



**FARKLI İLLERDEN ALINAN BİTKİLERDEN İZOLE
EDİLEN BAKTERİLERİN TANISI VE AZOT FİKSE ETME,
FOSFOR, POTASYUM VE KALSİYUM ÇÖZME
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Songül YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

I. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ

II. Danışman: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

2019

**T.C.
IĞDIR ÜNİVERSİTESİ**

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI İLLERDEN ALINAN BİTKİLERDEN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN TANISI VE AZOT FİKSE ETME, FOSFOR, POTASYUM VE
KALSİYUM ÇÖZME ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Songül YILMAZ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

IĞDIR

2019

Her hakkı saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

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

Songül YILMAZ



Bu çalışma İğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Merkezi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2017-FBE-A26

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

FARKLI İLLERDEN ALINAN BİTKİLERDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN TANISI VE AZOT FİKSE ETME, FOSFOR, POTASYUM VE KALSİYUM ÇÖZME ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YILMAZ, Songül

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

1. Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ
2. Tez Danışmanı: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

Şubat 2019, 75 sayfa

Bu çalışmada farklı illerden 23 sağlıklı bitki örneği materyal olarak alınmıştır. Bitkilerden yapılan izolasyon sonucunda 246 bakteri straini elde edilmiştir. Tütünde yapılan HR testi ile bakteri strainlerinin patajen olmadıkları belirlenmiştir. Strainler Mikrobial Tanı Sistemi kullanılarak tanılanmıştır. Yağ asit metil analiz sonuçlarına göre bakteri strainleri ; *Arthbacter* (17), *Brevibacillus* (12), *Bacillus* (65), *Lysinibacillus* (3), *Herbaspirillum* (7), *Kocuria* (21), *Paucimonas* (8), *Pseudomonas* (36) , *Virgibacillus* (3), *Microbacterium* (11), *Micrococcus* (8), *Erwinia* (4), *Stenotrophomonas* (8), *Nesterenkonia* (1), *Achromobacter* (1), *Curtobacterium* (5), *Rhodococcus* (7), *Enterobacter* (2), *Escherichia* (1), *Chryseobacterium* (1), *Xanthomonas* (3), *Acinetobacter* (5), *Rothia* (1), *Paenibacillus* (1), *Ochrobacterium* (1), *Pantoea* (1), *Sphingbacterium* (5), *Rhizobium* (3), *Grimontia* (1), *Aeromonas* (1), *Brevundimonas* (1), *Phyllobacterium* (1) ve *Staphylococcus* (1) olarak belirlenmiştir. Elde edilen bakteri strainleri azot fiksasyonu, fosfat, potasyum ve kalsiyum çözücü özellikleri bakımından test edilmiştir. Bunlar arasında *Herbaspirillum huttiense* (SK4, SK49), *Microbacterium esteraromaticum* (SK19, SK39, SY48), *Achromobacter xylosoxidans* (SK50), *Paucimonas lemoignei* (SK56), *Pantoea agglomerans* (SY43), *Pseudomonas putida* biotype B (YS2, DT17), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (EP19), *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (SA20) olmak üzere 12 tane strainin bütün testlerde pozitif sonuç verdiği, diğer strainlerin test sonuçlarının ise değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: MIS, Fosfat çözen bakteri, Potasyum çözen bakteri, Kalsiyum çözen bakteri, Azot fiksasyonu

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF BACTERIA ISOLATED FROM PLANTS TAKEN FROM DIFFERENT PROVINCES AND DETERMINATION OF PROPERTIES OF NITROGEN FIXATION, PHOSPHORUS, POTASSIUM AND CALCIUM SOLUBILIZING

YILMAZ, Songül

Master Thesis, Plant Protection Main Discipline

1st Thesis Adviser: Asst. Prof. Dr. Mesude Figen DÖNMEZ

2nd Thesis Adviser: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

February 2019, 75 pages

In this study, 23 healthy plant samples were taken from different provinces. 246 bacterial strains were isolated from the plants. Bacterial strains were tested for hypersensitive response (HR) on tobacco. HR test showed that bacterial strains were not pathogenic. The strains were identified by using the Microbial Identification System. According to the fatty acid methyl ester analysis results bacterial strains were determined as follow; *Arthbacter* (17), *Brevibacillus* (12), *Bacillus* (65), *Lysinibacillus* (3), *Herbaspirillum* (7), *Kocuria* (21), *Paucimonas* (8), *Pseudomonas* (36), *Virgibacillus* (3), *Microbacterium* (11), *Micrococcus* (8), *Erwinia* (4), *Stenotrophomonas* (8), *Nesterenkonia* (1), *Achromobacter* (1), *Curtobacterium* (5), *Rhodococcus* (7), *Enterobacter* (2), *Escherichia* (1), *Chryseobacterium* (1), *Xanthomonas* (3), *Acinetobacter* (5), *Rothia* (1), *Paenibacillus* (1), *Ochrobacterium* (1), *Pantoea* (1), *Sphingobacterium* (5), *Rhizobium* (3), *Grimontia* (1), *Aeromonas* (1), *Brevundimonas* (1), *Phyllobacterium* (1) ve *Staphylococcus* (1). The obtained bacterial strains were tested for nitrogen fixing, phosphate, potassium and calcium solubilising properties. *Herbaspirillum huttiense* (SK4, SK49), *Microbacterium esteraromaticum* (SK19, SK39, SY48), *Achromobacter xylosoxidans* (SK50), *Paucimonas lemoignei* (SK56), *Pantoea agglomerans* (SY43), *Pseudomonas putida* biotype B (YS2, DT17), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (EP19), *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (SA20) strains were found to be positive in all tests and the test results of other strains were found to be variable.

Key Words: MIS, Phosphate solubilizing bacteria, Potassium solubilizing bacteria, Calcium solubilizing bacteria, Nitrogen fixation

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Ülkemizde tarımsal üretimin önemli problemlerinden birisi, tarımsal ilaçların ve kimyasal gübrelerin bilinçsizce ve dengesiz olarak bitkisel üretimde kullanılmasıdır. Ülkemizde, yurt dışından petrolden sonra en fazla gübre alımı yapılmaktadır. Kimyasal gübrelerin pahalı olması, doğal gübre kaynaklarının giderek azalması ve kullanılan kimyasal gübrelerin toprak, su ve hava kirliliğine sebep olması, fikse olan besin elementlerinden bitkilerin faydalanamaması nedeniyle çalışmalar biyolojik gübreler olarak adlandırılan mikroorganizmalar üzerine yoğunlaşmaktadır. Toprak, bitkisel üretimde temel faktörlerden bir tanesidir ve toprakların verimliliği biyolojik aktivitesi ile yakından ilgilidir. Bu noktada mikroorganizmalar topraklarda kullanılmayan formda olan besin elementlerinin serbest hale dönüştürülmesini sağlayarak bitkilerin bu besin elementlerini alımını arttırmak ve bitki gelişimini teşvik etmek yoluyla bitki beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalar öncelikle azot fikse eden, fosfor, potasyum ve kalsiyumu çözebilen mikroorganizmaların izolasyonu, tanısı, çeşitli özelliklerinin ortaya konulması şeklinde bir sıra izlemektedir.

Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler konusunda mesleki deneyimleri ile beni doğru yönlendiren, çalışmalarındaki göstermiş olduğu büyük özveri ve özen için, danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi M.Figen DÖNMEZ'e, bitkilerin teşhisi için yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Yusuf ZEYNELOV'a, bazı örneklerin alınmasında ve izolasyonunda bana yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Yılmaz ÖZEN ve Elif PALA'ya, her zaman yanımda ve destek olan çok değerli aileme ve Kenan ASLI'ya teşekkür ederim.

Songül YILMAZ

Şubat, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	8
3. MATERYAL ve METOT.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1 Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar.....	18
3.1.2. Çalışmada kullanılan çözelti ve besiyerleri.....	18
3.2. Metot	20
3.2.1. Bitki örneklerinin toplanması	20
3.2.2. Bakteri strainlerinin yapraktan izolasyonu.....	20
3.2.3. Bakteri strainlerinin kökten izolasyonu.....	20
3.2.4. Bakteri strainlerinin topraktan izolasyonu.....	20
3.2.5. İzole edilen bakteri strainlerinin muhafazası.....	21
3.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi.....	21
3.3.1. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanılanması.....	21
3.3.2. Aerobik bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi.....	22
3.3.3. Yağ asit methyl esterlerinin saflaştırılması.....	22
3.4. Bakteri Strainlerinin Azot Fikse Etme Özelliğinin Belirlenmesi.....	23
3.5 Bakteri Strainlerinin Fosforu Çözme Özelliğinin Belirlenmesi.....	23
3.6. Bakteri Strainlerinin Potasyumu Çözme Özelliğinin Belirlenmesi.....	23
3.7. Bakteri Strainlerinin Kalsiyumu Kullanma Özelliğinin Belirlenmesi.....	24
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	25
4.1. Bakteri Strainlerinin İzolasyonu.....	25

4.2. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi.....	32
4.3. Mikroorganizmaların Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı.....	33
4.4. Bakteri Strainlerin Azot Fikzasyon Özelliğinin Belirlenmesi.....	34
4.5. Bakteri Strainlerinin Fosfor Çözebilme Özelliğinin Belirlenmesi.....	35
4.6. Bakteri strainlerin Potasyum Çözabilme Özelliğinin Belirlenmesi.....	36
4.7. Bakteri Strainlerin Kalsiyumu Çözabilme Özelliğinin Belirlenmesi.....	37
4.8. Tartışma.....	53
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	77

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%.....	Yüzde
(SO ₄) ₂	Sülfat
°C.....	Santigrat derece
µl.....	Mikrolitre
Al ⁺³	Alüminyum
Ca(OH) ₂	Kalsiyum hidroksit
Ca ⁺²	Kalsiyum
Ca ₃ (PO ₄) ₂	Kalsiyum fosfat
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CaCO.....	Kalsiyum karbonat
CO ₂ ⁻	Karbondioksit
Da.....	Dekar
dH ₂ O.....	Distile su
dk.....	Dakika
Fe ⁺²	Demir
g.....	Gram
H ⁺	Hidrojen
H ₂ O.....	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ PO ₄	Sülfürik asit
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O.....	Potasyum fosfat dibazik trihidrat
K ₂ SO ₄	Potasyum sülfat
KCl.....	Potasyum klorür
KNO ₃	Potasyum nitrat
KOH.....	Potasyum hidroksit
Mg.....	Miligram
MgSO ₄ 7H ₂ O.....	Magnezyum sülfat heptahidrat
ml.....	Mililitre
N.....	Azot

N₂	Azot gazı
NaCl	Sodyum klorür
NaNO₃	Sodyum nitrat
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NH₃	Amonyak
pv	Pathovar
s	Saniye
sa	Saat
sdH₂O	Steril distile su
Si⁺⁴	Silisyum
sp	Tür
spp	Türler

Kısaltmalar

FAME	Yağ asit metil ester (Fatty acid methyl ester)
HR	Tütünde aşırı duyarlılık testi
LAB	Laktik asit bakterisi
MIS	Mikrobiyal tanı sistemi
NA	Nutrient agar
NAS	Nutrient Starch Agar
NB	Nutrient Brot
NBRIP-BPB	National Botanical Research Institutes's Phosphate Growth Medium
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
Psp	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>
Pss	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>
Pvk	Pikovskaya agar
TSA	Trypticase soy agar
TSBA	Tryptic Soy Broth Agar
Xcp	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>
YDC	Yeast dekstrose kalsiyum karbonat agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 4.1. Saf kültürlerin oluşturulması.....	25
Şekil 4.2. Bakteri süspansiyonun tütün yaprağının alt yüzeyine enjektörle infiltre edilmesi.....	32
Şekil 4.3. Bakteri strainlerinin N-Free Solid Malate-Sucrose ortamında gelişmesi....	34
Şekil 4.4. NBRIP-BPB besiyerinde renk açılması	35
Şekil 4.5. Aleksandrow besiyerinde pozitif sonuç.....	36
Şekil 4.6. YDC besiyerinde koloni gelişiminin etrafında oluşan şeffaf zon.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1. Iğdır ilinden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı.....	26
Çizelge 4.2. Adıyaman-Ulubaba köyünden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı.....	28
Çizelge 4.3. Şanlıurfa-Tepe köyünden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı.....	29
Çizelge 4.4. Van-Erciyiş-Ağaçören köyünden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı.....	29
Çizelge 4.5. Bakteri strainlerinin tütünde HR testi ve MIS tanı sonucu, azot fikse etme, fosfor, potasyum ve kalsiyum çözme özellikleri.....	38

1. GİRİŞ

Dünyada yaşanan hızlı sanayileşme ve nüfus artışı önemli çevre sorunlarını da beraberinde getirmiştir. Kullanılabilir tarım alanlarının bir kısmının erozyon, çoraklaşma, turizm ve yerleşim alanlarına dönüştürülmesi ile kullanılamaz hale gelmesi ve giderek artan dünya nüfusunun gıda ihtiyacının karşılanmasının gerekliliği tarım sistemlerinin yeniden değerlendirilmesi sonucunu doğurmuştur (Aksoy, 2001; Zengin, 2007; Glick, 2012). Bu amaçla tarımsal üretimde birim alandan yüksek verim ve kalitede ürün almak hedef olarak belirlenmiştir (Dursun *et al.*, 2010). Bununla birlikte tüm dünyada bitkisel üretim ve hastalık/zararlı kontrolünde yoğun olarak ve bilinçsizce pestisit ve kimyasal gübre kullanılır hale gelmiştir. Bu yüzden toprak verimliliği ve biyolojik çeşitlilik olumsuz etkilenmiş, toprakta bulunan mikroorganizmaların faaliyetleri azalmış, patojen ve zararlı popülasyonları artmış, patojen ve zararlı etmenlerde ilaçlara karşı dayanıklılık riski oluşmuş, doğal denge bozulmuş ve tüm bu olumsuzluklar maalesef ki insan, hayvan ve çevre sağlığını tehdit eder duruma gelmiştir (Akman ve Kara, 2001; İltter ve Altındışli, 2002; Szekeres, 2006; Yolcu ve Daşçı, 2008). Ayrıca ürünlerdeki pestisit kalıntıları başta ihracatımız olmak üzere, iç pazarda da büyük marketlerde pazarlamayı engelleyen en önemli unsur olarak karşımıza çıkmaya başlamıştır (Tosun ve ark., 2003). Dolayısıyla sorunun üstesinden gelmek adına yapılan yoğun miktarlarda kimyasal kullanımı kısır bir döngünün meydana gelmesine sebep olmuştur (Verma *et al.*, 2007).

Tarımsal üretimde istenilen nitelik ve nicelikte ürün elde etmenin koşulu toprak verimliliğini optimum düzeyde tutmaktır. Bir toprağın verimli sayılabilmesini belirleyen unsurların başında, o toprağın bitkiler için gerekli besin elementlerini sağlama kapasitesi gelmektedir. Bu nedenle; verimli toprağın herşeyden önce üzerinde yetiştirilen bitkilerin gereksinimlerini karşılayacak düzeyde besin elementlerini içermesi gerekmektedir. Kültür topraklarını bitkilerin besin elementi gereksinimini sağlayacak düzeyde tutmak için yapılacak kültürel işlemlerin başında ise gübreleme uygulamaları gelmektedir (Emrebaş, 2010). Gübrelemedeki temel amaç; gelişme dönemi boyunca bitkinin gereksinimi olan besin elementlerini kök bölgesinde bulundurmak, toprağın organik maddesini ve mikrobiyal aktivitesini arttırmaktır. Birim

alandan sağlanan tarımsal üretimi, olanaklar ölçüsünde en yüksek ekonomik düzeye ulaştırmak için, gübrelemenin bilinçli olarak yapılması, uygulanan besin elementlerinin bitkiye yararlı olması ve aynı zamanda yetişme periyodu boyunca bitkilerin yararlanabileceği formda bulundurulması gerekmektedir (Emrebaş, 2010). Ancak kimyasal gübreler, çok daha fazla verim alabilmek düşüncesi ile rastgele zamanlarda, ölçü tanımaz miktarlarda ve bilimsel olmayan yol ve metotlarla araziye uygulanmaktadır. Bu şekilde bilinçsizce kullanılan gübrelerin bir kısmı bitkilere yararlı olabilmekte geri kalan kısmı ise toprak sisteminden yıkanma, yüzey akışları ve buharlaşma ile uzaklaşmakta veya toprakta sıkı bir şekilde tutulabilmektedir. Bu şekilde topraktan uzaklaşan gübreler toprak, hava ve su ortamlarında çeşitli olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Saber, 2001). Azotlu gübreler gibi bir kısmı topraktan uzaklaşan azotun fosforlu gübreler gibi toprakta adsorbe olabilen fosfor ve potasyumun toprak sistemi üzerindeki olumsuz etkileri toprağın kuvvetli bir tamponlama gücüne sahip olmasından dolayı hemen fark edilmemektedir. Ayrıca uzun vadede, bilimsel esaslara uygun olmayan gübreleme toprakların fiziksel, kimyasal ve biyolojik dinamiklerini olumsuz yönde etkilemekte ve sonuğa önemli bir sorun olan çevre kirliliği meydana gelmektedir. Özellikle yüksek düzeyde sodyum içeren gübreler ve potasyumlu gübreler, toprak tekstürü üzerine olumsuz etki yapmaktadır. Belli gübrelerin kontrol edilmeden, yüksek düzeylerde kullanılması sonucu, topraklarda toksik maddeler birikebilmektedir (Aksoy ve Altındışli, 1998). Bu durum hem verimin düşük olmasına hem de gübrelerin etkin olarak kullanılamamasına yol açmaktadır. Yanlış uygulama sonucunda toprakta denge halinde bulunan mikrobiyal fauna yararlı mikroorganizma popülasyonununun aleyhine bir değişime uğramakta bu da bitki patojenlerinin toprakta baskın hale gelmesine yol açmaktadır (Vessey, 2003; Er, 2009).

Tarım sisteminde en çok azot ve fosfor içelikli kimyasal gübreler kullanılmaktadır. Çünkü her iki besin elementi de bitki gelişmesini ve alınan ürün miktarını sınırlayan en önemli besin elementleridir (Metha and Nautiyal, 2001). Bitkilerce topraktan alınan besinler içerisinde en çok gereksinim duyulan azot, büyük ölçüde aminoasitlerin, nükleik asitlerin, proteinlerin, klorofilin ve çeşitli vitaminlerin sentezi için gereklidir ve karbondan sonra bitki dokularında en çok bulunan ikinci elementtir (Müftüoğlu ve Demirer, 1998; Whitehead, 2000). Havanın %78'ini azot

oluşturduğundan atmosfer azotun temel kaynağıdır denilebilir. Ancak azot atmosferde bu denli fazla miktarda bulunmasına karşın bitkiler havadaki serbest azottan yararlanamamaktadır (Boşgelmez ve ark., 2001). Atmosferdeki azotun bitkiler tarafından kullanılabilir hale gelmesi için endüstriyel olarak işlenmesi veya biyolojik yolla fikse edilmesi gerekmektedir. Endüstriyel azot fiksasyonu yüksek enerji girdisine ve daha çok iş gücüne ihtiyaç duymakta, üretim sistemi ile çevre kirliliğine neden olmaktadır (Haktanır ve Arcak, 1997). Azotlu gübre hammaddelerinin bir kısmının nafta, kömür, doğalgaz gibi fosil kaynaklar olduğu düşünüldüğünde, kimyasal azotlu gübre kullanımının tarımda üretim maliyetini arttırdığı görülmektedir. Oysa biyolojik olarak azot fiksasyonu, bazı mikroorganizmalar tarafından (bakteriler, mavi yeşil algler ve funguslar) nitrogenaz enzimini kullanarak düşük enerji tüketimi ile gerçekleştirilebilmektedir (Özturan ve Akman, 2017). Ayrıca azotlu gübrelerden 1 kg üretmek için 20.000 kcal'lik enerjiye ihtiyaç duyulduğu dikkate alındığında, biyolojik azot fiksasyonunun önemi kendiliğinden ortaya çıkmaktadır (Çakır, 2005; Uyanık *et al.*, 2011). Biyolojik azot fiksasyonu; atmosferde bulunan moleküler azotun mikroorganizmalar tarafından amonyum formlarına çevrilerek toprağa bağlanması, yarıyışlı duruma geçmesi olayıdır. Azot fiksasyonu biyolojik olarak *Clostridium*, *Azotobacter*, *Agromonas*, *Klebsiella* ve *Bacillus* gibi toprakta serbest yaşayan bakteriler tarafından gerçekleştirilebildiği gibi konukçu seçiciliği gösteren *Rhizobium* bakterileri tarafından simbiyotik ilişki ile özellikle baklagil bitkilerinin köklerinde oluşan nodüller sayesinde de gerçekleştirilebilmektedir (Hirano *et al.*, 2001; Özdemir, 2002). Bu mikroorganizmaların nitrogenaz enzimini üretme yeteneklerinin olduğu, enzimin N₂'nin NH₃'e dönüşümünü kataliz ettiği ve bu yolla oluşan amonyağın aminoasitler haline dönüşerek bitkiler tarafından kullanıldığı bildirilmiştir (Hansen, 1994; Hardoim, 2011). Kızıloğlu (1995) tarafından yapılmış olan bir çalışmada, biyolojik azot tespiti ile elde edilen azotun kimyasal yolla tespit edilen azota oranla dört kat daha fazla olduğu ve bunun simbiyotik ve non-simbiyotik yollarla gerçekleştiği belirlenmiştir.

