

T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**TUZLU ORTAMDA GELİŞEN BİTKİLERDEN İZOLE EDİLEN ENDOFİT
BAKTERİLERİN HIYAR BİTKİSİNDE KÖŞELİ YAPRAK LEKE HASTALIĞI
(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*), TUZ STRESİ VE BİTKİ GELİŞİMİNE
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ümmügülsüm OLUR
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ

VAN-2020

T. C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**TUZLU ORTAMDA GELİŞEN BİTKİLERDEN İZOLE EDİLEN ENDOFİT
BAKTERİLERİN HIYAR BİTKİSİNDE KÖŞELİ YAPRAK LEKE HASTALIĞI
(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*), TUZ STRESİ VE BİTKİ GELİŞİMİNE
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ümmügülsüm OLUR

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından **FYL-2019-7928**
No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2020

KABUL ONAY SAYFASI

Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ danışmanlığında, Ümmügülsüm OLUR tarafından sunulan **Tuzlu Ortamda Gelişen Bitkilerden İzole Edilen Endofit Bakterilerin Hıyar Bitkisinde Köşeli Yaprak Leke Hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *lacrymans*, Tuz Stresi ve Bitki Gelişimine Etkileri** isimli bu çalışma "Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği" ve "Fen Bilimleri Enstitüsü Yönergesi"nin ilgili hükümleri gereğince 10/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 09/02/2020 tarih ve 2020/9-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza: 
Enstitü Müdürü


TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ümmügülsüm OLUR



ÖZET

TUZLU ORTAMDA GELİŞEN BİTKİLERDEN İZOLE EDİLEN ENDOFİT BAKTERİLERİN HIYAR BİTKİSİNDE KÖŞELİ YAPRAK LEKE HASTALIĞI (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*), TUZ STRESİ VE BİTKİ GELİŞİMİNE ETKİLERİ

OLUR, Ümmügülsüm
Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ
Şubat 2020, 65 sayfa

Bu çalışmanın amacı; Van Gölü bölgesindeki tuz yataklarında gelişen yabancı bitkilerden endofitik bakterilerin (EB) izole edilmesidir. Elde edilen EB'lerin *in vitro*'da karakterizasyonu ve *in vivo* koşullarda hıyar bitkisinin gelişimine, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*)'in neden olduğu köşeli yaprak leke hastalığına ve tuz stresine karşı etkinliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. *In vivo* çalışmalar 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ve 24±2°C koşullarına sahip iklim odasında gerçekleştirilmiştir. EB'ler bitkiye tohum kaplama ve içirme şeklinde uygulanmıştır. *Psl* süspansiyonu ise bitki yapraklarına pülverize edilerek uygulanmıştır. Tuz uygulamaları için 3 farklı tuz konsantrasyonu (40 mM, 80mM ve 120 mM) oluşturulmuştur. Uygulamalar dört günde bir olacak şekilde ve 4 defa bitkiye içirme biçiminde uygulanmıştır. Elde edilen 62 adet EB'nin % 40'ının fosfataz aktivitesine, % 96'sının siderofor üretebilme kabiliyetine, % 8'inin % 15'e kadar tuzla dayandıkları ve hiçbirinin ACC-deaminaz aktivitesine sahip olmadığı belirlenmiştir. *In vitro* testlerde başarılı bulunan EB izolatlarının incelenen parametrelere göre farklı düzeylerde bitki gelişimini arttırdığı belirlenmiştir. Hastalığa karşı kullanılan bitkilerde G116S2 izolatının % 39 oranında *Psl*'yi engellediği gözlenmiştir. Tuz stresi altındaki bitkilerde ise T14K1 ve T13K1 izolatı 120 mM'de % 23 ve 40 mM'de sırasıyla % 41, % 9 oranında tuz şiddetini azaltmıştır. Aynı zamanda T26Y1 izolatının 80 mM tuz konsantrasyonunda kök ağırlığını, kök boyunu, gövde çapını, yaprak sayısını attırdığı belirlenmiştir. Ayrıca 80 mM tuz konsantrasyonunda T13K1, T14K1, G116S2 izolatları bitkinin su tutma kapasitesini arttırmıştır. Membran zararlanma indeksine karşı EB izolatları başarı sağlayamamışlardır.

Anahtar Kelimeler: Bitki gelişimi, Endofit bakteri, Hıyar, *Psl*, Tuz stresi,

ABSTRACT

EFFECTS OF ENDOPHYTE BACTERIA ISOLATED FROM PLANTS DEVELOPED IN SALINE ENVIRONMENT ON ANGULAR LEAF SPOT DISEASE (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*), SALINITY STRESS AND PLANT GROWTH OF CUCUMBER

OLUR, Ümmügülsüm

M. Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ

February 2020, 65 pages

The aim of this study is the isolation of endophytic bacteria (EB) from wild plants growing in the saline soil at Lake Van region. Also, the determination of EBs' characterization of the by in vitro test, and its effects on the cucumber plant growth under the salt stress and on angular leaf stain disease caused by *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans* (*Psl*) have been targeted. *In vivo* studies were performed in a climatic chamber having 25 ± 2 °C temperature and 16 h light-8 h dark period. EBs were applied to the plant by seed coating and drenching methods. The *Psl* suspension was applied to the plant leaves by pulverization. The three salt concentrations (40 mM, 80 mM and 120 mM) were applied f to the seedlings by drenching methods. It was determined that 40 % of EBs have phosphatase activity, 96 % siderophore production ability, and none of them had ACC-deaminase activity. Some EB isolates were growth on medium amended with up to 15 % NaCl. EB isolates which were found successful in in vitro tests, increased plant growth at different levels according to the parameters examined. The G116S2 isolate inhibited disease severity by 39 %. T14K1 and T13K1 isolates decreased the salt stress by 23 % at 120 mM, and by 41 % - 9 % at 40 mM, respectively. The T26Y1 isolate increased the root weight, root length, stem diameter, leaf number according to control groups at 80 mM salt concentration. Also, T13K1, T14K1 and G116S2 isolates at 80 mM salt concentration increased the leaf relative water content. However, EB isolates have not effected on reducing membrane injury.

Keywords: Cucumber, Endophyte bacteria, Plant growth, *Psl*, Salt stress



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmam süresince, sabrı ve anlayışı ile her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ'ye ve tuz çalışmaları sırasında tecrübelerinden yararlandığım tez komitesi başkanı Dr. Öğr. Üyesi Çeknas Erdinç'e teşekkür ederim.

Çalışmamın farklı aşamalarında katkıda bulunan meslektaşlarım Ahmad HUSSEINI, Yasin BABİER, Ruken ÇELİK ve Waleed A. HAMADAMEEN'e teşekkür ederim. Ayrıca maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan değerli dostum Cemre Havva KURT, kardeşlerim Celil OLUR ve Cansu OLUR ile duasını benden hiç eksik etmeyen canım anneme teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmama maddi destek sunan YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Burada ismini yazamadığım ve emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

2020

Ümmügülsüm OLUR



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Test bitkisi ve stres faktörleri.....	13
3.1.2. Endofitik bakteriler	13
3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri.....	13
3.1.4. Bitki yetiştirme koşul ve ortamı.....	15
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Çalışmada kullanılan endofitik bakterilerin izolasyonu	16
3.2.2. İzole edilen endofitik bakterilerin ön tanısına dönük bazı testler	17
3.2.3. EB'lerin <i>in vitro</i> karakterizasyon çalışmaları	17
3.2.3.1. Siderefor aktivitesinin belirlenmesi	17
3.2.3.2. Fosfatı parçalama aktivitesinin belirlenmesi.....	17
3.2.3.3. ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi.....	18
3.2.3.4. EB'lerin tuza tolerans düzeyinin belirlenmesi	18
3.2.3.5. EB'lerin <i>Psl</i> 'ye karşı antagonist etkilerinin testlenmesi	18
3.2.4. <i>In vivo</i> koşullarda yapılan çalışmalar.....	19
3.2.4.1. Endofit bakterilerin uygulanması.....	19
3.2.4.2. Endofit bakterilerin bitki gelişimi üzerine etkilerinin belirlenmesi	19

	Sayfa
3.2.4.3. EB'lerin hıyar köşeli yaprak leke hastalığına karşı biyokontrol aktivitesinin belirlenmesi.....	20
3.2.4.4. Endofit bakterilerin tuzluluk stresine karşı etkileri.....	22
3.2.5. İstatistiki Değerlendirmeler	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. İzolasyon Yapılan Bitki Örnekleri.....	27
4.2. İzole Edilen Endofitik Bakterilerin Ön Tanısına Dönük Bazı Testler.....	28
4.3. EB'lerin <i>In Vitro</i> da Karakterizasyonu	31
4.3.1. Fosfataz aktivitesi	31
4.3.2. Siderefor aktivitesi	31
4.3.3. ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi	32
4.3.4. EB'lerin <i>PsI</i> 'ye karşı biyokontrol etkilerinin testlenmesi.....	33
4.3.5. EB'lerin tuza tolerans düzeyinin belirlenmesi.....	33
4.4. <i>In Vivo</i> Çalışmalar	35
4.4.1. Endofit bakterilerin bitki gelişimi üzerine etkileri.....	35
4.4.2. EB'lerin hıyar köşeli yaprak leke hastalığına karşı biyokontrol aktivitesinin belirlenmesi	37
4.4.3. Endofit bakterilerin tuzluluk stresine karşı etkileri.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
KAYNAKLAR.....	57
ÖZ GEÇMİŞ.....	65

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Bakteri izolasyonu, pigment oluşumu ve genel besiyeri olarak kullanılan King B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları	14
Çizelge 3.2. EB'lerin stok olarak saklanması için kullanılan glycerol içeren NB ortamı ve gerekli kimyasallar ve miktarları	14
Çizelge 3.3. Endofitik bakterilerin <i>in vitro</i> biyokontrol etki testleri için Triptik Soya Agar (TSA) genel besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları	14
Çizelge 3.4. Endofitik bakterilerin fosfatı çözme aktivitelerini belirlemek amacıyla kullanılan NBRIP Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları ...	14
Çizelge 3.5. Endofitik bakterilerin siderefor oluşturma yeteneklerinin belirlenmesinde kullanılan Blue-CAS Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları	15
Çizelge 3.6. Bitki dokularına yüzey sterilizasyonu uygulaması.....	16
Çizelge 3.7. Hastalık şiddeti değerlendirmesinde kullanılan 0-6 skalası	21
Çizelge 4.1. EB izole edilen bitki örneklerinin kodu ve ait oldukları familya isimlerine ait bilgiler	27
Çizelge 4.2. İzole edilen endofitik bakterilerin ön tanısına dönük test sonuçları.....	29
Çizelge 4.3. EB izolatlarının <i>in vitro</i> da yapılan karakterizasyon ve biyokontrol aktivitelerine ait sonuçları	34
Çizelge 4.4. <i>In vitro</i> çalışma sonuçlarına göre seçilen 8 EB'nin bitki gelişimi üzerine olan etkileri (g/bitki).....	36
Çizelge 4.5. EB uygulamalarının <i>PsI</i> 'nin oluşturduğu hıyar köşeli yaprak leke hastalığı üzerine etkileri. Hastalık şiddeti 0-6 skalasına göre değerlendirilerek % hastalık şiddeti ve etki değerleri belirlenmiştir.....	37
Çizelge 4.6. EB'lerin hastalık baskısı altında bitki gelişimine olan etkileri.....	39
Çizelge 4.7. EB'lerin farklı tuz dozları altında yetiştirilen hıyarda etkinliklerinin 0-5 skalası ile değerlendirilmesi.....	41
Çizelge 4.8. EB uygulamalarının farklı tuz dozlarında bitki yaş ve kuru ağırlığına olan etkileri.....	42

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 4.9. Tuz stresi altındaki bitkilerde EB'lerin gövde çapı/boyu ve kök boyu değerleri ile yaprak sayısına olan etkileri.....	44
Çizelge 4.10. Tuz stresi altındaki bitkilerde EB uygulaması ile klorofil içeriklerinde meydana gelen değişim ve yaprak oransal su içeriği (YOSİ) değerleri	47



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Bitki yeşil aksam ve kök yaş ağırlığının tartılması ile örneklerin etüvde kurutulması.....	20
Şekil 3.2. Bitkilerde klorofil tayini.....	22
Şekil 3.3. İlk EB uygulaması yapıldığında bitki fenolojik dönemi (A). Son EB uygulama zamanındaki bitki fenolojik dönemi (B).....	23
Şekil 3.4. Tuzlu suyun bitki köklerine içirme biçiminde uygulanması.....	23
Şekil 3.5. Tuz stresi denemesinde bitki gövde ve kök boyunun belirlenmesi.....	24
Şekil 3.6. Yaprak örneklerinin taze ağırlığının belirlenmesi (A), yaprak örneklerinin saf su içerisinde bekletilmesi (B), yaprak örneklerinin turgor ağırlığının belirlenmesi (C).....	25
Şekil 3.7. Bitki disklerinin saf suda bekletilmesi ve EC ölçümleri.....	26
Şekil 4.1. Bitki örneklerinin alındığı tuz havuzu ve kanal çevresine ait genel görüntüler.....	27
Şekil 4.2. Tütünde aşırı duyarlılık (HR) reaksiyonuna neden olan bir izolat.....	29
Şekil 4.3. Fosfataz aktivitesinin değerlendirilmesi.....	31
Şekil 4.4. Siderefor aktivitesi gösteren bazı EB örnekleri.....	32
Şekil 4.5. (NH ₄) ₂ SO ₄ ilave edilmiş besi ortamı pozitif kontrol (PK) ve azot kaynağı ilave edilmemiş besi ortamı negatif kontrol (NK) olarak kullanılmıştır. Azot kaynağı olarak ACC ilave edilmiş besi ortamı.....	32
Şekil 4.6. EB'ler tarafından <i>Psl</i> 'ye karşı oluşturulan antagonist zon ve UV altında görünümü.....	33
Şekil 4.7. Tuz tolerans düzeyinin belirlenmesi için tuz içeren besi yerine ekilen EB örnekleri.....	34
Şekil 4.8. Tuz stresinin hıyarda meydana getirdiği zarar.....	40
Şekil 4.9. Artan tuz şiddetinin etkisiyle PK'lerde bitki yeşil aksam yaş ağırlığı azalmıştır. En sağdaki grup NK olup sol tarafa doğru sırasıyla 40, 80 ve 120 mM konsantrasyon NaCl uygulanan bitki gruplarıdır.....	43

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. Tuz stresi uygulanmayan hıyar bitkilerinde EB izolatları bitkinin yeşil aksam yaş ağırlığını NK'e göre arttırmıştır.	43
Şekil 4.11. Artan tuz stresinin etkisiyle gövde boylarında meydana gelen kısalma.	44
Şekil 4.12. Tuz ve EB uygulamalarının hücre membranına etkileri (MZİ).	46
Şekil 4.13. Sol taraftaki bitki NK olup soldan sağa bitkinin tuz stresi altında bitki klorofil içeriği artmıştır.....	46



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
μL	mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	santigrat derece
Ca	kalsiyum
dk	dakika
g	gram
K	potasyum
KOH	Potasyum hidroksit
mg	miligram
mL	mililitre
mS/cm	(milisiemens/santimetre)
mm	milimetre
mM	milimolar
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
P	Fosfor

Kısaltmalar	Açıklama
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylic asit
CFU	colony forming unit
CMC	Karboksi Metil Selüloz
EB	Endofit bakteri
EC	Elektriksel İletkenlik

Kısaltmalar

Açıklama

HR	Aşırı duyarlılık reaksiyonu
IAA	Indol-3-asetik asit
KB	King's B
MZI	Memran zararlanma indeksi
NK	Negatif Kontrol
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kök Bakterileri)
PK	Pozitif Kontrol
<i>Psl</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>lachrymans</i>
<i>rpm</i>	Revolutions per Minute
YOSİ	Yaprak oransal su içeriği

1. GİRİŞ

Tarımı çok eski dönemlerden beri yaygın olarak yapılan Hıyar (*Cucumis sativus*), kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasından bir bitki türü olup anayurdunun Kuzey Hindistan olduğu sanılmaktadır (Anonim, 2018a).

Magnoliophyta (Kapalı tohumlular) şubesi: Magnoliopsida (İki çenekliler), Cucurbitales, Cucurbitaceae (Kabakgiller), Cucumis, *Cucumis sativus* L. olarak sınıflandırılmaktadır (Ayhan, 2019).

Türkiyede 38 bin hektarlık toplam tarım alanının 798 bin hektarında sebze yetiştirilmekte olup bu alandan 2 milyon tona yakın hıyar üretimi yapılmaktadır (TUIK 2017).

Hıyar bitkisi A, C, E ve K vitaminlerinin yanı sıra protein, diyetlifleri, folat, niasin, pridoksin, riboflavin, tiamin, sodyum, potasyum açısından zengindir. Ayrıca kalsiyum, demir, magnezyum, manganez, fosfor, çinko gibi sağlık açısından çok önemli mineralleride içermektedir (Anonim, 2019b).

Tüm bu faydalara sahip hıyar bitkisi düşük kalori değeri (16 kcal) ve yüksek su içeriği (% 95) nedeniyle diyet listelerinin önerilen besinidir. Günlük kullanımda taze ve turşuluk olarak da tüketilen hıyar, besin kaynağı olmasının yanı sıra meyvesinden hazırlanan özütler yaşlanma karşıtı (Anti-ageing) kozmetik ürünlerde; temizleme solüsyonları, maskeler ve kremlerde yer almaktadır. (Akköprü, 2012; Anonim, 2019a). İnsan sağlığı üzerine birçok olumlu etkisi olan hıyar bitkisinin üretim alanlarını kısıtlayan önemli faktörlerden biri de stresdir.

Bitkisel üretimde stres, bir veya birden fazla faktörün, bitkiyi çevresel olarak etkileyerek büyümede yavaşlama ve verim düşüklüğüne neden olması biçiminde tanımlanmaktadır (Turhan ve ark., 2015).

Bitkilerin gelişimleri üzerine kısıtlayıcı etkiler yapıp bitkinin büyüme, gelişme ve metabolizması üzerine etki eden veya engelleyen stres faktörü biyotik ve abiyotik olarak ikiye ayrılmaktadır. Biyotik stres faktörleri virüs, bakteri ve fungus gibi patojenler, böcekler ve diğer herbivorlar iken abiyotik stres faktörleri olarak soğukluk, sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, su fazlalığı, radyasyon, çeşitli kimyasallar, rüzgar ve toprakta besin yetersizliği gibi çevresel faktörler sayılabilmektedir (Yılmaz ve ark., 2011). Bu çevresel

faktörler içerisinde sayılan tuzluluk stresinin, dünya genelinde tarımsal açıdan önemli bitkilerde, ürün potansiyelinin yaklaşık yarısının kaybına neden olduğu tahmin edilmektedir (Yılmaz ve ark., 2014).

Dünya topraklarını etkileyen en büyük sorunların başında gelen tuzluluk; özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanarak yeraltı suyuna karışan çözünebilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun topraktan ayrılarak tuzun toprak yüzeyinde ve yüzeye yakın bölümünde birikmesi olayıdır (Kıran ve ark., 2014).

Tuzluluk ana kayaların ayrışması, tuz deposu okyanuslar ve iklimsel etmenler sebebiyle doğal yollarla oluşabilir veya tarımsal alanlarda yoğun sulama ile çeşitli tuzlar bakımından zengin yer altı suyu seviyesinin toprak yüzeyine kadar yükselmesi, aşırı otlama, bir bölgenin doğal vejetasyonunu yok ederek tarım arazilerinin açılması ve toprakların tuzluluğa sebep olan kimyasallarla kontaminasyonu sonucunda da meydana gelebilmektedir (Çulha ve Çakırlar, 2012).

Tuz stresi bitkide genellikle üç nedenle ortaya çıkabilir. Kök bölgesinde çözünmüş tuzların yoğunluğunun artması nedeniyle bitkinin suyu almakta güçlük çekmesi, fazla Cl^- ve Na^+ alımı ile ilgili özel iyon toksisitesi ve fazla miktarda Na^+ ve Cl^- alınması ile potasyum, nitrat ve fosfat alımının azalması veya bu iyonların dengesinin bozulması ile görülen dengesiz iyon alımı veya yetersiz besin maddesi alımıdır (Gorham ve ark., 1985; Karadavut, 2002; Anonim, 2018b).

Tuzun konsantrasyonu ve içeriği, bitkinin özelliği, strese maruz kalma süresi ve bitkinin bulunduğu fenolojik dönem gibi etkenler tuz stresinin bitkilerde büyüme ve gelişme üzerindeki olumsuz etkisini değiştirebilmektedir (Shams, 2019).

Tuz stresi, bitkilerde hücre bölünmesini ve uzamasını etkiler böylece yapraklarda küçülme ve incelme ile sayılarında azalma gözlenebilir. Ayrıca yaprak yüzeyinde bulunan mumsu tabaka ile kutikula tabakasında incelme meydana gelir. Erken dönemde kökte lignifikasyon oluşumu da gözlenir ve kökte bulunan tüyler tuz konsantrasyonuna bağlı olarak fonksiyonunu kaybeder veya kaybolur. Tuzluluk tohum çimlenmesi, verimi, üretken çiçek sayısı ve çiçeklenme zamanını etkileyebilir (Kara, 2011; Çulha ve Çakırlar, 2012).

Bitkinin yaşamını idame ettirmesinde ozmotik dengenin korunması, protein sentezi, stomaların hareketi ve enzim aktivitelerinin düzenlenmesi gibi yaşamsal

olaylarda rol alan K^+ önemli bir elementtir. Tuzluluk nedeniyle dış ortamda fazla bulunan Na^+ iyonunun hücreye girişi artarmakta ve K^+ elementinin bağlanacağı alanlar için K^+ ile rekabete girmektedir. Böylece hücre içindeki K^+ etkinliği son bulur ve hücre içerisindeki Na^+/K^+ dengesi bozulur. Ayrıca biriken Na^+ hücre zarında bulunan Ca^{+2} ile yer değiştirerek zarın apoplast kısmında Na^+/Ca^{+2} iyon oranını atmasına neden olarak zarın fizyolojik ve fonksiyonel yapısının bozulmasına neden olur. Biriken tuz konsantrasyonunda kloroplast, mitokondri, çekirdek, endoplazmik retikulum ve golgi ayrıtı da olumsuz etkilenen organellerdir. Ayrıca tuz stresinin fotosentez, stomalar ve fotosentetik mekanizmalar üzerine de olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir (Çulha ve Çakırlar, 2012). Tuz stresi altındaki bitkiler su kaybını azaltmak için stomalarını kapatmakta, böylece CO_2 gazının girişi engellenmektedir. Bunun sonucu olarak CO_2 fiksasyonu azalmaktadır (Koç, 2005).

