

**BITKİ GELİŞMESİNİ TEŞVİK EDİCİ BAKTERİLERİN  
ÇAYDA GELİŞME, VERİM, BAZI KALİTE  
PARAMETRELERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Atefeh VARMAZYARI**

**Doktora Tezi**

**Tarla Bitkileri Anabilim Dalı**

**Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilim Dalı**

**Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI**

**2015**

**Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**BİTKİ GELİŞMESİNİ TEŞVİK EDİCİ BAKTERİLERİN ÇAYDA  
GELİŞME, VERİM, BAZI KALİTE PARAMETRELERİ VE ENZİM  
AKTİVİTELERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Atefeh VARMAZYARI**

**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI  
Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilim Dalı**

**ERZURUM  
2015**

**Her hakkı saklıdır**



TEZ ONAY FORMU

**BİTKİ GELİŞMESİNİ TEŞVİK EDİCİ BAKTERİLERİN ÇAYDA GELİŞME, VERİM,  
BAZI KALİTE PARAMETRELERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI danışmanlığında, Atefeh VARMAZYARI tarafından hazırlanan bu çalışma, 14/05/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği (5/5)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ahmet GÖKKUŞ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Metin TURAN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Recep KOTAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 25.06/2015 tarih ve 25.1.833... nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Erhan YILDIRIM**  
Enstitü Müdürü

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

## ÖZET

Doktora Tezi

### **BİTKİ GELİŞMESİNİ TEŞVİK EDİCİ BAKTERİLERİN ÇAYDA GELİŞME, VERİM, BAZI KALİTE PARAMETRELERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Atefeh VARMAZYARI

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı  
Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI

Bu araştırma, Hazar Denizinin Güney kıyılarında asidik çay rizosferi topraklarından izole edilerek tanısı, karakterizasyonu, azot fiksasyonu, fosfat çözme, karbon kullanım etkinliği ve bitki gelişmesini teşvik etme gibi özellikleri belirlenerek çay yetiştiriciliğinde biyolojik gübre olarak kullanılabilir bakteriler geliştirilmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu çalışmada, asidik çay rizosfer toprağında kültüre alınabilen azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri çeşitliliği araştırılmıştır. İzolasyonda azotsuz katı malat-sükroz ve genel (TSBA) besi yeri; izolatların fosfat çözme özelliklerinin belirlenmesinde sıvı NBRIP-BPB ve sükroz-trikalsiyum fosfat agar besi yeri kullanılmıştır. Saflaştırılmış izolatlar, bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan MIDI metodlarına göre yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAMES) analizi ve BIOLOG sistemine göre tanımlanmıştır. Araştırmada 4 farklı lokasyonda 167 toprak örneğinden 263 orijinal bakteri izole edilmiş ve bitki gelişmesini teşvik etme özellikleri bakımından karakterize edilmiştir. Bu izolatların 216'sının azotu fikse edebildiği, 172 izolatın fosfat çözebildiği ve 154 bakteri izolatının aynı anda serbest azot fiksedebildiği ve fosfat çözücülük özelliğinde olduğu belirlenmiştir. Çay rizosfer topraklarında kültüre alınabilen, azot fiksasyonu ve fosfat çözme aktivitesi bakımından yaygın ve hakim olan ve biyolojik gübrelemede kullanılabilir faydalı bakterilerin çoğunluğu *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. laevolacticus*, *P. fluorescens*, *B. megaterium* ve *P. putida* türleridir. Çay rizosferinden izole edilen 263 bakteriden seçilen tekli, ikili ve üçlü kombinasyonlar halinde farklı potansiyel PGPR izolatlarının iki yıl süreyle Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsünde doğal koşullar altında tarla ve saksı denemelerinde üç çay klonunda (Muradiye 10, Hamzabey ve Pazar-20) gelişme enzim ve verimi üzerine etkisi test edilmiştir. Bakteriyel etkinlik seçilen bakteri türü, çay klonları ve ele alınan parametrelere göre değişmiştir. Özellikle yeni izole edilen azot fikseri ve fosfat çözücü *P. fluorescens* AR-7 ve AR-9, *B. subtilis* AR-12, AR-17, AR-21 ve AR-67; *B. pumilus* AR-22 ve AR-64; *B. licheniformis* AR-29, *P. polymyxa* AR-33, ve *R. erythropolis* AR-49 izolatları test edilen Türk Çay Klonlarında gövde gelişmesi, yaprak verimi, makro ve mikro element alımı, antioksidan ve diğer enzim aktivitesi dahil gelişmeyi teşvik etmiştir. Araştırmada test edilen bakterilerin, kimyasal gübre gereksinimini azaltabildiği, organik ve iyileştirilmiş tarım uygulamalarında biyolojik gübre olarak kullanılabilir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

**2015, 215 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Bitki gelişimini teşvik edici bakteri, izolasyon, azot fiksasyonu, fosfat çözücülüğü, verim ve kalite, enzim aktivitesi, karbon kaynağı kullanımı, aside toleranslı strain, çay, *Camellia sinensis*

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### THE STUDY OF THE EFFECT OF PLANT GROWTH PROMOTING BACTRIA ON TEA DEVELOPMENT, PRODUCTION, SOME QUALITY PARAMETERS AND ENZYME ACTIVITIES

Atefeh VARMAZYARI

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Agronomy  
Department of Agronomy Section Medicinal and Aromatic Plants

Supervisor: Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI

This study was conducted to isolate and identify plant growth promoting bacteria (PGPR) as biofertilizers from the acidic rhizosphere of tea grown in the southern coast of the Caspian Sea region and to evaluate their potential use for nitrogen fixation, phosphate solubilisation, high carbon sources utilization and improving plant growth of tea. This study investigates the diversity of cultivable N<sub>2</sub>-fixing and P-solubilising bacteria originated from rhizospheric acidic soils samples of tea plants growth. A nitrogen-free solid malate-sucrose and nonselective tryptic soy agar (TSA) medium were used to isolate N<sub>2</sub>-fixing bacteria. Phosphate solubilization activity of the bacterial isolates were detected on NBRIP-BPB and sucrose-tricalcium phosphate agar. The isolates were identified based on whole-cell fatty acid methyl ester (FAMES) analysis using the MIDI system and BIOLOG assays. In the study, 263 bacterial strains were isolated from 167 rhizospheric acidic soil samples from 4 locations, and characterized for plant growth promoting attributes. Among the strains, 214 strains exhibited N<sub>2</sub>-fixing activity and 172 were efficient in phosphate solubilization; and 154 strains were efficient in N<sub>2</sub>-fixation and P-solubilization. The most common bacteria associated with the roots of tea crops were *Bacillus* and *Pseudomonas* genus comprised many different species, with the most abundant being *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. laevolacticus*, *P. fluorescens*, *B. megaterium* and *P. putida*. The selected different potential PGPR in single, dual and three strains combinations on the basis of their laboratory tests value, were tested for their growth, enzymes activity and yield increasing potential of three tea clones (Muradiye 10, Hamzabey and Pazar-20) under natural soil conditions by conducting pot and field experiments in two years at the Atatürk Tea and Horticultural Research Institute of Rize. Bacterial efficiency was variable and depended on the inoculants strain, tea clone and growth parameters evaluated. In particular, newly N<sub>2</sub>-fixing and/or P-solubilising bacterial strains of *P. fluorescens* AR-7 and AR-9; *B. subtilis* AR-12, AR-17, AR-21 and AR-67; *B. pumilus* AR-22 and AR-64; *B. licheniformis* AR-29, *P. polymyxa* AR-33, and *R. erythropolis* AR-49 stimulated overall plant growth, including shoot development and leaf yield, improving macro- and micro-nutrient uptake, and activities of antioxidants and other enzymes of Turkish registered tea clones. Tested bacteria can reduce the need for chemical fertilizers be identified as having potential to be used as biological fertilizer in the organic and improved agricultural practices.

**2015, 215 Pages**

**Keywords:** Plant growth-promoting bacteria, isolation, nitrogen fixation, phosphate solubilisation, yield and quality, enzyme activity, carbon source utilization. acid tolerant strains, tea, *Camellia sinensis*

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasını büyük bir titizlikle takip ederek, maddi manevi hiç bir desteğini esirgmeden fikirleri ile bana ışık tutan hocam Sayın Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI'ya teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım sırasında bilgilerine başvurduğum ve analizleri yapmamda katkı sağlayan Sayın Doç. Recep KOTAN'a, Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU, Sayın Prof. Dr. Mustafa ERAT, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali ATESEVER, Sayın Doç. Dr. Yaşar ERTÜRK, Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan KARAGÖZ, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Kemalettin KARA ve burada isimlerini saymadığım birlikte çalışmaktan memnun olduğum ayrıca bana çok şey kattıklarına inandığım kıymetli arkadaşlarım ve saygıdeğer hocalarıma, aldığım bütün kararlarda arkamda olup hiç bir zaman desteğini esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim. Doktora çalışmalarım süresince yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yönetici ve çalışanlarına, Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü yetkililerine ve ayrıca Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu TOVAG;1120313 proje kapsamında bursiyer olarak çalıştığım ve araştırma olarak görev aldığına için, projeye destek veren TÜBİTAK yetkililerine teşekkür ederim.

**Atefeh VARMAZYARI**

**Mart, 2015**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>16</b>
2.1. Bitki Gelişimini Teşvik Edici Bakterilerle İlgili Çalışmalar .....	16
2.2. Çay Enzimleri İle İlgili Çalışmalar .....	35
<b>3. MATERYAL ve METOT .....</b>	<b>51</b>
3.1. Araştırma Materyali .....	51
3.1.1. Yararlanılan cihazlar .....	51
3.1.2. Araştırmada kullanılan besi yerleri ve çözeltiler.....	52
3.1.3. Araştırma yerinin tanımı ve özellikleri .....	53
3.1.4. Denemelerde kullanılan çay klonları.....	58
3.1.5. Toprak özellikleri .....	59
3.1.6. Araştırmada kullanılan bakteriler ve özellikleri.....	60
3.2. Metotlar .....	62
3.2.1. Bakteriyel strainlerin izolasyonu ve muhafazası.....	62
3.2.2. Deneme deseni ve deneme konuları.....	63
3.2.2.a. Saksı denemesi set I.....	63
3.2.2.b. Saksı denemesi set II .....	64
3.2.2.c. Saksı denemesi set III .....	65
3.2.2.d. Saksı denemesi set IV.....	65
3.2.2.e. Tarla denemesi set V .....	66
3.2.3. Bakım işlemleri .....	67
3.2.4. Bakteri kültürlerinin hazırlanması.....	67
3.2.5. Sıvı kombinasyon ve biyolojik gübre formülasyonlarının hazırlanması.....	67

3.2.6. İnokulasyon teknikleri .....	68
3.2.7. Sayım metotları .....	68
3.2.8. Çay çeliklerinin köklendirilmesi .....	69
3.2.9. Moleküler testler.....	69
3.2.9.a. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanılanması.....	69
3.2.9.b. BIOLOG testi .....	71
3.2.10. Bakterilerin bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi.....	71
3.2.10.a. Potasyum hidroksil (KOH) testi .....	71
3.2.10.b. Katalaz testi .....	72
3.2.10.c. Oksidaz testi .....	72
3.2.10.d. Bakterilerin azotsuz (N-free) kültürde geliştirilmesi.....	72
3.2.10.e. Bakterilerin fosfat çözme özellik ve miktarının belirlenmesi .....	73
3.2.10.f. Aminsiklopropan karboksilat deaminaze aktivitesinin belirlenmesi .....	74
3.2.11. Gelişme ve verim parametrelerinin incelenmesi .....	74
3.2.11.a. Fidan gövde çapı (gövde kalınlığı).....	74
3.2.11.b. Bitki boyu (fidan boyu) .....	75
3.2.11.c. Toplam yaş dal+yaprak ağırlığı (toplam biomas).....	75
3.2.11.d. Yaprak alanı değerleri .....	75
3.2.11.e. Yaş ve kuru yaprak ağırlığı.....	75
3.2.11.f. Yaş yaprak verimi .....	76
3.2.11.g. Yaprak sayısı .....	76
3.2.11.h. Klorofil miktarı.....	76
3.2.11.i. Yaprak antosiyanin içeriği .....	76
3.2.11.i. Çay yaprak makro ve mikro element analizleri .....	77
3.2.12. Enzim ekstraksiyonunun hazırlanması, protein içeriğinin ve enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	77
3.2.12.a. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD; EC 1.1.1.49).....	78
3.2.12.b. 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD; EC 1.1.1.44).....	78
3.2.12.c. Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2).....	78
3.2.12.d. Glutasyon S-transferaz (GST; EC 2.5.1.18) .....	79
3.2.12.e. Peroksidaz (POD; EC: 1.11.1.7) aktivitesi .....	79
3.2.12.f. Polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi .....	80



3.2.12.g. Alkol dehidrogenaz aktivitesi (ADH) .....	80
3.2.12.h. Üreaz aktivitesi.....	80
3.2.12.1. 5-Dehidroshikimat redüktaz aktivitesi (DHSK).....	81
3.2.13. Sonuçları analiz edilmesi.....	81
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>83</b>
4.1. Toprak Örneklerinin Yapı ve İçerikleri.....	83
4.2. Bakterilerin Yağ Asidi Metil Esterlerine Göre MIS Tanı Sonuçları ve Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları .....	84
4.3. Bakterilerin BIOLOG Analizi Sonuçları.....	95
4.4. Deneme Setlerinde Gelişme ve Verim Parametreleri Sonuçları .....	122
4.4.1. I. Deneme .....	122
4.4.2. II. Deneme .....	132
4.4.3. III. Deneme.....	145
4.4.4. IV. Deneme .....	160
4.4.5. V. Deneme.....	166
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>179</b>
KAYNAKLAR .....	190
ÖZGEÇMİŞ .....	216

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
6PGD	: 6-fosfoglukonat dehidrogenaz
ACCD	: Aminosiklopropan karboksilat deaminaze
ACI	: Antosiyanin (ACI) miktai
ADH	: Alkol dehidrogenaz
AG	: Azotsuz ortamda gelişme
BB	: Bitki boyu
BG	: Biyolojik gübre
Ca	: Kalsiyum
cm	: Santimetre
cm <sup>2</sup>	: Santimetrekare
Cu	: Bakır
da	: Dekar
DHSK	: 5-Dehidroshikimat redüktaz
dk	: Dakika
DYA	: Dal+yaprak ağırlığı
DYA	: Dal+yaprak ağırlığı
FÇ	: NBRIP-BPB ortamda gelişme
Fe	: Demir
g	: Gram
G6PD	: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
GÇ	: Gövde çapı
GR	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
ha	: Hektar
IYA	: İkinci yaprak alanı
K	: Potasyum
kg	: Kilogram
KM	: Klorofil (SPAD) miktarı

KOH	: Potasyum hidroksit
KTZ	: Katalaz test
KYA	: Kuru yaprak ağırlığı
KYV	: Kuru yaprak verimi
L	: litre
mg	: Mağnezyun
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
Mn	: Mangan
N	: Azot
NA	: Nutrient agar
Na	: Sodyum
NFB	: Nitrojen fiksasyon bakterisi
OKZ	: Oksidaz test
OPPP	: Oksidatif pentoz fosfat yolu
P	: Fosfor
PAL	: Fenilalanin amaonyak liyaz
POD	: Peroksidaz
PPO	: Polifenol oksidaz
PSB	: Fosfat çözücü bakterisi
sa	: Saat
sn	: Saniye
ÜYA	: Üçüncü yaprak alanı
YA	: Yaprak alanı
YS	: Yaprak sayısı
YYA	: Yaş yaprak ağırlığı
YYV	: Yaş yaprak verimi
Zn	: Çinko

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 3.1.</b> Doğal koşullarda yürütülen saksı denemelerinde deneme set I, II ve III'den dikim sonrası görünüm .....	55
<b>Şekil 3.2.</b> Doğal koşullarda yürütülen tarla denemelerinde deneme set V'den görünüm.....	55
<b>Şekil 4.1.</b> Laboratuvar çalışmaları ve biyokimyasal test sonuçları ile ilgili görseller .....	90
<b>Şekil 4.2.</b> Asidik çay rizosferinden seçilen GP2 pleytlerdeki gram pozitif izolatların altı farklı grup karbon kaynağı kullanım oranına ait AWCD değerleri (ortalama koyu renk gelişimi).....	101
<b>Şekil 4.3.</b> Asidik çay rizosferinden seçilen GN2 pleytlerdeki gram negatif izolatların altı farklı grup karbon kaynağı kullanım oranına ait AWCD değerleri (ortalama koyu renk gelişimi) .....	112
<b>Şekil 4.4.</b> Deneme Set I solda kontrol, sağda F6 formülasyonu aşılınmış fidanlar (2013 yılı) .....	124
<b>Şekil 4.5.</b> Deneme Set I solda kontrol, sağda F7 formülasyonu aşılınmış fidanlar (2013 yılı) .....	124
<b>Şekil 4.6.</b> Deneme Set III solda kontrol, sağda <i>B. subtilis</i> AR-17 aşılınmış fidanlar (2013 yılı).....	148
<b>Şekil 4.7.</b> Deneme Set III solda kontrol, sağda <i>B. pumilus</i> AR-22 aşılınmış fidanlar (2013 yılı).....	148
<b>Şekil 4.8.</b> Tarla denemesi hasat sonrası görünüm.....	170

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 3.1.</b> Araştırmanın yürütüldüğü yıllar ile uzun yıllar (2000-2012) ortalamalarına ait bazı iklim verileri.....	57
<b>Çizelge 3.2.</b> Deneme setlerinde kullanılan topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri .....	60
<b>Çizelge 4.1.</b> Asidik çay rizosferinden alınan birinci grup örneklerden izole edilerek tanımlanmış bazı izolatların biyokimyasal özellikleri .....	86
<b>Çizelge 4.2.</b> Asidik çay rizosferinden alınan ikinci grup örneklerden izole edilerek tanımlanmış bazı izolatların biyokimyasal özellikleri .....	88
<b>Çizelge 4.3.</b> Asidik çay topraklarında kültüre alınabilen azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri potansiyeli ve çeşitliliği .....	93
<b>Çizelge 4.4.</b> BIOLOG GP2 Mikroplate analizinde gram pozitif bakterilerin karbon kaynağı kullanım oranları (%) .....	96
<b>Çizelge 4.5.</b> BIOLOG GN2 Microplate analizinde gram negatif bakterilerin karbon kaynağı kullanım oranları (%) .....	97
<b>Çizelge 4.6.</b> Gram pozitif (GP2) ve Gram negatif (GN2) microplate ortak olan karbon kaynaklarını kullanan toplam azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri sayısı ve yüzdeleri.....	99
<b>Çizelge 4.7.</b> İzole edilen bazı gram pozitif <i>Bacillus pumilus</i> suşlarının (AR5, AR14, AR22, AR34, AR37, AR58, AR64, AR88, AR97 ve AR118) kullandığı karbon kaynakları .....	102
<b>Çizelge 4.8.</b> İzole edilen bazı gram pozitif <i>Bacillus subtilis</i> suşlarının (AR17, AR21, AR35, AR43, AR60, AR67, AR76, AR90, AR102, AR110) kullandığı karbon kaynakları .....	104
<b>Çizelge 4.9.</b> İzole edilen bazı gram pozitif <i>Bacillus megaterium</i> suşlarının (AR16, AR32, AR40, AR41, AR46, AR129, AR156) kullandığı karbon kaynakları.....	107
<b>Çizelge 4.10.</b> İzole edilen bazı gram pozitif <i>Bacillus licheniformis</i> suşlarının (AR29, AR89, AR98, AR111, AR114, AR115, AR116, AR120, AR167, AR168, AR169, AR170) kullandığı karbon kaynakları .....	109
<b>Çizelge 4.11.</b> İzole edilen bazı gram negatif <i>Pseudomonas fluorescens</i> suşlarının (AR7, AR9, AR52, AR148, AR150, AR 151, AR154, AR160, AR162, AR163) kullandığı karbon kaynakları .....	113

<b>Çizelge 4.12.</b> İzole edilen bazı gram negatif <i>Pseudomonas putida</i> suşlarının (AR62, AR83, AR84, AR87, AR149, AR157, AR159, AR161, AR164, AR173) kullandığı karbon kaynakları .....	116
<b>Çizelge 4.13.</b> İzole edilen bazı gram negatif <i>Burkholderia cepacia</i> suşlarının (AR28, AR42, AR136, AR158, AR166) kullandığı karbon kaynakları .....	118
<b>Çizelge 4.14.</b> İzole edilen bazı gram negatif <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> suşlarının (AR153, AR155, AR165, AR171, AR172) kullandığı karbon kaynakları .....	120
<b>Çizelge 4.15.</b> Muradiye-10 çay klonunda iki yaşlı fidanlarla kurulan denemede kullanılan formülasyonlardaki bakterilerin bazı özellikleri (Deneme Set 1) .....	122
<b>Çizelge 4.16.</b> Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre formülasyonlarının Muradiye-10 çay klonunda gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi (Set I, 2013 yılı) .....	123
<b>Çizelge 4.17.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set I, 2013 yılı) .....	125
<b>Çizelge 4.18.</b> Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre formülasyonlarının Muradiye-10 çay klonunda polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set I, 2013 yılı) .....	127
<b>Çizelge 4.19.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay fidanlarında makro element miktarına etkisi (Set I, 2013 yılı) .....	128
<b>Çizelge 4.20.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay fidanlarında mikro element miktarına etkisi (Set I, 2013 yılı) .....	129
<b>Çizelge 4.21.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set I, 2014 yılı) .....	130
<b>Çizelge 4.22.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set I, 2014 yılı) .....	132
<b>Çizelge 4.23.</b> Saksılarda bir buçuk yaşlı Hamzabey çay klonu ile kurulan denemede kullanılan yeni izolatların bazı özellikleri (Deneme Set II) .	133

<b>Çizelge 4.24.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Hamzabey çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set II, 2013 yılı) .....	135
<b>Çizelge 4.25.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set II, 2013 yılı) .....	136
<b>Çizelge 4.26.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set II, 2013 yılı) .....	138
<b>Çizelge 4.27.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunu fidanlarında makro element miktarları (Set II, 2013 yılı) .....	139
<b>Çizelge 4.28.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonu fidanlarında mikro element miktarına etkisi (Set I, 2013 yılı) .....	141
<b>Çizelge 4.29.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Hamzabey çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set II, 2014 yılı) .....	142
<b>Çizelge 4.30.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktiviteleri (Set II, 2014 yılı) .....	144
<b>Çizelge 4.31.</b> Doğal koşullarda saksılarda iki yaşlı Pazar-20 çay klonu ile kurulan denemede kullanılan yeni izolatların bazı özellikleri (Deneme Set III). 145	
<b>Çizelge 4.32.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set III, 2013 yılı) .....	147
<b>Çizelge 4.33.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2013 yılı).....	149
<b>Çizelge 4.34.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2013 yılı) .....	151
<b>Çizelge 4.35.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay fidanlarında makro element miktarına etkisi (Set III, 2013 yılı) .....	152
<b>Çizelge 4.36.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak mikro element miktarına etkisi (Set III, 2013 yılı).....	154

<b>Çizelge 4.37.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set III, 2014 yılı) .....	155
<b>Çizelge 4.38.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2014 yılı).....	157
<b>Çizelge 4.39.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2014 yılı) .....	159
<b>Çizelge 4.40.</b> Pazar-20 çay klonunda bir yaşlı fidanlarla kurulan denemede kullanılan kombinasyonlardaki bakterilerin bazı özellikleri (Set IV)....	161
<b>Çizelge 4.41.</b> Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set IV, 2014 yılı) .....	162
<b>Çizelge 4.42.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, , G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set IV, 2014 yılı).....	163
<b>Çizelge 4.43.</b> Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre kombinasyonlarının Pazar-20 çay çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set IV, 2014 yılı).....	165
<b>Çizelge 4.44.</b> Tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunu ile kurulan denemede kullanılan kombinasyonlardaki bakterilerin bazı özellikleri (SETV) ....	167
<b>Çizelge 4.45.</b> Farklı gübre ve bakteri uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunda klorofil miktarı ve üç farklı sürgün gelişme döneminde yaş ve kuru yaprak verimine etkisi (Set V, 2013 yılı).....	168
<b>Çizelge 4.46.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak alanı, yaprak klorofil ve antosiyanin içeriği, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2013 yılı) .....	169
<b>Çizelge 4.47.</b> Mineral gübre ve biyolojik gübre kombinasyonlarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2013 yılı) .....	172



<b>Çizelge 4.48.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay fidanlarında yaprak makro element miktarına etkisi (Set V, 2013 yılı) .....	173
<b>Çizelge 4.49.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunda yaprak mikro element miktarına etkisi (Set V, 2013 yılı) .....	174
<b>Çizelge 4.50.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunda yaş ve kuru yaprak verimi üzerine etkisi (Set V, 2014 yılı) .....	175
<b>Çizelge 4.51.</b> Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak alanı, klorofil içeriği, yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2014 yılı).....	177
<b>Çizelge 4.52.</b> Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre kombinasyonlarının Pazar-20 çay çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2014 yılı).....	178

## 1. GİRİŞ

Çay bitkisi *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze olarak bilinir ve morfolojik farklılıklar gösteren 3 varyetesi vardır. Bunlar doğal büyümeye bırakıldığında 1-3 m boylanabilen sık dallı, sağlam yapılı, düşük sıcaklık, kuraklık ve hastalıklara dayanıklı olduğu vurgulanan Çin çayı (*Camellia sinensis* var. *sinensis*); 6-18 m boylanabilen, düşük sıcaklık, kuraklık ve hastalıklara duyarlı, yaprakları ince dokulu, seyrek dallı bir görünüme sahip, uygun yetiştirme ortamında diğer çeşitlere göre daha verimli ve kaliteli olan Assam çayı (*Camellia sinensis* var. *assamica*) ve Assam ve Assam x Çin hibritleri görünümünde Hint-Çin kökenli ve 6-8 m boylanabilen Kamboçya çayı (*Camellia sinensis* var. *cambodiensis*) olarak sınıflandırılmaktadır (Kingdon Word 1950; Kaçar 1984; Sharma and Ranhanathan 1985; Öksüz 1987; Mahmutoğlu 1994; Çalikoğlu ve Bayrak 2009). Türk çayları esas olarak Çin- Hint melezidir (Çalikoğlu ve Bayrak 2009).

Türkiye’de çay bitkisi Doğu Karadeniz Bölgesi’nde, Gürcistan sınırından başlayan ve batıda Fatsa’ya kadar uzanan alanda yetiştirilmektedir. Sahilden yer yer 30 km içerilere giren ortalama 7-8 km derinliğinde olan Araklı-Karadere sınırına kadar uzanan bölge, çay yetiştiriciliği için elverişli birinci sınıf çay bölgesi olarak kabul edilmektedir. Türkiye’de Doğu Karadeniz deki tarım alanlarının %70’inin kaplı olduğu bölgede, çay yetiştiriciliği ile yaklaşık 200.000 aile geçimini sağlamakta, toplam 76.632 ha alandan 201.663 tonluk mamul çay üretimi ile Türkiye dünya çay üretiminde 5. sırada yer almaktadır (Anonim 2009; Kafkas *et al.* 2009 a; FAO 2010; Ercişli *et al.* 2011; Çakmakçı *et al.* 2011 a).

Çay dünyanın en eski, yaygın ve popüler içeceği. Dünya çapında tüketilen çay *Camellia sinensis* yapraklarının suda kaynatılıp kurutularak işlenmesi ile hazırlanır. Başlangıçta Çin’de ortaya çıkan bu yapraklarını dökmeyen bitki dünyanın diğer yörelerine yayılmıştır. Kökeninin Doğu Asya’daki Çin, Myanmar, Laos ve Vietnam olduğu ve milattan önceki yıllara dayandığı kabul edilmektedir (Chopra and David 2000). Günümüzde dünyada kullanılan önemli çay tipleri siyah çay, yeşil çay, sarı çay, kırmızı çay, koyu çay ve beyaz çaydır. Bunlar arasında siyah çay, yeşil çay ve Oolong

çayı dünyanın çeşitli yörelerinde fazla miktarda üretilmekte ve tüketilmektedir. Her üç tip çay da aynı bitkiden üretilmekte ancak farklılık göstermektedir çünkü son ürünü işlemede fermentasyon derecesi farklı olmaktadır (Hara *et al.* 1996). Toplam dünya çay üretiminin %78'i siyah çay, %20'si yeşil çay ve %2'si ise Oolong çayıdır (Kuroda and Hara 1999; Sharma and Rao 2009).

Yeşil çay fermente edilmemektedir. Yapraklar sıcak havada kurutulmakta ve daha sonra 95–100°C'de buğulanmakta ve böylece polifenol oksidaz gibi enzimler inaktif hale getirilmekte ve böylece orijinal polifenoller biyolojik reaksiyonlardan korunmaktadır. Sonuçta taze yapraklardaki kimyasal kompozisyon korunmaktadır. Beyaz çayda benzer olarak çok genç yaprak ve tomurcuklardan fermentasyonsuz olarak üretilmektedir. Yeşil çay özellikle Uzak Doğu ve bazı Orta Doğu ülkelerinde popülerdir (Yamanishi *et al.* 1995). Yeşil çay üretimi sürecinde, çoğu kateşin ve diğer polifenoller, başlangıç aşamasında ısıtma ve buharda kurutma suretiyle endojen enzimlerin inaktive edilmesi nedeniyle korunmaktadır. Yeşil çay kalitesi polifenol içeriği ile pozitif korelasyon göstermektedir. Ancak yüksek polifenol ve kateşin içeriği acı ve buruk bir tat verdiği için yüksek yeşil çay kalitesi için zorunlu olmadığı bildirilmiştir (Wan *et al.* 2008). Yüksek kalitede yeşil çay uygun konsantrasyonlarda kateşin ve kafeinler ile yüksek oranda serbest amino asit içeriği ile karakterize edilmektedir (Chen *et al.* 1985). Yeşil çay ekstresi siyah çaya oranla daha yüksek antioksidan kapasitesine sahiptir ve toplam antioksidan potansiyeli çayın toplam fenolik içeriği ile güçlü korelasyon göstermektedir (Benzie and Szeto 1999; Langley-Evans 2000). Uzak Doğuda ünlü olan Oolong çayı, çayın kısmen fermente edilmiş şeklidir. Çay yaprakları güneş ışığında soldurulmakta, ezilmekte yaprak kenarları koyu renkli hale gelinceye kadar oksidize edilmekte daha sonra ısıtılıp ve kurutulmaktadır (Yamanishi *et al.* 1995).

Siyah çay tam fermente edilmektedir. Siyah çayın işlenmesinde dört temel aşama vardır. Bunlar; soldurma, kıvrırma, fermentasyon ve kurutmadır. Çay sürgünlerinin yumuşatılması sırasında polifenol oksidazlar tarafından polifenollerin çeşitli oksidasyon süreçleri fermentasyon olarak tanımlanmaktadır (Baruah and Mahanta 2003). Pektinaz uygulaması çay fermentasyonunu hızlandırmakta ayrıca pektinleri yok ederek çayın

köpüklenme özelliğini ortadan kaldırmaktadır (Carr 1985). Çay yaprağının ürüne işlenmesi sırasında çay aromasının oluşumu, bitkiye, coğrafi bölgeye, iklim ve üretim koşullarına bağlı olarak değişen karmaşık bir işlemdir. Çay işleme sırasında uygulanan özellikle soldurma ve fermantasyon aşaması aroma maddelerinin oluşumunu büyük ölçüde etkiler. Çay aroması, son yıllarda ürünün fiyatını belirleyen önemli bir kalite ölçütü olarak gösterilmektedir (Çalikoğlu ve Bayrak 2009). Soldurulmuş yapraklar üretim sürecinde distorsiyon ve fermantasyon sürecinde biyokimyasal reaksiyon aşamalarından geçmekte ve daha sonra kurutulmaktadır (Yamanishi *et al.* 1995; Sharma and Rao 2009). Çayın bileşimi tat ve aroması iklim, toprak, yetiştirme periyodu, tarımsal uygulamalar ve varyete özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir (Luximon-Ramma *et al.* 2005).

Çay sürgünleri özellikle genç yapraklar yüksek oranda oksidatif enzimler ve polifenoller içermektedir. Önceki yıllarda tanin olarak adlandırılan çay polifenolleri flavonoidler olarak bilinir. Taze çay yapraklarındaki polifenoller arasında kuru ağırlığın %12-24'ünü oluşturan kateşinler polifenollerin en yaygın olan formudur. Fenolikler doğrudan ve dolaylı olarak çayın tat, aroma ve rengini oluşturmada rol oynamaktadır (Wan *et al.* 2003, 2008). Çay kalitesi hasat edilen genç sürgünlerdeki organik ve inorganik bileşenlerden etkilenir. Bu bileşiklerin en önemli grupları serbest amino asitler, polifenoller veya kateşin veya kafeindir. Çay özütlerinde bulunan polisakarit, protein, amino asit, kafein ve polifenol işlenmiş çay kalitesini belirlemektedir. Polifenoller genç çay sürgünlerinde kuru maddenin %20-40 oluşturan birçok flavonoidin ortak adıdır. Çayda en fazla bulunan flavonoid kateşinlerdir (flavan-3-ols) ve genellikle kuru ağırlığın %10-30'unu oluşturur. Flavan 3-ols'ün sağlığı destekleyen etkileri özellikle yeşil çayın içeriği, bilimin ve kamuoyunun dikkatini çekmiştir. Ayrıca, çay bitkisini patojenlere karşı korumada da ciddi bir rol oynarlar. Özellikle yeşil çayların tıbbi etkisinin genellikle kafein, teanin, kateşin ve polifenollerden kaynaklandığı bilinmektedir (Gramza and Korczak 2005; Yang *et al.* 2007; Hu *et al.* 2009).

Coyle *et al.* (2008) yeşil çay üzerinde yürüttükleri araştırmada polifenoların oksidatif strese karşı hücreleri koruduğu ve kuvvetli antioksidant etki gösterdiğini vurgulamıştır.

Araştırmacılar taze çay yaprakları ve çay sürgünlerinde mevcut olan fenolik birleşenlerinin çay kalitesini belirleyen en önemli faktör olduğunu vurgulamışlardır. Benzer olarak Obanda *et al.* (1997 a, b), Hara *et al.* (1995) ve Harbowy and Balentine (1997) düşük fenol içeriğinin çay kalitesini azalttığı yüksek fenol içeriğinin ise artırdığını ortaya koymuşlardır. Siyah çaydaki polifenol ve theaflavinler çaydaki renk ve aroma gibi duyuşsal özellikler üzerinde rol oynamaktadır. Siyah çayın kalitesi özellikle hasat edilen sürgünlerin flavonol içeriği başta olmak üzere kimyasal kompozisyonun hasat, işleme ve depolama koşullarına bağılı olarak değıştığı ifade edilmiştir (Millin 1987). Harbowy and Balentine (1997) tarafından fenolik bileşiklerin biyosentezinde güneş ışığının etkili olduğu, Mahanta and Baruah (1992) ise gölgede fenolik madde içeriğinin ışıklı koşullara göre çok daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çay yapraklarında ki kaliteyi oluşturan bileşiklerin düşük ve yüksek sıcaklıklarla birlikte gün uzunluğu ve güneş ışığı tarafından etkilendiğı ortaya konulmuştur (Coyle *et al.* 2008).

Kateşinler şikimate yolundan kaynaklanan bir aminoasit olan fenil alaninden sentezlenmektedir. Kateşinlerin özellikle antioksidatif (Tuzcu *at al.* 2008), antiinflamator (Thangapazham *et al.* 2007), antiobezite (Bose *et al.* 2008), antidiabetik (Yılmaz 2006) özellikleri araştırılmıştır. Kateşinler özellikleri dolasıyla raf ömrünü artırma suretiyle gıdaların kalitesini geliştirdiğinden, gıda ve yem katkısı olarak da önemli bir potansiyele sahiptir (Ferruzzi and Green 2006). Bu özellikler çay içeren içeceklerin gelişmesine yol açmıştır (Ferruzzi and Green 2006). Gıda ve içeceklerde kateşinlerin en yüksek düzeye çıkarılması için araştırmacılar tarafından birçok metot geliştirilmiş olmakla birlikte, bu maddenin tek kaynağının çay yaprakları olduğu ifade edilmiştir (Copeland *et al.* 1998; Labbé *et al.* 2005). Bu kaynağın en önemli sakıncasının iklim değışmesi yoluyla oluşabilecek uygunsuz çevre koşullarının yol açabileceğı olumsuzluk olduğu vurgulanmıştır (Kabir Mustapha *et al.* 2012).

Renk, tat ve aroma gibi çay karakteristikleri doğrudan ve dolaylı olarak kateşinlerle ilgilidir (Wang *et al.* 2000). Çayın buruk tadı polifenollerden kaynaklanmaktadır. Amino asit, polifenol ve kateşin gibi kaliteyle ilgili bileşenler besin durumu ve çevre

koşullarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Serbest amino asit konsantrasyonu büyüme ile birlikte talebi aşırı artan azot tarafından artırılmaktadır (Okano *et al.* 1997). Çay bitkisinde yaşlanma ile birlikte kateşin içeriği azalmaktadır. Ayrıca biyotik ve abiyotik stres koşullarında yetiştirilen çaylardan üretilen çay theaflavini azalmakta ve fenolik dinamikleri nedeniyle kalite kaybı meydana gelmektedir (Owuor and Othieno 1988). Üretim tekniğini değiştirmeden hasat edilen yapraklarda yaş açısından farklılık oluştuğunda farklı kalitede çay üretme olasılığı artmaktadır (Thomas *et al.* 2005).

Flavonoidler çay bitkisinde biyotik ve abiyotik strese dayanıklılıkta önemli rol oynayan sekonder metabolitlerdir (Treutter 2005). Yeşil çay yaprakları özellikle flavonoidlerce zengindir ve araştırmalar çay yaprakları flavonoidlerinin sağlığını teşviki ve hastalıkların önlenmesinde önemli role sahip olduğunu göstermiştir (Higdon and Frei 2003). Çay flavonoidlerinin biyosentezi, özellikle düzenleyici anahtar enzimi 5-dehidroshikimat redüktaz olan şikimik/arogenat yolu enzimleri ile ilişkilidir. Sinnamik asitin biyosentezi ise fenilalanin amonyak liyaz tarafından kontrol edilmektedir (Balentine *et al.* 1997).

Önemli kimyasal bileşikler arasında bulunan gallik asit, kafein, kateşin fraksiyonları ve fenilalanin amonyak liyaz (PAL) üretilen çay kalitesini etkilemektedir (Jeyaramraja *et al.* 2003). Fenolik metabolit yolu sürekli olarak aromatik amino asit fenilalanin üretmektedir ve bu daha sonra, fenoliklerle ilgili bazı kalite parametrelerini belirleyen fenolik sentezinin anahtar enzimi olan, PAL enzimi tarafından deaminaze olmaktadır (Toma's-Barberan and Espin 2001). Fenilalanin amonyak liyaz aktivitesi çay flavanollerinin biyosentezinde önemlidir ve yeşil çay yapraklarının toplam kateşin içeriği ile pozitif korelasyon göstermektedir (Kottur *et al.* 2010). PAL flavanollerin biyosentezinde önemli rol oynar (Sanderson 1972), polifenol oksidaz için temel madde olması dolayısı ile doğal olarak çay kalitesi ile ilgilidir (Roberts and Fernando 1981). Stres faktörleri fenilpropanoid biyosentezinin anahtar enzimi olan PAL aktivitesini artırmaktadır (Hahlbrock and Scheel 1989).

Siyah çay üretiminde, enzimler çayın karakteristik renk ve aroma kazanmasında yaprakların fermentasyonunda önemlidir (Sajilata *et al.* 2008). Fermantasyon polifenol

oksidaz (PPO) enzimi tarafından katalize edilen kateşinlerin kinonlara oksidasyonu ile başlatılmaktadır (Balentine *et al.* 1997). Bakır içeren bitki polifenol oksidaz enzimi fenolik maddelerin dehidrasyon ve polimerizasyon yoluyla o-kinonlar veya diğer sekonder kinonlara dönüşümünü katalize etmektedir. PPO özellikle siyah çay ve Oolong çayı gibi mamul çay ürünlerinin kalitesinin oluşumunda önemli bir faktör olarak rol oynar (Ramaswamy and Ramaswamy 1998; Thanaraj and Seshadri 2006; Jain and Takeo 2007). Siyah çay işleme sürecinde, moleküler oksijen tarafından kateşinlerin kinonlara oksidasyonunu katalize eden PPO enzimi fermantasyonu başlatmak için çay sürgünleri yumuşatılır (Bendall 1959). Çay yaprakları hasattan sonra ısıtıldığında inaktif polifenol oksidaz kateşinleri theaflavin ve thearubigin gibi polimerik türevlerine oksidize etmektedir (Sajilata *et al.* 2008).

Taze çay yapraklarını ticari ürün haline dönüştüren flavonoidlerin biyosentezinden sorumlu enzimler çayın üretimi ve kimyasında çok önemlidir. PPO siyah çay polifenollerinin oluşumunda çok önemli bir enzimdir (Gregory and Bendall 1966; Balentine *et al.* 1997). Çay bitkisinde polifenol ve çay enzimlerince zengin olan körpe sürgünler işlenmektedir. PPO siyah çay üretiminde fermantasyon sürecinde anahtar rol oynadığından çayda en ilgi çeken enzimdir (Anderson *et al.* 1992; Ravichandran and Parthiban 1998).

Bitkilerde PPO'nun bitki savunmasında rol aldığı, ayrıca yüksek PPO içeriğinin çiçeklerin fonksiyonel bir parçası olarak, enfeksiyon ve yaralanmalardan üretim organlarını korumada rolü olduğu vurgulanmıştır (Salah *et al.* 1995; Joshi *et al.* 2011). Bitkilerde yaygın olarak bulunan bakır içeren PPO enzimi bitkilerde ilk doku gelişimi esnasında sentezlenmekte ve kloroplastlarda depolanmaktadır (Primo *et al.* 2007). Bu enzimler, monofenollerin difenollere hidroksilasyonu (kresolaz aktivitesi) ve takiben difenollerin kinonlara oksidasyonu (katekolaz aktivitesi) olmak üzere iki tip moleküler oksijen içeren reaksiyonları katalize etmektedir (Jimenez, M. and Garcia-Carmona 1999). Peroksidaz (POD) taze yeşil yapraklarda bulunmaktadır. Bu enzim hidrojen peroksitin su ve organik peroksitlere indirgenmesini katalize etmektedir. Bu enzimlerin oksidasyon reaksiyonları, arıtma, aroma oluşumu ve terpenlerin biyolojik dönüşümü

süreçlerinde katalistik olarak kullanılabilir (Conesa *et al.* 2002). Polifenol oksidaz (PPO) peroksit üretmekte ve böylece POD sistemini aktive etmektedir. Bununla birlikte katalaz çayda hızla aktif hale gelmekte ve peroksidazları uzaklaştırmakta böylece fermantasyonda POD enziminin rolü sınırlanmaktadır (Harbowy and Balentine 1997).

Çay polifenolleri en iyi bilinen biyoaktif antioksidanlardır ve gösterdikleri hiperglisemi karşıtı ve antioksidan etkileri gibi biyolojik fonksiyonları onları beslenme stratejilerinde önemli bir katkı haline getirmekte ve dünya çapında önemi sürekli artmaktadır (Xu *et al.* 2012). Antioksidan mekanizması enzim ve enzim dışı komponentlerden oluşmaktadır. Enzimatik bileşen süperoksit dismutaz (SOD), POD ve katalaz (CAT) gibi serbest radikal yıkıcılar tarafından üretilir (Mahaboob and Gurjot 2007). Bazı araştırmacılar polifenol oksidaz tarafından katalize edilen polifenollerin çay yapraklarındaki yüksek antioksidan aktivitesi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Kyung *et al.* 2008). Bitki hücrelerinde bulunan antioksidan savunma sistemi SOD, CAT ve POD gibi enzimatik (Zhang *et al.* 2009, 2010) ve lipit peroksidasyonu için uygun bir gösterge olarak kabul edilen malondialdehit sistemini içerir (Mittler 2002; Mustapha *et al.* 2009). Antioksidan ve antioksidan enzimlerinin değişik aktiviteleri bitkilerde oksidatif stresin göstergeleri olarak kullanılmış ve rapor edilmiştir (Mittler 2002; Zhang *et al.* 2009; Jin *et al.* 2010; Wang *et al.* 2010).

Çay polifenolleri enzim aktivitesi yoluyla veya oksidasyon/antioksidasyonla ilgili genler vasıtasıyla antioksidan aktivitesi göstermektedir. Çay polifenolleri aynı zamanda glutatyon, glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz, glutatyon S- transferaz (GST), katalaz ve kinin redüktaz gibi hücre içi antioksidanların etkisinin ortaya çıkmasını artırmaktadır (Khan *et al.* 1992; Valerio *et al.* 2001). Polifenollerin antioksidan/peroksidant aktivitesi, metal indirgeme potansiyeli, şelatlanma davranışı, pH, çözünürlük özelliği, biyolojik uygunluk, alınabilirlik, doku ve hücre kararlılığı gibi bir çok faktöre bağlıdır (Luczaj and Skrzydlewska 2005).



Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve şikimik dehidrojenaz gibi enzimler polifenolların biyosentezini katalize eden anahtar enzimlerdir. G6PD enzimi pentoz fosfat yolunun başlangıcını katalize edip ve hızını sınırlarken (Copeland and Turner 1987; Von Schaewen *et al.* 1995), şikimik dehidrojenaz (SDH) drehidroşikimatın şikimik asite dönüşümünü katalize eden ve kateşin, kafein ve aromatik amino asitlerin oluşumunda önemli bir habercidir (Schnarrenberger *et al.* 1995).

Çay üretiminin karlılığını artırmanın bir yolu, yüksek verimli ve mükemmel kalitede klonların dikilmesidir. Yüksek kaliteli çay sadece en uygun kalitede ham materyalle elde edilebilmektedir. Potasyum gübrelemesinin polifenoller üzerine teşvik edici etkisinin olduğu farklı araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Ruan *et al.* 1998; Venkatesan and Ganapathy 2004). Mağnezyum, kükürt, bor ve azot gibi besin elementlerinin siyah çay kalitesi üzerine etkileri yaygın olarak rapor edilmiştir (Rahman *et al.* 1978; Dev Choudhury and Bajaj 1988; Sharma and Sharma 1992; Barbora 1995; Venkatesan and Ganapathy 2004). Ticari sevide çay üretimi için gerekli azotlu gübrenin alternatifleri sınırlı olmakla birlikte; yüksek miktarda azotlu gübrelerin üretilen çayın kalitesi üzerine olumsuz etkisi olduğu bilinmektedir (Hilton 1971; Guseinov 1973; Ranganathan and Natesan 1987). Yeşil çay kalitesi toplam azot ve serbest amino asit konsantrasyonu ile ilgili olduğundan, çay plantasyonlarında ve özellikle yeşil çay üretiminde yüksek oranda azotlu gübre üre formunda uygulanmaktadır (Ruan and Wu 2004). Bununla birlikte önceki araştırmalarda aşırı azot uygulamalarının siyah çay kalitesini olumsuz etkilediği ortaya konulmuştur. Diğer taraftan çay kalitesini olumlu etkileyen potasyumun aşırı azotun neden olduğu olumsuzluğu kısmen de olsa hafifletebildiği rapor edilmiştir (Ranganathan 1994).

Çay yapraklarının verim ve kalitesini artırmak için çaylıklara uygulanan azotlu gübreler yıldan yıla artmaktadır. Ancak ağır azot gübresi uygulamalarının çay bahçelerinde birincil üretimi teşvik etmekte ve aynı zamanda çay bahçesinin topraklarının asitlenmesine neden olmakta (Chenery 1955; Konishi 1991; Tachibana *et al.* 1995) ve nitrifikasyon oranlarını da etkilemektedir (Chantigny *et al.* 1996) Sonuçta sera gazlarının atmosfere salınması ve yer altı sularına nitrat olarak yılanması gibi önemli

çevresel etkilere yol açmaktadır (Tokuda and Hayatsu 2001, 2004). Uzun vadeli çay yetiştirme uygulamaları sonucunda, uzun süre çay yaprak artıkları ve köklerden salgılanan maddelerin toprakta birilimi ve toprak pH'sının düşmesi nedeniyle Al ve hidroksi benzen birikiminin ortaya çıkabileceği vurgulanmıştır (Nioh *et al.* 1993; Yao *et al.* 2006). Toprak mikroorganizmalarının strüktür ve sayısı toprağın kimyasal özelliklerini değiştirebilmektedir (Bauhus and Khanna 1994; Pansombat *et al.* 1997; Tokuda and Hayatsu 2002). Toprak enzimleri; karbon (invertaz), nitrojen (üreaz ve proteaz) ve fosfor (fosfataz) gibi döngülerde önemli role sahiptir ve bu enzimler mikrobiyal aktivite için gösterge olarak kullanılabilirdiği gibi (Bergstrom *et al.* 1998), çevresel değişmelere de hızla tepki gösterebilmektedir (Sparling 1997). Topraklardaki mikrobiyal topluluk farklılıklarının, farklı bitki çeşitleri ile kaplı olmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır (Waid 1999; Grayston *et al.* 2001; Marschner *et al.* 2001). Pandey and Palni (1996) çay kök artıklarının mikroorganizmaları sınırlandırabildiğine dikkat çekmiştir. Çay yapraklarının antimikrobiyal maddeler içermesi ve toprak asitliğini artırıcı özellikler göstermesi ve Al toksiditesine yol açabilmesi nedeniyle mikrobiyal türlerin azalmasına neden olabileceği vurgulanmıştır (Xue *et al.* 2006).

Azot çay yaprağında proteinlerin oluşumu, fotosentez miktarı, karbonhidrat kapsamı gibi önemli parametrelere etki yapmakta ve bitkinin kaldırdığı azot miktarı yüksek olmaktadır. Çok yıllık olan çay bitkisi uzun yıllar aynı toprakta kaldığından sürekli aynı bitki besin maddelerini topraktan kaldırmakta ve toprağı fakirleştirmektedir. Çay yetiştirme alanlarında çiftlik gübresinin üretimi ve uygulanmasının kısıtlı olması ve yeşil gübrelemenin de gereği gibi yapılmaması çaylıklarda kimyasal gübrelerin kullanılmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Çayın yapraklarından yararlanılması, taze sürgünlerinin vejetasyon periyodu içinde 3-4 kez kesilerek hasat edilmesi gibi nedenlerle topraktan kaldırdığı azot miktarının yüksek olması, çay için alternatif biyolojik gübre geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Çayın asidik topraklarda yetişmesi, bizzat çay rizosferinde etkin ve aktif olabilen PGPR suşları izolasyonunun çay yetiştiriciliğinde kimyasal gübrelere alternatif olabileceğini göstermektedir.

Yıllardan beri tek yönlü ve yüksek dozda kimyasal gübreleme sonunda çay topraklarının fiziksel ve kimyasal yapısı giderek bozulmaktadır. Toprak asitliğinin de artması nedeniyle topraklarda biyolojik aktivite azalmaktadır. Gereğinden fazla verilen azotlu gübre siyah çayda lif miktarının artmasına ve çay fabrikalarında lifin çaydan ayrıştırılması için daha fazla masraf gerektirmektedir (Sarımehmet vd 1983, 1989 b; Ural 1991; Kaçar 1991, 1992, 1984). Diğer yandan son zamanlarda tüketiciler, doğayı tahrip etmeyen yöntemlerle üretilen ve toksik etki yapmayan tarımsal ürünleri tüketmeyi tercih etmeye başlamış ve organik çay yetiştiriciliği gündeme gelmiştir. Özellikle siyah çay üretimi yanında tüketicilerin organik ve yeşil çaya olan talepleri hızla arttığından organik yeşil çay üretimi önemli görülmektedir. Doğu Karadeniz bölgesinde özellikle yüksek rakımlarda yetişen çaylar, ekolojik şartlar nedeniyle kış aylarında kar altında kalmaktadır. Bu özellik dünyada başka hiçbir bölgede bulunmamaktadır. İnsan sağlığı, ekolojik denge, çay sektörünün geleceği ve organik çay üretiminin yaygınlaştırılması bakımından bu durum önemlidir. Coğrafi ve ekolojik koşullar nedeniyle Doğu Karadeniz'deki çaylıklarda kimyasal ilaçla mücadele yapılmamaktadır. Bu durum Türkiye'yi sağlıklı siyah, yeşil ve organik çay üretimi için ideal ülke durumuna getirmektedir. Bu özelliğinden dolayı Türk Çayı dünyanın en sağlıklı en doğal çayı olma özelliğini taşımaktadır. Türkiye'de 2002 yılında 5 ha çaylık alanda 63 ton, 2010 yılında ise 224 ha çaylık alanda 1.971 ton organik yaş çay üretilmiştir. Türkiye'de çay bitkisine kimyasal ilaçla mücadele yapılmaması önemli bir avantaj olarak değerlendirilmektedir. Bu durum organik tarım için bir avantaj olduğundan mikrobiyal gübreleme ile desteklenmesi durumunda çay yetiştirme alanlarında organik çay tarımı kolaylıkla yapılabilecektir.

Çevre kirliliğinin önlenmesi ve tarımsal sürdürülebilirlik, kaynakların devamlılığının sağlanması, tarımsal maliyetin düşürülmesi ve iyileştirilmiş ve organik tarım uygulamaları mikroorganizma kullanımını zorunlu kılmaktadır. Birçok ülkede temiz çevre ve sağlıklı üretim sistemi için biyolojik gübre formülasyonları elde edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmaktadır. Azot ve fosfor bitki gelişmesi için temel elementlerdir ve topraktan eksilen N ve P elementlerinin karşılanması için yoğun gübre kullanılmaktadır. Toprakta eksilen N ve P miktarını karşılamak için yüksek oranda

kimyasal gübre, özellikle azot kullanımı maliyetleri artırmakta, yıkanmakta ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Özellikle N gübresi üretimi ve kullanımı ile birlikte artan çevre tahribatı ve maliyet, gübre azotuna çevresel olarak kabul edilebilir biyolojik kaynakların araştırılmasını önemli bir hedef haline getirmiştir.

Çay yetiştirme alanlarında yoğun monokültür tarımı nitrat kirliliğini ciddi boyutlarda artırmaktadır. Asidik çay topraklarında P alımının azaldığı ve gübre etkinliğinin oldukça düştüğü buna bağlı olarak ta verimlilik için daha fazla gübre kullanıldığı göz önünde tutulursa, çay ve benzeri bitki yetiştiriciliği yapılan alanlarda N fikseri ve P çözücü bakterilerin izolasyonu ve biyolojik gübre olarak kullanıma sunulması daha da önemli hale gelmektedir. Çay yetiştiriciliğinin yaygın olduğu bölgelerde kimyasal gübre gereksinimini azaltacak ve çay üretimini artıracak yeni çevre dostu stratejilere ve ilave ve alternatif kaynakların değerlendirilmesine gereksinim vardır. Üretim maliyetleri ve kimyasal gübrelerin çevreye zararlı etkilerindeki artışlar biyolojik gübrelere olan ilgiyi artırmıştır. Sürdürülebilir tarım için biyolojik gübre olarak kullanılacak etkin türlere gereksinin duyulmaktadır. Bu bağlamda, asidik çay rizosferinde yaygın ve etkin olan faydalı bakterilerin izole edilmesi, bunların kimyasal gübre kullanımını azaltmak amacıyla başta iyileştirilmiş ve organik çay yetiştiriciliği olmak üzere çay tarımında kullanımı önemlidir. Nitekim önceki araştırmalarda çay rizosferinden izole edilerek tanımlanan ve özellikleri moleküler ve biyokimyasal testlerle ortaya konulan faydalı bakterilerin; laboratuvar, sera, pot, saksı ve tarla koşullarında farklı çay klonlarında gelişmeyi etkilediği ve biyolojik gübre olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır (Çakmakçı *et al.* 2009 a, 2010 a, b, c, 2011 a, 2012 a; Çakmakçı vd 2011 b, c; Ertürk vd 2011). Asidik topraklarda PGPR aşılamaalarının beklenenden daha yüksek potansiyele sahip olduğu ve bazı PGPR izolatlarının asidik topraklarda mineral gübrelemeye eş veya daha yüksek oranda çay yaprak verimi ve gelişmesini teşvik ettiği görülmüştür (Çakmakçı vd 2011 b, c).

Bitki köklerinin çevresinde bulunan bakteri çeşit ve sayısı birçok bitki ve çevresel faktör tarafından etkilenmektedir. Bazı araştırmalar mikroorganizma strüktür üzerine en yaygın etkiyi bitki türleri gösterirken (Costa *et al.* 2006), diğer bazı araştırmacılar toprak

tipi ve agro-klimatik koşulların daha etkin olduğu bildirilmiştir (Fierer and Jackson 2006; Marasco *et al.* 2013). Bitki kökleri ile ilgili bakteri topluluğunun kompozisyon ve strüktürü bitki-bakteri veya diğer organizmalarla olan etkileşim tarafından belirlenmektedir (Trivedi *et al.* 2011).

Bitki topluluklarının rizosferdeki bakteriyel topluluğun yapısı üzerine farklı kök salgıları, kök bölgesindeki farklı kısımlarındaki bileşim ve bitkilerin gelişme dönemleri tarafından etkilendiği bildirilmiştir (Farina *et al.* 2012). Bitki farklı organizma gruplarının ve özellikle bakterilerin gelişme ve çoğalmaları için besinlerce zengin ortam sağlamaktadır. Kök bölgesindeki bakteri topluluğu ise toprak yapısı ve besin döngüsünde anahtar rol oynamaktadır (Nannipieri *et al.* 2003). Ayrıca bitkilerin topraktaki doğal mikrobiyal popülasyonu etkilediği ve her bitki türünün seçici ve sınırlı bir ortam yaratarak kendi özel mikrobiyal popülasyonunun oluşumuna katkı yaptığı bildirilmiştir (Berg and Smalla 2009). Araştırmalar rizosferik bakterilerin o rizosferde bulunan bakterilere özgün az çok belli bir ilişki içinde olduğunu ortaya koymuştur (Berg and Smalla 2009; Ambrosini *et al.* 2012). Ayrıca uygun ve etkin PGPR rizosferde kolonize olan bakterilerin kompozisyon ve dinamiklerin ve bitki gelişimi ile ilgili özelliklerin anlaşılmasını gerektirmektedir (Donate-Correa *et al.* 2004). Bu nedenlerle rizosferdeki bakteri topluluğu üzerinde kök bölgesi bitki türleri ve toprak yapısına etkisinin araştırılması çok önemli bir araştırma alanı olarak öne çıkmıştır.

Bitkiler yetiştiği ekolojiiyi rizosferinde barındırdığı mikrobiyal toplulukla kontrol edebilmekte ve değiştirebilmektedir. Bitki rizosferindeki bakteri kompozisyonu toprak özellikleri, iklim, bitki türleri, türler arasındaki varyete ve ekotip farklılıklarına göre değişmektedir (Poonguzhali *et al.* 2006; Beneduzi *et al.* 2008; Coelho *et al.* 2008; Çakmakçı vd 2008 a; Çakmakçı *et al.* 2010 a). Uzun yıllar farklı bölgelerde bulunan yabancı türlerin rizosfer topraklarındaki bakteri popülasyonunun yoğunluğu, niteliği ve özellikleri farklı olmaktadır. Bu nedenlerle farklı çevre koşullarına ve bitki rizosferine adapte olabilen yüksek potansiyele sahip faydalı bakterilerin bitki rizosferinden izole edilmesi önem taşımaktadır.

Çay çok yıllık bir bitki olarak ve yaprakları sürekli hasat edildiğinden çoğu bitkiden daha fazla azot uygulaması gerektirmekte ve azot çay verim ve kalitesine etki etmektedir. Çay bahçeleri, genellikle mono kültür olarak yetiştirilmekte yüksek oranda gübre uygulanmakta ve büyük oranda kök salgıları ve yaprak artıkları tarafından oluşmaktadır (Çakmakçı *et al.* 2010 a). Birçok araştırma göstermiştir ki; çaylıklara yüksek oranda uygulanan azot gübresi toprak asidifikasyonu (Han *et al.* 2008), yer altı ve yüzey su kirliliği (Liu *et al.* 2012), nitrifikasyon oranını etkileme (Xue *et al.* 2006) ve düşük azot kullanım etkinliği sebebi ile yüksek oranda çevre kirliliğine (Han *et al.* 2008) neden olmamaktadır. Azottan sonra bitki gelişmesini etkileyen ikinci element fosfor olup; çay bitkilerinin fosfor kullanım etkinliği fosforun toprakta çözünürlüğünün düşük olması nedeni ile yetersiz olmaktadır. Ayrıca toprak fosforu yüksek olsa veya fazla oranda P uygulansa bile P hızla fiks edilip alınamaz forma dönüşmekte ve kullanım etkinliği düşmektedir. Diğer taraftan uygulanan gübrelerin asidik yağışlı bölge topraklarda kullanım etkinliği düşük olmaktadır. Şüphesiz ki asidik kimyasal kullanımı çevre koşullarına olumsuz etki yapmakta verim kaybına neden olmaktadır (Chakraborty *et al.* 2009).

Yüksek verim için fazla girdi kullanan tarım sistemleri çevresel problemlere ve doğal kaynakların tükenmesine yol açmaktadır (Çakmakçı *et al.* 1999). Tarımsal kimyasalların ekosistemlerin kaldıramayacağı miktarda kullanımının devamı sürdürülebilir olmamakta ve kimyasal uygulaması ile ortaya çıkan hızlı üretim artışı artık azalmaktadır. Sağlıklı bir tarım sistemi kaçınılmaz olmakta ve tarımsal kimyasalların kullanılmadığı temiz gıdaların üretimi, insanlığın ve doğal kaynakların geleceği için zorunlu hale gelmektedir. Çevre kirliliğinin önlenmesi ve tarımsal sürdürülebilirlik, kaynakların devamlılığının sağlanması, tarımsal maliyetin düşürülmesi ve organik tarım için azot fikseri, fosfat çözücü ve bitkisel hormon üretici bakteri kullanımını zorunlu kılmaktadır (Çakmakçı ve Erdoğan 2006, 2012). Bitki gelişmesini teşvik edici bakteriler tarım, bahçecilik, ormancılık ve çevrenin yenilenmesi amaçlarıyla kullanılmaktadır. Sürdürülebilir tarım için biyolojik gübre olarak kullanılacak geniş deneme koşullarında seçilecek etkin türlere gereksinin duyulmaktadır.

Yüksek oranda kimyasal gübre kullanımı maliyeti ve çevre kirliliğini artmaktadır. Bu nedenlerle toprak mikrobiyolojisi ve biyoteknoloji alanındaki gelişmeler ışığında mümkün olduğu ölçüde toprak mikroorganizmaların bitkisel üretimi artırmak ve topraktaki besin döngüsünü sağlamak için kullanımı ekonomik açıdan önemli bir yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır. Tarımda yıllar geçtikçe bitki verimliliğinde azalmalar görülmekte bu durum özellikle çay plantasyonlarında aşırı gübre kullanımından kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla çay yetiştiriciliğinde biyolojik ürünlerin kullanımı ile toprak verimliliğinin artırılması acil bir ihtiyaç olarak ortaya çıkmaktadır. Bu tür uygulamalar için ön koşul uygun biyoteknolojik uygulamalarla, bitkiler için uygun bakterilerin seçimi ve karakterizasyonu olarak görülmektedir (Trivedi *et al.* 2011). Çay bahçelerinde toprak ekosisteminde bakteri topluluğunun çeşitliliği ve sayısı hakkında yeterli bilginin olmadığı bildirilmiştir (Xue *et al.* 2006; Çakmakçı *et al.* 2010 a).

Kimyasal gübre üretimi ve uygulaması yüksek enerji kullanımı gerektirmekte, azot döngüsünü etkilemekte, tarımsal maliyeti artırmakta ve suları kirletmektedir. Asidik topraklarda P alımının azaldığı ve kullanılan azotun yıkandığı ve fazla gübre kullanıldığı göz önünde tutulursa; çay alanlarından N fikseri ve P çözücü bakterilerin izolasyonu ve kimyasal gübre kullanımını azaltmak amacıyla iyileştirilmiş ve organik çay yetiştiriciliğinde kullanımı önem arz etmektedir (Çakmakçı vd 2012 b). Türkiye’de bakteri izolasyonu amacıyla rizosfer çalışmaları yetersiz olmakla birlikte, son yıllarda başlanmıştır (Çakmakçı *et al.* 2006 a, 2010 a; Çakmakçı vd 2006 b, 2008 a, b, 2009 d, e). Yüksek yağışlı ve asidik topraklarda gübre etkinliği düşük olmakta (Thakuria *et al.* 2004), bu topraklarda fosfor Fe ve Al fosfatlar şeklinde tutulmakta alımı zorlaşmakta (Johnson and Loeppert 2006) ve P bakımından zayıf, asidik topraklarda N tüketimi fazla olan çay yetiştiriciliği için azot fikseri ve fosfat çözücülerden oluşan biyolojik gübre geliştirilmesi önem taşımaktadır (Çakmakçı *et al.* 2010 a, b).

Bu araştırma ile PGPR kullanılarak çayda verime ilave olarak, yaprak antioksidan ve oksidatif pentoz fosfat yolu (glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, 6-fosfo glukonat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz ve peroksidaz) ve siyah çay

işleme, tat ve aromada önemli olabilecek enzimlerin (polifenol oksidaz, peroksidaz, 5-Dehidroshikimat redüktaz, üreaz ve alkol dehidrogenaz enzimi) aktivitesinin değiştirilmesi ve çay kalitesinin artırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, çay verimi ile birlikte siyah çay işleme ve tat ve aromada PGPR kullanımının etkili olup olamayacağı araştırılmıştır. Bakteriler tarafından antioksidan enzimlerinin aktivitesinin artırılması dolayısıyla stres koşullarında bitki dayanıklılığının artırılması, çay işleme ve kalitesinde önemli olabilecek enzim aktivitelerinin değiştirilmesi ve bitki gelişmesinin desteklenmesi bakterilerin kullanım alanını genişletecektir. Bu çalışma, biyolojik gübre, dayanıklılık, çay verim ve kalitesi araştırmalarına yeni bir boyut kazandıracaktır. Bu araştırmalarda orijinal olarak izole edilen bakterilerin organik çay tarımında en önemli sorun olabilecek mineral gübrelemenin yasaklanması durumunda ortaya çıkabilecek başta azot olmak üzere bitki besleme sorunlarının çözümüne önemli katkı sağlayacaktır.

Bu araştırma ile; bakterilerin çay yetiştiriciliğinde kullanılabilir hale getirilmesi, kimyasal gübre gereksiniminin azaltılması, toprak kalitesinin iyileştirilmesi, biyolojik kaynakların kullanımını yaygınlaştırılması, organik ve iyileştirilmiş tarımda bitki besleme sorunlarının çözümüne katkı sağlanması, çevre dostu sürdürülebilir tarım teknikleriyle piyasa için kabul edilebilir miktar ve kalitede çay yaprağı üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu araştırmalar çay tarımında bitki besleme sorununun çözümüne önemli katkı sağlayabilecektir.

Asidik çay rizosferinde bulunan, tarımsal ve toprak sağlığı bakımından önemli olabilecek faydalı bakterilerin belirlenerek kayıt ve koruma altına alınması önemli bir konu olmakla birlikte yeterince araştırılmamıştır. Bu araştırma asidik çay rizosferi topraklarından izole edilerek tanısı, karakterizasyonu, azot fiksasyonu, fosfat çözme ve bitki gelişmesini teşvik etme gibi özellikleri belirlenerek çay yetiştiriciliğinde biyolojik gübre geliştirilmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu nedenlerle, bu araştırmalarda, kimyasal gübre gereksiniminin azaltılması, organik ve iyileştirilmiş tarım uygulamalarının desteklenmesi amacıyla, biyolojik gübre formülasyonlarında kullanılacak asidik koşullara dayanıklı, çay rizosfer topraklarında yaygın ve hakim olan, bitki gelişmesini teşvik edici bakteri izole edilerek, kayıt ve koruma altına alınmıştır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Bitki Gelişimini Teşvik Edici Bakterilerle İlgili Çalışmalar

İnsanların doğal ekosistemlere olumsuz etkisi, geri dönüşümü olmayan bazı değişiklikler meydana getirmekte ve ekolojik denge bozulmaktadır. Hava, su ve toprağın kirletilmesi, bu doğal kaynakların dolaylı olarak azalmasına yani sömürülmesine neden olmaktadır (Çepel 2006). İster kimyasal ister biyolojik olsun azotun indirgenmesi, yüksek oranda enerji gerektirir. Kimyasal gübre üretimi için enerji kaynağı olarak yakıt kullanılır. Bu materyaller tekrar yerine konulamaz ve tükenir özelliktedir. Bu sürecin sonunda geldiğimiz noktada; tüm dünyada yeterli miktar ve kalitede gıda ihtiyacını sömürücü ve kirletici tarım sistemleri ile sağlanamayacağına dair endişeler giderek artmaktadır. Sürdürülebilir tarım için biyolojik gübrelemenin önemi ve kimyasal gübrelemenin maliyet ve çevresel zararları; kimyasal gübrelere çevresel olarak kabul edilebilir biyolojik alternatiflerin araştırılması, geliştirilmesi, adaptasyonu ve benimsenmesini gündeme getirmiştir (Çakmakçı 2005 a, b). Doğaya dost tarım teknolojileri, organik artıkların geri dönüşümü, biyolojik gübrelere toprak rizosferinin güçlendirilmesi, biyopestisit kullanımının yaygınlaştırılması ve tarımsal ekosistemlerdeki kirleticilerin biyolojik yollarla temizlenmesi gibi yaklaşımlar, çevresel problemlerin ortadan kaldırılmasında esas alınmaya başlanmıştır (Çakmakçı ve Erdoğan 2008 a; Saber 2001).

Bitki gelişimini teşvik edici rizobakteriler (PGPR), serbest yaşayan, bitkisel gelişimi teşvik eden, biyolojik mücadelede veya biyolojik gübre olarak kullanılan bakteriler olarak bilinmektedir. Tohum, bitki yüzeyi veya toprağa uygulandığında atmosferik azotu fiksederek, organik ve inorganik kaynaklardan mineral elementlerin alınabilirliğini artırarak veya sekonder metabolit üretimiyle bitkisel gelişmeyi teşvik eden; rizosferde kolonize olabilen veya bitki dokularına girebilen, canlı mikroorganizmalardan meydana gelen materyale biyolojik gübre (BG) adı verilir. Bu faydalı bakteriler bitki rizosferinden izole edilmekte, aktif olan türler etkinlik ve ortam koşullarına adapte olabilmeleri özellikleri dikkate alınarak seçilmekte, tekli veya çoklu tür içeren biyolojik

gübrelerde kullanılmak üzere saklanmaktadır. Biyolojik gübre tohumlara kaplanmakta, kodlanmakta, fide, fidan, bitki yüzeyi veya toprağa uygulanabilmektedir (Çakmakçı ve Erdoğan 2008 a). Biyolojik gübrelemede temel amaç, tarımsal sürdürülebilirliğin devamlılığı, doğal kaynakların ve çevrenin korunması ve kalitesinin yükseltilmesi için kimyasal kullanımının azaltılmasıdır. Ancak mevcut durumuyla BG tek başına tarım kimyasallarının yerini tutamamakta ancak kullanım oranlarını azaltmakta ve ekolojik tarımı desteklemektedir. Bu bakteriler daha çok *Acinetobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir (Burdman *et al.* 2000; Vessey 2003; Çakmakçı 2005 a, b; Çakmakçı ve Erdoğan 2006, 2008 b; Çakmakçı *et al.* 2010 a).

PGPR'ların bitki gelişmesini teşvik mekanizmaları tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte bu bakterilerin oksin (Jeon *et al.* 2003; Egamberdiyeva 2005; Çakmakçı *et al.* 2006 a, Aslantaş *et al.* 2007), sitokin (Timmusk *et al.* 1999; Garcia de Salamone *et al.* 2001; Aslantaş *et al.* 2007), gibberallin (Gutiérrez-Mañero *et al.* 2001) ve etilen (Glick *et al.* 1995) gibi bitkisel hormonları üretebildiği; asimbiyotik olarak N fiksettiği (Boddey and Dobereiner 1995; Şahin *et al.* 2004); mineral fosfatı çözebildiği ve organik fosfat ve diğer besin elementlerini mineralize ettiği (de Freitas *et al.* 1997; Jeon *et al.* 2003; Canbolat *et al.* 2006 a); siderofor, antibiyotik, enzim ve fungusit bileşikler sentezleyerek patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiği (Dobbelaere *et al.* 2002; Dey *et al.* 2004; Lucy *et al.* 2004; Kotan *et al.* 2009) bilinmektedir.

Özellikle son yıllarda bir çok ülkede temiz çevre ve sağlıklı üretim sistemi için biyolojik gübre formülasyonları elde edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmaktadır (Vessey 2003; Lugtenberg and Kamilova 2010; Hayat *et al.* 2010; Kaymak 2010). Son yıllarda PGPR şeker pancarı, şeker kamışı, çeltik, mısır, arpa ve buğday gibi bitkilerde kullanılmaya başlanmıştır (Döbereiner 1997; Schilling *et al.* 1998; Hecht-Buchholz 1998; Çakmakçı *et al.* 1999, 2007 a, b).

Ağaçlar ve çalı bitkilerinde PGPR araştırmaları yakın zamanda başlamıştır ve faydalı bakterilerin genç ağaç ve fidanlıklarda kullanımına olan ilgi giderek artmaktadır. Bitki gelişmesini teşvik edici N<sub>2</sub>-fikseri ve P-çözücü bakterilerle yürütölen araştırmalarda kayısı (Eşitken *et al.* 2003, 2005), ahududu (Orhan *et al.* 2006), kiraz (Eşitken *et al.* 2006) ve elmada (Aslantaş *et al.* 2007; Karlıdağ *et al.* 2007, Pırlak *et al.* 2007; Karakurt *et al.* 2009) gelişme parametreleri ve verimin arttığı belirlenmiştir. Ağaç gelişimi bakterilerin sadece N fiksasyonu veya P çözebilme özelliğinden kaynaklanmamakta aynı zamanda sekonder metabolit üretimiyle de ilgili olmaktadır. Bahçe tesisinde erken dönemde PGPR fidanların vejetatif gelişmesini teşvik etmekte, fidan gelişim parametreleri dikkate alındığında, genç dönemde fidanların N gereksiniminin büyük bir kısmının biyolojik gübre ile karşılanabileceğı ve bakteriyel sitokinin üretimiyle fidan gelişme karakteristikleri arasında sıkı bir ilişki olduğı belirlenmiştir (Aslantaş *et al.* 2007).

Bitki gelişmesini teşvik edici bakterilerle yürütölen araştırmalarda ladin (Shishido and Chanway 2000), dut (Sudhakar *et al.* 2000), kayısı (Eşitken *et al.* 2003, 2005), kaktüs (Puente *et al.* 2004), meşe ve çam (Garcia *et al.* 2004), konifer türleri (Chanway *et al.* 2000; Bent *et al.* 2002) ve elma (Aslantaş *et al.* 2007; Karlıdağ *et al.* 2007; Pırlak *et al.* 2007), ahududu (Orhan *et al.* 2006), kiraz (Eşitken *et al.* 2006; Akça ve Ercişli 2010), çilek (Eşitgen *et al.* 2010), çay (Ertürk *et al.* 2008; Çakmakçı vd 2009 b, 2010 c; Çakmakçı *et al.* 2010 b), fındık (Ertürk *et al.* 2010 a), vişne (Karakurt *et al.* 2011) kivi (Ertürk *et al.* 2010 b) türlerinde vejetatif gelişimle birlikte meyve verimi ve kalitesinde de önemli iyileşmeler sağladığı belirlenmiştir.

Türkiye’de son yıllarda bitki gelişimini teşvik eden bakteriler kullanılarak, oksidatif pentoz fosfat yolunun temel düzenleyici enzimleri olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz veya antioksidan (glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferaz) enzimlerinin artırılması suretiyle, bitkilerin biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılığının artırılabilmesi ve gelişmenin teşvik edilmesi amacıyla araştırmalar yapılmaktadır (Çakmakçı *et al.* 2007 a, 2009 c). Nitekim azot fikseri, fosfat çözücü ve indol asetik asit üretici *B. cereus* RC18, *Bacillus licheniformis* RC08,

*Bacillus megaterium* RC07, *Bacillus mycoides* FD07, *Bacillus pumilus* RC19, *Bacillus sphaericus* RC12, *Bacillus subtilis* RC11, *Bacillus* OSU-142, *Bacillus* M-13, *Pseudomonas putida* RC06, *Paenibacillus polymyxa* RC05, RC14 ve *Variovorax paradoxus* RC21 bakterileri ile yürütülen araştırmalarda bakterilerin buğday ve ıspanak kök-gövde gelişmesiyle birlikte, bitki pentoz fosfat yolu ve antioksidan enzimlerinin de artırabildiği sonucuna varılmıştır (Çakmakçı *et al.* 2007 a, 2009 c). Strese karşı bitki dayanıklılığının artırılması için alternatif bir yaklaşım ise bitki antioksidan enzimlerinin, Aminosiklopropan karboksilat deaminaze (ACCD) enzimi içeren bitki gelişimini teşvik eden bakteriler kullanılarak artırılması ve farklı çevresel stres koşullarını takiben bitki etilen düzeyinin azaltılmasıdır (Çakmakçı vd 2007 c; Çakmakçı 2009). Bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin, ıspanak yapraklarında oksidatif pentoz fosfat yolu (6PGD ve G6PD) ve antioksidan (GR ve GST) enzimleri aktivitesi ile birlikte erken dönemde bitki gelişiminin artırılabilceği ortaya konulmuştur (Çakmakçı vd 2007 c; Çakmakçı *et al.* 2009 c). Stres koşullarında, bitki gelişimini engelleyen etilen miktarını azaltıcı bakterilerle yürütülen araştırmalarda; biyotik ve abiyotik strese karşı bitkilerde korunma sağlanmaktadır. Bu alanda araştırmalar yetersizdir.

Araştırmalarda PGPR etkinliğinin bitkinin erken gelişme döneminde ortaya çıktığı ve özellikle bitkinin vejetatif gelişimi üzerine etkin olduğunu ortaya konulmuştur (Glick *et al.* 1997; Hoffmann-Hergarten *et al.* 1998; Şahin *et al.* 2004; Çakmakçı *et al.* 2006 a, 2007 b). Bu bulgular uygun bakteri-bitki interaksyonu ve asit topraklarda etkin olabilecek izolatların yaprakları değerlendirilen çay için uygun olabileceği savını oluşturmaktadır.

Çay bitkisinden 1300 kg kuru yaprak elde edilmesi için çayın topraktan 60 kg/ha N, 5 kg/ha P, 30 kg/ha K, 6 kg/ha Ca ve 3 kg/ha Mg kaldırdığı tespit edilmiştir (Cooke 1974). Türkiye’de çay üzerine yürütülen araştırmalarda 1978-1981 yıllarında çay topraklarının %39’unun pH’sı 4’ün altında iken, 1989 yılında bu oranın %85 düzeyine çıktığı belirlenmiştir (Sarımehmet vd 1983, 1989 a). Ayrıca aynı çalışmalarda çay topraklarının azot, fosfor ve potasyum bakımından da farklı oranlarda noksanlıklar gösterdiği tespit edilmiştir.

