

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

**VAN GÖLÜ HAVZASINDAN İZOLE EDİLEN ENDOFİT BAKTERİLERİN  
KARAKTERİZASYONU VE *IN VITRO* KOŞULLARDA BAZI BİTKİ  
PATOJENİ BAKTERİLERE KARŞI ANTAGONİSTİK ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Yasin BABİER  
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ

VAN-2019



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

**VAN GÖLÜ HAVZASINDAN İZOLE EDİLEN ENDOFİT BAKTERİLERİN  
KARAKTERİZASYONU VE *IN VITRO* KOŞULLARDA BAZI BİTKİ  
PATOJENİ BAKTERİLERE KARŞI ANTAGONİSTİK ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Yasin BABİER

VAN-2019



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ danışmanlığında, Yasin BABİER tarafından sunulan "Van Gölü Havzasından İzole Edilen Endofit Bakterilerin Karakterizasyonu ve *In Vitro* Koşullarda Bazı Bitki Patojeni Bakterilere Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 21/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

İmza:



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ

İmza:



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Bilgin Taşkın

İmza:



Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 05.10.2019 tarih ve 2019.37-7 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza:   
Enstitü Müdürü  
Prof. Dr. Suat GENÇOY  
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.



Yasin BABİER





## ÖZET

### VAN GÖLÜ HAVZASINDAN İZOLE EDİLEN ENDOFİT BAKTERİLERİN KARAKTERİZASYONU VE *IN VITRO* KOŞULLARDA BAZI BİTKİ PATOJENİ BAKTERİLERE KARŞI ANTAGONİSTİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

BABİER, Yasin

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ

Temmuz 2019, 55 sayfa

Sürdürülebilirlik açısından bitki gelişimini teşvik eden ve bitki hastalıklarını baskılayan PGPR'lar ve bu grupta yer alan, bitki dokusu içerisinde kolonize olabilmesiyle öne çıkan endofit bakterilerin tarımda kullanımı gün geçtikçe önemini arttırmaktadır. Bu çalışmada, Van Gölü Havzasında üretimi yapılan kültür bitkilerinden izole edilen 191 endofit bakteri seçici besiyerleri kullanılarak *in vitro*'da azot fiksasyon kabiliyetleri, fosfataz aktiviteleri, siderofor üretimleri, ACC-deaminaz üretimleri ve indol-3-asetik asit üretim kabiliyetleri yönünden karakterize edilmiştir. Karakterizasyon çalışmalarında gösterilen başarıya göre endofit bakteriler önceden belirlenen bir tartılı derecelendirme puanına tabi tutulmuş ve ilk 30 izolatan belirlenen 7 bitki patojenine karşı *in vitro*'da antagonistik etkileri değerlendirilmiştir. Karakterizasyon ve antagonizm sonuçlarına göre en başarılı 5 izolatan *16srRNA* bölgesi dizi analizi yoluyla tanılamaları gerçekleştirilmiştir. *In vitro* testler sonucunda izolatların hiçbirinin azot fiksasyonu yapmadığı, % 20'sinin fosfataz aktivitesi gösterdiği, % 53.3'ünün indol-3-asetik asit ürettiği, % 13.9'unun ACC-deaminaz enzimi ürettiği ve % 75'inin siderofor ürettiği belirlenmiştir. V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1 ve V36Y2 kodlu izolatanın karakterizasyon çalışmalarında incelenen 5 özelliğin 4'üne sahip olduğu belirlenmiştir. V30Y3 ve V30G2 kodlu izolatların bütün patojenlere karşı engelleme zonu oluşturarak en başarılı izolatlar olmuştur. Antagonizm çalışmalarında kullanılan 30 izolatanın 17'sinin en az 1 patojene karşı engelleme zonu oluşturduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antagonizm, Endofit bakteriler, Endofitik bakterilerin karakterizasyonu, Moleküler tanılama, PGPR.



## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA ISOLATED FROM VAN LAKE BASIN AND DETERMINATION OF ANTAGONISTIC EFFECTS AGAINST SOME PLANT PATHOGENIC BACTERIA *IN VITRO* CONDITIONS

BABIER, Yasin

M. Sc. Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ

July 2019, 55 pages

In terms of sustainability, the use of PGPR's which promotes plant growth and suppresses plant diseases and in this group endophytic bacteria which are prominent in the colonization of plant tissue increases their importance in agriculture. In this study, 191 endophyte bacteria isolated from plants in Van Lake Basin were characterized using a selective media by the following *in vitro* tests; nitrogen fixation ability, phosphatase activity, siderophore production, ACC-deaminaz production and indole-3-acetic acid secretion ability. According to the success of the characterization studies, endophytic bacteria were subjected to a predetermined scoring system and the antagonistic effects of the first 30 isolates against 7 plant pathogens *in vitro* were evaluated by measuring the inhibition zones against pathogens. According to characterization and antagonism results, the most successful 5 isolates were identified by *16srRNA* region sequence analysis. As a result of *in vitro* tests, none of the isolates were found to have nitrogen fixation ability, 20 % had phosphatase activity, 53.3 % made indole-3-acetic acid secretion, 13.9 % produced ACC-deaminaz enzyme and 75 % produced siderophore. V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1 and V36Y2 coded 8 endofit bacteria isolates were determined to have 4 of the 5 properties investigated in the characterization studies. V30Y3 and V30G2-coded isolates were the most successful isolates by creating a inhibition zone against all pathogens. It was determined that 17 of the 30 isolates used in antagonism studies formed a zone of inhibition against at least 1 pathogen.

**Keywords:** Antagonism, Characterization of endophyte bacteria, Endophyte bacteria, Molecular identification, PGPR.



## ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ'ye teşekkür ederim. Ayrıca çalışma süresince bize işletmelerinin kapısını açan değerli üreticilerimize, arazi gezilerinde bizi misafir eden Van Tarım İl Müdürlüğü personellerine, laboratuvarındaki çalışma arkadaşlarım Ahmad HUSSEINI, Ümmügülsüm OLUR ve Ruken ÇELİK'e, manevi desteği ile her zaman yanımda olan aileme ve emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

2019  
Yasin BABIER



## 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 .....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. İzolasyon yapılan bitkiler.....	13
3.1.2. Kullanılan besiyerleri.....	13
3.1.3. Aday EB'lerin antagonistik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılan bitki patojeni bakteriler .....	16
3.2. Yöntem .....	16
3.2.1. EB izolasyonu için bitkilerin toplanması.....	16
3.2.2. EB adaylarının izolasyonu .....	17
3.2.3. Ön testler.....	18
3.2.4. Aday EB'lerin karakterizasyonu.....	18
3.2.5. Antagonizm çalışmalarında kullanılacak EB'lerin seçimi.....	21
3.2.6. EB'lerin <i>in vitro</i> 'da bitki patojenlerine karşı antagonistik etkilerinin değerlendirilmesi.....	22
3.2.7. Başarılı izolatların moleküler tanılaması .....	22
4. BULGULAR.....	25
4.1. İzolasyon Yapılan Bitki Örnekleri .....	25
4.2. Aday EB İzolasyonu ve Ön Testler .....	26
4.3. EB Karakterizasyon Çalışmaları.....	31
4.3.1. Azot fiksasyonu .....	31

	<b>Sayfa</b>
4.3.2. Fosfataz aktivitesi .....	31
4.3.3. Siderofor aktivitesi .....	32
4.3.4. ACC-deaminaz aktivitesi .....	33
4.3.5. IAA üretiminin belirlenmesi .....	33
4.4. Aday EB'lerin <i>In Vitro</i> 'da Bitki Patojenlerine Karşı Antagonistik Özelliklerinin Belirlenmesi .....	39
4.5. Moleküler Tanılama .....	42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	43
KAYNAKLAR .....	49
ÖZ GEÇMİŞ .....	55



## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. EB'lerin tanımlanmasında kullanılan primerler. ....	22
Çizelge 3.2. <i>16s rRNA</i> bölgesi dizi analizi için kullanılan <i>27F/1492R</i> spesifik cfl1 primer çifti için Master mix ve Termal Cyclers koşulları.....	23
Çizelge 4.1. EB izolasyonu yapılan bitki örnekleri, kodları, alındığı bitki dönemi, elde edildiği bölge ve tarihler. ....	25-26
Çizelge 4.2. Aday EB'lere ait ön test sonuçları.....	26-30
Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir).....	34-39
Çizelge 4.4. Bakteri izolatlarının bitki patojenlerine karşı antagonistik etkilerinin değerlendirilmesine ait sonuçlar (Değerler izolatların oluşturduğu engelleme zonlarının yarı çaplarının ölçülmesiyle elde edilmiştir. Değerler milimetre cinsindedir).....	40-41
Çizelge 4.5. NCBI veri tabanında bulunan izolatlar ile karşılaştırılması ile tanımlaması yapılan EB izolatları.....	42



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. İzolasyon için seçilen bir bitki örneği. ....	16
Şekil 3.2. Aday bitkilerden alınan örnekler üzerine yüzey sterilizasyonu uygulanmasının şematik gösterimi.....	17
Şekil 3.3. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olan örnekler. ....	18
Şekil 4.1. Azotsuz besiyerine ekilen bakteri izolatları. ....	31
Şekil 4.2. Fosfataz aktivitesini belirlemek amacıyla NBRIP besiyerine ekilen bakteri kolonileri.....	32
Şekil 4.3. Bakteri izolatlarının Blue-CAS agar ortamında gelişimleri. ....	32
Şekil 4.4. ACC-deaminaz aktivitesinin değerlendirilmesi. ....	33
Şekil 4.5. A: 1-50 ppm arası IAA solüsyonları; B: Farklı bakteri izolatlarına ait örnekler; C: Bir bakteri izolatının gerçekleştirdiği renk oluşumunun kontrole göre değişimi. ....	34
Şekil 4.6. Bakteri izolatlarının patojenlere karşı oluşturduğu engelleme zonları. A: <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> , B: <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> .....	40
Şekil 4.7. EB izolatlarına ait jel görüntüleri. ....	42



## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\mu\text{g}$	mikrogram
$\mu\text{L}$	mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	santigrat derece
ddH <sub>2</sub> O	steril ultra saf su
dH <sub>2</sub> O	distile su
dk	dakika
g	gram
M	molar
mg	miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
mM	milimolar
nm	nanometre

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
ACC	1-aminoklopropan-1-karboksilat
ASM	Acibenzolar S-Methyl
BAF	Biyolojik azot fiksasyonu
<i>Cmm</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
<i>Ea</i>	<i>Erwinia amylovora</i>
EB	Endofit bakteri
HR	Aşırı duyarlılık reaksiyonu

## Kısaltmalar

## Açıklama

**IAA**

Indol-3-asetik asit

**ISR**

Uyarılmış sistemik direnç

**KB**

Kök bakterisi

**L-TRP**

L-triptofan

**PGPR**

Bitki gelişimini teşvik eden kökbakterileri

*Psl*

*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*

*Pss*

*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

*Pst*

*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

**TAP**

Tartılı derecelendirme puanı

*Xe*

*Xanthomonas euvesicatoria*

*Xph*

*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

## 1. GİRİŞ

21. yy. dünyasında bugüne dek görülmemiş şekilde çevre sorunlarıyla karşılaşmaktayız. Ekosistemin devamlılığını sağlayan doğal kaynaklar hızla kirlenmekte, insan nüfusu dehşet verici bir hızda artmakta, tarım arazileri, ana biyolojik sistemler ve ormanlarımız kaybolmaktadır (Karaca, 2007). Meadows ve ark. (1972)'ye göre sanayi atıkları, entansif tarım uygulamalarından sonra oluşan atıklar, pestisitler ve artan insan nüfusunun oluşturduğu baskı; çevrenin karşılayabileceğinden daha fazla, yoğun bir kirliliğe neden olmaktadır.

İklim, çevre koşulları, yetiştiricilik teknikleri, bitki besleme, bitki hastalık ve zararlıları ile mücadele tarımda verimi etkileyen faktörler olarak sıralanabilir. Ürün kayıplarını azaltmak için bu faktörler göz önüne alınarak üretim stratejileri geliştirilmektedir. Bitki besleme ve bitki hastalık ve zararlıları ile mücadele konusu tarımda verimi etkileyen önemli faktörler olması sebebiyle üzerinde durulması önem arz eden konulardır, fakat içerdiği uygulamalar nedeniyle birçok olumsuzluğu beraberinde getirmektedir.

Bitki beslemede kullanılan kimyasal gübreler doğrudan ve dolaylı olarak birçok çevre sorununa yol açmaktadır. Bu gübrelerin kullanımı toprak tuzluluğu, toprakta ağır metal birikimi, toprak mikroflorasının bozulması, sularda ötrofikasyon ve nitrat birikimi, havaya azot ve kükürt içeren gazların verilmesi, ozon tabakasının incilmesi ve sera etkisi gibi birçok çevre sorunlarıyla ekosistemi tehdit etmektedir (Sönmez ve ark., 2008). Bitki hastalık ve zararlıları ile mücadelede pestisit kullanımı hızlı sonuç vermesi ve kısa süreler içinde tekrarlanabilir olması açısından sıklıkla tercih edilmekte, fakat birçok çevre ve insan sağlığı sorununu da beraberinde getirmektedir. Pestisitler, yüzey ve yeraltı sularına karışarak, toprağa bulaşarak, hedef dışı organizmalara zarar vermekte, kalıntılar ve kalıcı bileşikler nedeniyle biyolojik sistemleri ve çevreyi tehdit etmektedir (Yıldız ve ark., 2005). Bitki hastalıklarıyla mücadelede kültürel önlemlerin yetersiz kalması ve kimyasal mücadelede kullanılan pestisitlerin ekolojiye verdiği zararlar alternatif mücadele yollarının araştırılmasına yönelmemizi sağlamıştır. Bu bağlamda biyolojik savaş bitki hastalıklarıyla mücadelede iyi bir alternatif olarak görülmektedir (Akköprü, 2012).

Yapılan araştırmalar gerek toprak mikroflorasında gerekse bitki yzeyinde ve bitkilerin içsel dokularında bulunan birçok mikroorganizmanın doğrudan ve dolaylı olarak bitki gelişimini teşvik edebileceğini veya hastalıkları baskılayarak verim artışı sağlayabileceğini gstermektedir. Toprakta bitki kkkleri ile etkileşimde bulunan çok sayıda ve şeşitlilikte mikroorganizma bulunur. Bu mikroorganizmaların bitki kkkleri ile etkileşimi yararlı olabilirken bir kısmı zararlı etki gsterir. Bazı kkkbakterileri bitki gelişimini uyararak veya biyokonrol ajanı gibi hareket ederek ya da her iki rolde de davranarak bitkilere yararlı etkide bulunurlar (Romerio, 2000). Bu şekilde yararlı etkilere sahip ve bitki için olumsuz bir etkisi olmayan kkkbakterileri için bitki gelişimini teşvik eden kkkbakterileri ya da İngilizce olarak "Plant growth promoting rhizobacteria" denir ve kısaca PGPR olarak ifade edilir. PGPR terimi ilk olarak 1978 yılında kullanılmıştır (Kloepper ve Schroth, 1978).

Sentetik gbrelerin olumsuz etkilerine karşı biyogbre olarak PGPR kullanımının poplaritesi son yıllarda artmaktadır. Ayrıca PGPR şeşitli etki mekanizmaları ile bitki patojenlerinin gelişimini engeller veya baskılayabilirler. PGPR üyesi olan bir grup bakteri bitkilerin içsel dokularında kolonize olabilmektedir. Bu bakteriler endofit bakteriler olarak adlandırılmaktadır. Endofit terimi Latince endo (içinde) ve phyton (bitki) kelimelerinden meydana gelmiştir ve ilk kez De Bary (1866) tarafından kullanılmıştır. Perotti (1926) sağlıklı bitkilerin dokuları içinde yerleşik bakteri varlığı şeklinde yorumlamıştır. Quispel (1992) Konukçu dokuya hasar vermeden ya da bitki hastalık belirtileri ortaya ıkarmadan içsel olarak dokuyu kolonize olan bakteriler olarak aılmıştır. Hallmann ve ark., (1997) konukçu bitkiler üzerinde gözle gürölür hiçbir zararlı etkisi olmayan yzeyi sterilize olan bitki dokularının işinden izole edilerek tespit edilebilen tüm bakteriler olarak tanımlamıştır. Bacon ve White (2000) ise canlı bitkilerin iş dokularını, herhangi bir anda, belirgin olumsuz etkilere sebep olmadan kolonize eden mikroplar olarak tanımlamıştır. Günümüzde ise yzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularından veya bitkilerin iş kısımlarından izole edilebilen, ayrıca konukçuya zarar vermemek suretiyle yaşamının en azından bir bölümünü bitki bünyesinde geşiren bakteriler endofit bakteri olarak tanımlanırlar ve en yaygın kabul gören tanımdır. (Hallman ve ark., 1997; Azevedo ve ark., 2000; Ryan ve ark., 2008). Hardoim (2011)'e göre endofit bakterilerin (EB) bitkilerin vasküler dokuları başta



olmak üzere bitkinin tamamına yayılabildiklerini, yüksek popülasyon yoğunluklarına ulaşsalar bile bitki ile simbiyotik ilişkilerine devam edebildiklerini bildirilmiştir.

*In vitro* koşullarda biyokontrol ajanlarının patojenlere karşı etkinliği gözlenebilir ve uygun preparatlar oluşturularak arazi veya sera koşullarında denenebilir. Bitki hastalıklarıyla başarılı bir biyolojik mücadele için patojen ile biyolojik savaş ajanı arasındaki etkileşimin iyi bilinmesi gereklidir, zira mücadele stratejileri bunun üzerine kurulacaktır (Hallmann ve ark., 1997).