Bitki gelişimi açısından azottan sonra gelen en önemli besin elementlerinden birisi de fosfordur. Bitkiler ortamda bulunan fosforu kökleri aracılığıyla primer orto fosfat (H₂PO₄) iyonu ve azda olsa sekonder orto fosfat (HPO₄⁻²), pirofosfat ve metafosfat şeklinde almaktadır (Goldstein, 1994). Bu inorganik formlar yanında bitki

organik parçalanma ürünleri olan nükleik asit ve fitin gibi bazı organik fosfatlardan da yararlanmaktadır. Bu durum bize aynı zamanda fosforun bitki bünyesinde yapı maddeleri olan nükleik asitlerin ve fitinin oluşmasında önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Ayrıca fosforun ATP ve protein sentezinde, metabolik ara ürünlerin aktivasyonunda, fosfolipidlerin yapısal elemanı olmasında, enzimlerin translasyon sonrası regülasyonunda temel hücresel görevleri vardır ki bunlar fosforun bitkiler için mutlak lüzumlu bir element olduğuna işaret etmektedir (Azkan, 2002; Kocaçalışkan, 2008).

Türkiye topraklarında, aşırı düzeyde fosfor fiksasyonu nedeniyle bitkiler fosfor noksanlığı belirtileri göstermektedir. Kimyasal gübreler ile verilen fosforlu gübrelerin ancak %10-30'u bitkilerce alınmakta, geri kalanı ya fikse olmakta, yada yağmur veya sulama suları ile yıkanarak yer altı sularına veya yüzey sularına karışarak kirliliğe neden olmaktadır (Shigaki *et al.*, 2006). Çoğu durumda toprakta fosfor miktarı yeterli olsa veya düzenli olarak gübreleme yapılırsa bile, bitkilerce alım etkinliği düşük olmaktadır. Bu yüzden alınabilir fosfor yüksek verim için genellikle yetersizdir ve uygulanan inorganik fosfor da gübrelemeden hemen sonra fikse edilerek kullanışsız hale gelmektedir (Goldstein, 2000). Bu durum bitkilere yarayışlı fosforun asit reaksiyonlu topraklarda alüminyum, silisyum ve demir gibi maddelerle metalik kompleks bileşikler halinde veya alkali reaksiyonlu topraklarda kalsiyum karbonat ile çözünmez kompleks bileşikler oluşturmak suretiyle fikse olmasından dolayı ortaya çıkmaktadır (Kacar ve Katkat, 2007; Bilgin, 2008).

Dünya tarım alanlarının yaklaşık %67'sinde yarayışlı fosfor içeriğinin çok az olduğu ve gün geçtikçe fosfor kaynaklarının azalacağı göz önüne alındığında fiksasyon olgusu ayrı bir önem kazanmaktadır. Bu nedenle günümüzde üreticiler, çevre kirliliğine sebep olan kimyasal gübre kullanımını azaltıcı yönde faaliyetlere önem vermektedirler (Te-Hsiu, 1999). Bunun sonucu olarak toprakta fosfor eksikliğinin giderilmesinde ve topraktaki kullanılmayan fosforun çözülerek bitkiler tarafından kullanılabilir forma dönüştürülmesinde fosfat çözücü organizmaların kullanımının araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır. Çalışmaların sonucunda bitkiden ve toprakta izole edilen bazı mikroorganizmaların tarım sisteminde bitkinin fosfor alımına önemli derecede etki ederek bitkilerin daha iyi gelişmesini sağladıkları ve verimi arttırdıkları ortaya

konulmuştur (Frossard *et al.*, 2000; Narsian and Patel, 2000; Richardson, 2001; Sujatha *et al.*, 2004; Şahin ve ark., 2004; Vassilev *et al.*, 2006; Nahas, 2007; Çakmakçı ve ark., 2010).

Fosfat çözen mikroorganizmalar arasında, bakterilerin rizosferde yaygın olarak bulunduğu ve genellikle *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Streptomyces*, *Serratia*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Aerobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Proteus* cinslerinde yer aldıkları tespit edilmiştir (Rodriguez and Fraga, 1999; Turan *et al.*, 2005; Karakurt, 2006). Fosfat çözücü bu bakteriler topraktaki kalsiyumapatit, oksiapatit, hidroksiapatit, dikalsiyum fosfat, trikalsiyum fosfat, mangan fosfat, demir fosfat, alüminyum fosfat formları ve kaya fosfatı gibi suda çözünemeyen ve az çözünen fosfor kaynaklarını çözünebilir hale getirmektedir (Rodriguez and Fraga, 1999; Sujatha *et al.*, 2004; Vassilev *et al.*, 2006). Çözünemez formdaki fosforun bitkiye yararlı forma dönüştürülmesi işleminde bakteriler trikarboksilik asit, 2- ketoglukonik asit, sitrikasit, formik asit, asetik asit, propionik asit, glutamik asit, suksinik asit, laktik asit, okzalik asit, glukolik asit, malik asit, izobütirik asit, izovalerik asit, fumarik asit ve tartarik asit gibi organik asitler üretmektedir (Whitelaw *et al.*, 1999; Sundara *et al.*, 2002). Bakteriler tarafından salgılanan bu organik asitlerin fosfor çözünürlüğünde temel mekanizma olduğu, organik asitlerin toprak pH'sını düşürerek fosforlu bileşiklerin çözünürlüğünü arttırdığı bilinmektedir (Seshadri *et al.*, 2004; Antoun and Prevost, 2006). Ayrıca bu mikroorganizmalar tarafından salgılanan asit fosfataz enzimi topraktaki fosforun serbestlenmesini sağlayan ester-fosfat hidrolizlerini katalizlemede önemli rol oynamakta, bu özelliği ile fosfor çözünürlüğünde önem taşımaktadır (Richardson *et al.*, 2000; Tarafdar *et al.*, 2003; Quiquampoix and Mousain, 2005; Aseri *et al.*, 2009).

Potasyum, dünyanın en bol yedinci elementidir. Bu kadar bol miktarda olmasına rağmen bitkiler potasyumun sadece % 1-2'sini kullanabilmektedir (Sparks and Huang, 1985). Geri kalan büyük miktardaki potasyum diğer minerallerle bağlı olduğundan bitkiler tarafından kullanılamaz durumdadır. Bu yüzden bitkilerin çoğunda potasyum noksanlığı bildirilmektedir (Xiao *et al.*, 2017). Potasyumun serbest kalmasını sağlayan, minerilizasyonu etkileyerek toprak verimliliğini arttıran faydalı mikroorganizmaların

varlığı çeşitli çalışmalarda kanıtlanmış, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus edaphicus*, *Burkholderia*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Arthrobacter* sp., *Enterobacter hormaechei*, *Paenibacillus mucilaginosus*, *P. frequentans*, *Cladosporium*, *Aminobacter*, *Sphingomonas*, *Burkholderia* ve *Paenibacillus glucanolyticus* türlerinin potasyumu çözen bakteriler olduğu rapor edilmiştir (Parmar and Sindhu, 2013; Meena *et al.*, 2014; Meena *et al.*, 2016). Bu bakteriler arasında *B. mucilaginosus*, *B. edaphicus* ve *B. circulans* silikat kayasını en etkili çözen türler olarak tespit edilmiştir (Meena *et al.*, 2016). Bu mikroorganizmaların genellikle toprakta bulunduğu, özellikle rizosfer, nonrizosfer ve tuzlu topraklardan izole edildiği belirtilmiştir (Bhattacharya *et al.*, 2016; Bakhshandeh *et al.*, 2017).

Potasyum çözen bakterilerin potasyumun bağlı bulunduğu minerallerden potasyumun serbest kalmasında etkili olan çeşitli organik asitleri (oxalic asit, tartaric asit, gluconic asit, 2-ketogluconic asit, citric asit, malic asit, succinic asit, lactic asit, propionic asit, glycolic asit, malonic asit, fumaric asit) salgıladığı belirlenmiştir (Hu *et al.*, 2006; Keshavarz Zarjani *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2012; Prajapati *et al.*, 2013; Saiyad *et al.*, 2015; Sheng and He, 2006). Potasyumun bağlı olduğu minerallerden ayrılması asidolysis adı verilen mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bakteriler tarafından üretilen organik/inorganik asitler ve serbest kalan H⁺ direkt mineral potasyumu çözmektedir (Sheng *et al.*, 2008; Uroz *et al.*, 2009; Maurya *et al.*, 2014; Meena *et al.*, 2015). Organik materyallerin mikrobiyal parçalanması sonucunda oluşan amonyak ve hidrojen sülfür toprakta oksitlenerek nitrik asit ve sülfürik asit gibi güçlü asitleri oluşturmaktadır. Asitlerin üretilmesi ve toprak pH'sının yükselmesiyle potasyumun Si⁴⁺, Al³⁺, Fe²⁺ ve Ca²⁺ iyonlarıyla birleşerek oluşturduğu kompleks yapılardan potasyum serbest kalmaktadır (Styriaková *et al.*, 2003; Römheld and Kirkby, 2010).

Antropojenik kaynaklardan kaynaklanan karbondioksit (CO₂) gazı salınımının neden olduğu küresel ısınma, çevre için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bu gazın bir kısmı, suda yaşayan bakterilerin yanı sıra toprak bakterileri tarafından da absorbe edilmekte bir kısmı ise çözünmeyen kalsiyum karbonata (CaCO₃) veya kalsite dönüşmektedir. Su ve tarım arazisindeki CaCO₃ veya kalsit konsantrasyonunun artması ise birçok problem yaratmaktadır. Alkali şartlar altında çözünmesi zor olan CaCO₃ ve

kalsiti bakteri strainlerinin salgıladıkları sitrik asit, oksalik asit ve sanazin pigmentinin çözdüğü tespit edilmiştir (Rana *et al.*, 2015).

Tarımsal kimyasallara daha az bağımlı olan, besin elementlerinin doğal döngü içerisinde tekrar toprağa ve daha sonrasında ise bitkilere kazandırılmasında önemli rol oynayan çevre dostu metotların kullanılmasına ve bu tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına gereksinim vardır (Szekeres 2006; Çığ, 2010). Bu nedenle tarımsal üretimde verimliliğin artırılmasına, toprakların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin iyileştirilmesine, biyolojik çeşitliliğin ve doğal kaynakların muhafazasının sağlanmasına katkıda bulunacak biyolojik ürünlerin kullanımı gereklidir (Akman ve Kara, 2001; Singh *et al.*, 2011; Toprak, 2012). Çünkü toprak sağlığı; bitki ve çevre sağlığı, gıda güvenliği ve kalitesini yakından etkilemektedir (Nielsen ve Winding, 2002). Bu anlayış tarzı ile doğadan aldığını tekrar doğaya kazandıran, tarımda kimyasal kullanımını azaltan veya kimyasal yerine kullanılabilen mikroorganizmaların izolasyonu, tanısı, azot fikse edebilme, fosfor, potasyum ve kalsiyum çözebilme özellikleri bu tez çalışmasının amacını oluşturmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitkiler tarafından topraktan alınan 13 elementten altısı (azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve kükürt) diğerlerine göre daha fazla kullanılmaktadır. Bu elementler bitki tarafından fazla miktarda kullanıldıklarından, makro elementler olarak isimlendirilmiştir. Belirtilen elementlerin toprakta yeterli düzeyde bulunmamaları veya diğer besin elementleri ile dengeli olmamaları durumunda bitki büyümesi yavaşlamakta, çeşitli noksanlık belirtileri oluşmakta ve verim düşmektedir (Kocaçalışkan, 2008).

Bitkisel verimin artırılması için, azot fikse eden, toprakta kullanılmayan formda bulunan besin elementlerinin alınmasında rol oynayan uygun ve rekabet gücü yüksek bakterilerin tespiti ve bitkilerin belirlenen bakterilerle inokule edilmesi önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu konuda yapılan çeşitli çalışmalarda rizosferde mikrobiyal topluluğu oluşturan saprofitik, epifitik ve endofitik bakterilerin toprağa veya bitki tohumlarına inokulasyonu ile bitki büyümesinin teşvik edildiği rapor edilmiştir (Narsiyan and Patel, 2000; Ratti *et al.*, 2001; Cebel 2004; Çakmakçı *et al.*, 2007; Kılıç *et al* 2007;).

Halder *et al.* (1990) tarafından *Bradyrhizobium* ve *Rhizobium* strainlerinin kaya fosfatını çözme özellikleri in vitro ortamda test edilmiş ve strainlerin hepsinin kaya fosfatını etkili olarak çözdüğü ve besiyerinin pH değerini düşürdüğü tespit edilmiştir. Strainler arasında *Rhizobium leguminosarum* BICC635'in en etkili strain olduğu ve inokulasyonun üçüncü gününden sonra maksimum fosfat çözümü ile asit üretiminin meydana geldiği belirlenmiştir. Besiyerine CaCl₂, CaCO₃ ve Ca(OH)₂ gibi kalsiyum bileşiklerinin eklenmesinin çözülen fosfor miktarında azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Nahas (1996), tarafından yapılan bir çalışmada 31 bakterinin fosfor çözme özelliğinin tespiti için içerisinde kaya fosfatı ve kalsiyum fosfat olan besiyeri kullanılmıştır. Çalışma sonunda sekiz bakteri straininin fosfat çözme kabiliyetinin olduğu, bunlar arasında *Pseudomonas cepacia* türünün diğerlerine göre yüksek fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir.

De Freitas *et al.* (1997), tarafından tarlada yetiştirilen buğday, bezelye, kanola, arpa ve mısır bitkilerinin kök bölgesinden alınan örneklerden 111 adet bakteri straini izole edilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerinden 9 tanesinin PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) özelliklerinin olduğu yapılan fosfatı çözebilme testleri ile belirlenmiştir. En etkili fosfat çözen bakteriler yağ asit metil ester analizi (FAME) ile *Bacillus brevis*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *Xanthomonas maltophilia* olarak tanımlanmıştır.

KimYong *et al.* (1998), tarafından *Enterobacter agglomerans* gibi bazı toprak bakterilerinin ürettikleri enzimlerle organik fosfat bileşiklerini parçaladığı ve inorganik fosfat bileşiklerini çözerek bitki büyümesine yardımcı oldukları belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, bakterilerin fosfat çözücü özellikleri bakımından en elverişli karbon kaynaklarının glikoz ve çözünen nişasta olduğu tespit edilmiştir.

Cattelan *et al.* (1999), tarafından azot bağlayan bakterileri tespit etmek için yapılan araştırmada azot içermeyen bir besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinde gözlemledikleri bakteri gelişimine göre *Pseudomonas chlororaphi* ve *Pseudomonas putida* türlerine ait beş strainin azot bağlama özelliğine sahip olduğu bulunmuştur.

Nautiyal (1999), tarafından topraktan izole edilen mikroorganizmaların fosfor çözme yeteneklerini belirleyebilmek için yapılan bir çalışmada PVK besiyerinden daha etkili olan NBRIP besiyeri geliştirilmiştir. Bu amaçla daha önceden fosfor çözdüğü bilinen bakteriler her iki besiyerinde de geliştirilmiştir. Petri denemelerinde katı NBRIP besiyeri PVK besiyerine kıyasla daha etkili bulunurken sıvı NBRIP besiyerinin PVK'ya oranla 3 kat daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Sonuç olarak topraktan izole edilen bakterilerin fosfor çözme kabiliyetlerini belirleyebilmek için sıvı NBRIP ortamının daha avantajlı olduğu saptanmıştır.

Nautiyal *et al.* (2000), tarafından yürütülen bir araştırmada alkali topraktan ve nohut rhizosferinden elde edilen NBRI0603, NBRI2601, NBRI3246 ve NBRI4003 strainlerinin fosforu çözebildikleri tespit edilmiştir. Ancak in vitro koşullarda, strainlerin fosforu çözme aktivitelerinin farklı azot (KNO_3 , $CaNO_3$, $NaNO_3$ ve $(NH_4)_2NO_3$) ve karbon kaynağı (fruktoz, galaktoz, sorbitol, mannitol, xyloz, sukroz, maltoz ve laktoz) varlığında değişik seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Asit üretiminin

fosforu çözmeye katkı sağladığı fakat besiyerinde fosforun serbest kalmasının tek nedeninin olmadığı belirtilmiştir. Dört strain içerisinde NBRI2601'in %10 tuz varlığında, pH 12 veya 45°C'de fosfor çözme kapasitesinin maksimum seviyede olduğu saptanmıştır.

Vazquez *et al.* (2000), tarafından *Avicennia germinans* L. ve *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. bitkilerinin köklerinden yapılan izolasyon sonucunda elde edilen mikroorganizmaların fosfor çözme kabiliyetleri *in vitro* ortamda test edilmiştir. Elde edilen strainlerin fosfor çözme özelliği fosfor kaynağı olarak suda çözünmeyen kalsiyum fosfat ilave edilerek hazırlanan katı besiyerinde değerlendirilmiştir. Bakteri strainlerinden 12 tanesinin (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrophaeus*, *Paenibacillus macerans*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter taylorae*, *Enterobacter asburiae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Chryseomonas luteola*) besiyerinde gelişen kolonilerinin etrafında oluşan zon ölçülerek fosforu çözdüğü tespit edilmiştir. Bakteriler içerisinde *V. proteolyticus*'un en fazla fosforu çözen bakteri olduğu saptanmıştır.

Hirano *et al.* (2001), tarafından uzun yıllar kimyasal uygulanmış bir pirinç tarlası ile doğal haldeki bir pirinç tarlasındaki bitkilerin kök bölgesinden örnekler alınmıştır. Örneklerden yapılan izolasyon çalışması sonucunda elde edilen bakteri strainlerinden azot bağlayan bakterilerin tanısını 16s rDNA analizi ile yapılmıştır. Azot bağlayan bakterilerin % 98.3 -99.3'ü *Agromonas oligotrophica* olarak belirlenmiştir.

Mehta and Nautiyal (2001) tarafından yapılan bir araştırmada fosfat çözücü bakterilerin seçimi için görsel gözlemlere dayalı bir protokol geliştirilmiştir. Bu yöntemde, bromfenol mavisi içeren besiyeri formülasyonu kullanılarak fosfat çözücü bakterilerin nitel bir temele dayalı olarak kısa sürede seçilmelerinin mümkün olduğu görülmüştür. Dolayısıyla fosfat çözücü bakterileri elemek için, biyokimyasal prosedürleri sürdürmeye gerek kalmadığı ve zamandan dikkate değer bir tasarruf sağlandığı bildirilmiştir.

Aydoğan (2004), tarafından yürütülen bir çalışmada farklı toprak ve su örneklerinden izole edilen 670 bakteri straini trikalsiyum fosfat ve Mazıdağı fosfat

kayasını çözüme yetenekleri bakımından test edilmiştir. 42 strainin trikalsiyum fosfat ve Mazıdağı fosfat kayasını çözdüğü ve bunlar içerisinde 7 strainin maksimum çözünürlük gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu 7 strain (MFB7, MFB25, MFB44, MFB66, MFB69, MFB72 ve MFB81) biyokimyasal özellikleri ve yağ asit profillerine bağlı olarak *Bacillus* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Acinetobacter radioresistens*, *Vibrio carchariae*, *Erwinia chrysanthemi*, *Acinetobacter calcoaceticus* ve *Vibrio aestuarianus* olarak tanımlanmıştır. Bu bakterilerden *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio carchariae*, *Erwinia chrysanthemi* ve *Vibrio aestuarianus* türlerinin fosfat çözme yetenekleri ilk kez bu çalışmada belirlenmiştir.

Kuklinsky-Sobral *et al.* (2004), tarafından soya fasulyesinin genç ve yaşlı döneminde aldıkları örneklerden yapılan izolasyon sonrasında epifitik ve endofitik bakteri strainleri elde edilmiştir. İzole edilen strainlerin çoğunlukla *Pseudomonaceae*, *Burkholderiaceae* ve *Enterobacteriaceae* familyalarına ait oldukları belirlenmiştir. Bitkinin genç gelişme döneminde elde edilen bakteri strainlerinin % 60'ının fosfatı çözebildiği, yaşlı bitkilerden izole edilen bakterilerin ise % 50'den daha azının fosfatı çözebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte fosfatı çözebilen strainlerin çoğunun nitrojeni fikse edebildikleri de belirlenmiştir.

Ahmad *et al.* (2005), tarafından yapılan çalışmada çeşitli toprak örneklerinden azot içermeyen Jensen's besiyeri kullanılarak izolasyon yapılmıştır. Elde edilen 21 bakteri straininden 11 tanesinin *Azotobacter*, 10 tanesinin ise *Pseudomonas* olduğu tespit edilmiştir.

Pradhan and Sukla (2005), tarafından bakterilerin fosfat çözme kapasitesine amonyum ve nitrat tuzlarının etkisi değerlendirilmiştir. Amonyum tuzunun ortam pH'sını düşürerek fosforun çözülmesinde en iyi etkiyi yaptığı belirlenmiştir.

Çubukcu (2007), tarafından Aydın ilinde yapılan bir çalışmada farklı pamuk çeşitlerinden ve yabancı otlardan 280 tane endofitik bakteri straini izole edilmiştir. Elde edilen 280 strain arasından 6 bakteri straininin fosfatı çözebilme özelliğinde olduğu bulunmuştur.

