozitif /negatif olarak nitelendirilmiştir. API ZYM testi sonuçları Ek 2.'de, bir örnek ise Şekil 3.7.B verilmiştir.



Şekil 3.7. A) Z21 aktinomiseti ile API 20E testi, B) Z164 aktinomiset örneği ile API ZYM testi

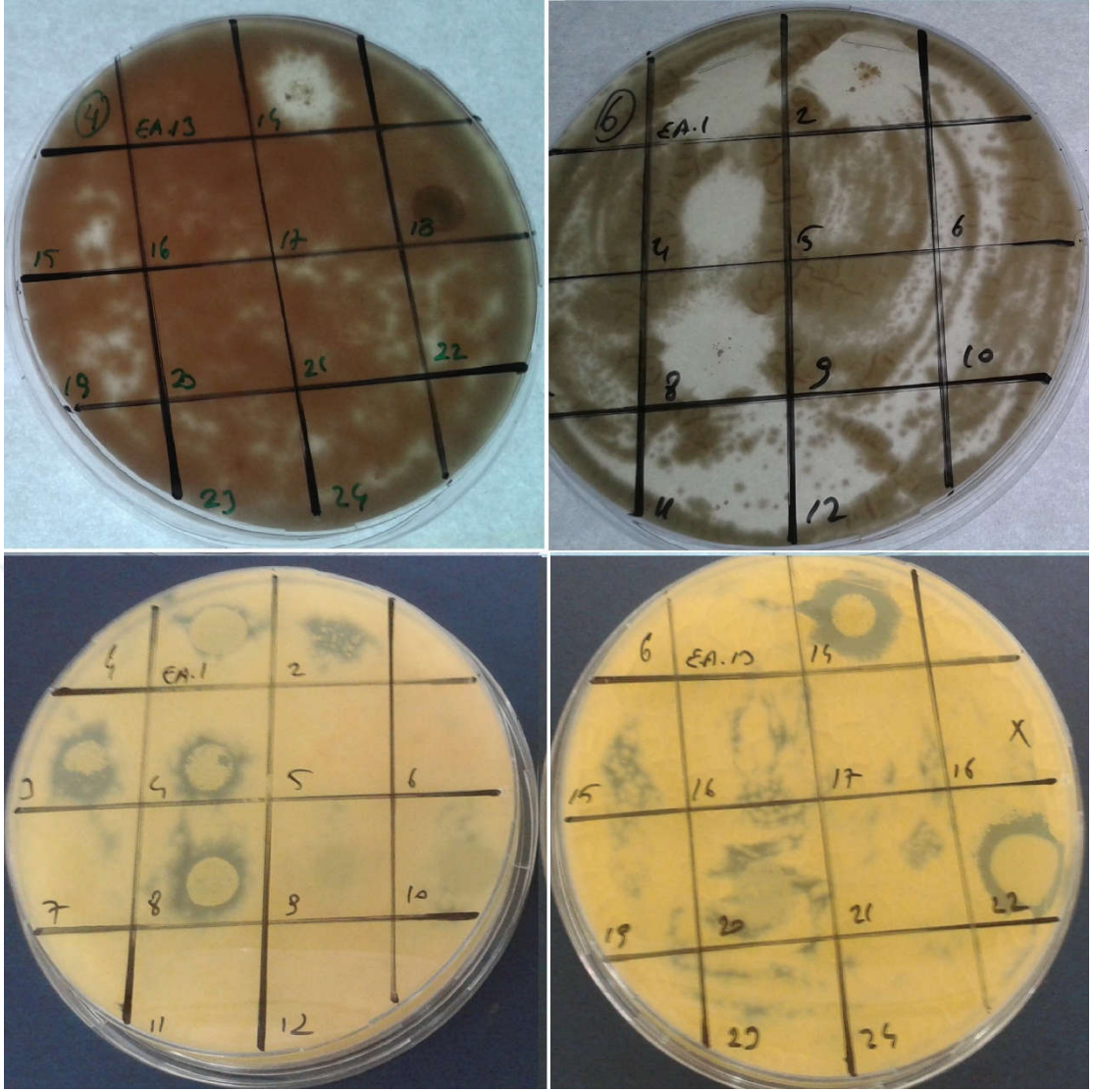
3.4. Antagonistik Aktivite Testleri

SDA besiyeri üzerinde 5-6 günlük inkübasyon sonrası, küfler üzerinde şeffaf zonlar meydana getiren aktinomisetler antagonistik aktiviteye sahip olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.8.- 3.10.). Antifungal özellik gösteren aktinomisetlere örnekler ise Şekil 3.7.'de verilmiştir. *A. parasiticus* üzerinde 39 aktinomiset etkili iken 25 tanesi de kısmi etki göstermiştir. *A. fumigatus* üzerinde 21 aktinomiset etki gösterirken, 18 tanesi ise kısmi etki göstermiştir. *G. graminis* üzerinde 18 aktinomiset öldürücü etki göstermişken, 15 kısmi öldürücü izolat gözlenmiştir. *F. moniliforme* üzerinde 21 izolat öldürücü iken, bir izolat kısmi olarak büyümesini durdurmuştur. *A. niger* üzerinde etkinlik gözlenen aktinomiset sayısı 20 iken kısmi etkiye sahip organizma sayısı üçtür. *P. notatum* üzerinde 33 izolat öldürücü etki göstermişken, 8 tanesi kısmi etki göstermiştir. Antifungal aktivite gösteren bazı izolatlar Şekil 3.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. Endofitik aktinomisetlerin patojenik küfler üzerindeki antifungal aktiviteleri

Örnek adı	Örnek no	1	2	3	4	5	6
C.1.Y.Y.1	EA1			+	+		+
C.1.Y.2	EA2			+	+	+	+
C.1.Y.Y.2	EA3			+	+	+	+
C.1.Y.2	EA4			+	+	+	+
Z.1.K.21.1	EA5	+	+				
Z.2.K.Y.6	EA7	+	+				
Z.2.K.Y.8.1	EA8			+	+	+	+
Z.1.K.22	EA10	+	+				
Z.2.K.6.2	EA14			+	+	+	+
Z.4.K.6.1	EA16				+	+	+
Z.4.K.6.2	EA18	+	+	+	+	+	+
Z.5.K.32	EA24	+					
Z.5.K.33.1	EA25	+					
Z.5.K.35	EA27	+	+				
C.6.G.36	EA34				+	+	+
C.6.G.37	EA35	+	+				+

+: antagonistik aktivite, boş kısımlar negatif sonuçları göstermektedir. 1) *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999, 2) *Aspergillus fumigatus* NRRL 163, 3) *Gaeumannomyces graminis*, 4) *Fusarium moniliforme*, 5) *Aspergillus niger* NRRL 321, 6) *Penicillium notatum* NRRL 807



Şekil 3.8. Farklı aktinomisetlerin farklı patojenik küfller üzerindeki etkileri. 4 numaralı küf *Fusarium moniliforme*, 6 numaralı küf ise *Penicillium notatum*'dur

Çizelge 3.9. Ceviz ağacı yüzey bölgesi ve rizosfer bölgesinden izole edilen serbest aktinomisetlerin antifungal aktiviteleri

Örnek adı	Örnek No	1	2	3	4	5	6
C.S.1.Y.8.1	C7	+	+	+	++	+	+
C.S.1.K.7.1.1	C19	+	+				
C.S.1.K.8.2	C23	+					
C.S.1.K.5.2.3	C34			+	+		+
C.S.2.Y.2.1	C35	+	+				
C.S.2.Y.2.2	C36						+
C.S.5.Y.5	C48	++	+	±			±
C.S.3.Y.2	C56			+	++	++	++
C.S.2.K.8.1	C58				+	+	+
C.S.3.Y.5.1	C60	+					
C.S.3.Y.12.1	C67	±					
C.S.3.Y.12.2	C68	±					
C.S.3.Y.22	C77	+					
C.S.3.Y.26	C84	+	±	±		±	±
C.S.3.Y.3.1 (31)	C90			++	++	++	++
C.S.3.Y.3.2 (32)	C91			++	++	++	++
C.S.3.K.23.3	C118	+	+				
C.S.3.K.30	C128	+					
C.S.3.K.32	C130	±	±	±		+	+
C.S.4.K.4.1	C142	+	±	±		+	++
C.S.4.K.4.2	C143	+	±	±			+
C.S.4.K.11.1.1	C144	++	+		+	+	+
C.S.4.K.12	C148	+					
C.S.4.K.23.1	C160	+	+	+			+
C.S.4.K.24	C162						+
C.S.4.K.25.2	C164	±	±				
C.S.4.K.1.1	C179			+	+	+	+
C.S.5.K.3.1	C187	+	±				
C.S.5.K.3.2	C188						+
C.S.5.K.3.4	C190	+	±				
C.S.3.Y.32.2	C201	++					
C.S.3.K.28.1	C206	++	++		+	++	++
C.S.4.K.11.2.2	C208	±					
C.S.4.K.30.1	C212	±					
C.S.5.Y.7.1.1	C217	+	+				±

+, pozitif sonuç, ±; kısmi pozitif sonuç, boş kısımlar negatif sonuçlar. 1) *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999, 2) *Aspergillus fumigatus* NRRL 163, 3) *Gaeumannomyces graminis*, 4) *Fusarium moniliforme*, 5) *Aspergillus niger* NRRL 321, 6) *Penicillium notatum* NRRL 807. + seviyesi deney pozitifliği artışı ile orantılıdır.

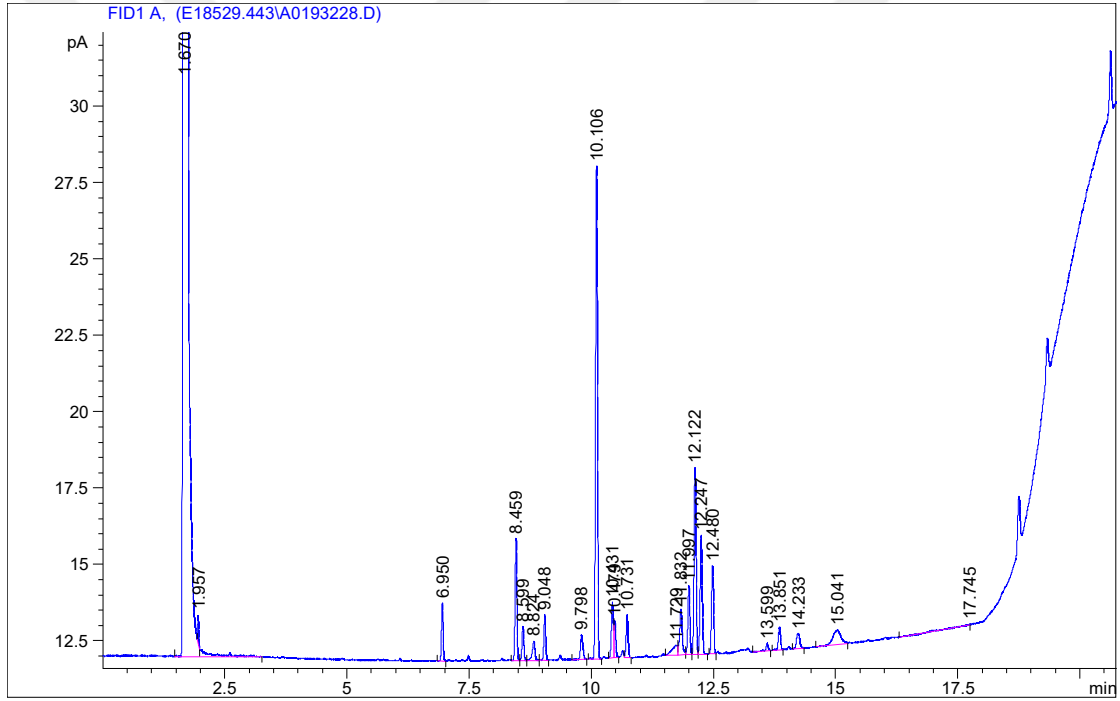
Çizelge 3.10. Zeytin ağacı yüzey bölgesi ve rizosfer bölgesinden izole edilen serbest aktinomisetlerin antifungal aktiviteleri

Örnek adı	Örnek no	1	2	3	4	5	6
Z.S.1.Y.12.1	Z1	±	±	±			
Z.S.1.Y.12.2	Z2	±					
Z.S.1.Y.13.1	Z3	±					
Z.S.1.K.4.1	Z5	±	±	±			
Z.S.1.K.4.2	Z6	±	±	±			
Z.S.1.K.5	Z8	±	±				
Z.S.4.K.13.1	Z19	+					
Z.S.5.Y.2	Z22	+	+				+
Z.S.5.Y.23.1	Z24	±	±	±			+
Z.S.2.K.3.1	Z29	±					
Z.S.5.Y.2	Z33	±	±				
Z.S.1.K.6.1	Z40	+	±				
Z.S.1.Y.5	Z50	±					
Z.S.2.K.18.1	Z64	±	±	±		±	±
Z.S.2.K.18.2	Z65	±	±	±		±	±
Z.S.2.Y.3.1	Z74	±					±
Z.S.2.Y.3.2	Z75		±	±	±		
Z.S.2.Y.9.2	Z85	±					±
Z.S.2.Y.9.3	Z86	±					±
Z.S.3.K.15.1	Z104	±		±			
Z.S.3.K.16.1	Z106	+	+	±			
Z.S.3.K.23	Z108			+			
Z.S.3.Y.1.2.1	Z111					+	+
Z.S.3.Y.7.1	Z114	±					
Z.S.3.Y.7.2	Z115	±					
Z.S.3.Y.9.1	Z117	+					
Z.S.4.K.6	Z127	+	±	±			+
Z.S.4.Y.14	Z129	+					
Z.S.4.Y.22.1	Z134		+		+		
Z.S.4.K.18.1	Z137	+		++	++	++	++
Z.S.5.Y.7.1	Z145	±					
Z.S.5.Y.7.2	Z146	±					
Z.S.5.Y.9	Z149			+			+
Z.S.5.Y.11	Z150	+	+	+	+		+
Z.S.5.Y.12.1.1	Z154		+				
Z.S.5.Y.22	Z163	+					
Z.S.5.Y.28.1	Z164	+	+				
Z.S.5.Y.30.2	Z167		+				

+, pozitif sonuç, ±; kısmi pozitif sonuç, boş kısımlar negatif sonuçlar. 1) *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999, 2) *Aspergillus fumigatus* NRRL 163, 3) *Gaeumannomyces graminis*, 4) *Fusarium moniliforme*, 5) *Aspergillus niger* NRRL 321, 6) *Penicillium notatum* NRRL 807. + seviyesi deney pozitifliği artışı ile orantılıdır.

3.5. Aktinomisetlerin Yağ Asidi Analizleri

Yağ asidi analizine alınan aktinomisetlerin neredeyse tümünde C_{16:0} (tüm aktinomisetlerde), iso C_{14:0} (iki örnek harici tüm aktinomisetlerde), iso C_{15:0} (iki örnek harici tüm aktinomisetlerde), anteiso C_{15:0} (iki izolat harici tüm aktinomisetlerde) ve anteiso C_{17:0} (bir izolat harici tüm aktinomisetlerde) gözlenmiştir. Bununla birlikte yüzde olarak en fazla; anteiso C_{15:0}, C_{16:0}, isoC_{16:0}, anteiso C_{17:0} gözlenmiştir. Ayrıca organizmaya bağlı olarak C_{15:0} 3OH, C_{16:0} 9-methyl, iso-C_{16:1}H, anteiso-C_{17:1}C, C_{17:1} cis9, C_{16:0} oranları değişikliklere uğramaktadır (Çizelge 3.11.). Bir aktinomiset örneğine ait yağ asidi profili Şekil 3.9.'de gösterilmiştir



Şekil 3.9. EA12 (Z.4.K.Y.6) kodlu izolatın yağ asidi metil esterleri profilleri

Çizelge 3.11. Aktinomisetlerin yağ asidi metil esterleri profilleri

Yağ asidi	C7	C71	C144	C156	C206	C217	EA11	EA12	EA18
C _{10:0}									
C _{10:0} 3OH									4,35
C _{11:0}									
C _{12:0}				0,87					8,15
C _{12:0} 2OH									5,40
C _{12:0} 3OH									7,52
C _{13:0}				0,75					
C _{14:0}	0,42	0,45		0,45					
C _{15:0}	1,05	1,38		2,39	1,00	1,12	1,87	2,80	
C _{15:0} 3OH			13,34	1,89	5,92		4,38		4,79
C _{15:1} B							2,60	1,74	
C _{16:0}	2,95	3,03	2,23	2,55	6,32	1,55	1,43	2,74	15,77
C _{16:0} 9-methyl	2,39	4,58	3,83	0,41	4,14	1,74			
C _{16:0} 10-methyl									
C _{16:1} cis9	5,50	3,32	6,21	2,32		0,72	2,49	3,68	13,13
C _{17:0}		3,80		0,44			3,23	5,99	
C _{17:0} cyclo	0,87	1,50			4,17				
C _{17:0} 10-methyl		0,37					0,59		
C _{17:1} cis9	0,62	0,76		0,37			12,02	12,46	
C _{18:0}								1,67	
C _{18:1} cis9							0,99	1,64	
TBSA C _{18:0} 10-methyl									
C _{20:0}								0,02	
iso-C _{12:0}									
iso-C _{13:0}									0,25
iso-C _{14:0}	5,35	3,58	2,81	17,85	3,02	5,45	2,92	3,35	7,14
iso-C _{15:0}	6,98	9,07	3,14	9,34	10,68	5,73	5,12	7,47	
iso-C _{15:1} G									
iso-C _{16:0}	30,25	20,27	25,33	29,81	19,86	27,93	35,71	31,28	
iso-C _{16:0} 2OH							11,12	8,13	
iso-C _{16:1} H	9,31	2,90	7,21	1,21	4,66	4,62	1,65		
iso-C _{16:1} G								1,99	
iso-C _{17:0}	1,10		1,66	1,34	5,55	1,64	2,52	3,84	
iso-C _{17:0} 10-methyl							0,71		
iso-C _{18:0}							0,52	0,62	
iso-C _{18:0} 10-methyl	2,46	1,92	6,99	1,19	3,42		4,14		4,90
iso-C _{18:1} H		0,53	0,85						
anteiso-C _{11:0}									
anteiso-C _{13:0}				1,22					
anteiso-C _{14:0}									
anteiso-C _{15:0}	19,67	23,24	14,55	20,31	11,20	27,54	0,91	2,10	
anteiso-C _{15:0} 2OH			2,15		4,38				
anteiso-C _{16:0}									
anteiso-C _{17:0}	4,55	10,46	9,70	4,42	8,21	14,19	2,37	4,61	
anteiso-C _{17:1} C	6,53	8,20				6,33			
Sum in feature 4§					5,68		1,73	2,13	
Sum in feature 5 θ									
Sum in feature 7 □									35,99
Unknown 14966									
Unknown 16580							0,99	1,73	
Unknown 17493 SM					1,00				
Unknown 17595 SM		0,63			0,79	1,44			

§ISO_{15:0} 2OH/t9_{16:1}, TRANS_{16:1} 9/15i2OH ; θ ISO_{17:1} I/ANTEI B, ANTEISO_{17:1} B/i I; □ CIS_{18:1} 11/t 9/t 6, TRANS_{18:1} 9/t6/c11, TRANS_{18:1} 6/t9/c11, koyu değerler en fazla görülen ilk altı yağ asidi profilleridir, sonuçlar yüzde olarak verilmiştir. Boş kısımlarda sonuç bulunmamaktadır.

Çizelge 3.11. (devam) *Aktinomisetlerin yağ asidi metil esterleri profilleri*

Yağ asidi	EA22	EA24	EA27	Z19	Z21	Z34	Z47	Z48	Z64
C _{10:0}									
C _{10:0} 3OH									
C _{11:0}									
C _{12:0}									
C _{12:0} 2OH									
C _{12:0} 3OH									
C _{13:0}									
C _{14:0}	0,27				0,49				
C _{15:0}	3,57	4,54	3,80		1,15				
C _{15:0} 3OH	1,19	2,66	2,16	10,91			15,75	9,52	
C _{15:1} B									
C _{16:0}	4,60	6,00	6,11	1,65	8,31	1,45	5,69	6,26	2,14
C _{16:0} 9-methyl					6,16	10,01			2,57
C _{16:0} 10-methyl	0,29								
C _{16:1} cis9	4,18	2,31	2,62		5,76	3,37			1,66
C _{17:0}	5,59	11,30	10,03						
C _{17:0} cyclo					1,76				
C _{17:0} 10-methyl	0,54	0,42	0,53						
C _{17:1} cis9	9,77	7,45	8,07			0,98			0,46
C _{18:0}									
C _{18:1} cis9	1,19	0,62	0,88						
TBSA C _{18:0} 10-methyl				20,02					
C _{20:0}									
iso-C _{12:0}									
iso-C _{13:0}									
iso-C _{14:0}		12,25	9,67	2,01	1,13	0,77	9,87	10,93	4,55
iso-C _{15:0}	13,85	9,88	11,54		21,64	7,92	3,54	5,44	3,84
iso-C _{15:1} G									
iso-C _{16:0}	27,89	23,71	19,69	32,68	15,25	10,90	22,44	24,33	21,89
iso-C _{16:0} 2OH	4,23	4,19	5,13						
iso-C _{16:1} H	0,69	0,49	0,43		2,66	2,03			5,31
iso-C _{16:1} G									
iso-C _{17:0}	1,68	0,95	2,25		8,17	8,78		4,17	2,29
iso-C _{17:0} 10-methyl	0,95	1,35	1,39						
iso-C _{18:0}				1,89					
iso-C _{18:0} 10-methyl	2,09	3,28	2,30	14,38			13,68	8,27	2,24
iso-C _{18:1} H									0,81
anteiso-C _{11:0}									
anteiso-C _{13:0}									
anteiso-C _{14:0}									
anteiso-C _{15:0}	3,07	3,16	3,57		12,76	18,80	21,52	23,43	30,09
anteiso-C _{15:0} 2OH	0,92	1,05	1,64						
anteiso-C _{16:0}	0,21								
anteiso-C _{17:0}	2,77	1,87	2,51	3,79	10,98	22,60	7,51	7,64	14,35
anteiso-C _{17:1} C					3,24	11,75			7,81
Sum in feature 4§	3,05		4,42						
Sum in feature 5 θ					0,54				
Sum in feature 7□									
Unknown 14966				12,66					
Unknown 16580			1,26			0,64			

§ISO_{15:0} 2OH/t₉_{16:1}, TRANS_{16:1}9/15i2OH ; θ ISO_{17:1} I/ANTEI B, ANTEISO_{17:1} B/i I; □ CIS_{18:1}11/t₉t₆, TRANS_{18:1}9/t₆/c₁₁, TRANS_{18:1}6/t₉/c₁₁, koyu değerler en fazla görülen ilk altı yağ asidi profilleridir, sonuçlar yüzde olarak verilmiştir. Boş kısımlarda sonuç bulunmamaktadır.

Çizelge 3.11. (devam) *Aktinomisetlerin yağ asidi metil esterleri profilleri*

Yağ asidi	Z65	Z67	Z72	Z74	Z80	Z86	Z89	Z91	Z98
C _{10:0}									
C _{10:0} 3OH									
C _{11:0}									
C _{12:0}									
C _{12:0} 2OH									
C _{12:0} 3OH									
C _{13:0}									
C _{14:0}					0,75	0,65		1,15	
C _{15:0}		0,94	1,18	0,80	3,42	0,31	0,46	1,39	2,18
C _{15:0} 3OH		5,67	8,04		4,69	1,62	13,31	5,62	3,97
C _{15:1} B									
C _{16:0}	2,20	6,25	5,19	2,96	13,61	6,76	1,99	13,83	5,50
C _{16:0} 9-methyl	3,51	3,23	1,27	2,02	3,88	0,53	1,63		
C _{16:0} 10-methyl									
C _{16:1} cis9	2,03			3,32	7,37	0,85	3,11	2,47	0,37
C _{17:0}		0,48			1,73			1,06	0,90
C _{17:0} cyclo	0,60	4,01		1,29		0,57	1,06		
C _{17:1} cis9					1,48		0,46		
C _{17:0} 10-methyl							0,68		
C _{18:0}									
C _{18:1} cis 9									
TBSA C _{18:0} 10-methyl									
C _{20:0}									
iso-C _{12:0}						0,55			
iso-C _{13:0}						0,44			
iso-C _{14:0}	4,11	2,86	12,87	8,14	1,87	12,53	10,25	18,30	10,17
iso-C _{15:0}	5,57	8,37	5,34	5,14	10,64	6,64	2,39	3,52	11,24
iso-C _{15:1} G									
iso-C _{16:0}	21,83	17,45	27,14	30,63	12,48	30,10	31,84	30,35	27,08
iso-C _{16:0} 2OH									
iso-C _{16:1} H	5,32	2,49	1,30	4,11	0,87	0,31	8,19		
iso-C _{16:1} G									
iso-C _{17:0}	3,05	5,32	5,45	1,38	7,82	3,73	0,83	2,57	4,89
iso-C _{17:0} 10-methyl									
iso-C _{18:0}						0,41			
iso-C _{18:0} 10-methyl	3,11	2,79	5,23		2,92	1,21	1,99	5,60	3,48
iso-C _{18:1} H	0,92						0,50		
anteiso- C _{11:0}									
anteiso- C _{13:0}						0,71			
anteiso- C _{14:0}									
anteiso-C _{15:0}	27,84	15,17	20,11	27,23	15,19	24,14	19,85	10,41	23,94
anteiso-C _{15:0} 2OH		7,55							
anteiso-C _{16:0}									
anteiso-C _{17:0}	11,64	10,05	6,88	7,81	11,31	7,94	8,40	3,73	6,63
anteiso-C _{17:1} C	8,27			4,57			6,35		
Sum in feature 4§		5,27							
Sum in feature 5 θ									
Sum in feature 7□									
Unknown 17,493 SM		1,24							
Unknown 17,595 SM		0,86		0,60					

§ISO_{15:0} 2OH/t₉_{16:1}, TRANS_{16:1}9/15i2OH ; θ ISO_{17:1} I/ANTEI B, ANTEISO_{17:1} B/i I; □ CIS_{18:1}11/t₉t₆, TRANS_{18:1}9/t₆/c₁₁, TRANS_{18:1}6/t₉/c₁₁, koyu değerler en fazla görülen ilk altı yağ asidi profilleridir, sonuçlar yüzde olarak verilmiştir. Boş kısımlarda sonuç bulunmamaktadır.