PGPR'ların ticari olarak uygulanabilir forma dönüştürülmeleri, ürün sağlığındaki artış ve biyogübre amaçları açısından önemlidir. Bu süreç kabul edilebilir bir zaman içinde bakterilerin canlılığını devam ettirebilecekleri uygun taşıyıcılarla gerçekleşmektedir. Formülasyon geliştirmede kullanılan belli başlı organik taşıyıcılar torf, talk, lignit, kaolinit, zeolit ve montmorillonittir (Heijnen *et al.* 1993).

PGPR süspansiyonları için kullanılan taşıyıcılar, bakterileri hücre ölümlerinden korurlar ve yaşam oranlarını yüksek tutarlar. Bakterilerin raf ömürleri, bakteri cinsine, taşıyıcıya ve tane büyüklüğüne göre değişim göstermektedir. Nitekim, *Pseudomonas fluorescens* ile yapılan araştırmalarda daha küçük partiküllü taşıyıcıların, bakteriyel hücreleri daha iyi kaplamak suretiyle kurumlara karşı bakterileri daha iyi korudukları tespit edilmiştir (Dandurand *et al.* 1994).

Bakteri aşılama formülleri bir veya birden fazla bakteri için kullanımı kolay, organik, inorganik ve sentezlenmiş ekonomik taşıyıcı materyallerle hazırlanmaktadır. Taşıyıcılar toksik olmamalı, kolaylıkla steril edilebilmeli, elle veya makinelerle kolaylıkla uygulanabilmeli, çevresel risk oluşturmamalı ve yer altı sularına zarar vermemeli, bir veya iki yıl depolanabilme özelliğine sahip olmalı, yerel kaynaklardan sağlanabilmeli ve ucuz olmalıdır (Bashan 1998). PGPR'ların biyogübre olarak kullanılabilmesi sürecinde mikrokapsülasyon tekniği önemli bir biyofarmülasyon metodudur. Mikrokapsülasyon işlemi, asidik pH da yağ içinde süspanse olmuş azotobakterilerle jelatin fosfat polimer çiftinin karışımını içermektedir (Charpenter *et al.* 1999).

Torf taşıyıcılar kullanımları kolay ve ucuz olsa da birçok bulaşma etmenini de içinde barındırırlar. Torfun bu olumsuz özelliklerini azaltmak amacıyla yapılan ısı ile sterilizasyon sırasında bakterilerin canlılıkları da azalmaktadır. *Azospirillum brasilense* peat bazlı biyofarmülasyonu 4 ay raf ömrüne sahip bulunmuştur ve 4 ay depolanan biyofarmülasyon, bu sürenin sonunda  $10^7$  kob/g canlılığında kalabilmiştir ki bu popülasyon başarılı bir bitki inokülasyonu için yeterli görülmektedir (Bashan 1998; Garcia and Sarmiento 2000).

Amer and Utkhede (2000), *B. subtilis* ve *P. putida* bakterilerinin talk ve vermikülit içinde 45 gün yeterli sayıda saklanabildiğini, *B. subtilis* izolatının Chitin ilaveli ve ilavesiz peat içinde 6 ay (Manjula and Podile 2001; Nakkeeran *et al.* 2004) raf ömrü olduğu belirlenmiştir.

PGPR'lerin başarılı biyoformulasyonlarını geliştirirken ulaşılmaması gereken özellikler içinde; yüksek rizosfer etkinliği, küme oluşturma kolaylığı, yüksek etkinlik, diğer bakterilerle uyum, kuruma, ısı, oksitleyici ajanlar ve UV radyasyonuna tolerans başta gelmektedir. Gerek biyolojik gübre gerekse biyokontrol ajanları olarak yapılan araştırmalar PGPR'ların hücre süspansiyonları şeklinde direkt olarak kullanımlarına yönelik gerçekleştirilir. Araştırma bulguları, hücre süspansiyonları olarak PGPR kullanımının pratik olmadığını ve çalışmaların laboratuvarlardan araziye aktarılması durumlarında PGPR formulasyonlarının gerektiğini göstermektedir. Dolayısıyla PGPR hücre süspansiyonları bazı taşıyıcılarda immobilize edilerek kolay uygulama, depolama, ticarileştirme ve tarla kullanımına uygun hale getirilir. Bu safha formülasyon aşamasıdır. Formülasyon gelişiminde; raf ömrünün artırılması, bitkiler için fitotoksik olmama, suda çözünme kabiliyetinin yüksek olması, olumsuz çevre koşullarında etkinliğini sürdürebilme, düşük maliyet, diğer tarım girdileriyle uyumluluk, ucuz ve bulunabilir olma gibi hedefler amaçlanmaktadır (Jeyarajan and Nakkeeran 2000).

N<sub>2</sub>-fiksasyon ve fosfat çözücü bakteri aşılmasının, su ve sıcaklığın uygun olduğu sera koşullarında daha fazla olmak üzere, sağladığı verim artışı, mikrobiyal gübrelemenin, mineral gübrelemeye alternatif olabileceğini ve tek başına mineral azot gübresinin olumsuz etkilediği kalite kriterlerinin bakteri aşılama tarafından düzeltilebileceği gösterilmiştir (Çakmakçı 2002).

Çay bitkisi yaprakları için yetiştirildiğinden hasat edilen yaprak sayısının artması çay endüstrisinde önemli olmaktadır. *Azotobacter chroococcum* inokulantının azot fiksetmesinden ötürü toprağa uygulanması durumunda çay verimini artırdığı vurgulanmıştır (Sharma *et al.* 2002).

Bakteri aşılamaalarında önemli bir alternatif yaklaşım farklı mikroorganizmaların karışık kültürüdür. Doğal mikroorganizmaların karışımı olan farklı organik düzelticiler toprak düzeltici ve BG olarak uygulandığında, bazı türler diğerlerinden daha fazla canlı kalmaktadır. Bunlar topraktaki kullanılabilir karbon kaynaklarından daha iyi yararlanmakta, gelişme ve aktiviteleri yüksek olmaktadır. Bitkisel üretimin artırılması için en iyi strateji farklı mikroorganizmaların karışık inokulasyonu olmaktadır. Karışık inokulasyon, tekli uygulamalara göre, bakteri etkinliğini ve bitkisel üretimi daha fazla artırmaktadır (Çakmakçı *et al.* 2001). Karışık inokulasyon bakteri etkinliğini artırmakta ve besin elementlerin daha dengeli alınmasını sağlamaktadır (Çakmakçı vd 2003).

Azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri uygulamaları topraktaki azot fiksasyon ve fosfat çözücü bakteri sayısı ve rizosferde N ve P miktar ve alımını artırmaktadır. PGPR etkinliği toprak organik madde içeriği, toprak özellikleri, bitki ve bakteri çeşidi ve ele alınan bitki parametrelerine göre değişmektedir (Çakmakçı *et al.* 2006 a, 2007 b).

PGPR inokulasyonu son yıllarda cesaret verici sonuçlar vermektedir. Ancak ağaçlar ve çalı bitkilerinde araştırmalar yakın zamanda başlamıştır ve faydalı bakterilerin genç ağaç ve fidanlıklarda kullanımına olan ilgi giderek artmaktadır (Enebak *et al.* 1998; Domenech *et al.* 2004).

Klorid ve karbonatın çeşitli minerallerle karışımını içeren sabuntaşı olarak ta bilinen talk (magnezyum slika), PGPR ların daha kolay depolanmasını, nem absorpsiyonunun azaltılmasını sağlayan bir taşıyıcıdır. Nitekim *P. putida* izolatu 30-180 gün arasında talk bazlı biyofomulasyonda canlılığını korumaktadır (Bora *et al.* 2004).

Fakir topraklarda daha düşük mineral gübre dozları ile birlikte mikrobiyolojik gübrelemenin etkisinin araştırılması gerekmektedir. Bakterilerin özellikle erken dönemde bitki gelişmesini teşvik edici olmaları nedeniyle, biyolojik gübrelemenin yaprakları kullanılan bitkilerde daha olumlu sonuçlar verebileceğini göstermiştir (Şahin *et al.* 2004).

Biyolojik gübrelerin en belirgin özellikleri azot fiksasyonu, bitki besin elementlerini mobil hale getirilmesi, toprak kökenli hastalıkların biyolojik kontrolü ve bitki gelişimini uyarıcı maddelerin salgılanmasıdır (Lucy *et al.* 2004).

Toplam azot ve serbest aminoasit konsantrasyonlarının yeşil çay kalitesiyle yakın ilişkisi olduğundan, özellikle yeşil çay üretilen çay planlasyonlarında azotlu gübrenin büyük bir kısmı  $\text{NH}_4^+$  üre formunda uygulamaktadır (Ruan and Wu 2004).

Baklagil olmayan bitkilerde biyolojik azot fiksasyonunun (BNF) önemi ilk olarak Döbereiner ve arkadaşları tarafından 1970 yıllarında yarı katı azotsuz ortamın keşfedilmesinin açıklanmasıyla anlaşılmış ve şeker kamışından birçok endofitik bakteri izole edilmiştir. PGPR uygulamaları ile; kök sayısı, kök uzunluğu, gövde gelişmesi, hidrolik geçirgenlik, bitki besin elementi oranı ve alımı, kuru madde, yumru ve dane verimi, yaprak alan indeksi, klorofil oranı, çimlenme oranı ve enzim aktivitesi artışı ile yaprak yaşlanmasının geciktirilmesi gibi olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Çakmakçı 2005 b).

Serbest azot fiksasyonu, fosfat çözücü veya bitkisel gelişmeyi teşvik eden hormon üretici bakteriler değişik bölgelerde yaygın olarak bulunmakta ve birçok araştırmacı grubu tarafından bitki gelişimini teşvik etme beklentisiyle bitki rizosferinden izole edilmektedir. Bitki rizosferinden izole edilen farklı bakteri türleri, saflaştırılmakta, potansiyeli ortaya konulmakta ve BG olarak uygun mikroorganizma karışımları hazırlanmaktadır. Bu bakteriler arasından aktif olan türler etkinlik ve ortam koşullarına adapte olabilme özellikleri dikkate alınarak seçilmekte, tekli veya çoklu tür içeren biyolojik gübrelerde kullanılmak üzere saklanmaktadır. BG tohumlara kaplanmakta, kodlanmakta, fide, fidan, bitki yüzeyi veya toprağa uygulanabilmektedir (Çakmakçı ve Erdoğan 2012).

Ağaç gelişimi bakterilerin sadece N fiksasyonu veya P çözebilme özelliğinden kaynaklanmamakta aynı zamanda sekonder metabolit üretimiyle de ilgili olmaktadır. Bahçe tesisinde erken dönemde PGPR fidanların vejetatif gelişmesini teşvik etmekte,



fidan gelişim parametreleri dikkate alındığında, genç dönemde fidanların N gereksiniminin büyük bir kısmının biyolojik gübre ile karşılanabileceği ve bakteriyel sitokininin üretimiyle fidan gelişme karakteristikleri arasında sıkı bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Aslantaş *et al.* 2007). Erken dönemde uygulanan PGPR, fidanların vejetatif gelişmesini teşvik ettiği, genç dönemde fidanların N gereksinimini çoğunlukla karşılayabildiği vurgulanmıştır (Aslantaş *et al.* 2007; Ertürk *et al.* 2010 a).

Çakmakçı *et al.* (2007 a), biyolojik gübre olarak kullanılacak bitki gelişimini teşvik edici on üç farklı bakteri suşunun (*B. mycooides* FD07, *B. megaterium* RC07, *B. licheniformis* RC08, *B. subtilis* RC11, *B. sphaericus* RC12, *B. cereus* RC18, *B. pumilus* RC19, *P. putida* RC06, *P. polymyxa* RC05 ve RC14, *V. paradoxus* RC21, *B. OSU-142* ve *Bacillus* M-3), ıspanak ve buğday enzim aktivitesi (G6PD, 6PGD; GR ve GST) ve gelişimi üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmada; test edilen bakterilerin 6 tanesinin nitrojenaze aktivitesi gösterdiği, 4 tanesinin fosfat çözebildiği ve tamamını indol asetik asit üretebildiği vurgulanan araştırmada PGPR uygulamasının buğday gövde ağırlığını %16,2-53,8; ıspanak gövde ağırlığını ise %2,2-53,4 oranında artırdığı belirlenmiştir. Sonuçlar, PGPR aşılmasının buğday ve ıspanak enzim aktivitesini artırarak, erken gelişme döneminde bitki gelişimini artırabildiğini göstermiştir. Bakteri aşılmasının bitki gelişimine etkisi, bakterilerce çözünmez toprak fosforunun çözünmesi, azot fiksasyonu, enzim aktivasyonu ve bakterilerce bitkisel hormon üretiminden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar bitki gelişmesi ile enzim aktivitesi arasında sıkı ilişkinin olduğunu vurgulamışlardır.

Çakmakçı vd (2007 c), bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin antioksidan savunma sisteminde önemli reaksiyonları katalizleyen G6PD, 6PGD, GR ve GST aktiviteleri üzerindeki etkilerini buğday ve ıspanakda test etmişlerdir. Bakteri aşılmaları her iki bitkide de G6PD, 6PGD, GR ve GST aktivitesini etkilemiş, bu sonuçlar, alanında ilk olarak, enzim aktivitesinin PGPR ile değiştirilerek bitkisel verimliliğin artırılabilirliğini göstermiştir. Araştırmada buğdayda en yüksek GR ve GST aktivitesi azot fikseri *P. polymyxa* RC14 ile alınmış, oysa G6PD ve 6PGD için *P. polymyxa* RC05 daha etkin bulunmuştur. Etkin izolatlar (*B. megaterium* RC07, *P. putida* RC06, *P. polymyxa* RC05

ve RC14), buğday G6PD, 6PGD, GR ve GST aktivitesini diğer uygulamalara kıyasla 2-3 kat artırmıştır. Buğday kök ve gövde ağırlığı ve yaprak alanı ile GR, GST, 6PGD ve G6PD aktivitesi arasında; ıspanakta GR ve GST aktivitesiyle gövde ağırlığı ve yaprak alanı arasında pozitif önemli korelasyon belirlenmiştir.

Çakmakçı vd (2007 d), önemli bir tarımsal araştırma alanı olan bakterilerle kök gelişimi arasındaki ilişkiyi ele aldıkları çalışmada, bitkisel hormon üretici, azot fikseri ve fosfat çözücü bitki gelişimini teşvik edici on sekiz bakteri izolatının tarla ve laboratuvar koşullarında arpa, buğday ve ıspanak kök sistemi üzerine etkisi test edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre; bakteriyel hormon üretiminin (özellikle IAA) başlangıç döneminde bitki kök sisteminin gelişmesinde önemli rol oynadığı görülmüştür. PGPR uygulamalarının kök gelişimini değiştirdiği, kök ağırlığını, lateral ve adventif kök sayısını artırdığı ve besin alımını etkilediği vurgulanan çalışmada; lateral ve kılcak kök sayısı ve kök uzunluğu artışı gibi kök morfolojisi ve gelişimindeki önemli değişimlerle, PGPR'in bitki gelişimine olumlu etkisinin birbiriyle ilişkili olduğu görülmüştür.

Bitki risponsu mikrobiyal interaksyonun uyumuna bağlıdır. Mikrobiyal interaksyon bitki gelişmesini teşvik eden rizobakterilerin aktivitelerini engelleyici veya teşvik edici olabilmektedir. Ayrıca bakteri etkinliğinin toprak özellikleri, bitki ve bakteri çeşidi, ele alınan bitki parametreleri ve yetiştirilme koşullarına göre değiştiği, bakteri-bitki türleri, bakteri doğal rizosfer mikroorganizmaları arası etkileşimin etkinlikte rol oynadığı bilinmektedir (Şahin *et al.* 2004; Çakmakçı *et al.* 2007 a, b).

Saravanakumar *et al.* (2007) bitki gelişmesini teşvik edici *Pseudomonas* and *Bacillus* biyoförmüllerinin, tarla koşullarında çayda blister yanıklığına (*Exobasidium vexans*) etkisini ele aldıkları çalışmada, *Pseudomonas fluorescens* Pfl uygulamasının blister yanıklığını önlemede kimyasal fungusla benzer etki gösterdiğini ve kontrol ile karşılaştırıldığında hastalığı kontrol ettiği ve çay verimini artırdığı ortaya konulmuştur. Peroksidaz, polifenol oksidaz, fenil alanin amonyak liyaz, kitin, beta-1,3-glukanaz ve fenolikler gibi savunma enzimlerinin değerlendirildiği çalışmada, kontrolle kıyaslandığında *P. fluorescens* Pfl uygulanan bitkilerde enzim birikiminin daha yüksek

olduğu ve PGPR formülasyonunun çayda sistemik dayanıklılık sağlayarak hastalığa karşı bitki direncini artırdığı ve bitki gelişmesini teşvik ettiği belirlenmiştir.

ACC deaminaze aktivitesine sahip PGPR'lerin bitki gelişmesini teşvik etme bakımından biyolojik gübre formülasyonları için uygun olduğu rapor edilmiştir (Shaharoon et al. 2007; Naveed et al. 2008)

Sood et al. (2008) çay rizosfer topraklarında dominant olan bakteri türlerinin *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsine ait *B. subtilis* and *B. mycoides* ve *P. putida* türlerinin olduğunu, ayrıca *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin çay rizosferinde ürettikleri bakteriyosin nedeniyle önemli antagonistik etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Formülasyonlar için taşıyıcı olarak zenginleştirilmiş kompost kullanılabildiği (Ahmad et al. 2008) ve yüksek bakteri canlılığı bakımından, özellikle talaş tabanlı taşıyıcıların etkin olduğu rapor edilmiştir (Arora et al. 2008; Singh et al. 2008).

Çakmakçı et al. (2009 a), çay yetiştiriciliğinde kullanılabilecek bakteri izolasyonu ve kullanımı amacıyla, Doğu Karadeniz Bölgesi çay topraklarından izole ettikleri azot fikseri ve fosfat çözücü bakteriler arasından seçtikleri 20 farklı bakteri izolatu ile yürüttükleri araştırmalarda, asit topraklarda PGPR izolatlarının çay gelişmesini teşvik ettiği ve bakteriyel etkinliğin beklenenden daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Bu araştırmada özellikle yeni azot fikseri ve fosfat çözücü *Burkholderia pyrrocinia* 64/4, *P. polymyxa* 28/3, *Brevibacillus reuszeri* 10/5, *Bacillus* sp. 29/4, *Rhizobium radiobacter* 2/7, *Achromobacter xylosoxidans denitrificans* 16/4, *Citrobacter freundii* 3/7, *P. putida* 53/5, *Paenibacillus macquariensis* 38/2, *Pseudoxanthomonas* sp. 8/3, *Micrococcus luteus* 3/5 ve *Paenibacillus lentimorbus* 47/8 izolatlarının Muradiye 10 ve Tuğlalı Türk çay klonlarında yaprak verimi ve gövde gelişmesini önemli oranda artırdığı belirlenmiştir. Araştırmada, bitki gelişimini teşvik edici bakteri etkilerinin kompleks bir süreç olduğu ve bakteriyel etkinliğin; aşılana bakteri tür ve sayısı, çay klonları, bitki-bakteri kombinasyonu, gelişme dönemi, hasat tarihi, test edilen bitkisel parametreler,

toprak tipi, toprak organik madde miktarı ve çevresel koşullara bağlı olarak değişebildiği vurgulanmıştır.

Çakmakçı *et al.* (2009 c), strese karşı bitki dayanıklılığının artırılması için alternatif bir yaklaşım olarak bitki antioksidan enzimlerinin bakteriler kullanılarak artırılması amacıyla yürüttükleri araştırmada, farklı kaynaklardan izole edilen bakterilerin, ıspanak yapraklarında oksidatif pentoz fosfat yolu (6PGD ve G6PD) ve antioksidan (GR ve GST) enzimleri ile birlikte bitki gelişiminin artırılacağı ortaya konulmuştur. Araştırmada yüksek oranda indol asetik asit üretici *P. polymyxa* RC35 ve *P. putida* RC06 izolatları başta olmak üzere kullanılan izolatların ıspanak kök ve gövde gelişimini, yaprak azot ve fosfor içeriğini ve enzim aktivitesini artırdığı belirlenmiştir. Araştırmada farklı PGPR strainlerinin enzim aktivitesi üzerine etkilerinin farklı olduğu, PGPR tarafından bitki gelişmesinin teşvik mekanizmalarından birinin su ve besin elementi etkinliğinde olduğu gibi nitrat asimilasyonunda önemli rol oynayan enzim aktivitesi artışının olabileceği öne sürülmüştür.

Özyazıcı *et al.* (2009), çay üretiminde yoğun olarak kullanılan azotlu gübrelerin, bölge ikliminin de etkisiyle önemli düzeyde yıkanmaya uğradığı ve çevre kirlenmesine neden olduğunu ortaya koymuştur.

Çay bitkisi kumdan kile kadar değişen yapıdaki asidik (pH= 4-6 arası) topraklarda yetişebilir. Fakat özellikle Türkiye çay topraklarının büyük bir bölümünde pH kritik düzey olarak kabul edilen 4'ün altındadır. Özellikle elle serpilerek yapılan gübredeki azotun önemli bir kısmı atmosfere kaçmakta, azotun bir bölümü de zaten yağışlı olan bölge ikliminde yıkanarak yeraltı sularına karışmaktadır. Kullanılan amonyum sülfat gübresi ve çaylıkları günden güne organik madde yönünden fakirleştirmiş, toprak pH'sını düşürmüştür. Çay topraklarının asitliğinin ve asitlikle birlikte çayda ağır metal alımının yıldıan yıla artabildiği vurgulanmıştır (Yaylalı and Tüysüz 2009).

Çay üzerine yürütülen araştırmalarda, izole edilen tanılanan ve özellikleri moleküler ve biyokimyasal testlerle ortaya konulan 460 izolattan; laboratuvar, sera, pot, saksı ve tarla

koşullarında Hayrat, Fener 3, Muradiye 10, Tuğlalı 10, Gündoğdu ve Pazar çay klonları ile Tombul ve Sivri Tipi fındıklarda testleri tamamlanan bakteriler arasında 45 farklı türe ait toplam 98 izolatın bitkisel üretimde değerlendirilebileceği ve biyolojik gübre olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır (Çakmakçı vd 2009 b, 2010 c, 2011 b, c; Çakmakçı *et al.* 2010 a, b, 2011 a; Ertürk vd 2010 a, b, 2011).

Çay atıklarının toprak K içeriğini (Özdemir *et al.* 2009) ve mikro element içeriğini artırabildiği (Yakupoglu ve Özdemir 2007), çay atığına taze ahır gübresi, ham fosfat, potasyum ve kireç katılarak elde edilecek zenginleştirilmiş kompostun kullanılabildiği bildirilmiştir (Arcak vd 1997).

Thomas *et al.* (2010); *P. fluorescens*, *Azospirillum brasilense* ve *Trichoderma harzianum*'un çayda kök ve gövde gelişmesi üzerine etkisini ele aldıkları çalışmada, çay bitkisine mikroorganizma uygulaması durumunda besin alım etkinliğinin arttığını, inokule edilmiş bitkilerde kök çürüklüğü ve solma görülmezken peroksidaz ve fenilalanin amonyak liyaz gibi savunma enzimleri aktivitesinin oransal olarak arttığını ortaya koymuşlardır.

Çakmakçı *et al.* (2010 a) tarafından TÜBİTAK destekli proje (Proje No: 107O360) kapsamında yürütülen çalışmada 56 farklı lokasyondan 413 toprak örneği üzerinde çalışılmış ve 460 orijinal bakteri izolatının testleri tamamlanmıştır. Alınan toprak örneklerinin pH değerleri 3,3-8,4 arasında değişmiş ve tüm örneklerin ortalaması olarak toprak pH değeri 5,5 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada Doğu Karadeniz Bölgesi çay rizosfer topraklarından izole edilerek seçilen 644 izolatın 394'ünün azot fiks edebildiği, 305 izolatın fosfat çözebildiği, 93 izolatın Aminosiklopropan karboksilat deaminaze (ACC) deaminaze aktivitesine sahip olduğu ve 265 bakteri izolatının aynı anda serbest azot fiks edebildiği ve fosfat çözücülük özelliğinde olduğu belirlenmiştir (Çakmakçı *et al.* 2009 a, 2010 b; Çakmakçı vd 2009 b, 2010 c, 2011 b, c).

Çakmakçı *et al.* (2010 a) çay rizosfer topraklarından fosfat çözücü bakteri izolasyonu amacıyla yürüttükleri çalışmada, çay rizosferinde en yaygın fosfat çözücülerin

*Bacillus* (%34,6), *Pseudomonas* (%8,9), *Stenotrophomonas* (%6,1), *Paenibacillus* (%5,9) ve *Arthrobacter* (%4,8) cinslerine ait türlerin oluşturduğunu belirlemişlerdir. *Bacillus* cinsine ait en yaygın fosfat çözücülerin *B. cereus*, *B. megaterium* ve *B. sphaericus*; *Pseudomonas* cinsine ait türlerin ise *P. fluorescens*, *P. putida*, ve *Pseudomonas alcaligenes* olduğu ve çay rizosferinde yaygın fosfat çözücü bakterilerin %52,3'ünün gram pozitif, %47,7'sinin ise gram negatif olduğu ortaya konulmuştur. Araştırmada izole edilen bakterilerin BIOLOG test sonuçlarına göre gram pozitif izolatların daha ziyade karbon kaynağı olarak karbonhidratları kullandığı, gram negatif izolatların ise karbon kaynağı olarak karboksilik asitler, amino asitler ve karbonhidratları tercih ettiği belirlenmiş ve seçilen izolatların karbon kaynağı kullanma tercihlerinin değişiklik gösterdiği vurgulanmıştır.

Çakmakçı *et al.* (2010 b), tarımda mikroorganizmaların biyogübre olarak kullanımlarının sağlanması ve spesifik rhizobakterilerin geliştirilmesini amacıyla yürüttükleri araştırmada; seçilen 25 izolat, potlarda ve tarla koşullarında doğal ekolojik şartlar altında verim ve gelişimi artırma potansiyelleri yönünden test etmişlerdir. Denemede N ve NP gübreleri içeren 3 farklı uygulama ile birlikte kontrol uygulaması da birlikte test edilmiştir. Hayrat ve Fener-3 çay klonlarında; *Bacillus simplex* 6/4, *B. subtilis* 52/1, *Alcaligenes faecalis* 47/11, *Staphylococcus simulans* 36/1, *Brevibacillus choshinensis* 2/5, *Brevibacillus centrosporus* 66/4, *Pantoea agglomerans* 5/8 ve *Paenibacillus validus* 22/1 izolatları, bütün bitkilerde hem gelişimi hem de yaprak verimini artırmıştır. Araştırmacılar, asidik topraklarda P alımının azaldığı ve gübre etkinliğinin oldukça düştüğü buna bağlı olarak ta verimlilik için daha fazla gübre kullanımının teşvik edildiği göz önünde tutulursa, çay yetiştiriciliği yapılan alanlarda azot fikseri ve P çözücü bakterilerin izolasyonu ve biyolojik gübre olarak kullanıma sunulması daha da önemli hale gelmekte olduğuna işaret etmişlerdir.

Çakmakçı vd (2010 c), Rize bölgesinde çay rizosferi topraklarından izole edilen bakterilerin, biyolojik gübre olarak organik çay yetiştiriciliğinde kullanılabilme amacıyla Fener 3, Muradiye 10 ve Tuğlalı Türk çay klonlarında yürüttükleri 2 yıllık araştırmada bakteriyel etkinliğin çay tipleri ve ele alınan parametrelere göre değiştiği

belirlenmiştir. İki yıllık sonuçlara göre *P. agglomerans* 5/8, *B. pumilus* 35/6, *A. faecalis* 47/11, *Stenotrophomonas maltophilia* 60/5 ve *P. validus* 22/1 Fener 3 çay klonunda; *B. reuszeri* 10/5, *Bacillus* sp. 29/4, *R. radiobacter* 2/7, *C. freundii* 3/7, *P. putida* 29/2 ve *Paenibacillus azotofixans* 66/12 Tuğlalı çay klonunda; *Kurthia sibirica* 3/5, *B. subtilis* 39/3, *P. azotofixans* 66/12, *P. lentimorbus* 47/8, *P. putida* 53/5 ve *R. radiobacter* 2/7 izolatları ise Muradiye 10 çay klonunda yaprak verimi ve bitkisel gelişmeyi teşvik eden en etkin izolatlar olmuştur. Bu araştırmalar biyolojik gübrelemenin organik ve iyileştirilmiş çay tarımı uygulamalarında kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Biyoformulasyonlar ekonomik taşıyıcı materyallerin ve yararlı mikrobiyal ırkların daha kolay kullanımına imkan sağlayan biyolojik ürün olarak tanımlanırlar. Genelde biyoformulasyon terimi; kimyasal gübreleme/pestisit yerine kısmen ya da tamamen geçebilen mikroroganizmaların hazırlanması anlamına gelmektedir. Biyoformulasyonlar 21 yy biyoteknoloji çağında üretimi ve sağlığı artırmada sürdürülebilir bir çevresel yaklaşım ortaya koymaktadır (Naveen *et al.* 2010).

Mikrobiyal aşılama kullanılan formülasyon araştırmaları ve bu formülasyonların ticari olarak geliştirilmesinde sınırlı bir başarı vardır. Biyoformülasyon teknolojisinin başarısının gelişiminde birçok bilimsel zorluklarla karşılaşmaktadır, Bunlar: (1) gelişmiş ırkların seçimiyle daha fazla ürün çeşitlendirmesine sahip olma zorunluluğu; (2) tohum kaplama/peletleme sürecinde canlı kalma, mikrobiyal aşılama ürünlerinin gelişimi için toprak uygulaması ve depolama boyunca çevre sıcaklığına hassasiyet önemlidir; bu yüzden, bu özellikler etkili yeni biyoformülasyonların gelişimi için ayırma sürece ilave edilmelidir; (3) daha etkili bitki gelişim teşvik edici bakteriler toprakta var olan rizobakterilerle birlikte zayıf bir şekilde rekabet ettiğinden, aşılamalarda rekabet yeteneği artırılmalıdır; (4) çevresel stres çalışmaları; azot fiksasyonu ve toprak pH'sı, besin elementi eksikliği, tuzluluk, yüksek sıcaklık ve toksik element varlığı gibi koşullar, etkileşim kabiliyetlerini olumsuz şekilde etkiler, (5) mikrobiyal aşılamanın etkisi yıldan yıla ve bölgeden bölgeye farklılık gösterir ve üzerinde dikkatli durularak düşünülmeli ve çalışılmalıdır ve (6) yüksek kompleks ve dinamik rizosfer çevresinde bitki, yararlı rizobakteriler ve bitki patojenleri arasındaki

etkileşimi ve etkinlikte uyumsuzluk gibi problemler çözümlenmelidir (Arora *et al.* 2010).

Chakraborty *et al.* (2010), *Serratia marcescens* TRS-1 izolatının sıvı süspansiyonunun ve talaş, pirinç kabuğu ve çay artıkları ile hazırlanan biyoförmülasyonlarının çay fidanlarında toplam biyokütle artışı da dahil olmak üzere bitki yüksekliği, yeni yaprak ve dal sürmesi ve gelişmeyi teşvik ettiğini belirlemişlerdir. Araştırmada *S. marcescens* izolatının fosfat çözebildiği, bakteri uygulamasını takiben, toprak P içeriğinin azaldığı, kök ve yaprak P içeriğinin arttığı ve toprak fosfataz aktivitesinin teşvik edildiği belirlenmiştir. Araştırmacılar *in vitro* koşullarda fungal patojenlere karşı antagonistik olarak etki ettiği ve *Fomes lamaoensis* zararlısının neden olduğu çay kahverengi kök çürüklüğünü azalttığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışma sonunda, *S. marcescens* aşılmasının çay bitkilerinde, peroksidaz, kitin, beta-1,3-glukanaz ve fenilalanin amonyak liyaz gibi fenolikleri artırdığı belirlenmiştir.

Öztürk (2011), çay atıkları torfla 1:1 oranında karıştırılarak elde edilen karışımın mantar üretiminde gübre olarak kullanılabildiğini vurgulamıştır.

Çakmakçı *et al.* (2011 a), Rize ve Trabzon bölgelerinde çay rizosferinden izole ettikleri 644 bakteri arasından seçtikleri 20 farklı PGPR izolatının doğal koşullar altında Tuğlalı çay klonunda kimyasal gübrelere karşılaştırmalı olarak test etmişler ve PGPR etkinliğinin, strainlere ve bitkisel parametrelerine bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu araştırmada test edilen *B. reuszeri* 10/5, *Bacillus* sp. 29/4, *R. radiobacter* 2/7, *C. freundii* 3/7, *P. fluorescens* 8/4, *P. putida* 29/2 ve *P. azotofixans* 66/12 strainlerinin en etkin bitki gelişme promötörleri olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar; mikroorganizmaların bitki besin maddeleri sirkülasyonunu sağlamak ve kimyasal gübre gereksinimini azaltma bakımından önemli olduğunu ve biyolojik gübrelere kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır.

Çakmakçı vd (2011 b) azot fiksasyonu, fosfat çözme ve ACC deaminaze aktivitesine sahip bakterin Fener 3 çay klonu yetiştiriciliğinde kullanılması olanaklarının ele alındığı



araştırmada, bakteriler mineral azot ve NPK gübresine kıyasla test edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, özellikle *B. subtilis* 6/3, *B. megaterium* 21/3, *P. fluorescens* 4/9 ve 48/3, *B. pumilus* 16/8, *P. polymyxa* 14/3, *P. macquariensis* 69/6 ve *S. maltophilia* 63/5 izolatları Fener 3 klonunda enzim aktivitesi, gövde ve yaprak verimi dahil gelişmeyi teşvik etmiştir. Ayrıca PGPR aşılması ile çay yapraklarının makro ve mikro element içeriği artmış ve enzim aktivitesi değişmiştir. Asidik topraklarda PGPR aşılamalarının beklenenden daha yüksek potansiyele sahip olduğu ve bazı PGPR izolatlarının asidik topraklarda mineral gübrelemeden daha yüksek oranda çay gelişmesini teşvik ettiği grlmştir. Bu bakterilerin organik yetiştiricilikte kullanılabileceği, bitkinin strese toleransını artırabileceği, stres koşullarında çay bitkisinin büyüme ve gelişmesini olumlu etkileyebileceği sonucuna varılmıştır.

Arvind *et al.* (2011), zenginleştirilmiş yarı katı azotsuz besi ortamı kullanılarak çay köklerinden izole ettikleri 96 azot fikserinin çoğunluğunun Gram pozitif bakteriler olduğu, Gram pozitif bakterilerden en yaygın olan iki gruptan birincisi *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinslerine ait türlerinin dahil olduğu *Firmicutes* ve ikincisi özellikle *Microbacterium* cinsi türlerinin yaygın olduğu *Actinobacteria* grubu olduğu belirlenmiştir. Gram negatif bakteriler ise *Brevundimonas*, *Rhizobium* ve *Mesorhizobium* cinslerinin bulunduğu Alpha-Proteobacteria grubu, *Pseudomonas* ve *Stenotrophomonas* cinslerine ait türlerin bulunduğu Gamma-Proteobacteria, *Azospira*, *Burkholderia*, *Delftia*, *Herbaspirillum* ve *Ralstonia* cinslerine ait türlerin dahil olduğu Beta-Proteobacteria gruplarına ait olduğu belirlenmiştir. İzolasyon çalışmasında bakteri suşlarının farklı karbon kaynak kullanım Őekilleri ve yağ asidi metil ester profillerine göre farklı gruplar oluşturduğu vurgulanmıştır.

akmakı vd (2011 c) tarafından Doğu Karadeniz Bölgesi asidik çay rizosferi topraklarından izole edilerek tanısı, karakterizasyonu, azot fiksasyonu, fosfat çözme ve bitki gelişmesini teşvik etme gibi özellikleri belirlenerek çay yetiştiriciliğinde biyolojik gübre olarak kullanılabilecek bakteri geliştirilmesi amacıyla yürüttükleri araştırmada, 2 yıllık süre ile 2 farklı set halinde seçilen 11 ve 20 farklı izolat test edilmiştir. Deneme sonuçlarına göre, PGPR ay gelişmesini teşvik etmiş, yaprak makro ve mikro element

içeriklerini artırmıştır. İki yıllık sonuçlara göre, yaprak makro ve mikro element içeriği, gövde çapı, fidan yüksekliği, toplam dal+yaprak ağırlığı ve yaprak verimi bakımından saksı denemelerinde *Roseomonas fauriae* 58/5 ve 27/2, *Chryseobacterium indologenes* 60/2, *B. cereus* 5/1, *Arthrobacter citreus* 48/4, *R. radiobacter* 11/2, *Kocuria rosea* 69/2 ve *B. sphaericus* 65/9 aşılamaaları etkin olmuştur. Tarla koşullarında ise *P. polymyxa* 2/2, *B. megaterium* 20/1 ve 66/5, *S. maltophilia* 53/4, *B. sphaericus* 44/3, *P. fluorescens* 58/3, *Pseudomonas* sp 25/4, *A. faecalis* 36/5 ve *L. enzymogenes enzymogenes* izolatlarının çay gelişmesini teşvik ettiği ortaya konulmuştur. Araştırmada test edilen bakterilerin biyolojik gübre olarak kullanılabilir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

Ertürk vd (2011) tarafından 2 yaşlı Fener 3 çay klonunda yürütülen araştırmada, bakteriler fidanlara daldırma ve enjeksiyon yöntemi ile uygulanmıştır. Araştırma sonucunda, bakteriyel etkinliğin, seçilen strainler ve gelişime parametrelerine göre değişim gösterdiği, *A. citreus* 48/4, *R. fauriae* 27/2 ve *K. rosea* 69/2 izolatları çay fidanlarının gövde çapını, *B. sphaericus* 65/9, *R. radiobacter* 11/2 ve *R. fauriae* 58/5 ile birlikte NPK gübre uygulamaları da fidan yüksekliğini önemli miktarda artırmıştır. Dal+yaprak ağırlığı *R. fauriae* 58/5, *A. citreus* 48/4 ve *R. radiobacter* 11/2 inokulasyonlarında önemli düzeyde artarken, en yüksek yaprak verimi mineral gübre uygulamalarından alınmış ve bunu *R. fauriae* 58/5, *A. citreus* 48/4 ve *R. radiobacter* 11/2 inokulasyonları takip etmiştir.

Saikia et al. (2011) çay bahçe biyosferinden izole etikleri 25 *P. fluorescent* izolatının *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*, *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*, *Fusarium semitectum* ve *Rhizoctonia solani* fungal patojenleri ve *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakteriyel patojen üzerine etkilerini test etmişlerdir. İzolatların çoğunluğu fungal patojenler ve Gram pozitif *S. aureus* bakterisi üzerine yüksek antagonistik etki göstermişlerdir. İzolatların antagonistik aktivitesinde olası mekanizmaların siderofor, salisilik asit, hidrojen siyenit ve hücre duvarlarını bozucu enzim üretimi olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar izolatların antagonist aktivitesiler

siderofor, salisilik asit, hidrojen siyenit üretim düzeyi arasında korelasyon olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çakmakçı vd (2012 b), izole ettikleri azot fikseri ve fosfat çözücü bakteriler arasından seçtikleri 26 farklı bakteri izolatının, ahır gübresi, 3 farklı mineral gübre ve kontrole kıyasla Muradiye 10 çay klonunda gelişme ve verim üzerine etkisini belirlemek amacıyla tarla koşullarında 3 yıllık süreyle yürüttükleri araştırmada, PGPR çay gelişmesini teşvik ettiği, yaprak makro ve mikro element içeriklerini artırdığı belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, tarla denemesinde özellikle *B. simplex* 6/4, *P. validus* 22/1, *B. megaterium* 42/4, *C. indologenes* 21/5, *P. agglomerans* 36/2, *B. cereus* 27/6, *B. centrosporus* 66/4, *P. polymyxa* 66/6, *P. agglomerans* 5/8, *Burkholderia cepacia* 65/6, *P. alcaligenes* 27/1, *P. polymyxa* 24/3, *Pseudomonas* sp. 30/5 ve *B. choshinensis* 2/5 izolatları Muradiye 10 klonunda yaprak makro ve mikro element içeriği, gövde çapı, fidan yüksekliği, gövde gelişmesi ve yaprak verimi dahil gelişmeyi teşvik etmiştir.

Çakmakçı *et al.* (2013) doğal koşullar altında 18 tekli izolat ve her biri üç bakteriden oluşan 2 bakteri esaslı biyolojik gübrenin çay gelişme ve verimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre tarla ve saksı denemelerinde tekli ve kombine bakteri aşılamalarının Hayrat çay klonunda bitki gelişimi, yaprak makro ve mikro element içeriği, gövde çapı, bitki yüksekliği ve yaprak verimi değerlerini artırdığı belirlenmiştir. Bu araştırmada test edilen üçlü bakteri kombinasyonların tekli uygulamalara göre daha etkin olduğu ortaya konulmuştur.

Çakmakçı *et al.* (2014) tarafından katı ve sıvı 7 farklı taşıyıcı (çay atığı, torf, perlit, leonardit, zeolit ve vermikülit ve sıvı) ve her biri üç farklı bakteri kombinasyonundan oluşan 5 farklı biyolojik gübre olabilecek bakteri kombinasyonunun çay gelişme ve verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırmada formülasyonların etkisinin formülasyonlar, taşıyıcı ve test edilen bitki parametrelerine göre değişmekle birlikte, ele alınan formülasyonların çay bitkilerinde gövde çapı, yaş ve kuru yaprak verimi, yaprak alanı ve yaprak klorofil içeriğini artırdığı belirlenmiştir. Araştırmada test edilen etkin

formülasyonların kimyasal gübreyle eş değer olarak çay gelişme ve verimini artırabildiği ve organik çay tarımında kullanılabileceği vurgulanmıştır.

## 2.2. Çay Enzimleri İle İlgili Çalışmalar

Hücrelerde cereyan eden kimyasal tepkimelerin düzenli bir şekilde sürmesi hücrede bulunan enzimlerin yardımıyla olmakta, enzimlerin etkisi ile karmaşık durumdaki moleküller basit moleküllere parçalanmaktadır. Çay bitkisinin genç yaprak ve sürgünlerinde bulunan enzimler çaya işleme aşamasında, biyokimyasal dönüşümler oluşturarak, çaya karakteristik tat ve koku kazandırmaktadır. Değişik tip ve nitelikteki siyah çay üretimi genç çay yaprak ve tomurcuğunda bulunan enzimler sayesinde olur. Siyah çayın üretilmesinde özellikle yükseltgenme enzimleri görev yapar. Çay bitkisinin yaprak ve sürgünlerinde olduğu gibi kökünde de değişik enzimler bulunmaktadır (Roberts and Fernando 1975; Çalikoğlu ve Bayrak 2009).

Çayda bulunan polifenollerin havalı koşullarda yükseltgenmeleri, uygun enzimlerin bulunmaması durumlarında olağanüstü yavaş cereyan eder. Her ne kadar yükseltgenme işinde çok çeşitli enzimler rol oynar ise de; temelde prostatik grubu bakır olan yükseltgenme enzimleri görev yaparlar. Özel olarak değişik tip ve nitelikte üretilen siyah çay, farklı biçim ve zamanda uygulanan enzimatik yükseltgenmelerin bir ürünüdür. Çay bitkinin yaprak ve sürgünlerinde olduğu gibi kökünde de değişik enzimler bulunmaktadır. Kökte bulunan enzimler çoğunlukla çay bitkisinin beslenmesinde görev yaparlar. Roberts ve Fernando (1975) yaptıkları çalışma sonucunda çay bitkisi kökünde glutamil transferaz, amilaz, nitrat redüktaz ve glutamin sentetaz enzimlerinin bulunduğunu saptamışlardır.

**Polifenol oksidaz enzimi (PPO):** Çay yaprağında bulunan PPO enzimi siyah çaya işlenmede önemli görevi yapar. Bu enzimin aktivatör olarak bakır içerdiği bilinmektedir. Olgun çay yapraklarında PPO aktivitesi genç çay yapraklarına göre %70 daha azdır. Mevsimlere bağlı olarak değiştiği gibi siyah çaya işleme aşamalarında da önemli düzeylerde değişiklik göstermektedir. Siyah çaya işlemenin başlangıç

aşamalarında enzim sentezi nedeniyle aktivite yükselirken, fermentasyon esnasında polifenollerin oksidasyon ürünlerinin enzim proteinleri ile çözünemez bileşikleri oluşturması enzim aktivitesini azaltmaktadır. PPO enzim aktivitesi üzerinde değişik çay klonlarının, mevsim değişikliklerinin ve sürgün yaşının farklılık oluşturduğu bilinmektedir (Ravichandran and Parthiban 1998; Ertürk *et al.* 2010 c). PPO enzimi kloroplastlara bağlı olarak bulunmaktadır. Epidermal hücrelerde enzimin lokalize olduğunu saptanmıştır. Bu durum, enzimin patojenik etkenlere karşı koruyucu görev yapmasıyla bağlantılıdır.

**Peroksidaz Enzimi (POD):** Flavonellerin oksitlenmesinde görev yapar. Peroksidaz aktivitesi siyah çaya işleme esnasında artmaktadır (Conesa *et al.* 2002).

**5-Dehidroshikimat reduktaz enzimi (DHSK):** Genç sürgünlerde olgun çay yapraklarından daha fazladır. Polifenollerin biyosentezinde anahtar rol oynamaktadırlar.

**Alkol Dehidrogenaz (ADH) enzimi:** Bazı alkollerin oluşumu ve aromanın gelişimi ve çayın aroma oluşumunda görev yapan bir enzimdir. Yeşil çay yaprağında cis-3-hexenal ile trans-2-hexenalın dönüşümlerinde rol oynar (Sieso *et al.* 1976).

**Fenilalanin amonyak liyaz enzimi:** Enzim aktivitesinin, siyah çaya işlemeye uygun çay bitkisi çeşitlerinde yeşil çaya uygun olanlara oranla daha fazla olduğunu, genç çay yapraklarına oranla yaşlı yapraklarda aktivitenin azaldığını göstermiştir. Kateşin kapsamı ile aktivitesini olumlu yönde etkileyen fenilalanin amonyak liyaz enzimi, polifenollerin biyosentezinde de önemli görevler yapmaktadır (Sanderson 1972; Thomas *et al.* 2005; Kottur *et al.* 2010).

PPO enzimi, genç çay yapraklarında daha fazla olmak üzere, kloroplastlara bağlı olarak ve epidermal hücrelere lokalize olmakta, soldurma ve kıvrıma esnasında aktivitesi artmakta (Tiftik 2006), farklı çay klonları, mevsim değişiklikleri ve sürgün yaşına göre aktivitesi değişiklik gösterebilmekte (Ravichandran and Parthiban 1998; Ertürk vd 2010 a) ve siyah çaya işlenmede önemli görev yapmaktadır. Peroksidaz enziminin siyah çaya

işlemede aktivitesi artmakta, DHSK enzimi genç sürgünlerde daha fazla bulunmakta ve polifenollerin biyosentezinde anahtar rol oynamakta, PAL enziminin aktivitesi çay yaprağının çeşidi ve yaşına göre değişebilmekte, üreaz enzimi azot metabolizmasında rol almakta, peptitaz enzimi siyah çaya işlemenin soldurma aşamasında proteinlerin aminoasitlerine parçalanmasında görev yapmakta, ADH enzimi çayın aroma oluşumunda görev yapan, yeşil çay yaprağında cis-3-hexenal ile trans-2-hexenalın dönüşümlerinde rol oynamaktadır. Pektik maddelerin parçalanması ve demin olgunluk kazanmasında rol alan pektinaz ve terpenlerin biyosentezi ve bazı aminoasitlerin dönüşümü ile aroma oluşumunda görev yapan transaminaz enzimleri de çay için önemli olmaktadır (Çalikoğlu ve Bayrak 2009). Çay bitkisinin sürgün uçlarında bulunan ve çay yapraklarının soldurulması aşamasında proteinlerin aminoasitlere parçalanmasında görev yapan peptidaz aktivitesi ve çaya koku veren uçucu bileşiklerin biyosentezinde görev yapan leusin-a-ketoglutarat transaminaz gibi enzimlerde çay üretiminde önemli olmaktadır. Bu enzimlerin aktivitesinin bitki gelişmesini teşvik edici bakteriler tarafından değiştirilip değiştirilmeyeceği üzerinde çalışılmamış, önemli bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmaktadır.

Oksidatif pentoz fosfat yolu (OPPP) bitki metabolizması ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) ile birlikte OPPP ana düzenleyici enzimi olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) üzerinde önemli role sahiptir. G6PD ve 6PGD aktivitesi nitrojen asimilasyonu için indirgeyici güç sağlamaktadır (Turpin *et al.* 1997; Bowsher *et al.* 1989). OPPP'nin temel düzenleyici enzimi G6PD olmakta ve döngüdeki ilk reaksiyonu katalize etmekte (Esposito *et al.* 2001) ve nitrat redüksiyonu için NADPH sağlamaktadır (Savidov *et al.* 1998). Bu reaksiyon indirgeyici güç olarak azot asimilasyonu (Neuhaus and Emes 2000), oksidatif ve kuraklık stresi (Chen *et al.* 2004) ve patojen enfeksiyonunun dahil olduğu bir dizi süreçte rol oynamaktadır.

Çay PPO enzimi bakır içeren ve kateşinlerin teaflavine oksidasyonunu kataliz eden yüksek sıcaklık ve ekstrem pH düzeylerinde inaktive olabilen ve ticari uygulamaları kısıtlayabilen kararsız bir enzimdir (Gregory and Bendall 1966; Kertesz *et al.* 1972).

Sanderson (1966) çay bitkisinde 5-dehidroksişikimat redüktaz aktivitesi özellikleri ve dağılımını ele aldıkları araştırmada, spesifik enzim aktivitesinin aktif büyüyen sürgün uçlarında (üçüncü yaprak>gövde>ikinci yaprak>ilk yaprak>tomurcuk) olgun çay yapraklarından daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Araştırmacı toplam enzim aktivitesinin ise olgun yapraklarda daha fazla olduğunu vurgulamıştır.

Suzuki and Takahashi (1975) tarafından yapılan araştırmada; kafein sentezi ile sürgün oluşumu ve çay fidelerin gelişimi arasında çok iyi bir korelasyon olduğunu, çay bitkisinde kafein sentezinde metil (methylating systems) sisteminin, purin nükleotit ve nükleik asit metabolizmasıyla ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.

Alkol dehidrogenaze (ADH) amino asit ve lipitlerden kaynaklanan uçucu azot formları ve aldehitlerin dönüşümü yolu ile tat ve lezzet oluşumuna ve lezzet gelişimine önemli katkı yapan bir enzim olarak kabul edilmektedir (Sieso *et al.* 1976).

Sanderson and Coggon (1977); siyah çayın, çay bitkisinin hızlı gelişen gövdesinin uç kısmından üretildiğini ve çay üretiminde kullanılan gövdenin uç kısmındaki terminal tomurcuklar, ilk iki veya uç yaprağın sap kısımlarının siyah çay üretim prosesinde reaksiyona giren enzim ve diğer maddeleri içerdiğini ve siyah çay hazırlanmasında ki enzimatik katalizasyon reaksiyonlarının siyah çay için önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Margaret *et al.* (1981) çay yapraklarındaki doğal katalaz ve peroksidazin sulu çay yapraklarının fermantasyonunda etkili olduğunu, fermantasyon sürecinde çayda oluşan pigment içeriği ve dağılımının kısmen katekol oksidaz ve peroksidaz tarafından oluşturulduğunu ve bu sürecin oksijen ve katalaz aktivitesi tarafından etkilendiğini ortaya koymuşlardır.

Jain and Takeo (1984) tarafından çay üretiminde ve kalitesinde rol oynayan enzimlerin ele alındığı derlemede, siyah çay tat ve lezzetini oluşturan enzimler (PPO, POD, uçucu aldehit ve alkol üreten enzim sistemleri); çay kateşinlerinin sentezlenmesi ile ilgili

enzimler (PAL, shikimik asit sentez enzimleri); çay bitkisinde azot metabolizması ile ilgili enzimler (nitrat redüktaz, glutamat dehidrogenaz, glutamin-2-oksoglutarat aminotransferaz, transaminaz, L-alanin dekarboksilaz, theanine sentetaz, peptidaz, ribonükleaz, endonükleaz, adenozin nükleosidaz, metiltransferaz) ve diğer enzimler (malat dehidrogenaz, klorofilaz, asit fosfataz, süperoksit dismutaz, tirozinaz, askorbat oksidaz ve pektin metilesteraz) kapsamlı olarak tartışılmış ve önemi ortaya konulmuştur.

Antioksidan savunma sisteminde anahtar rol oynayan enzimler düşük sıcaklık, oksijen düzeyi, hava kirliliği, ağır metaller, yüksek ışık intensitesi, magnezyum noksanlığı ve kuraklık gibi çevresel stres koşullarına toleransla ilgilidir (Çakmak and Marschner 1992; Tanaka *et al.* 1994; Çakmak and Römheld 1997; Chen *et al.* 2004). Glutasyon redüktaz enzimi askorbat ve GSH'ın yeniden üretiminde rol oynamakta (Tanaka *et al.* 1994) ve enzimlerin oksidasyonunu önlemek suretiyle düşük ve yüksek sıcaklıklara karşı bitkileri korumaktadır (Mohan *et al.* 1990).

Ravichandran and Parthiban (1998), farklı kültür ve çay üretim süreçleri altında PPO ve PAL aktivitesi ile çay kalitesi arasında ilişkileri ele aldıkları araştırmada; enzim aktivitesi ile farklı çay kolonlarının, mevsimsel değişimi ve sürgün olgunluk düzeyi arasında geniş varyasyonlar olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, budama ve uç alma gibi kültürel uygulamaların enzim aktivitesi üzerine önemli etki yaptığını, soldurma sürecinde aktivite kaybının rehidrasyon tarafından onarılabildiğini ve enzim ilavesinin çay kalitesini belirli bir şekilde etkilediğini ve enzim aktivitesinin tadımcı puanlarıyla pozitif korelasyon gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Ruan *et al.* (1999); potasyum ve magnezyumun siyah çay, yeşil çay ve oolong çayı kalitesi üzerine etkisini ele aldıkları araştırmada, potasyum ve magnezyum gübresi uygulamalarının, farklı çay tiplerinde kafein ve serbest amino asit içeriğini artırdığını, aynı zamanda potasyum uygulamasının çay yapraklarında polifenol içeriğini artırdığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar genel olarak magnezyumun polifenol üzerinde belli bir düşüşe neden olduğu, ancak toprakta K ve Mg eksikliği durumunda



uygulanan her iki elementinde polifenol içeriğini artırdığını belirlenmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada siyah çay kalitesinin önemli bir bileşenleri olan teaofelavin ve tearubigin içeriğinin potasyum uygulaması ile arttığı ve özellikle oolong çayında K ve Mg uygulamalarının lezzet oluşumunda önemli rol oynadığı ortaya belirlenmiştir.

GR ve GST enzimleri stres koşullarına adaptasyonda önemli role sahiptir (Rios-Gonzales *et al.* 2002). Bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin antioksidan ve oksidatif pentoz fosfat yolu enzimleri üzerine etkileriyle birlikte farklı stres koşullarına dayanıklılığın bakteriler kullanılarak artırılıp artırılamayacağı araştırılmalıdır. Bitkisel gelişmeyi teşvik eden bakteriler kullanılarak enzim aktivitesinin de artırılabilmesi enzim aktivitesini teşvik eden bakterilerin çayda biyolojik gübre formüllerinde kullanılmasını gündeme getirecektir. Bu durum özellikle ekstrem koşullarda bitki gelişmesini ve tarım yapılabilmesini kolaylaştıracaktır. GST birçok çevresel stres koşullarında hücrelerin zarar görmesini engelleyen hayati öneme sahiptir (Ferrat *et al.* 2003).

Angayarkanni *et al.* (2002); farklı kaynaklardan (*Aspergillus spp.*, *Acinetobacter indicus*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niveus*) saflaştırılan pektinaz enziminin çay yapraklarının fermantasyonunun geliştirilmesi amacıyla kullanmışlardır. Pektinaz enziminin, theaflavin, thearubigin, polimerize maddeler, çözelti rengi, kuru madde oranı, üretilen çayın toplam ve çözülebilir katı madde içeriğine etkisinin ele alındığı bu çalışmada, saflaştırılmış enzim preparatlarının çay yaprağı fermantasyonunu geliştirmede etkili olduğu ortaya konulmuştur. Benzer olarak Winkel and Boesveld (2000) yeşil çay aroması üzerine biyopektinazın etki etliğini, çay tat ve aromasını olumlu etkilediğini ortaya koymuştur.

Jeyaramraja *et al.* (2003); su stresinin siyah çay kalitesi üzerine etkisini ele aldıkları çalışmada, PAL aktivitesinin stresin olmadığı koşullarda, kuraklığa toleranslı çeşitlerde yüksek olduğu ve su stresi ile birlikte azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, topraktaki nem noksanlığı ile birlikte PAL aktivitesinde azaldığı, düşük PAL aktivitesinin flavonol sentezini ve çay kalitesini etkilediği ve aşırı su ve düşük su stresinde gallik asit ve kafein sentezinin azaldığını, gallik asit azalmasının theaflavin

sentezini azalttığı ve kalitenin bozulmasına yol açtığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar sonuç olarak kuraklık ve aşırı su stresinin çay kalitesi için gerekli biyokimyasal bileşenleri değiştirebildiğini vurgulamışlardır. Ayrıca çay yaprak tipi ve siyah çay üretim sürecinde PPO ve PAL enzim aktivitesinin değişmesinin çay kalitesini etkileyebildiğine işaret edilmiştir.

Magoma *et al.* (2003); 24 farklı çay tipinde NADP bağlı -6-fosfat dehidrogenaz, 6-fosfoglukonat dehidrogenaz ve şikimet (shikimate) dehidrogenaz gibi enzimleri belirleme amacıyla yürüttükleri araştırmada, araştırmacılar çayın kalitesi ve farmakolojik aromatik amino asitlerde oldu gibi kateşin öncülleri üretmişler, sonuçta çay kalitesinin geliştirilmesi için ıslah stratejilerinin önemini vurgulamışlardır.

Bonnely *et al.* (2003) tarafından siyah çay üretiminde yeni bir oksidasyon sistemi geliştirmek ve optimize etmek amacıyla yürütülen araştırmalarda, geliştirilen model sisteminde PPO ve POD aktivitesinin değiştirilebildiğini ortaya koymuşlardır.

Baruah *et al.* (2003) tarafından yürütülen araştırmalarda genetiği değiştirilmiş 8 kültür çeşidinde 4 farklı yetiştirme mevsimi süresince, PPO, POD ve proteaz aktivitesi ile flavan-3-ols miktarını ele almışlardır. Araştırmada sıcaklık, nem ve pH düzeyinin PPO-katalizinde istenen teafavin pigmentlerini en yüksek düzeye çıkarmış oysa POD aracılında meydana gelen kimyasal reaksiyonun ise mat renk ürettiği vurgulanmıştır.

Liang *et al.* (2003); çayın kimyasal kompozisyonu, çay infzyonunda farklı renk oluşumu ile duyuşal özelliklerdeki ilişkiyi ele aldıkları araştırmada kafein içeriği, nitrojen, amino asitler, polifenoller, galolokasin (GC), epigalolokasin (EGC), katesin (C), epikatesin (EC), epikatesin gallat (ECG), katesin gallat (CG), total katesinler (TF), nitrojen, teafavin ve teafilavin 30 gallat (TF30G) ve renk göstergelerinin (L, a, b ve E) toplam kalite üzerine korelasyon gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Wheeler and Wheeler (2004); çayın tıbbi etkilerinin 5000 yıllık bir süreçte bilindiğini vurguladığı makalede, son yıllarda çay araştırmalarının sağlık üzerine olumlu etkileri

nedeni ile flavonoidler üzerinde yoğunlaştığını, bununla birlikte bunların emilim, metabolizma ve potansiyel toksisitesi ile ilgili bileşikler ve aksiyon mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması gerektiğine işaret etmişlerdir.

Glutasyon S-transferaz enzimi (GST) antioksidan savunma sisteminde ve enzim katalizasyonunda önemli rol oynamaktadır (Taulavuori *et al.* 2004). GST bitkilerin düşük sıcaklık, ağır metal ve oksidatif strese korunmasında rol oynamaktadır (Anderson and Davis 2004; Ali *et al.* 2005). Antioksidan enzimlerinden Glutasyon redüktaz (GR) NADPH- bağlı oksidize glutasyonun indirgenmiş glutatyona (GSH) katalize eden bir flavoproteindir (Medici *et al.* 2004).

Thomas *et al.* (2005) yürüttükleri araştırmada, çay kateşin biyosentezinin öncüsü ve çay kalitesinin belirlenmesinde önemli role sahip olan fenilalanin amonyak liyaz (PAL) enziminin, budamadan sonraki ilk 3 yılda arttığını ve daha sonra hızla azaldığını ortaya koymuşlardır.

Kanazawa *et al.* (2005); çay tarlalarında aşırı azot uygulaması ile asiditenin arttığını, asidik koşullarda mantar sayısı ile enzim aktivitesi değişimi arasında yakın bir ilişki olduğunu ve mantar sayısının asidik çay topraklarında karbon, azot ve fosfor metabolizması üzerine etki ettiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar mantar sayısı ve enzim aktivitesinin gübreleme uygulamalarına bağlı olarak organik madde içeriği ve alınabilir fosforla birlikte azaldığını öne sürmüşlerdir.

Xue *et al.* (2006); çaylıklarda mineralizasyon nitrifikasyon enzim aktivitesi ve mikrobiyal çeşitliliği ele aldığı araştırmada, ure uygulamalarının nitrifikasyon oranını önemli ölçüde etkilediğini ve azot uygulamalarının çay topraklarında yüksek nitrifikasyona yol açan önemli bir faktör olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, gübreleme, kök artıkları ve yaprak artıklarının çaylık ekosisteminde mikrobiyal topluluk üzerinde olumlu ve ya olumsuz etkilerinin olabileceğini, organik maddeyi artırarak mikrobiyal biyoması artırdığını, ancak toprak pH düzeyi ve alüminyum toksisitesinin artırması dolayısı ile 50-90 yıllık çaylıklarda mikrobiyal biyomas ve aktivite azalmasına

yol açabileceğine vurgu yapmıştır. Ayrıca bu araştırmada 8-50 yıllık çaylıklarda mikrobiyal aktivite ve çeşitliğin arttığını ancak 50 ile 90 yıllık çaylıklarda azalma gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Venkatesan *et al.* (2006); uzun süre çaylık olarak tesis edilen tarlalardaki topraklarda yetişen çay bitkilerinde gözlenen üreaz aktivitesinin orman çevresi topraklarından daha yüksek olduğunu, ancak asit fosfataz aktivitesinin elverişli toprak fosforu ile herhangi bir ilişkisi olmadığını ve enzim aktivitelerinin genellikle toprak organik madde içeriği ile pozitif ilişki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Gezgin *et al.* (2006), çayda mineral içeriğini ve enzim sistemlerinin önemli bir araştırma alanı olduğuna işaret etmişlerdir. Bakterilerle yürütülen araştırmalarda, PGPR aşılması ile çay yapraklarının makro ve mikro element içeriği artmış ve enzim aktivitesi değiştirilebilmiştir.

Sariri *et al.* (2006) geleneksel metotlarla çay işleme sürecinde yapraklardaki peroksidaz ve polifenol oksidaz miktarının azaldığı ve doğal selülozik enzimlerin üretilen siyah çay kalitesini etkilediğini, ayrıca İran çaylarında kısmen saflaştırılan enzim ekstralarının çay renk, toplam çözülebilir kuru madde miktarı ve kafein bakımından çay kalitesini artırmada etkili olabildiğini ortaya koymuşlardır.

Chakraborty *et al.* (2006) çay rizosferinden izole edilen *B. megaterium* TRS-4 izolatının çayda bitki gelişmesini teşvik etme ve hastalıkların önlenmesine etkisini ele aldıkları araştırmada, bu izolatın çayda büyümeyi önemli düzeyde teşvik ettiği ve bakterinin toprağa uygulanmasının ile *F. lamarosensis* etmeninin yol açtığı kahverengi kök çürüklüğü hastalığını belirgin şekilde azalttığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, *B. megaterium* uygulamasından sonra zararlı popülasyonun azaldığını ve *B. megaterium* izolatının köklere kolonize olması ve sonra *F. lamarosensis* inokulasyonu sonucunda polifenollerin ve savunma sistemi ile ilgili peroksidaz, kitinaz, beta-1,3-glukanaz ve PAL enzimlerinin arttığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, bakterinin etki mekanizmalarının fosfat çözebilme, IAA, siderofor ve antifungal metabolit üretimi

olduğunu, ayrıca bitki büyümesinin teşvik edilmesi ve hastalık şiddetinin azaltılmasının da önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Jain and Takeo (2007); enzimlerin izolasyon metotları, özellikleri ve çay endüstrisinde yaygın olarak kullanılan kimyasallarla interaksiyonlarını ele aldıkları çalışmada, çay işleminde enzimlerin çok önemli rol oynadığını, enzimlerin genellikle 4 grup altında sınıflandırıldığını ve çay kalitesiyle ilgili olarak her bir enzimin spesifik role sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Farklı kaynaklardan izole edilen PGPR buğday ve ıspanak kök ve gövde ağırlığı, yaprak alanı ve yaprak antioksidan ve OPP yolu enzim aktivitesini artırmıştır (Çakmakçı *et al.* 2007 a, 2009 c).

Primo *et al.* (2007); karbondioksit uygulamasının çay yapraklarında peroksidaz ve polifenoloksidaz aktivitesini artırdığını; Owuor and Obanda (2007) ise çay yaprak tipi ve siyah çay islenmesi ile değişen enzim aktivitesinin (PPO, PAL) siyah çay kalitesini etkilediği vurgulamışlardır.

Balentine and Staff (2007) çayın, *Camellia sinensis* yapraklarından üretilen dünya çapında önemli bir ürün olduğunu ve çayın içerdiği polyphenol ve uçucu bileşiklerin çay renk ve aromasını oluşturduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar yeşil ve ya siyah çayın üretimi, enzimolojisi, bileşimi ve teknolojisini ele aldıkları çalışmada antioksidan kaynağı olarak çay polifenollerinin fizyolojik etkileri ve kronik hastalık riskini azaltıcı rolleri olduğunu vurgulamışlardır.

Ruan *et al.* (2007) çay bitkisinin asidik koşullara toleranslı ve amonyum beslenmesini tercih ettiğini, nitrat azotu ile büyüyen çaylarda beslenmesi durumunda glutamin sentetaz aktivitesinin önemli ölçüde azalttığını, köklerde toplam azot, serbest amino asitler ve glikoz içeriğinin düşük olduğunu, fakat amonyumla beslenen bitkilerden daha yüksek oranda katyon ve karboksilat içerdiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar toplam azot, amino asit, şeker ve GS aktivitesinin toprak pH'sı tarafından etkilenmediğini, oysa

kateşin ve karboksilatların kök bölgesindeki pH artışıyla birlikte arttığını ortaya koymuşlardır. Çay bitkilerinin amonyumca zengin ortamlarda köklerin yüksek amonyum asimilasyonu ve yüksek  $\text{NH}_4^+$  kapasitesi gösterdiği ve anahtar enzimlerin aktivitesini ve karbonhidrat içeriğini önemli düzeyde artırdığını belirleyen araştırmacılar; nitrat beslenmesi durumunda yetersiz N alımından ötürü bitki gelişmesinin zayıf olduğu ve N alımının azalması ile birlikte uygunsuz pH koşullarının gelişmeyi olumsuz etkilediğini vurgulamışlardır.

Shin *et al.* (2008) glüköz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enziminin obezite ve diyabet gibi metabolik bozuklukların etkin bir tedavi edicisi olduğuna işaret etmişlerdir.

Çay işlenmesinin, soldurma, kıvrırma, fermantasyon ve kurutma aşamalarından oluştuğunu vurgulayan Çalıköğlü ve Bayrak (2009), çay işlenmesinde aroma oluşumu, bitki, coğrafi bölge, iklim ve üretim koşullarına bağlı olarak değiştiğini, çay işlenmesinde uygulanan soldurma ve fermantasyonun, ürün fiyatını belirleyen önemli bir kalite kriteri olan aroma maddelerinin oluşumunun etkilediği bildirmişlerdir.

Bokuchavaa *et al.* (2009); çay özerine yürüttükleri derlemede, üretilmiş çayların kimyasal analizleri ve tadının değerlendirilmesi gibi üretim teknolojisi, ham ve mamul çay kimyasını ele almışlardır. Derlemede çayların faydalı özellikleri, işlenmiş ve doğrudan bitki kısmı olarak kullanılan çayların özellikleri dikkate alınarak siyah çay, yeşil çay, sarı çay, kırmızı çay, yeşil preslenmiş çay ve çay boyaları tartışılmıştır. Araştırmacılar çay kalitesini değerlendirmeden tadım ve kimyasal analizlerde olduğu gibi mamul ve yarı mamul çayların kimyasal içeriğini tartışmışlardır. Araştırmacılar çay kalitesinin belirlenmesindeki oksidatif süreçte enzimlerin önemli rol oynadığını, ayrıca çay lezzet oluşumunda termokimyasal süreçlerin katkı sağladığını; çay tat ve aroması için özellikle tanen ve kateşin, uçucu yağlar, azotlu bileşikler ve diğer bazı maddelerin etkin olduğunu vurgulamışlardır.

Eungwanichayapant and Popleuchai (2009), çayda yüksek miktarda bulunan bir polifenol grubu olan kateşinlerin sağlık için faydalı olduğuna dikkat çekmiş ve çay

sürgün ve olgun yapraklar üzerinde yürüttükleri araştırmada, kateşin miktarının sürgünlerde olgun yapraklardan daha fazla bulunduğunu, kateşin gallatın ise sürgün ve olgun yapraklarda çok az miktarda bulunduğunu belirlemişlerdir.

Singh *et al.* (2009) tarafından yürütölen araştırmalarda, PAL enziminin bir çok önemli sekonder metabolitin biyosentezinde önemli olduğu; kateşin içeriğinin, kuraklık, absisik asit ve giberalik asit uygulamaları ile azaldığı fakat yaralama ile artığı ve çayda katesin biyosentezinin bu enzimlerin ürünleri ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur.

Cellat vd (2010); yeşil çay ekstraktının elektromanyetik oksidatif stres hasarın etkisini ele aldıkları araştırmada, elektromanyetik radyasyonun böbrek dokusunda oksidatif strese neden olduğu ve antioksidan kaynağı olan yeşil çay ekstraktının oksidatif stresi azalttığını belirlenmişlerdir.

Deng and Ashihara (2010); çay yaprak ve köklerinde purin nükleotidlerin ve ilgili birleşenlerinin metabolik profillerini belirlemek için çay fidelerinde yürüttükleri çalışmada çay yaprak ekstraktlarında anahtar enzimlerin aktivitesini test etmişlerdir. Araştırmacılar purin öncülerinin alım oranının yaprak seğmetlerinde daha fazla olduğunu, adenin ve adenozinin diğer purin bazları ve nükleotidlerden daha fazla alındığını belirlenmişlerdir. Araştırmacılar bazı adenozin, guanozin ve inozinin, adenozin kinaz ve inozin/guanozin kinaz tarafından nükleotidlere dönüştüröldüğünü, bu bileşiklerin kolayca hidrolize olduğunu ve adenin, guanin ve hipoksantin oluşturduğunu vurgulamışlardır.

Liu *et al.* (2010); polifenol oksidazın meyve ve sebzelerde hasat sonrası kayıplara neden olduğu ve çayda kalitenin gelişmesinde anahtar bir faktör olarak rol aldığı vurgulanmıştır.

Ölmez and Yılmaz (2010); taze çay yapraklarının soldurulması amacıyla düşük sıcaklıkta (4°C ve %90 nemde) depolaması sonucunda PPO ve polifenolik içeriğinin değişimini ele aldıkları araştırmada; düşük sıcaklıkta depolamanın, geleneksel soldurmaya kıyasla, toplam polifenolik içeriğini değiştirmediğini oysa PPO aktivitesi

kaybının düşük sıcaklıkta depolanan yapraklarda daha az olduğunu belirlenmişlerdir. Araştırmacılar geleneksel soldurma ile düşük sıcaklıkta depolama arasında kalite bakımından önemli bir fark olmadığını, taze çay yapraklarının isleninceye kadar 4 derece ve %90 nem koşullarında saklanması uygun olabileceğini vurgulamışlardır.

Kottur *et al.* (2010); çay kalitesinin çeşit ve iklim koşullarına bağlı olduğunu bitki ve iklim faktörlerinin çayın kimyasal içeriğinde önemli değişiklikler meydana getirdiğini vurguladığı araştırmada, PAL aktivitesinin çeşitlere bağlı olarak değiştiğini, çay kalitesi ile kateşin ve PAL aktivitesinin pozitif korelasyon gösterdiğini ve en önemli kalite parametreleri olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, siyah çay kalitesinin kateşin formları arasındaki farklılıklar ve ilişkili oldukları enzimler tarafından etkilendiğini, gallated, dihydroxylated, trihydroxylated kateşinleri ve kateşin indeksinin yaz döneminde hasat edilen sürgünlerde yüksek olduğunu ve kateşin formlarının çeşitlere göre değiştiğini ve farklı kateşin formları içeriğinin çayda çok önemli bir kalite parametresi olduğunu ifade etmişlerdir.

Ruan *et al.* (2010); yeşil çay kalitesinin önemli belirleyicisi olan serbest amino asit konsantrasyonu ve polifenoların azot ve karbon tarafından etkileşimli olarak oluşturulduğu ve C/N oranının çay kalitesinde önemli olduğunu vurguladıkları araştırmada, glutamin sentez, PAL, fosfoenolpirovat karboksilaz aktivitesi ile birlikte aminoasit, polifenol ve çözünebilir seker miktarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar amino asit konsantrasyonunun artan azot alımı ile birlikte arttığı, yüksek azot içeriğinin genç sürgünlerdeki polifonilerin içeriğini önemli ölçüde azalttığı ve düşük karbonhidrat içeriğine yol açtığını vurgulamıştır. Bu çalışmada, amino asit ve polifenol birikiminin azot durumuna bağlı olduğu, yeterli azot sağlanması durumunda sekonder metabolitlerdeki karbon içeriği değişmezken, aminoasit sentezinin gelişmenin artması ile arttığı belirlenmiştir.

Li *et al.* (2011); alüminyumun çay yaprakların antioksidan savunma sistemi üzerine etkisini ele aldığı araştırmada, hidrojen peroksit ve süperoksit dismutaz içeriğinin 0-0,32 mM Al konsantrasyonlarında değişmezken, 0,53 mM Al konsantrasyonda arttığı ve



glutasyon redüktazın artan Al dozlarına bağı olarak değiştiğini belirlemiştir. Araştırıcılar dōřtük Al konsantrasyonlarının antioksidan savunma sistemini temizlediği ve hücrelerini serbest radikal hasarından koruyabildiğini vurgulamışlardır.

Wei *et al.* (2011); 10 farklı lokasyonda 3 çeşitile yürürlükleri çayda kateşin iğeriği ve klorofil miktarının değişimini ele aldıkları araştırmada, lokasyonlar arasındaki kateşin iğeriği varyasyonunun, çeşitler arasındaki varyasyondan daha yüksek olduğunu belirlenmişlerdir. Korelasyon analizinde kateşin iğeriğinin iklim faktörleri ve klorofil iğeriği ile önemli korelasyon gösterdiği, klorofil iğeriğinin ise başta günlük düşük sıcaklık olmak üzere iklim faktörlerinden önemli derecede etkilendiği sonucuna varan araştırıcılar, klorofil iğeriğinin kateşinler üzerinde önemli rol oynadığını ortaya koymuşlardır.

Chandini *et al.* (2011); polifenollerin çay kalitesini dengelemesinde önemli rol oynadığını; Çakmakçı vd (2011 b, c) ise bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin çay yaprak verimini, besin elementi iğeriği ve enzim aktivitesini artırabileceği, stres koşullarında gelişmeyi olumlu etkileyebileceği, ayrıca bakteriler kullanılarak çay yaprak enzim aktivitesinin değiştirilebileceği ve yaprak makro ve mikro element iğeriğinin artırılabilceği ortaya koymuşlardır.

Sharma *et al.* (2011); kuraklık stresi altında çayda kateşin, 2-phenylethanol ve prephenate dehidratase (PDT) iğeriğinin arttığını ve mevsimsel olarak değişiklik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Cao *et al.* (2011); aynı tarlada sürekli çay yetiştiriciliğinin yapılması durumunda çay kök ve yapraklarındaki SOD, POD, CAT ve MDA iğeriği ve kimyasal kompozisyonunu ele aldıkları araştırmada, ototoksinlerin antioksidan aktivitesi üzerine engelleyici ve teşvik edici etki gösterdiği, teşvik etme etkisi düşük konsantrasyonlarda zamanla artmış, fakat engelleyici etkinin ilerleyen yıllarda giderek atığını belirlemişlerdir. Araştırıcılar antioksidan enzim aktivitesinin başlangıçta arttığı daha sonra azaldığı ve farklı uygulamalarla doruk noktasına ulaştığını ve ototoksinlerin klorofil karotenoid iğeriğini

azalttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak, SOD, CAT ve POD içeriğinin ototoksinlere bağlı olarak değiştiğini ve bunların zamanla konsantrasyon ve reaksiyonlarının, klorofil içeriğinin azalması gibi çeşitli fizyolojik süreçler tarafından etkilendiğini, çay fidanlarının köklerinde lipit peroksidasyonu sonucunda antioksidan savunma sisteminin enzimleri üzerinde ototoksinlerin olumsuz etkileri nedeni ile, çay verim ve kalitesinde ototoksinlerin çok önemli olduğunu ortaya koymuşlardır.

Zhang *et al.* (2012); çay bitkisinde flavan-3-ols sentezinde önemli bir enzim olan antosiyanidin redüktaz aktivitesinin tayini için yürüttükleri araştırmada, ince tabaka kromatografisi (TLC) yüksek performanslı sıvı performans kromatografisi (HPLC) ve kütle spektrometre (MS) analizlerinde, çayda bir koenzim olan indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat kullanılarak, antosiyanidin redüktaz yoluyla siyanidin ve delfinidin sırasıyla epikateşin ve epigallokateşine dönüştürdüğünü belirlemişlerdir.

