T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TARIM TOPRAKLARINDAN ELDE EDİLEN BAKTERİLERİN MİKROBİYAL GÜBRE POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİHAL AHISKALIOĞLU

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. NURCİHAN HACIOĞLU DOĞRU

ÇANAKKALE – 2024

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TARIM TOPRAKLARINDAN ELDE EDİLEN BAKTERİLERİN MİKROBİYAL GÜBRE POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİHAL AHISKALIOĞLU

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. NURCİHAN HACIOĞLU DOĞRU

ÇANAKKALE – 2024

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Nihal AHISKALIOĞLU tarafından Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU yönetiminde hazırlanan ve **19/07/2024** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**Tarım Topraklarından Elde Edilen Bakterilerin Mikrobiyal Gübre Potansiyellerinin Belirlenmesi**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU (Danışman)	……
Doç. Dr. Kaan HÜRKAN	……
Dr. Öğr. Tülay TÜTENOCAKLI	……

Tez No : 10658721
Tez Savunma Tarihi : 19/07/2024

……
Prof. Dr. Ahmet Evren ERGİNAL
Enstitü Müdürü

../../20..

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Nihal AHISKALIOĞLU
19/07/2024

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yönlendirmesinde ve rehberliğinde büyük bir katkısı olan danışmanım Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU'ya içtenlikle teşekkür etmek istiyorum. Değerli danışanımın, tecrübesi ve özverili çalışması sayesinde bu tez projesini gerçekleştirebildim. Danışmanımın derin bilgi birikimi, sorgulayıcı yaklaşımı ve rehberliği, benim akademik gelişimimde çok önemli rol oynadı.
Ayrıca, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardım eden Öğr. Gör. İlke KARAKAŞ'a da içtenlikle teşekkür etmek istiyorum. Kendisinin bilgi birikimi ve çabaları sayesinde laboratuvar deneylerim sorunsuz bir şekilde tamamlanabilmiştir.
Son olarak, aileme ve sevdiklerime sonsuz desteği için teşekkür etmek istiyorum. Onların moral verici sözleri ve destekleri beni her zaman daha fazlasını başarmaya motive etti. Tezimin tamamlanmasında emeği geçen herkese en derin şükranlarımı sunuyor, destekleriniz için minnettar olduğumu ifade etmek istiyorum.

Nihal AHISKALIOĞLU
Çanakkale, Temmuz 2024

ÖZET

TARIM TOPRAKLARINDAN ELDE EDİLEN BAKTERİLERİN MİKROBİYAL GÜBRE POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Nihal AHISKALIOĞLU
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU
19/07/2024, 93

Bu çalışmada, dört farklı toprak örneğinden izole edilen 169 bakteri izolatının Indol asetik asit sentezi (IAA), azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi, ACC deaminaz, potasyum çözünürlüğü ve biyofilm gibi bitki büyümesini teşvik edici (PGPR) özellikleri belirlenmiştir. İzolatların 145'inin Siderofor ürettiği, 155'inin biyofilm oluşturduğu kalitatif yöntemlerle saptanmıştır. Tüm izolatlar azot içermeyen ortamlarda büyüyebilmiştir. 4T16 ve 1G8 kodlu örnekler en yüksek IAA üretimini gösterirken, 97 izolatın fosfat çözündüğü belirlenmiştir. Potasyum çözme katsayısı ± 1.5 - 3.4 arasında bulunmuştur. En yüksek PGPR özelliklerine sahip 25 izolat için çapraz çizgi testi uygulanmış ve birlikte yaşam durumları gözlenmiş ve moleküler tür tayinleri yapılmıştır. Çimlenme ve saksı denemeleri için seçilen 4 izolatın (IG21, 1T1, 1G7 ve 4T7) *Triticum astetivum* cv. buğday çeşidi üzerindeki etkisi petri ve saksı denemelerinde test edilmiştir. İn vitroda bakteri uygulamalarının ortalama çimlenme zamanı ve çimlenme hızı üzerinde etkili olduğu; in vivo da ise uygulamaların negatif kontrolden daha iyi sonuç verdiği, ancak incelenen parametreler arasında strainlere bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Uygulamaların bitki ağırlığı, gövde boyu, kök uzunluğu, bitki kuru ağırlığı ve toplam klorofil miktarı üzerinde etkili olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bitki Büyüme Düzenleyici Bakteri, Mikrobiyal Gübre, Siderofor, Tarım, Verimlilik

ABSTRACT

DETERMINATION OF MICROBIAL FERTILIZER POTENTIALS OF BACTERIA OBTAINED FROM AGRICULTURAL SOILS

Nihal AHISKALIOĞLU
Çanakkale Onsekiz Mart University
School of Graduate Studies
Master of Science Thesis in Biology Science
Advisor: Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU
19/07/2024, 93

In this study, plant growth promoting (PGPR) properties such as Indole acetic acid synthesis (IAA), nitrogen fixation, phosphate solubility, siderophore production, ACC deaminase, potassium solubility and biofilm were determined of 169 bacterial isolates isolated from four different soil samples. It was determined by qualitative methods that 145 of the isolates produced siderophores and 155 of them formed biofilms. All isolates were able to grow in nitrogen-free environments. While samples coded 4T16 and 1G8 showed the highest IAA production, 97 isolates were determined to be phosphate soluble. The potassium dissolution coefficient was found to be between ± 1.5 - 3.4. Cross-line testing was performed for the 25 isolates with the highest PGPR properties, their coexistence was observed, and molecular species determinations were made. The 4 isolates [IG21, 1T1, 1G7 and 4T7] selected for germination and pot experiments were found to be *Triticum astetivum* cv. In vitro, bacterial applications were effective on average germination time and germination rate; In vivo, it was determined that the treatments gave better results than the negative control, but the parameters examined differed depending on the strains. It was determined that the applications were effective on plant weight, stem length, root length, plant dry weight and total chlorophyll amount.

Keywords: Plant Growth Regulating Bacteria, Microbial Fertilizer, Siderophore, Agriculture, Productivity

İÇİNDEKİLER

JÜRİ ONAY SAYFASI……... i
ETİK BEYAN…… ii
TEŞEKKÜR…….. iii
ÖZET ……..…….. iv
ABSTRACT …….. v
İÇİNDEKİLER ……..…… vi
SİMGELER ve KISALTMALAR……..…… ix
TABLOLAR DİZİNİ…….…. x
ŞEKİLLER DİZİNİ……..……...…….….. xi

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ 1

İKİNCİ BÖLÜM
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 3

2.1. Biyogübre Nedir? 3
2.2. Rizobakteriler ve PGPR Potansiyelleri 4
2.3. PGPR'lerin Etki Mekanizmaları 11
2.3.1. PGPR'lerin Direkt Etki Mekanizmaları 11
2.4. PGPR'lerin İndirekt Etki Mekanizmaları 14

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
MATERYAL VE YÖNTEM 34

3.1. Toprak Örneklerinin Alınması ve Kimyasal Analizi 21
3.2. Bakteri İzolasyonu ve Biyokimyasal Karakterizasyonu 21
3.3. PGPR Potansiyellerinin Belirlenmesi 23
3.3.1. İzolatların Fosfor Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi 23
3.3.2. İzolatların indol asetik asit (İAA) üretme kapasitelerinin belirlenmesi 23
3.3.3. Azot Fiksasyonu Yapan Bakterilerin Belirlenmesi 24

3.3.4. ACC Deaminaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi 24
3.3.5. İzolatların Potasyum Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi 24
3.3.6. Siderofor Üretiminin Belirlenmesi 24
3.3.7. Biyofilm Oluşum Testi: 25
3.4. PGPR Seçimi ve Cross Streak Testleri 25
3.4.1. Cross Streak Plate Testi 25
3.5. Moleküler İdentifikasyon 26
3.6. Çimlenme Denemesi 27
3.6.1. Çalışmada kullanılacak tohumların dezenfeksiyonu 27
3.6.2. Buğday tohumlarının bakteri ile kaplanması 27
3.6.3. In vitro ortamda bakteri uygulamalarının tohum çimlenmesine etkisi 28
3.7. Saksı Denemesi 29
3.7.1. Gövde-Kök Uzunluğu 29
3.7.2. Biyokütle 29
3.7.3. Yaş ağırlık 29
3.7.4. Toplam klorofil 30
3.7.5. Kuru ağırlık 30
3.7.6. İstatiksel Analiz 30

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI 31

4.1. Toprak Analizi Bulguları 31
4.2. İzolatların Biyokimyasal Karakterizasyon Bulguları 34
4.3. İzolatların PGPR Potansiyeli Bulguları 41
4.3.1. İzolatların Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi 41
4.3.2. İzolatların İAA üretme kapasitelerinin belirlenmesi 43
4.3.3. Azot Fiksasyonu Yapan Bakterilerin Belirlenmesi 47
4.3.4. ACC Deaminaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi 48
4.3.5.İzolatların Potasyum Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi 49
4.3.6. Siderofor Üretiminin Belirlenmesi 51
4.3.7. Biyofilm Oluşturma Bulguları 53

4.4 CrossStreak Bulguları……...…….…58
4.5 Moleküler Tanımlama Bulguları……...……...……...…59
4.6. In vitro Ortamda Bakteri Uygulamalarının Tohum Çimlenmesine Etkisi….……61
4.7. Saksı Denemesi Sonuçlarının Değerlendrilmesi..... 6363
4.7.1 Bitki Kök Gövde Uzunluğu 63
4.7.2. Biyokütle..... 66
4.7.3. Toplam Klorofil Miktarı 68
4.7.4. Kuru Ağırlık..... 69

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ ve ÖNERİLER 71

KAYNAKÇA ..... ……74

SİMGELER VE KISALTMALAR

BG	Biyolojik gübre
PGPR	Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler
CA	Cetremid agar
TSA	Triptic soy agar
NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
Gr	Gram
mg	Miligram
mm	Milimetre
cm	Santimetre
%	Yüzde
İAA	İndol asetik asit
K	Potasyum
N	Azot
P	Fosfor
Fe^{+2}	Demir
HCN	hidrojen siyanür
CI	Çimlenme indeksi
dH2O	Distile su
kob	Koloni oluşturan birim
rpm	Devir sayısı/dakika
ppm	Milyonda bir
nm	Nanometre

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	PGPR'ler ve Bitki Büyüme ve Gelişimindeki Uygulamaları	7
Tablo 2	Bakteri İzolasyonu için Kullanılan Tarım Toprakları	21
Tablo 3	Filogenetik analizde kullanılan 16s rDNA geni için primer dizileri	26
Tablo 4	Toprak numunelerinin kimyasal, makro-mikro element durumları	31
Tablo 5	I no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu	37
Tablo 6	II no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu	38
Tablo 7	III no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu	39
Tablo 8	IV no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu	40
Tablo 9	1-2 no'lu istasyonlardan elde edilen izolatların PGPR potansiyeli bulguları	54
Tablo 10	3-4 no'lu istasyonlardan elde edilen izolatların PGPR potansiyeli bulguları	56
Tablo 11	25 adet izolata ait moleküler tanımlama bulguları	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	PGPR'lerin bitki gelişimine etkileri	6
Şekil 2	PGPR'lerin besin alımı için farklı direkt mekanizmaları	11
Şekil 3	PGPR'lerin besin alımı için farklı direkt mekanizmaları	14
Şekil 4	I no'lu toprak örneğinin seri dilüsyon görüntüsü	22
Şekil 5	İzolatların kültür sıvılarına Salkowski ayracı eklendikten sonraki pembe renk oluşumu	23
Şekil 6	Cross-Streak Plate bakterilerin çizim planı	25
Şekil 7	Tohumların bakteri ile bulanması	27
Şekil 8	Filizlenmiş tohum örneği	28
Şekil 9	Bakteri ile kaplanmış tohumların saksı denemesi için hazırlanması	29
Şekil 10	I no'lu istasyon toprak analizi bulguları	32
Şekil 11	II no'lu istasyon toprak analizi bulguları	32
Şekil 12	III no'lu istasyon toprak analizi bulguları	33
Şekil 13	IV no'lu istasyon toprak analizi bulguları	33
Şekil 14	3T7 (A), 1T10 (B), 1T15 (C), 4G10 (D) no'lu izolatlara ait mikroskop görüntüleri	34
Şekil 15	410, 3G4, 3T5 no'lu izolatlara ait oksidaz aktivitesi görüntüleri	35
Şekil 16	3T14, 3T1, 4C1, 4E1, 1T5 no'lu izolatlara ait oksidaz aktivitesi görüntüleri	36
Şekil 17	4T5, 4T6, 4T7, 4T8 no'lu izolatlara ait üreaz aktivitesi görüntüleri	36
Şekil 18	İzolatların fosfor çözme kapasitesi görüntüler	41
Şekil 19	İAA standart eğrisi	43
Şekil 20	İzolatların İAA standart grafiği	43
Şekil 21	İzolatların azot fiksasyonu görüntüleri	45

Şekil 22	ACC deaminaz enzim aktivitesi görüntüsü	48
Şekil 23	Potasyum çözme kapasitesi görüntüsü	50
Şekil 24	İzolatların siderefor aktivitesi görüntüleri	51
Şekil 25	İzolatların (2T9 ve 3G2) cam tüp yöntemine göre slime oluşturma görüntüleri	53
Şekil 26	İzolatların cross-streak ekim görüntüleri	58
Şekil 27	1-25 no'lu izolatların jel görüntüleri	59
Şekil 28	*T. aestivum cv*. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun çimlenme oranına etkisi	61
Şekil 29	*T. aestivum cv.* Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun çimlenme indeksi	62
Şekil 30	1G7-4T7 kodlu İzolatların 7. Gün sonunda çimlenme görüntüleri	63
Şekil 31	*T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun kök uzunluğu üzerine etkileri	64
Şekil 32	*Triticum aestivum cv*. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun gövde uzunluğu üzerine etkileri	64
Şekil 33	*T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun kök ve gövde uzunluğu görüntüsü	66
Şekil 34	*Triticum aestivum cv*. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun biyokütle üzerine etkileri	66
Şekil 35	*Triticum aestivum cv*. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun toplam klorofil üzerine etkileri	68
Şekil 36	*Triticum aestivum cv*. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun bitki kuru ağırşığı üzerine etkileri	69

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ

Tarım arazilerinde kullanılan kimyasal gübre ve ilaçlar sonucunda toprağın biyolojik özelliklerinde değişim gözlemlenmektedir. Üretimde verim ve kaliteyi artırmak için kullanılan kimyasal girdiler toprakta yaşayan canlıların yaşam alanlarını tahrip ederek toprak, hava ve su kirliliğine sebep olmaktadır. Toprakta yaşayan mikroorganizmaların zarar görmesi sonucunda tarımsal üretimde meydana gelen sorunları aşmak için alternatif yöntemler üzerinde çalışılmaktadır. Bu bağlamda sürdürülebilir tarım uygulamaları önem kazanmıştır. Özellikle mevcut tarım uygulamalarının sebep olduğu çevresel, sosyal ve ekonomik baskılar alternatif verimliliği ve devamlılığı yüksek tarım uygulamalrını gerekli kılmıştır (Turhan, 2005). Toprağın kendi kendine yetebilmesi, ekolojik döngüye çevre açısından kirletici özellikleri olmayan doğal verimlilik arttırıcı ajanların katılabilmesi bu anlamda çok önemlidir. Son yıllarda yapılan araştırmalar toprak doğal mikroflorasında yer alan pek çok mikroorganizmanın bitki gelişimine katkı sağlayan ve aynı zamanda patojenlere karşıda bitkiyi koruyan ajanlar olarak kullanılabileceklerini ortaya koymuştur.

Toprak yapısındaki mikroorganizmaların devamlılığı, tarımsal üretimde kimyasal gübre ve ilaç kullanımının azaltılması için mikrobiyal gübre çalışmaları ağırlık kazanmıştır. Bitkinin kök bölgesinde yaşayarak, bitkinin büyümesi için çalışan bu bakteriler, "Bitki Büyümesini Teşvik Eden Rizobakteriler (PGPR)" olarak bilinmektedir (Turhan, 2005). Bitkide vejetatif ve generatif gelişimi artıran PGPR'ler aynı zaman da bitkiyi bakteriyel, fungal ve viral hastalıklara karşı korumaktadır.

Tarımsal üretimdeki ana hedef, minimum girdi kullanılarak en yüksek verimin sağlanabilmesidir. Bitkiler canlılıklarını sürdürebilmek için bulunduğu ortam koşullarında besine ihtiyaç duymaktadır. Toprak besin elementleri açısından çok zengin bir kaynaktır. Fakat bu besinlerin miktarları bitkiler için her zaman yeterli seviyede olmayabilir. Özellikle, bitkilerin yetiştirildikleri toprağın, yapısındaki mineralleri besin olarak kullanması, toprağın besin olarak fakirleşmesine sebep olabilmektedir. Bunun sonucunda bitkiler topraktan yeterli besini alamamaktadır. Bu durum tarımsal ürün verim ve kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır. Tarımsal üretimde verim için; toprağın gerekli

gübrelerle iyileştirilmesi ile bitkinin beslenmesi ve tarımsal ürün kaybına sebep olacak hastalık ve zararlılarla mücadele önemli yer tutmaktadır. Son yıllarda Dünya çapında daha fazla önemli hala gelen, biyogübre ve biyokontrol etmeni olarak mikrobiyal kaynakların tarımsal alanlarda kullanımı dolayısıyla bitki büyümesini teşvik eden kök bakterileri üzerine gerçekleştirilen çalışmalar önem kazanmıştır. PGPR'lere örnek olarak *Bacillus, Pseudomonas, Rhizobium, Azotobacter, Azospirillum, Azomonas, Serratia, Stenotrophomonas, Streptomyces, Klebsiella* ve benzeri birçok bakteri türü verilebilir. Bunların arasında hızlı kolonizasyon özellikleri, bitki büyümesini teşvik edici ve bitkiyi hastalıklardan koruyucu pek çok mekanizmayı bir arada bulundurması sayesinde patojen özellik göstermeyen *Pseudomonas*'lar önemli bir yere sahiptir (Erdal, 2013; Sözer Bahadır, 2018). Yapılan araştırmalar sonucunda da *Pseudomonas* genusu, tarımsal uygulamalar açısından yararlı, ticari potansiyele sahip aday mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmada; Samsun ve Çanakkale illerinden temin edilen dört farklı tarım toprağından izole edilen bakterilerin PGPR potansiyellerinin ortaya konmasına çalışılmıştır. Ayrıca bu izolatlar arasından en iyi PGPR özellikleri taşıyan aynı zamanda patojen olmadığı bilinen bir izolat seçilerek saksı denemeleriyle buğday bitkisi üzerinde bitki büyüme teşvikleme potansiyeli ortaya konmuştur. Böylece tanımlanan ve mikrobiyal gübre olarak verimliliği ortaya konan bu izolattan ticarileşme potansiyeli olan bir biyopreparatın elde edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen yerli ve özgün biyopreparat ile, hem mikrobiyal gübre ve biyokontrol etmeni olarak kullanılıp ekonomik değeri yüksek bitkilerin gelişimini arttırmasını sağlamak ve kimyasallara alternatif olarak sürdürülebilir tarıma katkı sağlaması amaçlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Biyogübre Nedir?

Tarımda üretim alanlarında kimyasal içeriğe sahip gübrelerin yerine biyogübre ve mikroorganizmaların kullanımı anlayışı, 1990 yıllarında Avrupa'da geliştirilmeye başlanmıştır. Bu konuda yapılan ilk araştırmalarda *Azotobacter* ve *Azospirillum* türlerinin dinitrojeni fikse edebilme yeteneğinin bitki büyümesini arttırdığı düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalar da ise indol asetik asit (İAA) gibi fitohormonların bitki büyümesini teşvik ettiği ortaya konmuştur. Bunların dışında fosfat çözebilen bakterilerinde bitki büyümesine katkı sağladığı bildirilmiştir. Bu mekanizmaların her biri topraktaki en aktif kısım olan bitkinin rizosfer bölgesinde gerçekleşmektedir.

Rizosfer, bakteri, fungus, alg, aktinomiset vb. mikrobiyal popülasyonları barındıran ve yoğun mikrobiyal aktivitenin olduğu yerdir (Dessaux vd., 2009), rizosferi, içerisinde bitki kılcal köklerini ve bitki tarafından sentezlenen şeker, amino asit, organik asit, enzimler vb. kimyasal bileşenleri barındıran, kök sistemini çevreleyen direkt olarak toprakla bağlantılı olan alan şeklinde açıklamıştır. Çünkü besin maddelerinin büyük bir kısmı köklerden toprağa verilmektedir. Bitkinin köklerinden salgıladığı bu bileşenlere kök eksudatları denilmektedir. Rizosferdeki mikrobiyal popülasyon, bitki büyümesini indükleyen giberellinler, sitokininler, oksinler, amino asitler, vitaminler sentezleyerek, mineral besinlerin çözünmesi ve geri dönüşümünü arttıran yollarla bitkiye yarar sağlamaktadır. Ayrıca antibiyotik üretimi ile bitki patojenlerine karşı antagonistik aktivite göstermektedir. Rizosferdeki bitki dokularının içerisine girerek kolonize olabilen bu mikroorganizmalar, endofitler olarak adlandırılmaktadır (David vd., 2018; Jacoby vd., 2017; Verbon ve Liberman, 2016).

Genel olarak biyogübre, içeriğinde rizosfer ya da bitki içerisine girerek kolonize olabilen, bitkiler için gerekli besinleri toprağa bağlayıp bitkilerin besinlerden faydalanmasını kolaylaştırarak besin takviyesi sağlayan canlı mikrobiyal kaynaklardan elde edilen materyallerdir. Biyogübreler, bitki büyüme teşvikleyici maddelerin salgılanmasını sağlayan ayrıca topraktaki besin elementlerinin çözünmesini dolayısıyla bitkinin alabileceği hale getirilmesini sağlayan bakteri, fungus, alg gibi pek çok

mikroorganizmayı kapsayan ürünlerdir. Bazı kaynaklarda ise PGPR, kompostlaştırıcı ajan fungus, fosfor veya azot çözücü mikroorganizma içeren biyogübreler, solucan gübresi ve leonardit olarak sınıflanıdırlmaktadır (Mukhtar vd., 2018).

2.2. Rizobakteriler ve PGPR Potansiyelleri

Tarım, medeniyetten beri en büyük zenginlik kaynağı olmuştur. Gezegenimiz yaklaşık 7.41 milyar nüfus, 6.38 milyar hektarlık araziye sahiptir ve yaklaşık 1.3 milyar insan doğrudan hayatta kalmak için tarıma bağımlıdır. Toprağın bozulması göz ardı edilemeyecek bir durumdur. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) Gıda Dengesi Tablosu 2004 tarafından yapılan tahminler, toplam nüfus için gelen gıdanın %99.7'sinin yalnızca kara ortamından geldiğini göstermiştir. Her yıl dünya nüfusuna yaklaşık 79 milyon insanın eklenmesiyle, gıda talebinde sürekli bir artış ve arzda kıtlık yaşanmaktadır. Hindistan'da, toprakların yarısı için kullanılan %60.6'lık bir alan, çeşitli tahıllar, sebzeler, baklagiller vb. yetiştirmek için nüfusun yarısı tarafından tarımsal amaçlar için kullanılmaktadır. Tarımsal verimlilik, su kalitesi ve iklim değişikliği, toprak organik maddeleri ile bitki sistemleri arasındaki besin, enerji ve karbonun etkili değişimi tarafından büyük ölçüde etkilenmektedir. Toprağın doğası, organik karbon içeriği, nem, azot (N), fosfor (P) ve potasyum (K) (NPK) içeriği ve birçok diğer faktör gibi bir dizi faktör tarafından düzenlenmektedir (Gouda vd., 2018).

Topraktabitkilerin köklerinde bulunan mikroorganizmaların biyomineralizasyon ve sinerjik ko-evrim süreciyle doğrudan toprakla holobiont ilişkisi olduğu ve toprak kalitesi ve verimliliğinin iyileştirilmesinde büyük potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Lehmann ve Kleber, 2015). Toprak fizyolojisi ve performansı, bitki ile ilişkili mikroorganizmalar tarafından kritik olarak etkilenmektedir, bu da bitki ve hayvanların ko-evrimi ve ekolojisinde bir holobiont bağlantısı olabileceğini öne sürmektedir. Ayrıca, toprak mikroflorasının bitkilerle birlikte birikimi ve ko-evriminin, dönüşüm ya da aşırı abiyotik ortamlara yanıt olarak ekonomik canlılığın, toprak verimliliğinin ve çevresel sürdürülebilirliğin geliştirilmesinde hayati öneme sahip olduğu açıktır. Bitki ve mikroorganizmalar arasındaki ko- evrim en iyi, toprakla antagonistik ve sinerjik etkileşimler gösteren ve aynı zamanda bitki büyüme hızını doğrudan veya dolaylı olarak arttıran Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) ile açıklanabilir. Bitki

büyümesindeki artış, tarımsal gelişmeye doğrudan bağlı olup, bu da tarımdaki gelişmelere doğru orantılıdır. Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler, toprak özelliklerini büyük ölçüde etkilemiş ve kıraç ve düşük kaliteli araziyi tarımsal amaçlar için kullanılabilir ve verimli hale dönüştürmede hayati bir rol oynamıştır (Rosenberg ve Rosenberg, 2015).

PGPR tarafından mikrobiyal canlandırma, bitki köklerini kolonize edebilen ve farklılaşmalarını artırabilen bakteri gruplarını içeren bir alan olmuştur ve dünyanın birçok yerinde tarımsal verimlilik için kullanılmaktadır. Genellikle doğrudan veya dolaylı yaklaşımlarla gerçekleştirilir. Doğrudan yaklaşımda, bir bakteri bitkiye doğrudan bitki büyümesini teşvik edebilecek temel bileşikler sağlar ve bunlar bio-gübreleme, rizo-remediasyon ve bitki stres kontrolü gibi tekniklerle elde edilebilir. Su, sıcaklık ve diğer besin maddelerini emme yeteneği, kara bitkilerinin büyümesini güçlü bir şekilde kısıtlayan çevresel faktörlerden bazılarıdır. PGPR'nin tanıtılması, bitki büyümesini artırarak suya erişilebilirliğini ve topraktaki sınırlı besin havuzundan besin maddelerinin alımını artırarak bitki büyümesini artırır. Ayrıca bitki ve mikropların etkileşimiyle bitki büyümesini artırmak için rizo-remediasyonu içerir. Bitki stresinin nötralizasyonu, PGPR'nin önemli bir faktörüdür; burada temel olarak iki tür stres olan biyotik ve abiyotik stresi nötralize eder.

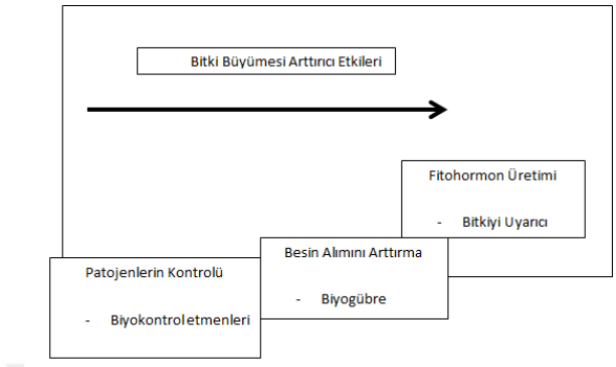
Bitkiler, büyüme, gelişme ve diğer gereksinimleri için çeşitli formdaki toprak mikroorganizmaları ile her zaman bir simbiyotik ilişki içinde olmuşlardır. Birçok bitki türünün rizosferinde yaşayan simbiyotik mikroorganizmalar, konak bitki üzerinde çeşitli faydalı etkilere sahiptirler. Bu faydalı serbest yaşayan toprak bakterileri genellikle PGPR olarak adlandırılırlar ve bitkilerin sağlığını çevre dostu bir şekilde korumak için önemli bir araçtırlar. Farklı bitki türleriyle PGPR ilişkilerinin uygulamaları yulaf, kanola, soya, patates, mısır, bezelye, domates, mercimek, arpa, buğday ve salatalık gibi pek çok bitkide incelenmiştir. Toprak ekosisteminin çeşitli biyotik aktivitelerine kılan bu canlılar toprağın fizyolojik özelliklerini artırarak besin döngüsü için dinamik ve tarım üretimi için sürdürülebilir hale getirmişlerdir.

Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler genellikle iki ana tipe sınıflandırılabilirler: dışsal (ekstrasellüler) bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (ePGPR) ve hücresel içi bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (iPGPR). ePGPR'ler genellikle rizosferde (rizoplan üzerinde) veya kök korteksin hücreleri arasındaki

boşluklarda yaşarlar, PGPR'ler ise genellikle kök hücrelerinin özelleşmiş nodüler yapılarında yaşarlar (Gupta vd., 2015).

Azotobacter, *Serratia*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcous*, *Pseudomonas* ve *Burkholderia* ePGPR olarak sınıflandırılan bakteri cinsleridir. iPGPR'ye ait endofitik mikrobiyal aileler ise Allorhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium, Rhizobium ve ayrıca atmosferik azotu özellikle yüksek bitkiler için bağlayabilen *Frankia* türleridir (Viveros vd., 2010; Bhattacharyya ve Jha, 2012; Kundan vd., 2015). Rizosfer, bitki kökü tarafından etkilenen biyolojik ve kimyasal aktivitenin yoğun olduğu bitki kökü etrafındaki toprak bölgesidir. Tüm mikrobiyal faaliyet bu fazda gerçekleşir ve bu nedenle mikropların depo alanı olarak bilinir. Bu bakteriler simbiyotik ya da simbiyotik özellikte olmayan gruplar olup doğrudan fayda sağlama ya da sadece kendi hayatta kalabilmek için besin maddelerini türetme veya elde etme eğiliminde olabilirler. Bu süreçlerin kompozisyonu bitki ve mikroorganizmaların fizyolojik durumuna ve türlerine bağlıdır (Kang vd., 2015 Zakry vd., 2012).

PGPR'nin birçok uygulaması bulunmaktadır ve bunlar Tablo 1'de verilmiştir. PGPR'ler, belirli özelliklerden dolayı bitki büyümesini artırırlar, bu iyi bilinen bir doğal olaydır (Şekil 1).