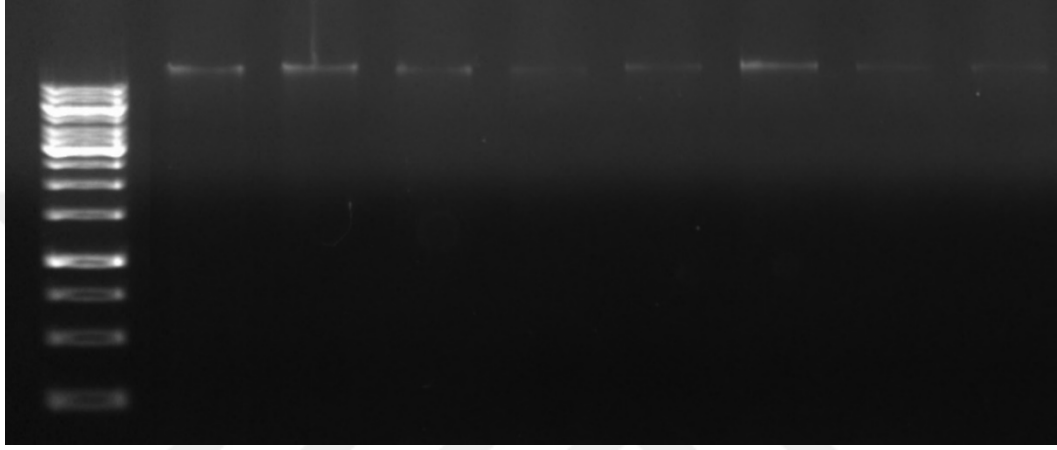
Çizelge 3.11. (devam) *Aktinomisetlerin yağ asidi metil esterleri profilleri*

Yağ asidi	Z109	Z115	Z117	Z118	Z131	Z137	Z168	EA12	A. magu
C _{10:0}									
C _{10:0} 3OH									
C _{11:0}									
C _{12:0}									
C _{12:0} 2OH									
C _{12:0} 3OH									
C _{13:0}									
C _{14:0}	0,53					0,75		0,42	0,30
C _{15:0}	1,40	1,31	0,69	0,93	1,67	2,06	0,57	2,42	0,80
C _{15:0} 3OH	1,76					2,33	3,61	1,91	1,36
C _{15:1} B									0,48
C _{16:0}	7,38	4,75	2,00	1,81	4,77	10,38	0,59	4,91	4,85
C _{16:0} 9-methyl	0,34	6,18	3,78	4,02	11,48	1,16	2,65		0,30
C _{16:0} 10-methyl									
C _{16:1} 2OH				1,83	2,64	1,87	1,97		
C _{16:1} cis9		2,48	1,94				1,64		3,83
C _{17:0}	0,64			0,31		0,61	0,68	5,04	3,10
C _{17:0} cyclo	0,35	0,92	0,57	0,39					
C _{17:1} cis9			1,01	0,84	0,63		1,24	1,69	3,21
C _{17:0} 10-methyl				0,26			7,14	6,96	0,52
C _{18:0}								2,22	5,09
C _{18:1} cis 9							0,99		1,33
TBSA C _{18:0} 10-methyl									
C _{20:0}									
iso-C _{12:0}									
iso-C _{13:0}	0,44			0,21		1,20			
iso-C _{14:0}	5,81	2,80	6,35	4,91	0,96	3,69	0,58	1,25	1,23
iso-C _{15:0}	8,07	20,43	5,50	7,70	17,90	25,33	27,75	6,03	13,84
iso-C _{15:1} G									
iso-C _{16:0}	23,42	26,62	42,80	34,06	13,97	18,65	14,84	26,09	28,31
iso-C _{16:0} 2OH								2,04	5,78
iso-C _{16:1} H		3,94	7,75	6,72	2,76	0,62	1,42		0,43
iso-C _{16:1} G									
iso-C _{16:0} 10-methyl									
iso-C _{17:0}	4,54	5,93	2,84	3,42	7,76	8,58	7,54	5,30	
iso-C _{17:0} 10-methyl									1,29
iso-C _{18:0}	0,33							0,72	1,32
iso-C _{18:0} 10-methyl	1,39					1,75	2,72		
iso-C _{18:1} H			1,01	0,59					
anteiso- C _{11:0}									
anteiso- C _{13:0}	0,82			0,34	0,51	0,44			
anteiso- C _{14:0}									
anteiso-C _{15:0}	30,55	13,42	11,03	15,71	15,50	13,37	8,00	26,09	2,49
anteiso-C _{15:0} 2OH									0,71
anteiso-C _{16:0}									
anteiso-C _{17:0}	11,85	8,13	8,80	10,67	13,47	6,98	15,11	11,05	8,30
anteiso-C _{17:1} C		3,09	3,92	4,78	5,99				
Sum in feature 4§									2,05
Unknown 14966									
Unknown 16048							0,95		
Unknown 17,493 SM									
Unknown 17,595 SM				0,51					

§ISO_{15:0} 2OH/t9_{16:1}, TRANS_{16:1}9/15i2OH ; θ ISO_{17:1} I/ANTEI B, ANTEISO_{17:1} B/i I; □ CIS_{18:1}11/t 9/t 6, TRANS_{18:1}9/t6/c11, TRANS_{18:1} 6/t9/c11, koyu değerler en fazla görülen ilk altı yağ asidi profilleridir, sonuçlar yüzde olarak verilmiştir. Boş kısımlarda sonuç bulunmamaktadır. A. magu= *A. magusensis*

3.6. Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu

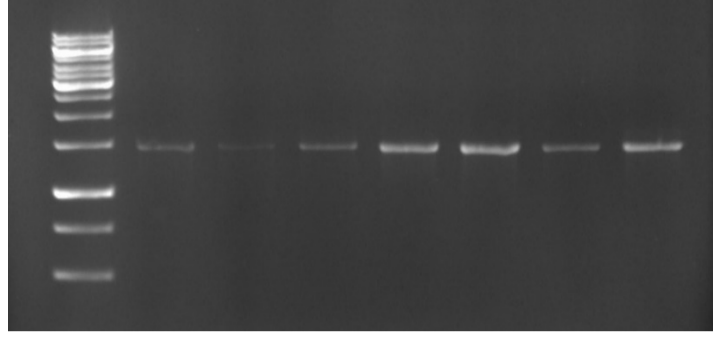
Bitki büyümesini düzenledikleri ve yüksek antagonistik etki gösterdikleri belirlenen aktinomisetlerden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş, saflıkları %0,8'lik agaroz jelde kontrol edilmiş (Şekil 3.10.), 50'şer µl olacak şekilde ikiye bölünmüş ve -20 C°'lik derin dondurucuya saklanmıştır.



Şekil 3.10. İzole edilen bazı gDNA'ların agaroz jel elektroforez görüntüsü (%0,8 agaroz konsantrasyonu, Bio-Rad Gel Doc™ EZ imager).

3.7. 16S rRNA Gen Bölgesi Çoğaltılması, Saflaştırılması Ve Dizilenmesi

Genomik DNA izolasyonunu takiben, 16S rRNA'yı kodlayan gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmış ve yaklaşık olarak 1500 bp büyüklüğünde amplicon elde edilmiştir (Şekil 3.11.). Elde edilen amplicon jelden saflaştırma kiti kullanılarak alınmış ve saflaştırılması gerçekleştirilmiştir. Daha sonra miktarları ve büyüklükleri agaroz jel üzerinde doğrulanmış, 96 çukurlu plaklara 30 µl (en az 50 ng/µl olacak şekilde ayarlanarak) aktararak baz dizilemesi yapılmak üzere hizmet alımı MacroGen Inc. firmasında gerçekleştirilmiştir. Gönderilen örneklerden 89 tanesi çok iyi okuma seviyelerinde olduğundan sadece bunlar ile çalışmaya devam edilmiştir.



Şekil 3.11. PCR ile çoğaltılmış bazı 16S rRNA gen bölgelerinin jel elektroforez görüntüsü (%1,2'lik agaroz jel, Bio-Rad Gel Doc™ EZ).

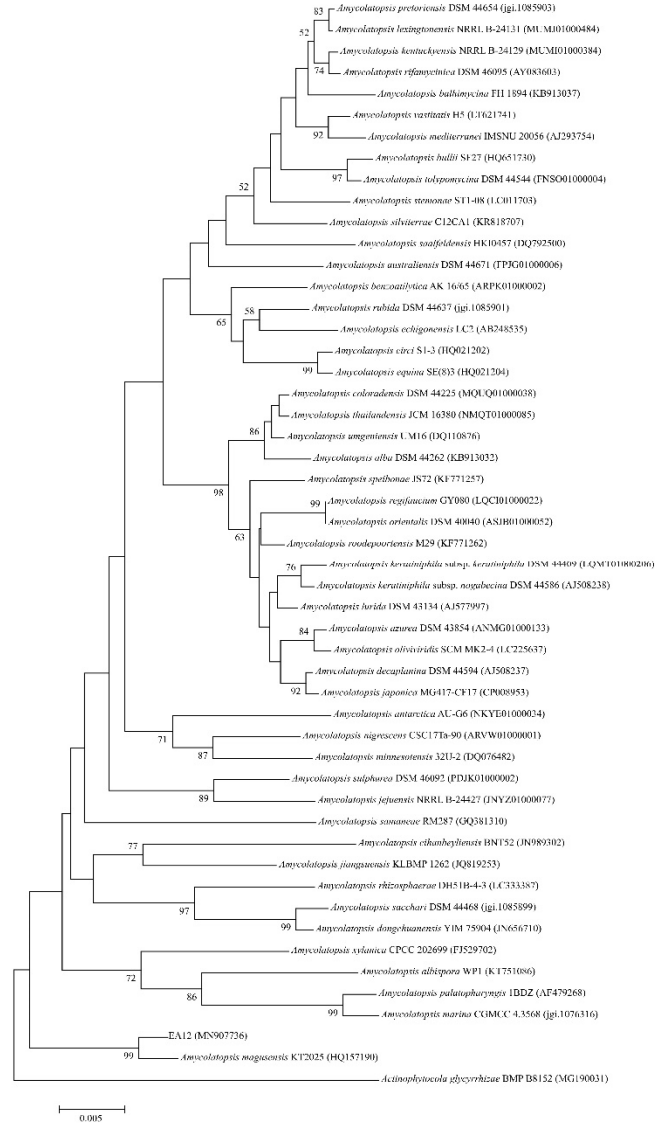
3.8. 16S rRNA Gen Bölgelerinin Analizi ve Filogenetik Dendogramların Oluşturulması

Her bir mikroorganizma için dizi analizinden gelen işlenmemiş datalar 16S rRNA bölgesinin en doğru olarak belirlenmesi için birden farklı primerin kullanılmıştır. BioEdit programı ile doğru (temiz ve kirlilik göstermeyen piklerin) okuma bölgeleri belirlendikten bu bölgeler sıralanmış, diğer okuma yapılan bölgelere de aynı işlemler uygulanarak birleştirilmiş ve tek bir dizi yani 16S rRNA gen bölgesi dizisi elde edilmiştir. Elde edilen dizi bilgisi EzTaxon (<https://www.ezbiocloud.net/> erişim tarihi 12.01.2020) veri tabanında en yakın akraba türler ile karşılaştırma yapılarak yeni tür olma potansiyelleri belirlenmiştir.

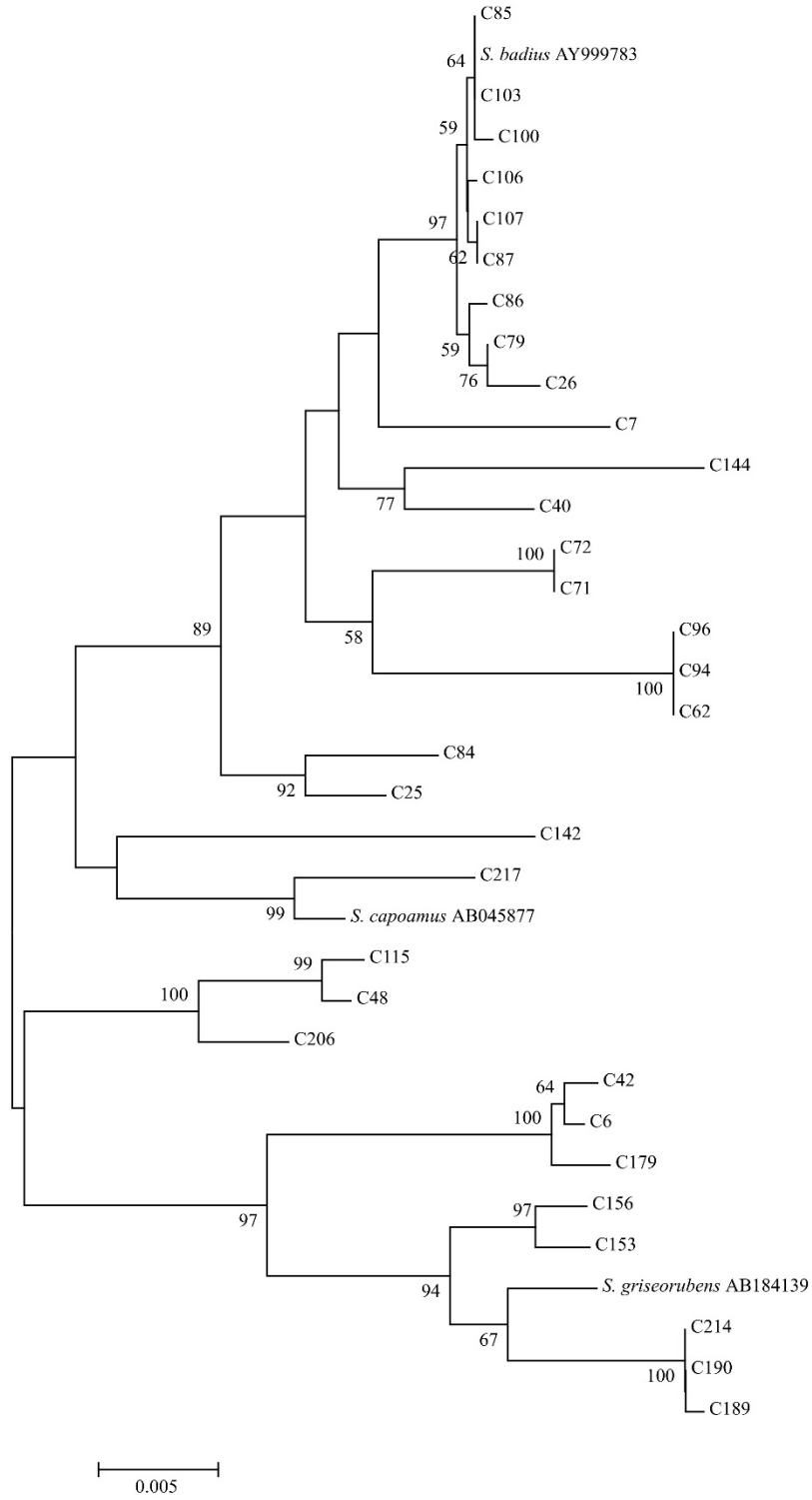
Sadece EA12 kodlu izolat yeni tür olma potansiyeli olduğundan, bu türün en yakın akraba tip türleri gösterilmiştir (Çizelge 3.12.). Şekil 3.12.'de ise EA12 ve en yakın akraba türlerin akrabalık ilişkileri, yakın türlerin CLUSTAL analizi sonrasında hizalanmasının ardından MEGA7 programında hazırlanmıştır. Diğer 16S rRNA bölgesi dizilenen örneklerin ve bazı tip türlerin dizi bilgileri Ek 3.'te NCBI genbank numaraları ile verilmiştir. Ek 4.'te ise 16S rRNA dizilemesi sonrası en yakın türe göre ayırım yapıldığında birbirinden farklı olduğu gözlenen 45 farklı organizma olduğu gösterilmektedir. İzole edilen diğer aktinomisetlerin filogenetik ağaçları (aktabakalık ilişkileri), dizi bilgilerinin yine CLUSTAL ile hizalanarak MEGA7 programında hazırlanmıştır (Şekil 3.13., Şekil 3.14., Şekil 3.15.). Tüm aktinomisetlerin gösterilmesi ise Şekil 3.16.'da web tabanlı ITOL programında çizilmiştir (Letunic ve Bork, 2019). Ceviz, zeytin ve endofitik aktinomisetlerin bazılarının daha kapsamlı akrabalık ilişkileri Ek 5.-10.'da verilmiştir.

Çizelge 3.12. EA12 (Z.4.K.Y.6) kodlu izolatin en yakın akraba tip türlerle karşılaştırılması

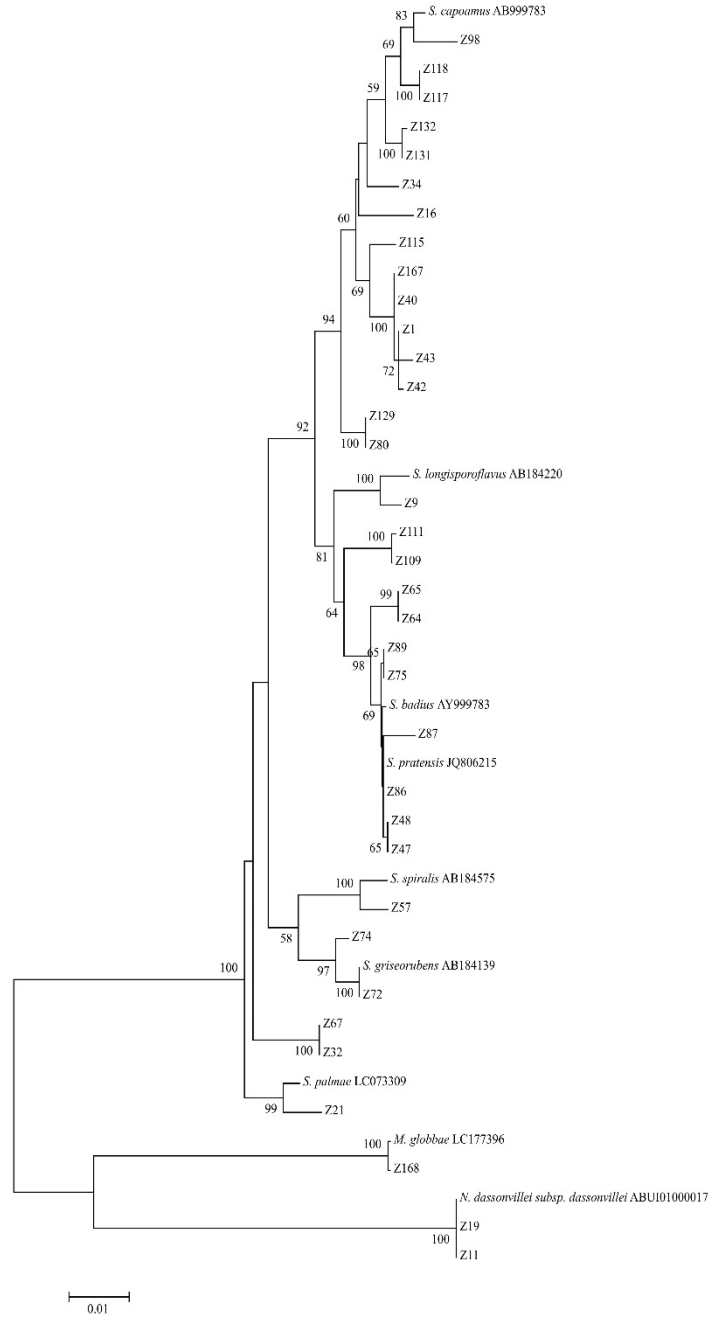
En yakın takson ismi	Suş numarası	NCBI numarası	Benzerlik	Farklı/toplam nt
<i>Amycolatopsis magusensis</i>	KT2025(T)	HQ157190	99.17	12/1438
<i>Amycolatopsis albispora</i>	WP1(T)	KT751086	97.77	32/1438
<i>Amycolatopsis lurida</i>	DSM 43134(T)	AJ577997	97.69	32/1385



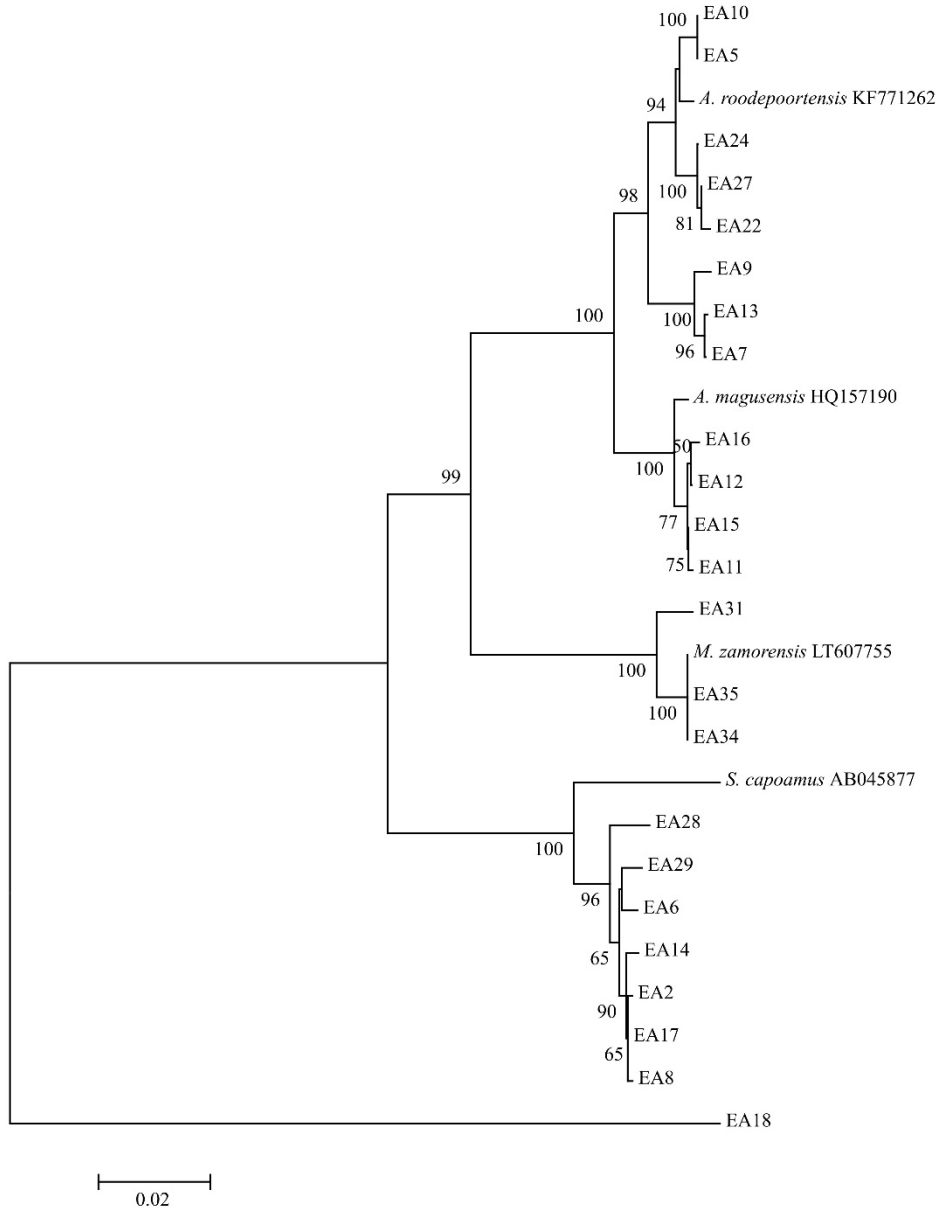
Şekil 3.12. EA12 kodlu (Z.4.K.Y.6) aktinomisetin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir. Actinophytocola glycyrrhizae BMP B8152 (MG190031) dış grup olarak seçilmiştir.



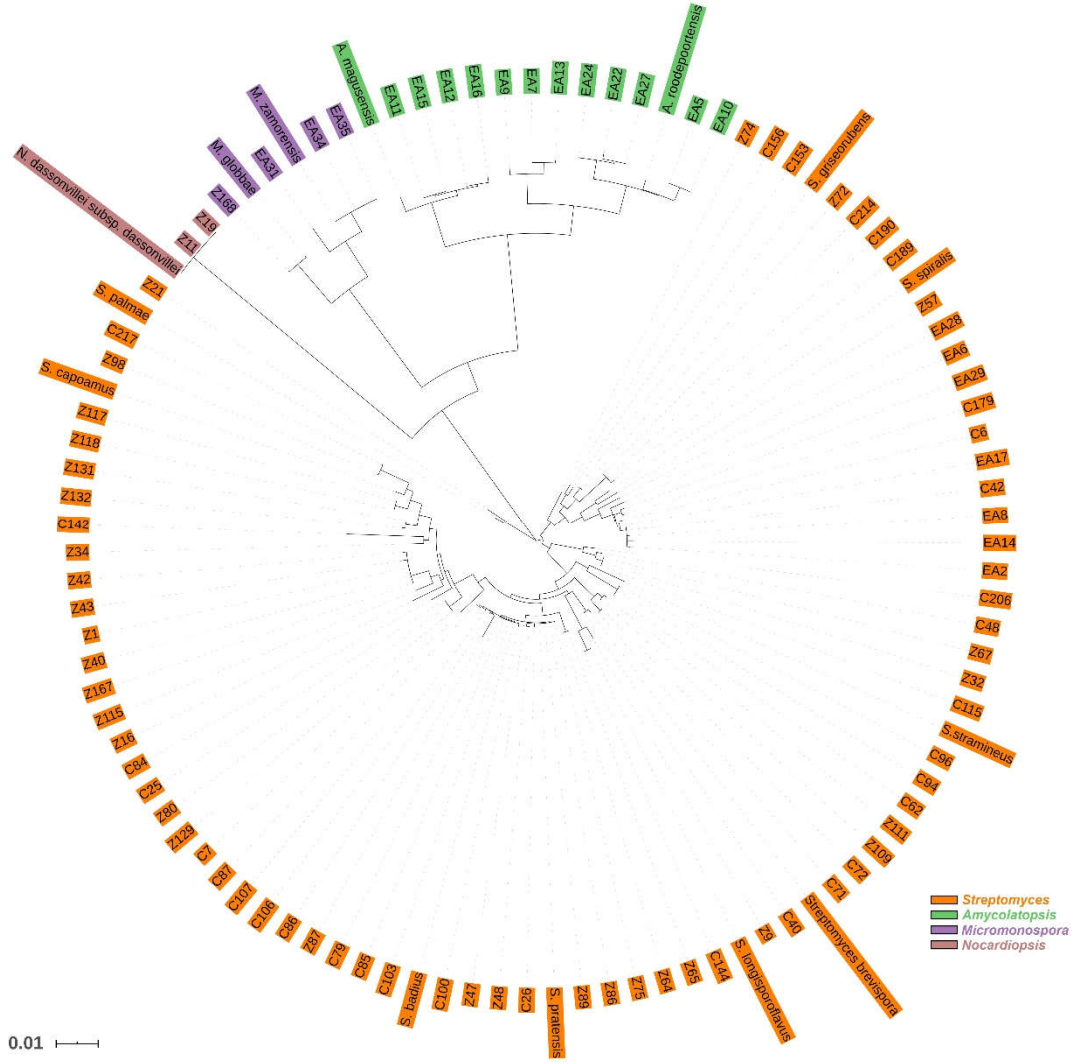
Şekil 3.13. Farklı ceviz ağaçlarının rizosfer bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Farklı zeytin ağaçlarının rizosfer bölgelerinden izole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir.