Deng *et al.* (2012) tarafından çay bitkilerinde tuz uygulamasının tanin sentetaz düzeyi üzerine etkisinin ele alındığı bir araştırmada; tanen düzeyi ve toplam serbest amino asitlerin çay sürgünlerinde yavaş yavaş arttığını ve uygulamalardan 8 gün sonra en yüksek düzeye ulaştığı ortaya konulmuştur. Araştırmacılar, tuz uygulamalarının kök ve gövdede tanin değişmesine neden olduğunu ve sonuç olarak tanin sentezinin kök ve sürgünlerde tuz tarafından pozitif etkilendiğini belirlenmişlerdir.

Wei *et al.* (2012) klorofil içeriği ile kateşin ve purin alkaloidler arasındaki ilişkiyi ele aldıkları çalışmada; klorofil içeriğinin kateşin biyosentezinde önemli rol oynadığını, purin alkaloidlerin ise klorofil biyosentezinden ziyade genetik faktörler tarafından etkilendiğini, kateşin, epigallokateşin, epigallokateşin gallat miktarı ile klorofil içeriği arasında negatif önemli ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.

Srividhya *et al.* (2012) tarafından yürütülen araştırmada; siyah çay ve yeşil çayda indirgen şekerler, toplam polifenol, kateşin, kafein, theaflavin, thearubigin, PPO ve POD aktivitesi ölçülmüş ve karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar; toplam kateşin, toplam polifenol, indirgen şekerler ve theaflavin miktarının yeşil çayda, oysa kafein ve

thearubigin içeriğinin ise siyah çayda daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. PPO, POD ve SOD aktivitesinin yeşil çaylarda yüksek olduğunu belirleyen araştırmacılar. önemli biyokimyasal parametreler ve enzim aktivitesi bakımından yeşil çayın siyah çaya kıyasla daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Araştırma Materyali**

##### **3.1.1. Yararlanılan cihazlar**

Çalışma esnasında aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır;

Biolog mikroplate okuyucusu (Biolog, U.S.A., SN E11175)

Biolog turbidity (Biolog, U.S.A., SN 02071102)

Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)

Çalkalayıcı (Thermoshake, Gerhard, GERMANY, SN 4002319)

Derin dondurucu (Nuair, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK)

Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42-90908239)

Hematoloji çalkalayıcısı (GERMANY, GEL-3025, SN 10365703 F)

İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE, ES 500, SN 03-0591)

Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK-418, SN 05-1083)

Mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE)

Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A., M51, SN 03017581)

Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)

Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)

pH metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)

Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)

Steril kabin (LABCAIRE)

Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303–3051)

Su banyosu (Nüve, TÜRKİYE, ST–402, SN 02–0138)

Spektrofotometre (Beckman Coulter DU<sup>®</sup>730 Life Science UV/VIS)

Santrifüj (Hettich Zentrifugen)

Dijital kumpas çap ölçümü (Herdened)

Klorofil ölçümü (chlorophyll meter, SPAD-502, Minolta, Japan)

Antosiyanin ölçümü (ACM-200 plus Anthocyanin Content Meter)

### 3.1.2. Araştırmada kullanılan besi yerleri ve çözeltiler

**Nutrient agar besiyeri:** 20 gr Nutrient Agar (Merck) 1 L dH<sub>2</sub>O içinde çözülmüş pH 7,0'a ayarlanarak 121°C'de 15 dk steril edilerek ve 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987).

**Azotsuz (N-Free) besiyeri:** Hassas terazide 10 gr sukroz, 5 gr L-malik asit, 0,1 gr K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,4 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,2 gr MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,01 gr FeCl<sub>3</sub>, 0,1 gr NaCl, 0,02 gr CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,02 gr Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O ve 12 gr agar tartılarak 1 L dH<sub>2</sub>O içinde çözülmüştür. pH 7,0-7,2'ye ayarlanarak 121°C'de 15 dk steril edilerek ve 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Han *et al.* 2005).

**NBRIP-BPB besiyeri:** Hassas terazide 10 g glukoz, 5 g Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 5g MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 0,25 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,2 g KCl, 0,1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 0,025 g BPB (Brom Phenol Blue) 1 L dH<sub>2</sub>O içinde çözülerek pH 7,0'a ayarlandıktan sonra besi yeri tüplere aktarılmış ve 121°C'de 15 dk steril edilmiştir (Karagöz 2009; Metha and Nautiyal 2001).

**%30 'luk Gliserol:** 30 ml gliserol 70 ml sdH<sub>2</sub>O'ya ilave edilerek hazırlanan karışım otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir.

**Hücre Parçalama (Saponification) Çözeltisi:** 150 ml sdH<sub>2</sub>O ve 150 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, sonra katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade)'den hassas terazide 45 g tartılarak çözeltiliye ilave edilmiştir. Çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Miller and Berger 1985).

**Metilleştirme (Methylation) Çözeltisi:** 275 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 325 ml hidroklorik asit (6 N) 1 L'lik renkli çözelti şişesi içerisine ilave edilmiş, iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır (Miller and Berger 1985).

**Saflaştırma (Extraction) Çözeltisi:** 200 ml metil-tert-butil-eter (HPLC Grade) 200 ml hexan (HPLC Grade) üzerine ilave edilerek 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, hazırlanan çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Miller and Berger 1985).

**Bazik Yıkama (Base Wash) Çözeltisi:** Hassas terazide katı formdaki sodyum hidroksitden (ACS Grade) 10,8 g tartılarak 900 ml sdH<sub>2</sub>O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmış, karışım 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır (Miller and Berger 1985).

### 3.1.3. Araştırma yerinin tanımı ve özellikleri

Bu araştırmanın bakteri izolasyonu bölümü; 2012 ve 2013 yıllarında Hazar Denizi'nin Güney kıyılarında (Kuzey İran) yetiştirilen çay (*Camellia sinensis* L.) alanlarındaki çay rizosfer topraklarından alınan örneklerde yürütülmüştür. Toprak örnekleri özellikle Hazar Denizi güney kıyıları ve Alborz eteklerinde Gilan Eyaleti ve İran'ın en önemli çay üretim alanı olarak kabul edilen (Khormali *et al.* 2007) Lahijan Bölgesi'nden alınmıştır. Çay yetiştiriciliğinin yoğun olduğu araştırma alanı, kışları yağışlı, yazları ise nispeten sıcak ve ılıman tipik Hazar iklimine sahiptir. Hazar denizinin güney kıyılarına paralel uzanan Alborz dağları birçok izole vadi ve farklı mikrokimatik koşullara sahiptir.

Bölge ortalama sıcaklığı yazın 25°C, kışın ise 8°C civarında olup ılıman, subtropikal iklime sahiptir (Anonymous 2014). Yıllık yağış miktarı 1300 mm üzerinde olan bölgede ortalama nispi nem %75-80 civarındadır. Araştırma alanı Hazar kıyılarının ılıman nemli ikliminden dağlık bölgelerin ılıman ve soğuk iklimine kadar çok çeşitli iklim özelliklerine sahiptir. Bölgenin toprak özelliklerini, mikrobiyal popülasyonunu ve verimliliğini etkileyen ana faktör çoğunlukla monokültür olarak sürdürülen çay yetiştiriciliğidir. Asidik toprakların oluşturduğu bu özgün ve mükemmel ekosistemde yoğun olarak ve monokültür olarak yetiştirilen çaylıklarda rizosferik bakteri izolasyonu ile ilgili araştırma yapılmaması nedeniyle izolasyon bu bölgede gerçekleştirilmiştir. Bakteri izolasyonu, bölgede farklı toprak tiplerinin oluşumuna yol açan vadi, topoğrafya, mikroklima alanları, farklı asidik toprak tipleri, hidrolojik koşullar, vejetasyon zonları ve iklim özellikleri dikkate alınarak, çay yetiştirilme alanlarını temsil edebilecek şekilde seçilen 4 farklı lokasyondan alınan 167 toprak örneğinde yürütülmüştür. İzolasyonda toprak örneklemede bazı durumlarda aynı lokasyon ve aynı popülasyondan alınan numuneler karıştırılarak örnekler hazırlanmıştır. Sonuçta toplam olarak örnek alınan bitki popülasyonu sayısı 220 civarında olmuştur.

Araştırmanın bakteri izolasyonu ılıman Hazar Denizinin Güney kıyılarındaki (Iran) çaylıkların asidik topraklarında, saksı ve tarla denemeleri ise; yüksek yağışlı ılıman Rize (Türkiye) bölgesinde yürütülmüştür. Bu araştırma kapsamında; ilk üç saksı denemesi (Deneme Set I, II ve III) Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Hayrat Deneme İstasyonu'nda kurulmuştur (41° 01' 57" N, 40° 29' 86" E, denizden yükseklik 140 m). Araştırmanın ikinci yılında önceki dönemde kurulan denemelerde etkin olan bu araştırma kapsamında yeni izole edilmiş bazı izolatlardan hazırlanan biyolojik gübre formülasyonlarının denendiği saksı denemesi (Deneme Set IV) Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsünde kurulmuştur. Araştırma kapsamında kurulan tarla denemesi (Deneme Set V) Rize ili Pazar ilçesinde Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü kontrolünde demonstrasyon amacıyla kurulan ve bakımı yapılan çaylıkta tarla koşullarında kurulmuştur. Rize iline ait tarla ve saksı denemelerinin yürütüldüğü 2013-2014 yılları ve uzun yıllık ortalamalara göre bazı

iklim verileri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Deneme alanından görseller Şekil 3.1 ve 2’de verilmiştir.



**Şekil 3.1.** Doğal koşullarda yürütülen saksı denemelerinde deneme set I, II ve III’den dikim sonrası görünüm



**Şekil 3.2.** Doğal koşullarda yürütülen tarla denemelerinde deneme set V’den görünüm



Rize bölgesinde yaz mevsimi ılık, sonbahar ve kış mevsimleri ise yağışlı geçer. Her mevsimi bol yağmurlu bir iklim hüküm sürer. Son 13 yıllık gözlem sonuçlarına göre ortalama sıcaklık  $14,94^{\circ}\text{C}$  olup araştırmanın yürütüldüğü 2013 ( $15,08^{\circ}\text{C}$ ) ve 2014 ( $15,87^{\circ}\text{C}$ ) yılları ortalama sıcaklıklar uzun yıllar ortalamasından daha yüksek olmuştur. Uzun yıllar ortalamalarına göre ortalama yıllık yağış miktarı 2376 mm'dir. Araştırmanın yürütüldüğü 2013 ve 2014 yıllarında ise yıllık yağış 1919,7 ve 2201,6 mm olmuştur ve uzun yıllar ortalamasından daha düşüktür. Bölgede yıllık ortalama nispi nem %76,33 olup araştırmanın yürütüldüğü yıllarda ortalama nispi nem uzun yıllar ortalamasından düşük olmuştur. Çalışmanın yapıldığı 2013 ve 2014 yıllarında ortalama 5 cm toprak sıcaklığı  $16,50$  ve  $16,78^{\circ}\text{C}$ , ortalama 10 cm toprak sıcaklığı  $16,31$  ve  $16,32^{\circ}\text{C}$ , yıllık toplam güneşlenme şiddeti ise 102,866 ve 101,377  $\text{cal}/\text{cm}^2$  olmuştur. Uzun yıllar ortalamalarına göre yörede toplam güneşlenme şiddeti 92,531  $\text{cal}/\text{cm}^2$  olarak hesaplanmıştır. Araştırmanın yapıldığı yıllarda uzun yıllar ortalamalarına kıyasla genellikle yağış ve nispi nem değerleri düşük, sıcaklık ve güneşlenme şiddeti ise daha yüksek olmuştur (Çizelge 3.1). Bölge, deniz iklimimin karakteristik özelliğini taşır.

**Çizelge 3.1.** Araştırmanın yürütüldüğü yıllar ile uzun yıllar (2000-2012) ortalamalarına ait bazı iklim verileri

İklim Faktörleri*	Yıllar	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Toplam/ortalama
<b>Ortalama hava sıcaklığı (°C)</b>	2000-2012	6,81	6,69	8,40	11,67	16,57	21,19	24,32	24,59	21,22	17,09	12,09	8,67	14,94
	2013	8	8,9	10	12,5	19,4	22	23,1	24,3	19,7	14,5	12,7	5,8	15,08
	2014	8,7	8,5	9,9	13	18	21,9	24,6	25,7	21,5	16,9	13,5	8,2	15,87
<b>En yüksek sıcaklık(°C)</b>	2013	21,1	20,3	28,8	27,5	33,2	30,4	29,0	30,6	32,5	29,8	21,9	17,0	26,84
	2014	23,0	21,8	23,6	26,3	28,1	30,8	34,1	31,8	31,2	25,7	22,6	18,5	26,45
<b>En düşük sıcaklık (°C)</b>	2013	-0,4	1,6	-1,3	5,6	12,0	15,0	16,2	16,9	12,0	8,1	5,4	-2,2	7,41
	2014	2,3	0,5	0,1	1,7	11,3	14,3	19,0	19,8	12,4	7,8	4,9	-1,2	7,74
<b>Toplam yağış (mm)</b>	2000-2012	214,12	186,26	160,91	101,15	90,28	152,32	158,26	200,88	279,83	325,70	263,85	242,43	2376,0
	2013	211,8	116,4	201	44,3	17	73	167,6	57,5	386	241,5	160,1	243,5	1919,7
	2014	101,3	104,6	134,5	47,4	78,8	131,9	116,2	289	446,5	132,3	360,2	258,9	2201,6
<b>Ortalama nispi nem (%)</b>	2000-2012	74,36	74,22	74,68	77,66	77,06	74,63	75,31	77,37	78,32	79,48	77,25	75,65	76,33
	2013	70,7	72,6	70	73,9	71,8	68,1	69,4	67,2	72	75,9	77,6	74,2	71,95
	2014	72,5	71,8	74	73,1	72,9	68	71,3	71,9	74,8	76,8	VY	VY	VY
<b>Ortalama toprak sıcaklığı 5 cm (°C)</b>	2000-2012	5,98	6,96	10,42	14,38	19,79	24,43	26,98	26,88	23,46	18,58	12,38	7,7	16,50
	2013	7,1	9,8	11,2	15,3	22,1	25,7	26,1	27,1	22,8	16,3	13,7	4,2	16,78
	2014	6,7	8,9	12,4	16,1	20,8	25,2	27,1	27,8	24,1	19,2	VY	VY	VY
<b>Ortalama 10 cm toprak sıcaklığı (°C)</b>	2000-2012	6,10	6,90	10,21	14,07	19,27	23,88	26,48	26,54	23,35	18,58	12,49	7,92	16,31
	2013	6,8	9,4	10,8	14,8	21,4	25	25,6	26,4	22,3	15,9	13,4	4	16,32
	2014	6,3	8,5	11,9	15,5	20,2	24,5	26,6	27,3	23,8	18,9	15,29	VY	VY
<b>Ortalama 20 cm toprak sıcaklığı (°C)</b>	2000-2012	6,33	6,98	10,07	13,80	18,69	23,31	25,95	26,19	23,26	18,78	12,90	8,34	16,22
	2013	6,9	9,4	10,7	14,5	20,6	24,5	25,2	26	22,3	16,2	13,6	4,5	16,2
	2014	6,4	8,5	11,8	15,2	19,6	24,1	26,2	27,1	23,7	19	VY	VY	VY
<b>Güneşlenme şiddeti (cal/cm<sup>2</sup>)</b>	2000-2012	3456,6	4974,4	7604,5	9694,4	12154,3	12586,7	11553,5	9786,8	8155,5	5660,5	3827,8	3076,1	92531
	2013	3164,7	5089,3	8080,9	9858,9	14894,6	15207,6	11569,0	12295,6	9566,0	6831,5	3572,4	2735,7	102866
	2014	3888,7	5650,9	8370,4	11342,9	12118,8	14393,7	13121,8	10587,6	8338,1	6660,1	3827,7	3076	101377

\*Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü ve Rize Meteoroloji Bölge Müdürlüğü Rasatlarından alınmıştır. **VY**: Veri yok

### 3.1.4. Denemelerde kullanılan çay klonları

Bu çalışmada kurulan deneme setlerinde Çay Araştırma Enstitüsü tarafından 1960 yılında başlatılan seleksiyon çalışmaları sonucu verim ve nitelik yönünden üstün özellikler taşıyan Pazar-20, Muradiye-10 ve Hamzabey Türk çay Klonları kullanılmıştır (Anonim 1982, 1983).

**Pazar-20 Klonu;** Rize-Pazar-Soğuksu Mahallesi'nde tespit edilmiş olup yükselti 140 m'dir. İlk olarak 1967 yılında anaç ocaktan alınan çelikler Çay Enstitüsündeki deneme parsellerine aktarılmıştır. Verim, adaptasyon ve hasat olgunluğuna gelme zamanı gibi faktörler göz önüne alınarak sürdürülen seleksiyon çalışmaları sonucu 1977 yılında klon olma özeliğine sahip olduğuna karar verilmiştir. Yaprakları ince uzun olup orta damar boyunca V şeklinde bükülmüştür. Dallar ince olup çatı oluşumu iyidir. Ortalama sürgün çapı 3 mm, sürgün boyu ise 20 cm civarındadır. Uzun boğumlu, yaprak genişliği orta, yaprak şekli oval, yaprak tüylenmesi seyrek ve olgun yaprak rengi sarı-yeşildir (Kafkas *et al.* 2009 b).

**Muradiye-10 Klonu:** Rize-Salahra-Muradiye köyü'nde tespit edilmiştir. Bölgenin yüksekliği 300 m'dir. İlk olarak 1968 yılında anaç ocaklardan alınan çelikler Çay Enstitüsündeki deneme parsellerine dikilmiş ve seleksiyon çalışmaları sonucu 1977 yılında klon olma özeliğine sahip olduğuna karar verilmiştir (Anonim 1972, 1978, 1982, 1983). Erkenciliği ile tanınan bu klon diğer çay tiplerine kıyasla 10-20 gün önce hasat olgunluğuna gelmektedir (Sarımehmet 1990). Yaprak ayaları küçük olup köre yönelme eğilimi fazladır. Sürgünlerin boğum araları kısa olup dallanma yeteneği iyidir (Mahmutoğlu 1994). Sürgün çapı 2,76 mm, sürgün boyu ise 20 cm civarındadır. Boğum uzunluğu orta, yaprak genişliği orta, yaprak şekli elipstik ve yaprak tüylenmesi orta ve olgun yaprak rengi sarı-yeşildir (Kafkas *et al.* 2009 b).

**Hamzabey Klonu:** Hamzabey genotipi tüylü tomurcuklu Derepazarı-7 ve Fener -3 ile birlikte beyaz çay üretimine uygun olduğu bildirilmiştir (İlgaz vd 2006). Rize orijinli,

boğum uzunluğu orta, dikdörtgenimsi ve geniş yapraklı, yaprak tüylenmesi orta ve olgun yaprak rengi gri-yeşildir (Kafkas *et al.* 2009 a).

### 3.1.5. Toprak özellikleri

Bakteri izolasyonu için kullanılan toprak örneklerinin ve deneme setlerinde kullanılan toprakların kum, silt ve kil fraksiyonlarının belirlenmesi Bouyoucus Hidrometre yöntemiyle yapılmıştır (Gee and Hortage 1986). Toprak pH'sı 1:2.5'lük toprak-su süspansiyonunda Potansiyometrik olarak "Cam Elektrotlu" pH metre ile ölçülmüş (McLean 1982); toprakların kireç içerikleri Scheibler Klasimetresi ile volümetrik olarak belirlenmiştir (Nelson 1982). Örneklerin organik madde içeriği Smith-Weldon yöntemiyle (Nelson and Sommers 1982), toplam azot içeriği salisilik asit+tuz karışımı ile yaş yakmaya tabi tutulduktan sonra mikrokjheldahl yöntemiyle belirlenmiştir (Bremner and Mulvaney 1982). Toprak fosfor tayini sodyum bikarbonatla ekstrakte edilen süzüklerde (Olsen and Summers 1982), toprak değişebilir katyonları (Na, K, Ca, Mg) amonyum asetatla (1 N, pH=7.0) çalkalanıp ekstrakte edildikten sonra (Rhoades 1982); toprakta bitki tarafından alınabilir mikro element (Fe, Mn, Zn, Cu) miktarları ise DTPA yöntemine göre ekstrakte edilen süzüklerde (Lindsay and Norwell 1978), ICP OES spektrofotometresi (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) ile belirlenmiştir.

Araştırma alanından getirilen toprak örnekleri genellikle kumlu tın, killi tın ve kumlu killi tın bünyede olup, bölgenin toprakları genellikle orta ve yüksek asit reaksiyonlu (pH=3,6- 6,5 arasında) ve tüm örneklerin ortalaması olarak toprak pH değeri 5,4 olarak hesaplanmıştır. Toprak örneklerinin organik madde miktarı %2,1-8,6 (genellikle yüksek)ö toprak N içeriği ise %0,03-0,34 arasında değişim göstermektedir. Toprakların P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn içerikleri ise sırası ile 1,8-25,4 mg/kg, 42-278 mg/kg, 675-2340 mg/kg, 74-330 mg/kg, 7,6-61,4 mg/kg, 0,4-14,3 mg/kg, 0,3-14,6 mg/kg ve 10,5-89,2 mg/kg arasında değişmiştir.

Deneme setlerinde kullanılan topraklarının tekstürleri kumlu tın, organik madde miktarı (%3,46-3,91) ve toplam N içerikleri (%0,16-0,24) fazla; P içerikleri (8,20-21,44 mg/kg) ve K içerikleri (83-230 mg/kg) az ve orta; Fe, Zn, ve Cu içerikleri fazla ve Mg içerikleri düşük, orta ve yüksek bulunmuştur. Deneme setlerinde kullanılan toprakların pH değerleri 4,66-5,70 arasında olup çay için ideal kabul edilen 4,50–6,00 pH sınırları arasında yer almıştır. Deneme setlerine ait toprakların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3.2 de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Deneme setlerinde kullanılan topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Toprak özelliği	Set I	Set II	Set III	Set IV	Set V
Kum (%)	49,36	51,43	57,34	54,52	61,34
Silt (%)	31,25	33,28	18,26	22,77	27,29
Kil (%)	19,39	15,29	24,40	22,71	11,37
pH (1:2.5)	4,70	4,66	4,75	5,09	5,12
Organik madde (%)	3,70	3,86	3,25	3,56	3,91
N (%)	0,19	0,21	0,16	0,18	0,24
Alınabilir P (mg/kg)	12,56	11,46	8,20	14,3	19,64
K (mg/kg)	139	83	112	89	230
Ca (mg/kg)	1426	2042	458	1236	1352
Mg (mg/kg)	188	228	96,7	122	183
Yarayışlı Zn (mg/kg)	2,36	3,24	2,42	1,59	3,74
Yarayışlı Fe (mg/kg)	24,66	25,45	32,4	33,7	41,2
Yarayışlı Mn (mg/kg)	6,87	7,74	14,6	24,72	9,6
Yarayışlı Cu (mg/kg)	1,26	0,96	1,42	0,88	0,86

### 3.1.6. Araştırmada kullanılan bakteriler ve özellikleri

Bu araştırmada birinci deneme setinde biyolojik gübre formülasyonlarında kullanılan *P. putida* RC06 ve *B. megaterium* RC07 buğday rizosferinden (Çakmakçı *et al.* 2006 a, 2007 a), *B. simplex* RC19, *P. fluorescens* RC77 ve *B. subtilis* RC63 yabancı ahududu rizosferinden organik topraktan (Çakmakçı vd 2008 a; Çakmakçı *et al.* 2009 c, 2013), *B. subtilis* RC521 tuzlu-kireçli yabancı asma rizosfer toprağından; *L. enzymogenes* 12/5, *P. putida* 53/5, *B. megaterium* 21/3, *B. subtilis*, 39/3, *B. subtilis* 2/8, *B. megaterium* 47/9, *P. fluorescens* 48/3 ve *P. putida* 3/10 bakterileri ise Doğu Karadeniz Bölgesi çay

rizosfer topraklarından (Çakmakçı *et al.* 2010 a) izole edilmiştir. Bu çalışma kapsamında kurulan beş farklı deneme setinden ilkinde kullanılan 8 bakteri çay rizosfer topraklarından izole edilerek testleri tamamlanmış, 394'ünün serbest azot bağlayabildiği, 305 izolatın fosfat çözebildiği, 265'inin ise hem azot bağladığı hem de fosfat çözebildiği belirlenmiş 460 izolat arasından seçilmiştir (Çakmakçı *et al.* 2010 a). Bu çalışmada kurulan diğer deneme setlerinde kullanılan bakteriler bu araştırma kapsamında izole edilmiş tanılanmış ve bazı özellikleri ilgili bölümlerde verilmiştir. Deneme setlerinde kullanılan bakteriler azot bağlama, fosfat çözme ve karbon kullanım profilleri dikkate alınarak seçilmiştir.

## 3.2. Metotlar

### 3.2.1. Bakteriyel strainlerin izolasyonu ve muhafazası

Örnekler özellikle benzer topraklarda iyi gelişen bitkiler; gübreden fazla etkilenmemiş bitkiler; tarlalardan bağımsız olarak kenarlarda yetişen veya tamamen terk edilmiş küçük öbekler halinde bulunan bitkilerden alınmıştır. İkinci olarak örnekler, gübreleme olanağı olmayan ve gereği duyulmamış olan tarla çit, sınır, duvar ve setlerde tek başına gelişmiş olan bitkilerin rizosferinden alınmıştır. Örnekleme, farklı toprak, vadi, topoğrafya, mikroklima, vejetasyon zonları ve iklim özellikleri dikkate alınarak, araştırma alanını temsil edebilecek şekilde yürütülmüştür. Araştırma alanından başlangıç dönemi için 4 farklı lokasyondan olmak üzere 95, ikinci döneminde ise 72 olmak üzere toplam 167 birleşik toprak örneği alınmıştır. Rizosfer toprağı örneklemede bazı durumlarda aynı lokasyon ve aynı popülasyondan alınan numuneler karıştırılarak örnekler hazırlanmıştır.

Bakteri izolasyonu kök rizosfer toprak örneklerinde yürütülmüştür. İzolasyonda azotsuz katı malat-sükroz besi yeri ve Triptic Soy Bioth Agar (TSBA) kullanılmıştır. İzolasyonda farklı modifiye metotlar kullanılmakla birlikte çoğunlukla, bitki rizosferinden alınan toprak örnekleri steril kağıt torbalar içerisine konulmuş, etiket bilgileri de yazılarak uygun koşullarda laboratuvar ortamına getirilmiştir. Kaba toprak atıldıktan sonra özellikle kılcal kök bölgesindeki toprak örneğinden 10 gr tartılarak, 250-300 ml hacmindeki steril erlene konulmuş, bunun üzerine 90 ml steril su eklenerek çalkalayıcıda çalkalanmıştır (30 da 150 rpm). Daha sonra 1 gr kök-toprak karışımı alınarak 9 ml fizyolojik tuzlu su içeren cam tüplere aktarılmış ve 1 saat süre ile hematolojik çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra 10 kat seri dilisyonlar hazırlanmış, bu seyreltme işlemi 5-6 kez tekrarlanmıştır. Nutrient Agar (NA) içeren petrilere 150 µL/petri olacak şekilde pipetle aktararak yayma ekim yapılmıştır. Ortalama 27°C'ye ayarlı inkübatöre konularak bakteri gelişimi için 24-48 saatlik inkübasyonun ardından bakteri kültürleri üzerinde yapılan gözlemlerde öncelikle en yoğun gelişen kolonilerden ve buna ilave olarak gelişen diğer farklı koloni yapısı, koloni formu, gelişme ve pigment

üretimi gibi kriterler de dikkate alınarak bir koloniden yeniden NA ekimler yapılarak karışık bakteri kültürlerinden saf kültürler elde edilmiştir. Saflaştırılan her bir izolata ayrı bir kod numarası verilerek, izolasyon bilgileri kaydedilmiş; daha sonra kullanılmak üzere bakteri kültürleri %30 gliserol ve Lauryl Broth (500 µl LB) içeren eppendorf tüplere aktararak -86°C’de muhafaza edilmiştir.

İzolatlar MIDI Sistem metotlarına göre FAMES analizi ve BIOLOG sistemine göre tanılanmıştır. Bakteriler yaklaşık 50 mg canlı hücre TSBA ortamında yetiştirilip hasat edilmiş, 1 ml 1.2M NaOH, %50 metanol ilavesiyle 5 tüp 100°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. Hızlı soğutmadan sonra 1.25 ml %50 MTBE hekzan ekstraktı Pastör pipetle alınıp, 3 ml 0.3 M NaOH ile yıkanmış, FAMES ekstraktı gaz kromatografisinde (HP6890, Hewlett Packard, Palo Alto, CA) silika kapillar kolon ile %5 phenylmethyl silikon kullanılarak ayrılmış, parametreler bilgisayar programı ile otomatik olarak belirlenmiştir. Pik tanısı kalibrasyon standartlarına göre yapılmış (Microbial ID 1200-A), her bir bakteriye ait FAME profil TSBA 40 ve MIS datalarına göre belirlenmiştir. Bakteri suşlarının bazı fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik testleri yapılmış ve karakterize edilmiştir (Forbes *et al.* 1998). Tanılama yöntemleri kapsamlı olarak metotlar kısmında (3.2.9) verilmiştir.

### **3.2.2. Deneme deseni ve deneme konuları**

Araştırma kapsamında dört farklı set halinde saksı ve bir tarla denemesi olmak üzere toplam beş farklı deneme kurulmuştur.

#### **3.2.2.a. Saksı denemesi set I**

Araştırmanın başlangıç aşamasında bu çalışma kapsamında izole edilen bakterilere ait önemli testler tamamlanmadığından öncelikli olarak daha önceki araştırmalarda asidik çay rizosfer topraklarından veya başka kaynaklardan izole edilen bakteriler arasından seçilen izolatlar kullanılmıştır. Saksılarda kurulan ilk deneme seti, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Hayrat



deneme istasyonunda, iki yaşlı Muradiye-10 çay klonunda köklendirilmiş çay fidanları ile kurulmuştur. Araştırmada kullanılan 5 biyolojik gübre olabilecek formülasyonda (F1-F5) bakteriler, 2 buğday, 3 ahududu, 1 asma ve 8 adedi ise Doğu Karadeniz Bölgesi çay rizosfer topraklarından izole edilen bakteri kolleksiyonundan seçilmiştir (Çakmakçı *et al.* 2009 a, 2010 a, b, 2011 b). Bu izolatların seçiminde biyokimyasal testlere ilave olarak laboratuvar, sera, pot, saksı ve tarla koşullarında Hayrat, Fener 3, Muradiye 10, Tuğlalı 10, Gündoğdu ve Pazar çay klonları ile Tombul ve Sivri Tipi fındıklarda yürütülen araştırma sonuçları da dikkate alınmıştır (Çakmakçı vd 2009 b, 2010 c, 2011 b, c). Bu denemede test edilen altıncı formülasyonda kullanılan bakteriler çay atığı kompostlarından, yedinci formülasyondaki bakteriler ise bu çalışma kapsamında izole edilen bakterilerden seçilmiştir.

Bu deneme her biri 3 farklı bakteri kombinasyonundan meydana gelmiş biyolojik gübre olabilecek ve sıvı taşıyıcıda geliştirilen 7 farklı bakteri kombinasyonu, bir biyolojik gübre (Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan karışım mikrobiyal gübre olarak tescillendirilmiş, yerli bakteri izolatlarından oluşan, sıvı formülasyonda bir üründür), NPK gübrelemesi ve kontrole (gübre ve bakteri uygulanmamış) kıyaslamalı olarak 4 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 5 fidan olacak şekilde kurulmuştur. Deneme deseni tesadüf parselleri deneme deseninde kurulmuş ve deneme konuları saksılara tesadüfi olarak dağıtılmıştır.

### **3.2.2.b. Saksı denemesi set II**

Bu araştırma kapsamında kurulan ikinci saksı deneme setinde Hazar Denizinin Güney kıyılarında (Kuzey İran) yetiştirilen çay bitkileri rizosferinden izole edilen bakteriler kullanılmıştır. Deneme, kontrol (bakteri ve kimyasal gübre uygulanmamış) ve kimyasal NPK (100 kg/da kompoze %25:5:10 veya 2000 mg/fidan) gübre uygulamasına kıyasla 20 farklı bakteri izolatının (*P. fluorescens* AR-7, *P. fluorescens* AR-9, *B. pumilus* AR-18, *Rhodococcus erythropolis* AR-20, *B. subtilis* AR-21, *B. cepacia* AR-28, *B. licheniformis* AR-29, *B. megaterium* AR-40, *B. cepacia* AR-42, *A. xylooxidans denitrificans* AR-47, *R. erythropolis* AR-49, *B. pumilus* AR-50, *P. fluorescens* AR-52,

*Bacillus atrophaeus* AR-59, *B. pumilus* AR-64, *B. subtilis* AR-67, *B. pumilus* AR-70, *Pseudomonas agarici* AR-71, *B. subtilis* AR-76 ve *P. putida* AR-173) test edilmesi amacıyla 1,5 yaşlı üniform aynı boy ve çapta Hamzabey Türk çay klonu fidanları ile kurulmuştur.

### 3.2.2.c. Saksı denemesi set III

Önceki denemelerde olduğu gibi doğal koşullar altında ve saksılarda kurulan üçüncü deneme setinde Hazar Denizinin Güney kıyılarında (Kuzey İran) yetiştirilen çay bitkileri rizosferinden izole edilen bakteriler kullanılmıştır. Deneme setinde 7 farklı bakteri izolatu (*L. enzymogenes enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14, *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *Arthrobacter globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33 ve *M. luteus* AR-72), mineral NPK (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10) gübrelemesi, biyolojik gübre ve kontrole (bakteri ve gübre uygulanmamış) karşı test edilmiştir. Bu deneme seti 2 yaşlı Pazar-20 çay klonuyla 5 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 4 fidan olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre tanzim edilmiştir. Aşılana fidanlar bekletilmeksizin dikim yapılmış ve dikim sonrası can suyu uygulanmış ve hasatta kadar diğer deneme setlerinde olduğu gibi başka bir uygulama (sulama dahil) yapılmamıştır.

### 3.2.2.d. Saksı denemesi set IV

Önceki denelerde olduğu gibi doğal koşullar altında ve saksılarda kurulan üçüncü deneme setinde Hazar Denizinin Güney kıyılarında yetiştirilen çay bitkileri rizosferinden izole edilen bakteriler kullanılmıştır. Bu deneme, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsünde, saksılarda Pazar-20 çay klonunda 1 yaşlı köklendirilmiş çay çelikleriyle kurulmuştur. Deneme seti 4 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 6 fidan olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenlenmiştir. Bu deneme setinde de toplam 11 uygulama; (1) kontrol (bakteri ve gübre uygulanmamış), (2) NPK (1700 mg/fidan kompoze 25:5:10), (3) YAF1 (*P. fluorescens* AR-9+ *B. pumilus* AR-64), (4) YAF2 (*P. putida* AR-173+ *B.*

*subtilis* AR-21), (5) YAF3 (*P. putida* 62/5+ *B. subtilis* AR-67), (6) YAF4 (*P. fluorescens* AR-154+B. *pumilus* AR-22), (7) YAF5 (*P. fluorescens* 58/3+ *B. subtilis* AR-17), (8) YAF6 (*P. putida* 53/5+ *B. atrophaeus* AR-59), (9) YAF7 (*P. fluorescens* AR-52+ *P. polymyxa* AR-33+ *B. pumilus* AR-64), (10) YAF8 (*P. fluorescens* AR-7+B. *pumilus* AR-22+ *B. subtilis* AR-17) ve (11) YAF9 (*B. pumilus* AR-22+B. *subtilis* AR-17+A. *xylosoxidans denitrificans* AR-47+ *P. fluorescens* AR-9) 5 L saksılara tesadüfi olarak dağıtılmıştır.

### 3.2.2.e. Tarla denemesi set V

Bu deneme Rize ili Pazar ilçesinde Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü kontrolünde demonstrasyon amacıyla kurulan ve bakımı yapılan çaylıkta tarla koşullarında yürütülmüştür. Pazar-20 çay klonu ile kurulan bu denemede 2 adet ikili ve 2 adet üçlü olmak üzere 4 bakteri kombinasyonu, ticari biyolojik gübre, kimyasal gübre ve kontrol uygulamaları test edilmiştir. Deneme seti tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 10 ocak (çay bitkisi) olacak şekilde düzenlemiştir. Tarla denemesi, kontrol (bakteri ve kimyasal gübre uygulanmamış), mineral NPK (80 kg/da kompoze %25:5:10 veya 80 g/ocak) gübreleme, ticari biyolojik gübre ve azot fikseri ve fosfat çözücü mikroorganizma esaslı 2 adet ikili (BF22: *B. pumilus* AR-37+*P. putida* AR-87; BF23: *B. subtilis* AR-12+B. *atrophaeus* AR-59) ve 2 adet üçlü (BF24: *P. fluorescens* AR-9+B. *megaterium* DB3+*P. putida* AR-173 ve BF25: *P. fluorescens* AR-9+Bacillus *pumilus* AR-22+B. *subtilis* AR-17) kombinasyonlar halinde 4 bakteri formülasyonunun Pazar-20 çay klonunun gelişme, verim, enzim, makro ve mikro element içeriği üzerine etkisini test etmek amacıyla yürütülmüştür.

### **3.2.3. Bakım işlemleri**

Saksı denemelerinde aşılanan fidanlar bekletilmeksizin dikim yapılmış ve dikim sonrası can suyu uygulanmıştır. Saksılar etrafı çevrilmiş toprak zemin üzerine kaplanan koruyucu örtü üzerine tesadüfi olarak dağıtılmıştır. Gerek saksı ve gerekse tarla denemeleri tamamen doğal koşullarda ve doğal ışık altında yürütülmüştür. Denemeler süresince bitkilere her hangi bir kimyasal ilaç ve sulama uygulanması yapılmamıştır. Saksılarda yabancı ot çıkması durumunda elle kontrol edilmiştir.

### **3.2.4. Bakteri kültürlerinin hazırlanması**

İnokulumun hazırlanmasında Nutrient Broth (NB) besiyeri kullanılmıştır. Daha önce NA ortamında geliştirilen 24 sa'lik taze kültürlerden bir öze dolusu alınarak 100 ml NB içerisine inokule edilerek ve bir gece çalkalayıcıda (150 rpm/dk) inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışım saf su ile seyreltilerek bakteri konsantrasyonu  $10^8$  hücre/ml olacak şekilde turbidimetre ile ayarlanmıştır. Bakteri solüsyonu hazırlanırken ihtiyaca göre her bakteri izolatından yapılacak ekim sayısı artırılmıştır. Birden çok bakterinin kullanıldığı karışık formülasyonlarının hazırlanmasında bakteri solüsyonu her bir bakterinin eşit miktar ve sayıda karışımından oluşturulmuştur.

### **3.2.5. Sıvı kombinasyon ve biyolojik gübre formülasyonlarının hazırlanması**

Sıvı kombinasyon ve biyolojik gübre hazırlanırken suşlar saf kültür olarak NB ortamında 28°C geliştirilmiş ve  $10^8$  kob/ml konsantrasyonda sıvı taşıyıcı içinde formülasyon için kullanılmıştır. Biyoreaktörde tamamen organik maddelerden oluşan ve buharla sterilizasyonu yapılan taşıyıcı sıvıya 1:10 oranında karıştırılarak aşılama yapılmıştır. Bu taşıyıcı formülasyonun içeriği; su, çeşitli organik maddeler (yosun, peynir altı suyu vb bitkisel maddeler) ve içeriğindeki bakteri izolatını koruyucu ve homojenizasyonunu sağlayıcı çeşitli maddelerden (karboksimetil selüloz, kalsiyum karbonat) oluşmuştur. Bakteri aşılması yapılan organik sıvı taşıyıcı biyoreaktörde yine optimum gelişme koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. Mililitredeki canlı bakteri

sayımları (kob) da yapılarak bakteri konsantrasyonunun  $1 \times 10^8$  hücre/ml'yi geçtiği süre olan 48 saatin sonunda tamamen steril koşullarda paketlenme yapılarak sıcaklığı  $5^\circ\text{C}$  olan soğuk odada muhafaza edilmiştir ve kullanılmıştır.

### 3.2.6. İnokulasyon teknikleri

Saksı denemelerinde kullanılan tüm araçlar, fidan ve saksılar steril edilmiştir. Fidanların bakteri aşılmasında daldırma ve enjeksiyon yöntemi kullanılmıştır. Aşılama için köklenmiş fidanlar bakteri süspansiyonu içine daldırılarak 1 saat bekletilmiş, akabinde dikim yapılmış, artan süspansiyon ve ikinci yıl inokulum fidanların kök bölgesine enjekte edilmiştir (Çakmakçı *et al.* 2011 a). Dikim sonrası 5 ml bakteri süspansiyonu ( $10^9$  kob  $\text{ml}^{-1}$  seyreltilmiş) steril şırınga kullanılarak kök rizosferinin orta kısmına enjekte edilerek aşılama tekrarlanmıştır. Bakteri uygulanmayan fidanlar ise bakterisiz SPB (sterile phosphate buffer) sadece su içinde bekletilmiştir (Heinonsalo *et al.* 2004; Çakmakçı *et al.* 2011 a, 2012 a). Aşılama fidanlar bekletilmeksizin dikim yapılmış ve dikim sonrası can suyu uygulanmıştır. Araştırmanın ikinci yılı bahar döneminde süspansiyonlar kök rizosferine enjekte edilmiştir. Bunun için inokulumun tarlada şırınga ile inokulasyon tekniği kullanılmıştır. Kültürler santrifüj edilecek, eşit hacimde SPB (sterile phosphate buffer) fidan aşılmasında 5 ml bakteri süspansiyonu (su ile  $10^9$  kob  $\text{ml}^{-1}$  seyreltilmiş) steril şırınga kullanılarak kök rizosferinin orta kısmına enjekte edilmiştir (Çakmakçı vd 2012 b). Kontrol fidanlarına (kimyasal gübre uygulanan ve/veya kimyasal gübre ve bakteri uygulanmamış kontrol) sulandırılmış 5 ml bakterisiz SPB enjekte edilmiştir. Tarla denemesinde bakteri süspansiyonu ve gübre uygulamaları çay fidanlarının kök bölgesine uygulanmıştır. Aşılama sonrasında gövde etrafındaki toprak yüzeyi perlitle kapatılmıştır.

### 3.2.7. Sayım metotları

Köklerle sıkı ilişkide olan rizosfer toprağı ayrılmış, toplam bakteri, azot fikseri ve P çözücü bakteri sayımında Standart Sayım Metodu kullanılmıştır. Toplam bakteri dökme plak yöntemine göre asparagin-mannitol agarda (Salle 1973),  $\text{N}_2$ -fikserleri azotsuz (N-

free) katı malate-sucrose (Döbereiner 1988, 1989) ve P- çözücü bakteriler ise sükroz-trikalsiyum fosfat agar (Pikovskaya 1948) ortamında koloni formu ünitesi (kob) olarak belirlenmiştir. Her örnekten alınan 10 g toprak steril koşullarda 100 ml su içine erlene alınmış, çalkalanmış (30 da 150 rpm), 1 ml örnek 9 ml steril su ile karıştırılarak dilüsyondan 0.1 ml ( $10^8$ ) besin ortamına alınmış (NA), 30°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kob miktarı standart metotlara göre sayılmış ve her örnek için g kuru toprakta kob olarak hesaplanmıştır (Çakmakçı vd 2008 a, b).

### **3.2.8. Çay çeliklerinin köklendirilmesi**

Çelikler alınacak sürgünlerin yarı odunsu olması ve yaprak koltuklarında çiçek gözlerinin bulunmaması gerektiğinden Mart ayı içerisinde budanan anaç ocakların en uygun çelik alma zamanı olarak bildirilen Temmuz-Ağustos aylarında alınmış çelikler kullanılmıştır. Bu araştırmada saksı denemelerinde tam olgunlaşmış, sağlıklı zarar görmemiş, tek yaprağa sahip koltuk altı tomurcuğu sürmemiş uyku halinde ve sert yeşil gövdeye sahip, koltuk altı tomurcuğun hemen yukarisından tepesi 45 derecelik bir açı ile kesilmiş ve Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü seralarında köklendirilmiş çelikler kullanılmıştır.

### **3.2.9. Moleküler testler**

#### **3.2.9.a. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanınması**

Bu araştırma kapsamında tanılanan bakterilerin  $-80^{\circ}\text{C}$ ’de muhafaza edilen bakteri Saf kültürlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIDI, Sherlock Microbial Identification System versiyon 4.5 inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve/veya alt tür seviyesinde tanısı yapılmıştır.

Bakterilerin yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması ve yağ asitlerini saf olarak izole edebilmek için 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Hazırlanan 4 çözelti ile izole edilen bakterilerden yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması aşağıdaki metot takip edilerek yapılmıştır:

**1.** TSBA üzerinde geliştirilen bakterilerin inkübasyon periyodunu takiben, 4 fazlı çizim yapılmış petrilerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir özeyle toplanarak steril teflon kapaklı cam test tüplerine (5 ml) aktarılmıştır.

**2.** Her bir test tüpüne 1 ml hücre parçalayıcı çözelti ilave edilecek ve 5-10 s çalkalandıktan sonra test tüpler 5 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda bekletilmiş; ardından tekrar 5-10 s çalkalanan test tüpler 25 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır.

**3.** Test tüplerine 2 ml metilleştirme çözeltilerinden eklendikten sonra 5-10 s'lik bir çalkalamadan sonra 80°C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilerek ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur.

**4.** Soğutulmuş tüplere 1.25 ml saflaştırma çözeltilerinden eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında çalkalanmıştır. Tüplerin alt kısmında asidik, üst kısmında da organik sıvı faz olmak üzere 2 ayrı faz oluştuğu gözlemlendikten sonra yağ asit metil esterleri asidik fazdan ayrılarak organik faz bölgesinde toplandığından pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılacak ve organik faz muhafaza edilmiştir.

**5.** En son aşamada her bir tüpe 3 ml bazik yıkama çözeltilerinden ilave edilmiş ve tüpler 5 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında karıştırıldıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu aşamada da tüp içerisinde iki ayrı faz oluştuğu gözlemlendiğinde üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml gaz kromatografisi tüplerine transfer edilmiş, akabinde ağızları sıkıca kapatılarak MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiştir.

### 3.2.9.b. BIOLOG testi

Laboratuvar ve sera ve tarla koşullarında etkili bulunan bakteriyel izolatların metabolik profillerinin belirlenmesi, bu profillere göre tanılanması aşağıda anlatılan protokole göre yapılmıştır.

1. Gram reaksiyon özelliklerine göre bakteriler gruplara ayrılacak, gram negatif olan bakteri strainleri TSA (Tryptic Soy Agar)'a', gram pozitif olanlar ise ise BUG+M (BIOLOG Universal Growth Agar + %0.25 Maltoz) besi yerine ekilmiştir.

2. Kültürler 27°C'de 16-24 saat süreyle kültür ortamında çoğaltılan canlı hücreler salina tampon çözeltisi (%0.85'lik NaCl) içerisinde süspansiyon edilmiştir. Standart turbidimetre ile konsantrasyon ayarlaması ( $10^8$  hücre/ml) yapılmıştır.

3. Yoğunlukları ayarlanan bakteri süspansiyonlarından uygun mikropate (BIOLOG 3938 Trustway, Hayward, CA 94545, USA) üzerindeki her bir çukurcuğa 150 µl eklenerek, mikropateler 4 saat süreyle 27°C'de inkübasyona bırakılmıştır.

4. İnkübasyon sonrası mikropateler üzerinde gelişen metabolik reaksiyon gözlenerek (mor renk), test edilen bakterilerin metabolik reaksiyon profilleri BIOLOG kinetik (Program: BIOLOG MicroLog 3 4.20,  $\lambda_1=405$  nm  $\lambda_2=750$  nm) okuyucu ile okunmuştur. Sonuçta sistemin paket programındaki bilinen mikroorganizmaların metabolik profilleri, test edilen mikroorganizmaların profilleri ile karşılaştırılarak tanı yapılmıştır.

### 3.2.10. Bakterilerin bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

#### 3.2.10.a. Potasyum hidroksil (KOH) testi

Bakterilerin hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için bir lam üzerine, %3'lük potasyum hidroksil (KOH) çözeltisinden bir iki damla damlatılmış ve daha sonra NA'da geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen öze ile alınarak KOH çözeltisi ile 5-10 sn karıştırılmış, sonra öze yukarıya doğru kaldırılarak uzama olup olmadığı belirlenmiştir. Öze yukarı kaldırıldığında uzama olması, bakterilerin %3 KOH ile muamele edildiğinde



hücre duvarlarının parçalanması sonucu stoplazma ve nükleer materyalin açığa çıkarak viskoz yapı oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Bu bakteriler KOH pozitif yani Gram negatif olarak değerlendiriliş, KOH negatif olan bakteriler ise Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fahy and Hayward 1983; Saygılı 2005).

### **3.2.10.b. Katalaz testi**

Katalaz enziminin olup olmadığını belirlemek için bakteri hatları NA ortamında geliştirilmiştir. Gelişen 24–48 sa'lik bakteri kültüründen bir öze alınıp ve üzerine 1 damla hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) ilave edildikten sonra kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Saygılı 2005). Katalaz enzimine sahip bakterilerde, bu enzim elektron transferinin sonunda açığa çıkan hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) parçalayıp, su ( $H_2O$ ) ve oksijene ( $O_2$ ) dönüştürmekte ve oksijen ( $O_2$ ) gazı oluşumu kabarcık halinde görülmektedir (Klement *et al.* 1990).

### **3.2.10.c. Oksidaz testi**

İzole edilen bakterilerin, bakteri solunumunda görev alan ve elektron transfer sisteminde indirgeyici olarak hücresel enerji oluşumuna neden olan oksidaz enzimine sahip olup olmadıklarını belirlemek için oksidaz testi yapılmıştır. Test için %1 tetra metil-p-fenilendiamin dihidroklorid içeren diskler kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH<sub>2</sub>O ile doyurulduktan sonra üzerleri 24-48 saatlik bakteri ile kaplanmıştır. Gözlemlenen mavimsi-mor renk, değişiminin oluşması pozitif, oluşmaması ise negatif olarak kabul edilmiştir. Testte bakteri bu enzime sahip ise enzimin reaksiyona girmesi sonucu mavi renk oluşmaktadır (Kovacs 1956; Klement *et al.* 1990; Saygılı 2005).

### **3.2.10.d. Bakterilerin azotsuz (N-free) kültürde geliştirilmesi**

Bakterilerin azot fiksasyon yeteneklerinin belirlenmesi için saf kültürler Nutrient Agar (NA) besiyerine çizgi ekimle bulaştırılarak, 2-7 günlük bir kuluçka süresi sonrasında gelişen bakteri kolonileri azotsuz besi ortamına (N-Free Solid Malate Sucrose Medium)

çizilip 7-10 gün süreyle 25-27°C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Azotsuz sukroz vasatının pH değeri 7,2'ye ayarlanmış olup g/L cinsinden içeriği; 10 g sukroz, 5 g L-malik asit, 0,2 g MgSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O, 0,01 g FeCl<sub>3</sub>, 0,1g, NaCl, 0,02 g CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, 0,1g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,002 g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O ve 18 g agardan oluşmaktadır. Besi yerinde gelişim gücüne göre pozitif, negatif, kuvvetli pozitif ve zayıf pozitif olarak bakterilerin azot fiksasyon özellikleri değerlendirilmiştir. N-free sukroz vasatının pH değeri 7,2'ye ayarlanmıştır. Bakterilerin Döbereiner (1989) tarafından geliştirilen azotsuz besi ortamında gelişebilmeleri serbest azot fiksetme özelliklerini göstermektedir (Han *et al.* 2005;Rau *et al.* 2009). Ayrıca, bu proje kapsamında test edilen bazı izolatların azot fiksasyon kapasiteleri azotsuz ortamda asetilen indirgenmesi analizi (Hardy *et al.* 1968) ile belirlenmiştir. Asetilen indirgenmesi için kültürler Holguin and Bashan (1996) tarafından önerilen yöntemle hazırlanmış belirlenmiş 30°C de 24 ve 48 saat çalkalanmaksızın inkübe edilmiş ve etilen üretimi gaz kromatografisinde (Hewlett Packard Model 6890, USA) ölçülmüştür.

### **3.2.10.e. Bakterilerin fosfat çözme özellik ve miktarının belirlenmesi**

Bakterilerin fosfat çözücülük aktivitesinin belirlenmesinde NBIRP-BPB (National Botanical Research Institute's Phosphate Growth Medium) sıvı besiyeri ve sukroz-trikalsiyum fosfat agar kullanılmıştır. Bakteri kültürleri NA'da 27°C'de 24 saat geliştirilmiş; öze ile besiyeri yüzeyinden bir miktar alınarak sdH<sub>2</sub>O içinde süspansiyon edilerek ve yoğunlukları 10<sup>8</sup> hücre/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Her bir süspansiyon içinde 5 ml NBIRP-BPB bulunan tüplere inoklasyon yapılmış, 15 günlük inkübasyon döneminden sonra besi yerinde renk açılması gösteren bakterilerin fosfatı çözme yetenekleri izolasyon aşamasındaki sonuçla da teyit edilerek pozitif olarak değerlendirilmiştir (Mehta and Nautiyal 2001). Besiyerindeki renk değişimi 15 gün boyunca gözlemlenmiş ve renk açılması baz alınarak streinler pozitif, negatif, kuvvetli pozitif ve zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir. NBIRP-BPB besi yerinin pH değeri 7'ye ayarlanmış olup g/L cinsinden içeriği: 20 g glukoz, 10 g Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 5 g MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O, 0,25 g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,2 g KCl, 0,1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ve 0,025 g BPB oluşmaktadır. Daha sonra bazı bakterilerin fosfat çözücülük aktivitesi kalitatif ve kantitatif metotlara

göre yürütülmüştür (Pal 1998; Mehta and Nautiyal 2001). Bütün bakterilerin P çözme kapasiteleri sükroz-trikalsiyum fosfat agar ortamında (Pikovskaya 1948) kaya fosfat olarak 500 µg/ml P içeren 250 ml erlende 6 günlük 1 ml (yoğunluk  $4 \times 10^9$ ) inokulumda belirlenmiştir. Bazı strainlerde 6 günlük inkübasyondan sonra suda çözünebilir P miktarı VYCM (sarı renkli vanadomolibdofosforik metot) ile kolorimetrik olarak belirlenmiştir.

### **3.2.10.f. Aminosiklopropan karboksilat deaminaze aktivitesinin belirlenmesi**

Bakterilerin aminosiklopropan karboksilat deaminaze (ACCD) aktivitesinin belirlenmesi için  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen hatlar NA (Nutrient Agar) üzerine ekilerek, ekim yapılan petriler  $27^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Bakterilerin ACC deaminaze aktivitesini belirlemek amacıyla DF Salt besiyeri hazırlanmıştır (Dworkin and Foster 1958). Bu amaçla 300 ml saf su içerisine 1,33 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,067 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,67 g glukoz, 0,67 g glukonik asit, 0,67 g sitrik asit, 0,34 mg  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3,33 mg  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 3,73 mg  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 41,53 mg  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 26,07 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 3,33 mg  $\text{MoO}_3$  ilave edilmiştir. Karışımın PH'sı 7,2'ye ayarlanmış ve agar eklenerek ve otoklavda steril edilmiştir (Penrose and Glick 2003). Besiyerinin  $40^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğuması beklenip, 30 ml steril su içerisinde 100 mg ACC çözümlü ve filtreden geçirilerek besiyerine eklenmiştir. Gelişen bakteriler hazırlanan DF Salt besiyerine ekilerek 7-10 gün inkübe edilip ve besiyeri üzerinde görülen bakteri gelişimi ACC deaminaze pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.11. Gelişme ve verim parametrelerinin incelenmesi**

#### **3.2.11.a. Fidan gövde çapı (gövde kalınlığı)**

Çay fidanlarına ait gövde çapı değerleri toprak yüzeyinden itibaren 5 cm yükseklikten dijital kumpas kullanılarak ölçülmüş ve mm olarak kaydedilmiştir. Gövde çapı ölçümünde bitkide kök boğazının yakınından dallanma olması durumunda çap dallanmanın başladığı noktadan ölçüm yapılmıştır.

**3.2.11.b. Bitki boyu (fidan boyu)**

Kök boğazından itibaren en üstteki dalın ucuna kadar olan yükseklik ölçülerek belirlenmiştir (cm). Denemelere ait çay fidanlarının boyu toprak yüzeyi ile uç sürgün arasındaki mesafe olarak ölçülmüştür.

**3.2.11.c. Toplam yaş dal+yaprak ağırlığı (toplam biomas)**

Genç fidanlarla kurulan saksı denemelerinde dallar eşit yükseklikten kesilerek yaş ve kuru dal+ yaprak ağırlıkları (toprak üstü toplam biomas miktarı) belirlenmiştir. Önceden oluşturulan çaylıklarda kurulmuş olan tarla denemelerinde ise ocaklarda oluşan tepe dalları sayı ve uzunlukları belirlendikten sonra hasat işlemleri gerçekleştirilmiştir.

**3.2.11.d. Yaprak alanı değerleri**

Çay yaprak alanı taşınabilir dijital yaprak alan ölçer (Portable Leaf Area Meter, Nunes Inst. India) ile ölçülmüştür. Araştırmanın ilk yılında çay fidanlarının ana dallarının tepe noktasından itibaren iki, üç, dört ve beşinci yapraklarının alanı tek tek ölçülerek ortalama yaprak alanı (cm<sup>2</sup>) belirlenmiştir. Araştırmanın ikinci yılında ise deneme setlerinin tamamında çay sürgünlerinin uçtan itibaren ikinci ve üçüncü yaprak alanları ayrı ayrı ölçülerek değerlendirilmiştir. Tarla denemelerinde, saksı denemelerinden farklı olarak, fazla sürgün olduğundan deneme alanındaki ocakların her birinden şansa bağlı olarak seçilen üçer sürgünde ikinci ve üçüncü yaprak alanı ölçümü yapılmıştır.

**3.2.11.e. Yaş ve kuru yaprak ağırlığı**

Saksı denemelerinde genç fidanlarda sürgünler eşit yükseklikten kesilerek yaş ve kuru yaprak ağırlıkları tartılmış, yapraklar tek tek koparılarak fidan başına yaprak ağırlığı belirlenmiştir. Hasat edilen çay yaprakları tartılarak bitki başına yaş yaprak ağırlığı

belirlenmiştir. Yapraklar kağıt poşetler içerisinde fırında 68 °C'de 48 saat süre bekletilerek kurutulmuş ve kuru yaprak ağırlığı belirlenmiştir (Çakmakçı *et al.* 2013).

#### **3.2.11.f. Yaş yaprak verimi**

Hasat döneminde 2,5 yaprak (2 yaprak ve bir tomurcuk) toplanarak yaş yaprak verimi belirlenmiştir.

#### **3.2.11.g. Yaprak sayısı**

Saksı denemelerinin ilk yılında, yetiştirme dönemi sonunda çay fidan sürgünleri eşit yükseklikten kesilmiş, yaş ağırlıkları tartıldıktan sonra, kurutma aşamasından önce, kesilen sürgünlerinde bulunan yaprakların tamamı sayılarak yıllık fidan başına üretilen toplam yaprak sayısı (adet) olarak belirlenmiştir.

#### **3.2.11.h. Klorofil miktarı**

Çay yaprak klorofil miktarı taşınabilir klorofil metre (SPAD-502, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan) ile ölçülmüştür. Klorofil metre, klorofil miktarı indeks değerini, yaprak tarafından emilen kırmızı ışıkla yaprakta geçen arasındaki ilişkiden yararlanarak dolaylı olarak ölçmektedir. Klorofil ölçer yapraklardaki toplam klorofil miktarının ölçümünde kullanılan zararsız bir metottur (Neufeld *et al.* 2006). Her bir bitkide, tam olgunlaşmış yaprağın orta damarının her iki kenarında, 4 farklı noktada ölçüm yapılmıştır (Khan *et al.* 2003; Yıldırım *et al.* 2011).

#### **3.2.11.i. Yaprak antosiyanin içeriği**

Çay sürgünlerindeki iki, üç ve dördüncü yapraklarda antosiyanin içeriği taşınabilir antosiyanin ölçer (ACM-200 plus Anthocyanin Content Meter, Opti-Sciences, Inc. USA) ile ölçülmüştür. Ticari olarak klorofil ölçerlerin modifiye edilmiş bir şekli olan

antosiyenin ölçer, suda çözünebilir bir flavonoid olan ve klorofil içeriği ile de ilişkili olan yaprak antosiyenin içeriğini ölçmede kullanılmaktadır (Van den Berg and Perkins 2005). Yeşil rengi üreten klorofil fotosentezde rol oynayan ana pigment olmakla birlikte, koyu kırmızı renk üreten antosiyaninlerde fotosentezi destekleyici rol oynamaktadır.

### **3.2.11.i. Çay yaprak makro ve mikro element analizleri**

Çay yaprak örnekleri 68°C'de 48 saat süreyle kurutulup, toplam N hızlı Kjeldahl Distilasyon Metoduyla Vapodest 10 (Gerhardt, Königswinter, Germany) aparatıyla belirlenecektir (Bremner 1996). Bitki örneklerinin P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn ve Cu içerikleri nitrik asit-hidrojen peroksit (2:3) asit ile 3 farklı adımda (1. adım; 145°C'de %75 mikrodalga gücünde 5 dk, 2. adım; 180°C'de %90 mikrodalga gücünde 10 dk ve 3. adım 100°C'de %40 mikrodalga gücünde 10 dk) 40 bar basınca dayanıklı mikrodalga yaş yakma ünitesinde (speedwave MWS-2 Berghof products + Instruments Harresstr.1. 72800 Enien Germany) tabi tutulduktan (Mertens 2005 a) sonra (P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu ve B) ICP OES spektrofotometresinde (Inductively Couple Plasma spectrophotometer) (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) okunmak suretiyle belirlenmiştir (Mertens 2005 b).

### **3.2.12. Enzim ekstraksiyonunun hazırlanması, protein içeriğinin ve enzim aktivitesinin belirlenmesi**

Çay bitkilerinden alınan yaklaşık 2 g yaprak örneği alüminyum folyalara sarılarak -80°C'de dondurulup kullanıncaya kadar saklanmıştır. Analiz için 2 gr yaprak örneği sıvı azot ile toz haline getirilerek, her örnekten 10 ml tampon ilave edilip (50 mM Tris-HCl ve 1 mM EDTA, pH 7.5), karışım 4°C'de 20 dk santrifüj edilerek (15,000gr) ve makro partiküller çöktürülüp çökelek atılmıştır. Süpernatant ise enzim aktivitelerinin ölçümlerinde ve protein tayinlerinde ham özüt olarak kullanılmıştır. Her bir enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak (Shimadzu Spectrophotometer UV-1208) 25°C'de belirlenmiştir. Protein konsantrasyonu Bradford (1976) metoduna göre bovin serum

albümin standart olarak kullanılarak 595 nm abzorbans ölçümü yardımıyla hesaplanmıştır.

### **3.2.12.a. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD; EC 1.1.1.49)**

Yukarıda belirtilen yöntemle alınmış, saklanmış ve ekstraktları hazırlanmış çay yaprak örneklerinde enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak (Shimadzu Spectrophotometer UV-1208) 25°C'de belirlenmiştir. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD; EC 1.1.1.49) aktivitesi Beutler metoduna (Beutler 1984) göre belirlenmiştir. Prosedür 0.1 mM Tris-HCl tamponu (pH 7.5), 0.5 mM EDTA, 0.2 mM NADP<sup>+</sup> ve G6PD için 0.6 mM G6P, 6PGD için ise 0.6 mM 6PGA içermekte ve hacim 1 ml olmaktadır. Sistemde enzim ünitesi dk 1 µmol NADP<sup>+</sup> indirgenmesi olarak tanımlanmaktadır.

### **3.2.12.b. 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD; EC 1.1.1.44)**

Çay yaprak örneklerinin alınması, saklanması ve ekstraktların hazırlanması yukarıda verilen yöntemle yapılmış çay yapraklarında 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (EC.1.1.1.44) aktivitesi Beutler metoduna (Beutler 1984) göre belirlenmiştir. Prosedür 0.1 mM Tris-HCl tamponu (pH 7.5), 0.5 mM EDTA, 0.2 mM NADP<sup>+</sup> ve G6PD için 0.6 mM G6P, 6PGD için ise 0.6 mM 6PGA içermekte ve hacim 1 ml olmaktadır. Sistemde enzim ünitesi dk 1 µmol NADP<sup>+</sup> indirgenmesi olarak tanımlanmaktadır. Yaprak enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak (UV-1208) belirlenmiştir

### **3.2.12.c. Glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2)**

Yukarıda verilen yöntemle hazırlanan çay yapraklarında glutatyon redüktaz (GR; EC 1.8.1.7) aktivitesi Carlberg and Mannervik (1985) tarafından geliştirilen metoda göre belirlenmiştir. Yaprak enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak (UV-1208) belirlenmiştir. Sistemde toplam 1 ml hacim 0.75 mM Tris-HCl tamponu (pH 7.0), 1 mM EDTA, 1 mM GSSG ve 0.1 mM NADPH içermektedir. Bir enzim birimi dk 1 µmol NADPH oksidasyonu olarak tanımlanmaktadır.

### 3.2.12.d. Glutasyon S-transferaz (GST; EC 2.5.1.18)

Yaprak GST enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak (UV-1208) belirlenmiştir. Yukarıda verilen yöntemle hazırlanan çay yapraklarında glutasyon S-transferaz (GST; EC 2.5.1.18) aktivitesi Habig *et al.* (1974) ve Habig and Jacoby (1981) tarafından tanımlanan yöntemle göre yürütülerek, 1 ml hacimde reaksiyon ortamı 0.1 M potasyum fosfat tamponu (pH 6.5), 1.0 mM GSH, 1.0 mM CDNB, ve %1 saf etanol içermektedir. Protein konsantrasyonu Bradford (1976) metoduna göre bovin serum albümin standart olarak kullanılarak 595 nm abzorban ölçümü yardımıyla hesaplanmıştır.

### 3.2.12.e. Peroksidaz (POD; EC: 1.11.1.7) aktivitesi

Peroksidaz (POD) aktivite tayini, guaikol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin substrat olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır (Angelini *et al.* 1990). Çeşitli taze bitki materyali 100 mg taze ağırlık/ml oranı uygulanarak 0.1 M pH 7.0 soğuk fosfat tamponunda ekstre edilip, ekstreler 10 000 rpm de 15 dk santrifüj edilerek süpernatantlar alınıp enzim tayini için kullanılmıştır (Smith *et al.* 1971). Ayrıca pH 5.8 olan 0.1 M fosfat tamponundan 100 ml alınıp ve 15 mM guaiakol, 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilerek ve bu ayıracın taze hazırlanıp kullanılmıştır. Bu ayıraçtan 3 ml, ekstrelerden de enzim aktivitesine göre örneğin 50 µl alınarak oksidasyon ürünü spektrofotometrede 470 nm de 10 ar saniye aralıklarla 2 dk boyunca ölçülmüştür. Absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilip absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorbans artışı 1 dakikaya oranlanmıştır. 25°C'de 1 dakikada, absorbansı 0,01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilip sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) olarak ifade edilmiştir (Yee *et al.* 2003):

$$\text{POD (EU/g yaprak)} = (5 \text{ ml homejanat}/0,5\text{g yaprak}) / 10\mu\text{l alınan homejanat}) \times 2 \times (1/0,01) \times \text{Absorbans değeri}$$

$$\text{POD (EU/g yaprak)} = 1000 \times 100 \times \text{Absorbans değeri}$$



**3.2.12.f. Polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi**

Substrat olarak katekol kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı; 2 mL fosfat tampon çözeltisi (pH 6.2, 0.05 M)+0.5 mL “enzim içeren çözelti”+0.5 mL substrat (0.5 M) çözeltisinden oluşturulmuştur (Lee *et al.* 1991). Reaksiyon karışımı 30°C’de 5 dk inkübe edildikten sonra 15 saniye aralıklarla 410 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır. Bu amaçla Spektrofotometre kullanılmıştır. Absorbans x süre ilişkisini yansıtan eğrinin eğimi, “Absorbans. dak<sup>-1</sup>.ml<sup>-1</sup>” cinsinden hesaplanıp ve “aktivite düzeyi” olarak belirtilmiştir (Lee *et al.* 1991).

**3.2.12.g. Alkol dehidrogenaz aktivitesi (ADH)**

Enzim aktivitesi tayini için, çay örneği, 10 ml fosfat tamponu (0,1 M, pH=7,0) ile homojenize edilip, +4°C'de 3000 devir/dakika'da 15 dakika santrifüj edilmiştir (Smith *et al.* 1971). Supernatant'tan 0,2 ml alınıp üzerine NAD<sup>+</sup> (nikotinamid adenin dinükleotid) (2.5 mM) ve etil alkol (10 mM) çözeltisinden oluşan reaksiyon karışımı eklenerek 25°C'de, 340 nm'de spektrofotometrede dakikadaki absorbans değişimi ölçülmüştür. Enzim aktivitesi, dakikadaki optik dansite değişimi olarak (DOD<sub>340</sub>/g çay/dakika) ifade edilmiştir (Smith *et al.* 1971).

**3.2.12.h. Üreaz aktivitesi**

Üreaz aktivitesi için, 0.2 ml enzim çözeltisi 1.2 ml tampon çözelti (60 mM pH: 6.0 MES), alınarak 5 dakika 37°C’de bekletilmiştir. Bu numuneye 0.5 ml (0.05 M) üre ilave edilip ve tüm karışım 20 dk bekletilmiştir. 0.2 ml (%1’lik) indofenol çözeltisi ilave edilerek ve 0.2 ml (0.5 M NaOH ve %0.075 NaOCl) reaktifi eklenmiş, 30 dakika beklenmiş ve absorbans artışı 640 nm’de spektrofotometre ile ölçülmüştür (Weatherburn 1967).

### 3.2.12.1. 5-Dehidroshikimat redüktaz aktivitesi (DHSK)

Shikimate+NADP>5-dehydroshikimate+NADPH<sub>2</sub>” reaksiyonuna göre oluşan NADPH<sub>2</sub>’nin absorbanı 340 nm’de spektrofotometrik olarak takip edilmesi esasına dayanır (Sanderson 1966). Reaksiyon karışımı 1 mM şikimik asit, 2.5 ml 0.1 M glisin tamponu (ph 10) içinde 170 µM NADP ve 0.1 ml enzim çözeltisi içerir. Bir enzim ünitesi 1 m mol şikimik asitin 1 dakikadaki oksidasyonunu katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

### 3.2.13. Sonuçları analiz edilmesi

Saksı ve tarla denemelerinde belirlenen tüm veriler STATISTICA (StatSoft-2003) ve SPSS (IBM SPSS Statistics 20) programları kullanılarak (özellikle varyans, korelasyon ve çoklu karşılaştırma testleri yapılarak) istatistikî olarak analiz edildikten sonra, uygulamalar arasındaki farklılıklar ortaya konulmuştur. BIOLOG verileri ise önce normalleştirilmiş ve sonra analiz edilmiştir. BIOLOG pleytlerindeki renk değişimi ortalama koyu renk gelişimi olarak ifade edilmiştir. Genel olarak ortalama koyu renk gelişimi (AWCD) Garland ve Mills (1991) tarafından geliştirilen,  $AWCD = \frac{\sum (C-R)}{n}$  formülüyle hesaplanmıştır. Burada “C” BIOLOG mikropleyindeki karbon kaynaklarının bulunduğu her bir kutucukta görülen renk gelişimi, “R” mikropleyinin abzorbans değeri, “n” ise karbon kaynağı madde sayısını ifade etmektedir (GN ve GP pleytlerinin her biri için n=95). BIOLOG verilerinin temel bileşenler analizi (PCA) için, 24 saate oluşan optik yoğunluk farklarına göre, kontrole kıyasla, her bir madde için veriler, mikropleyinin ortalama koyu renk gelişimi  $[(C-R)/AWCD]$  değerlerine göre dönüştürülmüştür  $(C-R)/AWCD$  (Garland and Mills 1991). Öncelikle çoklu varyete analizi için veriler kullanılmadan önce her bir renk puanını ortalama koyu renk gelişimi (AWCD) puanına bölerek veriler normalleştirilmiştir. Daha sonra bu normalleştirilen veriler analiz edilerek karşılaştırılmıştır. Karbon kaynağı kullanın deseni kovaryans matriksi kullanılarak temel bileşenler analizine tabi tutulmuştur. Ayrıca, BIOLOG pleytlerinde bulunan karbon kaynakları polimer, karbonhidrat, karboksilik asitler, aminler-amidler, amino asitler, farklı bileşiklerden oluşan karbon kaynakları olarak altı

gruba ayrılmış, her bir kategori için ortalama abzorban hesaplanmıştır (Zak *et al.* 1994).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Toprak Örneklerinin Yapı ve İçerikleri

Araştırma alanından başlangıç dönemi için 4 farklı lokasyondan olmak üzere 95, ikinci döneminde ise 72 olmak üzere toplam 167 birleşik toprak örneği alınmıştır. Rizosfer toprağı örneklemede bazı durumlarda aynı lokasyon ve aynı popülasyondan alınan numuneler karıştırılarak örnekler hazırlanmıştır. Çalışmada toplam olarak çay için örnek alınan bitki popülasyonu sayısı 220 civarında olmuştur. Araştırma alanının önemli bir kısmı taranmış çay bitki rizosferinden alınan toprak örnekleri laboratuvar ortamına taşınmıştır. Birinci grup örneklerden çay rizosferinde hakim olan 120, ikinci gruptan ise 143 bakteri suşu izole edilmiştir. Bakteri izolasyonu amacıyla alınan toprak örneklerinin çoğunlukla kumlu tın, killi tın ve kumlu killi tın bünyede olduğu belirlenmiştir. Toprak örneklerinden bölge topraklarının genellikle orta ve yüksek asit reaksiyonlu (pH=3,6- 6,5 arasında) olduğu belirlenmiş ve tüm örneklerin ortalaması olarak toprak pH değeri 5,4 olarak hesaplanmıştır. Alınan toprak örneklerinin organik madde miktarı %2,1-8,6 (genellikle yüksek) ve toprak N içeriği ise %0,03-0,34 arasında değişim göstermektedir. Toprak örneklerinin P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn içerikleri ise sırası ile 1,8-25,4 mg/kg, 42-278 mg/kg, 675-2340 mg/kg, 74-330 mg/kg, 7,6-61,4 mg/kg, 0,4-14,3 mg/kg, 0,3-14,6 mg/kg ve 10,5-89,2 mg/kg arasında değişmiştir.

Kuzey İran'ın farklı bölgeleri ve çay yetiştirme alanlarında farklı çay rizosfer topraklarından alınan birinci grup toprak örneklerinde toplam serbest azot fikseri sayısı  $2,2 \pm 0,3 \times 10^5$  ve  $4,9 \pm 0,8 \times 10^7$  kob g/kuru toprak arasında değişim göstermiştir (Varmazyari vd 2014). İkinci dönem örnekleri ile birlikte değerlendirildiğinde ise, toprak örneklerinde toplam bakteri sayısı  $1,28 \times 10^7$  ve  $10,7 \times 10^7$  kob/g toprak, toplam N<sub>2</sub>-fikseri sayısı ise  $0,24 \times 10^6$  ve  $16,4 \times 10^6$  kob/g toprak arasında değişmiştir. Toplam bakteri sayısının toprak organik madde miktarı arttıkça arttığı, rakım yükseldikçe ve asitlik arttıkça azaldığı belirlenmiştir.

#### **4.2. Bakterilerin Yağ Asidi Metil Esterlerine Göre MIS Tanı Sonuçları ve Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları**

Bu araştırmada Hazar Denizinin Güney kıyılarında (Kuzey İran) dört lokasyondan alınan 167 toprak örneği üzerinde çalışılmış ve SİM indeks değeri 0,3'den büyük olan 263 orijinal bakteri izolatının testleri tamamlanmıştır. Bu bakteriler 391 koloniden izole edilmiş olup, tanılanan bakteri oranı %67,3 olmuştur. Tanılanan 102 izolatın (%26,1) MIS benzerlik indeks değeri 0,3'den küçük olduğundan tanı oranı yeterli görölmemiş ve değerlendirilmemiştir. Ayrıca 391 izolatın 26 adedi MIDI sistem tarafından tanımlanamamış veya analiz kabul edilebilir bulunmamıştır.

Biyokimyasal testler ile ilgili sonuçlar Tablo 4.1'de, görseller ise Şekil 4.1'de verilmiştir. Bakterilerin farklı türleri arasında ve aynı türün farklı izolatları arasında biyokimyasal test sonuçları açısından bir değişkenliğin olduğu görölmüştür. Araştırmada iki grup toprak örneği üzerinde çalışılmıştır. Araştırmanın ilk dönemde izole edilen ve ilk dönemde tanılanan 120 bakteriden seçilen toplam 80 ve ikinci dönemde ise 143 strainden seçilen 93 olmak üzere toplam 173 bakteri izolatının özellikleri Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilmiştir. Bu izolatların oksidaz, katalaz, gram reaksiyon, amilaz, sükroz, azot ve fosfat çözüme testleri tamamlanmıştır. Bitki gelişme promotörü olabilecek bakteriler seçilerek depolanmıştır. Testleri tamamlanan ve stok edilen bakteri sayısı ilk toprak örneklerinde 120, ikinci örneklerde de 143 olmak üzere 263 olmuştur. Alınan her bir örnekten araştırma amaçlarına uygun izole edilen, tanılanan ve karakterize edilen bakteri sayısı 1-7 arasında değişmiştir.

İlk dönem örneklerinde karakterize edilen 80 izolattan 40 izolat pozitif, 19 izolat kuvvetli pozitif ve 12 izolat ise zayıf pozitif olmak üzere toplam 71 bakterinin azot fiksedebildiği görölmüştür. Bu gruptan testleri tamamlanan bakterilerden 24'si pozitif, 30'i kuvvetli pozitif ve 8'si zayıf pozitif olmak üzere toplam 62 izolatın fosfat çözebildiği ortaya konulmuştur (Çizelge 4.1).

İkinci grup test sonuçlarına göre izolasyonu ve karakterizasyonu tamamlanan 93 bakteriden 47 izolat pozitif, 34 izolat kuvvetli pozitif ve 3 izolat ise zayıf pozitif olmak üzere toplam 84 bakterinin azot fiksedebildiği görülmüştür. Bu izolatlardan 49 pozitif, 19'u kuvvetli pozitif ve 8'u zayıf pozitif olmak üzere toplam 76 izolatın fosfat çözebildiği ortaya konulmuştur (Çizelge 4.2).

