

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı Endemik Bitkilerine Ait Bitki Büyümesini
Teşvik Eden Bakterilerin Tanımlanması**

Fikriye Mehtap ŞEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞUBAT 2024

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı Endemik Bitkilerine Ait Bitki Büyümesini
Teşvik Eden Bakterilerin Tanımlanması**

Fikriye Mehtap ŞEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞUBAT 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı Endemik Bitkilerine Ait Bitki Büyümesini
Teşvik Eden Bakterilerin Tanımlanması**

Fikriye Mehtap ŞEN
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2022-5924 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ŞUBAT 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı Endemik Bitkilerine Ait Bitki Büyümesini
Teşvik Eden Bakterilerin Tanımlanması

Fikriye Mehtap ŞEN
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 19/02/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK (Danışman)
Prof. Dr. Ahmet AKSOY
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÖZAKTAŞ

ÖZET

Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı Endemik Bitkilerine Ait Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakterilerin Tanımlanması

Fikriye Mehtap ŞEN

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK

Şubat 2024; 62 sayfa

Dünya nüfusunda meydana gelen artış nedeniyle mevcut gıda üretiminin insanların beslenmesi için yetersiz hale geleceği öngörülmektedir ve beslenme ihtiyacının karşılanmasında tarımsal verimliliğin artırılması çok önemli bir faktör olarak yer almaktadır. Ancak günümüzde biyotik (patojenler, yabancı otlar vb.) ve abiyotik (tuzluluk, kuraklık vb.) stres faktörleri tarımda verimin ve kalitenin düşmesine neden olmaktadır. Bunun yanı sıra tarımda verimi arttırmak için bilinçsiz olarak kullanılan kimyasallar çevre kirliliğine, doğal dengenin bozulmasına ve mikroorganizmaların zarar görmesine neden olmaktadır. Bahsettiğimiz artan gıda talebini karşılamak için farklı stratejilere ve yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bakteriler toprağın hayati bileşenleri olup toprak ekosisteminde besin dönüşümü gibi birçok biyolojik sürece katılmaktadırlar. Bakteriler bitki büyüme düzenleyicileri olarak bilinen fosfat, siderefor, 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz, indol-3 asetik asit (IAA) üretimi, bitkilerin fitopatojenlere karşı korunması ve ksenobiyotiklerin (pestisitler gibi) parçalanması gibi birçok mekanizma ile bitki gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu bakteriler bitkinin kök, yaprak ve gövde gibi kısımlarında bulunup Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB) olarak isimlendirilmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında serpantin topraklarda yetişen Çam Dağarcığı (*Noccaea cariensis*) Parolly, Nordt & Aytac ve Kaya Dağarcığı Aytaç (*Noccaea camlikensis*), Nordt & Paroly bitkilerinden endofitik bakterilerin ve rizobakterilerin izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen bu bakterilerin siderofor üretimleri, fosfat çözme kapasiteleri, ACC deaminaz aktiviteleri ve IAA üretime kapasiteleri araştırılarak bakterilerin PGPB özelliği değerlendirilmiştir. İlaveten bu bakterilerin çoğunluğunun imipenem, tetrasiklin, kanamisin ve kloromfenikol antibiyotikleri ile nikel, alüminyum, krom ve bakır ağır metallerine karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan testler sonucunda PGPB özelliği gösteren 49 koloni seçilmiş ve bunların moleküler tanımlamaları 16S rRNA gen bölgelerinin DNA dizi analizi yapılarak ve aynı bölgeye ait proteinlerin lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF) kullanılarak yapılmıştır. Tanımlama sonucunda izole edilen bakterilerin *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Peribacillus*, *Priestia*, *Bacillus* ve *Gottfriedia* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELE: ACC deaminaz, Fosfat çözünürlüğü, İndol üretimi, *Noccaea camlikensis*, *Noccaea cariensis*, PGPB, Siderofor üretimi

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK
Prof. Dr. Ahmet AKSOY
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÖZAKTAŞ



ABSTRACT

Identification of Plant Growth Promoting Bacteria from Kaya Dagarcığı and Cam Dagarcığı Endemic Plants

Fikriye Mehtap ŞEN

Master Thesis, Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK

February 2024; 62 pages

Due to the increase in the world population, it is predicted that current food production will no longer be sufficient to feed people, and increasing agricultural productivity is a very important factor in meeting nutritional needs. Nowadays, however, biotic (pathogens, weeds, etc.) and abiotic (salinity, drought, etc.) stress factors are leading to a decline in agricultural productivity and quality. In addition, chemicals used unconsciously to increase agricultural productivity led to environmental pollution, disruption of the natural balance and damage to microorganisms. Various strategies and approaches are required to meet the increasing demand for food mentioned above.

Bacteria are vital components of the soil and are involved in many biological processes such as nutrient transformation in the soil ecosystem. Bacteria contribute to plant development through many mechanisms such as the production of phosphate, siderophore, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, indole-3 acetic acid (IAA), known as plant growth regulators, protection of plants from phytopathogens and degradation of xenobiotics (such as pesticides). These bacteria are found in parts of the plant such as roots, leaves and stems known as Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB).

Within the scope of this thesis study, endophytic bacteria and rhizobacteria were isolated from Cam Dagarcığı (*Noccaea cariensis*) Parolly, Nordt & Aytac and Kaya Dagarcığı Aytac (*Noccaea camlikensis*), Nordt & Paroly plants grown in serpentine soil. The siderophore production, phosphate solubilisation capacity, ACC deaminase activity, and IAA production capacity of these isolated bacteria were investigated and the PGPB property of the bacteria was evaluated. Additionally, most of these bacteria were found to be resistant to the antibiotics imipenem, tetracycline, kanamycin, and chloramphenicol, as well as to the heavy metals nickel, aluminium, chromium, and copper. As a result of the tests, 49 colonies with PGPB characteristics were selected and their molecular identification was carried out by DNA sequence analysis of the 16S rRNA gene regions and by laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) of the proteins belonging to the same region. As a result of the identification, it was determined that the isolated bacteria were found to belong to the genera *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Peribacillus*, *Priestia*, *Bacillus*, and *Gottfriedia*.

KEYWORDS: ACC deaminase, Phosphate solubility, Indole production, *Noccaea camlikensis*, *Noccaea cariensis*, PGPB, Siderophore production

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK
Prof. Dr. Ahmet AKSOY
Asst. Prof. Dr. Tuğba ÖZAKTAŞ



ÖNSÖZ

Artan insan nüfusuyla birlikte çevreye verilen hasarın da artması küresel gıda üretiminin yakın bir zamanda yetersiz hale geleceğine işaret etmektedir. Bu nedenle tarımsal verimliliği arttırmak ve sürdürülebilir hale getirmek oldukça önemlidir. Tüm bu bilgilerin ışığında çok uzak olmayan bir gelecekte Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakterilerin (PGPB) tarım, bahçecilik, ormancılık ve çevre temizleme stratejilerinde kimyasal uygulamaların yerini almaya başlayacağı öngörülmektedir. PGPB sahip oldukları etki mekanizmaları sayesinde bitki büyümesini desteklemektedir. Bu tez çalışması kapsamında PGPB aktivitesine sahip bakterilerin belirlenmesi ve tarımda verimin artırılması için bitkilere uygulanması açısından öncü bir çalışma olacaktır.

Bana tez çalışmam kapsamında her türlü desteğini esirgemen, yönlendirici fikirleriyle ve düşünceleriyle yol gösteren sayın danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK'e, (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü) bitki materyallerinin teminini sağlayan sayın Prof. Dr. Ahmet AKSOY ve Arş. Gör. Uğurcan BARAN'a (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü) ve tezime olan katkılarından dolayı sayın Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÖZAKTAŞ'a (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü) sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim. Benden her türlü yardımını esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarım Uzman Biyolog Eda DELİK ve Uzman Biyolog Berfin EROĞLU'na, Uzman Biyolog Yasemin GAYA ve Uzman Biyolog Ayşe ACAR'a teşekkür ederim.

Bu çalışmamı destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje kodu: FYL- 2022-5924) ve ayrıca bursiyer olarak destek aldığım TÜBİTAK 2210-A program kodlu Genel Yurt İçi Yüksek Lisans Programına teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreç kapsamında benden her türlü desteğini esirgemeyen ve en büyük şansım olan nişanlıma, annem Sabire ŞEN'e, babam Haydar ŞEN'e, abilerim Deniz ŞEN'e ve Celil ŞEN'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	vi
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteriler (PGPB)	4
2.2. ACC Deaminaz Enzimi	5
2.3. İndol-3-Asetik Asit	6
2.4. Siderofor Üretimi.....	6
2.5. Fosfat Çözünürlüğü	8
2.6. Azot Fiksasyonu	8
2.7. Antibiyotik Üretimi	9
2.8. Litik Enzim Üretimi.....	9
2.9. Hiperakümülatör Bitkiler	10
3. MATERYAL VE METOT.....	12
3.1. Çalışma Kapsamında Kullanılan Bitkiler	12
3.2. Bakteri İzolasyonu.....	12
3.2.1. Rizobakteri İzolasyonu.....	12
3.2.2. Endofitik Bakteri İzolasyonu	12
3.3. İndol Asetik Asit (IAA) Testi	12
3.4. Siderofor Üretimi.....	13
3.5. Fosfat Çözünürlüğü	13
3.6. ACC Deaminaz Aktivitesi	13
3.7. Ağır Metal Direncinin Belirlenmesi	14
3.8. Antibiyotik Direnci.....	14
3.9. PGPB Bakteri Seçimi	15
3.10. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu	15

3.11. Bakteri İzolatlarında 16S rRNA Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltılması	15
4. BULGULAR	17
4.1. Bitki Örneklerinden Endofitik ve Rizosfer Bakteri İzolasyonu	17
4.2. İndol-3 Asetik Asit Testi.....	17
4.3. Siderofor Üretimi.....	21
4.4. ACC Deaminaz Aktivitesi	22
4.5. Fosfat Çözünürlüğü	22
4.6. Ağır Metal Direncinin Belirlenmesi	23
4.7. Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi	26
4.8. PGPB Aktivitelerine Göre Bakteri Seçimi	30
4.9. Seçilen Bakterilerin Moleküler Tanımlanması	32
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇ	43
7. KAYNAKLAR.....	45
8. EKLER.....	60
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı Endemik Bitkilerine Ait Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakterilerin Tanımlanması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

19/02/2024

Fikriye Mehtap ŞEN

İmzası

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µg:	Mikrogram
µL:	Mikrolitre
°C:	Santigrad derece
dk:	Dakika
sa:	Saat
g:	Gram
mg:	Miligram
mL:	Mililitre
mM:	Milimolar
M:	Molar
±:	Standart sapma
Al:	Alüminyum
Ca:	Kalsiyum
Cd:	Kadmiyum
Cr:	Krom
Cu:	Bakır
Fe:	Demir
Ni:	Nikel
Pb:	Kurşun
Zn:	Çinko

Kısaltmalar

ACC: 1-aminosiklopropan-1-karboksilat

AHL: N-açıl homoserin lakton

ATCC: Amerikan tip kültür koleksiyonu

dH₂O: Distile su

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

EtBr: Etidyum bromür

NaCl: Sodyum klorür

NA: Nutrient agar

NB: Nutrient brouth

PGPB: Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakteriler

SAM: S-adenozil metiyonine

IAA: İndol asetik asit

IPA: İndol-3-pürüvik asit

P. koreensis: Pseudomonas koreensis

P. agglomerans: Pantoea agglomerans

P. aryabhatai: Prestia aryabhatai

B. wiedmannii: Bacillus wiedmannii

P. thivervalensis: Pseudomonas thivervalensis

G. solisilvae: Gottfriedia solisilvae

G. luciferensis: Gottfriedia luciferensis

P. frigoritolerans: Peribacillus frigoritolerans

P. muralis: Peribacillus muralis

P. simplex: Peribacillus simplex

P. baetica: Pseudomonas baetica

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. PGPB'nin bitki gelişimi için kullandığı bazı mekanizmalar (Singh vd. 2022)	2
Şekil 2.1. Etilen biyosentezi (del Carmen Orozco-Masqueda vd. 2020).....	5
Şekil 2.2. İndol-3-pirüvikasit yolu (Patten ve Glick 1996).....	6
Şekil 2.3. Bakteriler tarafından siderofor aracılı demir alımı (Ribeiro ve Simoes 2019).	7
Şekil 2.4. Bitkilerde nodül aracılı N fiksasyonu (Anonim 1)	9
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan bitkiler; a) Kaya Dağarcığı (A. Aksoy, AKDU 3181) b) Çam Dağarcığı (A. Aksoy, AKDU 3203)	17
Şekil 4.2. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin IAA üretimlerine bağlı renk değişimleri a) Endofitik bakteriler b) Rizobakteriler	18
Şekil 4.3. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizobakterilerin siderofor üretme yeteneğine bağlı olarak oluşturdıkları zonlar	22
Şekil 4.4. Çam Dağarcığı ait olan bakterilerin fosfat çözme kapasitelerine bağlı olarak oluşturdıkları zonlar, a) Endofitik bakteriler b) Rizobakteriler	23
Şekil 4.5. Çam Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen NCRR2, NCRR3, NCRR10, NCRR13, NCRR18, NCRR25 bakterilerine ait ağır metal sonuçları a) 1mM, b) 5mM, c) 10mM NiCl ₂ .2H ₂ O konsantrasyonlarında bakterilerinin büyüme analizi ...	23
Şekil 4.6. İzolatların kanamisin, imipenem, tetrasiklin, kloromfenikol ve ampisilin antibiyotik duyarlılık testi sonucu a) Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCMR26 b) Çam Dağarcığı bikkisinden izole edilen NCRE13 izolatları	27
Şekil 4.7. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin PZR ürünlerine ait agaroz jel elektroforezi görüntüsü (M: DNA merdiveni).....	32
Şekil 4.8. NCMR31 bakterisine ait 16S rRNA gen bölgesine ait sekansın kromatogram görseli.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. PZR karışımı için kullanılacak olan kimyasallar	16
Çizelge 3.2. PZR koşulları	16
Çizelge 4.1. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin PGPB aktiviteleri.....	18
Çizelge 4.2. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizobakterilerin PGPB aktiviteleri	19
Çizelge 4.3. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin PGPB aktiviteleri.....	20
Çizelge 4.4. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizobakterilerin PGPB aktiviteleri	21
Çizelge 4.5. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin ağır metal direnç profilleri (mM)	24
Çizelge 4.6. Kaya Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen bakterilerin ağır metal direnç profilleri (mM)	24
Çizelge 4.7. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin ağır metal direnç profilleri (mM)	25
Çizelge 4.8. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin ağır metal direnç profilleri (mM)	26
Çizelge 4.9. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin antibiyotik direnç profilleri (mm)	27
Çizelge 4.10. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri (mm)	28
Çizelge 4.11. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri (mm)	29
Çizelge 4.12. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri (mm)	30
Çizelge 4.13. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin PGPB puanları.....	30
Çizelge 4.14. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosferik bakterilerin PGPB puanları.....	31
Çizelge 4.15. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin tanımlanması.....	33

Çizelge 4.16. Çam Dağarcığı bitkisinden edilen rizosfer bakterilerinin tanımlanması..	33
Çizelge 4.17. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin tanımlanması.....	34
Çizelge 4.18. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin tanımlanması.....	34



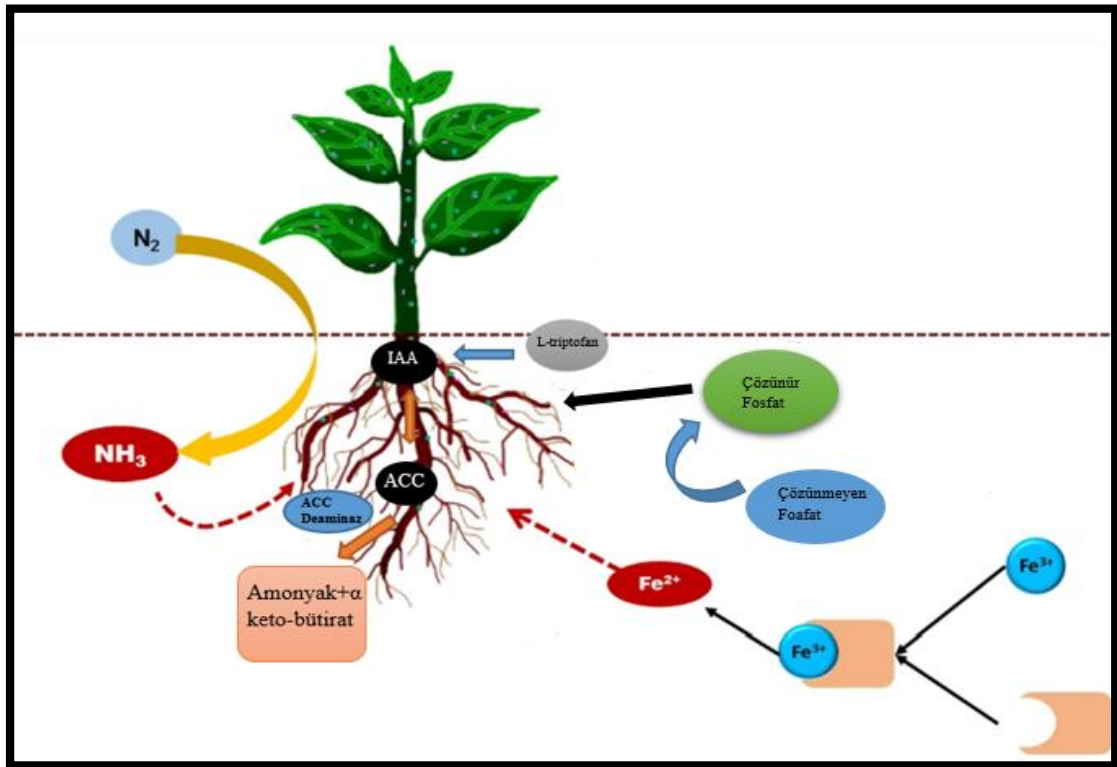
1. GİRİŞ

Sanayi ve tarım atıklarının, pestisitlerin ve artan insan nüfusunun neden olduğu baskı nedeniyle çevre yoğun bir şekilde kirlenmeye devam etmektedir. Özellikle toprakların ağır metallere kirlenmesi, çevre ve insan sağlığı açısından en ciddi tehlikelerden biri haline gelmiştir. Yüksek seviyelerdeki ağır metaller sadece topraktaki mikrobiyal aktiviteyi ve mahsul üretimini azaltmakla kalmamakta aynı zamanda besin zinciri yoluyla insan sağlığını da tehdit etmektedir. Tarımda verimliliği arttırmak için kullanılan çeşitli kimyasallar çevre sorununa neden olan önemli faktörlerden biridir. Bu maddeler toprakta ağır metal birikimi, toprak mikroflorasının bozulması, toprakta tuzluluk, ozon tabakasının incilmesi ve sera etkisinin oluşması gibi birçok çevre sorunlarına neden olmaktadır (Sönmez vd. 2008). Özellikle bitki zararlıları ve hastalıklarının önüne geçmek için kullanılan pestisitler hızlı sonuç vermeleri ve tekrarlanabilir olması nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak bu maddeler, yüzey ve yeraltı sularına karışıp toprağa bulaşarak hedeflenenin dışında farklı organizmalara da zarar vermekte bunun yanı sıra biyolojik sistemleri ve çevreyi tehdit etmektedir (Yıldız vd. 2005). Anadolu endemizm ve biyoçeşitlilik açısından oldukça önemli bir bölgedir. Biyolojik çeşitlilik ve ekosistem çeşitliliğinin yanı sıra iklimsel, jeolojik vb. çeşitlilikleri de yansıtmaktadır. Edafik çeşitlilik biyolojik çeşitliliğe önemli oranda katkı sunmakta ve bunun yanı sıra ülkemizde başlıca endemizm merkezleri jipsli, serpantinli veya tuzlu topraklarda bulunmaktadır (Özdeniz vd. 2017). Serpantin topraklar ağır metal konsantrasyonu yüksek olmasına rağmen azot (N), fosfor (P), potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) bakımından oldukça fakir olabilmektedir. Bu topraklarda toprak partiküllerinin büyük ve bitki örtüsünün zayıf olması ile su tutma kapasitesi düşmektedir. Bu zorlu durumlara rağmen çeşitli mekanizmalar ve bazı simbiyotik birliktelikler geliştirerek uyum sağlamış canlılar, rekabette öne geçerek bu alanları habitat olarak kullanılır hale getirebilmiştir (Aksoy vd. 2015).

Hiperakümülatör bitkiler, ağır metalleri toprak üstü kısımlarında (özellikle yapraklarında) belirli metal eşiklerini aşan miktarlarda emebilen ve biriktirebilen bitkileri ifade etmektedir. Hiperakümülatörlerin diğer bitkilere göre 10-500 kat daha yüksek metal barındırmalarının yanı sıra fitotoksik semptomlar göstermediği bilinmektedir (Lukaszewska 2014). Bu bitkiler yüksek konsantrasyonda metal içeren toprak veya suda doğal olarak yetişebilmektedir. Bu tür bitkiler bu metalleri kökleri aracılığıyla emerek dokularında biriktirebilmektedirler. Özellikle hiperakümülatör bitki-bakteri etkileşimleri günümüzde yeşil ıslah ve bitki madenciliği tekniklerinin daha etkin kullanılabilmesi için oldukça önemlidir. Bu bakterilerin aday bitkinin biyokütlesini, metal biriktirme yeteneğini ya da toleransını artırıcı etkiler göstermesi, yeşil ıslah tekniklerinin daha etkili, bitki madenciliği tekniğinin ise daha kazançlı olmasını sağlayabilmektedir (Raskio ve Navari 2011).

Toprak mantar, aktinomisetler, protozoonlar, algler ve bakteriler gibi mikroskobik yaşam formları bakımından oldukça zengindir. Bu mikroskobik ortamda bakteriler açık ara en yaygın olanıdır ve farklı topraklarda bulunan bakteriler hem tür hem de sayı bakımından farklılık göstermektedir (Schoenborn vd. 2004). Bunun sebebi olarak nem, tuz, sıcaklık ve diğer kimyasalların varlığının bakteri sayısını ve türünü etkilemesi gösterilebilir. Bitki tarafından sabitlenen karbonun varlığı, amino asitler, organik asitler ve bitki köklerinden sızan küçük moleküllerin varlığı nedeniyle bitki kök ve çevresinde

bulunan bakteri sayısı toprağın geri kalanından daha fazla sayıdadır (Badri vd. 2009). Toprakta bulunan bu bakteriler aynı zamanda bitkinin farklı bölümlerinde kolonize olabilmektedirler. Bitkinin bünyesinde yaşayan ya da rizosferinde kolonize olan bakteriler bitki ile birçok yol ile iletişim içerisine girer ve genelde bitkinin büyümesini çeşitli yollarla teşvik eder veya savunma sistemlerine katkı sağlarlar. Bu tür bakterilere “Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakteriler” (Plant Growth Promoting Bacteria PGPB) adı verilmektedir. PGPB bitkide bulundukları konuma göre endofitik bakteriler ve rizosfer bakterileri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. PGPB bitki kök uzunluğunu, sürgün uzunluğunu, bitki biyokütlesini, tohum çimlenmesini, fotosentez dahil olmak üzere bitki büyümesini olumlu yönde etkileyecek çeşitli mekanizmalar kullanırlar. Bu bakterilerin etki mekanizmaları doğrudan, dolaylı veya her ikisinin kombinasyonunu kullanarak bitki gelişimine katkı sağlamaktadır (Stegelman vd. 2022). Bitki gelişimine katkıda bulunan doğrudan mekanizmalar, havadan veya topraktan temel besin kaynaklarının (K, N, P, demir (Fe) sabitleme gibi) alımını kolaylaştıran PGPB’yi ifade etmektedir. Aynı zamanda PGPB doğrudan mekanizmalar ile bitki bünyesinde bulunan fitohormon konsantrasyonunu düzenleyebilirler. Örneğin, bazı PGPB etilenin öncüsü olan ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat) bileşiğini parçalayan ACC deaminaz enzimini sentezleyerek etilen konsantrasyonunu azaltırlar. Ayrıca bu bakteriler sitokinin, gibberellin, oksin gibi fitohormonları sentezleyerek bitki gelişimine katkıda bulunurlar (Duca vd. 2014). PGPB dolaylı etki mekanizmalarıyla ise bitkileri fitopatojenlere karşı korumaktadırlar. Bu bakteriler fitopatojenlerin büyümesini engellemek için antibiyotik sentezi, hücre duvarlarını parçalayabilen kitinaz, glukanaz gibi enzimlerin sentezi, patojenlerin çoğalmasını engellemek için demir alımını engelleyen siderofor moleküllerinin sentezi yardımıyla bitki gelişimine dolaylı yoldan katkı sağlarlar (Stegelman vd. 2022).



