



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMASYA(SULUOVA) ÇELTEK KÖMÜR MADENİ ATIK
ALANLARINDA YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN KÖK BÖLGESİNDEN
FOSFOR ÇÖZEN BAKTERİLERİN İZOLE EDİLMESİ VE
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİRKAN EMEKTAR

HAZİRAN

BİRKAN EMEKTAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2023

**AMASYA(SULUOVA) ÇELTEK KÖMÜR MADENİ ATIK ALANLARINDA
YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN KÖK BÖLGESİNDEN FOSFOR ÇÖZEN
BAKTERİLERİN İZOLE EDİLMESİ VE BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

BİRKAN EMEKTAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2023

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Birkan EMEKTAR tarafından hazırlanan “Amasya(Suluova) Çeltek Kömür Madeni Atık Alanlarında Yetişen Bazı Bitkilerin Kök Bölgesinden Fosfor Çözen Bakterilerin İzole Edilmesi ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Munzur Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Veli ÇELİKTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 05/06/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim

Birkan EMEKTAR

05.06.2023

AMASYA(SULUOVA) ÇELTEK KÖMÜR MADENİ ATIK ALANLARINDA YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN KÖK BÖLGESİNDEN FOSFOR ÇÖZEN BAKTERİLERİN İZOLE EDİLMESİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Birkan EMEKTAR

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2023

ÖZET

Bu çalışmada Amasya ili Suluova Çeltik kömür madeni atık alanlarında yetişen bazı bitkilerin rizosfer bölgesinden fosfor çözücü bazı bakterilerin izolasyonu, tanısı ve bakterilerin biyokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Yapılan izolasyon çalışmasında fosfor çözen 14 bakteri izolatu elde edilmiştir. Bakterilerin fosfor çözme indeksleri 3.21 -1.2 arasında değiştiği belirlenmiştir. Yüksek miktarda fosfor çözen be14 izolatının sentezlediği organik asitlerin belirlenmesine yönelik yapılan GC-MS analizinde izolatın %14.24 oranında asetik asit salgıladığı belirlenmiştir. İzolatlar arasında be1 izolatı 796,16 ppm ile en yüksek miktarda İAA ürettiği tespit edilmiştir. En düşük miktarda ise 140,91 ppm ile be15 izolatı İAA üretmiştir. İzolatların CAS agar besiyeri kullanılarak siderofor üretme indekslerinin belirlenmesinde siderofor üretme indeksi en yüksek 3,3 değeri ile be6 izolatı tespit edilirken en düşük siderofor üretme indeksi 1,1 ile be1 izolatı belirlenmiştir. İzolatlar arasında be24 izolatı ise 6,6 indeks ile en yüksek miktarda proteaz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Mikroorganizmaların amilaz aktivitelerinin belirlenmesinde be12 izolatı 5,3 indeks değeri ile en yüksek miktarda amilaz aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. be9 izolatı ise 2,1 indeks değeri ile en yüksek miktarda kitinaz enzim aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada MALDI-TOF analizi ile bakteri izolatlarının tür düzeylerinde teşhisleri yapılmıştır. Tanılama sonuçlarına göre 14 izolat ;*Bacillus mojavensis*(2), *Bacillus amyloliquefaciens ssp.plantarum*(2), *Bacillus subtilis ssp.subtilis*(2), *Bacillus atrophaeus*(2),*Bacillus vallismortis*(2), *Bacillus amyloliquefaciens ssp amyloliquefaciens*, *Staphylococcus kloosii*, *Bacillus cereus*, ve *Acinetobacter calcoaceticus* olarak tanımlanmıştır. Yapılan bu çalışma ile izole edilen ve tanımlanan bakteri izolatlarının biyokimyasal özellikleri ile bitkilerin maden sahasına adapte olup gelişmesine katkı sağladığı düşünülmektedir. Bu çalışma aynı zaman maden sahaları ile ilgili çalışmalara kaynak oluşturabilmesi bakımından önemli görülmektedir.