PGPR üyesi olan endofit bakteriler bitki dokusu içerisinde kolonize olabilmeye yeteneğiyle bitki dokuları içerisinde gelişen patojenlerin baskılanması konusunda büyük avantaj sağlayabilir (Hardoim 2008). Neredeyse tüm test edilen bitki türlerinin mikroorganizmalar tarafından kolonize olduğu tespit edildiğinden, iç bitki dokuları steril bir ortamdan uzaktır (Surette ve ark., 2003). PGPR çeşitli etki mekanizmaları ile bitki gelişimini uyarmaktadırlar. Temel olarak bitki besin elementlerinin alınımı kolaylaştırması, fitohormonlar üzerine etkileri, zararlı mikroorganizmaları baskılaması ve bitki direnç mekanizmalarının uyarılması olarak sıralanabilir (Fallik ve ark., 1989; Kloepper ve ark., 1989; Van Loon ve ark., 1998). Daha önce PGPR ile ilgili bahsettiğimiz mekanizmalar EB'ler için de geçerlidir. Fakat bitki dokusu içinde kolonize olmaları diğer epifitik PGPR'lara göre bazı üstünlükler sağlamanın yanı sıra kendilerine de avantajlar sağlar. Bitkilerin içsel dokuları EB'ler için korunaklı bir ortam oluşturur ve EB'ler bu dokularda kolonize olabilir. EB'ler patojenler gibi bitki dokusu içerisinde kolonize olabilmesi özelliğiyle, tarımda kullanılan sentetik pestisitlere ve gübrelere karşı alternatif olabileceği düşünülmektedir (Özaktan ve ark., 2015).

Bu çalışmada Van Gölü Havzasında üretimi yapılan kültür bitkilerinden izole edilen endofitik bakteri adaylarının PGPR markörlerinden olan bazı enzim ve metabolitleri belirlenmiş ve çeşitli bitki patojenlerine karşı etkinliği *in vitro* ortamda test edilerek başarılı izolatların moleküler tanınması yapılmıştır.



## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Yapılan araştırmalar sonucunda PGPR tarafından sentezlenen ve bitki gelişimini uyardığı tespit edilen metabolitler, bakterilerin PGPR olarak belirlenmesinde markör olarak kullanılabilir. Birçok bilimsel araştırmada bitkilerin içsel dokularından izole edilen bakterilerin, bu parametrelere göre PGPR etkinliği değerlendirilmiş ve başarılı izolatların bitkilerde biyolojik savaş ajanı ve biyogübre olarak kullanılma olanakları araştırılmıştır.

Azot makro besin elementi olup bitkilerin miktar olarak en fazla ihtiyaç duyduğu besin elementlerinin başında gelir. Bununla birlikte birçok ekosistemde, bu bileşiklerin mevcudiyeti sıklıkla sınırlıdır. Atmosferde bol miktarda azot bulunmasına rağmen bitkiler bunu direkt olarak kullanamazlar. Bitkiler, azot sabitleyici bakterilerle birlikte yaşayarak, kısmen azot eksikliğinin üstesinden gelebilir (Geurts ve ark. 2016). Bunun en tipik örneği baklagiller ve baklagil köklerinde nodülasyon yapan *rhizobium* bakterileridir. Azot fiksasyonu yapabilen bakterilere diazotroflar denir ve N<sub>2</sub> gazının amonyağa dönüşümünü katalize eden enzim kompleksi olan nitrojenazı kodlarlar. Biyolojik azot fiksasyonu yapabildiği bilinen bazı bakterilerin, baklagil-*rhizobium* simbiyozundan farklı olarak bitkilerin farklı organlarında kolonileşerek endofitik ilişki oluşturduğu bilinmektedir (Santi ve ark., 2013). Baklagil-*rhizobium* simbiyozunun dışındaki biyolojik azot fiksasyonu (BAF) yapan bakterilerin belirlenmesi yetiştiricilik anlamında önemli katkılar sağlayabilir.

Diazotroflar kodladığı nitrojenaz enzimi ile havadaki serbest azotu amonyağa çevirirler. Amonyak (NH<sub>3</sub>) sulu ortamda hidrojen iyonlarını alarak amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) iyonuna dönüşür ve ortamda hidrojen iyonlarının azalmasıyla pH yükselir. Diazotrof bakterilerin belirlenmesinde amonyağın bu özelliğinden faydalanılmaktadır. Nitrojenaz aktivitesi gösteren bakteriler, pH değişimine duyarlı bromtimol mavisi ilave edilen N-Free besiyerinde ortam rengini yeşilden maviye çevirerek tanılamaya imkan sağlar (Döbereiner ve ark. 1972; Kuan ve ark., 2016).

Schultz ve ark. (2014) beş farklı endofitik diazotrofik bakteri aşılmasının şeker kamışında tarladaki kimyasal N gübrelemesine karşı değerlendirilmesi yapılmış ve EB uygulamasının kimyasal gübrelemeye benzer şekilde şeker kamışı verimini

arttırdığı tespit edilmiştir. Aguiar ve ark. (2016)'da kuraklık stresi karşı değerlendirilmek üzere şeker kamışı bitkilerine endofitik diazotrofik olan *Gluconacetobacter diazotrophicus* strain PAL<sub>5</sub> ve *Herbaspirillum* cinsine ait bir izolat uygulanmıştır. Bitkiler 21 günlük kuraklık stresine maruz kaldıktan sonra bakteriler aşılansmıştır. Bakteriler bitkilerin filizlenme ve kök kuru ağırlığını sırasıyla % 50 ve % 70 oranında, yapraklardaki toplam N içeriğini ise % 77 oranında arttırdığını belirlemişlerdir. Da Silva Araújo ve ark. (2013)'te 10 geleneksel pirinç çeşidinin, aynı bölgenin pirinç toprağından izole edilmiş ve *in vitro* indol-3 asetik asit (IAA) üretme kabiliyetleri açısından taranan 10 diazotrofik suşun pirinç çeşitlerine aşılansmasının sonuçları değerlendirilmiştir. Saksı denemelerinde *Burkholderia vietnamiensis* AR 1122 suşu Arroz 70 pirinç çeşidinde biyokütle artışında en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Güney Brezilya bölgesinde yetişen mısır köklerinden 6 endofitik bakteri izole edilmiş, bu 6 endofitik izolattan dördü, N-Free besiyerinde sürekli olarak asetileni azalttığından nitrojenaz aktivitesi yönünden pozitif bulunmuştur. Tüm endofitik izolatlar, *in vivo* bitki büyümesini teşvik etmek için mısıra yeniden aşılandığında, *Enterobacter* cinsine ait bir endofitik diazotrofik suşun, tohum çimlenmesini % 47 ve kök hacmini % 44 arttırdığı tespit edilmiştir (Szilagyı-Zecchin ve ark. 2014).

Fosfor bitkiler için önemli besin elementlerinden biridir. Toprakta yeterli miktarlarda bulunmasına rağmen çok azı bitkiler için alınabilir formdadır. Bir kısım kökbakterileri toprakta bulunan fosforu çözebilme kabiliyetindedir ve bu özellikleri ile topraktaki fosforu bitkiler için yararışlı hale getirirler (Seshadri ve ark., 2000). Fosfor çözücü bakteriler fosfor kaynağı olarak Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> eklenen NBRIP agar ortamına (Nautiyal, 1999) aşılandıklarında çözücü etkisinden dolayı besiyerini saydamlaştırmaktadır. Bakteri izolatları NBRIP agar ortamına nokta ekim yoluyla uygulanarak çevresinde oluşan saydam zonun ölçülmesiyle fosfor çözme kabiliyetlerinin değerlendirilmesi yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Matos ve ark., (2017) tarafından muz ağaçlarından izole edilen bakterilerin % 65'inin fosfataz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir. Fosfat çözücü *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* içerikli biyogübreinin domates bitkisinde verim ve arttırdığı tespit edilmiştir (Öztekin ve ark., 2015).

Fitohormonlar, bitkiler için yaşam faaliyetlerini düzenlemede önemli fonksiyonlara sahiptirler. PGPR'ların indol-3-asetik asit (IAA), sitokinin, giberellin gibi hormonları ürettikleri birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. IAA kök gelişimi, hücreye besin alımı sağlanması ve hücre bölünmesi gibi fizyolojik olaylarda etkilidir. (Van Loon ve ark., 1998; Özaktan ve ark., 2015).

Bakterilerin ürettikleri IAA miktarını belirlemek için Van Urk Salkowski reaktifi kullanılarak kolorimetrik bir test uygulanmaktadır. Bakteri izolatları agar içermeyen besiyerlerine aşılanmakta ve 24 saat boyunca çalkalayıcılarda inkübe edilmektedir. İnkübasyon sonunda bakterilerin geliştiği sıvı besi yerleri santrifüj edilip oluşan süpernatant alınarak Salkowski reaktifi ile muamele edilmekte ve spektrofotometre ile 535 nm'de renk oluşumu ölçülerek değerlendirilmektedir (Bric ve ark., 1991; Akbari ve ark., 2007).

Bir çalışmada pirinç rizosferinden izole edilen 10 izolatın 6'sının IAA üretme kabiliyetinde olduğu tespit edilmiştir. İzolatların bitki boyu, kök uzunluğu ve kuru madde üretiminde önemli bir artış sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca izolatlar pirincin tohum çimlenmesini önemli ölçüde arttırmıştır (Ashrafuzzaman ve ark., 2009). Oksin ve IAA üreten bakterilerin barbunyada kök oluşumu ve kök gelişiminde önemli düzeyde artış ortaya koyduğunu bildirilmiştir (Tsavkelova ve ark., 2007). Tamamı IAA üreten bakterilerin kivi bitkisinde köklenme ve kök oluşumunda artış sağladığı bildirilmiştir (Ertürk ve ark., 2010).

Etilen bitkiler için meyve olgunlaşmasında, yaprak dökümünde, bitki direncinde vb. birçok fizyolojik olayda doğrudan veya sinyal molekülü olarak görev yapar (Glick, 1995; İmriz ve ark., 2014), fakat etilen üretimi bitkide stres koşulları altında yüksek seviyelere çıkmakta ve bitki gelişimini inhibe etmektedir (Yang ve ark., 2008). Bazı PGPR ürettikleri 1-aminoklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz enzimi ile ACC'yi parçalayarak azot kaynağı olarak kullanabilmekte dolayısı ile bitkilerde etilen üretimini dengeleyerek bitki gelişimine katkıda bulunmaktadır (Glick, 1995).

ACC-deaminaz üreten bakteriler DF besiyeri kullanılarak tespit edilebilmektedir. Temel olarak azottan arı bu besiyerine tek azot kaynağı olarak ACC eklenmekte ve bakteri izolatları aşılansarak gelişimleri gözlenmektedir. Gelişim gösteren izolatların ACC-deaminaz ürettiği yorumlanmaktadır (Penrose ve Glick, 2003).

Glick ve ark. (1998) ACC-deaminaz sentezleyebilen bakteriler kullanılarak bitkilerde etilen düzeyinin azaldığını bildirmişlerdir. Shakir ve ark. (2012) çalışmalarında buğday rizosferinden elde ettikleri 30 bakteri izolatının ACC-deaminaz etkinliği ve kuraklık stresine karşı etkilerini testlemişlerdir. ACC-deaminaz üreten PGPR uygulamasının etilen seviyesini dengelediği ve kuraklık stresini kısmen ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir.

Latif Khan ve ark., (2016) domates bitkisinde IAA, ACC-deaminaz ve fosfataz aktivitesi gösteren farklı bakteri suşlarının etkisini incelemiştir. Tarama sonuçlarına göre, endofitik bakteri suşu MPB 2.1 izolatının uygulanması ile domates fidesinin gelişimi, sürgün uzunluğu, sürgün ağırlığı, kök uzunluğu ve klorofil içerikleri önemli ölçüde arttırmıştır.

Demir mikroorganizmaların metabolizmalarında önemli bir rol oynamaktadır ancak toprakta kullanılabilir serbest iyon halinde sınırlı olarak bulunurlar. Bu nedenle toprakta sınırlı olan demir için mikroorganizmalar rekabet etmek zorunda kalırlar. Bitkiler, bakteriler ve funguslar demir iyonlarıyla yüksek uyuma sahip sözcük anlamı demir taşıyıcı anlamına gelen sideroforlar sentezlerler. Sideroforların görevleri demir iyonlarını bağlayıp onları hücre içindeki metabolik olaylarda kullanılmak üzere hücre içine taşımaktır (Leong, 1986; Altın ve Bora, 2005).

Kökbakterileri toprakta sınırlı miktarda bulunan demir için siderofor üretir. Bu bakteriler tarafından üretilen sideroforlar bitki gelişimine katkıda bulunabilir. Bir diğer etki ise demir için patojenlerle rekabete girer böylece patojen gelişimi engellenmiş olur ve bu durumdan bitki gelişimi olumlu etkilenebilir. Sideroforların bazıları ise güçlü antibiyotiklerdir (Leong, 1986). Ayrıca sideroforların, bitkilerde dayanıklılığın uyarılmasında rol aldığı belirtilmektedir (Van Loon ve ark. 1998).

Kloepper ve ark., (1980a), *Fusarium oxysporum* f. sp. lini ve *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* patojenlerine karşı siderofor üreten *Pseudomonas* türü bakterilerin etkinliğini test etmişlerdir ve patojenlerin baskılandığı bildirilmiştir. Toprakta kompleks halde bulunan demirin *Pseudomonas*'lar tarafından alınması ve patojen etmenlerin rekabet edememesi sonucunda gelişiminin inhibe edildiği düşünülmüştür. Siderofor üreten PGPR'ların, patates, şeker pancarı ve turp bitkisinde hızla kolonize olduğunu ve tarla testlerinde % 144'e varan verim artışlarına neden olduğunu bildirilmiştir (Kloepper ve ark., 1980b).

PGPR ile ilgili ilk çalışmalar, bitki hastalıklarının biyolojik kontrolünden daha çok büyümeyi teşvik etmeye odaklanmış ve toprak kaynaklı bitki patojenlerine karşı antagonist olan *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus subtilis* gibi bakteri türlerini ön plana çıkarmıştır (Kloepper ve ark., 1989). Çeşitli bitki türlerinin rizosferinden elde edilen 5 bakteri izolatının pamuk bitkisi üzerinde *Verticillium* solgunluğu ve bitki gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir. 2 bakteri suşu Carmen adlı pamuk çeşidinde % 47 ve % 23 oranında kuru madde artışı sağlamıştır (Özyılmaz ve Benlioğlu, 2012). Uslu (2006) tarafından 24'ü Gram (-) 18'i Gram (+) olmak üzere 42 bakteriyel strain bezelye ve nohut bitkileri üzerinde tarla denemeleri ile sınanmıştır. *In vitro* ve *in vivo* testler sonucunda; Kullanılan bakteri izolatlarının bitki türü ve bakteri strainlerine göre bitki gelişimini teşvik edici etkisinin değişkenlik gösterdiği hem IAA hem de fosfataz aktivitesi açısından daha başarılı olan Gram (-) bakterilerin Gram (+) bakterilerden daha etkili olduğu bildirilmiştir.

PGPR'nin gelişim ve verim üzerine etkileri çeşitli abiyotik stres faktörleri üzerinde de denenmiştir. Bir çalışmada tuz stresi altında yetiştirilen nohut bitkilerinde PGPR'nin bitki gelişimi ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, bitkilerde kök ve gövde yaş ve kuru ağırlığı, gövde boyu, yaprak sayısı ve klorofil miktarında kontrol grubuna göre önemli artışlar sağladığı belirlenmiştir (Ayhan, 2016).

Biyolojik savaşta bitkilerin direnç mekanizmalarının uyarılması yolu ile mücadele her geçen gün biraz daha ilgi görmektedir. Biyokontrol ajanları tarafından hastalık baskılanması; bitki, patojen, biyokontrol ajanı, bitki üzerinde ve çevresindeki mikrobiyal topluluk ve fiziksel çevre arasındaki etkileşimlerin bir sonucudur (Paulitz ve Belanger, 2001). Bitki büyümesini destekleyen kökbakterileri, çeşitli yollar ile patojenleri doğrudan baskılayabileceği gibi bitkide sistemik bir direncin indüklenmesiyle de etki gösterebilir. Bu şekilde indüklenen mekanizmaya uyarılmış sistemik dayanıklılık (Induced Systemic Resistance) adı verilir (Van Loon ve ark., 1998). Uyarılmış sistemik direncin (ISR) genel olarak spesifik olmayan karakteri, aynı anda birçok patojene bazal direnç seviyesinde bir artış oluşturur, ki bu da çoklu patojenlerin mevcut olabileceği doğal koşullar altında yarar sağlayabilirler (Van Loon ve Bakker, 2006).

PGPR bitki hücre duvar modifikasyonlarına ve bitki savunma mekanizmalarında rol alan bileşiklerin sentezine yol açan fizyolojik değişikliklere neden olur. Lipopolisakkaritler, sideroforlar ve salisilik asit, uyarılmış sistemik dirence aracılık eden başlıca belirleyicileridir (Antoun ve Prevost, 2006). Hıyar tohumlarının *Pseudomonas putida*, *S. marcescens* ve *Bacillus pumilis* türleri ile işlem görmesi bakteriyel köşeli yaprak lekesi hastalığının oluşturduğu lekelerin çapını azaltmıştır (Wei ve ark., 1996). Benzer bir çalışmada yine *P. putida* ve *S. marcescens* uygulanan hıyar tohumları *Erwinia tracheophila* etmeninin neden olduğu bakteriyel solgunluğu baskılamıştır (Kloepper ve ark., 1993).