Levitt (1980)'in açıkladığı iki farklı mekanizma, daha sonraki yıllarda Marschner (1995), tarafından da geliştirilerek anlatılmıştır. Buna göre, eğer bir bitkide tuzdan sakınım (exclusion) ve tuzu kabullenme (inclusion) mekanizmalarından birisi iyi gelişmiş ise, bu bitki genotipinin tuza toleransı yüksek olmaktadır. Tuzdan sakınım mekanizmasına sahip olan bitkiler, tuzun alınmasını sınırlama yoluyla toksisiteyi önleme yolunu kullanmaktadırlar. Bu sınırlama bitki kökünün belirli iyonlar için (Na^+ , Cl^-) düşük geçirgenliğe sahip olması ve bu sayede ortamdaki tuzu bünyesine almamasıyla olabilmektedir (Çulha ve Çakırlar, 2012). Bu bitkiler tuz içeren bitki bölümlerini dökmek suretiyle de tuzu bünyesinden uzak tutarak hücre içindeki tuz konsantrasyonunu sabit olarak koruyabilmektedirler. Tuzu kabullenme mekanizmasına sahip bitkiler ise Na^+ ve Cl^- iyonlarına doku toleransı göstermektedirler. Bitki Na^+ iyonunu fazlaca aldığı halde, zararlanma belirtisi göstermiyor veya çok az etkileniyorsa doku toleransından söz edilebilir. Daha genç ve aktif dokularda bulunan Na^+ ve Cl^- iyonlarının tekrar floeme gönderilerek dokuda bulunan tuz seyreltilebilir ya da fazla tuzu biriktiren yaşlı yapraklara göndererek zararsız hale getirebilir (Çulha ve Çakırlar, 2012). Bu tip bitkilerde tuzun hücreler içinde tutulduğu ve tuz bezleri gibi özelleşmiş hücrelerde biriktirildiği bilinmektedir. Bu iki tolerans mekanizması esas anlamda kabul ediliyor olsa da tuza karşı toleransın mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış değildir (Babourina ve ark., 2000).

Tuz stresinin tarımsal üretimde yaklaşık % 50 kayba neden olduğu tahmin edilmektedir, bu nedenle sürdürülebilir bir tarım ve verim artışı için bitkilerde tuz toleransının artırılması için yeni stratejilere gereksinim duyulmaktadır (Yıldız ve ark., 2014).

Tuz stresi dışında bitkilerin doğada maruz kaldığı biyotik faktörler kalite ve kantite bakımından önemli kayıplara neden olabilirler. Bitki hastalıkları bu faktörlerin başında gelmekte olup özellikle *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans*'ın neden olduğu Köşeli yaprak leke hastalığı hıyarda dünya çapında görülen en önemli hastalıklardan biridir (Akköprü, 2012).

Pseudomonas syringae pv *lachrymans* Gram-negatif, 1-5 polar kamçılı, teker teker bazen de uzun zincirler şeklinde bulunan aerobik karakterde bir bakteridir. Optimum gelişme sıcaklığı 25-27 °C, maksimum 35 °C minimum ise 1 °C'dir. Hastalık etmeni bitki artıklarıyla toprağa geçerek toprakta 1-2 yıl canlılığını koruyabilmekte, ancak bitki artıkları olmadığında toprakta uzun süre yaşayamamaktadır (Anonim, 2008).

Hastalık konukçuları kabakgiller familyası olup hastalık bu bitkilerin gövde yaprak ve meyvelerinde belirti meydana getirir (Agius, 2005). Hastalığın ilk belirtileri kotiledon yapraklarda şeffaf, düzensiz, yağ lekeleri şeklindedir. Hastalık zamanla gerçek yapraklara geçerek, damarlar tarafından sınırlandırılmış köşeli yağ lekelerini oluşturur. Lekeler zamanla içe kıvrılır, ölür ve kurur. Lekeli kısımlar sağlam dokudan ayrılır, düşer ve yapraklarda düzensiz delikler oluşur. Sabahın erken saatlerinde ve yüksek orantılı nem koşullarında yaprağın alt yüzeyindeki lekeler üzerinde bakteriyel akıntı görülür ve sonra bu akıntı beyazımsı bir kabuk şeklinde kurur. Hastalığın meyvedeki belirtisi, küçük, yuvarlak, hafifçe içe çökük, sarı lekeler şeklindedir, enfeksiyonlu kısım ölünce doku beyazlaşır, çatlayarak açılır ve buradan zamanla saprofit mikroorganizmalar giriş yapar ve meyvelerin çürümelerine neden olur (Agius, 2005).

Hastalık ülkemizde hıyar üretimi yapılan her yerde görülmektedir. Hıyar üretimi yapılan yörelerde bazı yıllarda hastalık önemli zararlara neden olabilmektedir (Anonim, 2008).

Hastalıkla kültürel mücadele olarak hastalıktan ari temiz tohum ve dayanıklı çeşit kullanılmalıdır. Bunun yanında ürün rotasyonu, hastalık etmeninin ortamdan uzaklaştırılması, vektörlerle mücadele ve özellikle seralarda hastalık için uygun ortamın oluşturulmaması da kültürel mücadele için önemli basamakları oluşturmaktadır.

Kimyasal mücadelede ise bakırlı bileşikler, maneb ve mancozeb'ten faydalanılabileceği bildirilmektedir (Agiros, 2005; Akköprü 2012).

Hastalıkla mücadelede yöntemlerinde kültürel önlemlerin her zaman istenilen sonucu vermemesi, kimyasal mücadele uygulamalarının ise insan ve hayvan sağlığına zarar vermesi, gıda ürünlerinde kalıntı bırakması, çevreyi kirletmesi ve yüksek ilaç fiyatları gibi olumsuz etkileri nedeniyle daha çevre dostu ve sürdürülebilir bir mücadele yöntemi olan biyolojik mücadele ümit verici olmaktadır. (Uygun, 2010; Akköprü, 2012)

Faydalı mikroorganizmaların, bitkideki stres koşullarının olumsuz etkilerini azaltma ve bitki hastalıklarını kontrol etme gibi özelliklere sahip olmaları nedeniyle biyolojik mücadeledeki önemi her geçen gün hızla artmaktadır (Sülü ve ark., 2016). Rizosferde büyük kısmını bakterilerin oluşturduğu yoğun bir mikroorganizma popülasyonu bulunmakta olup topraktaki fizyokimyasal aktivite tamamen bu mikroorganizmalara bağlı gerçekleşmektedir (İmriz ve ark., 2014).

Bu faydalı mikroorganizmaların başında bitki gelişimi üzerinde yararlı etki gösteren kök bakterileri gelir ve bitki gelişimini arttıran kök bakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria –PGPR-) olarak adlandırılmaktadır ve biyolojik savaş elmanı olarak kullanılabilmektedirler (Kloepper ve Schroth, 1981). PGPR'ler toprakta doğal olarak bulunan, bitki köklerinde kolonize olan, bitki gelişimini uyarıcı, hastalık ve zararlılara karşı biyokontrol aktivitesi gösteren kök bakterileridir. Bu PGPR bakterilerinin bir kısmı yaşamlarının en az bir dönemini bitkilerin içsel dokularında endofitik olarak sürdürülebilirler (Hardoim ve ark., 2008; Sülü ve ark., 2016). Bu gruba ise Endofitik Bakteriler (EB) denmektedir (Hardoim ve ark., 2008).

Hallmann ve ark. (1997), endofitik bakterileri, konukçu bitkiler üzerinde gözle görülür hiçbir zararlı etkisi olmayan, yüzeyi sterilize olan bitki dokularının içinden izole edilerek tespit edilebilen tüm bakteriler diye tanımlamıştır. Endofitler, bitkilerde lokal ya da sistematik olarak hücreler arasında olmakla birlikte kolonize olabilirler (Ryan ve ark., 2008). Endofit bakteriler bitkilerin meyve, çiçek, yaprak, gövde, kök ve tohumlarından izole edilebilmektedirler (Lilley ve ark., 1996).

Endofitik bakterilerin geniş bir bitki çeşitliliğinden izole edildiğini Sturz ve arkadaşları (2000), belirtmiştir. Zinniel ve arkadaşları (2002), yaptıkları çalışmada 4 kültür bitkisi ve 27 çayır bitkisinin toprak üstü aksamından 853 endofitik bakteri türünün izole edilebildiğini bildirmişlerdir.

Epifit PGPR'lerden ayrı olarak EB'ler bitki dokusu içerisinde bulduklarından dışardaki antagonist baskılardan daha az etkilenmektedirler. Ayrıca bitki içerisinde hareket edebildiklerinden dolayı ihtiyaç duydukları besine ulaşmalarında karşılaştıkları rekabet daha az olmaktadır. Bitki içerisinde olmaları ve taşınabilmeleri sayesinde EB'ler biyotik ve abiyotik stres faktörlerinden korunmaktadırlar (Sturz ve ark., 2000; Hardoim ve ark., 2008).

Birçok araştırmalar, çeşitli endofitik bakterilerin, bitki büyümesini teşvik yetenekleri üzerinde yürütülmüştür. Endofit bakteriler, doğrudan veya dolaylı olarak bitki büyüme ve gelişmesini düzenlerler. Doğrudan etkide, azot fiksasyonu, fosforun biyolojik olarak alınabilir hale gelmesi, siderofor yardımıyla bitkilerce demirin alınması ve var olan besinlerin çevreden emilimi kolaylaştırmasının yanı sıra bitkisel hormonların üretilmesi gibi mekanizmalar ile bitkiye katkıda bulunabilir. Dolaylı etkide ise; konukçunun doğal direnci artarak veya rekabet, hiperparazitizm gibi biyolojik savaş mekanizmaları ile katkı sağlayabilirler (Tsavkelova ve ark., 2007; Jha ve ark., 2012). Ayrıca, ozmotik basıncın ayarlanması, stomaların düzenlenmesi, kök morfolojisinin değişmesi, minerallerin alınımını arttırımı gibi faaliyetler, endofit bakterilerin bitki büyümesi ve gelişimi üzerine diğer faydalı etkileri olarak sayılabilmektedir (Compant ve ark., 2005).

Endofit bakteriler, bitki büyüme ve gelişimindeki potansiyel kullanımlarının yanı sıra, patojenler üzerinde antagonistik etkiye sahip olmaları ve abiyotik stresi hafifletmesi nedeniyle her geçen gün artan bir ilgiyi üzerlerine çekmektedirler (Compant ve ark., 2005; Ryan ve ark., 2008; Mercado- Blanco ve Lugtenberg, 2014).

Bu çalışmada; tuzlu bölgelere adapte olmuş yabancı bitkilerden endofitik bakterilerin izole edilmesi, bu endofit bakterilerin *in vitro* koşullarda bazı karakteristik özellik ve biyokontrol aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda başarılı olan aday izolatların *in vivo* koşullarda tuzluluk stresi, bitki gelişimi ve *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın oluşturduğu hıyar köşeli yaprak leke hastalığına karşı biyolojik savaş potansiyelinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Bitki gelişimini arttırma potansiyelleri *in vitro* koşullarda belirlenmiş olan 6 EB izolatının; hıyar bitkilerinde bitki büyüme parametrelerine ve verime etkisi ile bitki içerisinde kolonizasyon potansiyelleri araştırılmıştır. EB uygulamalarının, bitki gelişimi ve verimini negatif kontrole oranla % 5-28 oranında artırdığı belirlenmiş ve EB'lerin bitki içinde 62 gün süreyle hıyar köklerinde ve yeşil aksamında başarıyla kolonize olduğu saptanmıştır (Akat, 2015).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, sağlıklı hıyar ve kabak bitkilerinden izole edilen endofitik bakteriler *in vitro* koşullarda testlenmiştir. 104 izolattan yaklaşık % 17'sinin IAA, % 50'sinin siderofor üretimi ve % 32'sinin ise fosfatı çözebilme yeteneğine sahip olduğu saptanmış ve bu sonuçlar doğrultusunda endofitik bakterilerin bitki büyümesini teşvik etme potansiyelinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Fakhraei ve Özaktan, 2015).

Ülkemizdeki bir başka çalışmada ise topraksız tarım sisteminde hıyar, biber ve domates'in gelişimi üzerine PGPR'ların olası etkileri araştırılmıştır. PGPR olarak; 18/1K: *Pseudomonas putida*, 21/1K: *Enterobacter cloacae*, 62: *Serratia marcescens*, 70: *P. fluorescens*, 66/3: *Bacillus sp.*, 180: *P. putida* altı doğal izolat ve *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 iki ticari PGPR preparatı kullanılmıştır. İzolatların IAA üretimi ve fosfatı çözebilme yetenekleri değerlendirilmiştir. *P. putida*, *S. marcescens* ve *P. fluorescens* ile uygulanmış hıyar bitkileri negatif kontrole göre sırasıyla % 42, % 43 ve % 20 oranında toplam verimi arttırmıştır. Araştırmacılar tarafından bakterilerin kök kolonizasyonu, bitki gelişimi, bitki besin maddesi alımları ve verime olan etkilerine bakıldığında da *Bacillus spp.*, *P. putida* ve *P. fluorescens*'in topraksız ortamda sebze yetiştiriciliğinde olumlu katkılar sağladığı belirlenmiştir (Gül ve ark., 2008).

Cezayir'de yürütülen bir çalışmada *P. agglomerans* olarak tanısı yapılan bakterinin IAA, siderofor ve fosfatı çözme aktiviteleri sahip olduğu belirlenmiş ve tuzlu koşullarda bitki gelişimini arttırdığı belirlenmiştir (Silini-Chérif ve ark, 2012).

Tuz stresinin çimlenme üzerine olumsuz etkiler yaptığı bildirilmektedir. (Kara ve ark., 2011) farklı çeşitlerde tritikale bitkisininin tohumlarını laboratuvar koşullarında farklı tuz konsantrasyonları (kontrol, EC değeri 3.9, 6.1, 8.3, 10.5, 14.9, 19.3, 25.0 dS/

ile muamele etmiş ve tuz stresi altındaki tohumların zamana bağlı çimlenme süresi üzerinde olumsuz etki ettiklerini belirlemişlerdir.

Pakistan Thar çölünde yetişen bitkilerden izole edilen 16 EB izolatı *in vitro* koşullarda testlenmiş ve 5 izolatın siderofor, 4 izolatın IAA ve 2 izolatın fosfataz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca izolatların çoğu 0.5-1-1.5 ve 2 molar tuz içeren besiyerinde gelişebilmiş ve 1 izolat ise *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. *In vitro* koşullarda başarılı bulunan 10 aday izolat *in vivo* koşullarda *Arabidopsis thaliana*'da tuz stresi altında testlenmiştir. Sonuç olarak *Bacillus cereus* PK6-15, *B. subtilis* PK5-26 ve *B. circulans* PK3- 109 izolatları, tuz stresi koşulları altında bitki büyümesini EB uygulanmayan bitkilere kıyasla önemli ölçüde arttırmış ve bitki taze ağırlığını iki katına çıkarmıştır (Bokhari ve ark., 2019).

Çin'de yürütülen bir çalışmada bitki büyümesi ve membran geçirgenliği, antioksidan enzim aktivitesi ve iyon alımı arasındaki ilişkileri incelemek için NaCl stresine karşı farklı duyarlılıklara sahip (Jinchun No. 2: duyarlı ve Zaoduoja: toleranslı) iki salatalık çeşidi kullanılmıştır. Artan NaCl konsantrasyonuna karşı Jinchun No. 2'de daha belirgin olmakla birlikte iki çeşitte de sürgün ve kök kuru ağırlıkları, bitki boyu, gövde çapı, yaprak alanı ve yaprak sayısında azalma meydana gelmiştir. Ek olarak, her iki çeşidin yaprak, gövde ve kökü içindeki Na⁺ içeriği önemli ölçüde artarken, Na⁺ konsantrasyonları arttığında K⁺ içeriği önemli ölçüde azaldığı ve Na⁺ / K⁺ oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir (Zhu ve ark., 2018).

Kang ve ark. (2014), tarafından hıyar bitkilerinde *Burkholderia cepacia* SE4, *Promicromonospora* sp. SE188 ve *Acinetobacter calcoaceticus* SE370 adlı 3 PGPR suşu tuzluluk stresine karşı kullanılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde tuz stresi yokluğunda PGPR uygulamalarının bitkilerde sürgün ağırlığı ve klorofil miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Aynı şekilde tuz uygulaması yapılan gruplarda PGPR'ların sürgün ve klorofil içeriğinde artış sağladığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra *B. cepacia* suşunun % 10.0, *A. Calcoaceticus*'un % 9.8 ve *Promicromonospora* sp. suşunun ise % 11.2'lik bir oranla yaprak oransal su içeriğini kontrole göre attırdığı belirlenmiştir. Aynı izolatlar membran zararlanma oranında bitkileri korumuş ve kontrole göre daha düşük elektrolit sızıntısı meydana getirmiştir.

Dört PGPR bakteri suşu *Staphylococcus* sp. suş I26, *Bacillus* sp. L81 suşu, *Curtobacterium* sp. M84 suşu ve *Arthrobacter oksidans* BB1 suşu, *Arabidopsis thaliana*

(fare kulağı teresi) bitkisinde biyotik ve abiyotik strese karşı testlenmiştir. PGPR uygulaması yapılan bitkilere biyotik faktör olarak *Pseudomonas syringae* pv *tomato*, abiyotik faktör olarak da 60 mM tuz stresi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tüm bakteriler yaprak patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı koruma sağlarken, tuz stresine karşı da bitki toleransını arttırdığı belirlenmiştir. *Bacillus* sp. L81 suşu ve *Arthrobacter oksidans* BB1 suşunun, hastalık endeksinde sırasıyla % 61.2 ve % 52.3 oranında azalma meydana getirdiği belirlenmiştir. Buna karşın aynı bakterilerin tuz stresine bağlı bitkideki ölüm oranlarında sırasıyla % 72.4 ve % 57.8 azalma sağladığı bildirilmiştir (Barriuso ve ark., 2008).

Smith ve Brayn (1915), hastalığın etmenini tanılamaya yönelik yaptıkları çalışmalar sırasında etmenin konukçusunda oluşturduğu gözyaşı benzeri bakteriyel akıntılardan esinlenerek, Latince gözyaşı anlamına gelen “*lachrymans*” adını vermişler ve etmeni *Bacterium lachrymans* olarak adlandırmışlardır. Daha sonra Carsner, (1918) etmeni *Pseudomonas lachrymans* olarak adlandırmış, fakat günümüze kadar farklı birçok isim almış ve Young ve Wilkie' tarafından 1978'de *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*) olarak adlandırılmıştır (Bradbury, 1986). Günümüzde hıyar köşeli yaprak leke hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* taksonomik olarak; Bacteria (Domain), Proteobacteria (şube), Gammaproteobacteria (sınıf), Pseudomonadales (takım), Pseudomonadaceae (aile) *Pseudomonas* (cins) içinde yer almaktadır (Kado, 2010).

Etmen kabakgillere özelleşmiştir ve belirlenen bazı doğal konukçuları şöyle sıralanabilir; Karpuz (*Citrullus lanatus*); batı hint gherkini (*Cucumis anguria*); kavun, miskkavunu, kış kavunu (*Cucumis melo*); hıyar (*Cucumis sativus*); kabak ve balkabağı (*Cucurbita maxima*); *Cucumis melo* var. *indorus*; *Cucurbita pepo* var. *medullosa*; *C. pepo* var. *melo*; *Bryonopsis laciniosa*; *Cucumis dispeceus*; *Lagenaria leucantha*; Lifkabağı (*Cucumis acutangulus*) (Bradbury, 1986). Olczak-Woltman ve arkadaşları (2008), *Psl*'ye karşı hıyar çeşitlerinin etkinliğini belirlemek amacı ile yürüttükleri çalışmada, 84 hıyar çeşidi arasından yalnızca 5 F1 hibrit çeşidinde orta düzeyde toleranslık belirlemişlerdir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda ise, sofralık hıyar çeşitlerinin hastalığa karşı duyarlı, kornişon çeşitlerinin ise tolerant oldukları belirlenmiştir (Özaktan ve Bora 199; Türküsay 1998).

Hıyar köşeli yaprak leke hastalığının, bitkide meydana getirdiği belirtiler birçok bilim adamı tarafından çalışılmıştır (Nazir ve ark., 2010). Keppler ve Novacky (1986), hıyar fidelerindeki ilk görülen simptomların, kotiledonların uçlarından başlayan doku çöküşleri şeklinde olduğunu kaydetmiştir. Yaprak belirtileri ise, damarlar tarafından sınırlandırılmış düzensiz bir şekil halinde suda ıslanmış lekeler şeklinde başlar ve bu lekeleri yaprağın alt yüzeyinde bir eksudat çıkışı takip eder. Bu eksudat zamanla kurur ve açık gri bir renk alır. İlerleyen dönemde bu lekelerin bulunduğu kısımlar kurur, dökülür ve yapraklarda büyük delikler oluşturur (Jindal, 1994; Verma ve Sharma, 1999).

Birçok araştırmacı tarafından, *PsI*'nin hastalıklı bitki artıklarında, tohumda ve toprak içerisinde taşındığı bildirilmiştir (Nazir ve ark., 2010). Gilbert ve Gardner (1918), tohumun dış yüzeyinde yaşamını sürdüren bakterinin, 20 aylık depolama süresi sonrasında hastalık oluşturabildiğini bildirmiştir. Mısır'da infekteli tohumlardan yetiştirilen hıyar fidelerinin % 98'inde hastalığa rastlanıldığı kaydedilmiştir (El-Sadek ve ark., 1992). *PsI*'nin infeksiyonunun farklı hıyar çeşitlerinin kuru ağırlığında % 4.4-30.05, su içeriğinde % 8.2-35.4, gövde uzunluğunda % 7.0-13.9 ve kök uzunluğunda % 16.5-25.2 oranında azalmaya sebep olduğu rapor edilmiştir (Mohamed ve ark., 2000).

Hıyar bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığının oluşumunda çevre faktörlerinin özellikle sıcaklık ve yüksek nemin çok önemli olduğu, konu üzerine yürütülen ilk çalışmalardan beri bilinmektedir (Carsner 1918, Agios 2005). Bitki türlerinin ve çevre faktörlerinin epifitik bakteri popülasyonu üzerine etkilerini belirlemeye yönelik yapılan çalışmaya diğer türlerin yanı sıra içlerinde *PsI*'nin de bulunduğu 15 *Pseudomonas syringae* straini dahil edilmiştir. *Pseudomonas syringae* strainlerinin yaprak yüzeyinde hızlı bir şekilde popülasyonu oluşturma ve popülasyonu sürdürme konusunda büyük bir yeteneğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu yeteneklerini farklı çevre koşullarında da diğer bakteri türlerine göre korudukları tespit edilmiştir (Brien ve Lindow 1989).

Duyarlı ve tolerant hıyar çeşitlerinde kök bakterileri (KB) yoluyla uyarılan bitki dayanıklılığının, hıyar köşeli yaprak leke hastalığına (*PsI*) ve topraksız tarım sisteminde toplam pazarlanabilir verime olan etkilerinin belirlendiği bir çalışma yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre KB uygulamaları, topraksız tarım sisteminde, duyarlı hıyar çeşidinde hastalık şiddetini pozitif kontrole göre % 33, tolerant hıyar çeşidinde ise % 17 oranında engellediği belirtilmiştir. Hastalık baskısının olmadığı koşulda, KB uygulamasının

pazarlanabilir verimi duyarlı ve tolerant çeşitte negatif kontrole göre, sırasıyla, % 33 ve % 67 oranında arttırdığı gözlenmiştir (Akköprü 2012).