Sayfa Adedi : 43
Anahtar Kelimeler : Kömür madeni havzası, Fosfor çözen bakteri, Siderofor üretme
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

ISOLATION OF PHOSPHORUS SOLUBILIZING BACTERIA FROM THE ROOT
REGION OF SOME PLANTS GROWING IN CELTEK COAL WASTE AREAS OF
AMASYA(SULUOVA) AND DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL
PROPERTIES
(M. Sc. Thesis)

Birkan EMEKTAR

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

Haziran 2023

ABSTRACT

In the fact of this research ,isolation of some phosphorus-solving bacteria from the rhizosphere of various plant species that grow species in the Suluova Çeltek coal mine field of Amasya, and the diagnosis of them and the biochemicals properties of bacteria were identified. In this isolation study that was made ;14 bacterial isolates that dissolve phosphorus were obtained. It was also determined that the phosphorus dissolution indexes of bacteria varied between 3.21 to 1.2. In the analysis of GC-MS that was made to specify the organic acids synthesized by the be14 isolate , which dissolves high quantities of phosphorus , it was determined that isolate excreted acetic acid at a rate of 14.24%. It was established that among the isolates the be1 isolate produced the highest quantity of IAA with 796.16 ppm; however the lowest quantity of IAA with 140.91 was produced by the be15 isolate. By using CAS agar medium of isolates ,to determine the indexes of the production of siderophore the be6 isolate was identified with a highest siderophore production index of 3.3;conversely with the lowest siderophore production index of 1.1 the be6 isolate was defined. Among the isolates , it was determined that the be24 isolate indicated the highest quantity of protease activity with an index number of 6.6. Additionally, it was identified that the be12 isolate produced the highest quantity of amylese with a 5.3 index , to illustrate the amylese activities of microorganisms . On the other hand, the be9 isolate indicated the highest quantity of chitinase enzyme activity with an index of 2.1 In the fact of this research work, through the agency of Maldi-Tof analysis , the identification of bacteria isolates was made in the grades of species. Taking all these into consideration ; 14 isolates were identified as ; *Bacillus mojavensis*(2), *Bacillus amyloliquefaciens ssp. Plantarum*(2), *Bacillus subtilis ssp subtilis* (2) , *Bacillus atrophaeus*(2) , *Bacillus vallismortis*(2), *Bacillus amyloliquefaciens ssp amyloliquefaciens*, *Staphylococcus kloosii*, *Bacillus cereus* and *Acinetobacter calcoaceticus* .In the light of facts above , it may be thought that, through the agency of biochemical properties the isolated and defined isolates contribute the evolution of the plants' adoption to minefield. Additionally, this research can be considered as an essential source for he studies of minefield.

Number of Pages : 43
Keywords : Coal mine basin, Phosphorus dissolving bacteria, Siderophore production
Advisor : Asst. Prof. Dr. İdris BEKTAŞ

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince her zaman bana destek olan, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak çalışmamı özenli bir şekilde yönlendiren tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ' a, lisansüstü eğitimim süresince çalışmalarımın her aşamasında laboratuvar bilgilerini paylaşan ve öğrenmemi sağlayan Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarının ve Suluova Meslek Yüksekokulu Laboratuvarının tüm akademik ve idari personeline, toprak örneklerinin temin edilmesinde katkı sunan Dr. Öğr. Üyesi Veli CELİKTAŞ'a, Tez savunma sınavına katılarak kıymetli katkılarını sunan Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ'a ve çalışmam boyunca benden desteklerini esirgemeyen Albayrak Şehit Yusuf Kaya İlk-Ortaokulu çalışma arkadaşlarıma, beni yalnız bırakmayan, her aşamada yanımda olan hayatımın her anına güzellikleri dokunan aileme ve her zaman varlığıyla benim en büyük destekçim olan eşim Yıldız EMEKTAR' a ve zamanını aldığım oğlum Kayra'ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Toprak Mikroorganizmaları	1
1.2. Fosfor Çözen Bakteriler	2
2. LİTERATÜR.....	6
3. MATERYAL VE METOD	10
3.1. Materyal.....	10
3.2. Yöntem	10
3.2.1. Toprak örneklerinin hazırlanması ve fosfor çözücü bakterilerin izolasyonu....	10
3.2.2. Bakterilerin fosfor çözme indekslerinin belirlenmesi	12
3.2.3. Bakterilerin İndolasetikasit üretme potansiyellerinin belirlenmesi	13
3.2.4. Bakterilerin Siderofor üretim potansiyelinin belirlenmesi.....	14
3.2.5. Bakterilerin bazı enzimatik özelliklerinin belirlenmesi	15
3.2.6. Biyoaktif bileşiklerin belirlenmesi.....	16
3.2.7. MALDI-TOF MS cihazı ile mikroorganizma türlerinin tanımlanması.....	17
4. BULGULAR	18
4.1. Toprak Örnekleri	18