Caballero-Mellado *et al.* (2007), tarafından Meksika'da yapılan bir çalışmada domates üretim alanlarından elde edilen bakteri strainleri azot bağlama özelliği

bakımından test edilmiştir. Strainlerden *Burkholderia* türlerinin in vitro koşullarda azotu bağladığı, bitki büyümesini artırmak için ya da biyolojik kontrol sağlamada kullanılabilceği bildirilmiştir.

Çetinkaya Yıldız (2007), tarafından toprakta çözünmeyen formda bulunan fosfatı çözen PGPR'ların saptanması amacıyla yapılan çalışmada, Adana, Antalya, Hatay, Osmaniye, Mersin ve Muğla illerinden alınan 39 farklı toprak örneğinden 386 adet bakteri straini elde edilmiştir. Bu strainlerin tütünde aşırı duyarlılık ve patatesteki pektolitik aktivite testlerinde negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Fosfatı indirgeyen bakterilerin seçiminde sıvı NBRIP besiyerinin içerdiği bromfenol blue'da meydana gelen renk açılması bir kriter olarak değerlendirilmiştir. Sıvı NBRIP besiyerine inokule edilen 386 strainden 34 tanesinin besi ortamında renk açılması oluşturduğu ve fosfatı çözdüğü kabul edilmiştir. Toprakta elde edilen PGPR strainlerinin azotu bağlama yeteneklerinin belirlenmesi için bakteriler Jensen's besiyerine inokule edilmiştir. Her bir petri kabına 6 adet farklı bakteri straini ekilerek gelişmeye bırakılmış ve çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Azot içermeyen Jensen's besiyerinde gelişen 21 bakteri straininin pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Forchetti *et al.* (2007), tarafından yapılan bir çalışmada sulak ve kurak ortamlarda yetiştirilen ayçiçeği bitkilerinden endofitik bakteri izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen bakterilerin fosfatı çözme özelliği belirlenmiş ve fosfatı çözebilme aktivitesine sahip endofitik bakteri strainlerinin daha çok kuraklığa maruz kalan bitkilerden izole edildiği tespit edilmiştir.

Küsek (2007), tarafından yapılan bir çalışmada Mersin, Adana, Osmaniye, Hatay, Gaziantep ve Kahramanmaraş illerinde bulunan bağ alanlarından PGPR izolasyonu için 39 toprak örneği alınmıştır. Toprak örneklerinden 464 adet bakteri straini izole edilmiştir. Katı NBRIP besi yeri kullanılarak strainlerden 63'ünün fosforu çözdüğü belirlenmiştir. Nicel olarak strainlerin fosforu çözme miktarı belirlenmiş ve en yüksek fosfor çözen 10 strain seçilerek çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

Özyılmaz (2007), tarafından yapılan bir çalışmada Aydın ili Sultanhisar ilçesinde yetiştirilen sağlıklı çilek bitkileri, karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana,

turp, bakla ile yabancı otlardan yabancı turp, darıcan ve çoban çantası bitkilerinin köklerinden 362 adet bakteri straini elde edilmiştir. Bu strainler içerisinde antagonistik özellikleri belirlenen 101 adet bakteriden bazı ön testler yapılarak 24 tanesi seçilmiş ve bu strainler yağ asiti metil ester analizi (FAME) ile tanılanmıştır. Değerlendirmeye alınan 24 bakteri türünün *Pseudomonas* genusunda (*Pseudomonas fluorescens* biotype A, *Pseudomonas fluorescens* biotype F, *Pseudomonas putida* biotype A) yer aldığı tespit edilmiştir. 24 antagonist bakteri straininden hiçbirinin kitinaz, selülaz ve pektinaz enzim aktivitesi göstermediği buna karşın 3 strainin fosfataz enzimi ürettiği, 20 strainin de inorganik fosfatı çözebilmeye yeteneğinde olduğu in vitro testlerle belirlenmiştir.

Ünlü (2007), tarafından Adana ilinde yapılan bir araştırmada sardunya yetiştiriciliği yapılan alanlardan PGPR izolasyonu için toplam 16 adet toprak örneği alınmıştır. Örneklerden 234 adet bakteri straini izole edilmiştir. Elde edilen bu bakteri strainlerinden 60 tanesinin katı NBRIP besiyerinde fosforu çözdüğü belirlenmiştir.

Çakmakçı *et al.* (2008), tarafından azot fikse eden ve hormon üreten bakteri izolasyonu amacıyla Çoruh Vadisinde Kaçkar Dağları'nın güney batısında coğrafik olarak birbirinden farklı 8 bölgede yetişen yabancı ahududu bitkilerinin rizosfer toprağından örnek alınmıştır. İzolasyonda azotsuz katı malat-sukroz besiyeri kullanılmıştır. Saflaştırılan strainler, bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan MIDI kullanılarak yağ asit metil ester (FAMES) analizi ile tanılanmıştır. Tanı sonuçlarına göre bakterilerin 34 *Bacillus*, 3 *Alcaligenes*, 2 *Brevundimonas*, 2 *Burkholderia*, 1 *Comamonas*, 2 *Micrococcus*, 6 *Paenibacillus*, 2 *Pantoea*, 1 *Paracoccus*, 8 *Pseudomonas*, 1 *Pseudoalteromonas*, 1 *Rhodobacter*, 1 *Rhodococcus*, 1 *Sphingomonas*, 2 *Stenotrophomonas* ve 1 *Variovorax* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen strainlerden 68 tanesinin azotsuz besi ortamında geliştiği görülmüştür.

Ateş *et al.* (2011), tarafından yapılan çalışmada azot fikse eden, fosfat çözen bakteri izolasyonu amacıyla asidik ve alkali üç farklı lokasyonda yetişen doğal asma rizosfer topraklarından örnek alınmıştır. Asma rizosferinde 27 farklı cins ve 45 türe ait 95 azot fikse eden bakteri straini izole edilmiştir. Toplam 95 serbest azot fikse eden straininden 12 tanesinin aynı zamanda fosfat çözebildiği belirlenmiştir. Asidik ve alkali koşullarda *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin yaygın olduğu görülmüştür.

Çakmakçı *et al.* (2011), tarafından yapılan bir çalışmada 32 lokasyonda, asitli topraklarda yetiştirilen çay bitkilerinin rizosferinden elde edilen bakteri strainlerinin fosfat çözünürlüğünde gösterdikleri farklılık araştırılmıştır. Bakteri strainleri triptic soy agarda geliştirilmiş ve gelişen koloniler seçilerek saflaştırıldıktan sonra yağ asit metil ester (FAME) analizi ile tanılanmıştır. FAME profillerine dayalı olarak, 53 bakteri cinsi >0.3'lük benzerlik indeksiyle tanılanmış ve tanılanan strainlerin %60.3'ünün 5 cinsine (*Bacillus* (34.6%), *Pseudomonas* (8.9%), *Stenotrophomonas* (6.1%), *Paenibacillus* (5.9%) ve *Arthrobacter* (4.8%)) ait olduğu belirlenmiştir. Elde edilen *Bacillus* grubunun en çok *B. cereus*, *B. megaterium* ve *B. sphaericus*'den, *Pseudomonas* grubunun ise *P. fluorescens*, *P. putidave* *P. alcaligenes*'den oluştuğu tespit edilmiştir. İzole edilen fosfat çözen bakterilerin %61.3'ü gram pozitif ve %38.7 gram negatif olarak saptanmıştır. Fosfat çözen bakteri grupları arasında *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus* and *Stenotrophomonas* cinsleri en öne çıkan gruplar olmuştur. Bu cinslere ait *B. cereus*, *P. fluorescens*, *S. maltophilia*, *B. megaterium*, *P. putida*, *B. sphaericus* ve *Paenibacillus polymyxa* türleri fosfatı en çok çözen türler olarak saptanmıştır.

Çöğender (2011), tarafından Erzurum ve yakın çevresinde farklı özellikteki habitatlardan başta yabani nohut ve mercimek olmak üzere çeşitli baklagil bitkilerinin rizosfer toprakları ve kök bölgelerinden 184 adet bakteri izolasyonu yapılmıştır. Bu bakteriler saflaştırıldıktan sonra NBRIP-BPB besiyeri kullanılarak trikalsiyum fosfatı (TCP) çözebilmeye yetenekleri, kalitatif ve kantitatif olarak test edilmiştir. Bakteri strainlerinden 32 tanesinin inorganik fosfat çözme özelliğinin olduğu, 5 strainin de iyi düzeyde TCP çözdükleri belirlenmiştir. IPB 4, IPB 8, IPB 25, IPB 26, ve IPB 72 olarak kodlanan bu strainler bazı biyokimyasal özelliklerinin yanı sıra, VITEK cihazı verilerine göre; *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea* sp., *Pseudomonas aeruginosa* ve *Sphingomonas paucimobilis* olarak tanılanmıştır.

Sezen (2012), tarafından yapılan bir çalışmada Erzurum ve Kırşehir civarındaki bölgelerden alınan farklı bitki rizosferlerine ait topraklardan toplam olarak 180 bakteri izole edilmiştir. Elde edilen bakteriler azot bağlayıcı ve fosfat çözücü özellikleri bakımından test edilmiş ve strainlerden 16 tanesinin çeşitli düzeylerde hem azot bağlayıcı hem de fosfat çözücü özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bazı kültürel

özellikleri ile yağ asiti profillerine göre strainler *Cellulomonas turbata* (AS-1), *Bacillus megaterium* (AS-2), *Pseudomonas putida* (AS-3), *Bacillus cereus* (AS-4), *Neisseria mucosa* (AS-5), *Enterobacter cloacae* (AS-6), *Bacillus megaterium* (AS-8), *Bacillus mycoides* (AS-9), *Enterobacter cloacae* (AS-10), *Vibrio furnissii* (AS-11), *Bacillus cereus* (AS-12), *Bacillus cereus* (AS-13), *Bacillus cereus* (AS-14), *Bacillus megaterium* (AS-15) ve *Bacillus megaterium* (AS-16) olarak tanılanmıştır.

Zhanga and Konga (2014), tarafından ekonomik önemi yüksek olan tütün bitkisinde kimyasal gübre kullanımının azaltılması ve bitkinin potasyum alımının iyileştirilmesi amacıyla yapılan çalışmada potasyum çözen strainlerin elde edilmesi için tütün bitkisinin rizosfer bölgesinden örnek alınmıştır. Örneklerden yapılan izolasyon sonucunda 27 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin potasyumu çözebilme özellikleri Aleksandrov katı besiyerinde değerlendirilmiş ve strainlerin hepsinin potasyumu çözdüğü tespit edilmiştir. 16S ribosomal DNA analizi ile strainlerden 17 tanesi *Klebsiella variicola*, 2 tanesi *Enterobacter cloacae*, 2 tanesi *Enterobacter asburiae* ve 6 tanesi *Enterobacter aerogenes*, *Pantoea agglomerans*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Microbacterium foliorum*, *Myroides odoratimimus* ve *Burkholderia cepacia* olarak belirlenmiştir.

Keleş (2015), tarafından topraktan izole edilen bakterilerin fosforu çözme özelliklerinin tespitinde iki yöntem kullanılmıştır. Yöntemlerin birincisinde bakteri strainleri tüplerde hazırlanan sıvı NBRIP-BPB (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium) besiyerine inokule edilmiş ve 7 gün 30 °C'de çalkalayıcıda 125 devir/dk çalkalanarak inkübe edilmiştir. İnkubasyon sonrası başlangıçta koyu mavi renk olan sıvı besi yerinde, renk açılmasına neden olan ve spektrofotometre'de 400 nm absorbans değeri en küçük olan strainler belirlenmiştir. İkinci yöntemde ise bakteri strainleri steril kürdan yardımı ile katı NBRIP besi yeri içeren petrilere, her bir petride 9 izolat olacak şekilde ekilmiş, ekim noktası etrafında meydana gelen zon değerlendirilerek fosfor çözünürlüğü için pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir.

Mursyida *et al.* (2015), tarafından yapılan bir çalışmada bakteri strainlerinin potasyum çözme özelliği Aleksandrov ve Pikovskaya katı besiyeri üzerine nokta ekim yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Bakteri inokule edilen besiyerleri oda sıcaklığında 7 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrası QC3.a.1 ve QC3.d.5 strainlerinin

Ca₃(PO₄)₂ içeren Pikovskaya besiyerinde en yüksek çözünürlük gösterdiği tespit edilmiştir. Besiyerinde oluşan şeffaf zon oluşumuna dayalı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde ise QC3.a.2 straininin en iyi potasyum çözünme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Potasyumu çözen 3 strainin gram negatif olduğu ve 16S rRNA gen dizisine dayalı analiz ile QC3.a.1 straininin *Burkholderia cepacia*, QC3.a.2 straininin *Serratia marcescens* ve QC3.d.5 straininin *Pseudomonas putida* olduğu belirlenmiştir.

Rana *et al.* (2015), tarafından taze ve depolanmış inek gübresinden hem CaCO₃ /kalsit çözebilen hem de üreaz aktivite gösteren bakterileri elde etmek amacıyla yapılan çalışmada nutrient agar kullanılarak izolasyon yapılmış ve 479 bakteri straini elde edilmiştir. Bakterilerin tespiti kalsiyum klorit içeren calcite agar ortamında değerlendirilmiş, bakteri gelişiminin çevresinde berrak zon oluşumu gösteren 12 bakteri straini seçilmiştir. Bu strainlerden ikisinin tanısı yapılamamış, diğerleri *Pseudomonas sp.* strain GRTM, *Pseudomonas sp.* strain GATS, *Pseudomonas sp.* strain GNST, *Pseudomonas sp.* strain TMGR, *Pseudomonas sp.* strain GTRS, *Pseudomonas sp.* strain TSSG, *Pseudomonas sp.* strain GTNS, *Pseudomonas sp.* strain TSGR, *Bacillus subtilis* strain TGNS, *Enterobacter sp.* strain TSNG olarak tanımlanmıştır. Bu strainler içerisinde sadece *Pseudomonas* cinsi bakterilerin CaCO₃ /kalsit çözebilme özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Verma *et al.* (2016), tarafından Hindistan'ın farklı bölgelerinden (Adalpura, Mirzapur, Sarnathchirgoan Varansi, Namipur, Rangwasa, Rau) alınan toprak örneklerinden dilüsyon yöntemi ile izolasyon yapılmış ve izolasyonda Alkandrove katı besiyeri kullanılmıştır. İzolasyon sonrası gelişen kolonilerin etrafında şeffaf zon oluşturan 14 strain seçilmiştir. Elde edilen strainlerden 14 strainden 7 tanesinin (MPS1C2, MPS2C5, MPS2C4, MPS5C1, UPS1C1, UPS2C1, UP53C1) daha yüksek çözünürlük bölgesi oluşturduğu gözlenmiştir. Farklı potasyum formlarının büyüme ve çözünme bölgesi üzerindeki etkisini belirlemek için Alkandrove katı besiyerine KCl, K₂SO₄ ve AlK (SO₄)₂ eklenmiştir. Bütün strainlerin KCl ve K₂SO₄ içeren ortamda fosfor çözünürlüğü maksimum bulunmuştur. Yapılan farklı biyokimyasal analizler (katalaz testi, nişasta hidroliz testi, gram boyama, endospor ve kapsül boyama)

sonucunda bakteriler *Micrococcus varians* ve *Corynebacterium kutscheri* olarak tanılanmıştır.

Parmar *et al.* (2016), tarafından yapılan bir araştırmada sağlıklı mısır bitkilerinin rizosfer kısmından kök ve toprak içeren örnekler alınmıştır. Örneklerden dilüsyon ekim yöntemi ile izolasyon yapılmıştır. İzolasyon çalışmasında potasyum bakterileri için seçici bir besiyeri olan mica içerikli Aleksandrov ortamı kullanılmıştır. Ekim yapılan petriyerler oda sıcaklığında (30 ± 1 ° C) 3 gün inkübasyona bırakılmış ve gelişen koloniler etrafında temiz bölgeler oluşturan strainler saflaştırılmıştır. Elde edilen 25 bakteri straininden 5 tanesinin potasyum çözünürlüğü gösterdiği tespit edilmiştir. Bu strainler arasında ise KSB-1 ve KSB-3 kodlu bakterilerin en yüksek çözünürlük indeksine sahip olduğu belirlenmiştir. Strainler biyokimyasal testler (şeker kullanımı, metil kırmızısı testi, Voges-Proskauer (VP) testi, üre hidrolizi, nitrat indirgeme testi, jelatin hidroliz testi, katalaz testi, nişasta hidrolizi, kazein hidrolizi, gram reaksiyon ve H₂S üretim testi) ve Biolog Sistem ile tanılanmıştır, KSB-1 straini *Bacillus licheniformis*, KSB-3 straini *Bacillus subtilis* olarak tanılanmıştır.

Bagyalakshmi *et al.* (2017), tarafından Hindistan'ın güneyinde yer alan çay plantasyonundaki yerli potasyum çözen bakterileri tanımlamak için yapılan çalışmada çay rizosferinden 152 bakteri straini izole edilmiştir. Bakteri strainlerin potasyumu çözme yetenekleri Aleksandrov besiyerine % 0,2 konsantrasyonda ilave edilen farklı potasyum kaynaklarında (potasyum muriat, potasyum sülfat ve montmorillonit) değerlendirilmiştir. Katı ve sıvı besiyerinde çözünürlük etkinliğine bağlı olarak 30 bakteri straininin fosfatı çözdüğü belirlenmiştir. Besiyerine potasyum kaynağı olarak ilave edilen potasyum muriat ın varlığında çözümlenmenin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Valparai bölgesinden izole edilen strainlerin daha yüksek potasyum çözünürlüğüne sahip olduğu bulunmuştur. 30 tane potasyumu çözme özelliğine sahip olan strain arasında 6 strainin (CKSB15, GKSB6, KKSB3, MKSB6, VKSB12, VPKSB2) ise en etkili çözümlenmeyi gösterdiği saptanmıştır. Strainlerden GKSB6 ve VPKSB2 *Bacillus subtilis*, CKSB15 ve VKSB12 *Pseudomonas nitroreducens*, KKSB3 ve MKSB6 *Burkholderia cepacia* olarak 16S rDNA gen sequens analizi ile tanılanmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Çalışmada; otoklav (HIRAYAMA, HV-50L), inkübatör (MEMMERT, INB 500), mikroskop (LEICA, DM 500), Mikrobiyal Tanı Sistem (AGILENT, 7890A), hematoloji çalkalayıcısı, çalkalayıcı (SATUART, ROTATOR SB3), su banyosu (MEMMERT, WNB-14), otomatik pipetler (EPPENDORF), magnetik karıştırıcı (WISESTIR, MSH-20A), pH Metre (METTLER TOLADO), derin dondurucu -80 °C (VESTEL, FT 280), hassas terazi (SHIMADZU, ATX224), buzdolabı (BEKO, D9463NMS), saf su cihazı (MILLIPORE, DIRECT-Q-3UV, vortex (WISEMIX, VM-10) ve steril kabin (ESCO, Class II Type A2) kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan çözelti ve besiyerleri

Çalışmada kullanılan çözeltilerin ve besiyerlerinin hazırlanış şekilleri aşağıdaki gibidir:

- **%70'lik etil alkol:** 70 ml etil alkolün hacmi steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- **% 30'luk gliserol:** 70 ml steril distile su içerisine 30 ml gliserol eklendikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilerek hazırlanmıştır.
- **Hücre parçalama (saponification) çözeltisi:** 150 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 150 ml sdH₂O 1 L'lik renkli çözelti şişesine ilave edilmiştir. Daha sonra katı formdaki 45 g sodyum hidroksit (ACS Grade) eklenerek iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.
- **Metilleştirme (methylation) çözeltisi:** 325 ml hidroklorik asit (6 N) ve 275 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L'lik renkli çözelti şişesi içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.
- **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 katılacak iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.