Hıyar bitkilerinin farklı kısımlarından elde edilen endofitik bakteri (EB) izolatlarının hıyar köşeli yaprak leke hastalığına *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, karşı biyokontrol etkisinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada *in vitro* da yapılan testlerde 38 EB izolatının tamamı Indol-3-Asetik Asit (IAA), % 95'i siderofor üretme, % 42'si fosfatı parçalama, ve % 20'si antibiyosiz özellik göstermiştir. *In vitro* çalışmaları sonucunda başarılı bulunan 24 EB izolatı *in vivo* denemelerinde *Psl*' ye karşı kullanılmıştır. *In vivo* koşullarda testlenen EB izolatlarının % 21'i hıyar bitkilerinde *Psl*'nin gelişimini % 50'den daha yüksek oranda engellediği rapor edilmiştir (Akbaba, 2014).

Raupach ve Kloepper, (2000)'in yaptıkları bir çalışmada PGPR uygulamalarının *Psl*'nin oluşturduğu hastalık şiddetini kontrole kıyasla önemli ölçüde azalttıklarını belirlemişlerdir.

Raupach ve Kloepper, (1998) hıyar bitkilerinde *Bacillus pumilus* NR7, *Bacillus subtilis* GB03 ve *Curtobacterium flaccumfaciens* ME1'i izolatlarını *P. syringae* pv. *lachrymans*'a, karşı kullanmıştır ve üç izolatında kontrole kıyasla önemli hastalık koruması sağladığını bildirmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Test bitkisi ve stres faktörleri

Çalışmada Bursa hıyar çeşidi (Alfa Tohumculuk) bitki materyali olarak kullanılmıştır. Abiyotik stres koşulları oluşturulmasında tuz kaynağı olarak NaCl kullanılmıştır. Test patojeni olarak da Van Yüzüncü Yıl Üniv., Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bakteriyoloji Laboratuvarı stoklarında bulunan *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* CFBP 2262 izolatu biyotik stres faktörü kullanılmıştır.

3.1.2. Endofitik bakteriler

Van ilinin Tuşba ilçesine bağlı Gedikbulak (Timar) mahallesinde (38.39 N - 42.83 E) bulunan halen doğal tuz elde etmek amacıyla aktif şekilde kullanılan çok tuzlu bir su kaynağının (EC 39.42 mS/cm) etkisi altında bulunan topraklarda yetişen bitkiler hedef alınmıştır. Tuzlu suya maruz kalmış olmasına rağmen gelişebilmiş yabancı bitkilerden endofit bakteriler izole edilip çalışmada kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri

EB'lerin izolasyonu ve bazı biyokimyasal testler için Triptik Soya Agar (TSA) ve (Çizelge 3.3) Nutrient Broth Agar (NBA), çoğaltılması ve bazı *in vitro* testler için King's B (KB) (Çizelge 3.1), fosfataz aktivitelerini belirlemek için NBRIP Agar (Çizelge 3.4), siderofor oluşturma yetenekleri belirlemek için Blue-CAS Agar (Çizelge 3.5), ACC Deaminaz aktivitesinin belirlenmesi için DF besiyerleri ve izolatların -80°C'de uzun süre saklanması için %15 glycerol içeren NB (Çizelge 3.2), kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Bakteri izolasyonu, pigment oluşumu ve genel besiyeri olarak kullanılan King B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

Besi yeri	Kimyasallar	Miktar (1000 ml)
King's B (King ve ark., 1954)	Pepton	20 g
	Gliserol	10 g
	K ₂ HPO ₄	1.5 g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	1.5 g
	Agar	16 g
121°C 20 dk otoklavlandı		

Çizelge 3.2. EB'lerin stok olarak saklanması için kullanılan glycerol içeren NB ortamı ve gerekli kimyasallar ve miktarları

% 15 gliserol katkılı nutrient broth besiyeri (Lelliot ve Stead, 1987).	
Kimyasal	Miktar
Nutrient Broth	0.8 g
Distile su	85.0 ml
Glycerol	20 ml

Çizelge 3.3. Endofitik bakterilerin *in vitro* biyokontrol etki testleri için Triptik Soya Agar (TSA) genel besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml TSA besiyeri	
Kimyasal	Miktar
Triptic soy broth	30 g
Agar	16 g
121 °C de 20 dk. otoklavlanır	
Cycloheximide*	0.01 g

*: Cycloheximide, 1-2 ml alkolde çözüldükten sonra sterilize edilmiş, 50 °C' ye kadar soğutulmuş TSA ortamına eklenir.

Çizelge 3.4. Endofitik bakterilerin fosfatı çözme aktivitelerini belirlemek amacıyla kullanılan NBRIP Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları

NBRIP besiyeri (1000 ml için) (Nautiyal, 1999)	
Kimyasal Miktar	Miktar
Glucose	10 g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1 g
KCl	0.2 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.25 g
MgCl ₂ 6H ₂ O	5 g
pH 7.0' ye ayarlandı.	
Agar	15 g
121°C' de 20 dk. otoklavlanır.	

Çizelge 3.5. Endofitik bakterilerin siderefor oluşturma yeteneklerinin belirlenmesinde kullanılan Blue-CAS Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları

Blue CAS Agar Besiyeri (Klement ve ark., 1990)	
Casamino asit solüsyonu	1) 60.5 mg chrome azürol S (CAS) (50 mL saf su içinde çözüldü) 2) 10 mL Demir (III) solüsyonu (1 mM FeCl ₃ .6H ₂ O (0.027g/100 mL 10 mM HCl), 10 mM HCl (0.036 g/100 mL) içinde çözülür) 3) 72.9 mg HDTMA (40 mL su içinde çözüldü, 1 ve 2 basamağa eklenir) Koyu mavi süspansiyon otoklavda sterilizasyonu 121°C / 15 dk.
Free asit solüsyonu (750 mL suda)	30.24 g Pipes (Free asit) 12 g NaOH (50 % (w/v))
Tuz solüsyonu (toplam 100 mL)	3 g/l KH ₂ PO ₄ (0.3 g/100 mL) 5g/l NaCl (0.5 g/100 mL) 10 g/l NH ₄ Cl (1 g/100 mL) 20 mM MgSO ₄ (0.492 g/100 mL) 20 mM MgSO ₄ (0.492 g/100 mL) 15 g Agar Free asit ve tuz solüsyonu karıştırılarak 121°C 'de 15 dk. otoklavlanır.
Filtre ile steril edilecek	10 mL (% 20'lik Sukroz veya Gulukoz solüsyonu - 4 g/20 mL Destile su-) Casamino acid 30 mL (%10 w/v) 4g/40 mL su Otoklavdan sonra süspansiyon 50 °C'ye kadar soğuduktan sonra, filtre ile steril edilen çözelti ilave edilerek petrilere dökülmüştür.

DF besiyeri: EB'lerin 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic asit (ACC) deaminase üreterek enfeksiyon sırasında oluşan etilen seviyesini azaltabilme yeteneğini belirlemek amacıyla baz olarak DF minimum tuz besiyeri (4.0 g/l KH₂PO₄; 6.0 g/l Na₂HPO₄; 0.2 g/l MgSO₄.7H₂O; 1.0 mg/l FeSO₄.7H₂O; 10 µg/l H₃BO₃; 10 µg/l MnSO₄; 70 µg/l ZnSO₄; 50 µg/l CuSO₄; 10 µg/l MoO₃; 20 g/l Agar) (Dworkin and Foster 1958) kullanılmıştır. Bu besi yerine karbon kaynağı olarak 670 mg/l malate (malic acid); 2 g/l glucose ve 2 g/l Citric acid (Ribaud et al 2016) ve tek azot kaynağı olarak ise 2 g/l (NH₄)₂SO₄ ilave edilmiştir (Penrose ve Glick 2003). ACC deaminaz aktivitesini belirlemek için ise besiyerindeki tek azot kaynağı olan (NH₄)₂ SO₄ 'nin yerine ACC (Merck KGaA) kullanılmıştır. Steril saf suda çözünen 600 mg/l ACC (6mM) filtre edilerek sterilize edilmiştir (Penrose ve Glick, 2003). Bu ACC solüsyonundan 100 µl petri yüzeyine yayılmıştır. Negatif kontrol için DF besiyeri azot kaynağı eklenmeden kullanılmıştır (Penrose ve Glick, 2003).

3.1.4. Bitki yetiştirme koşul ve ortamı

Çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne ait iklim odası ve bakteriyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada; 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık periyotta 24±2°C sıcaklığa ve %60-65 nem koşullarına sahip

iklim odasında gerçekleştirilmiştir. İklim odasında yürütülen çalışmada steril torf ve perlit kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada kullanılan endofitik bakterilerin izolasyonu

Tuzlu suya maruz kalan toprakta bulunan ve morfolojik olarak sağlıklı görünen Gramine, Chenopodiaceae vb farklı familyalara ait yabancı bitki örnekleri köklenip etiketlenerek laboratuvara getirilmiş ve sağlıklı olan kök, gövde ve yapraklarından endofit bakteri izole edilmiştir. Örnekler üzerindeki toprak musluk suyu ile yıkanarak uzaklaştırılmış, ardından 1-2 cm büyüklükteki parçalara ayrılmıştır. Kesilerek hazırlanan yaprak, sürgün ve kök örnekleri, Tween 20 (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) ilave edilmiş % 5 oranında hazırlanmış Sodyum Hipoklorite (NaClO_3), daha sonra % 70'lik Ethanole aktarılarak Çizelge 3.6.'da belirlenen sürelerde tutulmuş ve üç kez steril distile su ile durulanarak alkol ve Sodyum Hipoklorit uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan örnekler steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Bitki örneklerinin, üzerindeki epifitik bakterilerden tamamen arındığından emin olmak için; üçüncü durulama işleminde kullanılan steril distile sudan 0.1 mL alınarak Tryptic Soy Agar (TSA) ortamına yayılarak 24 °C inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda herhangi bir bakteriyel gelişmenin olmaması durumunda yüzey dezenfeksiyonunun başarılı bir şekilde yapıldığına karar verilmiştir.

Çizelge 3.6. Bitki dokularına yüzey sterilizasyonu uygulaması

	%5'lik NaClO_3	%70'lik Etil alkol	1.durulama	2.durulama	3.durulama
Bitki dokusu	10 dk	10 dk	1 dk	1 dk	1 dk

Yüzey sterilizasyonu sağlanan bitki dokularından endofitik bakteri izolasyonu için tritürasyon yöntemi kullanılmıştır. Tritürasyon yönteminde; yapraklar, ince gövde parçaları ve ince kökler steril havanda 2-3 mL distile steril su ilave edilerek ezilmiştir. Elde edilen süspansiyon 10 kez seyreltilip TSA ortamına yayma yöntemiyle ekilmiş ve bakteriyel koloniler gelişene kadar 24 °C' de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kolonilerden morfolojik yapılarına göre farklı oldukları düşünülen koloniler alt kültüre

alınarak saflaştırılmıştır. Saf koloniler %15 gliserol eklenen NB ortamına aktarılarak daha sonra kullanılmak üzere -80 C de stok olarak saklanmıştır.

3.2.2. İzole edilen endofitik bakterilerin ön tanısına dönük bazı testler

İzole edilen endofitik bakteriler King-B (King ve ark.,1954) besi yerine ekilmiş, 24 saat sonunda geliştirilen bakterilerin tütünde hypersensitive reaksiyonu, KOH testi ile Gram reaksiyonları ve floresan özellikleri saptanmıştır (Shaad ve ark. 2001).

3.2.3. EB'lerin *in vitro* karakterizasyon çalışmaları

3.2.3.1. Siderefor aktivitesinin belirlenmesi

Endofitik bakterilerin siderefor üretiminin belirlenmesi için Blue-CAS Agar besiyeri kullanılmıştır. Blue-CAS Agar besiyeri bulunan 9 cm çaplı petri kaplarına 24 saat önce ekimi yapıp geliştirilmiş kültürden birbirlerine eşit uzaklıkta olacak şekilde dört noktaya ekim yapılmıştır. Ekim yapılan CAS besi ortamları 24 °C'de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda besiyerinde koloni çevresinde sarı bir bölgenin oluşmasıyla siderefor üretiminin olduğu kabul edilmiştir. Deneme 3 tekerürlü olarak kurulmuş, endofitik bakterilerin çevresinde oluşan sarı bölgelerin yarıçapları mm olarak ölçülerek değerlendirme yapılmıştır.

3.2.3.2. Fosfatı parçalama aktivitesinin belirlenmesi

Endofitik bakterilerin fosfataz aktivitelerini belirlemek amacıyla, NBRIP Agar besiyeri kullanılmıştır (Nautiyal, 1999). Endofitik bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden 9 cm'lik petrilerdeki ortama birbirlerine eşit uzaklıklarda dört noktaya ekim yapılarak ortamlar 24°C'de 14 gün inkübasyona bırakılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. İnkübasyon süresi sonunda besiyerlerinde koloni çevresinde oluşan saydam zonların yarıçapı ölçülerek fosfataz aktivitesi değerlendirilmiştir.

3.2.3.3. ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi

Petritlerdeki karbon kaynakları ilave edilmiş DF besiyeri yüzeyine ACC süspansiyondan 100 µl ilave edilerek yayılmıştır. ACC tamamen kurduktan sonra testlenecek izolatlar ekilmiştir. Petritler 28°C’de 48-72 saat inkübe edilerek koloni gelişimi gözlenmiştir. Negatif kontrol olarak da azot kaynağı olarak (NH₄)₂ SO₄ ilave edilmiş DF besi yeri kullanılmıştır. *In vitro* çalışmalar üç tekerrürlü ve her tekerrürde 3 petri olacak şekilde yürütülmüştür.

3.2.3.4. EB’lerin tuza tolerans düzeyinin belirlenmesi

Çizelge 3.3.’de belirtildiği gibi Triptik Soya Agar (TSA) besi ortamı hazırlanmış ve endofit bakterilerin tuz toleransını belirlemek için farklı konsantrasyonlarda % 2.5-7.5-10-15 NaCl çözeltisi ilave edilip otoklavlanmıştır. 24 saatlik geliştirilen endofit bakteri kültüründen düşük konsantrasyondan (% 2.5) başlanarak ekimi yapılmıştır. Başarılı olan adaylar sırasıyla % 5-7.5-10 ve 15 konsantrasyonlarında testlenmiştir. Petritler 24°C’de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Test, her petri bir tekerrür olmak üzere 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.2.3.5. EB’lerin *Psl*’ye karşı antagonist etkilerinin testlenmesi

Endofit bakterilerin *psl*’ ye etkinliğini *in vitro*’da belirlemek amacıyla aşağıdaki yöntem izlenmiştir.

Psl’nin 48 saatlik kültüründen 10⁷ cfu/mL yoğunlukta süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 100 µl alınarak 9 cm’lik petritlerde bulunan King B besi ortamlarına baget yardımı ile yayılmış ve yaklaşık 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Ardından bu petritlere 24 saatlik endofit bakteri kültüründen; petri kenarlarına ve birbirlerine eşit uzaklıkta bulunacak şekilde dört noktaya ekim yapılmıştır. Test, her petri bir tekerrür olmak üzere 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Petritler 24°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. EB kolonilerin çevresinde *Psl* gelişiminin engellendiği zon, antagonistik etki göstergesi olarak kabul edilmiştir. Oluşan zonların yarıçapları mm cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir.

3.2.4. *In vivo* koşullarda yapılan alışmalar

In vitro çalışmalar sırasında başarılı bulunan EB izolatlarının bitki gelişimini artırıcı etkilerinin belirlenmesi, *Psl*'in neden olduğu hıyar kőşeli yaprak leke hastalığına karşı biyokontrol aktivitesi ve tuz stresi altındaki bitkilere etkilerinin belirlenmesine yőnelik çalışmalar iklim odasında yūrutūlmūřtur.

3.2.4.1. Endofit bakterilerin uygulanması

Her bir endofit bakteri izolatu 5 cm'lik petrilerdeki KB besiyerine ekilerek 48 saat 24 °C'de geliřtirilmiřtir. Bakteri kūltürleri %1.5'luk CMC (Karboksi Metil Selūloz) ile sūspanse edilmiřtir. Her endofit bakteri adayı için 15 adet hıyar tohumu kullanılmıřtır. Tohumlar musluk suyu yardımıyla yıkanarak koruyucu tohum ilaçlarından arındırılmıřtır. Steril bir beher içine alınan tohumlar hazırlanan bakteri sūspansiyonu ile kaplanmıřtır. Tohumların iyi bir řekilde kaplanmaları için 100'lūk beherler içinde 30 dakika 120 rpm de çalkalayıcıda karıřtırılmıřtır. Sūre sonunda kurutma kāėıtlarına aktarılan tohumlar ekim zamanına kadar +4°C'de bekletilmiřtir. Bu sūrenin 24 saati ařmamasına dikkat edilmiřtir. Bakteri ile kaplanmış tohumlar steril torfla doldurulmuş olan 250 mL'lik saksılara ekilmiřtir. Kotiledon yapraklar açıldıktan sonra ve ilk gerçek yapraklar oluřup ikinci gerçek yaprakların açılması sırasında, EB sūspansiyonu (10^8 cfu/mL) kőklere içirme biçiminde (10 mL/fide) uygulanmıřtır. EB uygulanmayan bitkiler ise kontrol grubu olarak deėerlendirilmiřtir. Denemeler 5 tekerrūrlū ve her tekerrūrde 3 bitki olacak řekilde tesadūf parselleri deneme desenine gőre kurulmuřtur.

3.2.4.2. Endofit bakterilerin bitki geliřimi ūzerine etkilerinin belirlenmesi

Uygulama gőrmüş hıyar fideleri son uygulamadan sonra 15 gūn iklim odasında geliřime bırakılmıř ve ihtiyaç duyduėu besin haftalık olarak Hoagland özeltisi ile saėlanmıştir. Sūre sonunda bitki geliřim parametreleri deėerlendirilmiřtir.

Bitkiler kök boğazından kesilerek gövde yaş ağırlıkları ve kök yaş ağırlıkları ile gövde kuru ağırlık ve kök kuru ağırlıkları gerekli ölçümler yapılarak değerlendirilmiştir. Deneme sonunda kesilen bitki gövde ve yıkanarak topraktan arındırılan köklerin ağırlıkları hassas terazide tartılarak yaş ağırlıkları tespit edilmiştir. Aynı bitki örnekleri, uygun alüminyum kaplara alınarak 65°C'de kurutulmuştur. (Şekil 3.1.) Örnekler belirli aralıklarla tartılmış ve ağırlık değişiminin olmadığı tespit edildiğinde tamamen kuruduklarına karar verilerek yeşil aksam kuru ağırlıkları elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Bitki yeşil aksam ve kök yaş ağırlığının tartılması ile örneklerin etüvde kurutulması.

3.2.4.3. EB'lerin hıyar köşeli yaprak leke hastalığına karşı biyokontrol aktivitesinin belirlenmesi

Patojen inokulasyonu ve hastalık şiddetinin belirlenmesi

Son EB uygulamasından 72 saat sonra tween 20 ilaveli patojen süspansiyonu (10^7 CFU/mL, OD₆₀₀: 0,05) ilk gerçek yaprağın altı hedef alınarak pülverize edilmiştir. Patojen uygulanan fideler plastik kabinlere alınmış ve ortamın nemi %80-90 olarak ayarlanmıştır. Kabinlerden 48 saat sonra çıkarılan bitkiler, yaklaşık % 60 oransal neme düşürülmüş iklim odası koşullarında gelişmeye bırakılmıştır. Hiçbir uygulama görmemiş hıyar fideleri negatif kontrol (NK), sadece patojen bakteri süspansiyonu uygulanmış hıyar fideleri ise pozitif kontrol (PK) olarak değerlendirilmiştir. Denemeler 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 3 bitki olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Patojen uygulamasından 14 gün sonra, *Ps1*'nin oluşturduğu hastalık şiddeti 0-6 skalasına

göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.7). Elde edilen skala değerleri Thousand Heuberger formülü “Eş 3.1” yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür. Uygulamaların etkinlikleri Abbot formülü “Eş 3.2” yardımı ile belirlenmiştir. Patojen ve endofit bakteri uygulamalarının bitki gelişim parametrelerine olan etkileri bölüm 3.2.4.2. de belirtilen şekilde yapılmıştır.

Çizelge 3.7. Hastalık şiddeti değerlendirmesinde kullanılan 0-6 skalası

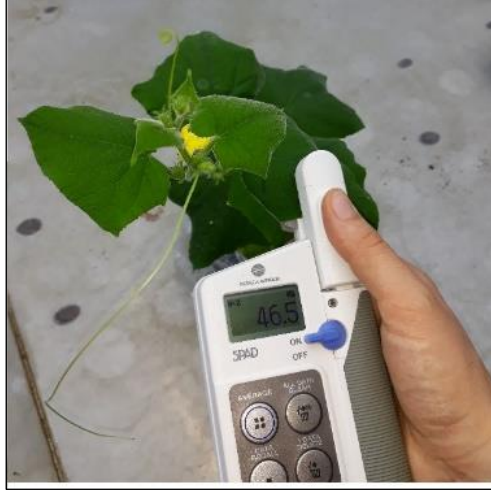
Skala değeri	Açıklama
0	Hastalık belirtisi yok
1	1-3 leke veya yaprağın %10’undan azında hastalık belirtisi
2	Yaprağın % 11-25’inde hastalık belirtisi
3	Yaprağın % 26-50’sinde hastalık belirtisi
4	Yaprağın % 51-70’inde hastalık belirtisi
5	Yaprağın % 71-90’ında hastalık belirtisi
6	Yaprağın % 91-100’ünde hastalık belirtisi veya ölüm

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\Sigma (\text{herbir yaprataki skala değerleri})}{\text{yaprak sayısı} \times \text{max. skala değeri}} \times 100 \quad (3.1.)$$

$$\% \text{ etki} = \frac{\text{Kontroldeki değer} - \text{Uygulamadaki değer}}{\text{Kontroldeki değer}} \times 100 \quad (3.2.)$$

Klorofil tayini

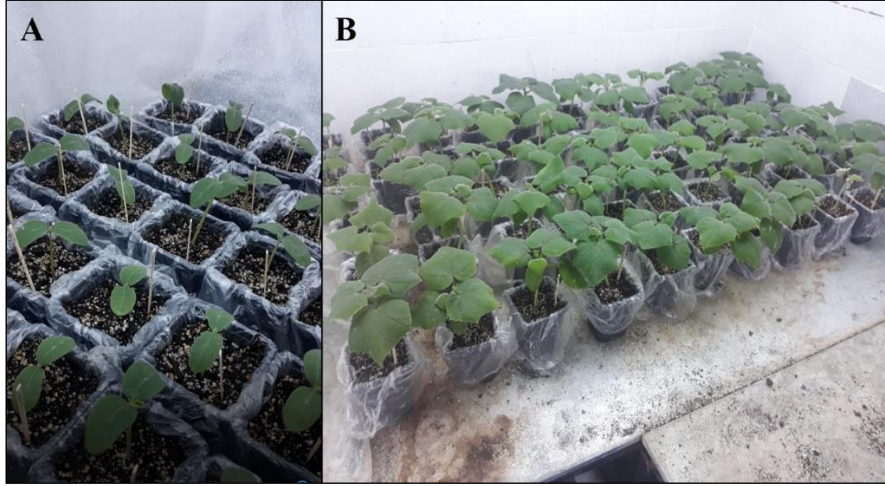
Hıyar bitkisindeki klorofil miktarı, üstten 3. yapraktan klorofil metre cihazı (SPAD-502, Minolta Ltd. Osaka, Japan) ile ölçülerek saptanmış ve cihazdan okunan değerler SPAD değeri olarak ifade edilmiştir (Şekil 3.2.).