Şekil 1. PGPR'lerin bitki gelişimine etkileri

PGPR'ler, bitki büyümesini bitki fizyolojisini değiştirme ve çeşitli patojenlere karşı direnci artırma gibi doğrudan ve dolaylı mekanizmalarla artırabilirler. PGPR'nin bitki büyümesini artırıcı olarak sergilediği çeşitli mekanizmalar şunlardır:

Tablo 1

PGPR'ler ve Bitki Büyüme ve Gelişimindeki Uygulamaları (Gouda vd., 2018)

Mikroorganizma	**Kaynak/Konak bitki**	**Kullanımı**
Azospirillum lipoferum	*Triticum aestivum*	Kök sisteminin gelişimini teşvik etmek
Pseudomonas fluorescens	*Medicago sativa*	Artmış metabolizma, çözeltiden kadmiyumun uzaklaştırılması ve trikloroetilenin parçalanması
Pseudomonas putida	*Arabidopsis thaliana*	Bitki ikincil metabolitlerinin kullanımını artırır.
Azotobacter chroococcum	*Brassica juncia*	Bitki büyümesinin uyarılması
Bacillus subtilis	*Brassica juncia*	Nikel birikiminin kolaylaştırılması
Azospirillum brasilense	*Saccharum officinarum*	Bitki kök mimarisini değiştirme yeteneği, yan köklerin ve adventif köklerin ve kök tüylerinin oluşumunu artırarak sağlanabilir.
Pseudomonas aeruginosa	*Cicer arietinum*	Potasyum ve fosfor alımını olumlu yönde uyarır.
Herbaspirillum seropedicae	*Oryza sativa*	Giberellinlerin üretimini artırır.
Pseudomonas cepacia	*Cucumis sativus*	*Pythium ultimum* patojenine karşı koruma
P. fluorescens	*Phaseolus vulgaris*	Halo lekesini önler.
P. cepacia	*P. vulgaris*	Sclerotium rolfsii'ye karşı korur
P. fluorescens	*Gossypium hirsutum*	Pamukta damping-off'u durdurmaya yardımcı olur.
P. cepacia	*G. hirsutum*	Bitkiyi *Rhizoctonia* solani virüsüne karşı dirençli hale getirir.
Pseudomonas gladioli	*G. hirsutum*	*Helicoverpa armigera* virüsüne karşı direnç sağlar.
Bacillus subtilis	*G. hirsutum*	*Meloidogyne incognita* ve *Meloidogyne arenaria*'dan korur.

İlk kez PGPR kavramı Kloepper vd. (1978) tarafından kullanılmaya başlanmıştır ve bitkileri katkılarından dolayı "Probiyotik bakteri" veya "Süper organizmalar" diye de adlandırılmıştır. Bitki gelişimine katkının yanında patojenlere karşıda koruma sağlayan PGPR'ler, toprak pH'sı, nem içeriği, havalanma durumu, sıcaklığı, tuz-su dengesinin sağlanması gibi çeşitli toprak özelliklerini iyileştirebilme potansiyeli olan toprak kökenli canlılardır. PGPR uygulamaları, tohumla karıştırma veya doğrudan toprağa eklenme suretiyle gerçekleştirilmektedir. PGPR'ler çevre kirliliğine sebep olmadan, insan, bitki ve

çevre sağlığını muhafaza ederek organik tarım uygulamaları açısından önem arz etmektedir (Etesami ve Maheshwari, 2018).

Son yıllarda kurak, tuzlanmış ve ağır metallerle kontamine olmuş topraklarda, kuraklığa, tuza (halotolerant) ve ağır metallere toleranslı *Pseudomonas, Bacillus, Azospirillum* gibi bazı PGPR'lerin bitkilerdeki kuraklık ve tuz stresi ile ağır metal toksisite stresini azaltarak direnç kazanmalarında çok önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Bu yararlarıyla da PGPR'ler tarımsal araştırmaların ön plana çıkan konularından olmaktadır (Bilgin, 2008; Etesami ve Maheshwari, 2018; Goswami vd., 2013).

1970 yılında bitkilerin bakterilerle aşılanması alanında iki önemli gelişme olmuştur. Bunlardan birisi, baklagillerde *Azospirillum*'un bitki büyümesini doğrudan artırdığı, diğeri ise *Pseudomonas fluorescens ve P. putida* türlerinin yoğun bir şekilde bu alanda kullanılmasıdır (Aslan, 2011; Aşkın, 2008; Jacoby vd., 2017). Toprak kaynaklı hastalıkların önlenmesinde en etkili rizobakteriler *Pseudomonas* türleridir. Çok sayıda ve çeşitli türlere sahip oldukları için, pigment üretimi, metabolizma, morfoloji gibi özelliklere göre gruplara ayrılırlar (Altındal, 2015). Pigment üretme yetenekleri, *Pseudomonas* türlerini ayırt etmeye yarayan önemli bir özelliktir. Bu pigmentlerin antibiyotik ve bakteriyosin gibi özelliklere sahip olduğu, toprak ve rizosfer ortamlarında bulunan *Pseudomonas*'lar tarafından üretildiği bildirilmiştir (Vincent vd., 1991). Antifungal metabolitler üreterek mantarlarla mücadele edebilirler, rizosferde besin ve yer için rekabet ederler ve bitkilerde indüklenmiş sistemik direnç mekanizmasını başlatırlar (Arrebola vd., 2019). Ayrıca mikrobiyal gübre ve biyolojik mücadele potansiyelinin yüksek olması ve kolayca üretilebilmeleri nedeniyle *Pseudomonas*'lar 1980'lerden itibaren daha çok ilgi görmeye başlamıştır (Erdal, 2013; Goswami vd., 2013; Sezen, 2012). *Pseudomonas* türleri, toprakta olduğu gibi suda da yaygın olarak bulunurlar. Hatta optimum sıcaklıkta uzun süre su ortamlarında yaşayabilirler. *P. fluorescens, P. putida, P. aeruginosa, P. stutzeri* cinsleri toprakta sıkça rastlanan türlerdir. Bu *Pseudomonas*'lardan özellikle floresan *Pseudomonas*'lar, toprakta yaşayan fitopatojen mantarlarla biyolojik mücadelede etkili ve bitki büyüme ve gelişimini teşvik eden bakteriler olarak en etkili rizobakterilerden biridir. Bu yüzden son yıllarda araştırmacıların odak noktası olan *Pseudomonas* çeşitleri arasındadır (Arrebola vd., 2019; Aşkın, 2008; Ganeshan ve Kumar, 2005)

Pseudomonas türleri, *Pseudomonadaceae* ailesinin en büyük ve en eski üyelerindendir. Migula tarafından 1894'te tanımlanıp morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Gram negatif (-), spor yapmayan, çubuk şeklinde, yaklaşık 0,5-0,8 µm genişlikte ve 1,5-3,0 µm uzunlukta bakterilerdir. Polar flagellaları ile hareketli, aerobik bakterilerdir. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalarlar ama fermantasyon yapmazlar. Oksidaz pozitif ve katalaz pozitif olan Pseudomonas genusunda 160 tür vardır. Genellikle bu türler, çözünen ve çözünmeyen, floresan ve floresan olmayan çok çeşitli pigmentler üretirler. Bazı türleri, bitki, hayvan ve çeşitli mikroorganizmalara fırsatçı patojen olarak zarar verebilirler. Bu türler arasında hayvanlara zarar veren en önemlileri *P. mallei, P. pseudomallei, P. aeruginosa*, bitkilere zarar veren en önemlileri ise *P. marginalis, P. cepacia, P. solanacearum ve P. syringae*'dir. Psikrofilik türlere de sahiptirler ve buzdolabında saklanan gıdaların bozulmasına neden olabilirler. *P. fluorescens, P. ambigua, P. incognata, P. perolens ve P. putrefaciens* bu türlere örnek olarak sayılabilir (Aydın, 2010). *Pseudomonas* türleri, lipolitik ve proteolitik aktivite gösterirler. Pektinolitik aktiviteye de sahip olan bazı türleri, bitkilerde kök çürümesine yol açabilirler. Organik bileşiklerin mineralizasyonu, bitkilerle etkileşimi gibi önemli işlevlere sahiptirler. Bu bakteriler, çeşitli sentetik organik bileşikleri parçalayabilme yetenekleriyle de ilgi çeken bir grup oluştururlar. Genel olarak minimum pH 5-6, optimum pH 6,6-7,0 ve maksimum pH 8'de gelişebilirler. Optimum 20-30 °C'de ürerler, ancak 4-43 °C arasında da üreyebilecekleri geniş bir gelişim aralığına sahiptirler (Altındal, 2015; Furmanczyk vd., 2018).

Bacillus türleri, endospor oluşturan, çubuk şekilli gram-pozitif bakterilerdir. Bunlar oksijenli veya oksijensiz ortamlarda yaşayabilirler ve kimyasal olarak organik maddeleri kullanırlar. Çoğu *Bacillus* türü, etrafında flagella bulunan hareketli bakterilerdir. *Bacillus* türlerinin sadece birkaçı insanlara hastalık yapabilir, örneğin, *B. anthracis*, şarbon hastalığına sebep olur ve biyolojik silah olarak kullanılabilir. Diğer Bacillus türleri ise, insanlara faydalı olabilir. *Bacillus* türleri, bakitrakin ve polimiksin gibi antibiyotikler üretirler ve *B. thuringiensis*'in salgıladığı toksin, böcekleri öldüren doğal bir ilaç olarak kullanılır (Aydın,2010).

Azospirillum, azot fikse eden ve spiral şekilli toprak bakterileri olarak tanımlanan bir bakteri cinsidir. *Azospirillum,* ilk kez tahılların köklerinden tanımlanmış ve bitki büyüme teşvik eden hormonlar ürettiği bildirilmiştir. *Azospirillum,* N_2 sabitleme yeteneği

ve hücrelerinin spiral hareketleri nedeniyle bu ismi almıştır (Dommelen ve Vanderleyden, 2007). *Azospirillum*, bitkilerin verimliliğini ve üretkenliğini arttırmak için biyogübre olarak kullanılabilen önemli bir mikroorganizmadır.

PGPR'ler biyogübre (bitkinin besinleri kolaylıkla alım oranında artış), fitostimülatör (fitohormon sentezleyerek bitki gelişiminin teşviki), rizoremediyatör (topraktaki organik kirleticilerin degredasyonu), biyopestisit (sekonder metabolitler sentezleme ile hastalıkların kontrolü) olarak doğada çok büyük öneme sahiptir (Bargaz vd., 2018; John vd., 2017; Lobo vd., 2019).

Kloepper (1994) tarafından PGPR özelliğe sahip bakteriler belirli özellikleriyle diğer bakterilerden ayrılarak gruplandırılmıştır. Bu özellikler, kök yüzeyinde yeterli sayıda kolonize olabilmeleri, bitki gelişimini teşvik edecek veya bitkiyi stres faktörlerinden koruyabilecek aktiviteye sahip olmalı ve başka mikroorganizmalarla rekabete girerek hayatta kalabilmeli, bitkinin büyümesini arttırabilmeleri olarak sınıflandırılabilir (Aslan, 2011).

PGPR'lerin etki mekanizmaları direkt ve dolaylı yollarla gerçeklemektedir. Direkt mekanizmalar, oksin, gibberellin, sitokinin vb. fitohormonların sentezi, ACC deaminaz aktivitesiyle etilen üretiminin baskılanması, inorganik fosfatın çözünebilirliğinin arttırılması, biyolojik olarak azotun fikse edilmesi, bitki ve bakteri arasındaki interaksiyonların uyumu, abiyotik ve biyotik stresi düşürme, kök geçirgenliğinde artış, organik fosfatlı moleküllerin mineralizasyonun sağlanması, hem direkt hem de dolaylı mekanizma olarak siderofor ve HCN senteziyle demirin bitki tarafından ulaşılabilirliğinin sağlanması ve bazı önemli elementlerin arttırılması ve vitamin üretimi şeklinde gerçekleşmektedir (Erdal, 2013).

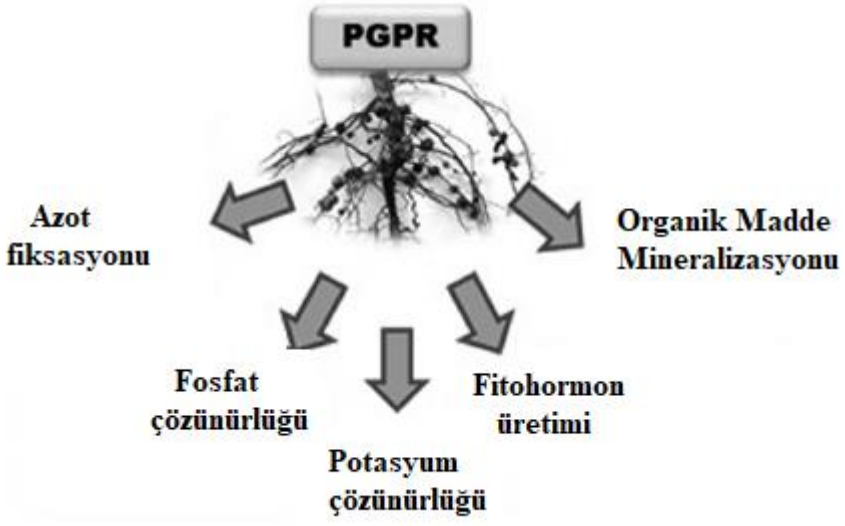
PGPR'lerin dolaylı etki mekanizmaları ise antibiyotik senteziyle bitki hastalıklarını azaltan biyolojik mücadele etmenleri olma, litik enzimler sentezleyerek fungal hücre duvarının yıkımı, antifungal metabolit sentezi, yer ve besin rekabetiyle patojen mikroorganizmaları baskılamak, çeşitli organik moleküllerce kirli topraklardaki ksenobiyotikleri yıkıma uğratarak bitkilerin korunmasını sağlama olarak sınıflandırılabilir (Singh vd., 2017; Sözer vd., 2018; Trivedi vd., 2008).

2.3. PGPR'lerin Etki Mekanizmaları

PGPR'ler, bitkilerin büyümesini uyardıkları farklı mekanizmalar kullanarak etki gösterirler. Bu mekanizmalar doğrudan veya dolaylı olarak sınıflandırılabilir. PGPR'ler, bitkilerle olan ilişkilerine bağlı olarak hem simbiyotik bakteriler hem de serbest yaşayan rizobakteriler olarak gruplandırılır. Bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin örnekleri arasında, bitkilerle farklı simbiyotik ilişkiler oluşturan serbest yaşayan bakteriler, bitki dokusunun bazı kısımlarını kolonize eden endofitik bakteriler ve siyanobakteriler yer alır. Bakteriler arasında var olan farklılıklara rağmen, hepsi benzer bir mekanizma tipi gösterirler ve bakteri üremesini teşvik ederler. Bakteriler, bitkinin hormon seviyelerini değiştirerek veya çeşitli patojenik ajanların bitki büyümesi ve gelişmesi üzerindeki inhibe edici etkilerini dolaylı olarak azaltarak veya doğrudan kaynak alımını iyileştirerek bitki büyümesini teşvik etmek için iki yöntemden birini kullanabilirler (Gupta vd., 2014).

2.3.1. PGPR'lerin Direkt Etki Mekanizmaları

PGPR'nin doğrudan besin alımını kolaylaştırdığı veya besin bulunurluğunu artırdığı mekanizma, azot fiksasyonu, organik bileşiklerin mineralizasyonu, mineral besinlerin çözünmesi ve fitohormonların üretimini içerir (Bhattacharyya ve Jha, 2012) (Şekil 2).



Şekil 2. PGPR'lerin besin alımı için farklı direkt mekanizmaları

Besin fiksasyonu: Bitki büyümeyi teşvik eden rhizobakteriler, bitkilerin kökleri aracılığıyla besin konsantrasyonunun erişilebilirliğini artırma eğiliminde oldukları için bitkilere doğrudan büyüme arttırıcı olarak işlev görebilirler. Besinlerin bitki büyümesi ve verimliliği için sağlanmasını veya kilitlemesini düzelterek bitkiler için besin konsantrasyonuna erişimini artırabilirler (Kumar, 2016).

Azot fiksasyonu: Biyolojik azot fiksasyonu, küresel olarak fikse edilen azotun yaklaşık üçte ikisini oluşturan etkileyici bir süreçtir. Bu olağanüstü biyolojik süreç, mikroplar ve bitkiler arasında simbiyotik veya simbiyotik olmayan etkileşimlerle gerçekleştirilir (Shridhar ve Rewiev, 2012). *Rhizobium* sp., *Azoarcus* sp., *Beijerinckia* sp., *Pantoea agglomerans* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bitki büyümesini teşvik eden rhizobakteri strainleri, toprakta atmosferik N2'yi sabitlemede en dikkate değer simbiyotik mikroplardan bazılarıdır (Ahemad ve Kibret, 2014).

Fosfat çözünürlüğü: Fosfor, bitkinin enerji transferi, sinyal iletimi, solunum, makromoleküllerin biyosentezi ve fotosentez dahil olmak üzere neredeyse tüm önemli metabolik süreçlerinde önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, fosforun %95-99'u genellikle çözünmeyen, immobilize edilmiş ve çöktürülmüş formda bulunur ve bu nedenle çoğu bitki tarafından absorbe edilmesi zordur (Anand vd., 2016). Bitkiler, fosfatı yalnızca iki çözünür formda, yani monobasik (H_2PO_4) ve dibasik (HPO_4^{2-}) iyonlarında alabilir. *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus* ve *Serratia* gibi fosfat çözünmesini sağlayan PGPR'ler, birçok bitki türünde bitki büyümesini ve verimini artırmak için toprak inokulumları olarak tarım uzmanlarının dikkatini çekmiştir (Oteino vd., 2015).

Potasyum çözünürlüğü: Mevcut senaryoda, potasyum eksikliği ürün üretimindeki önemli kısıtlamalardan biri haline gelmiştir. PGPR'nin organik asitlerin üretilmesi ve salgılanması yoluyla potasyum kayalarını çözündürme yeteneği geniş çapta araştırılmaktadır. *Bacillus edaphicus*, *Ferrooxidans*, *Bacillus mucilaginosus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Paenibacillus* sp. gibi potasyum çözücü PGPR'lerin, topraklardaki potasyum içeren minerallerden erişilebilir formda potasyum salmaya rapor edildiği bildirilmektedir (Liu vd., 2012).

Fitohormon üretimi: Fitohormonlar veya bitki büyüme düzenleyicileri, düşük konsantrasyonlarda (<1 mM) bitki ürünlerinin artırılmasını, engellenmesini veya değiştirilmesini teşvik eden organik maddelerdir (Damam vd., 2012. İlginçtir ki, bu fitohormonların üretimi, PGPR gibi belirli mikroorganizmalar tarafından bitkilerde de indükte edilebilir. Fitohormonların yaygın grupları arasında gibberellinler, sitokinler, absisik asit, etilen, brassinosteroidler ve oksinler bulunur ve bu maddeler, kök mimarisinde hücre proliferasyonunu etkileyebilirler, yan köklerin ve kök kıllarının aşırı üretiminden ve ardışık olarak besin ve su alım kapasitesinin artmasından etkilenirler (Sureshbabu vd., 2016).

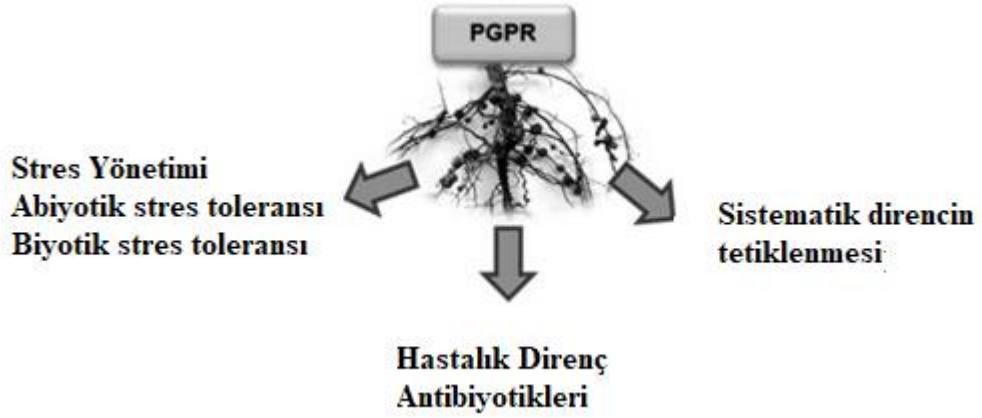
Biyogübreleme: Toprağın verimliliğinin biyolojik varlıklar aracılığıyla artırılması fenomeni biyogübreleme olarak adlandırılabilir ve çevreden alınan kimyasal destekler biyogübreler olarak kabul edilir. Toprağın biyolojik yollarla artan verimliliği, fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi, ekzopolisakkarid üretimi, atmosferik azotun biyofiksasyonu gibi belirli doğal süreçler aracılığıyla kolayca elde edilebilir (Noumavo vd., 2016).

Fosfat çözünürlüğü: Mikroorganizmalar, toprak fosforu sıralamasında rol alarak bitkilere ulaşılabilir fosforun sağlanmasında önemli bir rol oynarlar (Kaur vd., 2016). Mikroplar fosforu çözebilirler ve bu da toprak verimliliğinin artmasına neden olur ancak bu mikropların biyogübre olarak tarlada kullanımına ilişkin daha fazla çalışma, sınırlı araştırma ve literatür bulunduğundan hala beklemektedir.

Siderofor üretimi: PGPR grubuna ait birçok mikroorganizma, çeşitli bakteri ve mantar türleri tarafından üretilen sideroforları kullanma kapasitesine sahiptir. *Pseudomonas putida* bakterisi, doğal yaşam ortamında kendisine ulaşılabilir demir seviyesini artırmak için diğer rizosferler tarafından üretilen heterojen sideroforları kullanabilir (Rathore, 2015).

2.4. PGPR'lerin İndirekt Etki Mekanizmaları

PGPR'nin bitkiler üzerinde fitopatojenlerin zararlı etkilerini önleyerek veya nötralize ederek, konakçının doğal direncinin artmasına neden olan baskılayıcı maddelerin üretilmesi yoluyla gerçekleşen süreci içerir. Bu mekanizmada PGPR'nin katkısı, hidrolitik enzimlerin (kitinazlar, selülazlar, proteazlar vb.) üretilmesini, bitki patojenlerine veya hastalık direncine yanıt olarak çeşitli antibiyotiklerin üretilmesini içerir (Gupta vd., 2014; Nivya, 2015) (Şekil 3).



Şekil 3. PGPR'lerin besin alımı için farklı direkt mekanizmaları

Stres yönetimi: Bitkiler sık sık çeşitli çevresel streslere maruz kalır ve bu stresle başa çıkmak için belirli mekanizmalar geliştirmiştir. Son birkaç on yılda, abiyotik ve biyotik stres toleransında rol oynayan moleküler mekanizmaların anlaşılması çeşitli çalışmalar aracılığıyla sağlanmıştır. PGPR'nin aktif katılımı ve stres yönetimindeki rollerinden bazıları aşağıda tartışılmıştır (Ramegowda ve Senthil-Kumar, 2015).

Abiyotik stres toleransı: Abiyotik stresler (yüksek rüzgarlar, aşırı sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, sel vb.) hayatta kalma ve biyomas üretimi üzerinde oldukça olumsuz etkilere sahiptir. Su stresi tarafından neden olunan hücresel hasarın derecesini hafifletmek ve bitkilerde toleransı artırmak için önerilen birçok strateji bulunmaktadır. Bunlar arasında, PGPR'nin uyumlu osmolitler olarak prolin, glicinbetain, trehaloz vb. gibi dış uygulamaları, stres etkisini hafifletmede önemli bir ilgi görmüştür. PGPR'nin bitki abiyotik stres yönetiminde kullanımı kapsamlı bir şekilde araştırılmış olup, toprakta bulunan kadmiyum

iyonlarını temizleme yeteneği nedeniyle arpa bitkilerinde kadmiyum kirliliğinin toksik etkilerini nötralize etmektedir (Vejan vd., 2016).

Biyotik stres toleransı: Bitkideki biyotik stres, farklı patojenler tarafından bitkilere yapılan patojenik etki nedeniyle tarımsal verimin azalmasına neden olan bir stres toleransı aktivitesidir (Haggag vd., 2015). Bu tür bir sorun, *Paenibacillus polymyxa* B2, B3, B4, *Bacillus amyloliquefaciens* HYD-B17, *Bacillus licheniformis* HYTAPB18, *Bacillus thuringiensis* HYDGRFB19, *Paenibacillus favisporus* BKB30 ve *B. subtilis* RMPB44 gibi PGPR'lerin kullanımıyla çözülebilir (Ngumbi ve Kloepper, 2016).

Hastalık direnci antibiyotikleri: Tarımsal ürünlerde bitki patojenlerine karşı mikrobiyal antagonistlerin kullanımı, benzersiz biyolojik özellikleri nedeniyle belirli kimyasal pestisitlere alternatif olarak önerilmiştir. Temel olarak, *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi PGPR'lere ait mikroorganizmaların, antibiyotikler üreterek patojenik mikroorganizmaların inhibisyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Ulloa-Ogaz vd., 2015).

Tetiklenmiş sistemik direnç: Tetiklenmiş sistemik direnç, belirli çevresel uyarıcılara yanıt olarak artırılmış savunma kapasitesinin ortaya çıktığı bir fizyolojik durum olarak tanımlanabilir. Bu, indüksiyonun gerçekleştiği bitkilerin belirli bölgelerinde artmış direnç durumudur. PGPR, birçok bitkide çeşitli çevresel koşullara karşı 'sistemik direnç indüksiyonu' göstermiştir (Prathap ve Ranjitha, 2015).

Biyofilm oluşumu: Biyofilm, mikroorganizmaların yüzeylerde oluşturduğu ince bir tabakadır ve bakteri, alg, mantar gibi çeşitli mikroorganizmaların bir araya gelerek oluşturduğu bir topluluktur. Bu biyofilmler, çeşitli yaşam ortamlarında bulunabilir ve genellikle su, toprak, bitki yüzeyleri gibi nemli alanlarda gelişir. Biyofilm oluşturan bakterilerin potansiyel olarak PGPR olabileceği ve bitki kökleri etrafında biyofilm oluşturarak bitki sağlığına katkıda bulunabileceği şeklinde öngörülebilir. Biyofilmler, bakterilerin topluca yaşamalarını ve bir arada çalışmalarını sağlayarak PGPR'lerin etkili bir şekilde toprağa yerleşmesine ve bitki kökleriyle etkileşime girmesine yardımcı olabilir.

Literatürde, planktonik PGPR'lerden çok daha etkili olan birçok biyofilm PGPR örneği bulunmaktadır (Backer vd., 2018). Zhang vd. (2015), biyofilm PGPR'lerde azotaz aktivitesinin, İAA üretiminin, fosfat çözünmesinin, siderofor üretiminin ve amonyak üretiminin planktonik PGPR'lerden çok daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Biyofilm PGPR'lerin diğer avantajları arasında antibiyotiklere ve olumsuz çevresel streslere (yüksek sıcaklık, aşırı pH, tuzluluk ve kuraklık gibi) karşı daha yüksek direnç bulunması yer alır, bu da rekabetçi bir toprak ortamında hayatta kalma şansının artmasına yol açar. Biyofilm PGPR'ler ayrıca planktonik PGPR'lerden önemli ölçüde daha yüksek miktarda antimikrobiyal bileşikler üretir, bu da fitopatojenlerin bastırılmasına yol açar (Pandin vd., 2017). Bununla birlikte, şu ana kadar *Rhizobium leguminosarum*, *Agrobacterium* sp., *A. vinelandii*, *Enterobacter cloacae*, *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *P. polymyxa*, *Bradyrhizobium* sp., *B. subtilis* ve *B. drentensis* gibi birçok biyofilm PGPR tanımlanmıştır (Mahmood vd., 2016; Gupta vd., 2017). Dolayısıyla, bitkilere faydalı etkiler sunmak için yeni bir su stresi ortamında hayatta kalmak için diğerlerine göre avantajlı olabilirler. Ancak, domates gibi su stresine doğal olarak adapte olan tarla türleri ile ilişkilendirilen biyofilm üreten bakteriler henüz keşfedilmemiştir.

Biyogübreler, bitki besin maddelerinin sağlanması ve biyolojik yolla kullanılabilir hale gelmesinde rol alan canlı mikroorganizmaların ticari formülasyonlarıdır ve toprağa doğrudan ya da dolaylı olarak verilen mikroplardır (Gupta vd., 2014). Bu sayede topraktaki besin maddeleri daha verimli olarak kullanılır ve fidan kalitesi yükselir. Biyogübreler, saçak kök oluşumunu destekledikleri için (Benitez vd., 2004) fidanların tutma ve yaşama oranlarını yükseltirler. Topraktaki zararlı patojenleri baskılayıp, faydalı bakterileri aktive ettikleri için bitkilerin biyokütlesini önemli ölçüde artırdıkları gösterilmiştir (Siddikee, 2010). Azot ve fosfor alımını sağlayarak (Hasrat, 2006) kök sistemlerinin ve ürün miktarının (Gupta vd., 2014) gelişmesini sağlarlar. Biyogübreler, yararlarına ve işlevlerine göre; azot bağlayıcılar, fosfat çözücüler, potasyum çözücüler, sülfür oksitleyiciler, silikat çözücüler, dekompoze kültürler olarak sınıflandırılabilir. Azot bakterileri de simbiyotik ve simbiyotik olmayan azot bakterileri olarak ikiye ayrılır. *Rhizobium*, *Azolla* gibi simbiyotik, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Beijerinekia*, *Azospirillum* gibi simbiyotik olmayan bakteriler havadaki serbest azotu bağlarlar. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Aspergillus* ve *Penicillium* bakterileri de fosforun serbestleşmesinde etkilidirler (Borkar, 2015). Mikroorganizmalar,

kimyasal gübreler ve pestisitlerin yol açtığı sorunları çözmede alternatif olarak organik tarımda kullanılmaları yaygınlaşmıştır (Berg, 2009).

Artan gıda ihtiyacını karşılamak için sentetik veya kimyasal gübrelerin sürekli ve gelişigüzel kullanımı, tartışmasız kirlenme ve ekosistem değişikliği ile sonuçlanmıştır. Ayrıca sentetik veya kimyasal gübre kullanımının uzun vadeli etkileri toprak verimliliğini düşürüp, hastalığa eğilimli mahsullerin üretilmesine neden olmaktadır. Bugün üretilen gıda miktarı, 2050'de herkesi beslemek için gereken miktarla kıyaslandığında çok daha düşüktür. Artan nüfusu yetersiz miktarda mevcut besinle beslemek için, dünyanın kesinlikle tarımsal üretkenliği sürdürülebilir ve çevre dostu bir şekilde teşvik etmesi gerekmektedir (Sezen, 2012). Bu nedenle, kimyasal gübreler, pestisitler, herbisitler, fungisitler ve insektisitlerin kullanımını içeren mevcut tarımsal yaklaşımların birçoğunun yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir.