- **Bazik yıkama (base wash) çözeltisi:** 10.8 g katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade) 900 ml sdH₂O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırıldıktan sonra 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır.
- **Nutrient agar:** 1 L distile su içerisinde 28 g NA karışımı (Oxoid) ilave edilmiştir. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra hazırlanan besiyeri 45°C'ye kadar soğutulmuş ve katılaşmaya bırakılmıştır.
- **Trypticase soy broth agar (TSBA) besiyeri:** 30 g Trypticase soy broth (BBL # 11768) ve 15 g granüle agar (BBL # 11849) 1 L dH₂O içerisinde ilave edilmiş ve ısıtmalı magnetik karıştırıcıda agar eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 121°C'de 15 psi basınç altında 15 dk süreyle otoklav edilmiştir. Steril edilen ortam 60 °C' ye ayarlı su banyosunda soğutulduktan sonra steril kabinde petrilere (100x15 mm) 20-25 ml'lik kısımlar halinde dökülerek, oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır.
- **N-Free solid malate-sucrose besiyeri:** 1L dH₂O içerisinde 10gr sucrose 10g, 5g L-Malic Acid, 0.2g MgSO₄ H₂O, 0.01g FeCl₃, 0.1g NaCl, 0.4g CaCl₂ 2H₂O, 0.4g K₂HPO₄, Na₂MoO₄ H₂O ve 18g agar ilave edilmiştir. Hazırlanan karışımın pH'sı 1N NaOH ile 7.2'ye ayarlanmış ve otoklavda 121°C'de 20 dk. steril edildikten sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.
- **NBRIP-BPB (National Botanical Research Institutes's Phosphate Growth Medium) besiyeri:** 1L dH₂O içerisinde 20g glukoz, 10g Ca₃(PO₄)₂, 5g MgCL₂ 6H₂O, 0.25g MgSO₄ 7H₂O, 0.2g KCl, 0.1g (NH₄)₂SO₄ ve 0.025g bromphenol blue ilave edilmiştir. Hazırlanan karışımın pH'sı 7'e ayarlanmış ve test tüplere aktarılmıştır. Hazırlanan test tüpleri otoklavda 121°C'de 20 dk. steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır.
- **Yeast dekstroz kalsiyum karbonat agar:** 1L dH₂O içerisinde 20 gr destrose, 10 gr yeast extract, 20 gr CaCO₃ ve 15 gr agar ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 121 °C'de 15 dk süre ile otoklav edilmiştir. Sterilizasyon sonrası besiyeri 45 °C'ye kadar soğutulmuş ve daha sonra steril petrilere dökülerek katılaşması sağlanmıştır.
- **Aleksandrov besiyeri:** 1L dH₂O içerisinde 5 gr glikoz, 0.005 gr MgSO₄ 7H₂O, 0.1gr FeCl₃, 2gr CaCO₃, 3 gr waste mica, 2 gr kalsiyum fosfat ve 20 gr agar

ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 121 °C’de 15 dk süre ile otoklav edilmiştir. Sterilizasyon sonrası besiyeri 45 °C’ye kadar soğutulmuş ve daha sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Bitki örneklerinin toplanması

Iğdır merkez, merkeze bağlı Melekli köyü, Suveren köyü, Tuzluca ilçesi, Adıyaman -Ulubaba köyü, Van-Erciş Ağaçören köyü ve Şanlıurfa- Tepe köylerinden bitkiler (yaprak kısmı kök kısmı ve çevresini saran toprakla birlikte) alınmıştır. Alınan örnekler, polietilen torbalara konularak, buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilerek izolasyon işlemine kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3.2.2. Bakteri strainlerinin yapraktan izolasyonu

Yaprak örneklerinin dış yüzeyi %70’ lik etil alkol ile yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Steril bir bistüri ile yapraklar çok küçük parçalara kesilmiş ve üzerine steril su eklenerek süspansiyon haline getirilmiştir. Böylece doku içerisinde bulunan bakterilerin sıvı ortama geçmesini sağlanmıştır. Bu süspansiyonlardan öze ile alınarak, NA besiyerine çizgi ekim yapılmıştır. Petriler 26 °C’de inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrası gelişen farklı renk ve özellikteki bakteri kolonilerinin herbirisi saflaştırılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

3.2.3. Bakteri strainlerinin kökten izolasyonu

Kök örneklerinin dış yüzeyi %70’lik etil alkol ile yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Steril bir bistüri ile kökler çok küçük parçalara kesilmiş ve üzerine steril su eklenerek süspansiyon haline getirilmiştir. Böylece doku içerisinde bulunan bakterilerin sıvı ortama geçmesini sağlanmıştır. Bu süspansiyonlardan öze ile alınarak, nutrient agar besiyerine çizgi ekim yapılmıştır. Petriler 26 °C’de inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrası gelişen farklı renk ve özellikteki bakteri kolonilerinin her birisi saflaştırılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

3.2.4. Bakteri strainlerinin topraktan izolasyonu

Alınan örneğin rizosfer bölgesinden 10 g toprak tartılarak 250-300 ml hacminde steril erlenmayer içerisine konulmuştur. Bunun üzerine 90 ml steril su eklenerek karışım 30 dk çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Daha sonra erlenlerdeki süspansiyondan steril pipetle 1 ml alınarak içerisine 9 ml steril su bulunan tüplere konulmuş ve iyice

karıştırılmıştır. Bu tüpten tekrar 1 ml alınıp, içinde 9 ml steril su bulunan tüpe aktarılmış ve iyice karıştırılmıştır. Bu seyreltme işlemi 5-6 kez tekrarlanmıştır. Son 3 seyreltikten 0.1 ml alınarak petrilere bırakılmış ve cam bagetle besiyerine yayılmıştır. Ekim yapılan petrilere 26 °C'ye ayarlı inkübatöre gelişmeleri için bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen farklı renk ve şekildeki bakteri kolonilerinin her birisi saflaştırılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

3.2.5. İzole edilen bakteri strainlerinin muhafazası

Saf kültürlerle ait 24 saat'lik her bir bakteriden bir öze dolusu alınarak içerisinde 500 µl % 30'luk gliserol ve 500 µl NB bulunan steril eppendorf tüplere bırakılmıştır. Tüpler karıştırıcıda karıştırılarak homojenizasyonu sağlanmış, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi

Elde edilen bütün bakteriyel strainler NA besiyerine ekilerek, 24-48 sa 27 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen kültürlerden sdH₂O ile konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olan solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar 3cc'lik plastik enjektörlerle tütün (*Nicotiana tabacum* L. Samsun) yapraklarının alt kısmından damar aralarına enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkiler en az 8 sa ışıklı bir ortamda muhafaza edilerek inokulasyonun yapıldığı kısımda nekroz oluşup oluşmadığı tespit edilmiştir. Ölü doku oluşumu HR pozitif, oluşmaması ise HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement et al. 1966, Lelliot ve Stead 1987).

3.3.1. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanınması

Saf kültür olarak - 80 °C'de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal Tanı Sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve alt tür seviyesinde tanısı belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak MFD 120 *Xanthomonas compestris* pv. *phaseoli* (xcp) kullanılmıştır.

3.3.2. Aerobik bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi

Test edilecek mikroorganizmalar steril platin bir öze ile depo kültürden alınmış ve trypticase soy broth agar katı besiyerine 4 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 24-48 sa süreyle 27 °C'ye ayarlı bir inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.3. Yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması

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

- TSBA üzerinde geliştirilen bakterilerin inkübasyon periyodunu takiben, 4 fazlı çizim yapılmış petrilerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir özeyle toplanarak (~ 40mg) steril teflon kapaklı cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış ve tüpler etiketlenerek ağızları kapatılmıştır.
- Her bir test tüpüne 1 ml hücre parçalayıcı çözelti ilave edilmiş ve 5-10 s çalkalandıktan sonra test tüpler 5 dk süreyle 100 °C'lik su banyosunda bekletilmiştir. Ardından tekrar 5-10 s çalkalanan test tüpler 25 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.
- Test tüplerine 2 ml metilleştirme çözeltilisinden eklendikten sonra 5-10 s'lik bir çalkalamadan sonra 80 °C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri elde edilmiştir. Böylece yağ asitlerine yüksek sıcaklıklarda uçuculuk özelliği kazandırılmıştır.
- Soğutulmuş tüplere 1.25 ml saflaştırma çözeltilisinden eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında çalkalanmıştır. Tüplerin alt kısmında asidik (inorganik), üst kısmında da organik sıvı faz olmak üzere 2 ayrı faz oluşmuştur. Yağ asit metil esterleri asidik fazdan ayrışarak organik faz bölgesinde toplandığından pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılacak ve organik faz muhafaza edilmiştir.

- En son aşamada her tüpe 3 ml bazik yıkama çözeltisinden ilave edilmiştir. Tüpler 5 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında karıştırıldıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kullanılan çözelti bazik özellikte olduğundan, serbest yağ asit metil esterleri daha saf olarak elde edilmiştir. Bu aşamada da tüp içerisinde yine iki ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml gaz kromatografisi tüplerine transfer edildikten sonra ağızları sıkıca kapatılmış ve MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiştir.
- Örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılmış, sistem klavuzunda belirtildiği gibi tek tek analiz edilerek tanı sonuçları alınmıştır.

3.4. Bakteri Strainlerinin Azot Fikse Etme Özelliğinin Belirlenmesi

Bakteri strainleri depo kültürlerinden NA besiyerine ekilerek 26 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen 48 sa'lik bakteri kültürlerinden N-Free Solid Malate-Sucrose besiyeri üzerine çizgi ekim yapılarak petriyerler 26 °C'ye ayarlı inkübatörde bir hafta süreyle muhafaza edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gözlemlenen bakteri gelişimi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

3.5. Bakteri Strainlerinin Fosforu Çözme Özelliğinin Belirlenmesi

Bakteri strainleri depo kültürlerinden NA besiyerine ekilerek 26 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen 48 sa'lik bakteri kültürleri NBRIP-BPB (National Botanical Research Institutes's Phosphate Growth Medium) sıvı besiyerine aktarılmıştır. Ekim yapılan tüpler 26 °C'ye ayarlı inkübatörde iki hafta süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerinde gözlemlenen renk değişimi (sıvı besiyerinin renginin açık maviye dönmesi veya şeffaflaşması) pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

3.6. Bakteri Strainlerinin Potasyumu Çözme Özelliğinin Belirlenmesi

Bakteri strainleri depo kültürlerinden NA besiyerine ekilerek 26 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen 48 sa'lik bakteri kültürlerinden Aleksandrov besiyeri üzerine nokta ekim yapılmış ve petriyerler 26 °C'ye ayarlı inkübatörde iki hafta süreyle muhafaza edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakteri

gelişimi etrafında gözlemlenen şeffaf zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

3.7. Bakteri Strainlerinin Kalsiyumu Kullanma Özelliğinin Belirlenmesi

Bakteri strainleri depo kültürlerinden NA besiyerine ekilerek 26 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen 48 sa'lik bakteri kültürlerinden YDC besiyeri üzerine nokta ekim yapılarak petriler 26 °C'ye ayarlı inkübatörde iki hafta süreyle muhafaza edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakteri gelişimi etrafında gözlemlenen şeffaf zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bakteri Strainlerinin İzolasyonu

2015 yılında Iğdır merkez, merkeze bağlı Melekli ve Suveren köyü, Tuzluca ilçesi, Adıyaman - Ulubaba köyü, Van - Erciş Ağaçören köyü ve Şanlıurfa - Tepe köylerinden 23 bitki türü örnek olarak alınmıştır. Laboratuvara getirilen bitkilerin teşhisi Doç. Dr. Yusuf ZEYNELOV tarafından yapılmıştır. Çalışılan bitki türlerine ait genel bilgiler Çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Saf kültürlerin oluşturulması

Çizelge 4.1. Iğdır ilinden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı

LOKASYON	BİTKİ	İZOLASYONUN YAPILDIĞI MATERYAL				
		TOPRAK	KÖK	YAPRAK	GÖVDE	ÇİÇEK
Iğdır-Merkez	<i>Chenopodium album</i> L.	6	2	3	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Chenopodium murale</i> L.	3	2	3	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Trifolium repens</i> L.	3	-	4	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Veronica chamaedrys</i> L.	1	3	5	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	-	2	3	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Lolium perenne</i> L.	2	5	4	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Polygonum persicaria</i> L.	-	-	5	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Polygonum arenastrum</i> Boreau	-	4	-	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Plantago major</i> L.	-	2	4	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Turgenia latifolia</i> (L.) Hoffm.	6	-	3	-	-
Iğdır-Merkez	<i>Kochia</i> sp.	2	-	4	-	-

Çizelge 4.1. Devamı

LOKASYON	BİTKİ	İZOLASYONUN YAPILDIĞI MATERYAL				
		TOPRAK	KÖK	YAPRAK	GÖVDE	ÇİÇEK
Iğdır-Tuzluca	<i>Chenopodium album</i> L.	-	11	1	-	-
Iğdır-Suveren Köyü	<i>Chenopodium album</i> L.	5	3	2	1	1
Iğdır-Suveren Köyü	<i>Chenopodium botrys</i> L.	1	6	-	1	5
Iğdır-Suveren Köyü	<i>Malva neglecta</i> Wallr.	4	6	9	-	-
Iğdır-Suveren Köyü	<i>Crepis sancta</i> (L.) Babc.	8	1	9	-	-
Iğdır-Suveren Köyü	<i>Xanthium spinosum</i> L.	5	3	3	-	-
TOPLAM		46	50	62	2	6

Çizelge 4.2. Adıyaman-Ulubaba köyünden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı

LOKASYON	BİTKİ	İZOLASYONUN YAPILDIĞI MATERYAL				
		TOPRAK	KÖK	YAPRAK	GÖVDE	ÇİÇEK
Adıyaman-Ulubaba	<i>Sideritis hyssopifolia</i> L.	3	3	2	-	-
Adıyaman-Ulubaba	<i>Sideritis hirsuta</i> L.	2	3	2	-	-
Adıyaman-Ulubaba	<i>Thymus vulgaris</i> L.	3	8	-	-	-
Adıyaman-Ulubaba	<i>Agrostis stolonifera</i> L.	-	6	5	-	-
Adıyaman-Ulubaba	<i>Barbarea</i> sp.	1	2	1	-	-
Adıyaman-Ulubaba	<i>Achillea millefolium</i> L.	-	-	2	-	-
TOPLAM		9	22	12	-	-

Çizelge 4.3. Şanlıurfa-Tepe köyünden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı

LOKASYON	BİTKİ	İZOLASYONUN YAPILDIĞI MATERYAL				
		TOPRAK	KÖK	YAPRAK	GÖVDE	ÇİÇEK
Şanlıurfa-Tepeköyü	<i>Euphorbia</i> sp.	4	5	2	-	-
Şanlıurfa-Tepeköyü	<i>Verbascum thapsus</i> L.	4	-	3	-	-
TOPLAM		8	5	5	-	-

Çizelge 4.4. Van-Erciş-Ağaçören köyünden alınan bitki örneklerinden elde edilen bakteri strainlerinin sayısı

LOKASYON	BİTKİ	İZOLASYONUN YAPILDIĞI MATERYAL				
		TOPRAK	KÖK	YAPRAK	GÖVDE	ÇİÇEK
Van-Erciş(Ağaçören)	<i>Verbascum thapsus</i> L.	10	4	4	-	-
Van-Erciş(Ağaçören)	<i>Thymus vulgaris</i> L.	-	1	-	-	-
TOPLAM		10	5	4	-	-

Bitki örneklerinden yapılan izolasyon çalışması sonucunda 246 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerden 89'si bitkilerin toprak üstü aksamından, 157'i ise toprak altı aksamından izole edilmiştir. Bakteri strainlerine ait saf kültürlerden stok kültürler hazırlanmış ve çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4).

Chenopodium album bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 35 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 16 tanesi kökten, 11 tanesi toprak bölgesinden, 6 tanesi yapraktan, 1 tanesi çiçekten ve 1 tanesi gövde kısmından izole edilmiştir. *Trifolium repens* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 7 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 3 tanesi toprak bölgesinden ve 4 tanesi yapraktan izole edilmiştir. *Veronica chamaedrys* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 9 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 3 tanesi kökten, 1 tanesi toprak bölgesinden ve 5 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Lolium prene* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 11 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 5 tanesi kökten, 2 tanesi toprak bölgesinden ve 4 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Elytrigia repers* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 5 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 2 tanesi kökten ve 3 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Polygonum persicaria* bitkisinin yaprak kısmından yapılan izolasyon sonucunda 5 bakteri straini elde edilmiştir. *Kochia* sp. bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 6 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 2 tanesi toprak bölgesinden ve 4 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Malva neglecta* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 19 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 6 tanesi kökten, 4 tanesi toprak bölgesinden ve 9 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Crepis sancta* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 18 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 1 tanesi kökten, 8 tanesi toprak bölgesinden ve 9 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Xanthium spinosum* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 11 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 3 tanesi kökten, 5 tanesi toprak bölgesinden ve 3 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Sideritis hyssopifolia* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 8 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 3 tanesi kökten, 3 tanesi toprak bölgesinden ve 2 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Thymus vulgaris* bitkisinden yapılan izolasyon

sonucunda 12 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 9 tanesi kökten ve 3 tanesi toprak bölgesinden izole edilmiştir. *Agrostis stolonifera* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 11 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 6 tanesi kökten ve 5 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Barbarea* sp. bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 4 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 2 tanesi kökten, 1 tanesi toprak bölgesinden ve 1 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Achillae millefolium* bitkisinin yaprak kısmından yapılan izolasyon sonucunda 2 bakteri straini elde edilmiştir. *Sideritis hirsuta* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 7 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 3 tanesi kökten, 2 tanesi toprak bölgesinden ve 2 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Euphorbia* sp. bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 11 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 5 tanesi kökten, 4 tanesi toprak bölgesinden ve 2 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Verbascum thapsus* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 25 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 4 tanesi kökten, 14 tanesi toprak bölgesinden ve 7 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Plantago major* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 6 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 2 tanesi kökten ve 4 tanesi toprak bölgesinden izole edilmiştir. *Chenopodium murale* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 8 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 2 tanesi kökten, 3 tanesi toprak bölgesinden ve 3 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Turgenia latifolia* bitkisinden yapılan izolasyon sonucunda 9 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinden 6 tanesi toprak bölgesinden ve 3 tanesi yaprak kısmından izole edilmiştir. *Polygonum arenastrum* bitkisinin kök bölgesinden yapılan izolasyon sonucunda 4 bakteri straini elde edilmiştir.

4.2. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi

Tütün bitkisinde yapılan HR testinde, referans kültür MFD 255 *Pseudomonas syringae* pv. *phasecolica* inokulasyonundan 48-74 sa sonra tütün yapraklarında enjekte edilen alanla sınırlı kısımda çökme ve su emmiş leke oluşturmuş, HR pozitif sonuç alınmıştır. Test edilen bakteri strainlerinin hepsi tütün bitkisinin yapraklarında tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olmamış ve sonuç HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.2). Çalışmada elde edilen bakteri strainlerinin HR test sonuçları Çizelge 4.5’de belirtilmiştir.



Şekil.4.2 Bakteri süspansiyonunun tütün yaprağının alt yüzüne enjektörle infiltre edilmesi

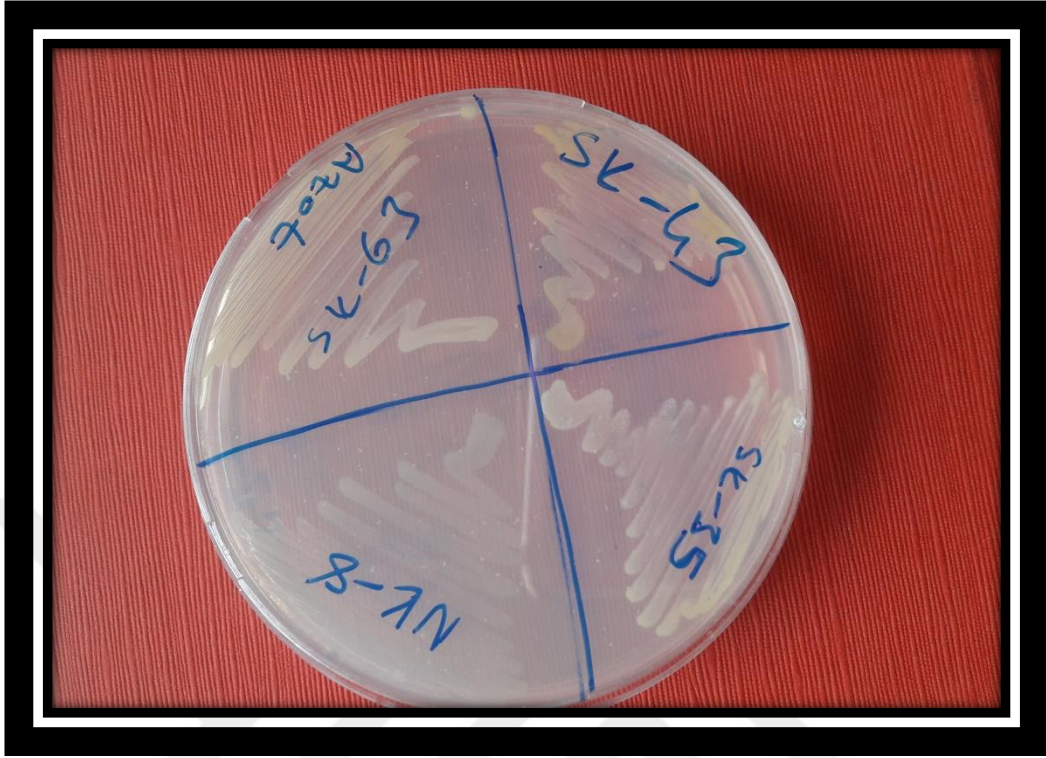
4.3. Mikroorganizmaların Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı

Mikroorganizmaların yağ asit metil ester analizleri sonucunda yağ asit profilleri elde edilmiştir. Bu profillere bağlı olarak 17 *Arthbacter*, 12 *Brevibacillus*, 65 *Bacillus*, 3 *Lysinibacillus*, 7 *Herbaspirillum*, 21 *Kocuria*, 8 *Paucimonas*, 36 *Pseudomonas*, 3 *Virgibacillus*, 11 *Microbacterium*, 8 *Micrococcus*, 4 *Erwinia*, 8 *Stenotrophomonas*, 1 *Nesterenkonia*, 1 *Achromobacter*, 5 *Curtobacterium*, 7 *Rhodococcus*, 2 *Enterobacter*, 1 *Escherichia*, 1 *Chryseobacterium*, 3 *Xanthomonas*, 5 *Acinetobacter*, 1 *Rothia*, 1 *Paenibacillus*, 1 *Ochrobacterium*, 1 *Pantoea*, 5 *Sphingobacterium*, 3 *Rhizobium*, 1 *Grimontia*, 1 *Aeromonas*, 1 *Brevundimonas*, 1 *Phyllobacterium* ve 1 *Staphylococcus* olmak üzere 33 farklı bakteri cinsi tanılanmıştır. Bakteri strainlerine ait MIS tanı sonuçları ve indeksleri (%) Çizelge 4.5’de tanılanmıştır. Elde edilen bakteri cinsleri tür ve alt tür bazında incelendiğinde 2 *Arthbacter pascens*, 8 *Arthbacter oxydans*, 3 *Arthbacter ourescens*, 1 *Arthbacter crysollopoietes*, 3 *Arthbacter globiformis*, 5 *Brevibacillus choshinensis*, 1 *Brevibacillus formosus*, 3 *Brevibacillus centrosporus*, 3 *Brevibacillus parabrevis*, 6 *Bacillus thuringiensis*, 10 *Bacillus viscosus*, 12 *Bacillus*

cerus, 2 *Bacillus psychrosacchorolyticus*, 15 *Bacillus megaterium*, 4 *Bacillus subtilis*, 4 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Bacillus alcalophilus*, 5 *Bacillus pumilus*, 5 *Bacillus* GC group 22, 1 *Bacillus coagulans*, 3 *Lysinibacillus sphaericus*, 3 *Herbaspirillum autotrophicum*, 4 *Herbaspirillum huttiense*, 7 *Kocuria rhizophila*, 12 *Kocuria rosea*, 2 *Kocuria kristinae*, 8 *Paucimonas lemoignei*, 25 *Pseudomonas putida*, 1 *Pseudomonas syringae syringae*, 5 *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 1 *Pseudomonas agarici*, 1 *Pseudomonas pertucinogena*, 1 *Pseudomonas cichorii*, 3 *Virgibacillus pontothenticus*, 4 *Microbacterium esteraromaticum*, 1 *Microbacterium laevaniformans*, 3 *Microbacterium luteolum*, 1 *Microbacterium lacticum*, 1 *Microbacterium barkeri*, 1 *Microbacterium liquefaciens*, 7 *Micrococcus luteus*, 1 *Micrococcus lylae*, 4 *Erwinia chrysanthemi*, 8 *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 *Nesterenkonia halobia*, 1 *Achromobacter xylooxidans*, 5 *Curtobacterium flaccumfaciens*, 2 *Rhodococcus fascians*, 1 *Rhodococcus erythropolis*, 4 *Rhodococcus rhodochrous*, 1 *Enterobacter hormaechei*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Escherichia coli*, 1 *Chryseobacterium indologenes*, 2 *Xanthomonas axonopodis*, 1 *Xanthomonas hortorum*, 4 *Acinetobacter calcoaceticus*, 1 *Acinetobacter lwoffii*, 1 *Rothia dentocariosa*, 1 *Paenibacillus polymyxa*, 1 *Ochrobacterium anthropi*, 1 *Pantoea agglomerans*, 3 *Sphingobacterium faecium*, 2 *Sphingobacterium spiritivorum*, 3 *Rhizobium radiobacter*, 1 *Grimontia hollisae*, 1 *Aeromonas jandaei*, 1 *Brevundimonas vesicularis*, 1 *Phyllobacterium myrsinacearum* ve 1 *Staphylococcus lentus* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.5).