Şekil 1.1. PGPB’nin bitki gelişimi için kullandığı bazı mekanizmalar (Singh vd. 2022)

Bu tez çalışması kapsamında endemik ve hiperakümülatör olan Kaya Dağarcığı Aytaç, Nordt & Paroly (*Noccaea camlikensis*) bitkisi Konya ili Derebucak ilçesi Kızıl Dağı mevkiinden ve Çam Dağarcığı Parolly, Nordt & Aytac (*Noccaea cariensis*) bitkisi Muğla ili, Köyceğiz ilçesi Sandras dağından toplanan bitkilerinden rizosfer ve endofitik bakteri izolasyonları yapılmıştır. Bu çalışmada izole edilen bakterilerin bitki gelişimindeki rolünü belirlemek amacıyla fosfat çözme kapasiteleri, ACC deaminaz üretimleri, IAA üretimleri ve siderofor üretim kapasiteleri belirlenmiştir. Ayrıca izolatların antibiyotik dirençleri ve ağır metal profilleri belirlenmiştir. İzolatlardan en iyi PGPB özelliği gösterenler seçilmiş ve bunların moleküler teknikler kullanılarak (16S rDNA sekans ve MALDI-TOF analizi) tanımlamaları yapılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteriler (PGPB)

Toprakta yaşayan bakteriler bitki için faydalı, zararlı veya etkisiz olabilmektedir. Bitki büyümesine fayda sağlayan bakterilere Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria-PGPB) adı verilmektedir. Bu bakteriler bitkide bulundukları yere göre endofitik bakteri ve rizobakteri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Toprak mikroflorasında, bitki yüzeyinde ve bitkilerin iç kısımlarında yer alan rizobakteri ve endofitik bakteriler gibi birçok mikroorganizma bitki gelişimini farklı mekanizmalarla teşvik edebilmektedir (Glick 2012).

Rizobakteriler, bitkinin kök sisteminin bulunduğu toprak tabakası olan rizosferde, kök çevresinde kolonize olan bakteri türleridir. Bunlar aynı zamanda serbest yaşayabilir, parazitik veya saprofitik olabilmektedirler (Kaymak 2010). Rizosferde bulunan bakterilerin gelişiminin artmasında ortam sıcaklığı, toprak nemi, substrat kullanabilme yeteneği gibi çevresel faktörler etkili olabilmektedir (Podile ve Kishore 2006). Rizobakteriler genellikle yararlı, zararlı veya etkisiz olarak sınıflandırılmaktadır. Etkisiz olan grup bitki için herhangi bir öneme sahip değilken, zararlı olan grubun ürettiği metabolitler bitki sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Antoun ve Prevost 2006). Yararlı olan türler ise konakçı bitkiyle simbiyotik etkileşim içinde ya da serbest halde bulunarak bitki büyümesini ve gelişimini teşvik edebilmektedir (Glick vd. 1999). Bitkiye herhangi bir zararı olmayıp yararlı etkilere sahip kök bakterileri “Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakteriler” yani kısaca PGPR olarak ifade edilir (Kloepper ve Schroth 1978).

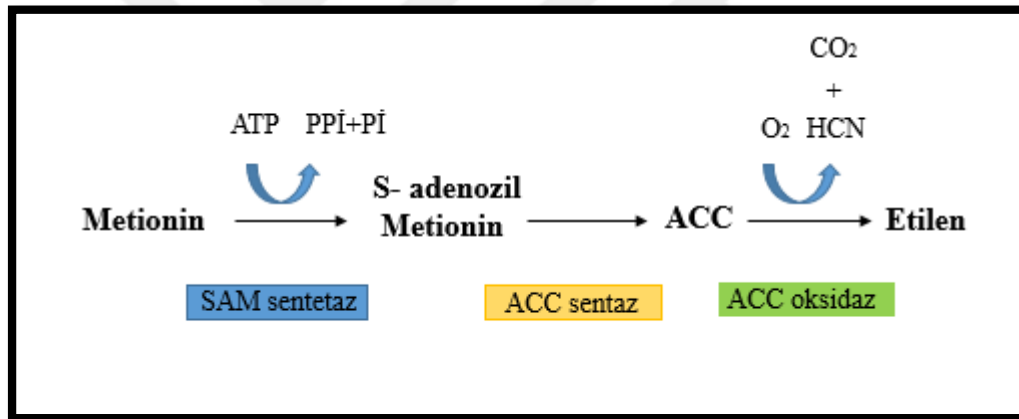
Endofitik bakteri kavramı ilk defa Kloepper vd. (1992) tarafından tanımlanmıştır. Bu bakteriler tohum, meyve, gövde, yaprak, ksilem sapı gibi bitkinin birçok bölümünde bulunabilmekte (Rosenblueth ve Martinez Romero 2006; Mercado-Blanco J. ve Bakker 2007; Malfanova vd. 2013; Weyens vd. 2009), bitkiyi biyotik ve abiyotik çevresel etkenlerden aynı zamanda da diğer mikroorganizmalarla arasındaki besin rekabetinden korumaktadır. Bitkilerdeki mevcut mikrobiyal topluluğun büyük bir çoğunluğu endofitik bakterilere aittir. Endofitik bakteriler aynı zamanda biyolojik olarak N fiksasyonu edebilen, serbest yaşayabilen ve bazen nodül adı verilen yapılar içerisinde bitkilerle ortak yaşam süren, simbiyotik bakterilerdir (Unkovich vd. 2008).

Bakteri hücreleri haberleşme ağları yardımıyla populasyonlarında artış meydana getirebilir ve buna bağlı olarak belirli bazı genlerinin ifadesini arttırabilir. Tanımlanan peptid temelli sinyaller veya N-açıl homoserin lakton (AHL) molekülleri bu haberleşme ağlarında kullanılan otoindükleyici sinyal moleküllerine örnek olarak verilebilir (Braeken vd. 2008). PGPB’in bazıları bu otoindükleyici sinyalleri parçalayarak patojenik mikroorganizmalara ait virülans genlerinin ifadesini inhibe eder. Bu durum patojenik bakterilerin birbirleriyle iletişim kurabilmesini engeller ve patojenlerin quorum algılama (quorum sensing-QS) özelliğini kontrol eder (Barriuso vd. 2008; Tarkka vd. 2008). Ayrıca PGPB’nin bir kısmı uyarılmış sistematik dayanıklılık, parazitizm/predasyon, antibiyoz, zararlı rizobakterileri baskılayan metabolitlerin üretimi gibi bazı mekanizmalarla bitki gelişimine katkı sağlarken bir kısmı da hormon üretimi, fosfatı çözünür hale getirme, N fiksasyonu gibi mekanizmalarla bitki gelişimi üzerinde etki sağlamaktadır (Akhtar ve Siddiqui 2010; Jha ve Saraf 2015; Gupta vd. 2015). Bu mekanizmaların bazılarından aşağıda bahsedilecektir.

2.2. ACC Deaminaz Enzimi

Etilen, tüm yüksek yapılı bitkiler tarafından üretilen ve düşük konsantrasyonlarda bitki büyüme ve gelişmesini destekleyen bir hormondur. Doğada gaz formunda bulunan etilen taşıyıcılara ihtiyaç olmaksızın pasif difüzyon ile bitki dokularına mobilize olmaktadır. Bitkide düşük etilen konsantrasyonlarında yaprak ve kök oluşumu kök uzaması, tohum çimlenmesi gibi biyolojik süreçler olumlu yönde etkilenmektedir (Sing vd. 2015). Işık, sıcaklık, yerçekimi, beslenme ve diğer bitki hormonlarının seviyesi gibi çeşitli biyolojik streslerin varlığı bitkilerde üretilen etilen seviyesini de etkilemektedir. Artan etilen miktarı kloroz, çiçek solması, yaprak dökülmesi gibi bitkide birtakım problemlere neden olmaktadır (Goswami vd. 2016).

Bitkilerde etilen biyosentezi metiyonin bağlı bir yolakla gerçekleşir. Bu yolakta metionin, S-adenozil metiyonine (SAM) SAM sentetaz enzimiyle dönüştürülür. Daha sonra SAM, 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) sentetaz enzimi ile etilenin öncüsü olan ACC'ye dönüştürülür ve son olarak ACC, ACC oksidaz yardımıyla etilene dönüştürülür. Bu reaksiyon etilene ek olarak hidrojen siyanür ve karbondioksit çıkışıyla sonuçlanır (Adams ve Yang 1979). Şekil 2.1.'de bitkilerde gerçekleşen etilen biyosentezi gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Etilen biyosentezi (del Carmen Orozco-Masqueda vd. 2020)

Bitkiler yüksek miktarda üretilen etilen seviyesini dengelemek için bakteriler tarafından sentezlenen ACC deaminaz enzimine ihtiyaç duyulmaktadır (Farajzadeh vd. 2012). ACC deaminaz (EC: 4.1.99.4; 2002) ilk olarak 1978 yılında topraktaki mikroorganizmalardan izole edilmiştir (Honma ve Shimomura 1978). Enzim 35-42 kDa moleküler ağırlığına sahip çoklu polipeptid zincirlerinden oluşan bir enzimdir (Glick vd. 1998). Bitki köklerinden salınan ve etilen öncüsü olan ACC, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ACC deaminaz enzimi ile α -ketobütirat ve amonyağa parçalanmaktadır. Bu sayede ACC miktarı düşer ve parçalanma sonucu açığa çıkan ürünler mikroorganizmalar tarafından N ve C kaynağı olarak kullanılabilirler (Klee vd. 1991).

ACC deaminaz aktivitesi olduğu bilinen türler *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Serratia* ve *Ralstonia* cinslerine dahil olan

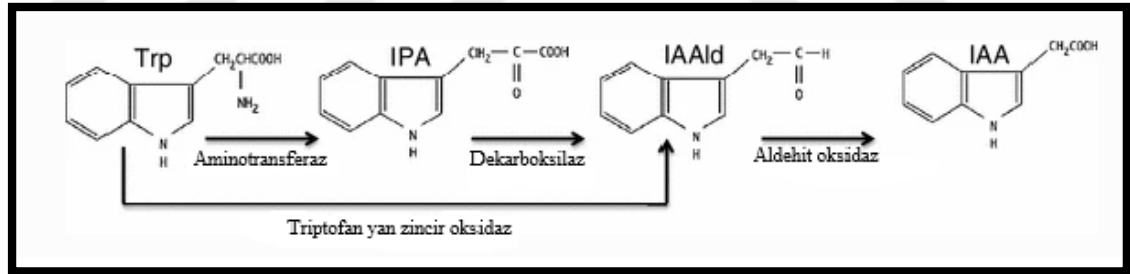
bakteriler arasında bulunmaktadır (Kang vd. 2010; Ahemad ve Kibret 2014; Yadav vd. 2015).

2.3. İndol-3-Asetik Asit

İndol asetik asit (IAA) bitkilerde hücre bölünmesi, hücre uzaması, hücre farklılaşması, tohum ve yumru çimlenmesi, ksilem ve kök oluşumunun hızlanması gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynayan oksin türü bir hormondur. IAA mantarlar, bitkiler ve bakteriler tarafından üretilen ve en yaygın olarak çalışılan oksinlerden biridir (Glick 2012). Toprakta bulunan endofitik, rizosferik, epifitik bakteriler ve denizde bulunan siyanobakteriler gibi birçok farklı bakteri IAA'yı sentezleme yeteneğine sahiptir (Sergeeva vd. 2002). Bakteriler tarafından üretilen IAA ideal konsantrasyonda olduğu zaman yanal, birincil kök sayısını ve kök uzunluğunu arttırmaktadır. Bunun yanı sıra yüksek konsantrasyonda üretilen IAA ise birincil kök büyümesini inhibe edebilmektedir (Ahmed ve Hasnain 2010).

Bakterilerde gerçekleşen IAA biyosentezi, triptofan bağımlı veya triptofan bağımsız olarak gerçekleşebilmektedir. IAA biyosentezinde triptofanın öncü olarak kullanıldığı farklı yolların olduğu varsayılmaktadır (Duca vd. 2014).

Bitkiler ve bakteriler indol-3-pirüvik asit (IPA) yoluyla IAA sentezi gerçekleştirebilmektedir (Şekil 2.2). İlk olarak triptofan amino asidi aminotransferaz enzimi ile IPA'ya parçalanır. Daha sonra IPA dekarboksilaz enzimi yardımıyla indol-3-asetaldehit (IAAld)'e dönüştürülür. Son olarak aldehid oksidaz enzimi tarafından IAAld parçalanır ve IAA açığa çıkar (Rajagopal 1971; Pollmann vd. 2006).



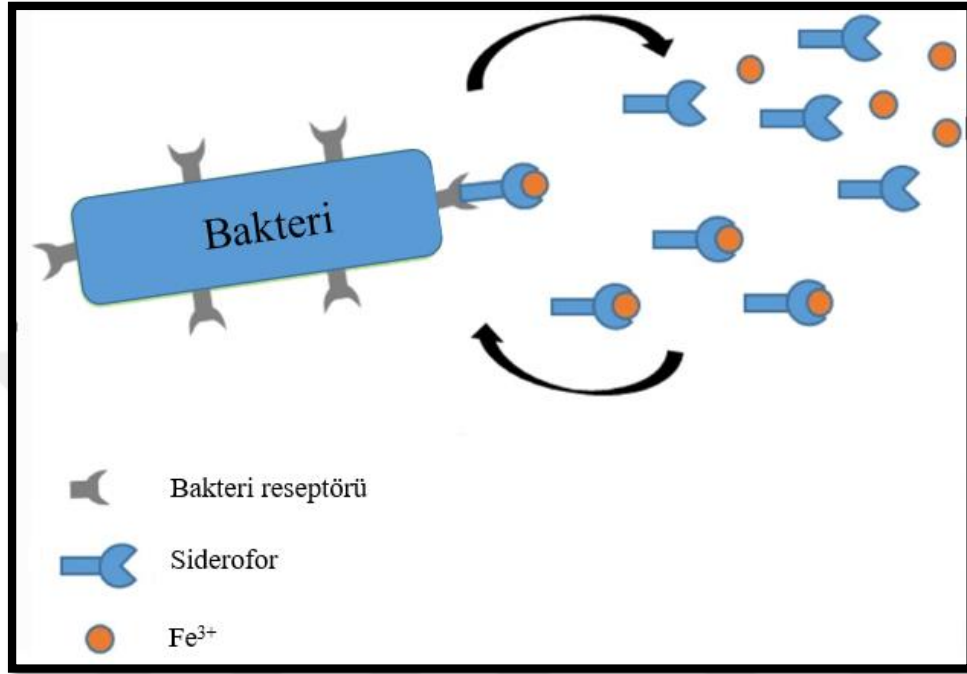
Şekil 2.2. İndol-3-pirüvikasit yolu (Patten ve Glick 1996)

IAA ürettiği bilinen *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Pantoea* ve *Rhizobium* cinslerine ait bakteri türleri bulunmaktadır (Apine ve Jadhav 2011).

2.4. Siderofor Üretimi

Demir (Fe), neredeyse tüm yaşam formları için önemli bir metaldir ve çok sayıda enzimatik aktivitede görev almaktadır. Fe, doğada Fe^{3+} olarak bulunur ve çözünmeyen hidroksitler (OH^-) ve oksihidroksitler oluşturma eğilimindedir. Bu Fe formları canlılar için kullanılabilir halde değildir. Bakteriler Fe ihtiyacını karşılamak için şekil 2.3.'de görüldüğü gibi düşük moleküler kütleli demir şelatörleri olan siderofor moleküllerini salgılamaktadır (Neubauer vd. 2000). PGPB'nin ürettiği siderofor molekülleri

topraktaki Fe^{3+} ü indirger, bu Fe'nin bitkilerin kullanabileceği forma dönüşmesine neden olur ve böylece bitkilerin de Fe ihtiyacı karşılanmış olur (Grobelaç ve Hiller, 2017). Mikroorganizmalar tarafından üretilen siderofor molekülleri Fe ile sınırlı kalmayıp hücre hasarına neden olan Ni, Cu, Zn gibi ağır metalleri bitki köklerinden uzaklaştırarak da bitki gelişimine katkıda bulunurlar (Perry vd. 2015).



Şekil 2.3. Bakteriler tarafından siderofor aracılı demir alımı (Ribeiro ve Simoes 2019)

Siderofor, hem Gram pozitif hemde Gram negatif bakterilerde Fe yoksunluğunda üretilen moleküllerdir. Siderofor kompleksleri hücre zarında bulunan reseptörlere spesifik olarak bağlanırlar ve böylece siderofor molekülleri hücre içine alınır. Gram pozitif bakterilerde periplazmik boşluk olmaması nedeniyle Fe^{3+} -siderofor kompleksi hücre zarında bulunan periplazmik bağlayıcı proteinlerin yardımıyla bağlanmaktadır (Glick vd. 2010; Hider ve Kong 2010). Bu kompleks ABC taşıyıcıları yardımıyla sitoplazmaya taşınmaktadır. Gram negatif bakterilerde ise Gram pozitiflere göre ek bir lipid tabakasının olması bu süreci karmaşıktırmaktadır. Gram negatif bakterilerde öncelikle Fe^{3+} siderofor kompleksi Ton-B adı verilen bir dış zar reseptör proteinine bağlanır, daha sonra periplazmik bağlayıcı proteinlere yüksek afiniteyle bağlanan bu kompleks periplazmik boşluğa salınır ve ABC taşıyıcıları yardımıyla sitoplazmaya taşınır (Faroldi ve Sansom 2003; Krewulak ve Vogen 2003).

Siderofor, yüksek afiniteli, yan zincir ve fonksiyonel gruplar içeren, özel metabolit yollarla kolayca bir araya getirilebilen küçük peptit moleküllerinden oluşan bir yapıdır (Crosa ve Walsh 2002). Sideroforlar Fe bağlanmasında görev alan kimyasal gruplara göre ketolat, hidroksamat, karboksilat olmak üzere üç ana kategoriye ayrılmaktadır (Holden ve Bachman 2015).

Birçok çalışmada *Rhizobium*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Bradyrhizobium* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin siderofor üretiminde yer aldığı gösterilmiştir (Gupta 2015).

2.5. Fosfat Çözünürlüğü

Bitki büyümesini azottan sonra sınırlayan ikinci en önemli besin maddesi olan fosfat; enerji transferi, sinyal iletimi, makromolekül biyosentezi gibi çeşitli metabolik süreçlerde yer almaktadır (Richardson ve Simpson 2011; Khan vd. 2007). Fosfatın doğada kalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), alüminyum fosfat ($\text{Al}_3(\text{PO}_4)$) veya demir fosfat ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)$) gibi çözünmeyen formlarında bulunması onu bitki için kullanılmaz hale getirmektedir (Havlin vd. 2016). Bu nedenle bitkiler toprakta bulunan fosfatın sadece %0,1'ini kullanabilmektedir. Fosfat, toprakta hem organik hem de inorganik formlarda bol miktarda bulunmaktadır. Bitkiler fosfatın çözünabilir formu olan monobazik (H_2PO_4) ve dibazik (HPO_4) iyonlar formunda fosfatı bünyelerine alabilmektedirler (Bhattacharyya ve Jha 2012).

Mikroorganizmalar toprakta bulunan fosfat döngüsünün ayrılmaz bir parçasıdır. PGPB mineral fosfatı çözündürerek biyokimyasal döngüde önemli rol oynamaktadır. Bu mikroorganizmaların fosfat çözme mekanizmaları farklı şekillerde gerçekleşmektedir. İlk olarak bakteriler tarafından üretilen organik asitler, protonlar, sideroforlar, hidroksil iyonları gibi kompleks oluşturan bileşiklerin salınmasıyla fosfat kullanılır forma dönüştürülmektedir (Sharma vd. 2013). Fosfatı çözmek için kullanılan bir diğer mekanizma ise hücre dışı enzimlerin (fosfoesterazlar, fosfodiesterazlar, fitaz, fosfolipazlar) üretilmesidir. Organik asit üretiminin ve enzim salınımının yanı sıra NH_4 asimilasyonu sonucu protonların salınması bakterilerin fosfat çözme mekanizmalarından bir diğeridir (McGill ve Cole 1981; Alori vd. 2017).

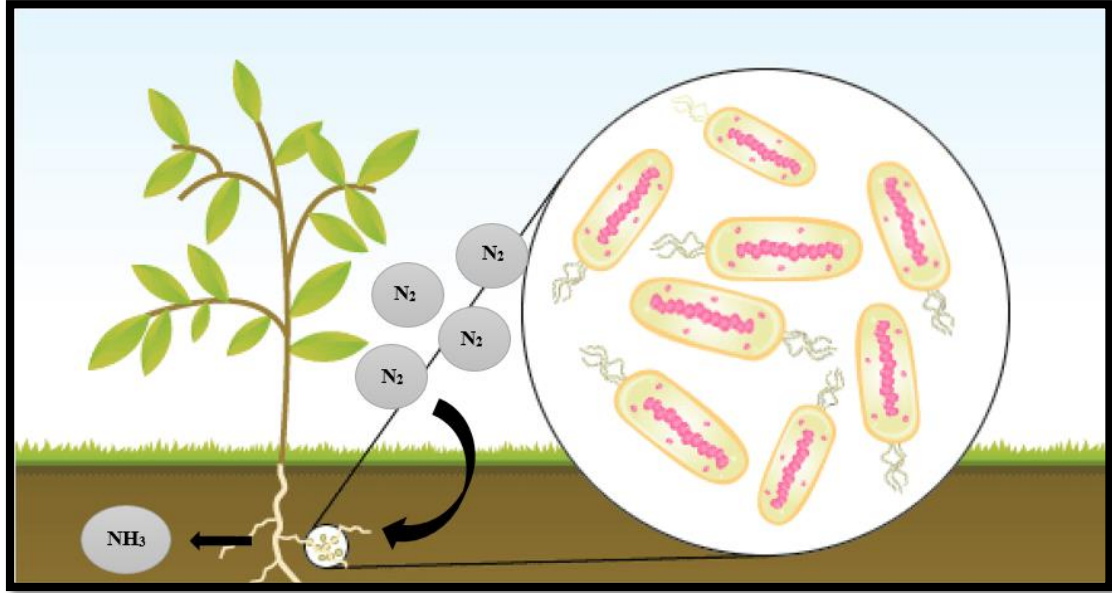
Pseudomonas, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Micrococcus* ve *Erwinia* cinslerine ait bazı türlerin fosfatı bitkilerin kullanacağı forma dönüştüren bakterilerinden olduğu bilinmektedir (Solano vd. 2008; Gupta vd. 2015).

2.6. Azot Fiksasyonu

Azot (N) tüm yaşam formları için gerekli olan bir besin maddesidir ve DNA, RNA, protein gibi çeşitli metabolitlerin yapısında olup hücre gelişimi ve hayati aktivitesinde önemli bir yer tutmaktadır. Atmosferdeki N miktarı %78 oranında olmasına rağmen çoğu canlı tarafından kullanılamaz. Bakteriler atmosferde bulunan N'yi amonyağa (NH_3) indirgeyerek bitkilerin kullanımına sunmaktadırlar (Gupta vd. 2015).

N fikse eden bakteriler simbiyotik ve simbiyotik olmayan bakteriler olarak iki gruba ayrılır (Oberson vd. 2013). Simbiyotik azot fiksasyonu bakteri ve bitki arasında karşılıklı iş birliği esasına dayanmaktadır. Baklagillerle ortak yaşayan *Rhizobium* bakterileri simbiyotik azot fiksasyonuna en iyi örneklerden biridir. Bu bakteriler bitki köklerinde nodül denilen yapılar içinde yaşamlarına devam etmektedir (Ahemad ve Kibret 2014). Bakteri ihtiyacı olan karbonhidratı bitkiden alırken, havadan yakaladığı N'yi konakçısına vermektedir (İşler ve Coşkun 2009). Simbiyotik olmayan N fiksasyonu diazotrof bakteriler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu bakteriler nitrojenaz enzim sistemini kullanarak N'yi NH_3 'e dönüştürürler (Glick 2012).

Bitkilerle birlikte yaşayan ve N fikse eden bakteriler arasında *Azospirillum*, *Azotabacter*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* gibi bakteri cinsleri bulunmaktadır (Omar vd. 1996; De Salomone vd. 1996; Hurek vd. 2002).



Şekil 2.4. Bitkilerde nodül aracılı N fiksasyonu (Anonim 1)

2.7. Antibiyotik Üretimi

Antibiyotikler düşük moleküler ağırlıklara sahip organik bileşikler olup bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Raaijmakers ve Mazzola 2012). PGPB'nin, fitopatojenlerin zararlı etkilerine karşı koymak için, kullandıkları mekanizmlardan biri antibiyotik sentezidir. Bazı PGPB suşları tarafından üretilen antibiyotikler, fitopatojenlerin çoğalmasını engelleyerek bitki gelişimine katkı sağlarlar (Singh vd. 2022).