Kimyasal veya sentetik gübrelerin zararlı etkileri ışığında, biyogübrelerin kimyasal girdilere güvenli bir alternatif olabileceği ve ekosistemin bozulmasını büyük ölçüde azaltabileceği düşünülmektedir. Biyogübreler uygun maliyetli ve doğa dostudur ve uzun süreli kullanımları toprak verimliliğini önemli ölçüde artırır. Biyogübre kullanımının, proteini, hayati amino asitleri ve vitaminleri ve nitrojen fiksasyonunu artırarak mahsul verimini %10-40 oranında arttırdığı bulunmuştur. Biyogübreler, düşük maliyetli bir besin kaynağı, mikro bileşiklerin ve mikro besinlerin mükemmel tedarikçileri, organik madde tedarikçileri, büyüme hormonu üreticileri ve kimyasal gübrelerin olumsuz etkilerine karşı koyma aracı olmak da dahil olmak üzere bir dizi avantaj sağlar. Farklı mikroorganizmalar, toprağın önemli bileşenleridir ve besin mobilizasyonu ve uzun vadeli mahsul gelişimi için toprağı aktif tutan toprak ekosistemindeki çeşitli biyotik aktivitelerde kilit rol oynarlar (Sezen, 2012).

Biyogübrelerin ticari geçmişi, Nobbe ve Hiltner tarafından *Rhizobium* sp. türleri ile 1950'lerde yaptıkları çalışmalara dayanmaktadır (7). Bununla birlikte, sayısız avantajlarına ve düşük maliyetlerine rağmen, biyogübrelerin ticarileştirilmesi yaygın değildir. Kullanımlarını sınırlayan nedenler çoğunlukla, seri üretim, raf ömrü, uygun tavsiyeler ve çiftçiler için kullanım kolaylığı ile ilgili pratik yönlerin yanı sıra farklı topraklar, mahsuller ve çevresel koşullar üzerindeki tutarsız tepkilerle ilgilidir (Debnath,

vd., 2019). Bu nedenle çevre dostu, sürdürülebilirlik önemli köşe taşlarından biri olan biyogübre çalışmalarının arttırılması ve özellikle yeni mikrobiyal gübre kaynaklarının taranması önemlidir.

Javant (2012), elma fidanlığı koşullarında fide büyümesinin farklı yönlerini dikkate alarak biyogübrelerin etkinliğini araştırmıştır. *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas striata* ve *Trichoderma viride* türleriyle yapılan çalışmada, mikrobiyal gübrelerin tohum çimlenmesi, fide hayatta kalması, fide uzunluğu ve çapı gibi özellikleri olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir.

Seymen vd. (2013), farklı bakteri uygulamalarının hıyarın besin elementi içeriğine kireçli topraklarda etkili olduğunu ve makro besin elementlerinin topraktan alınımını arttırdığını ortaya koymuşlardır.

Yousefi ve Barzegar (2014), A. *chrocooccum* ve *P. fluorescens*'in buğday performansı üzerindeki etkilerini ve etkileşimlerini incelemişlerdir. *Azotobacter* ve *Pseudomonas*'ın kombine uygulamasının tane verimi, hasat indeksi, biyolojik verim ve protein arttırdığını; *Azotobacter* ve *Pseudomonas* aşılama ve gübrelemenin, tarlada kimyasal gübre uygulamasını (%25-50) azalttığını saptamışlardır.

Özaktan (2016), 2015 ve 2016 yılları üretim sezonunda fasulyede verim ve verim öğelerinin belirlenmesi için hümik asit, mikrobiyal gübre ve fosfat kayası uygulaması yapmış ve özellikle bu maddelerin en yüksek dozunda yüksek tane verimi elde etmiştir.

Günal (2011), sofralık üzümde hasat sonrasında kalite kayıplarının önlenmesinde, *B. subtilis* QST713 ile *A. chroococum, Azotobacter vinelandii* karışımı preparatların etkinliğini araştırmıştır. Çalışma, bu preparatların kısa süreli muhafazada SO_2 uygulamalarına alternatif olabileceğini, uzun süreli muhafazada ise SO_2 ile birlikte uygulanabileceğini ortaya koymuştur.

Ullah vd. (2017), ayçiçeğinde İAA üretici bakteri uygulamalarının bitki büyümesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu bakterilerin tohum çimlenmesi, kuru ve yaş kütlenin önemli ölçüde arttırdığını belirlemişlerdir.

Çelikten vd. (2018), farklı buğday köklerinden saflaştırılan 84 bakteri izolatını tanımlamışlardır. Elde edilen izolatların *Pseudomonas* (n=32), *Bacillus* (n=29), *Micrococcus* (n=7), *Arthrobacter* (n=7), *Microbacterium* (n=3), ve birer adet elde edilen *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* ve *Corynobacterium* genusu üyesi oldukları bildirilmiştir. Çimlenme testlerinde 73 izolatın kök gelişimini, 4 izolatın ise sürgün gelişimini arttırdığı saptanmıştır.

Altınok ve Çiftçi (2019), patlıcan tohumlarında PGPR uygulamalarının kurşuni küf hastalığına etkilerini araştırmışlardır. Çalışma, PGPR'lerin prolin, katalaz ve peroksidaz enzimlerinde artış sağladığını, bitki biyomas artışı ile kısmen antibiosis etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

Altunlu vd. (2019), mısır bitkisinde Endomycorrhiza, *Trichoderma* spp., *B. subtilis* ve *Bacillus megaterium*'i içeren ticari bir ürünün doza bağlı bitki gelişimi, kavuzlu ve kavuzsuz koçan ağırlığını arttırdığını göstermiştir.

Mutlu vd. (2019), *B. megaterium*, *Pantoea aglomerans* ve *P. fluorenscens*'den oluşan gübrenin Lolium perenne 'Blackcat' çeşidinin sahada tesis olma hızı, çim kalitesi, rengi, yoğunluğu, biçim artıkları kaynağı, kök ve ağırlığı üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermişlerdir.

Sun vd. (2020), kimyasal ve biyolojik gübrelerin (BG) mısır bitkisi üzerindeki etkilerini yoğun tarım yapılan bir bölgede denemişlerdir. Kimyasal (üre) ve BG'nin yarı yarıya kullanıldığı durumda, topraktan azot kaybı %54 oranında azalmıştır. Aynı zamanda azot daha iyi kullanılmış ve verim %5.0 oranında yükselmiştir. Ayrıca BG'nin azot kaybını nasıl önlediği fonksiyonel gen düzeyinde incelenmiştir. BG uygulandığında, topraktaki amonyum monooksijenaz (amoA) adlı bakteriyel azot döngüsü fonksiyonel geninin miktarı düşmüş ve bu da nitrifikasyonu yavaşlatmıştır. Bunun yanında, BG ile işlem görmüş toprakta nifH adlı azot bağlayıcı genin bolluğu da azalmıştır. BG uygulaması toprak organik maddesinin indirgenmesinde rol oynayan *Bacteroidetes* ve *Chloroflexi* mikroorganizmalarının sayısını arttırmıştır.

Haiyun vd. (2020), yaptıkları saksı deneylerinde PGPR'nin yulaf, yonca ve hıyar fidelerinin büyümesini ve gelişmesini desteklediğini, antioksidan enzim aktivitesini arttırdığını ve klorofil içeriğini yükselttiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca PGPR'nin bitki kök bölgesindeki toprakta enzim aktivitesini ve kullanılabilir besin elementi içeriğini yükselttiğini rapor etmişlerdir.

Moncada vd. (2021), *Bacillus* spp. ile aşılanmış fesleğenlerin bitki büyümesi üzerinde önemli bir etkisi olmadığını, ancak yüksek oranda mineral gübre içeren besin çözeltisi ile beslenen bitkilerde fesleğen yapraklarının nitrat içeriğinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Çağlayan (2021), farklı toprak ve şapkalı mantar kompostu örneklerinden yerli ve özgün 103 potansiyel *Pseudomonas* izolatı elde etmiştir. PGPR özelliklerine sahip izolatlardan 17 tanesinin siderofor, 9 tanesinin HCN ürettiği kalitatif yöntemlerle belirlenmiştir. *Pseudomonas* strainleri arasından en iyi PGPR özelliklerine sahip *P. chlororaphis* P-106 straini seçilerek yüksek miktarda biyokütle üretimi için laboratuvar ölçeğinde üretim optimizasyonu yapılmıştır. Denemeler sonucunda yüksek biyokütle üretiminin sağlandığı ekonomik bir üretim ortamı içeriği belirlenmiştir.

Çakır vd. (2021), Jeromine elma çeşidinde, bitki büyümesini teşvik eden PGPR, *Chara* sp. ve vermikompost gübre uygulamalarının ve bunların kombinasyonlarının kalite ve biyokimyasal özellikler üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla, ağaçlara %3 PGPR, %15 alg ekstraktı ve 10 kg ağaç-1 vermikompost oranlarında bitki büyümesini sağlayan maddeler verilmiştir. Bu uygulamaların kontrol ile karşılaştırıldığında, kalite parametrelerini iyileştirdiği ve meyvelerdeki biyokimyasal bileşikler üzerinde olumlu etki yaptığı görülmüştür.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Toprak Örneklerinin Alınması ve Kimyasal Analizi

Bakteri izolasyonu için kullanılacak olan topraklar, Çanakkale ve Samsun ilinde 4 farklı noktadaki (Tablo 2) mera alanlarından ve tarım alanlarından Temmuz 2023'te rastgele örnekleme (1 kg) ile 0-20 cm derinlikten alınmıştır. Örnekler, laboratuvara getirilip analizler yapılana kadar +4 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir. Toprakların fizikokimyasal, makro-mikro element analizleri "Keşan Ticaret Borsası Toprak Analiz Laboratuvarında" Perkin Elmer Optima 5300 DV ICP cihazında hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

Tablo 2

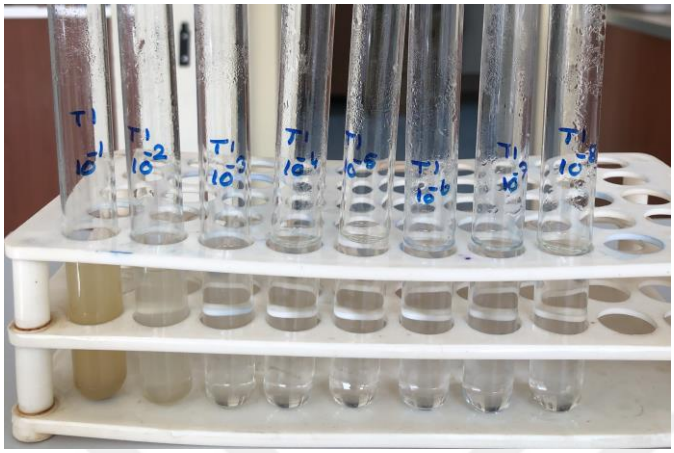
Bakteri İzolasyonu için Kullanılan Tarım Toprakları

Örnek No	Örnek alınan bölge	Rakım	Koordinat
I	İlkadım/Samsun	80 m	41.13.01.8 N 36.08.39.8 E
II	Araplar boğazı yakınlarında Ezine Çanakkale	111 m	39.873.354 N 26.232 915 E
III	Sarımsaklı Köprü, Kendirlik mevki, Ezine Çanakkale	55 m	39.840.276 N 26.320 107 E
IV	Salihler Köyü (Merkez) Çanakkale	508 m	39.95.69640 N 26.4961170 E

3.2. Bakteri İzolasyonu ve Biyokimyasal Karakterizasyonu

10 g tartılan toprak örnekleri 90 mL steril fizyolojik su (% 0.9 NaCl) ile seyreltilmiş ve 10^{-8}'e kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Şekil 4). Ardından farklı bakteri gruplarının izolasyonu amacıyla Triptic Soya Agar (TSA) ve selektif besiyerleri olan Eosin Metilen Blue Agar (EMB), Cetrimide Agar (CA), Pseudomonas Aeromonas Selektif Agar (PSA) besiyerlerine çift tekrarlı ekilmiştir. Endosporlu bakteri izolasyonu için seyreltme tüpleri 80 ºC'de 10 dakika bekletilip Nutrient Agar (NA) besiyerine transfer edilmiştir. Tüm petriler 28±2 ºC'de 72 saat inkübe edildikten sonra TSA besiyerine saflaştırmaları

yapılmıştır (Tamer, vd., 1989). Tüm izolatlar – 20 ºC'de gliserollü ortamda analizler yapılana kadar saklanmıştır.



Şekil 4. I no'lu toprak örneğinin seri dilüsyon görüntüsü

Tüm izolatların karakterizasyonu için Gram boyama, oksidaz, katalaz ve üreaz testleri yapılmıştır.

% 1'lik tetrametil-p-fenilendiamin kullanarak oksidaz testi yapılmıştır. Bu test için, NA ortamında büyütülen kolonilerin üzerine bu madde damlatılmış ve mavi renk oluşumu oksidaz pozitif kabul edilmiştir.

Katalaz testi için NA ortamındaki koloniler, öze yardımı ile lam üzerine konulmuş ve %30'luk H_2O_2 uygulanmış ve gaz kabarcıkları katalaz pozitif kabul edilmiştir.

İzolatların üreaz aktivitesini test etmek için, üre içeren agar ortamına izolatların nokta şeklinde inokülasyonu yapılmış ve 48 saatlik inkübasyondan sonra kırmızı/pembe renk oluşumu üreaz pozitif kabul edilmiştir (Holt vd., 1994).

3.3. PGPR Potansiyellerinin Belirlenmesi

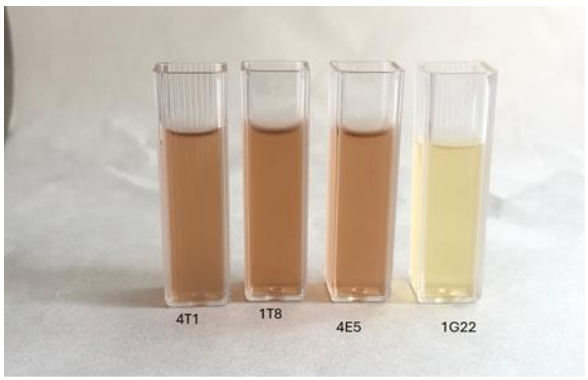
3.3.1. İzolatların Fosfor Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi

Fosfor çözme yetenekleri, Mehta ve Nautiyal (2001)'a göre nitel olarak ölçülmüştür. İzolatlar, NBRIP sıvı ortamında 3 gün süreyle inkübe edilmiş ve izolatların 10 µL'si, $Ca_3(PO_4)_2$ ve brom fenol mavisi ile hazırlanmış NBRIP katı ortama nokta ekim tekniğiyle aktarılmıştır. 30±1 °C'de 3 gün boyunca inkübasyon bitiminde izolatların çevresinde oluşan saydam alanlar fosfor çözme aktivitesinin göstergesi olarak değerlendirimiştir.

Fosfor Çözme Oranı= Saydam alanın çapı/ Bakteri kolonisinin çapı (Perez vd., 2007).

3.3.2. İzolatların indol asetik asit (İAA) üretme kapasitelerinin belirlenmesi

Triptofan ilaveli (% 0.1) Nutrient Broth (NB) besiyerinde çalkalamalı inkübatörde 1 hafta geliştirilen izolatlar 10000 rmp'de 10 dk santrifüjün ardından süpernatantı (2 mL) 2 damla ortofosforik asit ve 4 mL Salkowski reaktifi ile karıştırılıp renk değişimi için karanlık ortamda bekletilmiştir (30 dk) (Şekil 5). Aynı işlemler İAA standartları (10- 50 ppm) içinde yapılmıştır. Spektorofometrede (530 nm) yapılan ölçümlerle standart grafik oluşturularak İAA hesaplanmıştır (Ahmad vd., 2013).



Şekil 5. İzolatların kültür sıvılarına Salkowski ayracı eklendikten sonraki pembe renk oluşumu

3.3.3. Azot Fiksasyonu Yapan Bakterilerin Belirlenmesi

İzolatların azot bağlama potansiyelleri için azotsuz Jensen besiyeri (Bashan vd., 1993) kullanılmıştır. Bu amaçla nokta ekim yapılan besiyerinde izolatların ekimi yapılmış üreme gösteren izolatlar azot bağlama bakımından pozitif kabul edilmiştir (Ahmad vd., 2013).

3.3.4. ACC Deaminaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Bu amaçla, ACC içeren DF (Dworkin and Foster salt medium) (eritilmiş ACC steril filtre yoluyla DF Salt besiyerine ilave edilir) katı besiyerinde izolatlar inokule edilmiştir. Bu işlem için, stok kültürden alınan izolatlar TSA'da canlandırılmış ve DF besiyerine nokta ekimleri yapılmıştır. Besiyerinde üreyen izolatlar ACC deaminaz pozitif olarak kabul edilmiştir (Li vd., 2005).

3.3.5. İzolatların Potasyum Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi

Potasyum çözme aktiviteleri için izolatlar nokta halinde Aleksandrov ortamına ekilmiş ve 28±2 °C'de 3 gün süreyle inkübe edilmiştir. İzolatların çevresinde oluşan saydam alanlar, potasyum çözme yeteneğinin göstergesi olup; Khanderparkar's oranıyla hesaplamalar yapılmıştır (Parmar ve Sindhu, 2013).

Khanderparker oranı = Şefaf zon çapı / koloni çapı

3.3.6. Siderofor Üretiminin Belirlenmesi

Siderofor üretim kapasitesi için izolatlar nokta ekim yöntemiyle Modifiye Chrome Azurol S agar ortamına inoküle edilmiş ve 28±2 °C'de 4 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde izolatların çevresinde oluşan sarı-turuncu renk değişimi, siderofor üretiminin göstergesi olarak alınmış ve oluşan zonun çapı (mm) ölçülmüştür (Louden vd., 2011).

3.3.7. Biyofilm Oluşum Testi

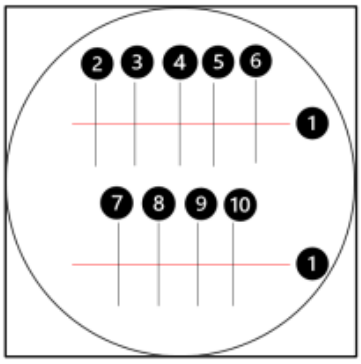
NB'da geliştirilen izolatların sıvı kısmı atılıp tüpler metilen mavisi ile muamele edilmiştir. Tüpteki sıvı atıldıktan sonra kurutma kağıdında ters bekletilen tüplerde, boyalı film tabakası ya da halka görünümü slime (+) kabul edilmiştir (Ünal, 2011).

3.4. PGPR Seçimi ve Cross Streak Testleri

Yukarıda bahsi geçen testler sonucunda en fazla test bakımından pozitif sonuç veren izolatlar bir sonraki aşama olan cross-streak testi, moleküler identifikasyon ve saksı denemesi için seçilmiştir.

3.4.1. Cross Streak Plate Testi

Bu yöntem, PGPR potansiyeli olan izolatların birlikte yaşama uyumunu test etmek için kullanılmıştır. Her bir izolat, 24 saatlik taze katı kültüründen alınarak, NA üzerine Şekil 6'da görüldüğü gibi üst üste çizgiler halinde ekilmiştir. Ekilen izolatlar, 1 gün boyunca 30 °C'ta 24 saat inkübe edilmiş ve üst üste çizilen izolatların birbirleri ile uyumlu olup olmadıkları belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Cross-Streak Plate Bakterilerin Çizim Planı

3.5. Moleküler İdentifikasyon

Toprak numunelerinden elde izolatlardan en iyi PGPR özelliklerine sahip olan 25 adet izolat moleküler tanımlama amacıyla seçilmiştir.

Genomik DNA İzolasyonu: GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721, Thermo Scientific) kiti bu amaçla kullanılmıştır. Canlandırılan izolatlar (TSA'da 18 saat ink.) kitte verilen basamaklara göre genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. genomik DNA'nın miktarı ve kalitesi jel elektroforezi (260 nm dalga boyundaki absorbsiyon değerleri UV-spektrofotometresi ile alınmıştır) ile ölçülmüştür. DNA konsantrasyonu, hesaplama formülü: DNA Konsantrasyonu= OD260 x 50 x Seyreltme oranı. DNA molekülünün saflığı ise, 260 nm dalga boyundaki absorbsiyon değerinin 280 nm dalga boyundaki absorbsiyon değerine oranı ile belirlenmiştir.

Primerlerin Saptanması: Biyoinformaktik araçlar (NCBI Primer Blast ve Primer3) kullanarak, Klindworth vd. (2013) tarafından önerilen primerlerin kontrolü yapılarak 16s rDNA geni için en uygun primer çifti seçilmiştir. Seçilen primerlerin sentezi yaptırıldıktan sonra, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği ile 16s rDNA geninin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3

Filogenetik analizde kullanılan 16s rDNA geni için primer dizileri (Klindworth, vd., 2003)

Gen	Primerler	Sekans
16S rDNA	0341f	CCTACGGGGGCGCAG
	0785r	GACTACGGGTATCTAATCC

Sekans işlemi Medsantek Laboratuvar Malzemeleri Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti., firmasından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bu firma tarafından sağlanan veriler, NCBI (the National Center for Biotechnology Information) GenBank veritabanına girilerek filogenetik ağacın hazırlanmıştır. Filogenetik tanımlama için 16S rDNA gen dizi analizleri kullanılmıştır (Yanez vd., 2003).

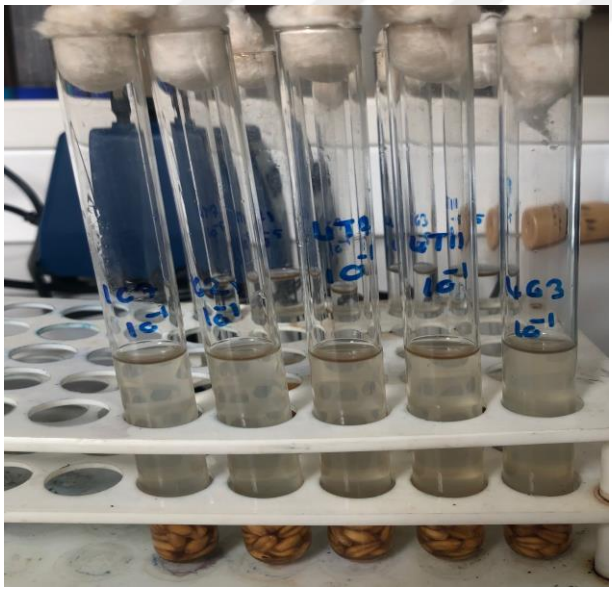
3.6. Çimlenme Denemesi

3.6.1. Çalışmada kullanılacak tohumların dezenfeksiyonu

Triticum aestivum cv. Tekirdağ buğday çeşidine ait tohumlar %70 etil alkol içinde 5 dakika bekletildikten sonra sdH_2O ile yıkanmıştır. Daha sonra %5'lik NaCl çözeltisinde 3 dakika boyunca tutulmuş ve bu süre sonunda tohumlar sdH_2O ile yıkanmıştır. Dezenfeksiyon işlemi tamamlandıktan sonra tohumlar kuruması için kurutma kağıdına bırakılmıştır.

3.6.2. Buğday tohumlarının bakteri ile kaplanması

Dezenfekte edilmiş buğday tohumları, 10^1 kob/mL konsantrasyona sahip bakteri süspansiyonlarına eklenmiş ve çalkalayıcıda 2 saat boyunca 140 rpm hızında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda tohumlar süzülerek, bakterinin yapışmasını sağlamak amacıyla sukroz ile muamele edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Tohumların bakteri ile bulanması

3.6.3. In vitro ortamda bakteri uygulamalarının tohum çimlenmesine etkisi

Bakterilerin buğday tohumlarının çimlenmesine etkisi, 25 ± 0.5 ºC'de %1.5'lik agar içeren petri ortamında üç tekrarlı olarak yürütülmüş olup, her bir petri için yüzey dezenfeksiyonu yapılmış 10 tohum eklenmiştir. Çimlenen tohumlar her gün aynı saatte sayılarak değerlendirilmiştir. Kökçük uzunluğu 10 mm'ye ulaştığında "tohum çimlendi" kabul edilmiştir. Çimlenme tamamlandıktan sonra çimlenme oranı, çimlenme hızı ve ortalama çimlenme zamanı aşağıda belirtilen formüller kullanılarak hesaplanmıştır (Yıldırım ve Güvenç, 2006) (Şekil 8).

Çimlenme oranı (%) = çimlenen tohum sayısı X 20 / 100 (3.1)

Çimlenme hızı = n1/t1+n2/t2+……..nn/tn (3.2)

n1,n2……..nn: çimlenen tohum sayısı; t1,t2……..tn: çimlenmenin gerçekleştiği gün sayısı

Ortalama Çimlenme Zamanı (OÇZ);

OÇZ (gün) = Σ (fx) / Σ f (3.3)

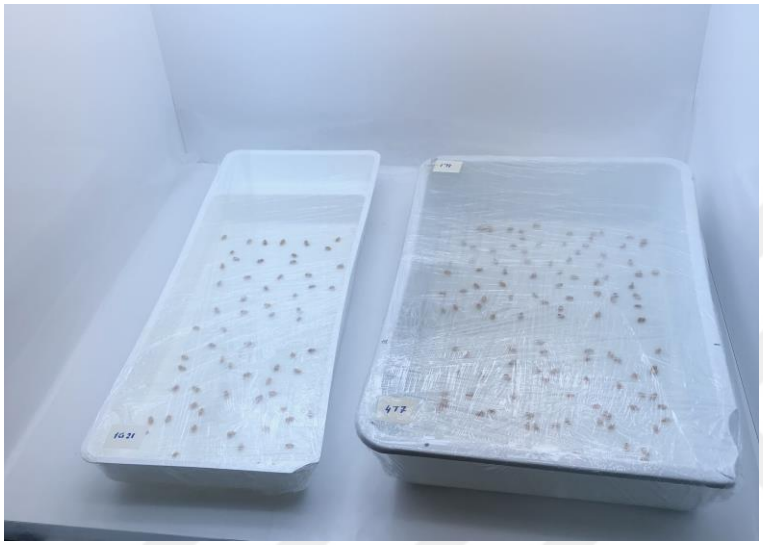
f; sayım gününde çimlenen tohum sayısı; x; sayım yapılan gün sayısı



Şekil 8. Filizlenmiş tohum örneği

3.7. Saksı Denemesi

Tohum vernalizasyonu adı verilen bir ön işlem için, *T. aestivum* cv. Tekirdağ buğday tohumları 5 gün boyunca +4 ºC'de ve karanlıkta nemli filtre kağıtları içinde tutulmuştur. Daha sonra, bitki büyüme kabininde 3 tekrarlı olacak şekilde saksılara alınmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Bakteri ile kaplanmış tohumların saksı denemesi için hazırlanması

3.7.1. Gövde-Kök Uzunluğu

Fidelerin kök bölgesine kadar olan yeşil kısım gövde uzunluğu olarak cetvel ile Ölçülmüş olup kök bölgeside cetvel ile ölçülerek kök uzunluğu olarak belirlenmiştir (cm).

3.7.2. Biyokütle

Fidelerin yaş ve kuru ağırlığı hassas terazi kullanılarak g olarak belirlenerek toplam ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.7.3. Yaş ağırlık

Fidelerin yaş ağırlıkları her tekrardan üçer bitki örneği alınarak terazide tartılmıştır.

3.7.4. Toplam klorofil

Yaprak klorofil SPAD değeri taşınabilir klorofil metre cihazı (SPAD-502, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan) ile belirlenmiştir.

3.7.5. Kuru ağırlık

Bitkilerin kuru ağırlıkları her tekrardan alınan bitkiler 70˚C de 48 saat etüvde kurutulmuştur. Bitki başına kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır.

3.7.6. İstatiksel Analiz

Bu araştırma, tesadüfi parsellere bölünmüş deneme desenine göre üç tekrarla yapılmıştır. Tezin kapsamında tüm fizyolojik ve biyokimyasal analiz verileri, SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 27 istatistik paket programında tek yönlü varyans analizi (ONE-WAY ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen değerler arasındaki farkların istatistiksel anlamlılığı Tukey testi ile $P \leq 0.05$ düzeyinde hesaplanmış ve grafiklere eklenmiştir. Analiz sonuçları, ortalama ± standart hata olarak grafikler üzerinde sunulmuştur. Ayrıca, veriler arasındaki ilişkinin yönü ve derecesi korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI

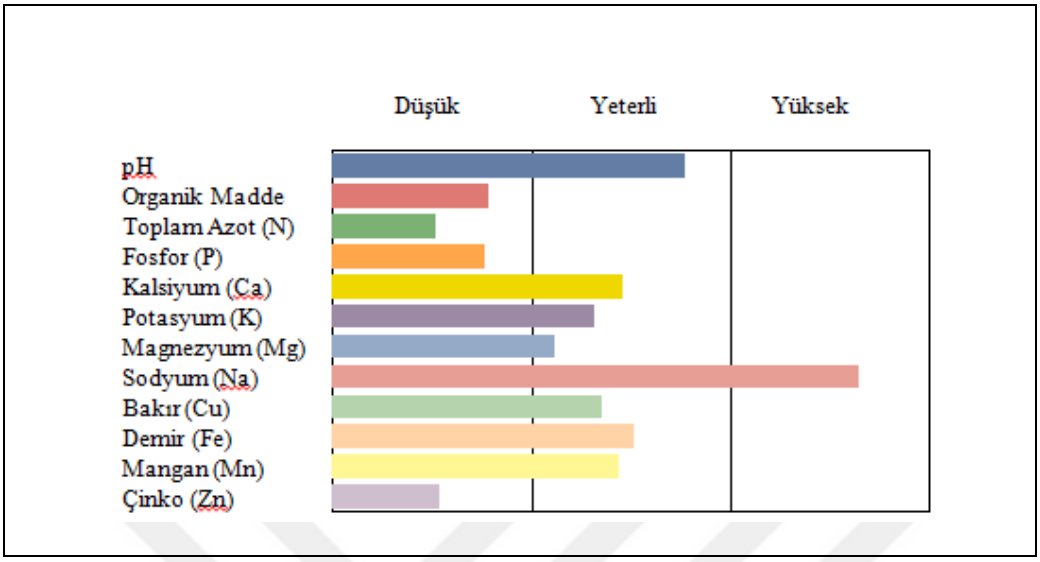
4.1. Toprak Analizi Bulguları

Araştırmada Samsun (1 adet) ve Çanakkale illerinden (3 adet) farklı alandan alınan toplam 4 adet rizosfer toprağı kullanılmıştır. Toprak örneklerinin makro ve mikro elementleri ile kimyasal özellikleri Tablo 4 ve Şekil 10-13'de verilmiştir.