4.4. Bakteri Strainlerin Azot Fiksasyon Özelliğinin Belirlenmesi

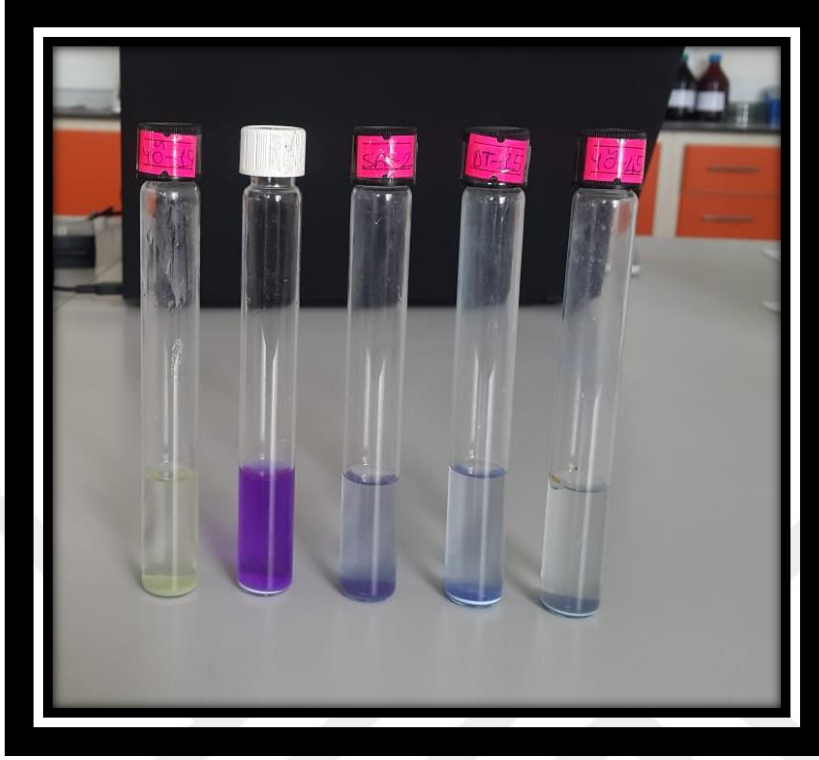
251 bakteri straininin azot fikse etme özelliği N-Free Solid Malate-Sucrose ortamında gelişme durumlarına göre belirlenmiştir. Besiyerinde gelişen strainlerden 220 tanesinin azot fikse etme potansiyeline sahip oldukları tespit edilmiştir. Strainlerden 11 tanesinin besiyerinde gelişmediği ve azot fikse etme yeteneğinin olmadığı saptanmıştır. 15 bakteri straininin ise besiyerinde gelişiminin yavaş ve zayıf olduğu görülmüş sonuç zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.5)(Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Bakteri strainlerinin N-Free Solid Malate-Sucrose ortamında gelişmesi

4.5. Bakteri Strainlerinin Fosfor Çözabilme Özelliğinin Belirlenmesi

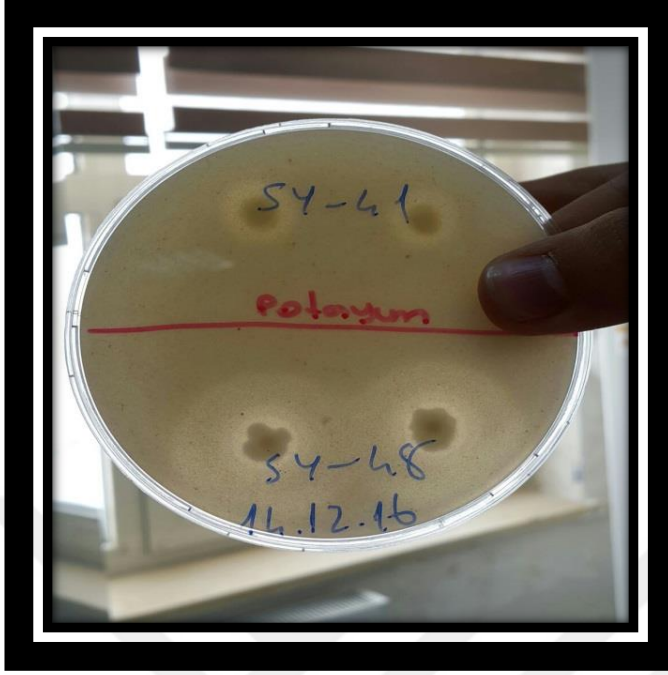
Strainlerin fosfor çözabilme özellikleri NBRIP-BPB sıvı besiyerinde inokulasyon sonrasında meydana gelen renk değişimine göre belirlenmiştir. İnkübasyon sonrasında kontrol olarak kullanılan tüpdeki sıvı besiyerinin renginde (ispirto rengi) herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Strainlerden 81 tanesinin inokule edildikleri besiyerinin rengini değiştirdikleri, su gibi berrak bir görüntü oluşturdukları tespit edilmiş, sonuç kuvvetli pozitif olarak belirlenmiştir. 130 strainin kontrolle kıyaslandığında sıvı besiyerinin rengini değiştirdiği, rengin açık maviye döndüğü gözlenmiş, sonuç pozitif olarak kaydedilmiştir. Strainlerden 24 tanesinin besiyerinde renk değişimine neden olduğu ancak renk açılmasının çok belirgin olmadığı görülmüş, sonuç zayıf pozitif olarak saptanmıştır. 11 strainin ise inokule edildikleri sıvı besiyerinin renginde herhangi bir değişime neden olmadığı görülmüş ve sonuç negatif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5)(Şekil 4.4).



Şekil 4.4 NBRIP-BPB besiyerinde renk açılması

4.6. Bakteri Strainlerin Potasyum Çözebilme Özelliğinin Belirlenmesi

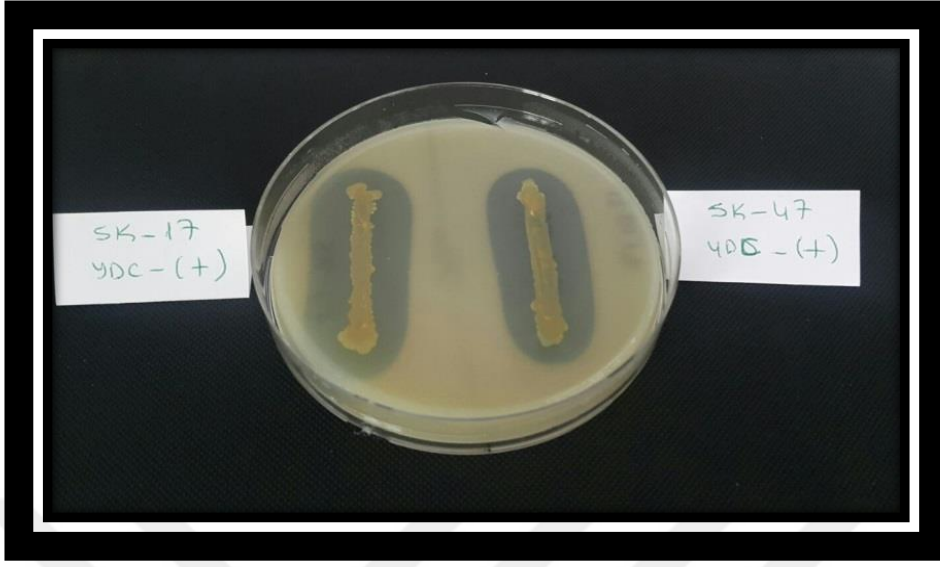
Bakteri strainlerinin potasyum çözübilme özelliği Aleksandrow katı besiyerinde kolonilerini gelişiminin etrafında oluşan şeffaf zonun varlığıyla belirlenmiştir. Strainlerden SK3, SK4, SK8, SK15, SK16, SK19, SK30, SK38, SK39, SK49, SK50, SK55, SK56, SK58, SY32, SY36, SY43, SY45, SY48, SY50, SY55, DT2, DT17, EP19 ve SA1'in besiyerinde gelişen kolonilerinin etrafında şeffaf zon oluştuğu gözlenmiş, sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir. Strainlerden SK27, SK33, SK57, SY16, SY25, SY41, SY49, SY52, SY63, YÖ31, YS2, NK1 ve SA20'nin besiyerinde gelişen kolonilerinin etrafında oluşan zonun çapının 1-2 mm arasında değiştiği gözlenmiş, sonuç zayıf pozitif olarak kaydedilmiştir. Diğer 208 strainin potasyum çözme özelliğinin negatif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5)(Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Aleksandrow besiyerinde pozitif sonuç

4.7. Bakteri Strainlerin Kalsiyumu Çözebilme Özelliğinin Belirlenmesi

Bakteri strainlerinin kalsiyumu çözebilme özelliği yeast dextroz kalsiyum karbonat agar besiyerinde gelişiminin etrafında oluşan şeffaf zonun varlığıyla belirlenmiştir. SK3, SK4, SK8, SK17, SK39, SK47, SK50, SK56, SY48, YÖ35, YÖ38, YS2, YS21, EP10, EP19, NK12 ve SA20 strainlerinin besiyerinde gelişen kolonilerinin etrafında şeffaf zon meydana gelmiş, sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir. Strainlerden SK15, SK19, SK49, SY36, SY41, SY43, DT7, EP9 ve NK11'in besiyerinde gelişen kolonilerin etrafında oluşan zonun 1-2 mm genişliğinde olduğu gözlenmiş, sonuç zayıf pozitif olarak kabul edilmiştir. Diğer 221 strainin kalsiyumu çözme özelliğinin negatif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5)(Şekil 4.6).



Şekil 4.6 YDC besiyerinde koloni gelişiminin etrafında oluşan şeffaf zon

Çizelge 4.5 Bakteri strainlerinin tütünde HR testi ve MIS tanı sonucu, azot fikse etme, fosfor, potasyum ve kalsiyum çözme özellikleri

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
1	SK1	<i>Lysinibacillu sphaericus</i> GC subgroup E	70	+	-	-	+	-
2	SK2	<i>Paucimonas lemoignei</i>	70	+	-	-	+	-
3	SK3	<i>Herbaspirillum autotrophicum</i>	18	-	+	+	+	-
4	SK4	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	75	+	+	K ⁺	K ⁺	-
5	SK6	<i>Kocuria rhizophila</i>	68	+	-	-	+	-
6	SK7	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	59	+	-	-	+	-
7	SK8	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	33	+	+	+	-	-
8	SK11	<i>Arthrobacter aurescens</i>	87	+	-	-	+	-
9	SK-12	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	38	K ⁺	-	-	-	-
10	SK14	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	64	+	-	-	+	-
11	SK-15	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	30	K ⁺	+	Z ⁺	+	-
12	SK-16	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	38	+	+	-	+	-
13	SK-17	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	50	+	-	+	+	-
14	SK-18	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup B	42	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-
15	SK-19	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	48	+	+	Z ⁺	K ⁺	-
16	SK-20	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	72	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
17	SK-21	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	76	+	-	-	K ⁺	-
18	SK-22	<i>Arthrobacter pascens</i>	21	+	-	-	+	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
19	SK-23	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	72	K ⁺	-	-	K ⁺	-
20	SK-24	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	59	+	-	-	K ⁺	-
21	SK-25	<i>Lysinibacillu sphaericus</i> GC subgroup B	84	+	-	-	K ⁺	-
22	SK-26	<i>Bacillus subtilis</i>	66	K ⁺	-	-	+	-
23	SK-27	<i>Kocuria rhizophila</i>	80	K ⁺	Z ⁺	-	K ⁺	-
24	SK-29	<i>Microbacterium laevaniformans</i>	32	K ⁺	-	-	+	-
25	SK-30	<i>Nesterenkonia halobia</i>	49	+	+	-	K ⁺	-
26	SK-31	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup C	55	+	-	-	+	-
27	SK32	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	78	+	-	-	+	-
28	SK-33	<i>Kocuria kristinae</i> GC subgroup A	49	-	Z ⁺	-	+	-
29	SK37	<i>Bacillus atrophaeus</i>	17	+	-	-	+	-
30	SK-38	<i>Paucimonas lemoignei</i>	60	+	+	-	+	-
31	SK-39	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	41	K ⁺	+	+	K ⁺	-
32	SK-43	<i>Arthrobacter oxydans</i>	73	K ⁺	-	-	-	-
33	SK44	<i>Paucimonas lemoignei</i>	75	+	-	-	+	-
34	SK-46	<i>Bacillus subtilis</i>	62	+	-	-	+	-
35	SK-47	<i>Herbaspirillum autotrophicum</i>	36	+	-	+	K ⁺	-
36	SK-48	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B	77	+	-	-	Z ⁺	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
37	SK-49	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	68	+	+	Z ⁺	+	-
38	SK-50	<i>Achromobacter xylooxidans denitrificans</i>	65	K ⁺	+	+	K ⁺	-
39	SK51	<i>Paucimonas lemoignei</i>	70	+	-	-	+	-
40	SK-53	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	67	K ⁺	-	-	-	-
41	SK-54	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	67	+	-	-	+	-
42	SK-55	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	69	+	+	-	+	-
43	SK-56	<i>Paucimonas lemoignei</i>	70	+	+	+	+	-
44	SK-57	<i>Bacillus atropheus</i>	62	Z ⁺	Z ⁺	-	+	-
45	SK-58	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	65	K ⁺	+	-	+	-
46	SK59	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> betae/oortii	45	+	-	-	+	-
47	SK-60	<i>Kocuria rose</i> GC subgroup A	58	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
48	SK-62	<i>Rhodococcus fascians</i> GC subgroup A	83	K ⁺	-	-	K ⁺	-
49	SK-64	<i>Rhodococcus fascians</i> GC subgroup A	66	K ⁺	-	-	K ⁺	-
50	SK-65	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	73	+	-	-	Z ⁺	-
51	SK-66	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	72	+	-	-	K ⁺	-
52	SK67	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	66	+	-	-	+	-
53	SK71	<i>Rothia dentocariosa</i>	50	+	-	-	+	-
54	SK72	<i>Bacillus subtilis</i>	70	+	-	-	+	-

Çizelge 4.5 Devamı

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
55	SY-1	<i>Arthrobacter ourescens</i>	81	+	-	-	+	-
56	SY2	<i>Microbacterium luteolum</i>	13	+	-	-	K ⁺	-
57	SY-4	<i>Bacillus viscosus</i>	44	+	-	-	K ⁺	-
58	SY-5	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A	83	+	-	-	+	-
59	SY-6	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	70	K ⁺	-	-	+	-
60	SY7	<i>Pseudomonas agarici</i>	58	+	-	-	+	-
61	SY-8	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	70	+	-	-	+	-
62	SY-13	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	78	+	-	-	+	-
63	SY-14	<i>Bacillus viscosus</i>	57	+	-	-	+	-
64	SY-16	<i>Microbacterium lacticum</i> GC subgroup B	49	+	Z ⁺	-	Z ⁺	-
65	SY-17	<i>Arthrobacter oxydans</i>	52	+	-	-	+	-
66	SY18	<i>Brevibacillus formosus</i>	48	K ⁺	-	-	K ⁺	-
67	SY19	<i>Brevibacillus centrosporus</i>	32	+	-	-	+	-
68	SY-20	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	21	K ⁺	-	-	+	-
69	SY-23	<i>Enterobacter hormaechei</i>	77	K ⁺	-	-	+	-
70	SY-24	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	70	-	-	-	+	-
71	SY-25	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	43	+	Z ⁺	-	-	-
72	SY-26	<i>Bacillus atropheus</i>	53	+	-	-	Z ⁺	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
73	SY-27	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	42	K ⁺	-	-	+	-
74	SY-28	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	34	+	-	-	K ⁺	-
75	SY-29	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	69	K ⁺	-	-	+	-
76	SY-32	<i>Enterobacter cloacae</i>	80	+	+	-	K ⁺	-
77	SY33	<i>Escherichia coli</i> GC subgroup C	90	+	-	-	+	-
78	SY-36	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	56	+	+	Z ⁺	-	-
79	SY37	<i>Brevibacillus centrosporus</i>	45	+	-	-	-	-
80	SY-38	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	50	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-
81	SY-41	<i>Microbacterium barkeri</i>	66	Z ⁺	Z ⁺	-	+	-
82	SY-43	<i>Pantoea agglomerans</i> GC subgroup C	37	K ⁺	+	Z ⁺	K ⁺	-
83	SY-44	<i>Sphingobacterium faecium</i>	72	K ⁺	-	-	+	-
84	SY-45	<i>Paucimonas lemoignei</i>	49	+	+	-	+	-
85	SY-46	<i>Bacillus viscosus</i>	48	Z ⁺	-	-	+	-
86	SY-47	<i>Kocuria kristinae</i> GC subgroup A	74	+	-	-	K ⁺	-
87	SY-48	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	68	+	K ⁺	+	+	-
88	SY-49	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	67	K ⁺	Z ⁺	-	+	-
89	SY-50	<i>Bacillus viscosus</i>	67	+	+	-	Z ⁺	-
90	SY-51	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	81	K ⁺	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
91	SY-52	<i>Sphingobacterium faecium</i>	63	+	Z ⁺	-	+	-
92	SY-53	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	29	-	-	-	+	-
93	SY-54	<i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B	86	-	-	-	+	-
94	SY-55	<i>Rhizobium radiobacter</i>	58	K ⁺	+	-	+	-
95	SY56	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	47	+	-	-	+	-
96	SY-58	<i>Arthrobacter pascens</i>	64	+	-	-	+	-
97	SY59	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	68	+	-	-	+	-
98	SY-61	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	48	Z ⁺	-	-	+	-
99	SY-63	<i>Kocuria rhizophila</i>	68	-	Z ⁺	-	K ⁺	-
100	SY64	<i>Bacillus meggaterium</i> GC subgroup A	54	+	-	-	+	-
101	SY65	<i>Bacillus meggaterium</i> GC subgroup A	54	+	-	-	+	-
102	SY66	<i>Bacillus viscosus</i>	71	+	-	-	+	-
103	YÖ-1	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	66	+	-	-	+	-
104	YÖ-4	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	36	K ⁺	-	-	+	-
105	YÖ-6	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	57	K ⁺	-	-	+	-
106	YÖ-7	<i>Arthrobacter oxydans</i>	64	K ⁺	-	-	K ⁺	-
107	YÖ-8	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	73	K ⁺	-	-	K ⁺	-
108	YÖ-9	<i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i>	74	K ⁺	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devamı