Şekil 3.15. Farklı bitki bölümlerinden izole edilen endofitik bakterilerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir.

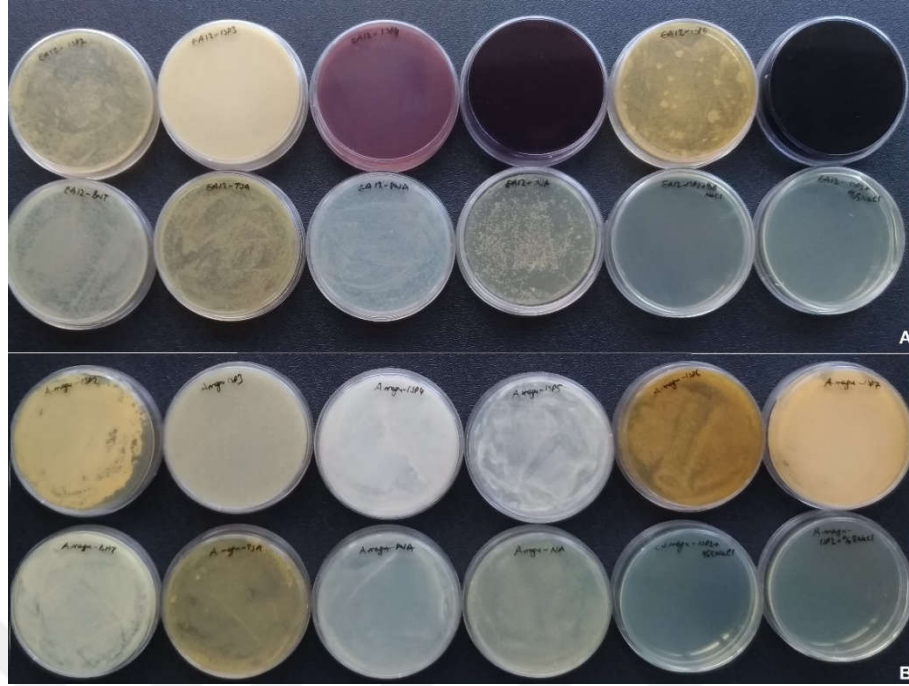


Şekil 3.16. İzole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir.

3.9. EA12'nin Polifazik Yöntemler İle Tanımlanması

3.9.1. Farklı besiyerlerindeki üreme potansiyelleri

EA12 ve *A. magusensis* KT2025 tip türünün farklı besiyerlerinde gelişmeleri Çizelge 3.13. ve 3.14.'te verilmiştir. Üreme sırasında gösterdikleri renk değişimleri ve üreme miktarları kayıt edilmiştir. Farklı besiyerleri üzerindeki üremeler Şekil 3.17.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.17. A)EA12 ve B) *A. magusensis* bakterilerini farklı besiyerleri üzerinde gösterdiği gelişim özellikleri

Çizelge 3.13. EA12'nin 14 gün 30 C°'de inkübasyon sonrası büyüme ve kültürel karakteristikleri

Besiyeri	Büyüme	Miselyum rengi	
		Hava	Substrat
ISP2	++	Açık turuncu sarı	Orta turuncu sarı
ISP3	++	Açık sarı	Açık turuncu sarı
ISP4	++	Çok koyu morumsu kırmızı	Çok koyu morumsu kırmızı
ISP5	++	koyu morumsu kırmızı	Çok karanlık koyu morumsu kırmızı
ISP6	++	Orta turuncu sarı	Güçlü turuncu sarı
ISP7	++	Çok koyu morumsu kırmızı	Çok koyu morumsu kırmızı
BNT	++	Açık turuncu sarı	Orta turuncu sarı
TSA	++	Orta turuncu sarı	Güçlü turuncu sarı
NA	+	Açık turuncu sarı	Açık turuncu sarı
PWA	++	Açık sarı	Açık sarı
MGYEA	+	Orta turuncu sarı	Orta turuncu sarı
ISP2+%5 NaCl	-	-	-
ISP2+ %8 NaCl	-	-	-

+ üreme az, ++ üreme orta, +++ üreme güçlü, - üreme yok

Çizelge 3.14. *A. magusensis*'in 14 gün 30 C°'de inkübasyon sonrası büyüme ve kültürel karakteristikleri

Besiyeri	Büyüme	Miselyum rengi	
		Hava	Substrat
ISP2	++	Sarımsı beyaz	Orta turuncu sarı
ISP3	++	Açık sarı	Açık turuncu sarı
ISP4	++	Sarımsı beyaz	Açık sarı
ISP5	++	Sarımsı beyaz	Açık sarı
ISP6	++	Açık turuncu sarı	Güçlü turuncu sarı
ISP7	+++	Sarımsı beyaz	Açık turuncu sarı
BNT	++	Açık turuncu sarı	Açık turuncu sarı
TSA	++	Orta turuncu sarı	Orta turuncu sarı
NA	++	Açık sarı	Çok açık turuncu sarı
PWA	++	Açık sarı	Açık sarı
MGYEA	+	Açık turuncu sarı	Orta turuncu sarı
ISP2+%5 NaCl	-	-	-
ISP2+ %8 NaCl	-	-	-

+ üreme az, ++ üreme orta, +++ üreme güçlü, - üreme yok

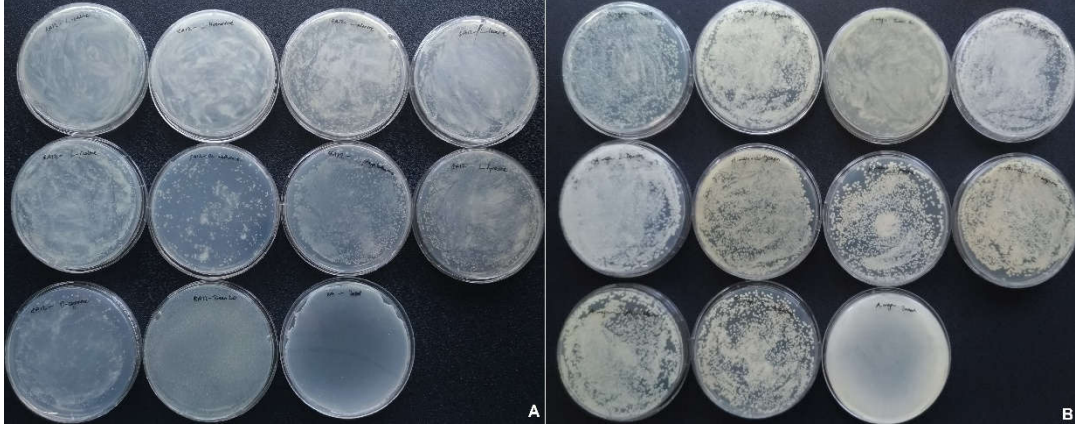
3.9.2. Temel karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme potansiyelleri

EA12 ve *A. magusensis*'in farklı karbon ve azot kaynaklarında 30 C° ve 14 günlük inkübasyonu sonrası sonuçlar pozitif ve negatif olarak kayıt edilmişlerdir. Besiyerinde hiçbir karbon ve azot kaynağı olmadan olan üremelere yakın üremeler negatif diğerleri ise pozitif olarak kayıt edilmişlerdir (Çizelge 3.15.). Üreme özellikleri Şekil 3.18. ve 3.19.'da gösterilmiştir.

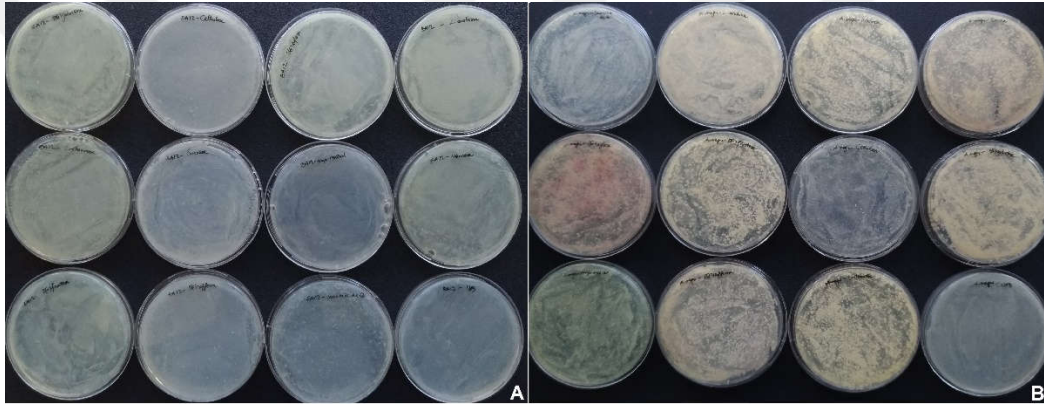
Çizelge 3.15. Farklı azot ve karbon kaynaklarında meydana gelen üreme özellikleri

Kaynak	EA12	<i>A. magusensis</i>
Tween 20	-	+
Mannoz	+	+
D(+) sikloz	+	+
L-arabinoz	+	+
D(+)galaktoz	+	+
Myo-inositol	-	-
D(-)früktoz	+	+
Sükroz	+	+
D(+)rafinoz	-	+
Selüloz	-	-
L-ramnoz	+	+
Suksinik asit	-	-
L_treonin	+	+
L-prolin	+	+
L-tirozin	+	-
L-fenilalanin	-	+
D-arjinin	-	+
DL-metiyonin	-	-
L-lösin	+	+
L-valin	-	-
L-alanin	+	+

+ kaynak kullanımını, - kaynak kullanmamayı göstermektedir.



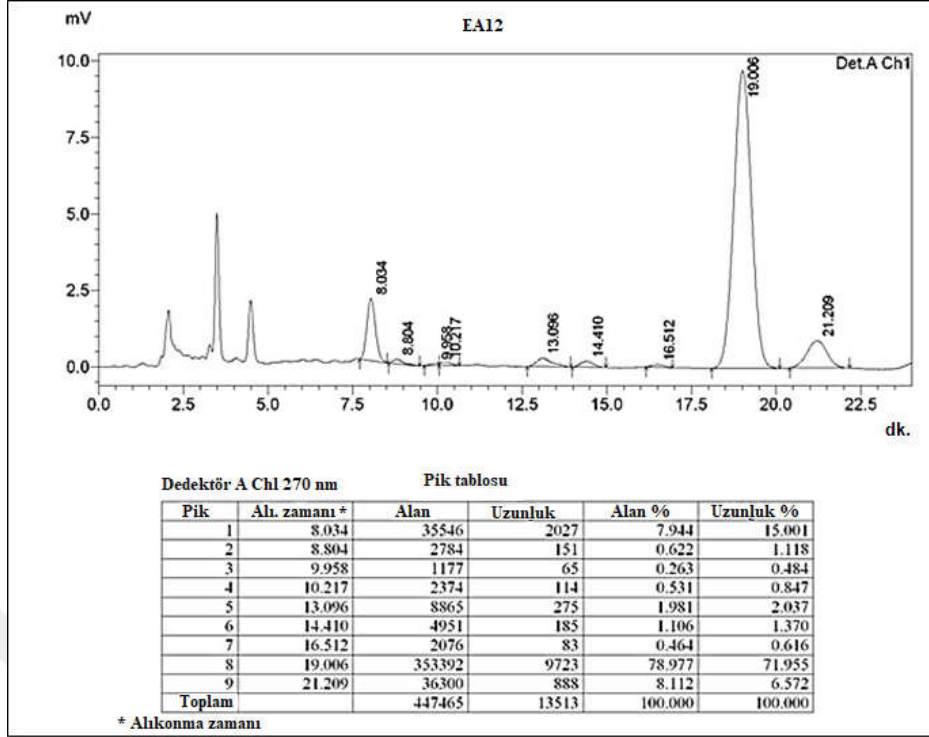
Şekil 3.18. EA12 (A) ve *A. magusensis* (B) bakterilerin farklı azot kaynakları ile üreme özellikleri



Şekil 3.19. EA12 (A) ve *A. magusensis* (B) bakterilerin farklı karbon kaynakları ile üreme özellikleri

3.9.3. Menakinon (respiratuar izoprenoid) analizi

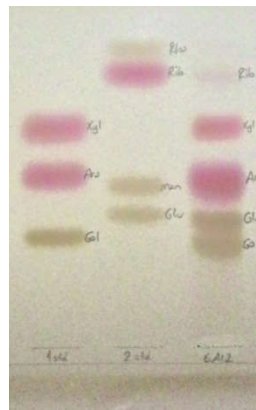
Menakinon analizi sonrası HPLC cihazı ile yapılan okumalar sonrasında MK-9 (H₄) (%79,0), MK-9 (H₆) (%8,1) ve MK-7 (H₄) (%7,9) menakinonları ana grupları oluştururken MK-9 (H₄) %79'luk seviyesi ile major menakinon olarak belirlenmiştir. EA12 kodlu izolatin menakinon analizleri Şekil 3.20.'de gösterilmiştir. Yüzde %5'ten daha küçük menakinon değerleri incelemeye dahil edilmemiştir.



Şekil 3.20. EA12 kodlu izolatin menakinon analizi sonuçları

3.9.4. Tüm şeker analizi

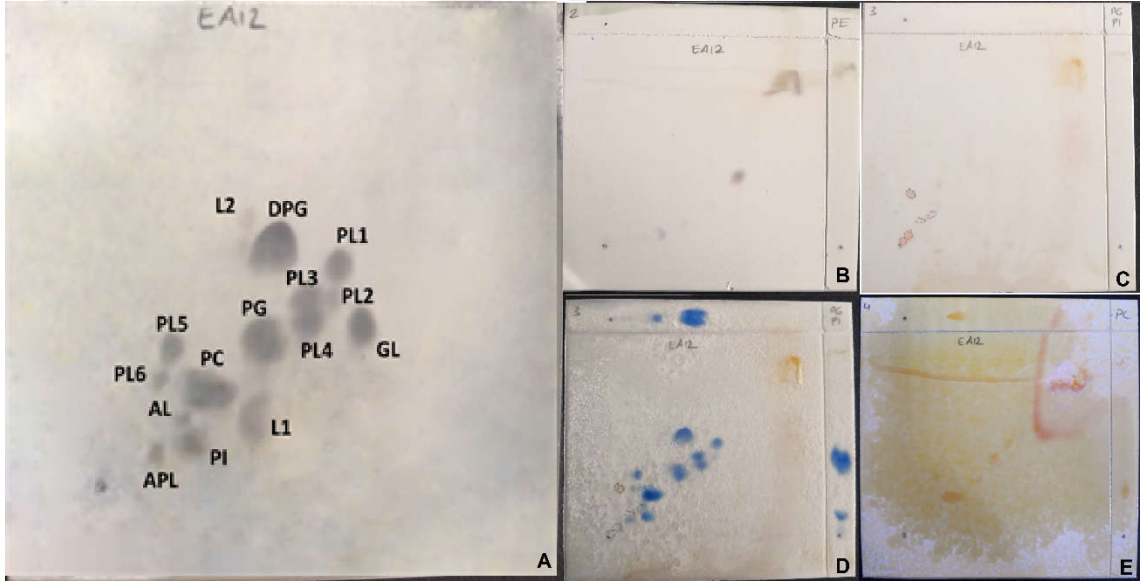
Tüm şeker analizinde sonrası İTK plakası üzerinde standart şekerler ile yapılan incelemeler sonrasında EA12 kodlu aktinomisetin galaktoz, glikoz, arabinoz, sikloz ve iz seviyede riboz içerdiği gözlenmiştir (Şekil 3.21.).



Şekil 3.21. EA12 kodlu izolatin tüm şeker analizi sonrası şeker profilleri (1.ve 2. sıralarda standartlar 3. sırada ise EA12 izolatu yüklenmiştir)

3.9.5. Polar lipid analizi

Polar lipidler dört farklı İTK plakası üzerinde yapılan testler sonucunda belirlenmiştir. İlk İTK plakası (Şekil 3.22.A) tüm lipidlerin tespiti için kullanılmıştır. EA12 kodlu izolatan tespit edilen lipidleri; fosfotidilinositol (PI) amino fosfolipid (APL), aminolipid (AL), fosfolipid 6 (PL6), fosfolipid 5 (PL5), fosfotidilklorin PC, lipid 1 (L1), fosfotidilgliserol (PG), fosfolipid 3 (PL3), fosfolipid 4 (PL4), difosfatidilgliserol (DPG), lipid 2 (L2), glikolipid (GL) ve fosfolipid 1 (PL1) olarak kayıt edilmiştir. 2 numaralı İTK plakasında EA12 kodlu izolatanın gliko grupları belirlenmiştir (Şekil 3.22.B). Bir diğer plakada hem amino grupları, hem de fosfo grubu lipidler belirlenmiştir (Şekil 3.22.C ve Şekil 3.22.D). Son olarak ise kolin grupları belirlenmiştir (3.22.E).



Şekil 3.22. EA12 kodlu izolatanın polar lipid analizi sonuçları A) Tüm lipidler, B) Gliko grupları, C) Amino grupları, D) Fosfo grupları, E) Kolin grupları

3.9.6. Diaminopimelik asit (DAP) analizi

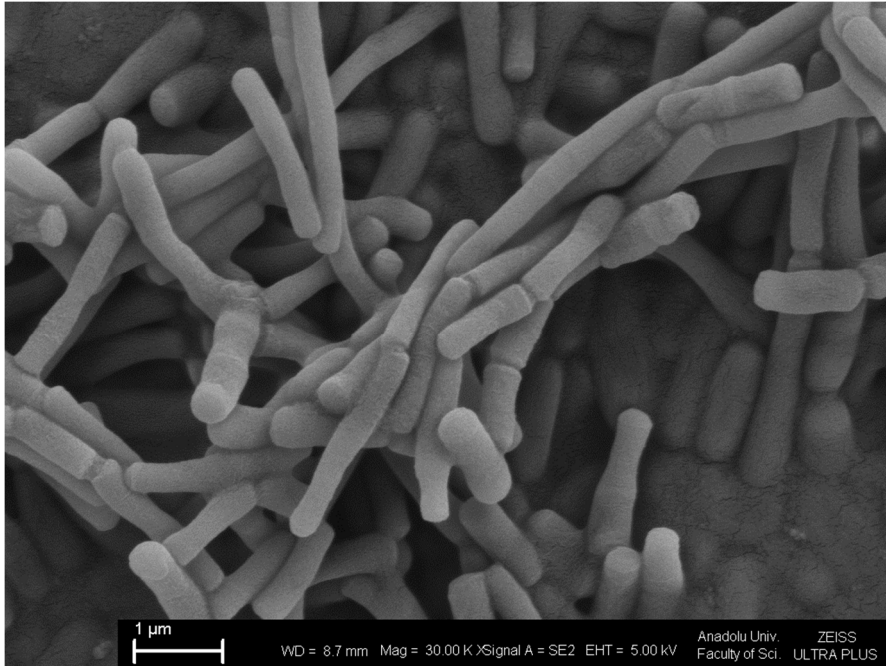
EA12'nin diaminopimelik asit analizi sonrası *Amycolopsis* türüne özgü meso-DAP gözlenmiş olup, diğer sahip olduğu içerikler ise Şekil 3.23.'de verilmiştir.



Şekil 3.23. EA12 kodlu izolatın DAP analizi sonrası meso-DAP içeriği gözlenmektedir.

3.9.7. SEM analizi

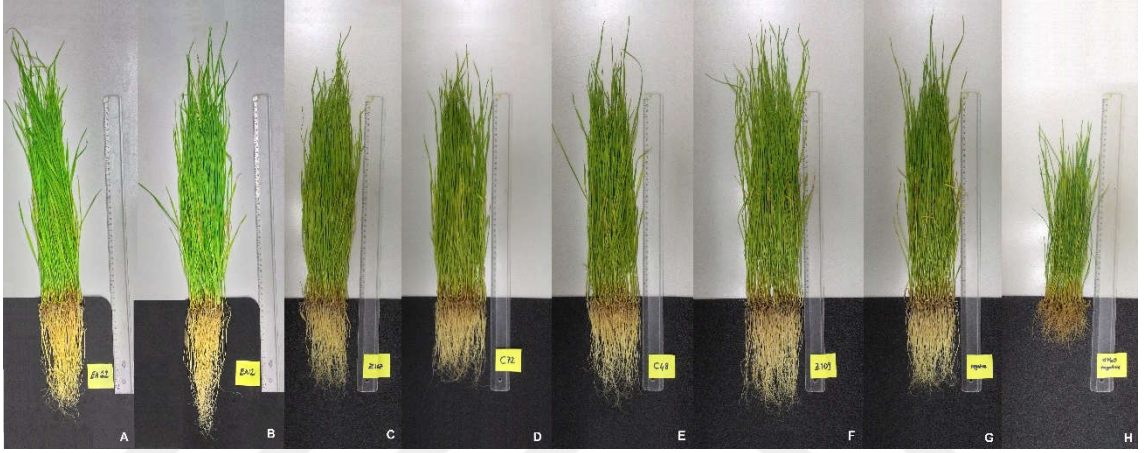
EA12 kodlu izolatın taramalı elektron mikroskopunda görüntüsünün alınabilmesi için büyüme testleri sırasında ekildiği besiyerleri kullanılmıştır. Bu besiyerlerinden en iyi görüntü ISP3 besiyerindeki üreme sonrası hazırlanan örnekten elde edilmiştir. Şekil 3.24.'de organizmanın morfolojik karakteri gösterilmektedir.



Şekil 3.24. EA12 kodlu izolatın taramalı elektron mikroskopu görüntüleri. Görüntüleme 30000 büyütmede gerçekleştirilmiştir. ISP3 besiyeri üzerinde 30 C°de 14 gün boyunca geliştirilen bakteri morfolojisi.

3.10. Bitki Büyüme Testleri

Bitki büyüme testleri yedi bitki büyüme özelliğinden en az altısına sahip (C48, C72, EA22, Z109 ve Z167) ve yeni tür olma potansiyelindeki EA12 ile birlikte toplam 6 aktinomiset ile buğday tohumları üzerinde gerçekleştirilmiştir. EA12, EA22 ve Z109 aktinomisetleri negatif kontroller karşılaştırma yapıldığında daha fazla kök uzamasına neden olmuştur (Şekil 3.25.). 100 tohumun çimlenmesi üzerinden değerlendirilen sonuçlarda en fazla tohum çimlenmesi EA22 aktinomiset ile gözlenmiştir.



Şekil 3.25. Farklı aktinomisetlerin buğday tohumu üzerindeki büyüme özellikleri. Cetvel 50 cm uzunluğu göstermektedir. A) EA22 ve bitki besini, B) EA12 ve bitki besini, C) Z167 ve bitki besini, D) C72 ve bitki besini, E) C48 ve bitki besini, F) Z109 ve bitki besini, G) negatif (bitki besini içeren), H) negatif (tohum ve distile su).

Bitkilerin kök ve gövde boylarının ortalamaları 3.16.'da verilmiştir. SPSS programı kullanılarak yapılan analizler ile anlamlılık değeri 0,05, one way ANOVA Tukey analizi gerçekleştirilmiştir. Analizler sonrasında ise EA12 ve Z109 aktinomisetleri negatif bitki besini içeren ortama göre anlamlı olarak artırma sağlamışken, gövde boyları incelenmesinde anlamlı büyüme ilişkisi sadece Z109 örneğinde gözlenmiştir (Çizelge 3.17.).

Çizelge 3.16. İncelenen bitki sayıları, ortalamaları, maksimum ve minimum değer aralıkları

	Örnek	Tohum sayısı	Ort. (cm)	Min.	Maks.
Kök boyları	C48	76	16,1118	7,00	21,00
	C72	78	15,8654	10,50	19,50
	EA12	80	20,4000	8,00	29,00
	EA22	89	17,2135	12,00	22,00
	Z109	78	18,9295	15,00	22,50
	Z167	78	14,9872	10,50	19,50
	Negatif [□]	76	16,1776	13,50	18,50
	D. Negatif [§]	75	5,9333	3,00	7,50
Gövde boyları	C48	76	34,8421	13,00	50,00
	C72	78	36,8590	25,00	50,00
	EA12	80	36,5250	13,00	52,00
	EA22	89	37,3258	18,00	53,00
	Z109	78	38,4744	22,00	49,00
	Z167	78	35,3846	8,00	50,00
	Negatif [□]	76	35,5526	19,00	51,00
	D. Negatif [§]	75	25,2000	12,00	36,00

Ort.= Ortalama, Min.= Minimum, Maks. Maksimum. [□] Bitki besini ile yapılan negatif kontrol, [§] Sadece distile su ile üretilen tohum uygulaması

Çizelge 3.17. Kök ve gövde boylarının SPSS'de analizi sonrası $p > 0,05$ 'e göre anlamlılık değerleri

Bitki kısmı	SPSS uygulaması	Karşılaştırılan	Karşılaştırma yapılan	Ort. farklılık (I-J)
Kök	Tukey	Negatif	C42	0,065789474
			C72	0,312246964
			EA12	-4,22237*
			EA22	-1,03585*
			Z109	-2,75186*
			Z167	1,19045*
			N.d.su	10,24430*
			Gövde	Tukey
C72	-1,30634278			
EA12	-0,972368421			
EA22	-1,773211118			
Z109	-2,92173*			
Z167	0,168016194			
N.d.su	10,35263*			

* değeri $0,05 > p$ istatistiksel farklılık gösteren örnekleri göstermektedir. Değer negatif olduğunda pozitif farklılık, pozitif olduğunda ise negatif farklılığı göstermektedir.