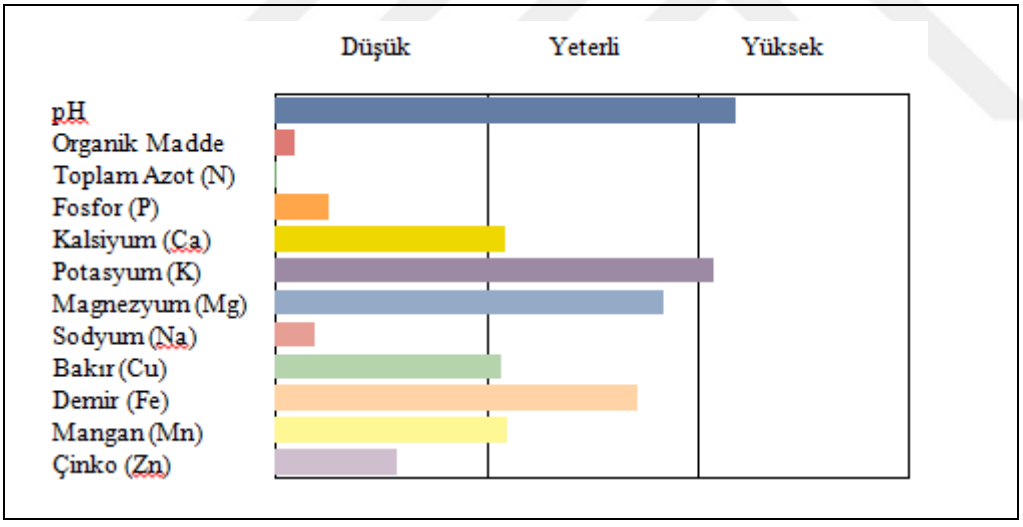
Tablo 4

Toprak numunelerinin kimyasal, makro-mikro element durumları

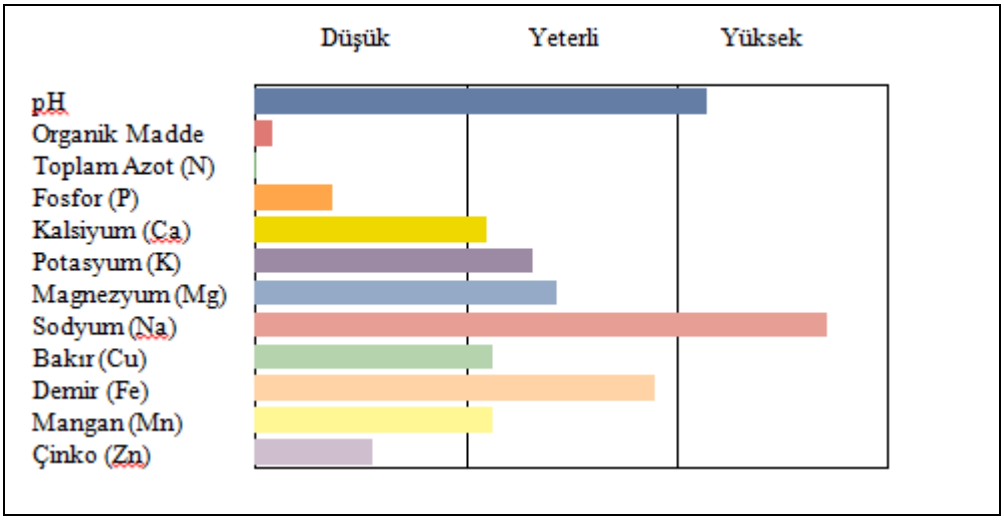
Parametre	**İstasyon**			
	No I	**No II**	**No III**	**No IV**
pH	7.05 (Nötr)	8.04 (Orta Alkalin)	7.91 (Orta Alkalin)	6.94 (Nötr)
Tuz (Toplam tuz %)	0.38 (Orta Derecede Tuzluluk Etkisi)	**0.94 (Kuvvetli Tuzluluk Etkisi)**	0.33 (Hafif Tuzluluk Etkisi)	0.10 (Tuzluluk Tehlikesi Yok)
Organik Madde %	**1.96 (Humusça Fakir)**	**0.23 (Humusça Çok Fakir)**	**0.22 (Humusça Çok Fakir)**	**1.40 (Humusça Fakir)**
İşba	55.00 (Killi Tınlı)	52.00 (Killi Tınlı)	39.00 (Tınlı)	62.00 (Killi Tınlı)
Kireç (Total %)	8.17 (Kireçli)	7.35 (Orta Kireçli)	8.17 (Kireçli)	0.41 (Kireçsiz)
Makro Besin Elementleri				
Toplam Azot (N) %	**0.10 (Noksan)**	**0.01 (Çok Düşük)**	**0.01 (Çok Düşük)**	**0.07 (Noksan)**
Alınabilir Fosfor (P) ppm	**15.22 (Orta/Kritik)**	**5.01 (Noksan)**	**7.37 (Noksan)**	**19.05 (Orta/Kritik)**
Alınabilir Kalsiyum (Ca) ppm	6.859,95 (Yeterli)	3.321,21 (Yeterli)	3.434,08 (Yeterli)	2.994,11 (Yeterli)
Alınabilir Potasyum (K) ppm	244.18 (Yeterli)	503.15 (Yüksek)	244.07 (Yeterli)	113.33 (Orta)
Alınabilir Magnezyum (Mg) ppm	203.99 (Yeterli)	768.10 (Yeterli)	449.40 (Yeterli)	155.50 (Yeterli)
Alınabilir Sodyum (Na) ppm	1.239,80 (Çok Yüksek)	6.135,88 (Çok Yüksek)	1.334,62 (Çok Yüksek)	188.84 (Yeterli)
Mikro Besin Elementleri				
Alınabilir Bakır (Cu) ppm	1.68 (Yeterli)	0.63 (Yeterli)	0.84 (Yeterli)	1.94 (Yeterli)
Alınabilir Demir (Fe) ppm	28.15 (Yeterli)	36.96 (Yeterli)	45.30 (Yeterli)	16.09 (Yeterli)
Alınabilir Mangan (Mn) ppm	28.31 (Yeterli)	9.24 (Yeterli)	11.02 (Yeterli)	33.70 (Yeterli)
Alınabilir Çinko (Zn) ppm	**0.54 (Noksan)**	**0.57 (Noksan)**	**0.55 (Noksan)**	1.05 (Yeterli)



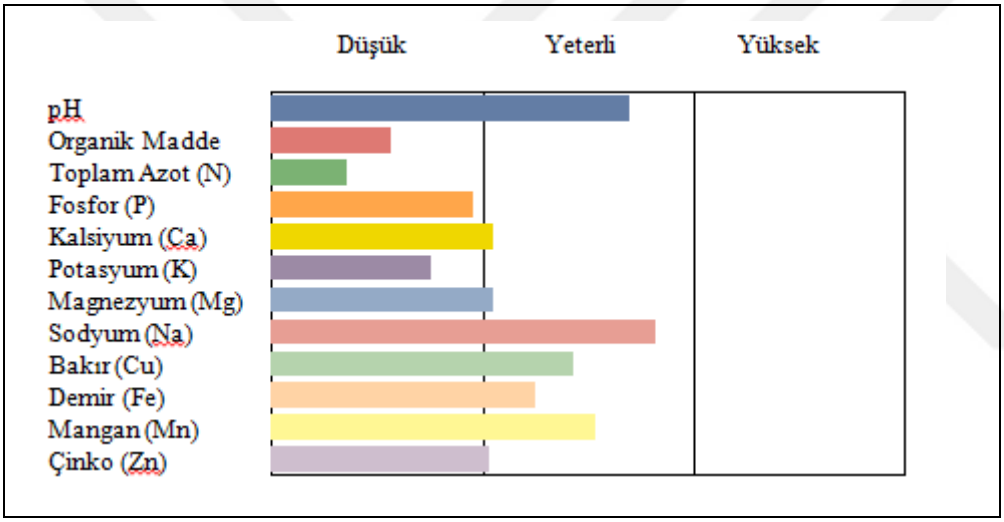
Şekil 10. I no'lu istasyon toprak analizi bulguları



Şekil 11. 2 no'lu istasyon toprak analizi bulguları



Şekil 12. III no'lu istasyon toprak analizi bulguları



Şekil 13. IV no'lu istasyon toprak analizi bulguları

Toprak örneklerinin pH değerleri bakımından, I. ve IV. istasyonların nötr, II. ve III. istasyonların orta alkalin aralıkta olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar, toprak örneklerinin asitlik veya alkalinlik düzeyindeki değişkenlikleri yansıtmaktadır.

Tuzluluk seviyeleri bakımından ise, II. istasyonun kuvvetli tuzluluk; I., III. ve IV. istasyonların daha düşük tuzluluk düzeylerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durum, toprak örneklerinin tuz içeriği açısından farklılık gösterdiğini ve bu farklılığın bitki yetiştiriciliği üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Organik madde içeriği, I. istasyonda diğer istasyonlara göre önemli ölçüde daha yüksekken, II. ve III. istasyonlarda organik madde içeriğinin çok fakir olduğu dikkat çekmektedir. Bu farklılıklar, toprakların organik madde bakımından farklı seviyelerde besin değerlerine sahip olduğunu ve bitki beslenmesi açısından önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Toprak örnekleri işbası bakımından değerlendirildiğinde, III. istasyonun en düşük işba değerine sahip olduğu, I. ve II. İstasyonların ise daha yüksek işbaşı değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu, toprağın fiziksel özelliklerinin, özellikle kil içeriğinin farklı istasyonlarda değişiklik gösterdiğini ve bitki yetiştiriciliği için önemli bir parametre olduğunu göstermektedir.

Makro besin elementleri incelendiğinde, II. istasyonun diğer istasyonlara göre daha yüksek alınabilir P ve K seviyelerine sahip olduğu, III. istasyonun alınabilir Ca ve Mg açısından daha düşük seviyelere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar, bitki besin maddelerinin toprak örneklerindeki dağılımının bitki yetiştiriciliği üzerindeki etkilerini vurgulamaktadır.

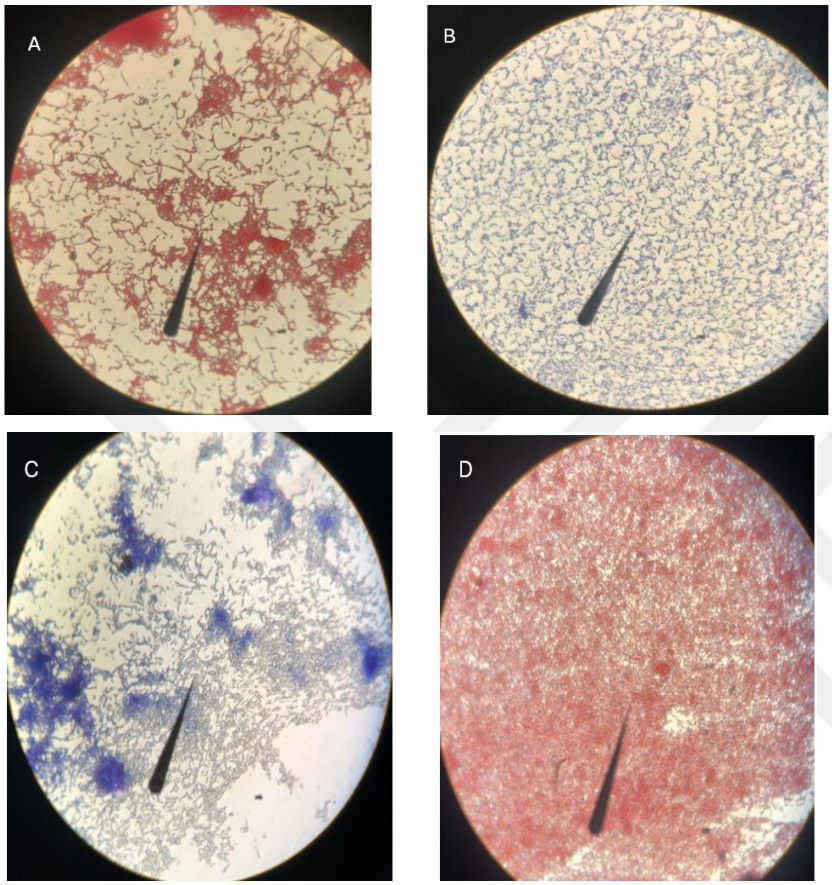
Mikro besin elementleri değerlendirildiğinde, IV. istasyonun diğer istasyonlara göre daha yüksek alınabilir Cu, Fe ve Mn seviyelerine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum, toprak örneklerinin mikro besin elementleri bakımından farklılık gösterdiğini ve bitki sağlığı üzerinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Şekil 10-13).

4.2. İzolatların Biyokimyasal Karakterizasyon Bulguları

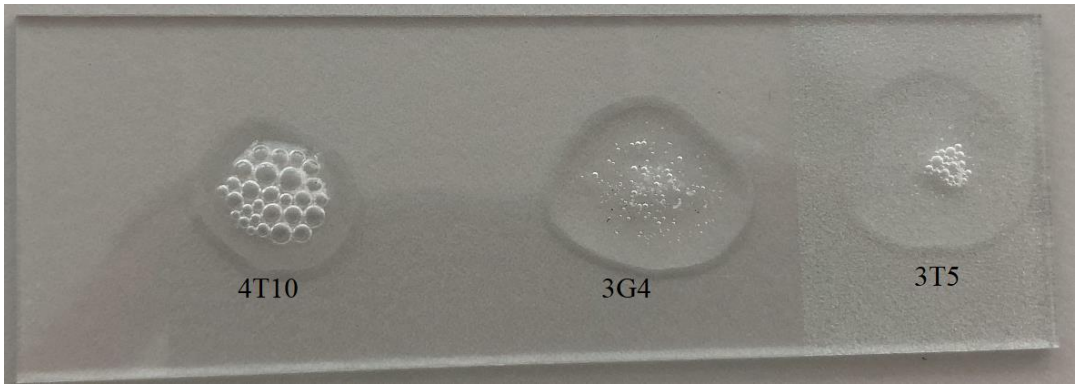
Dört farklı toprak örneğinden elde edilen izolatların biyokimyasal karakterizasyon bulguları Tablo 5-8'de verilmiştir. Buna göre I-IV no'lu toprak örneklerinden sırasıyla I. istasyon= 47 adet, II. istasyon = 47 adet, III. istasyon = 28 adet ve IV. istasyon = 42 adet olmak üzere toplam 164 adet izolat elde edilmiştir.

I no'lu istasyon izolatlarının 24 adeti gr (+) basil morfolojisinde olup, 22 izolat oksidaz pozitif, 1 izolat katalaz (-), 41 izolat ise üreaz (+); II no'lu istasyon izolatlarının ise 13 adeti gr (+) basil morfolojisinde, 3 izolat oksidaz pozitif, tamamı ise katalaz ve üreaz

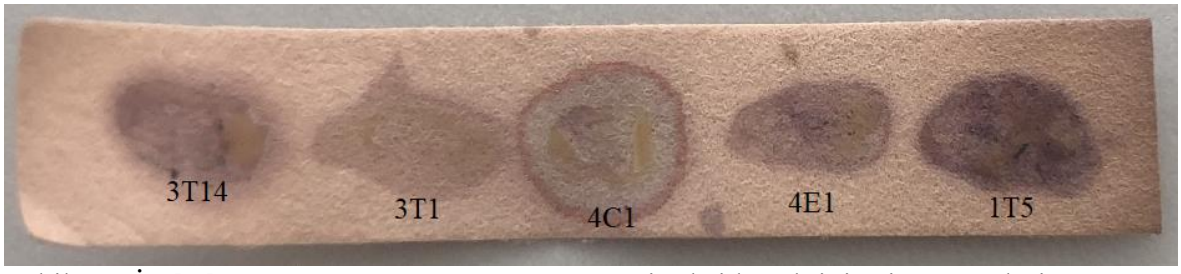
(+) olarak saptanmıştır. III ve IV no'lu istasyon izolatlarının tamamı gr (-) basil morfolojisinde olup, 3 no'lu istasyonda 6 adet oksidaz (+), 1 adet katalaz (-), tamamı üreaz (+); 4 no'lu istasyonda ise 17 adet oksidaz (-), 2 adet katalaz (-) ve tamamı üreaz (+) olarak belirlenmiştir (Şekil 14-17).



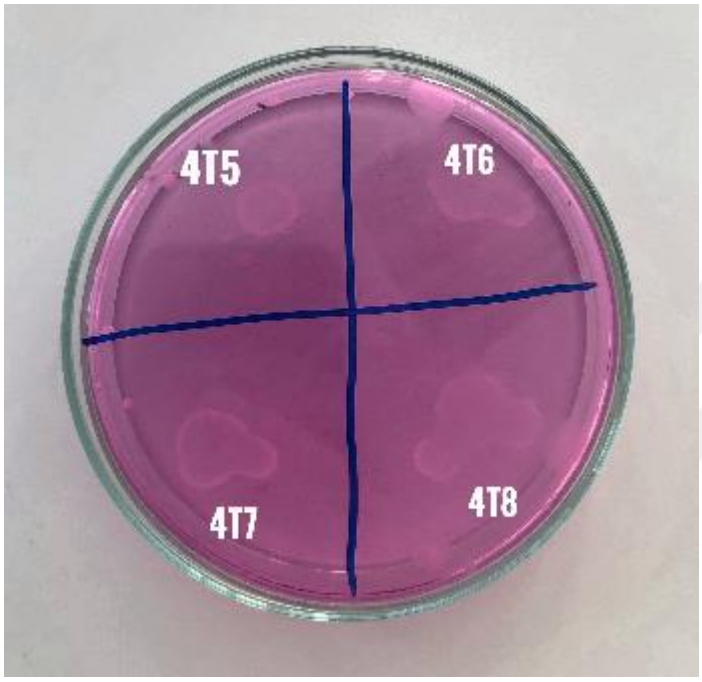
Şekil 14. İzolatlara (A:3T7, B:1T10, C:1T15, D:4G10) ait mikroskop görüntüleri



Şekil 15. İzolatlara (410, 3G4, 3T5) ait oksidaz aktivitesi görüntüleri



Şekil 16. İzolatlara (3T14, 3T1, 4C1, 4E1, 1T5) ait oksidaz aktivitesi görüntüleri



Şekil 17. İzolatlara (4T5, 4T6, 4T7, 4T8) ait üreaz aktivitesi görüntüleri

Tablo 5

I no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu

İzolat No	Gram Reak. /Morfoloji	Oksidaz	Katalaz	Üreaz
1E1	(-) basil	-	+	+
1B1	(+) basil	-	+	+
1B2	(+) basil	-	+	+
1B3	(+) basil	-	+	+
1B4	(+) basil	-	+	+
1B5	(+) basil	-	+	+
1B6	(+) basil	-	+	+
1G1	(-) basil	+	+	+
1G2	(-) basil	+	-	-
1G3	(-) basil	+	+	-
1G4	(-) basil	-	+	+
1G5	(-) basil	+	+	+
1G6	(-) basil	+	+	+
1G7	(-) basil	+	+	+
1G8	(-) basil	+	+	+
1G9	(-) basil	-	+	+
1G10	(-) basil	-	+	+
1G11	(-) basil	-	+	+
1G12	(-) basil	-	+	+
1G13	(-) basil	+	+	-
1G14	(-) basil	+	+	-
1G15	(-) basil	+	+	+
1G16	(-) basil	+	+	+
1G17	(-) basil	+	+	+
1G18	(-) basil	+	+	-
1G19	(-) basil	-	+	-
1G20	(-) basil	+	+	+
1G21	(-) basil	+	+	+
1G22	(-) basil	+	+	+
1T1	(+) basil	+	+	+
1T2	(+) basil	-	+	+
1T3	(+) basil	-	+	+
1T4	(+) basil	+	+	+
1T5	(+) basil	+	+	+
1T6	(+) basil	-	+	+
1T7	(+) basil	-	+	+
1T8	(+) basil	-	+	+
1T9	(+) basil	-	+	+
1T10	(+) basil	+	+	+
1T11	(+) basil	-	+	+
1T12	(+) basil	-	+	+
1T13	(+) basil	+	+	+
1T14	(+) basil	-	-	+
1T15	(+) basil	-	+	+
1T16	(+) basil	+	+	+
1T17	(+) basil	-	+	+
1T18	(+) basil	-	+	+

E: Eosin Metilen Blue Agar; B: Bacillus izolasyon ortamı; C: Cetremid Agar; T: Triptic Soy Agar; G: Pseudomonas Aeromonas Selektif Agar

Tablo 6

II no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu

İzolat No	Gram Reak./Morfoloji	Oksidaz	Katalaz	Üreaz
2T1	(+) basil	-	+	+
2T2	(+) basil	-	+	+
2T3	(+) basil	-	+	+
2T4	(+) basil	-	+	+
2T5	(+) basil	-	+	+
2T6	(+) basil	-	+	+
2T7	(+) basil	-	+	+
2T8	(+) basil	-	+	+
2T9	(+) basil	-	+	+
2T10	(+) basil	-	+	+
2T11	(+) basil	-	+	+
2T12	(+) basil	-	+	+
2T13	(+) basil	-	+	+
2B1	(-) basil	-	+	+
2B2	(-) basil	-	+	+
2B3	(-) basil	-	+	+
2B4	(-) basil	-	+	+
2B5	(-) basil	-	+	+
2B6	(-) basil	-	+	+
2B7	(-) basil	-	+	+
2G1	(-) basil	-	+	+
2G2	(-) basil	-	+	+
2G3	(-) basil	-	+	+
2G4	(-) basil	-	+	+
2G5	(-) basil	-	+	+
2G6	(-) basil	-	+	+
2G7	(-) basil	-	+	+
2G8	(-) basil	-	+	+
2G9	(-) basil	-	+	+
2G10	(-) basil	-	+	+
2G11	(-) basil	-	+	+
2G12	(-) basil	-	+	+
2G13	(-) basil	-	+	+
2G14	(-) basil	-	+	+
2G15	(-) basil	-	+	+
2G16	(-) basil	-	+	+
2E1	(-) basil	-	+	+
2E2	(-) basil	-	+	+
2E3	(-) basil	-	+	+
2E4	(-) basil	-	+	+
2E5	(-) basil	-	+	+
2E6	(-) basil	-	+	+
2E7	(-) basil	-	+	+
2E8	(-) basil	-	+	+
2C1	(-) basil	+	+	+
2C2	(-) basil	+	+	+
2C3	(-) basil	+	+	+

Tablo 7

III no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu

İzolat No	Gram Reak. /Morfoloji	Oksidaz	Katalaz	Üreaz
3T1	(-) basil	-	+	+
3T2	(-) basil	-	+	+
3T3	(-) basil	-	+	+
3T4	(-) basil	-	+	+
3T5	(-) basil	-	+	+
3T6	(-) basil	-	+	+
3T7	(-) basil	-	+	+
3T8	(-) basil	-	+	+
3T9	(-) basil	-	+	+
3T10	(-) basil	-	+	+
3T11	(-) basil	-	+	+
3T12	(-) basil	-	+	+
3T13	(-) basil	+	+	+
3T14	(-) basil	+	+	+
3B1	(-) basil	-	+	+
3B2	(-) basil	+	+	+
3G1	(-) basil	-	+	+
3G2	(-) basil	-	+	+
3G3	(-) basil	-	+	+
3G4	(-) basil	-	+	+
3G5	(-) basil	-	+	+
3G6	(-) basil	+	-	+
3G7	(-) basil	-	+	+
3G8	(-) basil	-	+	+
3G9	(-) basil	-	+	+
3G10	(-) basil	+	+	+
3G11	(-) basil	+	+	+
3G12	(-) basil	-	+	+

Tablo 8

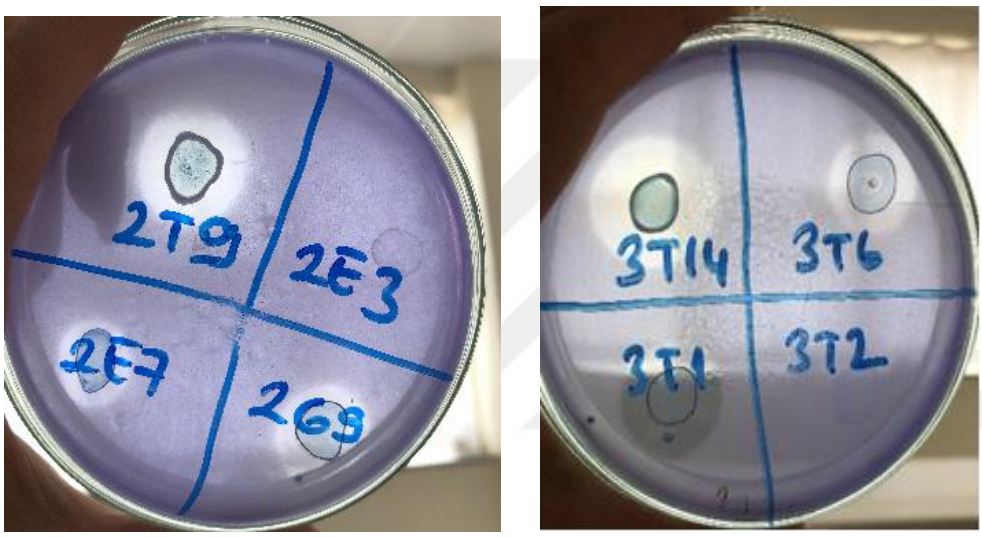
IV no'lu toprak numunesi İzolatlarının Biyokimyasal Karakterizasyonu

İzolat No	Gram Reak. /Morfoloji	Oksidaz	Katalaz	Üreaz
4G1	(-) basil	-	+	+
4G2	(-) basil	-	+	+
4G3	(-) basil	+	+	+
4G4	(-) basil	-	+	+
4G5	(-) basil	-	+	+
4G6	(-) basil	+	-	+
4G7	(-) basil	-	+	+
4G8	(-) basil	-	+	+
4G9	(-) basil	-	-	+
4G10	(-) basil	+	+	+
4G11	(-) basil	-	+	+
4G12	(-) basil	-	+	+
4G13	(-) basil	+	+	+
4G14	(-) basil	-	+	+
4G15	(-) basil	-	+	+
4G16	(-) basil	-	+	+
4C1	(-) basil	+	+	+
4T1	(-) basil	+	+	+
4T2	(-) basil	+	+	+
4T3	(-) basil	+	+	+
4T4	(-) basil	+	+	+
4T5	(-) basil	+	+	+
4T6	(-) basil	+	+	+
4T7	(-) basil	+	+	+
4T8	(-) basil	+	+	+
4T9	(-) basil	+	+	+
4T10	(-) basil	+	+	+
4T11	(-) basil	+	+	+
4T12	(-) basil	+	+	+
4B1	(-) basil	+	+	+
4B2	(-) basil	+	+	+
4B3	(-) basil	+	+	+
4B4	(-) basil	+	+	+
4B5	(-) basil	+	+	+
4B6	(-) basil	+	+	+
4B7	(-) basil	+	+	+
4B8	(-) basil	+	+	+
4E1	(-) basil	-	+	+
4E2	(-) basil	-	+	+
4E3	(-) basil	-	+	+
4E4	(-) basil	-	+	+
4E5	(-) basil	-	+	+

4.3. İzolatların PGPR Potansiyeli Bulguları

4.3.1. İzolatların Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi

164 izolatın 97 adetinde inorganik fosfat çözücülüğü pozitif iken; 67 tanesinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan 15 tanesinin yüksek seviye (3 ve üstü) , 47 adet izolatın orta seviye (2.4-3 arası) ve 35 adet zayıf seviye (2.4 altı) olduğu gözlenmiştir (Tablo 9-10) (Şekil 18). İzolatların elde edildiği topraklara bakıldığında ise fosfat çözme yeteneği gösteren en az izolatın 4. istasyonda olduğu tespit edilmiş olup bu toprak örneğinin diğerlerinden daha az tuzlu ve kireçsiz olduğu görülmüştür (Tablo 4).



Şekil 18. İzolatların fosfor çözme kapasitesi görüntüleri

Zeng vd. (2012), fosfat çözme yeteneği yüksek olan izolatların bitki kök gelişimini artırdığını ve bu izolatların bitki büyüme performansında önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir. Rengel ve Marschner (2005) ise fosfat çözme kapasitesine sahip bakterilerin tarımsal topraklarda fosfat biyoyararlanımını artırarak mahsul verimliliğini iyileştirdiğini raporlamıştır.

Ayrıca, Vessey (2003) ve Khan vd. (2009) tarafından yapılan çalışmalarda, fosfat çözme özelliğine sahip mikroorganizmaların tarımsal sistemlerde bitki besin maddesi alımına ve büyümesine olan pozitif etkilerini belirtmiştir. Bu araştırmalar, fosfat çözücü mikroorganizmaların bitki gelişimini destekleyen biyolojik gübreler olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

Toprakta bulunan mikrobiyal topluluklar incelendiğinde, fosfatı çözebilen bakteri türlerinin %1 ile %50 arasında bir fosfat çözme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın, fosfat çözebilen mantar türlerinin bu kapasiteye sadece %0.1 ile %0.5 oranında sahip olduğu saptanmıştır (Suyal vd., 2016). *Pseudomonas, Bacillus ve Rhizobium* cinslerini içeren bazı çalışmalar, bu mikroorganizmaların fosfat çözmede en etkili olduklarını ortaya koymaktadır (Özyılmaz ve Benlioğlu, 2012).