Bacillus ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler biyokontrol ajanı olarak antibiyotik üreterek patojen mikroorganizmaları inhibe eden PGPB'nin başında gelmektedir. *Bacillus* cinsi bakteriler iturinler, mikosubtilin, basillomisin D, sürfaktin gibi çeşitli antibiyotikler üretmektedirler (Kenawy vd. 2019). *Pseudomonas* cinsi bakteriler bitki patojenlerini baskılamak için 2, 4–diasetilfloroglüsinol, pyoluteorin, pirrolnitrin gibi çeşitli antibiyotikler üretmektedir (Zhang vd. 2020). PGPB tarafından üretilen antibiyotikler patojenlerin hücre duvar yapısını inhibe ederek, hücre zar yapısını bozarak ya da ribozomun küçük alt birimine bağlanıp protein sentezinin başlamasını engelleyerek etki göstermektedir (Maskinov vd. 2011).

2.8. Litik Enzim Üretimi

Toprak kaynaklı patojenlerle savaşmak için biyokontrol ajanları tarafından kullanılan ana mekanizmalardan bir diğeri ise hücre duvarı parçalayıcı enzimlerdir (Kobayashi vd. 2002). Bu enzimler, patojenlerin hücre duvar yapısını bozarak gelişimlerini engellemektedir. Bakteriler tarafından üretilen litik enzimler arasında

lipazlar, fosfatazlar, proteazlar, kitinazlar ve glukonazlar bulunmaktadır (Mabood vd. 2014). PGPB tarafından üretilen kitinaz, mantar hücre duvar yapısının önemli bir parçası olan kitini parçalayarak bitki gelişimine katkıda bulunmaktadır. Selülaaz üreten bakteriler ise glukonaz, hidrolaz, glukozidaz gibi enzimlerin sinerjistik etkileriyle selülozu hızlı bir şekilde glikoza hidroliz edebilmektedir (Singh vd. 2021).

Botrytis cinerea, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* gibi bakteri türleri patojenlere karşı litik enzim üretebilen PGPB'ler arasında yer almaktadır (Frankowski vd. 2001; Singh vd. 1999).

2.9. Hiperakümülatör Bitkiler

Ağır metaller, yoğunlukları 5 g/cm³'ten büyük olan elementlerin oluşturduğu yok edilemeyen bileşiklerdir. Bu metaller toprakta, suda ve canlı organizmada birikme özelliklerinden dolayı ağır metal kirliliğine sebep olmaktadır. Örneğin bakır (Cu), çinko (Zn), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), civa (Hg) ve nikel (Ni) ağır metal kirliliğinde son derece etkili olabilen metallere aittir. Ağır metal konsantrasyonu yüksek topraklarda yaşayan bitkiler çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Jiang vd. 2008). Bu mekanizmaların arasında en ilginç olanı ise hiperakümülyasyondur. Hiperakümülatör bitkiler sergiledikleri iki özellikle tanımlanabilirler: Birincisi, bu bitkilerin toprak üstü dokuları, belirli metalleri veya metaloidleri normalden yüzlerce veya binlerce kat daha fazla olabilecek seviyelerde biriktirebilir. Bu bitkilerin önemli ikinci bir özellikleri de metalleri detoksifiye etme yeteneklerinin oldukça gelişmiş olmasıdır (Peng vd. 2021). Hiperakümülatörler sürgünlerinde yüksek metal biriktirmek için kullandıkları mekanizmalar aileden aileye, cinsler arasında ve hatta aynı cinsin türleri arasında bile farklılık göstermektedir (Aksoy vd. 2015). Her ağır metalin birikimi için bitkide konsantrasyon eşikleri belirlenmiştir. Örneğin, kadmiyum için >100 µg/g, kobalt (Co) ve bakır için >300 µg/g, kurşun > 1000 µg/g ve çinko > 3000 µg/g hiperakümülatör bitkiler için kuru ağırlıktaki yaprak dokusunda olması gereken konsantrasyonlardır (Verbruggen vd. 2009; Krämer 2010). Kuru bitki ağırlığında Ni konsantrasyonu ise 1000 mg/kg'dan fazla olmalıdır (Aksoy vd. 2015). Hiperakümülyasyon, yalnızca toprakta mobilize metal iyonlarının mevcudiyetine değil, aynı zamanda bitki veya onunla ilişkili mikroorganizmalar tarafından sağlanabilen metal şelatörlerin artan aktivitesine de bağlıdır. Bitkilerde bulunan içsel tolerans mekanizmasının yanı sıra etkileşim halinde oldukları bakteriler tarafından da bitki büyümesi teşvik edilmektedir. Bu bakteriler bitkide bulunan içsel tolerans mekanizmasını uyarabilmekte, metal birikimini etkileyebilmekte veya hormon sentezlenmesini sağlayarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi uyarabilmektedir (Manoj vd. 2020).

Bitki rizosferini ve endosferini kolonize eden özel mikroorganizmalar hiperakümülatörler ile toprak arasındaki etkileşimin kurulmasında önemli bir rol oynamaktadır ve bu bitkilerin fenotipine önemli bir katkı sağlamaktadır (Visioli vd. 2015). Bu mikroorganizmalar genellikle ağır metallere tolerans gösterirler ve kök yüzey alanını büyütme, metal iyonlarının çözünürlüğünü ve alımını artırma, fitohormonlar ve metabolitler üretme gibi yöntemlerle kirlenmiş topraklarda bitki büyümesine katkı sağlamaktadırlar (Rajkumar vd. 2012). Hiperakümülatör bitkiler bu bakteriler sayesinde zorlu koşullara uyum sağlayabilmektedirler; 700'e yakın bitki türü ağır metal ile kontamine olmuş topraklarda hayat döngüsüne devam edebilmektedir (Domka vd. 2020; Hazotte vd. 2020).

Ülkemizde 55 serpantin alan belirlenmiştir ve bu alanlarda 60'tan fazla Ni akümülatörü ve 40'tan fazla serpantin endemiği bitki olduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde bulunan en önemli hiperakümülatör bitki türleri ise genellikle Brassicaceae ve Asteraceae familyalarına aittir (Çelikten ve Reeve 2012).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Kapsamında Kullanılan Bitkiler

Bu çalışma kapsamında kullanılan bitkiler Muğla ve Konya illerinden Nisan 2021’de toplanmıştır. Kaya Dağarcığı Aytaç, Nordt & Paroly bitkisi Konya ili Derebucak ilçesi Kızıl Dağı mevkiinden, Çam Dağarcığı (Carlström) Parolly, Nordt & Aytac bitkisi ise Muğla iline ait Köyceğiz ilçesi Sandras Dağı çevresinden toplanarak uygun koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Bu bitkilerden endofitik bakteri ve rizobakteri izolasyonları gerçekleştirilerek gliserollü stokları yapıp -80 °C’de saklanmıştır.

3.2. Bakteri İzolasyonu

3.2.1. Rizobakteri İzolasyonu

Bitki örneklerinden rizobakteri izolasyonu Çelikten ve Bozkurt’un (2018) belirttiği yönteme göre yapılmıştır. Üzerinde bir miktar toprak bulunan bitki kökleri 1 g olacak şekilde tartılmıştır. Tartılan kök parçaları 5 mL NaCl (%0,85’lik) solüsyonu içerisinde 1 sa çalkalanmış ve karışım çökmeye bırakılmıştır. Çöken karışımın üst sıvı kısmından 1 mL alınarak 9 mL steril %0,85 NaCl solüsyonu içerisine aktarılıp 10^{-1} oranında seyreltilmiştir. Seyreltilen bu karışımdan 100 µL alınarak Nutrient Agar (NA) besiyerine ekildikten sonra 30 °C’de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2. Endofitik Bakteri İzolasyonu

Bitki örneklerinden endofitik bakteri izolasyonları Govarathanan vd.’nin (2016) belirttiği yönteme benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Her bir bitki örneği önce musluk suyuyla daha sonra da steril distile su (dH₂O) ile yıkanmıştır. Yıkanan bitki numunelerinin yaprak, dal ve kök kısımlarından alınarak 1 g tartılmıştır. Yüzey sterilizasyonu sağlamak için örnekler sırasıyla %95’lik etil alkolde (C₂H₆O) (Tekkim, Türkiye) 1 dk ve %3’lük sodyum hipoklorit çözeltisinde (NaOCl) (Merck, Almanya) 3 dk bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra sterilizasyonda kullanılan kimyasalların uzaklaştırılması için örnekler steril dH₂O ile üç kez yıkanmıştır. Daha sonra numuneler steril edilen havan içerisine alınmış ve üzerlerine 5 mL steril (%0,85) NaCl (Sigma Aldrich, ABD) solüsyonu eklenerek aseptik koşullar altında ezilmiştir. Elde edilen bitki ekstraktlarından 1 mL alınarak 9 mL steril %0,85 NaCl solüsyonu içerisine aktarılıp 10^{-1} oranında seyreltilmiştir. Seyreltilen bitki özütlerinden 100 µL alınarak NA (Sigma Aldrich, ABD) besiyerine ekildikten sonra 30 °C’de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir.

3.3. İndol Asetik Asit (IAA) Testi

İzolasyonu gerçekleştirilen bakterilerin IAA üretimi Akbari vd. (2007)’de verilen yönteme benzer şekilde kolorimetrik olarak belirlenmiştir. İzolatlar NA besiyerinde 24 sa inkübe edilmiştir. Steril olarak hazırlanan Nutrient Broth (NB) (Sigma Aldrich, ABD) içerisine son konsantrasyonu %0,1 olacak şekilde filtre edilen L- triptofan (Sigma Aldrich, ABD) çözeltisi eklenerek L–triptofanlı NB sıvı besiyerleri (NBT) hazırlanmıştır. IAA testi yapılacak olan bakterilerin OD₆₀₀ değeri 0,1 olacak şekilde konsantrasyonları ayarlandıktan sonra NBT ortamına 100 µL bakteri ekilmiş ve 30 °C’de 150 rpm’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin ardından sıvı kültür 3400 g’de 10 dk

santrifüjlenmiş ve süpernatantlar Whatman 110 mm filtre kâğıdı (Schleicher-Schüll, Almanya) yardımıyla süzölmüştür. Filtre edilen solüsyondan 2 mL alınarak üzerine 4 mL Salkowski ayracı (2 mL 0,5 M demir klorür (FeCl₃) ve 98 mL %35'lik perklorik asit (HClO₄) eklenmiştir. Karışım 30 dk karanlık ortamda bekletilerek renk değişimleri gözlemlenmiştir (Babier ve Akköprü 2020). Bekleme süresinin ardından spektrofotometrede (Optical Instruments) 535 nm'de dört tekrarlı olarak ölçüm yapılarak absorbans değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların µg/mL cinsinden ifade edilebilmesi için Microsoft Excel programı kullanılarak standart eğri oluşturulmuştur. Bu amaç doğrultusunda 1'den 50'ye kadar farklı ppm'de IAA süspansiyonu hazırlanıp ölçümleri yapılarak, oluşturulan standart eğriye göre izolatların IAA üretimleri hesaplanmıştır (Akköprü 2012). IAA deneyi için pozitif kontrol olarak *Salmonella enterica* içeren NBT besiyeri kullanılırken negatif kontrol olarak ise bakteri içermeyen NBT sıvı besiyeri kullanılmıştır (Angen vd. 1999).

3.4. Siderofor Üretimi

Bakterilerin siderofor üretim tespitinin yapılabilmesi için Schwyn ve Neilands (1987) tarafından önerilen Modifiye Chrome Azurol S (CAS) agar besiyeri hazırlanmıştır (EK-1). İzolatlar modifiye CAS besiyerine eşit uzaklıkta ekilerek 28 °C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda koloni çevresinde oluşan turuncu-sarı zon siderofor üretiminin pozitif olduğu yönünde değerlendirilerek zon çapı ölçölmüştür. Siderofor üretimi deneyi kapsamında pozitif kontrol olarak *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) içeren modifiye CAS agar kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak bakteri içermeyen modifiye CAS agar besiyeri kullanılmıştır.

3.5. Fosfat Çözünürlüğü

İzole edilen bakterilerin fosfat çözme kapasitelerini belirlemek için National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP) besi ortamı kullanılmıştır (Perez vd. 2007) (EK-2). İzolatlar ön zenginleştirme için NBRIP sıvı besiyerinde 30 °C 'de 150 rpm'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Ardında NBRIP sıvı ortamından yetişen bakteriler NBRIP katı besiyerine nokta ekimleri yapılarak 30 °C'de 14 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda koloni etrafında şeffaf zon oluşumu bakteri izolatlarının fosfat çözünürlüğü aktivitesi olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Gelişen bakteri kolonileri etrafında oluşan şeffaf zonları ve koloni çaplarının ölçümü yapılmıştır. Negatif kontrol olarak bakteri içermeyen NBRIP besiyeri kullanılmıştır. Fosfat çözünürlüğü deneyi kapsamında pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* (ATCC 27853) içeren NBRIP besiyeri kullanılmıştır. Bakteri içermeyen NBRIP besiyeri ortamı ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. İzolatların fosfat çözme kapasitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Perez vd. 2007):

$$\frac{\text{Koloni çapı} + \text{Zon çapı}}{2}$$

$$\text{Koloni çapı}$$

3.6. ACC Deaminaz Aktivitesi

İzolatların ACC deaminaz aktivitesini belirlemek için Penrose ve Glick (2003) yöntemi kullanılarak Dworkin ve Foster (DF) besiyeri hazırlanmıştır (EK-3). Bakteriler

bir gece NB besi ortamında büyütülmüştür. Ortamda bulunan N'yi uzaklaştırmak için örnekler santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra oluşan pelletin üzerine 2 mL steril dH₂O eklenerek yıkanmıştır ve ardından bakteriler %0,85'lik NaCl içerisinde çözdürülerek 3 mM ACC içeren DF besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekilmiştir. Hazırlanan kültürler 3 gün 28 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda ACC içeren ortamda büyüme gösteren bakterilerin ACC deaminaz aktivitesinin pozitif olduğu yönünde değerlendirilmiştir. ACC deaminaz deneyinin pozitif kontrolü olarak tek N kaynağı olarak bakterilerin varlığında her daim büyüdüğü amonyum sülfat içeren((NH₄)₂SO₄) DF besi ortamı, negatif kontrol olarak da içerisinde N kaynağı bulunmayan DF besi ortamı kullanılmıştır. Tek azot kaynağı olarak ACC'nin kullanıldığı DF besiyerinin çalışabilirliğinin kanıtlanması için ise ACC deaminaz aktivitesinin olduğu bilinen *P. aeruginosa* (ATCC 27853) kullanılmıştır. Bakterinin ACC+DF besiyerinde büyümesi ACC deaminaz enzimini ürettirdiğini göstermektedir. .

3.7. Ağır Metal Direncinin Belirlenmesi

İzolatların ağır metal dirençlerinin belirlenmesi Mergeay vd. (1987) yöntemine göre yapılmıştır. İzole edilen bakterilerin ağır metal dirençlerini belirlemek için deneyde kullanılan ağır metallerin 1 M'lık stokları dH₂O ile hazırlanmış ve 0,45 µm çaplı filtreden geçirilerek steril edilip +4 °C'de saklanmıştır. İzolatların ağır metal direnç profillerini belirlemek için çinko [Zn(CH₃CO₂)₂·2H₂O], alüminyum [AlCl₃], kurşun [Pb(NO₃)₂], nikel [NiCl₂·6H₂O], bakır [CuSO₄·5H₂O], krom [CrN₃O₉·9H₂O], kadmiyum [Cd(NO₃)₂·4H₂O] (Merck Millipore, Almanya) ağır metalleri kullanılmıştır. Ağır metallerin 1, 5 ve 10 mM aralığında artan konsantrasyonlar şeklinde çözeltileri hazırlanmıştır. Ağır metal emdirilmiş NA besiyerine bakteri hücre sayısı 0,5 McFarland'a ayarlanarak ekilmiştir. Bakterilerin ağır metale göstermiş oldukları direnci belirlemek için izolatlar 4 gün boyunca 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda ağır metal içeren petrilere büyüme gösteren bakterilerin dirençli olduğu kabul edilmiştir. Bu çalışmada referans suş olarak *Escherichia coli* (ATCC 35218) kullanılmıştır.

3.8. Antibiyotik Direnci

İzole edilen bakterilerin antibiyotik dirençleri disk difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir (Bauer ve Kirby 1966). Öncelikle bakteriler NA besiyerine ekilip 24 saat boyunca 30 °C'de inkübasyona bakılmıştır. Daha sonra bakterilerin konsantrasyonu %0,85'lik NaCl solüsyonu içerisinde 0,5 McFarland'a ayarlanıp bakteriler NA besiyerlerine yayma tekniği kullanılarak ekilmiştir. Ekilen hücreler üzerine ticari olarak satın alınan antibiyotik diskleri (Bioanalyse, Türkiye) uygun aralıklarla yerleştirilmiştir. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute 2012) standartlarına göre (30 µg/mL), kloramfenikol (30 µg/mL), imipenem (30 µg/mL), ampisilin (10 µg/mL), kanamisin (30 µg/mL) antibiyotik diskleri seçilmiştir. Bakterilerin antibiyotik dirençlerini incelemek için hazırlanan petrilere 1 gün 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden ölçülmüştür. Referans suş olarak *E. coli* (ATCC 35218) kullanılmıştır.

3.9. PGPB Bakteri Seçimi

İzolatlar birbirinden bağımsız olarak fosfat çözme, IAA, siderofor, ACC deaminaz aktivitesi bakımından değerlendirilmiştir. Her testin kendi içerisinde ortalaması alınıp ortalamanın üzerinde kalan izolatlar +1 puan verilmiştir. Ortalamanın altında kalan izolatlar ise 0 puan verilmiştir. Puanlamanın ardından her bakterinin toplam puanı hesaplanıp bakterilerin “PGPB puanı” belirlenmiştir.

3.10. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu ticari olarak üretilmiş DNA izolasyon kiti (Zymo Research, ABD) kullanılarak üreticinin talimatları doğrultusunda yapılmıştır. Buna göre; bakteriler sıvı kültürde 150 rpm 30 °C’de 1 gün inkübe edilmiştir. Ardından bakteri kültürleri 8.500 g’de 3 dk santrifüjlenmiş ve pellet kısmı alınmıştır. Alınan pellet üzerine 200 µl lizis tamponu eklenerek hücrelerin parçalanması sağlanmıştır. 10 dk alt üst edilerek karıştırılan örnekler 5 dk 8.500 g’de santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatant Zymo-Spin III-F filtresine alınarak 1 dk 8.500 g’de santrifüjlenmiştir. Ardından kolondan geçen solüsyon üzerine 1200 µL Binding Buffer (bağlama tamponu) eklenerek karışım IC filtresine alınarak 1 dk 8.500 g’de santrifüjlenmiştir. Kolondan geçen sıvı atılmıştır. Kolon üzerine Wash Buffer-2’den 700 µL eklenerek 2 dk 8.500 g’de santrifüjlenmiştir. Bu işlemten sonra filtre üzerine 30 µL DNaz-RNaz içermeyen su eklenerek 5 dk inkübe edilmiştir. Ardından 8.500 g’de 3 dk santrifüjlenerek elde edilen DNA solüsyonları 4 °C’de saklanmıştır.

DNA izolasyon kiti ile genomik DNA izolasyonu yapılamayan bakteriler için B planı olarak Syn ve Swarup (2000) yöntemine göre manuel olarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Taze büyütülen bakteri örnekleri %0,85’lik NaCl ile iki kez 8.500 g’de 5 dk santrifüjlenerek yıkanmıştır. Hücre pelletinin üzerine 750 µL TES (10 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, pH 8.0, %2 SDS) solüsyonu içinde 10 dk 75 °C’de inkübe edilmiştir. TES’li hücre lizatının üzerine 750 µL fenol:kloroform (3:1) eklenip karışımın homojen hale gelmesi için vortekslenmiştir. Faz ayrımının oluşması için karışım 8.500 g’de 10 dk santrifüjlenmiştir. Faz ayrımı olduktan sonra üst kısımda bulunan berrak faz farklı bir ependorf tüpüne alınıp 1 hacimde izopropanol ve 0,1 hacimde 3 M sodyum asetat eklenmiştir. Karışım yavaşça alt üst edilerek DNA iplikçisi görünür hale gelmiştir. Oluşan iplikçisi çöktürmek için 8.500 g’de 5 dk santrifüjlenmiştir. Ardından DNA pelleti % 95’lik soğuk etanol ile yıkanarak alkol ortamdan uzaklaştırılmıştır. İzole edilen DNA 50 µL DNaz-RNaz içermeyen su içinde süspanse edilmiştir.

3.11. Bakteri İzolatlarında 16S rRNA Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltılması

DNA izolasyonu gerçekleştirilen bakterilerin tanımlanması için hedef gen bölgesi olarak 16S rRNA gen bölgesi seçilerek PZR ile çoğaltılmıştır. PZR ile çoğaltma işleminde ise evrensel primerler kullanılmıştır (Eden vd. 1991; Içgen ve Yılmaz 2014). Bu primerler ileri 8F (5’-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3’) ve geri 1492R (5’-GGTGTGTTGATTGTTACGACTT-3’) şeklinde tasarlanmıştır. Çizelge 3.1.’de PZR için gerekli olan kimyasallar, Çizelge 3.2.’de ise PZR için gerekli olan koşullar verilmiştir (Raja vd. 2009; Aktan vd. 2013).

Çizelge 3.1. PZR karışımı için kullanılacak olan kimyasallar

Karışım Reaktifi	Kullanılan Miktar
Taq Tampon Solüsyonu (10X)	5 µL
MgCl ₂ (25mM)	5 µL
Geri Primer (10 µL)	1 µL
İleri Primer (10 µL)	1 µL
dNTP	1 µL
Genomik DNA	1 µL
Taq DNA polimeraz Enzimi	1 µL
dH ₂ O	35 µL
Toplam	50 µL

Çizelge 3.2. PZR koşulları

PZR Koşulları	Sıcaklık	Süre
İlk Denatürasyon	95 °C	10 dk
Denatürasyon	95 °C	1 dk
Primer Yapışması	47 °C	1 dk
Uzama	72 °C	1 dk
Son Uzama	72 °C	10 dk

PZR ürünleri yükleme boyasıyla boyanmış ve ardından TAE tamponu ile hazırlanan %1'lik agaroz jelde 90 V'de 75 dk yürütülmüştür. DNA merdiveni olarak Hyperladder 1 Kb (Bioline, ABD) kullanılmıştır. PZR ürünlerini görüntülemek için jel EtBr ile boyanarak DPR Minibis Pro Bio Jel Görüntüleme Sistemi (DNR Bio-İmaging Systems, İsrail) ile bilgisayar ortamında analizi yapılmıştır. Bu işlemin ardından hedef bantlar jel ekstraksiyon kiti (Zymo Research, ABD) kullanılarak üreticinin yönergelerine göre saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PZR ürünlerinin çift yönlü DNA sekans analizleri hizmet alımı ile (BM Laboratuvar Sistemleri, Türkiye) yapılmıştır. Firmadan gelen çift yönlü sekans sonuçları Clustal Omega programı kullanılarak hizalanmıştır (Larkin vd. 2007). Sekans dizileri Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information-NCBI) bilgi bankası Basit Yerel Hizalama Arama Aracı (Basic Local Alignment Search Tool-BLAST) programı kullanılarak analiz edilmiş ve izolatlar tanımlanmıştır. 16S rDNA sekansları tahsis edilen NCBI numaralarıyla BankIt aracılığıyla GenBank veribankasına (Benson ve Karsch-Mizrachi, 2000) girilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Bitki Örneklerinden Endofitik ve Rizosfer Bakteri İzolasyonu

Tez kapsamında kullanılan Kaya Dağarcığı bitkisi Derebucak-Kızıl Dağı, Konya ilinden toplanarak uygun koşullarda laboratuvara getirilmiştir (Şekil 4.1a). Bu bitkiden 34 adet endofitik bakteri ve 30 adet rizobakteri kolonisi izole edilmiştir. Köyceğiz-Sandras Dağı, Muğla ilinden toplanan Çam Dağarcığı bitkisinden ise 27 adet endofitik bakteri ve 18 adet rizobakteri kolonisi izole edilmiştir (Şekil 4.1b). İzolasyonu yapılan bakteriler, izole edildikleri bitkinin baş harfleri ve bitkiden izole edildikleri yere göre koloni numaraları verilerek isimlendirilmiştir. Örneğin; Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen 1. endofitik bakteri kolonisi: NCME1, Çam Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen 1. rizosferik bakteri kolonisi NCRR1 şeklinde isimlendirilmiştir.