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
109	YÖ-10	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	55	+	-	-	+	-
110	YÖ-11	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	59	K ⁺	-	-	K ⁺	-
111	YÖ-12	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	74	+	-	-	-	-
112	YÖ-13	<i>Arthrobacter oxydans</i>	21	Z ⁺	-	-	+	-
113	YÖ-15	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F	63	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
114	YÖ-16	<i>Bacillus thuringiensis canadensis</i>	72	K ⁺	-	-	K ⁺	-
115	YÖ-17	<i>Bacillus viscosus</i>	35	K ⁺	-	-	+	-
116	YÖ-18	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	35	K ⁺	-	-	K ⁺	-
117	YÖ-19	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	56	K ⁺	-	-	K ⁺	-
118	YÖ-20	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> GC subgroup B	64	K ⁺	-	-	K ⁺	-
119	YÖ-22	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	20	K ⁺	-	-	K ⁺	-
120	YÖ-24	<i>Bacillus thuringiensis kurstakii</i>	44	K ⁺	-	-	-	-
121	YÖ-25	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	81	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
122	YÖ-26	<i>Grimontia hollisae</i>	10	K ⁺	-	-	K ⁺	-
123	YÖ30	<i>Sphingobacterium faecium</i>	81	+	-	-	+	-
124	YÖ-31	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	57	+	+	-	+	-
125	YÖ-32	<i>Pseudomonas pertucinogena</i>	15	-	-	-	K ⁺	-
126	YÖ-33	<i>Aeromonas jandaei</i>	11	Z ⁺	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devamı

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
127	YÖ34	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	67	+	-	-	+	-
128	YÖ-35	<i>Paucimonas lemoignei</i>	50	+	-	+	+	-
129	YÖ-36	<i>Paucimonas lemoignei</i>	37	+	-	-	+	-
130	YÖ-37	<i>Pseudomonas cichorii</i>	75	Z ⁺	-	-	+	-
131	YÖ-38	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	17	K ⁺	-	+	+	-
132	YÖ-41	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	78	K ⁺	-	-	+	-
133	YÖ-42	<i>Kocuria rhizophila</i>	44	+	-	-	K ⁺	-
134	YÖ-44	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	43	K ⁺	-	-	K ⁺	-
135	YÖ-45	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i>	36	K ⁺	-	-	K ⁺	-
136	YÖ-48	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	21	K ⁺	-	-	K ⁺	-
137	YÖ-50	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> GC subgroup B	75	K ⁺	-	-	+	-
138	YÖ-51	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> GC subgroup B	20	K ⁺	-	-	K ⁺	-
139	YÖ-53	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> GC subgroup B	31	K ⁺	-	-	+	-
140	YÖ-55	<i>Arthrobacter globiformis</i> GC subgroup B	57	K ⁺	-	-	K ⁺	-
141	YÖ-56	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	27	+	-	-	+	-
142	YÖ-57	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	35	Z ⁺	-	-	K ⁺	-
143	YÖ-58	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	46	+	-	-	K ⁺	-
144	YÖ-59	<i>Microbacterium luteolum</i>	67	Z ⁺	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
145	YÖ-60	<i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i>	82	+	-	-	K ⁺	-
146	YS-1	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	61	K ⁺	-	-	+	-
147	YS-2	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	32	+	Z ⁺	+	+	-
145	YS-3	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	76	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
149	YS5	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	50	+	-	-	+	-
150	YS-7	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	43	+	-	-	K ⁺	-
151	YS-8	<i>Arthrobacter oxydans</i>	35	+	-	-	K ⁺	-
152	YS-9	<i>Arthrobacter globiformis</i> GC subgroup B	77	+	-	-	Z ⁺	-
153	YS-11	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> GC subgroup B	43	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
154	YS-14	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	59	+	-	-	+	-
155	YS-15	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	52	+	-	-	+	-
156	YS-16	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	64	+	-	-	Z ⁺	-
157	YS-18	<i>Bacillus alcalophilus</i>	29	+	-	-	+	-
158	YS-19	<i>Bacillus thuringiensis</i> israelensis	53	-	-	-	K ⁺	-
159	YS-20	<i>Xanthomonas axonopodis</i>	23	-	-	-	Z ⁺	-
160	YS-21	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	20	+	-	+	+	-
161	YS-22	<i>Acinetobacter lwoffii</i> GC subgroup A	81	+	-	-	K ⁺	-
162	YS-23	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	63	+	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
163	YS-24	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	61	+	-	-	+	-
164	DT1	<i>Kocuria rhizophila</i>	45	+	-	-	K ⁺	-
165	DT-2	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	62	+	+	-	+	-
166	DT3	<i>Kocuria rhizophila</i>	49	+	-	-	+	-
167	DT-6	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	38	+	-	-	+	-
168	DT-7	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	52	Z ⁺	-	Z ⁺	+	-
169	DT-8	<i>Bacillus subtilis</i>	45	K ⁺	-	-	+	-
170	DT-11	<i>Microbacterium liquefaciens</i>	52	+	-	-	-	-
171	DT12	<i>Xanthomonas axonopodis</i>	74	+	-	-	+	-
172	DT-14	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	35	+	-	-	+	-
173	DT-15	<i>Xanthomonas hortorum</i>	46	+	-	-	+	-
174	DT-16	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	50	K ⁺	-	-	+	-
175	DT-17	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	74	+	+	K ⁺	Z ⁺	-
176	EP-1	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	56	K ⁺	-	-	+	-
177	EP-2	<i>Arthrobacter oxydans</i>	87	K ⁺	-	-	-	-
178	EP5	<i>Herbaspirillum autotrophicum</i>	50	+	-	-	+	-
179	EP-7	<i>Bacillus viscosus</i>	72	K ⁺	-	-	K ⁺	-
180	EP8	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B	62	-	-	-	+	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
181	EP-9	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	33	-	-	Z ⁺	+	-
182	EP-10	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	75	+	-	+	+	-
183	EP-11	<i>Bacillus</i> GC group 22	34	+	-	-	K ⁺	-
184	EP-17	<i>Pseudomonas syringae</i> <i>syringae</i>	42	+	-	-	K ⁺	-
185	EP-19	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup B	43	Z ⁺	+	+	K ⁺	-
186	EP-20	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	72	+	-	-	K ⁺	-
187	EP-21	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>kurstakii</i>	69	+	-	-	Z ⁺	-
188	EP-22	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup B	13	Z ⁺	-	-	+	-
189	EP23	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	68	+	-	-	Z ⁺	-
190	EP-24	<i>Arthrobacter oxydans</i>	77	+	-	-	K ⁺	-
191	EP-25	<i>Bacillus viscosus</i>	37	+	-	-	+	-
192	EP-26	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	60	-	-	-	Z ⁺	-
193	EP-27	<i>Bacillus</i> GC group 22	44	+	-	-	K ⁺	-
194	EP28	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>israelensis</i>	49	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
195	NK-1	<i>Arthrobacter globiformis</i> GC subgroup B	32	+	Z ⁺	-	Z ⁺	-
196	NK-2	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	54	+	-	-	Z ⁺	-
197	NK-3	<i>Rhizobium radiobacter</i>	59	K ⁺	-	-	K ⁺	-
198	NK-4	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> GC subgroup B	43	K ⁺	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devami

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
199	NK-6	<i>Bacillus coagulans</i>	54	+	-	-	K ⁺	-
200	NK-8	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	66	+	-	-	+	-
201	NK-11	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	34	K ⁺	-	Z ⁺	K ⁺	-
202	NK-12	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	35	K ⁺	-	+	+	-
203	NK-14	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	53	+	-	-	K ⁺	-
204	NK-15	<i>Arthrobacter oxydans</i>	64	+	-	-	+	-
205	NK16	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	51	+	-	-	+	-
206	NK17	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> betae	60	+	-	-	+	-
207	SA-1	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	79	K ⁺	+	-	+	-
208	SA2	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	44	+	-	-	K ⁺	-
209	SA-4	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	34	+	-	-	+	-
210	SA-5	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	51	+	-	-	+	-
211	SA-6	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	84	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
212	SA-7	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	86	K ⁺	-	-	+	-
213	SA-8	<i>Phyllobacterium myrsinacearum</i>	54	K ⁺	-	-	K ⁺	-
214	SA-9	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	51	+	-	-	K ⁺	-
215	SA-10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	55	K ⁺	-	-	K ⁺	-
216	SA11	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	83	+	-	-	K ⁺	-

Çizelge 4.5 Devamı

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
217	SA-13	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	43	+	-	-	K ⁺	-
218	SA-16	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	23	K ⁺	-	-	+	-
219	SA17	<i>Bacillus GC group 22</i>	63	+	-	-	+	-
220	SA-19	<i>Rhizobium radiobacter</i>	85	K ⁺	-	-	K ⁺	-
221	SA-20	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	50	K ⁺	Z ⁺	+	+	-
222	SB1	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> GC subgroup B	75	+	-	-	+	-
223	SB7	<i>Staphylococcus lentus</i> GC subgroup B	31	+	-	-	+	-
224	SB-10	<i>Brevibacillus centrosporus</i>	29	K ⁺	-	-	+	-
225	SB11	<i>Bacillus GC group 22</i>	55	+	-	-	+	-
226	SB-13	<i>Curtabacterium flaccumfaciens</i>	62	+	-	-	K ⁺	-
227	SB-14	<i>Curtabacterium flaccumfaciens</i>	71	Z ⁺	-	-	K ⁺	-
228	SB-15	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	83	+	-	-	K ⁺	-
229	SB-16	<i>Curtabacterium flaccumfaciens</i>	65	+	-	-	K ⁺	-
230	SB17	<i>Microbacterium luteolum</i>	73	+	-	-	+	-
231	SB20	<i>Brevibacillus parabrevis</i> GC subgroup A	68	+	-	-	K ⁺	-
232	SB21	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	95	+	-	-	+	-
233	SB-23	<i>Bacillus GC group 22</i>	18	K ⁺	-	-	+	-
234	SB-24	<i>Bacillus viscosus</i>	67	K ⁺	-	-	+	-

Çizelge 4.5 Devamı

S.NO	STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	MIS SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
235	SB25	<i>Brevibacillus parabrevis</i> GC subgroup A	78	+	-	-	+	-
236	SB27	<i>Bacillus viscosus</i>	82	+	-	-	+	-
237	SB28	<i>Micrococcus lylae</i> GC subgroup B	18	+	-	-	K ⁺	-
238	SB-29	<i>Brevibacillus parabrevis</i> GC subgroup A	77	K ⁺	-	-	K ⁺	-
239	SB-32	<i>Bacillus atropheus</i>	52	+	-	-	K ⁺	-
240	SB-33	<i>Kocuria rhizophila</i>	62	K ⁺	-	-	K ⁺	-
241	SB-34	<i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A	15	K ⁺	-	-	K ⁺	-
242	SB35	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	60	+	-	-	+	-
243	SB36	<i>Arthrobacter aureescens</i>	56	+	-	-	+	-
244	SB37	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	73	+	-	-	+	-
245	SB38	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	57	+	-	-	K ⁺	-
246	SB39	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	72	+	-	-	+	-

N: Azot fikse etme özelliği, **K:** Potasyum çözme özelliği, **Ca:** Kalsiyum kullanma özelliği, **P:** Fosfor çözme özelliği, **HR:** Tütünde aşırı duyarlılık testi **K⁺:** Kuvvetli pozitif sonuç, **Z⁺:** Zayıf pozitif sonuç, **+:** Pozitif sonuç, **-:** Negatif sonuç

4.8. Tartışma

Ülkemizde tarımsal üretimin önemli problemlerinden birisi, tarımsal ilaçların ve kimyasal gübrelerin bilinçsizce ve dengesiz olarak bitkisel üretimde kullanılmasıdır. Ülkemizde, yurt dışından petrolden sonra en fazla gübre alımı yapılmaktadır. Kimyasal gübrelerin pahalı olması, doğal gübre kaynaklarının giderek azalması ve kullanılan kimyasal gübrelerin toprak, su ve hava kirliliğine sebep olması, fikse olan besin elementlerinden bitkilerin faydalanamaması nedeniyle çalışmalar biyolojik gübreler olarak adlandırılan mikroorganizmalar üzerine yoğunlaşmaktadır. Toprak, bitkisel üretimde temel faktörlerden bir tanesidir ve toprakların verimliliği biyolojik aktivitesi ile yakından ilgilidir. Bu noktada mikroorganizmalar topraklarda kullanılmayan formda olan besin elementlerinin serbest hale dönüştürülmesini sağlayarak bitkilerin bu besin elementlerini alımını arttırmak ve bitki gelişimini teşvik etmek yoluyla bitki beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalar öncelikle azot fikse eden, fosfor, potasyum ve kalsiyumu çözebilen mikroorganizmaların izolasyonu, tanısı, çeşitli özelliklerinin ortaya konulması şeklinde bir sıra izlemektedir. Bu tez çalışmasında da Iğdır merkez, merkeze bağlı Melekli ve Suveren köyü, Tuzluca ilçesi, Adıyaman - Ulubaba köyü, Van - Erciş Ağaçoören köyü ve Şanlıurfa - Tepe köylerinden 23 bitki türü (*Chenopodium album*, *Chenopodium murale*, *Trifolium repens*, *Veronica chamaedrys*, *Lolium perenne*, *Elytrigia repens*, *Polygonum persicaria*, *Polygonum arenastrum*, *Kochia* sp., *Malva neglecta*, *Crepis sancta*, *Xanthium spinosum*, *Sideritis hyssopifolia*, *Thymus vulgaris*, *Agrostis stolonifera*, *Barbarea* sp., *Achillea millefolium*, *Sideritis hirsuta*, *Euphorbia* sp., *Verbascum thapsus*, *Plantago major*, *Turgenia latifolia*) örnek olarak alınmış ve yapılan izolasyon sonucunda 246 bakteri straini elde edilmiştir. Bakterilerin illere göre dağılımı incelendiğinde Iğdır'dan 166, Adıyaman'dan 43, Van'dan 19 ve Urfa'dan 18 bakteri straini izole edilmiştir. Bakteri strainlerinin patojen olup olmadıklarını belirlemek için tütün bitkisinde HR testi yapılmış ve patojen olmadıkları tespit edilmiştir. Yapılan yağ asit metil ester analizi sonucunda bakteri strainlerinin yağ asit profilleri elde edilerek tanısı yapılmıştır. MIS sistemi ile bakteriler tür ve alt tür bazında 2 *Arthbacter pascens*, 8 *Arthbacter oxydans*, 3 *Arthbacter ourescens*, 1 *Arthbacter crysollopoietes*, 3 *Arthbacter globiformis*, 5 *Brevibacillus choshinensis*, 1 *Brevibacillus formosus*, 3 *Brevibacillus centrosporus*, 3 *Brevibacillus parabrevis*, 6 *Bacillus thuringiensis*, 10 *Bacillus viscosus*, 12 *Bacillus cerus*, 2 *Bacillus*

psychrosacchorolyticus, 15 *Bacillus megaterium*, 4 *Bacillus subtilis*, 4 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Bacillus alcalophilus*, 5 *Bacillus pumilus*, 5 *Bacillus* GC group 22, 1 *Bacillus coagulans*, 3 *Lysinibacillus sphaericus*, 3 *Herbaspirillum autotrophicum*, 4 *Herbaspirillum huttiense*, 7 *Kocuria rhizophila*, 12 *Kocuria rosea*, 2 *Kocuria kristinae*, 8 *Paucimonas lemoignei*, 25 *Pseudomonas putida*, 1 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, 5 *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 1 *Pseudomonas agarici*, 1 *Pseudomonas pertucinogena*, 1 *Pseudomonas cichorii*, 3 *Virgibacillus pontothenticus*, 4 *Microbacterium esteraromaticum*, 1 *Microbacterium laevaniformans*, 3 *Microbacterium luteolum*, 1 *Microbacterium lacticum*, 1 *Microbacterium barkeri*, 1 *Microbacterium liquefaciens*, 7 *Micrococcus luteus*, 1 *Micrococcus lylae*, 4 *Erwinia chrysanthemi*, 8 *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 *Nesterenkonia halobia*, 1 *Achromobacter xylooxidans*, 5 *Curtobacterium flaccumfaciens*, 2 *Rhodococcus fascians*, 1 *Rhodococcus erythropolis*, 4 *Rhodococcus rhodochrous*, 1 *Enterobacter hormaechei*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Escherichia coli*, 1 *Chryseobacterium indologenes*, 2 *Xanthomonas axonopodis*, 1 *Xanthomonas hortorum*, 4 *Acinetobacter calcoaceticus*, 1 *Acinetobacter lwoffii*, 1 *Rothia dentocariosa*, 1 *Paenibacillus polymyxa*, 1 *Ochrobacterium anthropi*, 1 *Pantoea agglomerans*, 3 *Sphingobacterium faecium*, 2 *Sphingobacterium spiritivorum*, 3 *Rhizobium radiobacter*, 1 *Grimontia hollisae*, 1 *Aeromonas jandaei*, 1 *Brevundimonas vesicularis*, 1 *Phyllobacterium myrsinacearum* ve 1 *Staphylococcus lentus* olarak tanılanmıştır. Tanı sonuçları içerdiği strain sayısı bakımından cins bazında değerlendirildiğinde 65 strain ile *Bacillus* cinsinin birinci sırada yer aldığı, bu cinsi 36 strain ile *Pseudomonas*, 21 strain ile *Kocuria* ve 17 strain ile *Arthrobacter*'in takip ettiği görülmektedir.

Bitki büyümesini teşvik edici bakterilerde, en çok aranan özelliklerin başında havanın azotunu bağlayıcı özellik gelmektedir. Bunun sebebi, tarım topraklarının en çok ihtiyacı olan elementin azot olmasıdır. Bu tez çalışmasında elde edilen bakteri strainlerinin azot fiksasyon özelliği N-Free Solid Malate-Sucrose besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. *Arthrobacter* olarak tanılanan strainlerin hepsinin azotu fikse ettiği belirlenmiştir. EP8, YS19 hariç *Bacillus* cinsinde bulunan strainlerin hepsinin, EP9, YÖ32 ve EP26 hariç diğer *Pseudomonas* türlerinin tamamının ve SY63 ve SK33 hariç

bütün *Kocuria* cinslerinin hepsinin, SK3 hariç *Herbaspirillum* türlerinin tamamı, YS20 hariç *Xanthomonas* cinslerinin hepsi, SY24 hariç *Chryseobacterium* türlerinin hepsi, SY53 hariç *Stenotrophomonas* cinslerinin tamamı, SY54 hariç bütün *Micrococcus* türlerinin azot fiksasyon özelliği pozitif bulunmuştur. Bütün strainlerin test sonucuna bakıldığında ise toplam 234 strainin azot fiksasyon özelliğinin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Bacillus*, *Azoarcus*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Comamonas*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Rhodobacter*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas* ve *Variovorax* cinslerinde yer alan bakteri strainlerinin azot fiksasyonunda etkili mikroorganizmalar olduğu tespit edilmiştir (Ahmad *et al.*, 2005; Çakmakçı ve ark., 2008). Aynı konuda yapılan başka araştırmalarda *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Cellulomonas turbata*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Neisseria mucosa*, *Vibrio furnissii*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida*, *Agromonas oligotrophica* ve *Azospirillum brasilense* türlerinin azot fiksasyon yeteneklerinin pozitif olduğu belirlenmiştir (Hirano *et al.*, 20001; Cherif-Silini *et al.*, 2012; Sezen, 2012). Nitrojenaz enzimine sahip olan bakteri strainlerinin azot fiksasyonunu gerçekleştirdiği ve her familyada bu enzimi bulunduran türlerin yaygın bir şekilde bulunduğu tespit edilmiştir (Purwanto and Simarmata, 2017). Bu çalışmada da 238 strainin azot fikse edebildiği ve bu mikroorganizmaların çok farklı cinlerde yer aldığı görülmektedir. Azot fiksasyonu pozitif bulunan bu bakteri strainlerinin nitrojenaz enzimine sahip olduğu düşünülmektedir.