Biyokontrol ajanlarının kimyasal gübre ve pestisitlere alternatif olarak biyogübre ve biyopestisit olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmakta ve alınan sonuçlar umut verici olmaktadır. Duyarlı ve tolerant hıyar çeşitlerinde kökbakterileri ve Acibenzolar S-Methyl (ASM) yoluyla uyarılan bitki dayanıklılığının hıyar köşeli yaprak leke hastalığına, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*)'nin popülasyonuna ve topraksız tarım sisteminde toplam pazarlanabilir verime olan etkilerinin incelendiği çalışmada, AA11/1 adlı kök bakterisinin (KB) duyarlı ve tolerant hıyar çeşitlerinde *Psl* popülasyonunu etkilemeksizin hastalık şiddetini pozitif kontrole göre engellediği belirlenmiştir. KB uygulamaları hastalık baskısının olmadığı koşullarda pazarlanabilir toplam verimi duyarlı çeşitlerde % 33, tolerant çeşitlerde % 67 oranında arttırdığı gözlemlenmiştir. Başarılı AA11/1 izolatının yüksek oranda siderofor ürettiği ve 60 ppm düzeyinde IAA ürettiği belirlenmiştir. (Akköprü, 2012). Hıyar bakteriyel leke hastalığı ile ilgili yapılan başka bir çalışmada sağlıklı hıyar bitkilerinin farklı kısımlarından elde edilen endofitik bakteri izolatlarının *Psl*'ye karşı biyokontrol etkisi ve bitki içerisinde kolonizasyonu araştırılmıştır. İzolatlar *in vitro* parametreler açısından değerlendirilmiş ve başarılı olan izolatlar saksı denemelerinde kullanılmıştır. Test edilen EB izolatlarının % 21'i bitkilerde hastalık etmeninin gelişimini % 50 oranında azaltmıştır. Çalışmada testlenen 38 EB izolatının % 95'lik kısmının CAS agar ortamında 0-19 mm arası zon oluşturduğu, 16 EB izolatının NBRIP Agar ortamı üzerinde 1-9 mm arasında değişen erime zonu oluşturduğu rapor edilmiştir (Akbaba, 2014).

Biberde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın PGPR bakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada çeşitli illerde biber üretim alanlarından alınan toprak ve bitki köklerinden bakteri izole



edilmiştir. İzole edilen bakterilerde fosfatı indirgeyen 11 adet izolat aday PGPR olarak seçilmiş ve bunlardan seçilen 3 bakteri izolatu ve kombinasyonları saksı ve tarla çalışmalarında denenmiştir. Denemeler sonucunda PGPR izolatları uygulanan bitkilerde hastalık şiddetinin % 65 oranında azaldığı gözlemlenmiş ve farklı oranlarda bitki gelişimini arttırmıştır. Çalışmada kullanılan aday PGPR'ların 189'undan 11'inin fosfatı indirgeme kabiliyetinde olduğu belirtilmiştir. (Mirik, 2005).

Akat ve Özaktan (2011) tarafından domates bitkilerinden izole edilen kökbakterilerinin domates bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*)'in kontrolünde biyoajan olarak etkinliğini incelenmiştir. Ege bölgesinde sağlıklı bitki köklerinden elde edilen çeşitli epifitik ve endofitik antagonistler testlenmiştir. Testlenen bakteriyel antagonistlerin % 40'ı *in vitro* çalışmalarda 2-37 mm arasında engelleme zonu oluşturmuş ve *Cmm* gelişimini engellemiştir. 11 bakteri izolatu iki farklı dönemde saksı denemelerinde kullanılmak üzere seçilmiştir. İlk denemede izolatlardan dördü domates tohumlarına uygulanmış ve hastalık şiddetini pozitif kontrole göre % 54-86 oranında engellemiştir. Bu izolatlar şaşırtma sırasında köklere uygulandığında hastalık çıkışını % 80-97 oranında engellemiş ve tohum uygulamasından daha başarılı bulunmuştur. İkinci denemede tek başına tohum bakterizasyonu uygulaması hastalığı % 50-60 oranında engellerken, şaşırtmadan önce fideye yapılan tohum bakterizasyonu + kök daldırma uygulamasında *Cmm*'e karşı % 59-74 oranında engelleme saptanmıştır.

Hıyar bitkilerinden izole edilen 109 aday EB izolatının IAA üretimi, siderofor üretimi, fosfatı parçalama yeteneği ve antibiyosis özellikleri gibi parametreler açısından değerlendirilmiş ve başarılı bulunan 24 EB izolatının *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (*Foc*) ve *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*) patojen etmenlerine karşı etkinliğini ve bitki gelişimine etkisi testlenmiştir. 24 EB izolatının % 25'lik kısmı *Foc* ve *Psl*'yi % 32-63 oranında baskıladığı belirtilmiştir. 72 EB izolatı 5-20 µg/ml aralığında değişen IAA üretimi gerçekleştirirken, 28 EB izolatı 20-125 µg/ml arasında değişen yüksek bir IAA üretimi gerçekleştirmişlerdir. Fosfat aktivitelere göre yapılan değerlendirmelerde 33 izolatın 1-9 mm arası erime zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir. EB izolatları siderofor potansiyelini belirlemek amacıyla Cas agar ortamında testlenmiş % 50'sinin 3-19 mm arasında zonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir (Özaktan ve ark., 2015).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. İzolasyon yapılan bitkiler

Çalışmada 12 Haziran-15 Temmuz 2018 tarihleri arasında Van Gölü Havzasında yapılan saha çalışmalarında, üretim alanlarından toplanan 41 adet tek yıllık kültür bitkileri kullanılmıştır. Bitkiler Gevaş, Edremit, Tuşba, Muradiye, Erciş ilçelerinde ve bu ilçelere bağlı köylerden temin edilmiştir. Bitki örnekleri; biber, domates, fasulye, hıyar, kabak, karpuz, kavun, marul, nohut ve patlıcan gibi Van'da yaygın olarak tarımı yapılan 10 farklı bitki türünü içermektedir. İzolasyon yapılan bitki örneklerine ait bilgiler çizelge 4.1.'de verilmiştir.

##### 3.1.2. Kullanılan besiyerleri

KB besiyeri: 20 g Pepton; 1.5 g  $K_2HPO_4$ ; 1.5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 10 ml gliserol; 16 g agar 1000 ml suya ilave edilmiş, 121°C'de 20 dk otoklavlanmış ve 45°C'ye kadar soğutularak petrilere dökülmüştür (King ve ark., 1954). Bakterilerin saflaştırılması, canlandırılması vb. işlemlerde genel besiyeri olarak kullanılmıştır.

NBA besiyeri: 8 g nutrient broth; 15 g agar; 1000 ml suya ilave edilmiş, 121°C'de 20 dk otoklavlanmış ve 45°C'ye kadar soğutularak petrilere dökülmüştür. Bakterilerin saflaştırılması, canlandırılması vb. işlemlerde genel besiyeri olarak kullanılmıştır. EB izolasyonu için kullanılan NBA besiyerlerine fungus gelişiminin engellenmesi için 100 µg/L cycloheximid eklenmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

% 15 gliserol katkılı NB besiyeri: 8 g nutrient broth; 20 ml gliserol 1000 ml suya ilave edilmiş, 121°C'de 20 dk otoklavlanmıştır. Soğutularak 2 ml'lik steril santrifüj tüplerine doldurulmuş besi yeri tekrar otoklavda steril edilerek kullanıma hazırlanmıştır. Bu

besiyeri izole edilen aday EB izolatlarının  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanması amacıyla kullanılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987).

N-Free (azotsuz) besiyeri: 10 g sukroz; 5 g L-malik asit; 0.1 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0.4 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0.2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0.01 g  $\text{FeCl}_3$ ; 0.1 g  $\text{NaCl}$ ; 0.02 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0.02 g  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0.05 g bromtimol blue (5 ml etil alkolde çözülür); 1000 ml suya ilave edilmiş ve pH 6.9'a ayarlandıktan sonra 12 g agar eklenmiştir. Daha sonra  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dk otoklavlanmış ve  $45^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutularak petrilere dökülmüştür. Aday EB'lerin Azot fikse etme yeteneklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Dobereiner, 1966; Dobereiner, 1970).

NBRIP besiyeri: 10 g glukoz; 5 g  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; 0.1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0.2 g  $\text{KCl}$ ; 0.25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 5 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 1000 ml suya ilave edilmiş ve pH 7'ye ayarlandıktan sonra 15 g agar eklenmiştir. Daha sonra  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dk otoklavlanmış ve  $45^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutularak petrilere eşit miktarda konulmasına dikkat edilerek dökülmüştür. Aday EB'lerin fosfataz aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Nautiyal, 1999).

Blue-CAS Agar besiyeri (Klement ve ark., 1990): İz elementlerin giderilmesi amacıyla kullanılan tüm cam parçalar 6 M  $\text{HCl}$  ile temizlenmiştir.

#### A. Mavi solüsyon

Solüsyon 1: 0.06 g CAS (Fluka Chemicals) 50 ml  $\text{ddH}_2\text{O}$  içinde çözülmüştür.

Solüsyon 2: 0.0027 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  10 ml (10 mM)  $\text{HCl}$  içinde çözülmüştür.

Solüsyon 3: 0.073 g HDTMA 40 ml  $\text{ddH}_2\text{O}$  içinde çözülmüştür.

Solüsyon 1'den alınan 9 ml solüsyon 2 ile karıştırılmış ardından solüsyon 3 ile ilave edilmiştir (final solüsyonun mavi renkte olmasına dikkat edilmiştir). Karışım otoklavlanmış ve ışık geçirmeyecek şekilde bir kapta saklanmıştır.

#### B. Karışım çözeltisi

a) Minimal Medya 9 (MM9) Tuz Çözeltisi Stoku

15 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 25 g  $\text{NaCl}$  ve 50 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  500 ml  $\text{ddH}_2\text{O}$  içinde çözülmüştür.

- b) 20 g glikoz 100 ml steril distile su çözümlenmiş filtre ile sterilize edilmiştir
- c) 25 g NaOH 150 ml steril distile su içinde çözümlenmiş ve pH ~12'ye ayarlanmıştır.
- d) Casamino Acid Solüsyonu: 3 g Casamino asidini 27 ml steril distile su içinde çözümlenmiştir. İz demiri gidermek için kloroform içerisinde % 3 8-hidroksikinolin ile ekstre edilmiştir. Süspansiyon filtre ile sterilize edilmiştir.

### C. CAS agarın hazırlanması

- a) 100 ml MM9 tuz çözeltisi 750 ml ddH<sub>2</sub>O'ya eklenmiştir.
- b) 32.24 g piperazin-N, N'-bis (2-etansülfonik asit) (PIPES) çözümlenmiştir. Bu amaçla pH 6'ya getirilip karıştırılırken yavaşça PIPES eklenmiştir. (PIPES çözümlenince pH düşecektir, PIPES eklenirken pH yavaş yavaş 6.8'e getirilmelidir. Çözeltiyi yeşile çevireceği için 6.8 aşılmamalıdır).
- c) 15 g Bacto agar eklenmiştir.
- d) Otoklavlanmış ve 50°C'ye soğutulmuştur.
- e) MM9 / PIPES karışımına, 30 ml steril Casamino asit çözeltisi ve 10 ml steril % 20 glikoz çözeltisi ilave edilmiştir.
- f) İyice karıştırmak amacıyla yeterli miktarda çalkalama ile cam duvar boyunca yavaşça 100 ml mavi solüsyon eklenmiştir.
- e) Son karışım aseptik olarak plakaları dökülmüştür.

DF besiyeri: 5 mM (670 mg) malik asit; 2 g glukoz; 2 g sitrik asit; 4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 6 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0.2 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1 µg FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 10 µg MnSO<sub>4</sub>; 70 µg ZnSO<sub>4</sub>; 50 µg CuSO<sub>4</sub>; 10 µg MoO<sub>3</sub>; 2 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pozitif kontrol için); 20 g agar; 1000 ml suya ilave edilmiş, 121°C'de 20 dk otoklavlanmış ve 45°C'ye soğutulup petrilere dökülmüştür. ACC-deaminaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla azot kaynağı olarak 6 mM ACC solüsyonu hazırlanmış ve solüsyondan 100 µL petri yüzeyine yayılmıştır. Negatif kontrol için DF besiyeri azot kaynağı eklenmeden kullanılmıştır (Penrose ve Glick, 2003).

### 3.1.3. Aday EB'lerin antagonistik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılan bitki patojeni bakteriler

Antagonizm çalışmaları için kullanılan aday EB'lerin antagonistik etkileri Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü laboratuvarı stoklarında bulunan *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* ve *Xanthomonas euvesicatoria* bitki patojenlerine karşı *in vitro* olarak değerlendirilmiştir.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. EB izolasyonu için bitkilerin toplanması

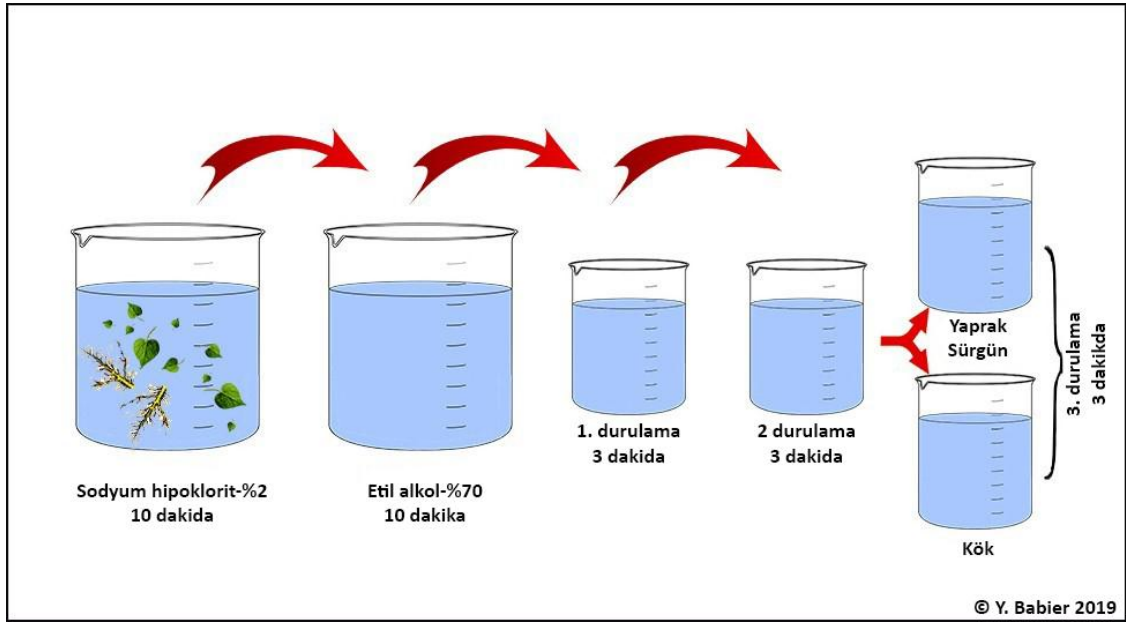
Çalışmada kullanılan aday bitkiler 12/06/2018-15/07/2018 tarihleri arasında Van Gölü Havzasında bitkisel üretim yapılan alanlardan temin edilmiştir. Bitkiler seçilirken biyotik ve/veya abiyotik stres faktörlerinin görüldüğü yerlerden sağlıklı bitkilerin alınması şeklinde bir strateji izlenmiştir (Şekil 3.1.). Alınan bitki örnekleri, kökleri ve bir miktar toprakla birlikte polietilen torbalara konarak soğuk zincirde Yüzüncü Yıl Üniversitesi bakteriyoloji laboratuvarına getirilmiş ve izolasyona kadar maksimum 24 saat olmak koşulu ile 4°C de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. İzolasyon için seçilen bir bitki örneği.

### 3.2.2. EB adaylarının izolasyonu

Çalışmada kullanılan aday EB'ler Bölüm 3.1.1.'de belirtilen bitki örneklerinin kök, sürgün ve yapraklarından izole edilmiştir. Kök, sürgün ve yaprak örnekleri sırasıyla 10 dakika % 2'lik sodyum hipoklorit ardından 10 dakika % 70'lik etil alkolde bekletilip daha sonra 3'er dakikalık 3 durulama aşamasından geçirilerek yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Son durulamada kökler ayrı sürgünler ve yapraklar ayrı durulama suyuna alınmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Aday bitkilerden alınan örneklere yüzey sterilizasyonu uygulanmasının şematik gösterimi.

Yüzey sterilizasyonu tamamlanan örnekler kurutma kağıtlarına alınıp daha sonra 1000 µL saf su ile havanelinde ezilmiş ve oluşan ekstraktan 100 µL örnek alınıp cycloheximide içeren antibiyotikli NBA besiyerine yayılarak ekim yapılmıştır. Aynı işlem örneklerin son durulama suyuna da uygulanarak sterilizasyonun başarısı kontrol edilmiştir. Son durulama suyunun eklendiği besi yerlerinde herhangi bir mikrobiyal gelişim gözlemlendiği takdirde ait olduğu örnek elenmiştir.

Yüzey sterilizasyonu başarılı olan örneklerin bulunduğu petrilere gelişen bakteri kolonileri; renk, koloni çapı, vb. morfolojik özelliklerine göre değerlendirilip farklı olduğu düşünülen koloniler izole edilip saflaştırılmak üzere NB besiyerine

ekilmiştir. Daha sonra % 15 gliserol katkılı sıvı NB besiyerlerine aşılınmış ve sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmıştır.

### 3.2.3. Ön testler

$-80^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanan aday EB'ler KB besiyerine ekilerek ve 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Gelişen kolonilerin KOH testi (Buck, 1982) ile gram reaksiyonları değerlendirilmiştir. Örnekler patojenisite kontrolü için tütün yapraklarına enjeksiyon yoluyla uygulanmış ve 48 saat beklenmiştir. Süre sonunda yaprakta aşırı duyarlılık belirtisine (HR) neden olan örnekler (Şekil 3.3.) patojen olma ihtimallerine karşı elenmiştir. (Schaad ve ark, 2001).