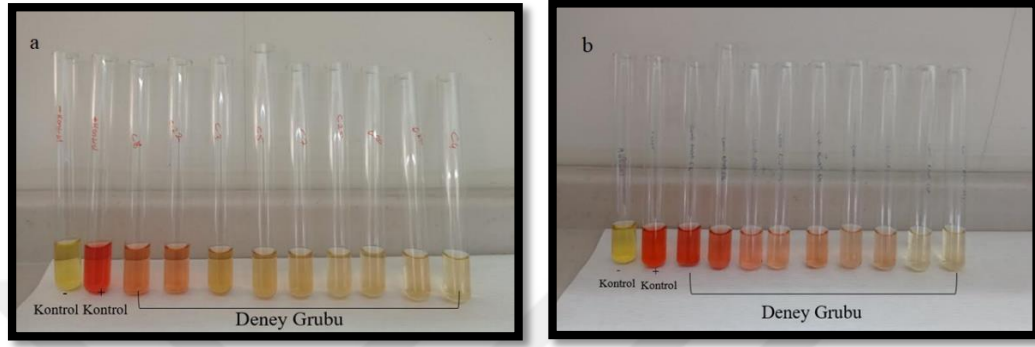


Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan bitkiler; a) Kaya Dağarcığı (Aksoy 3181) b) Çam Dağarcığı (Aksoy 3203)

4.2. İndol-3 Asetik Asit Testi

İzole edilen bakterilerin IAA üretme kapasitelerine bakıldığında, Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCME25 (37,99 ppm) kolonisi en yüksek IAA üretimine sahipken NCME2, NCME4, NCME12, NCME35 kolonilerinin IAA üretimlerinin 0 ppm olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1). Aynı bitkinin rizosferinden izole edilen NCMR40 kolonisi IAA üretimine sahipken (38,87 ppm) NCMR12, NCMR18, NCMR23, NCMR26, NCMR29, NCMR33, NCMR41, NCMR42 kolonilerinin ise IAA üretimine sahip olmadığı (0 ppm) görülmüştür (Çizelge 4.2). Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakteriler değerlendirildiğinde en yüksek IAA üretme kapasitesinin

NCRE30 kolonisine ait olduğu görülmüşken (44,08 ppm), NCRE40, NCRE42 bakterilerinin ppm değerlerinin 0 olduğu gözlemlenmiştir. Çam Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen bakteriler değerlendirildiğinde ise izole edilen bakterilerin tamamının IAA üretimine sahip olduğu, NCRR13 (17,46 ppm) kolonisinin ise en yüksek IAA üretme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4). Pozitif kontrol olarak kullanılan *S. enterica*'nın ise IAA üretme kapasitesinin 19,09 ppm olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2a, 4.2b).



Şekil 4.2. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin IAA üretimlerine bağlı renk değişimleri a) Endofitik bakteriler b) Rizobakteriler

Çizelge 4.1. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin PGPB aktiviteleri

Koloni adı	IAA Üretimi (ppm)	Fosfat Çözme Kapasitesi (mm)	Siderofor Üretimi (mm)	ACC Deaminaz Üretimi
NCME1	7,11±0,01	0±0	25±0	-
NCME2	0,58±0	0±0	18±0	-
NCME3	6,52±0	0±0	0±0	-
NCME4	0,69±0	0±0	0±0	-
NCME5	5,24±0	0±0	0±0	-
NCME6	4,58±0,02	0±0	20,67±0,58	-
NCME7	4,27±0	0±0	0±0	-
NCME11	4,80±0,01	0±0	15,67±0,58	-
NCME12	0,44±0	0±0	10,33±0,58	-
NCME13	10,01±0	0±0	26,67±0,58	-
NCME14	4,06±0	0±0	10,67±0,58	-
NCME15	3,59±0	0±0	14,67±0,58	-
NCME16	6,59±0,02	0±0	14±0	-
NCME17	3,28±0	0±0	17±0	-
NCME18	9,95±0,01	0±0	15±0	-
NCME19	7,24±0,01	23±0	16±0	-
NCME22	11,03±0	0±0	11,33±0,58	-
NCME23	4,42±0	0±0	12,67±0,58	-
NCME24	3,71±0	0±0	9,67±0,58	-
NCME25	67,99±0,05	0±0	22,33±0,58	-
NCME26	6,47±0	0±0	16±1	-

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.1'in devamı.

NCME27	3,14±0	0±0	0±0	-
NCME29	3,71±0	0±0	27,67±0,58	-
NCME30	3,26±0	0±0	16,33±0,58	-
NCME31	3,17±0	0±0	13±0	-
NCME34	2,73±0	0±0	19±1	-
NCME35	0,15±0	0±0	9,33±0,58	-
NCME37	4,29±0	0±0	12,33±0,58	-
NCME38	3,49±0,01	30,03±1,73	8,67±0,58	-
NCME40	3,57±0	30±0	14,33±0,58	-
NCME41	11,75±0,44	0±0	12±0	-
NCME42	2,54±0	0±0	11,67±0,58	-
NCME45	5,12±0	31,25±0	28,33±1,53	-

Çizelgede elde edilen veriler üç tekrarın ortalama $\pm$ standart sapması olarak verilmiştir. 0 değeri siderofor üretimi ve fosfat çözme kapasitesi için zon oluşmadığını ifade etmektedir. ACC deaminaz deneyine ait + simgesi aktivitenin varlığını, - simge ise aktivitenin olmadığını ifade etmektedir.

Çizelge 4.2. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizobakterilerin PGPB aktiviteleri

Koloni adı	IAA Üretimi (mm)	Fosfat Çözme Kapasitesi (mm)	Siderofor Üretimi (mm)	ACC Deaminaz Üretimi
NCMR1	3±0	0±0	18,67±0,58	-
NCMR2	18,82±0	0±0	16,67±0,58	-
NCMR3	6,43±0	0±0	23±0	-
NCMR4	8,13±0	0±0	19,33±0,58	-
NCMR5	6,70±0	0±0	22,67±0,58	-
NCMR6	10,54±0	0±0	15,33±0,58	-
NCMR8	6,45±0	0±0	24±1	-
NCMR10	9,19±0	0±0	14,67±0,58	-
NCMR11	7,17±0	0±0	15±0	-
NCMR12	0,31±0	0±0	21±0	-
NCMR15	6,18±0	0±0	0±0	-
NCMR16	20,06±0	0±0	0±0	-
NCMR17	8,73±0	0±0	19,33±0,58	-
NCMR18	0,25±0	0±0	16±0	-
NCMR19	7,29±0	0±0	21±0	-
NCMR20	3,95±0	0±0	0±0	-
NCMR21	5,63±0	0±0	21±0	-
NCMR23	0,41±0	0±0	13,33±0,58	-
NCMR24	5,59±0	0±0	16,33±0,58	-
NCMR26	0,29±0	0±0	0±0	-
NCMR27	10,63±0	36,29±2,84	14,33±0,58	+
NCMR29	0,43±0	0±0	20,67±0,58	-
NCMR30	3,93±0	0±0	7,67±0,58	-
NCMR31	20,02±0,0	0±0	25±0	-
NCMR33	0,32±0	0±0	20,67±0,58	-

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.2'in devamı.

NCMR39	13,73±0	0±0	13±0	-
NCMR40	38,74±1,50	0±0	13±1	-
NCMR41	0,20±0	0±0	26,33±0,58	-
NCMR42	0,22±0	0±0	15,67±0,58	-
NCMR43	35,87±0,1	0±0	21±0	-

Çizelgede elde edilen veriler üç tekrarın ortalama $\pm$ standart sapması olarak verilmiştir. 0 değeri siderofor üretimi ve fosfat çözme kapasitesi için zon oluşmadığını ifade etmektedir. ACC deaminaz deneyine ait + simgesi aktivitenin varlığını, - simge ise aktivitenin olmadığını ifade etmektedir.

Çizelge 4.3. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin PGPB aktiviteleri

Koloni adı	IAA Üretimi (ppm)	Fosfat Çözme Kapasitesi (mm)	Siderofor Üretimi (mm)	ACC Deaminaz Üretimi
NCRE1	33,16±0,02	46,25±1,77	0±0	+
NCRE2	11,22±0,04	36±0	20±0,58	+
NCRE5	21,25±0,01	38±0	13±0	+
NCRE6	1,73±0	0±0	12±0	-
NCRE7	2,19±0	32±0	13±1	+
NCRE8	13,46±0,01	27±1,41	0±0	+
NCRE9	19,8±0,02	33±1,41	19,67±0,58	+
NCRE11	17,28±0	0±0	11,33±0,58	-
NCRE13	9,71±0	41±1,41	21±0	+
NCRE15	4,71±0,01	48±0	21,33±0,58	+
NCRE16	36,55±0,02	0±0	0±0	-
NCRE18	7,23±0	44±0	20±0	+
NCRE20	12,17±0	36±0	23±1	+
NCRE21	5,95±0,01	46±0	23±0	+
NCRE23	6,31±0,01	0±0	0±0	-
NCRE27	18,15±0,03	39±1,41	23±1	+
NCRE29	7,69±0,01	46±5,66	20±0	+
NCRE30	44,08±0,02	0±0	0±0	-
NCRE31	10,1±0,01	40±0	17±0	+
NCRE32	20,35±0	35,8±1,13	11±1	+
NCRE33	9,14±0	38±0	16,67±0,58	+
NCRE34	9,34±0,01	35±1,41	18±1	+
NCRE35	14,5±0,02	38±0	17±1	+
NCRE37	32,35±0,02	29±1,41	14,33±1,53	+
NCRE40	0,45±0	0±0	14±0	-
NCRE41	13,84±0,01	41±1,41	22,67±0,58	+
NCRE42	0,52±0	0±0	10,33±0,58	-

Çizelgede elde edilen veriler üç tekrarın ortalama $\pm$ standart sapması olarak verilmiştir. 0 değeri siderofor üretimi ve fosfat çözme kapasitesi için zon oluşmadığını ifade etmektedir. ACC deaminaz deneyine ait + simgesi aktivitenin varlığını, - simge ise aktivitenin olmadığını ifade etmektedir.

Çizelge 4.4. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizobakterilerin PGPB aktiviteleri

Koloni adı	IAA Üretimi (ppm)	Fosfat Çözme Kapasitesi	Siderofor Üretimi (mm)	ACC Deaminaz Aktivitesi
NCRR2	7,96±0,01	31,6±0	12,33±0,58	+
NCRR3	6,26±0	29±1,41	10,33±0,58	-
NCRR5	7,60±0	35,65±3,32	16±0	-
NCRR7	6,73±0	38±0	12,67±0,58	-
NCRR8	10,88±0,01	36±0	15,33±0,58	-
NCRR10	6,36±0	40±0	15,33±0,58	-
NCRR12	6,59±0,01	0±0	10±0	-
NCRR13	17,46±0	31,6±0	16,67±0,58	-
NCRR14	6,66±0	0±0	17,67±0,58	-
NCRR15	11,60±0	37±1,41	24±1	-
NCRR16	7,81±0	32,8±1,70	15±0	-
NCRR17	6,36±0	0±0	20,67±0,58	-
NCRR18	11,76±0,01	50±0	17,33±0,58	-
NCRR20	2,02±0	0±0	9,67±0,58	-
NCRR21	9,70±0,02	0±0	12±0	-
NCRR22	10,23±0,01	43,3±0	15±1	-
NCRR23	1,87±0	0±0	9,33±0,58	-
NCRR25	1,71±0	0±0	9,67±0,58	-

Çizelgede elde edilen veriler üç tekrarın ortalama $\pm$ standart sapması olarak verilmiştir. 0 değeri siderofor üretimi ve fosfat çözme kapasitesi için zon oluşmadığını ifade etmektedir. ACC deaminaz deneyine ait + simgesi aktivitenin varlığını, - simge ise aktivitenin olmadığını ifade etmektedir.

4.3. Siderofor Üretimi

Bakterilerin siderofor üretme yetenekleri değerlendirildiğinde NCRR15, NCRE5, NCRE20, NCRE21, NCRE27, NCMR41 ve NCME45 izolatlarının en yüksek yeteneğe sahip olduğu belirlenmiştir. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin tamamının siderofor üretebildiği görülmüştür (Çizelge 4.4). Aynı bitkiden izole edilen endofitik bakterilerinin %74'ünün siderofor üretme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3). Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin ise %82'sinin siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1). Kaya Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen bakterilerin siderofor üretme yetenekleri değerlendirildiğinde ise NCMR15, NCMR16, NCMR20 ve NCMR26 izolatları dışında bakteri izolatlarının tamamının bu yeteneğe sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Ayrıca siderofor üretme kapasitesine sahip bütün bakteri izolatlarının kontrolden (40 mm) az olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).



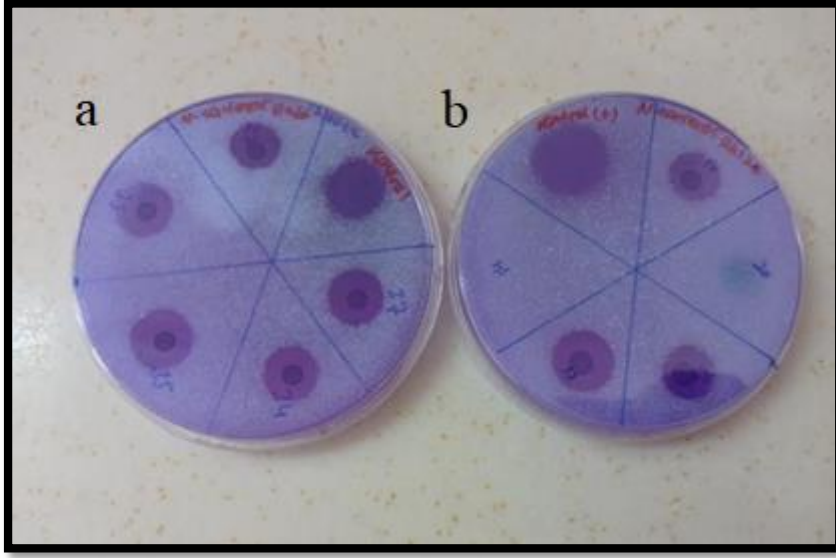
Şekil 4.3. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizobakterilerin siderofor üretme yeteneğine bağlı olarak oluşturdıkları zonlar

4.4. ACC Deaminaz Aktivitesi

İzolatların ACC deaminaz aktiviteleri değerlendirildiğinde Kaya Dağarcığı bitkisinin dokularından izole edilen NCME27 ve rizosferinden izole edilen NCMR27 izolatları dışında hiçbir bakteri izolatının ACC deaminaz aktivitesine sahip olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.1, 4.2). Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin %74'ünün ACC deaminaz aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Çam Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen bakteri izolatlarının ACC deaminaz aktivitesi karşılaştırıldığında ise NCRR2 izolatı dışında hiçbir bakteri izolatının ACC deaminaz aktivitesinin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Bu deney kapsamında pozitif kontrol olarak kullanılan *P. aeruginosa*'nın ACC içeren DF besiyerinde büyüdüğü tespit edilmiştir.

4.5. Fosfat Çözünürlüğü

Bakterilerin fosfat çözme kapasiteleri değerlendirildiğinde, Kaya Dağarcığı bitkisine ait olan NCME19, NCME38, NCME45 ve NCMR27 bakterilerinin bu yeteneğe sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1, 4.2). Bu bitkiye ait diğer izolatların fosfat çözme kapasitelerinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin fosfat çözme kapasiteleri değerlendirildiğinde ise endofitik bakterilerin %26'sının ve rizobakterilerin %39'unun fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3, 4.4). Deneyler kapsamında en yüksek fosfat çözme kapasitesinin Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCRR18 (50 mm) izolatında olduğu gözlenmiştir. Bu deney kapsamında pozitif kontrol olarak kullanılan *P. aeruginosa*'nın ise NBRIP besiyerinde 37 mm çaplı zon oluşturduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.4a, 4.4b).



Şekil 4.4. Çam Dağarcığı ait olan bakterilerin fosfat çözme kapasitelerine bağlı olarak oluşturdukları zonlar, a) Endofitik bakteriler b) Rizobakteriler

4.6. Ağır Metal Direncinin Belirlenmesi

İzole edilen bakterilerin ağır metal profillerini belirlemek için Ni, Cr, Al, Pb, Cd, Zn, Cr ağır metallerinin her birinin 1, 5 ve 10 mM konsantrasyonları kullanılmıştır (Çizelge 4.5, 4.6, 4.7, 4.8). Tüm sonuçlar değerlendirilğinde iki bitkiden izole edilen bakterilerin genel olarak 1 mM Al, Pb, Cr, Cu ve Ni ağır metallerine karşı dirençli olduğu görülmüştür. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCME1, NCME2, NCME4, NCME5, NCME7, NCME13, NCME26, NCME40 ve NCME45 bakterilerinin 1Mm Zn direncinin olduğu gözlemlenmiştir. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCRR21 bakterisinin ise 10 Mm Ni direncinin olduğu görülmüştür. Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı bitkilerinden izole edilen bakteri kolonilerinden hiçbirinin Cd içeren besiyeri ortamında büyümediği tespit edilmiştir (Şekil4.5a, 4.5b, 4.5c).



Şekil 4.5. Çam Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen NCRR2, NCRR3, NCRR10, NCRR13, NCRR18, NCRR25 bakterilerine ait ağır metal sonuçları a) 1mM, b) 5mM, c) 10mM $\text{NiCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarında bakterilerinin büyüme analizi

Çizelge 4.5. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin ağır metal direnç profilleri (mM)

Koloni adı	Ni	Cr	Pb	Cu	Al	Zn	Cd
NCME1	1	1	1	0	1	1	0
NCME2	1	1	1	1	1	1	0
NCME3	1	1	1	1	1	0	0
NCME4	1	1	1	1	1	1	0
NCME5	1	1	1	1	1	1	0
NCME6	1	1	1	1	1	0	0
NCME7	1	1	1	1	1	1	0
NCME11	1	1	1	1	1	0	0
NCME12	1	1	1	1	1	0	0
NCME13	1	0	0	0	1	1	0
NCME14	1	1	1	1	1	0	0
NCME15	1	1	1	1	1	0	0
NCME16	1	1	1	1	1	0	0
NCME17	1	1	1	1	1	0	0
NCME18	1	1	1	1	1	0	0
NCME19	1	1	1	1	1	0	0
NCME22	1	1	1	1	1	0	0
NCME23	1	1	1	1	1	0	0
NCME24	1	1	1	1	1	0	0
NCME25	1	1	1	1	1	0	0
NCME26	1	1	1	1	1	1	0
NCME27	1	1	1	1	1	0	0
NCME29	1	1	1	1	1	0	0
NCME30	1	0	1	1	1	0	0
NCME31	1	1	1	1	1	0	0
NCME34	1	0	1	1	1	0	0
NCME35	1	1	1	1	1	0	0
NCME37	1	1	1	1	1	0	0
NCME38	1	1	1	1	1	0	0
NCME40	1	1	1	1	1	1	0
NCME41	1	1	1	1	1	0	0
NCME42	1	1	1	1	1	0	0
NCME45	1	1	1	1	1	1	0

Çizelge 4.6. Kaya Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen bakterilerin ağır metal direnç profilleri (mM)

Koloni adı	Ni	Cr	Pb	Cu	Al	Zn	Cd
NCMR1	1	0	1	0	1	0	0
NCMR2	1	1	1	0	1	0	0
NCMR3	1	1	0	0	0	0	0
NCMR4	1	1	1	1	1	0	0
NCMR5	1	1	0	0	0	0	0

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.6'ın devamı.

NCMR6	1	1	1	1	1	0	0
NCMR8	1	1	1	0	1	0	0
NCMR10	1	1	1	1	1	0	0
NCMR11	1	0	1	1	1	0	0
NCMR12	5	1	1	1	1	0	0
NCMR15	1	1	1	1	1	0	0
NCMR16	5	1	1	1	1	0	0
NCMR17	1	1	0	0	0	0	0
NCMR18	1	0	0	0	1	0	0
NCMR19	1	0	0	0	0	0	0
NCMR20	1	0	1	0	1	0	0
NCMR21	1	0	0	0	0	0	0
NCMR23	1	0	1	0	1	0	0
NCMR24	1	0	1	1	1	0	0
NCMR26	1	0	1	0	1	0	0
NCMR27	5	0	1	1	1	0	0
NCMR29	1	0	1	0	1	0	0
NCMR30	1	0	1	0	1	0	0
NCMR31	1	0	1	0	1	0	0
NCMR33	1	0	1	0	1	0	0
NCMR39	1	0	1	0	1	0	0
NCMR40	1	0	0	0	0	0	0
NCMR41	1	0	1	0	1	0	0
NCMR42	1	0	1	0	1	0	0
NCMR43	1	0	1	1	1	0	0

Çizelge 4.7. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin ağır metal direnç profilleri (mM)

Koloni adı	Ni	Cr	Pb	Cu	Al	Zn	Cd
NCRE1	5	1	1	1	1	0	0
NCRE2	5	1	1	1	1	0	0
NCRE5	1	1	1	0	1	0	0
NCRE6	1	1	1	0	1	0	0
NCRE7	1	1	1	0	0	0	0
NCRE8	1	1	1	0	1	0	0
NCRE9	1	1	1	0	1	0	0
NCRE11	1	1	1	0	1	0	0
NCRE13	1	1	1	0	1	0	0
NCRE15	1	0	1	0	1	0	0
NCRE16	1	1	1	0	1	0	0
NCRE18	1	1	1	0	1	0	0
NCRE20	1	1	1	0	1	0	0
NCRE21	1	1	1	0	1	0	0
NCRE23	1	1	1	0	1	0	0
NCRE27	1	1	1	0	1	0	0

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.7'in devamı.

NCRE29	1	1	1	0	1	0	0
NCRE30	1	0	1	0	1	0	0
NCRE31	1	1	1	0	1	0	0
NCRE32	1	1	1	0	1	0	0
NCRE33	1	1	1	0	1	0	0
NCRE34	1	1	1	0	1	0	0
NCRE35	1	0	1	0	1	0	0
NCRE37	1	0	1	0	1	0	0
NCRE40	1	1	1	0	1	0	0
NCRE41	1	1	1	0	1	0	0
NCRE42	5	1	1	2	5	0	0

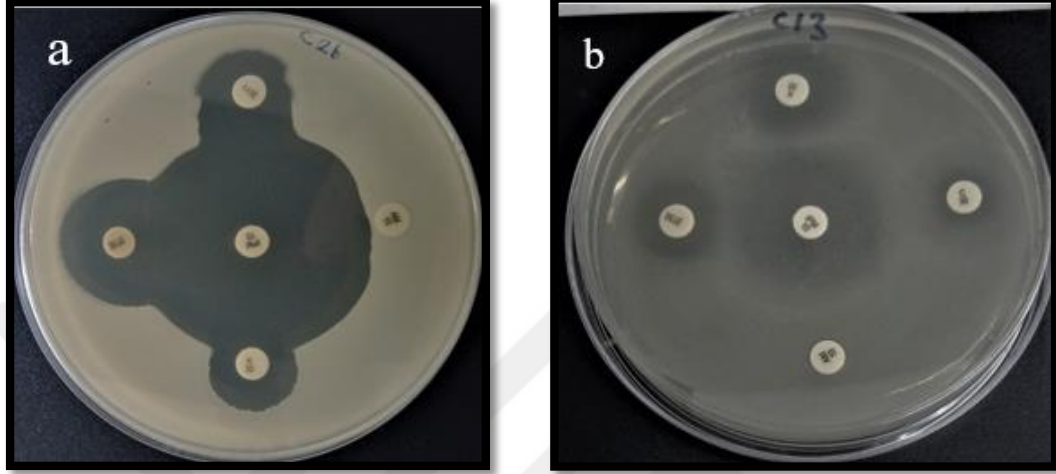
Çizelge 4.8. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin ağır metal direnç profilleri (mM)

Koloni adı	Ni	Cr	Pb	Cu	Al	Zn	Cd
NCRR2	5	1	1	1	5	0	0
NCRR3	5	1	1	1	5	0	0
NCRR5	5	1	1	1	5	0	0
NCRR7	5	1	1	1	5	0	0
NCRR8	5	1	1	1	5	0	0
NCRR10	5	1	1	0	5	0	0
NCRR12	5	1	1	1	5	0	0
NCRR13	5	1	1	1	5	0	0
NCRR14	5	1	1	1	5	0	0
NCRR15	5	1	1	1	5	0	0
NCRR16	5	1	1	1	5	0	0
NCRR17	5	1	1	1	5	0	0
NCRR18	5	1	1	1	5	0	0
NCRR20	5	1	1	1	5	0	0
NCRR21	10	1	1	1	5	0	0
NCRR22	5	1	1	1	5	0	0
NCRR23	5	1	1	1	5	0	0
NCRR25	5	1	1	0	5	0	0

4.7. Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi

Bu çalışmada izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç profillerini belirlemek için ampisilin (10 µg/mL), imipenem (30 µg/mL), kanamisin (30 µg/mL), kloramfenikol (30 µg/mL) ve tetrasiklin (30 µg/mL) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı bitkilerinden izole edilen endofitik bakterilerin ve rizosfer bakterilerinin antibiyotik zon çapları ölçülerek cm cinsinden kaydedilmiştir (Çizelge 4.9, 4.10, 4.11, 4.12). Her iki bitkiden de izole edilen bakterilerin tamamının imipenem antibiyotiğine karşı duyarlı olduğu görülmüştür. Kaya Dağarcığı bitkisinin endofitinden izole edilen endofitik bakterilerin 13 tanesinin, aynı bitkinin rizosferinden izole edilen

rizobakterilerin ise 9 tanesinin ampisilin antibiyotiğine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin 19 tanesi, rizobakterilerin ise 8 tanesinin ampisiline dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca her iki bitkiden izole edilen bakterilerin tetrasiklin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı oluşturdukları zonların çaplarının birbirlerine yakın olduğu görülmüştür (Şekil 4.6a, 4.7b).