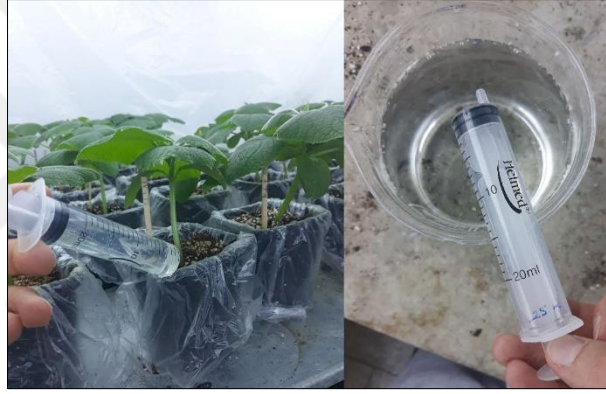
Şekil 3.2. Bitkilerde klorofil tayini.

3.2.4.4. Endofit bakterilerin tuzluluk stresine karşı etkileri

Tuzlu su drenajının engellenmesi için saksılara poşetler geçirildikten sonra torf ve perlit karıştırılarak saksılar doldurulmuştur. Çalışmanın bu bölümünde EB uygulaması içirme yöntemiyle iki defa yapılmıştır. İlk uygulama kotiledon yapraklar tamamen açılıp gerçek yapraklar görünmeye başlayınca yapılmıştır. İkinci uygulama için ise tuz uygulamasına başlamadan 3 gün önce yapılmıştır (Şekil 3.3.). Tuz uygulaması (NaCl) bitkiler 4-5 gerçek yapraklı oldukları dönemde final konsantrasyon 40, 80 ve 120 mM olacak şekilde köklere içirme biçiminde uygulanmıştır (Şekil 3.4.) Uygulamalar 4 günde bir olacak şekilde toplam 4 defa uygulanmıştır. EB uygulanmayan ve sadece tuz uygulanan gruplar pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol ve EB kontrol gruplarına ise herhangi bir tuz uygulaması yapılmamıştır. Tuz uygulamaları yapılan günlerde kontrol bitkileri de aynı miktar su ile sulanmıştır. Denemeler 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 3 bitki olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Son EB uygulamasından 25 gün sonra çalışma sonlandırılmıştır ve bitki gelişim parametreleri ile bazı fizyolojik özellikleri değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3. İlk EB uygulaması yapıldığında bitki fenolojik dönemi (A). Son EB uygulama zamanındaki bitki fenolojik dönemi (B).



Şekil 3.4. Tuzlu suyun bitki köklerine içirme biçiminde uygulanması.

Tuz stresinin etkisinin görsel olarak belirlenmesi

Çalışma sonunda Tuz stresinin etkilerinin 0-5 skalası yardımıyla belirlenmesi Kuşvuran (2010)'a göre yapılmıştır. Buna göre:

0: Hiç etkilenme yok (kontrol bitkileri)

1: Tuz stresinden hafif etkilenme (%5'e kadar)

2: Alt yapraklarda solgunluk başlangıcı ve tuz stresinden etkilenme (%6-20 arası)

3: Yapraklarda kıvrılma, solgunluk ve sararmalar (%21-50 arası)

4: Yaprakların %51-80 düzeylerinde řiddetli solgunluk, sararma, yapraklarda nekroz ve kurumalar

5: Bitkide %80 üzerinde geriye dönüşümsüz solma, yaprak kurumaları veya ölüm olarak değerlendirilmiştir.

Uygulamaların % etkinlikleri Abbot formülü “Eş 3.2” yardımı ile belirlenmiştir.

Gövde boyu ve çapı ile kök boyunun belirlenmesi

Gövde boyu için kök boğazından kesilen bitkiler büyüme ucu kabul edilen noktaya kadar cetvel ile ölçülmüştür (Şekil 3.5.). Gövde çapı dijital göstergeli kumpas yardımı ile mm (± 0.1) cinsinden belirlenmiştir (Kuşvuran, 2010). Çeşme suyu önünde yıkanarak topraktan arındırılan kökler cetvel ile ölçülerek uzunlukları belirlenmiştir (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Tuz stresi denemesinde bitki gövde ve kök boyunun belirlenmesi.

Yaprak sayısının belirlenmesi

Kontrol grupları ile tuz stresi uygulanan hıyar bitkilerinde yaprak sayısı bitki üzerindeki tüm yaprakların sayılması ile adet/bitki olarak hesaplanmıştır

Klorofil Tayini

Bölüm 3.2.4.3.’te belirtilen şekilde yapılmıştır.

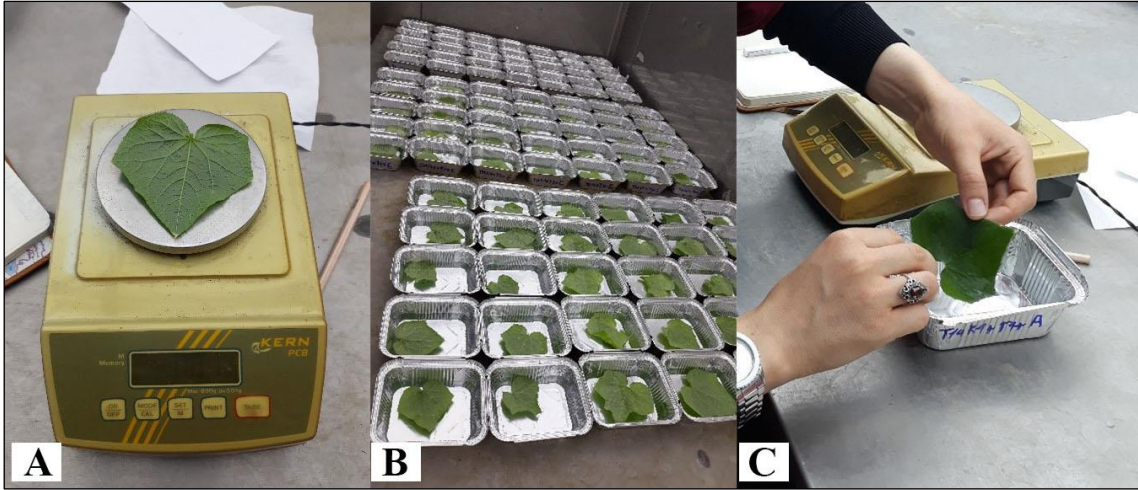
Yaprak oransal su içeriğinin belirlenmesi

Yaprak oransal su içeriği (YOSİ) Kuşvuran, (2010)’a göre yapılmıştır. Stres ve kontrol bitkilerinden her gruptan şansa bağlı 5 bitki seçilmiştir. Bu bitkilerin alttan 3.veya

4. yapraklarının oransal su içeriklerinin hesaplanması amacıyla yaprakların taze ağırlıkları hassas terazide tartıldıktan sonra yapraklar dört saat saf su içinde bekletilerek turgor ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra bu yapraklar etüvde 65 °C’de 48 saat bekletilip hassas terazide tartılmıştır. Gram cinsinden hassas terazide tartılan yaprak sonuçları “Eş 3.3”e göre hesaplanarak yaprak oransal su içerikleri yüzde cinsinden belirlenmiştir (Kabay, 2014; Kuşvuran, 2010).

$$YOSİ = [(TA-KA)/(TuA-KA)]x100 \quad (3.3.)$$

TA: Taze ağırlık, KA: Kuru ağırlık, TuA: Turgor ağırlığı



Şekil 3.6. Yaprak örneklerinin taze ağırlığının belirlenmesi (A), yaprak örneklerinin saf su içerisinde bekletilmesi (B), yaprak örneklerinin turgor ağırlığının belirlenmesi (C).

Yaprak hücrelerinde membran zararlanmasının belirlenmesi

Membran zararlanma indeksi (MZİ) hücreden dışarıya verilen elektrolitin ölçülmesi ile hesaplanmıştır. Stres ve kontrol bitkilerinden her gruptan şansa bağlı 5 bitki seçilmiştir. Seçilen bitkilerin alttan 2.veya 3. yapraklarından 17 mm çapında diskler alınmış ve saf su içerisinde 5 saat bekletildikten sonra EC değerleri ölçülmüştür. Aynı diskler 100 °C’de 10 dakika bekletildikten sonra çözeltinin EC değeri tekrar ölçülmüştür. Elde edilen değerden “Eş 4.4” yardımıyla yaprak hücrelerinde membran zararlanması yüzde olarak hesaplanmıştır (Güneri Bağcı, 2010; Kabay, 2014; Ersayar, 2017).

$$MZİ=[(Lt-Lc/1-Lc)]x100 \quad (3.4.)$$

Lt: Strese maruz bırakılmış yaprağın otoklav edilmeden önceki EC/Otoklav edildikten sonraki EC

Lc: Kontrol yaprağının otoklav edilmeden önceki EC/Otoklav edildikten sonraki EC



Şekil 3.7. Bitki disklerinin saf suda bekletilmesi ve EC ölçümleri.

3.2.5. İstatistiki Değerlendirmeler

Tez çalışması bitiminde elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket programı kullanılarak Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon Yapılan Bitki Örnekleri

Devamlı olarak tuzlu suya maruz kalan ve 3.1.2 bölümünde yeri belirtilen bölgeden farklı familyalara ait 26 bitki örneği alınmıştır. Bitki örneklerinin, tuz stresi altında yaşamını sürdürebilen örnekler olmasına dikkat edilmiştir. Bu nedenle örnekler çoğunlukla tuzlu su akan kanalların kenarında ve tuz havuzlarının yakın çevresinde toplanmıştır (Şekil 4.1.). Akan tuzlu suyun EC 39.42 mS/cm (çok tuzlu) değerine sahip olduğu belirlenmiştir. EB izole edilen bitki örneklerinin kodu ve ait oldukları familya isimlerine ait bilgiler Çizelge 4.1. de verilmiştir.



Şekil 4.1. Bitki örneklerinin alındığı tuz havuzu ve kanal çevresine ait genel görüntüler.

Çizelge 4.1. EB izole edilen bitki örneklerinin kodu ve ait oldukları familya isimlerine ait bilgiler

	Bitki kodu	Familya
1	T1	<i>Chenopodium sp</i>
2	T2	<i>Gramine/Eremopoa songarica</i>
3	T3	<i>Chenopodium sp</i>
4	T5	<i>Chenopodium sp</i>
5	T7	<i>Secale Cereale</i>
6	T8	<i>Chenopodium sp</i>
7	T10	<i>Zygophyllum Fabago</i>
8	T11	<i>Astragalus sp</i>

Çizelge 4.1. EB izole edilen bitki örneklerinin kodu, ait oldukları familya isimlerine ait bilgiler (devam)

Bitki kodu	Familya
9 T12	<i>Chenopodium</i>
10 T13	<i>Suaeda altissima</i>
11 T14	<i>Chenopodium sp</i>
12 T16	<i>Kochia prostata</i>
13 T18	<i>Chenopodium sp</i>
14 T19	<i>Zygophyllum Fabago</i>
15 T20	<i>Chenopodium sp</i>
16 T21	<i>Hypericum sp</i>
17 T23	<i>Chenopodium sp</i>
18 T25	<i>Zygophyllum Fabago</i>
19 T26	<i>Chenopodium sp</i>
20 G114	<i>Gramine sp</i>
21 G115	<i>Gramine sp</i>
22 G116	<i>Gramine sp</i>
23 G117	<i>Gramine sp</i>
24 G118	<i>Gramine sp</i>
25 G119	<i>Gramine sp</i>
26 G120	<i>Gramine sp</i>

4.2. İzole Edilen Endofitik Bakterilerin Ön Tanısına Dönük Bazı Testler

Yapılan izolasyon işlemlerinden sonra toplam 69 EB izole edilmiştir. Yedi izolat tütünde HR oluşumuna neden olmasından dolayı patojen olma ihtimaline karşı elenerek karakterizasyon testlerine tabi tutulmamıştır (Şekil 4.2). KB besiyerinde geliştirilen 24 saatlik EB kültürlerinin morfolojik özellikleri göz ile saptanmıştır. Floresan özellikler UV ışık cihazında bakılarak değerlendirilmiş ve izolatların % 9.67'sinin floresan özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. İzolatlar daha sonra KOH testi ile Gram reaksiyonuna tabi tutulmuş ve % 75.81'inin Gram (-), % 24.19'ünün Gram (+) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).



Şekil 4.2. Tütünde aşırı duyarlılık (HR) reaksiyonuna neden olan bir izolat.

Çizelge 4.2. İzole edilen endofitik bakterilerin ön tanısına dönük test sonuçları

İzolat	Gram		İzole edildiği doku	Koloni Morfolojisi	
	HR	Reaksiyon			Floresan
1 T1K1-A	-	(-)	-	Kök	Parlak krem, bombeli, mukoid
2 T1K1-B	-	(-)	+	Kök	Parlak krem, mukoid,
3 T1K2	-	(-)	-	Kök	Parlak kirlili beyaz,
4 T2K1	-	(-)	-	Kök	Açık krem, parlak, bombeli
5 T2K2	-	(-)	-	Kök	Parlak krem, mukoid
6 T3K1	-	(+)	-	Kök	Parlak krem
7 T5S1	-	(-)	-	Yaprak	Sarı, mat, kuru
8 T7K1	-	(-)	-	Kök	Bej renkli, parlak, mukoid
9 T8Y1	-	(-)	-	Yaprak	Beyaz, mat
10 T10S1	-	(-)	-	Yaprak	Şeffaf, mat
11 T11S1	-	(-)	-	Yaprak	Şeffaf, parlak
12 T12K1	-	(-)	-	Kök	Açık krem, mukoid, parlak
13 T13K1	-	(+)	-	Kök	Parlak krem, mukoid
14 T14K1	-	(-)	-	Kök	Bej, parlak
15 T14K2	-	(-)	-	Kök	Parlak krem,
16 T16S2	-	(+)	-	Sürgün	Şeffaf krem, parlak
17 T16K1	-	(-)	-	Kök	Parlak krem, bombesiz
18 T18K1	-	(-)	-	Kök	Parlak beyaz, bombeli
19 T18K2	-	(-)	-	Kök	Parlak sarı, mukoid
20 T19K1	-	(-)	-	Kök	Sarı, kuru, mat
21 T20K2	-	(+)	-	Kök	Krem, az parlak
22 T21Y1-A	-	(+)	-	Yaprak	Sarı, kuru, mat
23 T21Y1-B	-	(+)	-	Yaprak	Koyu krem, kuru,
24 T23Y1	-	(-)	-	Yaprak	Krem, az parlak
25 T23K1	-	(-)	-	Kök	Parlak krem, mukoid
26 T25K1	-	(-)	-	Kök	Krem, kuru
27 T25K2	-	(-)	-	Kök	Beyaz, tane tane gelişim
28 T25Y1	-	(-)	-	Yaprak	Yeşilimsi bej, parlak

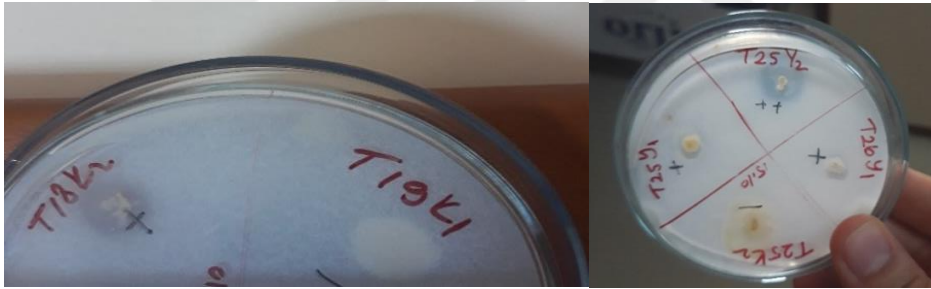
Çizelge 4.2. İzole edilen endofitik bakterilerin ön tanısına dönük test sonuçları (devam)

İzolat	HR	Gram Reaksiyon	Floresan	İzole edildiği doku	Koloni Morfolojisi
29	T25Y2	- (-)	+	Yaprak	Parlak krem, bombesiz
30	T26Y1	- (-)	-	Yaprak	Şeffaf, parlak
31	T26Y3	- (-)	-	Yaprak	Beyazımsı krem, mat
32	T26K1	- (-)	-	Kök	Sarı, kuru
33	T26K2	- (-)	-	Kök	Parlak krem, az mukoid
34	G114S1T	- (+)	-	Sürgün	Kirli beyaz, mat, bombesiz
35	G114Y1	- (-)	-	Yaprak	Krem, mat
36	G114YIT	- (-)	+	Yaprak	Parlak bej,
37	G114Y2	- (-)	-	Yaprak	Açık sarı, bombeli, mukoid
38	G114Y2T	- (-)	-	Yaprak	Sarı, parlak
39	G114Y3	- (-)	-	Yaprak	Beyaz, bombesiz, parlak
40	G115K1T	- (-)	-	Kök	Krem, parlak
41	G115Y1T	- (-)	-	Yaprak	Sarı, bombeli, mukoid,
42	G115S1	- (+)	-	Sürgün	Parlak bej, tane tane gelişim
43	G116K1T	- (+)	-	Yaprak	Parlak sarı, bombesiz
44	G116S1	- (-)	-	Sürgün	Açık sarı, parlak
45	G116S1T	- (-)	-	Sürgün	koyu krem, parlak, mukoid
46	G116S2	- (+)	-	Sürgün	Krem, parlak
47	G116Y2	- (+)	-	Yaprak	Parlak bej, mukoid,
48	G116Y4	- (-)	-	Yaprak	Bej, bombesiz
49	G116Y1	- (+)	-	Yaprak	Parlak, koyu sarı, bombeli
50	G116Y3	- (-)	-	Yaprak	Parlak koyu bej, bombeli
51	G117K1	- (+)	-	Kök	Koyu sarı, mukoid, az parlak
52	G118K1	- (+)	-	Kök	Parlak beyaz, bombeli, mukoid,
53	G118K1T	- (-)	+	Kök	Parlak sarı, mukoid
54	G118S1	- (-)	-	Sürgün	Parlak koyu sarı, mukoid
55	G118S1T	- (-)	-	Sürgün	Çok açık sarı
56	G118S2	- (-)	-	Sürgün	Sarı, parlak
57	G119S1	- (-)	-	Sürgün	Parlak, bombeli
58	G119YIT	- (+)	-	Yaprak	Beyaz, kuru
59	G119Y2T	- (-)	-	Yaprak	Canlı sarı, parlak, mukoid
60	G120S2	- (-)	-	Sürgün	Parlak beyaz, bombesiz
61	G120S3	- (-)	+	Sürgün	Açık sarı, bombeli, parlak,
62	G120S4	- (-)	+	Sürgün	Sarı, bombeli

4.3. EB'lerin *In Vitro* da Karakterizasyonu

4.3.1. Fosfataz aktivitesi

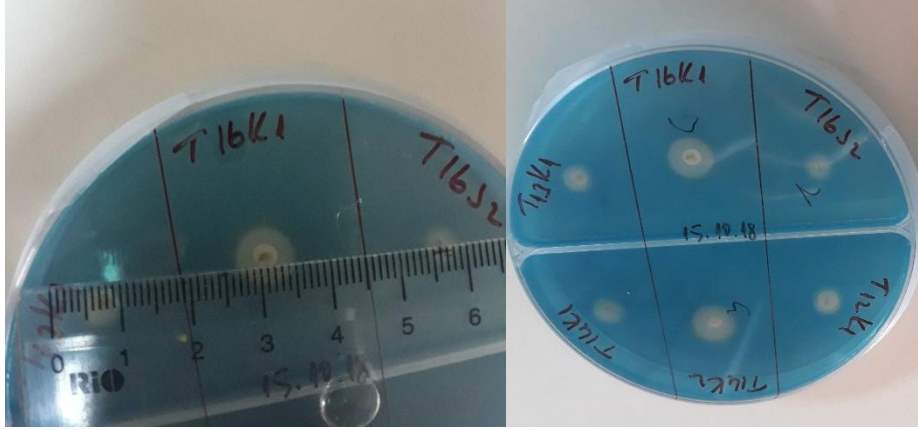
NBRIP besiyerine nokta ekim yapılan ve 14 gün süreyle inkübasyona tabi tutulan izolatların çevrelerinde saydamlaştırarak oluşturdukları zon mm cinsinden cetvelle ölçülmüştür. Ölçümler üç grup altında değerlendirilmiştir. Zon çapı 0-1 mm aralığında olanlar; +, 1-3 mm için ++, 3 ve üzeri mm için +++ olarak ifade edilmiştir (Şekil 4.3). Toplam izolatların % 40'lık kısmının fosfataz aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. En başarılı aday +++ değeri ile G115KIT izolatı olmuştur. Başka +++ performansa sahip EB olmamıştır. Bunun yanı sıra izolatların % 12.9'u ++ ve % 25.8' i + derecesinde zon oluşturmuştur. Otuz yedi izolatın ise fosfataz aktivitesine sahip olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.3. Fosfataz aktivitesinin değerlendirilmesi.