4. TARTIŞMA, SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bitki köklerinden salınan organik içerikler ve toprağı saran bitki kök yapıları canlılar için bir yaşama ortamı oluşturmakla birlikte, dolaylı olarak bitkilerden toprak yüzeyine bırakılan dal ve yaprak parçaları organik madde miktarının oldukça yüksek seviyelere çıkmasına neden olmaktadır (Saatchi vd., 2007). Çok yoğun bitki örtüsüne sahip ekosistemlerde bitki gelişimi için organik madde miktarı tek başına yeterli olmadığından günümüzde bakteri-bitki etkileşim çalışmaları dikkat çekmektedir.

Zeytin tarımı, öncelikle Marmara ve Ege bölgesinde olmakla birlikte, ceviz tarımı Türkiye'nin birçok alanında yapılmaktadır. Birleşmiş milletler gıda ve tarım organizasyonu (FAO) 2017 yılı verilerine göre Türkiye zeytin üretiminde Yunanistan'ın arkasından dünyada dördüncü pozisyonda bulunmakta olup, yıllık üretimi 2,1 milyon tondur (<https://bit.ly/2MtjBaQ> erişim tarihi 12.01.2020). Aynı şekilde 2017 yılı verilerine göre kabuklu ceviz üretiminde Türkiye dünya dördüncüsü olarak yılda 0,21 milyon ton üretim gerçekleştirilmektedir (<https://bit.ly/2MtjBaQ> erişim tarihi 12.01.2020). Her iki bitki grubu için de Türkiye'nin yeterli tarımsal araziye sahip durumda olmasının yanında, dünyadaki üretim payını arttırmaya yönelik araştırmalar yapmak ihtiyacı ortadadır. Bu sebeple çalışma için seçilen örnekleme alanları ceviz ve zeytin ağaçlarının toprak bölümleri ile bitki bölümlerinden oluşmaktadır. Organizmalar ise yüksek sekonder metabolit üretebilen aktinomisetler olarak belirlenmiştir.

Miselli yapıları ile funguslara morfolojik olarak benzeyen aktinomisetler, dikkat çekici antagonistik aktiviteleri nedeniyle özellikle farklı antibiyotiklerin üretilmesi amacıyla çok çalışılmış bir mikroorganizma grubudur. Antibiyotik üretimin dışında herbisitler, antifungallar, antitümör ve daha birçok ajan üretiminden sorumludurlar (Purushotham vd., 2018). Aktinomiset-bitki ilişkisini ortaya çıkarmak için farklı toprak alanlarından (Hamdali vd., 2008a; Williams ve Davies, 1965) ve bitki kısımlarından aktinomisetler izole edilmişlerdir (Nimnoi vd., 2010; Shimizu, 2011). Literatür incelendiğinde, ceviz ve zeytin ağacı ile yapılan farklı çalışmalar (Gao vd., 2019; Müller vd., 2015; Pham vd., 2017; Rincón vd., 2006) bulunmakla birlikte, bitki büyümesini teşvik edici özellikteki aktinomisetleri içeren çalışma sayısı az denilecek kadar azdır. Bu çalışmalar toprak ya da bitkisel ürünlerin atık incelemeleri şeklinde görülmekle birlikte, genel olarak toplam genomik DNA çalışmalarıyla organizma popülasyonları belirlenmeye çalışılmaktadır (Gao vd., 2019; Müller vd., 2015; Pham vd., 2017; Rincón

vd., 2006). Bu bitkilerin rizosfer bölgelerinden serbest bakteri (Proteobacteria ve Firmicutes üyelerinin) izolasyonları sonrası bitki büyüme testleri incelenmiş olup, bunların farklı patojenik organizmalar üzerindeki etkileri incelenerek yağ asidi analizi ile tanılamaları gerçekleştirilmiştir. Farklı bitki grupları üzerinde saksı deneyleri gerçekleştirilmiştir (Dede, 2013). Bu çalışmada ise başka bir bakteri şube olan Actinobacteria üyelerinin izolasyonu gerçekleştirilip bitki büyüme, bitki patojeni funguslara karşı antagonizm, moleküler yöntemler ile tanımlamaları (yeni tip tür potansiyelinde olan izolatların ek tanılama deneyleri) ve hidroponik üretim ile bitki gelişimleri incelenmiştir.

Türkiye’de zeytin ağacı aktinomisetlerinin izolasyonunu ve karakterizasyonu içeren bir çalışmada *Streptomyces abikoensis* sp., *Streptomyces staurosporinus* sp., *Streptomyces eurocidicus* sp. ve *Streptomyces virginiae* sp. türleri tanımlanmıştır (Güven ve Dede, 2019). Diğer bir çalışmada ise; *Humulus lupulus* (şerbetçi otu) bitki rizosferinden yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen aktinomisetlerin domates bitkisi üzerindeki gelişim özelliği gösterip göstermediği incelenmiştir (Özdemir Koçak, 2019). Bunlar dışında Türkiye’de rizosferik/endofitik aktinomisetler üzerinde yapılmış bir çalışma, yapılan kaynak taramasında bulunmamıştır.

Aktinomiset izolasyonu sırasında ISP2 (Yang ve Song, 2018), ISP4 (Anwar vd., 2016), nişasta kazein agar (Y. Li vd., 2018), maya özütü ile zenginleştirilmiş topraktan modifiye nişasta kazein agar (Zhu vd., 2014) gibi besiyerlerinin kullanıldığı çalışmalar sıklıkla literatürde gözlendiğinden daha farklı cinslerde ya da farklı organizmaların izole edilebilmesi için bu çalışmada MGYEA besiyeri tercih edilmiştir. Bu çalışma ile daha önce yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında ISP2 besiyeri üzerinde yapılan çalışmalar sonrasında elde edilen 55, ISP4 besiyerinden izole edilen 5 izolat sayısının, bu çalışmadan izole edilen 416 sayısına ulaşamamış olduğu da göstermiştir. Ceviz meyvesinden endofitik aktinomiset izolasyonu için farklı çalışmacıların kullandığı aktinomiset izolasyon agar (AIA) (Gopalakrishnan vd., 2014; Kaur vd., 2013) ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca zeytin ve ceviz ağacından kültüre edilebilir endofitik aktinomisetler ilk kez bu çalışma ile ortaya çıkarılmaktadır.

Meyve ağaçlarının rizosfer ve bitki bölümleri diğer çok yıllık bitki (perennial plant) gruplarına göre daha az çalışılan bir grup olup, daha erken ürün veren bitki türlerinin (domates, patates vb.) üzerinde yapılan çalışmalar daha fazladır (Andreote vd.,

2009; Buchholz vd., 2019; Sessitsch vd., 2004; Timilsina vd., 2018). Endofitik bakteriler birçok bitki grubundan izole edilmektedir. Örneğin pirinç bitkisi üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda *Burkholderia*, *Klebsiella Novosphingobium* ve *Sphingomonas* cinsi bakteriler izole edilebilmişlerdir (Rangjaroen vd., 2014). Hibrit ceviz ağacının embriyonik yapılarından bakteriyel nutrient agar üzerine yapılan inokulasyonlar sonrasında *Pseudomonas*, *Roseomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Brevundimonas* cinslerinde organizmalar izole edilmişlerdir. Ayrıca bitki bölümlerinden gerçekleştirilen toplam gDNA izolasyonları sonrası Proteobacteria, Firmicutes Actinobacteria gibi şubelerde bulunan organizmaların bulunduğu gösterilmiştir. Fakat gDNA izolasyonu sonrası analizlerde cins seviyesinde bir bilgi mevcut değildir (Pham vd., 2017). Çalışma kapsamında incelenen bitki bölümlerinin çokluğu düşünüldüğünde (5 farklı zeytin ve 7 farklı ceviz bitki bölümü incelenmiştir) izole edilebilen bakteri sayısı sadece 33 ile sınırlı kalmıştır. Buna rağmen üç farklı cinse ait organizmalar izole edilebilmiştir. Bu cinsler izole edilme sıklıklarına göre ise *Amycolatopsis* (12 birey), *Streptomyces* (7 birey) ve *Micromonospora* (3 birey) olarak sıralanmaktadır. İzole edilen tüm bireylerin dizi analizleri gerçekleştirilmediğinden 16S rRNA gen bölgelerine göre cins seviyesinde belirleme yapılan organizma sayısı 22'dir.

Toprak örneklemeleri yapılırken ölü bitkisel parçalardan uzak kısımlar tercih edilmiştir. Rizosfer bakterilerinin daha iyi temsil edilebilmesi için bitki gövdesine en fazla yarım metre mesafedeki bölgeden kazım işlemine başlanarak kök ve kökçüklerin görüldüğü bölgelere kadar devam edilerek örneklemeler gerçekleştirilmiştir. Örnekler vakit geçirmeden hava sızdırmayan ve daha önce hiç kullanılmamış poşetlere aktarılıp +4 C°'lik buzdolabında saklanmış ve 2 gün içerisinde laboratuvara getirilerek aktinomiset izolasyon işlemlerine başlanmıştır. Endofitik aktinomiset izolasyonu için, bitki bölümleri canlılıklarını kaybetmeden yüzey sterilizasyonu yapılmış ve ardından besiyerlerine ekim gerçekleştirilmiştir. Yüzey sterilizasyonu ile bitki yüzeyinde kolonize olmuş potansiyel patojenler veya hava yolu ile taşınmış diğer organizmaların da izole edilmesi önlenmiş olmaktadır. Endofitik aktinomiset izolasyonu için ceviz ağaçları ile yapılan denemeler sık aralıklarla tekrarlanmış (6. ve 7. örnekleme noktalarından) ve kök, gövde ve meyve yapılarından endofitik aktinomiset izolasyonu gerçekleştirilebilmiştir. İncelenecek çok fazla alan olduğundan tüm ekimler modifiye gliserol yeast ekstrakt agar (MGYEA) besiyeri üzerinde gerçekleştirilmiş ve toplamda 416 aktinomiset izole edilmiştir. Ceviz

meyvesi üzerinden elde edilen EA34 ve EA35, ceviz gövdesinden izole edilen EA28, EA29, EA30 ve EA31 ise ise aktinomiset izolasyon agar (AIA) üzerinden izole edilmişlerdir.

Aktinomisetlerin farklı besiyerleri üzerinde gösterdikleri büyüme karakteristikleri bakımından birçok yeni tür çalışmasında koloni morfolojilerinin incelendiği besiyeri olan ISP3 besiyeri izolasyon sonrasında ayırım için kullanılmıştır (Oubaha vd., 2019; Veyisoglu vd., 2016). Fakat tek bir besiyerinde meydana gelebilecek farklılıkların tam bir belirleyici olmama ihtimalinden dolayı spor oluşumu teşvik edilen ISP4 besiyeri de izolatların saflık kontrolleri yapılması sırasında kullanılmıştır. Özetle MGYEA üzerinde izole edilen bakterilerin tümü daha sonra ISP3 ve ISP4 besiyerlerine de ekilerek saflık kontrolleri sağlanmış, birden fazla farklı koloniye sahip olanlardan tek koloni ekimleri gerçekleştirilerek saflaştırılıp, stoklanmışlardır.

Aktinomisetlerin bir besiyerinde üredikten sonra gelişim evrelerini daha iyi göstermeleri için, birden fazla besiyerine ekilmeleri gerekebilmektedir (Shirling ve Gottlieb, 1966). Bu çalışma sırasında elde ettiğimiz bir sonuca göre diğer çalışmalarda olduğu gibi farklı besiyerlerinin kullanımı ile farklı hava ve substrat miselyum renklerinin aynı organizma tarafından üretilebileceği gösterilmiştir (Şekil 3.17., Çizelge 3.12. ve 3.13.). Kısacası yeni tür olma potansiyelinde olan organizmaların daha fazla ayırt edici besiyerine inokulasyonu ile hangi morfolojik karakterleri gösterdiğinin belirlenmesi gerektiği diğer yeni tür çalışmalarında olduğu üzere (Buszewski vd., 2018; Mertz ve Yao, 1993; Veyisoglu vd., 2016; Zhao vd., 2010) bu çalışma kapsamında da gösterilmiştir.

Çalışmada serbest yaşayan aktinomisetlerin izolasyonu için inkübasyon süresi 7-14 gün, endofitik aktinomisetlerin izolasyonunda ise inkübasyon süresi 20-25 gün ile sınırlandırılmıştır. İnkübasyon sürelerinin uzatılması ile (Jose ve Jebakumar, 2013) farklı aktinomisetleri de yakalama şansı verebilirdi ancak, katı besiyerinin uzun süre etüvde tutulması sonrası hem sıvı kaybı hem de besin kaybından dolayı bu süre uzatılmamıştır. Aktinomisetleri kültüre alma olumsuzluklarını (besin azlığı ve metabolit birikimleri) ortadan kaldırmak için sürekli kültür şartları denenebilir. Fakat sürekli kültür denemesi yapılmadan önce farklı organizmaların birbirleri üzerinde antagonistik etki gösterebileceği gerçeği de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle popülasyon farklılıklarının gösterilmeye çalışıldığı durumlarda, organizmaların örnekleme sonrası yapılan gDNA izolasyonunu takiben, metagenomik olarak tanımlanmaları daha doğru bir

yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır (Purushotham vd., 2018). Fakat ortamda kültür edilemeyen organizmaların varlığı, organizmaların çoğaltılmasını gerektiren çalışmalar için olumsuz bir faktördür. Bu nedenle bu çalışmada, küçük bir alan üzerinden gerçekleştirilen toplam gDNA izolasyonları değil, daha fazla alan üzerinden tamamen kültüre edilebilir bakterilerin eldesi ve bunların sahip oldukları özelliklerin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bitki büyümesini düzenleyici-arttırıcı testler daha çok aktinomiset dışındaki bakterilere ait literatür bilgisi içerdiğinden, bu çalışmada gerçekleştirilen testlerin büyük bir kısmı aktinomisetlerin büyüme özelliklerine göre modifiye edilmiş ve optimizasyon gerektirmiştir. Bitki büyümesini düzenleyici-arttırıcı testler olarak; siderofor üretimi, fosfat çözünebilirliği, IAA üretimi, amonyak üretimi, proteaz üretimi, beta-galaktozidaz üretimi ve kitinaz üretimi seçilmiştir. Örnek sayısı fazlalığı nedeniyle ekstra deneysel aşama gerektiren testlerden IAA üretiminin triptofan bağımlı üretiminin incelenmesi, ACC deaminaz üretim testi, β -1,3-glukanaz üretim testi ve bitkisel diğer hormonların incelemeleri gerçekleştirilmemiştir. Ayrıca β -1,3-glukanaz üretim testi sideroforlar ile birlikte çalışarak antifungal aktivite belirlenmesi sırasında kullanıldığından ve siderofor üretimlerinin varlığı incelendiğinden gerek duyulmamıştır.

Hidrojen siyanid üretimi testinde besiyeri üzerinde turuncu renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmektedir (Lorck, 1948; Misk ve Franco, 2011). Bu çalışmada, aktinomiset örneklerinin birçoğu pigment ürettiği için turuncu renk oluşumuna bağlı HCN üretiminin pozitif olduğu belirlenemediğinden bu deneysel aşamalar gerçekleştirilememiştir. Yaşanan zorluklara çözüm olarak, oksijen tüketimine dayalı sensör geliştirilmesi (HCN molekülleri üretilirken oksijen tüketildiği gerçeğinden hareketle) fikri öne sürülmesine rağmen (Lee ve Karube, 1996), bugüne dek bir ilerleme kaydedilmemiştir. Bu nedenle, renk pigmenti oluşturmayan bir besiyeri formülasyonu ya da uçucu formdaki HCN moleküllerinin daha iyi bir görüntüleme ile tespit edilmesi ihtiyacı halen devam etmektedir.

IAA üretimi birçok yolak ile kontrol edildiğinden bu yolakların veya üretimde kullanılan enzimlerin (beta galaktozidaz) belirlenmesinde de kullanılabilir (Tanimoto ve Igari, 1976). Bu çalışmada triptofan bağımlı olmayan IAA üretim testi gerçekleştirilmiş olup, çalışmada yüksek pigmentasyona sahip organizmalardan kaynaklanan sonucu belirlenemeyen veriler (Çizelge 3.5.-Çizelge. 3.7.) elde edilmiştir.

Fakat HCN üretiminde olduğu kadar yüksek seviyelerde belirsizlik görülmediğinden bu deney tasarımı metotta belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte IAA üretebilen aktinomiset sayısı izole edilen bakteriler ile karşılaştırıldığında, Mısır'dan izole edilen aktinobakteriler ile yapılan bir çalışma ile kısmi benzerlik göstermektedir (Takizawa vd., 1993). Bu çalışmada L-triptofan kullanımı ile 210 aktinomisetten 138 tanesinde IAA üretimi söz konusu iken, triptofan bağımlı olmayan IAA üretimi denenen çalışmada ise 422 izolattan 214'ünde bu etkinlik gösterilmiştir. Dolayısıyla triptofan olmayan ortamlarda IAA üretimi çalışılabilir olduğu bu çalışma ile gösterilmiştir. Kaldı ki tarımsal arazilerde direkt olarak triptofan eklenmesi mümkün olmadığından bu analiz triptofan varlığı olmadan yapılmalıdır.

Siderofor üretimi testi için tavsiye edilen besiyeri (Cappuccino ve Sherman, 2014) bu çalışmadaki aktinomisetlerin gelişimi için yeterli olmamıştır. Bu nedenle modifikasyonla ISP2 besiyeri pozitif kontrollerle doğrulandıktan sonra uygulamaya alınmıştır. Bir çalışmada siderofor analizi yapılabilmesi için, besiyeri modifiye edilerek organizmaların 7 günlük inkübasyonu sonrası üretim potansiyeli belirlenmeye çalışılmıştır (Khamna vd., 2009). Diğer bir çalışmada ise modifiye Gaus No.1 broth üzerinde ekimi sonrası 3 haftalık inkübasyona bırakılmış ve sonuçlar Csaky test uygulanarak miktarsal olarak incelenmiştir (Nimnoi vd., 2010). Bu çalışma kapsamında ise MCAS kullanılmasını takiben organizmaların gelişimsel özelliklerinin daha iyi gözlenebildiğinden inkübasyon süresi 14 gün olarak seçilmiştir. Yavaş gelişim gösteren aktinomisetlerin ile yapılacak çalışmalarda deney süreleri organizmanın gelişim süresine bağlı olarak modifiye edilmelidir.

Amonyak üretiminin belirlenmesinde kullanılan besiyeri ve ayıraç üzerinde herhangi bir modifikasyona gerek duyulmaksızın aktinomisetlere de uygulanabilmiştir. Ancak aktinomisetlerin gelişim için daha uzun süreye ihtiyaç duymaları nedeniyle, bu deney aşaması da süre olarak uzatılarak modifiye edilmiştir. Nessler ayırıcı uygulandıktan hemen sonra sonuç alındığından, koyu renklerde pigment üreten mikroorganizmaların varlığında, uygulama öncesi ve sonrası renk değişimi özel dikkat gerektirmektedir.

Kitinaz üretiminde kullanılan kitinin organizmalarca daha kolay parçalanabilmesi için askıda kitin (collodial chitin) formatına getirilmesi önerilmektedir (Roberts ve Selitrennikoff, 1988). Bir çalışmada (Prapagdee vd., 2008) askıda kitin kullanılması

sonucu ortaya çıkan N-asetilglukozamin ölçümüne dayalı olarak kitinaz aktivitesi tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada (Gopalakrishnan vd., 2014) askıda kitin metanosülfonik asit ile oluşturulmaktadır. Bu çalışmada, ön denemelerde orijinal kitin ile yapılan 14-30 günlük inkübasyon süresince kitinaz aktivitesi gözlenmediğinden (mümkün olan en az kimyasal ile deneysel aşamalar tasarlandığından) deney için kullanılacak kitin formu askıda kitin olarak derişik HCl ile hazırlanarak uygulanmıştır. Ardından askıda kitin ve ISP2 besiyerinde 14 gün ve daha fazla inkübasyon sürelerinde kitinaz aktivitelerinin belirlenebildiği gösterilmiştir.

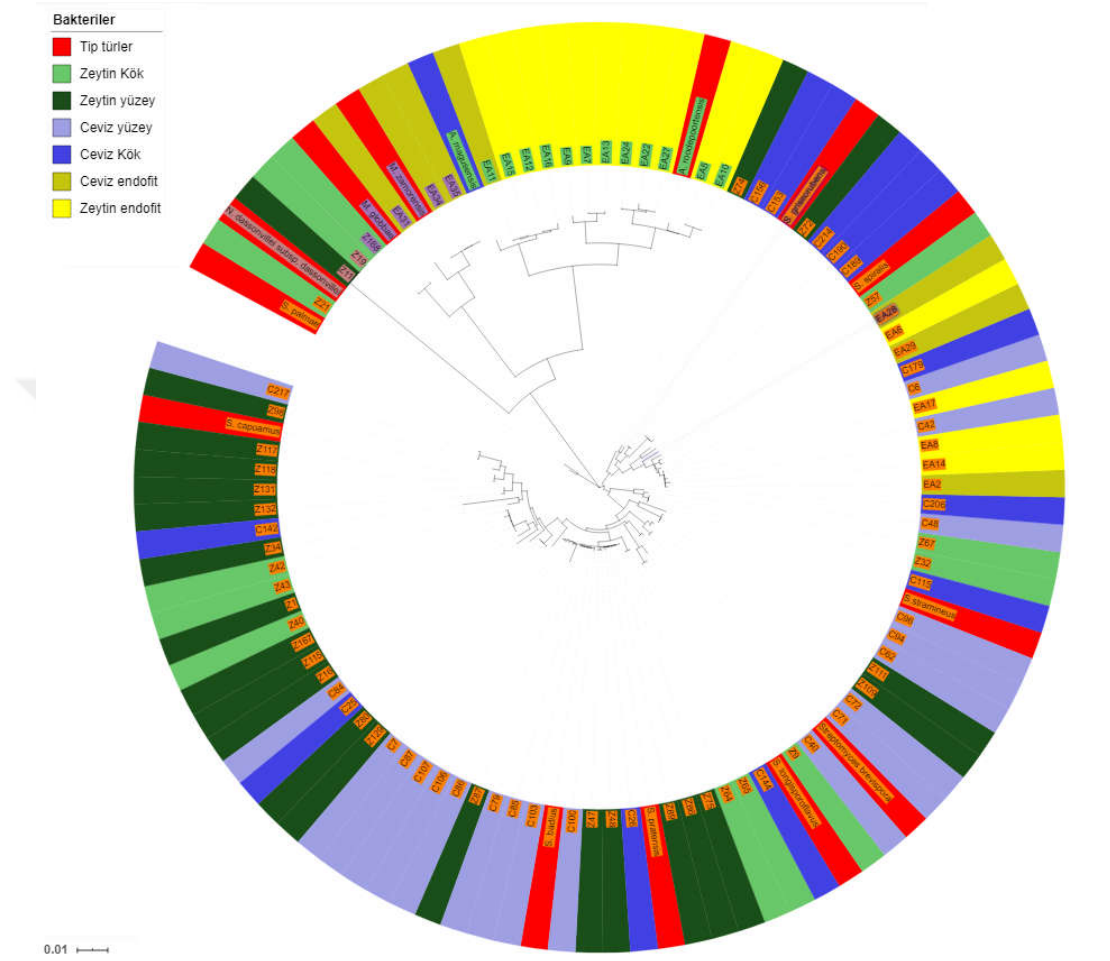
Beta galaktozidaz üretimi için ONPG diskleri ticari olarak temin edilmiştir. Aktinomisetler daha uzun sürede geliştikleri için en az 3 gün süreyle inkübe edilmiş, buharlaşma ile sıvı kaybını önlemek için deney hacmi 100 mikrolitreden 300 mikrolitreye çıkarılmıştır. Böylelikle ONPG diskin daha fazla miktarlar ile kullanılabilir olduğu (Flores vd., 1990) bir kez daha gösterilmiştir.

Bitki gelişimini destekleyici diğer enzim testlerinden olan azot bağlayabilme özelliği; nitrojen fiksasyonu, nitrojen asimilasyonu, nitrojen alımı ve nitrojen düzenlenmesi gibi çok çeşitli yönlerden incelenebilmektedir (Steenhoudt ve Vanderleyden, 2000). Bu çalışmada ise sadece amonyak üretimi incelenmiştir.

