



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUĞDAY KÖK BÖLGESİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN
BUĞDAY GELİŞİMİNE OLAN ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

MERYEM ÇELİKTEN

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
ARALIK-2016**



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BUĞDAY KÖK BÖLGESİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN
BUĞDAY GELİŞİMİNE OLAN ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

MERYEM ÇELİKTEN

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
ARALIK-2016**

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BACA TOZLARININ KARAKTERİZASYONU VE TEKRAR
KULLANILABİLİRLİĞİ

MEHMET VALÇINKAYA

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Zeki AYDIN danışmanlığında hazırlanan bu tez 22/12/2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Zeki AYDIN
Başkan

Doç. Dr. Yaşın YÜCEL
Üye

Yrd. Doç. Dr. Abdullah ÖZKAN
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

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

08.12.2016

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Meryem ÇELİKTEN

ÖZET

BUĞDAY KÖK BÖLGESİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN BUĞDAY GELİŞİMİNE OLAN ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bitki köklerinde kolonize olabilen ve bitkiler ile simbiyotik bir ilişki içerisinde bulunan kök bakterileri, biyogübre olarak kullanılan mikroorganizmaların büyük bir grubunu oluşturmaktadır. Canlı mikroorganizmalar içeren biyogübreler tohuma, bitki yüzeyine ve toprağa uygulandığında kök yüzeyi veya bitki iç dokularında kolonize olabilmekte ve bitkilerin ihtiyacı olan temel bileşikleri sağlayarak bitki gelişimini arttırmaktadırlar. Bu çalışmada sağlıklı buğday bitkilerinin köklerinden elde edilen bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin (PGPR) buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkilerinin gelişimine etkileri incelenmiştir. PGPR bakterilerinin izolasyonu amacıyla Hatay ilinde 9 farklı buğday tarlasından kök örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerden 120 bakteri izole edilmiş ve MALDI-TOF ile tanısı yapılan bakteri izolatlarının *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia*, ve *Corynebacterium* cinslerine ait olduğu saptanmıştır. Bakteri izolatları arasında 73 PGPR izolatı buğday tohumlarına uygulanmış olup, kök ve sürgün gelişimine etkileri belirlenmiştir. Bakteri uygulanan tohumlar *in vitro* koşullarda kök gelişimini kontrol uygulamasına göre %7,1 ile %70,6 oranlarında, sürgün gelişiminde ise %6,6 ile %102 oranlarında arttırmıştır. Bununla beraber tohum çimlenme testinde 4 izolat (*Pseudomonas libanensis* 1KRK10, *Pseudomonas kilonensis* 3KRK7, *Corynebacterium urealyticum* 6ALD5 ve *Bacillus pumilis* 10ASO1) kök gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir. Ayrıca PGPR bakteri izolatlarının fosfat çözme kapasiteleri ve siderofor üretim miktarları belirlenmiştir. Fosfat çözünürlüğü testinde en etkili PGPR izolatı *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 olarak belirlenirken, siderofor üretiminde ise en etkili izolat *Bacillus mojavensis* 5DRC4 olarak saptanmıştır.

2016, 46 sayfa

Anahtar kelimeler: PGPR, buğday, biyogübre, fosfat çözünürlüğü, siderofor

ABSTRACT

DETERMINATION OF ACTIVITIES OF RHIZOBACTERIA ISOLATED FROM WHEAT ROOTS ON PLANT GROWTH

Rhizobacteria are root-colonizing bacteria that form symbiotic relationships with many plants. They are an important group of microorganisms used in biofertilizer. Biofertilizer (also bio-fertilizer) is a substance which contains living microorganisms which, when applied to seeds, plant surfaces, or soil, colonize the rhizosphere or the interior of the plant and promotes growth by increasing the supply or availability of primary nutrients to the host plant. In this study isolation and possible use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from roots of healthy wheat plants were investigated. Plant root samples were collected from several fields in 9 different region of Hatay province and used for isolating putative PGPR isolates. From these plant samples, total of 120 bacterial isolates were obtained and identified by using MALDI-TOF instrument. All bacterial isolates were identified as belonging to *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* and *Corynebacterium* genera. Among these isolates, 73 different PGPR isolates were used as seed treatment and growth parameters of wheat seeds such as root and shoot lengths were recorded. Bacterial isolates promoted root length by 7.1-70.6%, shoot length by 6.6-102.0% in comparison to control treatment. The most effective PGPR isolates for promoting root and shoot length were recorded with *Bacillus pumilis* 10ASO2 (70.6%) and *Bacillus megaterium* 10ASO9 (102.0%) isolates, respectively. On the other hand, four bacterial isolates (*Pseudomonas libanensis* 1KRK10, *Pseudomonas kilonensis* 3KRK7, *Corynebacterium urealyticum* 6ALD5 and *Bacillus pumilis* 10ASO1) had negative (suppressive) effect on root development. Modes of action of PGPR such as solubilizing phosphorus and siderophore production were also determined. *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 and *Bacillus mojavensis* 5DRC4 isolates were recorded as the most efficient PGPR isolates for solubilizing phosphorus and siderophore production, respectively.

2016, 46 pages

Key words: PGPR, wheat, biofertilizer, phosphate solubility, siderophore

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konusunun belirlenmesinde, araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmayı yönlendiren ve her türlü yardımı esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Yrd. Doç. Dr. İ. Adem BOZKURT'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazımı sırasında her türlü yardımı esirgemeyen bölümümüz hocalarından Arş. Gör. Ahmet Emin Yıldırım'a, tez çalışması içerisinde yer alan bakteri tanısında yardımlarını esirgemeyen Ziraat Yüksek Mühendisi Aysun UYSAL'a isimlerini burada yazamadığım ama yardımlarını esirgememiş herkese içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen teyzeme ve çalışma sırasında beni sabırla bekleyen çok değerli aileme çok teşekkür ederim.

Ayrıca bu yüksek lisans tez çalışmasını her anımda yanımda olan, emeklerini asla ödeyemeyeceğim anneme ve babama ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VII
1.GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Materyal.....	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. PGPR Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanısı	18
3.2.2. PGPR İzolatlarının Buğday Çimlenmesine Olan Etkilerinin in vitro Koşullarda Belirlenmesi	20
3.2.3. PGPR İzolatlarının Etki Mekanizmalarını Belirlenmesi.....	21
3.2.3.1. Siderofor Üretiminin Belirlenmesi	22
3.2.3.2. Fosfat Çözünürlüğü Testi	22
3.2.4. Tütün Aşırı Duyarlılık Testi	22
3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	24
4.1. PGPR Adayı Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanısı.....	24
4.2. PGPR İzolatlarının Buğday Çimlenmesine Olan Etkilerinin in vitro Olarak Belirlenmesi	28
4.3.PGPR İzolatlarının Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi	31
4.3.1. Fosfat Çözünürlüğü Testi	31
4.3.2. Siderofor Üretimi	33
4.5. Tütün aşırı duyarlılık testi (HR)	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
6. KAYNAKLAR	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Ülkelere göre 2013 yılı buğday üretim miktarları.....	1
Çizelge 1.2.	İller bazında Türkiye 2015 yılı buğday üretimi (Anonim, 2015).....	2
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan besi ortamları ve içerikleri.....	17
Çizelge 4.1.	Tanısı yapılan PGPR bakteri izolatları ve tanılama indeks değerleri.....	24
Çizelge 4.2.	PGPR bakteri uygulamalarının buğday kök, sürgün gelişimi (cm) üzerine etkisi (%).....	28
Çizelge 4.3.	Bakterilerin fosfatı çözmeleri sonucunda oluşan şeffaf zonların çapına bağlı olarak hesaplanan çözünürlük indeks değerleri	32
Çizelge 4.4.	PGPR izolatlarınca Blue-CAS Agar besi ortamında üretilen siderofor sonucu oluşan zonlara bağlı hesaplanan siderofor indeks değerleri.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3. 1.	Tarladan izolasyon amaçlı buğday örneklerinin alınması (a), alınan kök örneklerinin izolasyon amaçlı çalkalayıcı inkübatöre yerleştirilmesi (b), izolasyon ve inokülasyon sonucu gelişen bakteri kolonileri (c) ve 364nm dalga boylu UV ışık altında floresans pigment üreten bakteriler (d).....	17
Şekil 3. 2.	Tanımlama çalışmalarında kullanılan MALDI-TOF metal plakasına PGPR izolatlarının konulması (a) ve üzerlerinin matris solüsyonu ile kaplanması	20
Şekil 3. 3.	Metal plakanın MALDI-TOF cihazı içerisine yerleştirilmesi (a) ve izolatların MALDI-TOF biotyper yazılımı ile tanınması (b)	20
Şekil 3. 4.	Buğday tohumlarına PGPR izolatlarının bulaştırılması ve uygulama sonrası petrielerde çimlenen tohumlar	21
Şekil 3. 5.	PGPR izolatlarının tütün yaprakları üzerinde aşırı duyarlılık (HR) testi	23
Şekil 4. 1.	Buğday kök bölgelerinden izole edilen PGPR izolatlarının King B besi ortamındaki genel görünüşleri (a), UV ışık altında floresan parlama gösteren <i>Pseudomonas</i> spp. (b)	24
Şekil 4. 2.	Buğday köklerinden izole edilip tanısı yapılan PCPR izolatlarının cins düzeyinde dağılımı	27
Şekil 4. 3.	Farklı PGPR izolatları ile muamele görmüş buğday tohumlarının kök ve sürgün gelişimi.....	28
Şekil 4. 4.	PGPR izolatlarınca NBRIP besi ortamı üzerinde fosfat çözülmesi sonucu oluşan zonlar	33
Şekil 4. 5.	PGPR izolatlarınca Blue-CAS agarda siderofor üretimi sonucu oluşan turuncu zonlar	33
Şekil 4. 6.	<i>Bacillus mojavensis</i> 5DRC4 nolu izolatın siderofor üretimi sonucu Blue-CAS Agar üzerinde oluşturduğu turuncu zon.....	35
Şekil 4. 7.	Tütün aşırı duyarlılık testi HR pozitif sonuç verenler siyah ok ile negatif kontrol bölgesi kırmızı ok ile gösterilmiştir.	36

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

µl	: Mikrolitre
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
cfu/ml	: Colony Forming Unit (hücre/ml)

KISALTMALAR

MALDI-TOF	: M atrix- A ssisted L aser D esorption I onization- T ime of F light Mass Spectrometry
KB	: K ing's A gar B
NGA	: N utrient G lycerol A gar
Blue-CAS Agar	: B lue C hrome A zurol S Agar
UV	: U ltra V iolet, M or Ö tesi I şın
PGPR	: P lant G rowth P romiting R hizobacteria (Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kök Bakterileri)
NA	: N utrient A gar
FA	: F ormik A sit
ACN	: A setonitril
HCCA	: A lfa siyano 4 hidroksi s innamic acid
TFA	: T rifluoroasetik A sit
CMC	: C arboxy M ethyl C ellulose
SI	: Ç özünürlük İ ndeksi (Solubility Index)
HR	: H ypersensitive R eaction (Aşırı duyarlılık)
DRB	: D eleterious R izobacter
NBRIP	: N ational B otanical R esearch I nstitute's P hosphate growth
P	: F osfor
K	: P otasyum
IAA	: I ndol A setik A sit

Zn	: Çinko
Cu	: Bakır
Mn	: Mangan
Fe	: Demir
MÖ	: Milattan Önce
FAO	: F ood and A griculture O rganization of the United Nations (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
vb.	: ve benzeri
kg	: Kilogram
ha	: hektar
da	: dekar
mg	: miligram
lt	: litre
mm	: milimetre
t	: ton
nm	: nano metre
dk.	: dakika
sp.	: tür
spp.	: türleri

1.GİRİŞ

Buğday (*Triticum spp.*) çok eski zamanlardan beri tarımı yapılan ve başlıca besin kaynağı olarak tüketilen bir bitkidir. Yapılan kazılarda ortaya çıkarılan buğday tohumlarının incelenmesi sonucu buğdayın M.Ö 7000 yıllarında kültüre alındığı anlaşılmıştır. Buğday bitkisinin kökeninin Güneybatı Asya olduğu kabul edilmekle birlikte; Türkiye, Suriye, Irak ve Kafkasya’da yabancı buğday türlerinin bulunduğu bu yüzden de bu bölgenin gen merkezi olarak kabul edilmesi gerektiği belirtilmektedir (Harlan ve Zohary, 1966). FAO’nun 2013 verilerine göre, dünya genelinde buğday üretim alanı 218 milyon hektar olup, toplam üretim ise 713 milyon tondur.(Anonymous, 2013) Ülkemiz 22 milyon ton buğday üretimi ile Dünya buğday üretiminde 11. sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Ünelere göre 2013 yılı buğday üretim miktarları

Ülkeler	Üretilen Buğday (ton)
Çin	121.720,000
Hindistan	93.510,000
ABD	57.966,658
Rusya	52.090,797
Fransa	38.613,900
Kanada	37.529,600
Almanya	25.013,100
Pakistan	24.231,000
Avusturalya	22.855,576
Ukranya	22.793,000
Türkiye	22.050,000
Dünya	13.182,914

Çizelge 1.2’de görülebileceği gibi ülkemizde toplam 65.931,140 da alanda 22.050,000 ton buğday üretilmekte olup 2015 yılında iller bazında ilk sırayı 1.696,326 ton ile Konya alırken Hatay ili ise 287.712 ton buğday üretimi ile 23. sırada yer almaktadır (Anonim, 2015).

Çizelge 1.2. İller bazında Türkiye 2015 yılı buğday üretimi (Anonim, 2015).

İller	Üretim alanı (da)	Üretim miktarı (ton)
Konya	4.863.382	1.696,326
Ankara	4.284.615	1.073,493
Diyarbakır	2.960,183	915.292
Tekirdağ	1.841.841	744.257
Sivas	2.935,062	742.881
Adana	1.874,551	730.298
Şanlıurfa	1.709,608	582.722
Yozgat	2.339,016	567.580
Çorum	1.874,684	536.245
Eskişehir	1.816,375	494.180
Hatay	695.467	287.712

Buğday, dünyada toplam tahıl ekilisinin %32'sini, toplam tahıl üretiminin ise %35'ini tek basına sağlamaktadır (Anonymous, 1999). Vitamin ve mineral madde yönünden zengin, en önemli karbonhidrat kaynaklarından biri olan buğday; ortam koşullarına uyumu, tanelerinin kolay saklanabilmesi ve kolayca una çevrilmesi gibi özelliklerinden dolayı, beslenmenin en önemli bileşenidir (Milner ve ark., 1978). Buğday türleri ploidi seviyelerine göre 3 grupta toplanırlar. Bunlar; diploid ($2n=14$) *Triticum monococcum* AA, tetraploid ($2n=28$) *Triticum turgidum* ssp. *durum* AABB (makarnalık buğday, durum buğdayı) ve heksaploid ($2n=42$) *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* AABBDD (ekmeklik buğday)'dur (Joppa, 1993). Optimum gelişme sıcaklığı 25°C olan buğdayın değişik genotipleri birbirinden çok farklı toprak ve iklim koşullarında yaşayabilir. Buğdayın en iyi geliştiği bölgelerdeki yıllık yağış miktarı 375-875 mm olup; nem miktarındaki artış kök yapısının bozulmasına, hastalıklara ve dolayısıyla verimde azalmaya neden olur (Temel, 2006). Dünyada herhangi bir yerde ve herhangi bir zamanda toplanabilen bir bitki olmasına rağmen, buğdayın Kuzey Yarımküredeki ılıman bölgelerde hasat mevsimi nisan ve eylül ayları iken; Güney Yarımküredeki hasat mevsimi ekim ve ocak aylarıdır (Leonard ve Martin, 1963). 2025 yılında dünya nüfusu için gereken toplam buğday miktarının 786 milyon ton olacağı tahmini, buğday üretiminin artırılmasının önemini vurgulamaktadır. Buğday üretimi ise 2 yolla artırılabilir. Bu yolların ilki buğday ekilen alanları genişletmek, diğeri ise buğday

verimini arttırmaktır (Curtis ve ark., 2002). Tarım alanlarını genişletmek için orman alanlarının azaltılmasının, buğday üretimini arttırmada tek başına yeterli olamayacağı ve bu uygulamanın başka sorunlara (ozon tabakasına etkisi, yeni toprak çeşitlerinin ortaya çıkması vb.) yol açabilecek olması, buğday da dahil olmak üzere diğer tarım ürünlerinde verimin artırılması yolunda ilerlemenin, ihtiyacı karşılamada daha iyi sonuçlar vereceğini düşündürmektedir. Verim artışı ise; gübreleri daha etkili bir biçimde kullanarak, ComCatR gibi verim arttırıcı maddelerden yararlanarak ve ortam koşullarına dayanıklı çeşitler yetiştirerek sağlanabilir (Alam, 2004). Ülkemizde bitki besin maddesine göre gübre tüketimi (83 kg/ha), dünya ortalamasının (95 kg/ha) altındadır (Dölekoğlu ve Çakaryıldırım, 2003). Türkiye’de 1994 yılında ortalama 84 kg/ha gübre kullanılmıştır (N+P₂O₅+K₂O). 1990 yılında 4.995.407 ton olan kimyevi gübre tüketimi 2007 yılında 5.148.059 ton olarak gerçekleşmiştir (Güneri, 2008).