Sonuç olarak toplam 173 izolatın 97'i pozitif, 53 izolat kuvvetli pozitif, 15 izolat ise zayıf pozitif olmak üzere toplam 155 bakterinin azot fiks edebildiği görülmüştür. Karakterize edilen 173 bakteriden 73 pozitif, 49 kuvvetli pozitif ve 16 zayıf pozitif olmak üzere toplam 138 izolatın fosfat çözücülük özelliği gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2). Toplam 173 izolattan 17'inin azot fiksasyon ve fosfat çözme özelliğinin aynı anda kuvvetli pozitif olduğu görülmüştür. Toplam olarak farklı kombinasyonlarda olmak üzere 122 bakteri izolatının aynı anda serbest azot fiksedebildiği ve fosfat çözücülük özelliğinde olduğu belirlenmiştir. Testleri yapılan 173 izolatın 104 adedinde oksidaz, 169 adedinde katalaz, 50 adedinde sükröz testi pozitif bulunmuştur. Karakterize edilen 173 izolatın 42'sinde ise amilaz testi pozitif bulunmuştur.

**Çizelge 4.1.** Asidik çay rizosferinden alınan birinci grup örneklerden izole edilerek tanımlanmış bazı izolatların biyokimyasal özellikleri\*

Kod	MIS tanı sonucu	BI	Bazı biyokimyasal test sonuçları							
			Kr	GR	OKZ	KTZ	AG	SKZ	FÇ	AMZ
AR-1	<i>Bacillus subtilis</i>	0.608	K	+	+	K+	+	-	K+	+
AR-2	<i>Bacillus subtilis</i>	0.407	K	+	-	K+	+	+	+	+
AR-3	<i>Erwinia chrysanthemi</i> Bytp II	0.409	K	-	-	+	+	+	K+	+
AR-4	<i>Lysobacter enzymogenes enzymogenes</i>	0.460	YS	-	Z+	+	+	Z+	K+	-
AR-5	<i>Bacillus pumilus</i>	0.518	K	+	+	K+	K+	-	+	-
AR-6	<i>Bacillus sphaericus</i>	0.346	K	+	Z+	K+	Z+	-	+	-
AR-7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.784	K	-	+	+	Z+	+	K+	-
AR-8	<i>Microbacterium flavescens</i>	0.432	YS	+	-	+	Z+	-	-	-
AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i> P	0.784	K	-	K+	+	+	+	+	-
AR-10	<i>Bacillus pumilus</i>	0.510	K	+	+	+	Z+	+	-	-
AR-11	<i>Acidovorax konjaci</i>	0.803	K	+	+	+	Z+	+	-	-
AR-12	<i>Bacillus subtilis</i>	0.481	K	+	+	+	+	-	+	-
AR-13	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.671	K	-	K+	+	+	Z+	Z+	-
AR-14	<i>Bacillus pumilus</i>	0.530	K	+	+	K+	+	-	+	-
AR-15	<i>Bacillus cereus</i>	0.838	B	+	-	+	+	-	K+	-
AR-16	<i>Bacillus megaterium</i>	0.443	K	+	+	+	K+	+	+	-
AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	0.481	K	+	+	+	+	+	+	-
AR-18	<i>Bacillus pumilus</i>	0.461	K	+	+	K+	+	-	-	+
AR-19	<i>Bacillus pumilus</i>	0.455	K	+	+	+	-	+	Z+	-
AR-20	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0.794	B	+	-	+	K+	+	K+	-
AR-21	<i>Bacillus subtilis</i>	0.432	K	+	-	+	+	+	Z+	+
AR-22	<i>Bacillus pumilus</i>	0.628	K	+	+	+	K+	-	+	-
AR-23	<i>Bacillus coagulans</i>	0.304	K	+	-	+	Z+	-	-	-
AR-24	<i>Bacillus pumilus</i>	0.588	K	+	-	+	K+	-	-	-
AR-25	<i>Bacillus pumilus</i>	0.520	K	+	-	+	+	-	-	-
AR-26	<i>Bacillus cereus</i>	0.576	K	+	Z+	K+	-	-	+	-
AR-27	<i>Bacillus coagulans</i>	0.418	K	+	+	+	-	-	+	-
AR-28	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.667	K	-	Z+	+	K+	-	K+	-
AR-29	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.632	K	+	+	+	+	-	K+	-
AR-30	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.626	K	-	-	+	-	-	K+	-
AR-31	<i>Arthrobacter globiformis</i>	0.640	K	+	-	+	K+	-	K+	-
AR-32	<i>Bacillus megaterium</i> Sbg A	0.461	K	+	+	+	Z+	-	K+	-
AR-33	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0.655	K	+	-	+	K+	-	K+	-
AR-34	<i>Bacillus pumilus</i>	0.510	K	+	+	+	K+	+	Z+	-
AR-35	<i>Bacillus subtilis</i>	0.394	K	+	-	K+	+	+	-	+
AR-36	<i>Bacillus cereus</i>	0.623	BK	+	Z+	+	+	-	-	+
AR-37	<i>Bacillus pumilus</i>	0.520	K	+	+	+	+	-	Z+	-
AR-38	<i>Bacillus pumilus</i>	0.747	K	+	+	-	+	-	-	-
AR-39	<i>Bacillus cereus</i> Sbg A	0.759	K	+	-	+	+	-	K+	+
AR-40	<i>Bacillus megaterium</i>	0.593	K	+	-	+	+	-	-	Z+
AR-41	<i>Bacillus megaterium</i>	0.532	K	+	-	+	K+	-	K+	+
AR-42	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.549	K	-	+	+	+	-	+	-
AR-43	<i>Bacillus subtilis</i>	0.603	K	+	Z+	K+	+	+	+	Z+
AR-44	<i>Bacillus cereus</i> Sbg B	0.522	K	+	Z+	+	K+	+	K+	+
AR-45	<i>Micrococcus luteus</i>	0.371	SK	+	+	+	Z+	-	Z+	-
AR-46	<i>Bacillus megaterium</i>	0.474	K	+	-	+	Z+	-	+	Z+

Çizelge 4.1. (devam)

Kod	MIS tam sonucu	BI	Bazı biyokimyasal test sonuçları							
			Kr	GR	OKZ	KTZ	AG	SKZ	FÇ	AMZ
AR-47	<i>Achromobacter xyl. denitrificans</i>	0.846	SK	-	-	+	Z+	-	K+	-
AR-48	<i>Bacillus cereus</i> sbg B	0.348	K	+	-	+	+	+	-	-
AR-49	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0.808	PK	+	-	+	K+	-	K+	-
AR-50	<i>Bacillus pumilus</i>	0.717	K	+	+	+	+	-	K+	+
AR-52	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.806	K	-	K+	+	+	+	+	-
AR-54	<i>Arthrobacter globiformis</i>	0.769	SK	+	-	+	+	-	-	-
AR-55	<i>Bacillus pumilus</i>	0.485	K	+	-	K+	+	-	K+	-
AR-56	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i>	0.704	K	+	-	K+	K+	Z+	K+	-
AR-57	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0.714	K	+	-	K+	+	+	+	+
AR-58	<i>Bacillus pumilus</i>	0.668	K	+	+	+	+	+	-	-
AR-59	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0.453	B	+	-	+	Z+	+	K+	+
AR-60	<i>Bacillus subtilis</i>	0.490	K	+	Z+	K+	K+	+	+	+
AR-61	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0.355	K	+	+	+	+	-	+	-
AR-62	<i>Pseudomonas putida</i>	0.486	K	-	+	+	+	+	Z+	-
AR-63	<i>Arthrobacter histidinolorans</i>	0.774	S	+	-	-	+	-	Z+	-
AR-64	<i>Bacillus pumilus</i>	0.655	K	+	+	+	+	-	+	-
AR-65	<i>Bacillus coagulans</i>	0.228	K	+	+	+	-	-	K+	+
AR-66	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0.723	BK	-	-	+	K+	-	+	-
AR-67	<i>Bacillus subtilis</i>	0.444	K	+	-	+	+	+	K+	+
AR-68	<i>Bacillus clausii</i>	0.445	T	+	Z+	K+	+	-	K+	Z+
AR-69	<i>Bacillus coagulans</i>	0.372	K	+	-	+	K+	-	+	-
AR-70	<i>Bacillus pumilus</i>	0.583	K	+	+	+	+	-	K+	-
AR-71	<i>Pseudomonas agarici</i>	0.666	K	-	+	+	K+	+	+	-
AR-72	<i>Micrococcus luteus</i>	0.836	K	+	+	+	+	-	K+	+
AR-73	<i>Bacillus pumilus</i>	0.593	K	+	+	+	K+	+	K+	-
AR-74	<i>Micrococcus luteus</i>	0.724	K	+	+	+	K+	-	K+	+
AR-75	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0.493	K	+	-	+	+	+	K+	-
AR-76	<i>Bacillus subtilis</i>	0.578	K	+	Z+	K+	Z+	+	K+	Z+
AR-77	<i>Bacillus pumilus</i>	0.690	K	+	+	+	+	-	-	-
AR-79	<i>Bacillus pumilus</i>	0.674	K	+	+	+	-	-	+	-
AR-80	<i>Pseudomonas chlororapsis</i>	0.848	K	-	+	+	+	Z+	+	-
Toplam pozitif test sonucu sayıları				63	47	78	71	30	62	26

**BI:** benzerlik indeksi; **KR:** Nutrient Agar'da koloni rengi; **GR:** Gram reaksiyon; **OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme; **SKZ:** Sükröz test; **FÇ:** NBRIP-BPB ortamda gelişme; **AMZ:** Amilaz test; **Btyp:** Biotipe; **Sbg:** Subgroup; **B:** Beyaz; **BK:** Beyazımsı krem; **K:** Krem; **S:** Sarı; **YS:** Yeşilimsi sarı; **SK:** Sarımsı krem; **PK:** Pembemsi krem; **T:** Turuncu; **K+:** Kuvvetli pozitif; **+**: Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif



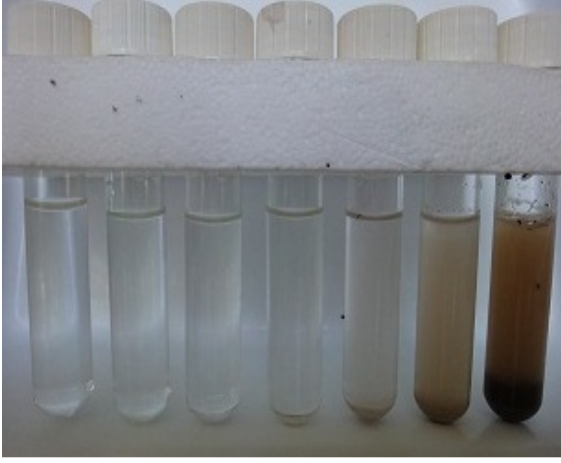
**Çizelge 4.2.** Asidik çay rizosferinden alınan ikinci grup örneklerden izole edilerek tanımlanmış bazı izolatların biyokimyasal özellikleri\*

Kod	MIS Tamı Sonucu	BI	Bazı biyokimyasal test sonuçları							
			Kr	GR	OKZ	KTZ	AG	SKZ	FÇ	AMZ
AR-81	<i>Microbacterium chocolatum</i>	0,576	YS	+	-	+	K+	-	+	-
AR-82	<i>Brevibacillus parabrevis</i>	0,589	K	+	+	+	+	+	Z+	-
AR-83	<i>Pseudomonas putida</i> btyp A	0,873	K	-	K+	+	-	+	+	-
AR-84	<i>Pseudomonas putida</i> btyp B	0,721	K	-	+	+	-	-	K+	-
AR-85	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0,387	BK	+	+	+	K+	+	K+	-
AR-86	<i>Flavobacterium-johnsoniae</i>	0,685	K	-	-	+	+	-	-	-
AR-87	<i>Pseudomonas putida</i> btyp A	0,311	K	-	+	K+	K+	+	+	-
AR-88	<i>Bacillus pumilus</i>	0,658	K	+	Z+	+	K+	+	+	-
AR-89	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,588	K	+	+	+	+	-	+	-
AR-90	<i>Bacillus subtilis</i>	0,508	BK	+	-	+	+	+	+	+
AR-91	<i>Cedecea davisae</i>	0,639	K	-	-	+	K+	-	Z+	-
AR-92	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,692	AS	+	+	K+	K+	+	+	-
AR-93	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,449	AS	+	-	+	K+	-	+	Z+
AR-94	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,562	K	-	K+	+	-	-	+	-
AR-95	<i>Paenibacillus validus</i>	0,586	K	+	+	K+	+	-	Z+	-
AR-96	<i>Photobacterium luminescens</i>	0,321	K	-	-	+	+	-	+	-
AR-97	<i>Bacillus pumilus</i> Sbg A	0,654	SK	+	-	+	K+	-	K+	-
AR-98	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,551	K	+	+	+	-	+	+	+
AR-99	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0,537	K	+	+	+	+	-	+	-
AR-100	<i>Bacillus pumilus</i>	0,575	K	+	Z+	+	+	+	+	-
AR-101	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,425	K	+	-	+	+	+	-	-
AR-102	<i>Bacillus subtilis</i>	0,422	K	+	Z+	K+	K+	+	-	Z+
AR-103	<i>Paenibacillus validus</i>	0,478	K	+	K+	+	+	-	-	+
AR-104	<i>Paenibacillus macquariensis</i>	0,567	K	+	-	K+	+	-	K+	-
AR-105	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0,449	K	-	-	K+	+	-	K+	-
AR-106	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0,745	BK	-	+	Z+	K+	Z+	-	-
AR-107	<i>Photobacterium luminescens</i>	0,450	K	-	-	+	+	-	+	-
AR-108	<i>Bacillus thuringiensis</i>	0,406	BK	+	-	K+	+	-	-	+
AR-109	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,524	YS	+	Z+	+	+	-	+	-
AR-110	<i>Bacillus subtilis</i>	0,500	K	+	+	+	K+	+	K+	+
AR-111	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,490	BK	+	+	+	+	-	K+	-
AR-112	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0,471	BK	+	+	+	K+	+	+	-
AR-113	<i>Bacillus subtilis</i>	0,502	K	+	Z+	K+	K+	+	K+	Z+
AR-114	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,406	BK	+	-	+	+	+	+	-
AR-115	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,642	K	+	+	+	K+	+	-	-
AR-116	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,642	K	+	-	+	K+	-	+	-
AR-117	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,624	K	+	+	+	Z+	-	K+	-
AR-118	<i>Bacillus pumilus</i>	0,520	K	+	+	K+	-	-	+	-
AR-119	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0,509	BK	+	-	+	K+	+	+	-
AR-120	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,564	K	+	Z+	K+	+	+	K+	Z+
AR-121	<i>Bacillus laevolacticus</i>	0,376	K	+	+	+	K+	-	+	-
AR-122	<i>Bacillus coagulans</i>	0,321	K	+	-	+	-	-	+	-
AR-123	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,520	BK	+	+	+	+	+	-	+
AR-124	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,532	K	+	-	+	K+	-	+	-
AR-125	<i>Bacillus subtilis</i>	0,526	K	+	-	+	+	-	-	-
AR-126	<i>Serratia marcescens</i>	0,485	K	-	-	+	+	-	+	-
AR-127	<i>Rahnella aquatilis</i>	0,796	BK	-	-	+	+	+	-	-
AR-128	<i>Proteus vulgaris</i>	0,720	BK	-	-	+	+	+	+	-
AR-129	<i>Bacillus megaterium</i>	0,628	BK	+	-	+	+	Z+	+	Z+
AR-130	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	0,638	S	-	+	K+	-	-	+	+
AR-131	<i>Serratia fonticola</i>	0,912	K	-	-	+	+	-	+	+
AR-132	<i>Proteus vulgaris</i>	0,620	BK	-	+	+	K+	-	K+	-

Çizelge 4.2. (devam)

Kod	MIS Tam Sonucu	BI	Bazı biyokimyasal test sonuçları							
			Kr	GR	OKZ	KTZ	AG	SKZ	FÇ	AMZ
AR-133	<i>Hafnia alvei</i>	0,810	K	-	-	+	K+	-	+	-
AR-134	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0,423	BK	-	+	+	+	-	Z+	-
AR-135	<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>	0,638	S	-	+	+	Z+	-	+	-
AR-136	<i>Burkholderia cepacia</i>	0,578	BK	-	+	Z+	K+	Z+	K+	-
AR-137	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,644	S	-	-	+	+	Z+	Z+	-
AR-138	<i>Roseomonas fauriae</i>	0,359	K	-	Z+	K+	+	-	K+	-
AR-139	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	0,526	K	-	K+	+	+	-	Z+	-
AR-140	<i>Alcaligenes faecalis</i>	0,478	K	-	+	K+	+	-	+	-
AR-141	<i>Rhizobium radiobacter</i>	0,679	K	-	K+	+	K+	-	+	-
AR-142	<i>Lysobacter enzymogenes enzymogenes</i>	0,427	YS	-	Z+	+	+	Z+	Z+	-
AR-143	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0,719	PK	+	-	K+	+	-	+	-
AR-144	<i>Arthrobacter globiformis</i>	0,567	S	+	-	+	+	-	+	-
AR-145	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,597	K	+	-	+	K+	+	-	+
AR-146	<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>	0,622	YS	-	+	K+	Z+	-	+	-
AR-147	<i>Alcaligenes faecalis</i>	0,532	K	-	+	K+	+	-	+	-
AR-148	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,822	K	-	+	+	+	Z+	-	-
AR-149	<i>Pseudomonas putida</i>	0,499	K	-	K+	+	K+	K+	+	-
AR-150	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,618	K	-	K+	Z+	K+	K+	-	-
AR-151	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,592	K	-	K+	K+	+	Z+	K+	-
AR-152	<i>P. syringae maculicola</i>	0,317	K	-	K+	+	K+	-	+	-
AR-153	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,372	YS	-	-	+	+	-	K+	-
AR-154	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,880	K	-	+	+	K+	K+	+	-
AR-155	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,574	AS	-	+	K+	+	Z+	K+	-
AR-156	<i>Bacillus megaterium</i>	0,445	AS	-	-	+	K+	-	K+	Z+
AR-157	<i>Pseudomonas putida</i>	0,499	K	-	+	+	K+	-	-	-
AR-158	<i>Burkholderia cepacia</i>	0,319	K	-	Z+	+	+	-	+	-
AR-159	<i>Pseudomonas putida</i>	0,363	K	-	Z+	+	K+	+	+	-
AR-160	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,414	K	-	K+	K+	K+	+	+	-
AR-161	<i>Pseudomonas putida</i>	0,667	K	-	+	K+	K+	-	-	-
AR-162	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,690	K	-	K+	K+	K+	Z+	+	-
AR-163	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,717	K	-	K+	+	+	+	-	-
AR-164	<i>Pseudomonas putida</i>	0,547	K	-	+	+	K+	K+	+	-
AR-165	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,621	YS	-	Z+	+	+	-	+	-
AR-166	<i>Burkholderia cepacia</i>	0,602	K	-	-	+	+	-	K+	-
AR-167	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,451	K	+	-	-	+	+	+	-
AR-168	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,507	K	+	-	+	+	+	-	-
AR-169	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,586	k	+	-	-	-	-	+	-
AR-170	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,624	BK	+	+	+	-	-	K+	Z+
AR-171	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,546	S	-	-	-	+	-	-	-
AR-172	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,536	YS	-	-	+	+	-	+	-
AR-173	<i>Pseudomonas putida</i>	0,709	K	-	+	+	+	-	+	-
Toplam pozitif test sonucu sayıları				43	64	109	84	45	75	25

**BI:** benzerlik indeksi; **KR:** Nutrient Agar'da koloni rengi; **GR:** Gram reaksiyon; **OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme; **SKZ:** Sükröz test; **FÇ:** NBRIP-BPB ortamda gelişme; **AMZ:** Amilaz test; **Btyp:** Biotipe; **Sbg:** Subgroup; **BK:** Beyazımsı krem; **K:** Krem; **S:** Sarı; **YS:** Yeşilimsi sarı; **SK:** Sarımsı krem; **PK:** Pembemsi krem; **AS:** Açık sarı; **K+:** Kuvvetli pozitif; **+**: Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif



Bakteri sayımı için hazırlanan dilisyonlar



Nutrient Agar (NA) besiyerinde gelişme



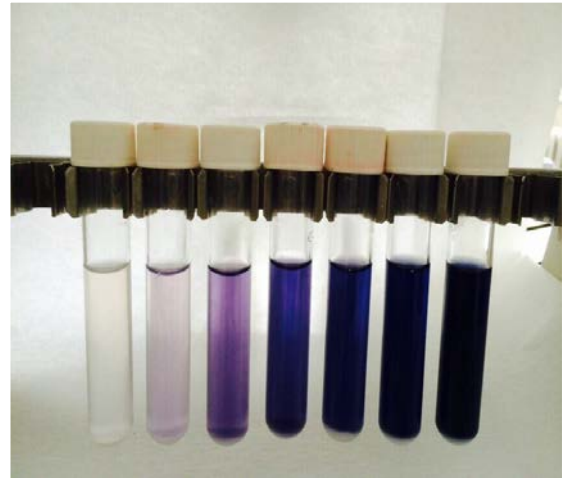
Azotsuz besiyerinde (N-free) gelişme



Katalaz testi (pozitif)



Potasyum hidroksil (KOH) testi (pozitif)



NBRIP-BPB ortamda gelişme

**Şekil 4.1.** Laboratuvar çalışmaları ve biyokimyasal test sonuçları ile ilgili görseller

Bu araştırma kapsamında asidik çay topraklarında kültüre alınabilen toplam dominant azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri potansiyeli ve çeşitliliği Çizelge 4.3'de verilmiştir. Testleri tamamlanan 263 bakterinin, 216'sinin serbest azot fiksedebildiği, 172 izolatın fosfat çözebildiği, 154'unun ise azot fiksedebildiği ve fosfat çözebildiği belirlenmiştir. İzole edilen azot fikseri oranı %82,1 fosfat çözücü bakteri oranı ise %65,4 olmuştur. FAME profil analizi sonuçlarına göre 263 izolatın %46,8'i *Firmicutes*, %32,3'ü *Gammaproteobacteria*, %10,6'sı *Actinobacteria* grubuna ait olduğu görülmüştür. Ayrıca gama, beta ve alfa proteobacteria alt bölümüne ait bakteri oranı ise sırasıyla %32,3, 8,4 ve 1,9 olarak bulunmuştur. Asidik çay rizosfer topraklarında hakim olan ve kültüre alınabilen 263 bakteri izolatının 151 adedinin gram pozitif (%57,4) ve 112 adedinin ise gram negatif (%42,6) bakterilerden oluştuğu ortaya çıkmıştır. İzole edilen ve tanımlanan 151 gram-pozitif bakteri izolatın 123'ü *Firmicutes* ve 28 adedinin *Actinobacteria* türleri olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3).

Gram pozitif popülasyon içinde Bacillales takımı en yaygın grup olup, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus* ve *Kurthia* cinslerine ait türlerden oluşurken, Actinomycetales takımı ise *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Kocuria*, *Brevibacterium*, *Kytococcus* ve *Microbacterium* olmak üzere 7 cinse ait türlerden oluşmuştur.

Asidik çay topraklarından izole edilerek tanımlanan 112 gram negatif izolatın 85 adedi *Gammaproteobacteria*, 27 adedi ise alfa ve beta *Proteobacteria* grubuna ait türlerdir. Gram negatif popülasyon içinde en yaygın olan *P. fluorescens* (13 suş), *P. putida* (10 suş) ve *S. maltophilia* (8 suş) türleridir. Bu bakterileri takiben çay rizosferinde her birinden beşer izolat olmak üzere *B. cepacia* ve *A. faecalis* türleri izole edilirken, bunları her birinden 4'er izolat olmak üzere *A. xylooxidans denitrificans*, *L. enzymogenes enzymogenes*, *P. alcaligenes*, *A. calcoaceticus* ve her birinden 3'er izolat olmak üzere *R. fauriae*, *S. acidaminiphila*, *P. agarici*, *Pseudomonas sp.*, *E. chrysanthemi*, *H. alvei*, *S. fonticola* ve *S. marcescens* türleri izlemiştir. Çay rizosferinde bulunan diğer gram negatif bakteri türleri ise bir veya iki izolatla temsil edilmiştir (Çizelge 4.3).

Gram-pozitif bakteri popülasyonunun içinde en yaygın olan cins *Bacillus* olup, toplam popülasyonun %69,5 oluşturmuştur. Çay rizosferinden izole edilen *Bacillus* cinsine ait en yaygın türler *B. pumilus* (23 suş, %21,9), *B. subtilis* (22 suş, %21,0), *B. licheniformis* (17 suş, %16,2), *B. laevolacticus* (14 suş, %13,3) ve *B. megaterium* (7 suş, %6,7) olmuştur. Bu grupta yaygın olan diğer türlerse *B. cereus* ve *Bacillus coagulans* türleridir.

**Çizelge 4.3.** Asidik çay topraklarında kültüre alınabilen azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri potansiyeli ve çeşitliliği

Şube	Sınıf	Takım	Tür	T(A,F) <sup>a</sup>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhizobiales</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>	2 (2,2)
			<i>Roseomonas fauriae</i>	3 (3,2)
	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Burkholderiales</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	5 (4,4)
			<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	2 (2,1)
			<i>Ralstonia eutropha</i>	2 (2,1)
			<i>Alcaligenes faecalis</i>	5 (3,2)
			<i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	4 (3,3)
			<i>Acidovorax facilis</i>	2 (1,2)
			<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Xanthomonadales</i>
	<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>	3 (2,2)		
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	8 (7,6)		
	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>		4 (3,2)
		<i>Pseudomonas agarici</i>		3 (2,2)
		<i>Pseudomonas chlororaphis</i>		2 (2,1)
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>		13 (11,9)
		<i>Pseudomonas putida</i>		10 (8,7)
		<i>Pseudomonas stutzeri</i>		2 (2,1)
		<i>Pseudomonas syringae atrofaciens</i>		2 (2,1)
		<i>Pseudomonas sp.</i>		3 (2,2)
		<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		4 (3,2)
<i>Enterobacteriales</i>		<i>Erwinia chrysanthemi</i>		3 (2,2)
	<i>Hafnia alvei</i>	3 (3,3)		
	<i>Photobacterium luminescens</i>	2 (2,2)		
	<i>Proteus vulgaris</i>	2 (2, 2)		
	<i>Rahnella aquatilis</i>	2 (1,1)		
	<i>Serratia fonticola</i>	3 (3,2)		
	<i>Serratia marcescens</i>	3 (3,2)		
	<i>Serratia plymuthica</i>	2 (2,1)		
	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillus atrophaeus</i>
<i>Bacillus cereus</i>				6 (5,4)
<i>Bacillus coagulans</i>				6 (2,4)
<i>Bacillus laevolacticus</i>				14 (13,7)
<i>Bacillus licheniformis</i>				17 (13,11)
<i>Bacillus</i>				7 (7,6)
<i>Bacillus pumilus</i>				23 (20,16)
<i>Bacillus sp.</i>				2 (2,1)
<i>Bacillus sphaericus</i>				2 (1,1)
<i>Bacillus subtilis</i>				22 (19,12)
<i>Paenibacillus larvae</i>				2 (2,1)
<i>Paenibacillus lentimorbus</i>				2 (2,1)
<i>Paenibacillus macquariensis</i>				3 (2,3)
<i>Paenibacillus polymyxa</i>				5 (5,4)
<i>Paenibacillus validus</i>				3 (2,2)
<i>Brevibacillus choshinensis</i>				2 (2,1)
<i>Actinobacteria</i>				<i>Actinobacteria</i>
	<i>Arthrobacter globiformis</i>	5 (4,3)		
	<i>Arthrobacter histidinovorans</i>	2 (1,1)		
	<i>Micrococcus luteus</i>	5 (4,3)		
	<i>Micrococcus lylae</i>	3 (3,2)		
	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	3 (3,3)		
Diğerleri <sup>b</sup>			22 (15,13)	
Kütüphanede yok (no match)			26	
Tanılanamamış veya tanı yetersiz <sup>c</sup>			102	
<b>Toplam</b>			<b>391(216,172)</b>	

<sup>a</sup> T(A,F) toplam izolat sayısı Parantez içindeki sayılar sırasıyla türlere ait azot fikseri ve fosfat çözücü suş sayısını göstermektedir; <sup>b</sup> Diğerleri olarak: *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Acidovorax*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Enterobacter*, *Kocuria*, *Kurthia*, *Kytococcus*, *Microbacterium*, *Pantoea*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Raoultella*, *Rhodococcus* and *Xanthomonas* cinslerine ait azot fikseri ve fosfat çözücü bir veya iki tür izole edilmiştir. <sup>c</sup> Benzerlik indeksi (SİM index) < 0.3 olan izolatlar

Gram pozitif popülasyon içinde ikinci derecede en yaygın olan cins *Paenibacillus* (%9,9) olup bu cinse ait en yaygın türler ise *P. polymyxa* (5 suş), *P. validus*, *P. macquariensis*, *P. lentimorbus* ve *P. larvae* olmuştur. Diğer gram pozitif bakteriler ise *M. luteus*, *M. lylae*, *R. erythropolis*, *B. choshinensis* olarak tanılanmıştır. Çay rizosferinden izole edilen *Arthrobacter* türleri ise *A. globiformis*, *A. agilis*, *A. histidinolovorans*, *A. crystallopoietes* ve *A. ramosus* türleridir.

Çay rizosferinden seçilen 391 bakteri kolonisinden izole edilen 34 cins ve 72 farklı türe ait bakterinin 216'sı (%55,5) serbest azot fiks ederken, 172 adedinin (%44,0) fosfor çözme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik testler izole edilerek tanılanan 263 bakteri suşunun oksidaz, katalaz, sükroz ve amilaz aktivite oranının %54,8, %87,5, %27,8 ve %24,7 oranında pozitif olduğu görülmüştür.

Çay rizosferinden izole edilerek tanılanan 263 bakteri izolatu içinde azot fiksasyon ve fosfat çözme oranı sırası ile %82,1 ve %65,4 olmuştur. Toplam azot bağlayan bakteriler içinde *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Stenotrophomonas*, *Arthrobacter*, *Serratia*, *Micrococcus* ve *Burkholderia* cinslerinin oranı sırasıyla %39,4, %15,3, %6,0, %4,2, %3,7, %3,7, %3,2 ve %2,7 olurken; bu cinslere giren toplam fosfor çözücü bakteri oranları sırasıyla %37,8, %15,1, %6,4, %4,7, %3,5, %2,9, %2,9 ve %2,9 olduğu belirlenmiştir. Farklı bakteri grupları içerisinde *Firmicutes*, *Gammaproteobacteria* ve *Actinobacteria* guruplarına giren toplam azot fikseri oranı sırası ile %47,2, 33,8 ve 10,2 ve fosfat çözücü bakteri oranı ise sırasıyla %45,9, 35,5 ve 10,5 olarak belirlenmiştir. Çay rizosferinde hakim olan azot fikseri ve fosfat çözücü *Bacillus* türlerinin sırasıyla *B. pumilus* (20 ve 16 suş), *B. subtilis* (19 ve 12 strain), *B. licheniformis* (13 ve 11 strain), *B. laevolacticus* (13 ve 7 strain), *B. megaterium* (7 ve 6 strain), *B. cereus* (5 ve 4 strain), *B. coagulans* (2 ve 4 strain), *B. atropheus* (2 ve 2 strain) ve *B. sphaericus* (1ve 1 strain) olduğu belirlenmiştir. Çay rizosferinden izole edilen 5 adet *P. polymyxa* izolatu'nun tamamının azot bağladığı ve 4'ünün ise fosfor çözücü olduğu görülmüştür. Ayrıca, Gram pozitif azot fiks eden bakteriler arasında her birinden 4'er izolat olmak üzere *A. globiformis* ve *M. luteus*; her birinden 3'er izolat olmak üzere *M. lylae* ve *R. erythropolis* ve her birinden 2'şer izolat olmak üzere *P. larvae*, *P. lentimorbus*, *P.*

*macquariensis*, *P. validus*, *B. choshinensis* ve *A. agilis* izole edilmiştir. Gram pozitif bakterilerin her birinden 4 izolat olmak üzere *P. macquariensis*, *A. globiformis*, *M. luteus* ve *R. erythropolis* ve her birinden 2'şer olmak üzere *P. validus* ve *M. lylae* türü izole edilmiştir (Çizelge 4.3).

Gram negatif azot bağlayıcı ve fosfor çözücü en yaygın bakterilerin başında *Pseudomonas* cinsine ait *P. fluorescens* (sırası ile 11 ve 9 strain), bulunurken bunu sırasıyla *P. putida* (8 ve 7 strain), *P. alcaligenes* (3 ve 2 strain), *Pseudomonas* sp. (2 ve 2 strain), *P. agarici* (2 ve 2 strain), *P. chlororaphis* (2 ve 1 strain) ve *P. stutzeri* (2 ve 1 strain) izlemiştir. Çay rizosferinde hakim olan diğer *Gammaproteobacteria* grubuna giren tür ise toplam 8 adet olarak izole edilmiş ve bunların 5 adedinin aynı anda azot fiksedip fosfor çözebildiği, 2'sinin sadece azot bağlarken birinin fosfor çözebildiği ortaya konulan *S. maltophilia* türü olduğu görülmüştür. Çay rizosferinden 4 azot fikseri ve fosfat çözücü *B. cepacia* izole edilirken, azot fiksetme ve mineral fosfat çözme özelliğine sahip üçer adet *A. xylosoxidans*, *L. enzymogenes enzymogenes* ve *H. alvei* izole edilmiştir. Çay rizosfer topraklarında hakim olan diğer önemli azot fikseri ve fosfat çözücü  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ -proteobacteria türlerinin ise *R. fauriae*, *A. faecalis*, *A. calcoaceticus*, *S. fonticola*, *S. marcescens*, *R. radiobacter*, *S. acidaminiphila*, *E. chrysanthemi*, *P. luminescens*, *P. vulgaris*, *S. plymuthica*, *B. pyrrocinia*, *R. eutropha* ve *A. facilis* olduğu görülmüştür.

### 4.3. Bakterilerin BIOLOG Analizi Sonuçları

Seçilen gram pozitif *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. megaterium* ve *B. licheniformis* strainlerinin BIOLOG GP2 analizine göre karbon kaynağı kullanımı Çizelge 4.4'de, BIOLOG GN2 pleytlerde gerçekleştirilen gram pozitif *P. putida*, *P. fluorescens*, *S. maltophilia* ve *B. cepacia* strainlerinin karbon kaynağı kullanımı ise Çizelge 4.5'de verilmiştir.



**Çizelge 4.4.** BIOLOG GP2 Mikroplate analizinde gram pozitif bakterilerin karbon kaynağı kullanımını oranları (%)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>B. pumilus</i> (23 strains)	A <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0	0	57	22	0	0	48	0	100	17	17
	B	30	0	100	100	100	0	17	0	96	9	100	0
	C	0	0	0	30	100	100	0	0	0	0	74	0
	D	100	0	13	100	22	0	100	100	0	96	0	100
	E	22	100	48	0	17	26	0	13	17	0	39	17
	F	0	17	22	30	100	91	78	22	100	9	26	22
	G	9	52	65	35	100	100	26	13	91	17	57	100
	H	100	78	91	100	91	0	35	0	0	0	0	17
<i>B. subtilis</i> (22 strains)	A	0	0	0	100	32	0	0	18	77	91	5	64
	B	55	0	100	100	100	0	64	0	100	27	100	0
	C	0	0	100	100	100	100	10	0	0	0	91	86
	D	100	0	64	100	10	0	82	100	0	100	0	100
	E	36	100	100	0	32	5	0	5	50	0	10	23
	F	0	10	23	14	91	91	23	0	100	23	14	27
	G	0	27	36	10	100	100	10	10	86	18	41	100
	H	64	59	77	95	100	0	0	0	0	0	0	41
<i>B. megaterium</i> (7 strains)	A	0	86	71	100	86	0	0	57	57	86	0	43
	B	100	0	100	100	100	0	71	0	100	57	100	43
	C	0	0	100	100	100	100	57	86	0	0	100	71
	D	71	0	86	100	86	0	100	71	0	71	0	100
	E	14	100	100	0	100	0	0	86	57	0	86	86
	F	43	71	86	0	100	71	71	0	100	86	86	47
	G	29	86	57	100	100	100	43	71	71	0	57	71
	H	100	57	100	100	100	0	29	71	0	0	0	71
<i>B. licheniformis</i> (14 strains)	A	0	43	50	100	86	0	0	21	14	100	71	86
	B	64	0	100	100	100	0	64	0	93	93	100	36
	C	0	0	93	100	100	100	57	29	0	0	100	79
	D	100	0	93	100	36	0	100	100	0	100	0	100
	E	79	100	100	0	57	64	0	29	64	0	86	64
	F	0	29	43	50	100	100	36	36	100	64	71	64
	G	50	86	71	93	100	100	79	57	93	0	79	100
	H	100	100	100	100	100	0	43	14	0	0	0	100

<sup>a</sup>Pozitif sonuç veren izolatların %oranı

<sup>b</sup>BIOLOG GP MicroPlate: **A1:** water, **A2:**  $\alpha$ -cyclodextrin, **A3:**  $\beta$ -cyclodextrin, **A4:** dextrin, **A5:** glycogen, **A6:** inulin, **A7:**mannan, **A8:**tween 40, **A9:**tween 80, **A10:**N-acetyl-D-glucosamine, **A11:**N-acetyl- $\beta$ -D-mannosamine, **A12:** amygdalin, **B1:** L-arabinose, **B2:** D-arabitol, **B3:** arbutine, **B4:** D-cellobiose, **B5:** D-fructose, **B6:** L-fucose, **B7:** D-galactose, **B8:** D-galacturonic acid, **B9:** gentiobiose, **B10:** D-gluconic acid, **B11:**  $\alpha$ -D-glucose, **B12:** m-inositol, **C1:**  $\alpha$ -D-lactose, **C2:** lactulose, **C3:** maltose, **C4:** maltotriose, **C5:** D-mannitol, **C6:** D-mannose, **C7:** D-melezitose, **C8:** D-melibiose, **C9:**  $\alpha$ -methyl-D-galactoside, **C10:**  $\beta$ -methyl-D-galactoside, **C11:** 3-methyl-glucose, **C12:**  $\alpha$ -methyl-D-glucoside, **D1:**  $\beta$ -methyl-D-glucoside, **D2:**  $\alpha$ -methyl-D-mannoside, **D3:** palatinose, **D4:** D-psicose, **D5:** D-raffinose, **D6:** L-rhamnose, **D7:** D-ribose, **D8:** salicin, **D9:** sedoheptulosan, **D10:** D-sorbitol, **D11:** stachyose, **D12:** sucrose, **E1:** D-tagatose, **E2:** D-trehalose, **E3:** turanose, **E4:** xylitol, **E5:** D-xylose, **E6:** acetic acid, **E7:**  $\alpha$ -hydroxybutyric acid, **E8:**  $\beta$ -hydroxybutyric acid, **E9:**  $\gamma$ -hydroxybutyric acid, **E10:** p-hydroxy-phenylacetic acid, **E11:**  $\alpha$ -ketoglutaric acid, **E12:**  $\alpha$ -ketovaleric acid, **F1:** lactamide, **F2:** D-lactic acid methyl ester, **F3:** L-lactic acid, **F4:** D-malic acid, **F5:** L-malic acid, **F6:** pyruvic acid methyl ester, **F7:** succinic acid mono-methyl ester, **F8:** propionic acid, **F9:** pyruvic acid, **F10:** succinamic acid, **F11:** succinic acid, **F12:** N-acetyl L-glutamic acid, **G1:** L-alaninamide, **G2:** D-alanine, **G3:** L-alanine, **G4:** L-alanyl-glycine, **G5:** L-asparagine, **G6:** L-glutamic acid, **G7:** glycyl-L-glutamic acid, **G8:** L-pyroglytamic acid, **G9:** L-serine, **G10:** putrescine, **G11:** 2,3-butanediol, **G12:** glycerol, **H1:** adenosine, **H2:** 2'-deoxy adenosine, **H3:** inosine, **H4:** thymidine, **H5:** uridine, **H6:** adenosine-5'-monophosphate, **H7:** thymidine-5'-monophosphate, **H8:** uridine-5'-monophosphate, **H9:** D-fructose-6-phosphate, **H10:**  $\alpha$ -D-glucose-1-phosphate, **H11:** D-glucose-6-phosphate, **H12:** D-L- $\alpha$ -glycerol phosphate.

**Çizelge 4.5.** BIOLOG GN2 Microplate analizinde gram negatif bakterilerin karbon kaynağı kullanım oranları (%)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>P. fluorescens</i> (13 strains)	A <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0	15	69	77	69	0	46	0	92	77	0
	B	0	100	15	100	0	100	54	0	0	0	85	100
	C	15	0	77	0	0	38	46	46	0	0	100	69
	D	85	100	100	77	62	38	92	77	38	77	100	0
	E	0	0	77	100	69	100	100	100	100	100	0	100
	F	100	54	38	92	100	100	100	100	100	100	23	54
	G	92	92	85	62	31	100	85	38	100	92	85	92
	H	100	62	54	0	31	85	85	0	100	31	0	54
<i>P. putida</i> (10 strains)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	A	0	0	20	80	80	100	0	20	0	100	70	0
	B	0	100	0	100	0	100	0	0	0	0	80	100
	C	0	0	70	0	0	0	0	0	0	0	100	100
	D	100	100	100	100	70	10	100	80	20	80	100	0
	E	0	0	30	100	70	100	90	100	100	90	30	100
	F	100	100	20	100	100	100	80	100	100	100	0	90
	G	90	80	90	80	30	100	100	30	100	80	80	100
H	80	30	30	0	30	100	80	0	90	0	0	40	
<i>B. cepacia</i> (5 strains)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	A	0	0	60	60	60	80	60	100	100	100	100	60
	B	0	100	100	100	0	100	100	0	0	80	100	100
	C	0	0	40	60	0	100	60	100	80	0	100	100
	D	100	100	100	100	100	80	100	80	100	80	100	0
	E	0	0	100	100	60	100	60	100	100	100	100	100
	F	80	40	40	40	100	100	100	100	100	100	20	60
	G	100	100	40	0	100	100	100	40	100	60	40	100
H	80	0	0	0	100	40	100	0	80	60	0	100	
<i>S. maltophilia</i> (8 strains)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	A	0	0	100	0	37	50	100	100	0	0	0	100
	B	0	100	0	50	100	100	0	100	100	100	25	100
	C	100	75	75	50	0	25	87	87	62	0	100	87
	D	100	62	100	25	0	0	0	0	0	100	62	0
	E	0	0	100	100	100	100	87	100	0	0	0	100
	F	87	0	0	50	75	75	100	62	62	100	75	100
	G	25	0	75	0	25	62	0	0	100	87	25	0
H	0	62	100	0	0	0	0	0	0	0	0	62	

<sup>a</sup>Pozitif sonuç veren izolatların oranı %

<sup>b</sup>BIOLOG GN MicroPlate: **A1:** water, **A2:** α-cyclodextrin, **A3:** dextrin, **A4:** glycogen, **A5:** tween 40, **A6:** tween 80, **A7:** N-acetyl-D-galactosamine, **A8:** N-acetyl-D-glucosamine, **A9:** Adonitol, **A10:** L-arabinose, **A11:** D-arabitol, **A12:** D-cellobiose, **B1:** i-erytritol, **B2:** D-fructose, **B3:** L-fucose, **B4:** D-galactose, **B5:** gentiobiose, **B6:** α-D-glucose, **B7:** m-inositol, **B8:** α-D-lactose, **B9:** lactulose, **B10:** maltose, **B11:** D-mannitol, **B12:** D-mannose, **C1:** D-melibiose, **C2:** β-methyl-D-glucoside, **C3:** D-psiçose, **C4:** D-raffinose, **C5:** L-rhamnose, **C6:** D-sorbitol, **C7:** sucrose, **C8:** D-trehalose, **C9:** turanose, **C10:** xylitol, **C11:** pyruvic acid methyl ester, **C12:** succinic acid mono- methyl ester, **D1:** acetic acid, **D2:** Cis-acetic acid, **D3:** citric acid, **D4:** formic acid, **D5:** D-galactonic acid lactone, **D6:** D-galacturonic acid, **D7:** D-gluconic acid, **D8:** D-glucosaminic acid, **D9:** D-glucuronic acid, **D10:** α-hydroxybutyric acid, **D11:** β-hydroxybutyric acid, **D12:** γ-hydroxybutyric acid, **E1:** p-hydroxy-phenylacetic acid, **E2:** itaconic acid, **E3:** α-ketobutyric acid, **E4:** α-keto glutaric acid, **E5:** α-keto valeric acid, **E6:** D,L-lactic acid, **E7:** malonic acid, **E8:** propionic acid, **E9:** quinic acid, **E10:** D-saccharic acid, **E11:** sebacic acid, **E12:** succinic acid, **F1:** bromosuccinic acid, **F2:** succinamic acid, **F3:** glucuronamide, **F4:** L-alaninamide, **F5:** D-alanine, **F6:** L-alanine, **F7:** L-alanyl-glycine, **F8:** L-asparagine, **F9:** L-aspartic acid, **F10:** L-glutamic acid, **F11:** glycyl-L-aspartic acid, **F12:** glycyl-L-glutamic acid, **G1:** L-histidine, **G2:** hydroxy-L-proline, **G3:** L-leucine, **G4:** L-omithine, **G5:** L-phenylalanine, **G6:** L-proline, **G7:** L-pyroglytamic acid, **G8:** D-serine, **G9:** L-serine, **G10:** L-threonine, **G11:** D,L-carnitine, **G12:** γ-aminobutyric acid, **H1:** urocanic acid, **H2:** inosine, **H3:** uridine, **H4:** thymidine, **H5:** phenylethyl-amine, **H6:** putrescine, **H7:** 2-aminoethanol, **H8:** 2,3-butanediol, **H9:** glycerol, **H10:** D,L,α-glycerol phosphate, **H11:** α-D-glucose-1 phosphate, **H12:** D-glucose-6 phosphate.

İzole edilerek tanılanmış biyokimyasal testlerde ve bir kısmı çay fidanlarında kurulan ön denemelerde olumlu sonuçlar veren bakterilerin BIOLOG testleri yapılmıştır. Bu amaçla çay rizosferinde yaygın olarak bulunan gram pozitif bakterilerden *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* türlerinden sırasıyla 23, 22, 10 ve 7 izolat; gram negatif bakterilerden *P. fluorescens*, *P. Putida*, *S. Maltophilia* ve *B. cepacia* türlerinden sırasıyla 13, 10, 8 ve 5 izolatın BIOLOG sistemine göre karbon kaynağı kullanım profili çıkarılmıştır. Gram-pozitif (GP2) ve Gram-negatif (GN2) pleytlerde ortak olan karbon kaynaklarını kullanan toplam azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri sayısı ve yüzde oranları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6'da GP2 ve GN2 pleytlerde ortak olan karbon kaynakları ve bu kaynakların gram pozitif ve gram negatif bakteriler tarafından kullanılma oranları verilmiştir. GP2 ve GN2 mikropleytlere bulunan ve ortak olan 62 karbon kaynağının yaklaşık yarısı gram negatif ve gram pozitif strainler tarafından kullanılabilmiştir. GP2 ve GN2 pleytlerde ortak olan karbon kaynaklarından amid-amin grubunda bulunan 3 adet karbon kaynağının hiçbiri test edilen toplam bakteriler tarafından %50'nin üzerinde kullanılmazken, bir polimerik (dekstrin), 16 karbonhidrat (N-asetil-D-glukozamin, L-arabinoz, D-sellobiyoz, D-fruktoz, D-galaktoz, gentiobioz,  $\alpha$ -D-glikoz, maltoz, D-mannitol, D-mannoz,  $\beta$ -metil-D-glukozit, D-psikoz, D-sorbitol, sakaroz, D-trehaloz ve turanoz), 7 karboksilik asit (metil piruvat, mono-metil-suksinat, D-glukonik,  $\alpha$ -ketoglutarik,  $\alpha$ -ketovaleric, L-laktik ve süksinik asit), 6 amino asit (D-alanin, L-alanin, L-alanil-glisin, L-asparagin, L-glutamik asit ve L-serin) ve 4 bileşik moleküllü karbon kaynağı (inosin, uridin, timidin ve gliserol) test edilen Gram pozitif ve Gram negatif izolatların en az yarısı tarafından karbon kaynağı olarak kullanılabilmiştir.

GN2 ve GP2 mikropleyt ortak olan maddelerden 33 adedi bakterilerin büyük çoğunluğu tarafından kullanılabilirken, 17 madde gram negatif veya gram pozitif bakterilerin %50 daha azı tarafından ancak kullanılabilmiştir. Bu maddelerden, D-sellobiyoz, gentiobioz, maltoz, D-sorbitol, sükroz ve inosin gram negatif bakterilerin sadece %33-44'ü tarafından ancak kullanılmıştır.

**Çizelge 4.6.** Gram pozitif (GP2) ve Gram negatif (GN2) microplate ortak olan karbon kaynaklarını kullanan toplam azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri sayısı ve yüzdeleri

Karbon kaynağı grubu	Karbon kaynağı	Gram pozitif <sup>a</sup>	Gram negatif	Bütün izolatlar
<b>Polymers (5)</b>	<i>α</i> -cyclodextrin	10 (15) <sup>b</sup>	0	10 (10)
	Dextrin	56 (85)	15 (42)	71 (70)
	Glycogen	30 (45)	20 (56)	50 (49)
	Tween 40	22 (33)	24 (67)	46 (45)
	Tween 80	23 (35)	27 (75)	50 (49)
<b>Carbohydrates (25)</b>	<i>N</i> -acetyl-D-glucosamine	63 (95)	21 (58)	84 (82)
	L-arabinose	35 (53)	27 (75)	62 (61)
	D-arabitol	0	22 (61)	22 (22)
	D-cellobiose	66 (100)	11 (30)	77 (75)
	D-fructose	52 (79)	36 (100)	88 (86)
	L-fucose	0	7 (19)	7 (7)
	D-galactose	32 (48)	32 (89)	64 (63)
	Gentiobiose	64 (97)	13 (36)	77 (75)
	<i>α</i> -D-glucose	66 (100)	36 (100)	102 (100)
	<i>m</i> -inositol	8 (12)	12 (33)	20 (20)
	<i>α</i> -D-lactose	0	8 (22)	8 (8)
	Lactulose	0	8 (22)	8 (8)
	Maltose	42 (64)	12 (33)	54 (53)
	D-mannitol	66 (100)	26 (72)	92 (90)
	D-mannose	66 (100)	36 (100)	102 (100)
	D-melibiose	10 (15)	10 (28)	20 (20)
	<i>β</i> -methyl-D-glucoside	64 (97)	6 (17)	70 (69)
	D-psicose	66 (100)	25 (69)	91 (89)
	D-raffinose	18 (27)	7 (19)	25 (24)
	L-rhamnose	0	0	0
	D-sorbitol	63 (95)	12 (33)	75 (74)
	Sucrose	66 (100)	16 (44)	82 (80)
D-trehalose	66 (100)	18 (50)	84 (82)	
Turanose	54 (82)	9 (25)	63 (62)	
Xylitol	0	0	0	
<b>Carboxylic acids (13)</b>	Methyl pyruvate	60 (91)	32 (89)	92 (90)
	Mono-methyl-succinate	33 (50)	31 (86)	64 (63)
	Acetic acid	16 (24)	34 (94)	50 (49)
	D-galacturonic acid	0	10 (28)	10 (10)
	D-gluconic acid	25 (38)	27 (75)	52 (51)
	<i>α</i> -hydroxybutyric acid	0	30 (83)	30 (29)
	<i>β</i> -hydroxybutyric acid	14 (21)	33 (92)	47 (46)
	<i>γ</i> -hydroxybutyric acid	28 (42)	0	28 (27)
	<i>α</i> -ketoglutaric acid	29 (44)	36 (100)	65 (62)
	<i>α</i> -ketovaleric acid	24 (35)	27 (84)	44 (64)
	L-lactic acid	22 (33)	36 (100)	58 (57)
	Propionic acid	10 (15)	36 (100)	46 (45)
	Succinic acid	25 (33)	36 (100)	61 (60)
<b>Amide-amines (3)</b>	Succinamic acid	22 (33)	19 (53)	41 (40)
	L-alaninamide	11 (17)	28 (78)	39 (38)
	Putrescine	8 (12)	23 (64)	31 (30)
<b>Amino acids (8)</b>	D-alanine	36 (55)	34 (94)	70 (69)
	L-alanine	37 (56)	34 (94)	71 (70)
	L-alanyl-glycine	30 (45)	34 (94)	64 (63)
	L-asparagine	66 (100)	33 (92)	99 (97)
	L-glutamic acid	66 (100)	36 (100)	102 (100)
	Glycyl-L-glutamic acid	22 (33)	27 (75)	49 (48)
	L-pyroglutamic acid	18 (27)	26 (72)	44 (43)
	L-serine	58 (88)	36 (100)	94 (92)
<b>Miscellaneous (8)</b>	Inosine	59 (89)	16 (44)	75 (74)
	Uridine	64 (97)	18 (50)	82 (80)
	Thymidine	64 (97)	0	64 (63)
	2,3-butanediol	37 (56)	0	37 (36)
	Glycerol	64 (97)	26 (72)	90 (88)
	D,L, <i>α</i> -glycerol phosphate	32 (48)	7 (19)	39 (38)
	<i>α</i> -D-glucose-1 phosphate	0	0	0
	D-glucose-6 phosphate	0	21 (58)	21 (21)

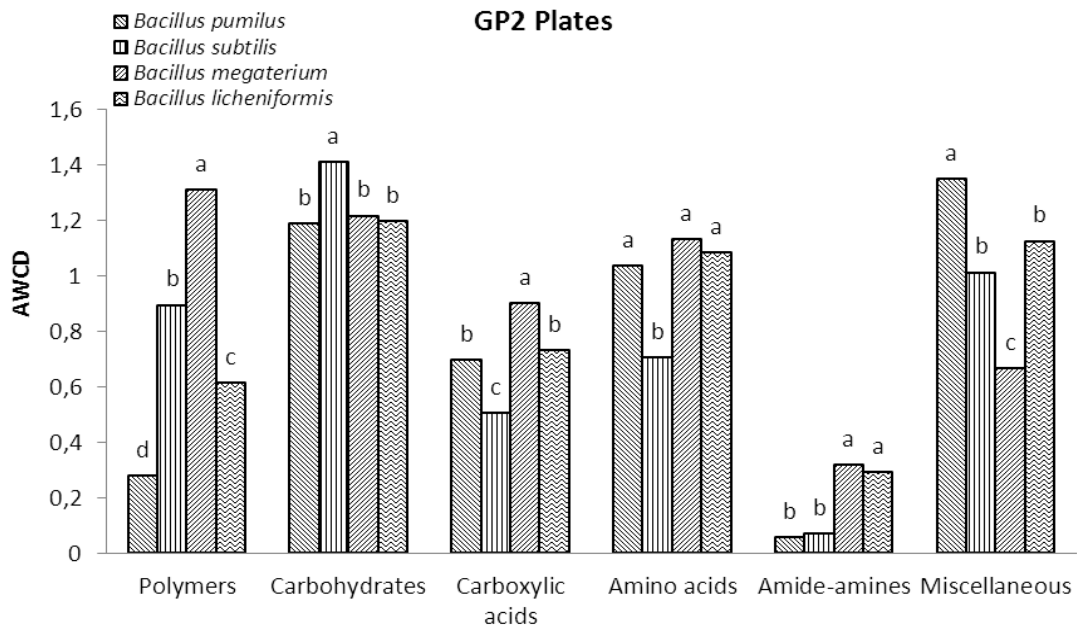
<sup>a</sup>Toplam 216 azot fikseri ve 172 fosfor çözücü bakteri arasından seçilmiş 66 gram-pozitif ve 36 gram-negatif suş test edilmiştir. Parantez içindeki rakamlar toplam test edilen bakterilerin ilgili karbon kaynağını kullanım yüzdesini göstermektedir.

Ayrıca bu maddelerden D-galaktoz, D-glukonik asit,  $\alpha$ -ketoglutarik asit,  $\alpha$ -ketovaleric asit, L-laktik asit, süksinik asit ve L-alanil-glisin ise gram pozitif bakterilerin %33-48'i tarafından kullanılabilmiştir (Çizelge 4.6). Bu maddelerden  $\beta$ -metil-D-glukoz ve turanoz gram negatif izolatların %25'den daha azı tarafından ancak kullanılırken, timidin ve 2,3-bütandiol gram negatif izolatların hiç biri tarafından kullanılmamıştır. GN2 ve GP2 pleytlerdeki ortak olan maddelerden glikojen, tween 40, tween 80, asetik asit,  $\beta$ -hidroksibutirik asit, propiyonik asit, süksinamik asit, L-alaninamid, putresin, glisil-L-glutamik asit ve L-piroglütamik asit gram negatif izolatların %50'den fazlası tarafından kullanılabilirken, gram pozitif izolatların %50'den daha azı tarafından ancak kullanılabilmiştir (Çizelge 4.6).

Bakterilerin farklı karbon kaynaklarını oksidize edebilme özellikleri ve BIOLOG sonuçları temel bileşenler analizleri (principal component analizi, PCA) göre analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ilk 5 temel toplam varyasyondaki payı gram pozitif mikropleytde sırası ile %24, 11, 7, 6 ve 5; gram negatif mikropleytde ise %34, 11, 6, 5 ve 4 olarak bulunmuştur. Gram pozitif ve gram negatif mikroplelerde kovaryetik varyansın %90'nını sırasıyla ilk 22 ve 18 temel birleşen ile açıklanabilmiştir. PC analiz sonuçlarına göre gram pozitif pleytlerde ilk 5 temel bileşen (PC) ile toplam çoklu varyasyonun %53'ü ancak açıklanabilmiştir.

Gram pozitif pleytlerde test edilen bakterilerin karbon kaynağı kullanım analiz sonuçlarına göre ilk birleşen (PC1) ekseninde arbutine, D-früktoz,  $\beta$ -metil-D-glukozit, D-manitol, D-psikoz, salisin, timidin ve üridin karbon kaynaklarının en yüksek ve negatif katsayılar aldığı ve  $\beta$ -siklodekstrin, m-inositol,  $\alpha$ -ketoglutarik asit,  $\alpha$ -ketovaleric asit, L-alanil-glisin, L-piroglutamik asit, D-laktik asit metil ester ve üridin-5'-monofosfat kaynaklarının en yüksek ve pozitif katsayılarla temsil edildiği görülmüştür. Analiz sonuçlarına göre PC2 maltotrioz ve turanoz, PC3 L-alanin ve urokanik asit. PC4 ve PC5'in ise D-glukonik asit, glisil-L-glutamik asit, D-alanin ve L-fenilalanin ile ilişkili bulunduğu ortaya konulmuştur.

Bu araştırmada *B. licheniformis* türünden 12, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* ve *P. putida* türlerinin her birinden 10 strain; *B. megaterium* türünden 7, *S. maltophilia* ve *B. cepacia* türlerinden ise 5'er strainin tek tek karbon kullanım profilleri Çizelge 4.7-4.14'de verilmiştir. BIOLOG analiz sonuçlarına göre test edilen azot fikseri veya fosfat çözücü 23 *B. pumilus* izolatlarının tamamı N-asetil-D-glukozamin, arbutine, D-sellobiyoz, D-fruktoz, D-mannitol, D-mannoz,  $\beta$ -metil-D-glukozit, D-psikoz, D-riboz, salicin, sucrose, D-trehaloz, L-malik asit, piruvik asit, L-asparagin, L-glutamik asit, gliserol, adenozin ve timidin bileşiklerini oksidize edebilmiş ve karbon kaynağı olarak kullanabilmiştir (Çizelge 4.7). BIOLOG karbon kaynağı kullanım analiz sonuçlarına göre, diğer 4 karbohidrat (gentiyobiyoz,  $\alpha$ -D-glikoz, D-sorbitol ve 3-metil-glikoz), 3 amino asit (D-alanin, L-alanin ve L-serin), 4 adet bileşik molekülü karbon kaynağı (2,3-bütandiol, 2'-deoksi adenozin, inozin ve uridin), 2 karboksilik asit (metil piruvat ve mono-metil-suksinat) ve 1 polimerik madde (dekstrin) *B. pumilus* izolatları tarafından çoğunlukla tercih edilen karbon kaynakları olarak belirlenmiştir. *B. pumilus* izolatları karışık karbon kaynaklarını diğer test edilen gram pozitif izolatlara kıyasla daha yüksek oranda kullanmıştır (şekil 4.2).



**şekil 4.2.** Asidik çay rizosferinden seçilen GP2 pleytlerdeki gram pozitif izolatların altı farklı grup karbon kaynağı kullanım oranına ait AWCD değerleri (ortalama koyu renk gelişimi)

**Çizelge 4.7.** İzole edilen bazı gram pozitif *Bacillus pumilus* suşlarının (AR5, AR14, AR22, AR34, AR37, AR58, AR64, AR88, AR97 ve AR118) kullandığı karbon kaynakları

KARBON KAYNAKLARI		AR 5	AR 14	AR 22	AR 34	AR 37	AR 58	AR 64	AR 88	AR 97	AR 118
A-1	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-2	$\alpha$ -Cyclodextrinosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-3	$\beta$ -Cyclodextrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-4	Dextrin	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
A-5	Glycogen	-	Z+	-	-	-	Z+	-	-	-	-
A-6	Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-7	Manan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-8	Twen 40	-	+	Z+	-	Z+	-	+	-	-	-
A-9	Twen 80	-	-	-	-	Z+	-	-	-	-	-
A-10	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	Z+	Z+	+	+	+	+	+
A-11	N-Acetyl- $\beta$ -D-Mannosamine	-	-	Z+	+	-	-	-	-	-	-
A-12	Amygdalin	-	-	Z+	-	-	-	-	Z+	-	-
B-1	L-Arabinose	-	-	-	Z+	-	Z+	+	-	-	-
B-2	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-3	Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-4	D-Cellobiose	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+
B-5	D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-6	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-7	D-Galactose	-	Z+	-	-	-	-	-	-	-	Z+
B-8	D-Galacturonic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-9	Gentiobiose	+	+	+	Z+	-	+	+	+	+	+
B-10	D-Gluconic Acid	-	-	-	-	-	-	-	Z+	-	-
B-11	$\alpha$ -D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-12	M-Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-1	$\alpha$ -D-Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-2	Lactulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-3	Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-4	D-Maltotriose	-	-	-	Z+	+	+	-	-	-	-
C-5	D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-6	D-Mannose	+	+	+	Z+	Z+	+	+	+	+	+
C-7	D-Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-8	D-Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-9	$\alpha$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-10	$\beta$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-11	3-Methyl-D-Glucose	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
C-12	$\alpha$ -Methyl-D-Glucoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-1	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-2	$\alpha$ -Methyl-D-Mannoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-3	Palatinose	-	-	-	-	-	-	-	Z+	-	-
D-4	D-Psicose	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+
D-5	D-Raffinose	-	-	-	-	-	Z+	Z+	-	-	-
D-6	L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-7	D-Ribose	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+
D-8	Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-9	Sedoheptulosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-10	D-Sorbitol	Z+	Z+	+	Z+	+	+	+	+	+	+
D-11	Stachyose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-12	Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-1	D-Tagatose	Z+	Z+	-	-	Z+	-	-	-	-	-
E-2	D-Trehalose	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+
E-3	Turanose	-	-	Z+	-	+	Z+	+	+	-	-
E-4	Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-5	D-Xylose	Z+	-	-	-	-	-	-	-	-	Z+
E-6	Acetic Acid	-	-	-	-	+	-	Z+	-	-	-

Çizelge 4.7. (devam)

KARBON KAYNAKLARI	AR 5	AR 14	AR 22	AR 34	AR 37	AR 58	AR 64	AR 88	AR 97	AR 118
E-7	$\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-8	$\beta$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	+
E-9	$\gamma$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	+	Z+	-	-	-	-	-
E-10	p-Hydroxy-phenlyacetic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-11	$\alpha$ -Ketoglutaric Acid	Z+	-	-	-	-	-	Z+	Z+	-
E-12	$\alpha$ -Ketovaleric Acid,	-	-	-	-	-	-	Z+	-	-
F-1	Lactamide	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F-2	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	+	-	-	-	-	-	-	-
F-3	D-Lactic Acid	-	-	-	-	Z+	-	+	-	-
F-4	D-Malic Acid	-	-	-	-	+	-	-	+	Z+
F-5	L-Malic Acid	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+
F-6	Pyruvic Acid Methyl Ester	+	+	+	Z+	-	+	+	+	+
F-7	Succinic Acid Mono-Methyl Ester	+	-	+	Z+	-	+	+	+	+
F-8	Propionic Acid	-	-	-	+	-	-	Z+	-	-
F-9	Pyruvic Acid	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+
F-10	Succinamic Acid	-	-	-	Z+	-	-	-	-	-
F-11	Succinic Acid	Z+	-	-	-	+	-	Z+	-	-
F-12	N-Acetyl-L-Glutamic Acid	-	-	-	Z+	Z+	-	-	Z+	-
G-1	L-Alaninamide	-	+	-	-	-	-	-	-	-
G-2	D-Alanine	+	-	Z+	-	-	Z+	+	+	-
G-3	L-Alanine	-	+	Z+	-	-	+	+	-	Z+
G-4	L-Alanyl-Glycine	-	+	-	-	-	+	Z+	-	-
G-5	L-Asparagine	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+
G-6	L-Glutamic Acid	+	Z+	Z+	Z+	Z+	+	+	Z+	+
G-7	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	-	+	-	-	-	-	-	-
G-8	L-Pyroglutamic Acid	-	-	-	+	-	-	-	-	-
G-9	L-Serine	Z+	-	+	+	+	Z+	+	Z+	+
G-10	Putrescine	Z+	-	-	-	Z+	-	-	-	Z+
G-11	2,3-Butanediol	Z+	+	-	-	-	Z+	+	+	-
G-12	Glycerol	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+
H-1	Adenosine	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+
H-2	2'-Deoxy Adenosine	+	+	+	-	-	-	+	+	+
H-3	Inosine	+	+	+	+	-	+	+	+	+
H-4	Thymidine	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-5	Uridine	+	+	+	+	-	+	+	+	+
H-6	Adenosine-5'-Monophosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-7	Thymidine-5'-Monophosphate	Z+	-	-	Z+	-	-	-	-	Z+
H-8	Uridine-5'-Monophosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-9	D-Fructose-6-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-10	$\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-11	D-Glucose-1- Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	D-L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	-	-	Z+	-	-	-	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>41</b>	<b>32</b>	<b>39</b>	<b>36</b>	<b>34</b>	<b>38</b>	<b>43</b>	<b>39</b>	<b>32</b>	<b>35</b>

Test edilen ve karbon kaynağı kullanım profili verilen gram pozitif *B. pumilus* AR-64 ve *B. pumilus* AR-5 izolatları en yüksek oranda (43 ve 41) karbon kaynağı kullanırken bunları 39, 39, 38, 36, 35, 34, 32 ve 32 farklı karbon kaynağı kullanımını ile *B. pumilus* AR-22, AR-88, AR-58, AR-34, AR-118, AR-37, AR-14 ve AR-97 suşları izlemiştir (Çizelge 4.7).



**Çizelge 4.8.** İzole edilen bazı gram pozitif *Bacillus subtilis* suşlarının (AR17, AR21, AR35, AR43, AR60, AR67, AR76, AR90, AR102, AR110) kullandığı karbon kaynakları

KARBON KAYNAKLARI		AR 17	AR 21	AR 35	AR 43	AR 60	AR 67	AR 76	AR 90	AR 102	AR 110
A-1	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-2	$\alpha$ -Cyclodextrinosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-3	$\beta$ -Cyclodextrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-4	Dextrin	Z+	+	+	+	Z+	Z+	+	+	+	Z+
A-5	Glycogen	-	+	-	-	-	-	+	-	-	Z+
A-6	Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-7	Manan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-8	Twen 40	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
A-9	Twen 80	+	-	+	+	+	+	Z+	-	Z+	+
A-10	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A-11	N-Acetyl- $\beta$ -D-Mannosamine	-	-	-	-	-	-	Z+	+	Z+	-
A-12	Amygdalin	+	-	-	-	-	Z+	Z+	+	Z+	+
B-1	L-Arabinose	-	-	-	Z+	Z+	Z+	-	+	-	+
B-2	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-3	Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-4	D-Cellobiose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
B-5	D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-6	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-7	D-Galactose	+	-	-	+	Z+	Z+	-	+	-	Z+
B-8	D-Galacturonic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-9	Gentiobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-10	D-Gluconic Acid	-	-	-	+	Z+	-	-	-	-	-
B-11	$\alpha$ -D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-12	M-Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-1	$\alpha$ -D-Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-2	Lactulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-3	Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-4	D-Maltotriose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-5	D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-6	D-Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-7	D-Melezitose	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
C-8	D-Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-9	$\alpha$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-10	$\beta$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-11	3-Methyl-D-Glucose	+	+	+	+	+	Z+	-	+	-	+
C-12	$\alpha$ -Methyl-D-Glucoside	+	-	-	+	+	+	Z+	+	Z+	+
D-1	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-2	$\alpha$ -Methyl-D-Mannoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-3	Palatinose	Z+	-	-	+	Z+	-	+	+	-	+
D-4	D-Psicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-5	D-Raffinose	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-6	L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-7	D-Ribose	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
D-8	Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-9	Sedoheptulosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-10	D-Sorbitol	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+
D-11	Stachyose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-12	Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-1	D-Tagatose	-	-	-	-	+	Z+	-	+	-	Z+
E-2	D-Trehalose	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+
E-3	Turanose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-4	Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-5	D-Xylose	-	-	-	Z+	-	Z+	-	+	-	-
E-6	Acetic Acid	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Çizelge 4.8. (devam)

KARBON KAYNAKLARI	AR 17	AR 21	AR 35	AR 43	AR 60	AR 67	AR 76	AR 90	AR 102	AR 110
E-7	$\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-8	$\beta$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-	-	Z+	-	-
E-9	$\gamma$ -Hydroxybutyric Acid	Z+	-	-	Z+	Z+	Z+	-	+	-
E-10	p-Hydroxy-phenlyacetic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-11	$\alpha$ -Ketoglutaric Acid	+	-	-	-	-	-	-	+	-
E-12	$\alpha$ -Ketovaleric Acid,	-	Z+	-	Z+	-	-	-	+	-
F-1	Lactamide	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F-2	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	-	-	Z+	-	-	-	+	-
F-3	D-Lactic Acid	-	-	+	-	-	-	+	-	-
F-4	D-Malic Acid	-	-	-	-	Z+	-	-	-	-
F-5	L-Malic Acid	+	+	-	+	+	+	+	+	+
F-6	Pyruvic Acid Methyl Ester	+	+	-	+	+	+	+	+	+
F-7	Succinic Acid Mono-Methyl Ester	-	+	-	-	+	-	-	-	-
F-8	Propionic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F-9	Pyruvic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-10	Succinamic Acid	+	-	-	-	-	Z+	-	+	-
F-11	Succinic Acid	+	-	-	-	-	-	-	+	-
F-12	N-Acetyl-L-Glutamic Acid	-	-	-	Z+	Z+	Z+	-	+	-
G-1	L-Alaninamide	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G-2	D-Alanine	-	-	-	+	-	-	-	+	-
G-3	L-Alanine	-	+	Z+	-	-	+	-	-	-
G-4	L-Alanyl-Glycine	Z+	-	-	-	-	-	-	+	Z+
G-5	L-Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-6	L-Glutamic Acid	Z+	+	+	Z+	Z+	Z+	+	+	+
G-7	Glycyl-L-Glutamic Acid	-	-	-	-	-	-	-	Z+	-
G-8	L-Pyroglutamic Acid	-	-	-	-	-	-	-	+	-
G-9	L-Serine	Z+	+	-	Z+	+	Z+	+	+	-
G-10	Putrescine	Z+	-	-	-	Z+	-	-	-	Z+
G-11	2,3-Butanediol	Z+	+	-	Z+	Z+	Z+	-	+	-
G-12	Glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-1	Adenosine	Z+	+	-	Z+	-	Z+	-	+	-
H-2	2'-Deoxy Adenosine	-	Z+	-	Z+	Z+	Z+	-	+	-
H-3	Inosine	+	+	-	-	+	+	+	+	+
H-4	Thymidine	+	+	-	+	+	+	+	+	+
H-5	Uridine	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-6	Adenosine-5'-Monophosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-7	Thymidine-5'-Monophosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-8	Uridine-5'-Monophosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-9	D-Fructose-6-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-10	$\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-11	D-Glucose-1- Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	D-L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	+	-	-	-	-	Z+	-	+	-
<b>Toplam</b>	<b>45</b>	<b>37</b>	<b>27</b>	<b>44</b>	<b>44</b>	<b>46</b>	<b>36</b>	<b>56</b>	<b>32</b>	<b>47</b>

BIOLOG sonuçlarına göre test edilen azot fikseri ve fosfat çözücü *B. subtilis* izolatları 22 karbon kaynağının tamamını kullanabilmiştir. Bu maddelerin 15'i karbonhidrat (arbutine, D-sellobiyoz, D-fruktoz, gentiyobiyoz,  $\alpha$ -D-glikoz, maltoz, maltotrioz, D-mannitol, D-mannoz,  $\beta$ -metil-D-glukozit, D-psikoz, D-sorbitol, sucrose, D-trehaloz, turanoz), 2'si amino asit (L-asparagin ve L-glutamik asit), 3 tanesi karışık moleküllü

karbon kaynağı (salicin, gliserol, üridin) ve birer tane de karboksilik asit (piruvik asit) ve polimerik ( $\beta$ -siklodekstrin) maddelerden oluşmuştur. GP2 mikropleytdeki karbon kaynaklarından 17 tanesi (tween 80, N-asetil-D-glukozamin, L-arabinoz, D-galaktoz, 3-metil-glikoz,  $\alpha$ -metil-D-glukozit, palatinoz, D-riboz,  $\gamma$ -hidroksibutirik asit, L-malik asit, piruvik asit metil ester, L-serin, amygdalin, adenozin, 2'-deoxy adenozin, inozin ve timidin) *B. subtilis* strainlerinin %50'sinen fazlası tarafından kullanılırken, 29 karbon kaynağı test edilen izolatların hiç biri tarafından kullanılmamıştır. *B. subtilis* izolatları karbon kaynağı olarak karbonhidratları diğer test edilen izolatlardan daha yüksek oranda kullanmıştır (Çizelge 4.8). Gram pozitif *B. subtilis* AR-102, AR-110 ve AR-67 strainleri en fazla karbon kaynağı (56, 47 ve 46) kullanırken *B. subtilis* AR-35 izolatu en düşük düzeyde (27 madde) karbon kaynağını ancak oksidize edebilmiştir.

Test edilen *B. megaterium* izolatlarının tamamı GP2 pleytlerde bulunan 95 farklı karbon kaynağından 26'sını oksidize edebilmiş ve karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilmiştir (Çizelge 4.4). Bu maddelerin 16 si karbonhidrat (L-arabinoz, arbutine, D-sellobiyoz, D-fruktoz, gentiyobiyoz, maltoz, maltotrioz, D-mannitol, D-mannoz, 3-metil-glikoz, D-psikoz, D-riboz, sucrose, D-trehaloz, turanoz and D-ksiloz), 2'si karboksilik asit (L-malic ve piruvik asit), 3'ü amino asit (L-alanil-glisin, L-asparagin and L-glutamik asit), 4'ü karışık moleküllü karbon kaynağı (adenozin, inozin, timidin ve uridin) ve 1 adedei ise polimerdir (dekstrin). GP2 pleytlerde bulunan karbon kaynaklarından 25 adedi ise test edilen *Bacillus megaterium* strainleri tarafından kullanılmamıştır. Amid ve amin gurubu maddelerden sadece biri *B. megaterium* izolatlarının yarısı tarafından kullanılabilirken, 5 polimerik, 4 amino asit, yedi bileşik moleküllü madde, her birinden 9'ar olmak üzere karboksilik asit ve karbonhidrat *B. megaterium* izolatlarının en az yarısı tarafından kullanılabilmiştir. Polimerik maddeler, karboksilik asit ve amino asitler *B. megaterium* izolatları tarafından diğer test edilen izolatlara kıyasla karbon kaynağı olarak daha fazla oranda kullanılmıştır (Çizelge 4.1). En yüksek karbon kaynağı kullanımı bakımından (60 ve 59 madede) en etkin izolatlar *B. megaterium* AR-40 ve AR-32 olurken, en düşük karbon kaynağı (48) kullanımı *B. megaterium* AR-16 izolatında belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

**Çizelge 4.9.** İzole edilen bazı gram pozitif *Bacillus megaterium* suşlarının (AR16, AR32, AR40, AR41, AR46, AR129, AR156) kullandığı karbon kaynakları

KARBON KAYNAKLARI		AR 16	AR 32	AR 40	AR 41	AR 46	AR 129	AR 156
A-1	Water	-	-	-	-	-	-	-
A-2	$\alpha$ -Cyclodextrin	-	+	+	+	-	+	-
A-3	$\beta$ -Cyclodextrin	-	+	+	+	+	+	-
A-4	Dextrin	+	+	+	+	+	+	Z+
A-5	Glycogen	-	Z+	Z+	Z+	+	Z+	+
A-6	Inulin	-	-	-	-	-	-	-
A-7	Manan	-	-	-	-	-	-	-
A-8	Twen 40	-	-	-	+	+	+	+
A-9	Twen 80	-	+	+	+	-	+	-
A-10	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	+	+	+	-
A-11	N-Acetyl- $\beta$ -D-Mannosamine	-	-	-	-	-	-	-
A-12	Amygdalin	-	Z+	-	+	-	+	-
B-1	L-Arabinose	+	+	Z+	+	Z+	+	+
B-2	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-
B-3	Arbutin	+	+	+	+	+	+	+
B-4	D-Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+
B-5	D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+
B-6	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-
B-7	D-Galactose	+	-	Z+	+	+	+	-
B-8	D-Galacturonic Acid	-	-	-	-	-	-	-
B-9	Gentiobiose	+	+	+	+	+	+	+
B-10	D-Gluconic Acid	-	+	+	+	-	-	+
B-11	$\alpha$ -D-Glucose	+	+	+	+	+	-	+
B-12	M-Inositol	-	+	+	-	-	Z+	-
C-1	$\alpha$ -D-Lactose	-	-	-	-	-	-	-
C-2	Lactulose	-	-	-	-	-	-	-
C-3	Maltose	+	+	+	+	+	+	+
C-4	D-Maltotriose	+	+	+	+	+	+	+
C-5	D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
C-6	D-Mannose	+	+	+	+	+	+	+
C-7	D-Melezitose	-	-	Z+	+	+	Z+	-
C-8	D-Melibiose	+	+	-	+	+	+	+
C-9	$\alpha$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-
C-10	$\beta$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-
C-11	3-Methyl-D-Glucose	+	+	+	+	Z+	+	+
C-12	$\alpha$ -Methyl-D-Glucoside	+	+	+	+	-	-	+
D-1	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside	-	+	+	+	+	+	-
D-2	$\alpha$ -Methyl-D-Mannoside	-	-	-	-	-	-	-
D-3	Palatinose	+	+	+	+	+	-	+
D-4	D-Psicose	+	+	+	+	+	+	+
D-5	D-Raffinose	+	+	-	+	+	+	+
D-6	L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
D-7	D-Ribose	+	+	+	+	+	+	+
D-8	Salicin	+	+	+	+	-	+	-
D-9	Sedoheptulosan	-	-	-	-	-	-	-
D-10	D-Sorbitol	-	+	+	+	Z+	Z+	-
D-11	Stachyose	-	-	-	-	-	-	-
D-12	Sucrose	+	+	+	+	Z+	+	+
E-1	D-Tagatose	-	+	+	-	-	-	-
E-2	D-Trehalose	+	+	+	+	+	+	+
E-3	Turanose	+	+	+	+	+	+	+
E-4	Xylitol	-	-	-	-	-	-	-
E-5	D-Xylose	Z+	+	+	+	+	+	+
E-6	Acetic Acid	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.9. (devam)

KARBON KAYNAKLARI		AR 16	AR 32	AR 40	AR 41	AR 46	AR 129	AR 156
E-7	$\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-	-	-
E-8	$\beta$ -Hydroxybutyric Acid	+	+	Z+	+	+	-	Z+
E-9	$\gamma$ -Hydroxybutyric Acid	+	-	-	+	+	+	+
E-10	p-Hydroxy-phenylacetic Acid	-	-	-	-	-	-	-
E-11	$\alpha$ -Ketoglutaric Acid	+	+	+	+	+	+	-
E-12	$\alpha$ -Ketovaleic Acid,	+	+	+	-	+	+	+
F-1	Lactamide	+	-	-	-	-	+	+
F-2	D-Lactic Acid Methyl Ester	+	+	-	-	+	+	Z+
F-3	D-Lactic Acid	+	+	+	-	Z+	+	+
F-4	D-Malic Acid	-	-	-	-	-	-	-
F-5	L-Malic Acid	+	+	+	+	+	+	+
F-6	Pyruvic Acid Methyl Ester	+	-	+	+	-	+	+
F-7	Succinic Acid Mono-Methyl Ester	+	+	+	-	-	+	Z+
F-8	Propionic Acid	-	-	-	-	-	-	-
F-9	Pyruvic Acid	+	+	+	+	+	+	+
F-10	Succinamic Acid	+	-	+	+	Z+	+	+
F-11	Succinic Acid	+	-	+	+	Z+	+	+
F-12	N-Acetyl-L-Glutamic Acid	-	-	-	+	+	-	Z+
G-1	L-Alaninamide	-	+	-	+	-	-	-
G-2	D-Alanine	+	+	Z+	-	Z+	+	+
G-3	L-Alanine	+	+	+	-	-	+	-
G-4	L-Alanyl-Glycine	-	+	+	+	Z+	+	Z+
G-5	L-Asparagine	+	+	+	+	Z+	+	+
G-6	L-Glutamic Acid	+	+	+	+	+	+	+
G-7	Glycyl-L-Glutamic Acid	-	+	+	-	-	-	Z+
G-8	L-Pyroglutamic Acid	-	-	+	+	+	+	Z+
G-9	L-Serine	+	+	+	-	+	-	+
G-10	Putrescine	-	-	-	-	-	-	-
G-11	2,3-Butanediol	-	+	-	-	Z+	+	Z+
G-12	Glycerol	-	+	+	+	-	+	+
H-1	Adenosine	+	+	+	+	+	+	+
H-2	2'-Deoxy Adenosine	+	+	+	-	+	-	-
H-3	Inosine	+	+	+	+	Z+	+	+
H-4	Thymidine	+	+	+	+	+	+	+
H-5	Uridine	+	+	+	+	+	+	+
H-6	Adenosine-5'-Monophosphate	-	-	-	-	-	-	-
H-7	Thymidine-5'-Monophosphate	-	-	Z+	-	Z+	-	-
H-8	Uridine-5'-Monophosphate	-	Z+	Z+	+	Z+	+	-
H-9	D-Fructose-6-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-
H-10	$\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-
H-11	D-Glucose-1- Phosphate	-	-	-	-	-	-	-
H-12	D-L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	-	Z+	+	+	+	-	+
<b>Toplam</b>		<b>48</b>	<b>59</b>	<b>60</b>	<b>56</b>	<b>55</b>	<b>57</b>	<b>52</b>

Test edilen azot fikseri ve fosfat çözücü 14 *B. licheniformis* strainlerinin tamamı dekstrin, N-asetil-D-glukozamin, arbutine, D-sellobiyoz, D-fruktoz,  $\alpha$ -D-glikoz, maltotrioz, D-mannitol, D-mannoz, 3-metil-glikoz,  $\beta$ -metil-D-glukozit, D-psikoz, D-riboz, D-sorbitol, sucrose, D-trehaloz, turanoz, L-malik asit, piruvik asit metil ester, piruvik asit, L-asparagin, L-glutamik asit, salisin, gliserol, adenozin, 2'-deoxy adenozin, inozin, timidin, uridin ve D-L- $\alpha$ -gliserol fosfat bileşiklerini oksidize edebilmiş ve karbon kaynağı olarak kullanabilmiştir (Çizelge 4.10).