Fosfat çözünürlük testleri için farklı fosfat kaynaklarının, kaya fosfatı (Hamdali vd., 2008b), trikalsiyum fosfat (Nautiyal, 1999) gibi çözünemeyen fosfat moleküllerinin çözülebilmeye özelliklerinin belirlenmesine dayalı yöntemler geliştirilmiştir (Bashan vd., 2013). Bu çalışmada, üzerinde aktinomiset gelişimini engellemediği için özellikle Pikovskaya besiyeri (Rodríguez ve Fraga, 1999) tercih edilmiş olup, kalsiyum fosfatın çözünebilir olduğu gösterilmiştir. Deney süresi en az 14 günlük bir inkübasyona ihtiyaç duymaktadır. Ek olarak toprak yapısında çok farklı çözünemeyen fosfat içerikleri bulunduğundan bu deneysel aşamayı kullanacak araştırmacıların araştırma yapılırken izolasyon yapılan toprak özelliklerine uygun özellikteki fosfat bileşiği ile çalışmalıdırlar. Fakat bu organizmanın ticarileşerilmesi gibi bir durumda mevcut tüm çözünemeyen fosfat bileşiklerinin parçalanmasını sağlayacak organizmaların keşfedilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada identifiye edilen aktinomiset örnekleri, *Micromonospora*, *Amycolatopsis*, *Nocardia* ve *Streptomyces* olarak tanımlanmıştır. *Streptomyces* spp. ve *Micromonospora* spp. hem toprak hem de bitki kısımlarından, *Amycolatopsis* spp. sadece

endofitik olarak çeşitli bitki kısımlarından, *Nocardioopsis* spp. sadece topraktan izole edilmiştir. En çok karşılaşılan cins olarak *Streptomyces* belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Bu çalışmada izole edilen aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap değerleri gösterilmiştir

Actinobacteria şubesinde bulunan birçok cinsin farklı antagonistik içerikleri üretme potansiyelleri bilinmektedir (Crawford vd., 1993; El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006). Aktinomisetlerde en bilinen sekonder metabolit üreticisi bakteri grubu olduğundan (Jensen vd., 2007) antifungal özelliklerinin incelenmesi adına çalışmaya antifungal aktivite testleri dahil edilmiştir. Bu çalışmada, Eskişehir Teknik Üniversitesi kültür koleksiyonunda bulunan bitki patojeni funguslar ile deney setleri oluşturulmuştur. Ceviz ve zeytinden izole edilmiş endofitik aktinomisetlerin serbest halde

bulunan aktinomisetlere oranla daha fazla antagonistik etki gösterdikleri saptanmış olup, bu örnekler *Streptomyces* ve *Amycolatopsis* cinsleri içerisinde yer almışlardır. *Nocardioopsis* cinsi olduğu belirlenen bir izolat ise tek bir patojenik küfe karşı etki göstermiştir. Çeşitli antagonistik aktivitesi ile bilinen *Micromonospora* üyeleri (El-Tarabily vd., 2009; Martínez-Hidalgo vd., 2015) maalesef bu çalışmada antifungal etki göstermemiştir. Devam eden çalışmalarda inokulasyon miktarları artırılarak ve farklı patojenik organizma/lar üzerinde, özellikle zeytin ve ceviz patojeni mikroorganizmalar kullanılmalıdır. Antagonistik etkinlikleri daha önceki çalışmalarla (Aouar vd., 2012; Barka vd., 2016; Rosenblueth ve Martínez-Romero, 2006) gösterilen *Streptomyces*, *Amycolatopsis* ve *Nocardioopsis* cinslerinin etkinlikleri bu çalışmada da görülmüştür. Antagonistik etkinlik testleri aktinomiset misel diskleri (Shimizu vd., 2000), veya petri ortasına ekilen aktinomisetlerin boş kısımlarına aktif küf örneklerinin ekilmesi (Aouar vd., 2012) şeklinde gerçekleştirilebilmektedir. Bu çalışmada 20 µl aktinomiset süspansiyonu (misel+metabolit) patojen küflere damlatılarak etkinlik araştırılmıştır. Farklı yöntemlerle de (Aouar vd., 2012; Shimizu, 2011) antagonistik testlere devam edilmelidir

Yağ asitleri profili her bir mikroorganizma için parmakizi özelliği taşıyan önemli bir kemotaksonomik karakterdir. Bu çalışmada da, EA18 kodlu izolatın yağ asidi profilinin diğer organizmalardan farklı olduğu, hatta hiçbir aktinomisetinde görülmeyen C_{12:0} 3OH, ve 'sum in feature 7 (18:1 CIS 11/t 9/t 6, 18:1 TRANS 9/t6/c11, 18:1 TRANS 6/t9/c11)' yağ asitlerini içerdiği saptanmıştır (Çizelge 3.10.). Bu örneğin kültürel özelliği aktinomiset benzeri koloni morfolojisi göstermekteyken, (agara penetre olan misel yapısı) (Waksman, 1940) , 16S rRNA dizi bilgisi incelendikten sonra bir *Pseudomonas* türü olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada aktinomisetlere özgü temel yağ asitlerinin (*iso*-C_{16:0}, *anteiso*-C_{15:0} ve *anteiso*-C_{17:0}) gösterilmesi aktinomiset örneklerinin özelliklerinin belirlenmesi açısından önemli olmakla birlikte, özellikle EA12 aktinomisetinde olduğu gibi yeni tür ispatı çalışmalarında bir zorunluluktur (Carlsohn vd., 2007; Timilsina vd., 2018).

Bakterilerin 16S rRNA korunmuş gen bölgelerine göre ayırımı-ön tanılanması yıllardır kullanılmakta olup, yaklaşık 1500 bç büyüklüğündeki bu bölgenin nükleotid bazlarının dizilenip filogenetik analizlerin gerçekleştirilmesi ile test edilen bakterinin cins seviyesine kadar identifikasyonu mümkündür (Amann vd., 1990; Glockner vd., 2000; Isik

vd., 2014; Singleton vd., 2001; Yoon vd., 2017). Çalışma kapsamında izole edilen aktinomisetlerin bitki gelişimini arttırıcı özelliklerine göre seçilmesinden sonra 300'e yakın izolat 16S rRNA analizine alınmadan elenmiştir. Bu çalışmada, 89 izolatın dizi bilgilerine göre tip türler ile akrabalık gösteren en az 45 farklı aktinomiset olduğu gösterilmiştir (Ek 4.). Ayrıca organizmaların kendi aralarında gerçekleştirilen filogenetik ilişkileri sonrasında bile aynı olarak adlandırılabilen izolat sayısı 23 olarak kayıt edilmiştir (Şekil 3.13.-3.15.). Çeşitlilik gösteren aktinomiset örneklerinin farklı bitkilerden izole edilmesi aktinomiset-bitki spesifikliğin bir göstergesi olarak ta yorumlanabilir. *Amycolatopsis endophytica* (Miao vd., 2011), *Amycolatopsis suaedae* (Chantavorakit vd., 2019), *Amycolatopsis jiangsuensis* (Xing vd., 2013) türleri önceki çalışmalarda endofitik olarak bitki yapılarından izole edilerek yeni tür olarak literatüre kazandırılmışlardır. Bu çalışmada *Amycolatopsis* cinsine ait 6 endofitik üye tespit edilmiş olup özellikle *Amycolatopsis* cinsinin endofitik karakterini desteklemektedir. Özellikle de endofitik EA12 aktinomiseti yeni tür olma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir.

Endofitik EA12 aktinomiset örneği, EzBioCloud veritabanında en yakın tip tür olarak *Amycolatopsis magusensis* ile eşleşmiş olup, yapılan filogenetik analizler sonrası farklı tip türlerin incelenmesi gerekmediği gözlenmiştir. Ancak genom dizilemesi gerçekleştirilerek dijital yada manuel DNA-DNA hibridizasyonu (Klappenbach vd., 2007; Qin vd., 2010; Veyisoglu vd., 2016) gerçekleştirilerek organizmaların genomsal farklılıklarının da gösterilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, endofitik EA12 aktinomiseti öncelikle filogenetik olarak en yakın tip tür olarak *A. magusensis* ile eşleşmiştir (Ek. 5). Yeni tür olma potansiyeli taşıdığından literatürde yer alan polifazik identifikasyon testlerine (Barka vd., 2016; Nouioui vd., 2018) göre analiz edilmiştir. Farklı besiyerlerinde, farklı azot ve karbon kaynaklarında üreme yeteneği belirlenmiş, ISP4, ISP5 ve ISP7 besiyerleri üzerinde gösterdiği farklı renk oluşumları ile de *A. magusensis*'ten tamamen farklı bir tür olduğu gösterilmiştir. Kemotaksonomik karakterleri (yağ asitleri, polar lipidleri, tüm hücre şekerleri, hücre duvarı içeriğini ortaya çıkarmak için diaminopimelik asit içeriklerinin belirlenmesi, menakinon analizleri) bakımından, EA12 kodlu izolat en yakın akrabası olan *A. magusensis*'ten menakinonları [*A. magusensis*: MK-8 (H₄) (10 %), MK- 9(H₂) (10 %) içerirken, EA12: MK-9(H₆) (% 8,1), MK-7(H₄) (% 7,9) içermektedir] yönünden farklılık göstermiş ancak, hücre duvarında bulunan meso-DAP içeriği iki bakteri içinde aynı

olarak saptanmıştır. Bunun nedeni her iki bakterinin de Gram pozitif özellik göstermesidir. Yağ asitleri incelendiğinde ise *A. magusensis* en fazla; isoC_{16:0} (%28), isoC_{15:0} (%13) ve anteiso C_{17:0} (%8) içermekte iken, EA12 isoC_{16:0} (%26), anteiso C_{15:0} (%26) ve anteiso C_{17:0} (%11) içermektedir. 16S rRNA dizi analizine göre de *A. magusensis* (Camas vd., 2013) ve EA12 arasında 12 farklı baz gösterilmiştir. Bu durum EA12 kodlu izolatın diaminopimelik asit içeriği dışında tüm özellikleri açısından *A. magusensis*'ten farklı bir tür olduğunu göstermektedir. Ancak tüm genom dizilemesi gerçekleştirilerek dijital yada manuel DNA-DNA hibridizasyonu (Aouar vd., 2012; Klappenbach vd., 2007; Qin vd., 2010; Shimizu, 2011; Veyisoglu vd., 2016) sonucunda organizmaların genomsal farklılıklarının da gösterilmesi gerekmektedir.

Hidroponik üretim toprak içeren deneysel aşamalarda meydana gelebilecek kök kayıplarını engeller ve saksıda kullanılan toprak içeriklerinin homojen dağılmama ihtimalini kaldırır. Farklı çalışmalarda aktinomiset kullanımı ile bitki büyümesi gösterilmiş (Anwar vd., 2016; Shimizu, 2011) olmasına rağmen deneylerin tümü topraklı olarak tasarlanmıştır. Bu sebeple aktinobakterilerin hidroponik ortamda tohum uygulamaları bilindiği kadarıyla ilk kez gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada izole edilen aktinomisetlerin Türkiye'ye özgü olmalarından ve bitki gelişimini hem kök hem de gövde de göstermesinden dolayı bitki büyüme deneylerinin Türkiye'de tarım yapılan farklı platformlarda (topraklı ya da topraksız) devam ettirilmesi gerekliliğini göstermektedir.

Sonuçlar

- 1) Bu çalışmada, zeytin ve ceviz ağaçlarının rizosfer ve kök bölgesi topraklarından 389, bitki bölümlerinden (kök, gövde ve meyve) ise 33 olmak üzere toplam 422 aktinomiset örneği izole edilmiştir.
- 2) İzole edilen aktinomisetlerin 195'i siderofor üretme, 165'i fosfat çözme, 214'ü IAA üretme, 376'ı amonyak üretme, 228'i proteaz üretme, 221'i beta galaktozidaz üretme, 230'u kitinaz üretme yeteneğinde olup, bitki büyümesini düzenleme-arttırma özelliklerine sahiptirler.

3) 387 serbest aktinomiset örneğinden sadece 56 tanesi (% 14.4) antagonistik aktiviteye sahip iken, 33 endofitik aktinomiset örneğinden 16'sı (% 48.4) funguslar üzerinde antagonistik etki göstermiştir.

4) Bitki büyümesini düzenleme-arttırma özelliklerindeki 89 tane izolatın 16S rRNA analizi sonrası topraktan en fazla izole edilen aktinomisetin *Streptomyces*, endofitik bakteriler içerisinde ise *Amycolatopsis* cinsi olduğu gözlenmiştir.

5) 16S rRNA gen bölgesi dizilenmesi sonrası tip türler ile yapılan benzerlik analizlerine göre 11 birey ile *Streptomyces pratensis*'in temsil edildiği, daha sonra ise yedi benzer tip türle *Streptomyces hydrogenans* olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak ise 89 izolatın dizilenmesi sonrası ise en az 45 farklı birey ile çalışmalar gerçekleştirildiği gösterilmiştir.

5) EA12 aktinomiset örneğinin en yakın akrabasının *A. magusensis* olduğu polifazik identifikasyon testleri ile gösterilmiş olup, tüm genom analizi gerçekleştirildikten sonra yeni bir tür olarak bilimsel literatüre kazandırılması planlanmaktadır.

6) Bitki büyüme testlerinde EA12, EA22 ve Z109 aktinomiset örneklerinin buğday kök uzamasını, Z109 örneğinin ise buğday gövde büyümesini arttırdığı saptanmıştır.

Öneriler

- Bitki büyümesini arttırıcı özelliklerin belirlenmesi, enzim üretme ve antagonistik aktivite testleri gibi klasik yolla yapılan testler çok fazla zaman, para ve işgücü gerektirdiğinden, moleküler yaklaşımlarla bu aktivitelere sorumlu gen bölgelerinin (örneğin kitinaz üretim geni [*chiA*]) ortaya çıkarılması alternatif olarak kullanılabilir. Ancak bazı gen ifadelerinde çeşitli stres koşullarına ihtiyaç duyulabileceği gerçeği gözardı edilmemelidir.

- Çeşitli tek yıllık ve çok yıllık bitki üzerinde kontrollü şartlarda topraklı/hidroponik sera ve tarla denemeleri yapılmalıdır.

- Ticari kullanımda olan biyogübre preparatları ile verimlilik karşılaştırma çalışmaları yapılmalıdır.

- Bitki büyümesini olumlu etkileyen aktinomiset örneklerinden çeşitli formülasyonlarda biyogübre preparatları oluşturulmalı, patent alınmalı ve ticari kullanıma sunulması için gerekli

ülke ekonomisi gerekse tarımsal ürünlerin kimyasal içerik baskısından uzak tutulması sağlanmalıdır.

- Bu çalışmada izole edilen ve bitki büyümesini arttırdığı belirlenen aktinomisetlerden biyogübre preparatları oluşturulmalı, patent/leri alınmalı ve ticari kullanıma sunulurken organik tarım pazarına sunulmalıdır.



Kaynaklar

- Aballay, E., Mårtensson, A., Persson, P. 2011. "Screening of rhizosphere bacteria from grapevine for their suppressive effect on *Xiphinema index* Thorne & Allen on in vitro grape plants". *Plant and Soil*, 347(1–2), 313–325.
- Aballay, E., Ordenes, P., Mårtensson, A., Persson, P. 2012. "Effects of rhizobacteria on parasitism by *Meloidogyne ethiopica* on grapevines". *European Journal of Plant Pathology*, 135(1), 137–145.
- Abd-alla, M. H., Rasmey, A. M. 2013. "Indole-3-acetic acid (IAA) production by *Streptomyces atrovirens* isolated from rhizospheric soil in Egypt". *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3(2), 182–193.
- Abdul Malek, N., Chowdhury, A. J. K., Zainuddin, Z., Zainal Abidin, Z. A. 2014. "Selective Isolation of Actinomycetes from Mangrove Forest of Pahang, Malaysia". *International Conference on Agriculture, Biology and Environmental Sciences (ICABES'14)*, 7–11.
- Ahmad, I., Pichtel, J., Hayat, S. 2007. "*Plant-Bacteria Interactions*".
- Albarracín, V. H., Alonso-Vega, P., Trujillo, M. E., Amoroso, M. J., Abate, C. M. 2010. "*Amycolatopsis tucumanensis* sp. nov., a copper-resistant actinobacterium isolated from polluted sediments". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(2), 397–401.
- Amann, R. I., Binder, B. J., Olson, R. J., Chisholm, S. W., Devereux, R., Stahl, D. A. 1990. "Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations.". *Applied and environmental microbiology*, 56(6), 1919–1925. Tarihinde adresinden erişildi <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2200342><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC184531>
- Ambrosini, A., Passaglia, L. M. P. 2017. "Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB): Isolation and Screening of PGP Activities". *Current protocols in plant biology*, 2(3), 190–209.
- Andreote, F. D., Arau, W. L. De, Azevedo, L. De, Elsas, J. D. Van, Nunes, U., Overbeek, L. S. Van. 2009. "Endophytic Colonization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) by a Novel Competent Bacterial Endophyte, *Pseudomonas putida* Strain P9, and Its Effect on Associated Bacterial Communities". *Applied and Environmental*

- Microbiology, 75(11), 3396–3406.
- Antoun, H., Prévost, D. 2005. "Chapter 1. ECOLOGY OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA". İçinde *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* (ss. 1–38).
- Anwar, S., Ali, B., Sajid, I. 2016. "Screening of rhizospheric actinomycetes for various in-vitro and in-vivo plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds". *Frontiers in Microbiology*, 7(AUG), 1–11.
- Aouar, L., Lerat, S., Ouffroukh, A., Boulahrouf, A., Beaulieu, C. 2012. "Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens". *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34(February 2015), 165–176.
- Arcamone, F., Cassinelli, G., Fantini, G., Grein, A., Orezzi, P., Pol, C., Spalla, C. 1969. "Adriamycin, 14-hydroxydaimomycin, a new antitumor antibiotic from *S. Peucetius* var. *caesius*". *Biotechnology and Bioengineering*, 11(6), 1101–1110.
- Arumugam, T., Senthil Kumar, P., Kameshwar, R., Prapanchana, K. 2017. "Screening of novel actinobacteria and characterization of the potential isolates from mangrove sediment of south coastal India". *Microbial Pathogenesis*.
- Ay, H., Nouioui, I., del Carmen Montero-Calasanz, M., Klenk, H. P., Isik, K., Cetin, D., Sahin, N. 2018. "Streptomyces sediminis sp. nov. isolated from crater lake sediment". *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(4), 493–500.
- Ayoub, A. T. 1999. "Fertilizers and the environment". *Nutrient Cycling in Agroecosystems*.
- Baconguis, R., Peñalba, L., Paunlagui, M. 2012. "Mapping the Innovation System of Biofertilizers : Constraints and Prospects to Enhance Diffusion". *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(9), 1185–1195.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., ... van Wezel, G. P. 2016. "Correction for Barka et al., Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(4), iii–iii.
- Barriuso, J., Solano, B. R., Lucas, J. A., Lobo, A. P., García-villaraco, A., Mañero, F. J. G. 2008. "Ecology , Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)". İçinde *Plant-Bacteria Interactions. Strategies*

- and Techniques to Promote Plant Growth* (ss. 1–17).
- Bashan, Y., De-Bashan, L. E. 2005. "Plant Growth-promoting". İçinde *Encyclopedia of soils in the environment* (C. 1, ss. 103–115).
- Bashan, Yoav, Fort, P. O., Puente, M. E., Hernandez, J., Playa, C., Santa, P. De, Paz, L. 2008. "Environmental uses of plant growth-promoting bacteria". İçinde *Plant-Microbe Interactions* (C. 37, ss. 69–93).
- Bashan, Yoav, Holguin, G. 2002. "Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation". *Trees*, 16(2), 159–166.
- Bashan, Yoav, Kamnev, A. A., de-Bashan, L. E. 2013. "A proposal for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth". *Biology and Fertility of Soils*, 49(1), 1–2.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. P. 2012. "Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents". *Genetics and Molecular Biology*, 35(4), 1044–1051.
- Benidire, L., Pereira, S. I. A., Castro, P. M. L., Boularbah, A. 2016. "Assessment of plant growth promoting bacterial populations in the rhizosphere of metallophytes from the Kettara mine, Marrakech.". *Environmental Science and Pollution Research*, 1–15.
- Benson, D. R., Silvester, W. B. 1993. "Biology of Frankia strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants.". *Microbiological reviews*, 57(June), 293–319.
- Bentley, S. D., Maiwald, M., Murphy, L. D., Pallen, M. J., Yeats, C. A., Dover, L. G., ... Relman, D. A. 2003. "Sequencing and analysis of the genome of the Whipple's disease bacterium *Tropheryma whipplei*". *Lancet*, 361(9358), 637–644.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. 2012. "The rhizosphere microbiome and plant health". *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486.
- Berg, G. 2009. "Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture.". *Applied microbiology and biotechnology*, 84(1), 11–18.
- Berg, G., Krechel, A., Ditz, M., Sikora, R. a, Ulrich, A., Hallmann, J. 2005. "Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi.". *FEMS microbiology ecology*, 51(2), 215–229.
- Bian, J., Li, Y., Wang, J., Song, F. H., Liu, M., Dai, H. Q., ... Zhang, L. X. 2009. "*Amycolatopsis marina* sp. nov., an actinomycete isolated from an ocean sediment".

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59(3), 477–481.
- Biasolo, G. A. D., Kucmanski, D. A., Salamoni, S. P., Gardin, J. P. P., Minotto, E., Baratto, C. M. 2016. "Isolation, Characterization and Selection of Bacteria that Promote Plant Growth in Grapevines (*Vitis* sp.)". Journal of Agricultural Science, 9(1), 184.
- Bister, B., Bischoff, D., Ströbele, M., Riedlinger, J., Reicke, A., Wolter, F., ... Süssmuth, R. D. 2004. "Abyssomicin C—A Polycyclic Antibiotic from a Marine *Verrucospora* Strain as an Inhibitor of the p-Aminobenzoic Acid/Tetrahydrofolate Biosynthesis Pathway". Angewandte Chemie International Edition, 43(19), 2574–2576.
- Bloemberg, G. V., Lugtenberg, B. J. 2001. "Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria.". Current opinion in plant biology, 4, 343–350.
Tarihinde adresinden erişildi <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11418345>
- Bottner, P., Pansu, M., Sallih, Z. 1999. "Modelling the effect of active roots on soil organic matter turnover". Plant and Soil, 216, 15–25.
- Bredholdt, H., Galatenko, O. A., Engelhardt, K., Fjærvik, E., Terekhova, L. P., Zotchev, S. B. 2007. "Rare actinomycete bacteria from the shallow water sediments of the Trondheim fjord, Norway: isolation, diversity and biological activity". Environmental Microbiology, 9(11), 2756–2764.
- Buchholz, F., Antonielli, L., Kostić, T., Sessitsch, A., Mitter, B. 2019. "The bacterial community in potato is recruited from soil and partly inherited across generations". PloS one, 14(11), e0223691.
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., ... Zoppini, A. 2013. "Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions". Soil Biology and Biochemistry, 58, 216–234.
- Buszewski, B., Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., Rafińska, K., Szultka-Mlynska, M., Golinska, P., ... Dahm, H. 2018. "Antimicrobial activity of biosilver nanoparticles produced by a novel *Streptacidiphilus durhamensis* strain". Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 51(1), 45–54.
- Garcia, L. C., Martinez-Molina, E., Trujillo, M. E. 2010. "*Micromonospora pisi* sp. nov., isolated from root nodules of *Pisum sativum*". International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60(2), 331–337.

- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Atasever, A., Kotan, R., Varmazyari, A., Türkyılmaz, K., ... Haznedar, A. 2016. "Development of plant growth-promoting bacteria based bio-formulations using liquid and solid carrier and evaluation of their influence on growth parameters and enzyme activity of tea plants". *Jornal of Central Research Institute for Field Crops*, 25(Special Issue 2), 313–321.
- Camas, M., Sahin, N., Sazak, A., Spröer, C., Klenk, H. P. 2013. "Amycolatopsis magusensis sp. nov., isolated from soil". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART4), 1254–1260.
- Cappuccino, J. G., Sherman, N. 2014. "*Microbiology: A Laboratory Manual, 10th Edition*". *Clinical application*.
- Carberry, P. 2016. "*Plant Growth Promoting Actinobacteria*". (G. Subramaniam, S. Arumugam, & V. Rajendran, Ed.), *Plant Growth Promoting Actinobacteria: A New Avenue for Enhancing the Productivity and Soil Fertility of Grain Legumes*. Singapore: Springer Singapore.
- Carlos, M.-H. J., Stefani, P.-V. Y., Janette, A.-M., Melani, M.-S. S., Gabriela, P.-O. 2016. "Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth-promoting bacteria". *Microbiological Research*, 188–189, 53–61.
- Carlsohn, M. R., Groth, I., Tan, G. Y. A., Schütze, B., Saluz, H. P., Munder, T., ... Goodfellow, M. 2007. "Amycolatopsis saalfeldensis sp. nov., a novel actinomycete isolated from a medieval alum slate mine". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(7), 1640–1646.
- Carvalhais, L. C., Dennis, P. G., Badri, D. V., Tyson, G. W., Vivanco, J. M., Schenk, P. M. 2013. "Activation of the jasmonic acid plant defence pathway alters the composition of rhizosphere bacterial communities.". *PloS one*, 8(2), e56457.
- Cevheri, C. İ., Yılmaz, A. 2016. "Harran Ovası Organik Tarım Koşullarında Üretimi Yapılan Bazı Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Çeşitlerinde Farklı Organik Gübre Uygulamalarının Gün Sayısı ve Gün-Derece Değerlerine Etkisi". *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(2), 82–93.
- Chaiham, M., Chunchaleuchanon, S., Lumyong, S. 2009. "Screening siderophore producing bacteria as potential biological control agent for fungal rice pathogens in Thailand". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(11), 1919–1928.
- Chantavorakit, T., Suksaard, P., Matsumoto, A., Duangmal, K. 2019. "Amycolatopsis suaedae sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from Suaeda maritima roots".

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 69(8), 2591–2596.
- Chanway, C. P., Shishido, M., Nairn, J., Jungwirth, S. 2000. "Endophytic colonization and responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria". *Forest Ecology and Management*, 133, 81–88.
- Chapman, E. J., Estelle, M. 2009. "Mechanism of Auxin-Regulated Gene Expression in Plants". *Annual Review of Genetics*, 43(1), 265–285.
- Chun, J., Youn, H., Yim, Y., Lee, H., Kim, M. I. N. Y. 1997. "Streptomyces seoulensis sp. nov". *Ocean Research*, (23), 492–498.
- Collins, M. D. 1994. "Isoprenoid Quinones". *Chemical Methods in Prokaryotic Systematics*, 265–309.
- Collins, M. D., Pirouz, T., Goodfellow, M., Minnikin, D. E. 1977. "Distribution of menaquinones in actinomycetes and corynebacteria". *Journal of General Microbiology*, 100(2), 221–230.
- Compant, S., Mitter, B., Colli-Mull, J. G., Gangl, H., Sessitsch, A. 2011. "Endophytes of Grapevine Flowers, Berries, and Seeds: Identification of Cultivable Bacteria, Comparison with Other Plant Parts, and Visualization of Niches of Colonization". *Microbial Ecology*, 62(1), 188–197.
- Çon, A. H., Karasu, N. 2009. "Determination of antagonistic starter cultures for pickle and olive fermentation processes". *Czech Journal of Food Sciences*, 27(3), 185–193.
- Crawford, D. L., Lynch, J. M., Whipps, J. M., Ousley, M. a. 1993. "Isolation and characterisation of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen". *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3899–3905. Tarihinde adresinden erişildi <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=182547&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Dede, A. 2013. "*Bitki büyüme düzenleyici bakterilerin karakterizasyonu*".
- Dede, A., Guven, K. 2018. "Apple rhizospheric bacteria: plant growth promoting (PGP) and antagonistic activities". *Journal of Biotechnology*, 280, S47.
- Dede, A., Güven, K. 2015. "Rhizosphere of olive tree: a source of plant growth promoting bacteria". İçinde *Ecology of Soil Microorganisms* (s. 259).
- Dekkers, L. C., Bij, A. J. Van Der, Mulders, I. H. M., Phoelich, C. C., Wentwoord, R. A. R., Glandorf, D. C. M., ... Lugtenberg, B. J. J. 1998. "Role of the O-Antigen of Lipopolysaccharide, and Possible Roles of Growth Rate and of NADH : ubiquinone

- Oxidoreductase (nuo) in Competitive Tomato Root-Tip Colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365". *Molecular plant-microbe interactions : MPMI*, *11*(8), 763–771.
- Demain, A. L. 1999. "Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms". *Applied Microbiology and Biotechnology*, *52*(4), 455–463.
- Dinesh, R., Srinivasan, V., T. E., S., Anandaraj, M., Srmbikkal, H. 2017. "Endophytic actinobacteria: Diversity, secondary metabolism and mechanisms to unsilence biosynthetic gene clusters". *Critical Reviews in Microbiology*, *43*(5), 546–566.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Vande Broek, A., Vanderleyden, J. 1999. "Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat". *Plant and Soil*, *212*(2), 155–164.
- Dodd, I. C., Zinovkina, N. Y., Safronova, V. I., Belimov, a. a. 2010. "Rhizobacterial mediation of plant hormone status". *Annals of Applied Biology*, *157*(3), 361–379.
- El-Tarabily, K. A., Nassar, a. H., Hardy, G. E. S. J., Sivasithamparam, K. 2009. "Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes". *Journal of Applied Microbiology*, *106*, 13–26.
- El-Tarabily, Khaled A., Sivasithamparam, K. 2006. "Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters". *Soil Biology and Biochemistry*, *38*, 1505–1520.
- Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Turan, M., Gunes, A. 2010. "Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry". *Scientia Horticulturae*, *124*(1), 62–66.
- Fayetörbay, D., Çomakli, B., Daşci, M. 2014. "Effects of phosphorus solubilizing bacteria, phosphorus fertilizer and poultry manure treatments on the seed yield and yield components of Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Roth)". *Tarim Bilimleri Dergisi*, *20*(4), 345–357.
- Feng, Y., Shen, D., Song, W. 2006. "Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates". *Journal of Applied Microbiology*, *100*(5), 938–945.
- Fernandez, a I., Fernández, a F., Pérez, M. J., Nieto, T. P., Ellis, a E. 1998. "Siderophore production by *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. Lack of strain specificity". *Diseases of aquatic organisms*, *33*(2), 87–92.