Tarım sektöründe, sürdürülebilir tarımın önemli unsurlarından biri olan entegre bitki besin maddesi yönetiminin yaygın olarak bilinip uygulandığı söylenemez. Tüketicinin büyük kısmı hala geleneksel şekilde gübreleme yapmakta ve gübreyi rengine bakarak satın almaktadır. Yılmaz ve ark., (2009) tarafından yapılan bir araştırmada çiftçilerin %34’ünün gübre miktarını, %38’inin gübre çeşidini ve %37’sinin gübreleme zamanını belirlerken kendi bilgi ve tecrübesine göre karar verdikleri ve %79’unun da gübre ve gübreleme ile ilgili herhangi bir çiftçi eğitim faaliyetine katılmadıkları belirlenmiştir. Tarım sektöründe eğitim ve yayım hizmetleri yeterli düzeyde değildir. Tarım teşkilatı ile mesleki kuruluşlar bu eksikliği teorik ve uygulamalı çiftçi eğitim programları ile gidermek için çaba sarf etmelidirler. Sürdürülebilir tarım ilkelerine bağlı kalınarak gübrelemenin çevreye zararını önlemek için doğru cins ve miktarda gübre kullanımı kritik öneme sahiptir. Doğru cins ve miktarda gübre kullanımının en etkili yolu ise toprak ve bitki analizlerine dayalı uygulamalardır. Ancak ülkemizde bu şekilde yapılan gübreleme oranı kamu kuruluşları ve gübre üretici kuruluşlar ücretsiz analiz yaptığı halde çok düşüktür. Toprak ve bitki analizlerine dayalı gübreleme tüketici eğitim programının önde gelen konularından birisi olmalıdır. Buğday üretiminde genel olarak azotlu, fosforlu, potasyumlu ve kompoze gübreler kullanılmaktadır.

Doğal kaynakların korunumu ve bu çerçevede sürdürülebilir tarım son dönemlerde tüm dünyanın önemli gündem maddelerinden birisidir. Sürdürülebilir veya

iyi tarım uygulamalarının bileşenlerini; toprak, su ve bitkisel kaynakların etkin, verimli kullanımı ve kaybının önlenmesi, çevrenin korunması, toplum sağlığı açısından gıda güvenliği ve son aşamada da gelecek kuşaklara yaşanılabilir bir doğa bırakılması oluşturmaktadır. Tarımsal etkinlikler içerisinde gübreleme önemli bir rol oynamaktadır. Bitkilerin yaşamlarını devam ettirebilmeleri buldukları ortamda yeteri kadar besin elementi olmasına bağlıdır. Toprak tabii olarak çok sayıda mineral maddeyi yapısında bulundurur. Ancak bunların miktarları her zaman yeterli seviyede değildir. Özellikle üzerinde bitki yetiştirilen topraklar zamanla besin elementleri yönünden fakirleşir. Bu bağlamda üretimini yaptığımız bitkilerden yeterli miktar ve kalitede ürün alabilmemiz toprakta eksilen mineral besin elementlerinin takviye edilmesine bağlıdır. Bitki beslemenin önemi burada başlar. Bitkiler topraktan yıllık önemli miktarlarda besin elementi kaldırır. Kaldırılan bu besin elementleri ikame edilemez ise bitkilerde bir takım beslenme bozuklukları ve verim düşüşleri görülür. Bu durumun önlenmesi için gerekli besin elementlerinden yeteri kadar takviye yapılmalıdır. Geleneksel tarımda önemli bir girdi olan gübre; miktar, uygulama zamanı ve şekli iyi planlandığında ve bilinçli kullanıldığında ürünün verim ve kalitesine olumlu yansımalar yapmaktadır. Fakat bu optimum koşullar dışına çıkıldığında ise önemli problemlere yol açmaktadır (İrget ve ark., 2005).

Özellikle 1970'li yıllarda 'yeşil devrim' olarak anılan politikalarla tarımsal üretimde birim alandan maksimum ürün alabilmek için yıllarca yoğun şekilde kimyasal pestisit ve gübre kullanılmıştır. 1980'li yıllara gelindiğinde ise bu uygulamaların sonucunda çevrenin geri dönülemez biçimde kirlenip doğal dengenin tahrip olmaya başladığı anlaşılmıştır (Aksoy ve ark., 2005).

Yoğun şekilde ve bilinçsizce kimyasal gübre kullanımının neden olduğu zararlara genel olarak bakacak olursak bunlar,

- Yer altı ve yer üstü sularının kirlenmesi,
- Toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini etkilemesi,
- Dolaylı veya doğrudan bitki gelişimini olumsuz etkilemesi,
- Gıdalarda nitrat birikimi,
- Küresel ısınma, olarak görülebilir.

Özellikle nitratlı gübreler, genel olarak da azotlu gübrelerin yoğun olarak kullanımı sonucu yer altı ve yerüstü sularının nitrat içeriği artmaktadır. Bitkiler aşırı

olarak verilen azotun tamamını kullanamazlar ve toprakta kalan önemli bir miktar, sulama suları ile yer altı sularının bulunduğu derinliklere yıkanmaktadır.

İçme suları ile veya bitki üzerinde kalıntı şeklinde biriken nitratın insanlar tarafından alınmasıyla nitrat nitrite indirgenmekte, nitrit ise bir dizi reaksiyonla insanlarda kansere ve mutasyona neden olan nitrosamine dönüşmektedir (Aksoy ve ark., 2005).

Aşırı fosforlu gübre kullanımı sonucu toprakta biriken fosfor yağmur ve sulama suları ile göl ve nehirlere taşınmaktadır. Burada yüzey suyundaki fosfor konsantrasyonundaki artış alg gelişimini teşvik etmekte, aşırı alg gelişimi ise suların oksijen dengesini bozarak bu sulardaki canlı yaşamını sınırlandırmaktadır. Ötrifikasyon adı verilen bu olayın başlaması için gerekli olan fosfor konsantrasyonunun kritik değerinin sadece 0.01mg/l olduğu bildirilmektedir (Aktaş, 1994).

Bilinçsiz bir şekilde yapılan gübreleme toprakta mevcut olan bitki besin maddesi dengesinin bozulmasına, toprak pH'sının değişmesine ve toprakta yaşayan makro ve mikro faunanın zarar görerek, canlı yaşamının olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır (Demirtaş ve Kaya, 2006)

Karadeniz bölgesi çay tarımı yapılan bölgelerde uzun yıllar boyunca yoğun miktarda amonyum sülfat gübresi kullanımı sonucu bu yörelerde toprak pH'sı çay tarımı için uygun olmayan değerlere düşmüştür. Genelde çay bitkisinin 4.5-6.0 pH aralığında iyi geliştiği fakat aşırı gübreleme sonucu bu alanlardaki toprak pH'sının 4.0 düzeylerine düştüğü bildirilmektedir (Kacar, 1992).

Aşırı azotlu gübre kullanımında ise denitrifikasyon sonucu azotlu gazların topraktan atmosfere geçtiği ve bu gazlardan bazıları (ör; nitroz oksit) sera etkisine neden olmakta ve ozon tabakasını değiştirerek küresel ısınmada etkili olmaktadır.

Tarımsal üretimde kullanılan kimyasal gübrelerin gerek insan sağlığı gerekse doğal denge ve çevre üzerindeki bu tür olumsuz etkilerinin artarak kendini hissettirmesi nedeniyle son yıllarda bu tür kimyasalların hiç ya da mümkün olduğu kadar az kullanıldığı bunların yerine organik veya biyolojik gübrelerin (biyogübre) kullanıldığı alternatif yöntemler geliştirilmektedir. Temel amacı toprak ve su kaynaklarını kirletmeden, çevre, bitki ve insan sağlığını koruyarak üretim yapmak olan organik tarımda, biyolojik gübreler önemli bir yer tutmaktadır.

Biyogübre nedir?

Tohum, bitki yüzeyi veya toprağa uygulandığında bitkilere temel besin elementlerini sağlayabilen veya besin alımını arttıran, rizosferde kolonize olabilen, canlı mikroorganizmalardan üretilen gübrele biyogübre veya biyolojik gübre denir. Bu tanımlama ile biyolojik gübreler deniz yosunu ekstraktları, kentsel atık kompostları, bitkisel ve hayvansal gübreler gibi diğer organik gübrelerden ayrılmaktadır (Vessey, 2003).

Tarımda biyogübrelerin kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır. 1683 yılında Leeuwenhoek'in mikroskop altında bakterileri "mikroskobik hayvanlar" olarak tanımlamasına kadar bakterilerin varlığı bilinmese de tarımda biyogübre olarak kullanımları çok eski tarihlere dayanmaktadır. Theophrastus'un (M.Ö. 372-287) toprağa canlılık katması ve topraktaki eksikliklerin giderilmesi için farklı toprak karışımlarının kullanılmasını önermesi bunun en önemli kanıtlarından birisidir (Vessey, 2003). Her ne kadar o dönemde çiftçiler topraktaki mikrobiyal aktiviteyi bilmeseler de özellikle baklagil üretimi yapılan alanlardan alınan toprakların diğer bitki üretim alanlarındaki topraklarla karıştırılmasının ürün gelişimine katkıda bulunduğunun bilincindeydiler.

Yaklaşık olarak 100-150 yıldır dünyanın birçok yerinde *Rhizobium* inokulantları ilk başlarda çok küçük işletmeler halinde olsa da üretilmektedir. *Azotobacter* gibi rizosferde yaşayan asimbiyotik bakterilerle inokulasyonlar ilk olarak Rusya'da 1930-1940 yılları arasında geniş alanlarda kullanılmıştır (Bashan, 1998). Bu yıllarda yapılan çalışmalardan bazı nedenlerden dolayı tatmin edici sonuçlar alınamayınca çalışmalara ara verilmiştir. Benzer şekilde *Bacillus megaterium*'un fosfat çözünürlüğünü arttırıcı etkisi üzerine çalışmalar ilk olarak Batı Avrupa'da 1930'lu yıllarda başlamıştır fakat istenilen sonuçlar elde edilemediği için yine çalışmalara ara verilmiştir.

1970'li yıllara kadar bakterilerin bitki gelişimi üzerine etkileri ile ilgili fazla bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat 1970'li yılların sonlarına doğru *Azospirillum* bakterisinin bitki metabolizmasının doğrudan etkileyerek bitki gelişimini teşvik ettiğinin (Bashan ve Holguin, 1997) ve *Pseudomonas fluorescens* ile *P. putida* bakterilerinin bazı bitki hastalıklarına karşı biyokontrol aktivitesi gösterdiğinin belirlenmesi (Kloepper ve Schroth, 1981) bakteriler ile bitki inokulasyonu teknolojisinde bir kırılma noktası olmuştur. Bu yıllardan sonra bazı bakterilerin bitki

gelişimini arttırıcı özellikleri ve bazı hastalıkları engelleme mekanizmaları üzerine çalışmalar tekrar ivme kazanmıştır.

Biyogübre olarak adlandırılan mikroorganizmaların en önemli grubunu PGPR olarak bilinen, bitki gelişimini arttıran kök bakterileri oluşturmaktadır. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) terimi ilk olarak 1978 yılında Klopper ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (Klopper ve Schrot, 1978). Bitki gelişimini uyaran kök bakterileri için PGPR terimi dışında da bazı terimler kullanılmaktadır. Çinde bu bakteriler için YIB (Yield Increasing Bacteria, Ürün Arttıran Bakteriler) terimi kullanılırken bazı çalışmalarda ise bitki gelişimini arttıran bakteriler olarak PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria) terimi kullanılmaktadır. Çin’de ise bu bakterilerin verim arttırıcı etkileri ile ilgili çalışmalar ilk olarak 1979 yılında başlamış olup 1985’ten itibaren geniş alanlarda tarla uygulamalarına geçilmiştir (Chen ve ark., 1996).

Bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri genel olarak; *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Paenibacillus*, *Arthobacter*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Comamonas*, *Hydrogenophaga*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Klebsiella*, *Xanthomonas*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* gibi cinslerde yer aldığı görülmektedir. Bu cinsler arasında özellikle *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Bacillus*’lar bitki gelişimini uyarıcıları yanında patojenlere karşı antagonistik etkilerinden dolayı da dikkat çekmektedirler. Örneğin; *Burkholderia cepacia* bakterisi, *Fusarium* türlerine karşı biyokontrol özelliği gösterirken özellikle demirce fakir topraklarda siderofor üretimi ile mısır gelişimini teşvik etmektedir (Vessey, 2003).

Siderofor nedir?

Demir solunum, DNA analizi gibi yaşam için gerekli neredeyse tüm işlemlerde önemlidir. Yeryüzünde en çok bulunan elementlerden olmasına rağmen çok düşük çözünürlüktedir. (Neilands, 1995, Miller ve ark., 2008). Demir oksitler ve hidroksitler (kırmızı ve sarı toprak renklerinden sorumlu mineraller) gibi yaygın mineraller toprak katmanlarında birikir, dolayısıyla organizmalar tarafından kolaylıkla kullanılamazlar (Kraemer, 2005). Siderofor, bakteri, mantar gibi mikroorganizmalar, pek çok bitki ve bazı yüksek organizmalar tarafından salgılanan, demir şelasyonu yapan bileşiklerdir. Şelasyon, metal iyonlarının bağlayıcı maddelerle halka oluşturarak bağlanmasıdır

(Anonim, 2016). Sideroforlar şelasyon yoluyla bu iyonların çözülmesini sağlar. Bu çözülmüş kompleksler aktif taşıma ile hücre içine alınırlar. Çoğu siderofor, nonribozomal peptittir (Miethke ve Marahiel, 2007).

Siderofor üreten bakteriler bitkilerin kök bölgelerindeki toprakta, yapraklarda, su birikintilerinde, deniz suyunda ve tortuda yaşarlar (Carrillo-Castañeda ve ark., 2002). Floresans *Pseudomonas*'ların, bazı bitki patojenlerine karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilecekleri bulunmuştur. Bunların salgıladığı piyoverdin adlı sarı-yeşil pigmentler siderofor olarak işlev görür. Bu bileşikler patojenleri gerek duydukları demirden mahrum bırakır (Jagadeesh, 2001).