Şekil 4.6. İzolatların kanamisin, imipenem, tetrasiklin, kloromfenikol ve ampisilin antibiyotik duyarlılık testi sonucu a) Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCMR26 b) Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen NCRE13 izolatları

Çizelge 4.9. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin antibiyotik direnç profilleri (mm)

Koloni adı	Kanamisin	İmipenem	Tetrasiklin	Kloramfenikol	Ampisilin
NCME1	10,3±0,06	35,3±0,06	14,3±0,06	18,6±0,06	6±0
NCME2	12,3±0,06	39±0	26±0,1	10,6±0,06	6,6±0,06
NCME3	13,6±0,06	34,6±0,06	15±0	16,3±0,06	6±0
NCME4	12±0	33,6±0,06	14±0	10,6±0,06	6±0
NCME5	10±0	34±0,1	15±0	18±0	6±0
NCME6	17±0,1	39±0,15	27±0,1	17±0	7,2±0,11
NCME 7	11±0,1	35,3±0,06	18±0	17±0,1	6±0
NCME8	14,5±0,06	43,3±0,06	24,3±0,06	24±0	6±0
NCME11	15,3±0,06	46,3±0,15	33±0,1	30±0	19,6±0,06
NCME12	16±0,1	45,3±0,25	30±0	29±0	25,3±0,06
NCME13	15±0	37,3±0,06	24±0,1	16,3±0,06	10,3±0,06
NCME14	23±0	49±0,1	34±0,1	32±0,1	22±0
NCME15	16±0,1	46,6±0,06	32±0,1	31±0	13±0
NCME16	13±0	40±0	33,6±0,06	22±0	19,3±0,06
NCME17	17±0	40,3±0,06	28±0,1	13,6±0,06	6±0
NCME18	13±0,2	46±0	33±0,1	39±0	19±0
NCME19	13±0	43±0	31±0	25,3±0,06	20±0

(Devamı arkada)

Çizelge 4.9'un devamı.

NCME23	11±0,1	39,6±0,06	20±0	20,6±0,06	6±0
NCME24	15,3±0,06	40,3±0,06	23±0	29±0,1	23±0
NCME25	14±0,1	37,6±0,06	23,6±0,06	18,3±0,06	6±0
NCME26	11±0,1	41±0,1	20,3±0,06	14±0,1	6±0
NCME27	10,3±0,06	34,6±0,06	11,6±0,15	13±0	6±0
NCME29	13,6±0,06	40±0	29,3±0,06	14±0,1	17±0
NCME30	13,6±0,06	35±0	27,6±0,06	29,3±0,06	0±0,06
NCME31	15,3±0,06	41±0,1	29±0,1	29±0,1	1,86±0,06
NCME34	18±0,2	37,3±0,25	28±0	17±0	17±0
NCME35	19,6±0,06	48±0,2	34±0,1	28,6±0,06	18,6±0,15
NCME37	13±0	39±0,1	27,6±0,06	30±0	18,3±0,06
NCME38	24,3±0,06	42±0,1	25±0	25±0,1	6±0
NCME40	14±0	38±0,1	29,6±0,06	33,3±0,06	23,3±0,06
NCME41	13±0,1	41±0,1	29±0	29,6±0,06	24±0,1
NCME42	14±0,1	40,6±0,06	29±0	27±0,1	20±0
NCME45	12±0	35,6±0,06	17±0	8,3±0,06	6±0

Çizelgedeki veriler üç tekrarın ortama $\pm$ standart sapması olarak ifade edilmiştir. Testte kullanılan antibiyotik disklerinin çapı 6 mm olduğundan zon oluşturmeyen örneklerin inhibisyon zonu 6mm olarak verilmiştir.

Çizelge 4.10. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri (mm)

Koloni adı	Kanamisin	İmipenem	Tetrasiklin	Kloramfenikol	Ampisilin
NCMR1	16,6±0,06	45±0,2	34±0	23,3±0,15	6±0
NCMR2	19,6±0,06	49,6±0,06	31,3±0,06	24±0	15,6±0,06
NCMR3	19,3±0,06	38±0,1	27±0,1	16±0,06	14,3±0,06
NCMR4	22,6±0,06	41,3±0,06	35±0	18,6±0,06	18±0
NCMR5	20,6±0,06	38±0,1	30,3±0,06	19±0,1	10±0
NCMR6	20±0,1	45,3±0,06	32±0,1	35±0	24±0,1
NCMR8	25±0,1	51,6±0,15	39±0,2	29,3±0,06	20±0,1
NCMR10	23±0	49,6±0,06	34±0,1	35±0	26±0,1
NCMR11	19±0	35±0	28±0	20±0	13±0
NCMR12	21±0,1	41,6±0,15	34,3±0,06	34,6±0,06	6±0
NCMR15	17,6±0,06	45,6±0,06	35±0	33,6±0,06	25,3±0,06
NCMR16	19,3±0,06	44±0,1	28,3±0,06	14±0,1	16±0,1
NCMR17	19±0,1	31,3±0,06	30±0	19±0,1	6±0
NCMR18	17±0	42,3±0,06	25,6±0,06	15,6±0,06	9,6±0,06
NCMR19	20±0	40,3±0,06	30,6±0,06	16,6±0,06	6±0
NCMR20	20,6±0,06	49±0,1	31±0,1	41±0,1	19,6±0,06
NCMR21	24±0	37±0,1	30,3±0,06	15±0	15,6±0,06
NCMR23	16,6±0,06	45,3±0,06	32,6±0,06	30,6±0,06	23,3±0,06
NCMR24	19,6±0,06	44±0,1	31±0,1	36,6±0,15	16±0,1
NCMR26	20±0	54,6±0,06	40±0	40,3±0,06	26,3±0,15

(Devamı arkada)

Çizelge 4.10'un devamı.

NCMR27	20,3±0,06	32,6±0,06	20±0	06±0	6±0
NCMR29	19,6±0,06	41,6±0,15	42±0,2	16,3±0,15	6±0
NCMR30	25±0	61±0	43±0	44±0	28±0
NCMR31	20,3±0,06	45,3±0,06	33,6±0,06	31±0,1	6±0
NCMR33	22,6±0,06	50±0,1	28,6±0,06	35,6±0,06	15,6±0,06
NCMR39	19,3±0,06	45,43±0,15	25±0	27±0,1	10±0
NCMR40	22±0,1	45±0	32,6±0,06	34,3±0,06	24±0,1
NCMR41	27,3±0,06	48,6±0,15	30±0,1	24±0,1	16±0,1
NCMR42	18,6±0,06	36,6±0,06	24±0,1	30,6±0,06	6±0
NCMR43	20±0	44,3±0,06	26±0,1	16,6±0,15	6±0

Çizelgedeki veriler üç tekrarın ortama $\pm$ standart sapması olarak ifade edilmiştir. Teste kullanılan antibiyotik disklerinin çapı 6 mm olduğundan zon oluşturmeyan örneklerin inhibisyon zonu 6 mm olarak verilmiştir.

Çizelge 4.11. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri (mm)

Koloni adı	Kanamisin	İmipenem	Tetrasiklin	Kloramfenikol	Ampisilin
NCRE1	18,6±0,06	45±0	32±0,1	32±0	29±0,1
NCRE2	15,6±0,06	35±0	19±0	26±0,1	10,7±0,06
NCRE5	19±0,1	27±0,1	16±0,1	10±0	6±0
NCRE6	19±0,1	37±0,1	26,7±0,15	15,7±0,06	10,3±0,06
NCRE7	17,3±0,06	23,6±0,06	15±0	10±0	6±0
NCRE8	18±0	30,7±0,06	26±0,1	13±0	6±0
NCRE9	22,6±0,06	35±0	20±0	12,7±0,06	6±0
NCRE11	20±0	30,7±0,06	28±0	10,7±0,06	6±0
NCRE13	16,3±0,06	25±0	15±0	10,7±0,06	6±0
NCRE15	19±0,1	35±0	15,7±0,06	14,7±0,06	6±0
NCRE18	19±0,1	34±0,1	13,7±0,06	12±0	6±0
NCRE20	25,3±0,06	45±0	26,7±0,15	12,3±0,11	6±0
NCRE21	20,3±0,06	35±0	21,7±0,06	10±0	6±0
NCRE23	17,3±0,06	45±0	24,3±0,06	33,3±0,06	24,7±0,06
NCRE27	16±0,1	30±0	14,3±0,06	11,3±0,06	6±0
NCRE29	20±0	31,7±0,15	13,7±0,06	12±0	6±0
NCRE31	12,3±0,06	24,7±0,06	12±0,1	10,3±0,06	6±0
NCRE32	17,6±0,06	30,3±0,06	15,3±0,06	10,3±0,06	6±0
NCRE33	18±0	36±0,1	17±0	12,3±0,06	6±0
NCRE34	20±0	30,3±0,06	15,7±0,06	14,3±0,06	6±0
NCRE35	17,6±0,06	34±0,1	16,7±0,15	10,3±0,06	6±0
NCRE37	19±0,1	40±0	18±0	11,3±0,06	6±0
NCRE40	13,3±0,06	38,3±0,06	24±0,1	28±0	25±0
NCRE41	18±0,1	32,3±0,06	14±0,1	13,7±0,06	6±0
NCRE42	20,6±0,06	59,6±0,06	38±0	35,3±0,06	27±0

Çizelgedeki veriler üç tekrarın ortama $\pm$ standart sapması olarak ifade edilmiştir. Teste kullanılan antibiyotik disklerinin çapı 6 mm olduğundan zon oluşturmeyan örneklerin inhibisyon zonu 6mm olarak verilmiştir.

Çizelge 4.12. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri (mm)

Koloni adı	Kanamisin	İmipenem	Tetrasiklin	Kloramfenikol	Ampisilin
NCRR2	11±0	24±0	11±0	9,7±0,06	6±0
NCRR3	15±0	36,7±0,15	20±0	17±0,1	9,7±0,06
NCRR5	23,3±0,06	36,3±0,15	22,3±0,06	10±0	6±0
NCRR7	25±0	38,7±0,15	23±0	16±0,1	6±0
NCRR8	22,7±0,06	36±0,1	25±0	14±0,1	6±0
NCRR10	20±0	43±0	30±0,1	25±0	14±0,1
NCRR12	20±0	45±0	19±0,1	9,7±0,06	6±0
NCRR13	15,7±0,06	29,7±0,06	13,3±0,06	9±0	6±0
NCRR14	19,3±0,06	36,3±0,06	24±0,1	18±0	14,7±0,06
NCRR15	15,3±0,06	27,3±0,06	14,7±0,06	11±0	6±0
NCRR16	19±0	37,3±0,06	17,7±0,06	13±0,1	6±0
NCRR17	23±0,1	44±0,1	35±0	25±0	24±0,1
NCRR18	15±0	25,3±0,06	12±0	9,7±0,06	6±0
NCRR20	25±0	40±0	49±0,1	40,3±0,06	10,8±0,1
NCRR21	17,7±0,06	27,7±0,06	35,7±0,06	27±0	9,1±0,15
NCRR22	23,3±0,06	39,3±0,06	20±0	14±0,1	6±0
NCRR23	22,3±0,06	38,3±0,06	22±0	10,3±0,06	6±0
NCRR25	20,3±0,06	29±0,1	35,7±0,06	30±0	14±0,1

Çizelgedeki veriler üç tekrarın ortama $\pm$ standart sapması olarak ifade edilmiştir. Teste kullanılan antibiyotik disklerinin çapı 6 mm olduğundan zon oluşturmeyen örneklerin inhibisyon zonu 6mm olarak verilmiştir.

4.8. PGPB Aktivitelerine Göre Bakteri Seçimi

Tez kapsamında izole edilen tüm bakterilerin PGPB deneyleri birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Bakteriler IAA, fosfat çözme kapasitesi, siderofor üretme kapasitesi ve ACC deaminaz aktivitesi bakımından değerlendirilerek toplamda en yüksek puana sahip 49 adet bakteri moleküler tanımlama için seçilmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin PGPB puanları

Koloni Adı	İndol Üretimi (ppm)	Fosfat Çözme Kapasitesi (mm)	Siderofor Üretimi (mm)	ACC Deaminaz Aktivitesi	PGPB Puanı
NCRE9	19,8±0,02	33±1,41	19,67±0,58	+	4
NCRE27	18,15±0,03	39±1,41	23±1	+	4
NCRE35	14,5±0,02	38±0	17±1	+	4
NCRE1	33,16±0,02	46,25±1,77	0±0	+	3
NCRE5	21,25±0,01	38±0	0±0	+	3
NCRE13	9,71±0	41±1,41	21±0	+	3
NCRE15	4,71±0,01	48±0	21,33±0,58	+	3

(Devamı arkada)

Çizelge 4.13'ün devamı.

NCRE18	7,23±0	44±0	20±0	+	3
NCRE20	12,17±0	36±0	23±1	+	3
NCRE21	5,95±0,01	46±0	23±0	+	3
NCRE29	7,69±0,01	46±5,66	20±0	+	3
NCRE31	10,1±0,01	40±0	17±0	+	3
NCRE32	20,35±0	35,8±1,13	11±1	+	3
NCRE33	9,14±0	38±0	16,67±0,58	+	3
NCRE34	9,34±0,01	35±1,41	18±1	+	3
NCRE37	32,35±0,02	29±1,41	14,33±1,53	+	3
NCRE41	13,84±0,01	41±1,41	22,67±0,58	+	3
NCRE2	11,22±0,04	36±0	0±0	+	2
NCRE7	2,19±0	32±0	12±0	-	2
NCRE8	13,46±0,01	27±1,41	0±0	+	2
NCRE11	17,28±0	0±0	11,33±0,58	-	1
NCRE16	36,55±0,02	0±0	0±0	-	1
NCRE30	44,08±0,02	0±0	0±0	-	1
NCRE40	0,45±0	0±0	14±0	-	1
NCRE6	1,73±0	0±0	12±0	-	0
NCRE23	6,31±0,01	0±0	0±0	-	0
NCRE42	0,52±0	0±0	10,33±0,58	-	0
Ortalama	14,2	24,9	12,9		

Çizelge 4.14. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosferik bakterilerin PGPB puanları

Koloni adı	IAA Üretimi (ppm)	Fosfat Çözme Kapasitesi (mm)	Siderofor Üretimi (mm)	ACC Deaminaz Üretimi	PGPB Puanı
NCMR1	3±0	0±0	18,67±0,58	-	2
NCMR2	18,82±0	0±0	16,67±0,58	-	2
NCMR17	8,73±0	0±0	19,33±0,58	-	2
NCMR27	10,63±0	36,29±2,84	14,33±0,58	+	2
NCMR31	20,02±0,0	0±0	25±0	-	2
NCMR43	35,87±0,1	0±0	21±0	-	2
NCMR3	6,43±0	0±0	23±0	-	1
NCMR4	8,13±0	0±0	19,33±0,58	-	1
NCMR5	6,70±0	0±0	22,67±0,58	-	1
NCMR6	10,54±0	0±0	15,33±0,58	-	1
NCMR8	6,45±0	0±0	24±1	-	1
NCMR10	9,19±0	0±0	14,67±0,58	-	1
NCMR12	0,31±0	0±0	21±0	-	1
NCMR16	20,06±0	0±0	0±0	-	1
NCMR18	0,25±0	0±0	16±0	-	1
NCMR19	7,29±0	0±0	21±0	-	1
NCMR21	5,63±0	0±0	21±0	-	1

(Devamı arkada)

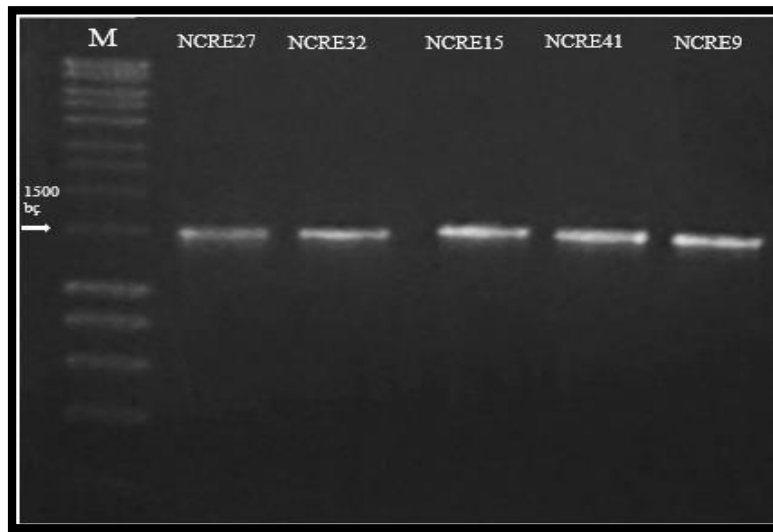
Çizelge 4.14'ün devamı.

NCMR24	5,59±0	0±0	16,33±0,58	-	1
NCMR29	0,43±0	0±0	20,67±0,58	-	1
NCMR39	13,73±0	0±0	13±0	-	1
NCMR40	38,74±1,50	0±0	13±1	-	1
NCMR41	0,20±0	0±0	26,33±0,58	-	1
NCMR11	7,17±0	0±0	15±0	-	0
NCMR15	6,18±0	0±0	0±0	-	0
NCMR20	3,95±0	0±0	0±0	-	0
NCMR23	0,41±0	0±0	13,33±0,58	-	0
NCMR26	0,29±0	0±0	0±0	-	0
NCMR30	3,93±0	0±0	7,67±0,58	-	0
NCMR42	0,22±0	0±0	15,67±0,58	-	0
Ortalama	8,63	1,20	15,9		

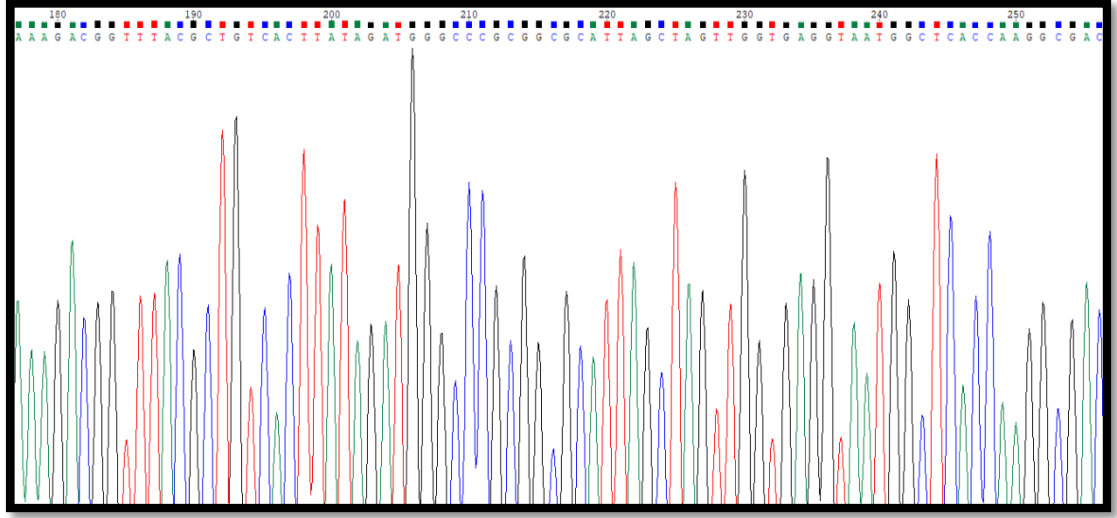
4.9. Seçilen Bakterilerin Moleküler Tanımlanması

Seçilen izolatların genomik DNA izolasyonları yapılarak elde edilen DNA'lar agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir. İzole edilen DNA'ların 16S rRNA gen bölgeleri PZR reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. Reaksiyon sonucunda PZR ürünlerinin varlığını teyit etmek amacıyla agaroz jelde görüntülenip sekans analizleri yapılmıştır (Şekil 4.7, 4.8). Sekans sonuçları NCBI veri tabanında taranarak bakteri tanımlamaları yapılmıştır.

Kit ve manuel yöntem kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilemeyen izolatların tanımlanması hizmet alımı ile matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF) (Akdeniz Üniversitesi Hastanesi, Merkezi Laboratuvarı, Antalya) yöntemi ile tanımlanmıştır (Şekil 4.14, 4.15, 4.16, 4.17).



Şekil 4.7. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin PZR ürünlerine ait agaroz jel elektroforezi görüntüsü (M: DNA merdiveni)



Şekil 4.8. NCMR31 bakterisine ait 16S rRNA gen bölgesi sekansının kromatogram görseli

Çizelge 4.15. Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin tanımlanması

Koloni Adı	Bakteri Adı	Giriş Numaraları
NCRE1	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCRE2	<i>Priestia aryabhatai</i>	NR <u>115953.1</u>
NCRE5	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCRE7	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE9	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE13	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE15	<i>Pantoea agglomerans</i>	NR <u>041978.1</u>
NCRE18	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE21	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE27	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE29	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE32	<i>Pseudomonas baetica</i>	NR <u>116899.1</u>
NCRE35	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE37	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRE41	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>

Çizelge 4.16. Çam Dağarcığı bitkisinden edilen rizosfer bakterilerinin tanımlanması

Koloni Adı	Bakteri Adı	Giriş numarası
NCRR5	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRR8	<i>Pseudomonas baetica</i>	NR <u>116899.1</u>
NCRR10	<i>Pseudomonas baetica</i>	NR <u>116899.1</u>
NCRR13	<i>Pseudomonas baetica</i>	NR <u>116899.1</u>
NCRR15	<i>Pseudomonas koreensis</i>	NR <u>025228.1</u>
NCRR16	<i>Gottfriedia acidiceris</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCRR18	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCRR22	<i>Pseudomonas baetica</i>	NR <u>116899.1</u>

Çizelge 4.17. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerinin tanımlanması

Koloni Adı	Bakteri Adı	Giriş numarası
NCME1	<i>Bacillus wiedmannii</i>	NR <u>152692.1</u>
NCME2	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	NR <u>117474.1</u>
NCME6	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME13	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME18	<i>Gottfriedia luciferensis</i>	NR <u>025511.1</u>
NCME19	<i>Gottfriedia luciferensis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME25	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME29	<i>Gottfriedia luciferensis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME30	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	NR <u>117474.1</u>
NCME38	<i>Gottfriedia solisilvae</i>	NR <u>159143.1</u>
NCME40	<i>Gottfriedia luciferensis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME41	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCME45	<i>Pseudomonas trivervalensis</i>	NR <u>024951.1</u>

Çizelge 4.18. Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen rizosfer bakterilerinin tanımlanması

Koloni Adı	Bakteri Adı	Giriş numarası
NCMR1	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR2	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR6	<i>Peribacillus simplex</i>	NR <u>112726.1</u>
NCMR4	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	NR <u>117474.1</u>
NCMR8	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR17	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	NR <u>117474.1</u>
NCMR21	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	NR <u>117474.1</u>
NCMR27	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR31	<i>Peribacillus muralis</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR39	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR40	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı
NCMR41	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	NR <u>115064.1</u>
NCMR43	<i>Peribacillus simplex</i>	MALDI-TOF ile tanımlandı

5. TARTIŞMA

Bitki büyümesini destekleyen bakteriler, bitki biyokütlesi, kök uzunluğu, tohum çimlenmesi, sürgün uzunluğu ve fotosentez de dahil olmak üzere bitki büyümesini olumlu yönde etkilemek için çeşitli mekanizmalar kullanmaktadır. Herhangi bir spesifik PGPB suşu, PGPB'nin türünden bağımsız olarak doğrudan, dolaylı veya ikisinin kombinasyonu olmak üzere çoklu mekanizmalarla bitki gelişimine katkıda bulunabilmekte, dolayısıyla bitkilerin belirli bir PGPB türüne verdikleri yanıt farklılık gösterebilmektedir. Bunun sebepleri arasında bitkinin yaşı, toprak bileşenleri, topraktaki fitopatojenlerin varlığı ve bitki büyüme sıcaklığı gibi nedenler yer almaktadır (Stegelmeier vd. 2022). PGPB, toprakta bol miktarda ve çözünmez formda bulunan fosfatı, organik asitler salgılayarak bitkilerin kullanacağı hale getirirler (Rodríguez ve Fraga 1999). Bu bakteriler, IAA üreterek vasküler dokunun farklılaşmasını, hücre bölünmesinin uyarılmasını, kök ve sürgün büyümesini uyararak bitki gelişimine katkıda bulunurlar (Stegelmeier vd. 2022). PGPB etilenin öncüsü olan ACC'yi ACC deaminaz enzimi ile amonyak ve α -ketobütirata ayırarak etilenin bitki gelişimi üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırırlar (Glick 2004). Toprakta Fe, bitkilerin kullanamadığı Fe^{+3} formundadır ve PGPB, topraktaki demiri düşük moleküler ağırlıklı siderofor molekülleriyle şelatlayarak bitkinin Fe alımına yardımcı olmaktadır (Neilands 1981; Crowley vd. 1988).