Şekil 3.3. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olan örnekler.

### 3.2.4. Aday EB'lerin karakterizasyonu

Çalışmanın bu aşamasında Aday EB'ler aşağıdaki özellikler yönünden karakterize edilmiştir. Başarılı olan izolatların daha sonra *in vitro*'da önceden belirlenen bitki patojenlerine karşı antagonistik etkileri değerlendirilmiştir.



### 3.2.4.1. Serbest azot fikse etme yeteneklerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan aday EB'lerin 24 saatlik KB veya NB besiyerinde geliştirilmiş olan kültürleri N-Free sukroz malate besiyerine (Döbereiner, 1966; Döbereiner ve ark. 1972) nokta ekim yoluyla ekilmiştir. 4 gün süreyle 25-27°C'de inkübe edilmiştir. Besiyerinde gelişen ve amonyak üretimine bağlı olarak yeşilden maviye renk değişimi gösteren izolatların azot fikse edebilme kabiliyetlerinin var olduğu kabul edilmiştir.

### 3.2.4.2. Fosfataz aktivitesinin belirlenmesi

Aday EB'lerin fosforu çözebilme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla NBRIP Agar besiyerinde birbirine eşit uzaklıkta 4 noktaya ekilmiş ve 14 gün süreyle 24°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda koloni çevresinde oluşan saydam zonların ölçülmesiyle bakterilerin fosfataz aktiviteleri değerlendirilmiştir (Nautiyal, 1999).

### 3.2.4.3. Indol asetik asit salgılama yeteneğinin belirlenmesi

Aday EB'lerin IAA üretimi Akbari ve ark., (2007) belirttiği yöntemin modifikasyonu ile L-triptofan (L-TRP) varlığında kolorimetrik olarak belirlenmesi ile yapılmıştır. Nutrient Broth (NB) besiyeri 100 ml'lik erlenlerle otoklavda sterilize edilmiş daha sonra her erlen için filtre edilerek sterilize edilen 5 ml L-TRP (% 0.05) ilave edilmiştir. Aday EB izolatlarının 48 saatlik kültürlerinden  $10^8$  cfu/ml'lik 100 µL eklenmiştir. Bütün bu işlemler tamamlandıktan sonra  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 120 rpm'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen sıvı kültür 1000 rpm de 10 dk. santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatant alınarak Whatman (No: 2) filtre kağıdından geçirilmiştir. İşlem sonunda elde edilmiş süpernatanttan 3 ml alınarak ayrı bir tüpe aktarılmış ve üzerine 2 ml Salkowski ayırıcı (2 ml 0.5 M  $\text{FeCl}_3$  + 98 ml % 35'lik  $\text{HClO}_4$ ) ilave edilmiş ve 30 dk renk oluşumu için beklenmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede 535 nm'de okunarak absorbans (Abs) değeri belirlenmiştir. Elde edilen Abs değerlerini µg/ml'ye dönüştürmek için 1'den 50'ye kadar farklı ppm düzeylerinde IAA süspansiyonu

hazırlanarak ölçümler yapılmış ve excel paket programı ile probit analizi yapılmış ve bir grafik elde edilmiştir. Elde edilen grafik denklemine göre bir kurve elde edilmiştir. Oluşturulan kurveye göre kökbakterilerinin IAA üretimi hesaplanmıştır (Akbari ve ark., 2007; Akköprü, 2012).

#### **3.2.4.4. ACC-deaminaz üretiminin belirlenmesi**

EB'lerin bitkilerde zararlı etilen üretimini baskılayan 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase (ACC-deaminaz) enziminin aday EB'ler tarafından üretilme kabiliyeti Penrose ve Glick, (2003)'ün belirttiği yöntem doğrultusunda DF besiyeri kullanılarak değerlendirilmiştir. ACC deaminaz etkinliğini belirlemek amacıyla besiyerine tek azot kaynağı olarak bulunan  $(NH_4)_2SO_4$  yerine ACC (Merck KGaA) kullanılmıştır. 600mg/L ACC (6mM) steril saf suda çözülmüş ve filtre edilerek sterilize edilmiştir. Bu süspansiyondan 100 µL azot kaynağı olarak  $(NH_4)_2SO_4$  eklenmemiş, karbon kaynakları eklenmiş olan DF besiyerine eklenerek petri yüzeyine yayılmıştır. Petri yüzeyine yayılan ACC tamamen kuruduktan sonra testlenmek istenen izolatların çizgi ekimi metodu ile ekimi yapılmıştır. Petriler 28°C'de 48-72 saat inkübe edilerek koloni gelişimleri gözlemlenmiştir. Kontrol için azot kaynağı olarak  $(NH_4)_2SO_4$  ilave edilmiş (pozitif kontrol) ve hiç azot içermeyen (negatif kontrol) DF besi yerleri kullanılmıştır. Azot kaynağı olarak ACC eklenen ve koloni gelişimi gözlenen petrilerden alınan örnekler bir kez daha ACC içeren DF besiyerlerine aktarılmıştır. İkinci aşamada da gelişim gösteren izolatlar ACC deaminaz üretiminin pozitif olduğu yönünde değerlendirilmiştir (Penrose ve Glick, 2003). İzolatlar gelişim yoğunluğu baz alınarak belirlediğimiz 0-3 skalasına göre (0: gelişim yok, 1: tek ve kesin sınırlarla ayrılan az sayıda koloniler, 2: koloniler bitişik fakat birbirinden ayırt edilebilir durumda, 3: yoğun gelişim sonucu koloniler tamamen birleşmiş ve ayırt edilemez durumda) puanlanmıştır.

#### **3.2.4.5. Siderofor etkinliğinin belirlenmesi**

Aday EB'lerin 24 saatlik saf kültürlerinden alınan örnekler Blue-CAS agar besiyerine birbirine eşit uzaklıkta bulunan dört noktaya ekilmiş, 7 gün süreyle 24°C'de

inkübasyona bırakılmış ve koloni çevresinde oluşan sarı zon çapı 4 farklı noktasından ölçülerek aritmetik ortalaması alınmıştır. Elde edilen değerlere göre EB adaylarının siderofor üretme seviyesi değerlendirilmiştir (Schwyn ve Neilands, 1987; Klement ve ark., 1990; Loudon ve ark., 2011).

### 3.2.5. Antagonizm çalışmalarında kullanılacak EB'lerin seçimi

Bakteri izolatları karakterizasyon çalışmalarında gösterdikleri başarıya göre önceden belirlenen ve aşağıda formülize edilen tartılı derecelendirme puanına tabi tutulmuş (TAP) ve bu puana göre ilk 30 bakteri izolatı antagonizm çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Her kategori için önem derecesine göre bir katsayı verilmiştir. Bu katsayılar ACC-deaminaz üretimi için 5, fosfataz üretimi için 6, siderofor üretimi için 7, Azot fiksasyonu ve IAA üretimi için 8 olarak belirlenmiştir. Her bir kategori için bakteri izolatının karakterizasyon testi sonucunda aldığı değer aynı kategoride varlık gösteren bütün izolatların ortalamasına bölündükten sonra kategori için belirlenen katsayı ile çarpılmış ve izolatın bu şekilde hesaplanan her kategori için aldığı değerler toplanmıştır. Daha sonra her kategorinin en yüksek değerleri için aynı işlemler yapılmış ve ayrı ayrı hesaplanıp toplandıktan sonra maksimum değer belirlenmiştir. Daha sonra bütün izolatlar maksimum değer ile oranlanmış ve çıkan sonuç 100 ile çarpılmıştır. Bu puanlama sonucunda her bir izolat 0-100 puan arası değerler almıştır, aksi takdirde yapılan işlemler kontrol edilmiştir. Bu şekilde tüm aday izolatlara bir TAP değeri verilmiş ve en yüksek değerleri alan ilk 30 bakteri antagonizm çalışmalarında kullanılmıştır. Bu işlemlerin formülize edilmiş hali eşitlik 3.1.'de verilmiştir. Formülde ACCd; ACC-deaminaz aktivitesini, Paz; fosfataz aktivitesini, Sid; siderofor aktivitesini, N; azot fikse etme kabiliyetini (nitrojenaz aktivitesi), IAA; indol asetik asit üretme kabiliyetini, EYD; bir kategoride alınan en yüksek değeri, EBO aynı kategoride değerlendirilen bütün aday EB izolatlarının ortalamasını (aktivite göstermeyenler ortalamaya dahil edilmemiştir) ifade etmektedir.

$$\left[ \frac{5 \left( \frac{ACCd \text{ değeri}}{ACCd EBO} \right) + 6 \left( \frac{Paz \text{ değeri}}{Paz EBO} \right) + 7 \left( \frac{Sid \text{ değeri}}{Sid EBO} \right) + 8 \left( \frac{N \text{ değeri}}{N EBO} \right) + 8 \left( \frac{IAA \text{ değeri}}{IAA EBO} \right)}{5 \left( \frac{ACCd EYD}{ACCd EBO} \right) + 6 \left( \frac{Paz EYD}{Paz EBO} \right) + 7 \left( \frac{Sid EYD}{Sid EBO} \right) + 8 \left( \frac{N EYD}{N EBO} \right) + 8 \left( \frac{IAA EYD}{IAA EBO} \right)} \right] 100 \quad (3.1.)$$

### 3.2.6. EB'lerin *in vitro*'da bitki patojenlerine karşı antagonistik etkilerinin değerlendirilmesi

Karakterizasyonu tamamlanarak başarılı olarak belirlenen ve en yüksek puanı alan 30 izolat patojenlere karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir. Patojen izolatların 24 saatlik saf kültürlerinden spektrofotometre yardımıyla OD<sub>600</sub>: 0.01-0.05 değerine ayarlanmış süspansiyonlar hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 100 µL alınarak KB besiyeri yüzeyine yayılarak 1 saat kuruması beklenmiştir. Daha sonra 24 saatlik aday EB'lerin hazırlanan petrilere eşit aralıklarla 4 noktaya ekimleri yapılmıştır. Bu işlem 3 tekrür olarak yapılmıştır. Aday EB'lerin oluşturdukları engelleme zonu ölçülerek antibiyosis etkisi değerlendirilmiştir.

### 3.2.7. Başarılı izolatların moleküler tanılaması

Karakterizasyon ve antibiyosis çalışmalarında başarılı bulunan EB adaylarının tanılaması EB'lerin *16s rRNA* bölgesinin dizi analizi ile yapılmıştır. Bu amaçla çizelge 3.1.'de verilen primerler ve çizelge 3.2.'de belirtilen Master Mix içeriği ve Termal Cyclus koşullarda yapılan PCR işlemi ile çoğaltılan bölgenin dizi analizi yapılmıştır. Analiz sonucu elde edilen dizileme sonuçları NCBI veri tabanında karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.1. EB'lerin tanılanmasında kullanılan primerler

Hedef	Primerler	Oligonükleotit Dizilimi (5'-3')	Kaynak
<i>16S rRNA</i> (≈1428 bp)	27F 1492R	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACTT	Lane, (1991)

Çizelge 3.2. *16s rRNA* bölgesi dizi analizi için kullanılan *27F/1492R* spesifik cfl1 primer

çifti için Master mix ve Termal Cyclus koşulları

<b>PCR Master Mix</b>					
<b>Gerekli Kimyasallar</b>	<b>Başlangıç Stok</b>	<b>Final Konsantrasyonu</b>	<b>1 örnek için gerekli miktar</b>	<b>Sekansa göndermek için gerekli miktar</b>	
Taq KCl Buffer	10 X	1X	2 µL	5 µL	
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1.5 mM	1.2 µL	3 µL	
dNTP	2.5 mM	0.2 mM	1.6 µL	4 µL	
Fd1 Forward	10 mM	1 mM	2 µL	5 µL	
Rp2 Reverse	10 mM	1 mM	2 µL	5 µL	
H <sub>2</sub> O	-	-	8 µL	20 µL	
Taq Polimeraz	5 U	1 U	0.2 µL	0.5 µL	
Örnek Nükleik Asit	10 <sup>7</sup> Cfu/ml	3 µL	3 µL	7.5 µL	
Toplam hacim	-	-	20 µL	50 µL	
<b><i>27F / 1492R</i> primerleri için termal cycle koşulları</b>					
1 döngü	35 döngü			1 döngü	1 döngü
95°C	94°C	50°C	72°C	72°C	15°C
3dk	1dk	1dk	2dk	5dk	∞



## 4. BULGULAR

### 4.1. İzolasyon Yapılan Bitki Örnekleri

Survey çalışmaları sonucu farklı bölgelerden toplam 11 biber, 8 domates, 5 patlıcan, 1 nohut, 1 fasülye, 3 hıyar, 2 kabak, 3 karpuz, 5 kavun, 2 salata marul örneği toplanmıştır. Bitki örneklerine ait bilgiler çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. EB izolasyonu yapılan bitki örnekleri, kodları, alındığı bitki dönemi, elde edildiği bölge ve tarihler

Bitki kodu	Tür	Alındığı Tarih	Alındığı yer	Bitki gelişim dönemi	
1	V1	Biber	12.06.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
2	V2	Domates	12.06.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
3	V3	Patlıcan	20.06.2018	Muradiye-Köşk Köyü	Fide dönemi
4	V4	Biber	20.06.2018	Muradiye-Köşk Köyü	Fide dönemi
5	V5	Domates	20.06.2018	Muradiye-Köşk Köyü	Fide dönemi
6	V6	Marul	20.06.2018	Muradiye-Köşk Köyü	Fide dönemi
7	V7	Nohut	20.06.2018	Tuşba-Köprüköy	Fide dönemi
8	V8	Domates	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
9	V9	Domates	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
10	V10	Patlıcan	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
11	V11	Patlıcan	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
12	V12	Domates	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
13	V13	Domates	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
14	V14	Kabak	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
15	V15	Biber	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
16	V16	Kavun	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
17	V17	Hıyar	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
18	V18	Kavun	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
19	V19	Karpuz	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
20	V20	Biber	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
21	V21	Patlıcan	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Fide dönemi
22	V22	Biber	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
23	V23	Hıyar	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
24	V24	Biber	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
25	V25	Kavun	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
26	V26	Kavun	2.07.2018	Tuşba-Alaköy	Vejetatif dönem
27	V27	Kabak	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Vejetatif dönem
28	V28	Marul	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Vejetatif dönem
29	V29	Domates	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Fide dönemi

Çizelge 4.1. EB izolasyonu yapılan bitki örnekleri, kodları, alındığı bitki dönemi, elde edildiği bölge ve tarihler (devam)

Bitki kodu	Tür	Alındığı Tarih	Alındığı yer	Bitki gelişim dönemi
30 V30	Patlıcan	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Fide dönemi
31 V31	Biber	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Fide dönemi
32 V32	Biber	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Fide dönemi
33 V33	Biber	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Fide dönemi
34 V34	Domates	5.07.2018	Edremit-Andaç Mevkii	Vejetatif dönem
35 V35	Karpuz	15.07.2018	Erciş-Ünseli Köyü	Vejetatif dönem
36 V36	Hıyar	15.07.2018	Erciş-Ünseli Köyü	Vejetatif dönem
37 V37	Karpuz	15.07.2018	Erciş-Keçikıran Köyü	Vejetatif dönem
38 V38	Biber	15.07.2018	Erciş-Kozluca Köyü	Vejetatif dönem
39 V39	Fasülye	15.07.2018	Erciş-Merkez	Vejetatif dönem
40 V40	Biber	15.07.2018	Erciş-Kozluca Köyü	Vejetatif dönem
41 V41	Kavun	15.07.2018	Erciş-Kozluca Köyü	Fide dönemi

#### 4.2. Aday EB İzolasyonu ve Ön Testler

Bölüm 3.1.1.'de belirtilen bitkilerden 191 EB izole edilmiştir. 6 izolat tütünde HR gösterdiğinden ve 5 izolat -80°C derin dondurucudan tekrar canlandırılmamasından dolayı elenmiştir. Geriye kalan 180 izolat ile karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. KB besiyerinde 24 saat geliştirilen bakterilerin gözle muayenesi yapılarak koloni özellikleri belirlenmiştir. Daha sonra KOH testi ile Gram reaksiyonuna tabi tutulan izolatların % 58.9'unun Gram (-), % 41.1'inin Gram (+) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Aday EB'lere ait ön test sonuçları

İzolat	Gram reaksiyon	Koloni özellikleri
1 V1G1	Gram (-)	Kirli sarı mukoid, parlak
2 V1G3	Gram (-)	Krem rengi
3 V1Y1	Gram (+)	Krem rengi, pütürlü
4 V2G1	Gram (+)	Krem rengi, levan oluşumu
5 V2K1	Gram (+)	Kirli sarı
6 V2K2	Gram (-)	Kirli sarı, mukoid
7 V2K3	Gram (-)	Krem rengi, levan oluşumu
8 V2K4	Gram (+)	Krem rengi, levan oluşumu
9 V2Y1	Gram (+)	Kirli sarı
10 V2Y2	Gram (-)	Kirli sarı, şeffaf
11 V3G1	Gram (-)	Kızılımsı, mukoid



12 V3G2 Gram (-) Kirli sarı, şeffaf

Çizelge 4.2. Aday EB'lere ait ön test sonuçları (devam)