Fosfat çözünürlüğü nedir?

Fosfor bitki gelişmesini sınırlayan temel elementtir ve tarım topraklarının çoğunluğunda bitkilerce alınamaz durumdadır (Ezawa ve ark., 2002). Mikroorganizmalar fosfor döngüsünde önemli rol oynamaktadır. Bitkiler fosforu HPO_4^{2-} veya $H_2PO_4^-$ formlarında almaktadır. Topraklarda mineral fosfat primer, hidroksi ve oksit apatit benzeri minerallerde tutulmuş halde bulunmaktadır. Toprakta fosforun bitki ve mikroorganizmalar tarafından alınabilmesi için çözünmesi gerekmektedir. Ayrıca kimyasal gübre olarak uygulanan çözünebilir fosfor, toprağın pH ve tipine bağlı olarak, çözülmekte ve alınamaz forma dönüşmektedir (Çakmakçı, 2005a).

Bitkilerin kök bölgelerindeki fosfor çözücü mikroorganizmaların varlığı ile ilgili kanıtlar 1903 yılına dayanmaktadır (Khan ve ark., 2007). Bakteriler fosfat çözmede funguslardan daha etkilidir (Afzal ve ark., 2008). Topraktaki tüm mikroorganizmalar içinde fosfat çözücü bakterilerin etkinlikleri %1 ile 50 oranında iken fosfat çözücü fungusların fosfat çözebilme kapasiteleri %0,1 ile 0,5 oranındadır (Chen ve ark 2006). Toprak bakterileri arasında *Pseudomonas* ve *Bacillus*'ların ektorizosferik ve endosimbiyotik kök bakterisi türleri etkili fosfat çözücüler olarak tanımlanırlar. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* ve *Enterobacter* bakteri türleri en güçlü fosfat çözücü bakteriler olarak görülmektedir (Whitelaw, 2000). Fosfat çözücü bakteriler topraktaki düşük moleküler ağırlıktaki glikonik ve keto glikonik asiti çözer (Deubel ve

ark., 2000). Fosfat çözücü bakterilerin biyogübre olarak kullanımı topraktaki sabit fosfat kaynaklarının kullanımı için muazzam bir potansiyele sahiptir (Mohammadi, 2012).

Yapılan bu çalışmada, buğday bitkilerinin kök bölgesinden elde edilen kök bakterilerinin, buğday tohumların çimlenmesi ve gelişimine etkisi, siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğü kapasitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda Hatay ilindeki farklı bölgelerindeki tarlalardan alınan buğday bitkilerinin köklerinden kök bakterileri izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin teşhisi ve in vitro koşullarda buğday kök ve sürgün gelişimine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca izole edilen bakterilerin in vitro koşullarda siderofor üretimi ve fosfatı çözebilme kapasiteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bazı bakteri izolatlarının tohum çimlenme testlerinde, kök ve sürgün gelişimi üzerinde oldukça etkili olduğu belirlenirken, in vitro koşullarda siderofor üretimi ve fosfat çözebilme kapasiteleri arasında farklılıklar olduğu saptanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bitki büyümesini arttıran kök bakterileri (PGPR) bitki köklerinde kolonize olan ve değişik varyasyonlardaki mekanizmalarla bitki büyümesini geliştiren yararlı bakterilerdir. Başka bir tanımı ise; bitki gelişimini uyaran, bitkiye yararlı etkide bulunan, bitki hastalıklarına karşı biyokontrol aktivitesi gösteren ve bitki köklerinde kolonize olabilen kök bakterilerine “Bitki Gelişimini Uyaran Kök bakterileri” anlamına gelen PGPR denir (Romeiro, 2000; Chandra ve ark., 2003). *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Serratia*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Proteus* ve *Rhizobium* gibi cinslerde yer alan PGPR’lerle ilgili ilk çalışmalar 1970’li yılların sonlarında başlamıştır (Chen, 1996; Bhawsar, 2003; Chandra, 2003). Dünyada gittikçe artan miktarda PGPR ürünleri pazarlanmaktadır. Matiru ve Dakota (2004)’nın bildirdiğine göre şu an biyogübreten yararlanılarak dünya çapında azot desteğinin yaklaşık olarak % 65’inin karşılandığı belirtilmektedir.

Kloepper ve ark., (1980) rizosfer bölgesinde kolonize olan bitki büyümesini arttıran bakterilerin patates bitkisinin gelişimi ve verimine etkisini araştırmışlardır. Patates periderminden ve kereviz köklerinden izole edilen floresans *Pseudomonas* türlerinden iki izolatin sera koşullarında kontrole kıyasla patates bitkilerinin büyümesini % 500 kadar arttırdığını bildirmişlerdir.

De Silva ve ark., (2000) yaban mersini gelişimi üzerine bitki büyümesini teşvik eden *Pseudomonas fluorescens* (Pf5, PRA25, 105, 101), *Bacillus pumilus* (T4), *Pseudomonas corrugata* (114) ve fungal izolatlardan olan *Gliocladium virens* (G1-21) ve *Trichoderma harzianum* (T22)’un etkilerini araştırmışlardır. *P. fluorescens* Pf5 ile yapılan uygulamanın yaprak alanı ve gövde çapını artırdığı belirtmişlerdir. Pastörize edilmiş toprağa *G. virens* ilave edilmesi 4 aylık bir dönem içinde yaprak sayısı yaprak alanında ve sürgünlerdeki P, Zn ve Cu oranında artış sağlamıştır. Pastörize edilmeyen toprağın *G. virens* ile muamelesinin ise daha büyük yaprak alanı, gövde çapı, sürgün ve kök kuru ağırlığı ve bitki başına daha fazla yaprak oluşumu sağladığı belirlenmiştir.

Egamberdiyeva ve Höflich (2004) Özbekistan’da yarı kurak bölgede pamuk ve bezelyede bitki gelişimini arttıran bakterilerin büyüme ve besin alımına etkisini incelemişlerdir. Araştırmalarını Calcisol topraklarla, saksılarda yapmışlardır.

Pseudomonas alcaligenes PsA15, *P. denitrificans* PsD6, *Bacillus polymyxa* BcP26 ve *Mycobacterium phlei* MbP18 bakterilerinin inokulasyonundan sonra pamuk ve bezelyenin kök ve sürgün büyümesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Pamuğa *P. denitrificans* PsD6, *B. amyloliquifaciens* BcA27, *M. phlei* MbP18, *A. globiformis* ArG1 ve *A. simplex* ArS50 ($p < 0:05$) inokulasyonu kontrole kıyasla sürgün kuru ağırlığını %13 - %38 oranlarında arttırmıştır. Sadece üç bakteri izolatu (*P. alcaligenes* PsA15, *P. denitrificans* PsD6 ve *A. simplex* 50) kök kuru ağırlığını arttırmıştır. Kök ve sürgün kuru ağırlığı artırmada en etkili olan izolat kontrol uygulamasına kıyasla %38 arttıran *P. denitrificans* PsD6 bakteri izolatının olduğunu bildirmişlerdir.

Çakmakçı (2005b) tarafından bildirildiğine göre bitki gelişmesi, azot bağlanması, fosforun biyolojik olarak alınabilir hale gelmesi, siderofor yardımıyla bitkilerce demirin alınması, auksin, sitokin ve gibberallin gibi bitkisel hormonların üretilmesi ve bitki etilen düzeyinin azaltılması gibi mekanizmalar, bitki gelişimini arttıran kök bakterileri (PGPR) tarafından düzenlendiği Lucy ve ark., (2004) tarafından bildirilmiştir.

Çakmakçı ve ark., (2006) bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin arpa gelişimi, besin alımı, bazı toprak özellikleri ve bakteri sayısına etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarında beş azot bağlayıcı (*Bacillus licheniformis* RC02, *Rhodobacter capsulatus* RC04, *Paenibacillus polymyxa* RC05, *Pseudomonas putida* RC06 ve *Bacillus* OSU- 142) ve iki fosfat çözücü (*Bacillus megaterium* RC01 ve *Bacillus* M- 13) bakteri aşılmasının kontrol, azot (N) ve fosfor (P) gübresi ile karşılaştırmalı olarak sera koşullarında arpa bitkisinin gelişimi üzerine etkisini test etmişlerdir. Test edilen bitki gelişimini arttıran bakterilerden (PGPR) altısının indol asetik asit (IAA) ürettiği, üçünün fosfatı çözebildiği, bütün izolatlarının azot bağladığı ve arpa gelişimini arttırdığını belirlemişlerdir. *Bacillus* M- 13 ve *B. megaterium* RC01 aşılması toprakta alınabilir P miktarını önemli ölçüde arttırmış. Toprakta en yüksek $\text{NO}_3^- \text{N}$ miktarı *Bacillus* OSU-142 aşılmasıyla elde edilirken, bunu *P. polymyxa* RC05 ve *R. capsulatus* RC04 takip etmiş. Bütün uygulamalar toprakta toplam bakteri kolonilerini arttırmış, topraktaki azot bağlayıcı bakteri kolonileri sayısı *B. megaterium* RC01 dışındaki uygulamalarla zamanla azalmıştır. Bitki gelişimini arttıran bakteri aşılmaları, bakteri izolatlarına bağlı olarak, arpa kök ağırlığını %18-32, gövde ağırlığını ise % 29- 54 oranında arttırmıştır. Azot bağlayıcı bakteri aşılmaları arpada N, Fe, Mn ve Zn alımını önemli düzeyde arttırmış ve bakterilerce hormon üretiminin bitkisel gelişimi teşvik eden

mekanizmalardan biri olduğunu belirlemişlerdir. *Bacillus* OSU-142, RC07 ve M-13 gibi etkin *Bacillus* türlerinin ve *P. polymyxa* RC05, *P. putida* RC06 ve *R. capsulatus* RC04 izolatlarının tarımda biyogübre olarak kullanılabilmesini bildirmişlerdir.

Sadaghiani ve ark., (2008) İran'da buğdaylarda bitki gelişimi üzerine PGPR bakterilerinin etkisini incelemişler. Yaptıkları çalışmada *Pseudomonas*'ların sideroforları yardımıyla demir alınımını arttırdığını bildirmişlerdir.

Soylu ve ark. (2008), bitki gelişimini teşvik eden kök bakterilerinin marul fidesi yetiştiriciliğinde kullanıma olanakları ve bakteri uygulamalarının bitki gelişimi üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada, PGPR özelliğe sahip bakteri izolatların bitki gelişimini kontrol ve antagonist izolatlara göre önemli düzeyde teşvik ettiğini, tohumla kaplama şeklinde yapılan uygulamanın diğer uygulamalara göre (fidelerin şaşırılması esnasında kök daldırması şeklinde yapılan uygulama ve damlatma şeklinde yapılan uygulama) daha yüksek etkiye sahip olduğu belirlemişlerdir.

Paul ve Nair, (2008) Kuzey Kore'de PGPR bakterilerin kıyusal tarım topraklarında tuzluluk artışında stres adaptasyonlarını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada tuz stresi ile bitkilerde ortaya çıkan zararlı etkilerinden ve tuz seviyesi yüksek tarım alanlarının her geçen gün arttığından bahsetmişlerdir. Bir *P. fluorescens* izolatının tuz stresini engelleyici proteinler ürettiğini ve bu izolatın tuzlu topraklarda bitki gelişimi için uygun bir inokulant olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu izolatın aynı zamanda biyoajan olarak da kullanılabilmesini bildirmişlerdir.

Gholami ve ark., (2009) PGPR'ların tohum çimlenmesi, fide gelişimi ve mısır verimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında altı bakteri izolatı; (*P.putida* izolat R-168, *P.fluorescens* izolat R-93, *P.fluorescens* DSM 50090, *P.putida* DSM291, *A.lipoferum* DSM 1691, *A.brasilense* DSM 1690) kullanmışlardır. Sonuç olarak, bakteri muamele edilmiş tohumlarda, bitki büyümesi ve gelişmesinin daha iyi olduğunu, *in vivo* çalışmalarda özellikle *P.putida* izolatı R-168 ve *A.lipoferum* DSM 1691 diğer türlere göre bitki gelişimine daha iyi etki ettiğini kaydetmişlerdir. Sonuçta bakteri uygulamasının mısır kuru ağırlığında önemli ölçüde artışa neden olduğunu saptamışlardır. Kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında *P.putida* DSM291 izolatının %70'in üzerinde, *A.lipoferum* DSM1691'in ise %100'ün üzerinde etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yang ve ark., (2009) Kuzey Kore’de yaptıkları bir çalışmada PGPR bakterilerin, bitkilerin tuz ve kuraklık stresine karşı dayanıklılığı teşvik ettiğini, böylece topraktaki azot ve fosfat çözümü ile topraktan alınabilir maddelerin artmasının yanında, suni gübrelere göre daha az ihtiyaç duyulacağından su kirliliğinin azalmasının da etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Karagöz (2009) tarafından bildirildiğine göre Naiman ve ark., (2009) Arjantin’de yaptıkları çalışmada karasal bir ekosistemin işleyişinin topraktaki mikroorganizma faaliyetine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bazı *Azospirillum* izolatlarının bitki büyüme düzenleyicileri salgılayarak azot bağladıklarını, bazı *Pseudomonas* izolatlarının ise sitokin salgılama yeteneğinde olduklarını saptamışlardır. Ayrıca bu türlerin organik fosfatı çözebildiklerini belirten araştırmacılar çalışmalarında bu cinslere ait 3 ticari preparatın buğdayın gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta uygulamaların buğdayın gövde gelişiminde %12, kök gelişiminde %40, tane veriminde ise %16’lık bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Ashrafuzzaman ve ark., (2009) çeltik tarlalarında bitkilerin rizosfer bölgelerinden PGPR izolasyonu ve karakterizasyonu yapmışlardır. Elde ettikleri PGPR izolatlarının biyogübre olarak kullanımının çeltik gelişiminde yararlı olduğunu ve IAA üretimi ile fosfat çözümünde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yadav ve ark., (2010) nohutta bitki büyümesini arttıran kök bakterilerinin etkisini incelemişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa* BHUPSB02, *Pseudomonas putida* BHUPSB04, *Bacillus subtilis* BHUPSB13, *Paenibacillus polymyxa* BHUPSB17 ve *Bacillus boronophilus* BHUPSB19 olarak belirlenmiş beş PGPR izolatı başarılı bir şekilde izole etmiş ve 16S rDNA gen dizilimi ile teşhisleri yapılmıştır. Nohut bitkilerinin gelişimi üzerine PGPR izolatlarının etkisi, PGPR izolatlarıyla karıştırılmış toprak içeren plastik kaplarda büyüyen nohut bitkilerinde araştırılmıştır. PGPR izolatlarının bitki hormonlarının (indol asetik asit) üretimi, fosfat çözünürlüğü ve amonyak üretimine neden olduğunu kaydetmişlerdir. İzolatların çoğu sürgün ve kök uzunluğu ile nohut fidelerinin sürgün ve kök kuru madde miktarında önemli bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Abbasi ve ark., (2011) Pakistan’da büyümeyi geliştirmesine, verime ve besin alımına etkisini incelemek için buğday bitkisinin kök bölgesinden bitki gelişimini arttıran bakterilerin izolasyonunu yapmışlardır. Bu çalışmada sekiz farklı PGPR

izolasyonu yapmışlardır. Bu izolatların morfolojik ve kültürel karakterizasyonları, fosfat çözünürlük kapasiteleri ve indol asetik asit üretimleri üzerine çalışmışlardır. Dört izolat fosforu çözerken tüm izolatlar 5.5–31.0 µg/ml arasında değişen indol asetik asit (IAA) üretmiştir. Temel morfolojik karakterlerde IAA üretimi WPR-32, WPR-42, ve WPR-51 izolatları PGPR olarak tanımlanmış ve ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmiştir. Bu üç izolat ve bunların birleşimlerinin etkisi, iki N seviyesinde (50 ve 100 kg/ha⁻¹ oranında N) sera koşullarında buğdaylarda değerlendirilmiştir. PGPR uygulaması bitki boyu, taze sürgün ağırlığı kuru sürgün ağırlığını sırasıyla % 25, % 45 ve % 86 oranında kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlığını sırasıyla %27, %102, %76 oranında inokulasyon yapılmamış kontrol uygulamasına kıyasla önemli ölçüde arttırmıştır. PGPR izolatları aynı zamanda her bitkide sürgün sayısını, bin tane ağırlığını ve tane veriminin %23, %48, %59 oranında kontrol uygulamasına kıyasla arttırdığını bildirmişlerdir.