Bakteri strainlerinin fosfat çözebilme özelliği NBRIP-BPB sıvı besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. Fosfat kaynağı olarak $Ca_3(PO_4)_2$ içeren ortamda etkili olan strainlerin, sıvı besiyerinin renginde oluşturdukları renk değişiminin çıplak gözle izlenebildiği görülmektedir. Strain sayısının çok yüksek olduğu araştırmalarda, kalitatif ölçüm sonuçlarına bakılarak, daha az sayıda kantitatif ölçüm yapılabilmesine imkan vermesi bakımından, bu besiyerinin kullanımı önerilebilir. Nautiyal (1999), tarafından yapılan bir araştırmada petri denemelerinde katı NBRIP besiyeri PVK (Pikovskaya Agar) besiyerine kıyasla daha etkili bulunurken sıvı NBRIP besi yerinin PVK'ya oranla 3 kat daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca fosfatı çözdükleri halde, asit üretmeyen

mikroorganizmaların, bazı besiyerlerinde yanlış sonuç verebileceği, bu nedenle, hassasiyeti daha yüksek olan NBRIB-BPB besiyerinde fosfat çözünürlüğünün değerlendirilmesinin daha uygun olacağı belirtilmiştir (Nautiyal *et al.*, 2000). Fosfor çözünürlüğü açısından strainlerin test sonuçları incelendiğinde SK8 hariç 35 *Pseudomonas* türünün, SK12 ve EP1 hariç 19 *Kocuria* türünün ve EP2 hariç 16 *Arthrobacter* türünün fosfor çözme özelliğinde olduğu tespit edilmiştir. YÖ12 ve YÖ24 strainleri dışında 63 *Bacillus* türünün fosforu çözebildiği saptanmıştır. Genel olarak strainlerin test sonucuna bakıldığında ise toplam 235 strainin fosfor çözme potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Azotobacter*, *Bradyrhizobium* ve *Rhizobium*, *Salmonella*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Thiobacillus* ve *Escherichia* ve *Kocuria* cinsine ait türlerin önemli fosfat çözen bakteriler oldukları ve bitkilerin fosfor alımını arttırdıkları saptanmıştır (Rodriguez ve Fraga, 1999; Whitelaw, 2000; Igual *et al.*, 2001; Zhoa ve Lin, 2001; Sharma *et al.* 2013; Hansda *et al.*, 2017). De Freitas *et al.* (1997), çeşitli bitkilerden izole ettikleri 111 bakteriden 9 strainin fosforu çözebildiğini, bunlar arasında *Bacillus brevis*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *Xanthomonas maltophilia* türlerinin en güçlü fosfat çözücü bakteriler olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaya benzer bir araştırmada *B. megaterium*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. polymyxa*, *B. Sircalmous* ve *Pseudomonas striata* türlerinin fosfat çözünürlüğü konusunda en etkin türler olduğu tespit edilmiştir (Subbarao, 1988; Kucey *et al.*, 1989). Çalışmamızda izole edilen ve fosfor çözme özelliği belirlenen türlerin diğer araştırmacıların çalışmalarında belirlenen türler ile paralellik gösterdiği görülmektedir. Fosfatın çözünmesinde genel olarak bakteriler tarafından salgılanan organik asitlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir (Puente *et al.*, 2009). Asit üretimi rizosfer bölgesinin asitleşmesine neden olmakta, bunun sonucunda fosfor serbest hale geçerek elverişli forma dönüşmektedir (Lopez *et al.*, 2011). *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. atrophaeus*, *Penibacillus macerans*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. taylorae*, *E. asburiae*, *Kluyvera cryocrescens* ve *Pseudomonas aerogenes* türleri tarafından salgılanan laktik, itakonik, isovalerik, isobutirik, asetik asit (Vazquez *et al.*, 2000); *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis* tarafından salgılanan laktik ve malik asit; (Taha *et*

al., 1969); *B. pumilus*, *B. subtilis*, *Actinomadura oligospora*, *Citrobacter* sp. tarafından salgılanan glukonik, propionik, isovalerik, heptonik, kaproik, isokaproik, formik, valerik, suksinik, oksalik, oksalasetik, malonik (Puente *et al.*, 2004) asit gibi organik asitlerin fosfat çözünebilirliğinde büyük önem taşıdığı belirlenmiştir. Bu çalışmada fosfat çözdüğü tespit edilen strainlerin belirtilen asitlerden bir ya da daha fazlasını üreterek besiyerinin rengini değiştirdiği, ortamda bulunan kalsiyumdan fosforun serbest kalmasını sağladığı düşünülmektedir.

Strainler potasyum çözme özellikleri Aleksandrov besiyerinde test edilmiş ve 8 *Pseudomonas*, 6 *Microbacterium*, 4 *Bacillus*, 4 *Herbasprillum*, 3 *Kocuria*, 3 *Paucimonas*, 1 *Rhizobium*, 1 *Enterobacter*, 1 *Erwinia*, 1 *Pantoea*, 1 *Brevibacillus*, 1 *Micrococcus*, 1 *Arthrobacter*, 1 *Achromobacter* 1 *Nesterenkonia* ve 1 *Sphingobacterium* olmak üzere 38 bakteri türünün pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Mikroorganizmaların kalitatif olarak potasyum çözme özelliklerinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmalarda Aleksandrov besiyerinin başarıyla kullanılabilceği ifade edilmektedir (Parmar *et al.*, 2016; Sen *et al.*, 2016; Fatharani and Rahayu, 2018). Araştırmacılar tarafından *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* *Paenibacillus glucanolyticus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Azotobacter chroococcum*, *Enterobacter hormaechei* türlerinin ve *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Burkholderia* cinlerinde bulunan bakterilerin potasyumu çözmede etkili mikroorganizmalar olduğu bildirilmiştir (Rajawat *et al.*, 2012; Basak and Biswas, 2012; Singh *et al.*, 2010; Parmar and Sindhu, 2013; Parmar *et al.*, 2016). Bu tez çalışmasında elde edilen türlerin ve potasyum çözme özelliklerine dair sonuçların diğer araştırmalarının bulguları ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Potasyum çözen bakterilerin potasyumun bağlı bulunduğu minerallerden potasyumun serbest kalmasında etkili olan çeşitli asitler salgıladıkları bilinmektedir. Bashir *et al.* (2017), tarafından bakteri strainlerinden *Serratia marcescens*'in sitrik ve laktik asit; *Chryseobacterium* türlerinin sitrik asit; *Pseudomonas* türlerinin glukonik, laktik, suksinik, formik ve malik asit; *Enterobacter* türlerinin ise malik ve glukonik asit ürettikleri tespit edilmiştir. Bu araştırmada pozitif sonuç veren strainlerin de çeşitli organik asitler üreterek besiyerinde berrak bir zon oluşumu ile ortam içerisinde bulunan mica'yı çözdüğü düşünülmektedir.

Bakteri strainlerinin kalsiyumu kullanma özelliği Yeast Dekstroz Kalsiyum

Karbonat agar besiyeri kullanılarak tespit edilmiştir. 13 *Pseudomonas*, 4 *Microbacterium*, 1 *Bacillus*, 5 *Herbasprillum*, 2 *Paucimonas*, 1 *Pantoea* ve 1 *Achromobacter* olmak üzere 26 bakteri türünün kalsiyumu çözme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Rana *et al.* (2015), *Pseudomonas*, *Enterobacter* ve *Bacillus* cinsinde yer alan 12 bakteri straininden sadece *Pseudomonas* cinsi bakterilerin piosiyanın üreterek CaCO₃ /kalsit çözebilme özelliğine sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca yalnızca asidik bileşikler sentezleyebilen bakterilerin CaCO₃ /kalsit'i çözebileceği ifade edilmiştir. Besin elementi noksanlıkları özellikle toprak pH'sının yüksek ve CaCO₃ miktarının fazla olduğu topraklarda daha belirgin görüldüğünden bitkilerin besin elementlerinden optimum düzeyde faydalanabilmesi konusunda çalışmada tespit edilen kalsiyum çözen bakterilerin önem taşıdığı düşünülmektedir.

Azot, fosfor ve potasyum toprakta bitki gelişimi için en önemli besin elementleri grubunda yer almakta olup bitki gelişimini direkt olarak etkilemektedir. Bundan dolayı izole edilen bakteri strainlerinden bitki gelişmesini teşvik edenlerin belirlenmesinde bakteri seçimi fosforu ve potasyum indirgeme ve azot bağlama özelliklerine göre yapılmaktadır. Ancak bitki gelişimi ve verimi üzerine bu mikroorganizmaların etkinliği birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Dışarıdan inokule edilen mikroorganizmaların ortamda doğal olarak bulunan mikroorganizmalarla rekabet edebilmesi, rizosferde kolonize olması ve yaşamını devam ettirebilmesi, gerekli bileşikleri sentezleyebilmesi toprak-bitki-iklim faktörlerine bağlılık göstermektedir. Bu nedenle tespit edilen mikroorganizmaların hangi koşullarda daha iyi performans göstereceği oldukça önemli bir husustur. Çeşitli bitkilerin uygun ve rekabet gücü yüksek mikroorganizmalarla inokule edilmesiyle bitkilerin daha iyi gelişmesi teşvik edilebilir. Farklı özellikler taşıyan bakterilerin tek tek veya kombinasyonlar halinde hazırlanan inokulantlar olarak kullanılmasıyla sinerjik etki oluşturulabilir ve bitkilerin veriminde artış sağlanabilir. Yapılan çalışmalar sonucunda araştırmacılar bu mikroorganizmaların yalnız başlarına değil organik gübreler ile birlikte uygulanmasının daha faydalı olacağını belirtmişlerdir (Poonamgautam *et al.*, 2003; Stephen and Nybe, 2003; Afzal *et al.*, 2005). Farklı iklim ve toprak gruplarında besin elementi yarıyışlılığının artırılmasında, elementlerin fiksasyonunu azaltacak önlemlerin alınmasında ve buna bağlı olarak uygun gübre yönetiminin belirlenmesinde çalışmada belirlenen bakterilerin

kullanımının faydalı olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca çeşitli bitki x bakteri x iklim x toprak faktörleri kombinasyonunda etkinliği belirlenen strainlerin siderofor, antimikrobiyal bileşikler ve litik enzimler üretme özelliklerinin tespitiyle patojenlerin ve zararlıların kontrolünde etkinliklerinin araştırılması ile çevreye dost bir yaklaşımla pestisit kullanımı azaltılabilecektir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Iğdır merkez, merkeze bağlı Melekli ve Suveren köyü, Tuzluca ilçesi, Adıyaman Ulubaba köyü, Van Erciş Ağaören köyü ve Şanlıurfa Tepe köylerinden 23 bitki türü örnek olarak alınmış ve yapılan izolasyonlar sonucunda 246 bakteri straini elde edilmiştir. Strainler yağ asit metil ester analizi ile tanılanmış ve tütün bitkisinde yapılan HR testi ile patojen olmadıkları tespit edilmiştir. Elde edilen bakteri strainleri azot bağlayıcı, fosfat, potasyum ve kalsiyum çözücü özellikleri bakımından test edilmiş ve strainlerden 12 tanesinin [*Herbaspirillum huttiense* (SK4), *Microbacterium esteraromaticum* (SK19), *Microbacterium esteraromaticum* (SK39), *Herbaspirillum huttiense* (SK49), *Achromobacter xylosoxidans* (SK50), *Paucimonas lemoignei* (SK56), *Pantoea agglomerans* (SY43), *Microbacterium esteraromaticum* (SY48), *Pseudomonas putidabiotype B* (YS2), *Pseudomonas putidabiotype B* (DT17), *Pseudomonas syringae syringae* (EP19), *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (SA20)] bütün testlerde pozitif sonuç verdiği, diğer strainlerin test sonuçlarının ise değişkenlik gösterdiği bulunmuştur.

Tarımda kimyasalların aşırı ve rastgele kullanılması toprak yapısının değişmesiyle verimsiz toprakların ortaya çıkmasına, yeraltı sularının ve gıdaların kirlenmesine, ekolojik dengenin bozulmasına, insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından önemli sorunların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Oysa tarımsal üretimin ana amacı artan dünya nüfusu için verimli, güvenilir ve kaliteli ürünlerin üretilmesidir. Bu bağlamda farklı özellikleri belirlenen mikroorganizmaların üretim sistemlerinde hem gübre olarak hem de hastalıkları engelleme performanslarıyla kullanılmaları büyük olumlu etki sağlayacaktır. Böylece gereksiz gübre kullanımı önlenilecek ve tarımın önemli bir girdisini teşkil eden gübreleme masrafları azaltılabilecektir. Dolayısıyla daha az masrafla, daha kaliteli ürün elde edilecektir. Ayrıca, toprak ve tohum kaynaklı çeşitli hastalık etmenlerinin baskı altına alınması ve bitkinin gelişiminin iyileşmesinden dolayı pestisit kullanımı azaltılabilecektir ki bu da hem insan sağlığı, hem de doğal dengenin sürekliliği açısından faydalı olacaktır.

Bu çalışmanın devamında araştırılması gereken konular aşağıda belirtilmiştir.

- ✓ Bakterilerin fosfor ve potasyum çözebilme özelliği yanında çözdüğü fosfor ve potasyum miktarı da önemlidir. Bu nedenle bakteri strainlerinin sıvı besi yerinde çözdüğü fosfor ve potasyum miktarları belirlenebilir.
- ✓ Elde edilen bakteri strainlerinden in vitro test sonuçları iyi olanlar sera ve tarla şartlarında yürütülen denemelerde gerek bitki gelişimini teşvik etmeleri gerekse farklı konukçu x patojen sistemlerinde hastalıkların çıkışını engelleme veya hastalık şiddetine olan etkileri bakımından test edilerek özellikleri belirlenebilir. Çalışmada olumlu özellikleri belirlenen bakteri strainlerinin enzim, hormon ve antimikrobiyal madde üretme yetenekleri araştırılarak bitki gelişimine sağladıkları katkının ve hastalık kontrolünde gösterecekleri etkinin mekanizmaları ortaya koyulabilir. Ayrıca bakteri strainlerinin kimyasal pestisitlere duyarlılıkları saptanabilir ve dayanıklı oldukları belirlenen pestisitler ile birlikte kullanım olanakları tespit edilerek entegre mücadele yöntemlerine dahil edilebilir.
- ✓ Başarılı bulunan bakteri strainlerinin BIOLOG GEN III sistemi ile metabolik enzim profilleri tespit edilebilir. En fazla karbon kaynağını kullanabilme özelliği gösteren strainlerin rekabet yeteneğinin daha iyi olacağı düşüncesiyle biyolojik kontrolde etkinlikleri araştırılabilir. Tohum ve toprak kaynaklı bakteriyel ve fungal hastalıkların kontrolünde bu bakterilerle yapılacak tohum bakterizasyonunun etkisi araştırılabilir.
- ✓ Bakteri uygulamalarının (doz, uygulama metodu, tek veya kombinasyon şeklinde kullanımı) çeşitli bitkilerin verim ve kalite parametrelerine etkisi sera ve tarla şartlarında ve farklı özelliklere sahip topraklarda değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- Afzal, A., Ashraf, M., Asad, S.A., Farooq, M., 2005. Effect of Phosphate Solubilizing Microorganisms on Phosphorus Uptake, Yield and Yield Traits of Wheat (*Triticum aestivum* L.) in Rainfed Area. *International Journal of Agriculture & Biology*, 7(2), 207-209.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S., 2005. Indole Acetic Acid Production by The İndigenous İsolates of Azotobacter and Fluorescent *Pseudomonas* in The Pserence and Absence of Tryptophan. *Turk Journal Biology*, 29(5), 29-34.
- Akman, Z., Kara, B., 2001. Ekolojik Tarımda Birlikte Ekim (İntercropping)'in Rolü. *Türkiye İkinci Ekolojik Tarım Sempozyumu*, 375-383s. Antalya.
- Aksoy, U., 2001. Ekolojik Tarım: Genel Bir Bakış. *Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu*, Antalya, 69-77.
- Aksoy, U., Altındışli, A., 1998. Ekolojik (Organik, Biyolojik) Tarım. *Ekolojik Tarım Organizasyon Derneği (ETO)*. 125s. İzmir.
- Antoun, H., Prevost, D., 2006. Ecology of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Edited by Zaki A. Siddiqui. s1-38, Springer, The Netherlands.
- Aseri, G.K., Jain, N., Tarafdar, J.C., 2009. Hydrolysis of Organic Phosphate forms by Phosphatases and Phytase Producing Fungi of Arid and Semi-arid Soils of India. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science*, 5(4), 564-570.
- Ateş, F., Karagöz, K., Karagöz, H., Kotan, R., Ateş, B., Çakmakçı, R., 2011. Akdamar Adası Fırtına Vadisi ve Kemalpaşa Bölgelerinde Asidik ve Alkali Doğal Asma Rizosfer Topraklarından Bitki Gelişimini Teşvik Edici Bakteri İzolasyonu. *GAP VI. Tarım Kongresi*, Şanlıurfa, 354-360.
- Aydoğan, M.N., 2004. *Mazıdağı Fosfat Kayasını Çözen Bakterilerin İzolasyonu ve Çözünme Üzerine Farklı Fiziksel - Kimyasal Parametrelerin Etkisi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, s110.

- Azkan, N., 2002. *Yemelik Tane Baklagiller (4.Baskı)*. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notları, (40)106s.
- Bagyalakshmi, B., Ponmurugan, P., Balamurugan, A., 2017. Potassium Solubilization, Plant Growth Promoting Substances by Potassium Solubilizing Bacteria (KSB) From Southern Indian Tea plantation soil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 116-124.
- Bakhshandeh, E., Pirdashti, H., Lendeh, K.S., 2017. Phosphate and Potassium-Solubilizing Bacteria Effect on the Growth of Rice. *Ecological Engineering* 103,164-169.
- Basak, B.B., Biswas, D.R., 2012. Influence of Potassium Solubilizing Microorganism (*Bacillus mucilaginous*) and Waste Mica on Potassium Uptake Dynamics by Sudan Grass (*Sorghum vulgare* Pers) Grown under Two Alfisols. *Plant Soil*, 317 (1-2), 235-255.
- Bashir Z., Zargar M.Y., Husain, M., Mohiddin, F.A., Kousar, S., Zahra, S.B., Ahmad, A., Rathore, J.P., 2017. Potassium Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Diversity. *International Journal Pure and Applied Bioscience*, 5 (5), 653.
- Bhattacharya, S., Bachani, P., Jain, D., Patidar, S.K., Mishra, S., 2016. Extraction of Potassium from K-Feldspar Through Potassium Solubilization in the Halophilic *Acinetobacter soli* (MTCC 5918) Isolated From the Experimental Salt Farm. *International Journal of Mineral Processing*, 152, 53-57.
- Bilgin, İ., 2008. *Muğla İli ve Civarındaki Ektomikorizal Tricholoma Caligatum Populasyonunun Toprak Mikroflorası ile Etkileşiminin İncelenmesi*, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi,
- Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ.İ., Savaşçı, S., Paslı, N., 2001. *Ekoloji-II toprak*, ISBN:975-96377-0-7, Ankara.
- Caballero-Mellado, J., Onofre-Lemus, J., Estrada-de los Santos, P., Martinez-Aguilar, L., 2007. The Tomato Rhizosphere, an Environment Rich in Nitrogen-Fixing Burkholderia Species With Capabilities of Interest for Agriculture and

- Bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (16), 5308-5319.
- Cattelan, A.J., Hartel, P. G., Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63(6), 1670–1680.
- Cebel, 2004. Mikrobiyal Gübreler. *Türkiye 3. Ulusal Gübre Kongresi*, Tarım-Sanayi-Çevre, 845-852, Tokat.
- Cherif-Slini, H., Silini, A., Ghouli, M., Yadav, S., 2012. Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Traits of a Rhizobacteria: *Pantoea agglomerans* *Ima2*, 15(6), 267-276.
- Çakır, S., 2005. *Eskişehir Koşullarında Etkin Bakteri Suşuyla Aşılamanın, Nohut (Cicer arietinum L.) Çeşit ve Hatlarının Tane Verimi, Morfolojik, Fizyolojik ve Teknolojik Özelliklerine Etkisi*. Uludağ Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Bursa, 166.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F., Erdoğan, Ü., 2007. 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(3), 189-199.
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Kotan, R., Oral, B., Dönmez, F., 2008. Çoruh Vadisinde Yabani Ahududu Rizosfer Topraklarında Heterotrof Azot Fikseri Bakteri Çeşitliliği, *Türkiye 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi*, 706-717.
- Çakmakçı, R., Kotan, R., Kantar, F., Şahin, F., 2010. Türkiye’de Bitki Gelişmesini Teşvik Edici Bakteri ve Biyolojik Gübre Araştırmaları. *Türkiye 4. Organik Tarım Sempozyumu*, Erzurum, 724-731.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Turan, M., Atasever, A., Sekban, R., Kutlu, M., Haznedar, A., 2011. Bitki Gelişmesini Teşvik Edici Bakterilerin Çay Gelişme, Verim, Besin Alımı ve Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. *GAP VI. Tarım Kongresi*, Şanlıurfa 9–12.

- Çığ, F., 2010. “*Mikrobiyolojik ve İnorganik Gübrelemenin Bazı Arpa (Hordeum vulgare L.) Çeşitlerinde Verim ve Verim ile İlgili Karakterlere Etkilerinin Araştırılması*”, Yüzüncüyıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Lisans Tezi, 137.
- Çöğender M. E., 2011. *İnorganik Fosfat Çözücü Bazı Bakterilerin Nohut Bitkisinin (Cicer arietinum L.) Büyüme ve Gelişimi Üzerine Etkileri*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s 87.
- De Freitas, J.R., Banerjee, M.R., Germida, J.J., 1997. Phosphate Solubilizing Rhizobacteria Enhance the growth and yield but no phosphorus uptake of canola (Brassica napus L.), *Biology and Fertility of Soils*, 24(4), 358–364.
- Dursun, A., Ekinci, M., Dönmez, M.F., Eminagaoglu, H., 2010. Rhizobakteri Uygulamalarının Kornişon Hıyar (*Cucumis sativus* L.)’da Bitki Gelişimi ve Verime Etkisi, *VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu*, Van, 435-439.
- Emrebaş, N., 2010. *Topraksız Ortamda Roka ve Tere Yetiştiriciliğinde Mikrobiyal Gübre (Trichoderma harzianum, Kuen 1585) Uygulamasının Bitki Gelişimi ve Verimi Üzerine Etkileri*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 59.
- Er, C., 2009. Organik Tarım Bakımından Türkiye’nin Potansiyeli, Bugünkü Durumu ve Geleceği. *İstanbul Ticaret Odası yayınları*, 3-4.
- Fatharani, R., Rahayu, Y.S., 2018. Isolation and Characterization of Potassium-Solubilizing Bacteria from Paddy Rhizosphere (*Oryza sativa* L.). *Journal of Physics*, 1108.
- Forchetti, G., Masciarelli, O., Alemano, S., Alvarez, D., Abdala G., 2007. Endophytic Bacteria in Sunflower (*Helianthus annuus* L.): Isolation, Characterization, and Production of Jasmonates and Abscisic Acid in Culture Medium. *Applied Microbiology and Biotechnology* 76(5), 1145-1152.
- Frossard, E., Condrón, L.M., Oberson, A., Sina, S., Fardeau, J.C., 2000. Processes Governing Phosphorus Availability in Temperate Soils. *Journal of Environmental Quality*, 29(1), 15-23.