**Çizelge 4.10.** İzole edilen bazı gram pozitif *Bacillus licheniformis* suşlarının (AR29, AR89, AR98, AR111, AR114, AR115, AR116, AR120, AR167, AR168, AR169, AR170) kullandığı karbon kaynakları

KARBON KAYNAKLARI		AR 29	AR 89	AR 98	AR 111	AR 114	AR 115	AR 116	AR 120	AR 167	AR 168	AR 169	AR 170
A-1	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-2	$\alpha$ -Cyclodextrinosphate	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-
A-3	$\beta$ -Cyclodextrin	-	+	-	Z+	+	-	+	-	+	-	+	-
A-4	Dextrin	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+
A-5	Glycogen	+	+	Z+	+	-	+	+	-	+	Z+	+	Z+
A-6	Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-7	Manan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-8	Twen 40	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
A-9	Twen 80	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
A-10	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
A-11	D-Acetyl- $\beta$ -D-Mannosamine	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
A-12	Amygdalin	+	-	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+
B-1	L-Arabinose	-	+	-	Z+	+	+	+	-	+	-	+	-
B-2	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-3	Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-4	D-Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-5	D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-6	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-7	D-Galactose	-	+	Z+	+	+	-	+	-	+	-	+	-
B-8	D-Galacturonic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-9	Gentiobiose	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-10	D-Gluconic Acid	+	+	Z+	+	-	Z+	+	+	+	Z+	+	+
B-11	$\alpha$ -D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-12	M-Inositol	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
C-1	$\alpha$ -D-Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-2	Lactulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Z+
C-3	Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-4	D-Maltotriose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-5	D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-6	D-Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-7	D-Melezitose	-	-	Z+	+	+	-	+	-	-	Z+	+	Z+
C-8	D-Melibiose	-	-	Z+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
C-9	$\alpha$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-10	$\beta$ -Methyl-D-Galactoside	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
C-11	3-Methyl-D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C-12	$\alpha$ -Methyl-D-Glucoside	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-1	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
D-2	$\alpha$ -Methyl-D-Mannoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-3	Palatinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-4	D-Psicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-5	D-Raffinose	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
D-6	L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
D-7	D-Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-8	Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-9	Sedoheptulosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-10	D-Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-11	Stachyose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-12	Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-1	D-Tagatose	-	+	Z+	Z+	+	-	-	+	+	+	+	+
E-2	D-Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-3	Turanose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-4	Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-5	D-Xylose	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
E-6	Acetic Acid	-	+	Z+	Z+	+	Z+	-	+	+	+	-	+

Çizelge 4.10. (devam)

KARBON KAYNAKLARI	AR 29	AR 89	AR 98	AR 111	AR 114	AR 115	AR 116	AR 120	AR 167	AR 168	AR 169	AR 170
E-7	α-Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-8	β-Hydroxybutyric Acid	-	+	-	-	Z+	-	+	+	+	-	-
E-9	γ-Hydroxybutyric Acid	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
E-10	p-Hydroxy-phenlyacetic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-11	α-Ketoglutaric Acid	-	+	+	+	+	Z+	+	+	+	Z+	-
E-12	α-Ketovaleic Acid,	+	+	-	+	+	Z+	+	+	+	+	-
F-1	Lactamide	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
F-2	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
F-3	D-Lactic Acid	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+
F-4	D-Malic Acid	-	+	Z+	-	-	Z+	-	-	+	Z+	-
F-5	L-Malic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-6	Pyruvic Acid Methyl Ester	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-7	Succinic Acid Mono-Methyl Ester	-	+	Z+	-	-	-	+	+	+	-	-
F-8	Propionic Acid	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	Z+
F-9	Pyruvic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-10	Succinamic Acid	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
F-11	Succinic Acid	-	+	Z+	Z+	+	Z+	+	+	+	-	Z+
F-12	N-Acetyl-L-Glutamic Acid	-	+	-	-	+	-	+	+	+	Z+	Z+
G-1	L-Alaninamide	-	+	-	Z+	Z+	-	+	+	+	-	+
G-2	D-Alanine	+	-	Z+	+	+	-	+	+	+	Z+	-
G-3	L-Alanine	+	+	+	+	-	-	-	+	Z+	+	+
G-4	L-Alanyl-Glycine	-	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+	Z+
G-5	L-Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-6	L-Glutamic Acid	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+
G-7	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	Z+	+	Z+	Z+	+	+	+	Z+	-
G-8	L-Pyroglutamic Acid	-	+	Z+	Z+	+	Z+	+	+	+	-	-
G-9	L-Serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-10	Putrescine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G-11	2,3-Butanediol	-	+	-	+	+	Z+	+	+	+	+	+
G-12	Glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-1	Adenosine	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
H-2	2'-Deoxy Adenosine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-3	Inosine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-4	Thymidine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-5	Uridine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-6	Adenosine-5'-Monophosphate	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-7	Thymidine-5'-Monophosphate	-	+	Z+	-	Z+	-	-	-	-	Z+	-
H-8	Uridine-5'-Monophosphate	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
H-9	D-Fructose-6-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-10	α-D-Glucose-1-Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-11	D-Glucose-1- Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	D-L-α-Glycerol Phosphate	+	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Toplam</b>		<b>44</b>	<b>64</b>	<b>57</b>	<b>57</b>	<b>62</b>	<b>51</b>	<b>65</b>	<b>65</b>	<b>66</b>	<b>52</b>	<b>57</b>

GP2 pleytlerde bulunan karbon kaynaklarından 30 adedi *B. licheniformis* strainlerin %50 veya daha fazlası tarafından kullanılırken, 21 karbon kaynağı bu strainlerin herhangi biri tarafından kullanılamamıştır (Çizelge 4.10). Gram pozitif *B. licheniformis* AR-167 ve AR-116 strainleri en fazla karbon kaynağı

(66 ve 65) kullanırken, *B. licheniformis* AR-29 izolatu en düşük düzeyde (44 madde) karbon kaynağını ancak oksidize edebilmiştir.

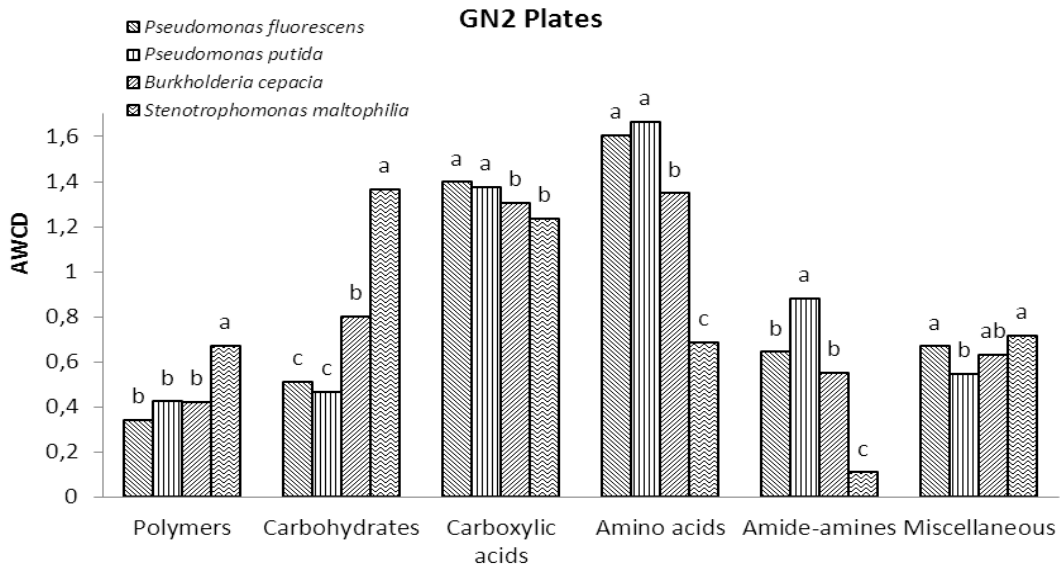
Temel birleşenler analizi, Gram negatif GN2 plytlerdeki çoklu varyasyonun %60'ının ilk 5 bileşen (PC) tarafından açıklanabildiğini göstermiştir. İlk birleşen GN2 pleytlerdeki toplam varyasyonu %34'ünü açıklayabilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, ilk PC oluşturan bileşenlerin katsayıları 0.80'den büyük olup ( $p \leq 0,01$ ), bu maddeler dekstrin, N-asetil-D-galaktosamin, N-asetil-D-glukozamin, D-sellobiyoz, gentiyobiyoz,  $\alpha$ -D-laktoz, laktüloz, maltoz, D-melibiyoz, D-glukonik asit,  $\beta$ -hidroksibutirik asit,  $\alpha$ -ketobutyric asit,  $\alpha$ -keto valerik asit, kinik asit, D-sakkarik asit, L-asparagin,  $\gamma$ -aminobutirik asit ve uridin karbon kaynaklarıdır. İkinci temel bileşeni oluşturan temel kaynakları adonitol, L-fukoz, m-inositol, sebasik asit, L-phenylalanine ve D,L, $\alpha$ -glycerol phosphate ve PC3 de ise D-galaktoz, L-alanil-glisin ve D-serine maddelerinin varyasyonu oluşturan temel bileşenler olduğu görülmüştür. PC3'de D-galaktoz ve L-alanil-glisin (pozitif değer) ve D-serin (negatif değer) varyasyonu oluşturan temel bileşenler olurken, D-alanin ve L-alanin pozitif ve yüksek korelasyon değeri ile PC4'deki varyasyonda önemli olmuştur. Temel bileşenler analizinde varyasyonu oluşturan diğer önemli maddelerden D-psikoz (PC5), tween 80 (PC6), asetik asit (PC7), D,L-laktik asit (PC8), süksinik asit (PC9) ve D-sorbitol (PC10) karbon kaynakları öne çıkmıştır. Gram negatif azot fikseri ve fosfat çözücü bakterilerin tanı ve karakterizasyonunda en belirleyici karbon kaynakları olarak laktüloz ve D-melibiyoz (PC1) ve adonitol ve L-fukoz (PC2) karbohidratları öne çıkmıştır.

GN2 mikroplatlerde bulunan karbon kaynaklarının 26'sı test edilen 13 *P. fluorescens* straininin tamamı tarafından kullanılmıştır. Bu maddelerin 4'ü karbohidrat (D-fruktoz, D-galaktoz,  $\alpha$ -D-glikoz ve D-manoz), 11'i karboksilik asit (metil piruvat, cis-akonitik, sitrik,  $\beta$ -hidroksibutirik,  $\alpha$ -keto glutarik, D, L-laktik, malonik, propionik, kinik, D-sakkarik ve süksinik asit), 8'i amino asit (D-alanin, L-alanin, L-alanil-glisin, L-asparagin, L-aspartik asit, L-glutamik asit, L-prolin ve L-serin) ve 3'ü karışık molekülü karbon kaynaklarından (bromosüksinik asit, urokanik asit ve gliserol) oluşmuştur (Çizelge 4.11). Gram negatif *P. fluorescens* AR-7 ve *P. fluorescens*



AR-148 izolatları en yüksek oranda (64 ve 60) karbon kaynağı kullanırken bunları 56, 54, 54, 53, 53, 50, 49 ve 47 farklı karbon kaynağı kullanımı ile *P. fluorescens* AR-150, AR-9, AR-154, AR-160, AR-163, AR-52, AR-162 ve AR-151 suşları izlemiştir (Çizelge 4.11). Karboksilik asit bileşikleri *P. fluorescens* strainleri tarafından diğer test edilen gram negatif türlere kıyasla daha fazla oranda kullanılabilmiştir (Şekil 4.3).

Test edilen *S. maltophilia* strainlerin tamamı GN2 pleytlerinde bulunan karbon kaynaklarının 27 adedini kullanmıştır. Bu maddelerin 11'i karbon hidrat, 10'u karboksilik asit, 4'ü amino asit, 1'i karışık moleküllü (uridin) ve 1 adedi ise polimerik (dekstrin) maddelerdir. GN2 pleytlerde bulunan maddelerden amid-amin ve amino asitler *S. maltophilia* izolatları tarafından çok az oranda kullanılırken, karbonhidrat ve polimerik maddeler test edilen diğer gram negatif türlere kıyasla daha yüksek oranda kullanılmıştır (Şekil 4.3). Ayrıca GN pleytlerde bulunan 7 karbon hidrat, 8 amino asit, 4 karboksilik asit, 3 bileşik moleküllü madde, 1 polimerik ve 1 amid-amin grubu karbon kaynağı *S. maltophilia* izolatlarının %50 ve daha fazlası tarafından karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmıştır.



**Şekil 4.3.** Asidik çay rizosferinden seçilen GN2 pleytlerdeki gram negatif izolatların altı farklı grup karbon kaynağı kullanım oranına ait AWCD değerleri (ortalama koyu renk gelişimi)



Çizelge 4.11. (devam)

KARBON KAYNAKLARI		AR 7	AR 9	AR 52	AR 148	AR 150	AR 151	AR 154	AR 160	AR 162	AR 163
E-7	Malonic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-8	Propionic Acid	Z+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-9	Quinic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-10	D-Saccharic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-11	Sebacic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-12	Succinic Acid	+	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+
F-1	Bromosuccinic Acid	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+
F-2	Succinamic Acid	+	+	-	+	+	-	Z+	Z+	-	-
F-3	Glucuronamide	+	+	-	Z+	-	-	-	-	-	-
F-4	L-Alaninamide	Z+	+	-	+	+	-	+	Z+	+	+
F-5	D-Alanine	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+
F-6	L-Alanine	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+	+
F-7	L-Alanyl-Glycine	+	+	Z+	+	+	Z+	+	+	+	+
F-8	L-Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-9	L-Aspartic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-10	L-Glutamic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-11	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	-	-	-	-	-	Z+	-	-	-
F-12	Glycyl-L-Glutamic Acid	Z+	+	Z+	-	Z+	-	-	-	+	+
G-1	L-Histidine	+	+	-	Z+	+	+	+	+	-	+
G-2	Hydroxy-L-Proline	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
G-3	L-Leucine	Z+	+	-	+	+	Z+	+	+	-	+
G-4	L-Omithine	+	+	+	-	-	Z+	Z+	-	-	+
G-5	L-Phenylalanine	-	-	Z+	Z+	-	-	Z+	-	-	-
G-6	L-Proline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-7	L-pyroglutamic Acid	+	+	Z+	+	+	+	+	+	-	+
G-8	D-Serine	-	+	-	Z+	-	-	-	-	-	Z+
G-9	L-Serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-10	L-Threonine	-	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+
G-11	D,L-Camitine	-	+	-	+	+	+	+	Z+	+	+
G-12	$\gamma$ -Aminobutyric Acid	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
H-1	Urocanic Acid	+	+	+	+	Z+	Z+	+	+	+	+
H-2	Inosine	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
H-3	Uridine	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
H-4	Thymidine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-5	Phenylethyl-amine	Z+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
H-6	Putrescine	+	+	Z+	+	+	+	+	+	-	+
H-7	2-Aminoethanol	+	+	-	+	+	Z+	+	+	-	+
H-8	2,3-Butanediol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-9	Glycerol	+	+	+	+	+	+	Z+	+	+	+
H-10	D,L, $\alpha$ -Glycerol Phosphate	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
H-11	$\alpha$ -D-Glucose-1 Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	D-Glucose-6 Phosphate	-	+	Z+	Z+	Z+	-	Z+	-	+	-
<b>Toplam</b>		<b>64</b>	<b>54</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	<b>56</b>	<b>47</b>	<b>54</b>	<b>53</b>	<b>49</b>	<b>53</b>

BIOLOG testleri tamamlanan *P. putida* strainlerinin tamamı GN2 pleytlerdeki karbon kaynaklarınının 30 adedini oksidize edebilmiş ve kullanabilmiştir. Bu maddeler 5 karbon hidrat (L-arabinoz, D-fruktoz, D-galaktoz,  $\alpha$ -D-glikoz ve D-mannoz), 13 karboksilik asit (metil piruvat, mono-metil-süksinat, asetik asit, cis-akonitik, sitrik, formik, D-glukonik,  $\beta$ -hidroksibutirik,  $\alpha$ -keto glutarik, D, L-laktik, propionik, kinik ve süksinik

asit), 9 amino asit (D-alanin, L-alanin, L-asparagin, L-aspartik asit, L-glutamik asit, L-prolin, L-piroglutamik asit, L-serin ve  $\gamma$ -aminobütirik asit), 3 amide-amine grubu maddeler (süksinamik asit, L-alaninamid ve putresin) ve birer adet karışık moleküllü madde (bromosüksinik asit) ve polimerik (tween 80) madde olarak belirlenmiştir. GN2 pleytlerdeki karbon kaynaklarından 22 adedi *P. putida* strainlerinin en az %50'si tarafından kullanılırken, 26 karbon kaynağı hiç biri tarafından kullanılamamıştır. Amino asit ve amid-amin bileşikleri *P. putida* strainleri tarafından diğer test edilen gram negatif türlere kıyasla daha fazla oranda kullanılabilmiştir. Asit topraklara dayanıklı *P. putida* AR-149, AR-164 ve AR-173 en fazla (60 ve 57 madde) karbon kaynağı kullanırken, *P. putida* AR-87 en az sayıda (44 madde) karbon kaynağı kullanmıştır (Çizelge 4.12).

Gram negatif pleytlerde bulunan karbon kaynaklarının 47 adedi test edilen *B. cepacia* strainlerinin tamamı tarafından kullanılmıştır. Bu maddelerin 14'ü karbon hidrat, 18'i karboksilik asit, 13'ü amino asit, 2'si amid-amin grubundan karbon kaynağı ve bir adedi ise fosforlu bileşiklerden oluşmuştur. GN2 pleytlerde bulunan karbon kaynaklarından 4 polimerik (dekstrin, glikojen, Tween 40 ve Tween 80), 4 karışık moleküllü bileşik (bromosüksinik asit, urokanik asit, gliserol ve D- L- $\alpha$ -gliserol fosfat), 2 amono asit ve her birinden 5'şer addet olmak üzere karboksilik asit ve karbonhidrat test edilen *B. cepacia* izolatlarının en az yarısı tarafından kullanılabilirken, 18 karbon kaynağı *B. cepacia* strainleri tarafından kullanılmamıştır (Çizelge 4.13). Gram negatif *B. cepacia* AR-28 ve AR-136 strainleri en fazla karbon kaynağı (71 ve 68) kullanırken, *B. cepacia* AR-158 izolatu en düşük düzeyde (55 madde) karbon kaynağını ancak oksidize edebilmiş ve enerji kaynağı olarak kullanabilmiştir (Çizelge 4.13).



Çizelge 4.12. (devam)

KARBON KAYNAKLARI		AR 62	AR 83	AR 84	AR 87	AR 149	AR 157	AR 159	AR 161	AR 164	AR 173
E-7	Malonic Acid	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
E-8	Propionic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-9	Quinic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-10	D-Saccharic Acid	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
E-11	Sebacic Acid	Z+	Z+	-	-	Z+	-	-	-	-	-
E-12	Succinic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-1	Bromosuccinic Acid	Z+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-2	Succinamic Acid	Z+	Z+	+	+	+	+	Z+	-	+	+
F-3	Glucuronamide	-	-	-	-	Z+	-	-	Z+	-	-
F-4	L-Alaninamide	Z+	Z+	+	Z+	+	+	Z+	+	+	+
F-5	D-Alanine	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-6	L-Alanine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-7	L-Alanyl-Glycine	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
F-8	L-Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-9	L-Aspartic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-10	L-Glutamic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F-11	Glycyl-L-Aspartic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F-12	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+	Z+	-	Z+	Z+	Z+	Z+	+
G-1	L-Histidine	Z+	+	+	+	Z+	+	-	+	+	+
G-2	Hydroxy-L-Proline	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
G-3	L-Leucine	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
G-4	L-Omithine	Z+	-	+	+	-	+	Z+	+	+	+
G-5	L-Phenylalanine	-	Z+	-	-	Z+	-	-	-	-	Z+
G-6	L-Proline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-7	L-pyroglutamic Acid	+	Z+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-8	D-Serine	-	-	-	+	Z+	-	-	+	-	-
G-9	L-Serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-10	L-Threonine	+	Z+	+	-	+	+	-	Z+	+	Z+
G-11	D,L-Camitine	+	+	+	-	+	+	-	+	+	Z+
G-12	$\gamma$ -Aminobutyric Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-1	Urocanic Acid	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
H-2	Inosine	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
H-3	Uridine	-	-	-	-	+	-	Z+	-	-	Z+
H-4	Thymidine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-5	Phenylethyl-amine	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
H-6	Putrescine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H-7	2-Aminoethanol	-	Z+	-	+	+	Z+	+	+	+	+
H-8	2,3-Butanediol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-9	Glycerol	+	+	+	Z+	+	+	+	-	+	+
H-10	D,L, $\alpha$ -Glycerol Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-11	$\alpha$ -D-Glucose-1 Phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	D-Glucose-6 Phosphate	-	Z+	-	-	Z+	-	-	-	Z+	+
<b>Toplam</b>		<b>54</b>	<b>52</b>	<b>52</b>	<b>44</b>	<b>60</b>	<b>55</b>	<b>52</b>	<b>48</b>	<b>57</b>	<b>57</b>

**Çizelge 4.13.** İzole edilen bazı gram negatif *Burkholderia cepacia* suşlarının (AR28, AR42, AR136, AR158, AR166) kullandığı karbon kaynakları

KARBON KAYNAKLARI		AR 28	AR 42	AR 136	AR 158	AR 166
A-1	Water	-	-	-	-	-
A-2	$\alpha$ -Cyclodextrin	-	-	-	-	-
A-3	Dextrin	+	+	-	-	+
A-4	Glycogen	-	+	Z+	+	-
A-5	Tween 40	+	-	+	-	+
A-6	Tween 80	+	+	Z+	+	-
A-7	N-Acetyl-D-Galactosamine	+	+	Z+	-	-
A-8	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	+	+
A-9	Adonitol	+	+	+	+	+
A-10	L-Arabinose	+	+	+	+	+
A-11	D-Arabitol	+	+	+	+	+
A-12	D-Cellobiose	+	+	-	-	+
B-1	i-Erytritol	-	-	-	-	-
B-2	D-Fructose	+	+	+	+	+
B-3	L-Fucose	+	+	+	+	+
B-4	D-Galactose	+	+	+	+	+
B-5	Gentiobiose	-	-	-	-	-
B-6	$\alpha$ -D-Glucose	+	+	+	+	+
B-7	m-Inositol	+	+	+	+	+
B-8	$\alpha$ -D-Lactose	-	-	-	-	-
B-9	Lactulose	-	-	-	-	-
B-10	Maltose	+	+	Z+	-	+
B-11	D-Mannitol	+	+	+	+	+
B-12	D-Mannose	+	+	+	+	+
C-1	D-Melibiose	-	-	-	-	-
C-2	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside	-	-	-	-	-
C-3	D-Psicose	+	+	-	-	-
C-4	D-Raffinose	+	+	Z+	-	-
C-5	L-Rhamnose	-	-	-	-	-
C-6	D-Sorbitol	+	+	+	+	+
C-7	Sucrose	+	+	-	+	-
C-8	D-Trehalose	+	+	+	+	+
C-9	Turanose	+	+	Z+	-	+
C-10	Xylitol	-	-	-	-	-
C-11	Pyruvic Acid Methyl Ester	+	+	+	+	+
C-12	Succinic Acid Mono- Methyl Ester	+	+	+	+	+
D-1	Acetic Acid	+	+	Z+	+	+
D-2	Cis-Aconitic Acid	+	+	+	+	+
D-3	Citric Acid	+	+	+	+	+
D-4	Formic Acid	+	+	+	+	+
D-5	D-Galactonic Acid Lactone	+	+	+	+	+
D-6	D-Galacturonic Acid	-	+	+	+	+
D-7	D-Gluconic Acid	+	-	+	+	Z+
D-8	D-Glucosaminic Acid	-	+	+	+	-
D-9	D-Glucuronic Acid	+	+	+	+	+
D-10	$\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	+	+	+	-	+
D-11	$\beta$ -Hydroxybutyric Acid	+	+	+	+	+
D-12	$\gamma$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-
E-1	p-Hydroxy-phenylacetic Acid	-	-	-	-	-
E-2	Itaconic Acid	-	-	-	-	-
E-3	$\alpha$ -Ketobutyric Acid	+	+	+	+	+
E-4	$\alpha$ -Ketoglutaric Acid	+	+	+	+	+
E-5	$\alpha$ -Ketovaleric Acid	+	-	Z+	-	+
E-6	D,L-Lactic Acid	+	+	+	+	+
E-7	Malonic Acid	+	-	+	-	+

**Çizelge 4.13.** (devam)

KARBON KAYNAKLARI		AR 28	AR 42	AR 136	AR 158	AR 166
E-8	Propionic Acid	+	+	+	+	+
E-9	Quinic Acid	+	+	+	+	+
E-10	D-Saccharic Acid	+	+	+	+	+
E-11	Sebacic Acid	+	+	+	+	+
E-12	Succinic Acid	+	+	+	+	+
F-1	Bromosuccinic Acid	-	+	+	+	+
F-2	Succinamic Acid	+	+	-	-	-
F-3	Glucuronamide	+	+	-	-	-
F-4	L-Alaninamide	+	+	-	-	-
F-5	D-Alanine	+	+	Z+	+	+
F-6	L-Alanine	+	+	+	+	+
F-7	L-Alanyl-Glycine	+	+	+	+	+
F-8	L-Asparagine	+	+	+	+	+
F-9	L-Aspartic Acid	+	+	+	+	+
F-10	L-Glutamic Acid	+	+	+	+	+
F-11	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	-	-	-	-
F-12	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	Z+	-	-
G-1	L-Histidine	+	+	+	+	+
G-2	Hydroxy-L-Proline	+	+	+	+	+
G-3	L-Leucine	+	-	Z+	-	-
G-4	L-Omithine	-	-	-	-	-
G-5	L-Phenylalanine	+	+	+	+	+
G-6	L-Proline	+	+	+	+	+
G-7	L-pyroglutamic Acid	+	+	+	+	+
G-8	D-Serine	+	-	-	+	-
G-9	L-Serine	+	+	+	+	+
G-10	L-Threonine	+	+	Z+	-	-
G-11	D,L-Camitine	+	-	+	-	-
G-12	$\gamma$ -Aminobutyric Acid	+	+	+	+	+
H-1	Urocanic Acid	+	-	+	+	+
H-2	Inosine	-	-	-	-	-
H-3	Uridine	-	-	-	-	-
H-4	Thymidine	-	-	-	-	-
H-5	Phenylethyl-amine	+	+	+	+	+
H-6	Putrescine	-	-	Z+	-	+
H-7	2-Aminoethanol	+	+	+	+	+
H-8	2,3-Butanediol	-	-	-	-	-
H-9	Glycerol	+	+	Z+	-	+
H-10	D,L, $\alpha$ -Glycerol Phosphate	+	+	+	-	-
H-11	$\alpha$ -D-Glucose-1 Phosphate	-	-	-	-	-
H-12	D-Glucose-6 Phosphate	+	+	+	+	+
<b>Toplam</b>		<b>71</b>	<b>67</b>	<b>68</b>	<b>55</b>	<b>60</b>

GN2 pleytlerde bulunan toplam 37 karbon kaynağı test edilen *S. maltophilia* strainleri tarafından kullanılmamıştır (Çizelge 4.14). Gram negatif *S. maltophilia* AR-171 ve AR-165 strainleri yüksek oranda (51 ve 50) madde kullanırken, *S. maltophilia* AR-155 en düşük sayıda (37) karbon kaynağı kullanmıştır.



**Çizelge 4.14.** İzole edilen bazı gram negatif *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının (AR153, AR155, AR165, AR171, AR172) kullandığı karbon kaynakları

KARBON KAYNAKLARI		AR 153	AR 155	AR 165	AR 171	AR 172
A-1	Water	-	-	-	-	-
A-2	$\alpha$ -Cyclodextrin	-	-	-	-	-
A-3	Dextrin	+	+	+	+	+
A-4	Glycogen	-	-	-	-	-
A-5	Tween 40	-	-	+	-	+
A-6	Tween 80	+	+	-	-	+
A-7	N-Acetyl-D-Galactosamine	+	+	+	+	+
A-8	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	+	+
A-9	Adonitol	-	-	-	-	-
A-10	L-Arabinose	-	-	-	-	-
A-11	D-Arabitol	-	-	-	-	-
A-12	D-Cellobiose	+	+	+	+	+
B-1	i-Erytritol	-	-	-	-	-
B-2	D-Fructose	Z+	+	+	+	+
B-3	L-Fucose	-	-	-	-	-
B-4	D-Galactose	-	+	-	Z+	+
B-5	Gentiobiose	Z+	+	+	+	+
B-6	$\alpha$ -D-Glucose	+	+	+	+	+
B-7	m-Inositol	-	-	-	-	-
B-8	$\alpha$ -D-Lactose	Z+	+	+	+	+
B-9	Lactulose	Z+	+	+	+	+
B-10	Maltose	+	+	+	+	+
B-11	D-Mannitol	-	-	-	+	+
B-12	D-Mannose	+	+	+	+	+
C-1	D-Melibiose	Z+	+	+	+	+
C-2	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside	-	+	+	+	+
C-3	D- Psicose	-	+	+	+	+
C-4	D-Raffinose	+	-	-	+	+
C-5	L-Rhamnose	-	-	-	-	-
C-6	D-Sorbitol	-	-	+	-	+
C-7	Sucrose	-	+	+	+	+
C-8	D-Trehalose	+	+	+	+	-
C-9	Turanose	-	+	+	+	+
C-10	Xylitol	-	-	-	-	-
C-11	Pyruvic Acid Methyl Ester	+	+	+	Z+	+
C-12	Succinic Acid Mono- Methyl Ester	+	+	+	-	+
D-1	Acetic Acid	+	Z+	+	Z+	+
D-2	Cis-Aconitic Acid	-	+	+	+	-
D-3	Citric Acid	+	+	+	+	+
D-4	Formic Acid	-	+	-	-	+
D-5	D-Galactonic Acid Lactone	-	-	-	-	-
D-6	D-Galacturonic Acid	-	-	-	-	-
D-7	D-Gluconic Acid	-	-	-	-	-
D-8	D-Glucosaminic Acid	-	-	-	-	-
D-9	D-Glucuronic Acid	-	-	-	-	-
D-10	$\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	+	+	+	Z+	+
D-11	$\beta$ - Hydroxybutyric Acid	-	Z+	+	Z+	-
D-12	$\gamma$ -Hydroxybutyric Acid	-	-	-	-	-
E-1	p-Hydroxy-phenlyacetic Acid	-	-	-	-	-
E-2	Itaconic Acid	-	-	-	-	-
E-3	$\alpha$ -Ketobutyric Acid	+	+	+	+	+
E-4	$\alpha$ -Ketoglutaric Acid	+	+	+	+	+
E-5	$\alpha$ -Ketovaleric Acid	+	+	+	+	+
E-6	D,L-Lactic Acid	+	Z+	+	+	+

**Çizelge 4.14.** (devam)

<b>KARBON KAYNAKLARI</b>		<b>AR 153</b>	<b>AR 155</b>	<b>AR 165</b>	<b>AR 171</b>	<b>AR 172</b>
E-7	Malonic Acid	+	Z+	+	+	-
E-8	Propionic Acid	+	+	+	+	+
E-9	Quinic Acid	-	-	-	-	-
E-10	D-Saccharic Acid	-	-	-	-	-
E-11	Sebacic Acid	-	-	-	-	-
E-12	Succinic Acid	+	+	+	+	+
F-1	Bromosuccinic Acid	+	Z+	+	+	-
F-2	Succinamic Acid	-	-	-	-	-
F-3	Glucuronamide	-	-	-	-	-
F-4	L-Alaninamide	-	-	+	Z+	+
F-5	D-Alanine	+	-	+	Z+	+
F-6	L-Alanine	-	-	+	Z+	+
F-7	L-Alanyl-Glycine	+	Z+	+	+	+
F-8	L-Asparagine	+	-	+	Z+	+
F-9	L-Aspartic Acid	+	-	+	-	+
F-10	L-Glutamic Acid	+	Z+	+	+	+
F-11	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	Z+	Z+	Z+	-
F-12	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+	Z+	+
G-1	L-Histidine	-	-	Z+	+	-
G-2	Hydroxy-L-Proline	-	-	-	-	-
G-3	L-Leucine	+	-	+	+	+
G-4	L-Omithine	-	-	-	-	-
G-5	L-Phenylalanine	-	-	-	-	+
G-6	L-Proline	+	+	-	Z+	+
G-7	L-pyroglutamic Acid	-	-	-	-	-
G-8	D-Serine	-	-	-	-	-
G-9	L-Serine	+	+	+	+	+
G-10	L-Threonine	+	+	+	+	-
G-11	D,L-Camitine	-	Z+	-	Z+	-
G-12	$\gamma$ -Aminobutyric Acid	-	-	-	-	-
H-1	Urocanic Acid	-	-	-	-	-
H-2	Inosine	+	-	-	+	+
H-3	Uridine	+	+	+	+	+
H-4	Thymidine	-	-	-	-	-
H-5	Phenylethyl-amine	-	-	-	-	-
H-6	Putrescine	-	-	-	-	-
H-7	2-Aminoethanol	-	-	-	-	-
H-8	2,3-Butanediol	-	-	-	-	-
H-9	Glycerol	-	-	-	-	-
H-10	D,L, $\alpha$ -Glycerol Phosphate	-	-	-	-	-
H-11	$\alpha$ -D-Glucose-1 Phosphate	-	-	-	-	-
H-12	D-Glucose-6 Phosphate	+	-	+	+	+
<b>TOPLAM</b>		<b>48</b>	<b>37</b>	<b>50</b>	<b>51</b>	<b>49</b>

#### 4.4. Deneme Setlerinde Gelişme ve Verim Parametreleri Sonuçları

##### 4.4.1. I. Deneme

Saksılarda kurulan ilk deneme seti, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Hayrat deneme istasyonunda, iki yaşlı Muradiye-10 çay klonunda köklendirilmiş çay fidanları ile kurulmuştur. Araştırmada kullanılan 5 biyolojik gübre olabilecek formülasyonda (A1-A5) bakteriler önceki araştırmalarda Doğu Karadeniz Bölgesi çay rizosfer topraklarından izole edilerek seçilen bakterilerden oluşmuştur. Bu denemede test edilen altıncı formülasyonda kullanılan bakteriler çay atığı kompostlarından, yedinci formülasyondaki bakteriler ise bu çalışma kapsamında izole edilen bakterilerden seçilmiştir. Test edilen bakterilere ait bazı biyokimyasal özellikler Çizelge 4.15’de, uygulamalarının gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi ise Çizelge 4.16’da verilmiştir.

**Çizelge 4.15.** Muradiye-10 çay klonunda iki yaşlı fidanlarla kurulan denemede kullanılan formülasyonlardaki bakterilerin bazı özellikleri (Deneme Set 1)

Formülasyon	İzolot no	MIS Tanı Sonucu	OKZ	KTZ	AG	FÇ	ACCD
F1	RC521	<i>Bacillus subtilis</i>	-	K+	0.86±0.14	124.7±6.18	317.8 ± 13.6
	RC07	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	0.18 ±0.04	36.4±1.5	446.4 ± 24.7
	RC77	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	K+	+	0.79±0.15	39.4±1.7	364.4±26.8
F2	RC63	<i>Bacillus subtilis</i>	+	K+	0.75±0.17	34.6±0.08	972.0 ± 28.3
	RC06	<i>Pseudomonas putida</i>	Z+	+	0.64±0.09	42.8±2.7	44.3± 4.6
	12/5	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	+	+	0.28±0.07	10.1±1.1	32.5± 8.6
F3	53/5	<i>Pseudomonas putida</i>	+	K+	0.56±0.13	-	746.2±47.8
	21/3	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	0.26 ±0.06	31.4±1.3	406.4 ± 22.7
	39/3	<i>Bacillus subtilis</i>	Z+	K+	0.69±0.17	9.8±0.8	198.7±11.2
F4	2/8	<i>Bacillus subtilis</i>	Z+	K+	0.23 ± 0.06	35.3±1.4	94.8 ± 4.9
	47/9	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	0.38±0.11	125.1±14.3	545.6± 17.6
	48/3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	K+	+	0.27±0.06	23.8± 1.4	335.6±17.8
F5	3/10	<i>Pseudomonas putida</i>	K+	+	0.51±0.13	17.8±1.3	529.2±23.2
	RC07	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	0.18 ±0.04	36.4±1.5	446.4 ± 24.7
	RC19	<i>Bacillus simplex</i>	K+	K+	0.37±0.14	13.4±0.8	223.6±21.7
F6	AR-110	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	0.73±0.13	17.6±1.3	134.1±16.8
	AR-59	<i>Bacillus atrophaeus</i>	+	-	0.68±0.14	31.4±1.3	672,4±41,5
	AR-102	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	0.61±0.09	-	-
F7	AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	0.59±0.14	40.8±2.5	207.8 ± 12.7
	AR-49	<i>Rhodococcuserythropolis</i>	+	-	0.55 ±0.11	-	245.4±19.5
	AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	K+	0.48±0.07	36.7± 1.8	332.6±17.4

**OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme (nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, 10<sup>7</sup> cfu h<sup>-1</sup>); **FÇ:** NBRIP-BPB ortamda gelişme (µg P mL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>); **ACCD:** Aminosiklopropan karboksilat deaminaz aktivitesi (nmol α-ketobutyrate mg<sup>-1</sup> protein h<sup>-1</sup>); **K+:** Kuvvetli pozitif; **+**: Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif

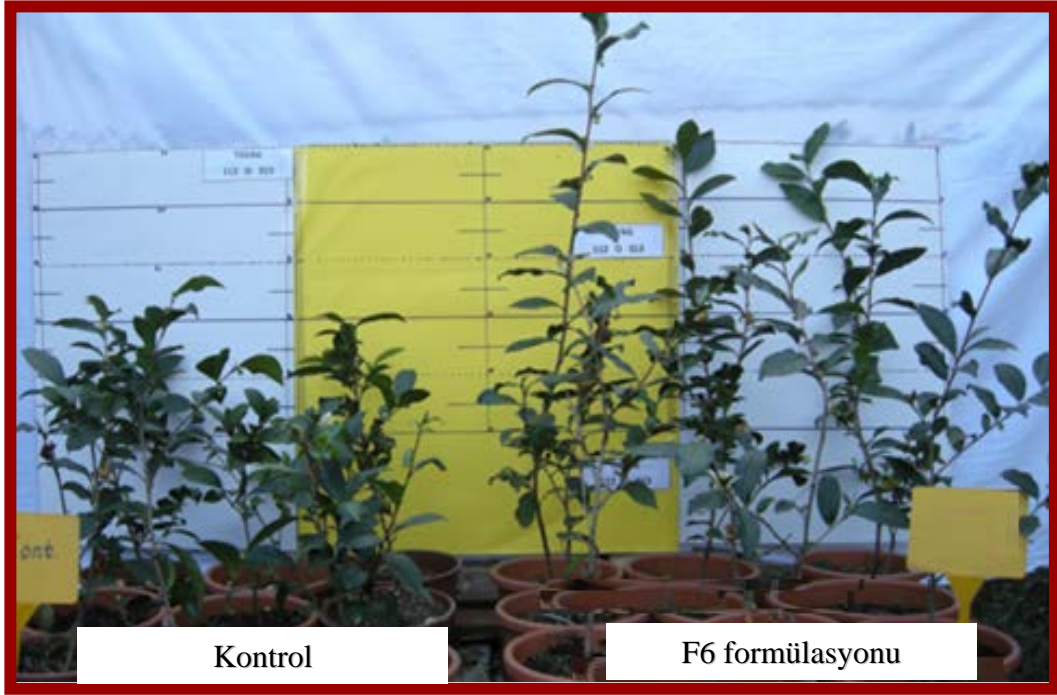
Araştırmanın ilk yılı (2013) sonuçlarına göre, çay fidanlarında gövde çapı değeri tüm uygulamalarla kontrole kıyasla artmış, ancak artış oranları sadece F1, F2 formülasyonları ve mineral gübreleme uygulamalarında önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Bitki boyu (fidan boyu) başta biyolojik gübreleme ve F7 formülü olmak üzere, F1 ve F4 dışındaki uygulamalar ile kontrole kıyasla artırmış, farklılıklar istatistikî bakımdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.16). Yaprak sayısı ise kontrole kıyasla sadece mineral ve biyolojik gübrelemeler ve F7 ve F3 formülü aşılmasıyla önemli miktarda artmıştır. Çay fidanlarında ölçülen dal+yaprak ağırlığı F4 formülasyonu dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla önemli oranda artarken; dal+yaprak, yaş ve kuru yaprak ağırlığı ve yaprak klorofil içeriği bakımından özellikle mineral gübreleme ile aynı gruba giren F6 ve F7 formülasyonları en etkin uygulamalar olmuştur (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Yaprak alanı ve antosiyanin içerik indeks değerleri bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artmış, bu artışlar istatistikî bakımdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.17).

**Çizelge 4.16.** Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre formülasyonlarının Muradiye-10 çay klonunda gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi (Set I, 2013 yılı)

Uygulamalar*	GÇ	BB	DYA	YYA	KYA	YS	YA
Kontrol	4,94 c	45,95 d	15,81 e	10,35 d	5,51 d	41,86 d	21,44 c
NPK	6,23 ab	57,11 ab	20,01 ab	13,34 ab	6,93 ab	50,39 ab	29,32 ab
Biyolojik gübre	5,69 bc	58,05 a	18,86 b-d	12,53 b	6,56 bc	52,66 a	29,07 ab
F1	6,58 a	49,68 cd	18,52 cd	12,56 b	6,03 cd	42,47 cd	25,66 b
F2	5,86 ab	52,97 bc	19,63 a-c	12,90 b	6,47 bc	46,52 b-d	26,19 b
F3	5,57 bc	54,29 ab	17,98 d	11,60 c	6,94 ab	48,04 a-c	26,12 b
F4	5,50 bc	46,06 d	15,85 e	10,90 cd	5,62 d	41,94 d	26,13 b
F5	5,50 bc	53,29 bc	17,66 d	11,61 c	6,77 b	46,78 b-d	30,60 a
F6	5,64 bc	53,72 a-c	20,69 a	14,11 a	7,55 a	46,50 b-d	31,18 a
F7	5,67 bc	58,07 a	20,81 a	14,13 a	7,59 a	52,65 a	30,81 a

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYA:** Yaş yaprak ağırlığı (g/fidan); **KYA:** Kuru yaprak ağırlığı (g/fidan); **YS:** Yaprak sayısı (fidan/adet); **YA:** Yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan



**şekil 4.4.** Deneme Set I solda kontrol, sağda F6 formülasyonu aşılanmış fidanlar (2013 yılı)



**şekil 4.5.** Deneme Set I solda kontrol, sağda F7 formülasyonu aşılanmış fidanlar (2013 yılı)

İlk yıl ortalamalarına göre, F1, F2, F3, F4, F5, F6 ve F7 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay fidanlarının sırasıyla yaş dal+yaprak ağırlığı %17,1, 24,1, 13,7, 0,25, 11,7, 30,8 ve 31,6; kuru yaprak ağırlığı %9,4, 17,3, 26,0, 2,0, 22,9, 37,0 ve 37,7 ve ortalama yaprak alanı ise %19,6, 22,1, 21,8, 21,8, 42,7, 45,4 ve 43,7 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise dal+yaprak ağırlığı %27,1 ve 19,3, kuru yaprak ağırlığı %25,8 ve 19,1 ve yaprak alanı ise %36,7 ve 35,6 oranında artış göstermiştir. Denemenin ilk yılı sonuçlarına göre, çay gelişme ve verim parametreleri bakımından en uygun sonucu, F7 (*B. subtilis* AR-17+ *R. erythropolis* AR-49+*P. fluorescens* AR-9) ve F6 (*B. subtilis* AR-110+*B. atropaeus* AR-59+*B. subtilis* AR-102) formülasyonları vermiştir. Bu formülasyonların mineral gübrelemeye eşdeğer olarak çay gelişmesini teşvik ettiği ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.16-4.17).

**Çizelge 4.17.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set I, 2013 yılı)

Uygulamalar*	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein **			
			GR	GST	G6PD	6PGD
kontrol	75,80 c	17,92 c	1,29 e	1,26 e	1,19 cd	0,82 e
NPK	79,03 a	26,94 a	4,17 b	2,09 c	1,59 bc	1,24 d
Biyolojik gübre	78,20 ab	24,96 ab	2,04 d	2,42 b	1,64 bc	1,73 c
F1	78,13 ab	24,54 ab	2,62 c	1,68 d	1,88 b	1,25 d
F2	77,19 a-c	24,74 ab	0,60 f	1,96 cd	2,39 a	0,77 e
F3	78,17 ab	24,42 ab	6,35 a	2,43 b	1,74 b	1,49 cd
F4	76,63 bc	24,89 ab	1,98 d	2,08 c	1,09 d	0,83 e
F5	77,79 ab	23,59 b	0,57 f	1,24 e	1,41 b-d	3,04 b
F6	78,98 a	26,92 a	1,90 d	3,96 a	1,83 b	3,87 a
F7	79,01 a	25,01 ab	2,74 c	2,53 b	1,81 b	1,78 c

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,01$ ) değildir; \*\*Enzim ölçümleri her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz; **GST:** Glutasyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan

Araştırmanın ilk yılı çay yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi değerleri Çizelge 4.17; birim gram yaprak ve protein başına polifenol oksidaz (PPO), peroksidaz (POD), alkol dehidrogenaz (ADH), üreaz ve 5-Dehidroshikimat redüktaz (DHSK) aktivitesi değerleri ise Çizelge 4.18'de verilmiştir. Muradiye-10 çay klonu fidanlarıyla kurulan bu deneme setine ait 2013 yılı

yaprak örneklerinde oksidatif pentoz fosfat yolunun (OPPP) temel düzenleyici enzimleri olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) enzimleri ve Glutasyon metabolizmasının kilit antioksidant enzimi olan glutasyon redüktaz (GR) ve yaprak protein analizleri yapılmıştır. Enzim analiz sonuçlarına göre Muradiye-10 çay klonunda F2 ve F5 formülasyonları ile glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi kontrole kıyasla daha düşük bulunurken, diğer uygulamaların tamamı GR aktivitesini önemli oranda artırmıştır. Çay yapraklarında en yüksek GR aktivitesi F3 formülasyonu ve NPK uygulamalarında ölçülmüştür. Enzim analiz sonuçlarına göre F5 formülasyonu dışındaki uygulamalar glutasyon S-transferaz (GST); F4 ve F5 dışındaki uygulamalar G6PD, ve F2 ve F4 dışındaki uygulamalar ise 6- 6PGD enzimlerinde artışa neden olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.17). Kontrole kıyasla, birim protein başına yaprak Peroksidaz (POD) aktivitesi artışı sadece F4 formülasyonu ile önemli bulunmuştur. İlk yıl sonuçlarına göre, GR enzim aktivitesi bakımından F3, NPK, F7 ve F1; GST bakımından F6, F7, F3 ve biyolojik gübre; POD enzim aktivitesi bakımından F4 ve F7; G6PD bakımından F2, F1, F6, F7 ve F3; 6PGD enzim aktivitesi bakımından ise F6, F5 ve F7 uygulamaları etkinlik bakımından öne çıkmıştır.

Araştırmanın birinci yılı enzim analizi sonuçlarına göre, gerek yaprak ve gerekse birim protein başına polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesi kontrole kıyasla başta NPK ve biyolojik gübre uygulamaları olmak üzere bakteri formülasyonu aşılama ile artmıştır. Ancak artış oranları birim yaprak ağırlığı başına NPK ve F7; birim protein içeriği bakımından ise F7, F4 ve F1 formülasyonları ile NPK ve biyolojik gübre uygulamaları ile önemli bulunmuştur. Birim gram yaprak ağırlığı başına enzim ünitesi olarak POD aktivitesi NPK ve biyolojik gübre dışındaki bütün bakteri formülleri aşılama ile kontrole kıyasla artırmış farklılıklar istatistikî bakımdan önemli bulunmuştur. Çay yapraklarında en yüksek POD aktivitesi F4, F7 ve F1 formülü aşılama çay yapraklarında ölçülmüş, bunu F2, F6, F3 ve F5 aşılama izlemiştir. Yaprak POD aktivitesi bakımından uygulanan formülasyonların oldukça ümitvar olduğu söylenebilir. Birim gram yaprak ve birim protein başına üreaz enzim içeriği, biyolojik gübre ve F4 ve F7 bakteri formülasyonu ile aşılama çay fidanları yapraklarında, kontrol fidanlarına kıyasla artmış ve bu artış oranları istatistikî bakımdan önemli bulunmuştur. Birim

protein başına üreaz enzim içeriği artışı ise sadece F4 uygulamasında önemli bulunmuştur. Çay yapraklarında ölçülen alkol dehidrogenaz enzim aktivitesi F6 formülü dışındaki tüm formüllerde kontrol, mineral ve biyolojik gübre uygulamalarına kıyasla artmıştır. Ancak alkol dehidrogenaz enzim artış oranları birim gram yaprak başına F2, birim protein başına ise F7 formülasyonu aşılamlarında istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. Çay yaprak 5-dehidroshikimat reduktaz (DSHK) aktivitesi bütün formüllerde kontrol, mineral ve biyolojik gübre uygulamalarına kıyasla artmıştır. Gerek birim gram yaprak ve gerekse birim miligram protein başına DSHK enzim aktivitesi artışı bütün formülasyonlarda (F1-F7) istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.18).

**Çizelge 4.18.** Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre formülasyonlarının Muradiye-10 çay klonunda polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set I, 2013 yılı)

Uygulamalar*	EU/g yaprak					EU/mg protein				
	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK
Kontrol	6,64 cd	14,21 c	0,756 b	1,367 bc	2,192 c	0,057 cd	0,159 b-d	0,0120 bc	0,047 bc	0,087 c
NPK	8,27 ab	17,37 c	0,890 b	0,679 d	2,442 c	0,094 ab	0,117 d	0,0096 c	0,022 d	0,083 c
Biyolojik gübre	7,62 a-c	15,32 c	1,334 a	0,985 cd	2,338 c	0,110 a	0,143 cd	0,0168 ab	0,032 cd	0,078 c
F1	6,99 b-d	31,12 a	1,097 ab	1,558 ab	3,380 b	0,095 ab	0,189 a-c	0,0120 bc	0,066 ab	0,117 b
F2	5,73 d	29,15 ab	1,075 ab	1,938 a	3,647 ab	0,033 d	0,200 a-c	0,0096 c	0,066 ab	0,142 a
F3	6,32 cd	27,78 ab	0,929 b	1,453 a-c	3,283 b	0,059 b-d	0,201 a-c	0,0096 c	0,056 ab	0,121 ab
F4	7,64 a-c	32,53 a	1,332 a	1,446 a-c	3,516 ab	0,106 a	0,238 a	0,0192 a	0,061 ab	0,134 ab
F5	7,59 a-c	24,22 b	0,982 ab	1,372 bc	3,373 b	0,052 cd	0,141 cd	0,0122 bc	0,056 ab	0,131 ab
F6	7,17 a-d	29,08 ab	0,996 ab	1,296 bc	3,642 ab	0,057 cd	0,202 a-c	0,0120 bc	0,049 a-c	0,138 ab
F7	8,61 a	31,31 a	1,323 a	1,790 ab	3,872 a	0,110 a	0,218 ab	0,0155 a-c	0,070 a	0,140 a
Ortalama	7,26	25,21	1,07	1,388	3,169	0,077	0,181	0,0129	0,053	0,117

\* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5-dehidroshikimat reduktaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan

Birinci deneme setine ait 2013 yılı çay yaprağı makro ve mikro element analizi sonuçları Çizelge 4.19 ve 4.20’de verilmiştir. Aşılana bakteri formülasyonuna bağlı olarak değişmekle birlikte makro ve mikro element içeriği bakteri aşılamları ve gübre uygulamalarıyla değişmiştir. Bu denemede kullanılan bakteri formülasyonları biyolojik gübre ve NPK gübrelemesi kontrole kıyasla yaprak fosfor içeriğini artırmış ve artış oranları önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Yaprak azot içeriği ise F2 formülasyonu hariç diğer uygulamalarla kontrole kıyasla çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) oranda artmıştır. Çay



yapraklarında azot içeriği bakımından F7 formülasyonu ve NPK, fosfor içeriği bakımından ise F6 ve F7 formülasyonları en yüksek sonucu vermiştir. Yaprak kalsiyum içeriği kontrole kıyasla F2 ve F6 dışındaki uygulamalarla ve magnezyum içeriği ise tüm uygulamalarla çok önemli miktarda artmıştır. Çay yapraklarında bulunan potasyum içeriği başta F6 olmak üzere F7, F2 ve F5 aşılamlarında kontrole kıyasla çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) oranda yüksek bulunurken diğer uygulamalar kontrolle aynı gruba girmiştir. Çay yapraklarında S içeriği başta F6 olmak üzere F7, F5 ve F3 formülasyonu aşılamlarıyla önemli ( $p \leq 0,05$ ) miktarda artmıştır. Yaprak Al içeriği biyolojik gübre, F2 ve F6, Na içeriği ise F2, F5 ve F6 dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur (Çizelge 4.19).

**Çizelge 4.19.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay fidanlarında makro element miktarına etkisi (Set I, 2013 yılı)

Uygulamalar	(%)	Makro element g/ kg kuru madde						mg/kg
	N	P	K	Ca	Mg	S	Al	kuru madde
Kontrol	1,87 d	1,67 e	15,9 d	7,76 e	2,03 c	3,04 d	0,71 d	48 d
NPK	2,35 ab	2,19 d	15,9 d	28,18 a	3,30 ab	3,26 d	1,39 bc	110 bc
Biyolojik gübre	2,25 a-c	2,28 d	21,4 cd	13,22 cd	3,31 ab	3,23 d	1,23 cd	107 bc
F1	2,12 c	2,43 cd	20,6 d	16,54 c	2,94 b	3,61 cd	2,79 a	116 b
F2	1,82 d	2,88 c	30,0 ab	8,36 e	3,00 b	3,21 d	0,79 d	79 cd
F3	2,13 bc	2,79 c	19,0 d	23,06 b	3,14 b	3,95 c	1,85 b	209 a
F4	2,20 a-c	2,18 d	20,1 d	20,46 b	3,12 b	3,65 cd	1,71 bc	84 bc
F5	2,21 a-c	2,52 cd	26,6 bc	12,82 cd	2,85 b	4,72 b	2,80 a	49 d
F6	2,33 a-c	4,42 a	33,0 a	9,78 de	2,89 b	5,33 a	0,74 d	78 cd
F7	2,36 a	3,67 b	31,1 ab	16,20 c	3,74 a	5,20 ab	2,68 a	102 bc
Ortalama	2,16	2,70	23,4	14,64	3,03	3,92	1,67	98
Önem seviyesi	**	*	**	**	**	*	*	*

\*: $p \leq 0,05$  önemli, \*\*:  $p \leq 0,01$  çok önemli

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan

Çay yapraklarında ölçülen Fe içeriği biyolojik gübre, F6 ve F1, Zn içeriği ise F2, F6, F7 ve F4 aşılamlarıyla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları istatistiksel bakımdan çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. Yaprak Mn içeriği biyolojik gübre ve F6 formülasyonu dışındaki uygulamalarla artarken, yaprak Cu içeriği ise başta F5 olmak üzere F6, F7 ve F2 bakteri formülasyonu aşılamlarıyla çok önemli artış göstermiştir. Çay yapraklarında bor içeriği başta F5 ve F6 olmak üzere, F1, F3 ve F4 dışındaki uygulamalarla çok önemli oranda artmıştır. Çay yapraklarında en yüksek Mo (0,68 mg/kg) ve Pb (2,21

mg/kg) mineral gübre uygulamasında, en yüksek Cd (0,97 mg/kg) kontrol fidanlarında ölçülmüştür (Çizelge 4.20). Araştırmada test edilen özellikle F6 ve F7 bakteri formülasyonlarının genellikle yaprak makro ve mikro element içeriğini çok yüksek oranlarda artırması, bu formülasyonların çay bitkisinin beslenmesinde önemli olduğu ve bakterilerin besin alımını teşvik ettiğini ortaya koymuştur.

**Çizelge 4.20.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay fidanlarında mikro element miktarına etkisi (Set I, 2013 yılı)

Uygulamalar*	Mikro element mg/kg kuru madde								
	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Mo	Ni	Pb	Cd
Kontrol	123 d	8,9 d	736 cd	40,4 d	12,0 d	0,05 b	107 d	1,51 a-c	0,97 a
NPK	162 cd	15,6 cd	1057 bc	56,9 cd	27,6 bc	0,68 a	118 d	2,21 a	0,36 bc
Biyolojik gübre	423 a	18,2 b-d	629 d	36,9 d	31,0 b	0,04 b	250 a-c	1,86 ab	0,60 ab
F1	255 bc	17,1 b-d	1931 a	31,5 d	15,4 cd	0,34 ab	158 b-d	0,70 bc	0,13 c
F2	122 d	25,0 bc	1315 b	107,1 a	25,9 bc	0,14 b	197 a-d	0,28 c	0,25 bc
F3	194 b-d	16,6 cd	2062 a	53,9 cd	20,7 b-d	0,03 b	227 a-d	1,88 ab	0,25 bc
F4	180 cd	18,0 b-d	1819 a	72,8 bc	18,3 b-d	0,22 b	135 cd	1,66 a-c	0,15 c
F5	146 cd	36,3 a	1773 a	53,5 cd	49,0 a	0,01 b	266 ab	2,09 ab	0,18 c
F6	312 ab	26,7 b	773 cd	86,5 ab	50,3 a	0,27 b	297 a	1,29 a-c	0,28 bc
F7	226 b-d	23,3 bc	1835 a	96,7 ab	31,1 b	0,06 b	254 a-c	1,22 a-c	0,06
Ortalama	214	20,6	1392	63,6	28,1	0,18	200	1,47	0,32

\*Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemlidir ( $p < 0,01$ )

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan

Araştırmanın ikinci yılı (2014) sonuçlarına göre, ilk yıl verilerine benzer olarak çay fidanlarında gövde çapı değeri tüm uygulamalarda kontrole kıyasla artmış, F3, F4 ve F5 dışındaki uygulamalarla, artış oranları kontrole kıyasla önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Bitki boyu tüm uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve F4 dışındaki uygulamalarla artış oranı önemli bulunmuştur. En yüksek gövde çapı ve fidan boyu F1 bakteri formülasyonu aşılması ile ölçülürken bunu sırasıyla F2 ve NPK uygulamaları takip etmiştir. Çay fidanlarında dal+yaprak ağırlığı başta F2, NPK ve F7 olmak üzere, bütün uygulamalar ile kontrole kıyasla artırmış farklılıklar istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.21). İkinci yıl verilerine göre yaş ve kuru yaprak verimi tüm uygulamalarla kontrole kıyasla önemli miktarda artış göstermiştir. En yüksek yaş yaprak verimi F2 aşılması ve NPK uygulaması ile belirlenirken, bunu F7, F6, F1 ve biyolojik gübreleme takip etmiştir.

İkinci ve üçüncü yaprak alanı değerleri tüm uygulamalarla kontrole kıyasla artmıştır. İkinci yaprak alanı bakımından artış oranları, başta NPK olmak üzere F1, F2, F7 ve F6 aşılanmış çay fidanlarında önemli bulunmuştur. Muradiye-10 çay klonunda üçüncü yaprak alanı bakımından araştırmanın ikinci yılında NPK (27,12 cm<sup>2</sup>), F7 (27,0 cm<sup>2</sup>), F2 (26,91 cm<sup>2</sup>) ve F1 (26,75 cm<sup>2</sup>) aşılmasını, F6, biyolojik gübre, F3, F3 ve F4 aşılama ları takip etmiştir.

**Çizelge 4.21.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set I, 2014 yılı)

Uygulama*	GÇ	BB	DYA	YYV	KYV	İYA	ÜYA
Kontrol	5,973 c	52,74 d	28,71 d	14,76 d	7,808 d	16,23 d	22,32 d
NPK	7,643 ab	62,38 ab	37,11 a	19,15 a	9,996 a	19,42 a	27,12 a
Biyolojik gübre	6,951 ab	58,78 a-c	34,81 ab	17,90 ab	9,467 ab	18,04 a-d	25,56 a-c
F1	7,849 a	63,40 a	36,63 a	18,83 a	9,920 a	19,12 ab	26,75 a
F2	7,328 ab	62,41 ab	37,16 a	19,11 a	10,063 a	19,10 ab	26,91 a
F3	6,815 bc	58,50 bc	33,70 bc	17,22 bc	9,166 bc	17,42 a-d	24,71 bc
F4	6,717 bc	56,66 cd	31,69 c	16,30 c	8,621 c	16,97 cd	24,43 c
F5	6,823 bc	57,79 bc	33,72 bc	17,23 bc	9,132 bc	17,30 b-d	24,77 bc
F6	7,049 ab	60,37 a-c	36,67 a	18,86 a	9,975 a	18,80 a-c	26,59 ab
F7	7,243 ab	59,10 a-c	36,79 a	18,92 a	10,006 a	18,96 ab	27,00 a
Ortalama	7,039	59,21	34,70	17,83	9,415	18,13	25,62

\* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0.05$ ) değildir

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **İYA:** İkinci yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **ÜYA:** Üçüncü yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan

Araştırmanın ikinci yılında mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise dal yaprak ağırlığı %29,3 ve 21,2, yaş yaprak ağırlığı %29,7 ve 21,3; kuru yaprak ağırlığı %28,0 ve 21,2 ve ortalama yaprak alanı ise %20,7 ve 13,1 oranında artış göstermiştir. İkinci yıl sonuçlarına göre, F1, F2, F3, F4, F5, F6 ve F7 bakteri formülasyonu aşılama larıyla çay fidanlarının sırasıyla, dal yaprak ağırlığı %27,6, 29,4, 17,4, 10,4, 17,5, 27,7 ve 28,1; yaş yaprak ağırlığı %27,6, 29,5, 16,7, 10,4, 16,7, 27,8 ve 28,2; kuru yaprak ağırlığı %27,0, 28,9, 17,4, 10,4, 17,0, 27,8 ve 28,2 ve ortalama (ikinci ve üçüncü yaprak alanı ortalaması) yaprak alanı ise %19,0, 19,4, 9,3, 7,4, 9,1, 17,7 ve 19,2 oranında artmıştır.

Araştırmanın ikinci yılında bakteri formülasyonu ve gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.22'de verilmiştir. Yaprak klorofil içeriği (SPAD değeri) ve antosiyanin içerik indeks (ACI) değerleri bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artmıştır. Yaprak klorofil içeriği bakımından başta F7 aşılması ve NPK uygulaması başta olmak üzere, F6, biyolojik gübre, F2 ve F1 aşılamaalarında artış oranları istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. Çay yapraklarında ölçülen ACI bakımından en yüksek sonucu F6 ve F7 aşılamaaları verirken, bu uygulamaları F2 ve biyolojik gübre uygulamaları takip etmiştir. Antosiyanin içeriği bakımından F1, F3, F4 ve F5 aşılamaalarında görülen artış oranları önemli bulunmamıştır. Yaprak klorofil ve antosiyanin içeriği NPK uygulaması ile %10,7 ve 9,3 oranında artarken, bu artış oranları bakteri formülasyonları ile %1,1-11,0 ve %0,2-13,9 olmuştur.

Birim protein ve yaprak ağırlığı başına enzim ünitesi olarak POD aktivitesi NPK ve biyolojik gübre dışındaki bütün bakteri formülleri aşılamaaları ile kontrole kıyasla artırmış farklılıklar istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. Çay yapraklarında en yüksek POD aktivitesi F4, F7 ve F1 formülü aşılamaaları çay yapraklarında ölçülmüş, bunu F2, F6, F3 ve F5 aşılamaaları izlemiştir

Muradiye yaprak enzim aktivite analiz sonuçlarına göre, yaprak GR aktivitesi F5 ve yaprak GST aktivitesi ise F1 ve F5 aşılamaaları dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. Yaprak GR enzim aktivitesi bakımından F3, F7, F1 aşılamaaları ve NPK uygulaması; yaprak GST enzim aktivitesi bakımından ise özellikle F7, F6, F3 ve biyolojik gübre uygulamalarının en etkin sonucu verdiği belirlenmiştir.

Oksidatif pentoz fosfat yolunun (OPPP) temel düzenleyici enzimleri olan G6PD aktivitesi başta F2 ve F7 bakteri formülasyonları olmak üzere, F4 ve F5 aşılamaaları dışındaki bütün uygulamalarla kontrole kıyasla çok önemli oranda artmıştır. Çay yapraklarında ölçülen 6PGD enzim aktivitesi başta F6 olmak üzere, F7, F5 ve F1

aşılmalarıyla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.22).

**Çizelge 4.22.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Muradiye-10 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set I, 2014 yılı)

Uygulamalar	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein *				
			GR	GST	POD	G6PD	6PGD
Kontrol	67,94 d	21,08 d	1,33 d	1,64 d	0,103 c	1,28 d	1,36 cd
NPK	75,23 a	23,04 ab	2,74 ab	2,21 b	0,126 c	1,80 bc	1,31 d
Biyolojik gübre	72,88 ab	22,31 bc	2,16 c	2,48 ab	0,111 c	1,82 bc	1,76 cd
F1	71,63 bc	22,12 b-d	2,90 a	1,87 cd	0,226 a	2,09 b	1,59 cd
F2	71,86 bc	22,35 bc	2,25 bc	2,17 bc	0,211 ab	2,68 a	1,83 c
F3	70,06 cd	21,56 cd	3,14 a	2,58 a	0,201 ab	1,86 bc	1,52 cd
F4	68,68 d	21,13 d	2,06 c	2,20 b	0,236 a	1,21 d	1,37 cd
F5	69,72 cd	21,45 cd	1,20 d	1,72 d	0,176 b	1,51 cd	2,30 b
F6	75,08 a	23,98 a	2,32 bc	2,74 a	0,210 ab	2,11 b	3,34 a
F7	75,43 a	23,73 a	2,98 a	2,81 a	0,228 a	2,63 a	2,36 b
Ortalama	71,85	22,28	2,31	2,24	0,183	1,90	1,87
Önem seviyesi	**	**	***	***	***	***	***

\*Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır ; \*\*:p≤0,05 Önemli; \*\*\*:p≤0,01 çok önemli  
**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı ; **AI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz; **GST:**Glutasyon S-transferaz; **POD:**Peroksidaz; **G6PD:**Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:**6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** 1500 mg kompoze 25:5:10/fidan

#### 4.4.2. II. Deneme

Bu araştırma kapsamında doğal koşullarda kurulan ikinci saksı deneme seti, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Hayrat deneme istasyonunda, 1,5 yaşlı aynı boy ve çapta Hamzabey Türk çay klonu fidanları ile kurulmuştur. Bu denemede araştırma kapsamında Hazar Denizinin Güney kıyılarında yetiştirilen çay bitkileri rizosferinden izole edilen 20 farklı orijinal bakteri izolatu, mineral NPK gübrelemesi ve kontrole kıyasla test edilmiştir. Araştırmada kullanılan bakteriler ve bu bakterilere ait bazı biyokimyasal özellikler Çizelge 4.23’de, bakteri aşılmaları ve gübre uygulamasının gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi ise Çizelge 4.24’de verilmiştir.

**Çizelge 4.23.** Saksılarda bir buçuk yaşlı Hamzabey çay klonu ile kurulan denemede kullanılan yeni izolatların bazı özellikleri (Deneme Set 1I)

Kod	MIS Tanı Sonucu	GR	OKS	KTZ	AG	SKZ	FÇ
AR-7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	+	Z+	+	K+
AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	K+	+	+	+	+
AR-18	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	K+	+	-	Z+
AR-20	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	+	-	+	K+	+	K+
AR-21	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	+	+	+	Z+
AR-28	<i>Burkholderia cepacia</i>	-	Z+	+	K+	-	K+
AR-29	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	+	+	-	K+
AR-40	<i>Bacillus megaterium</i>	+	-	+	+	-	Z+
AR-42	<i>Burkholderia cepacia</i>	-	+	+	+	-	+
AR-47	<i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	-	-	+	Z+	-	K+
AR-49	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	+	-	+	K+	-	K+
AR-50	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	-	K+
AR-52	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	K+	+	+	+	+
AR-59	<i>Bacillus atrophaeus</i>	+	-	+	Z+	+	K+
AR-64	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	-	+
AR-67	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	+	+	+	K+
AR-70	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	-	K+
AR-71	<i>Pseudomonas agarici</i>	-	+	+	K+	+	+
AR-76	<i>Bacillus subtilis</i>	+	Z+	K+	Z+	+	K+
AR-173	<i>Pseudomonas putida</i>	-	+	+	+	-	+

**GR:** Gram reaksiyon; **OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme (nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, 10<sup>7</sup> cfu h<sup>-1</sup>); **SKZ:** Sükröz test; **FÇ:** FÇ: NBRIP-BPB ortamda gelişme (µg P mL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>); **K+:** Kuvvetli pozitif; **+**: Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif

Toplam 20 farklı izolatın test edildiği bu denemenin ilk yıl sonuçlarına göre, kontrole kıyasla bu denemede kullanılan 14 bakteri gövde çapı değerini, 6 bakteri fidan boyunu, 11 bakteri dal+yaprak ağırlığını, 12'şer bakteri bakteri yaş ve kuru yaprak verimini ve 13 bakterinin ise ortalama yaprak alanı değerlerini önemli (p≤ 0,05) miktarda artırdığı belirlenmiştir. En yüksek bitki boyu (49,74 cm) *P. agarici* AR-71 aşılmasıyla elde edilmiş, bunu sırasıyla NPK (48,76 cm), *B. subtilis* AR-76 (48,32 cm) ve *B. pumilus* AR-64 (47,08 cm) izlemiştir. En düşük bitki boyu ise kontrol (39,97 cm), *B. megaterium* AR-40 (39,93 cm), *B. cepacia* AR-28 ve *P. fluorescens* AR-9 (39,94 cm) uygulamalarında belirlenmiştir. En yüksek gövde çapı ve yaprak alanı değerleri *B. subtilis* AR-21 aşılana ve mineral NPK gübre uygulanan çay fidanlarında ölçülmüştür (Çizelge 4.25).

En yüksek yaş dal+yaprak ağırlığı *R. erythropolis* AR-49 (14,47 g/fidan) aşılmasıyla elde edilirken, bunu sırasıyla *B. pumilus* AR-64 (13,69 g/fidan), *B. atrophaeus* AR-59

(13,23 g/fidan), *B. subtilis* AR-21 (13,23 g/fidan) ve *B. subtilis* AR-67 izlemiştir. En yüksek yaş yaprak verimi *B. pumilus* AR-64 (9,11 g/fidan) aşılanmış fidanlarda görülürken bunu sırası ile aynı gruba giren *B. subtilis* AR-67, *B. pumilus* AR-70, *R. erythropolis* AR-49 ve *B. atrophaeus* AR-59 aşılama izlemiştir. Kuru yaprak ağırlığı bakımından en etkin uygulamalar sırası ile *B. pumilus* AR-64 (4,74 g/fidan), *B. licheniformis* AR-29, NPK, *B. subtilis* AR-67, *A. xylooxidans denitrificans* AR-47, *B. pumilus* AR-70, *B. atrophaeus* AR-59, *R. erythropolis* AR-49, *B. subtilis* AR-21 ve *P. putida* AR-173 olmuş ve aynı gruba girmiştir.

Ortalama en yüksek yaprak alanı değerleri *B. subtilis* AR-21 (36,22 cm<sup>2</sup>) ve NPK (34,83 cm<sup>2</sup>) uygulamalarında ortaya çıkmış, bu uygulamaları *A. xylooxidans denitrificans* AR-47 (34,47 cm<sup>2</sup>), *B. pumilus* AR-70 ve *P. agarici* AR-71 (33,13 cm<sup>2</sup>) aşılama izlemiştir. En düşük yaprak alanı ise kontrolle aynı gruba giren *B. pumilus* AR-50 (24,14 cm<sup>2</sup>) ve *B. cepacia* AR-28 (24, 53 cm<sup>2</sup>) aşılama izlemiştir (Çizelge 4.24).

Mineral NPK uygulaması ile kontrole kıyasla, gövde çapı, dal+yaprak ağırlığı, yaş yaprak ağırlığı, kuru yaprak ağırlığı, toplam yaprak alanı, yaprak klorofil içeriği ve yaprak antosiyanin içeriği sırasıyla %26,6, 19,9, 21,5, 46,6, 32,4, 14,1 ve 23,9 oranında artmıştır. Kontrol uygulamasına kıyasla bakteri aşılama izlemelerinin çay gelişmesine etkisi, gövde çapında %5,5 ile 27,2, dal + yaprak ağırlığında %-22,4 ile 29,8, yaş yaprak ağırlığı %-3,5 ile 60,4, kuru yaprak ağırlığı %-18,4 ile 48,1, toplam yaprak alanı %-8,2 ile 37,7, yaprak klorofil içeriği %0,0 ile %14,1 ve yaprak antosiyanin içeriği ise %7,6 ile 23,9 oranında değişim göstermiştir.

Bu deneme setinin ilk yıl sonuçları toplu değerlendirildiğinde, çay gelişme ve verimi bakımından, genellikle mineral gübreleme ile benzer sonuç veren *B. subtilis* AR-21, *R. erythropolis* AR-49, *B. pumilus* AR-64, *B. subtilis* AR-67, *B. atrophaeus* AR-59 ve *B. licheniformis* AR-29 bakteri aşılama izlemelerinin ümitvar olabileceği söylenebilir (Çizelge 4.24). Bu bakterilerin çay gelişme parametrelerini mineral gübrelemeye eş veya daha yüksek oranda artırdığı görülmüştür.