Zhang ve ark., (2011) sağlıklı ve hastalıklı pamuk bitkisinin kök bölgesindeki bakteriler üzerine çalışma yapmışlardır. Sağlıklı ve hastalıklı (*Verticillium dahliae* Kleb. ile enfekte edilmiş) pamuk bitkilerinin farklı bitki büyüme aşamalarındaki bitkilerin rizosferinden elde edilen bakteriler T-RFLP ve 16S rDNA analizini kullanarak incelemişlerdir. Ana sınıf *Acidobacteria* ve *Proteobacteria* bulunmuş. WS3'ün dahil olduğu diğer sınıf *Deinococcus-Thermus*, *Verrucomicrobia*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Thermomicrobia*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* ve sınıflandırılmamış bakteriler tanımlanmıştır. *Deinococcus-Thermus* ve *Firmicutes* sadece hastalıklı pamuk bitkilerinde analiz edilmiştir. Bu çalışmayla, 16S kolon kütüphanesine dayalı PCA analizinde altı örneğin 3 grupta toplanmış olduğunun kanıtlandığını bildirmişlerdir.

Noumavo ve ark., (2013) farklı PGPR'ların mısır tohumlarının çimlenmesi ve gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında 3 PGPR izolatının mısır büyümesine laboratuvar ve sera koşullarında etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Mısır tohumlarına tekli veya kombinasyon halinde kök bakterileri inokule etmişlerdir. *Pseudomonas fluorescens* ve *Pseudomonas putida* kombinasyonu kontrol uygulamasına göre yüksek çimlenme elde edilmiştir. Bu kombinasyon aynı zamanda yaprakların ve yaprak bölgesinin daire çevresinde en iyi kuvvetli indeks kaydedilmiştir. Bitkilerde maksimum boy %37.32 *Azospirillum lipoferum* da

gözlenmiştir. Kuru ortamda toprak altı en yüksek oran kontrole kıyasla %56 dan fazla artışla *A. lipoferum* da, *P. fluorescens* ve *P. putida* kombinasyonunda havai kuru ortamda %59.11 artış kaydedilmiştir. Son olarak havai biyoküttele en yüksek değer *P. fluorescens* ve *P. putida* kombinasyonunda ve en yüksek toprak altı biyokütlesinde sadece *A. lipoferum* da elde edilmiştir. Bu sonuçların PGPR izolatları özel kombinasyonlarının alternatif biyogübre olarak mısır çimlenmesi, biyokütle ve ürün veriminde daha verimli olduğunun göz önünde bulundurulması gerektiğini bildirmişlerdir.

Akhtar ve ark., (2013) buğday bitkisinde, alınabilir fosfat miktarını ve buğday verimini arttırmak için *Rhizobium* ve *Bacillus* türlerinin birlikte inokulasyonu çalışması yapmışlardır. Tarla denemesinde buğdayın verim parametrelerinde *Rhizobium* ve *Bacillus*'un tek ve birlikte birleşimlerinin araştırmasını yapmışlardır. Aynı dozda azot (N) ve potasyum (K) ile (160 ve 160 kg/ha⁻¹) iki seviye fosfor (P) (57 ve 114 kg/ha⁻¹) sırasıyla Üre, SOP ve SSP olarak uygulanmıştır. *Rhizobium* ve *Bacillus* bakterileri buğday tohumlarına kaplama olarak uygulanmıştır. Sonuçlar sürgünlerin (370,3 m⁻²), başak uzunluğunun (13,50 cm), tahıl sayısının (46 başak) dane veriminin (6171 kg/ha⁻¹), biyokütlenin (17 t/ha⁻¹), tahıl proteinin (%11,84) ve bin tane ağırlığının (62 g) olduğunu ve *Rhizobium* ve *Bacillus* bakterilerinin birlikte inokulasyonu sonucunda etkinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Elde ettikleri sonuçlara göre *Rhizobium* ve *Bacillus* birleşiminin tane verimini, kontrole kıyasla, %17.5 arttırdığı kaydedilmiştir. *Bacillus*'un tekli inokulasyonu tane verimini %7.7 arttırdığını kaydetmişlerdir. Taneler tarafından fosfor alınımı (25,29 kg/ha⁻¹) *Bacillus* inokulasyonu ile kıyasla *Rhizobium* ile birlikte inokulasyonunda en yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Hasat sonrası toprak örneklerindeki kullanılabilir fosfor miktarı (16.27 mg/kg⁻¹) olarak kaydedilmiş ve bu sonucun diğer tüm işlemlerden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda *Rhizobium* ve *Bacillus* sp'nin birlikte inokulasyonunun kullanılabilir fosfor miktarında, büyüme ve ürün veriminde pozitif yönde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde Esringü ve ark., (2016) sarımsak yetiştiriciliğinde farklı bakteri biyoförmülasyonu uygulamalarının bitki gelişimi parametreleri, verim ve enzim düzeyleri üzerine etkisi üzerine araştırma yapmışlardır. Yaptıkları bu çalışmada; yabani ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilerek tanılanan,

toplam 1248 bakteri izolatu içerisinden seçilen *Agrobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Pantoea* sp. ve *Pseudomonas* sp.'e ait toplam 19 adet bakteri izolatu kullanılarak 3 farklı bakteri biyoformulasyonu (F1, F2 ve F3) hazırlanmıştır. Bu biyoformulasyonlar içerisine daldırılan sarımsak (*Allium sativum* L.) dişleri saksılara ekilerek uygulamaların bitki boyu, klorofil düzeyi ve bazı enzim (katalaz, peroksidaz, polifenol oksidaz ve superoksit dismutaz) aktiviteleri üzerine etkilerini saptamışlardır. Yapılan alışmalar sonucunda tüm bakteri formulasyonu uygulamalarının kontrole göre sarımsakta bitki gelişimine önemli katkılar sağladığı ve bitki enzim düzeylerinde de önemli değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak; test edilen 3 bakteri biyoformulasyonu içerisinde özellikle F2 formulasyonunun hem bitki gelişim parametreleri hem de bitkideki enzim düzeylerinde neden olduğu değişimler değerlendirildiğinde bu formulasyonun sarımsak tarımında mikrobiyal gübre olarak kullanılabileceğini düşündüklerini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın materyalini buğday tohumları, bakteri izolatları, petri kapları, kurutma kağıtları, besi ortamları, bakteri tanısında kullanılan MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry), materyallerin sterilizasyonda kullanılan otoklav ve etüv, steril kabin gibi aletler ve ekipmanlar oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan besi ortamları ve içerikleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

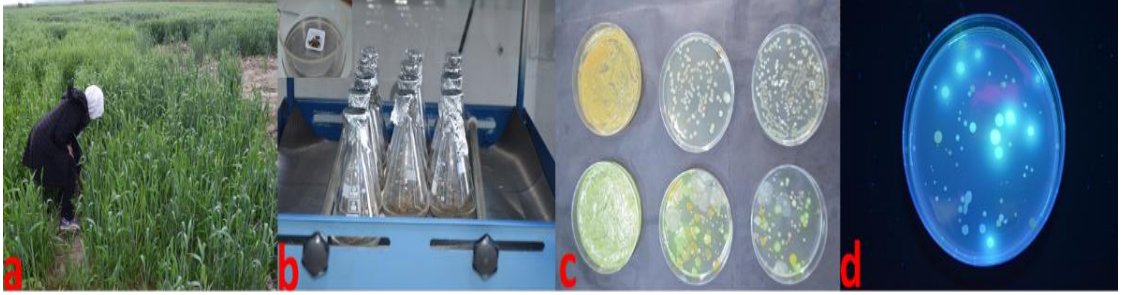
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan besi ortamları ve içerikleri

Besiyeri adı	Kullanım amacı	İçeriği
King B (King ve ark., 1954)	İzolasyon, floresans pigment oluşumu	20g pepton 1.5g MgSO ₄ .7H ₂ O 1.5 g K ₂ HPO ₄ 10g gliserol 16g agar
NGA (Lelliott ve Stead, 1987)	Bakterilerin eğik kütürlerde saklanması,	8g nutrient broth 20g gliserol 16g agar
Blue CAS Agar (Schwynn ve Neilands, 1987)	Bakteriyel sideroforların saptanmasında	60,5mg CAS 10ml(1mM FeCl ₃ .6H ₂ O+10mM HCL) 72,9mg HDTMA 20g pepton 1.5g MgSO ₄ .7H ₂ O 1.5 g K ₂ HPO ₄ 10g gliserol 16g agar
NBRIP agar (Nautiyal, 1999)	Bakterilerin fosfat çözünürlüklerinin belirlenmesinde	20g Glukoz 5g Ca ₃ (PO ₄) ₂ 0.5g (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,2g KCl 0,25g MgSO ₄ 0,5g Yeast extract 20g. Agar

3.2. Yöntem

3.2.1. PGPR Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanısı

Denemede kullanılan bakteriler Hatay ilinde buğday üretimi yapılan 10 farklı tarladan temin edilen bitkilerin köklerinden izole edilmiştir (Şekil 3.1a). Alınan kök örnekleri (1 gr tartılarak) 100 ml fosfat tamponu içerisinde 30 dk. çalkalayıcıda tutulduktan (Şekil 3.1b) sonra oluşan süspansiyondan seyreltme serileri yapılmış ve 100 µl alınarak KB besiyeri içeren petrilere bagetle yayılıp $24\pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı inkübatörlere yerleştirilmiştir. İnkübasyondan 48 saat sonra petride gelişen koloniler UV ışık altında (366 nm) floresans pigment oluşturan ve oluşturmayanlar olarak iki gruba ayrılmıştır (Şekil 3.1c,d). UV ışık altındaki pigmentasyon durumlarına göre saflaştırılan bakteriler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere NGA besiyerinde çoğaltılıp $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.



Şekil 3. 1 Tarladan izolasyon amaçlı buğday örneklerinin alınması (a), alınan kök örneklerinin izolasyon amaçlı çalkalayıcı inkübatöre yerleştirilmesi (b), izolasyon ve inokülasyon sonucu gelişen bakteri kolonileri (c) ve UV ışık altında floresans pigment üreten bakteriler (d).

PGPR adaylarının tanısı Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF) yöntemiyle yapılmıştır.

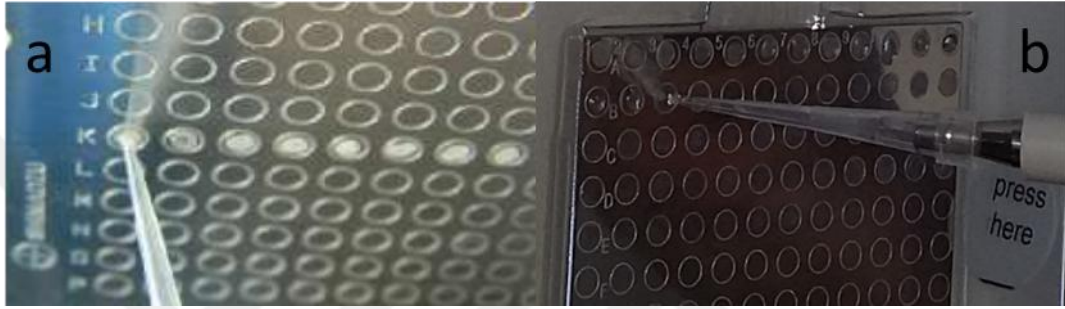
MALDI-TOF 1980 yılların sonunda Alman ve Japon bilim adamlarının ortak geliştirdiği proteinlerinin peptid kütle parmak izi analiz olarak tanımlanan bir yöntemdir. Bakteri kolonileri saf olarak elde edildikten sonra özel matrix solüsyonlarını içeren metal veya plastik tek kullanımlık target (tabla)'e aktarılır, cihaz çalıştırıldıktan sonra target üzerine yüklenen alanlara lazer atışları yapılarak protein moleküllerinin harekete geçirilmesi (iyonizasyon) sağlanır. TOF tüpü içerisinde kütle/yük oranlarına göre kinetik enerji ile harekete geçen farklı hızlarda oluşan iyonların uçuş zamanları hesaplanır. Küçük kütleli iyonlar önce dedektöre çarpar ve sinyal kaydedilir. Elde edilen veriler daha sonra bilgisayarda yüklü olan kütüphane verileri ile karşılaştırılarak tür

teşhisi yapılır (Ahmad ve ark., 2012). Wang ve ark., (2012) *Acidovorax oryzae* ve *Acidovorax citrulli*'nin birbirinden ayrımında kullanılan klasik testler (LOPAT), biyokimyasal testler (karbon kaynakları kullanımı) yağ metil ester analizi (FAME) ve ELISA testlerinin her zaman için tür ayrımında olumlu sonuçlar vermediğini bildirmiş olup, çalışmalarında türler arasındaki farkı belirlemekte MALDI-TOF tekniğini kullanmışlardır. Stets ve ark., (2013) buğday köklerinde epifitik olarak yaşayan bakteri cinslerinin tanısında MALDI TOF tekniğini kullanmışlardır.

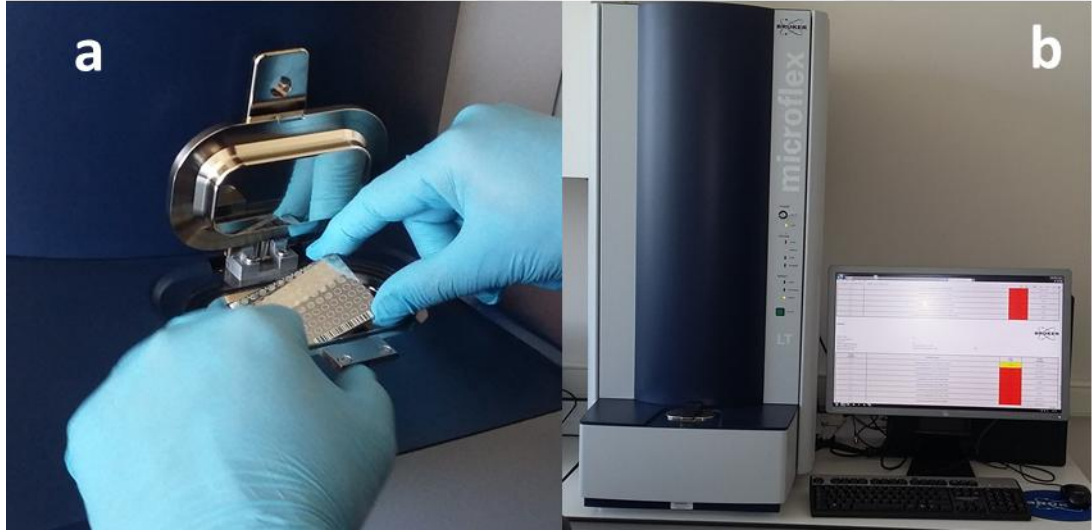
Tanısı yapılacak olan bakteri izolatları nütrient agar (NA) besi yerinde 27°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Örneklerin tanı amacı ile hazırlanmasında uzun ve kısa olarak iki farklı yöntem denenmiştir.