Bu tez çalışması kapsamında hiperakümülatör Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı bitkilerinden izole edilen endofitik ve rizosferik bakteriler incelenmiştir. Daha önce bu bitkilerden izole edilen bakteriler ile ilgili literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Tez konusu kapsamında izole edilen bakterilerin ACC deaminaz aktivitesi, fosfat çözme kapasitesi, siderofor üretimleri, IAA üretimleri, antibiyotik ve ağır metal direnç profilleri incelenmiştir. PGPB özelliği gösteren bakterilerin moleküler tanımlamaları yapılmıştır. Her iki bitkinin dokularından ve rizosferinden toplamda 108 koloni izolasyonu yapılmıştır. Kaya Dağarcığı bitkisinin dokularından izole edilen 27 bakterinin, rizosferinden izole edilen 26 bakterinin siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Çam Dağarcığı bitkisinin iç dokularından izole edilen 20 bakterinin rizobakterilerin ise tamamının siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Her iki bitkiden izole edilen bakterilerin %20'sinin ACC deaminaz aktivitesine ve bakterilerin neredeyse tamamının IAA üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. İzole edilen endofitik bakterilerin %40'ı, rizobakterilerin ise %25'inin fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışması kapsamında izole edilen rizobakterilerin, endofitik bakterilere kıyasla siderofor ve fosfat çözme yeteneklerinin yüksek olduğu görülmektedir. Goswami vd. (2016) bunun nedeninin bitkilerin kök salgılarıyla uyarılan bakterilerin demir ve fosfata erişimlerinin endofitik bakterilere göre daha kolay olmasından kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Bitki köklerinden salınan çok fazla sayıda ve çeşitlilikteki bileşikler mikrobiyal topluluğun oluşması için oldukça uygun bir ortam sağlar. Bu nedenden dolayı rizosferdeki bakteri çeşitliliğinin daha zengin olması beklenir (Ahemad ve Kibret, 2014).

Tez kapsamında izole edilen rizobakterilerin izolat sayısının endofitik bakterilerin izolat sayısına göre daha az olduğu görülmüştür. Bu durumun nedenlerinden birinin bitkinin kök çevresinde yaşayan bu bakterilerin büyük bir kısmının laboratuvar koşullarında kültüre edilemeyen türlerden olması, diğerinin ise bu bitkiler için rizosferde tür çeşitliliği yerine tür bolluğunun daha fazla görülmesi olabilir. Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı bitkilerinden izole edilen endofitik ve rizosferik bakterilerden toplamda en iyi

PGPB aktivitesi gösteren 49 koloni seçilerek bu bakterilerin moleküler düzeyde tanımlamaları yapılmıştır. Tanımlama sonucunda her iki bitkiden izole edilen endofitik bakteri çeşitliliğinin daha fazla olduğu görülmüştür. Bunun nedeni olarak, aynı ortamda bulunan bitki türlerinin çevreleriyle etkileşim kurması dolayısı ile rizosferlerinde ve iç dokularında bulunan bakteriyel çeşitliliğin etkilenmesi varsayılmaktadır.

Çam Dağarcığı bitkisinin dokularından (NCRE27, NCRE18, NCRE21, NCRE37, NCRE13, NCRE9, NCRE41) ve rizosferinden izole edilen (NCRR5, NCRR15) *Pseudomonas koreensis* bakterisi ilk olarak Kore'deki tarım topraklarından izole edilmiştir (Kwon vd. 2003). *P. koreensis* 1-2 µm boyutunda olan Gram negatif, çubuk şeklinde ve spor oluşturmeyen bir bakteridir. Hafez vd.'nin (2019) yapmış olduğu bir çalışmada pirinçte su eksikliğini ve tuzlu topraklarda bitki gelişimini arttırmak için *P. koreensis* bakterisi bitkiye uygulanmıştır. Bu bakterinin stres koşulları altında yüksek miktarda IAA ürettiği ve fosfat çözdüğü görülmüştür. Bu çalışma ile pirinç bitkisine uygulanan PGPB'nin, IAA üretimi ve fosfat çözünmesi yoluyla yüksek tuz oranına sahip sınırlı su ortamında bitki büyümesini ve çimlenmesini desteklediği gösterilmiştir. Babu vd.'nin (2015) yapmış oldukları bir çalışmada *M. sinensis* bitkisinin dokularından izole edilen Cu, Pb, Zn, As ağır metallerine karşı toleranslı *P. koreensis* bakterisinin IAA ve ACC deaminaz üreterek bitki gelişimine katkı sağladığı bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise pirinç tohumunun iç dokusundan izole edilen *P. koreensis* suşunun yüksek fosfat çözme kapasitesi, ACC deaminaz ve IAA üretim kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Walitang vd. 2017). Zeytin düğümü hastalığı etkeni olan *Pseudomonas savastanoi* (Psv)'ye karşı, zeytinlerin dokularından izole edilen *P. koreensis* bakterisinin yüksek oranda siderofor üretimine sahip olduğu bildirilmiştir. Bakteriler tarafında üretilen sideroforların bitki patojenlerine karşı güçlü biyokontrol bileşikler olarak kullanılabildiği bilinmektedir (Doksöz ve Bozkurt 2022, Ghazy ve El-Nahrawy 2021). Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada Türkiye serpantin endemiği olan *Bornmuellera kiyakii* bitkisinin rizosferinden de izole edilen PGPB'ler arasında *P. koreensis* bakterisi tanımlanmış ve bu izolatin fosfat çözünürlüğü, IAA ve siderofor aktivitelerine sahip olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada izole edilen *P. koreensis* bakterisinin imipenem, kloramfenikol, tetrasiklin ve kanamisin antibiyotiklerine duyarlı ve Ni, Cu, Al, Pb ve Cr ağır metallerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. (Gaya 2023). Benzer olarak yapılan bu tez çalışması kapsamında izole edilen *P. koreensis*'in de IAA üretimi, siderofor üretimi, ACC deaminaz aktivitesi ve fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3, 4.4). Bunun yanı sıra Ni, Cr, Pb ve Al ağır metallerine karşı dirençli olduğu imipenem, kloramfenikol, tetrasiklin ve kanamisin antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Pantoea cinsi ilk olarak Gavini vd. (1989) tarafından tanımlanan Gram negatif Enterobacteriaceae familyasına ait bir cinistir. Bu cinse ait bakteriler genellikle meyvelerden, tohumlardan ve bitki yüzeylerinden izole edilebilmektedirler. *Pantoea agglomerans* elma ve armut gibi mahsüllerde karşılaşılan *Ervania amylova* bakterisinin sebep oldu ateş yanıklığı hastalığının biyolojik kontrolünde kullanılmıştır. *E. amylova*'nın varlığında *P. agglomerans*'in pantosin A ve pantosin B antibiyotiklerini üreterek patojeni inaktif hale getirdiği gözlemlenmiştir (Pidot vd. 2014). Başka bir çalışmada Hindistan'ın tuzlu topraklarından izole edilen *P. agglomerans* bakterisinin pirinç bitkisi üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Yapılan çalışmada %8'lik NaCl stresi altında *P. agglomerans* bakterisinin ACC deaminaz aktivitesine, fosfat çözme kapasitesine ve IAA üretme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (Bhise ve Dandge,

2019). Luziatelli vd.'nin (2020) yaptığı çalışmada *P. agglomerans* bakterisinin IAA üretimi, siderefor üretimi ve Ars ağır metale karşı dirençli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca IPyA (*ipdC*) ve IAM (*amiE*) yoluyla IAA sentezinde rol oynayan enzimleri kodlayan genlerin belirlendiği gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda *P. agglomerans* bakterisi domates tohumuna uygulanarak çimlenmeyi artırdığını ve bitki gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında Çam Dağarcığı bitkisinin dokularından izole edilen (NCRE15) *P. agglomerans*'ın IAA ve siderofor üretebildiği ve ACC deaminaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Ayrıca bu bakterinin Ni, Pb, ve Al ağır metallerine karşı dirençli olduğu imipenem, kloramfenikol, tetrasiklin ve kanamisin antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, Çam Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen NCRR8, NCRR10, NCRR13, NCRR22 izolatları ve aynı bitkinin dokularından izole edilen NCRE32 izolatı *Pseudomonas baetica* bakterisi olarak tanımlanmıştır. Bu bakteri ilk olarak Güney İspanya'da gıda üretimi amacıyla yetiştirilen kama dil balığından izole edilmiştir. Bu bakteriler Gram negatif, hareketli, çubuk şeklinde bakterilerdir (Lopez vd. 2012). Karimzedeh vd. (2021) *P. baetica* bakterisinin abiyotik stresler altında kurak alan buğdayının gelişimi üzerindeki etkileri gözlemlenmiştir. Yüksek tuz içeriğine direnç gösteren bu bakterinin IAA üretme yeteneğine ve fosfat çözme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. İspanya'da madencilik sahasından izole edilen *P. baetica* bakterisi *Lupinus albus* bitkisine aşılandığında ortamda bulunan Hg konsantrasyonunun azaldığı ve bitki gelişimine katkıda bulunduğu görülmüştür (González vd. 2022). Gaya (2023) tarafından yapılan çalışmada bir hiperakümülatör bitki olan *N. birolmutlui*'nin rizosferinden izole edilen *P. baetica* bakterisinin AAC deaminaz, IAA üretme ve siderefor üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada *P. baetica* bakterisinin Ni, Cu, Al, Pb, Cr ağır metallerine karşı dirençli iken kloromfenikol, imipenem, tetrasiklin, kanamisin antibiyotiklerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında izole edilen *P. baetica* bakterisinin ACC deaminaz aktivitesinin, siderofor üretimi ve IAA üretimine sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4). Tez çalışmasında izole edilen *P. baetica* Ni, Cr, Pb, Al ve Cu ağır metallerine karşı direnç göstermiştir. Yine aynı bakteri imipenem, kloramfenikol, tetrasiklin ve kanamisin antibiyotiklerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

Bacillaceae familyasının bir üyesi olan *Gottfriedia* türleri çubuk şeklinde, Gram pozitif ve spor oluşturan bakterilerdir. Bu bakteri türlerinin birçok fizyolojik özelliği ve özel metabolitleri tarım, ilaç ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Logan ve Vos 2015). Toprakta yer alan *Gottfriedia* türleri bitki gelişimine katkıda bulunmanın yanı sıra indüklenmiş sistemik direncin (ISR) uyarılmasına katkıda bulunur (Kloepper vd. 2004). *Gottfriedia* türünün bir üyesi olan *G. luciferensis* ilk olarak Güney Sandviç Adaları'ndaki Candlemas Adası'ndaki bir yanardağ olan Lucifer Tepesi'ndeki toprak örneğinden izole edilmiştir (Logan vd. 2002). Bu bakteri ilk izole edildiğinde *Bacillus luciferensis* olarak isimlendirilirken 2020 yılında *G. luciferensis* olarak yeniden adlandırılmıştır (Gupta vd. 2020). Kim vd. (2009) *G. luciferensis* KJ2C12 suşunu biber bitkisine karşı patojen olan *Phytophthora capsici* üzerindeki etkisini incelemişlerdir. *G. luciferensis* ile aşılanan bitkilerde patojenin neden olduğu hastalığın şiddetini indüklenmiş sistemik direncin uyarılmasıyla azaldığını gözlemlemişlerdir. *G. luciferensis* bakterisi ile ilgili literatür de PGPB aktivitesi hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen (NCME19, NCME18) *G. luciferensis* bakterisinin fosfat çözme kapasitesi, IAA üretimi ve siderofor üretimi ile bitki gelişimini

destekleyemeye aday olabileceği düşünülmektedir Çizelge 4.1). Ayrıca bu bakterininin Al, Cr, Pb, Cu ve Al ağır metallerine karşı direncinin olduğu ve kanamisin, tetrasiklin, kloromfenikol, imipenem antibiyotiklerine karşıda inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir

Gottfriedia adı, başlangıçta çubuk şekli için *Bacillus* adını öneren Alman bilim insanı ve doğa bilimci olan Christian Gottfried Ehrenberg'i kutlamak ve onun mikroorganizma çalışmalarını takdir etmek için seçilmiştir. İlk olarak 2007 yılında adli tıp örneğinden izole edilen bu bakteri *Bacillus acidiceris* olarak isimlendirilmiştir (Peak vd. 2007). *Gottfriedia* cisinin üyerini, Bacilleceae familyasına ait diğer cinslerden ayıran birçok farklı protein olması onları filogenetik ağaçta monofiletik bir dal oluşturmalarına neden olmuştur. *B. acidiceris* Nisan 2021 yılından itibaren *G. acidiceris* olarak isimlendirilmiştir (Gupta vd. 2020). Chhetri vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada pirinç bitkisinin köklerinden izole edilen *Gottfriedia endophyticus* RG28T suşunun *Gottfriedia* cinsindeki diğer üç suş tarafından üretilen IAA miktarları karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucundan L-triptofan varlığında *G. acidiceris* IAA ürettiği belirlenmiştir. Bu tez kapsamında Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen (NCRR16) *G. acidiceris* bakterisinin IAA ve siderofor üretme aktivitesine ve fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu bakterinin Ni (5mM), Cr, Pb, Cu, Al (5mM) ağır metallerine karşı direncinin olduğu ve kanamisin, tetrasiklin, kloromfenikol, imipenem antibiyotiklerine karşı da inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

G. solisilvae bakterisi ilk olarak 2017 yılında Çin'in Heilongjiang Eyaleti, Changbai Dağı'ndaki orman toprağından izole edilmiştir (Pan vd. 2017). *Gottfriedia* cisinin üyeleri, karmaşık türler arası taksonomisi, cinse yeni bakteriler atamak için kullanılan belirsiz kriterlerin bir sonucu olarak ortaya çıkan polifiletik *Bacillus* cinsinden transfer edilmiştir. *Bacillus* cinsinde ortaya çıkan yaygın polifili, bilim insanları tarafından bir sorun olarak kabul edilmiş ve bu cinsin taksonomisini açığa kavuşturmak için çok sayıda filogenetik çalışmanın yayınlanmasıyla sonuçlanmıştır. Sonuç olarak *Bacillus*'un yalnızca *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* ile yakın akraba olan türleri içermesi ile sınırlandırılmış ve diğer türler başka yeni cinslere aktarılmıştır. Mayıs 2021 itibariyle *Gottfriedia* cinsinde toplam üç türü bulunmaktadır (Gupta vd. 2020). Chhetri vd.'nin (2022) yapmış olduğu çalışmada pirinç bitkisinin köklerinden izole edilen *G. solisilvae* bakterisinin IAA üretim yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen (NCME38) *G. solisilvae* bakterisinin IAA üretim, siderofor üretimi ve en yüksek fosfat çözme kapasitesine sahip olması ile bitki gelişimini desteklemeye aday olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu bakterininin Al, Cr, Pb, Cu ve Al ağır metallerine karşı direnci belirlenmişken kanamisin, tetrasiklin, kloromfenikol, imipenem antibiyotiklerine karşıda inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

Peribacillus cinsi bakteriler Bacillaceae familyasına ait çubuk şeklinde, endospor oluşturan Gram pozitif veya Gram değişkenlik gösteren bir bakteridir. *Peribacillus* üyeleri başlangıçta *Bacillus* cinsinin bir parçası iken 2020'de filogenomik ve karşılaştırmalı genomik analizler kullanılarak yapılan kapsamlı taksonomik sınıflandırmanın ardından *Peribacillus* cinsinin ayrı bir monofilogenetik grubunu oluşturmak üzere moleküler belirteçlere dayanarak yeniden düzenlenmiştir (Patel ve Gupta, 2020). Günümüzde *Peribacillus simplex* de dahil olmak üzere bu cinsin 21 tane türü bulunmaktadır (Parte vd. 2020). Tarımsal öneme sahip olan patates yumrularının

mikro besin ihtiyacını karşılamak için Mushtaq vd.'nin (2022) yapmış olduğu çalışmada siderofor üreten *P. simplex*'in patatesteki demir alımını arttırıp bitki gelişimini desteklediği görülmüştür. Bir başka çalışmada ise sağlıklı bitki rizosferinden izole edilen *P. simplex* tütün bitkisinde bulunan *Pythium aphanidermatum* patojeninin üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Çalışmada kullanılan *P. simplex* HS-2 suşu reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini arttırdığı, patojen tehdidine karşı yanıt olarak kalloz üretimi ile bitki hücre duvarı geçirgenliğini azalttığı tespit edilmiştir. Bunların yanı sıra bitki savunma genlerinin ve MAPK sinyallerinin ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (Miao vd. 2018). Yao vd.'nin (2022) yapmış olduğu çalışmada yabancı pirinç bitkisine uygulanan *P. simplex* 499G2 suşu IAA üretimi ile bitki büyümesini desteklerken aynı zamanda bitki direncini indüklediği tespit edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında izole edilen NCME6, NCME13, NCME25, NCME41 (Çizelge 4.9), NCMR2, NCMR6, NCMR8, NCMR39, NCMR40 (Çizelge 4.10) izolatları kullanılan bütün antibiyotiklere karşı duyarlı iken NCRR18 (Çizelge 4.12), NCMR1, NCMR43 (Çizelge 4.10) izolatlarının ise ampiciline karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir. Diğer izolatlar farklı olarak NCRR18 izolatının Ni ve Al 5mM (Çizelge 4.8) karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. *P. simplex*'in siderofor ve IAA üretme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1, 4.2, 4.4).

Peribacillus muralis bakterisi ilk olarak İspanya (Carmona Nekropolü) ve Almanya'da (Greene-Kreiensen Kilisesi) bulunan bozulmuş duvar resimlerinden izole edilmiştir. Bacillaceae familyasına ait olan *Peribacillus* cinsi bakteriler Gram pozitif, çubuk şeklinde, 0,7-0,8 µm çapında ve endospor oluşturma yeteneğine sahiptirler. Bu bakteriler tek olduklarında hareketli iken zincir halinde olduklarında ise hareketsizdirler (Heyrman vd. 2005). Bu bakteri başlangıçta *Bacillus muralis* olarak isimlendirilirken 2020'de yapılan çalışma sonucunda *P. muralis* olarak yeniden adlandırılmıştır (Patel ve Gupta, 2020). Yeraltı sularında ve topraktaki pestisit oranını azaltmak için Bhatt vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada boscalid etken maddeli fungusiti *P. muralis*'in %85-95 oranında parçaladığı bildirilmiştir. Yüksek kuraklık toleransına sahip *Cicer anatolium* bitkisinden izole edilen *P. muralis* bakterisi *C. arietium* bitkisine aşılansarak normal ve kuraklık koşulları altında bitki büyümesi değerlendirilmiştir. Bu çalışma kapsamında *P. muralis* bakterisinin IAA üretimi, azot fiksasyonu ve amonyak üretiminin olduğu bildirilmiştir. Bu bakterinin fosfat çözme kapasitesine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Kuraklık stresi altında *P. muralis* bakterisi sürgün uzunluğunu ve fotosentetik pikmentleri arttırarak bitki gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Esmael vd. 2022). Bu tez çalışması kapsamında izole edilen *P. muralis* (NCMR31) IAA, siderofor üretme kapasitesine sahip olduğu ve fosfat çözünürlüğü, ACC deaminaz aktivitesine sahip olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Yapılan ağır metal deneyinde bu bakterinin Al, Pb ve Ni'ye karşı direnç olduğu belirlenmiştir. Kanamisin, imipenem, kloromfenikol ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir.

Peribacillus frigoritolerans ilk kez Fas'ın kurak topraklarından izole edilerek tanımlanmıştır (Delaporte ve Sasson 1967). Bu bakteri ilk izole edildiğinde *Brevibacterium frigoritolerans* olarak isimlendirilirken 2020 yılında Patel ve Gupta'nın yapmış olduğu kapsamlı taksonomik analizler sonucu *P. frigoritolerans* olarak yeniden isimlendirilmiştir. Yakın zamanda yapılan tüm genom analizi çalışmalarında *P. frigoritolerans*'in *P. muralis* ve *P. simplex* ile yakından ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır (Montecillo ve Bae 2022). İspanya'da 2022 yılında yaşanan yangınından sonra yerel mikrobiyal çeşitlilikteki değişiklikleri anlamak ve toprağın iyileşmesini hızlandırmak için bakteri uygulaması amaçlanmıştır. Yapılan bu çalışma kapsamında *P. frigoritolerans*'in

K ve P çözünürlüğüne ayrıca da siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Nize vd. 2023). Marik vd.'nin (2023) yapmış olduğu çalışmada Thara çölünün kurak ve besin açısından fakir topraklarında yetişen bitkilerin büyümesini destekleyen bakterilerin izolasyonu yapılarak moleküler mekanizmaları açıklanmıştır. Thara çölünün kurak topraklarından izole edilen *P. frigoritolerans* T7-IITJ'nin antifungal aktivitesinin olduğu ve siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Maghazli vd. (2022) yılında yapmış olduğu bir başka çalışmada *P. frigoritolerans*'ın siderofor ve IAA üretme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Kaya Dağarcığı bitkisinin rizosferinden izole edilen (NCMR4, NCMR17, NCMR21, NCMR41) *P. frigoritolerans*'ın IAA ve siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu ve tez kapsamında kullanılan antibiyotiklerin tamamına karşı inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür.

Pseudomonas thivervalensis bakterisi ilk olarak 2000 yılında Achouak vd. tarafından *Arabidopsis* ve Kanola bitkilerinin rizosferinden izole edilmiştir. Bu bakteri Pseudomonadaceae familyasına ait Gram negatif bir toprak bakterisidir. Kolza bitkisi ıslahı kapsamında Çin'deki Nanjing Jiuhuashan bakır madenciligi bölgesini çevreleyen tarım arazilerinde yerinde iyileştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. *P. thivervalensis*'in kolza bitkisine uygulandığında bitki biyokütlesini ve Cu alım miktarını artırarak bitki gelişimine katkıda bulunduğu görülmüştür. Ayrıca bu bakterinin askorbik asit ve glutatyon dahil olmak üzere antioksidan maddelerin oranını artırarak bitkideki oksidatif stresin azaltılmasında yardımcı olduğu görülmüştür (Ren vd. 2019). Gaya (2023) yaptığı çalışmada *N. birolmutlui* bitkisinden izole edilen *P. thivervalensis* bakterisinin fosfat çözme, IAA ve siderofor üretme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Yine aynı çalışmada *P. thivervalensis* bakterisinin kanamisin, imipenem, tetrasiklin, kloromfenikol antibiyotiklerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu ve Ni, Al, Pb ve Cr ağır metallerine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Maydonoz bitkisinin kök kısmından izole edilen *P. thivervalensis* bakterisinin *in vitro* kuşullar altında hastalık etmenine karşı antagonistik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada *P. thivervalensis* bakterisinin siderofor, IAA, proteaz, amonyak üretimi ve fosfat çözme potansiyelinin olduğu da belirlenmiştir. (Belimov vd. 2001). Nascimento vd. (2019) çalışmaları sırasında izole ettikleri *P. thivervalensis* izolatının ACC deaminaz aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Afridi vd.'nin (2019) yapmış oldukları çalışmada ACC deaminaz aktivitesine ve yüksek tuz toleransına sahip *Kocuria rhizophila* (14ASP) ve *Cronobacter sakazakii* (OF115) bakterilerinin normal büyüme koşullarıyla karşılaştırıldığında, tuz stresi koşullarında OF115 bakterisinde ACC deaminaz aktivitesinin arttığını, 14ASP bakterisinde ise ACC deaminaz aktivitesinin azaldığını görmüş. Li ve Glick (2001) ACC deaminaz aktivitesinden sorumlu *acdS* geninin ortamdaki değişkenler tarafından (tuz stresi, pH ve sıcaklık) kontrol edilebileceğini bildirmişlerdir (Sing ve Jha 2015). Bu tez kapsamında izole edilen *P. thivervalensis*'in ACC deaminaz aktivitesine sahip olmadığı görülmüştür. Bunun nedeni olarak ACC deaminaz aktivitesinden sorumlu olan *acdS* geninin farklı stres koşullarında ifadesindeki değişiklik gösterilebilir. Yapılan tez çalışmasında Çam Dağarcığı bitkisinin endofitinden izole edilen (NCME45) *P. thivervalensis* izolatının literatürdeki diğer çalışmalara benzer şekilde siderofor üretme, IAA üretme ve fosfat çözme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda bu bakterinin Pb, Cr, Ni, Cu, Al ve Zn ağır metallerine karşı dirençli olduğu da bulunmuştur. Bakterinin çalışmada kullanılan antibiyotikler olan kanamisin, imipenem, tetrasiklin ve kloromfenikol antibiyotiklerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür.