4.3.2. Siderefor aktivitesi

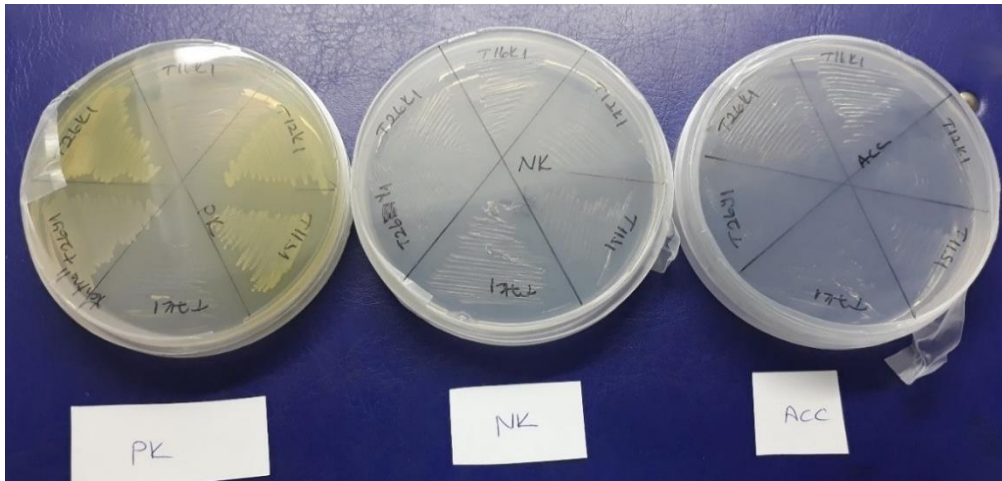
Blue-CAS besiyerine nokta ekim yapılmış ve 7 gün süreyle inkübasyona tabi tutulmuş izolatların çevrelerinde oluşturdukları sarı zon mm cinsinden cetvelle ölçülmüştür (Şekil 4.4). İki izolat siderefor aktivitesi gösterememiştir. Oluşturulan en küçük zonun yarıçapı 1 mm ve en büyük zonun yarıçapı 4.5 mm olmuştur. Ortalama 4.5 mm ile en büyük zonu T1K2 ve T18K2 izolatları oluşturmuştur. İzolatların % 61.3'ü 2 mm ve üzerinde zon oluşturmuştur. Toplam izolatların ise % 96.77'sinin Blue-CAS agar ortamında zon oluşturduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3).



Şekil 4.4. Siderefor aktivitesi gösteren bazı EB örnekleri.

4.3.3. ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi

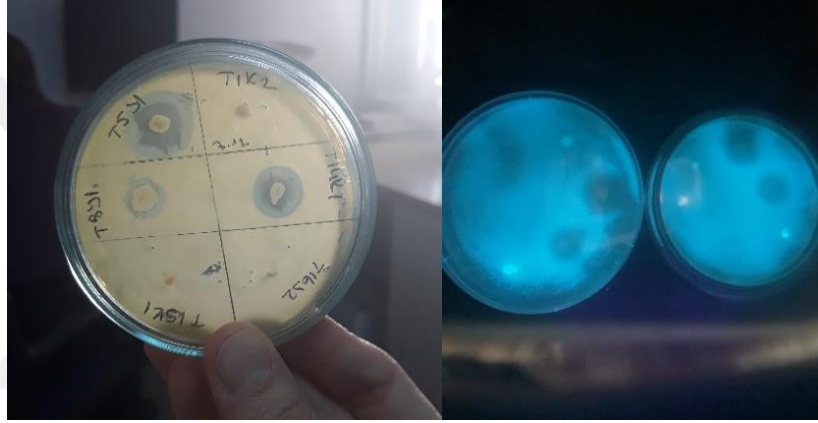
Besi ortamındaki tek azot kaynağı olan ACC 'yi kullanma yetenekleri üzerinden izolatların ACC-deaminaz aktivitesi araştırılmıştır. Besi ortamlarındaki azot tamamen elemine edilemediğinden dolayı bazı izolatlarda hafif bir gelişme gözlenmiştir. Fakat bu izolatların NK ve PK uygulamaları ile kontrolü nihayi karar verilmesine yardımcı olmuştur (Şekil 4.5.). Değerlendirmeler sonucunda çalışmada kullanılan aday EB izolatlarının hiçbiri ACC'li ortamda gelişme göstermediği belirlenmiştir. Bu nedenle ACC-deaminaz aktivitelerinin olmadığına karar verilmiştir (Çizelge 4.3).



Şekil 4.5. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ilave edilmiş besi ortamı pozitif kontrol (PK) ve azot kaynağı ilave edilmemiş besi ortamı negatif kontrol (NK) olarak kullanılmıştır. Azot kaynağı olarak ACC ilave edilmiş besi ortamı.

4.3.4. EB'lerin *Psl*'ye karşı biyokontrol etkilerinin testlenmesi

Psl uygulanmış petrilerde, EB izolatlarının çevrelerinde oluşturdukları zon antagonist etki olarak kabul edilmiş ve cetvelle ölçülerek değerlendirilmiştir (Şekil 4.6). Yapılan değerlendirme sonucunda toplam izolatların % 30.6'sının *Psl*'ye karşı antagonist etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.). *Psl*'ye karşı oluşturulan zon yarıçapı 1 – 6.83 mm aralığında olmuş ve en büyük zon yarıçapı 6.83 mm ile G120S2 izolatından elde edilmiştir. İzolatların % 14.5'lik kısmının 4 mm ve üzerinde zon oluşturduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.6. EB'ler tarafından *Psl*'ye karşı oluşturulan antagonist zon ve UV altında görünümü.

4.3.5. EB'lerin tuza tolerans düzeyinin belirlenmesi

EB'lerin tuza tolerans düzeyinin belirlenmesi için izolatlar NaCl içeren TSA besiyerinde gelişmeye bırakılmışlardır. En alt limit olan % 2.5 NaCl konsantrasyonunda sadece 1 izolat gelişmemiştir. Başarılı olan izolatlar artan tuz konsantrasyonlarında test edilmiştir. Tuzun % 5 lik konsantrasyonda izolatların % 92'si gelişmiştir fakat bunların % 14'ü zayıf gelişme göstermiştir. Tuzun % 7.5'luk konsantrasyonunda ise izolatların % 8'i zayıf olmakla birlikte % 58'i tam gelişme göstermiştir. Tuzun % 10 konsantrasyonunda izolatların % 8'i başarılı olur iken, % 15 lik tuz konsantrasyonda sadece 1 izolat (T16K1) gelişme gösterebilmiştir (Şekil 4.7; Çizelge 4.3.).



Şekil 4.7. Tuz tolerans düzeyinin belirlenmesi için tuz içeren besi yerine ekilen EB örnekleri.

Çizelge 4.3. EB izolatlarının *in vitro* da yapılan karakterizasyon ve biyokontrol aktivitelerine ait sonuçları

İzolat adı	Fosfataz (mm)	Siderofor (mm)	ACC	Psl (mm)	NaCl konsantrasyonları				
					% 2,5	% 5	% 7,5	% 10	% 15
1 T1K1-A	-	3.5	-	-	+	-	-	-	-
2 T1K1-B	-	2.5	-	-	+	+	-	-	-
3 T1K2	+	4.5	-	-	+	+	zayıf	-	-
4 T2K1	-	2.5	-	-	+	zayıf	-	-	-
5 T2K2	+	1	-	2	+	+	+	-	-
6 T3K1	-	4	-	-	+	+	+	+	-
7 T5S1	-	1	-	5	+	+	+	-	-
8 T7K1	+	2.25	-	-	+	zayıf	-	-	-
9 T8Y1	-	3.5	-	1.7	+	+	+	-	-
10 T10S1	-	1.5	-	-	+	+	-	-	-
11 T11S1	+	2.5	-	-	+	+	zayıf	-	-
12 T12K1	+	1.1	-	5.5	+	+	+	-	-
13 T13K1	+	1.9	-	6	+	+	+	-	-
14 T14K1	+	2	-	4.6	+	+	+	zayıf	-
15 T14K2	-	3.25	-	-	+	-	-	-	-
16 T16S2	-	1.75	-	-	+	zayıf	-	-	-
17 T16K1	++	3.1	-	-	+	+	+	+	+
18 T18K1	-	0	-	-	+	+	+	-	-
19 T18K2	+	4.5	-	-	+	+	+	+	-
20 T19K1	-	2.15	-	-	+	+	-	-	-
21 T20K2	-	3.25	-	-	+	+	-	-	-
22 T21Y1-A	-	2.25	-	-	+	+	zayıf	-	-
23 T21Y1-B	-	1.5	-	5.6	+	+	+	-	-
24 T23Y1	-	1.5	-	-	+	+	+	-	-
25 T23K1	-	4.25	-	-	+	+	-	-	-
26 T25K1	-	2.5	-	-	+	zayıf	-	-	-
27 T25K2	-	0	-	1	-	-	-	-	-
28 T25Y1	+	2.5	-	-	+	+	+	-	-
29 T25Y2	++	3	-	-	+	+	-	-	-
30 T26Y1	+	2.5	-	2	+	+	+	-	-
31 T26Y3	-	2.25	-	-	+	+	+	-	-

Çizelge 4.3. EB izolatlarının *in vitro* da yapılan karakterizasyon ve biyokontrol aktivitelerine ait sonuçları (devam)

İzolat adı	Fosfataz (mm)	Siderefor (mm)	ACC	Psl (mm)	NaCl konsantrasyonları				
					% 2.5	% 5	% 7.5	% 10	% 15
32 T26K1	-	1.5	-	-	+	+	zayıf	-	-
33 T26K2	-	1.25	-	6.6	+	+	+	-	-
34 G114S1T	-	1	-	3.66	+	+	+	-	-
35 G114Y1	-	1	-	6	+	+	+	-	-
36 G114YIT	++	2	-	-	+	+	-	-	-
37 G114Y2	++	1	-	1.16	+	zayıf	-	-	-
38 G114Y2T	+	2.75	-	-	+	+	+	-	-
39 G114Y3	-	1.25	-	3.33	+	+	+	-	-
40 G115K1T A	+++	3	-	-	+	-	-	-	-
41 G115Y1T	-	1.25	-	-	+	+	+	-	-
42 G115S1	-	2	-	-	+	+	+	-	-
43 G116K1T	-	2	-	-	+	+	+	-	-
44 G116S1	+	1.25	-	-	+	-	-	-	-
45 G116S1T	+	2	-	-	+	+	-	-	-
46 G116S2	+	1.25	-	4	+	+	+	-	-
47 G116Y2	-	2	-	-	+	+	zayıf	-	-
48 G116Y4	+	2.75	-	-	+	zayıf	-	-	-
49 G116Y1	+	2	-	-	+	zayıf	-	-	-
50 G116Y3	-	2	-	3	+	+	-	-	-
51 G117K1	-	1.75	-	-	+	+	+	+	-
52 G118K1	-	3.5	-	-	+	+	+	-	-
53 G118K1T	++	2.25	-	-	+	zayıf	-	-	-
54 G118S1	++	2.5	-	-	+	+	+	-	-
55 G118S1T	-	1	-	-	+	+	+	-	-
56 G118S2	-	2.5	-	1	+	+	+	-	-
57 G119S1	-	2.5	-	-	+	+	-	-	-
58 G119YIT	-	1.5	-	-	+	+	-	-	-
59 G119Y2T	-	1.5	-	1.66	+	zayıf	-	-	-
60 G120S2	-	1.25	-	6.83	+	+	+	-	-
61 G120S3	++	2.75	-	-	+	+	-	-	-
62 G120S4	++	3.25	-	-	+	+	+	-	-

4.4. *In Vivo* Çalışmalar

4.4.1. Endofit bakterilerin bitki gelişimi üzerine etkileri

Önceki çalışmalarda etkinliği *in vitro* testler ile belirlenmiş olan 8 EB, bitki gelişimlerine olan etkilerinin belirlenmesi için seçilmiştir. Aday bakteriler birden fazla karaktere ve antagonist etkiye sahip olmaları dikkate alınarak belirlenmiştir. Böylece T2K2, T26Y1, T12K1, T13K1, T14K1, G116S2, G116K1T ve G118K1T izolatları bitki gelişimine katkılarının belirlenmesi için seçilmiştir. Bu amaç doğrultusunda iklim odasında yürütülen çalışmalar ile EB'lerin bitki yaş/kuru kök ve yeşil aksam ağırlıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *In vitro* çalışma sonuçlarına göre seçilen 8 EB'nin bitki gelişimi üzerine olan etkileri (g/bitki)

Uygulamalar	YAYA*	YAKA	KYA	KKA
NK	5.48±0.31 abc**	0.43±0.03 ab	0.58±0.06	0,03±0,001 ab
T2K2	5.99±0.66 ab	0.50±0.05 a	0.55±0.06	0.03±0.001 a
T26Y1	6.48±0.30 a	0.49±0.03 a	0.58±0.05	0.04±0.001 a
T12K1	4.53±0.32 c	0.33±0.02 b	0.57±0.07	0.03±0.001 ab
T13K1	5.73±0.31 abc	0.46±0.03 a	0.65±0.04	0.03±0.001 ab
T14K1	6.22±0.23 ab	0.50±0.02 a	0.63±0.03	0.04±0.001 a
G116S2	5.20±0.40 bc	0.41±0.04 ab	0.59±0.05	0.03±0.001 a
G116K1T	4.60±0.49 c	0.35±0.04 b	0.48±0.05	0.03±0.001 ab
G118K1T	5.00±0.36 bc	0.41±0.03 ab	0.56±0.06	0.02±0.001 b

*: YAYA: Yeşil aksam yaş ağırlık, YAKA: Yeşil aksam kuru ağırlık, KYA: Kök yaş ağırlık, KKA: Kök kuru ağırlık

** : Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05)

EB uygulamalarının YAYA'na etkisi incelendiğinde T26Y1 uygulaması 6.48 g/bitki ile en fazla artışı sağlayan uygulama olmuştur. Buna karşın en düşük değer ise G116K1T ve T12K1 uygulamasından elde edilmiştir. Fakat YAYA'ndaki bu artışlar istatistiki olarak önem aralığında yer almamıştır. Genel olarak EB uygulamalarının hıyar bitkisinin yeşil aksam yaş ağırlığını etkilediği gözlenmiş olsa da istatistiki olarak bu değerler önemli bulunmamıştır.

EB uygulamalarının YAKA'na etkisi incelendiğinde T2K2, T26Y1, T13K1 ve T14K1 izolatlarının hıyar bitkilerinin yeşil aksam kuru ağırlığını kontrole göre attırdığı belirlenmiştir. YAKA'lıktaki bu artışlar istatistiki olarak önem aralığında yer almamıştır. Genel olarak EB uygulamalarının hıyar bitkisinin yeşil aksam yaş ağırlığını etkilediği gözlenmiş olsa da NK'e göre istatistiki olarak önem aralığında bulunmamıştır.

EB uygulamalarının hıyar bitkisinin kök yaş ağırlığını önemli bir etkisi belirlenmemiştir.

EB izolatlarından T2K2, T26Y1, T14K1 ve G116S2 uygulamaları hıyar bitkisinin kök kuru ağırlığında artışlar meydana getirmiştir fakat bu artışlar istatiki olarak önemli olmamıştır. En düşük değer ise 0,02 ile G118K1T uygulamasından elde edilmiştir. G118K1T izolatının meydana getirdiği bu azalma miktarı istatiki önem aralığında yer almamıştır. EB uygulamalarının hıyar bitkisinin kök kuru ağırlığını etkilediği gözlenmiş olsa da NK'e istatistiki olarak bu değerler önemli bulunmamıştır.

4.4.2. EB'lerin hıyar köşeli yaprak leke hastalığına karşı biyokontrol aktivitesinin belirlenmesi

Önceki çalışmalarda etkinliği *in vitro* testler ile belirlenmiş olan 8 EB hıyar köşeli yaprak leke hastalığına (*Psl*) karşı biyokontrol aktivitesinin belirlenmesi için seçilmiştir. Bu amaç doğrultusunda iklim odasında yetiştirilen hıyar bitkilerine patojen uygulanmış ve patojen inokulasyonundan 14 gün sonra yaprak klorofil içerikleri (Çizelge 4.6.) ve hastalık şiddeti tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Ayrıca bitkilerin yaş/kuru kök ve yeşil aksam ağırlıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.6.).

En yüksek hastalık şiddeti % 35.51 ile T26Y1+*Psl* uygulamasında gözlenmiş ve bu değer PK grubuna göre hastalık şiddetini -24.90 oranında arttırmıştır. Buna karşılık G116S2 +*Psl* uygulaması hastalık şiddetini %39.07 oranında azaltarak 17.32 ile en düşük hastalık şiddetinin oluşmasını sağlamıştır. Fakat EB uygulamalarının, hıyar fidelerindeki hastalık şiddetini etkilediği gözlenmiş olsa da bu değerler istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Çizelge 4.5. EB uygulamalarının *Psl*'nin oluşturduğu hıyar köşeli yaprak leke hastalığı üzerine etkileri. Hastalık şiddeti 0-6 skalasına göre değerlendirilerek % hastalık şiddeti ve etki değerleri belirlenmiştir

Uygulamalar	Hastalık Şiddeti	% etki
PK	28.43±3.85 a-c*	-
T2K2+<i>Psl</i>	30.53±4.05 ab	-7.38
T26Y1+<i>Psl</i>	35.51±5.07 a	-24.90
T12K1+<i>Psl</i>	20.78±2.74 bc	26.90
T13K1+<i>Psl</i>	24.37±4.92 a-c	14.28
T14K1+<i>Psl</i>	26.34±2.82 a-c	7.35
G116S2 +<i>Psl</i>	17.32±2.64 c	39.07
G116K1T+<i>Psl</i>	22.91±1.57 bc	19.41
G118K1T+<i>Psl</i>	32.04±3.33 ab	-12.69

*: Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05).

EB'lerin bitki gelişim parametreleri ve klorofil içeriğine etkisinin belirlenmesi

YAYA'nda en yüksek değer 4.22 ile T13K1 uygulamasından elde edilmiştir. En düşük değer ise 2.88 ile T14K1+*Psl* uygulamasından elde edilmiştir. İstatistiksel olarak önemli bulunmamasına karşın hastalık baskısı olmadan T2K2, T26Y1, T12K1 ve T13K1

uygulamalarının hıyar bitkisinde yeşil aksam yaş ağırlığını NK'e göre attırdığı belirlenmiştir. Hastalık uygulaması yapılan gruplarda ise bitki yeşil aksam yaş ağırlığı PK'e göre genel olarak azalmıştır ancak bu azalış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Daha genel bir değerlendirmeyle bakıldığında, aynı EB uygulaması yapılan gruplarda patojen uygulamalarının hıyar bitkisinin yeşil aksam yaş ağırlığını genelde azalttığı belirlenmiştir. Hastalık baskısı altında EB uygulamalarının hıyar bitkisinin yeşil aksam yaş ağırlığını etkilediği gözlenmiş olsa da istatistiki olarak bu değerler önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.6).

EB'lerin, hastalık baskısı altında yeşil aksam kuru ağırlıklarına olan etkileri incelendiğinde T13K1 izolatının diğer EB'lerden başarılı olduğu belirlenmiştir. Öteki EB gruplarında, hastalık şiddeti bitki yeşil aksam kuru ağırlığında azalmalar meydana getirmiştir. Buna karşın T13K1+*PsI* uygulamasında azalma olmamıştır. Aynı izolat hastalık baskısı altında hıyar bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığını NK'e göre arttırmıştır. Fakat YAKA'lıktaki bu artışlar istatistiki olarak önem aralığında yer almamıştır. Hastalık etkisinin, en fazla T14K1+*PsI* grubunda olduğu ve PK'e göre hıyar bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığının istatiki olarak önemli düzeyde azalmasına neden olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

EB'lerin, hastalık baskısı altında bitkilerin kök yaş ağırlıklarına olan etkileri incelendiğinde hastalık uygulanmayan gruplarda en fazla artışı 0,46 ile T13K1 izolatının yaptığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra T2K2, T26Y1, T13K1 T14K1 ve G118K1T izolatlarının hıyar bitkisinin kök yaş ağırlığını NK göre istatistiki olarak önemli ölçüde attırdığı belirlenmiştir. Ancak hastalık baskısı altında bu izolatlardan T2K2, T26Y1, T14K1'in aynı performansı sağlayamamış oldukları ve hıyar bitkisinin kök yaş ağırlığını PK'e önemli farkla azalttıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

KKa da ise gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.6).

Hastalık baskısı altındaki hıyar bitkilerinde EB'lerin bitkideki klorofil içeriğine olan etkilerinin belirlenmesine yönelik değerlendirme yapılmıştır. EB uygulanan bitkilerde hastalık şiddetine maruz kalan bitkilerin, hastalık uygulanmayan gruplara göre daha fazla klorofil içeriğine sahip olduğu belirlense de bu fark istatiki olarak önemsiz bulunmuştur. G116S2 izolatının klorofil miktarında meydana getirdiği fark ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. G116S2 izolatı herhangi bir stres yokken bitki

klorofil içeriğini NK göre azaltmıştır. Buna karşın bitki hastalık stresine maruz kaldığında tam tersi bir etki göstererek hıyar bitkisindeki klorofil miktarını arttırmıştır. Hastalık baskısı altında meydana gelen bu klorofil miktarındaki artış istatiki olarak önemli bulunmuştur. En yüksek klorofil oranı PK'e göre T26Y1+ *Psl* ve T12K1+*Psl* uygulamalarından elde edilmiştir. Ancak bu fark istatistiki olarak önemli olmamıştır (Çizelge 4.6).