- Ferreira, C. M. H., Soares, H. M. V. M., Soares, E. V. 2019. "Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects". *Science of the Total Environment*, 682, 779–799.
- Flores, M., Ford, E. G., Janda, J. M. 1990. "Value of the O-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside test to differentiate among the aerobic actinomycetes". *Journal of Clinical Microbiology*, 28(9), 2142–2144.
- Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodríguez, M. X., Barea, J. M. 2010. "Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities". *Applied Soil Ecology*, 45(3), 209–217.
- Fukaki, H., Tasaka, M. 2009. "Hormone interactions during lateral root formation.". *Plant molecular biology*, 69(4), 437–449.
- Gadd, G. M., Rhee, Y. J., Stephenson, K., Wei, Z. 2012. "Geomycology: metals, actinides and biominerals". *Environmental Microbiology Reports*, 4(3), 270–296.
- Gamalero, E., Lingua, G., Tombolini, R., Avidano, L., Pivato, B., Berta, G. 2005. "Colonization of tomato root seedling by *Pseudomonas fluorescens* 92 rkG5: spatio-temporal dynamics, localization, organization, viability, and culturability.". *Microbial ecology*, 50(2), 289–297.
- Gao, P., Zheng, X., Wang, L., Liu, B., Zhang, S. 2019. "Changes in the soil bacterial community in a chronosequence of temperate walnut-based intercropping systems". *Forests*, 10(4), 1–14.
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M. C., Seoane, S. 2005. "Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties". *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5), 877–887.
- Girard, G., Traag, B. a, Sangal, V., Mascini, N., Hoskisson, P. a, Goodfellow, M., van Wezel, G. P. 2013. "A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes.". *Open biology*, 3(10), 130073.
- Glick, B. R. 2014. "Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world". *Microbiological Research*, 169(1), 30–39.
- Glockner, F. O., Zaichikov, E., Belkova, N., Denissova, L., Pernthaler, J., Pernthaler, A., Amann, R. 2000. "Comparative 16S rRNA analysis of lake bacterioplankton reveals globally distributed phylogenetic clusters including an abundant group of actinobacteria". *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 5053–5065.

- González, A., Jiménez, A., Vázquez, D., Davies, J. E., Schindler, D. 1978. "Studies on the mode of action of hygromycin B, an inhibitor of translocation in eukaryotes". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis*, 521(2), 459–469.
- Goodfellow, M., Brown, A. B., Cai, J., Chun, J., Collins, M. D. 1997. "*Amycolatopsis japonicum* sp. nov., an actinomycete producing (S,S)-N,N'-ethylenediaminedisuccinic acid". *Systematic and Applied Microbiology*, 20(1), 78–84.
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Sree Vidya, M., Rathore, A. 2013. "Plant growth-promoting activities of *Streptomyces* spp. in sorghum and rice". *SpringerPlus*, 2(1), 574.
- Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., Bandikinda, P., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Rupela, O., ... Varshney, R. K. 2014. "Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice". *Microbiological Research*, 169(1), 40–48.
- Gordon, S. A., Weber, R. P. 1951. "COLORIMETRIC ESTIMATION OF INDOLEACETIC ACID". *Plant Physiology*, 26(1), 192–195.
- Gottlieb, D. 1961. "An evaluation of criteria and procedures used in the description and characterization of the Streptomycetes. A cooperative study.". *Applied microbiology*, 9, 55–65.
- Gram, L. 1996. "The influence of substrate on siderophore production by fish spoilage bacteria". *Journal of Microbiological Methods*, 25, 199–205.
- Gray, E. J., Smith, D. L. 2005. "Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes". *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 395–412.
- Grein, A., Merli, S., Spalla, C. 1980. "New anthracycline glycosides from micromonospora: I. Description of the producing strain". *The Journal of Antibiotics*, 33(12), 1462–1467.
- Guerrero-Molina, M. F., Lovaisa, N. C., Salazar, S. M., Díaz-Ricci, J. C., Pedraza, R. O. 2013. "Elemental composition of strawberry plants inoculated with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* REC3, assessed with scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray analysis.". *Plant biology (Stuttgart, Germany)*.

- Guiwei, Q., De Varennes, A., Cunha-Queda, C. 2008. "Remediation of a mine soil with insoluble polyacrylate polymers enhances soil quality and plant growth". *Soil Use and Management*, 24(4), 350–356.
- Guo, Y. P., Zheng, W., Rong, X. Y., Huang, Y. 2008. "A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: Use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(1), 149–159.
- Güven, K., Dede, A. 2019. "Olive Soil Actinobacteria Isolation and Characterisation". *İçinde II. International Green Biotechnology Congress*.
- Haas, D., Défago, G. 2005. "Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads". *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 307–319.
- Hall, T. A. 1999. "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT". *Nucleic Acids Symposium Series*.
- Hallmann, A. . Q., Benhamou, N., Kloepper, J. W. 1997. "Bacterial endophytes in cotton : mechanisms of entering the plant". *Canadian Journal of Microbiology*, 43, 577–582.
- Hamdali, H., Bouizgarne, B., Hafidi, M., Lebrihi, A., Virolle, M. J., Ouhdouch, Y. 2008a. "Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines". *Applied Soil Ecology*, 38(1), 12–19.
- Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M. J., Ouhdouch, Y. 2008b. "Rock phosphate-solubilizing Actinomycetes: Screening for plant growth-promoting activities". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 2565–2575.
- Hamedi, J., Mohammadipanah, F. 2014. "Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria". *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 42(2), 157–171.
- Harada-Sunao, Akeda-Iluo. 1997. "Gibberellin treatment, technique to promote the growth and the relationship of the production of highly-qualified bearing with the arrangement of current shoots in “Early Steuben” grapes.". *Bulletin of the Yamaguchi Agricultural Experiment Station*.
- Hazen, E. L., Brown, R. 1951. "Fungicidin, an Antibiotic Produced by a Soil Actinomycete". *Experimental Biology and Medicine*, 76(1), 93–97.
- He, Y., Pantigoso, H. A., Wu, Z., Vivanco, J. M. 2019. "Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to

- promote growth, yield and nutrient uptake of tomato". *Journal of Applied Microbiology*, *127*(1), 196–207.
- Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., Wellington, E. M. H. 1997. "Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients". *Applied and Environmental Microbiology*, *63*(8), 3233–3241.
- Hiltner, L. T. 1904. "Über nevere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Boden Bakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundung und Broche". *Arbeit. Deut. Landwirt. Ges.*, *98*, 58–78.
- Hoagland, R. J., Sherwin, J. E., Phillips, J. M. 1984. "Vancomycin: A rapid HPLC assay for a potent antibiotic". *Journal of Analytical Toxicology*.
- Holzberg, M., Artis, W. M. 1983. "Hydroxamate siderophore production by opportunistic and systemic fungal pathogens". *Infection and Immunity*, *40*(3), 1134–1139.
- Hoshino, Y., Mukai, A., Yazawa, K., Uno, J., Ando, A., Mikami, Y., ... Yamaguchi, K. 2004. "Transvalencin A, a Thiazolidine Zinc Complex Antibiotic Produced by a Clinical Isolate of *Nocardia transvalensis*: II. Structure Elucidation". *The Journal of Antibiotics*, *57*(12), 803–807.
- Huang, X.-D., El-Alawi, Y., Penrose, D. M., Glick, B. R., Greenberg, B. M. 2004. "A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils.". *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, *130*(3), 465–476.
- Insam, H. 2001. "Developments in soil microbiology since the mid 1960s". *Geoderma*, *100*, 389–402.
- Isik, K., Gencbay, T., Kocak, F. Ö., Cil, E. 2014. "Molecular identification of different actinomycetes isolated from East Black Sea region plateau soil by 16S rDNA gene sequencing". *African Journal of Microbiology Research*, *8*(9), 878–887.
- Işık, K., Gençbay, T., Topkara, A. R., Sarıcaoğlu, S., Saygın, H., Ay, H., ... Şahin, N. 2018. "*Amycolatopsis cappadoca* sp. nov., isolated from soil". *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, *111*(7), 1175–1182.
- Jensen, P. R., Williams, P. G., Oh, D. C., Zeigler, L., Fenical, W. 2007. "Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*". *Applied and Environmental Microbiology*, *73*(4), 1146–1152.

- Jha, C. K., Patel, B., Saraf, M. 2012. "Stimulation of the growth of *Jatropha curcas* by the plant growth promoting bacterium *Enterobacter cancerogenus* MSA2". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(3), 891–899.
- Jones, D. L., Nguyen, C., Finlay, R. D. 2009. "Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface". *Plant and Soil*, 321(1–2), 5–33.
- Jose, P. A., Jebakumar, S. R. D. 2013. "Phylogenetic appraisal of antagonistic, slow growing actinomycetes isolated from hypersaline inland solar salterns at sambhar salt lake, India". *Frontiers in Microbiology*, 4(JUL), 1–9.
- Joseph, B., Patra, R. R., Lawrence, R. 2007. "Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.)". *International Journal of Plant Production*, 1(2), 141–151.
- Jukes, T. H., Cantor, C. R. 1969. "Evolution of protein molecules". *Mammalian Protein Metabolism*, 21–123.
- Kaewkla, O., Thamchaipinet, A., Milton, C., Franco, M. 2017. "*Micromonospora terminaliae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from the surface-sterilized stem of the medicinal plant *Terminalia mucronata*". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(2), 225–230.
- Kamnev, A. a, Tugarova, A. V, Antonyuk, L. P., Tarantilis, P. a, Polissiou, M. G., Gardiner, P. H. E. 2005. "Effects of heavy metals on plant-associated rhizobacteria: comparison of endophytic and non-endophytic strains of *Azospirillum brasilense*". *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 19(1), 91–95.
- Kang, J. P., Huo, Y., Kim, Y. J., Ahn, J. C., Hurh, J., Yang, D. U., Yang, D. C. 2019. "*Rhizobium panacihumi* sp. nov., an isolate from ginseng-cultivated soil, as a potential plant growth promoting bacterium". *Archives of Microbiology*, 201(1), 99–105.
- Katznelson, H., Cole, S. E. 1965. "Production of gibberellin-like substances by bacteria and actinomycetes". *Canadian Journal of Microbiology*, 11(4), 733–741.
- Kaur, T., Sharma, D., Kaur, A., Manhas, R. K. 2013. "Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil actinomycetes". *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 46(February 2015), 1756–1768.
- Kavitha, a, Vijayalakshmi, M., Sudhakar, P., Narasimha, G. 2010. "Screening of Actinomycete strains for the production of antifungal metabolites". *African Journal*

- of Microbiology Research, 4(January), 27–32.
- Kazanas, N. 1968. "Proteolytic activity of microorganisms isolated from freshwater fish.". *Applied microbiology*, 16(1), 128–132.
- Kearns, P. J., Fischer, S., Fernández-Beaskoetxea, S., Gabor, C. R., Bosch, J., Bowen, J. L., ... Woodhams, D. C. 2017. "Fight Fungi with Fungi: Antifungal Properties of the Amphibian Mycobiome". *Frontiers in Microbiology*, 8(DEC).
- Kelly, K. 1958. "Central Notations for the Revised ISCC-NBS Color-Name Blocks". *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 61(5), 427–431.
- Khamna, S., Yokota, A., Lumyong, S. 2009. "Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: Diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 649–655.
- Kim, O.-S., Cho, Y.-J., Lee, K., Yoon, S.-H., Kim, M., Na, H., ... Chun, J. 2012. "Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species". *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY*, 62(Pt 3), 716–721.
- Klappenbach, J. A., Goris, J., Vandamme, P., Coenye, T., Konstantinidis, K. T., Tiedje, J. M. 2007. "DNA–DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(1), 81–91.
- Kloepper, J., Schroth, M. . 1978. "Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. IV international conference on plant pathogenic bacteria Article". *Fourth International Conference on Plant Pathogen Bacteria, Angers, France*, 2(1), 879–882.
- Knowles, C. J. 1976. "Microorganisms and cyanide". *Bacteriological reviews*, 40(3), 652–680.
- Kominek, L. A. 1972. "Biosynthesis of novobiocin by *Streptomyces niveus*". *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1(2), 123–134.
- Kramer, K. J., Muthukrishnan, S. 1997. "Insect chitinases: Molecular biology and potential use as biopesticides". *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 27(11), 887–900.
- Kroppenstedt, R. M., Goodfellow, M. 2006. "The Family Thermomonosporaceae: Actinocorallia, Actinomadura, Spirillospora and Thermomonospora". İçinde *The Prokaryotes* (ss. 682–724). New York, NY: Springer New York.

- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. 2016. "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets". *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874.
- Kunoh, H. 2002. "Endophytic Actinomycetes: Attractive Biocontrol Agents". *Journal of General Plant Pathology*, 68, 249–252.
- Lechevalier, H. A., Lechevalier, M. P., Gerber, N. N. 1971. "Chemical Composition as a Criterion in the Classification of Actinomycetes". İçinde *Internationa Journal of Systematic Bacteriology* (C. 12, ss. 47–72).
- Lechevalier, M. P., Lechevalier, H. 1970. "Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 20(4), 435–443.
- Lechevalier, M. P., Lechevalier, H., Hora, A. C. 1973. "Chemical characteristics and classification of nocardiae". *Canadian Journal of Microbiology*, 19(8), 965–972.
- Lechevalier, M. P., Prauser, H., Labeda, D. P., Ruan, J.-S. 2009. "Two New Genera of Nocardioform Actinomycetes: Amycolata gen. nov. and Amycolatopsis gen. nov.". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36(1), 29–37.
- Lee, J. I., Karube, I. 1996. "Development of a biosensor for gaseous cyanide in solution". *Biosensors and Bioelectronics*, 11(11), 1147–1154.
- Lee, S. D. 2006. "Amycolatopsis jejuensis sp. nov. and Amycolatopsis halotolerans sp. nov., novel actinomycetes isolated from a natural cave". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(3), 549–553.
- Letunic, I., Bork, P. 2019. "Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments". *Nucleic acids research*, 47(W1), W256–W259.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., Jiang, C. 2016. "Morphological Identification of Actinobacteria". İçinde *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*.
- Li, Y., Li, Y., Li, Q., Gao, J., Wang, J., Luo, Y., ... Gu, P. 2018. "Biosynthetic and antimicrobial potential of actinobacteria isolated from bulrush rhizospheres habitat in Zhalong Wetland, China". *Archives of Microbiology*, 200(5), 695–705.
- Ligon, J. M., Hill, D. S., Hammer, P. E., Torkewitz, N. R., Hofmann, D., Kempf, H., Pe, K. Van. 2000. "Natural products with antifungal activity from *Pseudomonas* biocontrol bacteria". *Pest Management Science*, 56, 688–695.
- Linke, H. A. B., Mechliniski, W., Schaffner, C. P. 1974. "Production of amphotericin B-14C by streptomyces nodosus fermentation, and preparation of the amphotericin B-

- 14C-methyl-ester". *The Journal of Antibiotics*, 27(3), 155–160.
- Lorck, H. 1948. "Production of Hydrocyanic Acid by Bacteria". *Physiologia Plantarum*, 1(2), 142–146.
- Lugtenberg, B., Kamilova, F. 2009. "Plant-growth-promoting rhizobacteria.". *Annual review of microbiology*, 63(c), 541–556.
- Ma, G. Q., Xia, Z. F., Wan, C. X., Zhang, Y., Luo, X. X., Zhang, L. L. 2017. "Streptomyces kalpinensis sp. nov., an actinomycete isolated from a salt water beach". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(12), 4892–4896.
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M., Freitas, H. 2011. "Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils". *Biotechnology Advances*, 29(2), 248–258.
- Ma, Ying, Rajkumar, M., Freitas, H. 2009. "Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by Brassica spp.". *Chemosphere*, 75(6), 719–725.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, M. W., Stahl, D. A. 2018. "*Brock Biology of Microorganisms*".
- Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung De Capriles, C., Perez, C., Colella, M. T., Olaizola, C., Ontiveros, Y. 2004. "Well diffusion for antifungal susceptibility testing". *International Journal of Infectious Diseases*.
- Mahdi, S. S., Hassan, G. I., Samoon, S. a., Rather, H. a., Dar, S. a., Zehra, B. 2010. "Bio-Fertilizers In Organic Agriculture". *Journal of Phytology*.
- Majumdar, D., Gupta, N. 2000. "Nitrate pollution of groundwater and associated human health disorders". *Indian Journal of Environmental Health*, 42(1), 28–39.
- Mangamuri, U. K., Vijayalakshmi Muvva, V., Poda, S., Kamma, S. 2012. "Isolation, Identification and Molecular Characterization of Rare Actinomycetes from Mangrove Ecosystem of Nizampatnam". *Malaysian Journal of Microbiology*.
- Manivasagan, P., Gnanam, S., Sivakumar, K., Thangaradjou, T., Vijayalakshmi, S. 2010. "Isolation, identification and characterization of multiple enzyme producing actinobacteria from sediment samples of Kodyakarai coast, the Bay of Bengal". *African Journal of Microbiology Research*, 4(14), 1550–1559.
- Martínez-Hidalgo, P., García, J. M., Pozo, M. J. 2015. "Induced systemic resistance against *Botrytis cinerea* by *Micromonospora* strains isolated from root nodules".

- Frontiers in Microbiology, 6(SEP), 1–11.
- Matsumoto, N., Inuma, H., Sawa, T., Takeuchi, T., Hirano, S. I., Yoshioka, T., Ishizuka, M. 1997. "Epoxyquinomicins A, B, C and D, new antibiotics from amycolatopsis II. Effect on type II collagen-induced arthritis in mice". *Journal of Antibiotics*, 50(11), 906–911.
- Matsuoka, M., Yagishita, K., Umezawa, H. 1953. "Studies on the intermediate metabolism of chloramphenicol production". *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 6(2), 161–169.
- Mertz, F. P., Yao, R. C. 1993. "Amycolatopsis alba sp. nov., Isolated from Soil". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43(4), 715–720.
- Miao, G., Zhu, C., Feng, J., Han, L., Zhang, X. 2014. "Effects of Plant Stress Signal Molecules on the Production of Wilforgine in an Endophytic Actinomycete Isolated from *Tripterygium wilfordii* Hook.f.". *Current Microbiology*, 70, 571–579.
- Miao, Q., Qin, S., Bian, G.-K., Yuan, B., Xing, K., Zhang, Y.-J., ... Jiang, J.-H. 2011. "Amycolatopsis endophytica sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from oil-seed plant *Jatropha curcas* L.". *Antonie van Leeuwenhoek*, 100(3), 333–339.
- Miller, T. W., Chalet, L., Cole, D. J., Cole, L. J., Flor, J. E., Goegelman, R. T., ... Putter, I. 1979. "Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Isolation and chromatographic properties". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 15(3), 368–371.
- Minnikin, D. E., O'Donnell, A. G., Goodfellow, M., Alderson, G., Athalye, M., Schaal, A., Parlett, J. H. 1984. "An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids". *Journal of Microbiological Methods*, 2(5), 233–241.
- Mirza, M. S., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Malik, K. A. 2001. "Isolation , partial characterization , and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro". *Plant and Soil*, 237, 47–54.
- Mishra, D., Rajvir, S., Mishra, U., Kumar, S. 2013. "Role of Bio-Fertilizer in Organic Agriculture: A Review". *Research Journal of Recent ...*, 2(2013), 39–41. Tarihinde adresinden erişildi http://isca.in/rjrs/archive/special_issue2012/8.ISCA-ISC-2012-1AFS-32.pdf
- Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Antonova-nikolova, S.,

- Bogatzevska, N. 2002. "Characteristics of Soil Actinomycetes From Antarctica". *Journal of Culture Collections*, 3, 3–14.
- Müller, H., Berg, C., Landa, B. B., Auerbach, A., Moissl-Eichinger, C., Berg, G. 2015. "Plant genotype-specific archaeal and bacterial endophytes but similar *Bacillus* antagonists colonize Mediterranean olive trees". *Frontiers in Microbiology*, 6(MAR), 1–9.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Ashraf, M. 2010. "Microbial ACC-Deaminase: Prospects and Applications for Inducing Salt Tolerance in Plants". *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(6), 360–393.
- Nagarajkumar, M., Bhaskaran, R., Velazhahan, R. 2004. "Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen". *Microbiological Research*, 159(1), 73–81.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G. 2003. "Microbial diversity and soil functions". *European Journal of Soil Science*, 54, 655–670.
- Narang, R., Narang, P., Mendiratta, D. 2009. "Isolation and identification of nontuberculous mycobacteria from water and soil in central India". *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27(3), 247.
- Nautiyal, C. S. 1999. "An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms". *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265–270.
- Nie, G. X., Ming, H., Li, S., Zhou, E. M., Cheng, J., Tang, X., ... Li, W. J. 2012. "*Amycolatopsis dongchuanensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from soil". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(11), 2650–2656.
- Nimnoi, P., Pongsilp, N., Lumyong, S. 2010. "Endophytic actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 193–203.
- Nithya, K., Muthukumar, C., Biswas, B., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M., Dhanasekaran, D. 2018. "Desert actinobacteria as a source of bioactive compounds production with a special emphases on Pyridine-2,5-diacetamide a new pyridine alkaloid produced by *Streptomyces* sp. DA3-7". *Microbiological Research*,

- 207(October 2017), 116–133.
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., ... Göker, M. 2018. "Genome-based taxonomic classification of the phylum actinobacteria". *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1–119.
- Olander, L. P., Vitousek, P. M. 2000. "Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability". *Biogeochemistry*, 49(2), 175–190.
- Oubaha, B., Nafis, A., Baz, M., Mauch, F., Barakate, M. 2019. "The potential of antagonistic moroccan *Streptomyces* isolates for the biological control of damping-off disease of pea (*Pisum sativum* L.) caused by *Aphanomyces euteiches*". *Journal of Phytopathology*, 167(2), 82–90.
- Özdemir Koçak, F. 2019. "Identification of *Streptomyces* strains isolated from *Humulus lupulus* rhizosphere and determination of plant growth promotion potential of selected strains". *TURKISH JOURNAL OF BIOLOGY*, 43(6), 391–403.
- Ozyilmaz, U., Benlioglu, K. 2013. "Enhanced Biological Control of Phytophthora Blight of Pepper by Biosurfactant-Producing *Pseudomonas*". *The Plant Pathology Journal*, 29(4), 418–426.
- Panarin, E. F., Solovskii, M. V. 1967. "Acid hydrolysis of benzylpenicillin anilides". *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1(2), 72–74.
- Parks, D. H., Chuvochina, M., Waite, D. W., Rinke, C., Skarshewski, A., Chaumeil, P. A., Hugenholtz, P. 2018. "A standardized bacterial taxonomy based on genome phylogeny substantially revises the tree of life". *Nature Biotechnology*, 36(10), 996.
- Patten, C. L., Glick, B. R. 2002. "Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System". *Applied and environmental microbiology*, 68(8), 3795–3801.
- Pearson, J., Stewart, G. R. 1993. "The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants". *New Phytologist*, 125(2), 283–305.
- Peredo, E. L., Simmons, S. L. 2018. "Leaf-FISH: Microscale imaging of bacterial taxa on phyllosphere". *Frontiers in Microbiology*, 8(JAN), 1–14.
- Pham, N. T., Meier-Dinkel, A., Höltken, A. M., Quambusch, M., Mahnkopp, F., Winkelmann, T. 2017. "Endophytic bacterial communities in in vitro shoot cultures derived from embryonic tissue of hybrid walnut (*Juglans × intermedia*)". *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 130(1), 153–165.
- Pikovskaya, R. I. 1948. "Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital

- activity of some microbial species". *Microbiology*, 7, 362–370.
- Pollex, A., Millet, A., Müller, J., Hiersemann, H., Abraham, L. 2006. "Synthesis of Viridifungin A". *Synfacts*, 2006(01), 0011–0011.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C., Mongkolsuk, S. 2008. "Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi". *International Journal of Biological Sciences*, 4(5), 330–337.
- Princely, S., Saleem Basha, N., Kirubakaran, J. J., Dhanaraju, M. D. 2013. "Biochemical characterization, partial purification, and production of an intracellular beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus* grown in whey". *European Journal of Experimental Biology*.
- Purushotham, N., Jones, E., Monk, J., Ridgway, H. 2018. "Community Structure of Endophytic Actinobacteria in a New Zealand Native Medicinal Plant *Pseudowintera colorata* (Horopito) and Their Influence on Plant Growth". *Microbial Ecology*, 1–12.
- Qin, S., Chen, H. H., Klenk, H. P., Kim, C. J., Xu, L. H., Li, W. J. 2010. "*Saccharopolyspora gloriosae* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the stem of *Gloriosa superba* L.". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(5), 1147–1151.
- Qin, S., Miao, Q., Feng, W. W., Wang, Y., Zhu, X., Xing, K., Jiang, J. H. 2015. "Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil". *Applied Soil Ecology*, 93, 47–55.
- Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M. N. V., Freitas, H. 2010. "Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction". *Trends in Biotechnology*, 28(3), 142–149.
- Ramakrishna, W., Yadav, R., Li, K. 2019. "Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin". *Applied Soil Ecology*, 138(February), 10–18.
- Rangjaroen, C., Rerkasem, B., Teaumroong, N., Noisangiam, R., Lumyong, S. 2014. "Promoting plant growth in a commercial rice cultivar by endophytic diazotrophic bacteria isolated from rice landraces". *Annals of Microbiology*, 1–14.
- Rehbar, S., Batool, R. 2017. "Protease production by *Brevundimonas* sp. and *Trabulsiella guamensis* isolated from contaminated soil". *Rendiconti Lincei*, 28(3), 529–534.
- Rillinga, J. I., Acuña, J. A., Nannipierid, P., Cassane, F., Maruyamac, F., Jorquerab, M.