İzolat	Gram reaksiyon	Koloni özellikleri
13 V3K1	Gram (+)	Kirli sarı, mukoid
14 V3K2	Gram (-)	Krem rengi, şeffaf
15 V3Y1	Gram (+)	Krem, kuru, pütürlü
16 V3Y2	Gram (-)	Krem rengi
17 V4G1	Gram (-)	Beyaz mukoid
18 V4G2	Gram (-)	Krem rengi, mukoid, parlak
19 V4K1	Gram (-)	Krem rengi
20 V4Y1	Gram (+)	Kirli sarı
21 V4Y2	Gram (-)	Krem rengi
22 V4Y3	Gram (+)	Krem rengi, levan oluşumu
23 V5G1	Gram (+)	Turuncu
24 V5G2	Gram (-)	Krem rengi
25 V5G3	Gram (+)	Krem rengi
26 V5K1	Gram (+)	Krem rengi, şeffaf, mukoid
27 V5K2	Gram (+)	Krem rengi
28 V5K3	Gram (+)	Krem rengi
29 V5Y1	Gram (-)	Şeffaf Sarı
30 V6K1	Gram (-)	Sarı, şeffaf mukoid
31 V6K2	Gram (-)	Krem rengi, mukoid, parlak
32 V6K3	Gram (-)	Kirli sarı,
33 V6K4	Gram (-)	Sarı
34 V6K5	Gram (+)	Krem rengi
35 V6Y1	Gram (+)	Beyaz
36 V6Y2	Gram (-)	Krem rengi
37 V6Y3	Gram (-)	Limon sarısı
38 V6Y4	Gram (-)	Kirli sarı, parlak
39 V7G1	Gram (-)	Kirli sarı, mukoid, parlak
40 V7G2	Gram (-)	Krem rengi, mukoid, parlak
41 V7G3	Gram (-)	Turuncu, mukoid, parlak
42 V8G1	Gram (-)	Turuncu şeffaf, mukoid
43 V8G2	Gram (-)	Krem rengi, mukoid
44 V8K1	Gram (-)	Krem rengi
45 V8K2	Gram (+)	Krem rengi
46 V8K3	Gram (-)	Krem rengi
47 V8K4	Gram (-)	Kirli sarı
48 V9G1	Gram (+)	Kızılımsı, mukoid
49 V9G2	Gram (-)	Limon sarısı
50 V9G3	Gram (-)	Kirli beyaz, mukoid
51 V9Y2	Gram (-)	Krem rengi, mukoid
52 V10K1	Gram (-)	Kirli sarı
53 V10K2	Gram (+)	Krem rengi, mukoid

54 V10K3 Gram (-) Krem rengi

Çizelge 4.2. Aday EB'lere ait ön test sonuçları (devam)

İzolant	Gram reaksiyon	Koloni özellikleri
55	V11G1	Gram (-) Krem rengi
56	V11G2	Gram (-) Sarı mukoid
57	V11K1	Gram (+) Krem rengi
58	V11K2	Gram (-) Açık sarı
59	V11Y1	Gram (+) Kirli sarı
60	V12G1	Gram (-) Beyaz
61	V12G2	Gram (-) Krem rengi
62	V12K1	Gram (-) Kirli sarı
63	V12K2	Gram (+) Krem rengi
64	V12K3	Gram (+) Krem rengi, ağsı
65	V12Y1	Gram (+) Kirli sarı, ağsı
66	V14G1	Gram (-) Krem rengi, ağsı
67	V14G2	Gram (-) Sarı, mukoid
68	V14G3	Gram (+) Krem rengi, pütürlü
69	V14K1	Gram (-) Krem rengi
70	V14K2	Gram (-) Krem rengi
71	V14K3	Gram (+) Kirli sarı, mukoid, bombeli
72	V14K4	Gram (-) Şeffaf sarı
73	V14K5	Gram (-) Şeffaf sarı, mukoid
74	V14Y1	Gram (-) Limon sarısı, mukoid
75	V17G1	Gram (-) Kirli sarı, mukoid
76	V17G2	Gram (-) Krem rengi, mukoid
77	V17G3	Gram (-) Krem rengi şeffaf
78	V17K1	Gram (-) Kirli sarı, ağsı
79	V17K2	Gram (+) Krem rengi
80	V17K3	Gram (-) Krem rengi, mukoid
81	V18G1	Gram (+) Limon sarısı
82	V18G2	Gram (+) Kirli sarı
83	V18G3	Gram (-) Sarı şeffaf
84	V18G4	Gram (-) Limon sarısı, mukoid
85	V21Y2	Gram (+) Krem rengi
86	V27G2	Gram (+) Açık sarı
87	V27Y1	Gram (-) Krem rengi, mukoid
88	V27Y2	Gram (-) Krem rengi
89	V27Y3	Gram (+) Krem rengi
90	V28Y1	Gram (-) Krem rengi
91	V28Y2	Gram (-) Krem rengi
92	V28Y3	Gram (+) Krem rengi
93	V29Y1	Gram (+) Krem rengi
94	V29Y2	Gram (-) Beyaz
95	V29Y3	Gram (-) Beyaz

96 V30G1 Gram (-) Beyaz

Çizelge 4.2. Aday EB'lere ait ön test sonuçları (devam)

İzolat	Gram reaksiyon	Koloni özellikleri
97 V30G2	Gram (-)	Şeffaf sarı
98 V30G3	Gram (-)	Turuncu şeffaf
99 V30K1	Gram (+)	Krem rengi, bombeli
100 V30K2	Gram (-)	Krem rengi
101 V30Y2	Gram (+)	Beyaz
102 V30Y3	Gram (+)	Krem rengi
103 V31G1	Gram (-)	Sarı
104 V31K1	Gram (-)	Levan oluşumu, krem rengi
105 V31K3	Gram (-)	Sarı, mukoid
106 V31K4	Gram (+)	Kirli sarı
107 V31K5	Gram (+)	Krem rengi
108 V31Y1	Gram (+)	Krem rengi
109 V31Y2	Gram (-)	Çok açık sarı
110 V31Y3	Gram (-)	Turuncu
111 V31Y4	Gram (-)	Turuncu
112 V32G1	Gram (-)	Şeffaf
113 V32G2	Gram (-)	Krem rengi
114 V32G3	Gram (+)	Turuncu
115 V32K1	Gram (-)	Krem rengi
116 V32K2	Gram (-)	Krem rengi, pütürlü
117 V32Y1	Gram (+)	Krem rengi, mukoid
118 V32Y2	Gram (+)	Sarı, pütürlü, levan oluşumu
119 V33K1	Gram (+)	Krem rengi
120 V33K2	Gram (+)	Krem rengi
121 V34G1	Gram (+)	Krem rengi, levan oluşumu
122 V34G2	Gram (-)	Krem rengi
123 V34K1	Gram (+)	Krem rengi
124 V34K2	Gram (-)	Krem rengi
125 V34K3	Gram (-)	Levan oluşumu, krem rengi
126 V34Y1	Gram (+)	Krem rengi
127 V34Y2	Gram (+)	Kirli sarı
128 V34Y3	Gram (+)	Krem rengi
129 V34Y4	Gram (+)	Levan oluşumu, Açık sarı
130 V35G1	Gram (+)	Krem rengi şeffaf
131 V35K1	Gram (-)	Krem rengi
132 V35K2	Gram (-)	Krem rengi, mukoid
133 V35K3	Gram (+)	Kirli sarı
134 V35K4	Gram (+)	Levan oluşumu, krem rengi
135 V35Y1	Gram (+)	Krem rengi
136 V35Y2	Gram (-)	Beyaz
137 V36G1	Gram (-)	Sarı, mukoid

138 V36G2 Gram (-) Turuncu şeffaf, mukoid

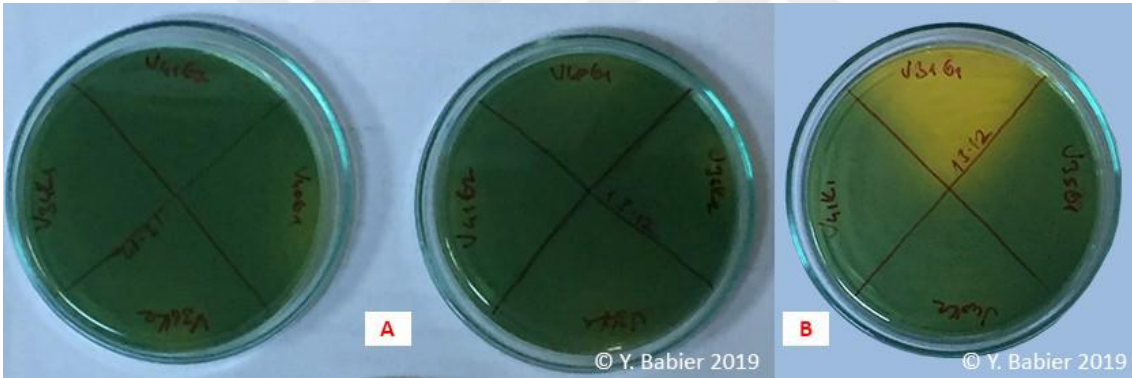
Çizelge 4.2. Aday EB'lere ait ön test sonuçları (devam)

İzolat	Gram reaksiyon	Koloni özellikleri
139 V36G3	Gram (-)	Turuncu, mukoid
140 V36G4	Gram (-)	Sarı şeffaf
141 V36K1	Gram (+)	Sarı, mukoid
142 V36K2	Gram (+)	Krem rengi
143 V36K3	Gram (-)	Turuncu şeffaf
144 V36K4	Gram (+)	Krem rengi
145 V36K5	Gram (-)	Turuncu şeffaf, mukoid
146 V36K6	Gram (-)	Sarı
147 V36K7	Gram (+)	Krem rengi
148 V36Y1	Gram (-)	Açık sarı
149 V36Y2	Gram (+)	Krem rengi
150 V37G1	Gram (-)	Turuncu, mukoid
151 V37G2	Gram (-)	Turuncu mukoid
152 V37G3	Gram (-)	Krem rengi
153 V37G4	Gram (+)	Krem rengi, Levan oluşumu
154 V37Y1	Gram (-)	Limon sarısı
155 V37Y2	Gram (-)	Turuncu, mukoid yapılı
156 V37Y3	Gram (+)	Krem rengi
157 V38G1	Gram (-)	Krem rengi
158 V38G2	Gram (-)	Şeffaf sarı
159 V38K1	Gram (+)	Beyaz
160 V38K2	Gram (-)	Krem rengi
161 V38K3	Gram (+)	Kirli sarı, ağsı
162 V38K4	Gram (-)	Krem rengi, ağsı yapı
163 V38Y1	Gram (+)	Krem rengi, pütürlü
164 V40G1	Gram (+)	Krem rengi
165 V40G2	Gram (+)	Açık sarı
166 V40K1	Gram (-)	Kirli açık sarı
167 V40K2	Gram (-)	Krem rengi, pütürlü
168 V40K3	Gram (+)	Krem rengi
169 V40K4	Gram (+)	Açık sarı
170 V40Y1	Gram (-)	Krem rengi
171 V40Y2	Gram (-)	Krem rengi
172 V41G1	Gram (-)	Turuncu, mukoid
173 V41G2	Gram (-)	Sarı şeffaf, mukoid
174 V41K1	Gram (-)	Turuncu
175 V41K2	Gram (+)	Turuncu
176 V41K3	Gram (+)	Krem rengi
177 V41Y1	Gram (+)	Krem rengi
178 V41Y2	Gram (+)	Sarı şeffaf, mukoid
179 V41Y3	Gram (+)	Krem rengi

### 4.3. EB Karakterizasyon Çalışmaları

#### 4.3.1. Azot fiksasyonu

Karakterizasyon çalışması yapılan 180 izolatın her biri 3 tekerrür halinde azotsuz besiyerine ekilmiştir. Besi yerlerinde koloni gelişimi gözlenmiş fakat hiçbir izolatın besiyerlerinde mavi renk oluşturmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.1. A). Koloni gelişimi tek başına yeterli olmadığından 180 izolatın hiçbirinin azot fiksasyonu kabiliyetinde olmadığı kabul edilmiştir. Bazı bakterilerin besiyerinde yeşilden sarıya bir renk değişimi oluşturduğu gözlenmektedir (Şekil 4.1. B). Bu durum bakteri izolatının asidite artışına neden olduğunu ve azot fiksasyonunun gerçekleşmediğini göstermektedir (Döbereiner, 1966; Döbereiner ve ark. 1972).



Şekil 4.1. Azotsuz besiyerine ekilen bakteri izolatları.

#### 4.3.2. Fosfataz aktivitesi

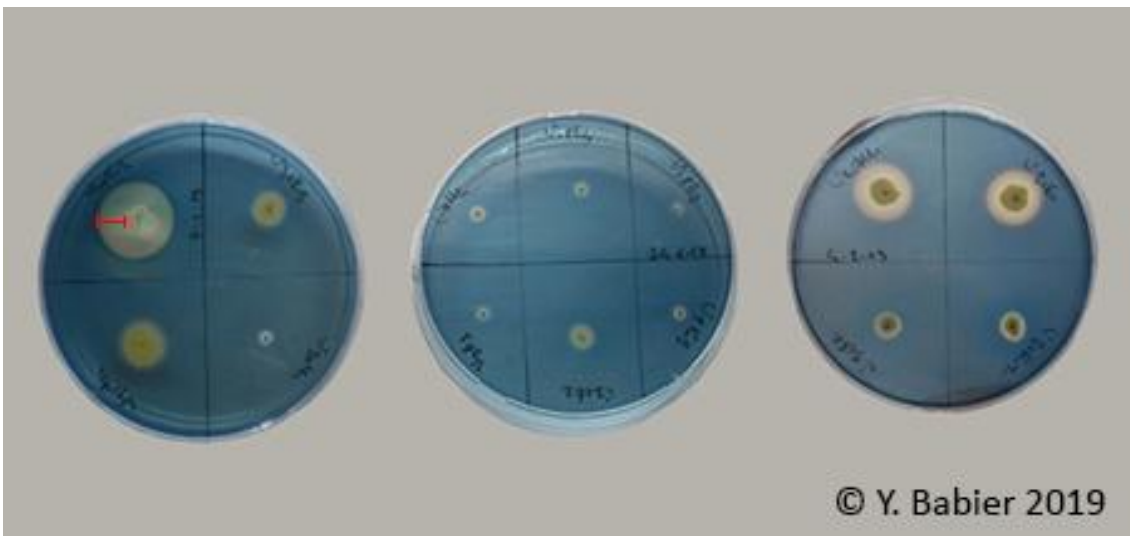
İzolatlar 3 tekerrür halinde NBRIP besiyerlerine nokta ekim yöntemi ile ekilmiş ve 14 gün süreyle 24°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. 14 günlük süre sonunda izolatların oluşturduğu saydam zonlar cetvel yardımı ile ölçülmüştür (Şekil 4.2.). Toplam izolatların % 20'lik kısmının fosfataz aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Fosfataz aktivitesi gösteren en başarılı V33K2 izolatı 11.75 mm'ye zon oluşturmuştur. Fosfataz aktivitesi gösteren 36 izolatın 17'sinin Gram (+), 19'nun Gram (-) olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2. Fosfataz aktivitesini belirlemek amacıyla NBRIP besiyerine ekilen bakteri kolonileri.

#### 4.3.3. Siderofor aktivitesi

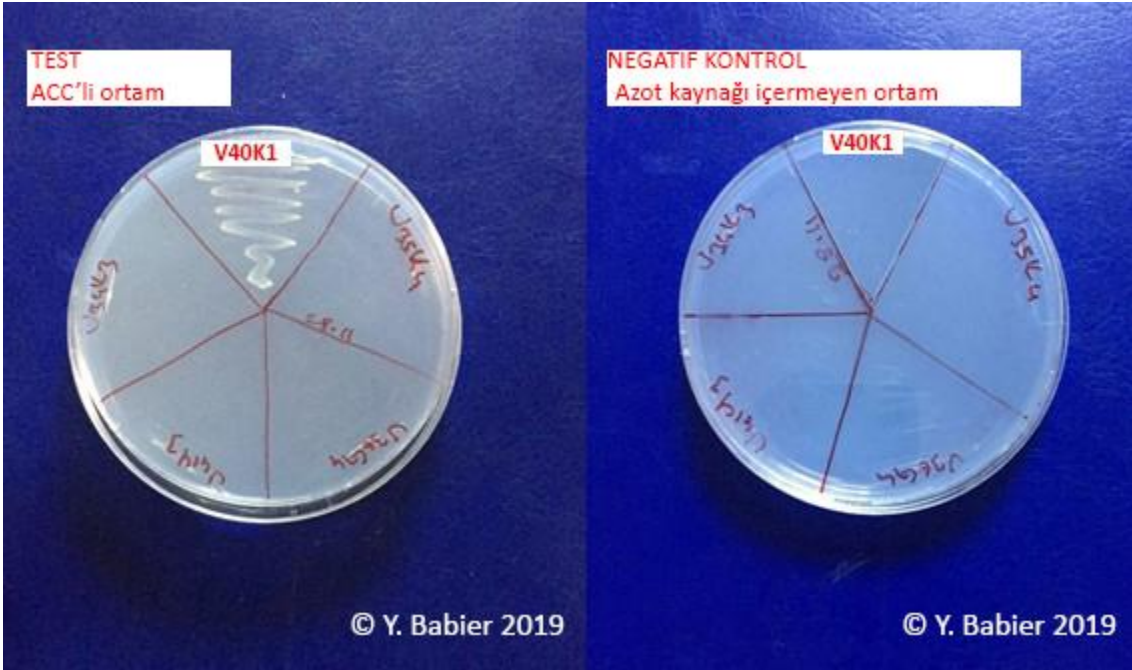
İzolatlar siderofor üretim kabiliyetlerinin belirlenebilmesi amacıyla Blue-CAS agar ortamına nokta ekim yoluyla ekilmiş ve 7 gün süreyle 24°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların % 75'inin Blue-CAS agar ortamında zon oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3.). V40K2 kodu verilen izolatın 7 mm zon oluşturarak en başarılı izolat olduğu kaydedilmiştir. Siderofor aktivitesi gösteren 135 izolatın 53'ünün Gram (+), 82'sinin Gram (-) olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 4.3. Bakteri izolatlarının Blue-CAS agar ortamında gelişimleri.