Sayfa

4.2. Fosfor Çözücü Bakterilerin İzolasyonu ve Fosfor Çözme indekslerinin belirlenmesi	18
4.3. İzolatların İndol Asetik Asit Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	25
4.4. Bakterilerin Siderofor Üretme İndekslerinin Belirlenmesi	26
4.5. Bakterilerin Proteaz Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi	28
4.6. Bakterilerin Amilaz Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi	30
4.7. Bakteri izolatlarının ve Kitinaz Üretme İndekslerinin Belirlenmesi.....	31
4.8. Bakterilerin MALDI-TOF Tanı Sonucu.....	33
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	35
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Bakteri izolatlarının fosfor çözme indeksleri ve istatistiki olarak karşılaştırılması.....	19
Çizelge 4.2. be14 kolu bakteri izolatının GC-MC de belirlenen organik bileşikleri	20
Çizelge 4.3. Bakteri izolatlarının İAA üretim miktarları ve istatistiki olarak karşılaştırılması	25
Çizelge 4.4. Bakteri izolatlarının siderofor üretme indekslerinin belirlenmesi	27
Çizelge 4.5. Bakteri izolatlarının proteaz aktivite sonuçları.....	28
Çizelge 4.6. Bakteri izolatlarının amilaz aktivite sonuçları	30
Çizelge 4.7. Bakteri izolatlarının kitinaz aktivite sonuçları.....	32
Çizelge 4.8. Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF Tanı Sonucu.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Fosfor çözücü bakterilerin bitki üzerindeki etkileri (Zaidi ve diğerleri, 2009)	4
Şekil 3.1.Katı NBRIP besi ortamında bakteri izolatlarının fosfor çözme indeksinin hesaplanmasında kullanılan yöntem (Johri, Surange ve Narula, 1999).....	12
Şekil 3.2.Farklı ppm değerindeki standart indol asetik asit çözeltilerinin absorbans değerleri	14
Şekil 4.1. Fosfor çözücü be14 nolu bakterinin GC-MS de oluşan pikler	24

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Suluova ilçesi çeltek kömür madeni havzasının görünümü	10
Resim 3.2. Rizosfer toprak örneklerinin bakteri izolasyonuna hazırlanması	11
Resim 3.3. Fosfor çözen bakterilerin belirlenmesi için dilüsyon örneklerinden ekim işleminin yapılması	11
Resim 3.4. Fosfor çözen bakterilerin belirlenmesi ve saflaştırılması	12
Resim 3.5. Standart indol asetik asit çözeltilerinin oluşturulması	13
Resim 3.6 Seçilen bakteri izolatının Nutrient Broth besiyerinde geliştirilmesi ve Etil asetat ile karıştırılması(üst faz).	17
Resim 4.1. Fosfor çözen bakterilerin NBRIP besi ortamında oluşturduğu zonlar(a) ve fosfor çözme indekslerinin belirlenmesinde oluşan zonlar(b)	18
Resim 4.2. Bakterilerin İAA üretme potansiyellerine bağlı renk değişimi.....	25
Resim 4.3. be6 ve be1 kodlu izolatların CAS besiyerinde oluşturdukları zonlar	27
Resim 4.4. En yüksek proteaz aktivite özelliğine sahip be24 ve proteaz aktivite özelliğine sahip olmaya be15 izolatı.....	29
Resim 4.5. be6 izolatının amilaz aktivitesinin besiyerindeki oluşturduğu zon.....	31
Resim 4.6. Bakteri izolatlarının besi ortamında Kitinaz enzim aktivitesi	33

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
g	Gram
mg	Miligram
mL	Mililitre
Kısaltmalar	Açıklama
IAA	İndol astik asit
kç	koloni çapı
NBRIP	National Botanical Research Institute's phosphate
M	Medium
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
zç	zon çapı

1. GİRİŞ

1.1. Toprak Mikroorganizmaları

Toprak yapısında organik maddelerin yanında çok sayıda ve çeşitte bakteri, virüs, alg, mantar gibi mikroskobik canlıyı yapısında barındırmaktadır. Bu mikroorganizmaların toprağın fiziksel ve kimyasal yapısı üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle mikroorganizmalar olmadan toprağın oluşması ve görevini yerine getirmesi mümkün değildir.