**Çizelge 4.24.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Hamzabey çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set II, 2013 yılı)

Uygulamalar*	GÇ	BB	DYA	YYV	KYV	YA
Kontrol	5,08 f	39,97 e	10,19 g	5,68 fg	3,20 d	26,31 ij
NPK	6,43 ab	48,76 ab	12,22 cd	6,90 b-e	4,69 a	34,83 ab
AR-7	5,93 a-e	42,63 c-e	10,64 fg	6,24 e-g	3,34 cd	29,58 f-h
AR-9	5,78 c-e	39,94 e	10,92 e-g	6,48 c-f	3,40 cd	30,38 fg
AR-18	5,38 ef	40,92 de	10,22 g	6,39 d-f	3,43 cd	28,43 gh
AR-20	6,04 a-d	41,73 c-e	10,97 e-g	7,09 b-d	3,67 bc	30,49 e-g
AR-21	6,46 a	45,83 a-d	13,23 bc	7,67 b	4,37 a	36,22 a
AR-28	5,45 d-f	39,94 e	8,83 h	5,57 g	2,75 e	24,53 j
AR-29	6,19 a-c	44,29 b-e	12,14 cd	7,06 b-d	4,69 a	29,11 f-h
AR-40	5,67 c-f	39,93 e	8,55 h	5,48 g	2,61 e	25,09 j
AR-42	5,38 ef	42,38 c-e	10,69 fg	6,48 c-f	3,49 cd	26,27 ij
AR-47	5,86 a-e	44,10 b-e	11,83 de	7,11 b-d	4,50 a	34,47 a-c
AR-49	5,74 c-e	45,52 a-d	14,47 a	8,50 a	4,37 a	31,17 d-f
AR-50	5,80 b-e	42,06 c-e	7,91 h	5,52 g	2,78 e	24,14 j
AR-52	5,72 c-e	40,67 de	8,21 h	5,51 g	2,62 e	24,90 j
AR-59	6,10 a-d	45,98 a-d	13,23 bc	8,49 a	4,45 a	24,84 j
AR-64	5,86 a-e	47,08 a-c	13,69 ab	9,11 a	4,74 a	27,96 hi
AR-67	5,71 c-e	44,35 b-e	13,21 bc	8,68 a	4,55 a	32,58 c-e
AR-70	5,71 c-e	43,69 b-e	12,13 cd	8,61 a	4,49 a	33,13 b-d
AR-71	6,21 a-c	49,74 a	11,91 de	7,29 bc	3,93 b	33,13 b-d
AR-76	5,67 c-f	48,32 ab	11,71 d-f	7,01 b-e	3,68 bc	32,55 c-e
AR-173	5,36 ef	45,38 a-e	12,29 cd	7,72 b	4,33 a	31,14 d-f
Ortalama	5,80	43,78	11,33	7,02	3,82	29,60

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **YA:** Yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

Araştırmanın birinci yılında ikinci deneme setinde bakteri formülasyonu ve gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.25’de verilmiştir. Bu deneme setinde test edilen izolatlardan 7’si yaprak klorofil ve 14’ü ise yaprak antosiyanin içerik indeksi (ACİ) değerini kontrole kıyasla önemli miktarda artırmıştır. Klorofil içeriği ve antosiyanin miktarı başta NPK gübrelemesi olmak üzere, *B. subtilis* AR-21, *R. erythropolis* AR-49, *B. licheniformis* AR-29, *B. subtilis* AR-67, *P. fluorescens* AR-9, *B. atrophaeus* AR-59 ve *B. pumilus* AR-64 aşulamaları ile kontrole kıyasla önemli miktarda artmıştır.



**Çizelge 4.25.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set II, 2013 yılı)

Uygulamalar*	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein**			
			GR	GST	G6PD	6PGD
Kontrol	79,38 c	19,55 e	1,87 e	1,90 g	1,05 f	0,75 f
NPK	90,61 a	24,23 a	2,50 d	2,79 b-d	1,55 c-e	2,02 a
AR-7	84,34 a-c	21,17 de	2,48 d	2,36 d-f	1,35 d-f	1,09 d-f
AR-9	87,00 ab	23,04 a-d	2,37 de	1,97 fg	1,32 d-f	1,12 d-f
AR-18	83,28 bc	21,76 b-e	2,26 de	2,02 fg	1,25 ef	1,03 ef
AR-20	82,60 bc	21,04 de	1,89 e	2,43 c-f	1,18 ef	0,79 f
AR-21	90,60 a	23,77 a-c	4,17 b	2,76 b-d	1,86 bc	1,50 bc
AR-28	79,43 c	22,60 a-d	2,37 de	1,85 g	1,05 f	0,79 f
AR-29	89,80 a	24,23 a	5,49 a	3,77 a	1,53 c-e	1,44 b-d
AR-40	79,38 c	21,50 b-e	2,22 de	2,17 e-g	1,32 d-f	1,01 ef
AR-42	85,57 a-c	22,89 a-d	2,41 d	1,83 g	1,35 d-f	1,19 c-e
AR-47	83,12 bc	23,78 a-c	2,46 d	2,28 e-g	1,67 b-d	1,10 d-f
AR-49	90,59 a	24,32 a	2,31 de	2,54 c-e	1,84 bc	1,29 c-e
AR-50	79,84 c	21,56 b-e	1,87 e	2,08 fg	0,99 f	0,79 f
AR-52	79,43 c	21,37 c-e	1,90 e	2,04 fg	1,31 d-f	1,09 d-f
AR-59	86,76 ab	23,77 a-c	2,53 d	2,22 e-g	1,99 b	1,50 bc
AR-64	87,48 ab	23,67 a-c	3,24 c	2,12 e-g	3,35 a	1,46 b-d
AR-67	87,47 ab	23,82 ab	3,48 c	3,09 b	1,04 f	1,79 ab
AR-70	83,11 bc	23,72 a-c	1,87 e	2,23 e-g	1,67 b-d	1,18 c-e
AR-71	79,55 c	22,56 a-d	2,36 de	2,25 e-g	1,44 de	1,31 c-e
AR-76	80,03 c	22,31 a-d	2,52 d	2,85 bc	1,67 b-d	2,04 a
AR-173	80,25 c	23,84 ab	1,86 e	1,86 g	1,04 f	0,75 f
Ortalama	84,08	22,75	2,56	2,33	1,49	1,23

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir; \*\*Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz, **GST:** Glutasyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

Bu deneme setinde test edilen bakterilerden, 9'unun kontrole kıyasla yaprak GR ve G6PD enzim aktivitesini, 7 adedinin GST enzim aktivitesini ve 10 bakterinin ise 6PGD enzim aktivitesini önemli miktarda ( $p \leq 0,05$ ) artırdığı görülmüştür (Çizelge 4.25). Yaprak antioksidan GR enzim aktivitesi bakımından en etkin izolat *B. licheniformis* AR-29, *B. subtilis* AR-21, *B. subtilis* AR-67 ve *B. pumilus* AR-64; GST enzimi bakımından *B. licheniformis* AR-29, *B. subtilis* AR-67 ve *B. subtilis* AR-76 aşlamaları en etkin sonucu vermiştir. Çay yapraklarında ölçülen G6PD enzimi aktivitesi bakımından *B. pumilus* AR-64, *B. atrophaeus* AR-59, *B. subtilis* AR-21 ve *R.*

*erythropolis* AR-49 ve 6PGD enzim aktivitesi bakımından ise *B. subtilis* AR-76, *B. subtilis* AR-67, *B. atrophaeus* AR-59 ve *B. subtilis* AR-21 izolatları aşılama en etkin bulunmuştur (Çizelge 4.25).

Araştırmanın ilk yılı çay yapraklarında ölçülen birim gram yaprak ve protein başına polifenol oksidaz (PPO), peroksidaz (POD), alkol dehidrogenaz (ADH), üreaz ve 5-dehidroshikimat redüktaz (DHSK) aktivitesi değerleri ise Çizelge 4.26'de verilmiştir. Araştırmanın ilk yılı sonuçlarına göre, birim gram yaprak ağırlığı başına enzim ünitesi olarak PPO enzim aktivitesi 8, POD enzim aktivitesi 14, üreaz enzim aktivitesi 7, ADH aktivitesi 13 ve DHSK redüktaz aktivitesi ise 18 bakteri tarafından kontrole kıyasla artırılmış ve artış oranları istatistik olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Çay yapraklarındaki en yüksek birim gram yaprak ağırlığı ve protein başına polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi değeri *B. subtilis* AR-21 ve *R. erythropolis* AR-49 bakterileriyle aşılama en etkin çay yapraklarında ölçülmüştür. Kontrol ve mineral gübre uygulamalarına kıyasla gerek birim gram yaprak ve gerekse birim protein başına yaprak peroksidaz enzim aktivitesi bakımından en etkin olan izolatlar sırasıyla *P. agarici* AR-71, *B. pumilus* AR-64, *B. subtilis* AR-76, *B. cepacia* AR-42, *B. subtilis* AR-67, *R. erythropolis* AR-20, *B. cepacia* AR-28, *P. fluorescens* AR-9 ve *P. fluorescens* AR-7 olmuştur. *P. putida* AR-173, *P. agarici* AR-71 ve *B. subtilis* AR-76 ve aşılama en etkin ile birim gram yaprak ve birim miligram protein başına enzim ünitesi olarak üreaz aktivitesi kontrol ve NPK uygulamalarına kıyasla önemli oranda artmıştır. *B. pumilus* AR-18, *B. cepacia* AR-28, *A. xylosoxidans denitrificans* AR-47 ve *B. pumilus* AR-70 aşılama en etkin ile kontrol ve NPK uygulamasına kıyasla birim gram yaprak başına üreaz aktivitesini artırmış ve artış oranları önemli bulunmuş, Ancak protein başına artışlar istatistik bakımından önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmamıştır.

Çay yapraklarında ölçülen en yüksek birim gram yaprak veya birim protein başına alkol dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri *B. megaterium* AR-40 ve *P. agarici* AR-71 aşılama en etkin ile ulaşılmıştır. Bu bakterileri sırasıyla *B. pumilus* AR-64, *B. cepacia* AR-42, *B. cepacia* AR-28, *P. fluorescens* AR-9, *P. fluorescens* AR-52, *B. subtilis* AR-67, *R. erythropolis* AR-20, *P. fluorescens* AR-7 ve *B. subtilis* AR-76 aşılama en etkin ile izlemiştir. En

yüksek yaprak ve protein başına 5-dehidroshikimat redüktaz aktivitesi *B. subtilis* AR-67 ve *B. subtilis* AR-21 aşılannış çay yapraklarında ölçülmüştür. Bu bakterileri sırasıyla, kontrol ve NPK uygulamalarına kıyasla DSHK aktivitesini önemli oranda artıran, *P. fluorescens* AR-9, *B. megaterium* AR-40, *B. cepacia* AR-42, *B. pumilus* AR-64, *P. agarici* AR-71, *R. erythropolis* AR-20, *B. cepacia* AR-28 ve *B. pumilus* AR-70 bakteri aşılammaları izlemiştir (Çizelge 4.26).

**Çizelge 4.26.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat redüktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set II, 2013 yılı)

Uygulamalar*	EU/g yaprak					EU/mg protein				
	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK
Kontrol	6,78 f	18,44 e	0,95 de	1,18 d	2,59 de	0,072 f	0,14 f	0,010 c	0,038 f	0,094 c-e
NPK	8,70 a-c	18,84 e	0,87 e	1,21 d	2,21 e	0,111 b-f	0,14 f	0,010 c	0,038 f	0,080 e
AR-7	8,22 b-f	35,03 ab	1,17 a-e	1,81 a-c	3,83 a	0,122 b-f	0,26 ab	0,013 bc	0,065 a-d	0,143 b
AR-9	7,90 b-f	37,25 ab	1,19 a-d	1,88 ab	4,01 a	0,142 a-f	0,28 a	0,013 bc	0,068 a-c	0,146 b
AR-18	7,81 c-f	21,72 c-e	1,37 a-c	1,60 b-d	2,89 cd	0,106 c-f	0,16 d-f	0,013 bc	0,047 d-f	0,088 de
AR-20	8,54 a-d	39,06 ab	1,16 a-e	1,79 a-c	3,88 a	0,169 a-e	0,30 a	0,010 c	0,065 a-d	0,138 b
AR-21	9,75 a	24,84 c-e	1,06 c-e	1,44 b-d	3,99 a	0,223 a	0,17 d-f	0,011 c	0,046 d-f	0,186 a
AR-28	8,40 a-e	37,96 ab	1,28 a-c	1,95 ab	3,89 a	0,195 a-c	0,27 a	0,010 c	0,068 a-c	0,138 b
AR-29	8,40 a-e	25,31 cd	1,10 b-e	1,86 ab	3,23 bc	0,098 ef	0,20 b-e	0,011 c	0,055 b-f	0,105 b-e
AR-40	7,05 d-f	33,15 b	1,12 b-e	2,05 a	4,14 a	0,085 ef	0,21 b-d	0,010 c	0,081 a	0,143 b
AR-42	8,38 a-e	39,71 a	1,23 a-d	1,96 ab	4,02 a	0,197 a-c	0,29 a	0,013 bc	0,070 a-c	0,143 b
AR-47	8,46 a-d	19,41 de	1,27 a-c	1,46 b-d	2,26 e	0,160 a-f	0,15 d-f	0,016 a-c	0,047 d-f	0,088 de
AR-49	9,38 ab	26,22 c	1,05 c-e	1,70 a-d	3,76 ab	0,202 ab	0,19 c-f	0,011 c	0,057 b-f	0,124 b-d
AR-50	8,24 b-f	24,83 c-e	1,08 b-e	1,76 a-c	3,11 c	0,096 ef	0,20 b-f	0,010 c	0,052 c-f	0,101 b-e
AR-52	7,48 c-f	34,06 ab	1,18 a-e	1,97 ab	3,72 ab	0,078 ef	0,25 a-c	0,013 bc	0,062 a-d	0,130 b-d
AR-59	8,19 b-f	26,96 c	1,22 a-d	1,62 a-d	3,23 bc	0,098 ef	0,20 b-e	0,011 c	0,052 c-f	0,108 b-e
AR-64	8,45 a-d	40,00 a	1,21 a-d	2,01 a	4,02 a	0,190 a-d	0,29 a	0,013 bc	0,074 ab	0,143 b
AR-67	7,91 b-f	37,95 ab	1,24 a-d	1,83 ab	3,95 a	0,106 d-f	0,28 a	0,013 bc	0,063 a-d	0,216 a
AR-70	8,16 b-f	23,85 c-e	1,30 a-c	1,20 d	3,79 ab	0,076 ef	0,17 d-f	0,013 bc	0,041 ef	0,132 bc
AR-71	6,92 ef	40,21 a	1,36 a-c	2,13 a	3,93 a	0,074 f	0,28 a	0,018 ab	0,081 a	0,140 b
AR-76	7,14 d-f	39,79 a	1,38 ab	1,75 a-c	3,78 ab	0,119 b-f	0,29 a	0,018 ab	0,060 b-e	0,130 b-d
AR-173	7,77 c-f	18,56 e	1,45 a	1,29 cd	2,11 e	0,111 b-f	0,15 ef	0,021 a	0,047 d-f	0,080 e
Ortalama	8,09	30,14	1,19	1,70	3,47	0,129	0,22	0,013	0,058	0,127

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz redüktaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5- ehidroshikimat redüktaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

Bu denemeye ait 2013 yılı çay yaprağı makro ve mikro element analizi sonuçları Çizelge 4.27 ve 4.28'de verilmiştir. Aşılannan bakteri ve gübre uygulamalarına bağılı olarak değışmekle birlikte makro ve mikro element içeriğı bakteri ve gübre uygulamalarıyla değışmiştir.

Bu denemede kullanılan 20 farklı bakteri izolatından kontrole kıyasla 10 bakteri yaprak N içeriğini, 13 bakteri yaprak P içeriğini, 10 bakteri yaprak Ca içeriğini, 16 bakteri ise Mg içeriğini, 12 bakteri yaprak Al içeriğini çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) miktarda artırmıştır. Bu izolatlardan 12 bakteri yaprak K içeriğini, 14 bakteri yaprak S içeriğini ve 13 bakteri ise yaprak Na içeriğini artırmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Mineral NPK uygulaması ise yaprak K içeriği dışındaki diğer makro element içeriği kontrole kıyasla önemli oranda artırmıştır (Çizelge 4.27).

**Çizelge 4.27.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunu fidanlarında makro element miktarları (Set II, 2013 yılı)

Uygulamalar	(%)	g/ kg kuru madde						mg/kg kuru madde
	N	P	K	Ca	Mg	S	Al	Na
Kontrol	1,92 h	1,99 h	19,16 e	7,98 g	1,61 h	3,11 e	0,71 fg	34 e
NPK	2,47 a	3,65 c	21,67 de	15,64 c	2,95 bc	4,44 a-c	1,54 b	71 c
AR-7	2,08 d-h	2,36 gh	22,93 de	8,52 fg	1,72 h	3,43 de	0,55 g	94 ab
AR-9	2,27 a-f	4,82 a	24,13 c-e	24,28 ab	3,65 a	5,40 a	1,37 b-d	56 d
AR-18	2,08 d-h	3,47 cd	31,24 a	7,79 g	2,50 c-e	4,82 a-c	0,79 e-g	72 c
AR-20	1,93 h	3,24 c-f	28,76 a-c	9,02 d-g	1,91 f-h	4,41 a-c	0,79 e-g	31 e
AR-21	2,44 ab	3,45 cd	33,61a	16,55 c	2,40 d-f	4,70 a-c	1,53 b	42 de
AR-28	2,15 c-h	3,31 c-e	32,14 a	11,08 d-f	3,41 ab	4,99 ab	1,13 c-e	103 a
AR-29	2,34 a-c	1,99 h	19,69 e	15,27 c	2,39 ef	3,18 de	1,29 b-d	32 e
AR-40	2,30 a-e	2,50 f-h	19,13 e	11,71 d	1,82 gh	3,40 de	1,52 b	95 ab
AR-42	2,08 d-h	2,03 h	20,66 e	15,09 c	2,35 ef	3,11 e	1,30 b-d	32 e
AR-47	2,02 f-h	2,71 d-h	30,89 ab	9,20 d-g	1,79 gh	4,62 a-c	1,02 d-f	72 c
AR-49	2,21 b-g	3,82 bc	31,55 a	16,82 c	3,77 a	4,96 a-c	2,19 a	102 a
AR-50	2,17 c-h	2,03 h	20,52 e	6,87 g	2,53 c-e	3,09 e	0,78 e-g	93 ab
AR-52	1,96 gh	2,55 e-h	30,63 ab	11,52 de	2,24 e-g	5,01 ab	1,28 b-d	72 c
AR-59	2,44 ab	3,82 bc	21,74 de	25,44 a	3,46 a	5,12 ab	2,32 a	93 ab
AR-64	2,29 a-e	4,52 ab	32,39 a	6,86 g	2,90 cd	5,39 a	0,56 g	83 bc
AR-67	2,16 c-h	3,11 c-f	22,43 de	21,87 b	2,93 bc	4,72 a-c	1,50 b	57 d
AR-70	2,45 ab	4,84 a	31,01 ab	8,15 g	2,26 e-g	4,12 b-d	0,60 g	44 de
AR-71	2,33 a-d	3,84 bc	26,17 b-d	8,90 e-g	2,24 e-g	3,98 c-e	1,38 bc	35 e
AR-76	2,45 ab	3,32 c-e	25,91 cd	8,15 g	2,26 e-g	4,12 b-d	0,60 g	44 de
AR-173	2,06 e-h	3,19 c-f	30,77 ab	7,65 g	2,47 c-e	4,74 a-c	0,79 e-g	71 c
Ortalama	2,21	3,21	26,23	12,47	2,53	4,31	1,16	65
Önem seviyesi	**	**	*	**	**	*	**	*

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

\*: $p \leq 0,05$  önemli, \*\*: $p \leq 0,01$  çok önemli

Yaprak azot içeriği mineral NPK uygulanan çay bitkilerinde en fazla artarken, bunu sırasıyla AR-70, AR-76, AR-21, AR-59, AR-29, AR-40, AR-64, AR-9 ve AR-49 aşılımları izlemiştir. En yüksek yaprak P içeriği *B. pumilus* AR-70 ve *P. fluorescens*

AR-9 bakterileriyle aşıl原因an çay fidanlarında ölçülmüş ve bunları sırası ile AR-64, AR-71, AR-49 ve AR-59 aılamaları izlemiştir. Yaprak potasyum içeriği AR-21, AR-64, AR-28, AR-49 ve AR-18; Ca içeriği bakımından AR-59, AR-9, AR-67, AR-48, AR-21 ve AR 29; Mg içeriği bakımından AR-49, AR-9, AR-59, AR-28 ve AR-67; yaprak kükürt içeriği bakımından AR-9, AR-64, AR-59, AR-52 ve AR28, yaprak alüminyum içeriği bakımında AR-59, AR-48, AR-21, AR-40 ve AR-67 ve yaprak sodyum içeriği bakımından ise AR-28, AR-49, AR-40, AR-7 ve AR-50 izolatları özellikle etkin olmuştur (izelge 4.27).

Bu deneme setinde test edilen 20 farklı bakteri izolatından 12'si yaprak Fe ve 17'si ise yaprak Cu içeriğini kontrole kıyasla artırmış ve artış oranları önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Toplam 13 izolat yaprak Mn içeriğini, 8 izolat Zn içeriğini, 16 izolatın yaprak B ve 7 izolatın ise Mo içeriğini artırdığı görülmüş ve kontrole kıyasla artış oranları çok önemli bulunmuştur (izelge 4.28). ay yapraklarında en yüksek (637 mg/kg) Fe içeriği AR-64 aılanmı çay fidanlarında ölçülmüş ve bunu sırasıyla AR-67, AR-40, AR-21, AR-29, AR-59 ve AR-9 bakterileri izlemiştir. En düşük yaprak Fe içeriği ise kontrol ve AR-52 aılanmı çaylarda llmtur. ay yaprak Cu içeriği bakımından en etkin olan uygulamalar sırasıyla AR-21, AR-64, AR-59, AR-9, NPK, AR-70, Ar-29 ve AR-50 olmuştur. ay yapraklarında ölçülen en yüksek (1646 mg/kg) Mn içeriği AR-49 aılanmı çay yapraklarında ölçülmüş ve bunu sırası ile AR-67, AR-59, AR-40, NPK, AR-29 ve AR-42 aılamaları izlemiştir. ay yapraklarında ölçülen en yüksek Zn içeriği (94,2 mg/kg) AR-29 aılanmı çay fidanı yapraklarında ölçülmüş ve bunu sarasıyla AR-7, AR,49, AR-47, AR-28, AR-40, AR-64 ve AR-67 bakteri aılamaları izlemiştir. ay yapraklarının B içeriği bakımından en etkin olan uygulamalar sırasıyla AR-70, AR-76, AR-64, AR-9, AR-47 ve AR-21 olurken, yaprak Mo içeriği bakımından ise AR-20, AR-173, AR-18, AR-64, AR-40 ve AR-67 aılamaları en etkin uygulamalar olmuştur. ay yapraklarında en yüksek Ni içeriği AR-64, AR-49, AR-70, AR-76, AR-9 ve NPK, en yüksek Pb içeriği AR-20, AR-21, AR-28, AR-173 ve kontrol, en yüksek Cd içeriği ise kontrol ve AR-21 uygulanmış çay yapraklarında llmtur (izelge 4.28).

Analizi sonuçlarına göre test edilen elementlerin alımı bakımından genellikle en etkin olan izolatların AR-21, AR-49, AR-64, AR-59, AR-70 ve AR-9 olduğu ortaya çıkmıştır. Kullanılan bakterilerle Hamzabey çay klonda yaprak makro ve mikro element içeriğinin çok yüksek oranlarda artması bu izolatların çay bitkisinin beslenmesinde önemli olduğu ve bakterilerin besin alımını teşvik ettiğini ortaya koyması bakımından önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.28.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonu fidanlarında mikro element miktarına etkisi (Set I, 2013 yılı)

Uygulama	Mikro element mg/kg kuru madde								
	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Mo	Ni	Pb	Cd
Kontrol	88 e	9,3 f	641 fg	44,28 c-e	11,9 g-i	0,05 bc	63 f	1,62 a	0,52 a
NPK	236 d	29,2 a	1457 ab	46,24 b-e	32,0 b-f	0,02 c	253 a	0,52 c-e	0,24 c
AR-7	240 d	13,9 e	454 g	93,59 a	12,3 g-i	0,04 bc	58 f	1,56 a	0,05 d
AR-9	322 c	28,6 a	1042 de	72,71 a-c	41,7 a-c	0,11 ab	254 a	1,47 ab	0,39 a-c
AR-18	134 e	22,2 d	470 g	45,99 b-e	26,0 d-f	0,15 a	219 c	1,43 ab	0,28 bc
AR-20	108e	11,4 ef	863 ef	25,74 e	24,1 e-h	0,16 a	145 d	1,70 a	0,04 d
AR-21	608 ab	30,1 a	1180 cd	43,83 c-e	40,7 a-c	0,03 bc	136 d	1,65 a	0,51 a
AR-28	129 e	22,0 d	1017 de	72,45 a-c	7,8 i	0,04 bc	227 a-c	1,64 a	0,24 c
AR-29	582 b	26,6 a-c	1412 a-c	94,15 a	10,7 hi	0,05 bc	95 e	1,15 a-d	0,30 bc
AR-40	612 ab	22,1 d	1499 ab	70,10 a-d	37,2 a-e	0,14 a	53 f	1,65 a	0,06 d
AR-42	121 e	9,6 f	1386 bc	26,03 e	10,7 hi	0,05 bc	94 e	1,37 ab	0,42 ab
AR-47	210 d	12,8 ef	884 e	75,15 ab	40,8 a-c	0,03 c	222 bc	0,05 e	0,02 d
AR-49	212 d	23,8 cd	1646 a	81,67 a	32,0 b-f	0,04 bc	256 a	1,27 ab	0,05 d
AR-50	134 e	26,6 a-c	1213 cd	39,77 de	25,3 e-g	0,02 c	202 c	1,18 a-c	0,35 a-c
AR-52	102 e	13,5 e	1194 cd	25,72 e	26,7 d-f	0,04 bc	130 d	0,47 de	0,32 bc
AR-59	369 c	29,1 a	1537 ab	36,63 e	30,3 c-f	0,06 bc	134 d	1,28 ab	0,31 bc
AR-64	637 a	29,5 a	633 fg	68,43 a-d	45,5 ab	0,15 a	258 a	1,22 a-c	0,37 a-c
AR-67	630 ab	24,3 b-d	1612 ab	68,00 a-d	39,6 a-d	0,14 a	251 ab	0,77 b-d	0,40 a-c
AR-70	230 d	28,0 ab	448 g	43,44 c-e	49,0 a	0,05 bc	256 a	0,01 e	0,45 ab
AR-71	103 e	24,4 b-d	960 de	37,41 e	23,3 e-h	0,15 a	146 d	1,21 a-c	0,29 bc
AR-76	230 d	24,4 b-d	448 g	43,44 c-e	49,0 a	0,05 bc	256 a	0,01 e	0,41 a-c
AR-173	133 e	21,9 d	462 g	43,98 c-e	22,4 f-h	0,16 a	215 c	1,60 a	0,45 ab
Ortalama	280	22,0	1021	54,49	29,0	0,08	178	1,13	0,29
Önem seviyesi	*	*	**	**	**	**	*	*	*

\*:p≤0,05 Önemli, \*\*:p≤0,01 çok önemli

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

Bu deneme setine ait 2014 yılında bakteri aşılımları ve gübre uygulamasının gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi Çizelge 4.29; yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi ise Çizelge 4.30'de verilmiştir.

İkinci yıl sonuçlarına göre, kontrole kıyasla denemede test edilen izolatlardan 7 bakterinin gövde çapı değerini, 6 bakterinin bitki boyunu, 17 bakteri dal+yaprak ağırlığını ve 13 bakterinin ikinci ve üçüncü yaprak alanı değerlerini önemli ( $p \leq 0,05$ ) miktarda artırdığı belirlenmiştir. Yaş ve kuru yaprak verimi *B. megaterium* AR-40 ve *B. pumilus* AR-50 dışındaki bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artırmış farklılıklar istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. Çay fidanlarında gövde çapı bakımından, *B. atrophaeus* AR-59 (8,21 cm), *P. fluorescens* AR-52, *B. pumilus* AR-64, NPK, *R. erythropolis* AR-49 ve *B. pumilus* AR-70 izolatları en yüksek etkiyi göstermiştir.

**Çizelge 4.29.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Hamzabey çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set II, 2014 yılı)

Uygulamalar*	GÇ	BB	DYA	YYV	KYV	İYA	ÜYA
Kontrol	7,26 d	44,06 e	23,43 e	12,16 f	9,01 e	13,92 de	23,13 ef
NPK	8,17 ab	53,73 ab	34,91 a	18,24 b	13,18 ab	16,16 bc	28,83 ab
AR-7	7,82 a-d	46,98 c-e	28,45 d	15,93 cd	11,74 cd	15,64 bc	26,00 cd
AR-9	7,76 a-d	44,01 e	32,46 b	19,95 a	12,91 ab	16,07 bc	26,71 c
AR-18	7,45 b-d	45,09 de	31,80 bc	16,27 c	12,34 bc	15,04 cd	25,64 cd
AR-20	7,79 a-d	44,00 e	28,04 d	14,88 c-e	11,11 d	16,13 bc	26,81 c
AR-21	8,05 a-c	50,51 a-d	34,94 a	18,44 b	13,83 a	16,48 b	27,39 bc
AR-28	7,51 a-d	44,01 e	23,30 e	14,29 e	11,03 d	12,98 e	21,57 f
AR-29	8,11 a-c	48,81 b-e	30,96 bc	15,51 c-e	12,36 bc	15,40 bc	25,59 cd
AR-40	7,51 a-d	45,99 c-e	23,64 e	11,74 f	9,43 e	13,28 e	22,06 f
AR-42	7,27 d	46,70 c-e	29,71 cd	15,72 c-e	11,73 cd	13,90 de	23,10 ef
AR-47	7,44 b-d	48,60 b-e	28,03 d	15,09 c-e	11,53 cd	15,83 bc	26,01 cd
AR-49	8,13 a-c	50,17 a-d	36,40 a	19,49 ab	13,95 a	18,41 a	30,25 a
AR-50	7,27 d	46,35 c-e	23,30 e	12,41 f	8,88 e	12,77 e	21,22 f
AR-52	8,18 ab	44,82 de	28,53 d	14,65 de	11,66 cd	13,17 e	21,89 f
AR-59	8,21 a	50,67 a-d	34,94 a	18,24 b	13,83 a	15,54 bc	27,22 bc
AR-64	8,18 ab	51,89 a-c	36,91 a	20,13 a	13,99 a	18,43 a	30,22 a
AR-67	7,68 a-d	48,87 b-e	28,45 d	15,93 cd	11,53 cd	14,86 cd	24,55 de
AR-70	8,12 a-c	48,15 b-e	35,56 a	18,50 b	12,90 ab	16,18 bc	29,12 ab
AR-71	7,79 a-d	54,82 a	35,53 a	16,24 c	12,29 bc	15,67 bc	26,70 c
AR-76	7,67 a-d	53,25 ab	29,88 cd	15,67 c-e	12,87 ab	16,42 b	28,83 ab
AR-173	7,41 cd	50,01 a-e	31,54 bc	16,29 c	12,13 cd	16,47 b	24,50 de
Ortalama	7,76	48,25	30,49	16,17	12,01	15,40	25,79

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **İYA:** İkinci yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **ÜYA:** Üçüncü yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

Çay fidanlarında bitki boyu bakımından ise *P. agarici* AR-71, *B. subtilis* AR-76, NPK, *B. pumilus* AR-64, *B. subtilis* AR-21 ve *R. erythropolis* AR-49 uygulamaları en etkin sonucu vermiştir. En yüksek yaş dal+yaprak ağırlığı *B. pumilus* AR-64 (36,91 g/fidan) ve *R. erythropolis* AR-49 (36,40 g/fidan) aşılamasından elde edilmiştir. Dal+yaprak ağırlığı bakımından bu izolatları sırasıyla *B. pumilus* AR-70 (35,56 g/fidan), *P. agarici* AR-71 (35,53 g/fidan), *B. atrophaeus* AR-59 (34,94 g/fidan), NPK (34,91 g/fidan), *P. fluorescens* AR-9 (34,46 g/fidan) uygulamaları izlemiştir. Yaş ve kuru yaprak verimi ve yaprak alanı değerleri bakımından başta *B. pumilus* AR-64 (20,13 ve 13,99 g/fadan) olmak üzere, *R. erythropolis* AR-49, *P. fluorescens* AR-9, *B. subtilis* AR-21, *B. atrophaeus* AR-59, *B. pumilus* AR-70 ve *B. subtilis* AR-76 aşılama ve NPK gübrelenmesi en etkin uygulamalar olarak öne çıkmıştır.

Deneme setinin ikinci yıl sonuçlarına göre, mineral NPK uygulaması ile kontrole kıyasla, gövde çapı, bitki boyu, dal + yaprak ağırlığı, yaş yaprak ağırlığı, kuru yaprak ağırlığı ve ortalama yaprak alanı sırasıyla %12,5, 21,9, 49,0, 50,0, 46,3 ve 21,4 oranında artmıştır. Kontrol uygulamasına kıyasla bakteri aşılama ve NPK uygulamasının çay gelişmesine etkisi, gövde çapında %0,1 ile 13,1, bitki boyu %-0,1 ile 24,4; dal+yaprak ağırlığında %-0,6 ile 57,5, yaş yaprak ağırlığı %-3,5 ile 65,5, kuru yaprak ağırlığı %-1,4 ile 55,3 ve ortalama yaprak alanı ise %-0,6 ile 31,3 oranında değişim göstermiştir.

Araştırmanın ikinci yılında bakteri aşılama ve NPK uygulamasının Hamzabey çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.30'de verilmiştir. Bu deneme setinde test edilen izolatlardan 7'si yaprak klorofil ve 14'ü ise yaprak antosiyanin içerik indeks (ACİ) değerini kontrole kıyasla önemli miktarda artırmıştır. Yaprak ölçüm sonuçlarına göre yaprak klorofil ve antosiyanin içeriği bakımından en etkin izolatlar *R. erythropolis* AR-49, *B. cepacia* AR-42, *B. atrophaeus* AR-59, NPK, *B. subtilis* AR-21, *B. licheniformis* AR-29, *B. pumilus* AR-18 ve *B. pumilus* AR-64 olmuştur. Mineral NPK uygulaması ile kontrole kıyasla yaprak klorofil içeriği ve yaprak antosiyanin içeriği sırasıyla %12,7, 11,3 oranında artarken, bakteri aşılama ve NPK uygulamasıyla yaprak klorofil içeriği %0,3 ile %13,7 ve yaprak antosiyanin içeriği ise %0,4 ile 11,7 oranında artmıştır.



**Çizelge 4.30.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Hamzabey çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktiviteleri (Set II, 2014 yılı)

Uygulamalar*	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein			
			GR	GST	G6PD	6PGD
Kontrol	69,4 c	25,7 e	2,03 e	2,06 f	1,13 e	0,83 f
NPK	78,2 a	28,6 a	2,70 c	3,03 ab	1,67 b-d	1,68 ab
AR-7	72,2 b-d	27,0 a-e	2,68 c	2,57 c-e	1,47 c-e	1,19 d-f
AR-9	73,3 b-d	27,4 a-e	2,75 c	2,58 c-e	1,59 cd	1,33 b-e
AR-18	76,2 ab	28,5 ab	2,44 c-e	2,19 ef	1,35 de	1,12 ef
AR-20	71,4 d	26,7 b-e	2,05 de	2,63 b-e	1,27 de	0,85 f
AR-21	77,8 a	28,6 a	4,51 a	2,99 a-c	2,02 ab	1,63 a-c
AR-28	72,3 b-d	27,0 a-e	2,57 cd	2,04 f	1,14 e	0,85 f
AR-29	77,3 a	28,7 a	4,61 a	3,07 a	1,82 a-c	1,57 a-d
AR-40	69,9 d	25,9 e	2,40 c-e	2,35 d-f	1,42 c-e	1,10 ef
AR-42	78,4 a	28,3 a-c	2,61 c	2,03 f	1,46 c-e	1,30 c-e
AR-47	73,5 b-d	27,8 a-d	2,66 c	2,46 d-f	1,65 b-d	1,20 d-f
AR-49	78,9 a	28,6 a	2,76 c	2,76 a-d	2,00 ab	1,40 b-e
AR-50	69,7 d	27,9 a-d	2,03 e	2,26 ef	1,07 e	0,85 f
AR-52	70,3 d	26,3 de	2,05 de	2,22 ef	1,41 c-e	1,19 d-f
AR-59	78,3 a	28,0 a-d	2,81 c	2,71 a-d	2,15 a	1,63 a-c
AR-64	75,9 a-c	25,8 e	3,52 b	2,53 de	2,17 a	1,69 ab
AR-67	72,9 b-d	27,3 a-e	3,78 b	3,08 a	1,64 b-d	1,94 a
AR-70	73,1 b-d	27,3 a-e	2,43 c-e	2,41 d-f	1,81 a-c	1,28 c-e
AR-71	69,6 d	26,0 e	2,73c	2,44 d-f	1,56 cd	1,42 b-e
AR-76	72,7 b-d	26,6 c-e	2,74 c	3,10 a	1,81 a-c	1,94 a
AR-173	72,0 cd	26,9 a-e	2,02 e	2,04 f	1,12 e	0,84 f
Ortalama	73,8	27,3	2,77	2,52	1,58	1,31

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz; **GST:** Glutasyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (100 kg/da kompoze %25:5:10)

Araştırmanın ikinci yıl enzim analiz sonuçlarına göre, yaprak antioksidan GR enzim aktivitesi bakımından en etkin izolat *B. licheniformis* AR-29, *B. subtilis* AR-21, *B. subtilis* AR-67, *B. pumilus* AR-64, *B. atrophaeus* AR-59 ve *R. erythropolis* AR-49; GST enzimi bakımından *B. subtilis* AR-76, *B. subtilis* AR-67, *B. licheniformis* AR-29, NPK, *B. subtilis* AR-21, *R. erythropolis* AR-49 ve *B. atrophaeus* AR-59 aşılama en etkin sonucu vermiştir. Çay yapraklarında ölçülen G6PD enzimi aktivitesi bakımından *B. pumilus* AR-64, *B. atrophaeus* AR-59, *B. subtilis* AR-21, *R. erythropolis* AR-49, *B. licheniformis* AR-29, *B. pumilus* AR-70, *B. subtilis* AR-76 ve 6PGD enzim aktivitesi bakımından ise *B. subtilis* AR-67, *B. subtilis* AR-76, *B. pumilus* AR-64, NPK, *B.*

*atrophaeus* AR-59 ve *B. subtilis* AR-21 izolatları aşılama en etkin bulunmuştur (Çizelge 4.30).

#### 4.4.3. III. Deneme

Önceki denelerde olduğu gibi doğal koşullar altında ve saksılarda kurulan üçüncü deneme seti, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Hayrat deneme istasyonunda, 2 yaşlı üniform aynı boy ve çapta Pazar-20 çay klonu fidanları ile kurulmuştur. Deneme setinde bu araştırma kapsamında izole edilen 7 farklı bakteri izolatı, NPK (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan), biyolojik gübre ve kontrole karşı test edilmiştir. Deneme setinde kullanılan bakteriler ve bu bakterilere ait bazı biyokimyasal özellikler Çizelge 4.31’de, bakteri aşılama ve gübre uygulamasının 2013 yılı gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi ise Çizelge 4.32’de verilmiştir.

**Çizelge 4.31.** Doğal koşullarda saksılarda iki yaşlı Pazar-20 çay klonu ile kurulan denemede kullanılan yeni izolatların bazı özellikleri (Deneme Set III)

Kod	MIS Tanı Sonucu	GR	OKS	KTZ	AG	SKZ	FÇ
AR-4	<i>Lysobacter enzymogenes enzymogenes</i>	-	Z+	+	+	Z+	K+
AR-14	<i>Bacillus pumilu</i>	+	+	K+	+	-	+
AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	+
AR-22	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	K+	-	+
AR-31	<i>Arthrobacter globiformis</i>	+	-	+	K+	-	K+
AR-33	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	+	-	+	K+	-	K+
AR-72	<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+	+	-	K+

**GR:** Gram reaksiyon; **OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme (nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, 10<sup>7</sup> cfu h<sup>-1</sup>); **SKZ:** Sükroz test; **FÇ:** NBRIP-BPB ortamda gelişme (µg P mL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>); **K+:** Kuvvetli pozitif; **+**: Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif

Doğal koşullarda yürütülen bu denemede 2013 yılı sonuçlarına göre, en yüksek bitki boyu ve gövde çapı *B. subtilis* AR-17 ve *B. pumilus* AR-22 bakterilerinin aşılandığı çay fidanlarında ölçülmüştür. Kontrole kıyasla gövde çapı AR-31 ve AR-33 aşılama dışındaki tüm uygulamalarla artmış ve artış oranları istatistiksel bakımdan önemli

bulunmuştur. Fidan boyu ise *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22 ve *M. luteus* AR-72 bakteri aşılama ve NPK gübreleme ile kontrole kıyasla önemli artış göstermiştir. İlk yıl sonuçlarına göre, AR-33 dışındaki bakteri aşılama ile çay fidanlarında gövde çapı %6,9-17,6 oranında artarken, mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında gövde çapı artışı %13,3 olmuştur. Bakteri uygulamaları ile çay fidanlarında bitki boyu %2,5-14,9 oranında artarken mineral gübreleme ile %11,5 artmıştır.

Gübre uygulamaları ve bakteri aşılama tamamı, kontrole kıyasla çay fidanlarında yas dal+yaprak ağırlığı, yaş ve kuru yaprak ağırlığı, yaprak sayısı, klorofil içeriği ve toplam antosiyanin içerik indeksi (ACI) değerlerini artırmış ve artış oranları önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. En yüksek dal + yaprak ağırlığı, yaş ve kuru yaprak verimi, yaprak sayısı ve alanı değerleri *B. pumilus* AR-22 straini ile aşılama fidanlarında, en yüksek klorofil ve antosiyanin ölçümü ise NPK uygulanmış fidanlarda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.32-33). En yüksek yaş verimi *B. pumilus* AR-22 aşılmasıyla elde edilmiştir. Bunu *B. subtilis* AR-17 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılması izlemiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). *B. pumilus* AR-22 izolatının çay verimini uygulanan mineral gübre ve diğer bakteri aşılama ile kıyasla istatistiksel bakımdan önemli oranda artırdığı belirlenmiştir.

Pazar-20 çay klonunda 3013 yılı sonuçlarına göre, *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14, *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *A. globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33 ve *M. luteus* AR-72 bakteri aşılmasıyla çay fidanlarının sırasıyla, yaş dal+yaprak ağırlığı %18,9, 23,6, 49,9, 56,7, 33,6, 36,4 ve 32,1; yaş yaprak verimi %14,6, 30,1, 45,6, 57,3, 33,0, 39,9, 33,0; kuru yaprak verimi %13,4, 20,3, 37,4, 46,7, 21,2, 31,9 ve 15,0; yaprak sayısı %14,3, 17,9, 22,1, 25,1, 10,3, 9,9 ve 15,4 ve ortalama yaprak alanı ise %6,1, 32,9, 1,4, 44,5, 0,5, 19,0 ve 20,2 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise dal + yaprak ağırlığı %37,3 ve 20,3; yaş yaprak verimi %39,1 ve 29,9; kuru yaprak verimi %24,4 ve 20,3; yaprak sayısı %23,7 ve 18,5 ve yaprak alanı ise %23,9 ve 33,7 oranında artış göstermiştir. İlk yıl sonuçlarına göre, denemede test edilen bakterilerden *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-17 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılama tamamının ön plana çıktığı belirlenmiştir. Bakteri etkinliği test edilen izolatlarla ilgili olarak değişimle birlikte, özellikle *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-

17 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılama ları çayda verimin ana göstergesi olan yaprak verimi bakımından mineral gübrelemeye benzer veya daha yüksek oranda etkin bulunmuştur.

**Çizelge 4.32.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set III, 2013 yılı)

Uygulamalar*	GÇ	BB	DYA	YYV	KYV	YS	YA
Kontrol	6,71 cd	44,68 d	15,37 e	8,13 f	4,39 e	38,41 e	26,67 d
NPK	7,60 ab	49,82 a-c	21,10 c	11,31 bc	5,46 bc	47,52 ab	33,04 a-c
Biyolojik gübre	7,60 ab	45,37 d	18,49 d	10,56 d	5,28 cd	45,50 a-d	35,67 ab
AR-4	7,52 ab	47,19 b-d	18,28 d	9,32 e	4,98 d	43,92 cd	28,31 cd
AR-14	7,64 ab	48,50 a-d	18,99 d	10,58 d	5,28 cd	45,28 a-d	35,45 ab
AR-17	7,89 a	51,32 a	23,04 b	11,84 b	5,46 bc	46,90 a-c	27,04 cd
AR-22	7,87 a	50,32 ab	24,09 a	12,79 a	6,03 a	48,07 a	38,53 a
AR-31	7,22 a-c	45,78 cd	20,54 c	10,81 cd	5,32 cd	42,37 d	26,81 d
AR-33	6,49 d	46,57 b-d	20,96 c	11,37 bc	5,79 ab	42,23 d	31,75 b-d
AR-72	7,17 bc	50,29 ab	20,30 c	10,81 cd	5,05 d	44,31 b-d	32,06 b-d
Ortalama	7,37	47,99	20,12	10,85	5,30	44,45	31,53

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **YS:** Yaprak sayısı (adet/fidan); **YA:** Yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Bütün uygulamalar kontrole kıyasla klorofil ve antosiyanin içeriğini artırmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Klorofil içeriği bakımından mineral gübre uygulaması ve *B. pumilus* AR-22 aşılması, en yüksek etki göstermiş ve aynı guruba girmiştir (Çizelge 4.33). Pazar-20 çay klonunda 2013 yılı sonuçlarına göre, *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14, *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *A. globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33 ve *M. luteus* AR-72 bakteri aşılama larıyla çay fidanlarının sırasıyla klorofil içeriği %8,7, 9,7, 13,2, 19,9, 10,2, 11,0 ve 11,5 ve antosiyanin içeriği ise sırasıyla %24,6, 17,2, 19,2, 29,4, 27,7, 25,3 ve 25,8 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise klorofil içeriği %24,4 ve 16,6, antosiyanin içeriği ise %43,4 ve 16,5 oranında artış göstermiştir.



Şekil 4.6. Deneme Set III solda kontrol, sağda *B. subtilis* AR-17 aşılama işlemiyle elde edilen fidanlar (2013 yılı)



Şekil 4.7. Deneme Set III solda kontrol, sağda *B. pumilus* AR-22 aşılama işlemiyle elde edilen fidanlar (2013 yılı)

**Çizelge 4.33.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2013 yılı)

Uygulamalar*	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein **			
			GR	GST	G6PD	6PGD
kontrol	63,38 e	14,36 c	2,10 d	1,93 d	0,97 cd	0,91 d
NPK	78,85 a	20,59 a	3,28 b	2,54 c	1,67 b	1,33 c
Biyolojik gübre	73,91 bc	16,73 b	2,43 cd	2,02 d	1,57 b	1,09 d
AR-4	68,89 d	17,89 b	3,70 a	2,77 c	0,89 cd	1,06 d
AR-14	69,55 cd	16,83 b	3,10 b	1,93 d	0,75 d	1,46 c
AR-17	71,72 b-d	17,11 b	3,98 a	4,24 a	1,71 ab	2,51 a
AR-22	75,99 ab	18,58 b	3,06 b	3,55 b	1,06 c	2,19 b
AR-31	69,84 cd	18,34 b	2,14 d	1,92 d	0,95 cd	0,90 d
AR-33	70,55 cd	18,00 b	3,04 b	2,79 c	1,92 a	1,38 c
AR-72	70,69 cd	18,06 b	2,66 c	2,38 cd	1,74 ab	1,09 d
Ortalama	71,33	17,64	2,94	2,61	1,33	1,39

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir; \*\*Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz; **GST:** Glutasyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Toplam 7 farklı izolatin NPK, ticari biyolojik gübre ve kontrole karşı test edildiği bu denemenin sonuçlarına göre, kontrole kıyasla denemede kullanılan 6 bakteri yaprak GR enzimini, 4 bakteri GST enzim aktivitesini, 4 bakterinin ise G6PD ve 6PGD enzim aktivitesini artırdığı ve artış oranlarının istatistiki olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunduğu görülmüştür (Çizelge 4.33). En yüksek GR aktivitesi *B. subtilis* AR-17 ve *L. enzymogenes enzymogenes* AR-4 aşılanmış çay yapraklarında ölçülmüş ve NPK dahil diğer tüm uygulamalara göre yüksek bulunmuştur. GR aktivitesi bakımından ikinci grubu NPK gübrelemesi, *B. pumilus* AR-14, *B. pumilus* AR-22 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılması oluşturmuştur. En yüksek yaprak GST enzim aktivitesi sırasıyla *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *P. polymyxa* AR-33 ve *L. enzymogenes* AR-4 aşılamalarından elde edilmiştir. Diğer bütün uygulamalara kıyasla GST enzim aktivitesi *B. subtilis* AR-17 aşılanmış fidan yapraklarında ve bu artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Yapraklarda en yüksek G6PD enzim aktivite değerleri *P. polymyxa* AR-33 aşılmasında ölçülürken bunu sırasıyla *M. luteus* AR-72, *B. subtilis* AR-17 ve NPK uygulamaları takip etmiştir (Çizelge 4.33). Çay yapraklarında en yüksek 6PGD enzim aktivitesi diğer bütün uygulamalara kıyasla önemli artış gösteren *B. subtilis* AR-17

aşılmiş fidanlarda ölçülmüştür. Yüksek 6PGD enzim aktivitesi bakımından söz konusu uygulamayı sırası ile ikinci grubu oluşturan *B. pumilus* AR-22 aşılması ve üçüncü grubu oluşturan *B. pumilus* AR-14 ve *M. luteus* AR-72 aşılmaları ve NPK mineral gübrelemesi izlemiştir. Çay yapraklarında GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktiviteler toplu değerlendirildiğinde, özellikle *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılmalarının etkin olduğu ve stres koşullarına tolerans bakımından ümitvar olabileceği söylenebilir.

Üçüncü deneme setinin 2013 yılı sonuçlarına göre, mineral gübre ve farklı bakteri aşılmalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzimlerinin aktiviteleri Çizelge 4.34'da verilmiştir. Çay yapraklarındaki en yüksek birim yaprak ağırlığı başına polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi *B. pumilus* AR-22 aşılması ve mineral NPK gübre uygulaması ile elde edilmiş, bütün uygulamalar birim yaprak ağırlığı başına PPO aktivitesini kontrole kıyasla önemli düzeyde artırmıştır (Çizelge 4.34). Kontrole kıyasla birim protein başına PPO aktivitesi ise *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-17 ve *M. luteus* AR-72 aşılmalı ve NPK gübrelemesi ile artmış ve artış oranları istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çaydaki primer flavonellerin oksitlenmesi, tat ve rengin oluşmasında önemli katkısı olan PPO aktivitesinin artırılmış olması önemli bir sonuç olarak bulunmuştur. mineral , biyolojik gübre uygulamasına kıyasla gerek birim yaprak ağırlığı başına yaprak peroksidaz enzim aktivitesi, *L. enzymogenes enzymogenes* AR-4 aşılması dışında, test edilen bütün bakteri aşılmaları ile artmış ve artış oranları önemli bulunmuştur. Çay yapraklarında ölçülen POD enzim aktivitesi, *B. subtilis* AR-17 başta olmak üzere *B. pumilus* AR-14 ve *B. pumilus* AR-22 aşılmalarıyla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Birim yaprak ve protein başına üreaz enzim aktivitesi bakımından en uygun sonucu kontrole kıyasla önemli oranda artışa neden olan biyolojik gübre ve *L. enzymogenes enzymogenes* AR-4 bakteri aşılmaları vermiştir.

Gerek yaprak ve gerekse birim miligram protein başına enzim ünitesi olarak alkol dehidrogenaz aktivitesi *A. globiformis* AR-31, *B. subtilis* AR-17 ve *B. pumilus* AR-14

bakteri aşılımları ile kontrol ve kimyasal gübre uygulamasına kıyasla önemli düzeyde artmıştır.

Diğer uygulamalar ise alkol dehidrogenaz aktivitesi bakımından kontrol ve mineral NPK uygulaması ile benzer sonuç vermiş ve aynı gruba girmiştir. Benzer olarak birim gram yaprak ağırlığı başına 5-dehidroshikimat (DHSK) reduktaz enzim aktivitesi *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-17, *P. polymyxa* AR-33 ve *A. globiformis* AR-31 bakteri aşılımları ile kontrol ve kimyasal ve biyolojik gübre uygulamasına kıyasla artmış, artış oranları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Protein başına enzim ünitesi olarak DHSK enzim aktivitesi bakımından *B. subtilis* AR-17 aşılması diğer tüm uygulamalara göre önemli artışa neden olurken, bu uygulamayı kontrol ve NPK gübrelemesine göre önemli artışa neden olan *B. pumilus* AR-22 aşılması takip etmiştir. Bu deneme setinde test edilen bakterilerden etkin olanların çay yapraklarında kalite ve işleme teknolojisi bakımından önemli olabilecek enzim aktivitesi bakımından uygun sonuçlar verebileceği ortaya çıkmıştır.

**Çizelge 4.34.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2013 yılı)

Uygulamalar*	EU/g yaprak					EU/mg protein				
	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK
kontrol	5,98 d	15,85 d	0,886 c	0,98 d	2,27 d	0,062 bc	0,150 cd	0,010 b	0,028 c	0,077 d
NPK	8,01 ab	18,88 cd	0,883 c	1,09 cd	2,57 cd	0,101 a	0,150 cd	0,010 b	0,028 c	0,090 cd
Biyolojik gübre	7,60 a-c	15,97 d	1,544 a	1,12 cd	2,30 d	0,085 a-c	0,139 d	0,018 a	0,036 bc	0,071 d
AR-4	7,73 a-c	18,74 cd	1,490 a	1,18 cd	2,67 cd	0,087 a-c	0,160 b-d	0,018 a	0,040 bc	0,115 bc
AR-14	7,51 bc	23,52 b	1,150 b	1,72 ab	2,85 b-d	0,083 a-c	0,197 b	0,012 b	0,048 ab	0,093 cd
AR-17	7,96 ab	28,44 a	1,156 b	1,76 ab	3,55 a	0,098 a	0,236 a	0,012 b	0,061 a	0,158 a
AR-22	8,49 a	24,94 b	1,176 b	1,41 bc	3,65 a	0,105 a	0,190 bc	0,012 b	0,044 a-c	0,126 b
AR-31	6,98 c	24,22 b	1,058 bc	1,85 a	3,39 ab	0,058 c	0,177 b-d	0,012 b	0,061 a	0,117 bc
AR-33	7,63 a-c	21,48 bc	1,098 b	1,34 cd	3,53 a	0,083 a-c	0,164 b-d	0,012 b	0,042 bc	0,117 bc
AR-72	7,49 bc	21,83 bc	1,110 b	1,20 cd	3,13 a-c	0,091 ab	0,162 b-d	0,012 b	0,040 bc	0,105 bc
Ortalama	7,54	21,39	1,155	1,37	2,99	0,085	0,172	0,013	0,043	0,107

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5-dehidroshikimat reduktaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/ fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)



Üçüncü deneme setine ait 2013 yılı çay yaprağı makro ve mikro element analizi sonuçları Çizelge 4.35 ve 4.36’da verilmiştir. Aşılana bakteri formülasyonuna bağı olarak değışmekle birlikte makro ve mikro element içeriğı bakteri aşılama ve gübre uygulamalarıyla değışmiştir. Bu denemede kullanılan bakterilerin tamamı, biyolojik gübre ve NPK gübrelemesi kontrole kıyasla yaprak P içeriğini önemli oranları ( $p \leq 0,05$ ). Yaprak N içeriğı ise başta *P. polymyxa* AR-33 olmak üzere *B. pumilus* AR-22, *A. globiformis* AR-31 ve *B. subtilis* AR-17 bakteri aşılama ve NPK gübrelemesi ile kontrole kıyasla çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) oranda artmıştır. Çay yapraklarında N içeriğı bakımından AR-33 ve AR-22 bakterileri ve NPK, P içeriğı bakımından ise AR-22 ve AR-72 bakterileri en yüksek sonucu vermiştir. Çay yapraklarında bulunan K içeriğı, *B. pumilus* AR-14 dışındaki, bakteri aşılama ve NPK gübre uygulamalarına kıyasla artmış ve artış oranları çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur.

**Çizelge 4.35.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay fidanlarında makro element miktarına etkisi (Set III, 2013 yılı)

Uygulamalar	(%)	makro element g/ kg kuru madde						mg/kg kuru madde
	N	P	K	Ca	Mg	S	Al	Na
Kontrol	1,86 e	1,74 d	16,8 d	7,62 d	2,11 d	2,95 d	0,93 d	36 e
NPK	2,20 ab	2,59 c	20,1 cd	17,48 a	3,06 a-c	3,34 cd	1,31 bc	122 ab
Biyolojik gübre	1,94 de	2,93 bc	21,4 c	13,80 ab	2,14 d	3,61 b-d	1,18 b-d	99 a-c
AR-4	2,02 b-e	2,88 bc	27,3 ab	13,88 ab	2,57 cd	4,37 ab	1,34 bc	47 de
AR-14	1,99 c-e	2,74 bc	23,5 bc	11,22 b-d	2,71 bc	3,94 a-c	1,71 a	79 b-e
AR-17	2,08 b-d	2,80 bc	25,9 ab	13,91 ab	3,11 ab	4,05 a-c	1,71 a	118 ab
AR-22	2,20 ab	4,13 a	29,7 a	8,63 cd	2,70 bc	4,87 a	1,05 cd	98 a-c
AR-31	2,16 a-c	2,74 bc	26,3 ab	12,99 a-c	2,94 a-c	4,49 ab	1,72 a	51 c-e
AR-33	2,33 a	2,99 b	27,8 ab	17,59 a	3,32 a	3,92 a-c	1,44 ab	136 a
AR-72	1,90 de	3,08 b	28,5 a	9,27 b-d	2,94 a-c	3,54 b-d	0,95 d	91 a-d
Ortalama	2,07	2,86	24,8	12,64	2,76	3,91	1,33	88
Önem seviyesi	**	*	*	**	*	**	*	**

\*: $p \leq 0,05$  Önemli, \*\*:  $p \leq 0,01$  çok önemli

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Yaprak Ca içeriği başta *P. polymyxa* AR-33 aşılması olmak üzere, AR-14, AR-22 ve AR-72 bakterileri dışındaki tüm uygulamalarla çok önemli miktarda artmıştır. Çay yapraklarında Mg içeriği AR-4 ve biyolojik gübre dışındaki uygulamalarla önemli ( $p \leq 0,05$ ) oranda artarken; yaprak S içeriği AR-72, biyolojik ve kimyasal gübre aşılması dışındaki bütün uygulamalarla önemli ( $p \leq 0,01$ ) oranda artmıştır. Çay yapraklarında en yüksek Al içeriği *A. globiformis* AR-31, *B. pumilus* AR-14, *B. subtilis* AR-17 ve *P. polymyxa* AR-33 bakterileriyle aşılanmış çay yapraklarında ölçülmüştür. *P. polymyxa* AR-33 ve *B. subtilis* AR-17 aşılanmış çay yapraklarında Na içeriği diğer uygulamalara kıyasla yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.35).

Çay yapraklarının ölçülen Fe içeriği *A. globiformis* AR-31 ve *M. luteus* AR-72; yaprak Cu içeriği ise *B. pumilus* AR-14, biyolojik gübre ve NPK uygulamaları dışındaki bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Yaprak Fe içeriği bakımından *B. pumilus* AR-22 ve *L. enzymogenes* AR-4; yaprak Cu içeriği bakımından ise *A. globiformis* AR-31 ve *L. enzymogenes* AR-4 en etkin izolatlar olarak öne çıkmıştır. Çay yapraklarında en yüksek Mn içeriği *B. pumilus* AR-22 aşılmasıyla ortaya çıkmış bunu *P. polymyxa* AR-33, *B. subtilis* AR-17 ve *M. luteus* AR-72 aşılması izlemiştir Diğer uygulamalar Mn içeriği bakımından kontrole aynı gruba girmiştir. Çay yapraklarda ölçülen Zn içeriği *L. enzymogenes* AR-4 ve *A. globiformis* AR-31 hariç diğer uygulamalarla kontrole kıyasla çok önemli miktarda artmıştır. Yaprak Zn içeriği bakımından en etkin uygulamalar *M. luteus* AR-72, *B. pumilus* AR-22 ve *P. polymyxa* AR-33 olmuştur. Çay yapraklarında ölçülen B miktarı kontrole kıyasla en fazla *L. enzymogenes* AR-4, *A. globiformis* AR-31, *B. pumilus* AR-22 ve *B. pumilus* AR-14 bakteri aşılanan fidanlarda belirlenmiş ve artış oranları önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. En yüksek Mo (0,73 mg/kg) ve Pb (2,08 mg/kg) mineral gübre uygulamasında, en yüksek Cd (1,03 mg/kg) ise kontrol fidanlarında ölçülmüştür (Çizelge 4.36).

**Çizelge 4.36.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak mikro element miktarına etkisi (Set III, 2013 yılı)

Uygulamalar	Mikro element mg/kg kuru madde								
	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Mo	Ni	Pb	Cd
Kontrol	90 d	14,6 e	725 d	38,45 d	13,4 c	0,05 b	65 c	1,42 ab	1,03 a
NPK	152 cd	15,9 de	1031 cd	63,64 c	23,4 bc	0,73 a	132 a-c	2,08 a	0,33 b
Biyolojik gübre	205 bc	17,5 c-e	1426 a-c	59,81 c	25,9 bc	0,10 b	184 a-c	1,34 b	0,21 b
AR-4	266 b	24,6 b	1209 cd	49,40 cd	57,9 a	0,16 b	281 a	1,33 b	0,33 b
AR-14	220 bc	20,9 b-e	1008 cd	69,05 bc	46,9 ab	0,25 b	225 ab	1,26 b	0,14 b
AR-17	235 bc	21,8 b-d	1422 a-c	69,86 bc	44,1 bc	0,26 b	239 ab	1,62 ab	0,23 b
AR-22	354 a	23,5 bc	1835 a	91,12 a	46,7 ab	0,14 b	190 a-c	1,14 b	0,19 b
AR-31	150 cd	31,0 a	1027 cd	54,03 cd	56,9 a	0,01 b	259 ab	1,60 ab	0,22 b
AR-33	192 bc	22,4 bc	1682 ab	88,75 ab	18,9 bc	0,09 b	104 bc	1,35 b	0,43 b
AR-72	155 cd	24,0 bc	1329 a-c	98,45 a	25,1 bc	0,12 b	191 a-c	0,31 c	0,22 b
Ortalama	202	21,6	1269	68,25	35,9	0,19	187	1,35	0,33
Önem seviyesi	*	*	**	**	*	**	**	*	**

\*:p≤0,05 Önemli, \*\*:p≤0,01 çok önemli

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Bu deneme setinde test edilen özellikle *B. pumilus* AR-22, *P. polymyxa* AR-33, *B. subtilis* AR-17 ve *A. globiformis* AR-31 strainlerinin genellikle yaprak makro ve mikro element içeriğini çok yüksek oranlarda artırması, izolatların çay bitkisinin beslenmesinde önemli olduğu ve bakterilerin çay bitkisinde besin alımını teşvik ettiğini ortaya koyması bakımından önemlidir.

Üçüncü deneme setine ait 2014 yılında bakteri aşılımları ve gübre uygulamasının gelişme ve verim parametreleri üzerine etkisi Çizelge 4.37; yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi ise Çizelge 4.38'da verilmiştir. Doğal koşullarda yürütülen bu denemede 2014 yılı sonuçlarına göre, bütün uygulamalar fidan boyunu kontrole kıyasla önemli oranda artırmıştır. *M. luteus* AR-72 ve biyolojik gübre dışındaki uygulamaların bütünü çay fidanlarında gövde çapı değerlerini artırmış ve artış istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Gövde çapı ve fidan boyu bakımından mineral gübreleme ile benzer etki gösteren *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-17 ve *B. pumilus* AR-14 bakteri aşılımları en etkin uygulamalar olmuştur. Çay fidanlarında dal+yaprak ağırlığı *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14 ve biyolojik gübre dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları

çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. *B. pumilus* AR-14 aşılması dışında kalan bakteri aşılımlarıyla dal+yaprak ağırlığı %8,8-76,1; mineral ve biyolojik gübreleme uygulamalarında ise %45,9 ve 4,4 oranında artmıştır.

Yaş yaprak verimi *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14, *M. luteus* AR-72, kuru yaprak verimi ise *L. enzymogenes* AR-4 ve *M. luteus* AR-72 dışındaki bakteri aşılımları ve NPK gübrelemesiyle kontrole kıyasla çok önemli artış göstermiştir. En yüksek yaş yaprak verimi (24,77 g/fidan) *B. pumilus* AR-22 aşılmasıyla, en düşük yaş yaprak verimi (13,64 g/fidan) ise kontrol uygulamasında ortaya çıkmıştır. Deneme setinde 2014 yılı yaprak alan ölçümü sonuçlarına göre *L. enzymogenes* AR-4 ve *A. globiformis* AR-31 dışındaki tüm bakteri aşılımları ve NPK gübrelemesi çay fidanlarında ikinci ve üçüncü yaprak alanını artırmış ve artış oranları istatistiki bakımdan önemli ( $p \leq 0,05$ ) çıkmıştır (Çizelge 4.37).

**Çizelge 4.37.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set III, 2014 yılı)

Uygulamalar	GÇ	BB	DYA	YYV	KYV	İYA	ÜYA
Kontrol	8,02 c	47,1 e	26,28 e	13,64 d	8,90 e	15,26 d	23,83 d
NPK	8,84 a	57,2 ab	38,35 b	18,96 b	10,92 b	21,29 ab	31,06 ab
Biyolojik gübre	8,61 a-c	51,4 d	27,43 de	14,36 d	9,34 de	17,83 cd	30,11 b
AR-4	8,83 a	54,6 a-d	28,58 c-e	14,94 d	9,77 c-e	16,20 d	25,29 cd
AR-14	8,87 a	56,5 a-c	24,73 e	15,11 d	9,99 b-d	20,29 bc	31,67 ab
AR-17	8,86 a	59,0 a	46,28 a	23,71 a	13,38 a	23,46 a	31,66 ab
AR-22	8,97 a	58,4 ab	44,90 a	24,77 a	13,66 a	22,53 ab	34,42 a
AR-31	8,71 ab	52,3 cd	30,71 cd	17,10 c	10,46 bc	15,34 d	23,95 d
AR-33	8,65 ab	52,5 cd	40,24 b	19,26 b	10,78 b	20,55 b	30,77 ab
AR-72	8,12 bc	54,1 b-d	32,20 c	14,37 d	9,20 de	20,16 bc	28,65 bc
Ortalama	8,65	54,3	33,97	17,62	10,64	19,29	29,14
Önem seviyesi	*	*	**	**	*	*	*

\*: $p \leq 0,05$  Önemli, \*\*:  $p \leq 0,01$  çok önemli

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **İYA:** İkinci yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **ÜYA:** Üçüncü yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Denemenin 2014 yılı sonuçlarına göre, mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise gövde çapı %10,2 ve 7,4; yaş yaprak verimi %39,0 ve 5,3; kuru yaprak verimi %22,7 ve 4,9 ve yaprak alanı ise %33,9 ve 22,6 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.37).

Pazar-20 çay klonunda 2014 yılı sonuçlarına göre, *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14, *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *A. globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33 ve *M. luteus* AR-72 bakteri aşılamalarıyla çay fidanlarının sırasıyla, gövde çapı %10,1, 10,6, 10,5, 11,8, 8,6, 7,9 ve 1,2; yaş yaprak verimi %9,5, 10,8 73,8, 81,6, 25,4, 41,2 ve 5,4; kuru yaprak verimi %9,8, 12,2, 50,3, 53,5, 17,5, 21,1 ve 3,1 ve ikinci ve üçüncü yaprak alanı ortalaması ise %6,1, 32,9, 41,0, 45,7, 0,5, 31,3 ve 24,9 oranında artmıştır.

Çay fidanlarının gövde çapı, bitki boyu, dal + yaprak ağırlığı, yaş ve kuru yaprak verimi, ikinci ve üçüncü yaprak alanı değerleri bakımından en uygun sonucu *B. subtilis* AR-17 ve *B. pumilus* AR-22 aşılama vermiştir. Bu bakteriler ölçülen parametreler bakımından NPK gübrelemesine benzer veya daha yüksek oranda etkin bulunmuştur.

İkinci yıl sonuçlarına göre, *L. enzymogenes* AR-4 ve *A. globiformis* AR-31 dışındaki uygulamalar yaprak klorofil içeriğini artırmış ve artış oranları istatistiksel olarak çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. Yaprak antosiyanin (ACI) içeriği bakımından ise sadece *A. globiformis* AR-31 aşılması kontrolle aynı gruba girmiş, diğer uygulamalarla ACI değeri istatistiki olarak çok önemli oranda artmıştır (Çizelge 4.38).

Pazar-20 çay klonunda 2014 yılı sonuçlarına göre, *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14, *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *A. globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33 ve *M. luteus* AR-72 bakteri aşılamalarıyla çay fidanlarının sırasıyla klorofil içeriği %5,3, 7,7, 13,2, 13,3, 6,2, 11,8 ve 12,3 antosiyanin içeriği ise sırasıyla %5,2, 7,7, 13,2, 13,3, 4,3, 11,7 ve 13,4 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise klorofil içeriği %14,9 ve 7,9, antosiyanin içeriği ise %14,9 ve 7,8 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.38).

**Çizelge 4.38.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2014 yılı)

Uygulamalar	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein *				
			GR	GST	POD	G6PD	6PGD
kontrol	70,76 e	17,62 d	2,08 d	1,92 e	0,149 d	0,96 cd	0,90 e
NPK	81,28 a	20,24 a	3,58 b	2,75 cd	0,159 cd	1,84 ab	1,46 c
Biyolojik gübre	76,32 b-d	19,00 bc	2,58 c	2,17 e	0,132 d	1,68 b	1,17 d
AR-4	74,48 de	18,54 c	4,03 a	3,03 c	0,163 cd	0,98 cd	1,17 d
AR-14	76,21 b-d	18,98 bc	3,42 b	2,12 e	0,210 b	0,83 d	1,60 c
AR-17	80,07 ab	19,94 a	4,35 a	4,62 a	0,274 a	1,88 ab	2,73 a
AR-22	80,20 ab	19,97 a	3,40 b	3,94 b	0,189 bc	1,18 c	2,43 b
AR-31	75,16 c-e	18,37 cd	2,31 cd	2,07 e	0,188 bc	1,02 cd	0,97 de
AR-33	79,09 a-d	19,69 ab	3,25 b	3,00 c	0,172 b-d	2,07 a	1,48 c
AR-72	79,45 a-c	19,98 a	2,68 c	2,39 de	0,172 b-d	1,75 b	1,10 de
Ortalama	77,30	19,233	3,17	2,80	0,181	1,42	1,50
Önem seviyesi	***	***	**	**	**	**	**

\*Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır; \*\*:p≤0,05 Önemli; \*\*\*:p≤0,01 çok önemli;  
**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz, **GST:**Glutasyon S-transferaz, **POD:**Peroksidaz; Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır; **G6PD:**Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, **6PGD:**6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Yedi farklı aside toleranslı orijinal izolatanın test edildiği araştırmanın ikinci yılı sonuçlarına göre, kontrole kıyasla denemede kullanılan 6 bakteri yaprak GR enzimi aktivitesini, 4'er bakterinin GST, POD ve G6PD enzim aktivitesini, 5 bakterinin ise 6PGD enzim aktivitesini artırmış ve artış oranları istatistiki olarak önemli (p≤0,05) bulunmuştur (Çizelge 4.38). En yüksek GR aktivitesi *B. subtilis* AR-17 ve *L. enzymogenes* AR-4 aşılansmış çay yapraklarında ölçülmüş ve NPK dahil diğer tüm uygulamalara göre yüksek ve istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. GR aktivitesi bakımından ikinci grubu NPK gübrelemesi, *B. pumilus* AR-14, *B. pumilus* AR-22 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılması oluşturmuştur. En yüksek yaprak GST enzim aktivitesi sırasıyla *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22, *P. polymyxa* AR-33 ve *L. enzymogenes* AR-4 aşılamlarından elde edilmiştir. *B. subtilis* AR-17 aşılansmış fidanlarda yaprak GST enzim aktivitesi, diğer bütün uygulamalara kıyasla artmış ve bu artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çay yapraklarında ölçülen POD enzim aktivitesi, *B. subtilis* AR-17 başta olmak üzere *B. pumilus* AR-14, *B. pumilus* AR-22 ve *A. globiformis* AR-31 aşılamlarıyla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları önemli bulunmuştur.

Yapraklarda en yüksek G6PD enzim aktivite değerleri *P. polymyxa* AR-33 aşılamasında ölçülürken bunu sırasıyla *B. subtilis* AR-17, *M. luteus* AR-72, *B. pumilus* AR-22 ve NPK uygulamaları takip etmiştir (Çizelge 4.38). Çay yapraklarında en yüksek 6PGD enzim aktivitesi diğer bütün uygulamalara kıyasla önemli artış gösteren *B. subtilis* AR-17 aşılanmış fidanlarda ölçülmüştür. Yüksek 6PGD enzim aktivitesi bakımından söz konusu uygulamayı sırası ile ikinci grubu oluşturan *B. pumilus* AR-22 aşılması ve üçüncü grubu oluşturan *B. pumilus* AR-14 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılmaları ve NPK gübrelemesi izlemiştir. Çay yapraklarında GR, GST, POD, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi toplu değerlendirildiğinde, özellikle *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-22 ve *P. polymyxa* AR-33 aşılmalarının etkin olduğu, stres koşullarına tolerans bakımından ümitvar olabileceği söylenebilir.

Pazar-20 çay klonunda yürütölen üçüncü deneme setinin 2014 yılı gübre ve farklı bakteri aşılmalarının yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.39'de verilmiştir. Çay yapraklarındaki en yüksek birim yaprak ağırlığı başına polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi değeri *B. pumilus* AR-22 aşılması ve mineral NPK gübre uygulaması ile elde edilmiş, bütün uygulamalar birim yaprak ağırlığı başına PPO aktivitesini kontrole kıyasla önemli düzeyde artırmıştır (Çizelge 4.34). Kontrole kıyasla birim protein başına PPO aktivitesi ise bütün uygulamalarla artmış ancak *A. globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33 aşılmaları dışındaki uygulamalarla artış oranları istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çaydaki primer flavonellerin oksitlenmesi, tat ve rengin oluşmasında önemli katkısı olan PPO aktivitesinin artırılmış olması önemli bir sonuç olarak bulunmuştur.

Başta *B. subtilis* AR-17 aşılması olmak üzere *B. pumilus* AR-14, *B. pumilus* AR-22 ve *A. globiformis* AR-31 aşılmalarıyla birim yaprak ağırlığı başına yaprak POD enzim aktivitesi artmış ve artış oranları kontrol, mineral ve biyolojik gübre uygulamasına kıyasla önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Protein başına en yüksek POD aktivitesi *B. subtilis* AR-17 aşılanmış çay yapraklarında ölçülmüş ve diğer bütün uygulamalara kıyasla önemli bulunmuştur. Üreaz enzim aktivitesi bakımından en uygun sonucu

kontrole kıyasla önemli oranda artışa neden olan biyolojik gübre ve *L. enzymogenes* AR-4 bakteri aşılımları vermiştir. Üreaz aktivitesi kontrole kıyasla bütün uygulamalarla artmış ve NPK dışındaki bütün uygulamalarla artış oranları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.39.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set III, 2014 yılı)

Uygulamalar*	EU/g yaprak					EU/mg protein				
	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK
Kontrol	6,17 c	15,47 d	0,84 d	0,98 d	2,10 d	0,058 c	0,15 cd	0,0093 b	0,026 c	0,061 e
NPK	8,43 a	20,09 c	0,88 cd	1,09 cd	2,39 cd	0,106 a	0,16 cd	0,0102 b	0,027 c	0,088 d
Biyolojik gübre	8,00 ab	15,21 d	1,54 a	1,12 cd	2,08 d	0,108 a	0,13 d	0,0179 a	0,036 bc	0,052 e
AR-4	8,14 ab	19,24 cd	1,48 a	1,18 cd	2,70 c	0,092 ab	0,16 cd	0,0184 a	0,041 a-c	0,115 bc
AR-14	7,91 ab	25,02 b	1,14 b	1,71 ab	2,88 bc	0,107 a	0,21 b	0,0123 b	0,049 ab	0,092 cd
AR-17	8,21 ab	32,99 a	1,15 b	1,76 ab	3,56 a	0,101 a	0,27 a	0,0122 b	0,060 a	0,158 a
AR-22	8,62 a	24,94 b	1,17 b	1,40 bc	3,59 a	0,101 a	0,19 bc	0,0124 b	0,046 a-c	0,124 b
AR-31	7,22 b	25,76 b	1,05 bc	1,84 a	3,42 ab	0,061 bc	0,19 bc	0,0120 a	0,060 a	0,114 bc
AR-33	7,91 ab	22,86 bc	1,09 b	1,34 cd	3,57 a	0,081 a-c	0,17 b-d	0,0120 b	0,043 a-c	0,118 bc
AR-72	7,89 ab	23,23 bc	1,10 b	1,19 cd	2,98 bc	0,096 a	0,17 b-d	0,0112 b	0,038 bc	0,099 b-d
Ortalama	7,85	22,48	1,14	1,36	2,93	0,091	0,18	0,0128	0,043	0,102

\* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5-dehidroshikimat reduktaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1500 mg kompoze 25:5:10/fidan veya 80 kg/da kompoze %25:5:10)

Gerek birim gram yaprak ve gerekse birim miligram protein başına enzim ünitesi olarak ADH aktivitesi *A. globiformis* AR-31, *B. subtilis* AR-17 ve *B. pumilus* AR-14 bakteri aşılımları ile kontrol ve kimyasal gübre uygulamasına kıyasla önemli düzeyde artmıştır. *B. pumilus* AR-22 aşılması ise kontrole kıyasla ADH aktivitesini önemli oranda artırmış ancak NPK ile aynı gruba girmiştir. Diğer uygulamalar ise ADH aktivitesi bakımından kontrol ve NPK uygulaması ile benzer sonuç vermiş ve aynı gruba girmiştir (Çizelge 4.39). Benzer olarak birim gram yaprak ve birim miligram protein başına DHSK reduktaz enzim aktivitesi *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-17, *P. polymyxa* AR-33 ve *A. globiformis* AR-31 bakteri aşılımları ile kontrol ve kimyasal ve biyolojik gübre uygulamasına kıyasla artmış, artış oranları önemli bulunmuştur. *L. enzymogenes* AR-4, *B. pumilus* AR-14 ve *M. luteus* AR-72 aşılımları ise birim gram yaprak ağırlığı başına enzim ünitesi olarak DHSK aktivitesini kontrole kıyasla önemli



oranda artırmıştır. Birim miligram protein başına enzim ünitesi olarak DHSK enzim aktivitesi bakımından ise *B. subtilis* AR-17 aşılması ile diğer tüm uygulamalara göre önemli artışa neden olurken, bu uygulamayı kontrol, biyolojik ve NPK gübrelemesine göre önemli artışa neden olan *B. pumilus* AR-22 aşılması takip etmiştir (Çizelge 4.39). Test edilen bakterilerden özellikle *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-14 ve *B. pumilus* AR-22 izolatlarının çay teknolojisi bakımından önemli olabilecek enzim aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir.