Genel anlamda bitki gelişim parametreleri incelendiğinde T13K1 izolatının hıyar bitkisinin YAYA, YAKA ve KYA'nda artışlar meydana getirdiği belirlenmiştir. Hastalık baskısı altında en az faydayı ise T14K1 izolatının sağladığı gözlemlenmiştir. Hastalık şiddeti ile klorofil içeriği arasındaki etkiler incelendiğinde en düşük hastalık şiddetinin olduğu G116S2+*Psl* grubunun, en yüksek klorofil içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra hastalık uygulanan bitkilerin tamamındaki klorofil miktarı, hastalık uygulanmayan bitkilerdeki klorofil miktarından daha fazla olmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. EB'lerin hastalık baskısı altında bitki gelişimine olan etkileri

Uygulamalar	YAYA*	YAKA	KYA	KKA	Klorofil içeriği
NK	3.68±0.30 a-c**	23.50±1.97 ab	0.24±0.02 ef	0,01±0.001	40,52±0.76 a-d
T2K2	4.17±0.30 ab	27.11±1.84 ab	0.40±0.02a-c	0.02±0.001	40.13±0.81 a-d
T26Y1	4.14±0.49 ab	26.33±3.19 ab	0.45±0.06 ab	0.02±0.001	40.96±0.82 a-d
T12K1	4.18±0.30 ab	27.11±1.84 ab	0.26±0.02 de	0.02±0.001	40.47±0.79 a-d
T13K1	4.22±0.25 a	27.11±2.16 ab	0.46±0.04 a	0.02±0.001	39.41±1.26 b-d
T14K1	3.90±0.27 a-c	26.56±2.10 ab	0.33±0.06 cd	0.02±0.001	39.43±1.36 b-d
G116S2	3.12±0.22 a-c	26.22±2.72 ab	0.23±0.02 ef	0.02±0.001	36.53±0.69 d
G116K1T	3.42±0.25 a-c	21.40±1.80 b	0.15±0.03 fg	0.01±0.001	38.74±0.91 cd
G118K1T	3.56±0.37 a-c	23.13±2.84 ab	0.36±0.05 bc	0.02±0.001	40.06±1.42 a-d
PK	4.01±0.38 a-c	30.86±2.57 a	0.23±0.03 ef	0.02±0.001	42.51±1.45 a-c
T2K2+<i>Psl</i>	3.61±0.34 a-c	28.22±2.43 ab	0.10±0.03 g	0.02±0.001	43.52±1.17 a-c
T26Y1+<i>Psl</i>	3.04±0.44 bc	26.78±2.90 ab	0.08±0.01 g	0.01±0.001	44.97±0.82 a
T12K1+ <i>Psl</i>	3.87±0.44 a-c	28.00±2.96 ab	0.20±0.02 ef	0.02±0.001	44.71±1.41 a
T13K1+ <i>Psl</i>	3.56±0.54 a-c	30.00±2.96 a	0.23±0.03 ef	0.02±0.001	42.42±1.84 a-c
T14K1+ <i>Psl</i>	2.88±0.14 c	21.90±1.36 b	0.08±0.01 g	0.01±0.001	42.29±1.31 a-c
G116S2 + <i>Psl</i>	3.52±0.29 a-c	26.00±2.12 ab	0.15±0.02 fg	0.02±0.001	44.04±1.18 ab
G116K1T+ <i>Psl</i>	3.20±0.31 a-c	24.22±1.97 ab	0.22±0.02 ef	0.01±0.001	40.18±3.85 a-d
G118K1T+ <i>Psl</i>	3.74±0.25 a-c	28.40±1.88 ab	0.17±0.02e-g	0.02±0.001	41.14±0.90 a-d

*: YAYA: Yeşil aksam yaş ağırlık, YAKA: Yeşil aksam kuru ağırlık, KYA: Kök yaş ağırlık, KKA: Kök kuru ağırlık

** : Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05).

4.4.3. Endofit bakterilerin tuzluluk stresine karşı etkileri

Önceki çalışmalarda etkinliği *in vitro* (T14K1) ve *in vivo* (T26Y1, T13K1 ve G116S2) testler ile belirlenmiş olan 4 EB seçilmiş ve tuz stresi altındaki hıyar bitkisine olan etkileri incelenmiştir. Tuz denemesinin sonunda 0-5 skalası ile bitkide oluşan zarar düzeyi görsel olarak belirlenmeye çalışılmıştır (Çizelge 4.7). Ayrıca bitkilerin gövde çapı, gövde ve kök boyu ile yaprak sayısı (Çizelge 4.9.), klorofil içerikleri, yaprak oransal su içeriği (Çizelge 4.11), ve membran zararlanma indeksi belirlenmiştir (Şekil 4.13.). Daha sonra hasat edilen bitkilerin yeşil aksam ve kök yaş/kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Tuz stresinin etkisinin görsel olarak belirlenmesi



Şekil 4.8. Tuz stresinin hıyarda meydana getirdiği zarar.

EB uygulamalarının hıyar bitkisindeki tuz stresi üzerine etkileri incelendiğinde PK'lerde tuz konsantrasyonlarının artmasıyla birlikte, bitkideki tuz zararının arttığı belirlenmiştir. 40 mM tuz dozunda T14K1 izolatının % 41.66 oranında, G116S2 ve

T13K1'in ise 9.16 oranında bitkideki tuz stresini PK (T1+40 mM)'e göre azalttığı belirlenmiştir. Aynı şekilde 120 mM tuz konsantrasyonunda T13K1 ve T14K1'in % 23.62 ve T26Y1 izolatının ise % 22,33 oranında hıyar bitkisindeki tuz stresini PK (T3+ 120 mM)'e göre azalttığı belirlenmiştir. Buna karşılık T26Y1 izolatının 40 mM de tuz zararını % -58,33 oranında arttırdığı belirlenmiştir. Buna karşın tuz stresinin artmasına bağlı olarak T26Y1 izolatının bitkide pozitif yönde etki ederek bitkinin maruz kaldığı tuz stresini azalttığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. EB'lerin farklı tuz dozları altında yetiştirilen hıyarda etkinliklerinin 0-5 skalası ile değerlendirilmesi

Uygulamalar	Skala değerleri	PK göre % etki
PK (T1+40 mM)	1.20±0.20 d*	-
PK (T2+80 Mm)	2.20±0.33 bc	-
PK (T3+120 mM)	3.09±0.16 a	-
T13K1+40 mM	1.09±0.21 d	9.16
T13K1+80 mM	2.27±0.19 bc	-3.18
T13K1+120 mM	2.36±0.20 bc	23.62
T14K1+40 mM	0.70±0.21 d	41.66
T14K1+80 mM	2.09±0.21 bc	5
T14K1+120 mM	2.36±0.20 bc	23.62
T26Y1+40 mM	1.90±0.23 c	-58.33
T26Y1+80 mM	2.00±0.21 c	9.09
T26Y1+120 mM	2.40±0.16 bc	22.33
G116S2+40 mM	1.09±0.25 d	9.16
G116S2+80 mM	2.36±0.15 bc	-7.27
G116S2+120 mM	2.73±0.14 ab	11.65

*: Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05).

EB'lerin bitki gelişim parametrelerine olan etkisinin belirlenmesi

PK'lerde tuz konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak bitki YAYA ağırlığı azalmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9.). Tuz stresi uygulanmayan bitkilerde EB izolatlarının hıyar bitkisinde yeşil aksam yaş ağırlığını NK'e göre arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 4.10.). T13K1 izolatı 40 mM tuz dozunda bitkilerde etkisiz kalırken, tuz stresinin artmasıyla 80 mM tuz dozunda bitki yeşil aksam yaş ağırlığını artırmıştır ve bu artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

T14K1, T26Y1 ve G116S2 izolatı hıyar bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığını NK'e göre arttırarak etkinliğini ortaya koymuştur. Her bir EB grubu için tuz stresinin

artmasıyla bitkinin YAKA'nda azalma gözlemlenirken bu azalma miktarları istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Kök yaş ağırlığında en yüksek değer T26Y1+120 mM uygulamasından, en düşük değer ise PK (T3+120 mM) uygulamasından elde edilmiştir. Bu da T26Y1'in hıyar bitkisinin yüksek dozda tuz stresi altında kök yaş ağırlığını önemli ölçüde attırdığını göstermektedir. Aynı bakteri izolatu, 40 mM ve 80 mM'de hıyar bitkisinin kök yaş ağırlığını arttırmıştır. Ayrıca tuz uygulanmayan gruplarda da yine bitki kök yaş ağırlığını NK'e göre attıran tek bakteri T26Y1 olmuştur. Bu artışlar istatistiki önem aralığında olmuştur.

Tuz uygulanmayan bitkilerde T14K1 ve T26Y1 izolatları, hıyar bitkisinin kök kuru ağırlığını NK'e göre arttırmıştır. EB uygulamalarının 40 mM ve 80 mM tuz konsantrasyonunda hıyar bitkisinin kök kuru ağırlığını etkilediği gözlenmiş olsa da bu değerler istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. 120 mM tuz konsantrasyonunda ise T26Y1 uygulaması en yüksek değerle kök kuru ağırlığında istatistiksel olarak önemli fark meydana getirmiştir ve 120 mM tuz stresi altındaki bitkilerde en fazla artışı meydana getiren izolat olmuştur.

Çizelge 4.8. EB uygulamalarının farklı tuz dozlarında bitki yaş ve kuru ağırlığına olan etkileri

Uygulamalar	YAYA*	YAKA	KYA	KKA
NK	12.75±0.50 b**	0.97±0.05 bc	1.28±0.05 c-e	0.06±0.003 c-e
PK (T1+40 mM)	10.24±0.36 c	0.82±0.03 c-f	1.04±0.05 e-h	0.07±0.004 b-e
PK (T2+80 mM)	7.52±0.37 def	0.67±0.04 f-i	0.88±0.03 g-j	0.06±0.003 de
PK (T3+120 mM)	5.32±0.34 g	0.54±0.04 i	0.60±0.04 i	0.04±0.003 f
T13K1+0	14.94±0.60 a	1.09±0.05 ab	1.16±0.10 d-f	0.07±0.006 b-e
T13K1+40 mM	11.14±0.52 bc	0.84±0.05 cde	0.98±0.06 f-i	0.06±0.004 ef
T13K1+80 mM	10.19±0.95 c	0.75±0.04 d-g	1.12±0.07 d-g	0.07±0.005 b-e
T13K1+120 mM	5.71±0.31f g	0.56±0.03 hi	0.76±0.05 ij	0.05±0.004 ef
T14K1+0	15.30±0.83 a	1.17±0.07 a	1.35±0.13 b-d	0.08±0.009 ab
T14K1+40 mM	11.56±0.71 bc	0.94±0.05 c	1.13±0.07 d-g	0.07±0.005 b-e
T14K1+80 mM	8.40±0.51 d	0.75±0.05 d-g	0.83±0.04 h-j	0.06±0.004 de
T14K1+120 mM	5.92±0.25 fg	0.59±0.02 hi	0.76±0.05 ij	0.06±0.002 ef
T26Y1+0	16.65±0.53 a	1.24±0.05 a	1.58±0.18 ab	0.09±0.008 a
T26Y1+40 mM	11.40±0.4 bc	0.90±0.05 cd	1.47±0.09 a-c	0.07±0.004 b-e
T26Y1+80 mM	8.07±0.42 de	0.72±0.03 e-h	1.55±0.07 ab	0.07±0.003 b-e
T26Y1+120 mM	6.33±0.40 efg	0.63±0.04 g-i	1.66±0.07 a	0.08±0.004 a-c
G116S2+0	14.91±0.91 a	1.19±0.08 a	1.39±0.17 a-d	0.08±0.011 a-d
G116S2+40 mM	11.69±0.94 bc	0.92±0.08 c	0.93±0.09 f-i	0.05±0.007 ef
G116S2+80 mM	8.42±0.52 d	0.76±0.05 d-g	0.85±0.07 g-j	0.05±0.005 ef
G116S2+120 mM	6.80±0.50 d-g	0.65±0.05 g-i	0.87±0.06 g-j	0.05±0.004 ef

*: YAYA: Yeşil aksam yaş ağırlık, YAKA: Yeşil aksam kuru ağırlık, KYA: Kök yaş ağırlık, KKA: Kök kuru ağırlık

** : Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05).



Şekil 4.9. Artan tuz şiddetinin etkisiyle PK'lerde bitki yeşil aksam yaş ağırlığı azalmıştır. En sağdaki grup NK olup sol tarafa doğru sırasıyla 40, 80 ve 120 mM konsantrasyon NaCl uygulanan bitki gruplarıdır.



Şekil 4.10. Tuz stresi uygulanmayan hıyar bitkilerinde EB izolatları bitkinin yeşil aksam yaş ağırlığını NK'e göre arttırmıştır.

Gövde çapı ile gövde ve kök boyunun belirlenmesi

Tuz uygulanmayan bitkilerde T26Y1 izolatu gövde çapında NK'e göre artış meydana getirmiştir. Aynı şekilde T26Y1'in 80 mM tuz konsantrasyonunda da gövde çapında PK (T2+80 mM)'e göre artışa neden olduğu belirlenmiştir. Fakat bu artışlar istatistiki önem aralığında yer almamıştır. G116S2 izolatının ise 80 mM tuz dozunda gövde çapını PK (T2+80)'e göre azalttığı gözlemlenmiştir. EB uygulamalarının hıyar bitkisinin gövde çapını etkilediği gözlenmiş olsa da istatistiki olarak bu değerler önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.9).

Tuz uygulanmayan gruplarda tüm izolatlar gövde boyunu NK'e göre arttırmıştır. Tuz uygulanan bitkilerde ise artan tuz stresinin, gövde boylarının kısa kalmasına neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11). G116S2 izolatının düşük tuz dozlarında etkisiz kalırken 120 mM tuz dozunda gövde boyunu arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9).



Şekil 4.11. Artan tuz stresinin etkisiyle gövde boylarında meydana gelen kısalma.

Tuz stresi uygulanmayan bitkilerde T26Y1 izolatının kök boyunu NK'e göre arttırdığı belirlenmiştir. Aynı izolat 40 mM tuz dozunda bitkiye bir fayda sağlayamazken 80 mM tuz dozunda hıyar bitkilerinin kök boyunu PK'e (T2+80) göre arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge).

Çizelge 4.9. Tuz stresi altındaki bitkilerde EB'lerin gövde çapı/boyu ve kök boyu değerleri ile yaprak sayısına olan etkileri

Uygulamalar	Gövde çapı(mm)	Gövde boyu(cm)	Kök boyu(cm)	Yaprak sayısı (adet/bitki)
NK	4.66±0.08 a-c	28.55±1.00 b	24.82±0.83 a-c	10.73±0.14 b-d
PK (T1+40) mM	4.60±0.07 a-c	25.20±0.77 bc	24.50±1.01 a-c	9.55±0.21 ef
PK (T2+80) Mm	4.61±0.07 a-c	18.40±0.73 de	21.22±1.15 bc	7.90±0.18 hi
PK (T3+120) mM	4.39±0.12 b-e	14.09±0.51 f	21.70±0.99 a-c	6.09±0.16 k
T13K1+0	4.44±0.09 b-e	36.18±1.51 a	24.45±1.57 a-c	11.73±0.33 a
T13K1+40 mM	4.63±0.08 a-c	28.27±1.07 b	23.80±1.67 a-c	10.27±0.30 c-e
T13K1+80 mM	4.54±0.10 b-e	22.20±0.68 cd	22.00±1.40 a-c	8.89±0.31 fg
T13K1+120 mM	4.19±0.08 e	17.00±0.45 ef	23.45±0.87 a-c	6.82±0.18 j k
T14K1+0	4.44±0.12 b-e	35.64±1.93 a	23.50±1.26 a-c	11.40±0.22 ab
T14K1+40 mM	4.59±0.10 a-c	25.90±1.32 bc	25.50±1.84 a-c	10.00±0.21 de
T14K1+80 mM	4.57±0.1 b-d	19.18±1.13 de	21.45±0.71 a-c	8.55±0.28 gh
T14K1+120 mM	4.39±0.03 b-e	15.09±0.37 ef	24.80±1.03 a-c	6.80±0.13 jk
T26Y1+0	4.73±0.11 ab	36.40±2.57 a	26.22±1.84 a	12.11±0.20 a
T26Y1+40 mM	4.59±0.11 a-c	29.25±1.68 b	22.10±1.17 a-c	10.20±0.33 c-e
T26Y1+80 mM	4.96±0.26 a	19.10±1.08 de	25.80±1.58 ab	8.80±0.25 fg
T26Y1+120 mM	4.31±0.11 c-e	17.40±0.96 ef	24.70±1.26 a-c	7.40±0.22 ij
G116S2+0	4.54±0.19 b-e	35.27±2.56 a	20.64±1.22 c	10.82±0.30 bc
G116S2+40 mM	4.40±0.09 b-e	28.27±2.12 b	23.18±1.26 a-c	9.55±0.39 ef
G116S2+80 mM	4.19±0.11 de	23.36±0.97 cd	25.10±2.79 a-c	8.64±0.20 g
G116S2+120 mM	4.47±0.09 b-e	18.82±0.66 de	25.27±1.57 a-c	7.00±0.19 j

*: Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05).

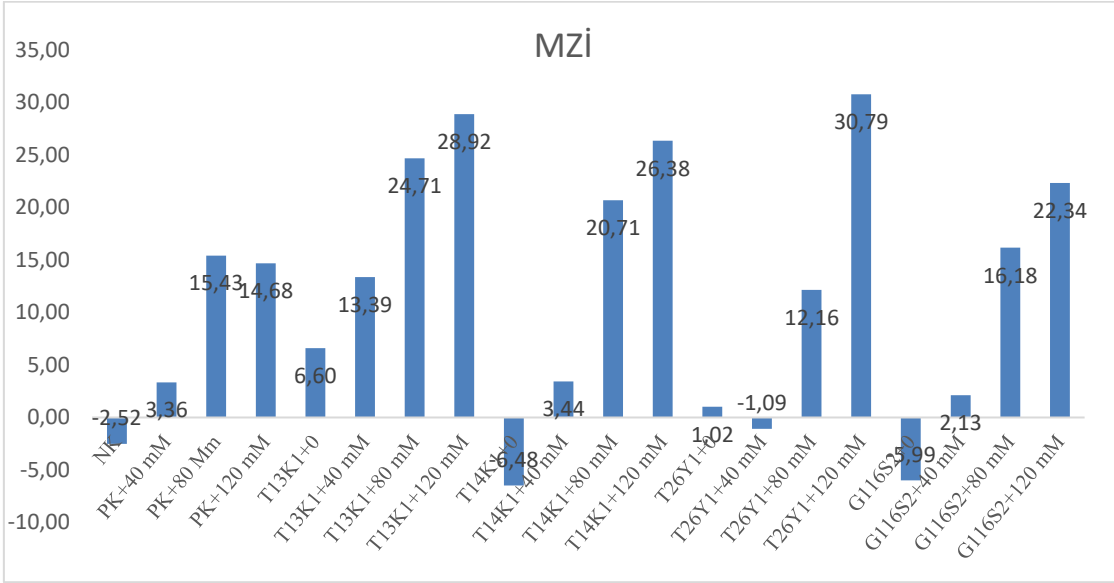
Yaprak sayısının belirlenmesi

Tuz uygulanmayan gruplarda tüm izolatların yaprak sayısını NK'e göre arttırdığı ancak T13K1 ve T26Y1 izolatlarında gerçekleşen artışın istatistiki açıdan önemli olduğu belirlenmiştir. EB uygulamalarının olduğu tüm bitkilerde tuz stresinin artmasına bağlı olarak yaprak sayısının azalma olduğu belirlenmiştir. Buna karşın EB'lerin tuz stresi altında bitkiye daha fazla yarar sağladığı gözlemlenmiştir. En düşük doz olan 40 mM konsantrasyonda EB uygulamaları bitkiye bir katkı sağlayamamıştır ancak 80 mM tuz uygulamasında PK (T2+80)'e göre T13K1, T26Y1 ve G116S2 bitkiye pozitif yönde katkı sunarak yaprak sayısını arttırmıştır. Benzer yönde etki 120 mM tuz uygulamasında gözlenmiş, G116S2 ve T26Y1 izolatları yaprak sayısını PK (T3+120)'e göre attırmıştır. Bu etkiler istatistiki olarak da önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Bazı fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi

Farklı tuz dozlarının uygulandığı hıyar bitkisinde EB'lerin klorofil içeriği, yaprak oransal su içeriği ve membran zararlanma indeksine etkileri belirlenmiştir (Çizelge 4.11; Şekil 4.13.).

Hücreden salınan metabolitlerin ölçülmesiyle yaprak zararlanma indeksi değerlendirilmiştir. Salınan metabolit değerlerinin yüksek olması, hücre membranında tuz stresinden ötürü hasar meydana geldiğini ifade etmektedir. EB uygulamalarının membran zararlanmasına önemli etkileri belirlenmiştir. Bunun ile birlikte 120 mM tuzda zararı arttırdıkları gözlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. Tuz ve EB uygulamalarının hücre membranına etkileri (MZİ).

Tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde, EB izolatlarının klorofil içeriğine olan etkileri incelenmiştir. NK ve PK grupları karşılaştırıldığında bitkideki klorofil miktarının tuz stresi ile paralel olarak arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.12).

Tuz stresi olmayan gruplarda T26Y1 klorofil miktarını NK'e göre istatistiki önem düzeyinde azaltmıştır. Diğer EB'ler klorofil miktarını NK'e göre etkilemiş olsa da bu değerler istatiki olarak önemsiz bulunmuştur. Tuz uygulaması yapılan gruplarda 40 ve 80 mM de, tuz stresi klorofil miktarını etkilemiş ancak bu fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 120 mM konsantrasyonda ise T13K1'in klorofil miktarını PK (T3+120)'e göre istatistiksel olarak önemli azalttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11).



Şekil 4.13. Sol taraftaki bitki NK olup soldan sağa bitkinin tuz stresi altında bitki klorofil içeriği artmıştır.

Yaprak oransal su içeriğinde stresin az olduğu 40 mM tuz dozunda EB izolatları etkisiz kalmıştır. Ancak tuz stresinin 80 mM konsantrasyon düzeyinde artmasıyla birlikte T13K1, T14K1, G116S2 izolatlarının bitkinin yaprak su potansiyelini PK (T2+80)'e göre arttırdıkları belirlenmiştir. İzolatlarının bu artışı istatistiki önem aralığında olmuştur. Aynı etki istatistiki olarak önemsiz olmasına karşın T26Y1 izolatında da gözlenmiştir. Tuz şiddeti 120 mM konsantrasyona çıktığında, EB'lerin bitkiye fayda sağlayamadığı belirlenmiştir. Öyle ki T13K1 izolatu 120 mM tuz dozunda hıyar bitkilerinde yaprak oransal su içeriğini PK (T3+120)'e göre azaltmıştır. Yaprak oransal su içeriklerinde en başarılı adayın G116S2 izolatu olduğu belirlenmiştir. G116S2 izolatının stressiz koşullarda ve tuz stresinin 40 mM ve 80 mM konsantrasyonlarında hıyar bitkilerinin su tutma potansiyelini arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.10 Tuz stresi altındaki bitkilerde EB uygulaması ile klorofil içeriklerinde meydana gelen değişim ve yaprak oransal su içeriği (YOSİ) değerleri

Uygulamalar	Klorofil içeriği	YOSİ
NK	45.04±1.26 e-h	87.45±5.21 c-f
PK (T1+40) mM	48.57±0.97 c-e	95.95±4.77 bc
PK (T2+80) Mm	49.84±1.68 bc	74.82±6.03 h
PK (T3+120) mM	52.45±2.16 ab	87.64±3.74 c-f
T13K1+0	43.33±0.71 hi	91.57±1.53 c-e
T13K1+40 mM	47.97±0.82 c-f	90.59±0.96 c-e
T13K1+80 mM	48.08±0.67 c-e	89.05±2.59 c-f
T13K1+120 mM	48.02±0.64 c-f	78.68±1.18 gh
T14K1+0	43.61±0.72 g-i	93.20±1.70 cd
T14K1+40 mM	47.10±0.71 c-g	86.73±1.39 d-g
T14K1+80 mM	48.63±1.45 c-e	88.95±1.58 c-f
T14K1+120 mM	53.75±0.72 a	87.50±2.33 c-f
T26Y1+0	40.87±0.70 i	90.37±1.40 c-e
T26Y1+40 mM	47.28±0.94 c-f	91.20±0.72 c-e
T26Y1+80 mM	47.34±1.21 c-f	81.06±1.99 f-h
T26Y1+120 mM	49.17±1.90 b-d	83.03±1.22 e-h
G116S2+0	44.41±0.74 f-h	96.21±1.24 bc
G116S2+40 mM	45.71±0.62 d-h	103.21±2.32 b
G116S2+80 mM	46.55±0.84 c-h	119.92±3.14 a
G116S2+120 mM	49.46±0.97 bc	86.72±3.94 d-g

*: Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütundaki aynı harfler arasındaki fark önemsizdir. (p<0.05).