Pseudomonas chlororaphis çubuk şeklinde spor oluşturmeyen, bir veya daha fazla flagellaya sahip olan Gram-negatif bir bakteridir. Bu bakterinin özellikleri arasında piyoverdin (floresan) salgılaması yer almaktadır (Tombalini vd. 1999). Bu floresan genellikle sarı-yeşil bir pigmenttir ve Fe'nin sınırlandığı koşullar altında organizmanın bitkiye bağlanmasıyla ortaya çıkmaktadır (Meyer vd. 2002). *P. chlororaphis* fenazin üreterek bitki patojeni olan mantarlara karşı etki ederek mahsul verimini arttırmaktadır (Woeng vd. 2001). *P. chlororaphis* suşları tarafından üretilen fenazinler, sideroforlar ve VOC'lar bitki gelişimine katkı sağlayan ana aktif bileşiklerdir (Raio ve Puopolo, 2021). Tangela vd. (2019) tarafından yapılan başka bir çalışma da *P. chlororaphis* KNU17Pc1'in hem PGPB aktivitesi hem de Kore mısırında yaprak ve kılıf yanıklığına neden olan *Rhizoctonia solani* AG-1'ya karşı antifungal aktivitesi değerlendirilmiştir. KNU17Pc1 suşunun çinko çözünürlüğü, IAA aktivitesi ve siderofor üretimi bakımından pozitif olduğu ve *R. solani* AG-1'e karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında Kaya Dağarcığı bitkisinden izole edilen *P. chlororaphis* (NCRE5) bakterisinin IAA ve siderofor ürettiği, ACC deaminaz aktivitesine ve fosfat çözme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bakterinin çalışmada kullanılan antibiyotikler olan kanamisin, imipenem, tetrasiklin ve kloromfenikol antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu ve Ni, Al, Pb ve Cr ağır metallerine karşı dirençli olduğu görülmüştür (Çizelge 1.7 ve Çizelge 4.11).

Bacillus wiedmannii 2016 yılında ABD'de bulunan bir süt tozu işletme tesisinde depolanan çiğ süttten izole edilmiştir. Bu bakteri Bacillaceae familyasına ait Gram pozitif, basil formunda, spor oluşturma yeteneğine sahip bir bakteridir. Saad vd.'nin (2020) yapmış oldukları çalışmada *Bombax malabaricum*'un rizosferinden izole edilen *B. wiedmannii* bakterisinin kök çürüklüğüne neden olan *R. solani*' üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bakterinin azot fikse etme yeteneğine sahip olduğunu ve *R. solani* enfeksiyonunu önlemede etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Franchi vd.'nin (2022) yapmış oldukları bir çalışmada *B. wiedmannii*'nin IAA üretimi, siderofor üretimi, amonyak üretimi, proteaz üretimi açısından pozitif sonuç verirken fosfat çözme yeteneği bakımından negatif sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışma kapsamında Kaya Dağarcığı bitkisinin endofotinden izole edilen (NCME1) *B. wiedmannii*'nin IAA ve siderofor üretme kapasitesine sahip olduğu, literatürdekine benzer olarak fosfat çözme ve ACC deaminaz aktivitesinin ise olmadığı görülmüştür. Bu bakterinin Ni, Cr, Pb, Al ve Zn ağır metallerine karşı dirençli olduğu kanamisin, kloromfenikol, tetrasiklin ve imipenem antibiyotiklerine karşı ise duyarlı olduğu görülmektedir.

Priestia, Bacillaceae familyasına ait Gram pozitif çubuk şeklinde spor oluşturan bir bakteridir. *Bacillus* türleri arasındaki evrimsel ilişkileri açığa çıkarmak için 2020 yılında karşılaştırmalı filogenetik analizler kullanılarak *Bacillus aryabhatai* olan ismi *Prestia aryabhatai* olarak değiştirilmiştir (Gupta vd. 2020). Bu bakteri 2009 yılında Hindistan da yapılan bir çalışmada kriyotüperden alınan hava örneklerinden izole edilmiştir (Shivaji vd. 2009). Bir başka çalışmada ise hiperakümülatör bitki olan *N. birolmutlui* bitkisinin dokularının iç kısmından izole edilen *P. aryabhatai* bakterisinin IAA ve siderofor aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Gaya 2023). Shahid vd.'nin (2022) yapmış olduğu çalışmada *Triticum aestivum* (buğday) bitkisinin iç dokularından izole edilen *P. aryabhatai* BPR9 suşu biyotik ve abiyotik stres toleransı açısından değerlendirilmiştir. Bu bakterinin P, K, Zn çözebilme yeteneğine, ACC deaminaz aktivitesine, IAA ve siderofor üretim yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca NaCl stresi altında *P. aryabhatai* BPR9 suşu ile aşıl原因an buğday fidelerinin, aşıl原因mayan

fidelere kıyasla çimlenme, bitki büyümesi ve yaprak pigmenti değerlerinde önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Rungsihiranrut vd. (2023) tarafından deniz sngerlerinden izole edilen *P. aryabhatai* TL01-02 suşunun ağır metalleri (As, Cu, Co, Cr) tolere edebilme ve petrol hidrokarbonlarını parçalama yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Moturu vd. (2023) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise mısır bitkisinin i kısımlarından izole edilen *P. aryabhatai* bakterisinin ACC deaminaz aktivitesine, IAA üretimine, siderofor üretimine ve fosfat çözme yeteneğine sahip olduğu ve böylelikle bitki gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında am Dağarcığı bitkisinden izole edilen (NCRE2) *P. aryabhatai* bakterisinin çalışmadaki PGPB kriterlerinin tamamına sahip olduğu, çalışmada kullanılan antibiyotiklerin tamamına karşı inhibisyon zonu oluşturduğu ve Ni (5Mm), Cr, Pb, Cu ve Al ağır metallere karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir (izelge 4.7 ve izelge 4.11).



6. SONUÇ

Artan gıda talebi nedeniyle tarımda kullanılan çeşitli kimyasallar çevre sorununa neden olan önemli faktörlerden biridir. Bu maddeler toprakta ağır metal birikimi, toprak mikroflorasının bozulması, toprakta tuzluluk, ozon tabakasının incilmesi ve sera etkisinin oluşması gibi birçok çevre sorununa neden olmaktadır (Sönmez vd. 2008). Özellikle bitki zararlıları ve hastalıklarının önüne geçmek için kullanılan pestisitler hızlı sonuç vermeleri ve tekrarlanabilir olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler. Ancak bu maddeler, yüzey ve yeraltı sularına karışıp toprağa bulaşarak hedeflenenin dışında farklı organizmalara zarar vermekte ve bunun yanı sıra biyolojik sistemleri ve çevreyi tehdit etmektedirler (Yıldız vd. 2005).

Yapılan bu tez çalışması kapsamında serpantin topraklarda yetişen, hiperakümülatör özelliğe sahip Brassicaceae familyasına ait olan Kaya Dağarcığı ve Çam Dağarcığı bitkileri incelenmiştir. Bu bitkilerin rizosferlerinden ve bitki dokularından izole edilen bakterilerin bitki gelişimine katkıda bulunup bulunmadıkları *in vitro* olarak belirlenmiş ve seçilen bakterilerin karakterizasyonları yapılmıştır. PGPB'nin önemli özelliklerinden olan IAA üretimi, siderofor üretimi, ACC deaminaz aktivitesi, fosfat çözme kapasitesinin yanı sıra bakterilerin ağır metal ve antibiyotik direnç profilleri de incelenmiştir. Bu tez kapsamında Çam Dağarcığı bitkisinden izole edilen bakterilerin neredeyse tamamının IAA ürettiği gözlemlenmiştir. Miktar olarak en yüksek IAA üretiminin ise Kaya Dağarcığı dokularından izole edilen bakteriye ait olduğu gözlemlenmiştir. *N. cariesnis* bitkisinden izole edilen endofitik ve rizosferik bakterilerin yarısından fazlasının fosfat çözme yeteneğine ve siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca her iki bitkiden izole edilen bakterilerin çoklu ağır metal direncine (Cr, Pb, Ni, Al ve Cu) sahip oldukları tespit edilmiştir. Her iki bitkiye ait olan izolatların antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde imipenem, kloramfenikol, tetrasiklin ve kanamisin antibiyotiklerine karşı inhibisyon zonu oluştuğu görülmüştür. Bu tez çalışmasında izole edilen *G. luciferensis*, *G. solisilvae* ve *G. acidiceris* bakteri türlerinin PGPB özellikleri ile literatürde bilgi oldukça azdır. Söz konusu her üç bakteri türünün de yüksek PGPB aktivitelerinin yanı sıra çeşitli antibiyotik ve ağır metal dirençlerinin tespit edilmesi açısından çalışmamız ilk çalışma niteliği taşımaktadır.

Günümüzde tarım alanlarında bilinçsiz kimyasal gübre ve zirai ilaç kullanımı toprak verimliliğinin kaybına ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. PGPB'nin sürdürülebilir tarım uygulamalarında kullanılması umut verici bir teknik olma potansiyeli taşımaktadır. PGPB'nin tarımsal üretim sistemlerinde kimyasal gübrelerden daha etkin olduğu bilinmektedir. Bu bakterilerin bir kısmı bitkilerle simbiyotik ilişki kurabildikleri gibi bir kısmı da bitki dokularında lokalize olmaktadır. Bu bakteriler bitkinin kaynak (siderofor, P, N gibi) edinimini kolaylaştırır, bitki hormon (IAA gibi) seviyelerini module ederek doğrudan bitki büyümesini teşvik edebilir veya çeşitli patojenlerin bitki gelişimi üzerindeki inhibitör etkilerini azaltarak bitki büyümesini desteklemektedir. Bu tez çalışmasında serpantin topraklarda yetişen hiperakümülatör bitkilerden izole edilen bakterilerin PGPB aktivitesine antibiyotik ve ağır metal dirençlerine sahip oldukları rapor edilmiştir.

Çalışmada kullanılan bakterilerin laboratuvar ortamında PGPB özelliklerinin belirlenmesi tek başına yeterli olmamaktadır. Laboratuvar deneyleri yapılan bu bakterilerin sera ve saha denemelerinin de yapılması oldukça önemlidir. PGPB

uygulanması birçok açıdan avantajlı olsa da uygulama sırasında formülasyonunun, saklanması ve uygulanma yönteminin belirlenmesi gerekmektedir. Bununla beraber bitki büyümesinin bakteriyel uyarılmasında rol oynayan mekanizmaların daha iyi anlaşılması da mutlak bir ihtiyaçtır. Bu çalışmadan elde edilen çıktılar kullanılarak PGPB potansiyeline sahip olduğu belirlenen bakterilerin tarımsal öneme sahip bitkilere uygulanmasının ardından bu bakterilerin bitki gelişimi üzerindeki etkilerinin görülmesi, bakterilerin bitkiye uygulama yöntemlerinin belirlenmesi ve ticarileştirilmesi amacı taşıyan devam çalışmalarında kullanılması ileri hedefler arasında yer almaktadır.



7. KAYNAKLAR

- Achouak, W., Sutra, L., Heulin, T., Meyer, J. M., Fromin, N., Degraeve, S., & Gardan, L. 2000. *Pseudomonas brassicacearum* sp. nov. and *Pseudomonas thivervalensis* sp. nov., two root-associated bacteria isolated from *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(1), 9-18.
- Adams, D. O., & Yang, S. 1979. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(1), 170-174.
- Adıgüzel, N., & Reeves, R. D. (2012). Important serpentine areas of Turkey and distribution patterns of serpentine endemics and nickel accumulators. *Bocconea*, 24, 7-17.
- Afridi, M. S., Mahmood, T., Salam, A., Mukhtar, T., Mehmood, S., Ali, J., Khatoon, Z., Bibi, M., Javed, M. T., Sultan, T., Chaudhary, H. J. 2019. Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: Involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 569-577.
- Ahemad, M., & Khan, M. S. 2011. Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria: recent advancements. *Insight Microbiology*, 1(3), 39-54.
- Ahmed, A., & Hasnain, S. 2010. Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum*. *Pure and Applied Chemistry*, 82(1), 313-319.
- Ahemad, M., & Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26(1), 1-20.
- Akbari, G. A., Arab, S. M., Alikhani, H. A., Allakdadi, I. and Arzanesh, M. H. 2007. Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of superior strains effects on wheat roots. *World Journal of Agricultural Sciences*, (3): 523-529.
- Akköprü, A. 2012. Hıyar bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) bazı kök bakterileriyle biyolojik savaşımı üzerinde araştırmalar. *Ege Üniversitesi*, 15(1): 54.
- Akhtar, M. S., & Siddiqui, Z. A. 2010. Role of plant growth promoting rhizobacteria in biocontrol of plant diseases and sustainable agriculture. In *Plant Growth and Health Promoting Bacteria* (pp. 157-195). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Aksoy A, Z. Lelebici and M. N. V. Prasad. 2015. Metal-accumulating plants from serpentine habitats of Kızıldağ, Konya Province, Turkey. *Australian Journal of Botany*, 63 (3-4), 372-378.
- Aktan, Y., Tan, S. and Içgen, B. 2013. Characterization of lead-resistant river isolate *Enterococcus faecalis* and assessment of its multiple metal and antibiotic resistance. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(6), 5285-5293.

- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 971.
- Anderson, L. M., Stockwell, V. O., & Loper, J. E. 2004. An extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* inactivates antibiotics of *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology*, 94(11), 1228-1234.
- Anonim 1 : <https://www.slideshare.net/SuranjithNK/associative-nitrogen-fixation> [Son erişim tarihi: 10.02.2024]
- Antoun, H., & Prévost, D. 2006. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 1-38.
- Apine, O. A., & Jadhav, J. P. 2011. Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. *Journal of Applied Microbiology*, 110(5), 1235-1244.
- Baber, M., Fatima, M., Abbas, R., Qaisrani, M. M., Naz, S., Hanif, M. K., & Naqqash, T. 2018. Weed rhizosphere: A source of novel plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *International Journal of Biosciences (IJB)*, 13, 224-234.
- Badri, D. V., Weir, T. L., van der Lelie, D., & Vivanco, J. M. 2009. Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(6), 642-650.
- Babier, Y. ve Akköprü, A. 2020, Çeşitli kültür bitkilerinden izole edilen endofitik bakterilerin karakterizasyonu ve bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3): 521-534.
- Babu, A. G., Shea, P. J., Sudhakar, D., Jung, I. B., & Oh, B. T. 2015. Potential use of *Pseudomonas koreensis* AGB-1 in association with *Miscanthus sinensis* to remediate heavy metal (loid)-contaminated mining site soil. *Journal of Environmental Management*, 151, 160-166.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45(4):493:496.
- Barriuso, J., Ramos Solano, B., Lucas, J. A., Lobo, A. P., García-Villaraco, A., & Gutiérrez Mañero, F. J. 2008. Ecology, genetic diversity and screening strategies of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant-Bacteria Interactions: Strategies and Techniques to Promote Plant Growth*, 1-17.
- Bhatt, D., Srivastava, A., Srivastava, P. C., & Sharma, A. 2023. Evaluation of three novel soil bacterial strains for efficient biodegradation of persistent boscalid fungicide: Kinetics and identification of microbial biodegradation intermediates. *Environmental Pollution*, 316, 120484.
- Bhise, K. K., & Dandge, P. B. 2019. Alleviation of salinity stress in rice plant by encapsulated salt tolerant plant growth promoting bacteria *Pantoea agglomerans* strain KL and its root colonization ability. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(14), 1955-1968.

- Behera, B. C., Sethi, B. K., Mishra, R. R., Dutta, S. K., & Thatoi, H. N. 2017. Microbial cellulases–diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 197-210.
- Belimov, A. A., Safronova, V. I., Sergeyeva, T. A., Egorova, T. N., Matveyeva, V. A., Tsyganov, V. E., ... & Stepanok, V. V. 2001. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(7), 642-652.
- Benson, D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., Rapp, B. A., & Wheeler, D. L. 2000. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 15-18.
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1327-1350.
- Chhetri, G., Kim, I., & Seo, T. 2022. *Gottfriedia endophyticus* sp. nov., a novel indole-acetic acid producing bacterium isolated from the roots of rice plant. *Antonie van Leeuwenhoek*, 115(7), 943-952.
- Chin-A-Woeng, T. F., van den Broek, D., de Voer, G., van der Drift, K. M., Tuinman, S., Thomas-Oates, J. E., ... & Bloemberg, G. V. 2001. Phenazine-1-carboxamide production in the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is regulated by multiple factors secreted into the growth medium. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(8), 969-979.
- Clarke, T. E., Tari, L. W., & Vogel, H. J. 2001. Structural biology of bacterial iron uptake systems. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(1), 7-30.
- Crosa, J. H., & Walsh, C. T. 2002. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(2), 223-249.
- Crowley, D. E., Reid, C. P., & Szaniszlo, P. J. 1988. Utilization of microbial siderophores in iron acquisition by oat. *Plant Physiology*, 87(3), 680-685.
- Çakmakçı, R. 2005. Bitki gelişiminde fosfat çözücü bakterilerin önemi. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 19(35), 93-108.
- Çelik J, Aksoy A, Leblebici Z. 2018. Metal hyperaccumulating Brassicaceae from the ultramafic area of Yahyalı in Kayseri province, Turkey. *Ecological Research*. 33 (4), 705-713.
- Çelikten, M., Bozkurt, İ.A. 2018. Buğday kök bölgesinden izole edilen bakterilerin buğday gelişimine olan etkilerinin belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1): 33-48.
- De Salamone I E G, Dobereiner J, Urquiaga S & Boddey R M 1996. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by the ¹⁵N isotope dilution technique. *Biology and Fertility of Soils*, 23: 249-256.
- De Salamone, I. G., Hynes, R. K., & Nelson, L. M. 2005. Role of cytokinins in plant growth promotion by rhizosphere bacteria. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 173-195.

- Del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Glick, B. R., & Santoyo, G. 2020. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. *Microbiological Research*, 235, 126439.
- Doksöz, F. S., & Bozkurt, I. A. 2022. Biological control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causing the olive knot disease with epiphytic and endophytic bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 104(1), 65-78.
- Domka, A., Rozpadek, P., Ważny, R., Jędrzejczyk, R. J., Hubalewska-Mazgaj, M., Gonnelli, C., & Turnau, K. 2020. Transcriptome response of metallicolous and a non-metallicolous ecotypes of *Noccaea goesingensis* to nickel excess. *Plants*, 9(8), 951.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. 2014. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106, 85-125.
- Eden, P.A., Schmidt, T.M., Blakemore, R.P. and Pace, N.R. 1991. Phylogenetic analysis of *Aquaspirillum magnetotacticum* using polymerase chain reaction-amplified 16S rRNA-specific DNA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 41(2): 324-325.
- Esmael, Z. O., Bahramnejad, B., Harighi, B., Ahmad, N. S., Salehi, H., Maroofi, H., & Goodwin, P. H. 2022. Bacterial endophytes from wild perennial Cicer confer drought tolerance and induced growth promotion in chickpea (*Cicer arietinum* L.).
- Farajzadeh, D., Yakhchali, B., Aliasgharzad, N., Sokhandan-Bashir, N., & Farajzadeh, M. 2012. Plant growth promoting characterization of indigenous *Azotobacteria* isolated from soils in Iran. *Current Microbiology*, 64, 397-403.
- Faraldo-Gómez, J. D., & Sansom, M. S. 2003. Acquisition of siderophores in gram-negative bacteria. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(2), 105-116.
- Franchi, E., Cardaci, A., Pietrini, I., Fusini, D., Conte, A., De Folly D'Auris, A. & Vocciante, M. 2022. Nature-based solutions for restoring an agricultural area contaminated by an oil spill. *Plants*, 11(17), 2250.
- Frankowski, J., Lorito, M., Scala, F., Schmid, R., Berg, G., & Bahl, H. 2001. Purification and properties of two chitinolytic enzymes of *Serratia plymuthica* HRO-C48. *Archives of Microbiology*, 176, 421-426.
- Garcia de Salamone, I. E., Döbereiner, J., Urquiaga, S., & Boddey, R. M. 1996. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by the 15 N isotope dilution technique. *Biology and Fertility of Soils*, 23, 249-256.
- Gavini, F., Mergaert, J., Beji, A. M. O. R., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K., & De Ley, J. 1989. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and Description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 39(3), 337-345.
- Gaya, Y. 2023. *Noccaea birolmutlui* ve *Bornmuellera kiyakii* endemik bitkilerine ait bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin tanımlanması. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, 62 s.

- Ghazy, N., & El-Nahrawy, S. 2021. Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis* in maize plant. *Archives of Microbiology*, 203, 1195-1209.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., & Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190(1), 63-68.
- Glick, B. R. 2004. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 291-312.
- Glick, R., Gilmour, C., Tremblay, J., Satanower, S., Avidan, O., Déziel, E., Greenberg, E. P., Poole, K., Banin, E. 2010. Increase in rhamnolipid synthesis under iron-limiting conditions influences surface motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal Bacteriology* 192(12).
- Glick, B. R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 183(2):92-99.
- Glickuffk B R, Patten C L, Holguin G & Penrose D M (Editörler) 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. *Imperial College Press*, 276, London.
- Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P., & Thakker, J. N. 2014. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research*, 169(1), 66-75.
- Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500.
- Govarthanan, M., Mythili, R., Selvankumar, T., Kamala-Kannan, S., Rajasekar, A., & Chang, Y. C. 2016. Bioremediation of heavy metals using an endophytic bacterium *Paenibacillus* sp. RM isolated from the roots of *Tridax procumbens*. *3 Biotech*, 6(2), 1-7.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(2), 096-102.
- Gupta, R. S., Patel, S., Saini, N., & Chen, S. 2020. Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the Subtilis and Cereus clades of species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5753-5798.
- Hafez, E. M., Alsohim, A. S., Farig, M., Omara, A. E. D., Rashwan, E., & Kamara, M. M. 2019. Synergistic effect of biochar and plant growth promoting rhizobacteria on alleviation of water deficit in rice plants under salt-affected soil. *Agronomy*, 9(12), 847.

- Havlin, J. L., Tisdale, S. L., Nelson, W. L., & Beaton, J. D. 2016. Soil Fertility and Fertilizers. *Pearson Education India*.
- Hazotte, C., Laubie, B., Pacault, S., Dufaud, O., & Simonnot, M. O. 2020. Evaluation of the performance of nickel hyperaccumulator plants as combustion fuel. *Biomass and Bioenergy*, 140, 105671.
- Heyrman, J., Logan, N. A., Rodríguez-Díaz, M., Scheldeman, P., Lebbe, L., Swings, J., Heyndrickx, M., De Vos, P. 2005. Study of mural painting isolates, leading to the transfer of 'Bacillus maroccanus' and 'Bacillus carotarum' to *Bacillus simplex*, emended description of *Bacillus simplex*, re-examination of the strains previously attributed to 'Bacillus macroides' and description of *Bacillus muralis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 119-131.
- Hider, R. C., & Kong, X. 2010. Chemistry and biology of siderophores. *Natural Product Reports*, 27(5), 637-657.
- Holden, V. I., & Bachman, M. A. 2015. Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics*, 7(6), 986-995.
- Honma, M., & Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42(10), 1825-1831.
- Hurek T, Handley L L, Reinhold-Hurek B & Piche Y 2002. *Azoarcus* grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 15(3): 233-242.
- Icgen, B. and Yilmaz, F. 2014. Co-occurrence of antibiotic and heavy metal resistance in Kızılırmak river isolates. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 93(6): 735-743.
- İşler, E., & Coşkan, A. 2009. Farklı bakteri *Bradyrhizobium japonicum* aşılama yöntemlerinin soyada azot fiksasyonu ve tane verimine. *Journal of Agricultural Sciences*, 15(04), 324-331.
- Jha, C. K., & Saraf, M. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Journal Of Agriculture Research and Development*, 5(2), 0108-0119.
- Jiang, C. Y., Sheng, X. F., Qian, M., & Wang, Q. Y. 2008. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*, 72(2), 157-164.
- Kang, B. G., Kim, W. T., Yun, H. S., & Chang, S. C. 2010. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports*, 4, 179-183.
- Karimzadeh, J., Alikhani, H. A., Etesami, H., & Pourbabaei, A. A. 2021. Improved phosphorus uptake by wheat plant (*Triticum aestivum* L.) with rhizosphere fluorescent *Pseudomonads* strains under water-deficit stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 162-178.
- Kaymak H 2010. Potential of PGPR in Agricultural Innovations. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria* (Editör Maheshwari D K, Microbiology Monographs 18, Springer Heidelberg Dordrecht London New York), 45-79.