-Uzun yöntem (Etanol-Formik Asit ekstraksiyonu): Bu yöntemde ependorf tüp içerisine 300 µl su eklenmiş ve besi ortamında gelişen 1 günlük bakteri kültürlerinden 5-10 mg alınarak deiyonize su içerisinde süspansiyon haline getirilmiştir. Oluşan süspansiyon üzerine 900 µl etanol (%97) eklenerek örnekler vortekslenmiştir. İşlem sonrası ependorf tüpler 2 dk. boyunca maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz atılmış ve pelet üzerinde kalan etanolün uzaklaştırılması için tüpler ağzı açık şekilde oda sıcaklığında 2-3 dk. kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işlemi sonrası peletlerin üzerine 40 µl formik asit (%70) eklenmiş ve tüpler vortekslenerek peletin formik asit içerisinde homojen bir şekilde süspansiyon olması sağlanmıştır. Elde edilen süspansiyonun üzerine 40 µl asetonyril (ACN) eklenerek tekrar vortekslenmiş ve tüpler 2 dk. maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst fazdan 1 µl alınarak polish target olarak adlandırılan metal plak üzerindeki kuyucuklara eklenmiştir (Şekil 3.2a). Oda sıcaklığında 1-2 dk. beklenerek örneğin kurumaya sağlanmış ve üzerine 1 µl matriks solüsyonu (Matriks içerisinde: alfa siyano 4 hidroksi sinnamic acid (HCCA) ve solvent olarak da trifluoroasetik asit (TFA) ve asetonyril (ACN) bulunmaktadır) eklendikten sonra tekrar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.2b). Matriks kuruduktan sonra metal plaka MALDI-TOF cihazına yerleştirilmiştir (Şekil 3.3a). Her bir kuyucuktaki izolat numarası bilgisayara kaydedilerek tanı işlemi başlatılmıştır. Cihaz içerisinde lazer ışını verilerek izolat iyonize moleküller haline dönüşmekte ve uçuşan moleküller bir detektör yardımı ile toplanarak cihazın kütüphanesindeki bilgiler ile karşılaştırılarak izolatların tanısı yapılmıştır (Şekil 3.3b).

-Kısa yöntem: Bu yöntemde ise besi yerinde gelişen bakteri kolonisinden steril bir kürdan ile alınarak doğrudan metal plaka üzerindeki kuyucuklara sürme işlemi ile izolatlar eklenmiş oda sıcaklığında 1-2 dk. kuruması beklenmiştir. Kuruma işlemi sonrası örneklerin üzerine 1µl formik asit (%70) eklenip kurutulmuş ve daha sonra üzerine 1µl matriks solüsyonu eklenerek tekrar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra metal plaka bir önceki yöntemde anlatıldığı gibi MALDI-TOF cihazına yerleştirilmiştir (Pavlovic ve ark., 2012).



Şekil 3. 2. Tanılama çalışmalarında kullanılan MALDI-TOF metal plakasına PGPR izolatlarının konulması (a) ve üzerlerinin matriks solüsyonu ile kaplanması



Şekil 3. 3. Metal plakanın MALDI-TOF cihazı içerisine yerleştirilmesi (a) ve izolatların MALDI-TOF biotyper yazılımı ile tanınması (b).

3.2.2. PGPR İzolatlarının Buğday Çimlenmesine Olan Etkilerinin *in vitro* Koşullarda Belirlenmesi

İzolasyon işlemi sonrası gelişen bakterilerin buğday tohumlarının gelişimi üzerlerine etkilerinin belirlenmesi 12 cm'lik petri kaplarında yapılmıştır. Bu amaçla NGA besi yerine geliştirilen bakterilerden NA agar içeren petrilere ekimi yapılmış ve 48 saatlik inkübasyon sonrası gelişen bakteriler %1'lik CMC (Carboxy Methyl Cellulose) ile süspansiyon (10⁸ cfu/ml) edilmiştir. Oluşan süspansiyonun içerisine %1'lik sodyum hipoklorür ile yüzey dezenfeksiyonu yapılmış buğday tohumları konulmuş, çalkalayıcı inkübatörde 30 dk. 26 °C'de çalkalanarak bakterilerin buğday tohumların yüzeylerine yapışması sağlanmıştır. Her bakteri izolatu için 10 adet tohum kullanılmıştır. Tohumlar bakteriler ile kaplama işlemi sonrası içerisinde steril saf su ile nemlendirilmiş steril kurutma kağıtları bulunan 12 cm'lik petrilere yerleştirilmiştir. Petrilere inkübatörlerde 27 °C'de 7 gün bekletilmiş ve daha sonra çimlenen tohumların kök ve sürgün gelişimleri ölçülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Buğday tohumlarına PGPR izolatlarının bulaştırılması ve uygulama sonrası petrilere çimlenen tohumlar.

Denemede kontrol olarak yalnızca %1'lik CMC ile muamele edilmiş tohumlar kullanılmıştır. Deneme 3 kez yinelenerek bakterilerin kontrole göre buğday kök ve sürgün gelişimine ve çimlenme üzerine etkileri araştırılmıştır.

3.2.3. PGPR İzolatlarının Etki Mekanizmalarını Belirlenmesi

3.2.3.1. Siderofor Üretimini Belirlenmesi

PGPR bakterilerin siderofor üretimlerinin belirlenmesinde Blue-CAS Agar (Klement ve ark., 1990) besi yeri kullanılmıştır. King B besi ortamına ekimi yapılarak inkübatörde geliştirilen 48 saatlik bakteri kültürlerinden Blue-CAS agar ortamına nokta ekim yapılmıştır. Ekim yapılan Blue-CAS agar içerikli petripler 24°C'de 2 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda nokta ekim yapılan koloni çevresindeki portakal renkli alanın meydana gelmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiş ve bu alanın çapı ve koloni çapı ölçülerek siderofor üretim indeksleri belirlenmiştir.

3.2.3.2. Fosfat Çözünürlüğü Testi

In vitro'da kök bakterilerinin fosfatı çözme aktivitesini belirlemek amacıyla NBRIB besiyeri (Nautiyal, 1992) içeren petri kaplarına 4 noktaya ekim şeklinde inokule edilmiş ve 24±2°C'de 14 gün inkübasyona bırakılmış kök bakterilerinin inkübasyon süresi sonunda kolonilerin çevresinde fosfat aktivitesine bağlı olarak oluşan erime zonları ölçülmüş ve çözünürlük indeksi, aşağıda gösterilen çözünürlük indeks formülü (SI) (Vazquez ve ark., 2000) ile belirlenmiştir.

$$SI = \frac{\text{koloni çapı} + \text{zone çapı}}{\text{koloni çapı}}$$

3.2.4. Tütün Aşırı Duyarlılık Testi

PGPR aday izolatların patojenisitelerinin belirlenmesi amacı ile saflaştırılan izolatlarla tütünde aşırı duyarlılık testi (Hypersensitive Reaction, HR) yapılmıştır. HR testinde 2 günlük bakteri kültürleri 10⁸ cfu/ml (OD= 0.13) yoğunlukta süspanse edilerek tütün yapraklarına enjekte edilmiştir (Şekil 3.5). Negatif kontrol olarak yapraklara steril saf su inokule edilmiş, pozitif kontrol olarak ise maydanoz patojeni olan *Pseudomonas syringae* pv *apii* ve nar patojeni olan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatu kullanılmıştır. İnkulasyondan 2 gün sonra inokulasyon noktasında doku çökmelerine neden olan izolatlar HR (+) olarak kabul edilmiştir



Şekil 3. 5. PGPR izolatlarının tütün yaprakları üzerinde aşırı duyarlılık (HR) testi

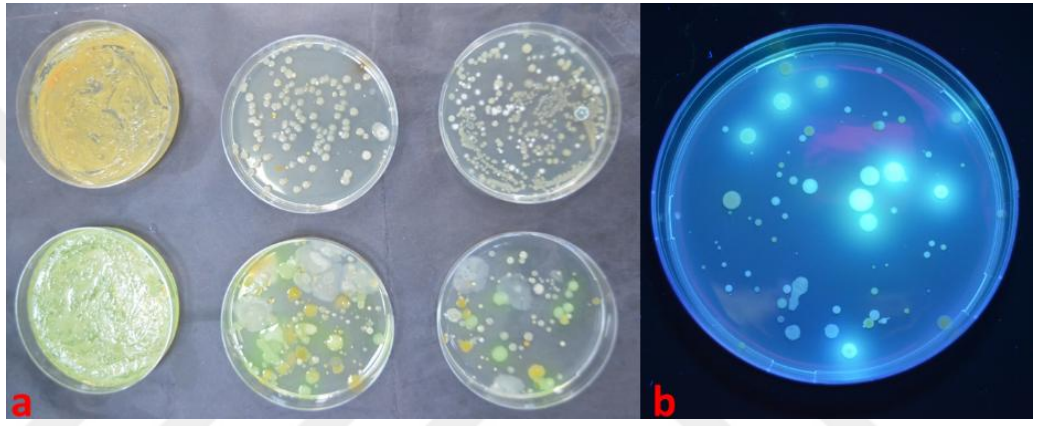
3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler

Tüm *in vitro* denemelerinde her petri 1 tekerrür ve her izolat da 3 tekerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Elde edilen ölçüm değerleri (tohum çimlenmesi, kök ve sürgün uzunluğu, siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğü değerleri) SPSS istatistik programı (SPSS Inc., versiyon 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve Duncan's çoklu karşılaştırma testi ($P \leq 0.05$) ile uygulamalar (PGPR izolatları) arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. PGPR Adayı Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanısı

Araziden toplanan buğday köklerinden materyal yöntemde anlatıldığı şekilde izolasyonlar yapılmış ve toplam 120 bakteri izolatu elde edilmiştir (Şekil 4.1a). Elde edilen izolatlar ilk aşamada UV (365 nm) ışık altında floresans veren ve vermeyen olarak gruplandırılmıştır. Bakteri izolatlarından 33 tanesi UV ışık altında parlama göstermiştir (Şekil 4.1b)



Şekil 4. 1. Buğday kök bölgelerinden izole edilen PGPR izolatlarının King B besi ortamındaki genel görünüşleri (a), UV ışık altında floresan parlama gösteren *Pseudomonas* spp. (b)

İzolasyon sonucu elde edilen bakterilerin tanısı MALDI-TOF yöntemi ile yapılmış ve 120 izolattan 81 tanesi tanılanmıştır. Bakteri izolatlarının tanı sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Tanısı yapılan PGPR bakteri izolatları ve tanılama indeks değerleri

İlçe	Bitki no	İzolat no	Tanı sonucu	Tanılama İndeks değeri
Kırıkhan	1	1	<i>Bacillus atrophaeus</i>	1.678
		2	<i>Bacillus mojavensis</i>	1.696
		3	<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i>	1.63
		4	<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i>	1.5
		5	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i>	1.898
		6	<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i>	1.563
		7	<i>Weeksella virosa</i>	1.371

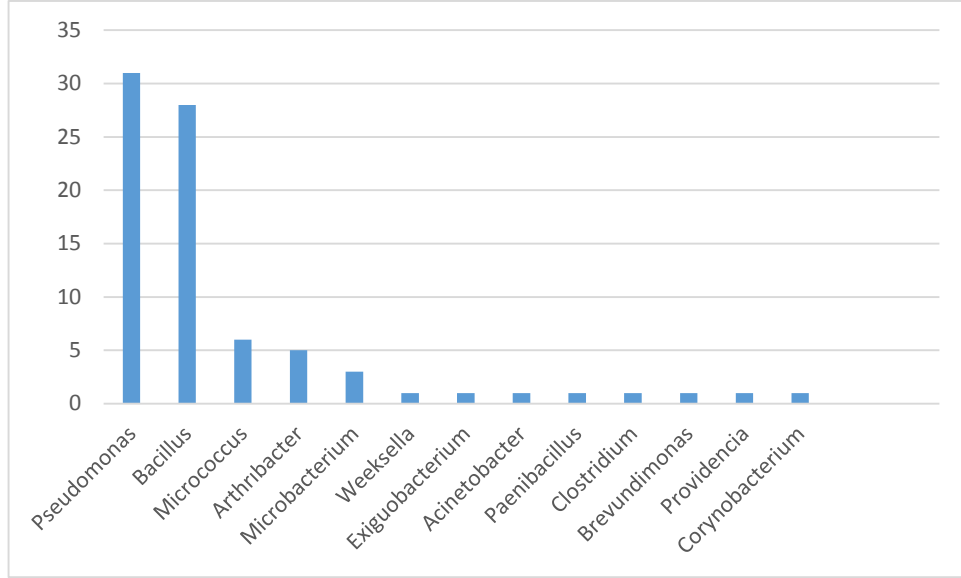
Çizelge 4.1 (Devam). Tanısı yapılan PGPR bakteri izolatları ve tanılama indeks değerleri

Kırıkhan	3	8	<i>Pseudomonas proteolytica</i>	2.045		
		9	<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	1.924		
		10	<i>Pseudomonas libanensis</i>	1.914		
	1	<i>Pseudomonas cedrina</i>	1.96			
	2	<i>Bacillus pumilus</i>	1.982			
	3	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	2.136			
	5	<i>Arthrobacter sulfureus</i>	2.096			
	7	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.912			
	10	<i>Arthrobacter sulfureus</i>	1.85			
	11	<i>Bacillus pumilus</i>	1.981			
	13	<i>Bacillus pumilus</i>	1.875			
	14	<i>Arthrobacter sulfureus</i>	2.145			
	15	<i>Bacillus cereus</i>	2.29			
	16	<i>Arthrobacter arilaitensis</i>	2.29			
	Zülflühan Köyü	4	1	<i>Arthrobacter polychromogenes</i>	2.077	
			2	<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	2.153	
3			<i>Micrococcus luteus</i>	2.013		
6			<i>Bacillus cereus</i>	2.282		
7			<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	1.799		
8			<i>Bacillus simplex</i>	2.085		
9			<i>Bacillus niacini</i>	1.943		
10			<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2.196		
11			<i>Pseudomonas koreensis</i>	1.86		
13			<i>Paenibacillus illinoisensis</i>	1.701		
14			<i>Bacillus simplex</i>	1.531		
15			<i>Bacillus altitudinis</i>	1.683		
16			<i>Bacillus simplex</i>	1.923		
17			<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	2.021		
Derince Bahçe 49			5	1	<i>Pseudomonas cedrina</i>	2.037
				3	<i>Clostridium beijerinckii</i>	1.195
				4	<i>Bacillus mojavensis</i>	1.949
	7	<i>Micrococcus luteus</i>		1.948		
	8	<i>Bacillus simplex</i>		1.73		
	12	<i>Microbacterium saperdae</i>		1.42		
	13	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		1.806		
	14	<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>		1.933		
	17	<i>Pseudomonas proteolytica</i>		2.006		
	18	<i>Brevundimonas diminuta</i>		1.031		
	21	<i>Bacillus megaterium</i>		2.267		
	22	<i>Microbacterium hydrocarbonoxydans</i>		1.68		
	23	<i>Providencia rettgeri</i>		1.346		

Çizelge 4.1 (Devam). Tanısı yapılan PGPR bakteri izolatları ve tanılama indeks değerleri