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yürüttüğümüz çalışmanın amacı; tuzlu koşullar altında gelişmiş olan yabancı bitkilerden endofitik bakterilerin izolasyonu ve karakterizasyonunun yapılarak, bu bakterilerin *in vivo*'da hıyar bitkisinin gelişimine, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın oluşturduğu hıyar köşeli yaprak leke hastalığına ve farklı düzeyde oluşturulan tuz stresine karşı etkilerinin belirlenmesidir.

Bu amaçla Van Gölü kıyısında bulunan doğal tuz elde etme bölgesinde gelişen farklı 26 yabancı bitkiden 62 EB izolatu elde edilmiştir. Ancak elde edilen tüm EB'nin *in vivo* koşullarda bitkide testlenmesi iş gücü ve zaman açısından pratik olmadığından dolayı *in vitro* testlerle ön elemesi yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda PGPR karakterini belirlemede seçilen bazı markörlerin *in vitro* da ön değerlendirilmesi yapılarak ümit var olanlar seçilmiş ve bitkiler üzerinde sınanması yapılmıştır. Benzer yöntemler birçok araştırmacı tarafından da denenmiştir. Zinniel ve ark. (2002), yaptıkları çalışmalarda benzer yöntemle 853 endofitik bakteri türünü izole ederek karakterize etmişlerdir. Benzer yönde yapılan çalışmalarda *in vitro* da markök olarak; azot fiksasyonu, fosforun biyolojik olarak alınabilir hale gelmesi, indol asetik asit üretimi (Lee ve ark., 2004) ve siderofor üretimi (Tsavkelova ve ark., 2007; Jha ve ark., 2012) gibi karakterler seçilerek test edilmiştir. Bu testlerde başarı sağlayan EB'lerin bitki gelişim ve verimi üzerine de olumlu etkileri rapor edilmiştir. Böylece önemli düzeyde maliyet ve iş gücü azaltılmıştır.

Birçok endofit, bitkinin stres altında ürettiği etilen seviyesini düşürmekten sorumlu ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat) deaminaz aktivitesine sahip olabilir. (Long ve ark., 2008). ACC ve etilenin sentezi; patojen saldırısı, yaralanma, kuraklık, gibi biyotik ve abiyotik faktörler tarafından uyarılır. Etilen, bitki stres altındayken yoğun şekilde üretilmekte ve bitkide kök gelişimini ve uzamasını engellemektedir (Strader ve ark., 2010). Bitki ile ilişkili bazı bakteriler, kodladıkları ACC-deaminaz enzimini kullanarak etilenin öncülü olan ACC'yi parçalar ve bu parçalama sonucu, karbon ve nitrojen kaynağı olarak ortaya çıkan son ürünlerden besin olarak faydalanabilir. Bu bakteriler tarafından etkili bir şekilde parçalanan ACC ile zararlı etilen seviyeleride düşürüldüğü için stresli koşullar altında bitki gelişimi daha az etkilenir veya teşvik edilir (Penrose ve Glick, 2003). Genellikle diğer markörler (IAA, fosfataz) kadar sıklıkla

karşılaşılmısa da EB'lerde de tespit edilmektedir (Babier, 2019). Çalışmamızda da hiçbir izolata ACC-deaminaz üretmediği belirlenmiştir. Çalışmamızda düşük sayıda EB ile çalışılmış olunması bu sonuca neden olmuş olabilir. Buna karşılık Penrose ve Glick, (2003) ile Shakir ve ark. (2012), çalıştıkları bakterilerde ACC-Deaminaz yeteneğini belirlemiş ve bu bakterilerin bitki gelişimine etkisini ortaya koymuşlardır.

Endofitik bakteriler arasında yaygın bir diğer özellik fosfatın çözünebilirlik aktivitesidir. Petri kaplarında yapılan deneylerde çilek, soya fasulyesi, baklagiller, ayçiçeği ve kaktüsdeki endofitik bakterilerin çoğunluğunun (% 59-100) mineral fosfatı çözebilmeye yeteneği gösterdiği belirlenmiştir (Kuklinsky-Sobral ve ark., 2004; Forchetti ve ark., 2007; Dias ve ark., 2009; Puente ve ark., 2009; Palaniappan ve ark., 2010). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, sağlıklı hıyar ve kabak bitkilerinden izole edilen endofitik bakteriler *in vitro* koşullarda 104 izolattan yaklaşık % 50'sinin siderofor üretimi ve % 32'sinin ise fosfatı çözebilmeye yeteneğine sahip olduğu saptanmış ve bu sonuçlar doğrultusunda endofitik bakterilerin bitki büyümesini teşvik etme potansiyelinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Fakhraei ve Özaktan, 2015). Bu tez çalışması kapsamında yapılan *in vitro* testlerde toplam 62 izolattan yaklaşık % 97'sinin siderofor üretimi ve % 40'ının fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır. Meksikada, El chinon yanardağı bölgesinde patlama olduktan sonra aynı bölgede yeniden gelişen bitkilerden EB izole edilmiş ve bu EB'lerin bitki gelişimine katkıları araştırılmak istenmiştir. İzolasyon işlemleri sonrasında karakterizasyon için seçilen 6 EB'den 3'ü N fiksasyonu, 4'ü IAA, 5'i ACC ve siderofor ve tamamı az da olsa fosfat çözme aktivitesine sahip bulunmuştur.

Çalışmamızda *in vitro* çalışmalar sonucu seçmiş olduğumuz 8 EB'nin bazı bitki gelişim parametrelerini olumlu şekilde etkilediği belirlenmiştir. T26Y1 izolatu kök yaş ağırlığı dışında bitki gelişimini teşvik etmiştir. Benzer sonuçlar Raupach ve Kloepper, (2000)'in çalışmasında da elde edilmiştir. Bunun dışında kalan diğer izolatlarında etkinliği gözlenmiş, fakat tüm izolatlarda olumlu etki gözlenmemiştir. Hıyarda yapılan bir çalışmada etkinliği *in vitro* koşullarda önceden belirlenmiş olmasına karşın EB'lerin sera çalışmasında % 5-28 gibi değişen oranlarda bitki gelişimini arttırdığı belirlenmiştir (Akat 2015). Benzer bir çalışmayla Fakhraei (2015)'nin hıyarda kullandığı 24 EB'den 14 tanesinin bitki gelişimini arttırma potansiyeli göstermesine karşın 3 tane izolata bitki gelişimini önemli düzeyde azalttığını belirlemiştir.

Bu tez çalışmasında ayrıca hıyarda önemli ürün kayıplar oluşturan *Psl*'nin neden olduğu köşeli yaprak lekeli hastalığına karşı, izole ettiğimiz endofitik bakterilerin etkileri incelenmiştir. İzolatların *in vitro*'da *Psl* bakterilere karşı antagonistik etkisi değerlendirilmiştir. Bu kapsamda yapılan değerlendirme sonucunda toplam izolatların % 30'nun *Psl*'ye karşı antagonist etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Psl*'ye karşı en büyük zonu 6,83 mm ile G120S2 izolatu oluşturmuştur. İzolatların % 14.5'lik kısmının 4 mm ve üzerinde zon oluşturduğu gözlenmiştir. Benzer bulgular Akköprü, (2012) ve Akbaba (2014)'nin çalışmalarında da elde edilmiştir.

Endofitler birçok istilacı patojenin tercih ettiği aynı bölgeyi kolonize ettikleri için ve bitki dokuları içinde yaşadıklarından bitki hastalıklarına karşı biyokontrol ajanları olarak potansiyele sahiptirler (Rabiey, 2019). Raupach ve Kloepper, (1998) hıyar bitkilerinde *Bacillus pumilus* NR7, *Bacillus subtilis* GB03 ve *Curtobacterium flaccumfaciens* ME1'i hem tekli hem de kombine halinde *Colletotrichum orbiculare* (antraknoz), *Psl* ve *Erwinia tracheiphila* (kabakgil solgunluğu) karşı kullandıkları kapsamlı çalışmada olumlu sonuçlar almışlardır. Tekli hastalık ve tekli PGPR uygulamalarında, 3 PGPR uygulamasının da *P. syringae* pv. *lachrymans*'a karşı kontrole kıyasla önemli hastalık koruması sağladığını bildirmiştir. Aynı zamanda birden fazla PGPR ve patojenin birlikte kullanımını hastalık şiddetini önemli düzeyde sınırlamıştır. Raupach ve Kloepper, (2000)'in yaptıkları diğer bir çalışmada PGPR uygulamalarının *Psl*'nin oluşturduğu hastalık şiddetini kontrole kıyasla önemli ölçüde azalttıklarını belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında *Psl* ile infekteli bitkilerde G116S2 izolatu % 39,07 oranında hastalık şiddetini azaltmıştır. Yalnız tüm EB'ler aynı etkiyi gösterememişlerdir. Örneğin T26Y1 izolatının hastalık şiddetini % 24.90 oranında arttırdığı gözlenmiştir. Akbaba (2014) çalışmasında, bazı EB'lerin hastalık şiddeti üzerinde olumlu etkilerini belirlerken bazılarında olumsuz sonuçlar elde etmiştir.

Hastalık stresine maruz kalan bitkilerde bitki gelişim parametreleri de incelenmiştir. Patojen uygulanmayan bitkilerde en fazla T13K1 olmakla birlikte EB'ler hıyar bitkisinin YAYA'nı genel anlamda NK'e göre arttırmıştır. Buna karşın hastalık stresinin, patojen uygulanmayan bitkilere kıyasla hıyarın YAYA'nı azalttığı gözlenmiştir. Aynı izolat, bitki YAKA'nda bitkiye bir fayda sağlamaz iken hastalık stresi altında bitki kuru ağırlığını arttırmıştır. Benzer bulgular Sturz ve ark., (1998); Fakhræi, (2015); Akat, (2015) ve Bokhari ve ark., (2019)'ın çalışmalarında da elde edilmiştir.

Hıyarın kök yaş ağırlığını T2K2, T26Y1, T13K1, T14K1 ve G118K1T izolatları NK'e göre önemli ölçüde attırmıştır. Ancak hastalık stresi altında bu bakterilerden hiçbir bitkiye fayda sağlayamamış aksine bitki KYA'nı azaltmıştır. Hıyar bitkilerinin KKA'nda PK, NK ve EB uygulamaları arasında bir fark gözlenmemiştir. Bulgularımızla paralellik gösteren Akköprü ve ark, (2018)'in çalışmasında biberde EB'ler kök yaş ağırlığında (KYA) NK'e göre artış sağlarken, hastalık stresi altında KYA'nı azalttığını gözlemlemiştir. Bitki klorofil miktarında EB grupları arasında farklar gözlenmesine rağmen bu farkın istatistiksel önem taşımadığı tespit edilmiştir. Buna karşın G116S2 izolatu hastalık stresi uygulanmayan bitkilerde klorofil içeriğini NK'e göre azaltmıştır. Ancak bitki hastalık stresine maruz kaldığında tam tersi bir etki göstererek hıyar bitkisindeki klorofil miktarını arttırmıştır.

Tuz stresinin, bitkilerde ürün potansiyelinin yaklaşık yarısının kaybına neden olduğu tahmin edilmektedir (Yıldız ve ark, 2014). PGPR bakterilerin bu anlamda ümit var olduğu önceki çalışmalarla ortaya konmuştur (Mayak ve ark., 2004). Örneğin, *P. agglomerans*'in IAA, siderofor ve fosfatı çözüme aktiviteleri sahip olduğu belirlenmiş ve tuzlu koşullarda bitki gelişimini arttırdığı belirlenmiştir (Silini-Chérif et al., 2012). Bu tez çalışmasında sürekli olarak tuzlu suya maruz kalan lokal bir bölgede gelişmeyi başaran bitkiler alınmış bu bitkilerden EB izole edilmiştir. İzole edilen EB'ler hıyar bitkisine uygulanmıştır. Ardından hıyar bitkileri tuz stresine maruz bırakılmıştır. Böylece EB varlığında bitkinin tuz stresine vereceği tepkiler çeşitli parametrelerle incelenmek istenmiştir. Yapılan bir çalışmada yanar dağ patlaması sonrası patlamanın olduğu bölgelerde gelişen bitkilerden izole edilen EB'lerin tamamı % 5, 7, 13, 15, 17, 20, 22 ve 25 tuz konsantrasyonunda gelişme göstermişlerdir. Çalışmamızda da özgün bir bölgedeki bitkilerden izole ettiğimiz EB'ler % 2,5 5, 7,5, 10 ve 15'lik tuz konsantrasyonlarında gelişmiştir. EB izolatlarının neredeyse tamamı ilk basamaklarda gelişmiş, 5'i, % 10 tuz konsantrasyonunda ve 1 tanesi ise % 15 tuz konsantrasyonlarında gelişme göstermişlerdir. Çalışmamızda ayrıca potansiyel taşıdığı düşünülen EB'ler *in vivo* koşullarda hıyar bitkisine uygulanarak tuza karşı etkinlikleri belirlenmek istenmiştir. Çalışmamızla paralellik gösteren bi çalışmada Bokhari ve ark. (2019), tarafından yapılmıştır.

Kök rizosferinde tuz konsantrasyonunun artışıyla birlikte ilk olarak osmotik stres oluşmakta ve kullanılabilir su miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Bu olay

“fizyolojik kuraklık” olarak da adlandırılmaktadır. Kullanılabilir su miktarının azalması, bitkide hücre genişlemesinin azalmasına ve sürgün gelişiminin yavaşlamasına sebep olmaktadır (Marschner, 2012). Tuzluluk sorununda en fazla zararlı etkiyi yapan ve en yaygın olan iyonlar olan Na^+ ve Cl^- iyonları ortamda artmakta ve K^+ , Ca^{+2} ve NO^{-3} gibi gerekli besin elementleri ile rekabete girmektedir (Munns ve Termaat 1986). Bunun sonucu olarak da bitkilerde besin eksikliği meydana getirerek bitki büyümesini ve gelişmesini engellemektedir (Parida ve Das, 2005).

Çalışmamızda skala yardımı ile simptomatolojik değerlendirme yapılmıştır. Tuz skalasından elde edilen sonuçlara göre istatiki olarak önemli bulunmamasına karşın 40 mM tuz konsantrasyonunda T14K1 izolatının % 41.66 oranında, G116S2 ve T13K1’in % 9.16 oranında bitkideki tuz stresini PK (T1+40)’e göre görsel olarak azalttığı belirlenmiştir. Aynı şekilde 120 mM tuz konsantrasyonunda T13K1 ve T14K1’in % 23.62 ve T26Y1 izolatının ise % 22.33 oranında hıyar bitkisindeki tuz stresini PK (T3+120)’e göre azalttığı belirlenmiştir. Daşgan ve ark., (2002) skala değerlerinin tuza toleransın belirlenmesinde etkin bir parametre olarak kullanılabileceğini tespit etmişlerdir. Domateste (Daşgan ve ark., 2002), biberde (Aktaş ve ark., 2006), patlıcanda (Yaşar ve ark.,2009), fasulyede (Daşgan ve Koç, 2009) yapılan tuz stresine karşı tarama çalışmalarında skala değerleri bakımından genotipler arasında önemli varyasyonların görüldüğü ve diğer morfolojik ve fizyolojik parametreler yanında skala değerlendirmesinin de önemli olduğu bildirilmektedir.

Tuz konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak bitki YAYA ağırlığı azalmıştır. Ancak EB ile muamele görmüş bitkilerde 80 mM tuz konsantrasyonunda T13K1 izolatu, 120 mM de ise G116S2 izolatu bitki yeşil aksam yaş ağırlığını attırmıştır. Bitki kuru ağırlıklarında yine EB’ler NK’e göre artış sağlarken tuz stresi altında önemli düzeyde bir fayda sağlayamamışlardır. T26Y1’in hıyar bitkisinde yüksek dozda tuz stresi altında kök yaş ve kuru ağırlığını önemli ölçüde attırdığı belirlenmiştir. Aynı bakteri 40 mM ve 80 mM de hıyar bitkisinin kök yaş ağırlığını arttırmıştır. Diğer uygulamalarda da farklı düzeylerde etkiler gözlenirse de bu etki istatistiki önem aralığında olmamıştır. Bitkideki klorofil miktarı artan tuz stresine paralel artmıştır. Bulgularımızla paralellik gösteren bir çalışmada, Kang ve ark., (2014) hıyar bitkilerinde *Burkholdera cepacia* SE4, *Promicromonospora sp.* SE188 ve *Acinetobacter calcoaceticus* SE370’ın tuzluluk stresine karşı bitkilerde sürgün ağırlığı ve klorofil miktarını arttırdığı belirlenmiştir.

Diğer bir çalışmada ise tuz stresi yokken bitki gelişimine katkı sağlamayan PGPR'ların tuz stresi altında bitki gelişimini arttırdıkları belirlenmiştir (Bokhari ve ark., 2019).

Artan tuz, hücre bölünmesini etkiler. Böylece bitkilerde kök ve gövdede hücre sayısının ve mitotik aktivitenin azalmasına neden olur (Bursens ve ark, 2000). Bunun sonucunda ise bitkinin gövde ile kök uzunluğunda kısalma; yapraklarda küçülme ile sayılarında azalma meydana gelmektedir. Patlıcan ve mısır bitkisine uygulanan tuzlu suyun bitki boyunu önemli ölçüde azalttığını belirlenmiştir (Çiçek ve Çakırlar, 2002; Öztürk, 2002). Bu tez çalışmasında da artan tuz stresine paralel olarak, bitki boyları kısa kalmıştır. Gövde boyuna etkileri açısından EB grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamasına karşın G116S2 izolatının uygulandığı gruplarda bitki boylarının kontrole göre daha uzun olduğu belirlenmiştir. Kök boylarında ve gövde çapında ise 80 mM konsantrasyonda T26Y1 izolatı PK (T2+80)'e göre kök boyunu ve gövde çapını arttırmıştır. Benzer bulgular Yılmaz ve ark., (2019)'un çalışmalarında da elde edilmiştir.

Tuzluluğun artmasıyla domates yeşil aksam yaş ağırlığı, bitki boyu, yaprak sayısı ve kök uzunluğunun önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Mohammed ve ark., 1998). Benzer şekilde 3 farklı biber çeşidinde tuz stresinin etkisiyle gövde/kök yaş ve kuru ağırlığının yanı sıra yaprak sayısında azalma meydana gelmiştir (Shams, 2019). Yaprak sayısında meydana gelen bu değişimler bu tez çalışmasında da saptanmıştır. Tuz stresinin artmasına bağlı olarak tüm bitkilerde yaprak sayısının azalma gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşın EB'lerin tuz stresi altında bitkiye daha fazla yarar sağladığı gözlemlenmiştir. EB uygulamaları 40 mM konsantrasyonda bitkiye katkı sağlayamamıştır. Ancak 80 mM tuz uygulamasında kontrol grubuna PK (T2+80)'e göre T13K1, T26Y1 ve G116S2 bitkiye pozitif yönde katkı sunarak yaprak sayısını arttırmıştır. Benzer yönde etki 120 mM tuz uygulamasında gözlenmiş, G116S2 ve T26Y1 izolatları yaprak sayısını PK (T3+120)'e göre arttırmıştır. Bu etkiler istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Benzer bulgular Yılmaz ve ark., (2019)'un çalışmalarında da elde edilmiştir.

Tuz stresi bitki dokularında, özellikle yaprakta su eksikliği yaratabilir ve bu durum bitki büyümesini doğrudan etkiler. Bu çerçevede yaprak oransal su içeriği (YOSİ) ölçümü bitkinin stres tepkisini gösterir (Gonzalez ve Gonzalez-Vilar 2003). Nispi su içeriği, bitkilerin fizyolojik su durumunun ölçüsüdür. Bitkiler yüksek tuz konsantrasyonlarına maruz kaldığında su stresi ortaya çıkar (Fisher 2000). Sultana ve ark. (1999), farklı tuz

konsantrasyonlarının çeltik (*Oryza sativa L.*) bitkisinde fotosentez veriminin tuz stresi altında azaldığını ve yaprağın oransal su içeriği ile pigment miktarlarının olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ise EB'lerin YOSİ'ne karşı tepkileri incelenmiş ve stresin az olduğu 40 mM tuz konsantrasyonda EB izolatlarının etkisiz kaldığı gözlenmiştir. Buna karşılık tuz stresinin 80 mM konsantrasyon düzeyinde artmasıyla birlikte T13K1, T14K1, G116S2 izolatlarının bitkinin yaprak su potansiyelini PK (T2+80)'e göre arttırdıkları belirlenmiştir. İzolatlarının bu artışı istatistiki önem aralığında olmuştur.

Yetiştirme ortamının tuz yönünden sorunlu olması birçok olumsuz etkiyi de beraberinde getirir. Membran işlev bozukluğu ve genel gelişim yetersizliği bu olumsuz etkilerdendir. (Orcutt ve Nilsen, 2000). Shannon and Grieve, (1998) tarafından, tuz stresi hasarının görüldüğü birincil bölgelerin membranlar olduğu ileri sürülmüştür.

Tuzluluk nedeniyle dış ortamda fazla bulunan Na^+ iyonunun hücreye girişi artarmakta ve K^+ elementinin bağlanacağı alanlar için rekabete girmektedir. Böylece hücre içindeki K^+ etkinliği son bulur ve hücre içerisindeki Na^+/K^+ dengesi bozulur. Ayrıca biriken Na^+ hücre zarında bulunan Ca^{+2} ile yer değiştirerek zarın apoplast kısmında Na^+/Ca^{+2} iyon oranını atmasına neden olarak zarın fizyolojik ve fonksiyonel yapısının bozulmasına neden olmaktadır (Çulha ve Çakırlar, 2012). Bunun sonucunda da membran geçirgenliği zarar görür ve dış ortama elektrolit salınımında artış gözlenir (Garg ve Manchanda, 2009). Sairam ve Srivastava (2002), buğday bitkisinde uzun süreli tuz uygulamalarında, tuzlu koşulların yaprak membran stabilite indeksi azalttığını bildirmişlerdir. Kuşvuran (2010)'a göre kuraklık uygulamasında kavunlarda membran zararlanması % 24 ile % 45 arasında değişmektedir. Diğer bir çalışmada da PGPR uygulamalarının bitkilerde yaprak oransal su içeriğini kontrole göre arttırdığı rapor edilmiştir. Aynı izolatlar membran zararlanma oranında bitkileri korumuş ve kontrole göre daha düşük elektrolit sızıntısı meydana getirmiştir. (Kang ve ark., 2014). Fakat çalışmamızda EB uygulamalarının önemli bir katkı sağlamadıkları gözlenmiştir.