- A. 2019. "Current opinion on methods and perspectives for tracking and monitoring plant growth-promoting bacteria". *Soil Biology and Biochemistry*, *130*(January 2018), 205–219.
- Rincón, B., Raposo, F., Borja, R., Gonzalez, J. M., Portillo, M. C., Saiz-Jimenez, C. 2006. "Performance and microbial communities of a continuous stirred tank anaerobic reactor treating two-phases olive mill solid wastes at low organic loading rates". *Journal of Biotechnology*, *121*(4), 534–543.
- Roberts, W. K., Selitrennikoff, C. P. 1988. "Plant and Bacterial Chitinases Differ in Antifungal Activity". *Microbiology*, *134*(1), 169–176.
- Rodríguez, H., Fraga, R. 1999. "Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion.". *Biotechnology advances*, *17*(4–5), 319–339. Tarihinde adresinden erişildi <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14538133>
- Rosenblueth, M., Martínez-Romero, E. 2006. "Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *19*(8), 827–837.
- Saatchi, S., Houghton, R. A., Dos Santos Alvalá, R. C., Soares, J. V., Yu, Y. 2007. "Distribution of aboveground live biomass in the Amazon basin". *Global Change Biology*, *13*(4), 816–837.
- Saikia, J., Sarma, R. K., Dhandia, R., Yadav, A., Bharali, R., Gupta, V. K., Saikia, R. 2018. "Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of Northeast India". *Scientific Reports*, *8*(1), 3560.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Glick, B. R. 2016. "Plant growth-promoting bacterial endophytes". *Microbiological Research*, *183*, 92–99.
- Sardi, P., Saracchi, M., Quaroni, S., Petrolini, B., Borgonovi, G. E., Merli, S. 1992. "Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots". *Applied and Environmental Microbiology*, *58*(8), 2691–2693.
- Sarkar, A., Ghosh, P. K., Pramanik, K., Mitra, S., Soren, T., Pandey, S., ... Maiti, T. K. 2018. "A halotolerant *Enterobacter* sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress". *Research in Microbiology*, *169*(1), 20–32.
- Sasser, M. 2001. "Identification of Bacteria by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids", (February), 1–6.
- Saxena, A., Upadhyay, R., Kumar, D., Kango, N. 2013. "Isolation, antifungal activity and

- characterization of soil actinomycetes". *Journal of Scientific and Industrial Research*, 72(August), 491–497.
- Schlaeppli, K., Bulgarelli, D. 2015. "The Plant Microbiome at Work". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(3), 212–217.
- Schlatter, D. C., Reardon, C. L., Johnson-Maynard, J., Brooks, E., Kahl, K., Norby, J., ... Paulitz, T. C. 2019. "Mining the drilosphere: Bacterial communities and denitrifier abundance in a No-till wheat cropping system". *Frontiers in Microbiology*, 10(JUN), 1–13.
- Schnürer, J., Magnusson, J. 2005. "Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives". *Trends in Food Science & Technology*, 16(1–3), 70–78.
- Schwyn, B., Neilands, J. B. 1987. "Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores". *Analytical Biochemistry*, 160(1), 47–56.
- Sessitsch, A., Reiter, B., Berg, G. 2004. "Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities". *Canadian Journal of Microbiology*, 50, 239–249.
- Sgroy, V., Cassán, F., Masciarelli, O., Del Papa, M. F., Lagares, A., Luna, V. 2009. "Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*". *Applied microbiology and biotechnology*, 85(2), 371–381.
- Shanmugaiah, V., Nithya, K., Harikrishnan, H., Jayaprakashvel, M., Balasubramanian, N. 2015. "Biocontrol Mechanisms of Siderophores against Bacterial Plant Pathogens". İçinde *Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria* (ss. 167–190). CRC Press.
- Sharma, P., Kalita, M. C., Thakur, D. 2016. "Broad spectrum antimicrobial activity of forest-derived soil actinomycete, *Nocardia* sp. PB-52". *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–17.
- Shimizu, M. 2011. "Endophytic Actinomycetes: Biocontrol Agents and Growth Promoters". İçinde D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses* (ss. 201–220). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Shimizu, M., Nakagawa, Y., Sat, Y., Furumai, T., Igarashi, Y., Onaka, H., ... Kunoh, H. 2000. "Studies on Endophytic Actinomycetes (I) *Streptomyces* sp . Isolated from *Rhododendron* and Its Antifungal Activity ?". *Journal of General Plant Pathology*, 66(1), 360–366.

- Shirling, E. B., Gottlieb, D. 1966. "Methods for characterization of *Streptomyces* species". *International Journal of Systematic Bacteriology*, *16*(3), 313–340.
- Şimşek, M. 2016. "Türkiye’de ceviz (*Juglans regia* L.) üretimi ve yapılan seleksiyon çalışmaları konusunda bir araştırma". *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *5*(1), 19–25.
- Singh, J. S., Pandey, V. C., Singh, D. P. 2011. "Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development". *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *140*(3–4), 339–353.
- Singleton, D. R., Furlong, M. A., Rathbun, S. L., Whitman, W. B. 2001. "Quantitative Comparisons of 16S rRNA Gene Sequence Libraries from Environmental Samples". *Applied and environmental microbiology*, *67*(9), 4374–4376.
- Srivastava, D., Waters, C. M. 2012. "A tangled web: regulatory connections between quorum sensing and cyclic Di-GMP.". *Journal of bacteriology*, *194*(17), 4485–4493.
- Staneck, J. L., Roberts, G. D. 1974. "Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography.". *Applied microbiology*, *28*(2), 226–231. Tarihinde adresinden erişildi <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4605116>
- Steenhoudt, O., Vanderleyden, J. 2000. "Azospirillum , a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects". *FEMS Microbiology Reviews*, *24*(4), 487–506.
- Strader, L. C., Monroe-Augustus, M., Bartel, B. 2008. "The IBR5 phosphatase promotes Arabidopsis auxin responses through a novel mechanism distinct from TIR1-mediated repressor degradation". *BMC Plant Biology*, *8*, 1–15.
- Swarup, R., Perry, P., Hagenbeek, D., Van Der Straeten, D., Beemster, G. T. S., Sandberg, G., ... Bennett, M. J. 2007. "Ethylene upregulates auxin biosynthesis in Arabidopsis seedlings to enhance inhibition of root cell elongation.". *The Plant cell*, *19*(7), 2186–2196.
- Taechowisan, T., Peberdy, J. F., Lumyong, S. 2003. "Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *19*, 381–385.
- Také, A., Inahashi, Y., Ōmura, S., Takahashi, Y., Matsumoto, A. 2018. "*Streptomyces boninensis* sp. Nov., isolated from soil from a limestone cave in the Ogasawara islands". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *68*(5), 1795–1799.

- Takizawa, M., Colwell, R. R., Hill, R. T. 1993. "Isolation and diversity of actinomycetes in the Chesapeake Bay". *Applied and Environmental Microbiology*, 59(4), 997–1002.
- Tallapragada, P., Seshachala, U. 2012. "Phosphate-solubilizing microbes and their occurrence in the rhizospheres of Piper betel in Karnataka , India". *Turk J Biol*, 36, 25–35.
- Tan, G. Y. A., Robinson, S., Lacey, E., Brown, R., Kim, W., Goodfellow, M. 2007. "Amycolatopsis regifaucium sp. nov., a novel actinomycete that produces kigamicins". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(11), 2562–2567.
- Tan, H. M., Cao, L. X., He, Z. F., Su, G. J., Lin, B., Zhou, S. N. 2006. "Isolation of endophytic actinomycetes from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum* in vitro". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 1275–1280.
- Tang, S. K., Wang, Y., Guan, T. W., Lee, J. C., Kim, C. J., Li, W. J. 2010. "Amycolatopsis halophila sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a salt lake". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(5), 1073–1078.
- Tanimoto, E., Igari, M. 1976. "Correlation, between β -galactosidase and auxin-induced elongation growth in etiolated pea stems". *Plant and Cell Physiology*, 17(4), 673–682.
- Tatar, D., Sazak, A., Guven, K., Cetin, D., Sahin, N. 2013. "Amycolatopsis cihanbeyliensis sp. nov., a halotolerant actinomycete isolated from a salt mine". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART10), 3739–3743.
- Tchuisseu Tchakounté, G. V., Berger, B., Patz, S., Fankem, H., Ruppel, S. 2018. "Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil". *Microbiological Research*, 214(January), 47–59.
- Tejada, M., Hernandez, M. T., Garcia, C. 2006. "Application of two organic amendments on soil restoration: Effects on the soil biological properties". *Journal of Environmental Quality*, 35(4), 1010–1017.
- Thawai, C. 2015. "Micromonospora costi sp. nov., isolated from a leaf of *Costus speciosus*". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(Pt 5), 1456–1461.

- Tien, T. M., Gaskins, M. H., Hubbell, D. H. 1979. "Plant Growth Substances Produced by *Azospirillum brasilense* and Their Effect on the Growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.)". *Applied and environmental microbiology*, 37(5), 1016–1024.
- Timilsina, S., Minsavage, G. V., Preston, J., Newberry, E. A., Paret, M. L., Goss, E. M., ... Vallad, G. E. 2018. "*Pseudomonas floridensis* sp. nov., a bacterial pathogen isolated from tomato". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(1), 64–70.
- Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., Tillberg, E. 1999. "Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*". *Soil Biology and Biochemistry*, 31(13), 1847–1852.
- Tindall, B. J. 1990. "Lipid composition of *Halobacterium lacusprofundi*". *FEMS Microbiology Letters*, 66(1–3), 199–202.
- Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Y., Cherdyntseva, T. A., Netrusov, A. I. 2006. "Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review". *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42(3), 229–235.
- Tunalı, B., Özyazıcı, G., Pekşen, A. 2016. "Changes in soil mycobiota in response to previous crop and organic fertilizer applications in organic tomato cultivation". *Anadolu Journal of Agricultural Sciences*, 31(2), 207–207.
- Venturi, V., Fuqua, C. 2013. "Chemical signaling between plants and plant-pathogenic bacteria". *Annual review of phytopathology*, 51, 17–37.
- Veyisoglu, A., Carro, L., Cetin, D., Guven, K., Spröer, C., Pötter, G., ... Goodfellow, M. 2016. "*Micromonospora profundus* sp. nov., isolated from deep marine sediment". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(11), 4735–4743.
- Viaene, T., Langendries, S., Beirinckx, S., Maes, M., Goormachtig, S. 2016. "Streptomyces as a plant's best friend?". *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8), 1–10.
- Vigani, G., Rolli, E., Marasco, R., Dell'Orto, M., Michoud, G., Soussi, A., ... Daffonchio, D. 2018. "Root bacterial endophytes confer drought resistance and enhance expression and activity of a vacuolar H⁺-pumping pyrophosphatase in pepper plants". *Environmental Microbiology*, 00.
- Von Neubeck, M., Huptas, C., Glück, C., Krewinkel, M., Stoeckel, M., Stressler, T., ... Wenning, M. 2017. "*Pseudomonas lactis* sp. nov. and *Pseudomonas paralactis* sp. nov., isolated from bovine raw milk". *International Journal of Systematic and*

- Evolutionary Microbiology, 67(6), 1656–1664.
- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., Stefani, E. 2018. "Plant growth promoting and biocontrol activity of streptomyces spp. As endophytes". International Journal of Molecular Sciences, 19(4).
- Waksman, S. A., Woodruff, H. B. 1940. "Bacteriostatic and Bactericidal Substances Produced by a Soil Actinomyces". Experimental Biology and Medicine, 45(2), 609–614.
- Waksman, Selman A. 1940. "On the Classification of Actinomycetes". Journal of bacteriology, 39(5), 549–558.
- Waksman, Selman A., Henrici, A. T. 1943. "The nomenclature and classification of the actinomycetes". Journal of the American Medical Association, XXIV(12), 337–341.
- Wang, Y., Jiang, Y. 2016. "Chemotaxonomy of Actinobacteria". İçinde *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. InTech.
- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., Schmulling, T. 2001. "Regulation of plant growth by cytokinin". Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(18), 10487–10492.
- Weyens, N., Lelie, D. Van Der, Taghavi, S. 2009. "Phytoremediation : plant – endophyte partnerships take the challenge". Current Opinion in Biotechnology, 20, 248–254.
- Whitman, W., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M., Ludwig, W., ... Parte, A. 2012. "Road map of the phylum Actinobacteria". Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (2001), 1–28.
- Williams, S. T., Davies, F. L. 1965. "Use of Antibiotics for Selective Isolation and Enumeration of Actinomycetes in Soil.". Journal of general microbiology, 38(1965), 251–261.
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M., Sneath, P. H., Sackin, M. J. 1983. "Numerical classification of Streptomyces and related genera". Journal of General Microbiology, 129(6), 1743–1813.
- Wink, J., Gandhi, J., Kroppenstedt, R. M., Seibert, G., Sträubler, B., Schumann, P., Stackebrandt, E. 2004. "Amycolatopsis decaplanina sp. nov., a novel member of the genus with unusual morphology". International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54(1), 235–239.
- Woodward, A. W., Bartel, B. 2005. "Auxin: regulation, action, and interaction.". Annals of botany, 95(5), 707–735.

- Woong, K. J., Chang, H. K. 2019. "Bacillus velezensis strain having nitrogen fixing ability and plant growth promoting ability and uses thereof".
- Xing, K., Liu, W., Zhang, Y.-J., Bian, G.-K., Zhang, W.-D., Tamura, T., ... Jiang, J.-H. 2013. "Amycolatopsis jiangsuensis sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from a coastal plant in Jiangsu, China". *Antonie van Leeuwenhoek*, *103*(2), 433–439.
- Xu, L., Meng, W., Cao, C., Wang, J., Shan, W., Wang, Q. 2015. "Antibacterial and Antifungal Compounds from Marine Fungi". *Marine Drugs*, *13*(6), 3479–3513.
- Xu, M., Sheng, J., Chen, L., Men, Y., Gan, L., Guo, S., Shen, L. 2014. "Bacterial community compositions of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds and plant growth promoting activity of ACC deaminase producing *Bacillus subtilis* (HYT-12-1) on tomato seedlings". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *30*(3), 835–845.
- Yang, N., Song, F. 2018. "Bioprospecting of Novel and Bioactive Compounds from Marine Actinomycetes Isolated from South China Sea Sediments". *Current Microbiology*, *75*(2), 142–149.
- Yanni, Y. G., Rizk, R. Y., Corich, V., Squartini, A., Ninke, K., Orgambide, G., ... Dazzo, F. B. 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.
- Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., Chun, J. 2017. "Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *67*(5), 1613–1617.
- Yuan, J., Ruan, Y., Wang, B., Zhang, J., Waseem, R., Huang, Q., Shen, Q. 2013. "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Strain *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6-Enriched Bio-organic Fertilizer Suppressed Fusarium Wilt and Promoted the Growth of Banana Plants.". *Journal of agricultural and food chemistry*, *61*(16), 3774–3780.
- Zhang, Y. L., Li, S., Jiang, D. H., Kong, L. C., Zhang, P. H., Xu, J. D. 2013. "Antifungal activities of metabolites produced by a termite-associated *Streptomyces canus* BYB02". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(7), 1521–1524.
- Zhao, G. Z., Li, J., Qin, S., Huang, H. Y., Zhu, W. Y., Xu, L. H., Li, W. J. 2010.

- "*Streptomyces artemisiae* sp. nov., isolated from surface-sterilized tissue of *artemisia annua* L". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *60*(1), 27–32.
- Zhao, K., Penttinen, P., Guan, T., Xiao, J., Chen, Q., Xu, J., ... Strobel, G. a. 2011. "The diversity and anti-microbial activity of endophytic actinomycetes isolated from medicinal plants in Panxi Plateau, China". *Current Microbiology*, *62*, 182–190.
- Zhao, P., Xia, W., Lei, C., Omer, S. H. S., Zhang, X., Zhuang, Y., Chen, S. 2016. "Isolation, identification and physiological activity of endophytes from the roots of *vitis vinifera*". *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, *8*(6), 532–538.
- Zheng, J., Feng, J. Q., Zhou, L., Mbadanga, S. M., Gu, J. D., Mu, B. Z. 2018. "Characterization of bacterial composition and diversity in a long-term petroleum contaminated soil and isolation of high-efficiency alkane-degrading strains using an improved medium". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.
- Zhou, Z. H., Kim, S. B., Minnikin, D. E., Goodfellow, M., Mattinson-Rose, A. D., Whitehead, D. 2015. "*Amycolatopsis sacchari* sp. nov., a moderately thermophilic actinomycete isolated from vegetable matter.". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *51*(1), 187–193.
- Zhu, H., Swierstra, J., Wu, C., Girard, G., Choi, Y. H., van Wamel, W., ... van Wezel, G. P. 2014. "Eliciting antibiotics active against the ESKAPE pathogens in a collection of actinomycetes isolated from mountain soils". *Microbiology*, *160*(8), 1714–1725.

EKLER

Ek 1. API ZYM testi sonuçları

Organizma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Z164	Mor	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
EA2	Mor	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Z117	Mor	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
Z115	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-
Z74	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Z34	Mor/ Kahve	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
C71	Sarı	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
C42	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
Z131	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Z118	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
EA27	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-
EA14	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Z164	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
C179	Mor	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
EA12	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
EA11	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Z21	Mor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Z168	Turuncu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
EA24	Mor	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-

1) Kontrol- üreme sonrası numune rengi, 2) Alkalin fosfataz, 3) Esteraz (C 4), 4) Esteraz lipaz (C 8), 5) Lipaz (C 14), 6) Lösin arilamidaz, 7) Valin arilamidaz, 8) Sistin arilamidaz, 9) Tripsin, 10) D-Kımotripsin, 11) Asit fosfataz, 12) Naaftol-AS-BI-fosfohidrolaz, 13) D-galaktozidaz, 14) β -galaktozidaz, 15) β -glukuronidaz, 16) D-glukazidaz, 17) β -glikozidaz, 18) N-asetil- β -glukoaminidaz, 19) D-mannoizidaz, 20) D-fukoizidaz. += pozitif, -= negatif sonuçları göstermektedir.

Ek 2. API 20E testi sonuçları

Organizma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Z164	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Z74	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Z115	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EA14	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Z117	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
C179	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Z168	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Z21	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Z34	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
C42	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Z118	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
EA24	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Z.131	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C71	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
EA12	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EA11	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EA27	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: ONPG, 2: ADH, 3: LDC, 4: ODC, 5: CIT, 6: H2S, 7: URE, 8: TDA, 9: IND, 10: VP, 11:GEL, 12: GLU, 13:MAN, 14: INO, 15:SOR, 16: RHA, 17: SAC, 18: MEL, 19: AMY, 20: ARA, 21: OX, 22: N2O. (+) işareti pozitif değerleri, (-) işareti ise negatif değerleri göstermektedir.

Ek 3. Çalışmada kullanılan organizmaların 16S rRNA bölgelerini dizileri ve en yakın akrabaları

Örnek adı	NCBI erişim numarası	En yakın akraba tür	Baz farklılığı
Z168	MH175493	<i>Micromonospora globbae</i>	1
Z167	MN907696	<i>Streptomyces canus</i>	6
Z132	MN907697	<i>Streptomyces curacoi</i>	9
Z131	MH175492	<i>Streptomyces curacoi</i>	10
Z129	MN907698	<i>Streptomyces galilaeus</i>	0
Z118	MH175476	<i>Streptomyces canarius</i>	6
Z117	MH175211	<i>Streptomyces canarius</i>	11
Z115	MH175209	<i>Streptomyces pseudovenezuelae</i>	11
Z111	MN907699	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	4
Z109	MN907700	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	2
Z98	MN907701	<i>Streptomyces regensis</i>	5
Z89	MN907702	<i>Streptomyces fulvissimus</i>	1
Z87	MN907703	<i>Streptomyces pratensis</i>	10
Z86	MN907704	<i>Streptomyces setonii</i>	0
Z80	MN907705	<i>Streptomyces galilaeus</i>	1
Z75	MN907706	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
Z74	MH175206	<i>Streptomyces griseorubens</i>	11
Z72	MN907707	<i>Streptomyces griseorubens</i>	5
Z67	MN907708	<i>Streptomyces staurosporininus</i>	6
Z65	MN907709	<i>Streptomyces yanii</i>	3
Z64	MN907710	<i>Streptomyces yanii</i>	3
Z57	MN907711	<i>Streptomyces afghaniensis</i>	3
Z48	MN907712	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
Z47	MN907713	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
Z43	MN907714	<i>Streptomyces canus</i>	9
Z42	MN907715	<i>Streptomyces canus</i>	1
Z40	MN907716	<i>Streptomyces canus</i>	5
Z34	MH175198	<i>Streptomyces cyslabdanicus</i>	11
Z32	MN907717	<i>Streptomyces staurosporininus</i>	9
Z19	MN907718	<i>Nocardiopsis dassonvillei subsp. dassonvillei</i>	5
Z16	MN907719	<i>Streptomyces cyaneus</i>	6
Z11	MN907720	<i>Nocardiopsis dassonvillei subsp. dassonvillei</i>	6
Z9	MN907721	<i>Streptomyces aureus</i>	8
Z1	MN907722	<i>Streptomyces canus</i>	4
EA35	MN907723	<i>Micromonospora zamorensis</i>	1
EA34	MN907724	<i>Micromonospora zamorensis</i>	0
EA31	MN907725	<i>Micromonospora luteiviridis</i>	9
EA29	MN907726	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	5
EA28	MN907727	<i>Streptomyces gougerotii</i>	0
EA27	MN907728	<i>Amycolatopsis roodepoortensis</i>	10
EA24	MH175163	<i>Amycolatopsis azurea</i>	10
EA22	MN907729	<i>Amycolatopsis roodepoortensis</i>	12
EA18	MN907730	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	9
EA17	MN907731	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	0
EA16	MN907732	<i>Amycolatopsis magusensis</i>	6
EA15	MN907733	<i>Amycolatopsis magusensis</i>	9
EA14	MN907734	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	12
EA13	MN907735	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i>	8
EA12	MN907736	<i>Amycolatopsis magusensis</i>	12
EA11	MH174341	<i>Amycolatopsis magusensis</i>	11
EA10	MN907737	<i>Amycolatopsis lurida</i>	6
EA9	MN907738	<i>Amycolatopsis kentuckyensis</i>	1
EA8	MN907739	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	5
EA7	MN907740	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i>	8
EA6	MN907741	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	5
EA5	MN907742	<i>Amycolatopsis lurida</i>	3

Ek 3. (devam) Çalışmada kullanılan organizmaların 16S rRNA bölgelerini dizileri ve en yakın akrabaları



Örnek adı	NCBI erişim numarası	En yakın akraba tür	Baz farklılığı
EA2	MN907743	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	2
C217	MN907744	<i>Streptomyces regensis</i>	3
C214	MN907745	<i>Streptomyces iakyrus</i>	3
C206	MN907746	<i>Streptomyces glebosus</i>	14
C190	MN907747	<i>Streptomyces iakyrus</i>	3
C189	MN907748	<i>Streptomyces iakyrus</i>	2
C179	MN907749	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	7
C156	MN907750	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	12
C153	MN907751	<i>Streptomyces lienomycini</i>	9
C144	MN907752	<i>Streptomyces longisporoflavus</i>	0
C142	MN907753	<i>Streptomyces endophyticus</i>	2
C115	MN907754	<i>Streptomyces lydicus</i>	7
C107	MN907755	<i>Streptomyces pratensis</i>	2
C106	MN907756	<i>Streptomyces pratensis</i>	2
C103	MN907757	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
C100	MN907758	<i>Streptomyces badius</i>	1
C96	MN907759	<i>Streptomyces zhihengii</i>	7
C94	MN907760	<i>Streptomyces zhihengii</i>	5
C87	MN907761	<i>Streptomyces badius</i>	1
C86	MN907762	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
C85	MN907763	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
C84	MN907764	<i>Streptomyces chartreusis</i>	1
C79	MN907765	<i>Streptomyces pratensis</i>	1
C72	MN907766	<i>Streptomyces omiyaensis</i>	8
C71	MH173872	<i>Streptomyces gardneri</i>	4
C62	MN907767	<i>Streptomyces zhihengii</i>	16
C48	MN907768	<i>Streptomyces staurosporininus</i>	8
C42	MN907769	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	0
C40	MN907770	<i>Streptomyces brevispora</i>	2
C26	MN907771	<i>Streptomyces pratensis</i>	0
C25	MN907772	<i>Streptomyces galilaeus</i>	0
C7	MN907773	<i>Streptomyces avidinii</i>	4
C6	MN907774	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	4
Tip tür*	AY999783	<i>Streptomyces badius</i>	lv
Tip tür	AB045877	<i>Streptomyces capoamus</i>	lv
Tip tür	AB184139	<i>Streptomyces griseorubens</i>	lv
Tip tür	JQ806215	<i>Streptomyces pratensis</i>	lv
Tip tür	AB184575	<i>Streptomyces spiralis</i>	lv
Tip tür	LC073309	<i>Streptomyces palmae</i>	lv
Tip tür	AB184720	<i>Streptomyces stramineus</i>	lv
Tip tür	AB184220	<i>Streptomyces longisporoflavus</i>	lv
Tip tür	LC177396	<i>Micromonospora globbae</i>	lv
Tip tür	ABUI01000017	<i>Nocardioopsis dassonvillei subsp. dassonvillei</i>	lv
Tip tür	KF771262	<i>Amycolatopsis roodepoortensis</i>	lv
Tip tür	HQ157190	<i>Amycolatopsis magusensis</i>	lv
Tip tür	LT607755	<i>Micromonospora zamorensis</i>	lv
Tip tür	LC177396	<i>Micromonospora globbae</i>	lv

*Tip türler organizmalar arası akrabalık ilişkileri verilmesi açısından listeye eklediğinden baz farklılığı listede "lv" (listede verilmedi) olarak gösterilmiştir. Sonuçlar EzBioCloud veritabanında analiz edilmiştir.