#### 4.3.4. ACC-deaminaz aktivitesi

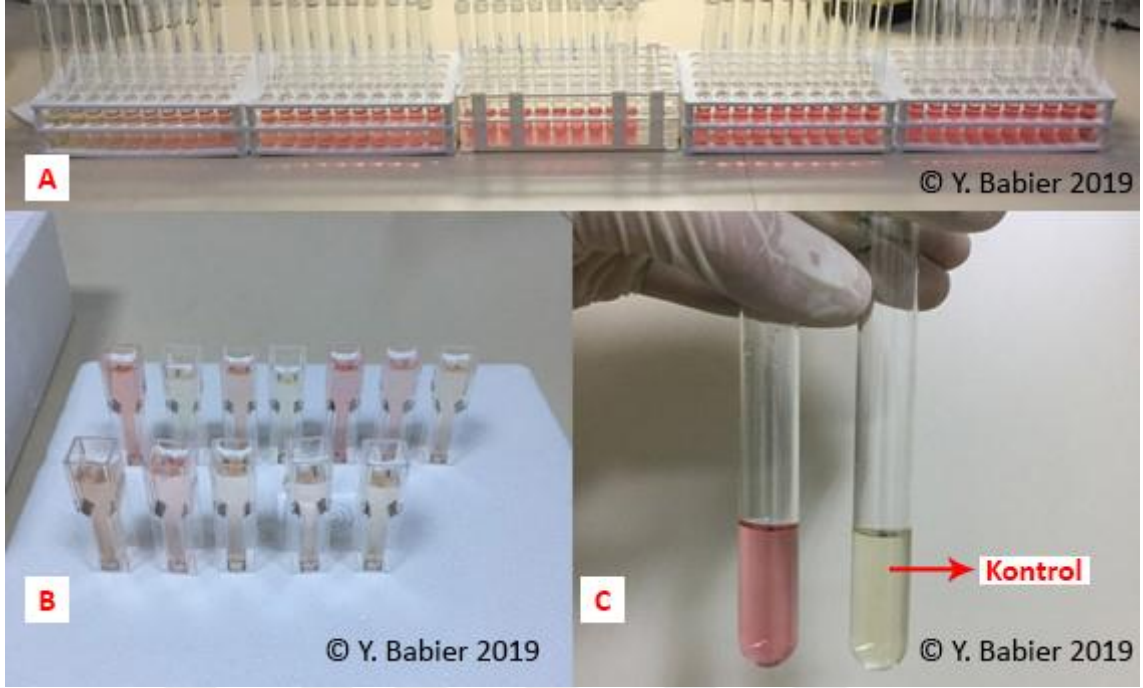
Aday EB izolatları DF tuz besiyerinde gelişim yoğunlukları baz alınarak bölüm 3.2.4.4'te belirtilen 0-3 skalasına göre puanlanmıştır. ACC-deaminaz aktivitesi gösteren 25 izolat tüm izolatların % 13.9'unu temsil etmektedir. 12 izolatın Gram (+), 13 izolatın Gram (-) olduğu kaydedilmiştir. Şekil 4.4.'te DF besiyerinde gelişim gösteren V40K1 izolatı 0-3 skalasına göre 3 puan almıştır.



Şekil 4.4. ACC-deaminaz aktivitesinin değerlendirilmesi.

#### 4.3.5. IAA üretiminin belirlenmesi

Değerlendirmeler sonucunda izolatların % 53.3'ünün IAA üretime kabiliyetinde olduğu kaydedilmiştir. IAA üreten 96 izolatın 41' Gram (+), 55'ü Gram (-) olarak kaydedilmiştir. V31Y4 kodlu izolat 25.03 ppm IAA üreterek en başarılı izolat olmuştur. IAA aktivitesi gösteren EB izolatları (Şekil 4.5.) ortalama 1 ila 25 ppm aralığında IAA üretmiştir. 1 ppm altında IAA üreten izolatların IAA üretimi 0 kabul edilmiştir. EB izolatlarına ait bütün karakterizasyon sonuçları çizelge 4.3.'te verilmiştir.



Şekil 4.5. A: 1-50 ppm arası IAA solüsyonları; B: Farklı bakteri izolatlarına ait örnekler; C: Bir bakteri izolatının gerçekleştirdiği renk oluşumunun kontrole göre değişimi.

Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir)

	İzolat	Azot Fiksasyonu	ACC-deaminaz (0-3 skalası)	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)	IAA üretimi (ppm)	TAP
1	V31Y4	-	3	2.25	-	25.03	51.28
2	V33K2	-	-	1.5	11.75	7.68	47.25
3	V33K1	-	1	1.75	2.58	14.32	36.38
4	V37Y1	-	-	5.5	0.75	8.56	35.98
5	V40K2	-	3	7	-	1.38	35.22
6	V31Y3	-	-	1.63	3.17	12.21	32.36
7	V35Y1	-	2	1.5	2.17	10.91	31.28
8	V14G3	-	3	3	-	9.09	30.86
9	V31G1	-	-	4.5	3.42	1.79	28.99
10	V37G2	-	-	2.25	-	13.5	28.58
11	V41K3	-	3	2	-	9.74	27.89
12	V34G1	-	3	1	0.5	10.97	27.07
13	V32Y2	-	-	5.88	-	2.62	26.82
14	V29Y1	-	-	5	-	4.32	25.90
15	V17G2	-	3	0.5	3.84	5.09	25.05
16	V32K2	-	2	4.5	-	2.03	24.45



Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir) (devam)

İzolat	Azot Fiksasyonu	ACC-deaminaz (0-3 skalası)	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)	IAA üretimi (ppm)	TAP	
17	V30Y3	-	3	1.5	1	6.91	24.37
18	V36K1	-	-	1.25	6.42	1.21	23.11
19	V17K2	-	3	1.75	-	7.09	23.04
20	V38K1	-	3	1.13	1.5	5.79	22.54
21	V30G2	-	-	4.5	1.84	-	22.31
22	V40Y2	-	3	2	-	5.03	21.00
23	V29Y2	-	-	2.25	-	8.09	20.65
24	V40K1	-	3	1.75	2.88	-	20.03
25	V37Y3	-	-	2.25	2.84	2.68	20.00
26	V31K1	-	3	-	1.88	6.32	19.88
27	V27Y3	-	-	2	2.25	3.26	18.38
28	V31K3	-	-	2.13	2.92	1.74	18.33
29	V31K5	-	3	1.25	-	5.09	18.15
30	V17G1	-	1	2.25	-	4.68	17.59
31	V8G2	-	-	1.5	-	7.91	17.46
32	V41Y3	-	-	2	0.75	4.74	16.69
33	V17K1	-	2	1	1	4.32	16.68
34	V31Y1	-	-	0.75	2.75	4.56	16.67
35	V9G2	-	-	1.5	-	7.09	16.25
36	V27Y1	-	-	4.13	-	-	16.14
37	V12K2	-	3	0.75	-	3.68	14.13
38	V36Y2	-	1	1	2.17	1.85	14.12
39	V37G1	-	-	2.5	0.5	1.91	13.86
40	V11K1	-	-	1.13	-	6.38	13.75
41	V36K6	-	-	-	4.5	1.26	13.39
42	V6Y3	-	-	2.38	-	2.62	13.13
43	V18G2	-	-	1.25	-	5.5	12.95
44	V2G1	-	-	1.5	-	4.79	12.89
45	V7G3	-	-	-	-	8.74	12.80
46	V2K2	-	-	1.75	-	3.97	12.66
47	V1G3	-	-	2.63	-	1.62	12.64
48	V1G1	-	-	1	-	5.91	12.57
49	V30G3	-	-	1.5	-	4.56	12.55
50	V36G1	-	-	1.38	-	4.74	12.32
51	V14Y1	-	3	1.63	-	-	12.17
52	V41G2	-	-	1.75	-	3.62	12.15
53	V36K3	-	-	1	2	2.09	12.10
54	V6K5	-	-	2.25	-	2.21	12.03

Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir) (devam)

	İzolat	Azot Fiksasyonu	ACC-deaminaz (0-3 skalası)	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)	IAA üretimi (ppm)	TAP
55	V5K2	-	-	1.75	-	3.38	11.80
56	V4G1	-	-	1.63	-	3.56	11.57
57	V32G1	-	-	2.5	-	1.21	11.55
58	V17K3	-	-	2	-	2.38	11.32
59	V3G1	-	-	2	-	2.21	11.06
60	V3Y2	-	3	1.25	-	-	10.70
61	V36G3	-	-	1.63	-	2.91	10.62
62	V37G3	-	-	0.5	-	5.91	10.62
63	V6Y1	-	-	1.75	-	2.56	10.60
64	V9G3	-	-	1.5	-	3.15	10.48
65	V9Y2	-	-	1.5	-	2.91	10.13
66	V36K2	-	-	1	-	4.15	9.99
67	V4Y1	-	-	2.5	-	-	9.78
68	V6Y2	-	-	0.5	-	5.32	9.75
69	V32Y1	-	-	1.25	1.84	-	9.60
70	V38K4	-	-	1	-	3.85	9.56
71	V34Y2	-	-	-	-	6.44	9.44
72	V31Y2	-	-	1	2.09	-	9.26
73	V41K2	-	-	1	-	3.56	9.13
74	V40Y1	-	-	-	-	6.21	9.09
75	V34Y1	-	2	-	-	3.5	9.00
76	V5G3	-	-	2.25	-	-	8.80
77	V8K4	-	-	1.5	-	1.97	8.76
78	V35K2	-	-	1.25	-	2.44	8.47
79	V6K2	-	-	2.13	-	-	8.31
80	V6Y4	-	-	1	-	2.68	7.83
81	V2K4	-	-	2	-	-	7.83
82	V5G1	-	-	2	-	-	7.83
83	V6K3	-	-	2	-	-	7.83
84	V9G1	-	-	2	-	-	7.83
85	V10K2	-	-	2	-	-	7.83
86	V11G2	-	-	2	-	-	7.83
87	V12K1	-	-	2	-	-	7.83
88	V14G2	-	-	2	-	-	7.83
89	V28Y2	-	-	2	-	-	7.83
90	V38G2	-	-	2	-	-	7.83
91	V34G2	-	-	1.13	-	2.32	7.81
92	V27Y2	-	-	1.25	0.5	1.09	7.77

Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir) (devam)

İzolat	Azot Fiksasyonu	ACC-deaminaz (0-3 skalası)	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)	IAA üretimi (ppm)	TAP	
93	V32G2	-	-	1	1.5	-	7.76
94	V12K3	-	-	1.5	-	1.26	7.72
95	V11Y1	-	-	1.5	-	1.21	7.64
96	V10K1	-	-	1.25	-	1.74	7.43
97	V3G2	-	-	1.88	-	-	7.34
98	V14K4	-	-	1.88	-	-	7.34
99	V2K1	-	-	1.25	-	1.62	7.26
100	V5K1	-	-	1.25	-	1.5	7.09
101	V37Y2	-	1	-	2	-	7.07
102	V8K1	-	-	1	-	2.03	6.89
103	V5K3	-	-	1.75	-	-	6.85
104	V5Y1	-	-	1.75	-	-	6.85
105	V11K2	-	-	1.75	-	-	6.85
106	V40K4	-	-	1.75	-	-	6.85
107	V41G1	-	-	1.75	-	-	6.85
108	V14K5	-	-	1.63	-	-	6.36
109	V30K2	-	-	0.75	-	2.15	6.08
110	V34K1	-	-	-	-	4.15	6.07
111	V4Y3	-	-	1.5	-	-	5.87
112	V6K1	-	-	1.5	-	-	5.87
113	V7G1	-	-	1.5	-	-	5.87
114	V18G4	-	-	1.5	-	-	5.87
115	V30K1	-	-	1.5	-	-	5.87
116	V31K4	-	-	1.5	-	-	5.87
117	V32G3	-	-	1.5	-	-	5.87
118	V40G2	-	-	1.5	-	-	5.87
119	V38G1	-	-	-	1.25	1.79	5.83
120	V41Y1	-	-	0.5	-	2.62	5.79
121	V35K1	-	-	1	-	1.09	5.51
122	V2K3	-	-	1	-	1.03	5.42
123	V8G1	-	-	1.38	-	-	5.38
124	V36K5	-	-	1.38	-	-	5.38
125	V37G4	-	-	1.38	-	-	5.38
126	V30G1	-	-	0.75	-	1.5	5.13
127	V35K4	-	-	-	-	3.38	4.95
128	V18G1	-	-	1.25	-	-	4.89
129	V18G3	-	-	1.25	-	-	4.89
130	V36G4	-	-	1.25	-	-	4.89

Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir) (devam)

İzolat	Azot Fiksasyonu	ACC-deaminaz (0-3 skalası)	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)	IAA üretimi (ppm)	TAP
131	V40G1	-	-	-	2.79	4.09
132	V38K2	-	-	0.63	1.03	3.95
133	V3K2	-	-	1	-	3.91
134	V8K2	-	-	1	-	3.91
135	V11G1	-	-	1	-	3.91
136	V12Y1	-	-	1	-	3.91
137	V17G3	-	-	1	-	3.91
138	V27G2	-	-	1	-	3.91
139	V28Y1	-	-	1	-	3.91
140	V41K1	-	-	1	-	3.91
141	V41Y2	-	-	1	-	3.91
142	V30Y2	-	-	-	1.5	3.85
143	V38K3	-	-	0.5	1.21	3.72
144	V38Y1	-	-	-	2.5	3.66
145	V14G1	-	-	0.5	1.15	3.64
146	V34K3	-	-	-	2.38	3.49
147	V36Y1	-	-	0.88	-	3.42
148	V36K7	-	-	-	1.25	3.21
149	V6K4	-	-	0.75	-	2.93
150	V8K3	-	-	0.75	-	2.93
151	V5G2	-	-	-	1.5	2.20
152	V34K2	-	-	-	1.5	2.20
153	V36K4	-	-	-	1.5	2.20
154	V10K3	-	1	-	-	1.94
155	V34Y4	-	-	-	0.75	1.92
156	V35G1	-	-	-	1.15	1.68
157	V12G1	-	-	-	0.5	1.28
158	V14K3	-	-	-	0.5	1.28
159	V35Y2	-	-	-	0.5	1.28
160	V1Y1	-	-	-	-	0.00
161	V2Y1	-	-	-	-	0.00
162	V2Y2	-	-	-	-	0.00
163	V3K1	-	-	-	-	0.00
164	V3Y1	-	-	-	-	0.00
165	V4G2	-	-	-	-	0.00
166	V4K1	-	-	-	-	0.00
167	V4Y2	-	-	-	-	0.00
168	V7G2	-	-	-	-	0.00

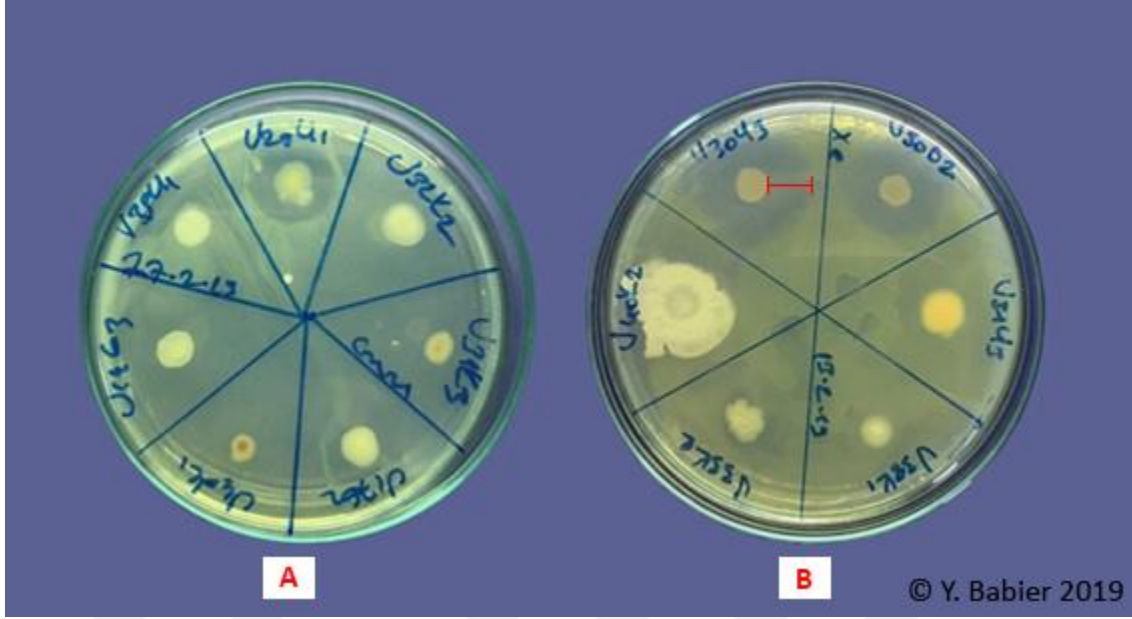
Çizelge 4.3. Aday EB'lerin karakterizasyon sonuçları (İzolatlar TAP değerlerine göre sıralanmıştır. Azot fikse eden izolat bulunmadığı için TAP'a dahil edilmemiştir) (devam)

İzolat	Azot Fiksasyonu	ACC-deaminaz (0-3 skalası)	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)	IAA üretimi (ppm)	TAP
169	V12G2	-	-	-	-	0.00
170	V14K1	-	-	-	-	0.00
171	V14K2	-	-	-	-	0.00
172	V21Y2	-	-	-	-	0.00
173	V28Y3	-	-	-	-	0.00
174	V29Y3	-	-	-	-	0.00
175	V32K1	-	-	-	-	0.00
176	V34Y3	-	-	-	-	0.00
177	V35K3	-	-	-	-	0.00
178	V36G2	-	-	-	-	0.00
179	V40K3	-	-	-	-	0.00
180	V41Y4	-	-	-	-	0.00

#### 4.4. Aday EB'lerin *In Vitro*'da Bitki Patojenlerine Karşı Antagonistik Özelliklerinin Belirlenmesi

Bölüm 3.2.5'te belirtildiği gibi PGPR özelliklerine göre bakteri izolatları puanlanmış ve çizelge 4.3.'te belirtilen en başarılı ilk 30 bakteri izolatu antagonizm çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Seçilen bakteri izolatlarının bölüm 3.1.3.'te belirtilen bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkileri *in vitro* koşullarda incelenmiştir.