Çalışmamızda genel anlamda stres faktörü altında EB uygulamalarının bitkiye daha fazla katkı sağladığı gözlenmiştir. Örneğin T13K1, T14K1 ve G116S2 izolatları YOSİ'ne 40 mM tuz dozunda fayda sağlamamış iken, 80 mM tuz dozunda YOSİ'ni önemli düzeyde arttırmışlardır. Benzer olarak T26Y1, T13K1 ve G116S2 izolatları 40mM de etkisiz iken 80 mM tuz konsantrasyonunda yaprak sayısını arttırmıştır. Kök

boyunda da aynı etki gözlenmiş ve T26Y1 izolatu 40 mM de etkisiz kalırken 80 mM’de kök boyunu arttırmıştır. Aynı şekilde düşük tuz dozunda etkisiz kalan T13K1 izolatu 80 mM’de bitki yeşil aksam yaş ağırlığını arttırmıştır. Aynı etki tuz şiddeti altında da gözlenmiştir. T13K1, T14K1 ve T26Y1 izolatları düşük tuz konsantrasyonunda etkisiz kalırken 120 mM tuz konsantrasyonunda T13K1 ve T14K1 % 23.62 ve T26Y1 izolatının ise % 22.33 oranında hıyar bitkisindeki tuz stresini PK (T3+120)’e göre azaltmıştır. Hardoim ve ark. (2008) stres koşulları altında PGPR’ların katkılarının daha belirgin olabileceğini belirtmişlerdir. Barak ve ark. (2006) PGPR olarak kullanılan endofit bakterilerin soğuk stresi arttıkça bitkiye katkısının daha fazla olduğunu gözlemişlerdir. Bitkinin abiyotik strese karşı oluşturduğu reaksiyonunla, patojen saldırısı sırasında oluşturduğu reaksiyonların benzer olabileceğini, ve iki sistemin birbirleri ile ilişkili olabileceğini belirtmiştir. Benzer durumu Akköprü ve ark. (2018), biyotik stres altındaki domates ve biberde gözlemlemiş ve hastalık baskısı altındaki bitkilerde PGPR’ların bitki sağlığına olan katkısının daha fazla olduğu belirlemiştir. Bununla birlikte Walter ve ark. (2009), sakkarin uygulaması ile aktif edilen bitki direncinin sağladığı korumanın stres baskısı arttıkça daha net görüldüğü belirlenmiştir. Aynı şekilde Bokhari ve ark. (2019), bazı EB izolatlarının *Arabidopsis thaliana*’da bitki gelişimini teşvik etmediğini ancak bitki tuz stresine maruz bırakıldığında bitki gelişimini % 50’den fazla arttırdıklarını belirlemişlerdir.

Yapılan çalışmalar ve bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, EB’lerin bitkinin maruz kaldığı biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı, bitkiye destek ve koruma sağlayabilme noktasında olumlu potansiyel taşıdıklarını göstermektedir. Çalışmamız kapsamında elde edilmiş T26Y1, T13K1, G116S2 ve T14K1 izolatları ümitvar olarak belirlenmiş fakat bu potansiyellerinin tam olarak ortaya konması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Agios, G., 2005. *Plant Pathology*. Fifty Ed. ed. s.l.: Elsevier Academic Pres, 922.
- Akat, Ş., 2015. *Endofitik Bakterilerin Hıyar Bitkilerinde Kolonizasyonunun Ve Bitki Gelişimine Etkisinin Araştırılması*. (Yüksek lisans tezi). EÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Akbaba, M., 2014. *Bitki Gelişimini Arırtıran Bakteriye Endofitlerin Hıyar Bakteriye Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. lachrymans) Önlenmesinde Kullanılma Olanakları* (yüksek lisans tezi). EÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Akköprü, A., Çakar, K., Husseini, A., 2018. Effects of endophytic bacteria on disease and growth in plants under biotic stress. *YYÜ Tar Bil Dergisi* **28** (2): 200-208
- Akköprü, A., 2012. *Hıyar Bakteriye Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. Lachrymans) Bazı Kök Bakterileriye Biyolojik Savaşımı Üzerine Araştırmalar* (doktora tezi). EÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Aktaş, H., Abak, K., Cakmak, I., 2006. Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Scientia Hort.* **110**: 260-266
- Anonim, 2008. *Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt 3*. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara. 332.
- Anonim, 2018a. Hıyar bitkisinin tanımı. <https://www.wikizero.com/tr/H%C4%B1yar>. Erişim tarihi: 27.10.2018.
- Anonim, 2018b. Bitkilerde stres faktörleri. <http://www.getakimya.com/BitkiStres.aspx>. *getakimya* Erişim tarihi: 12.11.2018.
- Anonim, 2019a Hıyar mı salatalık mı. <https://www.star.com.tr/yazar/hıyar-mi-salatalik-mi-yazi-1344541/> Erişim tarihi 04.08.2019.
- Anonim, 2019b Salatalık tüketmenin faydaları. <http://www.gidagundemi.com/beslenme-saglik/beslenme/salatalik-tuketmenin-faydolari-h9161.html>. Erişim tarihi 05.08.2019.
- Ashraf, M. ve Akram, N.A., 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: an analytical comparison. *Biotechnology Advances*, **27**: 744-752.
- Ayhan, M. V., 2019. *Örtüaltı Hıyar Yetiştiriciliğinde Sorun Olan Kök-Ur Nematodları (Meloidogyne Spp.)'na Karşı Kimyasal Mücadeleye Alternatif Mücadele Olanaklarının Araştırılması* (yüksek lisans tezi). TGÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Babier, Y., 2019. *Van Gölü Havzasından İzole Edilen Endofit Bakterilerin Karakterizasyonu ve In Vitro Koşullarda Bazı Bitki Patojeni Bakterilere Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi*. (yüksek lisans tezi). VYYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Babourina, O., Leonova, T. ve Shabala, S., 2000. Effect of sudden salt stress on ion fluxes in intact wheat suspension cell. *Annals of Botany*, **85**: 759-767.
- Barriuso, J., Ramos Solano, B., Gutiérrez Mañero F. J., 2008. Protection against pathogen and salt stress by four plant growth-promoting rhizobacteria isolated from pinus sp. On arabidopsis thaliana. *Phytopathology* **98**: 666-672.
- Bokhari, A., Essack, M., Laf F. F., Andres-Barrao, C., Jalal, R., Alamoudi, S., Razali, R., Alzubaidy, H., Shah, K. H., Siddique, S., B. Bajic, V., Hirt, H., Saad, M. M., 2019.

- Bioprospecting desert plant *Bacillus* endophytic strains for their potential to enhance plant stress tolerance. *Scientific Reports* **9**:18154
- Bhore, S. J., Ravichantar, N., Loh, C. Y., 2010. Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. *Bioinformation*, **5**:191-197
- Bilgin, N., Yıldız, N., 2007. Besin kültüründe yetiştirilen (kaya fl) domates çeşidinin (*Lycopersicon esculentum*) artan NaCl uygulamalarına toleransı ve tuzluluk stresinin kuru madde miktarı ile bitki mineral madde içeriğine etkisi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* **39** (1): 15-21.
- Bradbury, J. F., 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. Surrey, England: CAB International Mycological Institute. 586 s.
- Brien, R. and Lindow, S., 1989. Effect of plant species and environmental conditions on epiphytic population sizes of *Pseudomonas syringae* and other bacteria. *Phytopathology*, **79** (5): 619-627.
- Burssens, S., Beeckman, T. ve Montagu, M. Van, 2000. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*, *Planta*, **211** (5): 632-640.
- Carsner, E., 1918. Angular-leaf spot of cucumber: dissemination, overwintering, and control. *Journal of Agricultural Research*, **15** (3): 201-220.
- Compant S, Reiter B, Sessitsch A, Nowak J, Clément C, Ait Barka E., 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 1685- 1693.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., Barka, E.A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for the control of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology* **71**: 4951-4959.
- Çulha, Ş. Çakırlar, H., 2012. Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **11**: 11-34
- Daşgan, H.Y., Aktaş, H., Abak, K., Çakmak, İ., 2002. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses. *Plant Science*. **163**: 695-703.
- Dias A, Costa F, Andreote F, Lacava P, Teixeira M, Assumpcao L., 2009. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **25**: 189-195
- El-Sadek, S. A. M., Abdel-Latif, M. R., Abdel-Gawad, T.I. and Hussein, N. A., 1992. Occurrence of angular leaf spot disease in greenhouse cucumbers in Egypt. *Egyptian Journal of Chemistry* **27**: 157-175.
- Eren, S., 2012. *Farklı Tuzluluk Düzeylerindeki Sulama Sularının, Nanede (Mentha Piperita L.) Büyüme, Gelişme Ve Verim Parametrelerine Etkisi* (yüksek lisans tezi) OMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Fakhraei, D. ve Özaktan, H., 2015. *Endofitik Bakterilerin Hıyar Bitkilerinde Dayanıklılığı Uyarma Yoluyla Fusarium Solgunluğuna Etkililiğinin Araştırılması*. (doktora tezi) EÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bornova, İzmir.
- Fisher, D.B., 2000. *Long-Distance Transport*, in: B.B. Buchanan, W. Gruissem, R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, ASPP, USA, 2000, pp. 730–784.

- Forchetti, G., Masciarelli, O., Alemano, S., Alvarez, D., Abdala G., 2007. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus L.*): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium. ***Applied Microbiology and Biotechnology* 76**: 1145-1152
- Garg N, Manchanda G. 2009. Role of arbuscular mycorrhizae in the alleviation of ionic, osmotic and oxidative stresses induced by salinity in *Cajanus cajan (L.) Millsp.* (pigeonpea). ***J Agron Crop Sci.* 195**: 110–123.
- Gilbert, W. W. and Gardner, M. W. 1918. Seed treatment control and overwintering of cucumber angular leaf spot. ***Phytopathology* 8**: 229-233.
- Gray, E.J. and Smith, D.L. 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signalling processes. ***Soil Biol. Biochem.*, 37**: 395-412.
- Greenway, H., ve Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. ***Annual review of plant physiology*, 31 (1)**: 149-190.
- Gonzalez L, Gonzalez-Vilar M., 2003. Determination of relative water content. In: Reigosa MJ, editor. ***Handbook Of Plant Ecophysiology Techniques***. Dordrecht: Kluwer Academic; p. 207–212.
- Gorham, J., Wyn Jones, R.G., McDonnell, E., 1985. Some mechanism of salt tolerance in crop plants. ***Plant Soil*, 89**: 15-40.
- Gül, A., Özaktan, H., Tüzel, Y. And Öztan Kıdoğlu, F., 2008, Önemli sera sebze türlerinde bazı kök bakterilerinin bitki gelişimi, verim ve besin maddesi alınımına etkileri, İzmir: TÜBİTAK, 105 O 571 nolu proje kesin raporu
- Güneri Bağcı E, 2010. ***Nohut Çeşitlerinde Kuraklığa Bağlı Oksidatif Stresin Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerle Belirlenmesi*** (doktora tezi). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Hallmann, J. A., Quadt-Hallman, W.F., Mahafee, J.W., Kloepper, 1997, Bacterial endophytes in agricultural crop. ***Can. J. Microbiol.* 43**:37-42
- Hardoim. P. R., van Overbeek. L, S., van Elsas J. D., 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. ***Trends Microbiol* 16**: 463-471.
- İmriz, G., Özdemir, F., Topal, İ., Ercan, B., Taş, M. N., Yakışır, E., Okur, O., 2014. Bitkisel üretimde bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (pgpr)'ler ve etki mekanizmaları, ***Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* 12 (2)**: 1-19
- Jha, B., Gontia, I., Hartmann, A., 2012. The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halo tolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. ***Plant and Soil*, 356**: 265-277.
- Jindal, K. K., 1994. Occurrence of angular leaf spot bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* on cucumber plant. ***Plant Disease Research* 9**: 66- 67.
- Kabay, T., 2014, ***Van Gölü Havzası Fasulyelerinde Kuraklık Ve Yüksek Sıcaklığa Tolerant Ve Duyarlı Genotiplerin Belirlenmesi*** (doktora tezi). VYYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van
- Kado, C. I., 2010. ***Plant Bacteriology***. Minesota, USA: APS Press.
- Kang, S.M., Khan, A. L., Wagas, M., You, Y. H., Kim, J. H., Kim, J. G., Hamayun, M., Lee, I. J. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus*. ***Journal of Plant Interactions*, 9 (1)**: 673–682,

- Kara, B., Akgün, İ., Altındal, D., 2011. Tritikale genotiplerinde çimlenme ve fide gelişimi üzerine tuzluluğun (NaCl) etkisi, *Selçuk Tarım Ve Gıda Bilimleri Dergisi*, **25** (1): 1-9
- Karadavut, S., 2002, *Gelişme Döneminde Verilen Farklı Tuz Tipi ve Konsantrasyonlarının Mısır ve Fasulye Bitkileri Üzerinde Morfolojik Özellikler ve Verime Etkisi* (Yüksek Lisans Tezi). GTÜ, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, Kocaeli.
- Keppler, L. D., ve Novacky, A., 1986. Involvement of membrane lipid peroxidation in the development of a bacterially induced hypersensitive reaction. *Phytopathology* **76**: 104-108.
- Kıran, S., Özkay, F., Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., 2014. Tuz stresine tolerans seviyesi farklı domates genotiplerinin kuraklık stresi koşullarında bazı özelliklerinde meydana gelen değişimler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **31** (3): 41-48.
- King, E. O., Ward, M. K., Raney, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **44**, 301-307.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D., 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Budapest: Akadémiai Kaidó.
- Kloepper J.W., Schroth M. N., 1981. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology* **71**:1020–1024
- Koç, S., 2005. *Fasulyelerde Tuzluluğa Tolerans Bakımından Genotipsel Farklılıkların Erken Bitki Gelişimi Aşamasında Belirlenmesi* (yüksek lisans tezi). ÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kuklinsky-Sobral, J., Araujo, W., Mendes, R., Geraldi, I., Pizzirani-Kleiner A., Azevedo, J., 2004. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology* **6**: 1244-1251
- Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, S., Abak, K., Yaşar, F., 2007. Responses of Some Melon (*Cucumis Sp.*) Genotypes to Salt Stress. *Journal of Agricultural Sciences. Ankara University Faculty of Agriculture*, **13** (4): 395-404.
- Kuşvuran, Ş. 2010. *Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar* (doktora tezi), ÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Lee, S., Flores-Encarnación, M., Contreras-Zentella, M., Garcia-Flores, L., Escamilla, J. E., Kennedy, C., 2004. Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome c biogenesis genes. *Journal of Bacteriology*, **186**, 5384-5391.
- Lelliot, R. A., Stead, D. E., 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Oxford, Blackwell Scientific Publications. s.l
- Levitt, J., 1980. *Responses Of Plants To Environmental Stresses*. Vol.II, 2nd ed. Academic Press, New York, pp: 607.
- Lilley, A. K., Fry J.C., Bailey, M. J., Day, M. J., 1996. Comparison of aerobic heterotrophic taxa isolated from four root domains of mature sugar beet (*Beta vulgaris*). *FEMS Microbiol Ecol* **21**:231–242
- Long, H.H., Schmidt, D.D., Baldwin, I.T., 2008. Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result in common growth responses. *PloS One* **3**: e2702.

- Marschner, H., 2012. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B. R., 2004 Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science*, **166**: 525–530.
- Mercado-Blanco, J., Lugtenberg, B. J. J., 2014. Biotechnological applications of bacterial endophytes. *Curr. Biotechnol* **3**: 60–75.
- Mohamed, Z. K., El-Hindawy, H. H., Fayed, O. S., 2000. Physiological and biochemical studies on phytopathogenic bacteria isolated from cucumber in Egypt. *Egyptian Journal of Microbiology* **35**: 1-20.
- Munns, R. and Termaat, A. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.*, **13**; 143-160.
- Nazir A. B., Bhat. K, A., Zargar. M. Y., Teli, M. A., N. Muslima Sajad M. Z., 2010. Review Article Current Status Of Angular Leaf Spot (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) of Cucumber: A Review. *International Journal of Current Research*. **8**: 001-011.
- Nautiyal, C. S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, **170** (1): 265-270.
- Orcutt, D.M., Nilsen, E.T., 2000. *Physiology of Plants Under Stres: Soil and Biotic Factors*. John Wiley & Sons., 684.
- Özaktan, H., Bora, T., 1994. Investigations on the comparison of *In vitro* and *In vivo* reaction tests for the determination of suseptibility of some cucurbits to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. *J. Turk. Phytopath.* **23** (3): 105-111.
- Palaniappan, P., Chauhan P.S., Saravanan, V.S., Anandham, R., Sa, T.M., 2010. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacterial isolates from root nodule of *Lespedeza* sp. *Biology and Fertility of Soils* **46**: 807-816
- Parida, A.K. ve Das, A.B., 2005, *Salt tolerance and salinity effects on plants: a review*, Elsevier, 60, 324–349.
- Puente. M., Li, C., Bashan, Y., 2009. Rock-degrading endophytic bacteria in cacti. *Environmental and Experimental Botany*, **66**: 389-401
- Penrose, D. M., Glick, B. R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, **118**: 10-15.
- Raupach, G. S., and Kloepper, J. W. 1998. Mixtures of plant growthpromoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* **88**:1158-1164.
- Raupach, G. S., and Kloepper, J. W., 2000. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth-promoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Dis.* **84**:1073-1075.
- Rabiey, M., Hailey, L. E., Roy, R. S., Grenz, K., Al-Zadjali, M. A. S., Barrett, G. A., Jackson, R. W., 2019. Endophytes vs tree pathogens and pests: can they be used as biological control agents to improve tree health? *Eur J Plant Pathol*, **155**: 711–729
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., and Dowling, D. N., 2008. Bacterial endophytes: recent development and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* **278**: 1–9.
- Shahzad, R., Waqas, M., Khan, A. L., 2016. Seed-borne endophytic *Bacillus amylolique faciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **106**: 236 –243.

- Schaad, N., Jones, J. and Chun, W., 2001. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 3. Baskı ed., APS press. 543p.
- Shakir, M. A., Asghari, B., Muhammad, A., 2012. Rhizosphere bacteria containing ACC-deaminase conferred drought tolerance in wheat grown under semi-arid climate. *Soil and Environment*, **31** (1): 108-112.
- Shams, M., 2019. *Tuz Stresinin Biberde Bitki Gelişimi, Fizyolojik Ve Biokimyasal Özellikler, Dna Metilasyonu İle Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi* (doktora tezi). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Shannon, M., Grieve, C., 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, **78**: 5-38
- Silini-Chérif, H., Silini A., Ghoul M. and Yadav S., 2012, Isolation and characterization of plant growth promoting traits of a rhizobacteria: *Pantoea agglomerans* Ima2. *Pak J Biol Sci*, **15** (6): 267-76.
- Smith, E.F., Brayn, M.K. 1915 angular leaf-spot of cucumbers, jurnal of agicultural *Research*, **5** (11): 465-475.
- Strader, L.C., Chen, G.L., Bartel B., 2010. Ethylene directs auxin to control root cell expansion. *Plant Journal* **64**:874-884
- Sturz, A. V., Christie, B. R., and Matheson, B. G., 1998. Associations of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy. *Can. J. Microbiol.* **44**:162–167.
- Sturz, A. V., B. R. Christie, B. G. Matheson, W. J. Arsenault, and N. A. Buchanan., 1999. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. *Plant Pathol.*, **48**: 360-369.
- Sturz, A.V. and Nowak, J., 2000, Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology*, **15**: 183-190.
- Sturz, A.V., Christie, B.R. and Nowak, J., 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Crit. Rev. Plant Sci.*, **19**: 1–30.
- Sultana, N., Ikeda, T., Itoh, R., 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Env. & Exp. Bot.*, **42**: 211-220.
- Sülü, S. M., Bozkurt. İ. A., Soylu, S., 2016. Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. **21** (1):103-111.
- Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., Botina, S.G. and Netrusov, A.I. 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiol. Res.*, **162**: 69-76.
- Turhan, A., Kuşçu H., Demir, A. O., 2015. Sulama Suyu Tuzluluğunun Hıyarın Verim, Meyve Özellikleri ve Su Kullanım Etkinliği Üzerine Etkisi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **32** (3): 29-38
- TÜİK, 2018 Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://tuik.gov.tr/>. Erişim tarihi: 27.10.2018.
- Türküsay, H., 1998. *Batı Anadolunun Bazı İllerinde Hıyar Köşeli Leke Hastalığının (Pseudomonas Syringae pv. Lachrymans (Smith And Bryan) Young, Dye And Wilkie) Oranı ve Hıyar Çeşitlerinin Hastalığa Reaksiyonları Üzerine Araştırmalar*. (doktora tezi), EÜ. Fen Bil. Enst. İzmir.

- Ulrich, K., Ulrich, A. and Ewald, D. 2008. Diversity of endophytic bacterial communities in popular grown under field conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **63**: 169- 180
- Uygun, N., Ulusoy, M.R., Satar, S., 2010. Biyolojik mücadele, *Türk. Biyo. Müc. Derg.*, **1** (1): 1-14
- Verma, L. R. and Sharma, R. C., 1999. *Diseases of Horticultural Cropsvegetables, Ornamentals and Mushrooms*. Indus Publishing Company, New Delhi, p.731.
- Vendan, R. T., Yu, Y., Lee, S., and Rhee, Y. 2010. Diversity of endophytic bacteria in ginseng and their potential for plant growth promotion. *J. Microbiol.*, **48**: 559–565
- Yaşar, F., Ellialtıoğlu. Ş., 2009. Tuz stresi altında yetiştirilen patlıcan genotiplerinde meydana gelen morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. **13** (1): 51-68.
- Yılmaz, E., Tuna, A. L., Bürün, B., 2011. Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi.*, **7.1**: 47–66
- Yıldız, M., Terzi. H., Akçalı. N., 2014. Bitki tuz stresi toleransında salisilik asit ve poliaminler. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **14**: 7-22
- Zinniel, D. K., Lambrecht, P., Harris, B. N., 2002.Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plant. *Appl Environ Microbiol.* **68**: 2198–2208.
- Zhu, J., Bie, Z., Li, Y., 2008. Physiological and growth responses of two different salt-sensitive cucumber cultivars to NaCl stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, **54**: 400–407
- Zúñiga, A., Poupin, M. J., Donoso, R., 2013. Quorum sensing and indole-3-acetic acid degradation play a role in colonization and plant growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by *Burkholderia phytofirmans* PsJN. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **26**: 546 –553.



ÖZ GEÇMİŞ

1993 yılında Van'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Van'da tamamladı. 2012 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2015 - 2016 öğrenim döneminde aynı bölümden Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. 2017 yılı bahar döneminde YYÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansa kabul edildi.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 06/02/2020

Tez Başlığı / Konusu: **Tuzlu Ortamda Gelişen Bitkilerden İzole Edilen Endofit Bakterilerin Hıyar Bitkisinde Köşeli Yaprak Leke Hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*), Tuz Stresi Ve Bitki Gelişimine Etkileri**

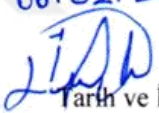
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 65 sayfalık kısmına ilişkin, 06/02/2020 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından benzerlik indeksi intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 4 (dört) dür.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

06.02.2020

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: ÜMMÜGÜLSÜM OLUR

Öğrenci No: 169101137

Anabilim Dalı: Bitki Koruma

Programı: Fitopatoloji, Bakteriyoloji

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR



Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ
(Unvan, Ad Soyad, İmza)

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR



(Unvan, Ad Soyad, İmza)