Alaattin	6	1	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.988
		2	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	2.131
		5	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1.354
		9	<i>Bacillus pumilus</i>	1.632
		11	<i>Bacillus altitudinis</i>	1.813
		12	<i>Bacillus pumilus</i>	1.799
Alaattin	8	13	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.984
		15	<i>Bacillus pumilus</i>	1.584
		1	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.889
		2	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.796
		3	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	1.803
		4	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.773
		5	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.884
		6	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.855
		7	<i>Pseudomonas corrugata</i>	1.85
		8	<i>Bacillus megaterium</i>	2.288
		9	<i>Pseudomonas cedrina</i>	2.013
		10	<i>Micrococcus luteus</i>	2.346
		13	<i>Pseudomonas corrugata</i>	1.952
		14	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.803
		16	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.948
		17	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	1.864
		18	<i>Micrococcus luteus</i>	2.172
		Akçaova	9	11
Aşağroba	10	1	<i>Bacillus pumilus</i>	1.707
		2	<i>Bacillus pumilus</i>	1.731
		4	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.794
		5	<i>Bacillus pumilus</i>	1.641
		6	<i>Micrococcus luteus</i>	2.298
		9	<i>Bacillus megaterium</i>	2.386
Aşağroba	11	11	<i>Bacillus pumilus</i>	1.996
		14	<i>Micrococcus luteus</i>	1.905

Tanı sonuçları incelendiğinde cins düzeyinde ilk sırayı 31 izolatla *Pseudomonas* cinsi alırken bunu 28 izolatla *Bacillus*, 6 izolatla *Micrococcus*, 5 izolatla *Arthrobacter* ve diğerleri izlemiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4. 2. Buğday köklerinden izole edilip tanısı yapılan PCPR izolatlarının cins düzeyinde dağılımı

Şekil 4.2’da cins düzeyinde verilen bakterilerin birçoğunun bitki gelişimine olumlu etkileri çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir. Özellikle *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Paenibacillus* cinslerine ait bakterilerin birçok bitkiden izole edildiği ve bunların çoğunun bitki gelişimini arttırıcı etkileri bulunduğu bilinmektedir (Hurek ve Reinhold-Hurek 2003). Bu genuslar içerisinde özellikle *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsine ait bakteriler hem bitki gelişimini arttırıcı özellikleri hem de biokontrol özellikleri açısından ön plana çıkmakta olup günümüzde birçok çalışmada en yaygın olarak göze çarpan bakterilerdir (Kumar ve ark., 2011; Sülü ve ark., 2016). Ayrıca yapılan bu çalışmada izole edilen ve tanısı yapılan *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* ve *Corynebacterium* cinslerine ait bakterilerin buğday, mısır, pirinç, pamuk ve inci darısı gibi birçok bitki rizosferinden izole edildiği ve bitki gelişimini arttırıcı etkilerinin bulunduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Dastager ve ark., 2010; Zamin ve ark., 2011; Rana ve ark., 2011; Shrivastava ve Kumar, 2013; Dinesh ve ark., 2014; Kumar ve Gera, 2014; Rawat ve Mushtaq, 2015). *Weeksella virosa* izolatu ise insan patojeni olarak bildirilmiş olup (Slenker ve ark 2012) yapılan çalışmada elemine edilmiştir. Ayrıca 8OTM7 izolatu patojen bir bakteri olan *Pseudomonas corrugata* olarak tanılanmış ve çalışmadan çıkarılmıştır.

4.2. PGPR İzolatlarının Buğday Çimlenmesine Olan Etkilerinin *in vitro* Olarak Belirlenmesi

Tanısı yapılan 81 bakteri izolatının 73 tanesi buğday tohumlarına uygulanmış ve bu tohumlardan gelişen kök ve sürgün uzunlukları (Şekil 4.3) inkübasyondan 7 gün sonra ölçülerek bakterilerin bitki gelişimi üzerine olan etkinliği belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Farklı PGPR izolatları ile muamele görmüş buğday tohumlarının kök ve sürgün gelişimi.

Bakteri inokulasyonundan 1 hafta sonra kök ve sürgün uzunlukları ayrı ayrı ölçülmüş, bakterilerin kök ve sürgün gelişimine etkileri kontrol uygulaması ile karşılaştırılarak % etkinlikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. PGPR bakteri uygulamalarının buğday kök, sürgün gelişimi (cm) üzerine etkisi (%)

İzolat adı	Kök uzunluğu (cm)	% Etki	Sürgün uzunluğu (cm)	% Etki
Kontrol	8,96	0	5,5	0,0
1KRK1	13,32	48,6	10,4	90,4
1KRK2	13,01	45,1	8,8	60,2
1KRK3	11,53	28,6	10,7	95,1
1KRK4	11,76	31,2	9,2	68,8
1KRK5	11,47	28,0	6,7	23,0
1KRK6	11,28	25,8	7,7	41,2

Çizelge 4.2 (Devam). PGPR bakteri uygulamalarının buğday kök, sürgün gelişimi (cm) üzerine etkisi (%)

İzolat adı	Kök uzunluğu (cm)	% Etki	Sürgün uzunluğu (cm)	% Etki
1KRK8	12,23	36,5	8,9	62,4
1KRK9	7,88	-12,1	6,8	25,1
1KRK10	11,47	28,0	8,9	62,7
3KRK1	11,52	28,5	8,6	57,6
3KRK2	9,68	8,0	9,2	68,5
3KRK3	10,93	22,0	8,7	58,6
3KRK5	8,27	-7,7	10,8	97,3
3KRK7	10,05	12,1	8,3	52,5
3KRK10	10,07	12,4	10,7	96,0
3KRK11	13,99	56,1	8,4	53,6
3KRK13	11,98	33,7	7,1	29,3
3KRK14	10,21	14,0	5,8	6,6
3KRK15	12,14	35,5	7,9	45,2
3KRK16	9,60	7,1	8,2	49,5
4ZLF1	11,59	29,3	7,5	38,0
4ZLF3	13,99	56,1	8,0	45,5
4ZLF6	12,95	44,5	9,4	71,4
4ZLF7	10,56	17,9	7,4	35,7
4ZLF8	13,27	48,1	10,0	82,5
4ZLF9	9,62	7,4	6,5	18,2
4ZLF10	13,52	50,9	11,4	108,6
4ZLF11	10,19	13,7	9,0	64,2
4ZLF13	11,57	29,1	8,7	59,0
4ZLF14	10,73	19,8	9,2	68,2
4ZLF15	10,52	17,4	8,9	62,4
4ZLF16	11,91	32,9	7,6	38,7
4ZLF17	12,01	34,0	9,6	75,8
5DRC1	12,52	39,7	9,9	80,3
5DRC3	14,06	56,9	10,7	96,2
5DRC4	14,52	62,1	8,2	50,0
5DRC7	15,27	70,4	9,9	80,9
5DRC8	14,09	57,2	9,6	76,0
5DRC12	11,32	26,3	9,8	79,5
5DRC13	11,86	32,3	9,1	67,2
5DRC14	11,17	24,6	8,6	57,7
5DRC17	13,08	46,0	9,0	64,7

Çizelge 4.2 (Devam). PGPR bakteri uygulamalarının buğday kök, sürgün gelişimi (cm) üzerine etkisi (%)

İzolat adı	Kök uzunluğu (cm)	% Etki	Sürgün uzunluğu (cm)	% Etki
5DRC18	13,01	45,2	11,3	105,9
5DRC21	10,86	21,2	9,3	70,6
5DRC22	12,26	36,8	8,7	59,1
5DRC23	12,77	42,5	8,9	62,4
6ALD1	14,30	59,6	9,9	80,8
6ALD2	8,85	-1,2	8,0	46,0
6ALD5	14,01	56,3	10,4	90,7
6ALD11	13,35	48,9	10,5	92,8
6ALD12	13,56	51,3	9,8	79,0
6ALD13	12,64	41,0	9,2	68,0
6ALD15	15,19	69,5	9,8	79,3
8OTM1	14,24	58,9	10,1	84,8
8OTM2	11,87	32,4	8,6	58,2
8OTM3	10,82	20,7	8,4	54,5
8OTM4	13,15	46,7	9,6	76,0
8OTM5	11,43	27,5	9,4	72,1
8OTM6	15,08	68,3	10,0	83,1
8OTM8	13,72	53,1	9,4	72,6
8OTM9	13,42	49,8	9,8	78,4
8OTM12	14,30	59,5	8,5	55,8
8OTM13	13,65	52,3	9,6	76,3
8OTM14	13,85	54,5	9,8	78,6
8OTM16	10,49	17,1	8,7	59,2
8OTM18	7,80	-13,0	8,4	52,9
10ASO1	13,84	54,4	10,3	88,0
10ASO2	15,29	70,6	10,3	88,8
10ASO4	15,11	68,6	11,0	101,7
10ASO6	11,39	27,1	9,9	81,5
10ASO9	14,56	62,5	11,1	102,3
11ASO11	12,36	37,9	9,9	81,4
11ASO14	13,22	47,5	10,1	84,5

Test edilen 73 bakteri izolatu içinde 69 izolat kontrol uygulamasına kıyasla kök uzunluğunda %7,1-70,6 oranında artışa neden olmuştur. Sürgün gelişimi açısından bakıldığında 73 izolatın tamamı sürgün gelişimini pozitif şekilde arttırarak kontrol uygulamasına kıyasla sürgün uzunluğunda %6,6-102,3 oranında artışa neden olmuştur.

Kök gelişimi üzerine en etkili izolat %70,6 ile *Pseudomonas pumilis* 10ASO2 izolatı olmuştur. Sürgün gelişiminde ise kontrole göre % 102,3 oranında etki ile *Bacillus megaterium* 10ASO9 izolatı olmuştur. *In vitro* koşullarda PGPR'ların buğday, mısır ve ayçiçeği gibi bir çok bitkide tohum çimlenmesi, kök ve sürgün gelişimini arttırdığına dair birçok çalışma bulunmakta olup elde edilen sonuçlar yapılan bu çalışma ile paralellik göstermektedir (Gholami ve ark., 2009, Shaukat ve ark., 2006; Shaukat ve ark., 2006.)

Kök ve sürgün gelişimi testlerinde 4 izolat ise (*Pseudomonas extremorientalis* 1KRK9, *Arthrobacter sulfureus* 3KRK5, *Pseudomonas brassicacearum* 6ALD2, *Micrococcus luteus* 8OTM18) kök gelişimini olumsuz etkileyerek kontrolden daha düşük değerler almıştır.

Özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsi bazı bakterilerin bitki gelişimini arttırıcı etkileri yanında bazı bitki tohumlarının çimlenmesini engellediği de bilinmektedir. *Pseudomonas fluorescens* bakterisi bazı çalışmalarda deleterious (zararlı) rizobakter (DRB) olarak tanımlanırken (Zdor ve ark., 2005), bir başka çalışmada ise PGPR olarak tanımlanmıştır (Jaleel ve ark., 2007). Vrbičanin ve ark., (2011) tarafından yapılan bir çalışmada bazı kök bakterilerin *Ambrosia artemisiifolia* (Arsız zaylan) tohumlarının çimlenmesini engellediği saptanmıştır. Yaptıkları çalışmada özellikle *Bacillus licheniformis* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin tohum çimlenmesini engellediği saptanmıştır.

4.3. PGPR İzolatlarının Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi

Fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretiminin belirlenmesi çalışmalarında kök ve sürgün gelişiminde kontrole göre % 35 ve üzeri artışa neden olan izolatlar seçilerek bu izolatların fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretim oranları belirlenmiştir.

4.3.1. Fosfat Çözünürlüğü Testi

Fosfat çözünürlüğü testinde NBRIB agara nokta ekimi yapılan izolatların etrafında inkübasyondan 1 hafta sonra oluşan şeffaflaşmalar ölçülerek materyal yöntem kısmında bahsedildiği şekilde fosfat çözünürlüğü indeksleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

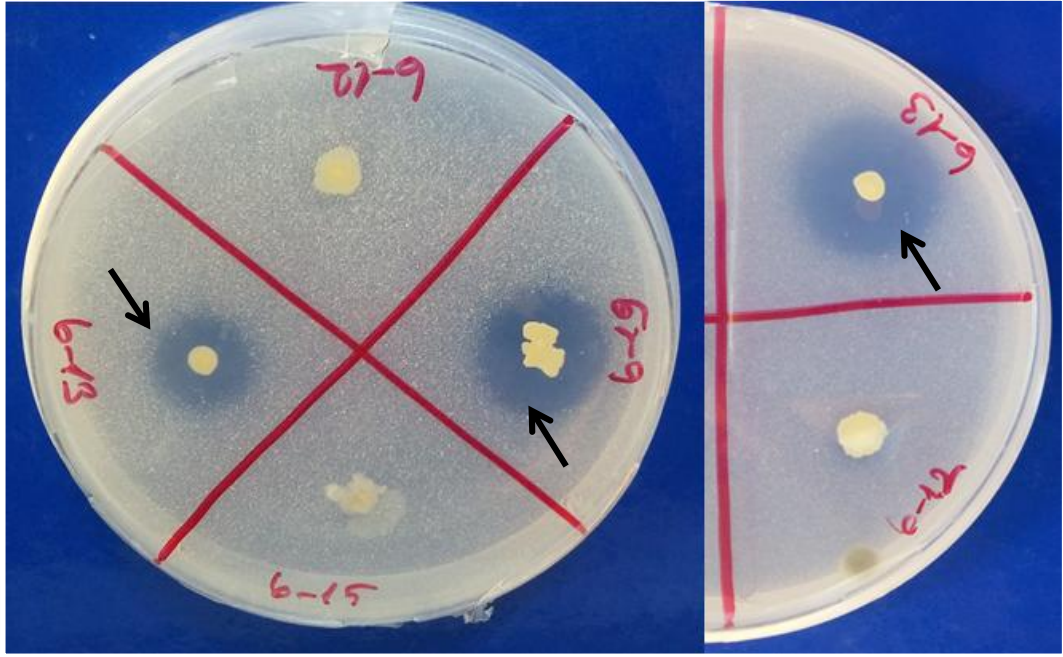
Çizelge 4.3. Bakterilerin fosfatı çözmeleri sonucunda oluşan şeffaf zonların çapına bağlı olarak hesaplanan çözünürlük indeks değerleri

İzolat no	Çözünürlük indeks değerleri	İzolat no	Çözünürlük indeks değerleri
1KRK1	1,00a	5DRC7	1,00a
1KRK4	1,00a	5DRC13	2,40abcd
1KRK5	4,50ef	6ALD12	2,17abc
3KRK9	1,00a	6ALD13	5,00f
3KRK11	1,00a	6ALD15	1,00a
3KRK13	1,00a	8OTM1	4,00def
3KRK15	1,00a	8OTM2	3,67cdef
4ZLF1	2,45abcd	8OTM4	3,00bcde
4ZLF3	1,00a	8OTM6	4,00def
4ZLF10	1,80ab	8OTM8	1,00a
4ZLF16	1,00a	8OTM9	1,00a
5DRC1	1,00a	8OTM14	1,90ab
5DRC3	1,00a	8OTM16	3,13bcde
5DRC4	1,00a	11ASO11	1,00a

*Çözünürlük indeksi her izolat için üç kere yinelenmiş olup, iki kez tekrar edilmiştir.