Test edilen bakterilerden özellikle *B. subtilis* AR-17, *B. pumilus* AR-14 ve *B. pumilus* AR-22 izolatlarının çay teknolojisi bakımından önemli olabilecek enzim aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir.

#### **4.4.4. IV. Deneme**

Doğal koşullar altında yürütülen bu deneme, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsünde, Pazar-20 çay klonunda 1 yaşlı köklendirilmiş çay çelikleriyle saksılarda kurulmuştur. Bu deneme setinde Hazar Denizinin Güney kıyılarında yetiştirilen çay bitkileri rizosferinden izole edilen bakterilerden oluşturulan ikili, üçlü ve dördü bakteri kombinasyonlarından oluşturulan 9 farklı biyolojik gübre formülasyonu, kontrol ve NPK gübrelemesine karşı test edilmiştir. Test edilen bakteri formülasyonlarında kullanılan bakterilere ait bazı biyokimyasal özellikler Çizelge 4.40'de, bakteri formülasyonu ve gübre uygulamalarının gelişme ve verim özellikleri üzerine etkisi ise Çizelge 4.41'de verilmiştir.

**Çizelge 4.40.** Pazar-20 çay klonunda bir yaşlı fidanlarla kurulan denemede kullanılan kombinasyonlardaki bakterilerin bazı özellikleri (Set IV)

Formülasyon	İzolat no	MIS Tanı Sonucu	OKS	KTZ	AG	SKZ	FÇ	ACCD
YAF1	AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	+	+	+	-
	AR-64	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	-	+	-
YAF2	AR-173	<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	+	+	+	-
	AR-21	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	+	Z+	+
YAF3	AR-164	<i>Pseudomonas. putida</i>	+	+	K+	K+	+	-
	AR-67	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	+	K+	+
YAF4	AR-154	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	K+	+	+	-
	AR-22	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	K+	-	+	-
YAF5	AR-163	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	K+	+	+	+	Z+	-
	AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	+
YAF6	AR-161	<i>Pseudomonas putida</i>	+	K+	K+	-	-	-
	AR-59	<i>Bacillus atrophaeus</i>	-	+	Z+	+	K+	+
YAF7	AR-52	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	K+	+	+	+	+	-
	AR-33	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	-	+	K+	-	K+	--
	AR-64	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	-	+	-
YAF8	AR-7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	Z+	+	K+	-
	AR-22	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	K+	-	+	-
	AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	-
YAF9	AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	K+	+	+	+	+	-
	AR-22	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	K+	-	+	-
	AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	-
	AR-47	<i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	-	+	+	+	+	-

**OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme (nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, 10<sup>7</sup> cfu h<sup>-1</sup>); **SKZ:** Sükröz test; **FÇ:** NBRIP-BPB ortamda gelişme (µg P mL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>); **ACCD:** Aminosiklopropan karboksilat deaminaz aktivitesi (nmol α-ketobutyrate mg<sup>-1</sup> protein h<sup>-1</sup>); **K+:** Kuvvetli pozitif; **+**: Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif

Bu deneme setinde test edilen uygulamalardan YAF1 ve YAF5 dışındaki tüm uygulamalar çay fidanlarında gövde çapı değerini artırmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek gövde çapı (8,34 cm) YAF8 formülasyonu ile aşıl原因an fidanlarda ölçülmüş, bunu sırası ile YAF4, YAF9, YAF3, YAF2 ve NPK uygulamaları izlemiştir. Çay fidanlarında bitki boyu YAF3, YAF4, YAF8, YAF2, YAF9 ve NPK uygulamalarıyla kontrole kıyasla önemli oranda artmış, diğer uygulamalar kontrole aynı gruba girmiştir. Dördüncü deneme seti 2014 yılı ortalamalarına göre, YAF1, YAF2, YAF3, YAF4, YAF5, YAF6, YAF7, YAF8 ve YAF9 bakteri formülasyonu aşıl原因malarıyla çay fidanlarının sırasıyla gövde çapı %2,2, 14,7, 15,1, 18,5, 10,3, 12,2, 12,1, 19,8 ve 16,8; bitki boyu ise sırasıyla %0,2, 13,6, 17,0, 13,6, 7,2, 0,7, 8,9, 14,3 ve 10,1 oranlarında artmıştır. Mineral gübre uygulamalarında ise gövde çapı %14,7 ve bitki boyu %10,9 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.41).

**Çizelge 4.41.** Mineral gübre ve farklı bakteri uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda verim ve gelişme parametreleri üzerine etkisi (Set IV, 2014 yılı)

Uygulamalar*	GÇ	BB	DYA	YYV	KYV	İYA	ÜYA
Kontrol	6,96 c	40,5 c	19,00 f	10,34 d	7,14 e	17,84 d	27,16 e
NPK	7,98 a	44,9 ab	26,75 b-d	14,21 ab	9,92 a-c	19,87 ab	30,02 bc
YAF1	7,11 bc	40,6 c	22,79 e	12,13 c	8,36 d	18,71 cd	28,17 de
YAF2	7,98 a	46,0 ab	27,10 a-d	14,51 ab	10,19 a-c	19,53 a-c	29,61 cd
YAF3	8,01 a	47,4 a	28,42 a	14,75 a	10,31 ab	19,97 ab	30,36 bc
YAF4	8,25 a	46,0 ab	26,98 a-d	14,27 ab	9,92 a-c	19,90 ab	30,13 bc
YAF5	7,68 a-c	43,4 bc	26,12 cd	14,17 ab	9,67 bc	19,07 bc	28,60 c-e
YAF6	7,81 ab	40,8 c	25,87 d	13,62 b	9,58 c	18,72 cd	28,08 de
YAF7	7,80 ab	44,1 a-c	26,47 b-d	13,97 ab	9,97 a-c	19,49 a-c	29,24 cd
YAF8	8,34 a	46,3 ab	27,68 a-c	14,88 a	10,42 a	20,09 ab	31,59 ab
YAF9	8,13 a	44,6 ab	27,87 ab	14,89 a	10,06 a-c	20,51 a	32,36 a
Ortalama	7,82	44,0	25,91	13,79	9,59	19,43	29,58

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**GÇ:** Gövde çapı (mm); **BB:** Bitki boyu (cm); **DYA:** Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan); **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **İYA:** İkinci yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **ÜYA:** Üçüncü yaprak alanı (cm<sup>2</sup>); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1700 mg/fidan kompoze 25:5:10)

Dal + yaprak ağırlığı, yaş ve kuru yaprak verimi tüm uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları önemli bulunmuştur (Çizelge 4.41). En yüksek dal+yaprak ağırlığı YAF3 aşılanmış fidanlarda ölçülmüş, bunu sırasıyla YAF9, YAF8, YAF2, YAF4 ve NPK uygulamalar izlemiştir. Yaş ve kuru yaprak verimi bakımından en etki olan uygulamalar sırasıyla YAF8, YAF9, YAF3 ve YAF2 aşılama olmuştur.

Çay fidanlarında ölçülen ikinci yaprak alanı YAF1 ve YAF6, üçüncü yaprak alanı ise YAF1, YAF5 ve YAF6 dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla önemli düzeyde artmış. İkinci ve üçüncü yaprak alanı bakımından en etkin uygulamalar YAF9 YAF8 ve YAF3 aşılama olmuştur. Pazar-20 çay klonunda 2014 yılı sonuçlarına göre, YAF1, YAF2, YAF3, YAF4, YAF5, YAF6, YAF7, YAF8 ve YAF9 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay fidanlarının sırasıyla, yaş dal+yaprak ağırlığı %19,9, 42,6, 49,6, 42,0, 37,5, 36,2, 39,3, 45,7 ve 46,7; yaş yaprak verimi %17,3, 40,3, 42,6, 38,0, 37,0, 31,7, 35,1, 43,9 ve 44,0; kuru yaprak verimi %17,1, 42,7, 44,4, 38,9, 35,4, 34,2, 39,6, 45,9 ve 40,9 ve ikinci ve üçüncü yaprak alanı ortalaması ise %4,2, 9,2, 11,8, 11,2, 5,9, 4,0, 8,3, 14,8 ve 17,5 oranlarında artmıştır. Mineral gübre uygulamalarında ise dal+yaprak

ağırlığı %40,8; yaş yaprak verimi %37,4; kuru yaprak verimi %38,9 ve ikinci ve üçüncü yaprak alanı ortalaması ise %10,9 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.41).

Bu deneme setinde test edilen bütün uygulamalar yaprak klorofil içeriğini kontrole kıyasla önemli miktarda artırmış ve klorofil içeriği bakımından özellikle YAF9, YAF2 YAF4 en etkin uygulamalar olmuştur. YAF1 dışındaki test edilen bakteri formülasyonlarında mineral NPK uygulamasına kıyasla ortaya çıkan klorofil artış ve azalmaları önemli bulunmamış ve bu formülasyonlar NPK ile aynı gruba girmiştir. Denemenin 2014 yılı sonuçlarına göre, YAF1, YAF2, YAF3, YAF4, YAF5, YAF6, YAF7, YAF8 ve YAF9 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay fidanlarının sırasıyla klorofil içeriği %5,5, 14,9, 11,7, 13,8, 7,8, 6,7, 11,1, 13,2 ve 15,5 oranında artarken, mineral NPK gübre uygulamasında %13,6 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.42).

**Çizelge 4.42.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak klorofil, antosiyanin, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set IV, 2014 yılı)

Uygulama*	KM	Enzim aktivitesi EU/mg protein**			
		GR	GST	G6PD	6PGD
Kontrol	67,6 e	2,50 d	1,90 d	1,25 c	1,18 c
NPK	76,8 a-c	3,57 a-c	2,66 cd	1,89 ab	1,88 ab
YAF1	71,3 de	3,13 b-d	2,45 cd	2,35 a	1,73 bc
YAF2	77,7 ab	3,76 ab	2,88 bc	2,19 ab	1,93 ab
YAF3	75,5 a-d	3,10 b-d	2,75 b-d	1,83 ab	1,92 ab
YAF4	76,9 a-c	3,15 b-d	2,89 bc	1,62 bc	2,03 ab
YAF5	72,9 b-d	3,32 a-d	3,14 a-c	2,26 a	2,12 ab
YAF6	72,1 c-e	2,96 b-d	2,47 cd	1,98 ab	1,61 bc
YAF7	75,1 a-d	2,87 cd	2,48 cd	2,37 a	1,64 bc
YAF8	76,5 a-c	3,63 a-c	3,52 ab	1,91 ab	2,08 ab
YAF9	78,1 a	3,96 a	3,78 a	1,96 ab	2,42 a
Ortalama	74,6	3,27	2,81	1,96	1,87

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir; \*\*Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **GR:** Glutatyon redüktaz; **GST:** Glutatyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1700 mg/fidan kompoze 25:5:10)

Bu deneme setinin sonuçlarına göre, çay gelişme ve verim parametreleri bakımından en uygun sonucu, dörtlü YAF9 (*B. pumilus* AR-22+B. *subtilis* AR-17+A. *xylosoxidans denitrificans* AR-47 + *P. fluorescens* AR-9), üçlü YAF8 (*P. fluorescens* AR-7 + *B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17) ve ikili YAF3 (*P. putida* 62/5 + *B. subtilis* AR-67) formülasyonlar vermiştir. Bu formülasyonların mineral gübrelemeye eşdeğer veya daha yüksek oranda çay gelişmesini teşvik ettiği ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.41-42).

Bu deneme setinde yaprak antioksidan ve oksidatif pentoz fosfat yolu enzim aktivitesi uygulamalarla artmış ve artış oranları ölçülen enzim ve uygulamalara bağlı olarak değişmiştir. Enzim analiz sonuçlarına göre YAF9 formülasyonu başta olmak üzere YAF2, YAF8 ve NPK uygulamaları ile glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi kontrole kıyasla önemli miktarda artmıştır. Glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesi YAF9, YAF8, YAF5, YAF4 ve YAF2 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla artmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli bulunmuşken, diğer uygulamalar kontrole aynı gruba girmiştir. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitesi YAF4 dışındaki tüm uygulamalarla kontrole kıyasla artmış ve artış oranları önemli bulunmuştur. G6PD enzim aktivitesi bakımından özellikle YAF1, YAF5 ve YAF7 kombinasyonları yüksek etkinlik göstermiştir. Çay yapraklarında ölçülen 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) enzim aktivitesi başta YAF9 olmak üzere, YAF1 YAF6 ve YAF7 dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla önemli miktarda artmıştır. Enzim sonuçlarına göre, GR enzim aktivitesi bakımından YAF9, YAF2 ve YAF8; GST bakımından YAF9, YAF8 ve YAF5; POD enzim aktivitesi bakımından YAF9, YAF3 ve YAF1; G6PD bakımından YAF7, YAF1 ve YAF5 ve 6PGD enzim aktivitesi bakımından ise YAF9, YAF5 ve YAF8 uygulamaları etkinlik bakımından öne çıkmıştır. Polifenollerin oksidasyon reaksiyonunda ve siyah çay üretiminde pigment oluşumunda başlıca rol oynayan polifenol oksidaz (PPO) enzimi kontrole kıyasla tüm uygulamalarla artmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek PPO aktivitesi NPK, YAF3, YAF8 ve YAF9 uygulamalarında ölçülmüştür (Çizelge 4.43). Birim protein başına polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesi YAF4, YAF5 ve YAF6 uygulamalarında kontrole kıyasla artmış ancak artış oranları önemli bulunmamıştır. Kontrole kıyasla, birim yaprak ve birim protein başına yaprak Peroksidaz (POD) aktivitesi, NPK, YAF2,

YAF4, YAF5 ve YAF6 dışındaki uygulamalarla artmış ve artış oranları önemli bulunmuştur. POD aktivitesi bakımından özellikle YAF3 ve YAF9 bakteri formülasyonları etkin bulunmuştur (Çizelge 4.43).

Üreaz aktivitesi artışı YAF8, YAF3 ve YAF9 aşılamaalarında kontrole kıyasla önemli bulunurken, protein başına üreaz aktivitesi artışı sadece YAF8 aşılanmış çay yapraklarında önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur.

Çayın aroma oluşumunda önemli rol oynayan alkol dehidrogenaz enzimi NPK dışındaki tüm uygulamalarla artmış, ancak birim yaprak başına ADH enzim aktivitesi artış oranları YAF9, YAF8, YAF3, YAF7, YAF1 ve YAF5; birim protein başına ADH enzim aktivite artış oranları ise YAF9, YAF3, YAF8 ve YAF1 aşılamaalarıyla kontrole kıyasla istatistiki bakımdan önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur.

**Çizelge 4.43.** Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre kombinasyonlarının Pazar-20 çay çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set IV, 2014 yılı)

Uygulamalar*	EU/g yaprak					EU/mg protein				
	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK
Kontrol	7,13 c	23,80 e	0,950 d	1,253 e	2,403 d	0,066 d	0,182 d	0,0132 b	0,043 d	0,089 d
NPK	9,08 a	23,91 e	1,005 d	1,243 e	2,403 d	0,141 a-c	0,174 d	0,0122 b	0,044 d	0,090 d
YAF1	7,81 b	34,09 ab	1,183 b-d	1,605 b-d	3,575 ab	0,133 a-c	0,244 bc	0,0151 ab	0,056 bc	0,139 bc
YAF2	7,81 b	24,46 de	1,168 b-d	1,525 b-e	3,620 ab	0,127 a-c	0,183 d	0,0145 ab	0,051 b-d	0,139 bc
YAF3	8,88 a	38,51 a	1,378 ab	1,760 a-c	3,725 a	0,168 a	0,272 ab	0,0154 ab	0,060 ab	0,172 a
YAF4	7,66 b	23,99 e	1,115 cd	1,438 de	3,007 c	0,088 cd	0,183 d	0,0132 b	0,044 d	0,110 cd
YAF5	7,80 b	28,95 c-e	1,123 b-d	1,593 b-d	3,218 bc	0,103 b-d	0,215 cd	0,0133 b	0,050 b-d	0,118 cd
YAF6	7,74 b	25,10 de	1,130 b-d	1,455 c-e	3,210 bc	0,095 b-d	0,188 d	0,0135 b	0,045 cd	0,111 cd
YAF7	7,84 b	29,32 b-d	1,140 b-d	1,633 b-d	3,603 ab	0,134 a-c	0,210 cd	0,0132 b	0,054 b-d	0,124 bc
YAF8	9,04 a	32,51 bc	1,445 a	1,780 ab	3,528 ab	0,138 a-c	0,240 c	0,0172 a	0,059 ab	0,150 ab
YAF9	8,64 a	38,43 a	1,355 a-c	1,933 a	3,798 a	0,151 ab	0,287 a	0,0157 ab	0,068 a	0,142 bc
Ortalama	8,13	29,37	1,181	1,565	3,281	0,122	0,216	0,0142	0,052	0,126

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p \leq 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5-dehidroshikimat reduktaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (1700 mg/vidan kompoze 25:5:10)

Polifenollerin biyosentezinde anahtar rol oynayan ve genç sürgünlerde daha fazla oranda bulunan 5-dehidroshikimat redüktaz enzimi NPK dışındaki tüm uygulamalarla artmış, artış oranları birim yaprak ağırlığı başına kontrole kıyasla önemli bulunurken, birim miligram protein başına DSHK enzim aktivitesi artışı YAF4, YAF5 ve YAF6 formülasyonlarında önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmamıştır (Çizelge 4.43). Gerek birim gram yaprak ve gerekse birim miligram protein başına enzim ünitesi olarak DSHK aktivitesi bakımından NPK uygulaması kontrole aynı gruba girmiştir.

#### 4.4.5. V. Deneme

Bu deneme Rize ili Pazar ilçesinde Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Rize Atatürk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü kontrolünde demonstrasyon amacıyla kurulan ve bakımı yapılan çaylıkta tarla koşullarında yürütülmüştür. Pazar-20 çay klonu ile kurulan bu denemede 2 adet ikili (BF22: *B. pumilus* AR-37 + *P. putida* AR-87; BF23: *B. subtilis* AR-12 + *B. atrophaeus* AR-59) ve 2 adet üçlü (BF24: *P. fluorescens* AR-9 + *B. megaterium* DB3 + *P. putida* AR-173 ve BF25: *P. fluorescens* AR-9 + *B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17) olmak üzere 4 bakteri kombinasyonu, ticari biyolojik gübre, NPK gübresi ve kontrol uygulamaları test edilmiştir. Tarla denemesinin ilk yılında bakteri aşılımları ve gübre uygulamalarının üç sürgün döneminde gelişme ve verim parametrelerine etkisi Çizelge 4.45’de, klorofil, antosiyanin, ikinci ve üçüncü yaprak alanı, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi ise Çizelge 4.46’de verilmiştir.

**Çizelge 4.44.** Tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunu ile kurulan denemede kullanılan kombinasyonlardaki bakterilerin bazı özellikleri (SET V)

Formülasyon	İzolat no	MIS Tanı Sonucu	OKS	KTZ	AG	SKZ	FÇ
BF22	AR-37	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	-
	AR-87	<i>Pseudomonas putida</i>	+	K+	K+	+	+
BF23	AR-12	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+
	AR-59	<i>Bacillus atrophaeus</i>	+	-	+	Z+	+
BF24	AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	K+	+	+	+	+
	AR-32	<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	+	Z+	-
	AR-173	<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	+	-	+
BF25	AR-9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	K+	+	+	+
	AR-22	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	K+	-
	AR-17	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+

**OKZ:** oksidaz test; **KTZ:** Katalaz test; **AG:** Azotsuz ortamda gelişme (nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, 10<sup>7</sup> cfu h<sup>-1</sup>); **SKZ:** Sükroz test; **FÇ:** NBRIP-BPB ortamda gelişme (µg P mL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>); **K+:** Kuvvetli pozitif; **+:** Pozitif; **Z+:** Zayıf pozitif; **-:** Negatif

Tarla koşullarında yürütülen bu denemede NPK gübrelemesi, biyolojik gübre, ikili ve üçlü bakteri formülasyonu aşulamalarının klorofil içeriği dahil, her 3 sürgün döneminde hasat edilen yas ve kuru yaprak verimini önemli düzeyde artırdığı belirlenmiştir. Birinci sürgün döneminde ölçülen klorofil içeriği bakımından en yüksek aktivite BF23, BF25 ve NPK uygulamaları ile ortaya çıkmış, biyolojik gübre ikinci grubu oluşturmuştur. Birinci sürgün döneminde en yüksek etkinlik BF24 formülasyonu dışındaki uygulamalarla ortaya çıkmış ve bu uygulamalar birinci grubu oluşturmuştur. Birinci sürgün döneminde hasat edilen en yüksek kuru çay yaprak verimi (178,6 g/ocak) ikili bakteri formülasyonu BF22 (*B. pumilus* AR-37 + *P. putida* AR-87) aşlanmış parsellerde ortaya çıkmış, bunu 176,7 g/ocak ile BF23 (*B. subtilis* AR-12 + *B. atrophaeus* AR-59) aşlaması izlemiştir. Tarla koşullarında yürütülen denemenin 2013 yılı ortalamalarına göre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşulamalarıyla birinci sürgün döneminde çay fidanlarının yaş yaprak verimi sırasıyla %22,9, 28,7, 22,3 ve 29,3; kuru yaprak verimi %28,7, 27,3, 20,9 ve 27,2, klorofil içeriği ise %19,6, 22,3, 19,2 ve 22,2 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise yaş yaprak verimi %27,2 ve 27,0, kuru yaprak verimi %22,8 ve 22,6; klorofil içeriği ise %19,9 ve 17,6 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.45).



**Çizelge 4.45.** Farklı gübre ve bakteri uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunda klorofil miktarı ve üç farklı sürgün gelişme döneminde yaş ve kuru yaprak verimine etkisi (Set V, 2013 yılı)

Uygulama*	Birinci sürgün (12 Mayıs)		İkinci sürgün (18 Temmuz)		Üçüncü sürgün (22 Eylül)		Toplam		
	KM	YYV	KYV	YYV	KYV	YYV	KYV	YYV	KYV
Kontrol	72,82 c	287,6 c	138,8 d	241,9 d	114,4 c	142,5 c	67,8 c	672,0 d	321,0 d
NPK	87,29 a	365,9 a	170,4 bc	302,0 ab	145,4 ab	178,0 b	84,7 b	846,0 ab	400,5 bc
Biyolojik gübre	85,63 b	365,3 a	170,1 bc	298,5 bc	145,6 ab	178,8 b	85,1 b	842,7 b	400,8 bc
BF22	87,07 ab	367,9 a	178,6 a	299,9 a-c	144,2 b	179,6 b	85,5 b	847,4 ab	408,2 ab
BF23	89,07 a	370,2 a	176,7 ab	302,8 ab	147,7 a	185,3 a	88,2 a	858,3 ab	412,6 a
BF24	86,80 ab	351,6 b	167,8 c	291,2 c	143,5 b	177,5 b	84,5 b	820,4 c	395,9 c
BF25	88,96 a	372,0 a	176,6 ab	308,9 a	147,7 a	185,3 a	88,2 a	866,1 a	412,5 a
Ortalama	85,28	354,4	168,4	292,2	141,2	175,3	83,4	821,8	393,1

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,05$ ) değildir

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

İkinci sürgün döneminde en yüksek yaş (308,9 g/ocak) ve kuru (147,7 g/ocak) yaprak verimi üçlü BF25 (*P. fluorescens* AR-9 + *B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17) bakteri kombinasyonunda belirlenmiş, bu uygulamayı ikili BF23 (*B. subtilis* AR-12 + *B. atrophaeus* AR-59) aşılması ve mineral NPK gübrelemesi izlemiştir. Benzer olarak BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla ikinci sürgün döneminde çay fidanlarının yaş yaprak verimi sırasıyla %24,0, 25,2, 20,4 ve 27,7; kuru yaprak verimi %26,0, 29,1, 25,4 ve 29,1 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise yaş yaprak verimi %24,8 ve 23,4 ve kuru yaprak verimi %27,1 ve 27,3 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.45).

Benzer olarak üçüncü sürgün döneminde en yüksek yaş (185,3 g/ocak) ve kuru (88,2 g/ocak) yaprak verimi ikili BF23 ve üçlü BF25 bakteri kombinasyonu ile aşılanmış çay bitkilerinde ölçülmüştür. Üçüncü sürgün dönemi hasat ortalamalarına göre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla üçüncü sürgün döneminde çay fidanlarının yaş yaprak verimi sırasıyla %26,0, 30,0, 24,6 ve 30,0; kuru yaprak verimi ise %26,1, 30,1, 24,6 ve 30,1 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise yaş yaprak verimi %24,9 ve 25,5 ve kuru yaprak verimi %24,9 ve 25,5 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.45).

Üçüncü sürgün döneminde ölçülen klorofil ve antosiyanin içeriği bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artmış, en yüksek artış BF23 formülasyonunda ortaya çıkmış ve artış oranları istatistiksel olarak çok önemli ( $p \leq 0.01$ ) bulunmuştur. Araştırmanın ilk yılında üçüncü sürgün döneminde mineral NPK, biyolojik gübre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay ocaklarında ölçülen klorofil (SPAD) içeriği sırasıyla %19,2, 18,5, 18,3, 24,2, 17,2 ve 21,8; antosiyanin (ACI) içeriği ise %19,8, 20,5, 20,7, 28,5, 18,5 ve 23,4 oranında artmıştır (Çizelge 4.46).

**Çizelge 4.46.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak alanı, yaprak klorofil ve antosiyanin içeriği, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2013 yılı)

Uygulama	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein*				IYA	ÜYA
			GR	GST	G6PD	6PGD		
Kontrol	70,58 d	17,32 c	2,11 c	1,79 c	1,11 c	1,16 c	16,20 d	24,49 c
NPK	84,10 bc	20,75 b	3,75 ab	2,67 b	2,08 ab	2,16 a	20,68 ab	31,16 ab
Biyolojik gübre	83,62 bc	20,87 b	2,88 bc	2,56 b	2,06 ab	2,04 ab	19,66 bc	30,15 b
BF22	83,49 bc	20,90 b	3,20 ab	2,33 bc	1,48 bc	1,50 bc	20,78 ab	31,95 a
BF23	87,63 a	22,26 a	3,81 ab	2,77 b	2,23 a	1,64 a-c	20,75 ab	31,55 ab
BF24	82,72 c	20,52 b	3,07 ab	2,23 bc	1,16 c	1,20 c	19,53 c	30,08 b
BF25	85,95 ab	21,38 ab	3,94 a	3,37 a	2,16 a	2,26 a	20,98 a	32,01 a
Ortalama	82,58	20,57	3,25	2,53	1,75	1,71	19,80	30,20
Önem seviyesi	***	***	**	**	**	**	**	**

\*Enzim ölçümü her bir örnekte üç kez tekrarlanmıştır; \*\*:  $p \leq 0,05$  Önemli; \*\*\*:  $p \leq 0,01$  çok önemli

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz; **GST:** Glutasyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **IYA:** İkinci yaprak alanı ( $\text{cm}^2$ ); **ÜYA:** Üçüncü yaprak alanı ( $\text{cm}^2$ ); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

Araştırmanın ilk yılında üçüncü sürgün döneminde ölçülen ikinci ve üçüncü yaprak alanı değerleri bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artmış, en yüksek artış BF25 formülasyonunda ortaya çıkmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0.05$ ) bulunmuştur. Kontrole kıyasla önemli miktarda artmış olmakla birlikte, ikinci ve üçüncü yaprak alanı bakımından en düşük artış BF24 formülü ile aşılama çay ocaklarında ölçülmüştür. Üçüncü sürgün döneminde mineral NPK, biyolojik gübre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla deneme parsellerindeki çay bitkileri ikinci yaprak alanı sırasıyla %27,7, 21,4, 28,3, 28,1, 20,6 ve

29,5 oranlarında artarken; üçüncü yaprak alanında ise %27,2, 23,1, 30,5, 28,8, 22,8, 30,7 oranında artış meydana gelmiştir (Çizelge 4.46, Şekil 4.8).

Üç sürgün dönemi toplamına göre en yüksek yaş (866,1 g/ocak) ve kuru yaprak verimi (412,5 g/ocak) *P. fluorescens* AR-9 + *B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17 izolatlarının kombinasyonu olan BF25 formülü aşılanmış çaylarda ölçülmüştür. Toplam yaş yaprak verimi bakımından BF25, BF23, BF22 ve NPK birinci, biyolojik gübre ikinci, BF24 üçüncü ve kontrol ise dördüncü grubu oluşturmuştur (Çizelge 4.45). Araştırmanın ilk yılı üç sürgün dönemi hasat toplamına göre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay fidanlarının toplam yaş yaprak verimi sırasıyla %26,1, 27,7, 22,1 ve 28,9; kuru yaprak verimi ise %27,2, 28,5, 23,3 ve 28,5 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise toplam yaş yaprak verimi %25,9 ve 25,4, kuru yaprak verimi %24,8 ve 24,9 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.43).



**Şekil 4.8.** Tarla denemesi hasat sonrası görünüm

Tarla denemesinin ilk yılında bakteri aşılımları ve gübre uygulamalarının GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.46'da görülmektedir. Yaprak antioksidan ve oksidatif pentoz fosfat yolu enzim aktivitesi uygulamalarla artmış ve artış oranları ölçülen enzim ve uygulamalara bağlı olarak değişmiştir. Biyolojik gübre dışındaki uygulamalarla GR; BF22 ve BF24 dışındaki uygulamalarla GST; BF24 dışındaki uygulamalarla G6PD ve BF24, BF23 ve biyolojik gübre dışındaki uygulamalarla de yaprak 6PGD enzim aktivitesi önemli seviyede artmıştır. Yaprak GR aktivitesi bakımından BF25, BF23 ve NPK, GST bakımından BF25, G6PD aktivitesi bakımından BF25 ve BF23, 6PGD aktivitesi bakımından ise BF25, NPK ve biyolojik gübre etkin uygulamalar olmuştur (Çizelge 4.46).

Yaprakta bulunan polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) enzimler; oksidasyon reaksiyonlarında önemli rol oynar ve siyah çaya rengini ve kokusunu veren maddelerin oluşmasını sağlar. Aroma bileşikleri çay flavonellerinin polifenol oksidaz enzimiyle yükseltgenmesi sonucunda oluşmaktadır. Bu deneme setinde BF22 formülasyonu dışındaki tüm uygulamalar birim yaprak ağırlığında PPO ve POD aktivitesini kontrole kıyasla önemli düzeyde artırmıştır (Çizelge 4.47). Birim protein başına PPO aktivitesi tüm uygulamalarla artmış ancak artış oranı BF25 aşılması başta olmak üzere, NPK gübrelemesi, BF23 ve BF24 formülasyonu aşılınmış çay yapraklarında önemli bulunmuştur. BF22 formülasyonu dışındaki uygulamalar birim protein cinsinden POD enzim aktivitesini kontrole kıyasla önemli oranda artırmıştır. Çay yapraklarında bulunan üreaz aktivitesi birim yaprak ağırlığı bakımından BF22, BF23 ve BF25 formülasyonları ile aşılınmış çay yapraklarında, kontrole kıyasla önemli düzeyde artarken, birim miligram protein başına üreaz aktivitesi bakımından bütün uygulamalar kontrolle aynı gruba girmiştir.

Bu deneme setinde test edilen uygulamalarla ortaya çıkan birim yaprak ağırlığı alkol dehidrogenaz aktivitesi artışı sadece BF25 ve BF24 kombinasyonlarında önemli bulunurken, diğer uygulamalar kontrolle aynı gruba girmiştir. Birim protein başına ADH aktivitesi bakımından bakteri aşılımları ve kontrol arasındaki farklılıklar önemli bulunmamıştır. Polifenollerin biyosentezinde anahtar rol oynayan 5-dehidroshikimat

redüktaz enzimi aktivitesi başta BF25 aşılması olmak üzere BF23 ve BF24 formülasyonları ile kontrole kıyasla artmış ve artış oranları istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.47.** Mineral gübre ve biyolojik gübre kombinasyonlarının Pazar-20 çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2013 yılı)

Uygulamalar*	(EU/g yaprak)					(EU/mg protein)				
	PPO	POD	ÜREAZ	ADH	DHSK	PPO	POD	ÜREAZ	ADH	DHSK
Kontrol	7,34 c	13,20 c	1,115 b	1,40 c	0,095 d	0,076 c	0,133 b	0,014 a	0,046 ab	2,52 d
NPK	9,79 a	21,86 b	1,066 b	1,41 c	0,121 a-c	0,131 b	0,172 a	0,013 a	0,043 b	2,59 cd
Biyolojik gübre	9,13 ab	23,44 b	1,069 b	1,71 a-c	0,101 cd	0,080 c	0,178 a	0,013 a	0,060 ab	2,77 b-d
BF22	8,22 bc	15,63 c	1,549 a	1,47 c	0,111 b-d	0,099 c	0,134 b	0,015 a	0,049 ab	2,17 d
BF23	9,34 a	26,85 a	1,597 a	1,58 bc	0,141 a	0,138 b	0,181 a	0,013 a	0,056 ab	3,27 ab
BF24	8,83 ab	21,67 b	1,134 b	1,86 ab	0,127 ab	0,136 b	0,177 a	0,013 a	0,057 ab	3,15 a-c
BF25	9,63 a	22,97 b	1,623 a	1,97a	0,133 ab	0,163 a	0,171 a	0,015 a	0,063 a	3,54 a
Ortalama	8,90	20,80	1,308	1,63	0,118	0,117	0,164	0,014	0,053	2,86

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5-dehidroshikimat reduktaz; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

Tarla denemesine ait 2013 yılı çay yaprağı makro ve mikro element miktarları Çizelge 4.48 ve 4.49'da verilmiştir. Uygulamalarına bağlı olarak değişmekle birlikte makro ve mikro element içeriği bakteri aşılama ve gübre uygulamalarıyla değişmiştir. Bu denemede kullanılan bakteri formülasyonlarının tamamı, biyolojik gübre ve NPK gübrelemesi kontrole kıyasla yaprak N, P ve K içeriğini artırmış ve artış oranları çok önemli ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. Yaprak N, P ve K içeriği bakımından en yüksek etkinliği BF25 formülasyonu göstermiş olup bunu sırasıyla BF23 ve BF22 bakteri formülasyonları izlemiştir. BF25 formülasyonu aşılması, NPK ve biyolojik gübre uygulamalarına kıyasla yaprak N, P, K ve Na içeriğini artırmıştır ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. Çay yapraklarında Ca ve Na içeriği bakımından BF24, Mg içeriği bakımından biyolojik gübre, S içeriği bakımından BF22, BF25 ve NPK uygulamaları ile ortaya çıkan artış kontrole kıyasla önemli bulunmamış, diğer uygulamalar ise söz konusu element konsantrasyonlarını çok önemli düzeyde artırmıştır. Çay yapraklarında ölçülen Al miktarı kontrole kıyasla tüm uygulamalarla artmış ve artış oranları istatistiki bakımdan

önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Çay yapraklarında ölçülen Ca, Mg ve S bakımından en etkin sonuca BF23 bakteri formülasyonu aşılması ile ulaşılmıştır (Çizelge 4.48).

**Çizelge 4.48.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay fidanlarında yaprak makro element miktarına etkisi (Set V, 2013 yılı)

Uygulamalar*	(%)	makro element g/ kg kuru madde					mg/kg kuru madde	
	N	P	K	Ca	Mg	S	Al	Na
Kontrol	2,13 d	2,12 d	14,1 d	9,00 e	1,76 d	3,09 c	0,72 c	18 d
NPK	2,92 bc	3,43 b	23,1 bc	12,26 cd	2,50 c	3,49 c	2,25 a	50 bc
Biyolojik gübre	2,60 c	2,83 c	21,4 c	14,52 c	2,32 cd	4,11 ab	1,14 bc	73 b
BF22	2,95 a-c	3,55 ab	25,9 b	17,12 b	2,76 bc	3,48 c	1,43 b	64 bc
BF23	3,03 ab	3,57 ab	31,8 a	19,85 a	3,36 a	4,43 a	1,42 b	58 bc
BF24	2,63 bc	3,41 b	20,6 c	11,22 de	2,41 c	4,24 ab	2,35 a	38 cd
BF25	3,12 a	3,82 a	30,1 a	12,39 cd	3,21 ab	3,72 bc	2,00 a	106 a
Ortalama	2,77	3,25	23,8	13,77	2,62	3,79	1,61	58

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,01$ ) değildir

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

En yüksek Fe (371 mg/kg) ve Mn (2516 mg/kg) içeriği biyolojik gübre uygulanmış çay yapraklarında ölçülmüş, bunu BF23 ve BF25 formülasyonları izlemiştir (Çizelge 4.49). Deneme setinde test edilen bütün uygulamalar, kontrole kıyasla yaprak Fe ve Cu içeriğini artırmış ve artış oranları önemli ( $p \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Yaprak Mn içeriği bakımından BF24, Zn içeriği bakımından ise BF24 biyolojik gübre dışındaki uygulamalar kontrole kıyasla Mn ve Zn içeriğini önemli miktarda artırmıştır. Çay yapraklarında Fe içeriği bakımından biyolojik gübre ve BF23, Cu içeriği bakımından BF23 ve BF24, Mn içeriği bakımından biyolojik gübre ve BF23, Zn içeriği bakımından ise BF25 ve BF23 bakteri formülasyonları en etkin uygulamalar olmuştur. Çay yapraklarında B içeriği başta BF23 olmak üzere NPK ve biyolojik gübre uygulamalarıyla kontrole kıyasla önemli ( $p \leq 0,05$ ) oranda yüksek bulunurken diğer uygulamalar kontrolle aynı gruba girmiştir. Yaprak Mo içeriği sadece BF24 ve BF25 formülasyonlarında önemli oranda artmış, diğer uygulamalar kontrolle aynı gruba girmiştir. Yaprak Ni içeriği biyolojik gübre, NPK ve BF23, Pb içeriği NPK, Cd içeriği ise kontrol uygulamasında en yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.49). Araştırmada test edilen özellikle BF25 ve BF23 bakteri formülasyonları genellikle yaprak makro ve

mikro element içeriğini çok yüksek oranlarda artırmıştır. Bu formülasyonların çay beslenmesinde önemli olduğu söylenebilir.

**Çizelge 4.49.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunda yaprak mikro element miktarına etkisi (Set V, 2013 yılı)

Uygulamalar*	Mikro element mg/kg kuru madde								
	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Mo	Ni	Pb	Cd
Kontrol	107 d	17,9 d	1358 d	32,15 d	22,1 c	0,03 c	133 c	0,72 ab	2,31 a
NPK	189 bc	24,9 c	1959 b	46,58 bc	43,1 ab	0,39 a-c	252 ab	0,92 a	0,33 bc
Biyolojik gübre	371 a	32,4 ab	2516 a	40,78 cd	46,2 ab	0,10 a-c	337 a	0,55 b	0,21 bc
BF22	201 b	26,3 bc	1713 bc	53,60 ab	32,9 bc	0,06 bc	222 bc	0,57 b	0,31 bc
BF23	348 a	37,7 a	2489 a	55,65 a	60,0 a	0,17 a-c	330 a	0,43 b	1,12 b
BF24	159 c	36,1 a	1612 cd	37,54 d	33,1 bc	0,57 a	217 bc	0,71ab	0,10 bc
BF25	223 b	31,7 ab	1825 bc	57,41 a	32,3 bc	0,55 ab	196 bc	0,08 c	0,02 c
Ortalama	228	29,6	1924	46,24	38,5	0,26	241	0,57	0,63

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,05$ ) değildir;

**Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

Tarla denemesinin 2014 yılında bakteri aşılama ve gübre uygulamalarının üç sürgün döneminde gelişme ve verim parametrelerine etkisi Çizelge 4.50’de, klorofil, antosiyanin, ikinci ve üçüncü yaprak alanı, GR, GST, G6PD ve 6PGD enzim aktivitesi üzerine etkisi ise Çizelge 4.51’de verilmiştir.

Tarla koşullarında yürütülen bu denemede 2014 yılı sonuçlarına göre, NPK gübrelemesi, biyolojik gübre, ikili ve üçlü bakteri formülasyonu aşılama her 3 sürgün döneminde hasat edilen yaş ve kuru yaprak verimini önemli düzeyde artırmıştır. Her üç sürgün döneminde de yaş ve kuru yaprak verimi bakımından en etkin uygulama BF25 aşılması olmuştur. Birinci sürgün döneminde en yüksek yaş (330,1 g/ocak) ve kuru (157,1 g/ocak) yaprak veriminin belirlendiği BF25 uygulamasını BF23, NPK ve BF22 aşılama izlemiştir. İkinci sürgün döneminde hasat edilen en yüksek kuru çay yaprak veriminin (153,9 g/ocak) elde edildiği BF25 aşılama, BF23, BF22 ve NPK uygulamaları takip etmiştir. Tarla koşullarında yürütülen denemenin 2014 yılı ortalamalarına göre, NPK, biyolojik gübre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılama ile birinci sürgün döneminde çay fidanlarının yaş yaprak verimi sırasıyla %30,3, 24,6, 28,5, 31,3, 22,8 ve 34,2; kuru yaprak verimi %31,5, 21,1,

28,5, 30,7, 21,9 ve 32,6 oranında artmıştır. İkinci sürgün döneminde ise mineral NPK, biyolojik gübre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri aşılımları yaş yaprak veriminde sırasıyla %26,4, 24,3, 27,3, 27,7, 24,4 ve 32,1, kuru yaprak veriminde ise %28,7, 26,3, 30,0, 29,8, 26,4 ve 33,7 artış meydana getirmiştir (Çizelge 4.50).

**Çizelge 4.50.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının tarla koşullarında Pazar-20 çay klonunda yaş ve kuru yaprak verimi üzerine etkisi (Set V, 2014 yılı)

Uygulamalar*	Birinci sürgün (10 Mayıs)		İkinci sürgün (20 Temmuz)		Üçüncü sürgün (2 kim)		Toplam	
	YYV	KYV	YYV	KYV	YYV	KYV	YYV	KYV
Kontrol	245,9 e	118,5 c	241,7 c	115,1 c	133,4 c	62,3 c	621,0 d	295,9 c
NPK	320,5 ab	155,8 a	305,6 b	148,1 ab	170,2 b	82,4 b	796,3 bc	386,3 ab
Biyolojik gübre	306,3 cd	143,5 b	300,4 b	145,4 b	165,8 b	80,7 b	772,5 bc	369,6 b
BF22	316,0 bc	152,3 ab	307,7 ab	149,6 ab	168,2 b	81,6 b	791,9 bc	383,5 ab
BF23	322,8 ab	154,9 a	308,6 ab	149,4 ab	172,0 b	82,9 b	803,4 ab	387,2 ab
BF24	302,0 d	144,4 b	300,7 b	145,5 b	166,9 b	80,7 b	769,7 c	370,6 b
BF25	330,1 a	157,1 a	319,3 a	153,9 a	181,7 a	87,4 a	831,1 a	398,5 a
Ortalama	306,2	146,7	297,7	143,9	165,5	79,7	769,4	370,2

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,05$ ) değildir;

**YYV:** Yaş yaprak verimi (g/fidan); **KYV:** Kuru yaprak verimi (g/fidan); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

Üçüncü sürgün döneminde yaş ve kuru yaprak verimi bakımından BF25 birinci, kontrol üçüncü ve diğer uygulamalar ise ikinci grubu oluşturmuştur. Benzer olarak üçüncü sürgün döneminde en yüksek yaş (181,7 g/ocak) ve kuru (87,4 g/ocak) yaprak verimi üçlü BF25 bakteri kombinasyonu ile aşılanmış çay bitkilerinde ölçülmüştür. Araştırmanın ikinci yılı üçüncü sürgün dönemi hasat ortalamalarına göre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılımlarıyla üçüncü sürgün döneminde çay fidanlarının yaş yaprak verimi sırasıyla %26,1, 28,9, 25,1 ve 36,2; kuru yaprak verimi ise %31,0, 33,1, 29,5 ve 40,3 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise yaş yaprak verimi %27,6 ve 24,3 ve kuru yaprak verimi %32,3 ve 29,5 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.50).

Üç sürgün dönemi toplamına göre en yüksek yaş (831,1 g/ocak) ve kuru yaprak verimi (398,5 g/ocak) BF25 bakteri formülasyonu ile aşılanmış çaylarda ölçülmüştür. Araştırmanın ikinci yılı üç sürgün dönemi hasat toplamına göre, BF22, BF23, BF24 ve



BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay fidanlarının toplam yaş yaprak verimi sırasıyla %27,5, 29,4, 23,9 ve 33,8; toplam kuru yaprak verimi ise %29,6, 30,9, 25,2 ve 34,7 oranında artmıştır. Mineral ve biyolojik gübre uygulamalarında ise toplam yaş yaprak verimi %28,2 ve 24,4 ve toplam kuru yaprak verimi %30,6 ve 24,9 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.50).

Üçüncü sürgün döneminde ölçülen klorofil ve antosiyanin içeriği bütün uygulamalarla kontrole kıyasla artmış, en yüksek artış BF25 formülasyonunda ortaya çıkmış ve artış oranları istatistiksel olarak önemli ( $p \leq 0.05$ ) bulunmuştur. Tarla denemesine ait 2014 yılı üçüncü sürgün döneminde NPK, biyolojik gübre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 bakteri formülasyonu aşılamalarıyla çay ocaklarında ölçülen klorofil (SPAD) içeriği sırasıyla %20,8, 18,9, 17,4, 20,3, 16,8 ve 21,9; antosiyanin (ACI) içeriği ise %20,8, 18,9, 19,8, 22,9, 19,9 ve 23,3 oranında artmıştır (Çizelge 4.51).

Araştırmanın ikinci yılında üçüncü sürgün döneminde ölçülen ikinci ve üçüncü yaprak alanı değerleri kontrole kıyasla bütün uygulamalarda artmış ( $p \leq 0.05$ ), en yüksek artış BF25 formülasyonunda ortaya çıkmıştır. Kontrole kıyasla önemli miktarda artmış olmakla birlikte, araştırmanın ilk yılına paralel olarak, ikinci yılda da ikinci ve üçüncü yaprak alanı bakımından en düşük artış BF24 formülü ile aşılama çay ocaklarında ölçülmüştür. İkinci yılın üçüncü sürgün döneminde mineral NPK, biyolojik gübre, BF22, BF23, BF24 ve BF25 formülasyonu aşılamalarıyla deneme parsellerindeki çay bitkilerinin ikinci yaprak alanları sırasıyla %28,0, 21,1, 28,6, 28,0, 20,5 ve 29,8 oranlarında artarken; üçüncü yaprak alanında %27,2, 22,8, 30,7, 28,8, 23,1 ve 30,4 artış görülmüş, ikinci ve üçüncü yaprak alanları ortalaması ise %27,5, 22,1, 29,8, 28,5, 22,1 ve 30,2 oranında artmıştır (Çizelge 4.51).

**Çizelge 4.51.** Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının Pazar-20 çay klonunda yaprak alanı, klorofil içeriği, yaprak antioksidan (GR ve GST) ve oksidatif pentoz fosfat yolu (G6PD ve 6PGD) enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2014 yılı)

Uygulamalar*	KM	ACI	Enzim aktivitesi EU/mg protein				IYA	ÜYA
			GR	GST	G6PD	6PGD		
Kontrol	73,00 d	18,03 b	2,19 b	1,86 c	1,16 c	0,96 b	16,1 d	24,35 c
NPK	88,18 ab	21,78 a	3,53 a	2,73 ab	2,16 a	1,60 a	20,6 ab	30,97 ab
Biyolojik gübre	86,80 a-c	21,44 a	2,94 ab	2,66 ab	1,64 a-c	1,75 a	19,5 bc	29,90 b
BF22	85,72 bc	21,60 a	3,20 a	2,35 bc	1,50 bc	1,53 a	20,7 ab	31,82 a
BF23	87,79 a-c	22,16 a	3,83 a	2,83 ab	2,26 a	1,69 a	20,6 ab	31,36 ab
BF24	85,28 c	21,61 a	3,08 a	2,32 bc	1,20 c	1,01 b	19,4 c	29,97 b
BF25	89,01 a	22,23 a	3,64 a	3,19 a	2,04 ab	1,99 a	20,9 a	31,76 a
Ortalama	85,11	21,26	3,20	2,56	1,71	1,50	19,68	30,02

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,05$ ) değildir;

**KM:** Klorofil (SPAD) miktarı; **ACI:** Antosiyanin (ACI) miktarı; **GR:** Glutasyon redüktaz; **GST:** Glutasyon S-transferaz; **G6PD:** Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz; **6PGD:** 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; **IYA:** İkinci yaprak alanı ( $\text{cm}^2$ ); **ÜYA:** Üçüncü yaprak alanı ( $\text{cm}^2$ ); **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

Tarla koşullarında yürütülen deneme setinin 2014 yılı gübre ve farklı bakteri aşılımlarının yaprak enzim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.52’de verilmiştir. Bu deneme setinde ilk yıl sonuçlarına benzer olarak, biyolojik gübre dışındaki tüm uygulamalar, ikinci yılda ölçülen birim yaprak ağırlığı ve birim protein başına PPO ve POD aktivitesini kontrole kıyasla önemli ( $p \leq 0,05$ ) düzeyde artırmıştır. Birim gram yaprak başına en yüksek PPO aktivitesi NPK, en yüksek POD aktivitesi ise BF24 formülasyonu ile aşıl原因an çay yapraklarında ölçülmüştür. Birim protein başına en yüksek PPO enzim aktivitesi BF23, BF22 ve NPK, en yüksek POD aktivitesi ise BF25, BF24 ve BF22 aşılımlarıyla ortaya çıkmıştır. Birim gram yaprak başına üreaz aktivitesi BF23, BF24 ve biyolojik gübre uygulamalarıyla kontrole kıyasla önemli miktarda artmış ancak birim protein başına üreaz aktivitesi bakımından ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Birim yaprak başına alkol dehidrogenaz aktivitesi BF22 ve BF23, 5-dehidroshikimat redüktaz aktivitesi ise BF23, BF24 ve BF22 formülasyonları ile aşıl原因an çay yapraklarında artmış ve artış oranları önemli bulunmuştur. Protein başına ADH enzim aktivitesi bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar önemli bulunmazken, DHSK enzim aktivitesi ise biyolojik gübre ve BF25 dışındaki uygulamalarla kontrole kıyasla

önemli artış göstermiştir (Çizelge 4.52). İkinci yıl çay yapraklarında ölçülen enzimler bakımından BF23, BF24 ve BF22 bakteri formülasyonları öne çıkmıştır.

**Çizelge 4.52.** Mineral gübre ve farklı biyolojik gübre kombinasyonlarının Pazar-20 çay çay klonunda yaprak polifenol oksidaz, peroksidaz, üreaz, alkol dehidrogenaz ve 5-Dehidroshikimat reduktaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (Set V, 2014 yılı)

Uygulamalar*	EU/g yaprak					EU/mg protein				
	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK	PPO	POD	Üreaz	ADH	DHSK
Kontrol	7,46 c	13,88 c	1,15 b	1,41 bc	2,57 c	0,08 b	0,138 b	0,0126 a	0,048 a	0,095 c
NPK	9,96 a	22,93 b	1,10 b	1,36 c	2,65 bc	0,14 ab	0,178 a	0,0139 a	0,038 a	0,122 ab
Biyolojik gübre	8,34 bc	15,91 c	1,59 a	1,40 bc	1,79 d	0,08 b	0,138 b	0,0179 a	0,046 a	0,085 c
BF22	8,96 ab	23,28 b	1,17 b	1,85 a	3,21 ab	0,15 a	0,190 a	0,0139 a	0,055 a	0,131 a
BF23	9,62 ab	24,12 b	1,67 a	1,79 ab	3,46 a	0,16 a	0,180 a	0,0212 a	0,055 a	0,130 a
BF24	9,36 ab	28,36 a	1,64 a	1,50 a-c	3,25 ab	0,13 ab	0,193 a	0,0192 a	0,054 a	0,139 a
BF25	9,61 ab	25,48 ab	1,10 b	1,72 a-c	2,83 bc	0,10 ab	0,195 a	0,0151 a	0,061 a	0,103 bc
Ortalama	9,05	21,99	1,35	1,57	2,82	0,12	0,173	0,0163	0,051	0,115

\*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ( $p < 0,05$ ) değildir

**PPO:** polifenol oksidaz; **POD:** peroksidaz redüktaz; **ADH:** alkol dehidrogenaz; **DHSK:** 5-dehidroshikimat; **Kontrol:** Bakteri ve gübre uygulanmamış; **NPK:** (80 kg/da kompoze %25:5:10)

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada 4 farklı bölgeden alınan 167 çay rizosfer toprağı örneklerinden 34 cins ve 72 türe ait toplam 263 bakteri tanılanmıştır. Çay rizosfer toprak örneklerinden bakteri izolasyon oranı yaklaşık %67,3 olmuştur. İzolatların FAME profil analizi sonuçlarına göre çay rizosfer topraklarında gram pozitif bakteri oranı daha yüksek bulunmuştur. Gram pozitif populasyon içinde *Bacillus* cinsi dominant olurken bunun sırasıyla *Paenibacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Kocuria* ve *Brevibacillus* cinsleri izlemiştir. Gram negatif populasyon içinde *Pseudomonas* cinsi dominant olup bunu sırasıyla *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Burkholderia* ve *Alcaligenes* cinsleri izlemiştir. Bu araştırmada çay rizosferinde dominant olarak bulunan ve izole edilen bakteriler öncedeki araştırmalarda farklı bitki rizosfer topraklarından izole edilebilen hakim taksonlardır (Germida and Siciliano 2001; Park *et al.* 2005; Çakmakçı vd. 2006 b; Caesar-TonThat *et al.* 2007; Ruzsnyák *et al.* 2008; Trivedi *et al.* 2011; Bafana 2013; Marasco *et al.* 2013).

Bu araştırma sonuçlarına benzer olarak Sood *et al.* (2008) ve Çakmakçı *et al.* (2010 a) asidik çay topraklarında *Bacillus* cinsinin ve onu takiben *Pseudomonas* cinsine ait türlerin hakim olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu araştırma sonuçları önemlidir. Çünkü *Pseudomonas* ve *Bacillus* türleri en yaygın bitki gelişmesini teşvik edici bakteriler olup azot ve fosfor alımıyla birlikte toplam biomas ve bitki verimini artırdığı bilinmektedir (Bafana 2013). Ayrıca çay rizosferinde *Bacillus* cinsinin dominant olduğu belirlenmiştir. Bu araştırma sonuçlarına benzer olarak Pandey *et al.* (2013) *Bacillus* cinsinin çay rizosferine mükemmel adapte olan birçok türünün bulunduğunu bildirilmiştir. Ayrıca *Bacillus* cinsi üzerinde en çok çalışılan önemli türleri içermektedir (Garbeva *et al.* 2003; Beneduzi *et al.* 2008; Han *et al.* 2011) ve endospor oluşturucu *Bacillus* türlerinin olumsuz koşulara tolerans kapasitelerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu bakteri türlerinin olumsuz çevre koşularında etkinlikleri spor oluşturabilme özelliklerine bağlı olmaktadır. Çay rizosferinde gram pozitif bakterilerin fazla bulunması önceki bazı araştırmalarla uyumludur (Garbeva *et al.* 2003; Ruzsnyák *et al.* 2008; Rau *et al.* 2009). Bu araştırma sonuçlarına benzer olarak Xue *et al.* (2008) çay bahçesi topraklarında

gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere oranla daha fazla bulunduğunu rapor etmiştir. Bunun aksine olarak diğer bazı araştırmalarda Gram negatif türlerin gram pozitif türlere oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Donate-Correa *et al.* 2004; Poonguzhali *et al.* 2006; Chowdhury *et al.* 2007; Karagöz *et al.* 2012).

Araştırma alanında ilk kez olarak kuzey İran ve Hazar Denizinin Güney kıyılarında kültürü yapılan çay (*C. sinensis*) rizosfer topraklarından kültüre alınabilen bakteri çeşitliliğini ortaya koymuştur. Bitki kökleri ile ilişkili olan rizobakteri popülasyonu bölge, toprak pH durumu ve tipi ile birlikte çevresel faktörlere bağlı olarak değişmiştir. Araştırmada test edilen toprak örneklerinin pH değerleri 3,6 ile 6,5 arasında (ortalama 5,4) değişmiştir. Bu araştırmada *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Paenibacillus* türlerinin sayı ve çeşitliliğinin toprak pH değeri ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Nitekim Fierer and Jackson (2006) asidik topraklarda bakteri tür ve zenginliğinin pH değerine bağlı olduğunu ve asidik topraklarda bakteri sayı ve çeşitliliğinin daha düşük olduğunu vurgulamıştır. Diğer taraftan düşük pH düzeylerinde izole edilen bakterilerin yüksek toprak asitliğine dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Pal 1998). Bu bakımdan bu araştırmada izole edilen bakterilerin geniş ekolojik toleransa sahip olduğu ve asit topraklarda etkin olabileceği söylenebilir. Bu araştırma sonuçları toprak pH değerinin ve habitatın bitki rizosferinde dominant olarak bulunan azot bağlayıcı ve fosfat çözücü bakteri türlerinin sayı çeşitliliği üzerinde güçlü etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Önceki bazı araştırmalarda farklı bitki rizosferinden izole edilen PGPR türleri ile farklı asidik topraklara dayanıklı biyolojik gübre formülasyonlarında kullanılabilecek bakteri türleri geliştirilmiş (Pal 1998; Thakuria *et al.* 2004; Son *et al.* 2006; Perez *et al.* 2007) ve toprak pH değerinin çay rizosferininin karakteristik önemli bir özelliği olduğu ortaya konulmuştur (Çakmakçı *et al.* 2010 a; Pandey *et al.* 2013). Ancak asidik çay bölgeleri ve yüksek yağışlı ılıman çay kültür alanlarından bu kapsamda PGPR izolasyonu önceki araştırmalarda yapılmamıştır.

Toprak-bitki kökleri ara yüzeyi olan ve köklerin temas ettiği bölgeyi ifade eden rizosfer birçok bakımdan diğer toprak kısımlarından farklılık göstermektedir. Rizosfer, kökler tarafından etkilenmeyen bölgelere kıyasla, mikrobiyal aktivite, bakteri sayı ve çeşitliliği

ve kökler tarafından çözülen ve salgılanan besin maddeleri bakımından zengindir. Bitki gelişiminin teşvikinde rizosfer önemli rol oynamaktadır. Rizosferde kolonize olan bakteriler kök morfolojisi ve fizyolojisini etkileyen P, K ve N kazancını etkilemektedir. Bitki gelişimini teşvik edici bakteri etkinliği bitki türleri, uygulanan işlemler ve toprağın alınabilir N düzeyine bağlı olarak değiştiğinden, bakteri izolasyonu çoğunlukla kimyasalların etkilemediği yabani veya kültür bitkilerinin rizosfer topraklarında yürütülmektedir (Çakmakçı vd 2008 a, 2009 b).

Bu araştırmada Hazar Denizinin Güneyinde biyocografik çay yetiştirme alanlarının asidik yüksek yağışlı ılıman ikliminde serbest azot bağlayıcı ve fosfat çözücü bakteri popülasyonu ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, çay rizosfer topraklarında en yaygın olarak bulunan azot bağlayıcı ve fosfat çözücü bakteri türleri *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Stenotrophomonas*, *Arthrobacter*, *Serratia* ve *Burkholderia* cinslerine ait türlerdir. Bu cinslere ait bakteri genellikle iyi azot fikseri, fosfor çözücü ve biyolojik gübre formülasyonlarına giren türler olduğu kabul edilmektedir (Chen *et al.* 2006; Trivedi *et al.* 2011; Bafana 2013). Son yıllarda yapılan araştırmalar *Pseudomonas* (Thakuria *et al.* 2004; Hariprasad and Niranjana, 2009), *Bacillus* ve *Paenibacillus* (Çakmakçı *et al.* 2006 a, 2007 a, b, 2010 a; Beneduzi *et al.* 2008; Idris *et al.* 2009), *Burkholderia* ve *Pantoea* (Son *et al.* 2006; Perez *et al.* 2007), *Arthrobacter* ve *Bacillus* (Chen *et al.* 2006) cinslerine ait türlerin iyi fosfat çözdüğü ve bitki besin alımını artırdığını ortaya koymuştur.

Asidik çay rizosferinde en yaygın ve dominant olan azot fikseri ve fosfat çözücü türün *B. pumilus* olduğu ve bunu sırasıyla *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. laevolacticus*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *S. maltophilia* ve *B. megaterium* türlerinin izlediği belirlenmiştir. İzole edilen bakteriler arasında azot bağlayıcı ve fosfat çözücü bakteri oranı sırasıyla %81,4 ve 60,5 olmuştur. Bu oran önceki bazı araştırmalardan düşük (Hariprasad and Niranjana 2009; Trivedi *et al.* 2011; Marasco *et al.* 2013) ve diğer bazılarında ise yüksek bulunmuştur (Beneduzi *et al.* 2008; Rau *et al.* 2009; Ambrosini *et al.* 2012; Farina *et al.* 2012).

Bu araştırma kapsamında izole edilerek tanılanan 263 bakteri streini içinden azot fiksasyon ve fosfat çözme özeliği yüksek olan ayrıca biyolojik gübre formulasyonlarında kullanılabilircek 4 gram pozitif ve 4 gram negatif olmak üzere 8 bakteri türünden 102 strainin karbon kullanım profili çıkarılabilmektedir. Bu türler *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *S. maltophilia* ve *B. cepacia*, olup önceki araştırmalarda iyi fosfat çözücü, azot fikseri ve bitki gelişmesini teşvik edici oldukları rapor edilmiştir (Hoberg *et al.* 2005; Chen *et al.* 2006; Poonguzhali *et al.* 2006; Çakmakçı *et al.* 2007 a, b; Sood *et al.* 2008; Hariprasad and Niranjana, 2009; Idris *et al.* 2009; Trivedi *et al.* 2011; Karagöz *et al.* 2012; Pandey *et al.* 2013). Karbon kullanım oranı ve sayısı yüksek olan azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri türlerinin biyolojik gübre formulasyonlarında kullanımının daha uygun olacağı ve bitki gelişmesini artırabileceği bilinmektedir. Bu araştırmada GN2 pleytlerde test edilen gram negatif izolatların tamamı D-fruktoz,  $\alpha$ -D-glikoz, D-mannoz, sitrik asit,  $\alpha$ -ketoglutarik asit, L-laktik asit, propionik asit, süksinik asit, L-glutamik asit ve L-serin maddelerini oksidize edebilmiş ve kullanabilmiştir. Diğer taraftan gram negatif strainlerin tamamı arbutin, D-selobiyoz, gentiobioz,  $\alpha$ -D-glikoz, D-manitol, D-mannoz, D-psikoz, sakaroz, D-trehaloz, piruvik asit, L-asparagin ve L-glutamik asit karbon kaynaklarını kullanabilmiştir. *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* ve *B. megaterium*, türlerinin karbon kullanım profilleri arasında büyük farklıklar olup, bu türler arasında en fazla karbon kaynağını *B. licheniformis* strainleri kullanabilmiştir.

Gram negatif mikropleytlere bulunan karbon kaynaklarının yaklaşık dörtte birini (21) gram negatif *P. fluorescens*, *P. putida* ve *B. cepacia* türleri kullanabilirken, bu maddelerin hiç birini *S. maltophilia* strainleri tarafından kullanılmamıştır. Bu maddelerin içinde 5 amid-amin bileşiği (süksinamik asit, glucuronamide, fenilettil-amin, putresin ve 2-aminoetanol), 4 amino asit (hidroksi-L-prolin, L-piroglutamik asit, D-serin ve  $\gamma$ -aminobütirik asit), 7 karboksilik asit (D-galaktonik asit lakton, D-galakturonik, D-glukonik asit, D-glukozaminik, D-glukuronik, kinik ve D-sakkarik asit), 1 polimerik madde (glikojen), 2 karbonhidrat (L-arabinoz ve D-arabitol) ve 2 bileşik molekülü (urokanik asit ve gliserol) karbon bulunmaktadır.

GP2 ve GN2 mikromikropleytd e bulunan ortak karbon kaynaklarından sadece  $\alpha$ -D-glikoz, D-mannoz ve L-glütamik asit test edilen bütün gram negatif ve pozitif strainlerin tamamı tarafından kullanılmıştır. Ayrıca D-selobiyoz, gentiobioz, maltoz,  $\beta$ -metil-D-glukozit, turanoz, timidin ve 2,3-bütandiol *Bacillus* türlerini çoğunluğu tarafından kullanılabilirken gram-negatif *P. fluorescens* ve *P. putida* izolatlarının hiç biri tarafından kullanılmamıştır. GP2 ve GN2 pleytlerde bulunan ortak karbon kaynaklarından sadece 10 adedi (D-arabitol, L-fukoz,  $\alpha$ -D-laktoz, laktuloz, L-ramnoz, ksilitol, D-galakturonik asit,  $\alpha$ -hidroksibutirik asit,  $\alpha$ -D-glikoz-1 fosfat, ve D-glukoz-6 fosfat) gram pozitif izolatlar tarafından kullanılmazken, 7 adedi ( $\alpha$ -siklodekstrin, L-ramnoz, ksilitol,  $\gamma$ -hidroksibutirik asit, timidin, 2,3-bütandiol ve  $\alpha$ -D-glikoz-1 fosfat) ise hiçbir gram negatif strain tarafından oksidize edilerek kullanılmamıştır. GN2 mikro pleytlerde bulunan 95 karbon kaynağından karboksilik asit, amino asit ve karbonhidratlar gram negatif türler tarafından yüksek oranda kullanılırken, bu maddeleri karışık molekülü karbon kaynakları, amid- amin bileşikleri ve polimerik maddeler izlemiştir. Diğer taraftan karbonhidrat ve amino asit ve karışık molekülü karbon kaynakları gram pozitif bakteriler tarafından yaygın olarak kullanılırken, amid-amin bileşikleri çok az oranda kullanılabilmiştir.

Bu araştırmada çay rizosferinden izole edilen bakterilerin bitki geliştirme potansiyeli ile ilgili olan karbon kaynağı kullanımı, azot fiksetme ve mineral fosfor çözm e özellikleri ortaya konulmuştur. Fazla sayıda karbon kaynağı kullanabilen azot fikseri ve fosfat çözücü bakterilerin biyolojik gübre formülasyonlarında kullanılması durumunda etkin olabileceğı söylenebilir. Bu araştırmada özellikle önemli olan 8 PGPR türünün hangi karbon kaynaklarını ne miktarda kullanabildiğı ve gelişme ortamlarında hangi maddelere ihtiyaç duyabileceğı incelenmiştir. İzolatların geniş bir yelpazede karbon kaynağı kullanım özelliğı bu bakterilerin farklı çevre koşularına ve ortamlara uyum yeteneklerinin anlaşılması bakımından önemlidir. Mikroorganizmalardan kök çevresinde bulunan veya köklerce salgılanan bazı maddeleri temel karbon veya enerji kaynağı olarak kullanabilen türlerin rizosfer bölgesinde hızlı gelişmekte ve kök salgılarının yüksek oranda metabolize edilmesi bakterilerin köklere kolonize olabilmeleri ile ilişkilidir (Baudoin *et al.* 2003).



BİOLOG sonuçları, bakterilerin hızlı gelişme özelliklerinin belirlenmesi (Schutter and Dick 2001) ve bakteriyel suşlarının oransal katabolik aktiviteleri arasındaki farklılıkların mukayese edilmesinde (Poonguzhali *et al.* 2006) kullanılabilir. Çok sayıda ve yüksek oranda karbon kaynağı kullanabilme yeteneği bakteri türlerinin farklı bitki ve toprak tiplerine adaptasyonunda çok önemli rol oynamaktadır (Naik *et al.* 2008). Ayrıca bakteriler tarafından özellikle tercih edilen karbon kaynaklarının tohum kaplama formulasyonlarına yardımcı madde olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır (Chun *et al.* 2003).

Bu araştırma sonuçları açık olarak göstermiştir ki, bakteriler tarafından yaygın olarak kullanılabilen karbon kaynakları o kaynakları kullanan bakteri türlerinin rizosferde etkinliğine katkı yapabilir ve bu maddeler tohum inokulasyon çalışmalarında kullanılabilir. Ayrıca rizosferde azot bağlayıcı ve fosfat çözücü bakteriler tarafından belli bir ortamda bulunan ve seçilerek yoğun olarak kullanılan bazı karbon kaynakları o türe rizosferde diğer bakterilere karşı belli bir üstünlük veya karbon kaynakları içinde strainler arası seçicilik o suşa belli ortamda avantaj sağlayabilirler. Bir ortamda belli bir suşun yaygın olarak ve tercihen kullandığı karbon ve enerji kaynağı yaygın olabilir. Bu durumda o ortamda söz konusu suşun baskın olmasına neden olabilir. Bu araştırma sonuçları test edilen bakteriler arasında bazı strainlerin yüksek karbon kullanım kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum söz konusu suşların kök salgılarından yüksek oranda yararlanabileceğini göstermektedir.

Temel bileşen analizleri sonuçlarına göre GP2 mikropleytda en belirleyici karbon kaynaklarının PC1 için arbutine, D-fruktoz,  $\beta$ -metil-D-glukoz, uridin ve salisin; PC2 için maltotrioz ve turanoz karbonhidratları; PC3 için piruvik asit metil ester ve PC4 için N-asetil L-glutamik asit olduğu görülmüştür. GN2 mikroplatlerde, en fazla ayırıcı karbon kaynakları olarak birçok karbonhidrat (D-selobiyoz, N-asetil-D-galaktosamin, N-asetil-D-glukozamin, adonitol, L-fukoz, gentiobioz, m-inositol, laktuloz, maltoz, D-melibiyoz ve  $\alpha$ -D-laktoz), karboksilik asitler ( $\alpha$ -ketobutyric,  $\alpha$ -keto valerik, kinik, D-sakkarik ve sebasik asit), amino asitler (L-asparagin, L-glutamik asit, L-fenilalanin ve  $\gamma$ -aminobutyrik asit), polimer (dekstrin) ve birleşik molekülü (üridin) karbon kaynakları

PC1 ve PC2 için en belirleyici maddeler olarak öne çıkmıştır. Bu maddeler içinde en çok ayırt edici karbon kaynakları ise PC1 için laktüloz ve D-sellobiyoz ve PC2 içinse L-fukoz olmuştur.

Araştırmada izole edilen bakterilerden aynı türe ait farklı izolatların kullanmış oldukları karbon kaynakları farklılığı bakteriyel etkinliğin önceden tahmin edilmesinde kullanılabilir. Fazla karbon kaynağı kullanımına sahip suşların toprak ortamında rekabet şansının yüksek olabileceğinden, bu parametre aynı tür içinde benzer etkiyi gösterebilecek farklı strainlerden biyo gübre amacıyla etkin türlerin seçiminde yararlı olabilecektir. Karbon kaynağı kullanım etkinliği bakımından test edilen izolatlardan *B. pumilus* AR 61 ve AR 5, *B. subtilis* AR 25 ve AR 22 , *B. megaterium* AR 40 ve AR 32, *B. licheniformis* AR 167 ve AR 156, *P. fluorescens* AR 7 ve AR 149 *P. putida* AR 149 , AR 71 ve AR 149, *B. cepacia* AR 28, AR 165, *S. maltophilia* AR 171 ve AR 165 strainlerinin biyolojik gübre olarak kullanılması durumunda fazla karbon kaynağı kullanabilme bakımından bitki rizosferinde diğer suşlara kıyasla daha etkin olabileceği söylenebilir.

Bu araştırmada doğal asidik çay topraklarında bulunan NFB ve PSB potansiyeli belirlenmiştir. İzole edilen, tanılanan ve karakterize edilen NFB ve PSB türlerinin etkin biyolojik gübre adayları olarak bitkilerde azot ve fosfor beslenmesini artırabileceği söylenebilir. Özellikle doğal koşullardan izole edilen bakterileri bitkilere inokule edildiğinde başarı şansı yüksek adaptasyonu kolay olmaktadır (Chen *et al.* 2006; Çakmakçı *et al.* 2010 a). *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin bitki gelişmesi ve sağlığı üzerine birçok yönden olumlu etkileri olduğu bilinmekle birlikte, asidik koşullara toleranslı fosfat çözücü ve azot bağlayıcı bakteriler üzerinde çok az araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada birçok bitki gelişmesini teşvik edici özelliğe sahip asidik koşullara toleranslı bakteri izole edilmiştir. Bu izolatların başta izole edildiği bölge olmak üzere spesifik çay rizosfer topraklarında daha iyi sonuç verebileceği ve etkin olabileceği söylenebilir. Bu strainler bitkisel sistemler için yeni biyolojik gübre formülasyonlarının geliştirmesi ve uygulanmasında çok faydalı olabilir. Asidik topraklardan izole edilen bu bakteriler fosfat çözme, azot bağlama ve yüksek sayıda ve

miktarda karbon kaynağı kullanabilme özellikleri ile başta asidik olmak üzere farklı topraklarda yetiştirilecek bitkilerin gelişme ve üretimini artırabilir. Ayrıca bu araştırma sonuçları BIOLOG testlerinin sadece bakterilerin karbon kaynağı profilini çıkarmada değil, aynı zamanda bakterilerin tanı ve sınıflandırılmasında da etkin olarak kullanılabilmesini göstermiştir. Test edilen izolatlardan çok sayıda karbon kaynağını hızlı ve yüksek miktarda kullanabilme özelliğine sahip ve spesifik organik bileşikleri kullanılabilen NFB ve PSB türlerinin toprak ortamında avantajlı olacağı ve tarımsal biyolojik gübre olarak yüksek potansiyele sahip olduğu söylenebilir.

Bu araştırma kapsamında çay rizosfer topraklarından izole edilerek tanılanan 34 cins ve 72 türe ait toplam 263 bakteri izolatının azot fiksasyon ve fosfor çözme aktiviteleri belirlenmiş ve bu izolatların 102 adedinin karbon kaynağı profili çıkarılmıştır. Çalışmada 5 farklı deneme seti halinde Muradiye 10, Pazar-20 ve Hamzabey çay klonlarında önceki araştırmalarda test edilen bakterilerden oluşturulan 5 farklı formülasyon ve bu araştırma kapsamında tanılanan bakterilerden seçilen tekli, ikili, üçlü ve dörtlü bakteri kombinasyonları test edilmiştir. Araştırmada toplam 27 tekli, 8 adet ikili, 11 adet üçlü ve 1 adet dörtlü bakteri kombinasyonu, NPK gübrelemesi, biyolojik gübre ve kontrole kıyasla test edilmiştir. Bu bakteriler çayda besin elementi alımı, yaprak enzim aktivitesini artırma, çay yapraklarının makro ve mikro element içeriği, verim ve gelişme parametreleri bakımından değerlendirilmiştir. Araştırmada doğal koşullarda iki yıl süreyle yürütülen tarla ve saksı denemelerinde test edilen tekli veya kombinasyon halinde kullanılan bakterilerden etkin olanların çay klonlarında gövde çapı, bitki boyu, yaprak alanı, yaprak klorofil ve antosiyanin içeriği, yaprak makro ve mikro element içeriği, toplam dal+yaprak ağırlığı, yaş ve kuru yaprak verimi, yaprak antioksidan, oksidatif pentoz fosfat yolu ve çay işleme tat ve aroması oluşumunda önemli olabilecek enzim aktivitesini (glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz, peroksidaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, 6-fosfoglukonat dehidrogenaz, polifenol oksidaz, alkol dehidrogenaz, üreaz ve 5-Dehidroshikimat redüktaz) artırdığı belirlenmiştir.

Yürütülen denemelerden birinci denemede çay gelişme ve verim parametreleri, element alımı ve enzim aktivitesi bakımından F6 ve F7 fomülasyonları (F6: *B. subtilis* AR-110 + *B. atrophaeus* AR-59 + *B. subtilis* AR-102; F7: *B. subtilis* AR-17 + *R. erythropolis* AR-49 + *P. fluorescens* AR-9) genellikle en etkin uygulamalar olmuştur. Tekli uygulamaların ele alındığı ikinci ve üçüncü deneme setlerinde iki yıllık ortalamalara göre, özellikle yeni izole edilen azot fikseri ve fosfat çözücü *P. fluorescens* AR-7 ve AR-9; *B. subtilis* AR-12, AR-17, AR-21 ve AR-67; *B. pumilus* AR-14, AR-22, AR-64 ve AR-70; *B. licheniformis* AR-29, *A. globiformis* AR-31, *P. polymyxa* AR-33, *R. erythropolis* AR-49 ve *B. atrophaeus* AR-59 izolatları çay gelişme, verim parametreleri, makro ve mikro element alımı ve yaprak enzim aktivitesi bakımından en uygun sonucu veren uygulamalar olmuştur. Bu araştırmada kurulan ve bakteri formülasyonlarının test edildiği dördüncü deneme setinde çay gelişme ve verim parametreleri bakımından en uygun sonucu, dörtlü YAF9 (*B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17 + *A. xylosoxidans denitrificans* AR-47 + *P. fluorescens* AR-9), üçlü YAF8 (*P. fluorescens* AR-7 + *B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17) ve ikili YAF3 (*P. putida* 62/5 + *B. subtilis* AR-67) bakteri formülasyonları vermiştir. Tarla koşullarında yürütülen beşinci deneme setinde test edilen BF25 (*P. fluorescens* AR-9 + *B. pumilus* AR-22 + *B. subtilis* AR-17) ve BF23 (*B. subtilis* AR-12 + *B. atrophaeus* AR-59) bakteri formülasyonları genellikle çay gelişme ve verim parametreleri, enzim içeriği ve yaprak makro ve mikro element içeriğini çok yüksek oranlarda artırmıştır.

Asidik topraklarda PGPR aşılamaalarının beklenenden daha yüksek potansiyele sahip olduğu ve bazı PGPR izolatlarının asidik topraklarda mineral gübrelemeden daha yüksek oranda çay gelişme, yaprak verimi ve enzim aktivitesini teşvik ettiği görülmüştür. Özellikle tekli aşılamaalarda etkin olan bazı izolatların (*P. fluorescens* AR-7 ve AR-9, *B. pumilus* AR-22, *B. subtilis* AR-17, AR-64 ve AR-67, *R. erythropolis* AR-49, *B. atrophaeus* AR-59 gibi) karışık formülasyonlarda da etkin olmaları bu izolatların biyolojik gübre geliştirilmesinde uygun olacağını göstermesi bakımından önemli bulunmuştur. Bu araştırmada seçilen bakterilerin, çay yaprak verimini, besin elementi içeriği ve enzim aktivitesini artırabileceği, biyolojik gübre olarak organik yetiştiricilikte kullanılabileceği, stres koşullarında gelişmeyi olumlu etkileyebileceği belirlenmiştir.