V30Y3 ve V30G2 kodlu izolatların bütün patojenlere karşı engelleme zonu oluşturduğu gözlenmiştir. V27Y3 izolatu 6 patojen; V14G3 izolatu 5 patojen; V34G1, V40K1 ve V31K3 izolatları 4 patojen; V33K2, V37Y1, V40K2 ve V37Y3 izolatları 3 patojen; V31G1, V41K3, V29Y1 ve V17K2 izolatları 2 patojen; V32Y2 ve V31K2 izolatları 1 patojen türüne karşı engelleme zonu oluştururken 13 adet izolat hiçbir patojen türüne karşı engelleme zonu oluşturmamıştır. Yalnızca 3 izolat *Psl* ve *Pst*'ye karşı engelleme zonu oluştururken, 5 izolat *Pss*'ye, 7 izolat *Ea*'ya, 14 izolat *Cmm* ve *Xph*'ye, ve 13 izolat *Xe*'ye karşı engelleme zonu oluşturmuştur. 13 izolatın ise hiçbir patojene karşı zon oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.6.; Çizelge 4.4.).



Şekil 4.6. Bakteri izolatlarının patojenlere karşı oluşturduğu engelleme zonları.  
A: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, B: *Xanthomonas euvesicatoria*.

Çizelge 4.4. Bakteri izolatlarının bitki patojenlerine karşı antagonistik etkilerinin değerlendirilmesine ait sonuçlar (Değerler izolatların oluşturduğu engelleme zonlarının yarı çaplarının ölçülmesiyle elde edilmiştir.

Değerler

milimetre cinsindedir)

İzolat	<i>Psl</i>	<i>Pss</i>	<i>Pst</i>	<i>Ea</i>	<i>Cmm</i>	<i>Xe</i>	<i>Xph</i>
1 V31Y4	-	-	-	-	-	-	-
2 V33K2	-	-	-	-	4.33	1.33	2.00
3 V33K1	-	-	-	-	-	-	-
4 V37Y1	-	-	-	-	7.00	2.00	2.00
5 V40K2	-	-	-	-	1.33	2.67	2.00
6 V31Y3	-	-	-	-	-	-	-
7 V35Y1	-	-	-	-	-	-	-
8 V14G3	-	1.00	-	8.00	3.00	6.00	9.00
9 V31G1	-	-	-	-	-	8.00	19.00
10 V37G2	-	-	-	-	-	-	-
11 V41K3	-	-	-	-	3.00	-	2.00
12 V34G1	-	-	-	4.00	2.00	5.33	4.33
13 V32Y2	-	-	-	-	1.00	-	-
14 V29Y1	-	-	-	-	4.00	3.00	-
15 V17G2	-	-	-	-	-	-	-
16 V32K2	-	-	-	-	-	-	-
17 V30Y3	2.33	2.33	2.00	2.00	9.67	8.67	16.00
18 V36K1	-	-	-	-	-	-	-

**19** V17K2 - - - - 2.33 - 1.00

Çizelge 4.4. Bakteri izolatlarının bitki patojenlerine karşı antagonistik etkilerinin değerlendirilmesine ait sonuçlar (Değerler izolatların oluşturduğu engelleme zonlarının yarı çaplarının ölçülmesiyle elde edilmiştir. Değerler milimetre cinsindedir) (devam)

İzolat	<i>Psl</i>	<i>Pss</i>	<i>Pst</i>	<i>Ea</i>	<i>Cmm</i>	<i>Xe</i>	<i>Xph</i>
<b>20</b> V38K1	-	-	-	-	-	-	-
<b>21</b> V30G2	2.00	2.00	2.00	2.00	9.67	8.33	16.00
<b>22</b> V40Y2	-	-	-	-	-	-	-
<b>23</b> V29Y2	-	-	-	-	-	-	-
<b>24</b> V40K1	-	-	-	1.00	15.00	4.00	15.00
<b>25</b> V37Y3	-	-	-	4.00	-	1.00	4.00
<b>26</b> V31K1	-	-	-	-	2.67	-	-
<b>27</b> V27Y3	3.00	2.00	4.00	4.33	-	4.00	8.00
<b>28</b> V31K3	-	1.50	-	-	15.00	6.00	15.00
<b>29</b> V31K5	-	-	-	-	-	-	-
<b>30</b> V17G1	-	-	-	-	-	-	-

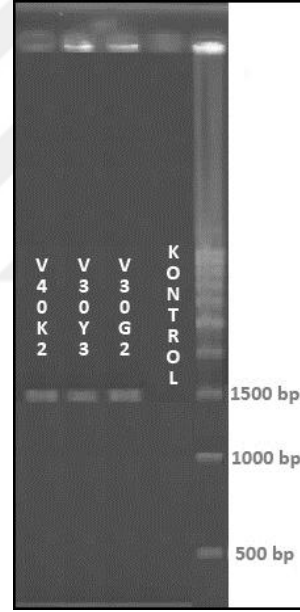
Bu çalışmada elde edilen bulgular sonucu fosfataz aktivitesi gösteren izolatların % 72.2'sinin siderofor aktivitesinde, % 30.6'sının ACC-deaminaz aktivitesinde ve % 66.7'sinin ise IAA üretiminde varlık gösterdiği belirlenmiştir. Siderofor aktivitesi gösteren izolatların % 19.3'lük kısmı fosfataz aktivitesinde de varlık gösterirken % 15.6'lık dilimin ACC-deaminaz aktivitesine sahip olduğu ve % 59.3'ünün IAA ürettiği belirlenmiştir. ACC- deaminaz üreten izolatlarının % 84'ünün siderofor aktivitesinde ve % 80'inin IAA üretiminde başarılı olduğu dikkat çekmektedir. Ayrıca bu izolatların % 44 oranında fosfataz aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. IAA üretiminde varlık gösteren izolatların % 20.8'inin ACC-deaminaz üretiminde, % 83.3'ü siderofor aktivitesi ve % 25'i fosfataz aktivitesinde varlık göstermiştir.

Bütün karakterizasyon sonuçları ele alındığında karakterizasyon testleri yapılan 5 kategorinin hepsinde birden varlık gösteren izolat bulunmamaktadır. V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1 ve V36Y2 kodlu 8 bakteri izolatı azot fiksasyonu dışında diğer 4 kategoride aksiyon gösterdiği tespit edilmiştir. 25 izolat 3 farklı kategoride, 59 adet izolat 2 farklı kategoride, 67 izolat sadece 1 kategoride aksiyon gösterirken 21 izolat hiçbir kategoride varlık gösterememiştir. Karakterizasyon sonuçlarına göre bölüm 3.2.5.'te ifade edildiği gibi puanlanan ve antagonizm testlerinde

tabi tutulan en başarılı ilk 30 izolatin 15'inin Gram (+) 15'ünün Gram (-) olduğu kaydedilmiştir.

#### 4.5. Moleküler Tanılama

Karakterizasyon ve antagonizm çalışmaları sonucunda V40K2, V30Y3 ve V30G2 kodlu bakterilerin *16 rRNA* bölgeleri çizelge 3.1.'de belirtilen primerler ve çizelge 3.2.'de belirtilen master mix ve termal cyclus koşullarında PCR yoluyla çoğaltılmıştır. PCR ürünleri jel elektroforez ile 100 V, 400 mA şartlarda 70 dakika koşurulmuş ve yaklaşık 1500 bp'de bantlar gözlenmiştir (Şekil 4.7.). PCR ürünlerinin Sanger Yöntemi ile sekans analizleri yapılmıştır. Sekans sonuçlarının ncbi veri tabanında blast analizleri yapılmıştır (çizelge 4.5.).



Şekil 4.7. EB izolatlarına ait jel görüntüleri.

Çizelge 4.5. NCBI veri tabanında bulunan izolatlar ile karşılaştırılması ile tanılması yapılan EB izolatları

İzolat	Tanı	Benzerlik
V40K2	<i>Bacillus velezensis</i>	% 100.00
V30Y3	<i>Bacillus megaterium</i>	% 100.00
V30G2	<i>Pseudomonas caspiana</i>	% 100.00



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yürütülen bu yüksek lisans çalışmasında Van Gölü Havzasında üretimi yapılan bazı kültür bitkilerinden 191 endofitik bakteri adayı izole edilmiş ve bazı PGPR markörleri belirlenmiştir. Tartılı derecelendirme sonucu başarılı bulunan 30 izolatin bitki patojenlerine karşı etkinliği *in vitro* ortamda test edilmiş ve başarılı izolatların moleküler tanılaması yapılmıştır.

Araştırmacılar her geçen gün PGPR'ların bitki sağlığı ve gelişimine katkılarının yeni yol ve metabolitlerini belirlemektedirler. Böylece bakteri, bitki ve çevre kombinasyonunda hangi faktörün aktif olduğunu belirlemek gayet güçtür. Bu çerçevede bakıldığında en sağlıklı sürecin aday izolatların hedefler doğrultusunda doğrudan bitki üzerinde denenmesidir. Fakat bunun incelenen bakteri sayısının çokluğu göz önüne alındığında çok pratik bir yöntem olmadığı görülmektedir. Bu nedenle PGPR karakterini belirlemede seçilecek bazı markörlerin *in vitro* da ön değerlendirilmesi yapılarak ümit var olanların seçilmesi ve böylece *in vivo* çalışmalara geçilmesi iş gücü, zaman ve malzemedeki tasarruf sağlayacaktır. Aksi takdirde yüksek sayılardaki izolatların doğrudan bitki üzerinde denenmesi gerekecektir.

IAA, ACC-deaminaz, siderofor, fosfataz üreten ve azot fikse edebilen bakterilerin başarılı PGPR oldukları ve bu unsurların iyi markörler oldukları birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Goswami ve ark., 2016). IAA bitkide çimlenme, kök gelişimi gibi vejetatif parametrelere etki eden bir fitohormondur ve PGPR'ların % 80'inin IAA üretebildiği tahmin edilmekte ve bu yolla bitkide verim artışı sağladığı bilinmektedir. (Brick ve ark., 1992; Salisbury, 1994; Patten ve Glick, 2002). ACC-deaminaz üretebilen bakterilerin bitkilerde zararlı etilen üretimini düşürdüğü ve bitkiye katkı sağladığı rapor edilmiştir (Penrose ve Glick, 2003; Shakir ve ark., 2012; Putri ve ark., 2015; Khan ve ark., 2016). Sideroforlar bitki gelişimine önemli bir besin elementi demiri kazandırarak doğrudan; patojenlerle rekabet ederek, doğal direnç mekanizmalarını uyararak veya antibiyotik etkisiyle dolaylı olarak katkı sağlamaktadır (Van Loon ve Backer, 1998). Bu nedenle sideroforlar önemli bir PGPR göstergesi

olarak kabul edilmektedir (Van Loon ve Backer, 1998; Van Loon ve ark., 2005). PGPR'lar tarafından üretilen organik asitle toprakta çözünmesi güç halde bulunan fosfor içeren bileşikler yarayırlı hale gelir. Fosfataz üreten bakterilerin bitki gelişimine önemli düzeyde katkı yaptığını belirleyen çalışmalar mevcuttur (Seshadri ve ark., 2000). Azot fiksasyonu yapabilen bakterilerin suni gübrelere alternatif olabileceği hatta ciddi şekilde azaltabileceği düşünülmektedir (Döbereiner, 1966; Döbereiner ve ark., 1972; Santi ve ark., 2013). Arazi ve sera koşullarında denenmek üzere bitkilere yararlı olabilecek bakterilerin seçiminde bu kriterler referans alınarak bir ön eleme yapılabilmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada survey çalışmalarında izole edilen endofit bakteriler iyi PGPR parametrelerinden olan IAA, ACC-deaminaz, siderofor, fosfataz üretimi ve azot fiksasyonu yönünde karakterize edilmiştir.

Analiz edilen 180 izolatın hiçbirinin kullanılan yöntemle göre azot fikse etme kabiliyetinde olmadığı görülmüştür. Karagöz (2009)'da N-Free ortamda test edilen tüm izolatların azot fikse etme kabiliyetinde olduğu kaydedilmiştir. Analizlerin, N-Free ortamda koloni gelişim yoğunluğuna göre yapıldığı bildirilmiştir. Fakat Andrade ve ark., (2014) tarafından muz ağacı köklerinden elde edilen toplam 40 endofitik bakteri izolatının 20'sinin N-Free ortamda geliştiği, ancak sadece dört izolatın asetilen redüksiyon deneyi (Danso, 1995) ve Kjeldahl yöntemi (Nogueira ve ark., 1998; Schultz ve ark., 2014) kullanılarak analiz edildiğinde azot fiksasyonu açısından pozitif sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar tek başına koloni gelişimine göre değerlendirilme yapılmasının yanıltıcı olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmaya ait testlenen 180 izolatın % 97.6'sında N-Free ortamda koloni gelişimi gözlenmiş fakat hiçbir izolat amonyak üretimine bağlı olarak beklendiği gibi besiyerinde yeşilden maviye renk değişimi göstermediğinden azot fikse etme etkinlikleri negatif olarak değerlendirilmiştir.

Fakhraei (2015) çalışmasında değerlendirdiği 104 EB izolatının % 33'ünün fosfataz etkinliğine sahip olduğunu ve 1-9 mm arasında zon oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada 11.75 mm'ye kadar zon oluşumu gözlenmiştir ve alınan sonuçların bu çalışmayla benzerlik gösterdiği görülmektedir. Yıldız ve Aysan (2014) 39 farklı toprak örneğinden izole edilen 499 adet aday PGPR bakteri izolatının fosfataz aktivitesini sıvı ve katı NBRIP besiyeri kullanılarak testlemiştir. Seçilen 386 izolatın sıvı ortamda % 8.9'unun fosfataz aktivitesi gösterdiği, katı ortamda kullanılan 113 izolatın % 15'inin

fosfataz aktivitesinde olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada fosfataz aktivitesinde % 20'lik bir oran görülmektedir ve değerlerin yakın olduğu söylenebilir.

Putri ve ark. (2015) DF besiyeri kullanılarak 47 izolatın ACC-deaminaz aktivitesini değerlendirmişlerdir. DF besiyerinde azot kaynağı olarak ACC içeren pertrilerde 4 (% 8.5) bakteri izolatının gelişim gösterdiği rapor edilmiştir. Aynı izolatlar ACC-deaminaz genine spesifik primerler kullanılarak PCR ile amplifiye edilmiştir ve 8 izolatın (% 17) kesin olarak ACC-deaminaz pozitif olduğu bildirilmiştir. Moleküler değerlendirme ile seçici besiyeri kullanılarak yapılan değerlendirme sonuçları arasındaki farkın iki kat olması dikkat çekmektedir. PCR yoluyla spesifik primerler kullanılarak ACC-deaminaz pozitif olduğu tespit edilen ama DF besiyerinde gelişmeyen izolatlar için kullanılan besiyerinin uygun olmadığı ihtimal dahilindedir. Bu çalışmada izolatların DF besiyerinde ACC-deaminaz aktiviteleri değerlendirilmiş ve % 13.9 oranında ACC-deaminaz pozitif izolat kaydedilmiştir. Daha net sonuçlar için PCR çalışmaları yapılabilir.

İmriz ve ark., (2014)'ün Patten ve ark., (2002)'den aktardığına göre topraktan izole edilen mikroorganizmaların % 80'inin IAA ürettiği tahmin edilmektedir. Bu çalışmada bitki dokusu içerisinde izole edilen EB'lerin % 53.3 oranında IAA ürettiği kaydedilmiştir. Bir çalışmada pirinç rizosferinden izole edilen 10 endofit bakterinin 6'sının (% 60) IAA üretme kabiliyetinde olduğu rapor edilmiştir (Ashrafuzzaman ve ark., 2009). Calvo ve ark. (2010) ise patates rizosferinden elde ettiği 63 izolatın % 81'inin IAA ürettiğini tespit etmiştir.

EB'ler bitki dokuları içerisinde kolonize oldukları ve hareket edebildikleri için diğer epifitik PGPR'lara göre bitki hastalıklarına karşı daha avantajlı olabilir. Patojenlerle bitki dokuları içerisinde rekabet, antibiyosis gibi yollarla mücadele edebilir (Hardoim 2008). Bu nedenle karakterizasyon çalışmalarında başarılı olan izolatların *in vitro*'da bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkisi değerlendirilmiştir. Antagonizm çalışmalarında en az bir patojene karşı engelleme zonu oluşturan 17 bakteri izolatı bulunmaktadır. Bunların 10'unun Gram (+), 7'sinin Gram (-) olduğu KOH testi ile belirlenmiştir ve gram pozitif bakterilerin daha başarılı olduğu görülmektedir. Ayrıca bunlardan 1 izolat dışında hepsinin siderofor aktivitesi göstermesi dikkat çekicidir. Yine bu 17 izolatın 15'inin karakterizasyon çalışmalarında en az 3 kategoride varlık gösterdikleri kaydedilmiştir. Gholami ve ark., (2014) İran ve Doğu Azerbaycan'da

fasülye bitkilerinden izole edilen, endofit bakteriler *Bacillus* ve *Streptomyces* spp.'nin *Sclerotium rolfii*'nin *in vivo* ve *in vitro*'da etkili antagonistler olduğunu belirlemişlerdir.