**Sütün içinde verilen ortalama değerlerin yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0,05$).

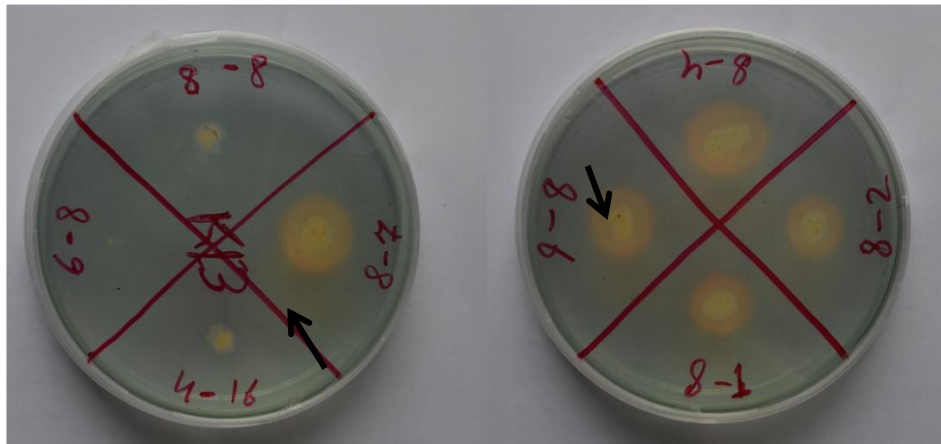
Çizelge 4.3'de verildiği gibi 29 bakteri izolatından 12 izolat fosfat çözünme testinde pozitif sonuç vermiş olup, çözünme indeksi 1,80-5,00 arasında değişiklik göstermiştir. Test edilen izolatlar arasında 17 bakteri izolatı NBRIP ortamında herhangi bir erime zonu oluşturmamıştır. Fosfat çözünürlüğü testinde en yüksek indeks değeri 5,00 ile *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 bakteri izolatı tarafından oluşturulmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4. 4. PGPR izolatlarınca NBRIP besi ortamı üzerinde fosfat çözülmesi sonucu oluşan zonlar.

4.3.2. Siderofor Üretimi

Bakteri izolatlarının siderofor üretiminin belirlenmesinde modifiye Blue CAS agar yöntemi kullanılmıştır. Besi yerine nokta ekimi yapılan izolatların etrafında 48 saatlik inkübasyon sonrası oluşan turuncu renkli alanlar (Şekil 4.4) ölçülmüş ve siderofor üretim indeksleri belirlenmiştir. Deneme 2 kez yinelenmiş olup indeks değerleri Çizelge 4.4' de verilmiştir.



Şekil 4. 5. PGPR izolatlarınca Blue-CAS agarda siderofor üretimi sonucu oluşan turuncu zonlar

Çizelge 4.4. PGPR izolatlarınca Blue-CAS Agar besi ortamında üretilen siderofor sonucu oluşan zonlara bağlı hesaplanan siderofor indeks değerleri

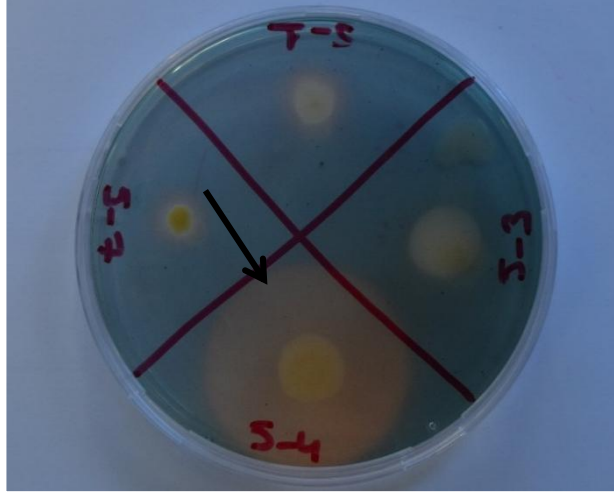
İzolat no	Çözünürlük İndeks değerleri	İzolat no	Çözünürlük İndeks değerleri
1KRK1	2,09b	6ALD12	2,08b
1KRK4	2,41bcd	6ALD13	3,17g
1KRK5	2,69cdef	6ALD15	2,43bcd
3KRK9	2,93efg	8OTM1	3,20g
3KRK11	2,92efg	8OTM2	3,29h
3KRK13	2,08b	8OTM4	4,43j
3KRK15	2,85defg	8OTM6	4,01i
4ZLF1	2,33bc	8OTM7	3,66i
4ZLF3	2,50bcde	8OTM9	2,50bcde
4ZLF10	2,14b	8OTM14	3,77i
4ZLF16	2,20bc	8OTM16	3,13fg
5DRC1	2,69cdef	10ASO1	2,64cde
5DRC3	1,00a	10ASO4	4,76j
5DRC4	4,78j	11ASO11	2,26bc
5DRC7	2,47bcde	11ASO14	2,45bcde
5DRC13	3,83i		

*Siderofor indeks değerleri her izolat için üç kez yinelenmiş olup iki kez tekrar edilmiştir.

**Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0,05$).

Siderofor testinde 31 farklı izolat kullanılmıştır. İzolatlar içinde *Clostridium beijerinckii* 5DRC3 izolatı dışında tüm izolatlar siderofor üretmiştir. En yüksek siderofor üretimi *Bacillus mojavensis* 5DRC4 izolatı tarafından oluşturulmuş olup (Şekil 4.6), bu izolatı sırasıyla *P. kilonensis* 10ASO4 ve *P. kilonensis* 8OTM4 izolatları izlemiştir.

PGPR gurubu bakterilerin siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğünü arttırması ile bitki gelişimini teşvik etmesi bu grup bakterilerin en çok bilinen etki mekanizmaları olup birçok çalışmada farklı konukçuların gelişiminin teşvik edilmesinde bu mekanizmaların etkili olduğu bildirilmektedir (Sülü ve ark. 2016).



Şekil 4. 6. *Bacillus mojavensis* 5DRC4 nolu izolatin siderofor üretimi sonucu Blue-CAS Agar üzerinde oluşturduğu turuncu zon.

Ülkemizde hastalığın bastırıldığı tarlalardaki sağlıklı bitkilerin kök bölgelerinden, sağlıklı meyvelerin içindeki tohum yüzeylerinden ve orman fidanlıklarındaki sağlıklı bitkilerden elde edilen antagonist ve PGPR özelliğe sahip farklı bakteri türlerinin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda toprak kökenli fungal hastalıkları etkili bir şekilde baskıladığı yapılan bir çok çalışmada bildirilmiştir (Soylu ve ark., 2002; Tekin ve ark., 2004; Soylu ve ark., 2005; Soylu ve ark., 2011ab). PGPR özelliğe sahip *Pseudomonas fluorescens* (WCS417r), *Bacillus pumulis* (T4), *Bacillus amyloliquefaciens* (IN937a), *Bacillus subtilis* (IN937b), *Pseudomonas putida* (89B61) izolatlarının yanı sıra antagonistik potansiyele sahip *Lysobacter enzymogenes* (C3R5) izolatlarının kullanıldığı çalışmada, bakteri süspansiyonları marul tohumlarına tohum kaplama, fidelere ise daldırma ve kök bölgesine damlatma olmak üzere 3 farklı şekilde uygulanmış olup, Uygulamaların bitki gelişimi üzerine olan etkinliği değerlendirildiğinde, PGPR özelliğe sahip bakteri izolatları bitki gelişimini kontrol ve antagonist izolatlara göre önemli düzeyde teşvik ettiği belirlenmiştir. PGPR izolatları arasında en yüksek etkinlik *Pseudomonas fluorescens* (WCS417r) izolatı ile muamele edilmiş bitkilerde görülmüştür. Bakterilerin bitkiye uygulama şekilleri arasında önemli bir farklılık gözlenmiştir. Tohuma kaplama şeklinde yapılan uygulamanın diğer uygulamalara göre (fidelerin şaşırtılması esnasında kök daldırması şeklinde yapılan uygulama ve damlatma şeklinde yapılan uygulama) daha yüksek etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir (Soylu ve ark., 2008).

4.5. Tütün aşırı duyarlılık testi (HR)

Tohum çimlenme, fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretiminde etkili olan izolatların patojenisitelerinin belirlenmesi amacı ile tütün yapraklarında aşırı duyarlılık (HR) testi yapılmıştır. Test sonucunda inokulasyondan 2 gün sonra inokulasyon noktasında oluşan kuruma ve doku çökmeleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Test sonucunda bitki patojeni türlerin inokule edildiği pozitif kontrollerde tipik HR belirtileri oluşurken, PGPR adayı izolatların biri dışında (*Pseudomonas frederiksbergensis* 1KRK5) hiçbiri HR testinde pozitif sonuç vermemiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4. 7. Tütün aşırı duyarlılık testi HR pozitif sonuç verenler siyah ok ile negatif kontrol bölgesi kırmızı ok ile gösterilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitki gelişiminin ve verimin artırılması amacıyla bitkilere kimyasal gübrelerin yerine PGPR olarak adlandırılan bakterilerden üretilen biyogübrelerin uygulanması ve bu bakterilerin etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik çalışmalar son yıllarda farklı ülkelerde birçok araştırmacı tarafından yapılmakta ve ümitvar sonuçların elde edildiği yapılan çalışmaların sonucunda görülebilmektedir.

Yapılan bu çalışmada bitki örneklerinin araziden toplanması, bakterilerin izolasyonu, saflaştırılması ve tanısı, fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretimi gibi *in vitro* etki mekanizmalarının belirlenmesi gibi aşamalar gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak;

- Bu çalışma kapsamında Hatay ilinde buğday üretimi yapılan 9 farklı tarladan buğday kök örnekleri alınmıştır.
- Alınan kök örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda 120 PGPR aday bakteri izole edilerek saflaştırılmıştır.
- Saflaştırılan bakterilerin 81 tanesi MALDI-TOF ile tanılanmıştır. Tanı sonucunda cins düzeyinde ilk sırayı 31 izolatla *Pseudomonas* cinsi alırken bunu 28 izolatla *Bacillus*, 6 izolatla *Micrococcus*, 5 izolatla *Arthrobacter*, 3 izolatla *Microbacterium* ve birer izolatla ise *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* ve *Corynebacterium* cinsleri izlemiştir. Yapılan literatür taramalarında özellikle *Weeksella virosa* izolatının insan patojeni olabileceği saptanmış ve bu izolat çalışmadan çıkarılmıştır.
- Tohum çimlenme ve testlerinde bakteri ile muamele gören buğday tohumlarının kök ve sürgün gelişimleri kontrol uygulaması ile karşılaştırılarak PGPR izolatlarının kontrole göre çimlenme ve sürgün gelişimine etkileri % olarak belirlenmiştir. Deneme sonucunda 73 PGPR izolatı kontrole göre %7,1 ile %70,6 oranlarında kök gelişimini arttırırken, 4 izolatın ise kontrolden daha düşük kök gelişimine neden olduğu belirlenmiştir. Sürgün gelişimine etkide ise tüm izolatlar kontrole göre %6,6 ile % 102,3 oranlarında artış sağlamıştır. Kök gelişimine etkide en etkili izolat *Pseudomonas kilonensis* 10ASO2 izolatı olurken, sürgün gelişiminde ise en etkili izolat *Bacillus pumilis* 10ASO9 izolatı olarak saptanmıştır. Kök ve sürgün gelişiminde kontrole göre % 35 ve üzeri etkili olan aday izolatlar seçilerek diğer çalışmalarda kullanılmıştır.

- Kök ve sürgün gelişimi etkilerine göre seçilen 29 aday bakterinin fosfatı çözebilme kapasiteleri incelenmiştir. Deneme sonucunda 17 izolat fosfatın çözünmesine bağlı olarak herhangi bir zon oluşturmaz iken 12 izolat ise 1,8 ile 5,0 arasında değişen çözünme indeks değerlerinde şeffaf zonlar oluşturmuştur. Deneme sonucunda en etkili izolatın *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 izolatı olduğu belirlenmiştir.
- Siderofor üretimi testinde ise 31 farklı izolat arasında 1 izolat dışında tüm aday bakteriler 2,08 ile 4,78 arasında değişen indeks değerlerinde farklı çaplarda zonlar oluşturmuştur. En yüksek siderofor üretimi ise *Bacillus mojavensis* 5DRC4 izolatında olduğu saptanmıştır.

Tarımda kimyasal gübrelerin yoğun olarak kullanımı beraberinde birçok sorunu da getirmiştir. Çoraklaşma, yeraltı ve yer üstü sularının kirlenmesi, insan sağlığına olumsuz etkileri dolayısıyla kimyasal gübrelere alternatif olarak biyolojik gübrelerin kullanımı önemini gittikçe arttırmaktadır. Biyolojik gübre denildiği zaman ilk sırayı ise PGPR olarak adlandırılan ve bitki gelişimini teşvik eden bakteriler almaktadır.

Yapılan bu çalışma ile buğday köklerinden izole edilen bazı bakterilerin *in vitro* koşullarda buğday sürgün ve kök gelişimine etkileri gibi özellikleri yanında bakteri izolatlarının siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğünü artırma gibi özellikleri belirlenmiştir ve çalışma sonucunda oldukça ümitvar sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında seçilecek olan bakteri izolatları ile *in vivo* saksı denemeleri, tarla denemeleri ve biyoformülasyon çalışmaları ile pratikte bu bakterilerin biyogübre olarak kullanılabilirliği belirlenmiş olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abbasi, M. K., Sharif, S., Kazmı, M., Sultan, T. and Aslam, M., 2011. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. **Plant Biosystems**, Vol. 145, No. 1, March 2011, pp. 159–168.
- Afzal, A. and Bano, A., 2008. Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Int. J. Agri. Biol.** 10:85-88.
- Ahmad, F., Babalola, O.O., and Tak, H.I., 2012. Potential of MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid detection technique in plant pathology: identification of plant-associated microorganisms. **Anal Bioanal Chem** 404:1247–1255.
- Akhtar, N., Arshad, I., Shakir, M.A., Qureshi, M.A., Sehrish, J. and Ali L., 2013. Co-Inoculation With *Rhizobium* and *Bacillus* sp to Improve The Phosphorus Availability And Yield Of Wheat (*Triticum aestivum* L.). **The Journal of Animal & Plant Sciences**, 23(1), Page 190-197.
- Aktaş, M., 1994. Bitki besleme ve toprak verimliliği. **A.Ü.Ziraat Fakültesi**. Yayın no: 1361.
- Aksoy, U., Tüzel, Y., Altındışli, A., Can, H.Z., Onoğur, E., Anaç, D., Okur, B., Çiçekli, M., Şayan, Y., Kırkpınar, F., Bektaş, K.Z., Çelik, S., Er, C., Özkan, C., Özenç, D.B., 2005. **Türkiye Ziraat Mühendisleri Odası VI. Teknik Kongresi**. 3-7 Ocak 2005. s.291-315.
- Alam, J., 2004. Improvement of growth and yield of bread wheat by means of chemical manipulation under glass house conditions, **Yüksek lisans tezi**, University of the Free State.
- Anonim, 2015. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- Anonim, 2016. <http://www.nedirnedemek.com>
- Anonymous, 1999. **FAO Production Yearbook**, Rome.
- Anonymous, 2013. <http://faostat.fao.org/>
- Ashrafuzzaman, M., Hossen, F.A., Ismail, M.R., Hoque, M.A., Islam, M.Z., Shahidullah, S.M., and Meon, S., 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. **African Journal of Biotechnology** Vol. 8 (7), pp. 1247-1252.
- Bashan, Y., Holguin G., 1997. Azospirillum-plant relationship: environmental and physiological advances. **Can. J. Microbiol.** 43:103-121.
- Bashan, Y., 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology. Advances** Vol. 16:729-770.
- Bhawsar, B.D. and Chopade B.A., 2003. PGPR research in India; Present Status and Prospectus. **A review, 6th Int. PGPR Workshop**, India.
- Carrillo-Castañeda, G., Juárez Muños, J., Peralta-Videa, J.R., Gomez, E., Tiemannb, K.J., Duarte-Gardea, M. and Gardea-Torresdey, J. L., 2002. Alfalfa growth promotion by bacteria grown under iron limiting conditions. **Advances in Environmental Research**, 6: 391–399.
- Chandra, R.G.S., Raj S.N., Amruthesh K.N., Shetty H.S. and Reddy M.S., 2003. Induction of Growth Enhancement and Systemic Resistance Against Downy Mildew in Pearl Millet by Plant Growth Promoting Rhizobacteria, **6 th Int. PGPR Workshop**, India.