Özdoğan vd. (2022), izole ettikleri 12 farklı cinse ait 69 farklı bakteri straininin PGPR potansiyellerini araştırmıştır. Seçilen 7 bakteri straininin azot fiksasyonu ve fosfor çözme yetenekleri buğday bitkisi üzerinde saksı deneyleriyle değerlendirilmiştir. Kontrol, kimyasal gübre uygulaması ve 7 farklı bakteri straini ile yapılan uygulamaların etkisi gözlemlenmiştir. Aynı araştırmada, *Pseudomonas* türlerinin %29'unun fosfor çözünme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

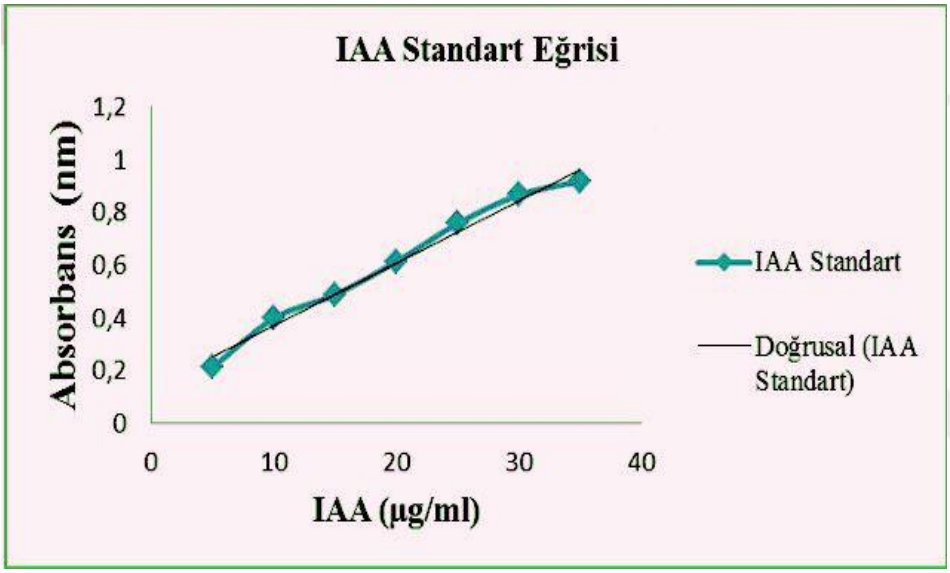
Çakmakçı vd. (2007), sera-saksı deneylerinde, farklı azot fiksasyonu, fitohormon üretimi ve fosfor çözme yeteneğine sahip olan bakteri türlerinin buğday ve ıspanak bitkileri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. PGPR ile yapılan aşılamanın, buğday sürgün taze ağırlığını %16.2 - 53.8 arasında, ıspanak sürgün taze ağırlığını ise %2.2 - 53.4 arasında artırdığı gözlemlenmiştir. Bu aşılamanın ayrıca, buğdayda yaprak alanını %6.0 - 47.0 arasında, ıspanakta ise %5.3 - 49.3 arasında artırdığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, bitki yüksekliğinin buğdayda %2.2 - %24.6, ıspanakta ise %1.9 - %36.8 arasında arttığı tespit edilmiştir.

Chakraborti vd. (2016) ise mandarin bitkisinin kök rizosferinden izole edilen *Pseudomonas poae* bakterisinin hem fosfor çözme yeteneğine hem de siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu gözlemlemişlerdir.

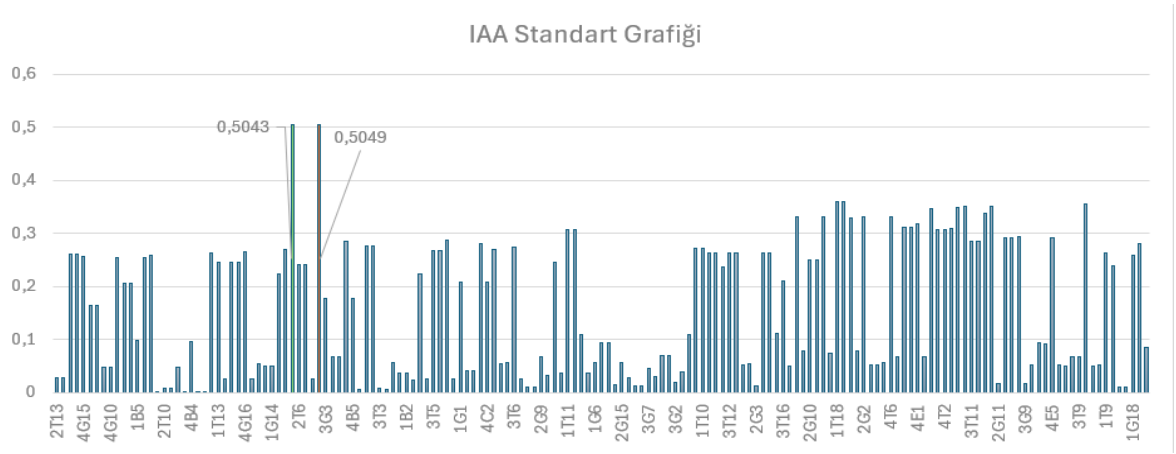
Küsek (2007), asmalarda urlara yol açan *Agrobacterium vitis*'e karşı PGPR'larla biyolojik mücadeleyi incelemiş ve Adana, Mersin, Hatay, Osmaniye, Gaziantep ve Kahramanmaraş illerindeki bağlardan izole edilen PGPR adayları arasından 63 tanesinin katı NBRIB besiyerinde fosfor çözme yeteneğine sahip olduğunu saptamıştır. Bu adaylar arasından, fosfor çözme kapasitesi en yüksek olan 10 izolatı saksı çalışmalarında test etmiştir.

4.3.2. İzolatların İAA üretme kapasitelerinin belirlenmesi

İzolatların sentezlediği İAA miktarı, 530 nm'de yapılan absorbans ölçümleri ile belirlenmiştir. Standart eğri grafiği denkleminde (Şekil 19) örneklerin ölçülen absorbans değerleri konularak İAA miktarları elde edilmiştir (Şekil 20). Bununla birlikte izolatlardan 4T16, 1G8'in en yüksek İAA ve 3G5 ve 3T8 kodlu izolatların ise en düşük miktarda İAA sentezlediği gözlemlenmiştir.



Şekil 19. İAA standart eğrisi



Şekil 20. İzolatların İAA standart grafiği

Bu sonuçlar, İAA sentezi kapasitesinin mikroorganizmalar arasında genetik farklılıklara ve adaptasyon yeteneklerine bağlı olduğunu düşündürmektedir. Araştırmalar, mikroorganizmaların çevresel koşullara uyum sağlamak için metabolik özelliklerini

değiştirebildiğini ve belirli ortamlarda belirli metabolik yolları aktive edebildiğini göstermektedir (Spaepen ve Vanderleyden, 2011). Bu bağlamda, farklı bakteri strainlerinin farklı İAA sentezi kapasitelerine sahip olması, çevresel stres faktörlerine uyum sağlama stratejilerinin bir sonucu olabilir.

Vessey (2003), tarımsal sistemlerde İAA üreten bakterilerin rolünü araştırmıştır. Bu araştırma, İAA üreticisi bakterilerin bitki köklerinin gelişimini desteklediğini ve bitkinin besin maddesi alımını iyileştirdiğini bulmuştur. Aynı şekilde, Khan vd. (2009), İAA üreten bakterilerin bitki büyümesine olumlu katkıda bulunduğunu ve bu bakterilerin biyolojik gübre olarak kullanılma potansiyeli taşıdığını göstermiştir.

İAA üretiminin yüksek düzeyde olmasının, fosfat çözme yeteneği ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Liaqat ve Eltem'in (2016) yaptıkları bir çalışmada, *Agrobacterium tumefaciens* sstraininde hem yüksek miktarda İAA üretimi hem de fosfat çözme yeteneğinin bulunduğunu belirlemişlerdir. Bu nedenle, yüksek İAA üretim kapasitesine sahip bakteri suşlarının, toprak verimliliğini artırma konusunda potansiyel bir yöntem olabileceği öne sürülmektedir.

Özdoğan vd. (2022), yaptığı benzer bir çalışmada, izole edilen tüm bakterilerin İAA ürettiğini bildirmişlerdir. Ateş vd. (2022), Eskişehir ilinde bitki kök rizosferlerinden on bakteri straini izole etmişler ve izolatlardan *Serratitia marcensens* ve *Pantoea brenneri*'nin 10.85±0.58 µg mL-1 seviyesinde indol asetik asit ürettiğini, pozitif ACC Deaminaz aktivitesinin ise sadece *S. marcensens*'de varolduğunu bildirmişlerdir.

Ahmad vd. (2008), *Azotobacter,* floresan *Pseudomonas, Mesorhizobium* ve *Bacillus* genusu üyesi 72 izolatı, Aligarh bölgesindeki farklı rizosfer topraklarından izole etmişlerdir. *Azotobacter,* floresan *Pseudomonas* ve *Mesorhizobium ciceri* izolatlarının %80'den fazlasının İAA ürettiğini, *Bacillus* izolatlarının ise yalnızca %20'sinin İAA üretebildiğini belirlemişlerdir.

Bharucha vd. (2013), yonca bitkisinin rizosfer toprağından izole ettikleri *P. putida* UB1 bakterisinin bu bakterinin *Brassica nigra* (hardal) bitkileri üzerinde in vitro uyarıcı etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgular, *P. putida* UB1'in bitki büyümesini teşvik

eden bir rizobakteri olduğunu ve ürettiği İAA'nın bitki büyümesini destekleyici bir rol oynadığını göstermektedir.

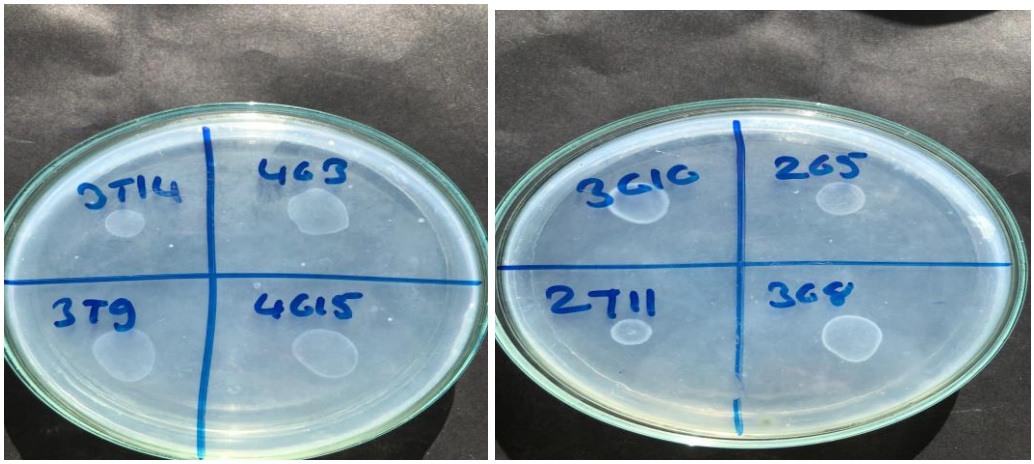
Barbaccia vd. (2022), antropojenik bir topraktan ve Sicilya bölgesindeki vertisollerin modifikasyonuyla elde edilen 63 farklı bakteri strainin İAA, amonyak (NH_3) ve siderofor üretimi gibi PGPR özelliklerini bildirmişlerdir.

Issifu vd. (2022), domates bitkilerinin rizosfer toprağından izole ettikleri BF2P4-5 bakteri strainin, , in vitro testlerde İAA sentezleyebilme, azotu fikse edebilme, fosfat ve potasyumu çözebilme yeteneğine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Chang vd. (2015), tarla ve sera koşullarında gerçekleştirdikleri bir çalışmada, IAA üreten *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* sp. ve *Pseudomonas corrugata* strainlerinin arpa tohumlarına yapılan inokülasyonun, arpada IAA ve ACC deaminaz birikiminin artmasına neden olduğunu belirlemişlerdir. Bu artışın kök ve gövde uzunluğu, biyokütle ve diğer fizyolojik parametrelerde hormon kaynaklı bir artışa yol açtığını bildirmişlerdir.

4.3.3. Azot Fiksasyonu Yapan Bakterilerin Belirlenmesi

Tüm izolatların azot kaynağı içermeyen besiyerlerinde gelişim gösterdiği dolayısıyla azot fikse ettiği tespit edilmiştir (Tablo 9-10, Şekil 21).



Şekil 21. İzolatların azot fiksasyonu görüntüleri

Selvakumar vd. (2008), *P. fluorescens* ve *P. putida* türlerinin azotu fikse ederek buğday bitkisinin üretim verimini %96 oranında arttırdığını bildirmişlerdir.

Biyolojik azot fiksasyonu yöntemi, kimyasal gübre kullanımına kıyasla daha ekonomik ve enerji verimliliği yüksek bir alternatif sunmaktadır (Çakmakçı, 2005; Lobo vd., 2019). Dünya genelinde ekonomik anlamda değerli olan mısır, buğday ve pirinç gibi temel gıda maddelerinin üretiminde biyolojik azot fiksasyonunun rolü önemlidir (Çakmakçı, 2005). Nitrojenaz enzimini kullanarak atmosferdeki kullanılamaz azotu bitkilerin yararlanabileceği forma dönüştüren diazotrof mikroorganizmalar bu süreci yönetir. Bu dönüşüm, bitkilerin azot alımını destekler ve N-fikse edici bakteriler, bitki büyümesi ve ürün verimi için inorganik azot gübrelerinin yerine geçebilecek alternatif bir seçenek olarak ön plana çıkar (Park vd., 2005; Lobo vd., 2019).

Biyogübre de bu alternatif kaynaklardan biridir. Bu çalışmada incelenen tüm izolatların "Burk's N-free" ortamında büyüyebildikleri ve dolayısıyla azot fikse ettikleri belirlenmiştir.

Fosfat çözücü ve aynı zamanda azot fikse eden bakterilerin ortak kullanımının, bu bakterilerin ayrı ayrı kullanılmasına göre bitkilerin azot ve fosfat alımını daha fazla arttırdığı ve dolayısıyla ürün verimini yükselttiği bulunmuştur (Belimov vd., 2007; Lobo vd., 2019).

Sezen (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, Erzurum ve Kırşehir'deki nohut bitkisinin kök çevresi topraklarından elde edilen 180 bakteri türünün azot fiksasyonu ve fosfat çözme yetenekleri incelenmiştir. *P. putida* suşunun hem azot fiksasyonu hem de fosfat çözme gibi iki önemli özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, söz konusu izolatların nohut yetiştiriciliğinde yüksek maliyetli azot ve fosfor gübrelerine bir alternatif olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Birçok farklı araştırmada, mineral gübrelerin yanı sıra P*seudomonas, Azotobacter cholococcum* ve *Azospirilum* gibi azot bağlayan bakterilerin eklenmesiyle, çeşitli yüksek ekonomik değere sahip tarım ürünlerinde belirgin bir verim artışı elde edildiği gösterilmiştir (Bargaz vd., 2018).

Turan vd. (2010), Erzurum ve İspir'de iki farklı lokasyonda azotu bağlayan ve fosfatı çözebilen PGPR'ların tek başına ve kombinasyon halinde buğdayda bazı verim parametreleri ve besin içeriğine etkilerini araştırmışlardır. İzolatların bölge koşullarındaki etkinliği, hiç uygulama yapılmayan kontrol grubu ile tam ve yarı dozda azot uygulaması karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, buğday üretiminde izolatların karışım halinde uygulanmasıyla suni gübreleme oranının %50 azaltılabileceğini belirtmişlerdir.

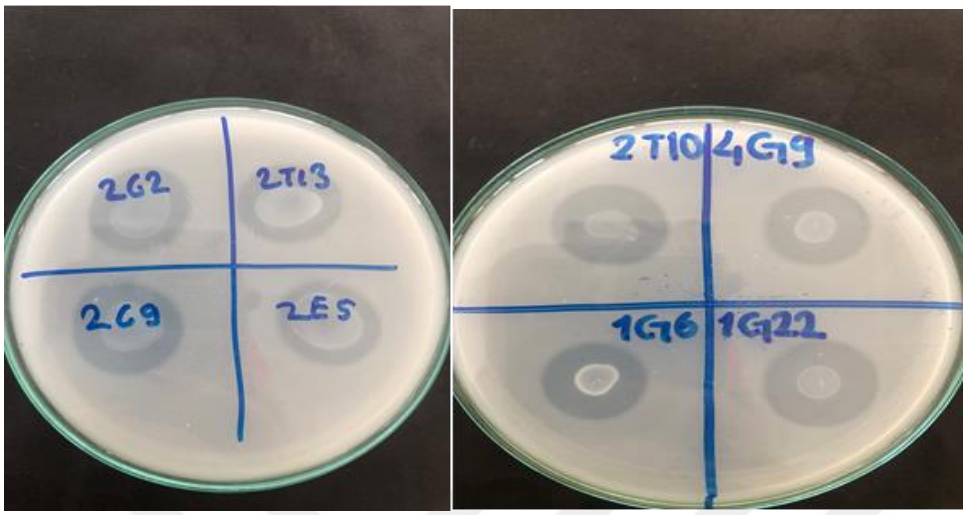
Re vd. (2021), Meknes'teki yarı kurak bir bölgede yetişen buğday bitkisinin rizosferinden izole ettikleri *P. agglomerans* 20-19 bakterisinin çeşitli azot fiksasyonu, fosfor çözünürlüğü, IAA üretimi potansiyeli olduğunu bildirmişlerdir.

Şahin vd. (2004), şeker pancarı ve arpa bitkileri üzerinde, azot fiske edici iki *Bacillus* straini ve fosfat çözme yeteneğine sahip bir *Bacillus* straini ile bunların kombinasyonlarını test etmişlerdir. Türe bağlı olarak, şeker pancarının kök gelişiminde ve arpanın veriminde belirgin artışlar gözlemlenmiştir. Azot bağlayan strainler tek başına uygulandığında %5.6-11; fosfat çözebilen strain tek başına uygulandığında %5.5-7.5; bu strainlerin ikili veya üçlü kombinasyonları uygulandığında ise %7.7-12.7 oranında artış elde edilmiştir.

Gechemba vd. (2015), Kenya'nın Juja bölgesindeki yedi farklı muz çiftliğinden muz rizosferi ile ilişkili 20 rizobakteriden 19 izolatın azot fiksasyon potansiyeline ve 18'inin ise fosfat çözünürlüğü faaliyetlerine sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

4.3.4. ACC Deaminaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Toplam 31 izolatta ACC enzim aktivitesi tespit edilmiştir (Tablo 9-10, Şekil 22).



Şekil 22. ACC deaminaz enzim aktivitesi görüntüsü

Daniel vd. (2013), *Bacillus* cinsine ait dört yeni izolatın pamuk bitkisinin boyu ile yaş ve kuru ağırlığını arttırdığını gözlemlemişlerdir. Kausar ve Shahzad'ın (2006) çalışmasında, tuz stresi altındaki mısır bitkilerine ACC deaminaz üreten bakterilerin uygulanması sonucunda, bitkilerde kök ve gövde uzunluğu ile taze ağırlıkta bir artış kaydedilmiştir. Ayrıca, ACC deaminaz aktivitesine sahip *P. brassicacearum* Am3 strainin kök gelişimini teşvik ettiği saksı deneyleriyle kanıtlanmıştır (Belimov vd., 2007).

Etilen, bitkilerde çeşitli yaşamsal işlevleri düzenleyen kritik bir sinyal molekülüdür; bu işlevler arasında tohumun filizlenmesi, köklerin dallanması, çiçek açma ve meyve verme süreçleri bulunur. Ancak, bitkiler stresli durumlarla karşılaştığında - tuzluluk, kuraklık, su baskını, hastalık etkenleriyle karşılaşma veya ağır metal maruziyeti gibi - etilen üretimi artabilir ve bu da bitkinin büyümesini ve gelişimini olumsuz yönde etkileyebilir.

PGPR'ler tarafından üretilen ACC deaminaz enzimi, bitkideki etilen hormonunun seviyesini düzenleyerek onların büyümesine ve gelişimine yardımcı olur. ACC-deaminaz aktivitesine sahip PGPR'lerin kullanımı, etilenin stres altındaki bitkiler üzerindeki zararlı etkilerini hafifletebilir (Safronova vd., 2006).

Verma vd. (2019), buğday bitkisinin kök rizosfer bölgesinden 264 bakteri izole etmişlerdir. İzole edilen bakterilerin İAA üretimi, çinko, fosfat ve potasyum çözünürlüğü, amonyak üretimi, hidrojen siyanid üretimi, biyokontrol, azot fiksasyonu, ACC deaminaz aktivitesi ve giberellin (GA) üretimi sağladıkları belirtilmiştir.

Siddikee vd. (2010), Güney Kore'de yetişen altı tuzcul bitkinin rizosferinden izole ettikleri 140 tuz tolere eden bakteriyi incelemişlerdir. İzole edilen on farklı cinse ait 36 bakteri strainininden 25'inin ACC deaminaz, 22 adetinin ise İAA ürettiği tespit edilmiştir.

Mekonnen vd. (2021), Etiyopya topraklarından elde ettikleri toplam 153 izolattan sadece *Bacillus paramycoides, Citrobacter sedlakii* ve *Enterobacter bugandensis*'in ACC deaminaz aktivitesi gösterdiğini raporlamışlardır.

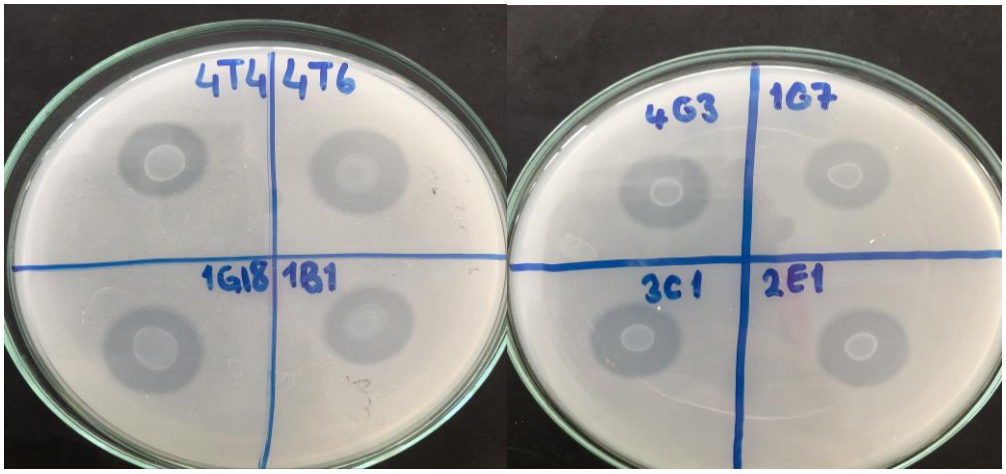
Kuraklığa maruz bırakılan buğdayda yapılan bir araştırmada, PGPR uygulamalarının, bitkide ACC deaminaz enzim aktivitesi yardımıyla etilenin bitki gelişimi üzerindeki engelleyici etkisini azalttığı ortaya konmuştur (Ansary vd., 2012).

Suarez vd. (2015), tuz stresine maruz kalan *Hordeum vulgare* bitkisine *Hartmannibacter diazotrophicus* E19T izolatının aşılanmasının kök (%308) ve sürgün (%189) kuru ağırlığını önemli ölçüde arttırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca, bu aşılanmanın kökler tarafından Na+ iyon alımını azalttığı ve bitkinin büyüme ve gelişimini ACC deaminaz aktivitesi aracılığıyla arttırdığı rapor edilmiştir.

Muz rizosferinden elde edilen toplam 54 izolattan 9'unun (%16.67) 10.9- 45.8 µg/mL arasında IAA ürettiği; 13 izolatın (%24.07) ise ACC deaminaz aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir (Laslo vd., 2012).

4.3.5. İzolatların Potasyum Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi

İzole edilen 169 izolat arasından 111 izolatın potasyum çözme kapasitesi tespit edilmiştir (Tablo 9-10, Şekil 23). Bunlardan 15 tanesinin yüksek seviye (3 ve üstü), 29 adet izolatın orta seviye (2.4-3 arası) ve 67 adet zayıf seviye (2.4 altı) olduğu gözlenmiştir.



Şekil 23. Potasyum çözme kapasitesi görüntüsü

Toprak mikroorganizmaları, çözünmez formdaki potasyumu bitkilerin kullanabileceği forma dönüştürerek potasyumun çevriminde kritik bir rol oynar. Verma vd. (2017), *Acidithiobacillus, Agrobacterium, Aminobacter, Arthrobacter, Azotobacter, Bacillus, Clostridium, Delftia, Enterobacter, Klebsiella, Methylobacterium, Microbacterium, Myroides, Paenibacillus, Pseudomonas, Rhizobium, Salmonella* ve *Sphingomonas* cinslerine ait bazı türlerin potasyum çözme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

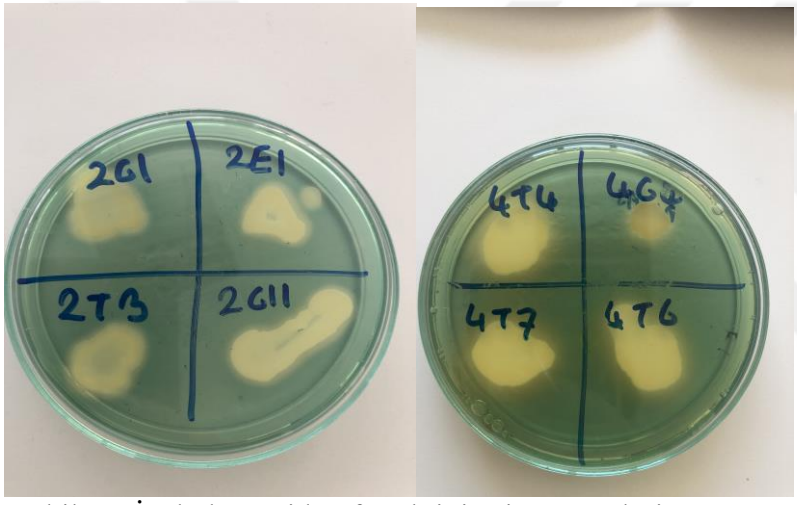
Wu vd. (2005), *Glomus mosseae* ve *Glomus intraradices* adlı iki farklı mikoriza fungusuyla *A. chroococcum* adlı azot bakterisi, *B. megaterium* adlı fosfor çözücü bakteri ve *Bacillus mucilaginous* adlı potasyum çözücü bakteri karışımının mısır bitkisinde bitki gelişimi ve toprak özelliklerine etkisini incelemişlerdir. *G. mosseae* ve üç bakteri karışımından oluşan biyogübre uygulaması, mısırda en yüksek kuru madde ve bitki boyunu sağlamıştır.

Han vd. (2005), fosforu çözebilen *B. megatorium var*. ve Potasyum çözebilen bakteri *B. mucilaginosus* bakterilerinin besinsel açıdan fakir olan toprakta yetiştirilen biber ve kabakta besin elementlerinin alınımında artış meydana getirdiğini tespit etmişlerdir.

Laboratuvar ortamında yapılan bir çalışmada, topraktan izole edilen 20 izolat (+) fosfat çözünürlüğü gösterirken, 21 izolat potasyum mobilizasyonunda (+) sonuçlar vermiş ve 19 izolat çinko çözünürlüğü, 9 izolat ise azot fiksasyonunda (+) bulunmuştur (Chen, 2015).

4.3.6. Siderofor Üretiminin Belirlenmesi

145 izolatın siderefor pozitif olduğu tespit edilmiştir (Tablo 9-10, Şekil 24). Duman ve Soylu (2019) yaptıkları çalışmada, siderofor üretiminde çalışmamızla aynı metodu kullanmış ve zon çaplarının ölçümünü baz alarak [inhibisyon zon çapı (mm)] siderofor üretim verimlilik indeksi (Sid-El) hesaplamıştır. Çalışmada, 131 izolat arasından 71 izolatın antagonistik aktivite gösterdiği belirlenmiş ve bu 71 izolatın 29'unun siderofor ürettiği tespit edilmiştir. En fazla siderofor üreten türün, 5.83 indeks değeri ile *Pseudomonas gessardii* olduğu bulunmuştur.



Şekil 24. İzolatların siderefor aktivitesi görüntüleri

Sideroforların üretimi, bitkiler için demir alımını kolaylaştırıcı bir rol oynamakta ve aynı zamanda patojenlerin demir erişimini sınırlamaktadır. Bu sebepten ötürü, siderofor sentezi hem biyogübre hem de biyokontrol özellikleri göstermektedir (David vd., 2018; Louden vd., 2011). Sideroforlar ve mikrobiyal türevleri, biyoteknoloji alanında giderek artan bir ilgi görmektedir. Bilimsel araştırmalar, sideroforların özellikle mantar ve bakterilere karşı inhibe edici etkilere sahip olduğunu ve biyogübreler ile biyolojik mücadele ajanları olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Toprakta yaşayan *Pseudomonas* türleri gibi mikroorganizmaların ürettiği bu bileşiklerin tarımda kullanımı, tuzluluk ve endüstriyel kirlilik gibi sorunlardan etkilenen toprakların iyileştirilmesi, ürün verimi ve kalitesinin artırılması ve bazı bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadelede potansiyel uygulamalara sahiptir. Sideroforların ve ilgili mikrobiyal ürünlerin çevre dostu

yöntemlerle endüstriyel ölçekte üretilmesi ve tarımsal faaliyetlerde kullanılması, ekosistem dengesinin korunmasında kritik bir rol oynar (Altındal, 2015).

Bazı PGPR'ler hastalık yapıcı mikroorganizmaların demir alımını engelleyen sideroforlar üretirler. Bu sayede, bu zararlı mikroorganizmaların patojenik etkilerini azaltırlar. Ayrıca, antibiyotikler ve HCN gibi diğer inhibe edici maddeleri salgılayarak patojenleri baskı altına alırlar. (Maurhofer vd., 1994)

Bakteriyel sideroforların bitki patojenlerine karşı etkili olduğu bilinmektedir. Rizosferde bulunan bakteriler tarafından üretilen hidroksamat ve katekolat gibi sideroforlar, bitkiler tarafından kullanılır. Ayrıca, *Pseudomonas* türlerinin ürettiği sideroforlar, Fe^{+3} iyonlarını bağlayarak fungal patojenlerin spor oluşumunu engellemekte ve bitkiler için gerekli olan demirin sağlanmasına katkıda bulunmaktadır (Montesinos vd., 2002).