*16s rRNA* bölgesi dizi analizi ile V40K2, V30Y3 ve V30G2 kodlu izolatların moleküler tanılaması yapılmış ve bu izolatların sırasıyla *Bacillus velezensis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas caspiana* türleri olduğu tespit edilmiştir. Literatürde bu türler ile ilgili birçok kayıt bulunmaktadır. Özellikle *Bacillus velezensis* ve *Bacillus megaterium* türlerinin yüksek biyolojik savaş potansiyeline sahip izolatları barındıran türler olduğu bildirilmiştir. Gao ve ark. (2017) *B. velezensis*'in *Alternaria solani* ve *Botrytis cinerea*'a karşı antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Rashid ve ark. (2017) *B. velezensis*'in *Arabidopsis* fidelerinde yaprak bitlerine karşı uyarılmış sistemik direnci harekete geçirdiği ve yaprak bitlerinin yerleşmesini, beslenmesini ve çoğalmasını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Chakraborty ve ark. (2006)'da *B. megaterium*'un çay bitkilerinde büyüme ve gelişmeyi arttırdığı, *Fomes lamaoensis*'in neden olduğu kahverengi kök çürüklüğü hastalığını belirgin şekilde azalttığı *in vivo* çalışmalarla tespit etmişlerdir. Bunun ile birlikte sınıflandırması henüz yapılan *Pseudomonas caspiana*'nın hakkında sınırlı çalışma bulunmaktadır. Busquets ve ark. (2017) tarafından *Pseudomonas caspiana*'nın turuncgillerde patojen olduğu kaydedilmiştir.

Çalışma kapsamında Van Gölü Havzasında Gevaş, Edremit, Tuşba, Muradiye, Erçiş ilçelerinden ve bağlı beldelerden alınan bitki örneklerinden 191 EB izolasyonu yapılmış ve gelecekte bölgede yürütülecek *in vivo* çalışmalar için materyal ve bilgi altyapısı sağlama amaçlanmıştır.

- Elde edilen izolatların % 59.9 Gram (-), % 41.1 Gram (+) bakterilerden oluşmuştur.
- Karakterizasyon çalışmaları sonucunda, V33K1, V35Y1, V34G1, V17G2, V30Y3, V38K1, V17K1 ve V36Y2 kodlu EB'lerin PGPR markörlerinden olan 5 özelliğin 4'üne sahip olduğu belirlenmiştir.
- Çalışmadaki hiçbir izolatın azot fiksasyonu kabiliyetine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Tüm izolatların % 53.3 IAA, % 75 siderofor, % 20 fosfataz, % 13.9 ACC-deaminaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

- TAP'a göre en başarılı ilk 30 izolattan yalnızca V30Y3 ve V30G2 kodlu izolatların bütün patojenlere, 17'sinin ise en az birine antagonistik etki gösterdiği belirlenmiştir.
- Karakterizasyon ve antagonizm çalışmalarında gösterilen başarıya göre seçilen V40K2, V30Y3, V30G2 kodlu EB'lerin *16srRNA* bölgesi dizi analizi ile tanılamaları yapılmıştır.

Karakterizasyon ve antagonizm çalışmalarında başarı gösteren moleküler tanılamaları yapılan izolatların ve bunların kombinasyonlarının iklim odası, arazi ve sera koşullarında çeşitli kültür bitkileri üzerinde bitki gelişimini teşvik edici ve/veya patojenlere karşı biyokontrol etkisinin araştırılması çalışmanın hedefine ulaşmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte *in vivo* çalışmalarda başarılı olan izolatlar ve bunların kombinasyonları sentetik gübreler veya kimyasal pestisitlere alternatif olarak kullanılma potansiyeline sahiptir.



## KAYNAKLAR

- Aguiar, N. O., Medici, L. O., Olivares, F. L., Dobbss, L. B., Torres- Netto, A., Silva, S. F., Novotny E.H., Canellas, L. P. 2016. Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. *Annals of Applied Biology*, **168** (2): 203-213.
- Akat, S., Özaktan, H. 2011. Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığıyla [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al] biyolojik mücadelede bakteriyel antagonistlerin etkinliğinin araştırılması. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, **2** (1): 3-18.
- Akbaba, M. 2014. *Bitki Gelişimini Artıran Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Bakteriyel Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. lachrymans) Önlenmesinde Kullanılma Olanakları* (yüksek lisans tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Akbari, G. A., Arab, S. M., Alikhani, H. A., Allakdadi, I., Arzanesh, M. H. 2007. Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of superior strains effects on wheat roots. *World Journal of Agricultural Sciences*, **3** (4): 523-529.
- Akköprü, A. 2012. *Hıyar Bakteriyel Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. lachrymans) Bazı Kök Bakterileriyle Biyolojik Savaşımı Üzerine Araştırmalar* (doktora tezi). EÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Altın, N., Bora, T. 2005. Bitki gelişimini uyarıcı kök bakterilerinin genel özellikleri ve etkileri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, **15** (2): 87-103.
- Andrade, L. F., de Souza, G. L. O. D., Nietzsche, S., Xavier, A. A., Costa, M. R., Cardoso, A. M. S., Pereira, M.C.T., Pereira, D. F. G. S. 2014. Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to promote plant growth. *Journal of Microbiology*, **52** (1): 27-34.
- Antoun, H., Prévost, D. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *In PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht.
- Ashrafuzzaman, M., Hossen, F. A., Ismail, M. R., Hoque, A., Islam, M. Z., Shahidullah, S. M., Meon, S. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*, **8** (7): 1247-1252.
- Ayhan, H. 2016. *PGPR ile Yapılan Bio-Priming Uygulamasının Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Nohut (Cicer arietinum L.) Bitkisinin Gelişimi ve Antioksidant Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi* (yüksek lisans tezi). YYU, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Azevedo, J. L., Maccheroni Jr, W., Pereira, J. O., de Araújo, W. L. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, **3** (1): 15-16.
- Bacon, C. W., White, J. 2000. *Microbial Endophytes*. CRC Press, New York.
- Bric, J. M., Bostock, R. M., Silverstone, S. E. 1991. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57** (2): 535-538.

- Buck, J. D. 1982. Nonstaining (KOH) method for determination of gram reactions of marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44** (4): 992-993.
- Busquets, A., Gomila, M., Beiki, F., Mulet, M., Rahimian, H., García-Valdés, E., Lalucat, J. 2017. *Pseudomonas caspiana* sp. nov., a citrus pathogen in the *Pseudomonas syringae* phylogenetic group. *Systematic and Applied Microbiology*, **40** (5): 266-273.
- Calvo, P., Ormeño-Orrillo, E., Martínez-Romero, E., Zúñiga, D. 2010. Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Brazilian Journal of Microbiology*, **41** (4): 899-906.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B., Basnet, M. 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. *Journal of Basic Microbiology*, **46** (3): 186-195.
- Da Silva Araújo, A. E., Baldani, V. L. D., de Souza Galisa, P., Pereira, J. A., Baldani, J. I. 2013. Response of traditional upland rice varieties to inoculation with selected diazotrophic bacteria isolated from rice cropped at the Northeast region of Brazil. *Applied Soil Ecology*, **64**: 49-55.
- Danso, S. K. A. 1995. Assessment of biological nitrogen fixation. *Fertilizer research*, **42** (1-3): 33-41.
- Döbereiner, J. 1966. *Azotobacter paspali* sp. n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de Paspalum. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, **1** (1): 357-365.
- Döbereiner, J. 1970. Further research on *Azoto-bacter paspali* and its variety specific occurrence in the rhizosphere of *Paspalum notatum* Flüggé. *Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, **124** (2): 224-230.
- Döbereiner, J., Day, J. M., Dart, P. J. 1972. Nitrogenase activity and oxygen sensitivity of the *Paspalum notatum*-*Azotobacter paspali* association. *Microbiology*, **71** (1): 103-116.
- Erturk, Y., Ercisli, S., Haznedar, A., Cakmakci, R. 2010. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological Research*, **43** (1): 91-98.
- Fallik, E., Okon, Y., Epstein, E., Goldman, A., Fischer, M. 1989. Identification and quantification of IAA and IBA in *Azospirillum brasilense*-inoculated maize roots. *Soil Biology and Biochemistry*, **21** (1): 147-153.
- Gao, Z., Zhang, B., Liu, H., Han, J., Zhang, Y. 2017. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, **105**: 27-39.
- Geurts, R., Xiao, T. T., Reinhold-Hurek, B. 2016. What does it take to evolve a nitrogen-fixing endosymbiosis?. *Trends in Plant Science*, **21** (3): 199-208.
- Gholami, M., Khakvar, R., Niknam, G. 2014. Introduction of some new endophytic bacteria from *Bacillus* and *Streptomyces* genera as successful biocontrol agents against *Sclerotium rolfsii*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **47**(1): 122-130.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, **41** (2): 109-117.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, **190** (1): 63-68.



- Goswami, D., Thakker, J. N., Dhandhukia, P. C. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, **2** (1):1-19.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., Kloepper, J. W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, **43** (10): 895-914.
- Hardoim, P. R., 2011. *Bacterial Endophytes of Rice: Their Diversity, Characteristics and Perspectives* (doctoral thesis). University of Groningen, Mathematics and Natural Sciences, Netherlands.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., van Elsas, J. D. 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, **16** (10): 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*, **12** (2): 1-19.
- Karaca, C. 2008. Çevre, insan ve etik çerçevesinde çevre sorunlarına ve çözümlerine yönelik yaklaşımlar. *Çukurova Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, **11** (1): 1-19.
- King, E. O., Ward, M. K., Raney, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Translational Research*, **44** (2): 301-307.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D. C. 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest.
- Kloepper, J. W. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. *In Proc. of the 4th Internat. Conf. on Plant Pathogenic Bacter, Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie*, France, **2**: 879-882.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M. N. 1980a. *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Current Microbiology*, **4** (5): 317-320.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M. N. 1980b. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, **286** (5776): 885-886.
- Kloepper, J. W., Lifshitz, R., Zablutowicz, R. M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*, **7** (2): 39-44.
- Kloepper, J. W., Tuzun, S., Liu, L., Wei, G. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic disease resistance. *Pest Management: Biologically Based Technologies*. American Chemical Society Books, Washington.
- Kuan, K. B., Othman, R., Rahim, K. A., Shamsuddin, Z. H. 2016. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. *Plos One*, **11** (3): 1-19.
- Latif Khan, A., Ahmed Halo, B., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Lee, I. J. 2016. Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solarium lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*, **19** (3): 58-64.
- Lelliott, R. A., Stead, D. E. 1987. *Methods for The Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Blackwell Scientific Publications, UK.

- Leong, J. 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, **24** (1): 187-209.
- Louden, B. C., Haarmann, D., Lynne, A. M. 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology & Biology Education*, **12** (1): 51-53.
- Matos, A. D., Gomes, I. C., Nietsche, S., Xavier, A. A., Gomes, W. S., Dos Santos Neto, J. A., Pereira, M. C. 2017. Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **89** (4): 2945-2954.
- Meadows, D. H., Meadows, D. H., Randers, J., Behrens III, W. W. 1972. *The Limits to Growth*. A potomac associates book, Washington.
- Mirik, M. 2005. *Biberde Bakteriyel Leke Etmeni Xanthomonas axonopodis pv. vesicatoria'nın Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rhizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanakları* (doktora tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Nautiyal, C. S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, **170** (1): 265-270.
- Nogueira, A. D. A., Machado, P. L. O. A., Santana do Carmo, C. D., Ferreira, J. R. 1998. *Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos*. Embrapa-cppse, Brasil.
- Özaktan, H., Gül, A., Çakır, B., Yolageldi, L., Akköprü, A. 2015. *Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Yetiştiriciliğinde Biyogübre ve Biyopestisit Olarak Kullanılma Olanakları*. Tubitak-COST 1110505 nolu Proje kesin raporu. Turkhis (COST Action FA1103: Endophytes in Biotechnology and Agriculture).
- Öztekin, B. G., Tüzel, Y., Ece, M. 2015. Fosfat çözücü bakteri aşılmasının sera domates yetiştiriciliğinde bitki gelişimi, verim ve meyve kalitesi üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*. **25** (2): 148-155.
- Özyılmaz, Ü., Benlioğlu, K. 2012. Fosfat çözen bakterilerin pamuk bitkisinin gelişimine ve *Verticillium* Solgunluğuna etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, **3** (1): 47-62.
- Patten, C. L., Glick, B. R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68** (8): 3795-3801.
- Paulitz, T. C., Bélanger, R. R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology*, **39** (1): 103-133.
- Penrose, D. M., Glick, B. R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase- containing plant growth- promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, **118** (1): 10-15.
- Perotti, R. 1926. On the limits of biological enquiry in soil science. *Proc. Int. Soc. Soil Sci.*, **2**: 146-161.
- Puri, A., Padda, K. P., Chanway, C. P. 2017. Nitrogen-fixation by endophytic bacteria in agricultural crops: recent advances. *In Nitrogen in Agriculture-Updates*. IntechOpen, Canada.
- Puri, A., Padda, K. P., Chanway, C. P. 2017. Plant growth promotion by endophytic bacteria in nonnative crop hosts. *In Endophytes: Crop Productivity and Protection*. Springer, Cham.

- Putri, A. Z., Sasongko, D., Susilowati, D. N. (2015). Screening of rhizosphere bacteria from rice fields in the coastal area as ACC-deaminase and auxin producer. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, **5** (1): 27-30.
- Quispel, A.A., 1992. A search for signals in endophytic microorganisms. *Signals Plant-Microbe Commun*, CRC Press, Boca Raton, **1**: 475-491.
- Rao, N. S. 1983. Nitrogen-fixing bacteria associated with plantation and orchard plants. *Canadian Journal of Microbiology*, **29** (8): 863-866.
- Rashid, M., Khan, A., Hossain, M. T., Chung, Y. R. 2017. Induction of systemic resistance against aphids by endophytic *Bacillus velezensis* YC7010 via expressing PHYTOALEXIN DEFICIENT4 in arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, **8**: 211.
- Romerio, R. S. 2000. Preliminary results on PGPR research at the Universidade Federal de Viçosa. *In Fifth International PGPR Workshop*, Cordoba, Argentina.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., Dowling, D. N. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS microbiology letters*, **278** (1): 1-9.
- Salisbury, F. B. 1994. *The Role of Plant Hormones. Plant-Environment Interaction*. New York, USA, 39-81.
- Santi, C., Bogusz, D., Franche, C. 2013. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany*, **111** (5): 743-767.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. American Phytopathological Society, USA.
- Schultz, N., Silva, J. A. D., Sousa, J. S., Monteiro, R. C., Oliveira, R. P., Chaves, V. A., Pereira, W., da Silva, M.F., Baldani, J.I. Boddey, R.M., Reis, V. M., Urquiaga, S. 2014. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, **38** (2): 407-414.
- Schwyn, B., Neilands, J. B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, **160** (1): 47-56.
- Seshadri, S., Muthukumarasamy, R., Lakshminarasimhan, C., Lgnacimuthu, S. 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*. *Current Science*, **79** (5): 565-567.
- 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.
- Sönmez, İ., Kaplan, M., Sönmez, S. 2008. Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Derim*, **25** (2): 24-34.
- Surette, M. A., Sturz, A. V., Lada, R. R., Nowak, J. 2003. Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant and Soil*, **253** (2): 381-390.
- Szilagyi-Zecchin, V. J., Ikeda, A. C., Hungria, M., Adamoski, D., Kava-Cordeiro, V., Glienke, C., Galli-Terasawa, L. V. 2014. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. *AMB Express*, **4** (1): 26.
- Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G., Netrusov, A. I. 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological Research*, **162** (1): 69-76.

- Uslu, A. 2006. Bazı Baklagil Bitkilerinde *Bitki Gelişimini Uyarıcı Kökbakterileri (PGPR) ile Bitki Veriminin Arttırılması* (yüksek lisans tezi). EÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. 2005. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. *In PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, **36** (1): 453-483.
- Wei, G., Kloepper, J. W., Tuzun, S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*. **86**: 221-224.
- Yang, J., Kloepper, J. W., Ryu, C. M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, **14** (1): 1-4.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü., Ünal, G. 2005. Tarımsal savaşta kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. [http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197\\_ek.pdf](http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197_ek.pdf). TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara. Erişim tarihi: 02.06.2019
- Yıldız, R. Ç., Aysan, Y. 2014. Domates bakteriyel solgunluk hastalığının bitki büyüme düzenleyici kökbakterileri ile biyolojik mücadelesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, **5** (1): 9-22.
- Yılmaz, C. 2013. Dünya nüfusunun tarihsel gelişim seyri ve günümüzde ulaştığı boyut. *Dernekler Dergisi*, **23**: 40-49.

## ÖZ GEÇMİŞ

1991 yılında Diyarbakır'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Diyarbakır ve Van illerinde tamamladı. 2010 yılında Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2014-2015 öğrenim döneminde aynı bölümden ziraat mühendisi olarak mezun oldu. 2016 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa kabul edildi.





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

Tarih: 03/07/2019

Tez Başlığı / Konusu: Van Gölü Havzasından İzole Edilen Endofit Bakterilerin Karakterizasyonu ve *In Vitro* Koşullarda Bazı Bitki Patojeni Bakterilere Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi.

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 48 sayfalık kısmına ilişkin, 03/07/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 4'tür.

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 kelimededen 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.

03/07/2019  
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Yasin BABIER

Öğrenci No: 159101156

Anabilim Dalı: Bitki Koruma

Program: Fitopatoloji

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI  
UYGUNDUR

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AKKÖPRÜ

ENSTİTÜ ONAYI  
UYGUNDUR

(Uyvan Ad Soyad İmza)  
Prof.Dr. Suat ŞENSOY  
Enstitü Müdürü