- Curtis, B.C., Macpherson, H.G., Rajaram, S., 2002. Bread Wheat Improvement and Production, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 9251048096.
- Çakmakçı, R., 2005a. Bitki Gelişiminde Fosfat Çözücü Bakterilerin Önemi **S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi** 19 (35): 93-108.
- Çakmakçı, R., 2005b Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakterilerin Tarımda Kullanımı **Atatürk Üniv. Zir.Fak.Derg.** 36 (1), 97-107.
- Çakmakçı, R., Dönmez, F., Aydın A., Şahin, F. 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. **Soil Biology & Biochemistry** 38 1482–1487.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F. and Erdoğan, Ü., 2007. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Barley, Seedling Growth, Nutrient Uptake, Some Soil Properties and Bacterial Counts. **Turk Journal of Agriculture and Forestry**, 31: 189-199.
- Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arunshen, A.B., Lai W.A. and Young C.C., 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Appl. Soil Ecol.** 34:33-41.
- Dastager, S.G., Kumaran D.C. and Pandey A., 2010. Characterization of plant growth-promoting rhizobacterium *Exiguobacterium* NII-0906 for its growth promotion of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Biologia Section Cellular and Molecular Biology** 65/2: 197, 203.
- Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Subila, K. P., Bini, Y. K. and Aravind, R., 2014. Native multi-trait rhizobacteria promote growth and suppress foot rot in black pepper. **Journal of Spices and Aromatic Crops** Vol. 23 (2) : 156–163 .
- Dölekoğlu, C. Ö., Çakaryıldırım, L. N., 2003. “Gübre Sanayi”, **Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü**, Bakış, Sayı: 2, Nüsha. 3, Mart 2003, Ankara.
- Demirtaş, I. ve Kaya, H., 2006. Kimyasal Gübrelerin Çevre Kirliliğine Olan Etkileri. **Hasad dergisi. Haziran**, sayı: 253 s.67-68.
- Deubel, A., Gransee, A. and W., Merbach., 2000. Transformation of organic rhizodeposits by rhizoplane bacteria and its influence on the availability of tertiary calcium phosphate. **J. Plant Nutr. Soil Sci.** 163:387-392.
- Egamberdiyeva, D., and Höflich, G. 2004. Effect of plant growth-promoting bacteria on growth and nutrient uptake of cotton and pea in a semi-arid region of Uzbekistan. **Journal of Arid Environments** 56 293–301.
- Esringü, A., Kotan, R., Bayram, F., Ekinci, M., Yıldırım, E., Nadaroğlu, H., Katırcıoğlu, H., 2016. Sarımsak Yetiştiriciliğinde Farklı Bakteri Biyoformülasyonu Uygulamalarının Bitki Gelişimi Parametreleri, Verim ve Enzim Düzeyleri Üzerine Etkisi. **Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı** 214-227 DOI: 10.17100/nevbiltek.81409.
- Gholami A., Shahsavani S. and Nezarat S., 2009. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of Maize, **World Academy of Science, Engineering and Technology** 49.
- Güneri, A., 2008. Gübre Üretim ve Tüketimi. **4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi**, s:57-62.
- Harlan, J.R., Zohary, D., 1966. Distribution of wild wheats and barley, **Science**, 4, 1074-1079.

- Hurek T, Reinhold-Hurek B., 2003. Azoarcus spp. strain BH72 as a model for nitrogen fixing grass endophytes. **J Biotechnol** 106:169.
- İrget, M.E., Anaç, D., Okur, B., Delibacak, S., Ongun, A.R. ve Özer, K., 2005. Azotlu Gübre Uygulama Zamanı, Dozu Ve Toprak Özelliklerinin Profil Boyunca NO₃-N ve NH₄-N Dağılımına Etkisi. **Ege Üniversitesi 2000-ZRF-008 Nolu Araştırma Projesi**.
- Jagadeesh, K.S., Kulkarni, J.H. and Krishnaraj, P. U., 2001. Evaluation of the role of fluorescent siderophore in the biological control of bacterial wilt in tomato using Tn5 mutants of fluorescent *Pseudomonas* sp. **Current Science**, 81: 882.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram R. and Panneerselvam, R., 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 60: 7-11.
- Joppa, L.R., 1993. Chromosome engineering in tetraploid wheat, **Crop Science**, 33, 908-913.
- Karagöz, K., 2009. Bazı PGPR ve Biyoajan Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Lekesi Hastalığı Üzerine Etkileri. **Yüksek Lisans Tezi** 14s.
- Kacar, B. 1992. Yapraktan Bardağa Çay. T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları, No:23.
- Khan, M.S., Zaidi, A. and Wani P.A., 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - **A review. Agron. Sustain. Dev.** 27:29-43.
- King, E.O., Ward, M.K. and Raney, D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **J. Lab. Clin. Med.** 44, 301–307.
- Klement Z, Rudolph K, Sands D.C., 1990. Methods in Phytobacteriology Akademiai, Kiado, Budapest, p. 568.
- Kloepper, J.W., Schroth, M. N. and T.D. Miller., 1980. Effects of Rhizosphere Colonization by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield, **Phytopathology** 70:1078-1082
- Kloepper J.W. and Schroth, M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. **In proceedings of the 4ht. International Conference on Plant pathogenic Bacteria.** Pp.879-882.
- Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1981. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology** 71, 642–644.
- Kraemer, S.M., 2005. Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores. *Aquatic Sciences*. 66: 3–18.
- Kumar, A., Prakash, A. and Johri B.N., 2011. Bacillus as PGPR. **Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems**, DOI 10.1007/978-3-642-18357-7_2
- Kumar, V. and Gera, R., 2014. Isolation of a multi-trait plant growth promoting *Brevundimonas* sp. and its effect on the growth of *Bt*-cotton. **Biotech** 4:97–101.
- Lelliott R.A, Stead D.E., 1987. Method in Plant Pathology, Vol. II. Method for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants., **Blackwell Scientific Publication**, Oxford, London, Edinburg, pp. 1-216.
- Leonard, W.H., Martin, J.H., 1963. Cereal Crops, **MacMillan Publishing**, NewYork, USA.

- Matiru N.V. and Dakora F.D., 2004. Potential use of Rhizobial Bacteria as Promoters of plant Growth for Increased Yield in Landraces of African Cereal Crops. **African Journal of Biotechnology** Vol. 3 (1), pp. 1-7.
- Miethke, M.; Marahiel, M., 2007. Siderophore-Based Iron Acquisition and Pathogen Control. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. 71 (3): 413–451.
- Milner, M., Scrimshaw, N., Wang, D.I.C., 1978. Protein Resources and Technology, **AVI Publishing, Westport, USA**
- Miller, M., 2008. Siderophores (microbial iron chelators) and siderophore-drug conjugates (new methods for microbially selective drug delivery). **University of Notre Dame**.
- Mohammadi, K., 2012. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and Their Role in Crop Production. **Resources and Environment**, 2(1): 80-85.
- Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters** 170.
- Neilands, J.B. and Leong, S.A., 1986. Siderophores in Relation to Plant Growth and Disease. **Ann. Rev. Plant Physiol.** 37:187-208.
- Neilands, J. B., 1995. Siderophores: Structure and Function of Microbial Iron Transport Compounds. **J. Biol. Chem.** 270: 26723 - 26726.
- Noumavo, A.P., Kochoni, E., Didagbé, Y. O., Adjanohoun, A., Allagbé, M., Sikirou, R., Gachomo, E.W., Kotchoni, S.O., Baba-Moussa, L., 2013. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. **American Journal of Plant Sciences**, 4, 1013-1021.
- Paul, D. and Nair, S., 2008. Stress adaptations in a Plant Growth Promoting Rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. **Journal of Basic Microbiology**, 48, 378-384.
- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A.N., Sing, A., Busch, U., and Huber, I., 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. **FEMS Microbiology Letters** 328: 46-53.
- Rana, A., Saharan, B., Joshi, M., Prasanna, R., Kumar, K., Nain, L., 2011. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. **Ann Microbiol** 61:893–900.
- Rawat, S., and Mushtaq, A., 2015. Plant growth promoting rhizobacteria, a formula for sustainable agriculture: A review. **Asian Journal of Plant Science and Research**, 5(4):43-46.
- Romeiro, R.S., 2000. Preliminary results on PGPR research at the Universidade federal de viçosa, Brazil. **5 th Int. PGPR Workshop**, Argentina.
- Salisbury, F.B., 1994. The role of plant hormones. **In Plant-Environment Interactions**. pp. 39-81.
- Sadaghiani, M.H.R., Barin, M., and Jalili, F., 2008. The Effect of PGPR Inoculation on the Growth of Wheat. **International Meeting on Soil Fertility Land Management and Agroclimatology**, Turkey p: 891-898.
- Shaukat, K., Affrasayab S., and Hasnain, S., 2006a. Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. **J.Aгри.Res.**,vol.1(6), pp.573-581.

- Shaukat, K., Affrasayab, S., and Hasnain, S., 2006b. Growth responses of *Triticum aestivum* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. **Res. J. Microbiol.**, vol.1(4), pp.330-338.
- Shrivastava, U. P. and Kumar, A., 2013. Characterization and Optimization Of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase (ACCD) Activity In Different Rhizospheric PGPR Along With *Microbacterium* sp. Strain ECI-12A. **Int J Appl Sci Biotechnol**, Vol. 1(1): 11-15.
- Schwyn, B. and Neilands, J.B., 1997. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores, **Anal. Biochem.** 160, 46-56.
- Silva A.D, Patterson K, Rothrock C, Moore J., 2000. Growth promotion of highbush blueberry by fungal and bacterial inoculants. **HortScience** 35(7):1228–1230.
- Slenker, A. K., Hess, B. D., Jungkind, D. L. and DeSimonea, J. A., 2012. Fatal Case of *Weeksella virosa* Sepsis. **American Society for Microbiology**. All Rights Reserved. doi:10.1128/JCM.01761-12.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Bozkurt, İ.A. ve Yiğitbas, H. 2002. Farklı Bölgelerde Yetiştirilen Biberlerin Rhizosferlerinden İzole Edilen Bakteri İzolatlarının Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Gelişimi Üzerine Olan Etkinliklerinin *in vitro* Koşullarında Belirlenmesi. **Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi**, 3-7 Eylül, Erzurum, sayfa 399-408.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş. and Ekici, Ö.K. 2005. Antagonistic Potentials of Rhizosphere-Associated Bacterial Isolates Against Soil-Borne Diseases of Tomato and Pepper Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 8: 43-48.
- Soylu, S., Yetişir, H., Nevfel, M. ve Karaca, F. 2008. Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kök Bakterilerinin Marul (*Lactuca sativa* L.) Yetiştiriciliğinde Kullanılma Olanakları. **VII. Sebze Tarımı Sempozyumu**, 26-29 Ağustos 2008 Yalova, sayfa 113.
- Soylu, S., Derviş, S. Soylu, E.M. ve Dönmez, M.F. 2011a. Su Kabağı Tohum Yüzeylelerinden İzole Edilen Bakterilerin Karpuz Bitkilerinde Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Patojenlere Karşı Antagonist Potansiyellerin Belirlenmesi. **Türkiye 4. Bitki Koruma Kongresi**, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş, sayfa, 478.
- Soylu, S., Kurt, Ş., Soylu, E.M. 2011b. Kökbakterilerinin orman fidanlarında sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı antagonistik etkinlikleri. **Türkiye 1. Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu**, 23-25 Aralık, Antalya, sayfa, 280-281.
- Stets M. I., Pinto A. S., Jr, Huergo L. F., de Souza E. M., Guimarães V. F., Alves A. C., 2013. Rapid identification of bacterial isolates from wheat roots by high resolution whole cell MALDI-TOF MS analysis. **J. Biotechnol.** 165, 167–174.
- Sülü, S.M., Bozkurt, İ.A., Soylu, S., 2016. Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler. **MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi** 21: 103-111.
- Tekin, Ş., Soylu, E.M. ve Soylu, S. 2004. Rizosfer bölgesi topraklardan izole edilen bakteri izolatlarının biberlerde toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı antagonist potansiyellerin belirlenmesi. **Türkiye 1. Bitki Koruma Kongresi**, 8-10 Eylül Samsun, sayfa 57.

- Temel, A., 2006. Yr10 Buğday (*Triticum aestivum* L.) Sarı Pas (*Puccinia striiformis*) Dayanıklılık Geninin Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde Taranması. **Yüksek lisans tezi** 62s.
- Vessey K.J., 2003. Plant Growth Promotion Rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**. 255:571-586.
- Vazquez P. Holguin G. Puente M.E. Lopez-Cortes A. Bashan Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biol Fertil Soils** 30:460–468
- Wang, Y., Zhou, Q., Li, B., Liu, B., Wu, G., Ibrahim, M., Xie, G., Li, H. And Sun, G., 2012. Differentiation in MALDI-TOF MS and FTIR spectra between two closely related species *Acidovorax oryzae* and *Acidovorax citrulli*. **BMC Microbiology** 12:182.
- Whitelaw, M. A., 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. **Adv. Agron.** 69:99-151.
- Yadav, J., Jay Prakash Verma, J.P., and Tiwari, K.N., 2010. Effect of plant growth promoting Rhizobacteria on seed germination and plant growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under *in vitro* conditions. **Biological Forum, and International Journal**, 2(2): 15-18.
- Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C.M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, 14(1), 1-4.
- Yılmaz, H., Demircan, V., Gül, M., 2009. Üreticilerin Kimyasal Gübre Kullanımında Bilgi Kaynaklarının Belirlenmesi Ve Tarımsal Yayım Açısından Değerlendirilmesi. **Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 4 (1): 31-44.
- Zdor, R.E., Alexander, C.M. and Kremer, R.J., 2005. Weed Suppression by Deleterious Rhizobacteria is Affected by Formulation and Soil Properties. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 36: 1289-1299.
- Zamin, R., Farokh, Sachdev, D., Kazemi-Pour, N., Engineer, A., Pardesi, K. R Zinjarde, S., Dhakephalkar, P. K. and Chopade B. A., 2011. Characterization of Plant-Growth-Promoting Traits of Acinetobacter Species Isolated from Rhizosphere of *Pennisetum glaucum*. **J. Microbiol. Biotechnol.** 21(6), 556–566.
- Zhang, Y., Du, B.H., Jin, Z., Li, Z. Song, H., Ding, Y.Q., 2011. Analysis of bacterial communities in rhizosphere soil of healthy and diseased cotton (*Gossypium* sp.) at different plant growth stages. **Plant Soil** 339: 447.

ÖZGEÇMİŞ

Çalışmayı yapan Ziraat Mühendisi Meryem Çelikten, 1992 yılında İstanbul'da doğdu. İlkokul ve Lise eğitimlerini İstanbul'da tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne 2010 yılında ikincilikle girdi. Üniversiteden 2014 yılında birincilikle mezun oldu. 2014 yılı Eylül ayında sonra Yüksek Lisansa başladı. Yaşamına İstanbul'da devam etmektedir.