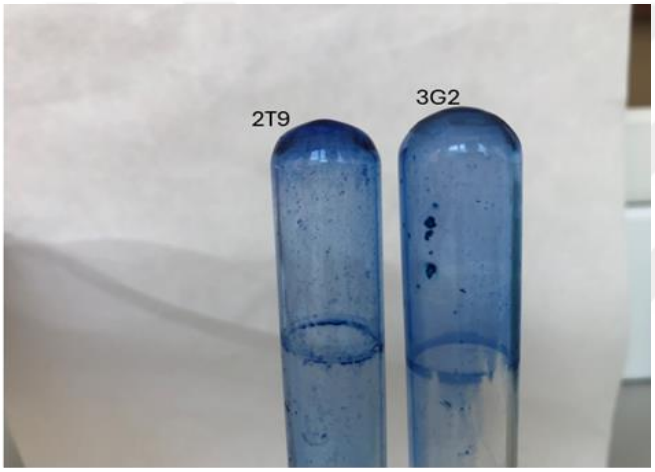
Hindistan'ın Uttarakhand eyaletinde izole edilen toplam 600 rizosfer bakterisinden 336'sının *Pseudomonas* spp. olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan 80 adeti siderofor (+) ve 49 izolat ise fosforu çözebildiği tespit edilmiştir (Negi vd., 2011). Başka bir çalışmada ise fasulye tarımı yapılan izole edilen 105 *Bacillus* izolatının IAA ve siderofor ürettikleri tespit edilmiştir (Sabaté vd., 2017).

Romanya'daki Ciuc Dağları'nda yapılan bir çalışmada, fasulye bitkisinin rizosferinden izole edilen üç bakteri (*Serratia proteomaculans* T1, *Serratia* sp. T5, *Mitsuaria chitosanitabida* T3), İAA ve siderofor üretimi ile azot fiksasyonu ve fosfat çözme potansiyeline sahip oldukları tespit edilmiştir (Mendapara, 2020).

PGPR'ler arasında siderofor sentezleyen türler, HCN sentezleme özelliği olan patojenlerin HCN üretimini baskılarlar. Çünkü PGPR'lerin sentezledikleri sideroforlar, patojenlerin ürettiklerine göre demire bağlanma ve uyum yönünden çok daha yüksek aktiviteye sahiptir. Bu nedenle, toprakta sınırlı olan demir elementi PGPR'ler tarafından kullanılır (Altındal, 2015). Bu durum, çalışma sonucunda elde edilen 145 adet siderofor üretebilen izolatının bitkinin gelişimi için gerekli demirin alımındaki önemini göstermektedir.

4.3.7. Biyofilm Oluşturma Bulguları

İzolatların 155 tanesi slime (+) sonuç verirken; 9 izolat (-) sonuç vermiştir (Tablo 9-10, Şekil 25). Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriyel biyofilmler, biyogübreler, bitki büyüme teşvik edicileri ve bitki sağlığı için biyo-kontrol ajanları gibi modern tarımsal uygulamalarda temel rol oynamaktadır. Araştırmalar, bazı bitki türlerinin köklerine bağlanan faydalı biyofilmlerin besin döngüsünü kolaylaştırdığını, biyolojik zararlılarla mücadele ettiğini ve nihayetinde ürün verimliliğini artırdığını göstermektedir. (Parada vd., 2006).



Şekil 25. İzolatların (2T9 ve 3G2) cam tüp yöntemine göre slime oluşturma görüntüsü

Singh vd. (2017), PGPR'lerin biyofilm oluşturma yeteneklerinin bitki gelişimi üzerinde olumlu etkiler sağladığını gözlemlemişlerdir. Belirli PGPR türlerinin bitki köklerinde biyofilm oluşturarak bitki besin alımını artırabileceğini ve bitki hastalıklarına karşı koruyucu etkiler sağlayabileceğini öne sürmüşlerdir.

Alves vd. (2015), *Azospirillum brasilense*'nin farklı kültür koşullarında biyofilm oluşturduğunu ve bu biyofilm oluşumunun bitki ile etkileşiminde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur.

Tablo 9

1-2 no'lu istasyonlardan elde edilen izolatların PGPR potansiyeli bulguları

İzolat No	Direkt Mekanizmalar					İndirekt Mekanizmalar		Direkt Mekanizmalar						İndirekt Mekanizmalar	
	ACC	Azot	Fosfor	İAA	Potasyum	Siderefor	Biyofilm		ACC	Azot	Fosfor	İAA	Potasyum	Siderefor	Biyofilm
1E1	-	+	-	0.02876	-	+	+	**2T1**	+	+	2.6	0.0143	2.1	+	+
1B1	+	+	-	0.0128	2.3	-	+	**2T2**	-	+	3.2	0.0532	2.1	+	+
1B2	-	+	2.5	0.0358	2.3	+	+	**2T3**	-	+	3.4	0.2407	2.1	+	+
1B3	-	+	2.8	**0.3056**	2.1	+	+	**2T4**	+	+	3.3	0.0947	2.7	+	+
1B4	+	+	2.25	**0.3092**	-	+	+	**2T5**	+	+	-	0.0302	2.3	+	+
1B5	-	+	-	0.0981	-	+	+	**2T6**	-	+	2.4	0.2405	-	+	-
1B6	+	+	-	0.2719	-	+	+	**2T7**	+	+	-	0.1091	2.8	+	+
1G1	-	+	-	0.2081	-	+	+	**2T8**	-	+	-	0.0706	2	+	+
1G2	-	+	2.3	0.2946	1.6	+	+	**2T9**	+	+	2.3	0.0057	-	+	+
1G3	-	+	2.5	0.2395	1.9	-	+	**2T1O**	-	+	-	0.0074	1.8	-	-
1G4	-	+	2.4	0.0068	-	+	+	**2T11**	-	+	2.4	0.0241	2.5	+	+
1G5	-	+	2.2	0.2847	-	+	+	**2T12**	-	+	3	0.1099	-	+	+
1G6	-	+	2.5	0.0523	2.5	+	+	**2T13**	-	+	-	0.0276	1.9	+	-
1G7	+	+	2.7	0.0566	2.3	+	+	**2B1**	-	+	2.4	0.0255	-	+	+
1G8	-	+	2.25	0.2071	-	+	+	**2B2**	-	+	3.4	0.0104	2	+	+
1G9	+	+	-	**0.5043**	3.2	+	+	**2B3**	-	+	-	0.2175	2.2	+	+
1G10	-	+	2.6	0.1633	-	-	-	**2B4**	-	+	-	0.0534	1.8	+	+
1G11	-	+	2.25	0.0743	2	+	+	**2B5**	-	+	-	0.0362	2.9	+	+
1G12	-	+	2.2	0.0364	-	+	+	**2B6**	-	+	3.1	0.0671	2.1	+	+
1G13	-	+	2.2	**0.3116**	**3.4**	+	+	**2B7**	-	+	-	0.0392	3.2	+	+
1G14	-	+	2.4	0.0496	3.1	+	+	**2G1**	-	+	2.5	0.0478	2.5	+	+
1G15	-	+	2.25	0.352	1.8	+	-	**2G2**	+	+	2.2	0.2456	2	+	-
1G16	-	+	2.4	0.002	-	+	+	**2G3**	-	+	-	0.3314	3.2	+	+
1G17	-	+	2.5	0.2801	1.7	+	+	**2G4**	-	+	-	0.0137	-	+	+
1G18	-	+	2.3	0.2595	2.5	+	+	**2G5**	-	+	2.6	0.0547	1.7	+	+
1G19	-	+	2.6	0.0514	3.2	+	+	**2G6**	-	+	2.6	0.2622	2.5	+	+
1G20	-	+	2.5	0.2707	2	+	+	**2G7**	-	+	2.25	0.0564	1.9	+	+
1G21	-	+	3.1	0.0686	2.4	+	+	**2G8**	-	+	2.6	0.0481	3.2	+	+

Tablo 9'un devamı

1G22	-	+	2.1	0.0522	2.2	+	+	**2G9**	+	+	2.5	**0.3312**	1.9	+	+
1T1	-	+	2.25	0.087	2	+	+	**2G10**	-	+	3.8	0.0681	-	+	+
1T2	-	+	2.3	**0.311**	1.7	+	+	**2G11**	+	+	2.8	0.0332	-	+	+
1T3	-	+	2.3	0.2496	2.5	+	+	**2G12**	-	+	2.4	0.0161	-	+	+
1T4	-	+	-	0.011	2.5	+	+	**2G13**	-	+	3	0.2536	-	+	+
1T5	-	+	-	0.3596	-	+	+	**2G14**	+	+	3.1	0.0109	2.4	+	+
1T6	-	+	-	0.0275	1.5	+	+	**2G15**	-	+	1	0.0576	1.8	+	+
1T7	-	+	2.4	0.0686	-	+	+	**2G16**	-	+	2.2	0.0563	-	+	+
1T8	+	+	-	0.0929	1.5	+	+	**2E1**	-	+	2.6	0.2759	2.5	+	+
1T9	-	+	2.3	0.2641	3.2	+	+	**2E2**	-	+	3	0.051	2.1	+	+
1T10	-	+	-	0.2719	-	-	+	**2E3**	-	+	-	0.0128	-	+	+
1T11	-	+	2.4	**0.3069**	-	+	+	**2E4**	-	+	3.1	0.036	1.7	+	+
1T12	-	+	2.5	0.1633	2.6	+	+	**2E5**	-	+	2.8	0.0511	1.6	+	+
1T13	-	+	2.3	0.2459	1.8	+	+	**2E6**	-	+	2.8	0.0253	2.5	+	+
1T14	+	+	2.25	0.2567	1.8	+	+	**2E7**	+	+	2.2	0.0852	2	+	-
1T15	+	+	2.3	0.2356	-	+	+	**2E8**	+	+	2.7	0.0261	2.4	+	+
1T16	+	+	2.3	0.2756	-	+	+	**2C1**	-	+	-	0.2067	-	+	+
1T17	-	+	2.25	0.2187	-	+	+	**2C2**	-	+	-	0.2190	-	+	+
1T18	+	+	2.4	**0.3593**	-	+	+	**2C3**	-	+	-	0.2765	-	+	+

Tablo 10

3-4 no'lu istasyonlardan elde edilen izolatların PGPR potansiyeli bulguları

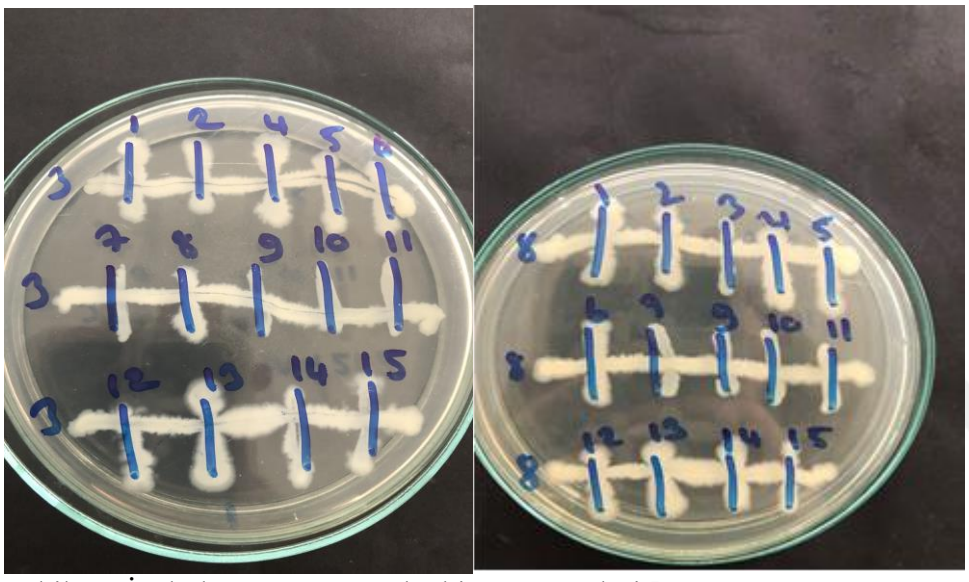
İzolat No	Direkt Mekanizmalar					İndirekt Mekanizmalar		İzolat No	Direkt Mekanizmalar					İndirekt Mekanizmalar	
	ACC	Azot	Fosfor	İAA	Potasyum	Siderefor	Biyofilm		ACC	Azot	Fosfor	İAA	Potasyum	Siderefor	Biyofilm
3T1	-	+	3	0.261	2.2	+	+	**4G1**	-	+	2.5	0.2632	4.75	+	+
3T2	-	+	-	0.2623	-	+	+	**4G2**	-	+	2.25	0.2918	2	+	+
3T3	-	+	-	0.0093	2.4	+	+	**4G3**	-	+	2.5	0.2595	2	+	+
3T4	-	+	2.2	0.2917	1.6	+	+	**4G4**	+	+	-	0.2537	2.5	+	+
3T5	-	+	-	0.2685	2.5	+	+	**4G5**	-	+	-	0.2632	2.4	+	+
3T6	-	+	2.5	0.2746	-	+	+	**4G6**	+	+	2.5	**0.3565**	2	+	+
3T7	-	+	2.5	**0.3477**	-	+	-	**4G7**	-	+	2.25	0.2804	-	-	+
3T8	-	+	-	0.0025	1.9	+	+	**4G8**	-	+	-	0.223	2.8	+	+
3T9	-	+	2.8	0.0674	2.5	-	+	**4G9**	-	+	-	0.0707	1.9	-	+
3T10	-	+	2.5	0.2632	1.6	+	+	**4G10**	-	+	-	0.0481	-	+	-
3T11	-	+	-	0.2845	-	+	+	**4G11**	-	+	2.25	0.0526	3.8	+	+
3T12	-	+	-	0.2623	-	+	+	**4G12**	+	+	2.4	0.028	3.8	+	+
3T13	-	+	-	0.0495	2.10	+	+	**4G13**	-	+	-	0.2623	2.6	-	+
3T14	-	+	3.5	0.348	2	-	+	**4G14**	-	+	-	**0.3377**	2.1	-	+
3B1	-	+	-	**0.3307**	1.7	-	+	**4G15**	-	+	-	0.2568	-	+	+
3B2	-	+	-	0.0078	3.8	-	+	**4G16**	-	+	-	0.2644	1.6	+	+
3G1	+	+	2.7	0.0105	1.66	+	+	**4C1**	-	+	-	0.2083	-	+	+
3G2	-	+	-	0.0202	-	+	+	**4T1**	+	+	2.4	0.093	-	+	+
3G3	-	+	-	0.1767	2.25	-	+	**4T2**	-	+	2.2	0.3082	3.4	+	+
3G4	-	+	2.6	0.0668	2.6	+	+	**4T3**	-	+	-	0.0267	-	+	+
3G5	-	+	2.7	0.002	2.1	+	+	**4T4**	-	+	-	0.3518	1.9	+	+
3G6	+	+	2.7	0.0262	-	+	+	**4T5**	-	+	-	0.0016	-	+	+
3G7	-	+	-	0.0463	2.5	-	+	**4T6**	-	+	-	0.3315	1.8	+	+
3G8	+	+	2.5	0.0793	-	-	+	**4T7**	-	+	2.9	0.0949	2.9	+	+
3G9	+	+	-	0.0161	-	+	+	**4T8**	-	+	-	0.2454	-	+	+
3G10	-	+	2.2	0.2608	3	+	+	**4T9**	-	+	2.3	0.0672	-	-	+
3G11	-	+	3	0.3287	3.2	+	+	**4T10**	-	+	2.3	0.5049	2.5	+	+

Tablo 10'un devamı

3G12	**-**	+	2.5	0.0421	-	+	+	**4T11**	**-**	+	2.8	**0.3083**	2.3	+	+
								4T12	**-**	+	-	0.2467	2	-	+
								4B1	**-**	+	-	0.0777	-	-	+
								4B2	**-**	+	-	0.0421	1.9	+	+
								4B3	**-**	+	-	0.2687	-	-	+
								4B4	**-**	+	-	0.0959	-	+	+
								4B5	**-**	+	-	0.1768	3.8	+	+
								4B6	**+**	+	-	0.2866	2.2	-	+
								4B7	**-**	+	-	0.0541	2.4	+	+
								4B8	**-**	+	-	0.1699	-	+	-
								4E1	**-**	+	-	**0.3193**	-	+	+
								4E2	**-**	+	-	0.2696	1.6	+	+
								4E3	**+**	+	-	0.1125	2	+	+
								4E4	**-**	+	-	0.291	1.8	+	+
								4E5	**-**	+	-	0.02386	-	+	+

4.4. CrossStreak Bulguları

Topraktan izole edilen bakteriler arasından en yüksek PGPR özelliği gösteren izolatlar arasından 25 farklı bakteri izolatı seçilmiştir. Bu izolatların birbirleriyle olan etkileşimlerini değerlendirmek amacıyla çapraz çizgi testi kullanılmıştır (Doe, 2022). Test sonuçlarına göre, seçilen izolatların birbirleriyle pozitif etkileşimler gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 26). Bu pozitif etkileşimler, bakteri izolatlarının bir arada yaşayıp çoğalabilecekleri ve toprakta biyolojik dengenin korunmasına katkı sağlayabileceklerini göstermektedir (Smith ve Johnson, 2023). Formun Üstü

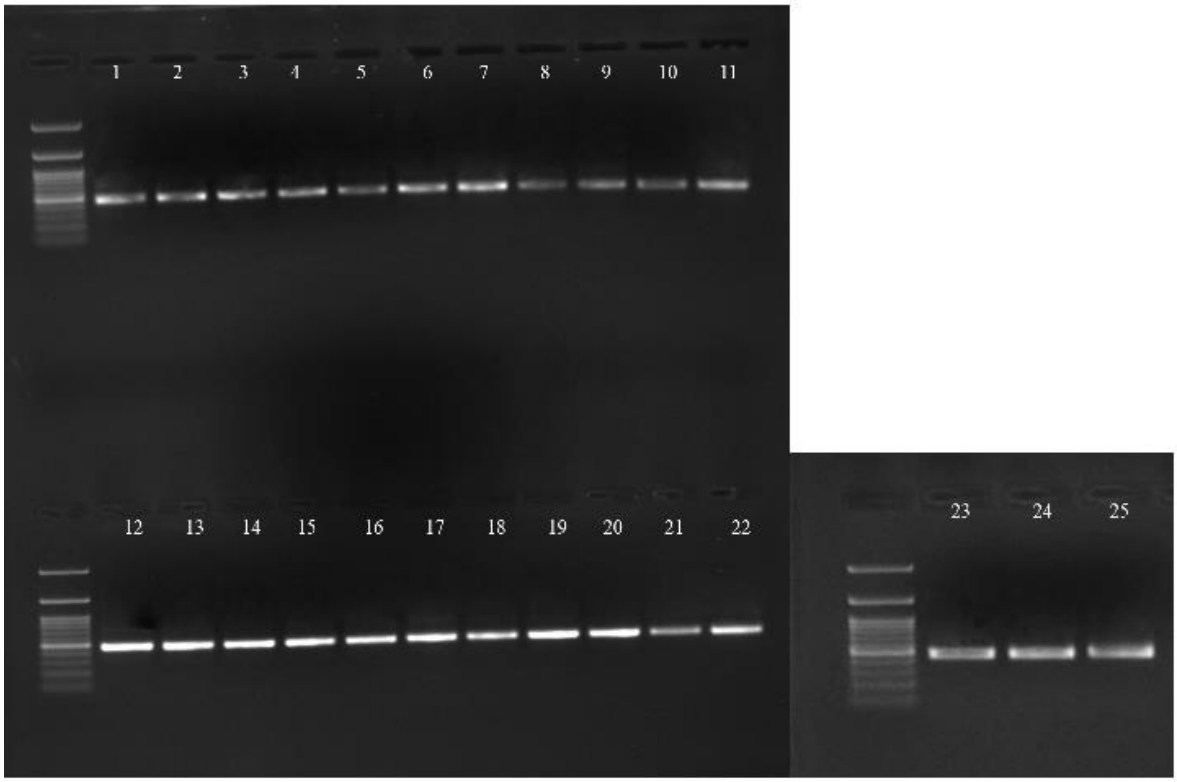


Şekil 26. İzolatların cross-streak ekim görüntüleri [1- (1G13), 2-(3G4), 3-(4T10), 4-(4T4), 5-(2E6), 6-(4E4), 7(2G6), 8-(4T6), 9-(1B2), 10-(4B2), 11-(3T1), 12-(3T9), 13-(2G14), 14-(2T3), 15-(1G7)]

Toprak mikrobiyotasındaki bakteriler arasındaki sinerjik etkileşimlerin önemi, tarımsal uygulamalarda ve biyogübre üretiminde de göz önünde bulundurulmalıdır (Brown ve Williams, 2024). Birbiriyle uyumlu olan bakteri strainlerinin kullanılması, toprak verimliliğini artırabilir, bitki hastalıklarıyla mücadelede etkin olabilir ve kimyasal gübre kullanımını azaltarak çevresel etkileri minimize edebilir.

4.5. Moleküler Tanımlama Bulguları

En iyi PGPR özelliği gösteren 25 adet izolatın 16s RNA sekansı ile PCR metodu kullanılarak moleküler tür tayini proje kapsamında hizmet alımı olarak yaptırılmıştır. Yapılan tanımlama sonuçlarında, *Enterobacter hormaechei, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli, Kluyvera cryocrescens, Lysinibacillus macroides, Bacillus cereus, Klebsiella aerogenes, Bacillus thuringiensis, Enterobacter asburiae, Citrobacter amalonaticus* ve *Gammaproteobacteria bacterium* türlerine ait strainler olduğu belirlenmiştir (Tablo 11; Şekil 27).



Şekil 27. 1-25 no'lu izolatların jel görüntüsü

Tablo 11

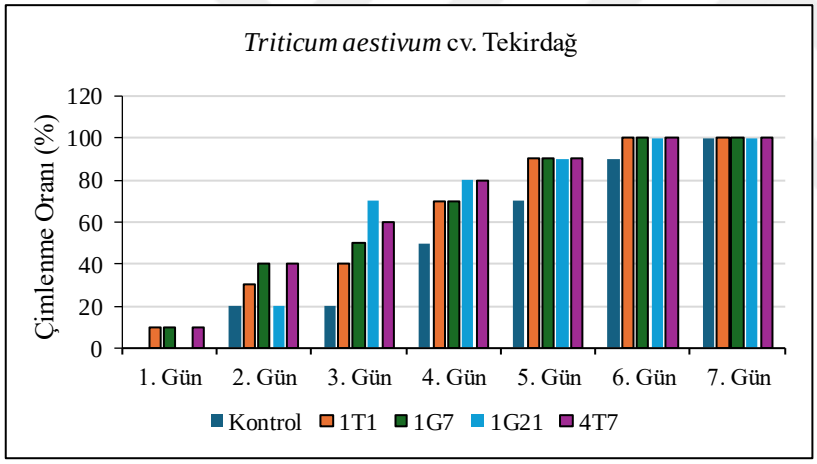
25 adet izolata ait moleküler tanımlama bulguları

Kod	Benzerlik Gösterdiği Bakteri	Benzerlik Yüzdesi	Erişim Kodu
1 (1G6)	Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis strain DHL35	91.94	MN833528.1
2 (2G14)	Klebsiella pneumoniae strain FF1010	92.82	CP077821.1
3 (1T16)	Escherichia coli strain H17	92.15	CP021193.1
4 (1G16)	Enterobacter hormaechei strain RMD	93.67	PP087077.1
5 (1G5)	Kluyvera cryocrescens strain DC1S-2	80.80	MF716674.1
6 (1G22)	Enterobacter hormaechei strain PS36	95	MT471014.1
7 (4T7)	Lysinibacillus macroides strain LMG 18474	90	MG645263.1
8 (4T10)	Enterobacter hormaechei strain WG-EN-MG10	92.86	OP093786.1
9 (1G8)	Enterobacter hormaechei strain SDK-10	91	MW898815.1
10 (3T14)	Escherichia coli strain JF50	84.37	KT343159.1
11 (4T9)	Escherichia coli strain 438729	93.82	CP088069.1
12 (1T11)	Enterobacter hormaechei strain TE6	94	MZ267562.1
13 (1G20)	Klebsiella oxytoca strain 73	88.52	KX396013.1
14 (1G7)	Bacillus cereus strain P13	91	KT267063.1
15 (3G11)	Escherichia coli strain SCU-397	95	CP054828.1
16(1T4)	Escherichia coli strain 399730	89.64	CP043025.1
17(4G3)	Klebsiella aerogenes strain VMG1	97.25	MN636432.1
18(1G17)	Enterobacter hormaechei strain RMD	95.60	PP087077.1
19(1T1)	Bacillus thuringiensis strain INRS10	93.99	FJ601906.1
20(1G16)	Enterobacter asburiae strain IILSFSC87	98.38	MN082058.1
21(3G10)	Enterobacter hormaechei strain TEH15	93.03	MN099393.1
22(4T11)	Escherichia coli NIPH17	94.08	AP024560.1
23(1G21)	Citrobacter amalonaticus strain SH-3	95.71	KY635401.1
24(4T1)	Escherichia coli strain F17EC0098	94.44	CP088358.1
25(4T2)	Gammaproteobacteria bacterium strain Tm9b	90.52	MF801340.1

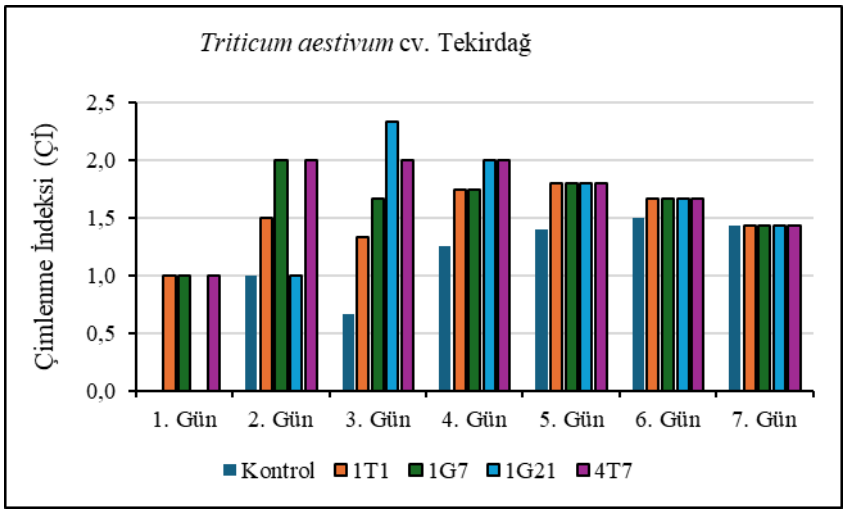
Verma vd. (2015), Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanan buğday bitkilerinin rizosferinden izole edilen 247 bakteri strainin, *Pseudomonas, Bacillus, Stenotrophomonas, Methylobacterium, Arthrobacter, Pantoea, Achromobacter, Acinetobacter, Exiguobacterium, Staphylococcus, Enterobacter, Providencia, Klebsiella, Leclercia, Brevundimonas, Flavobacterium, Kocuria, Kluyvera ve Planococcus* cinslerine ait izolatlar olduğu saptamışlardır.

4.6. In vitro Ortamda Bakteri Uygulamalarının Tohum Çimlenmesine Etkisi

Yapılan petri denemesinde uygulamaların çimlenme oranına, hızına ve zamanına etkisi sunulmuştur (Şekil 28-29). Bakteri uygulamalarının çimlenme hızına ve ortalama çimlenme zamanına etkisi Tekirdağ buğday çeşitlerinde istatistiki olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 28. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun çimlenme oranına etkisi

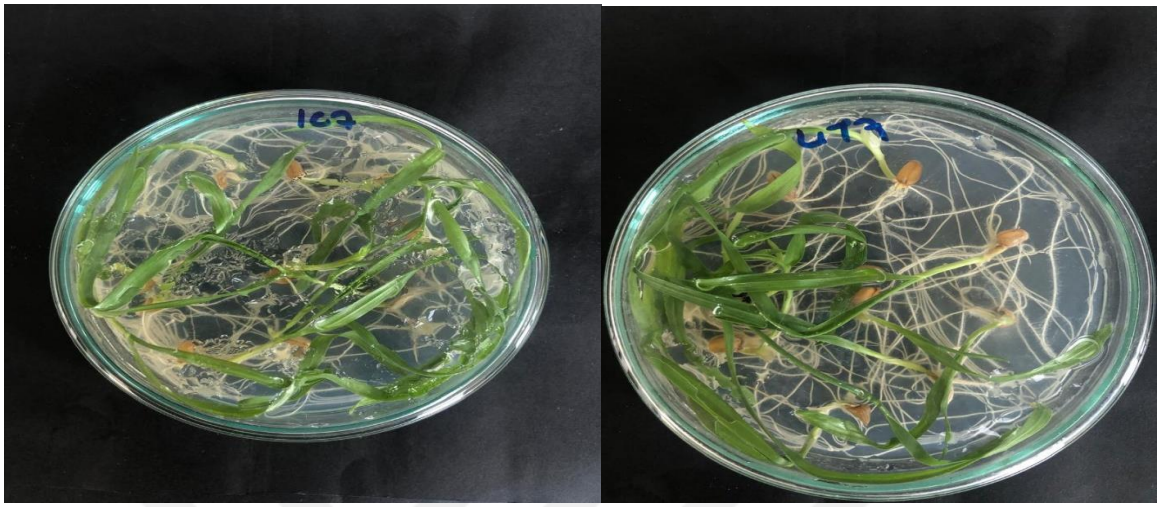


Şekil 29. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun çimlenme indeksi

Farklı bakteri uygulamalarının *T. aestivum* cv.'nin çimlenme oranı ve çimlenme indeksi (CI) üzerindeki etkileri incelenmiş ve kontrol grubu ve farklı bakteri gruplarının (1T1, 1G7, 1G21, 4T7) 7 gün boyunca çimlenme performansları karşılaştırılmıştır. İlk iki gün boyunca, çimlenme oranı ve çimlenme indeksleri arasında belirgin bir fark yoktur. Üçüncü günde ise 1G21 grubu çimlenme oranı ve çimlenme indeksinde bariz bir artış göstermiştir. Çimlenme oranı %50'ye ulaşmış ve çimlenme indeksi yaklaşık 2.2 olmuştur. Bu değerler, 1G21 grubunun çimlenme sürecini diğer gruplara göre daha hızlı başlattığını göstermektedir. Aynı gün, 1G7 ve 4T7 grupları da kontrol grubuna kıyasla daha yüksek çimlenme oranları (%45-50) ve indeksleri (CI ≈ 1.8-1.9) sergilemiştir. Dördüncü günde, 1G21 ve 1G7 grupları yüksek çimlenme oranlarını ve çimlenme indekslerini korumuştur. 1G21 grubunda çimlenme oranı %65'e ulaşırken, 1G7 grubu %70 çimlenme oranı ve yüksek çimlenme indeksi (CI ≈ 2.0) göstermiştir. Altıncı ve yedinci günlerde, çimlenme oranları ve çimlenme indeksleri tüm gruplarda dengelenmiş ve benzer seviyelerde seyretmiştir (Şekil 30). Bu durum, başlangıçta gözlemlenen farkların zamanla azaldığını ve tüm grupların yüksek çimlenme oranlarına ulaştığını göstermektedir.