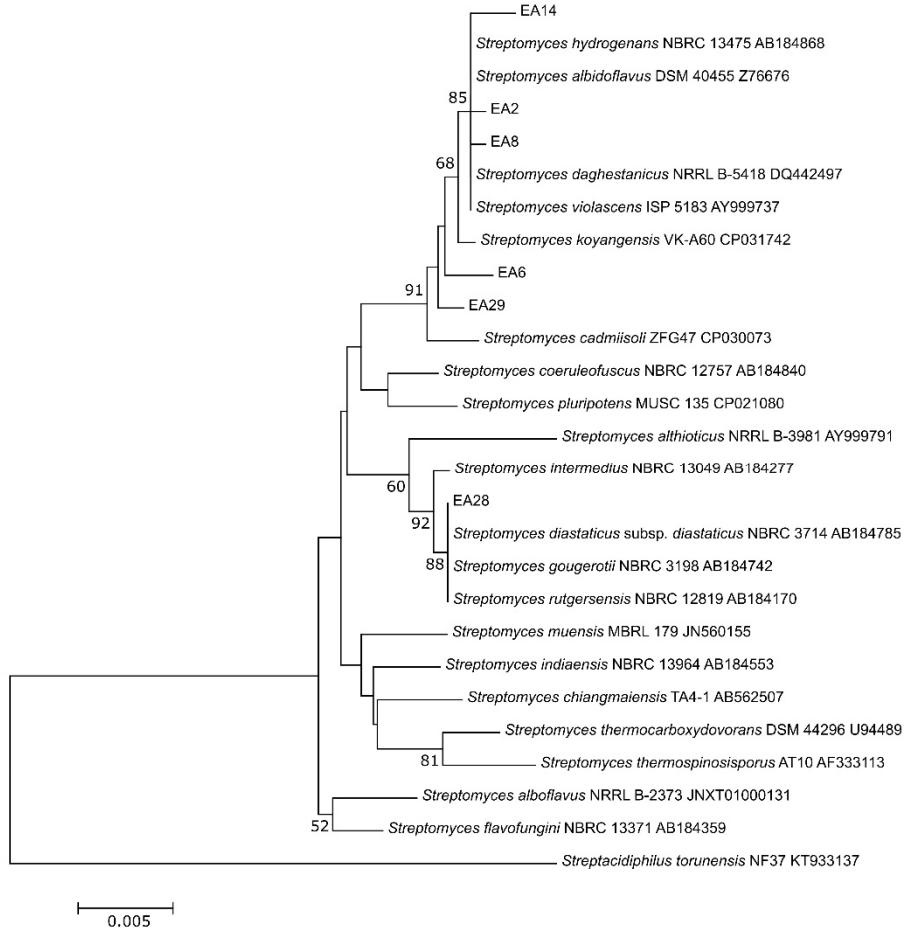
Ek 4. 16S rRNA dizilemesi sonucu izolatları tip türlere benzerlik sıklığı

Sıralama	Benzer tip tür	Çalışmadaki bulunma sıklığı
1	<i>Micromonospora globbae</i>	1
2	<i>Streptomyces canus</i>	5
3	<i>Streptomyces curacoii</i>	2
4	<i>Streptomyces galilaeus</i>	3
5	<i>Streptomyces canarius</i>	2
6	<i>Streptomyces pseudovenezuelae</i>	1
7	<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	2
8	<i>Streptomyces regensis</i>	2
9	<i>Streptomyces fulvissimus</i>	1
10	<i>Streptomyces pratensis</i>	11
11	<i>Streptomyces setonii</i>	1
12	<i>Streptomyces galilaeus</i>	4
13	<i>Streptomyces griseorubens</i>	3
14	<i>Streptomyces staurosporininus</i>	3
15	<i>Streptomyces yanii</i>	2
16	<i>Streptomyces afghaniensis</i>	1
17	<i>Streptomyces cyslabdanicus</i>	1
18	<i>Nocardioopsis dassonvillei</i> subsp. <i>dassonvillei</i>	2
19	<i>Streptomyces cyaneus</i>	1
20	<i>Streptomyces aureus</i>	1
21	<i>Micromonospora zamorensis</i>	2
22	<i>Micromonospora luteiviridis</i>	1
23	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	2
24	<i>Streptomyces gougerotii</i>	1
25	<i>Amycolatopsis roodepoortensis</i>	3
26	<i>Amycolatopsis azurea</i>	1
27	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1
28	<i>Streptomyces hydrogenans</i>	7
29	<i>Amycolatopsis magusensis</i>	5
30	<i>Amycolatopsis lurida</i>	2
31	<i>Amycolatopsis kentuckyensis</i>	1
32	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i>	2
33	<i>Streptomyces iakyrus</i>	3
34	<i>Streptomyces glebosus</i>	1
35	<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	1
36	<i>Streptomyces lienomycini</i>	1
37	<i>Streptomyces longisporoflavus</i>	1
38	<i>Streptomyces endophyticus</i>	1
39	<i>Streptomyces lydicus</i>	1
40	<i>Streptomyces badius</i>	2
41	<i>Streptomyces zhihengii</i>	3
42	<i>Streptomyces omiyaensis</i>	1
43	<i>Streptomyces gardneri</i>	1
44	<i>Streptomyces brevispora</i>	1
45	<i>Streptomyces avidinii</i>	1

Ek 5. EA12 ve A. magusensis bakterilerinin özellikleri

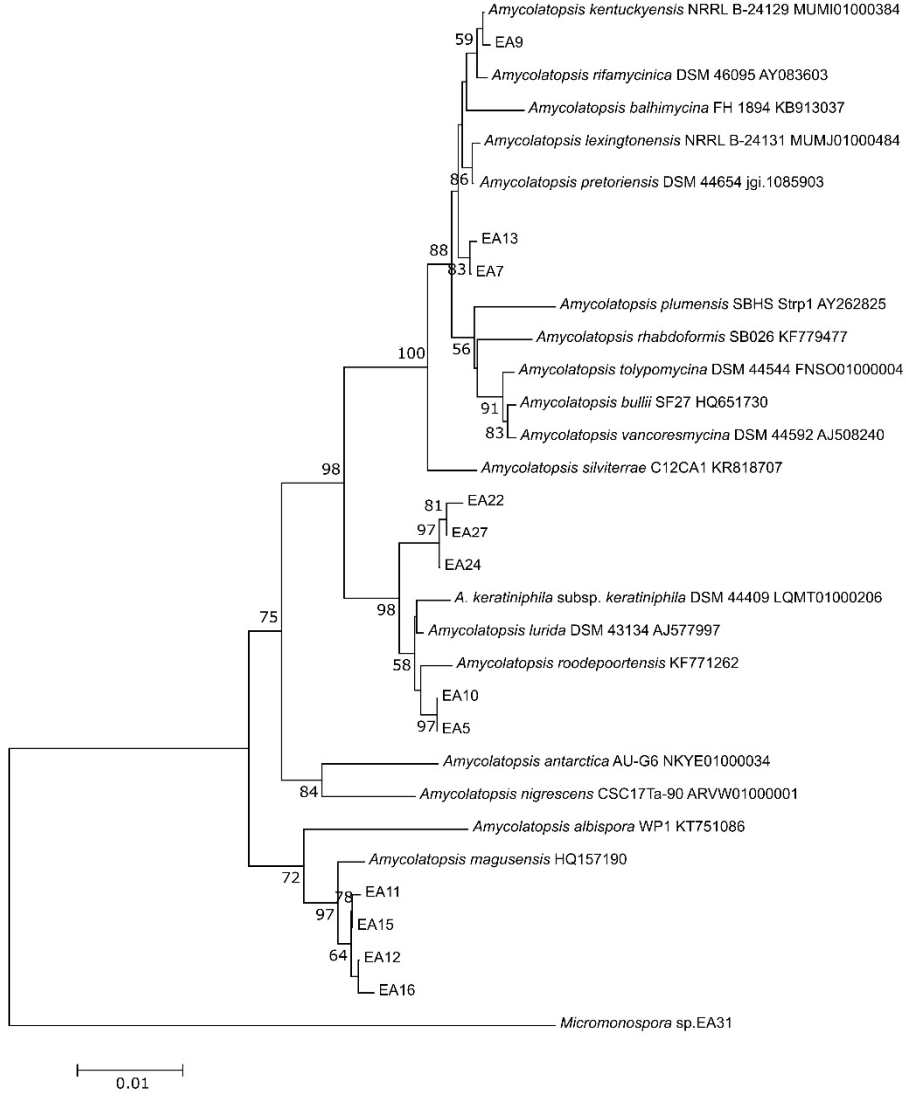
Özellik	EA12	A. magusensis (Camas vd., 2013)
16S rRNA	MN907736	HQ157190
Yağ asidi (% olarak en fazla olan 3 tane)	isoC _{16:0} (%26), anteiso C _{15:0} (%26) ve anteiso C _{17:0} (%11)	isoC _{16:0} (%28), isoC _{15:0} (%13) ve anteiso C _{17:0} (%8)
Menakinon	MK-9 (H ₄) (%79,0), MK-9 (H ₆) (%8,1) ve MK-7 (H ₄) (%7,9)	MK-9 (H ₄) (%63), MK-7 (H ₄) (%7), MK-8 (H ₄) (%10), MK-9 (H ₂) (%10)
Tüm şeker	Galaktoz, glikoz, arabinoz, sikloz ve iz seviyede riboz	Arabinoz, galaktoz, riboz, glikoz ve iz seviyede ramnoz
Polar lipid	PI, APL, AL, PL6, PL5, PC, L1, PG, PL3, PL4, DPG, L2, GL ve PL1	PE, PG, PI, HPE, 2 tane PL ve 2 tane GL
Diaminopimelik asit	Mezo-DAP	Mezo-DAP
Hücre morfolojisi (SEM görüntüleri)	 30000, ISP3	 18000, ISP2
ISP4 substrat miselyum	Çok koyu morumsu kırmızı	Açık sarı (bu çalışmada yapıldı)
ISP5 substrat miselyum	Çok karanlık koyu morumsu kırmızı	Açık sarı (bu çalışmada yapıldı)
ISP7 substrat miselyum	Çok koyu morumsu kırmızı	Açık turuncu sarı (bu çalışmada yapıldı)

Ek 6.



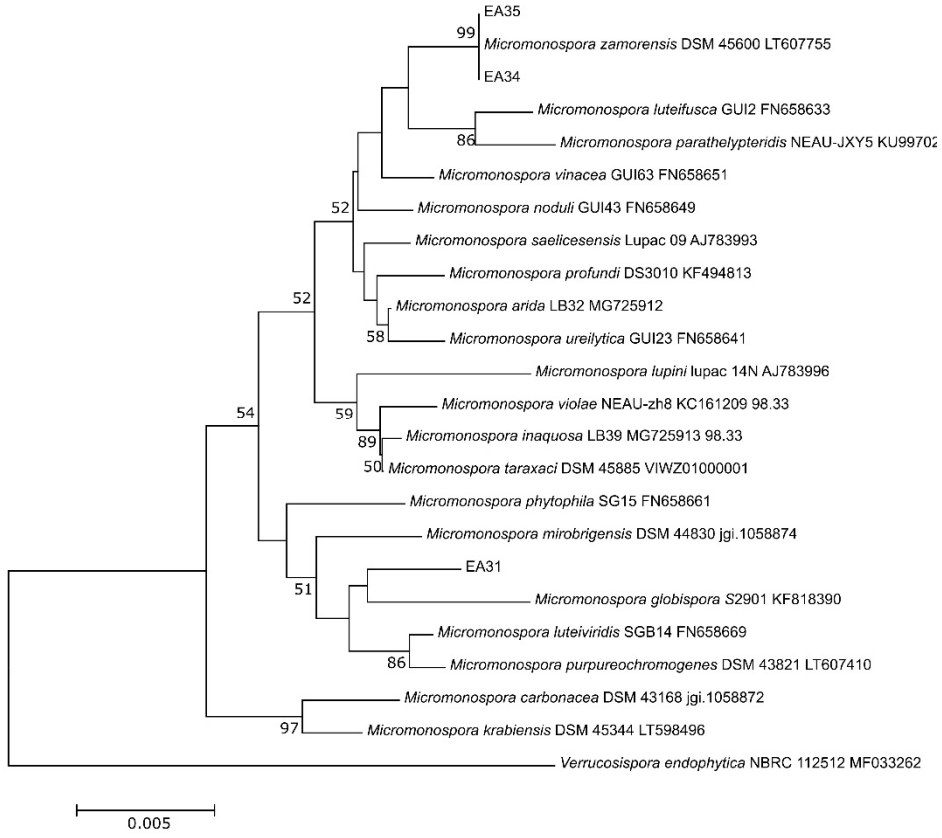
Ek 6. Çalışmada izole edilen endofitik *Streptomyces* cinsi aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir. *Streptacidiphilus torunensis* dış grup olarak seçilmiştir.

Ek 7.



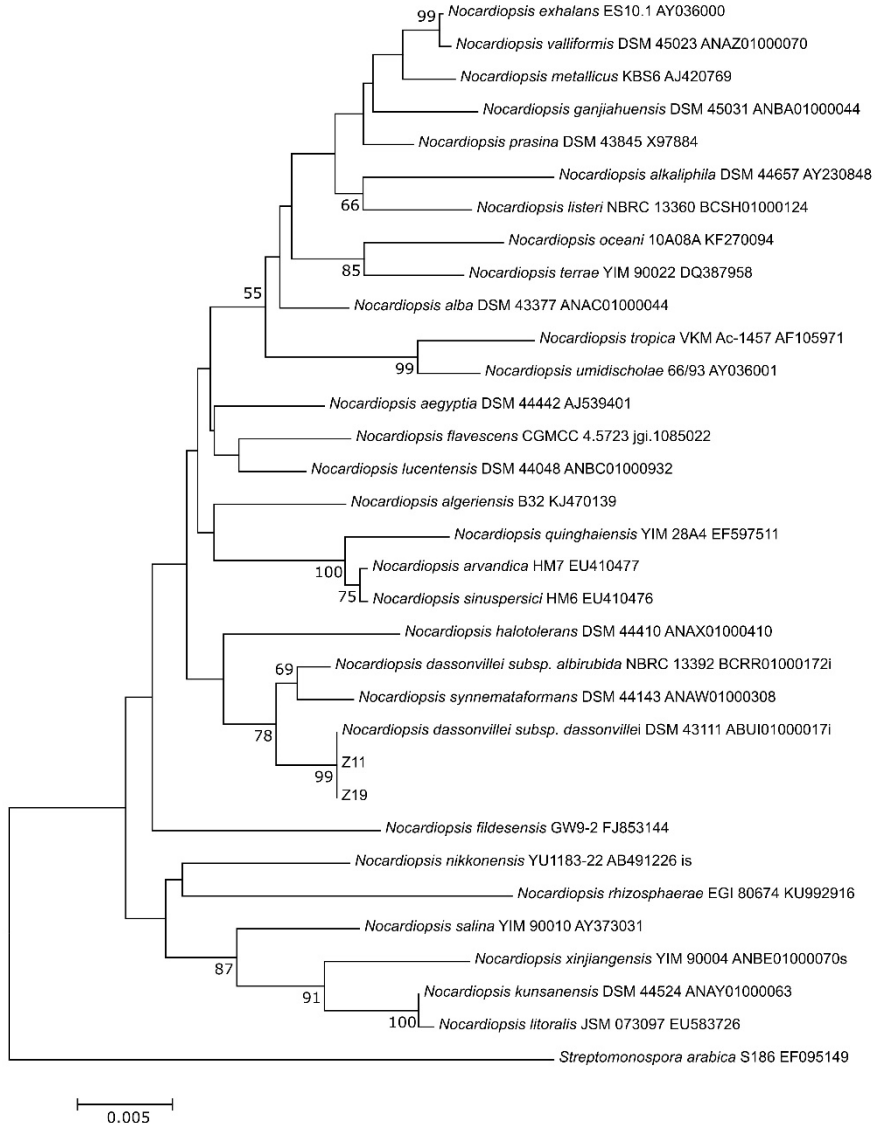
Ek 7. Çalışmada izole edilen endofitik *Amycolatopsis* cinsi aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir. Çalışmada izole edilen EA31 kodlu *Micromonospora* üyesi dış grup olarak seçilmiştir.

Ek 8.



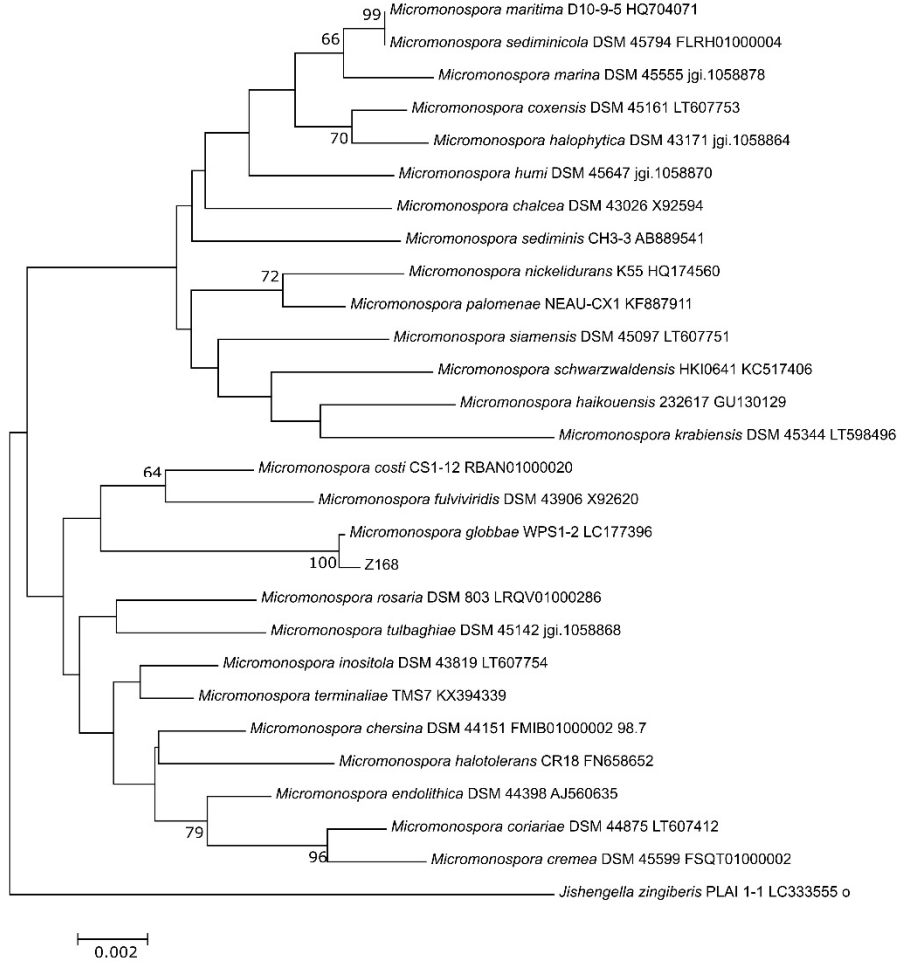
Ek 8. Çalışmada izole edilen endofitik *Micromonospora* cinsi aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir. Çalışmada izole edilen EA31 kodlu *Micromonospora* üyesi dış grup olarak seçilmiştir.

Ek 9.



Ek 9. Çalışmada izole edilen serbest yaşayan *Nocardioopsis* cinsi aktinomisetlerin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir. Dış grup olarak *Streptomonospora arabica* seçilmiştir.

Ek 10.



Ek 10. Çalışmada izole edilen serbest yaşayan Z168 kodlu *Micromonospora* cinsine ait aktinomisetin 16S rRNA bölgesinin dizi bilgilerine göre yakın akrabalık ilişkilerinin gösterildiği ağaç. Ağaç oluşturulurken neighbor-joining metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Analiz 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sadece %50 ve üzerinde bootstrap (tekrarlanma) değerleri gösterilmiştir. Dış grup olarak *Jishengella zingiberis* seçilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

1. **Adı Soyadı** : Alper DEDE

2. **Doğum yeri** : Balıkesir

3. **Öğrenim Durumu** :

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Anadolu Üniversitesi	2010
Önlisans	Sağlık Kurumları İşletmeciliği	Anadolu Üniversitesi	2010
Y. Lisans	Biyoloji	Anadolu Üniversitesi	2013
Doktora	Biyoloji	Eskişehir Teknik Üniversitesi	2013-2020

4. Yayınlar

4.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler.

M.T. Aytekin Aydın, H.L. Hoşgün, A. Dede, K. Güven, Synthesis, characterization and antibacterial activity of silver-doped TiO₂ nanotubes, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 205 503–507. 2018

Dede, K. Güven, Apple rhizospheric bacteria: plant growth promoting (PGP) and antagonistic activities. Journal of Biotechnology, s47. 2018

Hasgul, E., Malkoç, S., Güven, A., Dede, A., Güven, K.. "Biosorption of cadmium and copper by *Aspergillus* spp. isolated from industrial ceramic waste sludge". Biological Diversity and Conservation, 12(3), 44–56. 2019

4.2. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Olive Soil Actinobacteria: Isolation and Characterisation Kıymet Güven, Alper Dede. II. International Green Biotechnology Congress. İstanbul, Türkiye 09-11 Eylül 2019.

Rhizosphere of Olive Tree: A source of Plant Growth Promoting Bacteria. Dede Alper, Güven Kıymet. Ecology of Soil Microorganisms, 29.11.2015 - 03.12.2015 Prag, Çek Cumhuriyeti.

RAMAN spectroscopic fingerprinting of Actinomycetes. Kıymet GÜVEN, Alper DEDE, Türkay AYDIN. XVII. International Symposium on the biology of Actinomycetes. Aydın, Türkiye 8-12 Ekim 2014

Anticandidal Activity of Series of Some Manganase (II) Complexes. Güven Kıymet, Kani İbrahim, Dede Alper, Oskay Nagihan, Atlıer Ö, Kurtca M. Drug Discovery and Therapy World Congress Boston, USA 16.06.2014 - 19.06.2014

Anticandidal activity of some 2,3-disubstituted indole derivatives. Guven A., Guven K., Dede A., Oskay N. Biologically Active Substances and Materials Fundamental and Applied Problems. Novy Svet, Kırım, Ukrayna. 27.05.2013 - 01.06.2013

Antibacterial Activity of Series of Some Manganase (II) Complexes. Güven K., Kani İ., Dede A., Oskay A., Atlıer Ö., Kurtça M. Biologically Active Substances and Materials Fundamental and Applied Problems. Novy Svet, Kırım, Ukrayna. 27.05.2013 - 01.06.2013

Antimicrobial investigation of some N-[β -(3,5-di and 1,3,5-trisubstituted pyrazol -4-yl) alkyl]amides, A. Dede, K. Güven, İ. Çelik. The 4th Euroasia Congress of Infectious Diseases, Bosna-Hersek, Saraybosna. 1-5 Haziran 2011

4.3. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Fenantrolin-Mn(II) sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitelerinin İncelenmesi. Gizem Alpaslan, Alper Dede, Kıymet Güven, İbrahim Kani, III. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi, 19-22 Mayıs 2011, Çanakkale.

Kafeinin Çoklu İlaç Direnci Geliştirebilen Bakteriler Üzerindeki Etkisi. Görkem Saylam, Alper Dede. Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi, Konya 26-29 Aralık 2016

5. Çalışılan projeler

Bitki büyüme düzenleyici bakterilerin karakterizasyonu BAP No: 1109F148 (2011-2013, yüksek lisans tez konusu, araştırmacı)

Bitki büyümesini teşvik edici bakteriler ile bitki büyüme testleri BAP No: 1306S161 (2013-2014, bursiyer)

Antibiyotik Kaynağı Olarak Aktinomisetler: İzolasyon Ve Tanı BAP No: 1404F197 (2014-2015, bursiyer)

Bitki Büyüme Düzenleyici Aktinomisetler: İzolasyon, Tanı ve Kullanım Özellikleri BAP No: 1506F534 (2015-devam ediyor, doktora tez konusu, araştırmacı)

Antimikrobiyal nanopartiküller BAP No: 1505F321 (2015-2016, bursiyer)

Aktinomiset Koleksiyonu (2017-2018, araştırmacı).

Zeytin ve ceviz ağacından izole edilmiş bitki büyümesini teşvik etme potansiyeline sahip endofitik bakterilerin 1- Aminosiklopropan-1- karboksilik asit (ACC) deaminaz üretme aktivitelerinin, bazı patojenik organizmalar üzerindeki antagonistik özelliklerinin araştırılması ve 16S rRNA dizilemesi ile identifikasyonları. (2019-2020, araştırmacı-bursiyer) TÜBİTAK Hızlı Destek Proje no: 218Z114

Nanopartikül biyosentezinde mikrobiyal yaklaşım BAP No: 19ADP067 (2019-2020, araştırmacı)

6. Ödüller

2211-C Yurtiçi Öncelikli Alanlar Doktora Bursu (2015-2018)

7. Alınan sertifikalar ve katılım belgeleri

ISO 22000 HACCP Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi sertifikası (2009)

ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi İç Denetçi sertifikası (2012)

GMP (İÜU) İyi Üretim Uygulamaları sertifikası (2012)

ISO 17025 Laboratuvar Akreditasyonu ve Deney Hizmetleri Temel Dökümantasyon sertifikası (2012)

OHSAS 18001:2005 İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi sertifikası (2013)

Kosgeb uygulamalı girişimcilik katılım belgesi (2018)

Taramalı elektron mikroskobu sertifika programı (2018)

8. Medeni durumu:

Evli

9. Yabancı dil:

İngilizce

10. İletişim bilgileri:

adede@eskisehir.edu.tr

alper.dede@yandex.com