- Kenawy, A., Dailin, D. J., Abo-Zaid, G. A., Malek, R. A., Ambehatabi, K. K., Zakaria, K. H. N., Sayyed, R. Z., El Enshasy, H. A. 2019. Biosynthesis of antibiotics by PGPR and their roles in biocontrol of plant diseases. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management: Volume 2: Rhizobacteria in Biotic Stress Management*, 1-35.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A. 2007. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 29-43.
- Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. 2009. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. *Sustainable Agriculture*, 551-570.
- Khan A L, Waqas M, Kang S M, Al-Harrasi A, Hussain J, Al-Rawahi A, Al-Khiziri S, Ullah I, Ali L, Jung H Y & Lee I J 2014. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, 52(8): 689–695.
- Khan M S, Zaidi A & Ahmad E 2014. Mechanism of phosphate solubilisation and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. *Phosphate Solubilizing Microorganisms*. (Khan M S, Zaidi A & Mussarrat J editors).
- Khan, A. L., Halo, B. A., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Lee, I. J. 2016. Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 58-64.
- Kim, H. S., Sang, M. K., Myung, I. S., Chun, S. C., & Kim, K. D. 2009. Characterization of *Bacillus luciferensis* strain KJ2C12 from pepper root, a biocontrol agent of Phytophthora blight of pepper. *The Plant Pathology Journal*, 25(1), 62-69.
- Klee, H. J., Hayford, M. B., Kretzmer, K. A., Barry, G. F., & Kishore, G. M. 1991. Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. *The Plant Cell*, 3(11), 1187-1193.
- Kloepper J W & Schroth M N 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria in radish. *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, Agnès, France, 2: 879-882.
- Kloepper, J.W., Schippers, B., and Bakker, P.A.H.M. 1992. Proposed elimination of the term endorhizosphere. *Phytopathology*, 82: 726-727.
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M., & Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94(11), 1259-1266.
- Kobayashi, D. Y., Reedy, R. M., Bick, J., & Oudemans, P. V. 2002. Characterization of a chitinase gene from *Stenotrophomonas maltophilia* strain 34S1 and its involvement in biological control. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3), 1047-1054.
- Kochar, M., Upadhyay, A., & Srivastava, S. 2011. Indole-3-acetic acid biosynthesis in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Psd and plant growth regulation by hormone overexpression. *Research in Microbiology*, 162(4), 426-435.
- Krämer, U. 2010. Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 517-534.

- Krewulak, K. D., & Vogel, H. J. 2008. Structural biology of bacterial iron uptake. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1778(9), 1781-1804.
- Kundan, R., Pant, G., Jadon, N., & Agrawal, P. K. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria: mechanism and current prospective. *Journal of Fertilizers & Pesticides*, 6(2), 9.
- Kwon, S. W., Kim, J. S., Park, I. C., Yoon, S. H., Park, D. H., Lim, C. K., & Go, S. J. 2003. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 21-27.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., William, H. And Higgins, D. G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947-2948.
- Li, J., & Glick, B. R. 2001. Transcriptional regulation of the *Enterobacter cloacae* UW4 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene (*acdS*). *Canadian Journal of Microbiology*, 47(4), 359-367.
- Lim, J. A., Lee, D. H., Kim, B. Y., & Heu, S. 2014. Draft genome sequence of *Pantoea agglomerans* R190, a producer of antibiotics against phytopathogens and foodborne pathogens. *Journal of Biotechnology*, 188, 7-8.
- Logan, N. A., Lebbe, L., Verhelst, A., Goris, J., Forsyth, G., Rodriguez-Diaz, M., ... & De Vos, P. 2002. *Bacillus luciferensis* sp. nov., from volcanic soil on Candlemas Island, South Sandwich archipelago. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 1985-1989.
- Logan, N. A., & Vos, P. D. 2015. *Bacillus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-163.
- Lopez, J. R., Dieguez, A. L., Doce, A., De la Roca, E., De la Herran, R., Navas, J. I., Toranzo, A. E., Romalde, J. L. 2012. *Pseudomonas baetica* sp. nov., a fish pathogen isolated from wedge sole, *Dicologlossa cuneata* (Moreau). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt_4), 874-882.
- Luziatelli, F., Ficca, A. G., Cardarelli, M., Melini, F., Cavalieri, A., & Ruzzi, M. 2020. Genome sequencing of *Pantoea agglomerans* C1 provides insights into molecular and genetic mechanisms of plant growth-promotion and tolerance to heavy metals. *Microorganisms*, 8(2), 153.
- Mabood, F., Zhou, X., & Smith, D. L. 2014. Microbial signaling and plant growth promotion. *Canadian Journal of Plant Science*, 94(6), 1051-1063.
- Maksimov, I. V., Abizgil'Dina, R. R., & Pusenkova, L. I. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47, 333-345.
- Malfanova, N., Lugtenberg, B., Berg, G., 2013. Bacterial endophytes: Who and where, and what are they doing there? In: *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*; de Bruijn FJ, Ed.ch 36, WileyBlackwell, Hoboken, NJ, USA.; pp.393-403.

- Manoj, S. R., Karthik, C., Kadirvelu, K., Arulselvi, P. I., Shanmugasundaram, T., Bruno, B., & Rajkumar, M. 2020. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review. *Journal of Environmental Management*, 254, 109779.
- Marik, D., Sharma, P., Chauhan, N. S., Jangir, N., Shekhawat, R. S., Verma, D., Mukherjee, M., Abiala, M., Roy, C., Yadav, P., Sadhukhan, A. 2023. *Peribacillus frigoritolerans* T7-IITJ, a potential biofertilizer, induces plant growth-promoting genes of *Arabidopsis thaliana*. *BioRxiv*, 2023-12.
- McGill, W. B., & Cole, C. V. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, 26(4), 267-286.
- Mercado-Blanco, J., Bakker, P.A.H.M. 2007. Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 92: 367-89.
- Mergeay, M., Friedrich, B. And Schlegel, H. G. 1987. Cloning of plasmid genes encoding resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus* CH34. *Journal of Bacteriology*, 169(10): 4865-4868.
- Meyer, J. M., Geoffroy, V. A., Baida, N., Gardan, L., Izard, D., Lemanceau, P., Achouak, W., Polleroni, N. J., Palleroni, N. J. 2002. Siderophore typing, a powerful tool for the identification of fluorescent and nonfluorescent *Pseudomonads*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 2745-2753.
- Miao, G. P., Han, J., Wang, C. R., Zhang, K. G., & Wang, S. C. 2018. Growth inhibition and induction of systemic resistance against *Pythium aphanidermatum* by *Bacillus simplex* strain HS-2. *Biocontrol Science and Technology*, 28(12), 1114-1127.
- Montecillo, J. A. V., & Bae, H. 2022. Reclassification of *Brevibacterium frigoritolerans* as *Peribacillus frigoritolerans* comb. nov. based on phylogenomics and multiple molecular synapomorphies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(5), 005389.
- Moturu, U. S., Nunna, T., Avula, V. G., Jagarlamudi, V. R., Gutha, R. R., & Tamminana, S. 2023. Investigating the diversity of bacterial endophytes in maize and their plant growth-promoting attributes. *Folia Microbiologica*, 68(3), 369-379.
- Mushtaq, Z., Nazir, A., Asghar, H. N., & Zahir, Z. A. 2022. Interactive effect of siderophore-producing bacteria and l-tryptophan on physiology, tuber characteristics, yield, and iron concentration of potato. *Potato Research*, 65(4), 1015-1027.
- Nascimento, F. X., Glick, B. R., & Rossi, M. J. 2019. Isolation and characterization of novel soil-and plant-associated bacteria with multiple phytohormone-degrading activities using a targeted methodology. *Access Microbiology*, 1(7).
- Neilands, J. B. 1981. Iron absorption and transport in microorganisms. *Annual Review of Nutrition*, 1(1), 27-46.
- Neilands, J. B. 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723-26726.

- Neubauer, U., Furrer, G., Kayser, A., & Schulz, R. 2000. Siderophores, NTA, and citrate: Potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 2(4), 353-368.
- Niza Costa, M., Gil, T., Teixeira, R., Rodrigues dos Santos, A. S., Rebelo Romão, I., Sequero López, C., & Vilchez, J. I. 2023. Combined use of a bacterial consortium and early-colonizing plants as a treatment for soil recovery after fire: A model based on Los Guájares (Granada, Spain) Wildfire. *Biology*, 12(8), 1093.
- Oberson, A., Frossard, E., Bühlmann, C., Mayer, J., Mäder, P., & Lüscher, A. 2013. Nitrogen fixation and transfer in grass-clover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil*, 371, 237-255.
- Omar M N A, Mahrous N M & Hamouda A M 1996. Evaluating the efficiency of inoculating some diazotrophs on yield and protein content of 3 wheat cultivars under graded levels of nitrogen fertilization. *Annals of Agricultural Sciences*, 41: 579-590.
- Pan, T., He, H., Wang, X., Shen, Y., Zhao, J., Yan, K., Wang, X., Liu, C., Zhang, J., Xiang, W. 2017. *Bacillus solisilvae* sp. nov., isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(11), 4449-4455.
- Parte, A. C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J. P., Reimer, L. C., & Göker, M. 2020. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5607-5612.
- Patel, S., & Gupta, R. S. 2020. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 406-438.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3), 207-220.
- Peak, K. K., Duncan, K. E., Veguilla, W., Luna, V. A., King, D. S., Heller, L., Lorsan, H. L., Reeves, F., Cannons, A. C., Amuso, P., Cattani, J. 2007. *Bacillus acidicer* sp. nov., isolated from a forensic specimen, containing *Bacillus anthracis* pX02 genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(9), 2031-2036.
- Peng, J. S., Guan, Y. H., Lin, X. J., Xu, X. J., Xiao, L., Wang, H. H., & Meng, S. 2021. Comparative understanding of metal hyperaccumulation in plants: A mini-review. *Environmental Geochemistry and Health*, 43, 1599-1607.
- Penrose, D. M., & Glick, B. R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), 10-15.

- Penrose, D. M., & Glick, B. R. 2008. Quantifying the impact of ACC deaminase-containing bacteria on plants. In *Plant Surface Microbiology* (pp. 489-502). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Perez, E., Sulbaran, M., Ball, M. M. And Yarzabal, L. A. 2007. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region, *Soil Biology and Biochemistry*, 39(11): 2905-2914.
- Perry, R. D., Bobrov, A. G. And Fetherston, J. D. 2015. The role of transition metal transporters for iron, zinc, manganese, and copper in the pathogenesis of *Yersinia pestis*. *Metallomics*, 7(6): 965-978.
- Placek, A., Grobelak, A., Hiller, J., Stępień, W., Jelonek, P., Jaskulak, M., & Kacprzak, M. (2017). The role of organic and inorganic amendments in carbon sequestration and immobilization of heavy metals in degraded soils. *Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems*, 5(4), 509-517.
- Pidot, S. J., Coyne, S., Kloss, F., & Hertweck, C. 2014. Antibiotics from neglected bacterial sources. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(1), 14-22.
- Podile A R & Kishore K. 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant-Associated Bacteria* (Editör Gnanamanickam S S, Springer), 195–230.
- Pollmann, S., Müller, A., & Weiler, E. W. 2006. Many roads lead to “auxin”: of nitrilases, synthases, and amidases. *Plant Biology*, 8(03), 326-333.
- Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. 2012. Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 50, 403-424.
- Raio, A., & Puopolo, G. 2021. *Pseudomonas chlororaphis* metabolites as biocontrol promoters of plant health and improved crop yield. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(6), 99.
- Raja, C.E., Selvam, G.S. and Omine, K. 2009. Isolation, identification and characterization of heavy metal resistant bacteria from sewage. In *International Joint Symposium on Geodisaster Prevention and Geoenvironment in Asia* pp. 205-211, Fukuoka, Japan.
- Rajagopal, R. 1971. Metabolism of indole-3-acetaldehyde. III. Some characteristics of the aldehyde oxidase of avena Coleoptiles. *Physiologia Plantarum*, 24(2), 272-281.
- Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. 2012. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1562-1574.
- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?. *Plant Science*, 180(2), 169-181.
- Ren, X. M., Guo, S. J., Tian, W., Chen, Y., Han, H., Chen, E., Li, B. L., Li, Y. Y., Chen, Z. J. 2019. Effects of plant growth-promoting bacteria (PGPB) inoculation on the growth, antioxidant activity, Cu uptake, and bacterial community structure of rape

- (*Brassica napus* L.) grown in Cu-contaminated agricultural soil. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1455.
- Rezzonico, F., Smits, T. H., Born, Y., Blom, J., Frey, J. E., Goesmann, A., Cleenwerck, I., Vos, P., Bonaterra, A., Duffy, B., Montesinos, E. 2016. *Erwinia gerundensis* sp. nov., a cosmopolitan epiphyte originally isolated from pome fruit trees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(3), 1583-1592.
- Ribeiro, M., & Simões, M. 2019. Advances in the antimicrobial and therapeutic potential of siderophores. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 1485-1494.
- Richardson, A. E., & Simpson, R. J. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiology*, 156(3), 989-996.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Department of Microbiology, Cuban Research Institute on Sugarcane By-Products (ICIDCA)*, Havana, Cuba.
- Rosenblueth, M., Martinez-Romero. 2006. E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant Microbe Interact*, 19: 827-37.
- Rungsahiranrut, A., Muangchinda, C., Naloka, K., Dechsakulwatana, C., & Pinyakong, O. 2023. Simultaneous immobilization enhances synergistic interactions and crude oil removal of bacterial consortium. *Chemosphere*, 340, 139934.
- Saad, M. M., Kandil, M., & Mohammed, Y. M. 2020. Isolation and identification of plant growth-promoting bacteria highly effective in suppressing root rot in fava beans. *Current Microbiology*, 77, 2155-2165.
- Saadouli, I., Mosbah, A., Ferjani, R., Stathopoulou, P., Galiatsatos, I., Asimakis, E., ... & Ouzari, H. I. 2021. The impact of the inoculation of phosphate-solubilizing bacteria *Pantoea agglomerans* on phosphorus availability and bacterial community dynamics of a semi-arid soil. *Microorganisms*, 9(8), 1661.
- Saharan, B. S., & Nehra, V. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 21(1), 30.
- Schoenborn, L., Yates, P. S., Grinton, B. E., Hugenholtz, P., & Janssen, P. H. 2004. Liquid serial dilution is inferior to solid media for isolation of cultures representative of the phylum-level diversity of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), 4363-4366.
- Schwyn, B., & Neilands, J. B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1), 47-56.
- Sergeeva, E., Liaimer, A., & Bergman, B. 2002. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria. *Planta*, 215, 229-238.
- Shahid, M., Zeyad, M. T., Syed, A., Singh, U. B., Mohamed, A., Bahkali, A. H., Elgorban, A. M., Pichtel, J. 2022. Stress-tolerant endophytic isolate *Priestia aryabhatai* BPR-9 modulates physio-biochemical mechanisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) for enhanced salt tolerance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(17), 10883.

- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2, 1-14.
- Shivaji, S., Chaturvedi, P., Begum, Z., Pindi, P. K., Manorama, R., Padmanaban, D. A., Shouche, Y. S., Pawar, S., Vaishampayan, P., Dut, C. B. S., Datta, G. N., Rao, U. R., Bhargava, P. M., Narlikar, J. V. 2009. *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhatai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(12), 2977-2986.
- Shridhar, B. S. 2012. Nitrogen fixing microorganisms. *International Journal of Microbiological Research*, 3(1), 46-52.
- Solano, B. R., Maicas, J. B., & Mañero, F. G. 2008. Physiological and molecular mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant-bacteria Interactions: Strategies and Techniques to Promote Plant Growth*. Weinheim: Wiley, 41-52.
- Sönmez, İ., Kaplan, M., & Sönmez, S. 2008. Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Derim*, 25 (2): 24-34.
- Singh, P. P., Shin, Y. C., Park, C. S., & Chung, Y. R. 1999. Biological control of fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology*, 89(1), 92-99.
- Singh, R. P., Shelke, G. M., Kumar, A., & Jha, P. N. 2015. Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants. *Frontiers in Microbiology*, 6, 937.
- Singh, R. P., Jha, P., & Jha, P. N. 2015. The plant-growth-promoting bacterium *Klebsiella* sp. SBP-8 confers induced systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 184, 57-67.
- Singh, P., Singh, R. K., Guo, D. J., Sharma, A., Singh, R. N., Li, D. P., & Li, Y. R. 2021. Whole genome analysis of sugarcane root-associated endophyte *Pseudomonas aeruginosa* B18—A plant growth-promoting bacterium with antagonistic potential against *Sporisorium scitamineum*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 628376.
- Singh, D., Thapa, S., Mahawar, H., Kumar, D., Geat, N., & Singh, S. K. 2022. Prospecting potential of endophytes for modulation of biosynthesis of therapeutic bioactive secondary metabolites and plant growth promotion of medicinal and aromatic plants. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 115(6), 699-730.
- Stegelmeier, A. A., Rose, D. M., Joris, B. R., & Glick, B. R. 2022. The use of PGPR to promote plant hydroponic growth. *Plants*, 11(20), 2783.
- Stockwell, V. O., Johnson, K. B., Sugar, D., & Loper, J. E. 2002. Antibiosis contributes to biological control of fire blight by *Pantoea agglomerans* strain Eh252 in orchards. *Phytopathology*, 92(11), 1202-1209.
- Syn, C. K. C. and Swarup, S. 2000. A scalable protocol for the isolation of large-sized genomic DNA within an hour from several bacteria. *Analytical Biochemistry*, 278(1): 86-90.

- Tagele, S. B., Lee, H. G., Kim, S. W., & Lee, Y. S. 2019. Phenazine and 1-undecene producing *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* strain KNU17Pc1 for growth promotion and disease suppression in Korean maize cultivars. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(1) 66-78
- Tarkka, M., Schrey, S., & Hampp, R. 2008. Plant associated soil micro-organisms. In *Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence* (pp. 3-51). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Tombolini, R., van der Gaag, D. J., Gerhardson, B., & Jansson, J. K. 1999. Colonization pattern of the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* MA 342 on barley seeds visualized by using green fluorescent protein. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), 3674-3680.
- Unkovich, M., Herridge, D., Peoples, M., Cadisch, G., Boddey, R., Giller, K. 2008. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. Canberra: *Australian Centre for International Agricultural Research*. 258.
- Varhan, R., & Bozkurt, İ. A. 2021. Maydanoz bakteriyel yaprak leke hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *apii*) ile biyolojik mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanaklarının araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(3), 649-660.
- Verbruggen, N., Hermans, C., & Schat, H. 2009. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, 181(4), 759-776.
- Verstraeten, N., Braeken, K., Debkumari, B., Fauvart, M., Fransaer, J., Vermant, J., & Michiels, J. 2008. Living on a surface: swarming and biofilm formation. *Trends in Microbiology*, 16(10), 496-506.
- Visioli, G., D'Egidio, S., & Sanangelantoni, A. M. 2015. The bacterial rhizobiome of hyperaccumulators: Future perspectives based on omics analysis and advanced microscopy. *Frontiers in Plant Science*, 5, 752.
- Walitang, D. I., Kim, K., Madhaiyan, M., Kim, Y. K., Kang, Y., & Sa, T. 2017. Characterizing endophytic competence and plant growth promotion of bacterial endophytes inhabiting the seed endosphere of Rice. *BMC Microbiology*, 17, 1-13.
- Weyens, N., Van der Lelie, D., Taghavi, S., Vangronsveld, J. 2009. Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Current Opinion Biotechnology*, 20: 248-54.
- Wycisk K., Kim E., Schroeder J. and Kramer U. 2004. Enhancing the first enzymatic step in the histidine biosynthesis pathway increases the free histidine pool and nickel tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters*, 578 128-134.
- Yadav, A., Gaur, I., Goel, N., Mitra, J., Saleem, B., Goswami, S., ... & Upadhyaya, K. C. 2015. Rhizospheric microbes are excellent plant growth promoters. *Indian Journal of Natural Sciences*, 5(30), 6584-6595.
- Yao, Z., Chen, Y., Luo, S., Wang, J., Zhang, J., Zhang, J., ... & Tian, L. 2022. Culturable screening of plant growth-promoting and biocontrol bacteria in the Rhizosphere and Phyllosphere of wild Rice. *Microorganisms*, 10(7), 1468.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü., Ünal, G. 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları.

http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197_ek.pdf. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara.

Zhang, Q. X., Kong, X. W., Li, S. Y., Chen, X. J., & Chen, X. J. 2020. Antibiotics of *Pseudomonas protegens* FD6 are essential for biocontrol activity. *Australasian Plant Pathology*, 49, 307-317.

Zhao, Y. 2012. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Molecular Plant*, 5(2), 334-3



8. EKLER

EK-1. Chrome Azurol S (CAS) Besiyeri Hazırlanışı (Schwyn ve Neilands 1987)

Chrome Azurol S (CAS)	0,06 g/L
Hexadecyltrimethylammonium (HDTMA)	0,073 g/L
FeCl ₃ .6H ₂ O (Ferrik klorür hekzahidrat)	0,0027 g/L
Nutrient Broth	8 g/L
Agar	15 g/L

CAS agar için üç ayrı solüsyon hazırlanmıştır; ilk solüsyon içerisinde 0,06 Chrome Azurol S tartılarak ve 50 ml dH₂O içerisinde çözdürülmüştür. Solüsyon iki de ise 0,0027 g FeCl₃.6H₂O, 10 mM HCl içinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Son solüsyon için ise 0,073 g hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) 40 mL dH₂O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan CAS solüsyonu üzerine demir solüsyonu eklenmiş ve son olarak HDTMA solüsyonu eklenerek 15 dk 121 °C’de steril edilmiştir. 900 mL Nutrient agar ayrı olarak hazırlanmış ve 15 dk 121 °C’de steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan bu iki çözelti karıştırılarak petri kaplarına dökülmüştür.

EK-2. NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) Besiyeri Hazırlanışı (Nautiyal 1999)

Glukoz	10 g/L
MgCl ₂ .6H ₂ O (Magnezyum klorür hegzahidrat)	5 g/L
KCl (Potasyum klorür)	0,2 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O (Magnezyum sülfat heptahidrat)	0,25 g/L
Ca ₃ (PO ₄) ₂ (Kalsiyum fosfat)	5 g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄ (Amanyum sülfat)	0,1 g/L
Bromophenol Blue	0,025 g/L
Nutrient Broth	8 g/L
Agar	15 g/L

Kimyasallar sırasıyla eklenerek ve dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Ardından sülfürik asit ile pH 6.8 – 7.0 aralığın da ayarlanarak 121 °C'de 15 dk otoklavlanıp petri kaplarına dökülmüştür.

EK-3. DF (Dworkin ve Foster) Besiyeri Hazırlanışı (Penrose ve Glick 2003)

ZnSO ₄ .7H ₂ O (Çinko sülfat heptahidrat)	0,02 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O (Magnezyum sülfat heptahidrat)	0,2 g/L
KH ₂ PO ₄ (Mono potasyum fosfat)	1,36 g/L
FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir sülfat heptahidrat)	0,2 g/L
CaCl ₂ .2H ₂ O (Kalsiyum klorür dihidrat)	0,7 g/L
Glukoz	% 1
Na ₂ HPO ₄ (Di sodyum fosfat)	2,13 g/L
CoCl ₂ .6H ₂ O (Kobalt klorür hekzahidrat)	0,007 g/L
CuSO ₄ .5H ₂ O (Bakır sülfat pentahidrat)	0,04 g/L
H ₃ BO ₃ (Borik asit)	0,003 g/L
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (Sodyum moliptan dihidrat)	0,004 g/L
MnSO ₄ .H ₂ O (Magnezyum sülfat monohidrat)	0,02 g/L
ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat)	300 mg/L
Agar	15 g/L
((NH ₄) ₂ SO ₄) (Amanyum sülfat) (Pozitif kontrol için)	2 g/L

DF besiyeri içerisinde bulunan tüm kimyasallar sırasıyla eklenip tamamen çözdürülmüş ve 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan DF besi ortamı 15 dak 121 °C'de otoklavlanmıştır. Petrilerdeki son konsatrasyonu 3 mM olacak şekilde hazırlanan ACC solüsyonu şırınga ucu filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Hazırlanan DF besiyeri el yakmayacak sıcaklığa geldiğinde ACC solüsyonu eklenerek petri kaplarına dökülmüştür.

ÖZGEÇMİŞ

FİKRİYE MEHTAP ŞEN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2020-2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi
2015-2019	Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum

ESERLER

Ulusal/Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Şen F. M., Tefon Öztürk B. E. (2022). Detection of plant growth promoting bacteria. Ege 7th International Conference on Applied Sciences. (Özet Bildiri)