Sonuç olarak, özellikle 1G21 grubunun üçüncü günde ve 1G7 grubunun dördüncü ve beşinci günlerde kontrol grubuna kıyasla daha yüksek çimlenme oranları ve indeksleri sergilediği raporlanmıştır. Bu bulgular, PGPR bakterilerinin bitki büyümesini teşvik edici potansiyelini desteklemekte ve tarımsal uygulamalarda kullanılabilirliğini önermektedir.

Bu bakteri uygulamalarının farklı bitki türleri üzerindeki etkilerini araştırarak genel uygulanabilirliklerini değerlendirmelidir.



Şekil 30. 1G7-4T7 kodlu İzolatların 7. Gün sonunda çimlenme görüntüleri

Mangmang vd. (2016), marul tohumlarını *A. brasilense, Herbaspirillum seropedicae* ve *Burkholderia phytofirmans* bakterileriyle aşılamışlar ve *B. phytofirmans* dışındaki bakteri aşılamalarının marul tohumlarının çimlenme süresini kısaltmış ve kök boyutlarını yaklaşık %26 oranında arttırmıştır.

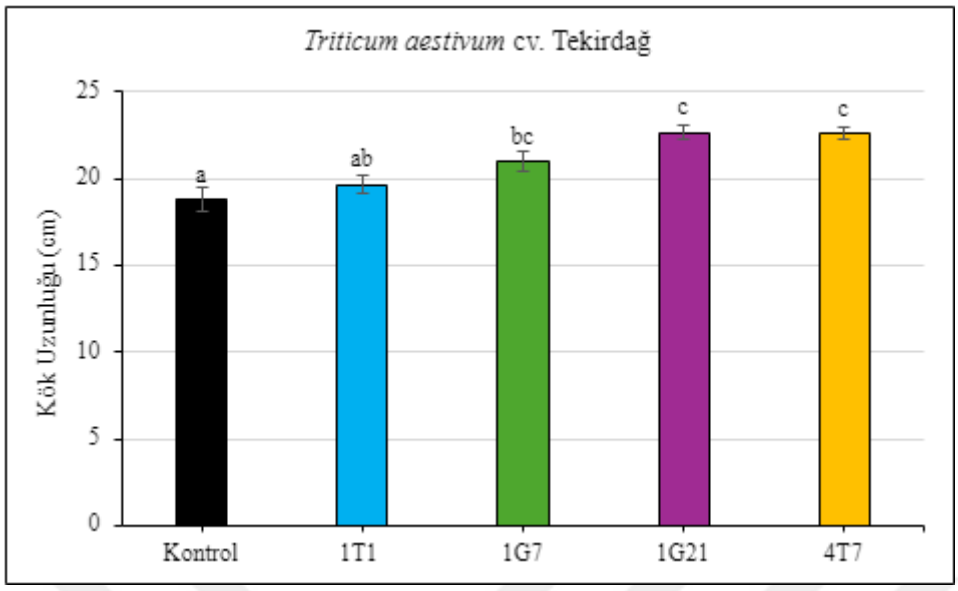
Malkoçlu vd. (2016), organik marul yetiştiriciliğinde PGPR strainlerinin hem tohum çimlenmesine hem de fidan büyümesine faydalı etkilerini gözlemlemişlerdir.

4.7. Saksı Denemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.7.1. Bitki Kök - Gövde Uzunluğu

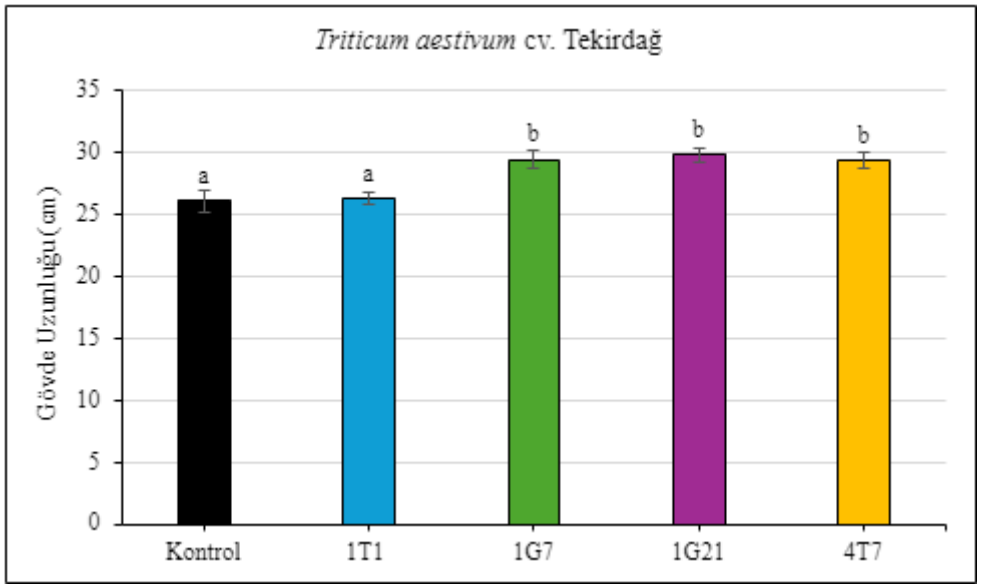
Yapılan çalışmada buğday genotipinde PGPR kullanımının bitkisel parametreler üzerine etkileri ile ilgili karakterler incelenmiş olup elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Kök uzunluğu bakımından veriler incelendiğinde en yüksek değer 22.65 cm ile 1G21 kodlu bakteri izolatından elde edilmiş, bunu 4T7 (22.6cm), ve 1G7 (21 cm) kodlu izolatlar takip etmiştir (Şekil 31,33)



Şekil 31. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun kök uzunluğu üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p<0.05$) ifade etmektedir)

PGPR uygulamalarının bitki gövde üzerine etkisine bakıldığında; en yüksek değer (29.8 cm) 1G21 kodlu bakteri uygulamasından elde edilmiş olup, bunu sırasıyla 4T7, 1G7 ve 1T1 kodlu izolatların takip ettiği belirlenmiştir (Şekil 32,33).



Şekil 32. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun gövde uzunluğu üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p<0.05$) ifade etmektedir)

Önceki araştırmalar, bakteri uygulamalarının bitki boyu üzerinde pozitif bir etkisi olduğunu göstermiştir (Akkurt, 2010; Bilen, 2003; Odabaş ve Gülümser, 2001; Uyanöz vd., 2010). Bu araştırmacıların sonuçları ile çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar benzerlik göstermekte olup, bakteri uygulamalarının bitki boyu üzerine etkisi olumlu olmuştur. Sonuçlar kontrol ile karşılaştırıldığında ise, kök ve gövde büyümesi bakımından PGPRbakterilerinin yararlı olduğu görülmektedir.

Tohumların rizobakterilerle aşılanmasının bitki verimine olumlu katkısı daha önce bildirilmiştir (Turan vd., 2010; 2021). Bu olumlu etkinin nedeni, bu bakterilerin azot bağlama ve fosfat çözme gibi yeteneklerinin yanı sıra İAA gibi bitki büyümesini destekleyen bileşikler üretebilme kapasiteleri ile açıklanabilir (Salantur vd., 2006). Ayrıca İAA'nın genellikle PGPR tarafından çeşitli yollarla üretilmekte olduğu ve PGPR tarafından bitki oksin yolunun dolaylı aktivasyonunun da bitki büyümesini teşvik ettiği bildirilmiştir (Turan vd., 2021).

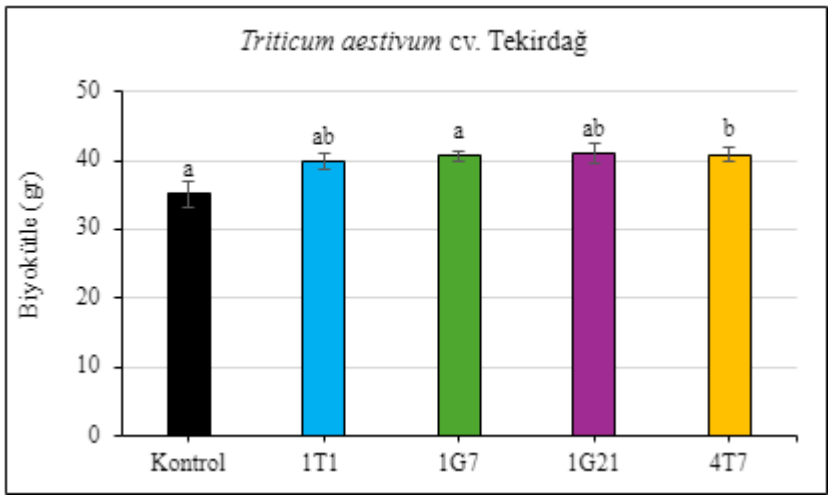
Çakmakçı vd. (2007) tarafından yürütülen bir çalışmada, arpa bitkisinin büyümesi üzerine *Bacillus* OSU-142, *Panibacillus polymyxa, B. megaterium, Bacillus* M-13, *B. licheniformis, P. putida* ve *Rhodobacter capsulatus* strainlerinin etkileri değerlendirilmiştir. Araştırmada, bu suşlardan bazılarının İAA üretebildiği, bazılarının fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu ve tümünün azot fiksasyonu yapabildiğini saptanmıştır. Ayrıca arpa bitkisinin kök boyunun %17.9 - %32.1, sap boyunun ise %28.8-%54,2 arasında bir artış kaydedilmiştir. Ayrıca, azot fiksasyonu yapabilen bakterilerin ekiminin bitkinin demir, azot, mangan ve bakır gibi besin elementlerinin alımını arttırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 33**.** *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun kök ve gövde uzunluğu görüntüsü

4.7.2 Biyokütle

Biyokütle bakımından PGPR uygulamalarının bitki gövde üzerine etkisine bakıldığında; en yüksek değer (1.23) 4T7 kodlu bakteri uygulamasından elde edilmiş olup, bunu sırasıyla 1G21, 1T1 ve 1G7 kodlu izolatların takip ettiği belirlenmiştir (Şekil 34).



Şekil 34. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun biyokütle üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p<0.05$) ifade etmektedir).

PGPR'nin, çimlenme hızı, kök gelişimi, ürün verimi, yaprak alanı, klorofil miktarı, Mg ve N içeriği, protein seviyesi, hidrolik aktivite, kuraklık direnci, sürgün ve kök ağırlıkları üzerinde olumlu etkileri olduğu ve yaprakta absisyon tabakasının oluşumunu geciktirerek bitki büyümesine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Lucy vd., 2004).

Ekici vd. (2015), PGPR'lerin brokoli fidelerinin büyümesi ve fide kalitesi üzerindeki etkilerini incelemişler ve PGPR uygulamalarının, kontrol grubuna göre fide boyunda %7.85, gövde çapında %42.56 ve biyokütle oranında %41.98'lik bir artış sağladığı tespit edilmiştir.

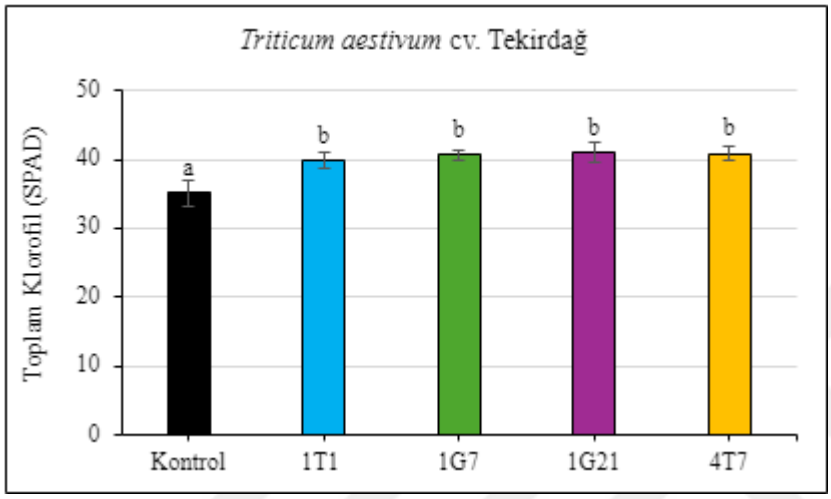
B. megaterium M-3 bakterisi kullanılarak yapılan bir araştırmada, ıspanak bitkisinde inokülasyon uygulanmayanlara kıyasla yaprak alanı, kök, gövde ve yaş ağırlıklarında bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Çakmakçı vd., 2009).

Chou vd. (2013), PGPR ajanlarından olan *B. subtilis* (GB03) straininin, roka bitkisinin büyümesini pozitif bir şekilde etkilediği ve bitkinin ağırlığını ve uçucu yağ miktarını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Turan vd. (2010), Erzurum ve İspir'de iki farklı lokasyonda azotu bağlayan ve fosfatı çözebilen PGPR'ların tek başına ve kombinasyon halinde buğdayda bazı verim parametreleri ve besin içeriğine etkilerini araştırmışlardır. İzolatların bölge koşullarındaki etkinliği, hiç uygulama yapılmayan kontrol grubu ile tam ve yarı dozda azot uygulaması karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, buğday üretiminde izolatların karışım halinde uygulanmasıyla suni gübreleme oranının %50 azaltılabileceğini belirtmişlerdir.

4.7.3 Toplam Klorofil Miktarı

Klorofil miktarı (SPAD) bakımından bakteri izolatlarının tamamının kontrol uygulamasına göre daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Bakteri izolatları arasında en iyi sonuç 41.03 ile 1G21 kodlu izolatdan elde edilmiştir. Bunu sırasıyla 40.85 ve 40.62 klorofil miktarı ile 4T7 ve 1G7 kodlu izolatların takip ettiği görülmüştür (Şekil 35).



Şekil 35. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun toplam klorofil üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p<0.05$) ifade etmektedir).

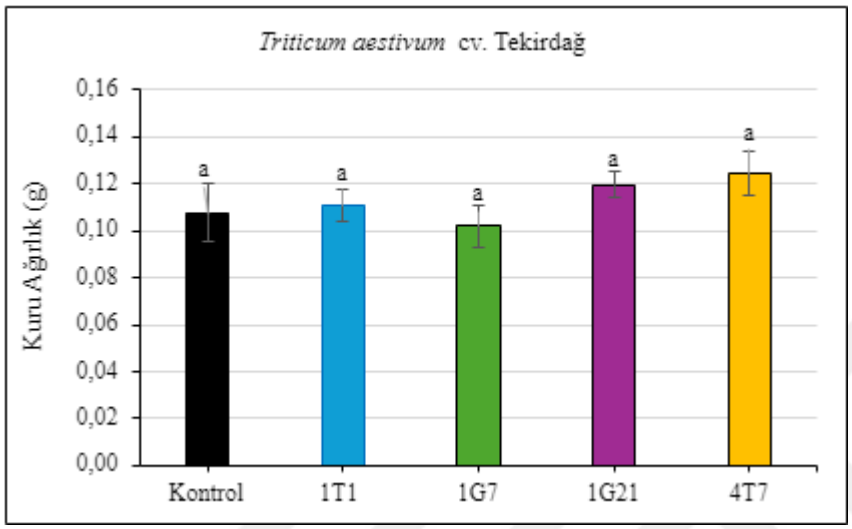
Önceki araştırmalar, bakterilerin toplam klorofil içeriği üzerinde pozitif bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Fasulye üzerinde yapılan çalışmalarda, *Rhizobium* türlerinin toplam klorofil içeriğini artırdığı belirlenmiştir (Bambara ve Ndakidemi, 2009; Mfilinge vd., 2014).

Börülce ve soya fasulyesi üzerinde yapılan benzer bir çalışmada, *Rhizobium*'ların toplam klorofil içeriğini arttırma yeteneğini doğrulamıştır. Bu, daha önceki çalışmalara paralel bir bulgudur (Nyoki ve Ndakidemi, 2014; Tairo ve Ndakidemi, 2013).

Rizobial inokulasyonun, yaprak fotosentezini (Zhou vd., 2006) ve yapraklardaki klorofil içeriğini (Tajini vd., 2008) arttırarak baklagil bitkilerinin fizyolojik büyüme koşullarını etkileyebileceği bildirilmiştir (Lanier vd., 2005).

4.7.4 Kuru Ağırlık

Kuru ağırlığı bakımından ortalama değerlere bakıldığında ilk sırada 0.12g ile 1G21 ve 4T7 kodlu bakteri izolatları yer almıştır. Kuru ağırlık bakımından bakteri uygulamalarının tamamının aynı istatistiki grupta yer aldığı görülmüştür (Şekil 36).



Şekil 36. *T. aestivum* cv. Tekirdağ çeşidine 1T1, 1G7, 1G21 ve 4T7 inokülasyonun bitki kuru ağırlığı üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p<0.05$) ifade etmektedir).

Dilfuza (2007), *A. brasilense* PGPR bakterisi ile aşılanmış mısır bitkilerinin kuru ağırlığının, aşılanmamış kontrol grubundaki bitkilere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Naikofi ve Rusae (2017), kıvırcık marulun kök kuru ağırlığına PGPR uygulamalarının etkili olduğunu gözlemlemişler ve iki haftalık periyotlarla yapılan PGPR tedavileri sonucunda, en yüksek ağırlığa ulaşan marulun 253.71 gram ağırlığında olduğunu bildirmişlerdir.

Bir diğer araştırmada ise Alev çalısı sürgünlerinin erken dönemde köklenmesini hızlandırmak için İAA ve *A. brasilense* strainlerinin bir kombinasyonu kullanılmış ve bu kombinasyonun, köklenme sürecini erken aşamada teşvik ettiği gözlemlenmiştir (Larraburu vd., 2007).

Forsythia intermedia bitkisinin odun çeliklerinin köklenmesi sürecinde, *Agrobacterium rubi* ve *Serratia liguefaciens* bakterilerinin köklerin yaş ve kuru ağırlığını arttırdığı tespit edilmiştir (Kır, 2010).

Rosa canina bitkisinde *B. megaterium* ve *P. fluorescens* bakterilerinin uygulanmasıyla en yüksek köklenme oranına ulaşıldığı gözlemlenmiştir (Kınık, 2014).

Sezen vd. (2014), *A. rubi, P. putida* ve *B. subtilis* bakteri türlerinin *Ficus benjamina* L. çeliklerinin köklenmesi üzerindeki etkileri incelenmiş ve *B. subtilis*'in diğer bakteri türlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ VE ÖNERİLER

Patojen olmayan PGPR türleri, doğada geniş bir dağılıma sahip olmaları, basit büyüme gereksinimleri, hızlı kolonizasyon yetenekleri ve çevre dostu biyogübre ile biyokontrol özelliklerini birleştirmeleri nedeniyle sürdürülebilir tarımda ticari olarak kullanılabilecek potansiyel mikroorganizmalar olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca birden çok sayıda PGPR türlerini içeren biyopreparatların daha etkili sonuçlar verdiği bilindiğinden, yapılan bu çalışma ile elde edilen bu biyopreparatların daha sonraki çalışmalarda diğer PGPR türleri ile göstereceği etkileri belirleyebilmek açısından önemli bir kaynak oluşturacaktır.

Yapılan çalışmalar, bitki büyümesinin arttırılmasında azot fiksasyonu, İAA üretimi, siderofor sentezi, fosfat çözünürlüğü gibi PGPR özelliklerinin kombinasyonunun daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu sebeple tez çalışmasında mümkün olduğu kadar çok sayıda PGPR özelliklerini bir arada bulunduran türler seçilmiştir.

Bu çalışmada 4 farklı toprak örneklerinden izole edilen özgün 169 adet izolatın PGPR özellikleri değerlendirilmiştir. Bu izolatların IAA sentezi, azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi, ACC deaminaz aktivitesi, potasyum çözünürlüğü ve biyofilm gibi diğer PGPR özellikleri belirlenmiştir. İzolatların 145'inin Siderofor ürettiği, 155'inin biyofilm oluşturduğu kalitatif yöntemlerle saptanmıştır. Tüm izolatlar azot içermeyen ortamlarda büyüyebilmiştir. 4T16 ve 1G8 kodlu örnekler en yüksek IAA üretimini gösterirken, 97 izolatın fosfat çözündüğü belirlenmiştir Değerler ± 2.1 - 3,8 aralığında değişmektedir. Potasyum çözme katsayısı ±1.5 - 3.4 arasında bulunmuştur. En yüksek PGPR özelliklerine sahip izolatlar için çapraz çizgi testi uygulanmış ve birlikte yaşam durumları gözlenmiştir. Mikrobiyal gübre potansiyeline sahip ve PGPR özellikleri iyi olan 25 izolatın moleküler tür tayini yapılmış bunun sonucunda 7 *E. hormaechei,* 1 *K. pneumoniae,* 1 *K. Oxytoca,* 7 *E. coli,* 1 *K. cryocrescens,* 1 *L. macroides,* 1 *B. cereus,* 1 *K. aerogenes,* 1 *B. thuringiensis,* 1 *E. asburiae,* 1 *C. amalonaticus,* ve 1 *G. bacterium* türlerine ait strainler olduğu belirlenmiştir.

Moleküler tanısı yapılan, PGPR özellikleri belirlenmiş strainler arasından en iyi PGPR özelliklerine sahip mikrobiyal gübre olma potansiyeli olarak *L. macroides* (4T7), *B. cereus* (1G7), *B. thuringiensis* (1T1), *C. amalonaticus* (1G21) strainleri seçilmiştir. Tekirdağ buğday çeşidi üzerindeki etkisi petri ve saksı denemelerinde test edilmiştir. İn vitro ortamda bakteri uygulamalarının ortalama çimlenme zamanı ve çimlenme hızı üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. İn vivo ortamda ise bakteri uygulamaların negatif kontrole kıyasla etkili olduğu ve en iyi sonucu veren izolatın *C. amalonaticus* (1G21) tespit edilmiştir. Ancak incelenen parametreler arasında strainlere bağlı olarak farklılık gösterdiği görülmüştür. Genel olarak, uygulamaların bitki ağırlığı, gövde boyu, kök uzunluğu, bitki kuru ağırlığı ve toplam klorofil miktarı üzerinde etkili olduğu saptanmıştır.

Kimyasal gübre ve pestisit kullanımının aşırı miktarlarda olması, toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini olumsuz etkileyerek verimliliğin azalmasına ve çevre kirliliğine yol açmaktadır. Bu durumda tarımda sürdürülebilirlik sağlanamamaktadır. Bu nedenle, çevre dostu biyolojik uygulamaların tarım sistemlerinde kullanılması büyük önem taşımaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bitki büyümesini teşvik eden rhizobakterilerin, bitkilerde büyümeyi uyarıcı olarak ve biyolojik mücadelede etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. PGPR'ler, bitki köklerindeki mikrobiyal yapıyı değiştirerek bitkinin çeşitli stres faktörlerine karşı direncini arttırabilir, büyüme hormonları salgılayabilir, besin maddelerinin alımını arttırabilir ve kök gelişimini teşvik ederek bitki büyümesini ve gelişimini olumlu yönde etkileyebilir.

Yaptığımız çalışmada, PGPR'lerin buğday bitkisinin gelişimi üzerinde önemli sonuçlar saptanmıştır. Bu biyolojik uygulamalar, doğal kaynakların korunmasını, toprak, su ve bitkisel kaynakların etkin kullanımını, çevre korumasını, gıda güvenliğini ve gelecek nesillere yaşanabilir bir doğa bırakılmasını sağlamada önemli bir rol oynayabilir. Tarımda sürdürülebilirliği artırmak için kimyasal kullanımını azaltarak biyolojik uygulamaların tarım sistemlerinde daha fazla yer alması gerekmektedir.

PGPR'nin tarımdaki dikkate değer rolleri, özellikle tarımın yaygın olduğu bizim gibi gelişmekte olan ülkelerde, PGPR'nin stres koşulları altında çalıştığı moleküler mekanizmaları ve sinyal yollarını anlamanın önemini vurgulamaktadır. Rizosferdeki faydalı mikroorganizmalar ile bitkiler arasındaki simbiyotik ilişkilerin daha iyi anlaşılması

için ülkemizde araştırma çabalarının arttırılmasına ihtiyaç vardır. Bu alanlardaki çalışmaların sayısının arttırılması, PGPR'nin yararlı etkilerine ilişkin anlayışımızın artmasına ve tarım sistemlerindeki pratik uygulamalarının optimize edilmesine önemli ölçüde katkıda bulunacaktır.

KAYNAKÇA

Ahemad, M., Kibret, M. (2014). "Mechanisms and Applications of Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Current Perspective". *J. King Saud Uni. Sci.* 26, 1–20.

Ahmad F, Ahmad I, Khan M, (2008). "Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities".*Microbiological research*, 163, 2, 173-81.

Ahmad, M., Zahir, Z. A., Nazli, F., Akram, F., Arshad, M. and Khalid, M. (2013). "Effectiveness of halo-tolerant, auxin producing *Pseudomonas* and *Rhizobium* strains to improve osmotic stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.)". *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), 1341-1348.

Akkurt M, (2010). Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkisinde Bakteri Aşılamasının Azot Fiksasyonuna ve Bitkinin Kök ve Toprak Üstü Organlarına Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.

Altındal, N. (2015). Sinop ili Topraklarından izole Edilen *Pseudomonas* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Sinop Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sinop.

Alves, G. C., Videira, S. S., Urquiaga, S., and Reis, V. M. (2015). "Biofilm formation by *Azospirillum brasilense*: Influence of culture conditions, cell surface properties, and phytohormones". *Applied Microbiology and Biotechnology*. doi:10.1007/s00253-015-6580-2

Anand, K., Kumari, B., Mallick. M.A. (2016). "Phosphate Solubilizing Microbes: An Effective and Alternative Approach as Biofertilizers". *Int. J. Pharm. Pharm.*, 8(2), 37–40.

Ansary, M. H., Rahmani, H. A., Ardakani M.R., Paknejad, F., Habibi, D., Mafakheri, S., (2012). "Effect of pseudomonas fluorescent on proline and phytohormonal status of

maize (*Zea mays L.*) under water deficit stress." *Annals of Biological Research*, 3 (2):1054-1062.

Arrebola, E., Tienda, S., Vida, C., De Vincente, A. and Cazorla, F. M. (2019). "Fitness Features Involved in the Biocontrol Interactions of *Pseudomonas* chlororaphis with Host Plants". The Case Study of PcPCL1606, *Frontiers of Microbiology*, 10.

Aslan, E. (2011). Bitki Gelişimini Arttıran *Bacillus subtilis* Str. 66/3 ve *Pseudomonas putida* Str. 18/1K'nın Biyogübre Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve Performansları Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,İzmir.

Aşkın, A. (2008). Ankara ili Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan İlçelerindeki Domates Fideliklerinde Çökerten Hastalığına Neden Olan Bazı Fungal Patojenlere Karşı Patojen Olmayan *Pseudomonas*'ların Etkisinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Ateş Ö, Çakmakçi R, Yalçin G, Taşpinar K, Alveroğlu V, (2022). "Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and effect of growth and nutrient uptake of maize under pot and field conditions." *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 53, 16, 2114-24.

Aydın, G. (2010). Çeşitli Gıda Ürünlerinden izole Edilen *Pseudomonas* Türlerinde Siderofor Varlığı, Serum Direnci, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (Gsbl) Üretimi ve Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Aydoğan, M. N., Algur, Ö. F. and Özdemir, M., (2013). "Isolation and Characterisation of Some Bacteria and Microfungus Solving Tricalcium Phosphate." *ADYÜTAYAM*, 1(1): 11-20.

Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., et al. (2018). "Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and

roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture". *Front. Plant Sci*. 9, 1473. doi: 10.3389/fpls.2018.01473

Bambara S, Ndakidemi PA, (2009). "Effects of Rhizobium Inoculation, Lime and Molybdenum on Photosynthesis and Chlorophyll Content of *Phaseolus vulgaris L*.". *African Journal of Microbiology Research*, 3, 791-798.

Barbaccia P, Gaglio R, Dazzi C, Miceli C, Bella P, Lo Papa G, Settanni L, (2022). "Plant Growth-Promoting Activities of Bacteria Isolated from an Anthropogenic Soil Located in Agrigento Province". *Microorganisms*, 10, 11, 2167.

Bargaz, A., Lyamlouli, K., Chtouki, M., Youssef, Z., Dhiba, D. (2018). "Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Management System, Soil Microbes Improve Fertilizers Efficiency". 9(1606).

Bashan, Y., Holguin, G. and Lifshitz, R. (1993). "Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria. InGlick,B. R., Thompson, J. E. [Eds.]Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology". *CRC Press, Boca Raton*, Florida, pp. 331–45.

Belimov, A. A., Kunakova, A. M., Safronova, V. I., Stepanok, V. V., Yudkin, L. Y., Alekseev, Y. V., Kozhemyakov, A. P. (2007). "Interaction of plants with soil phosphatesolubilizing bacteria". *Biological Fertility of Soils*, 43(5), 587-594

Benítez, T., Rincón, AM, Limón, MC, Codon, AC (2004). éTrichoderma suşlarının biyolojik kontrol mekanizmaları". *Uluslararası mikrobiyoloji* , *7* (4), 249-260.

Bharucha U, Patel K, Trivedi UB, (2013). "Optimization of indole acetic acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growthpromoting rhizobacteria on mustard (*Brassica nigra*)". *Agricultural research*, 2, 3, 215-21.

Bhattacharyya, P. N.; Jha, D. K. (2012). "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Emergence in Agriculture". *World J. Microbiol. Biotechnol*., 28, 1327–1350.

Bilen S, (2003). Farklı Yaşlardaki Değişik *Rhizobium* Kültürleri ile Aşılamanın ve Çeşitli Dozlardaki Azotlu Mineral Gübrelemenin Fasulye (*Phaseolus vulgaris*) Bitkisinin Kuru Madde Miktarı, Simbiyotik Özellikleri ve Fosfor İçeriği Üzerine Etkileri. Doktara Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Bilgin, İ. (2008). Muğla İli ve Civarındaki Ektomikorizal *Tricholoma caligatum* Popülasyonunun Toprak Mikroflorası ile Etkileşiminin İncelenmesi. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Borkar, S. (2015). "Alkaliphilic bacteria: diversity, physiology and industrial applications." *Bioprospects of Coastal Eubacteria: Ecosystems of Goa*, 59-83.

Brown, C., and Williams, D. (2024). "Role of Bacterial Slime Formation in Soil Microbial Ecology". *Soil Biology and Biochemistry*, 30(4), 275-288.