- Glick, B., 2012, Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* 2012:1–15. Available at: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-9882-9_10. Glick B (2012) Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications.
- Goldstein, A.H., 2000. Bioprocessing of Rock Phosphate Ore: Essential Technical Considerations for the Development of a Successful Commercial Technology, *Proceedings of 4th International Association for Technical Conference, New Orleans, USA*, 220-242.
- Haktanır, K., Arcak, S. 1997. *Toprak Biyolojisi (Toprak Ekosistemine Giriş)* Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü. Yayın No: 1486. Ders Kitabı: 447, Ankara.
- Halder, A. K., Mishra, A. K., Bhattacharyya, P., Chakrabarty, P. K., 1990. Solubilization of Rock Phosphate by Rhizobium and Bradyrhizobium. *Journal of General and Applied Microbiology*, 36(2), 81-92.
- Hansda, A., Kumar, V., Anshumali A., 2017. Cu-resistant *Kocuria* sp. CRB15: a Potential PGPR Isolated from the dry Tailing of Rakha Copper Mine. *Biotech.*, 7(2), 132.
- Hansen, P.A. 1994. Symbiotic N₂ Fixation of Crop Legumes. University of Hohenheim. *Hohenheim Tropical Agricultural Series*, Germany, 248.
- Hardoim, P., 2011, Bacterial Endophytes of Rice—their Diversity, Characteristics and Perspectives. *PhD thesis Book Ridderkerk Netherlands Chapter*, 10-38.
- Hirano, K., Hayatsu, M., Nioh, H., Nakai, H., 2001, Comparison of Nitrogen Fixing Bacterial Flora of Rice Rhizosphere in the Fields Treated Long Term With Agrochemical and Non- Agrochemicals, *Microbes and Environment*, 16(3), 155-160.
- Hu, X., Chen, J., Guo, J., 2006. Two Phosphate-and-potassium-Solubilizing Bacteria Isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(9), 983-990.

- Igual, J.M., Valverde, A., Cervantes, E., Velázquez, E., 2001. Phosphate-Solubilizing Bacteria as Inoculants for Agriculture: use of Updated Molecular Techniques in their Study. *Agronomie*, 21(6-7), 561-568.
- İlter, E., Altındışli, A., 2002. Ekolojik Tarımda İlke ve Kavramlar. **Organik (Ekolojik) Tarım Eğitimi Ders Notları**. ETO, İzmir, 263.
- Kacar, B., Katkat, A.V., 2007. Gübreler ve Gübreleme Tekniği. **Nobel Yayınları**, Ankara, 559.
- Kaiser, P., 1995. Diazotrophic Mixed Cultures of *Azospirillum brasilense* and *Enterobacter cloacea*. **NATO ASI Ser. G**, No:37, 207-212.
- Karakurt, H., 2006. **Bazı Bakteri Irklarının Elmada Meyve Tutumu, Meyve Özellikleri ve Bitki Gelişimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi**. Atatürk Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Yüksek Lisans Tezi, s 86.
- Keleş, R., 2015. **Topraktan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması ve Tanımlanan Bakterilerin Roka Bitkisinin (Eruca Sativa) Gelişmesine Biyogübre Olarak Etkilerinin İncelenmesi**. Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s 77.
- Keshavarz Zarjani, J., Aliasgharzad, N., Oustan, S., Emadi, M., Ahmadi, A., 2013. Isolation and Characterization of Potassium Solubilizing Bacteria in Some Iranian Soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 59(12), 1713-1723.
- Kılıç, E., Bababgil, G.E., Yazıcı, H., Çağlar, Ö., Turan M., Dönmez F.M., Yıldırım Z., Bayraktutan M. 2007. Organik ve Mineral Gübre Uygulamalarının Fasulye Bitkisinin (*Phaseolus vulgaris* L.) Verimi ve Toprakların Gübre Elementi İçeriği Üzerine Olan Etkilerti. **Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi**, Erzurum, 625-628.
- Kızıloğlu, T., 1995. **Toprak Mikrobiyolojisi ve Biyokimyası**. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 180. Erzurum.

- Kim-Young, K., 1998. *Enterobacter agglomerans*, Phosphate Solubilizing Bacteria, and Microbial Activity in Soil: Effect of Carbon Sources., *Soil Biology and Biochemistry*, 30 (8/9), 995-1003.
- Kocaçalışkan, İ., 2008. *Bitki Fizyolojisi*. Nobel Yayıncılık, 318.
- Kucey, R.M.N., Janzen, H.H., Legget, M.E., 1989. Microbial Mediated Increases in Plant Available Phosphorus. *Advances In Agronomy*, 42, 199-228.
- Kuklinsky-Sobral, J., Araujo, W., Mendes, R., Geraldi, I., Pizzirani-Kleiner A., Azevedo, J., 2004. Isolation and Characterization of Soybean-Associated Bacteria and Their Potential for Plant Growth Promotion. *Environmental Microbiology*, 6(12), 1244-1251.
- Küsek M., 2007. *Asmada (Vitis vinifera L.) Ura Neden Olan Agrobacterium Vitis'in Tanlanması ve Mücadele Olanaklarının Araştırılması*. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, s103.
- Liu, D., Lian, B., Dong, H., 2012. Isolation of *Paenibacillus* sp. and Assessment of its Potential for Enhancing Mineral Weathering. *Geomicrobiology Journal*, 29(5), 413-421.
- Lopez, B.R., Bashan, Y., Bacilio, M., 2011. Endophytic Bacteria of Mammillaria Fraileana, an Endemic Rock-Colonizing Cactus of the Southern Sonoran Desert. *Arch Microbiol*, 193(7), 527-541.
- Maurya, B.R., Meena, V.S., Meena, O.P., 2014. Influence of Inceptisol and Alfisol's Potassium Solubilizing Bacteria (KSB) Isolates on Release of K from Waste mica. *Vegetos*. 27(1), 181-187.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Bahadur, I., 2015. Potassium Solubilization by Bacterial Strain in Waste Mica. *Bangladesh Journal of Botany*. 43(2), 235-237.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P. 2014. Does a Rhizospheric Microorganism Enhance K⁺ Availability in Agricultural Soils. *Microbiological Research*, 169(5), 337-347.

- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Meena, R.S., 2016. *Potassium solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. Springer.
- Mehta, S., Nautiyal, C.S., 2001. An Efficient Method for Qualitative Screening of Phosphate- Solubilizing Bacteria., *Current Microbiology*, 43(1), 51-56.
- Mursyida, E., Mubarik, R.N., Tjahjoleksono, A., 2015. Selection and Identification of Phosphate-Potassium Solubilizing Bacteria from the Area Around the Limestone Mining in Cirebon Quarry. *Research Journal of Microbiology*, 10 (6), 270-279.
- Müftüoğlu, N.M., Demirer, T., 1998, Toprakta Azot Bilançosu, *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29 (1), 175-185.
- Nahas, E., 1996. Factors Determining Rock Phosphate Solubilization by Microorganisms Isolated from Soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(6), 567-572
- Nahas, E., 2007. Phosphate Solubilising Microorganisms: Effect of Carbon, Nitrogen and Phosphorus Sources. *Developments in Plant and Soil Science*, 111-115.
- Narsian, V., Patel, H.H., 2000. *Aspergillus aculeatus* as Rock Phosphate Solubilizers. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(4), 559-565
- Nautiyal, C.S., 1999. An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265-270.
- Nautiyal, C.S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., Verma, D., 2000. Stres Induced Phosphate Solubilization in Bacteria Isolated From Alkaline Soils. *Fems Microbiology Letters*, 182(2), 291-296.
- Nielsen, M.N., Winding, A., 2002. Microorganisms As Indicators of Soil Health. *National Environmental Research Institute, Technical Report No: 388*, Denmark.
- Özdemir, S., 2002. *Yemelik tane baklagiller*. Hasad yayıncılık. 28-46.

- Özturan Akman, Y., 2017, *Rhizobium ve Mikoriza Uygulamalarının Fasulye (Phaseolus Vulgaris L.)'nin Tane Verimi ve Bazı Tarımsal Karakterleri Üzerine Etkileri*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi Samsun, s 155.
- Özyılmaz Ü., 2007. *Aydın İlinde Çilek Kök Hastalıklarına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Savaş*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s 145.
- Parmar, K.B., Mehta, B.P., Kunt, M.D., 2016. Isolation, Characterization and Identification of Potassium Solubilizing Bacteria From Rhizosphere Soil of Maize (*Zea mays*). *International Journal of Science, Environment and Technology*, 5 (5), 3030-3037.
- Parmar, P., Sindhu, S.S., 2013. Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *Journal of Microbiology Research*, 3(1), 25-3.
- Poonamgautam, A.K., Agnihotri, L., Pant, M., 2003. Effect of Phosphorus Rate and Pseudomonas Species in Combination With Bradyrhizobium Japonicum and Farmyard Manure on Seed Yield and Yield Attributes of Soybean (*Glycine max*). *Journal of Agricultural Sciences*, 73(8), 426-428.
- Pradhan, N., Sukla, L.B., 2005. Solubilization of İnorganic Phosphates by Fungi İsolated From Agriculture Soil. *African Journal Biotechnol*, 5(10), 850-854.
- Prajapati, K., Sharma, M.C., Modi, H.A. 2013. Growth Promoting Effect of Potassium Solubilizing Microorganisms on Okra (*Abelmoscus Esculentus*). *Journal of Agricultural Sciences*, 1, 181-188.
- Puente, M.E., Bashan, Y., Li, C.Y., Lebsky, V.K., 2004. Microbial Populations and Activities in The Rhizoplane of Rock-Weathering Desert Plants. I. Root Colonization and Weathering of İgneous Rocks. *Plant Biology*, 6(5), 629-642.
- Puente, M.E., Li, C.Y., Bashan, Y., 2009. Endophytic Bacteria in Cacti Seeds Can İmprove the Development of Cactus Seedlings *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 402-408.

- Purwanto, P., Simarmata, T., 2017. Nitrogenase Activity and IAA Production of Indigenous Diazotroph and Its Effect on Rice Seedling Growth. *Agrivita Journal of Agricultural Science*, 39(1), 31-37.
- Quiquampoix, H., Mousain, D., 2005. *Enzymatic Hydrolysis of Organic Phosphorus*. In: Turner BL, Frossard E, Baldwin DS (eds) *Organic Phosphorous in the Environment*. CABI, Wallingford, 89-112.
- Rajawat, M.V.S., Singh, S., Singh, G., Saxena, A.K., 2012. Isolation and Characterization of K-Solubilizing Bacteria Isolated from Different Rhizospheric Soil. *Proceeding of 53rd Annual Conference of Association of Microbiologists of India*, India, 124.
- Rana G., Mandal T., Mandal N. K., Sakha D. and Meikap C. B., 2015. Calcite Solubilization by Bacteria: A Novel Method of Environment Pollution Control. *Geomicrobiology Journal*, 32(9), 846-852,
- Ratti, N., 2001. Improvement in Bioavailability of Tricalcium Phosphate Tocymbopogon Martini Var. Motia by *Rhizobacteria*, AMF and *Azospirillum* Inoculation. *Microbiological Research*, 156(2), 145-149.
- Richardson, A. E., Hadobas, P.A., Hayes, J.E., 2000. Acid Phosphomonoesterase and Phytase Activities of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Roots and Utilization of Organic Phosphorous Substrates by Seedlings Grown in Sterile Culture. *Plant, Cell and Environment*, 23(4), 397-440.
- Richardson, A.E., 2001. Prospects for Using Soil Microorganisms to Improve the Acquisition of Phosphorus by Plants. *Australian Journal Of Plant Physiology*, 28(9), 897-906.
- Rodriguez, H., Fraga, R., 1999. Phosphates Solubilization Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4-5), 319-339.
- Römheld, V., Kirkby, E.A. 2010. Research on Potassium in Agriculture: Needs and Prospects. *Plant Soil*. 335(1-2), 155-180.

- Saiyad, S.A., Jhala, Y.K., Vyas, R.V., 2015. Comparative Efficiency of Five Potash And Phosphate Solubilizing Bacteria And Their Key Enzymes Useful For Enhancing and Improvement of Soil Fertility. *International Journal of Scientific and Research Publication*, 5(2), 1-6.
- Sen, A., Padhan, D., Poi, S.C., 2016. Isolation and Characterization of Mineral Potassium Solubilizing Bacteria From Rhizosphere Soils. *Journal of Applied and Natural Science*, 8(2), 705-710.
- Seshadri, S., Signacimuthu, C., Lakshminarasimhan, 2004. Effect of Nitrogen and Carbon Sources on the Inorganic Phosphate Solubilization by Different *Aspergillus niger* Strains. *Chemical Engineering Communications*, 191(8), 1043-1052.
- Sezen A., 2012. *Bitki Büyümesini Teşvik Edici Bakterilerin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Nohut Bitkisinde Biyogübre Ajanı Olarak Kullanılabilme Potansiyellerinin Belirlenmesi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s 74.
- Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H., Gobi, T.A., 2013. Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. *Springer Plus*, 2(1), 587.
- Sheng, X.F., He, L.Y., 2006. Solubilization of Potassium- Bearing Minerals by a Wild-Type Strain of *Bacillus edaphicus* and its Mutants and Increased Potassium Uptake by Wheat. *Canadian Journal of Microbiology*. 52(1), 66-72.
- Sheng, X.F., Zhao, F., He, L.Y., Qiu, G., Chen, L., 2008. Isolation and Characterization of Silicate Mineral-Solubilizing *Bacillus globisporus* Q12 from the Surfaces of Weathered Feldspar, *Canadian Journal of Microbiology*, 54(12), 1064-1068.
- Shigaki, F., Sharpley, A.N., Prochnow, L.I., 2006. Animal-based Agriculture, Phosphorus and Management and Water Quality in Brazil: Options for The Future, *Scientia Agricola*, 63(2), 194–209.

- Singh, J.S., Pandey, V.C., Singh, D.P., 2011. Efficient Soil Microorganisms: A New Dimension for Sustainable Agriculture and Environmental Development. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 140(3-4), 339-353.
- Singh, G., Biswas, D.R., Marwah, T.S., 2010. Mobilization of Potassium From Waste Mica By Plantgrowth Promoting Rhizobacteria and its Assimilation by Maize (*Zea mays*) and Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Nutrition.*, 33(8), 1236-1251.
- Sparks, D.L., Huang, P.M., 1985. Physical Chemistry of Soil Potassium. *Potassium in agriculture*. 201-276.
- Stephen, F., Nybe, E.V., 2003. Organic Manures and Biofertilizers on Nutrient Availability and Yield In Black Pepper. *Journal of Tropical Agriculture*, 41, 52-55.
- Styriakova, I., Styriak, I., Galko, D., Hradil, P., Bezdicka, P., 2003. The Release of Iron-Bearing Minerals and Dissolution of Feldspars by Heterotrophic Bacteria of *Bacillus* species. *Ceram. Silik.*, 47(1), 20-26.
- Subbarao, N.S., 1988. Phosphate Solubilizing Micro-Organism. In: Biofertilizer in Agriculture and Forestry. *Regional Biofert. Dev. Centre, Hissar, India*. pp. 133-142.
- Sujatha, S., Sirisham, S., Reddy, S.M., 2004. Phosphate Solubilization by Thermophilic Microorganisms. *Indian Journal of Microbiology*, 44(2), 101-104.
- Sundara, B., Natarajan, V., Hari, K., 2002. Influence of Phosphorus Solubilizing Bacteria on The Changes in Soil Available Phosphorus and Sugarcane and Sugar Yields. *Field Crops Research*, 77(1), 43-49.
- Szekeres, A., 2006. Ecophysiological and Molecular Investigation of *Trichoderma* Strains Isolated from Winter Wheat Rhizosphere. *Acta Biologica Szeged*, 49(3-4), 61.

- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., 2004. Sugar Beet and Barley Yields in Relation to Inoculation With N₂-Fixing and Phosphate Solubilizing Bacteria. *Plant and Soil*, 265(1-2), 123-129.
- Taha, S.M., Mahmoud, S.A.Z., El-Damaty, A.A., Abd El- Hafez, A.M., 1969. Activity of Phosphate Dissolving Bacteria İn Egyptian Soil. *Plant Soil*, 31(1), 149.
- Tarafdar, J.C., Bareja, M., Panwar, J., 2003. Efficiency of Some Phosphatase Producing Soil-Fungi. Indian *Journal of Microbiology*, 43(1), 27-32.
- Te-Hsiu, M., 1999. The İnternational Program on Plant Bioassays and the Report of the Follow-Up Study After The Hands-on Workshop in China. *Mutation Research*, 426(2): 103-106.
- Toprak, E., 2012. “*Kök Bakterilerinin Farklı Substratlarda Domates Yetiştiriciliğine Etkisi*”, Ege Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s 112.
- Tosun, N., Türküsay, H., Saygılı, H. ve Tanyolaç, B., 2003, Sanayi Domatesi Yetiştiriciliğinde Geç Yanıklık (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) Hastalığının Kontrolünde Erken Uyarı Sisteminin Kullanılması Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar*. Proje No: 2000/BIL/005, 2.
- Turan, M., Ataoglu, N., Sahin, F., 2005. Evaluation the Capacity of Phosphate Solubilizing Bacteria and Fungi on Different Forms of Phosphorus in Liquid Culture. *Journal of Sustainable Agriculture*, 28(3), 99-108.
- Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M.P., Frey-Klett, P., 2009. Mineral Weathering by Bacteria: Ecology,Actors and Mechanisms. *Trends Microbiol.* 17(8), 378-387.
- Uyanık, M., Afshar Pour Rezaeieh, K, Delen, Y, Gürbüz, B., 2011. *Baklagillerde Bakteri Aşlaması ve Azot Fiksasyonu*. *Ziraat Mühendisliği*, Temmuz-Aralık, Sayı: 357.
- Ünlü S., 2007. *Bakteriyel Yanıklık Etmeni Xanthomonas axonopodis pv. Pelargonii'nin Sardunya'da (Pelargonium Spp.) Tanısı ve Biyolojik*

Mücadelesi Üzerine Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s 117.

Vassilev, N., Vasileva, M.A., Nikolaeva, L., 2006. Simultaneous P Solubilizing and Biocontrol Activity of Microorganisms: ***Potentials and Future Trends. Applied Microbiology and Biotechnology***, 71(2), 137-144.

Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M., Lopez-cortes, A., Bashan, Y., 2000. Phosphate Solubilizing Microorganisms Associated With the Rhizosphere of Mangroves in a Semi-Arid Coastal Lagoon. ***Biol Fertil Soils***, 30(5-6), 460–468.

Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., Valero, J.R., 2007, Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: ***Panoply of Biological Control. Biochemical Engineering Journal***. 37(1), 1-20.

Verma A., Patidar Y. And Vaishampayan Y., 2016. Isolation and Purification of Potassium Solubilizing Bacteria from Different Regions of India and its Effect on Crop's Yield. ***Indian Journal of Microbiology Research***, 3(4), 483-488.

Vessey, J.K., 2003, Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Bio Fertilizers. ***Plant and Soil***, 255(2), 571-586.

Whitehead, D.C., 2000. Nutritient Elements in Grassland: ***Soil-Plant-Animal Relationships***. CABI Publ. Walling ford, 369.

Whitelaw, M.A, Harden, T.J, Helyar, K.R., 1999. Phosphate Solubilisation in Solution Culture by the Soil Fungus *Penicillium radicum*. ***Soil Biology and Biochemistry***, 31(5), 655-665.

Whitelaw, M.A., 2000. Growth Promotion of Plants Inoculated With Phosphate Solubilizing Fungi. ***Advances In Agronomy***, 69, 99-151.

Xiao, Y., Wang, X., Chen, W., Huang, Q., 2017. Isolation and Identification of three Potassium-Solubilizing Bacteria from Rape Rhizospheric Soil And their Effects on Ryegrass. ***Geomicrobiology Journal***, 82,18–25

Yolcu, H., Daşcı, M., 2008. Ülkemizde Organik Yem Bitkileri Üretiminin Mevcut Durumu. ***Hasad Hayvancılık Dergisi***. 24, 40-46.

Zengin, M., 2007. *Organik Tarım*. Hasad Yayıncılık, s 136.

Zhang C. And Kong F., 2014. Isolation and Identification of Potassium-Solubilizing Bacteria from Tobacco Rhizospheric Soil and their Effect on Tobacco Plants. *Applied Soil Ecology*, 82, 18–25.

Zhao, X.R., Lin, Q.M., 2001. A review of Phosphate Dissolving Microorganisms. *Soil Fertilizer*, 3, 7-11.



ÖZGEÇMİŞ

28.05.1992 tarihinde Diyarbakır'ın Ergani ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ergani'de tamamladı. 2011 yılında Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nü kazandı. 2015 yılında bölümünü başarıyla tamamlayarak Ziraat Mühendisi ünvanı almaya hak kazandı. Aynı yıl Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında özel öğrenci olarak Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2016 yılında normal öğrenci statüsüne geçti.