Araştırmalarımızda izole edilen ve test edilen bakterilerin çayda bitki gelişmesini ve enzim aktivitesini teşvik edebilecek, bitki beslenmesine katkı yapacak, piyasa için kabul edilebilir sürdürülebilir üretim ve kalite düzeyini sağlayacak özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bu izolatlarla geliştirilecek biyolojik gübre formülasyonlar, çay yetiştiriciliğinde kimyasal gübre gereksinimi azaltılabilecek, sürdürülebilir, organik ve iyileştirilmiş çay yetiştiriciliğinde kullanılabilir ve organik çay sektörünün rekabet kapasitesinin güçlenmesine yardım edecektir. Bu çalışmada, organik yetiştiricilik başta olmak üzere, tarımda bitki besleme sorununun çözümüne önemli katkı sağlayabilecek yeterli sayıda bitki gelişimini teşvik edici yeni bakteri izolatu bulunmuş ve koruma altına alınmıştır.

Bu araştırma ile özellikle çay rizosfer topraklarında kültüre alınabilir dominant PGPR olabilecek bakteri popülasyonu açık olarak ortaya konulmuştur. Araştırmada azot fiksasyon ve fosfat çözme özellikleri ve bakterilerin önemli bir kısmının bu iki özelliği birlikte göstermesi dikkate alındığında, araştırmada kullanılan örnekleme yöntemlerinin, izole edilen bakterilerden ümitvar olabilecekleri seçme kriterlerinin ve kullanılan laboratuvar yöntemlerinin araştırma amaçlarına ve beklentilere fazlasıyla uygun olduğu söylenebilir. İzole edilen ve tanımlanan bakteri türlerinin hem azot hem de fosfor testlerinin pozitif çıkmasının yanında, bazı türlerin bitki rizosfer toprağında tek tür olarak ortama hakim olmaları rekabetik özelliklerinin çok yüksek olduğu ve bunun çok önemli bir avantaj oluşturacağı düşünülmektedir. Bu izolatlar içinde özellikle serbest azot fiksasyon kapasitesi ve fosfat çözüme yeteneği kuvvetli pozitif ve pozitif olanlar tarımsal açıdan değerlendirilebilecektir.

Bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin etkileri karmaşık bir süreç olup, bakteri tür ve sayısı, bitki-bakteri kombinasyonu, bitki-bakteri etkileşimleri, bitki türü, gelişme dönemi ve bitkisel parametreler, toprak tipi ve organik madde miktarı veya çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir. Bitki gelişmesini teşvik edici bakteriler çayda gelişmeyi teşvik etmiş, ancak bakteriyel etkinlik strainlere bağlı olarak değişmiştir. Bu araştırmalarla ortaya konulan sonuç ve özellikleri belirlenen bakteriler toplu değerlendirilirse, toprak-bitki, bitki-bakteri, toprak-bitki-bakteri interaksiyonları, çevre

koşulları ve ele alınacak bitki parametrelerine göre değişmekle birlikte izole edilen bakterilerden en az 16 izolatin biyolojik gübre formülasyonlarında kullanılacak bitki gelişimini teşvik edici bakteri özelliği gösterebileceği söylenebilir. Çayda PGPR kullanılarak yaprak antioksidan OPPP ve çay işleme teknolojisine ile tat ve aromada önemli olabilecek enzim aktivitesinin artırılabilmiş olması, gelecekte strese tolerans ve çay teknolojisi araştırmalarına önemli katkı sağlayacaktır. Çay yetiştirme alanlarında toprakların fazla asidik olmaları, uygulanan gübrelerin toprak asitliğini artırması ve yoğun azot kullanımının yol açtığı su kirliliği ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri dikkate alındığında; iyileştirilmiş tarım ve çevre korunması bakımından bu ve benzeri araştırmanın tarla koşullarında yürütülmesi çaylık bölgeler için önemlidir.

**KAYNAKLAR**

- Ahmad, R., Arshad, M., Khalid, A.I. and Zahir, Z.A., 2008. Effectiveness of organic /bio-fertilizer supplemented with chemical fertilizers for improving soil water retention, aggregate stability, growth and nutrients uptake of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Sustainable Agriculture*, 31 (4), 57-77.
- Akça, Y. and Erciqli, S., 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacteria inoculation on fruit quality in sweetcherry (*Prunus avium* L.) cv. 0900 Ziraat. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8 (2), 769-771.
- Ali, M.B., Thanh, N.T., Yu, K.W., Hahn, E.J., Paek, K.P. and Lee, H.L., 2005. Induction in the antioxidative systems and lipid peroxidation in suspension culture roots of *Panax ginseng* induced by oxygen in bioreactors. *Plant Science*, 169, 833-841.
- Ambrosini, A., Beneduzi, A., Stefanski, T., Pinheiro, F.G., Vargas, L.K. and Passaglia, L.M.P., 2012. Screening of plant growth promoting rhizobacteria isolated from sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant and Soil*, 356, 245-264.
- Amer, G.A., and Utkhede, R.S., 2000. Development of formulations of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, 809-816.
- Anderson, J.V. and Davis, D.G., 2004. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in *Euphorbia esula*. *Plant Physiology*, 120, 421-433.
- Anderson, S.O., Jacobsen, J.P., Bojesen, G. and Roepstorff, P., 1992. Phenoloxidase catalysed coupling of catechols: identification of novel coupling products. *Biochimica et Biophysica Acta*, 118, 134-138.
- Angayarkanni, J., Palaniswamy, M., Murugesan, S. and Swaminathan, K., 2002. Improvement of tea leaves fermentation with *Aspergillus* spp. Pectinase. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94 (4), 299-303.
- Angelini, R., Manes, F. and Federico, R., 1990. Spatial and functional correlation between daimine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon deetilation and wounding in chick-pea. *Planta*, (182), 89-96.
- Anonim, 1972. Çay Enstitüsü Başkanlığı 1972 Yılı Çalışmaları, Rize.
- Anonim, 1978. Çay Araştırma Enstitüsü 1977-78 Yılları Faaliyet Raporu, Rize.
- Anonim, 1982. Çay Araştırma Enstitüsü Klonal Seleksiyon Çalışmaları, Çay Araştırma Enstitüsü 1982 Yılı Faaliyet Raporu, Rize.
- Anonim, 1983. Çay Araştırma Enstitüsü Klonal Seleksiyon Çalışmaları, Çay Araştırma Enstitüsü 1983 Yılı Faaliyet Raporu, Rize.
- Anonim, 2009. [www.caykur.gov.tr](http://www.caykur.gov.tr)
- Anonymous, 2014. Mazandaran Province [http://en.wikipedia.org/wiki/Mazandaran Province](http://en.wikipedia.org/wiki/Mazandaran_Province).
- Arcak, S., Kütük, A.C., Haktanır, K. ve Çaycı, G., 1997. Çay atıklarının toprakta enzim aktivitesi ve nitrifikasyon üzerine etkileri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik fakulte. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3, 261-266.
- Arora, N.K., Khare, E. and Maheshwari, D.K., 2010. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Constraints in Bioformulation, Commercialization, and Future

- Strategies, Plant Growth and Health Promoting Bacteria, Ed: Maheshwari, D.K., 97-116.
- Arora, N.K., Khare, E., Naraian, R. and Maheshwari, D.K., 2008. Sawdust as a superior carrier for production of multipurpose bioinoculant using plant growth promoting rhizobial and pseudomonad strains and their impact on productivity of *Trifolium repense*. *Current Science*, 95, 90-94.
- Arvind, G., Sood, S., Rahi, P., Thakur, R., Chauhan, S. and Chadha, I.C.N., 2011. Diversity analysis of diazotrophic bacteria associated with the roots of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(6), 545-555.
- Aslantaş, R., Çakmakçı, R. and Sahin, F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia horticulturae*, 111, 371-377.
- Bafana, A., 2013. Diversity and metabolic potential of culturable root-associated bacteria from *Origanum vulgare* in sub-Himalayan region. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 63-74.
- Balentine, D.A. and Staff, U., 2007. Tea. Published Online: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. DOI: 10.1002/0471238961.
- Balentine, D.A., Wiseman, S.A. and Bouwens, L.C.M., 1997. The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37 (8), 693-704.
- Barbora, A.C., 1995. Sulphur management for tea in North Eastern India. *Sulphur in Agriculture*, 19, 9-15.
- Baruah, Am. and Mahanta, P.K., 2003. Fermentation characteristics of some assamica clones and process optimization of black tea manufacturing. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51 (22), 6578-6588.
- Bashan, Y., 1998. Inoculants of plant growth promoting rhizobacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 16, 729-770.
- Baudoin, E., Benizri, E. and Guckert, A., 2003. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 1183-1192.
- Bauhus, J. and Khanna, P.K., 1994. Carbon and nitrogen turnover in two acid forest soils of southeast Australia as affected by phosphorus addition and drying and rewetting. *Biology and Fertility of Soils*, 17, 212-218.
- Bendall, D.S., 1959. Biochemistry of tea fermentation. Annual Report. Tea Research Station. Nyasaland. 24-6.
- Beneduzi, A., Peres, D., Vargas, L.K., Zanettini, M.H.B. and Passaglia, L.M.P., 2008. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-fixing bacilli isolated from rice fields in South Brazil. *Applied Soil Ecology*, 39, 311-320.
- Bent, E., Breuil, C., Enebak, S. and Chanway, C.P., 2002. Surface colonization of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *Latifolia* [Dougl. Engelm.]) roots by *Pseudomonas fluorescens* and *Paenibacillus polymyxa* under gnotobiotic conditions. *Plant and Soil*, 241, 187-196.
- Benzie, I.F.F. and Szeto, Y.T., 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing antioxidant power assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 633-6.
- Berg, G. and Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the



- structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 68, 1-13.
- Bergstrom, D.W., Monreal, C.M. and King, D.J., 1998. Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 286-295.
- Beutler, E., 1984. Red Cell Metabolism. *Manual of Biochemical Methods*. Third Edition, Grune Stratton, Inc. Orlando, FL 32887, London.
- Boddey, R.M. and Döbereiner, J., 1995. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. *Fertilizer Research*, 42, 241-250.
- Bokuchavaa, M.A., Skobelevab, N.I. and Sandersonc, G.W., 2009. The biochemistry and technology of tea manufacture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 12 (4), 303-70.
- Bonnely, S., Davis, A.L., Lewis, J.R. and Astill, C., 2003. A model oxidation system to study oxidised phenolic compounds present in black tea. *Food Chemistry*, 83 (4), 485-492.
- Bora, T., Özaktan, H., Gore, E. and Aslan, E., 2004. Biological control of *Fusarium pseudomonas putida oxyporum* f. sp. Melonis by wettable powder formulations of the two strains of *Pseudomonas putida*. *Journal of Phytopathology*, 152, 471-475.
- Bose, M., Lambert, J.D., Ju, J., Reuhl, K.R., Shapses, S.A. and Yang, C.S., 2008. The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice. *The Journal of Nutrition*, 138 (9), 1677-1683.
- Bowsher, C.G., Hucklesby, D.P. and Emes, M.J., 1989. Nitrite reduction and carbohydrate metabolism in plastids purified from roots of *Pisum sativum* L. *Planta*, 177, 359-366.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-251.
- Bremner, J.M. and Mulvaney, C.S., 1982. Nitrogen Total. *Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition*. Agronomy. No: 9 Part 2. Edition, 597-622.
- Bremner, J.M., 1996. Nitrogen-total. pp,1085–1121 *In: Methods of soil analysis. Part III. Chemical Methods* (Bartels, J.M., and J.M. Bigham eds.) 2<sup>nd</sup> Ed. ASA SSSA Publisher *Agron.* No: 5 Madison WI, USA.
- Burdman, S., Jurkevitch, E. and Okon, Y., 2000. Recent advances in the use of plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in agriculture; *In Microbiol Interactions in Agriculture and Forestry, Vol II*, Ed:Subba- Rao, N., Dommergues Y.R., Chapter 10 Pub. Inc. UK, 29-250.
- Caesar-TonThat, T.C., Caesar, A.J., Gaskin, J.F., Sainju, U.M., Busscher, W.J., 2007. Taxonomic diversity of predominant culturable bacteria associated with microaggregates from two different agroecosystems and their ability to aggregate soil in vitro. *Applied Soil Ecology*, 36, 10-21.
- Cakmak, I. and Marschner, H., 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98, 1222-1227.
- Cakmak, I. and Römheld, V., 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular

- functions in plants. *Plant Soil*, 193, 71-83.
- Canbolat, M.Y., Bilen, S, Çakmakçı, R., Şahin, F and Aydın, A., 2006 a. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils*, 42, 350-357.
- Cao, P., Liu, C. and Li, D., 2011. Effects of different autotoxins on antioxidant enzymes and chemical compounds in tea (*Camellia sinensis* L.) Kuntze. *African Journal of Biotechnology*, 10 (38), 7480-7486.
- Carlberg, I. and Mannervik, B., 1985. Glutathione reductase assay. *Methods in Enzymol.* Academic Press, Orlando, FL. 113, 484-495.
- Carr, J.G., 1985. Tea, coffee and cocoa. In, *Microbiology of fermented food*, vol 2. Wood BJB (ed) Elsevier, New York, 133-154.
- Cellat, M., Kiliçalp, D.K., Bakanlığı, T., 2010. Elektromanyetik radyasyona maruz bırakılan kobayların böbrek dokusunda prooksidan-antioksidan düzeylerine yeşil çayın etkis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24 (1), 17-21.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. and Basnet, M., 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *bacillus megaterium*. *Journal of Basic Microbiology*, 46 (3), 186-195.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N. and Chakraborty, A.P., 2010. Influence of serratia marcescens TRS-1 on growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* against *Fomes lamaoensis*. *Journal of Plant Interactions*, 5 (5), 261-272.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B.N., Basnet, M. and Chakraborty, A.P., 2009. Evaluation of *Ochrobactrum anthropi* TRS-2 and its talc based formulation for enhancement of growth of tea plants and management of brown root rot disease. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 625-634.
- Chandini, S.K., Rao, L.J., Gowthaman, M.K., Haware, D.J. and Subramanian, R., 2011. Enzymatic treatment to improve the quality of black tea extracts. *Food Chemistry*, 127 (3), 1039-1045.
- Chantigny, M.H., Pre´vost, D., Angers, D.A., Ve´zina, L.P. and Chalifour, F.P., 1996. Microbial biomass and N transformations in two soils cropped with annual and perennial species. *Biology and Fertility of Soils*, 21, 239-244.
- Chanway, C.P., Shishido, M., Nairn, J., Jungwirth, S., Markham, J., Xiao G. and Holl, F.B., 2000. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Forest Ecology and Management*, 133, 81-88.
- Charpenter, C.A., Gadille, P. and Benoit, J.P., 1999. Rhizobacteria microcapsulation: properties microparticles obtained by spray drying, *Journal of Microencapsulation*, 16, 215-229.
- Chen K.M., Gong, H.J., Chen, G.C., Wang, S.M. and Zhang, C.L., 2004. Gradual drought under field conditions influences glutathione metabolism, redox balance and energy supply in spring wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 23, 20-28.
- Chen, Q., Ruan, Y., Wang, Y., Liu, W. and Zhu, H., 1985. Chemical evaluation of green tea taste, *Journal of Tea Science*, 5, 7-17.
- Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.-A. and Young, C.C., 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, 34, 33-41.
- Chenery, E.M., 1955. A preliminary study of aluminium and the tea bush. *Plant and*

- Soil, 6, 174-200.
- Chopra, D. and David, S., 2000. The Chopra Centre Herbal Handbook. Three Rivers Press, USA.
- Chowdhury, S.P., Schmid, M., Hartmann, A. and Tripathi, A.K., 2007. Identification of diazotrophs in the culturable bacterial community associated with roots of *Lasiurus indicus*, a perennial grass of Thar Desert, India. *Microbial Ecology*, 54, 82-90.
- Chun, S.-C., Schneider, R.W. and Chung, I.-M., 2003. Determination of carbon source utilization of *Bacillus* and *Pythium* species by Biolog® Microplate assay. *Journal of Microbiology*, 41, 252-258.
- Coelho, L.F., Melo, A.M.T., Chiorato, A.F. and Freitas, S.S., 2008. Diversity of Fluorescent Pseudomonads in different rhizospheres. *World Journal of Agriculture Sciences*, 4, 901-907.
- Conesa, A., Punt, P.J. and van Denthandel, C.A.M.J.J., 2002. Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. *Journal of Biotechnology*, 93, 143-158.
- Cooke, G.W., 1974. Change in the amounts of fertilizers used and the forms in which they are produced together with comments on the current problems in valuing fertilizers and using them efficiently. *CENTO Seminar on Fertilizer, Analytical methods, Sampling and Quality Control*, Pakistan.
- Copeland, E.L., Clifford, M.N. and Williams, C.M., 1998. Preparation of (-)-epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition. *Food Chemistry*, 61(1-2), 81-87.
- Copeland, L. and Turner, J.F., 1987. The regulation of glycolysis and the pentose phosphate pathway. In: Stumpf, P.K., Conn (Eds.), *The Biochemistry of plants*, vol. ii. Academic Press, New York, pp. 107-125.
- Costa, R., Götz, M., Mrotzek, N., Lottmann, J., Berg, G. and Smalla, K., 2006. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. *FEMS Microbiology Ecology*, 56, 236-249.
- Coyle, C.H., Philips, B.J., Morrisroe, S.N., Chancellor, M.B. and Yoshimura, N., 2008. Antioxidant effects of green tea and its polyphenols on bladder cells. *Life Sciences*, 83 (1-2), 12-18.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Algur, Ö.F., 1999. Sugar beet and barley yield in relation to *Bacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* inoculation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 162, 437-442.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Şahin, F., 2001. Effect of N<sub>2</sub>-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 164 (5), 527-531.
- Çakmakçı, R., 2002. Azot fiksasyonu ve fosfat çözücü bakteri aşılamaalarının şeker pancarı verim ve kalitesine etkisi. 2. Şeker Pancarı Üretimi Sempozyumu 10-11 Eylül 2002, Şeker Pancarı Üretiminde Verim ve Kalitenin Yükseltilmesi, 257-270, Ankara.
- Çakmakçı, R., Şahin F. ve Kantar, F., 2003. Tek başına ve birlikte azot fiksasyonu ve fosfat çözücü bakteri aşlamalarının şeker pancarı verim ve kalitesine etkisi. *Türkiye 5. Tarla Bitkileri Kongresi Bitki, Yetiştirme Teknikleri Cilt 2*. 13-17 Ekim, Diyarbakır, 217-222.
- Çakmakçı, R., 2005 a. Bitki gelişiminde fosfat çözücü bakterilerin önemi. *S. Ü. Ziraat*

- Fak. Derg. 35, 93-108.
- Çakmakçı, R., 2005 b. Bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin tarımda kullanımı. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 36, 97-107.
- Çakmakçı, R., Dönmez, F., Aydın, A. and Sahin, F., 2006 a. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 1482-1487.
- Çakmakçı, R., Şahin, F. ve Kantar, F., 2006 b. Serbest azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri izolasyonu ve uygulamaları. Türkiye III. Organik Tarım Sempozyumu, 1-4 Kasım 2006, Yalova, 266-276.
- Çakmakçı, R. ve Erdoğan, Ü.G., 2006. Bitki gelişme promotörü rizobakteri kullanımındaki son gelişmeler: Organik tarım perspektif ve uygulamaları. Türkiye III. Yalova. Organik Tarım Sempozyumu, 1(4), 521-532.
- Çakmakçı, R., Erat, M., Erdoğan, Ü. and Dönmez F., 2007 a. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170, 288-295.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F. and Erdogan Ü., 2007 b. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31, 189-199.
- Çakmakçı, R., Erat, M. ve Dönmez, M.F., 2007 c. Bitki gelişimini teşvik edici rizobakteri (PGPR) aşılamalarının bitki gelişimi ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 25-27 Haziran 2007 Erzurum, 437-441.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü.G. ve Oral, B., 2007 d. Bitki gelişimini teşvik edici rizobakteri aşılamalarının bitki kök sistemi üzerine etkisi. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 25-27 Haziran 2007, Erzurum. 628-631.
- Çakmakçı, R. ve Erdoğan, Ü.G., 2008 a. Organik Tarım. Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No 236. Atatürk Üniv Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, S, 355.
- Çakmakçı, R. ve Erdoğan, Ü.G., 2008 b. Ekolojik Tarımda Mikroorganizma Kullanımı: Organik Tarım (Çakmakçı, R. ve Erdoğan, Ü). Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Ders Yay. No: 236. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum. 188-209.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Kotan, R., Oral, B. ve Dönmez, F. 2008 a. Çoruh vadisinde yabani ahududu rizosfer topraklarında heterotrof azot fikseri bakteri çeşitliliği. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, 8-10 Ekim 2008, Konya, 706-717.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Kotan, R., Oral, B. ve Dönmez, F. 2008 a. Çoruh vadisinde yabani ahududu rizosfer topraklarında heterotrof azot fikseri bakteri çeşitliliği. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, Konya, 8 (10), 706-717.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Turan, M., Öztaş, T., Güllüce, M. ve Şahin, F., 2008b. Bitki gelişimini teşvik edici bakteri ve gübre uygulamalarının buğday ve arpa gelişme ve verimi üzerine etkisi. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, 8-10 Ekim 2008 Konya, 379-388.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Turan, M., Öztaş, T., Güllüce, M. ve Şahin, F., 2008 b. Bitki gelişimini teşvik edici bakteri ve gübre uygulamalarının buğday ve arpa gelişme ve verimi üzerine etkisi. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, Konya, 8 (10), 379-388.
- Çakmakçı, R., 2009. Stres koşullarında ACC deaminaze üretici bakteriler tarafından

- bitki gelişiminin teşvik edilmesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 40 (1), 109-125.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Erat, M., Haznedar, A. and Sekban, R., 2009 a. Plant growth promoting rhizobacteria for organic tea production improvement. *Advances in Bioinoculation/Biopesticide Production, Formulation and Application*, Abstract Book 7-9.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Erat, M., Haznedar, A. ve Sekban, R., 2009 b. Organik çay yetiştiriciliği için biyolojik gübre araştırmaları. 1. Gap Organik Tarım Kongresi. Şanlıurfa, 17 (20), 193-201.
- Çakmakçı, R., Erat, M., Oral, B., Erdoğan, Ü. and Şahin, F., 2009 c. Enzyme activities and growth promotion of spinach by indole-3-acetic acid-producing rhizobacteria. *Journal of Horticult Science and Biotechnology*, 84 (4), 375-380.
- Çakmakçı, R., Kotan, R., Erman, M., Çığ, F., Karagöz, K. ve Çelik, M., 2009 d . Van Havzasında bitki gelişimini teşvik edici bakteri izolasyonu için kullanılacak önemli bitki grupları. 1. Gap Organik Tarım Kongresi. Şanlıurfa, 17(20), 353-361.
- Çakmakçı, R., Kotan, R., Erman, M., Çığ, F., Karagöz, K. ve Çelik, M., 2009 e. Van gölü havzasında yabancı serin iklim tahılları ve yabancı pancar rizosfer topraklarında fosfat çözücü ve azot fikseri bakteri çeşitliliği. Türkiye 8. Tarla Bitkileri Kongresi, 19-22 Ekim 2009, hatay, cilt I, 382-386.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F., Ertürk, Y., Erat, M., Haznedar, A. and Sekban, R., 2010 a. Diversity and metabolic potential of culturable bacteria from the rhizosphere of Turkish tea grown in acidic soils. *Plant and Soil*, 332 (1-2), 299-318.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F. and Sekban, R., 2010 b. Research of Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers to enhance organic tea production. *International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems*, 3-7 February 2010 in Famagusta/K.Kıbrıs. *Book of Proceedings*, 371-376.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Sekban, R. ve Haznedar, A., 2010 c. Farklı çay klonlarında biyolojik gübrelemenin kullanım olanakları. Türkiye 4. Organik Tarım Sempozyumu, 28 Haziran 1 Temmuz 2010 Erzurum, 777-782.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Atasever, A., Ercişli, S., Şentürk, M., Erat, M., Haznedar, A. and Sekban, R., 2011 a. The use of plant growth promoting rhizobacteria for organic tea production in Turkey. *Proceedings of Tea- Organic-Low Carbon International Symposium*. Guangyuan/China. 6-9, 89-97.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Turan, M., Atasever, A., Sekban, R., Kutlu, M., ve Haznedar, A., 2011 b. Bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin çay gelişme, verim, besin alımı ve enzim aktivitesi üzerine etkisi. GAP VI. Tarım Kongresi, 22-28. 09-12 Mayıs 2011, Şanlıurfa.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M., Turan, M., Sekban, R. ve Haznedar, A., 2011 c. Bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin tuğlalı çay klonunda gelişme, verim, besin alımı üzerine etkisi. *Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı*, I. Cilt 571-581, 27-30 Nisan 2011, Eskişehir.
- Çakmakçı, R. ve Erdoğan, Ü.G., 2012. *Organik Tarım*. 3. Baskı, Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No 236. Atatürk Üniv Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum. 367.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, F., Erat, M., Haznedar, A. and Sekban, R., 2012 a. Tea growth and yield in relation to mixed cultures of N<sub>2</sub>-fixing and phosphate solubilizing bacteria. 23rd International Scientific-Experts Congress on Agriculture

- and Food Industry, September 2-29, 2012, The Journal of Ege University Faculty of Agriculture Special Issue Vol 1,17-21, İzmir.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Erat M., Kutlu, M., Sekban R. ve Haznedar, A., 2012 b. Azot fikseri ve fosfat çözücü bakterilerin Muradiye 10 çay klonunda gelişme, verim ve besin alımı üzerine etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 5 (2), 176-181.
- Çakmakçı R., Ertürk, Y., Sekban, R. Haznedar, A. and Varmazyari, A., 2013. The Effect of Single and Mixed Cultures of Plant Growth Promoting Bacteria and Mineral Fertilizers on Tea (*Camellia Sinensis*) Growth, Yield and Nutrient Uptake. 1st Central Asia Congress on Modern Agricult Tecniques and Plant Nutrition. 01-03 October, 2013, Soil Water Journal, Social Issue for Agricasia, Vol 2, No 2 (1) , 653-662.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Atasever, A., Kotan, R., Erat, M., Varmazyari, A., Türkyılmaz, K., Haznedar; A. and Sekban, R., 2014. Development of plant growth-promoting bacterial based bioformulations using solid and liquid carriers and evaluation of their influence on growth parameters of tea. 9<sup>th</sup> International Soil Science Congress on the Soul of the Soil and Civilization, 14-16 October 2014, Side, Book of Proceedings, 801-808.
- Çalikoğlu, E. ve Bayrak, A., 2009. Çay işleme sırasında aroma maddelerindeki değişim. Gıda, 34 (2), 115-119.
- Çepel, N. ve Ekoloji., 2006. Doğal Yaşam Dünyaları ve İnsan. Palme Yayıncılık, Ankara, 188.
- Dandurand, L.M., Morra, M.J., Cahaverra, M.H. and Orser, C.S., 1994. Survival of *Pseudomonas* spp. In air dried mineral powders. Soil Biology and Biochemistry, 26, 1423-1430.
- De Freitas, J.R., Banerjee, M.R. and Germida, J.J., 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). Biology and Fertility of Soils, 24, 358-364.
- Deng, W.W. and Ashihara, H., 2010. Profiles of purine metabolism in leaves and roots of *camellia sinensis* seedlings. Plant and Cell Physiology, 51 (12), 2105-2118.
- Deng, W.W., Wang, S., Chen, Q., Zhang, Z.Z. and Hub, X.Y., 2012. Effect of salt treatment on theanine biosynthesis in *Camellia sinensis* seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 56, 35-40.
- Dev Choudhury, M.N. and Bajaj, K.L., 1988. Effect of potassium on nitrogen and carbohydrate contents of tea leaves (*Camellia sinensis* L) and quality of made teas. Journal Food Science Technology, 25, 105-107.
- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M. and Chauhan, S.M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 159, 371-394.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y. and Vanderleyden, J., 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soils, 36, 284-297.
- Domenech, J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Lucas-Garcia, J.A., Colon, J.J. and Gutierrez-Manero, F.J., 2004. *Bacillus* spp. and *Pisolithus tinctorius* effects on *Quercus ilex* ssp *ballota*: a study on tree growth, rhizosphere community structure and mycorrhizal infection. Forest Ecology And Management, 194, 293-303.

- Donate-Correa, J., León-Barrios, M. and Pérez-Galdona, R., 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. *Plant and Soil*, 266, 261-272.
- Döbereiner, J., 1988. Isolation and identification of root associated diazotrophs. *Plant Soil*, 110, 207-212.
- Döbereiner, J., 1988. Isolation and identification of root associated diazotrophs. *Plant Soil*, 110, 207-212.
- Döbereiner, J., 1989. Isolation and Identification of Root Associated Diazotrophs. In: *Nitrogen Fixation with Non-Legumes* (Skinner, F.A. Ed.), pp. 103-108. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.
- Döbereiner, J., 1997. Biological nitrogen fixation in the tropics: Social and economic contributions. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 771-774.
- Dworkin, M. and Foster, J., 1958. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *The Journal of Bacteriology*, 75, 592-601.
- Egamberdiyeva, D., 2005. Plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from a Calcisol in a semi-arid region of Uzbekistan: biochemical characterization and effectiveness. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168, 94-99.
- Enebak, S.A, Wei, G. and Kloepper, J.W., 1998. Effects of plants growth-promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings. *Forest Science*, 44, 139-144.
- Ercişli, S., Çakmakçı, R. and Ertürk Y., 2011. Turkey can be an important organic tea producer. *Proceedings of Tea- Organic-Low Carbon International Symposium*. 6-9 June, 2011, Guangyuan/China, 506-511.
- Ertürk, Y., Çakmakçı, R., Dönmez, M.F., Sekban, R. ve Haznedar A., 2011. Fener -3 çay klonu fidanlarında enjeksiyon ve daldırma metotları ile PGPR uygulamalarının verim üzerine etkilerinin incelenmesi. GAP VI. Tarım Kongresi, 09-12 Mayıs 2011, Şanlıurfa, 29-34.
- Ertürk, Y., Çakmakçı, R., Dönmez, M.F., Sekban, R. ve Haznedar, A., 2011. Fener -3 çay klonu fidanlarında enjeksiyon ve daldırma metotları ile PGPR uygulamalarının verim üzerine etkilerinin incelenmesi. GAP VI. Tarım Kongresi, 09-12 Mayıs 2011, Şanlıurfa, 29-34.
- Ertürk, Y., Çakmakçı, R., Duyar, Ö. ve Turan, M., 2010 a. Fındık bitkisinde PGPR uygulamalarının bitki gelişimi ve yapraktaki bitki besin elementi içeriğine etkilerinin belirlenmesi. *Türkiye IV. Organik Tarım Sempozyumu*, 28 Haziran-01 Temmuz 2010, Erzurum, 511-516.
- Ertürk, Y., Ercişli, S., Haznedar, A. and Çakmakçı, R., 2010 b. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological Research*, 43 (1), 91-98.
- Ertürk, Y., Ercişli, S., Sekban, R., Haznedar, A. and Dönmez, M.F., 2008. The effect of PGPR on rooting and growth of tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) cuttings. *Romanian Biotechnological Letters*, 13 (3), 3747-3756.
- Ertürk, Y., Ercişli, S., Şengül, M., Eser, Z., Haznedar, A. and Turan, M., 2010 c. Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity and minerals in fresh tea shoots (*Camellia sinensis* var. *sinensis*). *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23 (1), 69-74.
- Esposito, S., Massaro, G., Vona, V., Di Martino Rigano, V., Carfagna, S. and Rigano, C., 2001. Ammonium induction of a novel isoform of glucose-6P dehydrogenase in barley roots. *Physiologia Plantarum*, 113, 469-476.

- Eşitgen, A., Yıldız, E.H., Ercişli, S., Dönmez, M.F., Turan, M. and Güneş, A., 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*, 124, 62-66.
- Eşitken, A., Ercişli, S., Karlıdağ, H. and Sahin, F., 2005. Potential use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in organic apricot production. *Environmentally Friendly Fruit Growing, Proceedings*, 90-97.
- Eşitken, A., Karlıdağ, H., Ercişli, S., Turan, M. and Sahin, F. 2003. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacihaliloglu), *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 377-380.
- Eşitken, A., Pırlak, L., Turan, M. and Sahin, F., 2006. Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry. *Scientia Horticulturae*, 110, 324-327.
- Eungwanichayapant, P.D. and Popluechai, S., 2009. Accumulation of catechins in tea in relation to accumulation of mRNA from genes involved in catechin biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 94-97.
- Fahy, P. C. and Hayward, A.C., 1983. Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests. *Plant Bacterial Diseases, a Diagnostic Guide*. Eds: Fahy P.C. and Persley G.J. Academic press. Sydney, 337-378.
- FAO, 2010. Food and Agricultural Organization. [www.fao.org](http://www.fao.org).
- Farina, R., Beneduzi, A., Ambrosini, A., de Campos, S.B., Lisboa, B.B., Wendisch, V., Vargas, L.K. and Passaglia, L.M.P., 2012. Diversity of plant growth-promoting rhizobacteria communities associated with the stages of canola growth. *Applied Soil Ecology*, 55, 44-52.
- Ferrat, L., Barelli, M.G., Martini, C.P. and Romeo, M., 2003. Mercury and non-protein thiol compounds in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Comparative Physiology and Biochemistry*, 134, 147-155.
- Ferruzzi, M.G. and Green, R.J., 2006. Analysis of catechins from milk-tea beverages by enzyme assisted extraction followed by high performance liquid chromatography, *Food Chemistry*, 99 (3), 484-491.
- Fierer, N. and Jackson, R.B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Science*, 103, 626-631.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S., 1998. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* (11<sup>th</sup> ed). 1068 pp. Mosby Inc., St. Louis, Missouri, USA.
- Garbeva, P., van Veen, J.A. and van Elsas, J.D., 2003. Predominant *Bacillus* spp. in agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE, *Microbial Ecology*, 45, 302-316.
- Garcia de Salamone, I.E., Hynes, R.K. and Nelson, L.M., 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 404-411.
- Garcia, J.A.L., Domenech, J., Santamaria, C., Camacho, M., Daza, A. and Gutierrez-Manero, F.J., 2004. Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. *Environmental and Experimental Botany*, 52, 239-251.
- Garcia, O.A. and Sarmiento, M., 2000. A note on the viability of *Azospirillum brasilense* in turf used as carrier in inoculated grass seeds. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 34, 343-345.



- Garland, J.L. and Mills, A.L., 1991. Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source-utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 2351-2359.
- Gee, G.W. and Hortage, K.H., 1986. Particle- Size Analysis. *Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods* Second Edition. Agronomy, 9 (2), Edition, 383-441.
- Germida, J.J. and Siciliano, S.D., 2001. Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of modern, recent and ancient wheat cultivars. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 410-415.
- Gezgin, S., Ozcan, M.M. and Atalay, E., 2006. Determination of minerals extracted from several commercial teas (*Camellia sinensis*) to hot water (Infusion). *Journal of Medicinal Food*, 9 (1), 123-127.
- Glick, B.R., Changping, L., Sibdas, G. and Dumbroff, E.B., 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 1233-1239.
- Glick, B.R., Karaturović, D.M. and Newell, P.C., 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 533-536.
- Gramza, A. and Korczak, J., 2005. *Trends in Food Science and Technology, Technol*, 16, 351.
- Grayston, S.J., Griffith, G.S., Mawdsley, C.D., Campbell, C.D. and Bardgett, R.D., 2001. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 533-551.
- Gregory, R.P.F. and Bendall, D.S. 1966. The purification and some properties of the polyphenols oxidase from tea (*Camellia sinensis* L.) *Biochemical Journal*, 101, 569-581.
- Guseinov, R.K., 1973. The effect of long-term fertiliser application on soil fertility and on tea metabolism and productivity. *Horticult Abstracts*, 44, 29-37.
- Gutiérrez-Mañero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehrouachi, J., Tadeo, F.R. and Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*. 111, 206- 211.
- Habig, W.H. and Jakoby, W.B., 1981. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*, 77, 398-405.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferase: the first enzymatic step in mercaptic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- Hahlbrock, K. and Scheel D., 1989. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40, 347-469.
- Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Sun, X., Yang, H., Wang, Y. and Song, W., 2005. Characterization of a novel plant growth-promoting bacterial strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens, *Systematics and Applied Microbiology*, 28, 66-76.
- Han, J.G., Song, Y., Liu, Z.G. and Hu, Y.H., 2011. Culturable bacterial community analysis in the root domains of two varieties of tree peony (*Paeonia ostii*). *FEMS Microbiology Letter*, 322, 15-24.

- Han, W.Y., Ma, L.F., Shi, Y.Z., Ruan, J.Y. and Kemmitt, S.J., 2008. Nitrogen release dynamics and transformation of slow release fertiliser products and their effects on tea yield and quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 839-846.
- Hara, M., Mochida, H. and Okada, F., 1996. Composition comprising active carbon and plant polyphenol. *JP*, 829-1013.
- Hara, Y., Luo, S.J., Wickremasinghe, R.L. and Yamanishi, T., 1995. Special issue on tea. *Food Reviews International*, 11, 371-542.
- Harbowy, M. and Balentine, D.A., 1997. Tea chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 16, 415-480.
- Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E. K. and Burns, R.C. 1968. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*, 43, 1185-1207.
- Hariprasad, P. and Niranjana, S.R., 2009. Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant and Soil*, 316, 13-24.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in the plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60, 579-598.
- Hecht-buchholz, C., 1998. The apoplast-habitat of endophytic dinitrogen-fixing bacteria and their significance for the nitrogen nutrition of nonlegumious plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 161, 509-520.
- Heijnen, C.E., Burgers, L.G.E. and Veer, V.J.A., 1993. Metabolic activity and population dynamics of rhizobia introduced into unamended and betonite amended loamy sand. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 743-747.
- Heinonsalo, J., Frey-Klett, P., Pierrat, J.-C., Churin, J.-L., Vairelles, D. and Garbaye, J., 2004. Fate, tree growth effect and potential impact on soil microbial communities of mycorrhizal and bacterial inoculation in a forest plantation. *Soil Biology and Biochemistry Journal*, 36, 211-216.
- Higdon, J.V. and Frei, B., 2003. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 89-143.
- Hilton, P.J., 1971. Biochemistry report. Rep. TRFCA for 1970-71, 103-4.
- Hoberg, E., Marschner, P. and Lieberei, R., 2005. Organic acid exudation and pH changes by *Gordonia* sp. and *Pseudomonas fluorescens* grown with P adsorbed to goethite. *Microbiological Research*, 160, 177-187.
- Hoberg, E., Marschner, P. and Lieberei, R., 2005. Organic acid exudation and pH changes by *Gordonia* sp. and *Pseudomonas fluorescens* grown with P adsorbed to goethite. *Microbiological Research*, 160, 177-187.
- Hoffmann-hergarten, S., Gulati, M.K. and Sikora, R.A., 1998. Yield response and biological control of *Meloidogyne incognita* on lettuce and tomato with rhizobacteria. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal Of Plant Diseases and Protection*, 105, 349-358.
- Holguin, G. and Bashan, Y. 1996. Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 1651-1660.
- Hu, J., Zhou, D. and Chen, Y.J., 2009. Preparation and Antioxidant Activity of Green Tea Extract Enriched in Epigallocatechin (EGC) and Epigallocatechin Gallate

- (EGCG). *Journal of Agricult and Food Chemistry*, 57 (4), 1349-1353.
- Idris, A., Labuschagne, N. and Korsten, L., 2009. Efficacy of rhizobacteria for growth promotion in sorghum under greenhouse conditions and selected modes of action studies. *Journal of Agricult Science*, 147, 17-30.
- Ilgaz, A.Ş., Kalcıġlu, Z. ve İslamoġlu, E., 2006. Türk beyaz çayı üretim yöntemlerinin optimizasyonu ve Türk beyaz çayının kalite parametrelerinin belirlenmesi. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Atatürk Çay ve Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü teknoloji Kısım Müdürlüğü, Rize, 38.
- Jain, J.C. and Takeo, T., 1984. The enzymes of tea and their role in tea making. *Journal of Food Biochemistry*, 8 (4), 243-279.
- Jain, J.C. and Takeo, T., 2007. A review of the enzymes of tea and their roles in teamaking. *Journal of Food Biochemistry*, 8, 243-279.
- Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.Y., Ahn, T.S. and Song, H.G., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41, 271- 276.
- Jeyarajan, R. and Nakkeeran, S., 2000. Exploitation of microorganisms and viruses as biocontrol agents for crop disease management in: Biocontrol potential and their exploitation in sustainable agriculture, (Ed. Updhyay et.al.) Kluwer Academic /Plenum Publishers, USA, 95-116.
- Jeyaramraja, P., Pius, P., Kumar, R.R. and Jayakumar, D., 2003. Soil moisture stress-induced alterations in bioconstituents determining tea quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (12), 1187-1191.
- Jimenez, M. and Garcia-Carmona, F., 1999. Oxidation of the flavonol quercetin by polyphenol oxidase. *Journal of Agricult and Food Chemistry*, 47, 56-60.
- Jin, J.W., Xu, Y.F. and Huang, Y.F., 2010. Protective effect of nitric oxide against arsenic-induced oxidative damage in tall fescue leaves. *African Journal of Biotechnology*, 9 (11), 1619-1627.
- Johnson, S.E. and Loeppert, R.H., 2006. Role of organic acids in phosphate mobilization from iron oxide. *Soil Science Society of America Journal*, 70, 222-234.
- Joshi, R., Poonam and Gulati, A., 2011. Biochemical attributes of tea flowers (*Camellia sinensis*) at different developmental stages in the Kangra region of India. *Scientia Horticulturae* 130, 266-274.
- Kabir Mustapha, U., SM, A., Son, R., Azizah Abdul, H., and Nazamid, S., 2012. Engineering the production of major catechins by escherichia coli carrying metabolite genes of *Camellia sinensis*. *Scientific World Journal*, 529031.
- Kaçar, B., 1984. Çayın Gübrenmesi, Çaykur Yayını, No:4, MKA Kurumu Basımevi, Ankara. 356.
- Kaçar, B., 1992. Yapraktan Bardaġa Çay. T.C. Ziraat Bankası Matbaası Ankara, 441.
- Kaçar, B., 1991. Çayda Gübreleme Sorunları ve Çözümleri, Panel, Çaykur Yayını No: 13, Rize, 22-28.
- Kafkas, S., Ercisli S., Dogan, Y., Erturk, Y., Haznedar, A. and Sekban, R., 2009a . Polymorphism and genetic relationships among tea genotypes from Turkey revealed by AFLP markers. *Journal of the American Society for Horticult Science*, 134 (3), 1-5.
- Kafkas, S., Ercişli, S., Doġan, Y., Ertürk, Y., haznedar, A. and Sekban, R., 2009 b. Polymorphism and genetic relationships among tea genotypes from Turkey

- revealed by amplified fragment length polymorphism markers. *Journal of the American Society for Horticult Science*, 134 (4), 428-434.
- Kanazawa, S., An, G.H. and Kaizu, T., 2005. Effects of curtailment of nitrogen fertilizer on biological properties and tea leaf yield in acid tea field soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 51 (5), 675-677.
- Karagöz, K., 2009. Bazı PGPR ve biyoajan bakterilerin marulun gelişimi ve marul yaprak lekesi hastalığı üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s:184.
- Karagöz, K., Ates, F., Karagöz, H., Kotan, R. and Çakmakçı, R., 2012. Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from the rhizosphere of grapevine grown in alkaline and acidic soils. *European Journal of Soil Biology*, 50, 144-150.
- Karakurt, H., Aslantaş, R., Ozkan, G. and Güteryüz, M., 2009. Effects of indol-3-butyric acid (IBA), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and carbohydrates on rooting of hardwood cutting of MM106 Apple rootstock. *African Journal of Agricult Research*, 4, 60-64.
- Karakurt, H., Kotan, R., Dadasoglu, F., Aslantas, R. and Sahin, F., 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set, pomological and chemical characteristics, color values, and vegetative growth of sour cherry (*Prunus cerasus* cv. Kutahya). *Turkish Journal of Biology*, 35 (3), 283-291.
- Karlıdağ, H., Eşitken, A., Turan, M. and Sahin, F., 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. *Scientia Horticulturae*, 114, 16-20.
- Kaymak, H.Ç., 2010. Potential of PGPR in agricult innovations. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*, Ed: Maheshwari, D.K., 45-79.
- Kertesz, D., Rotilio, G., Brunori, M., Zito, R. and Antonini E., 1972. Kinetics of reconstitioin of polyphenoloxidase from apoenzyme and copper. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 49 (5), 1208-1215.
- Khan, S.G., Katiyar, S.K., Agarwal, R. and Mukhtar, H., 1992. Enhancement of antioxidant and phase II enzymes by oral feeding of green tea polyphenols in drinking water to SKH-1 hairless mice: Possible role in cancer chemoprevention. *Cancer Research*, 52 (14), 4050-4052.
- Khan, W., Prithiviraj, B. and Smith, D.L., 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160 (5), 485-492.
- Khormali, F., Ayoubi, Sh., Foomani, F.K., Fatemi, A. and Hemmati, Kh., 2007. Tea yield and soil properties as affected by slope position and aspect in Lahijan area, Iran. *International Journal of Plant Production*, 1 (1), 98-111.
- Kingdon Word, F., 1950. Does Wild Tea Exist? *Nature*, 65, 295-299.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C., 1990. *Methods in phytopathology*. Akademiai Kiado, Budapest, 153-180.
- Konishi, S., 1991. Chemistry of tea. In: Muramatsu K (eds.), *Tea science*. Asakura-Shoten, Tokyo, pp 21-32.
- Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E. and Eken, C., 2009. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. *Biological Control*, 50: 194-198.
- Kottur, G., Venkatesan, S., Kumar, R.S.S. and Murugesan, S., 2010. Diversity among

- various forms of catechins and its synthesizing enzyme (phenylalanine ammonia lyase) in relation to quality of black tea (*Camellia* spp.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (9), 1533-1537.
- Kovacs, N., 1956. Identification of *pseudomonas pyrocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, London, 170-173.
- Kuroda, Y. and Hara, Y., 1999. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols *Mutation*. *Research-reviews in Mutation Research*, 436, 69-97.
- Kyung, M.Y., Choong, H.L., Hyungjae, L., Moon, B. and Chang, Y.L., 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, 106, 929-936.
- Labbé, D., Araya-Farias, M., Tremblay, A. and Bazinet, L., 2005. Electromigration feasibility of green tea catechins. *Journal of Membrane Science*, 254 (1-2), 101-109.
- Langley-Evans, S.C., 2000. Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 181-8.
- Lee, P.M., Lee, K. and Karim, M.I.A., 1991. Biochemical studies of cocoa bean polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55, 251-260.
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Black Well Scientific Publication, 157, Oxford.
- Li, C.h., Xu, H.M., Xu, J., Chun, X.Y. and Ni, D.J., 2011. Effects of aluminium on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of tea plant. *Acta Physiologia Plantarum*, 33 (3), 973-978.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S. and Wu, Y., 2003. Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chemistry*, 80, 283-290.
- Lin, Y. L., Tsai, S. H., Lin-Shiau, S. Y., Ho, C.-T. and Lin, J. K. 1999. Theaflavin-3,3'-digallate from black tea blocks the nitric oxide synthase by downregulating the activation of NF-kappa B in macrophages. *European Journal of Pharmacology*, 367, 379-88.
- Lindsay, W.L. and Norwell, W.A. 1978. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42, 421-428.
- Liu, J.W., Huang, Y.Y., Ding, J., Liu, C., Xiao, X.D. and Ni, D.J. 2010. Prokaryotic expression and purification of camellia sinensis polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (14), 2490-2494.
- Liu, Z., Yang, J., Yang, Z. and Zou, J., 2012. Effects of rainfall and fertilizer types on nitrogen and phosphorus concentrations in surface runoff from subtropical tea fields in Zhejiang, China. *Nutrient Cycling Agroecosystems*, 93, 297-307.
- Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R., 2004. Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86, 1-25.
- Luczaj, W. and Skrzydlewska, E. 2005. Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, 40, 910-918.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F., 2010. Plant Growth Promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541-556.
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K.P., Dexter, D.T. and Aruomad, O.I., 2005. Characterization of the antioxidant functions of

- flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International*, 38, 357-367.
- Magoma, G.N., Wachira, F.N., Imbuga, M.O. and Agong, S.G., 2003. Biochemical differentiation in *Camellia sinensis* and its wild relatives as revealed by isozyme and catechin patterns. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31 (9), 995-1010.
- Mahaboob, S. K. and Gurjot, K., 2007. Subacute oral toxicity of chloropyriphos and protective effect of green tea extract. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89, 118-123.
- Mahanta, P.K. and Baruah, H.K., 1992. Theaflavin pigment formation and polyphenol oxidase activity as criteria of fermentation in orthodox and CTC teas. *Journal of Agricult and Food Chemistry*, 40, 860-863.
- Mahmutoğlu, H., 1994. Rize ilinin bazı ekolojik koşullarında, seleksiyonla bulunan altı çay (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze) klonunun (F-3, M-10, D-7, T-10,G-3 ve P-20) gelişiminin araştırılması (Doktora tezi), Karadeniz Teknik Üniv. Fenbilimleri Enst. Orman Müh. Anabilim Dalı Orman Mühendisliği Programı., Trabzon, 197.
- Manjula, K. and Podile, A.R., 2001. Chitin supplemented formulations improve biocontrol and plant growth promoting efficiency of *Bacillus subtilis* AF1. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 618-625.
- Marasco, R., Rolli, E., Fusi, M., Cherif, A., Abou-Hadid, A., El-Bahairy, U., Borin, S., Sorlini, C. and Daffonchio, D., 2013. Plant growth promotion potential is equally represented in diverse grapevine root-associated bacterial communities from different biopedoclimatic environments. *BioMed Research International*, 2013, Article ID 491091, 17 pages.
- Margaret, A.D., Charles, J.F. , David, J.M. and Derwent, S., 1981. Fermentation of tea in aqueous suspension. Influence of tea peroxidase. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 32 (9), 920-932.
- Marschner, P., Yang, C.H., Lieberei, R. and Crowley, D.E., 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* , 33, 1437-1445.
- Mclean, E.O., 1982. Soil pH and Lime Requirement, *Methods of Soil Analysis Part2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition*. Agronomy. No: 9 Part 2 . Ed, 199-224.
- Medici, L.O., Azevedo, R.A., Smith, R.J. and Lea, P.J., 2004. The influence of nitrogen supply on antioxidant enzymes in plant roots. *Functional Plant Biology*, 31, 1-9.
- Mehta, S. and Nautiyal, C.S., 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology*, 43, 51-56.
- Mertens, D., 2005 a. AOAC Official Method 922.02. Plants Preparation of Laboratory Sample. *Official Methods of Analysis*, 18th edn., Ed:Horwitz, W., Latimer, G.W., Chapter 3, pp1-2, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Mertens, D., 2005 b. AOAC Official Method 931.01. Phosphorus in Plants. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Ed:Horwitz, W. and G.W. Latimer. Chapter 3, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA, 21-22.

- Miller, I. and Berger T., 1985, Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acids. Hewlett-Packard Gas Chromatography Application Note, Hewlett-Packard Co., Alto, CA., 228-238.
- Millin, D., 1987. Factors affecting the quality of tea. 2nd ed. Quality control in the food industry, New York, Academic Press, 4 (7), 127-60.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7 (3), 405-410.
- Mohan, J.R., Burke, J. and Orzech, K., 1990. Thermal dependence of the apparent  $K_m$  of glutathione reductases from three plant species. Plant Physiology, 93, 822-824.
- Mustapha, Y., Reda, D.M., Houria, B. and Nacira, H., 2009. Effects of artea systemic fungicide, on the antioxidant system and the respiratory activity of durum wheat (*Triticum durum* L.). Journal of Biotechnology, 8 (17), 4128-4130.
- Naik, P.R., Raman, G., Narayanan, K.B. and Sakthivel, N., 2008. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. BMC Microbiology, 8, 230.
- Nakkeeran, S., Kavitha, K., Mathiyazhagan, S., Fernando, W.G.D., Chandrasekar, G. and Renukadevi, P., 2004. Induced systemic resistance and plant growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* strain PA-23 and *Bacillus subtilis* strain CBE4 against rhizome rot of turmeric (*Curcuma longa* L.). Canadian Journal of Plant Pathology, 26, 417-418.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G. and Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science, 54, 655-670.
- Naveed, M., Khalid, M., Jones, D. L., Ahmad, R. and Zahir, Z. A., 2008. Relative efficacy of *Pseudomonas* spp., containing ACC-Deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of organic fertilizer. Pakistan Journal of Botany, 40, 1243-1251.
- Naveen, K., Arora, E.K. and Maheshwari, D.K., 2010. Plant Growth promoting rhizobacteria: constraints in bioformulation, commercialization, and future strategies. Plant Growth and Health Promoting Bacteria, 97-116.
- Nelson, D.W. and Sommers, L.E., 1982. Organic Matter. Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2, Edition, 574-579.
- Nelson, R.E., 1982. Carbonate and Gypsum. Methods of Soil Analysis Part2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. Agronomy. No: 9 Part 2 . Edition, 191-197.
- Neufeld, H.S., Chappelka, A.H., Somers, G.L., Burkey, K.O., Davison, A.W. and Finkelstein, P.L., 2006. Visible foliar injury caused by ozone alters the relationship between SPAD meter readings and chlorophyll concentrations in cutleaf coneflower. Photosynthesis Research, 87 (3), 281-286.
- Neuhaus, H.E. and Emes, M.J., 2000. Nonphotosynthetic metabolism in plastids. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51, 111-140.
- Nioh, I., Isobe, T. and Osada, M., 1993. Microbial biomass and some biochemical characteristics of a strongly acid tea field soil. Soil Science and Plant Nutrition, 39, 617- 626.

- Obanda, M., Owuor, P.O. and Bore, J.K., 1997 b. Effects of moisture loss and temperature of leaf during withering on black tea quality parameters. *Tea*, 18, 45-50.
- Obanda, M., Owuor, P.O. and Taylor, S.J., 1997 a. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 209-215.
- Okano, K., Chutani, K. and Matsuo, K., 1997. Suitable level of nitrogen fertilizer for tea (*Camellia sinensis* L.) Plants in relation to growth, photosynthesis, nitrogen uptake and accumulation of free amino acids. *Japanese Journal of Crop Science The Crop Science*, 66, 279-287 .
- Olsen, S.R., and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus. *Methods of Soil Analysis Part2. Chemical and Microbiological Properties 2<sup>nd</sup> ed.*, Agronomy. No: 9 Part 2, 403-427.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M. and Sahin, F., 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientia horticulturae*, 111, 38-43.
- Owuor, P.O. and Obanda, M., 2007. The use of green tea (*Camellia sinensis*) leaf flavan-3-ol composition in predicting plain black tea quality potential. *Food chemistry*, 100, 873-884.
- Owuor, P.O. and Othieno, C.O., 1988. Studies on the use of shade in tea plantations in kenya: effect on chemical composition and quality of made tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46, 63-70.
- Öksüz, M., 1987. Ülkemizdeki Klon Çayların Verimi ve Mamul Çay Kalite Özelliklerinin Tespiti, Çaykur Yayını, No: 8, Ankara.
- Ölmez, H. and Yilmaz, A., 2010. Changes in chemical constituents and polyphenol oxidase activity of tea leaves with shoot maturity and cold storage . *Journal of Food Processing and Preservation*, 34 (2), 653-665.
- Özdemir, N., Yakupoglu, T. and Dengiz, O., 2009. The effects of bio-solid and tea waste application into different levels of eroded soil on N, P and K concentrations, *Environmental Monitoring and Assessment*, 156, 109-118.
- Öztürk, M., 2011. Çay atıklarının değerlendirilmesi, <http://www.mozturk.net>.
- Özyazıcı, G., Özyazıcı, M.A., Özdemir, O. and Sürücü, A., 2009. Some physical and chemical properties of tea grown soils in Rize and Artvin Provinces. *Anadolu Journal Of Agricult Sciences*, 25 (2), 94-99.
- Pal, S.S., 1998. Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant and Soil*, 198, 169-177.
- Pandey, A. and Palni, L.M.S., 1996. The rhizosphere effect of tea on soil microbes in a Himalayan monsoonal location. *Biology and Fertility of Soils* , 21, 131-137.
- Pandey, A., Singh, S. and Palni, L.M.S., 2013. Microbial inoculants to support tea industry in India. *Indian Journal of Biotechnology*, 12, 13-19.
- Pansombat, K., Kanazawa, S. and Horiguchi, T., 1997. Microbial ecology in tea soils I. Soil properties and microbial populations. *Soil Science and Plant Nutrition*, 43, 317-327.
- Park, M., Kim, C., Yang J., Lee, H., Shin, W., Kim, S. and Sa, T., 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricult crops of Korea. *Microbiological Research*, 160, 127-133.



- Penrose, D.M. and Glick, B.R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118, 10-15.
- Perez, E., Sulbaran, M., Ball, M.M. and Yarzabal, L.A., 2007. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria natly colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 2905-2914.
- Pikovskaya, R.E., 1948. Mobilization of phosphates in soil in connection with vital activities of some microbial species. *Microbiologia*, 17, 362-370.
- Pırlak, L., Turan, M., Sahin, F. and Esitken, A., 2007. Floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to apples increases yield, growth, and nutrition element contents of leaves. *Journal of Sustainable Agriculture*, 30, 145-155.
- Poonguzhali, S., Madhaiyan, M., and Sa, T., 2006. Cultivation-dependent characterization of rhizobacterial communities from field grown Chinese cabbage *Brassica campestris* ssp *pekinensis* and screening of traits for potential plant growth promotion. *Plant and Soil*, 286, 167-180.
- Primo, M.S., Ceni, G.C., Marcon, N.S., Antunes, O.A.C., Oliveira, D., Oliveira, J.V. and Dariva, C., 2007. Effects of compressed carbon dioxide treatment on the specificity of oxidase enzymatic complexes from mate tea leaves. *Journal of Supercritical Fluids*, 43 (2), 283-290.
- Puente, M.E., Li, C.Y. and Bashan, Y., 2004. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. *Journal of Plant Biology* , 6, 643-650.
- Rahman, F., Sharma, P.B. and Nandi, N.C., 1978. Suitability of muriate of potash (KCl) and sulphate of potash (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) for foliar spray in young and mature tea. *Two and a Bud*, 25, 97-98.
- Ramaswamy, R. and Ramaswamy, P., 1998. Changes in enzyme activities (polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase) with type of tea leaf and during black tea manufacture and the effect of enzyme supplementation of dhool on black tea quality. *Food Chemistry*, 62, 277-281.
- Ranganathan, V. and Natesan, S. 1987. Nutrient elements and quality of tea. *Planters' chronicle*, 82, 55-59.
- Ranganathan, V., 1994. Potassium. nitrogen interaction in tea; its genesis and effects on yield and quality. In *Proceedings of the International Seminar on Integrated Crop Management in Tea: Towards Higher Productivity*. International Potash Institute, Basel, Switzerland, 141-152.
- Rau, N., Mishra, V., Sharma, M., Das, M.K., Ahaluwalia, K. and Sharma, R.S., 2009. Evaluation of functional diversity in rhizobacterial taxa of a wild grass (*Saccharum ravennae*) colonizing abandoned fly ash dumps in Delhi urban ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 813-821.
- Ravichandran, R. and Parthiban, R., 1998. Changes in enzym activities (polyphenol oxidase and phenylalanin ammonia lyase) with type of tea leaf and during black tea manufacture and the effect of enzyme supplementation of dhool on black tea quality. *Food Chemistry*, 62 (3), 277-281.
- Rhoades, J.D. 1982. Exchangeable Cations. *Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties* 2<sup>nd</sup> ed., Agronomy. No: 9 Part 2, 159-164.

- Rios-gonzalez, K., Erdei, L. and Lips, S.H., 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Science*, 162, 923-930.
- Roberts, G.R. and Fernando, R.S.S., 1981. Some observations on the correlation of polyphenol content to the quality of tea clones. *Tea Q*, 50, 30-34.
- Roberts, G.R. and Fernando, V., 1975. Glutamyl transferase activity in roots of tea plant. Proceeding of the Sri Lanka Association for the Advancement of *Science*. 1, 58-62.
- Ruan, J., Haerdter, R. and Gerendas, J., 2010. Impact of nitrogen supply on carbon/nitrogen allocation: a case study on amino acids and catechins in green tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] plants, *plant species*, 12(5), 724-734.
- Ruan, J., Wu, X. and Rdter, R.H., 1999. Effects of potassium and magnesium nutrition on the quality components of different types of tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 47-52.
- Ruan, J., Wu, X., Yong, Y. and Hardter, R., 1998. Effect of potassium, magnesium and sulphur applied in different forms of fertilisers on free amino acid content in leaves of tea (*Camellia sinensis* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 389-396.
- Ruan, J.Y. and Wu, X., 2004. Nutrient input and evaluation of fertilization efficiency in typical tea areas of China. In: Hårdter R, Xie J, Zhou J, Fan Q, editors. *Nutrient management in China. Part I. Nutrient balances and nutrient cycling in agro-ecosystems*. Basel. International Potash Institute, 367-375.
- Ruan, J.Y., Gerendas, J., Hardter, R. and Sattelmacher, B., 2007. Effect of nitrogen form and root-zone pH on growth and nitrogen uptake of tea (*Camellia sinensis*) plants. *Annals of Botany*, 99 (2), 301-310.
- Rusznayák, A., Vladár, P., Molnár, P., Reskóné, M.N., Kiss, G., Márialigeti, K., Andrea, K. and Borsodi, A.K., 2008. Cultivable bacterial composition and BIOLOG catabolic diversity of biofilm communities developed on *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 88, 211-218.
- Saber, M.S.M., 2001. Clean biotechnology for sustainable farming. *Engineering in Life Sciences*, 1, 217-223.
- Saikia, R., Sarma, R.K., Yadav, A. and Bora, T.C., 2011. Genetic and functional diversity among the antagonistic potential fluorescent pseudomonads isolated from tea rhizosphere. *Current Microbiology*, 62 (2), 434-444.
- Sajilata, M.G., Bajaj, P.R., and Singhal, R.S., 2008. Tea Polyphenols as Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 224-254.
- Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P. and Rice-Evans, C., 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chainbreaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 322, 339-346.
- Salle, A.J., 1973. *Laboratory Manual on Fundamental Principles of Bacteriology*. McGraw-Hill Book Company, New York, USA.
- Sanderson, G.W. and Coggon, P., 1977. Use of Enzymes in the Manufacture of Black Tea and Instant Tea. *Enzymes in Food and Beverage Processing*, 47 (2), 12-26.
- Sanderson, G.W., 1966. 5-Dehydroshikimate reductase in the tea plant (*Camellia sinensis* L.) properties and distribution. *Biochemistry Journal*, 98, 248-252.

- Sanderson, G.w., 1972. The chemistry of tea and tea manufacturing, in *recent advances in phytochemistry* vol 5, ed by runeckles vc and tso tc, New York: Academic Press, 247-316.
- Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N. and Samiyappan, R., 2007. PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protection*, 26 (4), 556-565.
- Sarimehmet, M., 1990. Türkiye’de Seleksiyonla Bulunan İki Klon Çaydan Üretilen Çay Fidanlarının Büyümesi Üzerine N, P ve K Gübresinin Etkisi, Çaykur Yayını, No: 11, Ankara.
- Sarimehmet, M., Müftüoğlu, N.M. ve Yılmaz, E., 1983. Ülkemiz çay topraklarının bitki besin elementi muhtevaları ve fiziki yapıları. Çay Araştırma Enstitüsü Müd. 1982 yılı Çalışma Raporu. Rize, 71-98.
- Sarimehmet, M., Müftüoğlu, N.M. ve Yılmaz, E., 1989 a. Çayda gübreleme sorunları ve çözümleri. Panel. Çay Kur Yayını No: 13 A.Ü Basımevi, Ankara, 49-59.
- Sarimehmet, M., Müftüoğlu, N.M. ve Yılmaz, E., 1989 b. Ülkemiz çay topraklarının bitki besin elementleri muhtevaları ve fiziki yapıları. Çay Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü 1988 yılı çalışma raporu. Rize.
- Sariri, R., Najafi, F. and Arasteh, A., 2006. The effect of cellulase extracted from symbiotic tea fungies on the quality of iranian tea. *Enzyme and Microbial Technology*, 39 (2), 308-310.
- Savıdov, N.A., Alikulov, Z.A. and Lips, S.H., 1998. Identification of an endogenous NADPH-regenerating system coupled to nitrate reduction in vitro in plant and fungal crude extracts. *Plant Science*, 133, 33-45.
- Saygılı, H., 2005. Fitobakteriyoloji. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bornova-İzmir.
- Schilling, G., Gransee, A., Deubel, A., Ležovič, G. and Ruppel, S., 1998. Phosphorus availability, root exudates, and microbial activity in the rhizosphere. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 161, 465-478.
- Schnarrenberger, C., Flechner, A. and Martin, W., 1995. Enzymatic evidence for a complete oxidative pentose pathway in chloroplast and an incomplete pathway in the cytosol of spinach leaves. *Plant Physiology*, 108, 609-614.
- Schutter, M. and Dick, R., 2001. Shifts in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates. *Soil Biology and Biochemistry*. 33, 1481-1491.
- Shaharoon, B., Jamro, G.M., Zahir, Z.A., Arshad, M. and Memon, K.S., 2007. Effectiveness of various *Pseudomonas spp.* and *Burkholderia caryophylli* containing ACC-Deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 1300-1307.
- Sharma, K.L., Sharma, D.K. and Sharma, G., 2002. Long term response of integrated nitrogen nutrition with bioresources on the yield of china hybrid tea (*Camellia sinensis* L.) grown in north west himalayas. *Proceedings of The 15th Plantation Crops Symposium*, 386-391.
- Sharma, P.K., and Sharma, O.N., 1992. Studies on S nutrition of tea in acid soils from western Himalayas. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 39, 140.
- Sharma, V. and Rao, L.J.M., 2009. A thought on the biological activities of black tea. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49,379-404.

- Sharma, V., Joshi, R. and Gulati, A., 2011. Seasonal clonal variations and effects of stresses on quality chemicals and prephenate dehydratase enzyme activity in tea (*Camellia sinensis*). *European Food Research and Technology*, 232 (2) 307-317.
- Sharma, V.S. and Ranhanathan, V., 1985. The world of tea today, *Outlook an Agriculture*, 14 (1), 35-36.
- Shishido, M. and Chanway, C.P., 2000. Colonization and growth promotion of outplanted spruce seedlings pre-inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria in the greenhouse. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne de Recherche Forestiere*, 30, 845-854.
- Shin, E.S., Park, J., Shin, J.M., Cho, D., Cho, S.Y., Shin, D.W., Ham, M., Kim, J.B. and Lee, T.R., 2008. Catechin gallates are NADP<sup>+</sup>-competitive inhibitors of glucose-6-phosphate dehydrogenase and other enzymes that employ NADP<sup>+</sup> as a coenzyme. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 3580-3586.
- Sieso, V., Nicolas, M., Seck, S. and Crouzet, J., 1976. Constituants volatils de la tomate: mise en evidence et formation par voie enzymatique du trans-hexene-2-ol. *Agricult Biology and Chemistry*, 40, 2349-2353.
- Singh, K., Kumar, S., Rani, A., Gulati, A. and Ahuja, P., 2009. Phenylalanine ammonia-lyase (pal) and cinnamate 4-hydroxylase (c4h) and catechins (flavan-3-ols) accumulation in tea. *Functional and Integrative Genomics*, 9 (1), 125-134.
- Singh, N., Pandey, P., Dubey, R.C. and Maheshwari, D.K., 2008. Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1669-1679.
- Smith, M., Hopkinson, D.A. and Harris, H., 1971. Developmental changes and polymorphism in human alcohol dehydrogenase. *Annals of Human Genetics*, (Lond.), 34, 251-271.
- Son, H.-J., Park, G.-T., Cha, M.-S. and Heo, M.-S., 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresource Technology*, 97, 204-210.
- Sood, A., Sharma, S., Kumar, V. and Thakur, R.L., 2008. Established and abandoned tea (*Camillia sinensis* L.) rhizosphere: dominant bacteria and their antagonism. *Polish Journal of Microbiology*, 57 (1), 71-76.
- Sparling, G.P., 1997. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) *Biological indicators of soil health*. CAB International, New York, 97-119.
- Srividhya, B., Subramanian, R. and Raj, V., 2012. Phenolic content and enzyme activities of tea leaves. *Journals of The Indian Chemical Society*, 89 (6), 849-852.
- Sudhakar, P., Chattopadhyay, G.N., Gangwar, S.K. and Ghosh, J.K., 2000. Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). *Journal of Agricult Science, Camb.* 134, 227-234.
- Suzuki, T. and Takahashi, E., 1975. Biosynthesis of caffeine by tea-leaf extracts Enzymic formation of theobromine from 7-methylxanthine and of caffeine from theobromine. *Biochemical Journal*, 146, 87-96.

- Şahin, F., Çakmakçı, R. and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N<sub>2</sub>-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant Soil*, 265, 123-129.
- Tachibana, N, Yoshikawa, S. and Ikeda, K., 1995. Influences of heavy application of nitrogen on soil acidification and root growth in tea fields. *Japanese Journal of Crop Science*, 64, 516-522.
- Tanaka, K., Sano T., Ishizuka, K., Kitta, K. and Kawamura, Y., 1994. Comparison of properties of leaf and root glutathione reductases from spinach. *Physiologia Plantarum*, 91, 353-358.
- Taulavuori, E., Tahkokorpi, M., Taulavuori, K. and Laine, K., 2004. Anthocyanins and glutathione S-transferase activities in response to low temperature and frost hardening in *Vaccinium myrtillus* (L.). *Journal of Plant Physiology*, 161 (8), 903-911.
- Thakuria, D., Talukdar, N.C., Goswami, C., Hazarika, S., Boro, R.C. and Khan, M.R., 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Current Science*, 86, 978-985.
- Thanaraj, S.N.S. and Seshadri, R., 2006. Influence of polyphenol oxidase activity and polyphenol content of tea shoot on quality of black tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51, 57-69.
- Thangapazham, R.L., Singh, A.K., Sharma, A., Warren, J., Gaddipati, J.P. and Maheshwari, R.K., 2007. Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Letters*, 245 (1-2), 232-241.
- Thomas, J., Ajay, D., Kumar, R.R. and Mandal, A.K.A., 2010. Influence of beneficial microorganisms during in vivo acclimatization of in vitro-derived tea (*Camellia sinensis*) plants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 101 (3), 365-370.
- Thomas, J., Saravanan, M., Kumar, R.R. and Pius, P.K., 2005. Influence of age after pruning on the levels of flavanols and other bioconstituents in tea (*Camellia sinensis*). *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 85 (6), 931-934.
- Tiftik, B.E., 2006. Çay fabrikası atığının pirolizi ve piroliz ürünlerinin incelenmesi, (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U. and Tillberg, E., 1999. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1847-1852.
- Tokuda, S. and Hayatsu, M., 2001. Nitrous oxide emission potential of 21 acidic tea field soils in Japan. *Soil Science and Plant Nutrition*, 47, 637-642.
- Tokuda, S. and Hayatsu, M., 2002. Soil microbial biomass and fluorescein diacetate hydrolytic activity in Japanese acidic tea field soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 47, 865-869.
- Tokuda, S. and Hayatsu, M., 2004. Nitrous oxide flux from a tea field amended with a large amount of nitrogen fertilizer and soil environmental factors controlling the flux. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50, 365-374.
- Toma's-Barberan, F.A. and Espin, J.C., 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Jornal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 853-876.
- Treutter, D., 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, 7, 581-591.

- Trivedi, P., Spann, T. and Wang, N., 2011. Isolation and characterization of beneficial bacteria associated with citrus roots in Florida. *Microbial Ecology*, 62, 324-336.
- Turpin, D.H., Weger, H.G. and Huppe, H.C., 1997. Interactions between photosynthesis, respiration and nitrogen assimilation, *Plant Metabolism*, Ed:Dennis D.T., Turpin D.H., Lefebvre D.D., Layzell D.B.; Longman Limited, London, 509-524.
- Tuzcu, M., Sahin, N., Karatepe, M., Cikim, G., Kilinc, U. and Sahin, K., 2008. Epigallocatechin-3-gallate supplementation can improve antioxidant status in stressed quail. *British Poultry Science*. 49 (5), 643-648.
- Ural, N., 1991. Çayda Gübreleme Sorunları ve Çözümleri, Panel, Çaykur Yayını No: 13, Rize, 49-59.
- Valerio, L.G., Kepa, J.K., Pickwell, G.V. and Quattrochi, L.C., 2001. Induction of human NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1) gene expression by the flavonol quercetin. *Toxicology Letters*, 119, 45-57.
- Van den Berg, A.K. and Perkins, T.D., 2005. Nondestructive estimation of anthocyanin content in autumn sugar maple leaves. *HortScience* 40 (3), 685-686.
- Varmazyari, A., Çakmakçı, R., Ertürk, Y. ve Atasever, A., 2014. Asidik çay topraklarından izole edilmiş bakteri çeşitliliği ve bitki gelişmesini teşvik etme özellikleri. Uluslararası Mezopotamya Tarım Kongresi, 22-25 Eylül, 2014, Diyarbakır, 49-51.
- Venkatesan S. and Ganapathy, M.N.K., 2004. Impact of nitrogen and potassium fertiliser application on quality of CTC teas. *Food Chemistry*, 84, 325-328.
- Venkatesan, S. and Senthurpandian, V.K., 2006. Comparison of enzyme activity with depth under tea plantations and forested sites in south india. *Geoderma*, 137 (1-2), 212-216.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586.
- Von, Schaewen, A., Langenkamper, G., Graeve, K., Wenderoth, J. and Scheibe, R., 1995. Molecular characterization of plastic glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato in comparison with its cytosolic counterpart. *Plant Physiology*, 109, 1327-1335.
- Waid, J.S., 1999. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences? *Applied Soil Ecology*, 13, 151-158.
- Wan, X., Li, D. and Zhang, Z., 2008. Antioxidant Properties and Mechanisms of Tea Polyphenols. Part 8, *Tea and Tea Products Chemistry and Health-Promoting Properties*. Ed: Ho, C.T., Lin, J.K. and Shahidi, F., CRC Press, 131-159.
- Wan, X.C., Huang, J.Z. and Shen, S.R., 2003. *Tea biochemistry*, 3rd ed., 9-20, 180-94. Beijing: China Agriculture Press.
- Wang, H., Provan, G.J. and Helliwell, K., 2000. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science and Technology* , 11, 152-160.
- Wang, H., Zhang, S.H., Zhang, W.J., Wei, C. and Wang, P.F., 2010. Effects of nitric oxide on the growth and antioxidant response of submerged plants *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *African Journal of Biotechnology*, 9 (44), 7470-7476.
- Weatherburn, M.W., 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39, 971-974.

- Wei, K., Wang, L., Zhou, J., He, W., Zeng, J., Jiang, Y. and Cheng, H., 2011. Catechin contents in tea (*Camellia sinensis*) as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. *Food Chemistry*, 125, 44-48.
- Wei, K., Wang, L.Y., Zhou, J., He, W., Zeng, J.M., Jiang, Y.W. and Cheng, H., 2012. Comparison of catechins and purine alkaloids in albino and normal green tea. *Food chemistry*, 130, 720-724.
- Wheeler, D.S. and Wheeler, W.J., 2004. The medicinal chemistry of tea. *Drug Development Research*, 61 (2), 45-65.
- Winkel, C. and Boesveld, M., 2000. Influence of a commercial pectinase preparation on tea flavour. *Frontiers of Flavour Science*, 366-369.
- Xu, H., Leng, X., Wang, M. and Zhang, G., 2012. Glucose Measurement in the Presence of Tea Polyphenols. *Food Analytical Methods*, 5, 1027-1032.
- Xue, D., Yao, H. and Huang, C., 2006. Microbial biomass, n mineralization and nitrification, enzyme activities, and microbial community diversity in tea orchard soils. *Plant Soil*, 288, 319-331.
- Xue, D., Yao, H.Y., Ge, D.Y. and Huang, C.Y., 2008. Soil microbial community structure in diverse land use systems: A comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses. *Pedosphere*, 18, 653-663.
- Yakupoğlu, T. ve Özdemir, N., 2007. Erozyona uğramış topraklara uygulanan arıtma çamuru ve çay endüstrisi atığının toprakların mikro element içeriklerine etkileri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22, 207-213.
- Yamanishi, T., Hara, Y., Luo, S. and Wickremasinghe, R.L., 1995. Special issue on tea. *Food Reviews International*, 11, 371-546.
- Yang, C. S., Lambert, J. D., Ju, J. and Lu, G., 2007. Sang, S. *Toxicol. Toxicology and Applied Pharmacology*, 224, 265.
- Yao, H., Liu, Y. and Xue, D., 2006. Influence of tea cultivation on soil microbial biomass and substrate utilization pattern. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 37, 641-651.
- Yaylalı, A.G. and Tüysüz, N., 2009. Heavy metal contamination of soils and tea plants in the eastern Black Sea region, NE Turkey. *Environmental Earth Sciences*, 59 (1), 131-144.
- Yee, Y., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. and Lu, C.Y., 2003. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguira gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany*, 49 (3), 209-221.
- Yıldırım, E., Karlıdağ, H., Turan, M., Dursun, A. and Göktepe, F., 2011. Growth, nutrient uptake, and yield promotion of broccoli by plant growth promoting rhizobacteria with manure. *HortScience*. 46 (6), 932-936.
- Yilmaz, Y., 2006. Novel uses of catechins in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17 (2), 64-71.
- Zak, J.C., Willig, M.R., Moorhead, D.L. and Wildman, H.G., 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 1101-1108.
- Zhang, W.B., Zhang, S.H., Zhang, E.P. and Tian, L.L., 2009. Effects of applied phthalic acid and phloroglucionol dihydrate on the root oxidative damage in tomato seedlings. *Allelopathy Journal*, 23 (2), 437-444.

- Zhang, X.H., Zhang, E.H., Fu, X.Y., Huang, Y. and Lang, D.Y., 2010. Autotoxic effects of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels Allelopathy Journal, 26 (2), 1-11.
- Zhang, Z.L., Liu, Y.J., Gao, K.J., Zhao, L., Liu, L., Wang, Y.S., M.L., Gao, L.P. and Xia, T., 2012. Haracterisation of anthocyanidin reductase from shuchazao green tea. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92, 1533-1539.



## ÖZGEÇMİŞ

Atefeh VARMAZYARI, IRAN’da doğdu. İlkokulu Cehad Khoyi okulunda, ortaokulu Sekhnavayi ve lise eğitimini Sdige Kobra Kız Lisesinde tamamladıktan sonra 2004 yılında Khoy Üniversitesi, Ziraat Mühendisliği, Ziraat ve Bitki Islahı Bölümü’ne girerek 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl Khoy Üniversitesi, Ziraat Mühendisliği’nde yüksek lisansa başladı ve 2010 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü’nde doktora eğitimine başladı 2015 yılında doktora eğitimini tamamladı. Halen Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mühendislik Fakültesi, Nano Bilim ve Nano Mühendislik Anabilim Dalında’nda ikinci doktora eğitimine devam etmektedir.