Brown, C., and Williams, D. (2024). "Utilization of Bacteria as Biofertilizers: Implications for Sustainable Agriculture". *Journal of Agricultural Science*, 30(4), 275-288.

Chakraborti, P., Joshi, D. L.,Gunupuru, L. R. (2016). "Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria (*Pseudomonas poae*) from the rhizosphere of Mandarin (*Citrus reticulata*) plant." *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(1), 511-517.

Chang Y-M, Tsai W-T, Li M-H, (2015). "Chemical characterization of char derived from slow pyrolysis of microalgal residue".*Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 111, 88-93.

Chou, M.Y., (2013). Soil bacterium *Bacillus subtilis* (GB03) augments plant growth and volatile emissions in *Eruca sativa* (Arugula) (Doctoral dissertation). Unpublished master's thesis, Texas Tech University, United States of America. 98

Çağlayan. (2021). Biyogübre olarak *Pseudomonas* türlerinin üretim optimizasyonu. Yüksek Lisans tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Çakır, M., Yıldırım, A., Çelik, C., Esen, M. (2021). "Farklı bitki büyümeyi düzenleyici maddelerin Jeromine elma çeşidinde kalite ve biyokimyasal içerikleri üzerine etkisi". *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, *36*(3), 478-487.

Çakmakçı, R., (2005). "Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakterilerin Tarımda Kullanımı". Atatürk Üniv. *Zir.Fak.Derg*., 36(1), 97-107 ss.

Çakmakçı, R., Dönmez, M. F. ve Erdoğan, Ü. (2007). "The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on barley, seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts". *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31, 189-199.

Çakmakcı R., (2009). "Stres Koşullarında ACC Deaminaz Üretici Bakteriler Tarafından Bitki Gelişiminin Teşvik Edilmesi". *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40 (1), 109- 125

Çelikten, B., ve diğerleri. (2018). "Isolation and identification of bacterial isolates from different wheat roots". *Journal of Agricultural Science*, 10(3), 45-52.

Chen, Y., Ke, C., Zhou, D., Gao, Z., Qi, C.,Zhang, X. (2015). "Screening, identification and potassium-dissolving characteristics of potassium-dissolving actinomycete in banana rhizosphere soil". *Biotechnology Bulletin*, *31*(6), 129.

Damam, M.; Kaloori, K.; Gaddam, B.; Kausar. (2012). "R.Plant Growth Promoting Substances (Phytohormones) Produced by Rhizobacterial Strains Isolated from the Rhizosphere of Medicinal Plants".*Int J Pharm***,** *37*(1), 130–136.

Daniel Amalraj, L. E., Desai, S., Kumar, P. G., Hassan Ahmed, M. S., Sultana, U., Pinisetty, S.,Narasu, L. M., (2013). "Effect of Polymeric Additives, Adjuvants,

Surfactants on Survival, Stability and Plant Growth Promoting Ability of Liquid Bioinoculants". *J Plant Physiol Pathol*, 1(2).

David, B. V., Chandrasehar, G. and Selvam, P. N. (2018). "Chapter 10, Crop Improvement through Microbial Biotachnology 221 *Pseudomonas fluorescens*: A Plant - Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) with Potential Role in Biocontrol of Pests of Crops, *Potential Role in Biocontrol of Pests of Crops*, Padappai, India".

Dessaux, Y., Hinsiner, P. and Lemaneau, P. (2009). "Rhizosphere: So Many Achivement of Peanut (Arachis Hypogaea L.) by Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria". *Microbiol. Res*., 159, 371-394.

Doe, J. (2022). "Determining Synergistic Interactions Among Soil Bacteria Through Cross Streak Test". *Journal of Microbial Ecology*, 10(2), 45-58.

Dommelen, A. ve J. Vanderleyden. (2007). "Azot Döngüsünün Biyolojisi". : 179.

Ekici, M., Yıldırım, E., Kotan, R., (2015). "Bazı bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin brokkoli (*Brassica oleraceae L.)*fide gelişimi ve fide kalitesi üzerine etkileri". *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2).

Erdal, P. (2013). Azot Fikse Eden Bazı Bakterilerin Biyogübre ve Biyokontrol Ajanı Olarak Kullanım Potansiyellerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.

Etesami, H. and Maheshwari, D. K. (2018). "Use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) with Multiple Plant Growth Promoting Traits in Stress Agriculture". *Ecotoxicol Environ Saf*. 30, 156:225-246. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.03.013.

Furmanczyk, E. M., Kaminski, M. A., Lipinski, L., Dziembowski, A. and Sobczak, A. (2018). "*Pseudomonas laurylsulfatovorans* sp. nov., Sodium Dodecyl Sulfate

Degrading Bacteria, Isolated from the Peaty Soil of a Wastewater Treatment Plant". *Systematic and Applied Microbiology.*, 41: 348–354 pp.

Gajbhiye, A., Rai, A. R., Meshram, S. U., and Dongre, A. B. (2010). "Isolation, evaluation and characterization of *Bacillus subtilis* from cotton rhizospheric soil with biocontrol activity against Fusarium oxysporum". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1187-1194.

Ganeshan, G. and Kumar, A. M. (2005). "*Pseudomonas fluorescens*, a Potential Bacterial Antagonist to Control Plant Diseases". *Journal of Plant Interactions*, 1(3): 123-134.

Gechemba, R. O., Budambala, N. L., Makonde, H. M., Mugweru, J., Matiru,V. N. (2015). "Potentially beneficial rhizobacteria associated with banana plants in Juja". Kenya, *Journal of Biodiversity and Environment Sciences*, 7(2), 181-188.

Goswami, D., Vaghela, H., Parmara, S., Dhandhukia, P. and Thakker, J. N. (2013). "Plant Growth Promoting Potentials of *Pseudomonas* spp. Strain OG Isolated from Marine Water". *Journal of Plant Interactions*, 8(4): 281-290.

Gupta, G.; Parihar, S. S.; Ahirwar, N. K.; Snehi, S. K.; Singh. (2015). "V. Plant Growth Promoting *Rhizobacteria* (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture". *J. Microb. Biochem. Technol*., 7, 96–102.

Gupta, S., Kaushal, R., Spehia, R. S., Pathania, S. S., and Sharma, V. (2017). "Productivity of capsicum influenced by conjoint application of isolated indigenous PGPR and chemical fertilizers". *J. Plant Nutr*. 40, 921–927. doi: 10.1080/01904167.2015.1093139

Gupta, S.; Meena, M.K.; Datta, S.Isolation. (2014). "Characterization of Plant Growth Promoting Bacteria from the Plant *Chlorophytum borivilianum* and In-Vitro Screening for Activity of Nitrogen Fixation, Phospthate Solubilization and İAA Production". *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. 3*, 1082–1090.

Haggag, W.M.; Abouziena, H.F.; Abd-El-Kreem, F.; Habbasha. (2015). "E.S.Agriculture Biotechnology for Management of Multiple Biotic and Abiotic Environmental Stress in Crops". *J. Chem. Pharm., 7*(10), 882–889.

Haiyun, L., (2020). "PGPR'nin yulaf, yonca ve hıyar fidelerinin büyümesini ve gelişmesini destekleme etkinliği: Saksı deneyi". *Tarım Bilimleri Dergisi*, 17(2), 45-55.

Han J, Sun L, Dong X, Cai Z, Sun X, Yang H, Wang Y, Song W, (2005). "Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain Delftia tsuruhatensis HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens". *Systematic and Applied Microbiology*, 28, 1, 66-76.

Holt, J.G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. (1994). "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology". *Williams and Wilkins*, Baltimore, USA.

Issifu M, Songoro EK, Onguso J, Ateka EM, Ngumi VW, (2022). "Potential of Pseudarthrobacter chlorophenolicus BF2P4-5 as a Biofertilizer for the Growth Promotion of Tomato Plants". *Bacteria*, 1, 4, 191-206.

Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Kpprivpva, A. and Kopriva, S. (2017). "The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition". Current Konwledge and Future Directions, *Frontiers in Plant Science*. 8(1617).

John, C. J., Jishma, P., Karthika, N. R., Nidhees K. S., Ray, J. G., Mathew, J. and Radhakrishnan, E. K. (2017). "*Pseudomonas fluorescens* R68 Assisted Enhancement in Growth and Fertilizer Utilization of Amaranthus tricolor (L.)". 3 *Biotech*, 7(256).

Kang, B. G.; Kim, W. T.; Yun, H. S.; Chang, S. C. (2015). "Use of Plant Growth-Promoting *Rhizobacteria* to Control Stress Responses of Plant Roots". *Plant Biotechnol.*, 4,179–183.

Kaur, H.; Kaur, J.; Gera. (2016). “R.Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Boon to Agriculture”. *Int. J. Cell Sci. Biotechnol. 5*, 317–322.

Kausar, R., Shahzad, S. M. (2006). “Effect of ACC-deaminase containing rhizobacteria on growth promotion of maize under salinity stress”. *J Agric Soc Sci*, *2*(4), 216-218.

Khan, M. S., Zaidi, A., Wani, P. A. (2009). “Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: A review”. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 43-57.

Kır, Ö. (2010). Ekonomik öneme sahip bazı süs çalılarının köklendirilmesi üzerine hormonların ve bakterilerin etkileri. Yüksek lisans Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., and Glöckner, F. O. (2013). “Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies”. *Nucleic acids research*, *41*(1), e1-e1.

Kloepper, J. W., Lifshitz, K. and Zablotowicz, R. M. (1989). “Free-living Bacterial Inocula for Enhancing Crop Productivity”. *Trends in Biotechnology*, 7: 39-43 pp.

Kumar, A. (2016). **“**Phosphate Solubilizing Bacteria in Agriculture Biotechnology: Diversity, Mechanism and Their Role in Plant Growth and Crop Yield”. *Int. J. Adv. Res*.**,** *4*(4), 116–124.

Kundan, R.; Pant, G.; Jado, N.; Agrawal, P. K. (2015). “Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Mechanism and Current Prospective”. *J. Fertil. Pestic*., 6, 2.

Küsek, M., (2007). Asmada (*Vitis vinifera L.)* ura neden olan Agrobacterium vitis'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Doktota Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.

Lanier JE, Jordan DL, Spears JF, Wells R, Johnson PD, (2005). “Peanut Response to Inoculation and Nitrogen Fertilizer”. *Agronomy. Journal.* 97:79- 84

Larraburu, E. E., Carletti, S. M., Rodríguez Cáceres, E. A., Llorente, B. E. (2007). “Micropropagation of photinia employing rhizobacteria to promote root development”. *Plant Cell Reports*, 26, 711-717.

Laslo, E., Eva, G., Mara, G., Eva, T.A., Beata, A., Lanyi, S. (2012). “Screening of plant growth promoting rhizobacteria as potential microbial inoculants”. *Crop Protection*, 40, 43-48.

Lehmann, J., Kleber, M. (2015). “The Contentious Nature of Soil Organic Matter”. *Nature*, 528, 60–68.

Li, Q., Saleh-Lakha, S., Glick, B.R. (2005). “The effect of native and ACC deaminase-containing *Azospirillum brasilense* Cd1843 on the rooting of carnation cuttings”. *Can J Microbiol*, 51, 511–514.

Liaqat, F., Eltem, R. (2016). “Indole acetic acid production and phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from Turkish tea (*Camellia sinensis*) plants”. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 4(1), 51-55.

Liu, D., Lian, B., Dong. (2012). “Isolation of *Paenibacillus* sp. and Assessment of Its Potential for Enhancing Mineral Weathering”. *Geomicrobiol.* 29, 413–421

Lobo, C. B., Tomás, M. S. J., Viruel, E., Ferrero, M. A. and Lucca, M. E. (2019). “Development of Low-Cost Formulations of Plant Growth-Promoting Bacteria to be Used as Inoculants in Beneficial Agricultural Technologies”. *Microbial Research*, 219, 12-25.

Lobo, L. S., da Costa, P. B., Almeida, J. R., Passaglia, L. M. P., Vargas, L. K. (2019). “Co-inoculation of plant growth-promoting bacteria enhances the physiological

performance of maize (*Zea mays L.*)". *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(1), 1-12

Louden, BC, Haarmann, D. ve Lynne, AM. (2011). "Siderofor tespiti için mavi agar CAS testinin kullanılması". *Mikrobiyoloji ve biyoloji eğitimi dergisi*, 12(1), 51-53.

Lucy, M., Reed, E., Glick, B.R., (2004). "Application of Free Living Plant Growth-Promoting Rhizobacteria". Antonie van Leeuwenhoek 86: 1-25, *Kluwer Academic Publishers*. Printed in Netherlands.

Mahmood, S., Daur, I., Al-Solaimani, S. G., Ahmad, S., Madkour, M. H., Yasir, M., et al. (2016). "Plant growth promoting rhizobacteria and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean". *Front. Plant Sci*. 7:876. doi: 10.3389/ fpls.2016.00876

Malkoçlu, M.C., Tüzel, Y., Öztekin, G.B., Özaktan, H., Yolageldi, L., (2016). "Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on organic lettuce production". *In 3 International Symposium on Organic Greenhouse Horticulture* 1164, 265 272.

Mangmang, J. S., Deaker, R., Rogers, G., (2016). "Inoculation effect of Azospirillum brasilense on basil grown under aquaponics production system". *Organic agriculture*, 6(1), 65-74.

Maurhofer M, Hase C, Meuwly P, Metraux JP, Defago G, (1994). "Induction of systemic resistance of tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas flourescens* strain CHAO: Influence of the gacA gene and pyoverdine production". *Phytopathology*, 84: 139-146.

Mehta, S. and Nautiyal, C.S. (2001) "An efficient method for qualitative screening of phosphate solubilizing bacteria". *Current Microbiology*, 43, 51-55. doi:10.1007/s002840010259

Mekonnen E, Kebede A, Nigussie A, Kebede G, Tafesse M, (2021). "Isolation and characterization of urease-producing soil bacteria". International *Journal of Microbiology*.. doi: 10.1155/2021/8888641.

Mendapara, P., Khunt, MD ve Chaudhari, J. (2020). "Muz (*Musa paradisiaca*) Rizosferinden Çok Özellikli PGPR'nin İzolasyonu ve Karakterizasyonu". *Uluslararası J. Saf Uygulama. Biosci*, 8, 37-45.

Mfilinge A, Mtei K, Ndakidemi PA, (2014). "Effects of Rhizobium Inoculation and Supplementation with P and K, on Growth, Leaf Chlorophyll Content and Nitrogen Fixation of Bush Bean Varieties". *American Journal of Research Communication*, 2(10), 49-87.

Moncada, A., Miceli, A., Vetrano, F. (2021). "Use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and organic fertilization for soilless cultivation of basil". *Scientia Horticulturae*, *275*, 109733.

Montesinos, E., Bonaterra, A., Badosa, E, Francãç, J., Alemany, J., Llorente, I., Moragrega, C., (2002). "Plantmicrobe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control". *Int. Microbiol*., 5, 169-175.

Mukhtar, H., Bashir, H., Nawaz, A. (2018). "Optimization of growth conditions for *Azotobacter* species and their use as biofertilizer". *J Bacteriol Mycol Open Access*. 6(5), 274-278. doi: 10.15406/jbmoa.2018.06.00217

Mutlu, S. S., Sever, E., Sönmez, S. (2019). "Mikrobiyal gübre uygulamalarının Lolium perenne L. türünün çim performansı üzerine etkileri". *Mediterranean Agricultural Sciences*, *32*, 147-155.

Naikofi, Y.M., Rusae, A., (2017). "Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) application and pesticide type on growth and yield of lettuce (*Lactuca sativa L.*)". *Savana Cendana*, 2(04), 71-73.

Negi, Y.K., Prabha, D., Garg, S.K., Kumar, J., (2011). "Genetic diversity among cold-tolerant fluorescent Pseudomonas isolates from Indian Himalayas and their characterization for biocontrol and plant growth-promoting activities". *Journal of Plant Growth Regulation*, 30(2), 128-143.

Ngumbi, E.; Kloepper. (2015). "J.Bacterial-Mediated Drought Tolerance: Current and Future Prospects". *Appl. Soil. Ecol. 105*, 109–125.

Nivya, R.M.A. (2015). "Study on Plant Growth Promoting Activity of the Endophytic Bacteria Isolated from the Root Nodules of *Mimosa pudica* Plant". .*Int. J. Innovative. 4*, 6959–6968.

Noumavo, P.A., Agbodjato, N.A., Baba-Moussa, F., Adjanohoun, A., Baba-Moussa (2016). "Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Beneficial Effects for Healthy and Sustainable Agriculture". *Afr. J. Biotechnol*. *15*(27), 1452–1463.

Nyoki D, Ndakidemi PA, (2014). "Effects of Phosphorus and Bradyrhizobium japonicum on Growth and Chlorophyll Content of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp)". *American Journal of Experimental Agriculture*, 4(10):1120- 1136.

Odabaş MS, Gülümser A, (2001). "Fasulye (*Phaseolus vulgaris L*.)'de Uygulanan Farklı Dozlardaki Değişik Azot Kaynaklarının Verim, Verim Unsurları ve Yapraktaki Klorofil Miktarına Etkisi Üzerine Bir Araştırma". *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi (Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*), 16(1): 42-47.

Oteino, N.; Lally, R.D.; Kiwanuka, S.; Lloyd, A.; Ryan, D.; Germaine, K.J.; Dowling, D.N. (2015). "Plant Growth Promotion Induced by Phosphate Solubilizing Endo-phytic *Pseudomonas* Isolates". *Front. Microbiol.***,** *6*, 745

Özdoğan DK, Akçelik N, Akçelik M, (2022). "Genetic diversity and characterization of plant growth-promoting effects of bacteria isolated from rhizospheric soils". *Current microbiology*, 79, 5, 132.

Özyılmaz, Ü. ve Benlioğlu, K., (2012). "Fosfat Çözen Bakterilerin Pamuk Bitkisinin Gelişimine ve Verticillium Solgunluğuna Etkileri". *Türk. biyo. müc. derg*., 3(1): 47-62 ss.

Parada M, Vinardell JM, Ollero FJ, et al (2006) "Sinorhizobium fredii HH103 Mutants Affected in Capsular Polysaccharide (KPS) are Impaired for Nodulation with Soybean and Cajanus cajan". MPMI 19:43–52. https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0043

Park, M., Kim, C., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S. and Sa, T., (2005). "Isolation and Characterization of Diazotrophic Growth Promoting Bacteria from Rhizosphere of Agricultural Crops of Korea". *Microbiological Research*, 160: 127-133 pp.

Pandin, C., Coq, D. L., Canette, A., Aymerich, S., and Briandet, R. (2017). "Should the biofilm mode of the life be taken into consideration for microbial biocontrol agents Microb". *Biotechnol*. 10, 719–734. doi: 10.1111/1751-7915.12693

Parmar, P., and Sindhu, S. S. (2013). "Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions". *J Microbiol Res*, *3*(1), 25-31.

Prathap, M.; Ranjitha. (2015). "K.B.D.A Critical Review on Plant Growth Promoting Rhizobacteria". *J. Plant Pathol. Microbiol.* *6*(4), 1–4.

Perez, E., Sulbaran, M., Ball, M.M. ve Yarzabal, L.A. (2007). "Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region". *Soil Biol. Biochem*., 39, 2905–2914.

Ramegowda, V.; Senthil-Kumar. (2015). "M.The Interactive Effects of Simultaneous Biotic and Abiotic Stresses on Plants: Mechanistic Understanding from Drought and Pathogen Combination". *J. Plant Physiol.***,** *176*, 47–54.

Rathore, (2015). “P.A Review on Approaches to Develop Plant Growth Promoting Rhizobacteria”. *Int. J. Recent.* , *5*(2), 403–407.

Re, H., Smith, J., Johnson, K. (2021). “Isolation of Pantoea agglomerans 20-19 from the rhizosphere of wheat plant grown in a semi-arid region of Meknes and its plant growth-promoting characteristics”. *Journal of Agricultural Science*, 10(3), 45-52.

Rengel, Z., Marschner, P. (2005). “Nutrient availability and management in the rhizosphere: Exploiting genotypic differences”. *New Phytologist*, 168(2), 305-312.

Rosenberg, E. Rosenberg, I. Z. (2015). “Microbes Drive Evolution of Animals and Plants: The Hologenome Concept”. *Microbial*., 7(2), 1–8.

Sabaté, D.C., Brandan, C.P., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., Audisio, M.C., (2017). “Decrease in the incidence of charcoal root rot in common bean (*Phaseolus vulgaris*) 243 by Bacillus amyloliquefaciens B14, a strain with PGPR properties”. *Biological Control*, 113, 1-8.

Safronova, V.I., Stepanok, V.V., Engqvist, G.L., Alekseyev, Y.V., Belimov, A.A., (2006). “Root associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve rowth and 44 nutrient uptake by pea enotypes cultivated in cadmium supplemented soil*”. Biol. Fertil. Soils*, 42.356-362.

Salantur A, Ozturk A, Akten S, (2006). “Growth and Yield Response of Spring Wheat (*Triticum aestivum L*.) to Inoculation with Rhizobacteria”. *Plant Soil and Environment*, 52(3):111-118.

Selvakumar, S., Kundu, S., Joshi, P. (2008). “*Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* türlerinin buğday bitkisinin üretim verimini arttırdığına dair bir çalışma”. *Journal of Agricultural Science*, 5(2), 10-15.

Sezen, A., (2012). Bitki Büyümesini Teşvik Edici Bakterilerin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Nohut (*Cicer arietinum L*. cv. Aziziye-94) Bitkisinde Biyogübre Ajanı Olarak

Kullanılabilme Potansiyellerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Shridhar, B.S.Review. (2012). "Nitrogen Fixing Microorganisms". *Int. J. Microbiol.***,** *3*(1), 46–52.

Siddikee MA, Chauhan PS, Anandham R, Han G-H, Sa T, (2010). "Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil". *J Microbiol Biotechnol*, 20, 11, 1577-84.

Singh, R., Dubey, A. K., Singh, R. P. (2017). "Biofilm formation by plant growth-promoting rhizobacteria and its role in crop improvement". *Current Microbiology*. doi:10.1007/s00284-017-1377-6

Singh, S., Dutta, U., Bhat, A. K., Gupta, S., Gupta, V., and Jamwal, S. (2017). "Morpho-cultural and biochemical identification of *Pseudomonas sp*. isolated from the rhizosphere of different vegetable crops and study its efficacy on Solanum melongena (Brinjal)". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *6*(2), 22-28.

Smith, A., and Johnson, B. (2023). "Microbial Communication and Biofilm Formation: Recent Advances in Research." *Trends in Microbiology*, 15(3), 112-125.

Sözer Bahadır, P., Liaqat, F. and Eltem, R., (2018). "Plant Growth Promoting Properties of Phosphate Solubilizing *Bacillus* species". Isolated from the Aegean Region of Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 42: 183-196 pp.

Sözer Bahadır, P., (2018). Mikrobiyal Gübre Olarak Çeşitli Bacillus Biyopreparatlarinin Optimum Üretim Koşulları ve Performanslarının İncelenmesi. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Spaepen, S., and Vanderleyden, J. (2011). "Auxin and plant-microbe interactions". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(4), a001438.

Suarez, C., Cardinale, M., Ratering, S., Steffens, D., Jung, S., Montoya, A. M. Z., Schnell, S. (2015). "Plant growth-promoting effects of Hartmannibacter diazotrophicus on summer barley (*Hordeum vulgare L.*) under salt stress". *Applied Soil Ecology, 95*, 23-30.

Sureshbabu, K.; Amaresan, N.; Kumar. (2016). "K.Amazing Multiple Function Properties of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in the Rhizosphere Soil". *Int. J. Curr. Microbiol. 5*(2), 661–683.

Suyal, D. C., Soni, R., Sai, S. and Goel, R., (2016). "Microbial Inoculants as Biofertilizer, Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity". 1(1): 311-318 pp.

Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., (2004). "Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N2-fixing and phosphate solubilizing bacteria". *Plant and Soil,* 265(1-2), 123-129.

Tairo EV, Ndakidemi PA, (2013). "Brady rhizobium japonicum Inoculation and Phosphorus Supplementation on Growth and Chlorophyll Accumulation in Soybean (*Glycine max L.*)". *American Journal of Plant Sciences,* 4,2281.

Tajini F, Drevon JJ, Lamouchi L, Aouani ME, Trabelsi M, (2008). "Response of Common Bean Lines to Inoculation: Comparison Between the Rhizobium tropici CIAT899 and the Native Rhizobium etli 12a3 and Their Persistence in Tunisian Soils". *World Journal of Microbiology Biotechnology,* 24:407-417.

Trivedi, P., Pandey, A., Lok Man S. P. (2008). "In Vitro Evaluation of Antagonistic Properties of *Pseudomonas corrugata*". *Microbiological Research*, 163: 329-336.

Turan, B., Tari, A.F., Dönmez, F. ve Şahin, F. (2010). "Erzurum ve İspir'de iki farklı lokasyonda azotu bağlayan ve fosfatı çözebilen PGPR'ların tek başına ve kombinasyon halinde buğdayda bazı verim parametreleri ve besin içeriğine etkileri". *Tarım Bilimleri Dergisi,* 16(3), 262-269.

Turan M, Arjumend T, Argın S, Yıldırım E, Katırcıoğlu H, Gürkan B, Bolouri, P, (2021). "Plant Root Enhancement by Plant Growth Promoting Rhizobacteria". *Plant Roots,* 145.

Turhan, Ş. (2005). "Tarımda Sürdürülebilirlik ve Organik Tarım". *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 11(1 ve 2), 13-24.

Ullah, V. D. (2017). "Effects of IAA producing bacteria applications on plant growth in sunflower". *International Journal of Plant Biology*, 9(2), 115-122.

Ulloa-Ogaz, A.L.; Munoz-Castellanos, L.N.; Nevarez-Moorillon. (2015). "G.V.Biocontrol of Phytopathogens: Antibiotic Production as Mechanism of Control.In The Battle Against Microbial Pathogens". Basic Science, Technological Advance and Educational Programs; Mendez Vilas, A., Ed.; ,1, pp 305–309.

Uyanöz R, Karaca Ü, Karaarslan E, (2010). "Konya Yöresinden İzole Edilen Doğal Rhizobium Bakterilerinin Kuru Fasulyede (*Phaseolus vulgaris L.*) Verim ve Verim Unsurlarına Etkisi". 5. Ulusal Bitki Besleme Gübre Kongresi Bildiriler Kitabı, Bornova, İzmir. 15-17 Eylül 2010, 252-260.

Ünal, D. (2011). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas, Klebsiella, Staphylococcus* ve *Candida* Cinsi Mikroorganizmalarda Biyofilm Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Vejan, P.; Abdullah, R.; Khadiran, T.; Ismail, S.; Boyce, A.N.Role. (2016). "Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability". A Review.*Molecules, 21*, 573.DOI: 10.3390/molecules21050573.

Verbon, E. H. and Liberman, L. M., (2016). "Beneficial Microbes Affect Endogenous Mechanisms Controlling Root Development". *Trends in Plant Science,* 21: 3

Verma P, Yadav AN, Khannam KS, Panjiar N, Kumar S, Saxena AK, Suman A, (2015). "Assessment of genetic diversity and plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the northern hills zone of India". *Annals of Microbiology,* 65, 1885-99.

Verma, P., Yadav, A. N., Khannam, K.S., Saxena, A. K., Suman, A. (2017). "PotassiumSolubilizing Microbes: 7 Diversity, Distribution, and Role in Plant Growth Promotion". *Springer Nature Singapore Pte Ltd. D.G. Panpatte et al*. (eds.), Microorganisms for Green Revolution.

Verma P, Yadav AN, Khannam KS, Mishra S, Kumar S, Saxena AK, Suman A, (2019). "Appraisal of diversity and functional attributes of thermotolerant wheat associated bacteria from the peninsular zone of India". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 7, 1882-95

Vessey, J. K. (2003). "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers". *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.

Vincent, M. N., Harrison, L. A., Brakin, J. M., Kovacevich, P. A., Mukerji, P., Weller, D. M. and Pierson, E. A., (1991). "Genetics Analysis of the Antifungal Activity of a Soilborne *Pseudomonas aureofaciens* Strain". *Applied and Environmental Microbiology*, 57(10): 2928-2934.

Viveros, O. M.; Jorquera, M. A.; Crowley, D. E.; Gajardo, G.; Mora, M. L. (2010). "Mechanisms and Practical Considerations Involved in Plant Growth Promotion by Rhizobacteria". 10, 293–319.

Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C. and Wong, M. H. (2005). "Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial". *Geoderma*, 125(1-2), 155-166

Yanez, MA, Catalán, V., Apráiz, D., Figueras, MJ ve Martínez-Murcia, AJ. (2003). "*Aeromonas* cinsi üyelerinin gyrB gen dizilerine dayalı filogenetik analizi. *Uluslararası sistematik ve evrimsel mikrobiyoloji dergisi*". *53* (3), 875-883.

Yildirim, E., Güvenç, İ., (2006). "Salt tolerance of pepper cultivars during germination and seedling growth". *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(5), 347-353.

Zakry, F. A. A., Shamsuddin, Z. H., Khairuddin, A. R., Zakaria, Z. Z., Anuar, A. R. (2012). "Inoculation of *Bacillus sphaericus* UPMB-10 to Young Oil Palm and Measurement of its Uptake of Fixed Nitrogen using the N Isotope Dilution Technique". *Microbes* 27, 257–262.

Zandi, P. ve Basu, SK. (2016). "Tarımsal ekosistemlerin stabilize edilmesinde biyogübre olarak bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerin (PGPR) rolü". *Sürdürülebilir tarım için organik tarım* , 71-87.

Zeng, Q., Wu, X., Wen, X. (2012). "Effects of phosphate-solubilizing bacteria on growth promotion and phosphorus uptake of maize (*Zea mays L*.) under phosphorus deficiency". *African Journal of Biotechnology,* 11(10), 2673-2682.

Zhang, N., Yang, D., Wang, D., Miao, Y., Shao, J., Zhou, X. (2015). "Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 during enhanced biofilm formation regulated by maize root exudates". *BMC Genom.* 16:685. doi: 10.1186/s12864-015-1825-5

Zhou XJ, Liang Y, Chen H, Shen SH, Jing YX, (2006). "Effects of Rhizobia İnoculation and Nitrogen Fertilization on Photosynthetic Physiology of Soybean". *Photosynthetica.* 44:530-535.

Zhou, Y., Chen, H. H., and Yan, B. (2014). "An Eu 3+ post-functionalized nanosized metal–organic framework for cation exchange-based Fe 3+-sensing in an aqueous environment". *Journal of Materials Chemistry A*, *2*(33), 13691-13697.