Toprak mikroorganizmaları sahip olduğu en önemli özelliği olan biyokimyasal özelliklerinden dolayı çeşitli bitki ve hayvan kalıntılarını ayrıştırarak toprağın mineral bakımından zenginleşmesini sağlamaktadır. Bu işlemler sonucunda oluşan ürünleri öncelikli olarak bitkiler kullanmaktadır. Toprakta yaşayan bazı mikroorganizmalarda ürettiği antibiyotik, bakteriyosin, alkol ve organik asitler gibi maddeler ile çeşitli patojen bakterilerin çoğalmalarını engellemektedir (Bickford ve diğerleri, 2022).

Toprakta meydana gelen biyokimyasal olayların çoğunluğu mikroorganizmalar vasıtası ile olmaktadır. Toprak mikroorganizmaları ürettikleri enzimler aracılığı ile yüksek polimer bileşiklerini mineralizasyon sonucu inorganik forma dönüştürmektedirler. Organik maddelerin parçalanması bitki tarafından alınabilir forma dönüşmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda toprak mikroorganizmaları ürettikleri enzimler ile çeşitli reaksiyonların oluşumunu sağladıkları için topraktaki biyolojik aktivite değeri enzimsel aktivitenin belirleyicisi olmaktadır (Bedük, 2022).

Mikroorganizmaların topraktaki sayısı, türleri ve faaliyetleri; ortam koşullarına ve toprağın özelliğine göre değişmektedir (Yavuz ve Sarıgül, 2016). Toprakta bulunan farklı mikroorganizmaların gerçekleştirdikleri biyokimyasal özellikler birbirinden farklı olduğundan dolayı, toprağın biyokimyasal özelliğinin belirlenmesinde bazen mikroorganizmaların toplam sayısı ve farklı mikroorganizma türlerinin belirlenmesi yoluna gidilmektedir (Okumuş ve Alçinkaya, 2019).

1.2. Fosfor Çözen Bakteriler

Bitkiler inorganik ve organik besin kaynakları ile beslenir. Organik kaynaklar, bitkiler için besin mevcudiyetini artırır ve toprak organik maddesini tamamlar. Doğal kaynaklar (organik gübreler) ile birlikte sentetik fosfor kaynakları, toprakta fosfor çözünmesini ve bitkiler için kullanılabilirliğini hızlandırır (Nishanth ve Biswas, 2008). Fosforun çözünmesi ve bitkiler tarafından kullanılabilirliği, mikrobiyal aktiviteler sonucunda meydana gelmektedir (Abbas ve diğerleri, 2012).

Fosfor, hem birkaç anahtar bitki yapısı bileşiğinin bir parçası olarak hem de bitkilerde çok sayıda anahtar biyokimyasal reaksiyonun (fotosentez, protein sentezi, hormon üretimi) dönüşümünde bir kataliz olarak temel bir besindir (Özyılmaz ve Benlioğlu, 2012). Fosfor, özellikle güneş enerjisini yakalama ve yararlı bitki bileşiklerine dönüştürmedeki rolü ile dikkat çekmektedir. Fosfor, tüm canlıların genetik "hafıza birimi" olan DNA'nın hayati bir bileşenidir. Aynı zamanda, bitki yapısı, tohum verimi ve genetik transfer için gerekli olan proteinleri ve diğer bileşikler oluşturmak için DNA genetik kodunu okuyan bileşik olan RNA'nın bir bileşenidir. Hem DNA hem de RNA'nın yapıları fosfor bağları ile birbirine bağlanır (Griffith, 2022).

Fosfor, bitkilerin "enerji birimi" olan ATP'nin temel yapıtaşını oluşturmaktadır. ATP, fotosentez sırasında oluşur, yapısında fosfor bulunur ve bitki çimlenmesinin başlangıcından başlayarak bitkinin tüm yaşam döngüsü sonuna kadar kadar işler. Bu nedenle, fosfor tüm bitkilerin büyüme ve gelişmesini sağlayan bitkinin canlılığının devam etmesi için gerekli en önemli moleküldür. Fosfor'un bitkiler üzerindeki etkileri şunlardır (Altın ve Tayyar, 2005):

- ❖ Kök gelişimini uyarması
- ❖ Bitki boyunda gelişimi uyarması
- ❖ Çiçek ve tohum üretimini teşvik etmesi
- ❖ Ürünlerde verim artışı
- ❖ Azot bağlama özelliklerine sahip olması
- ❖ Ürünlerin besin bakımından zengin olması
- ❖ Toprakta bulunan hastalık etmenlerine karşı direnç
- ❖ Bitkinin tüm gelişim safhasında bitkiyi desteklemeleri

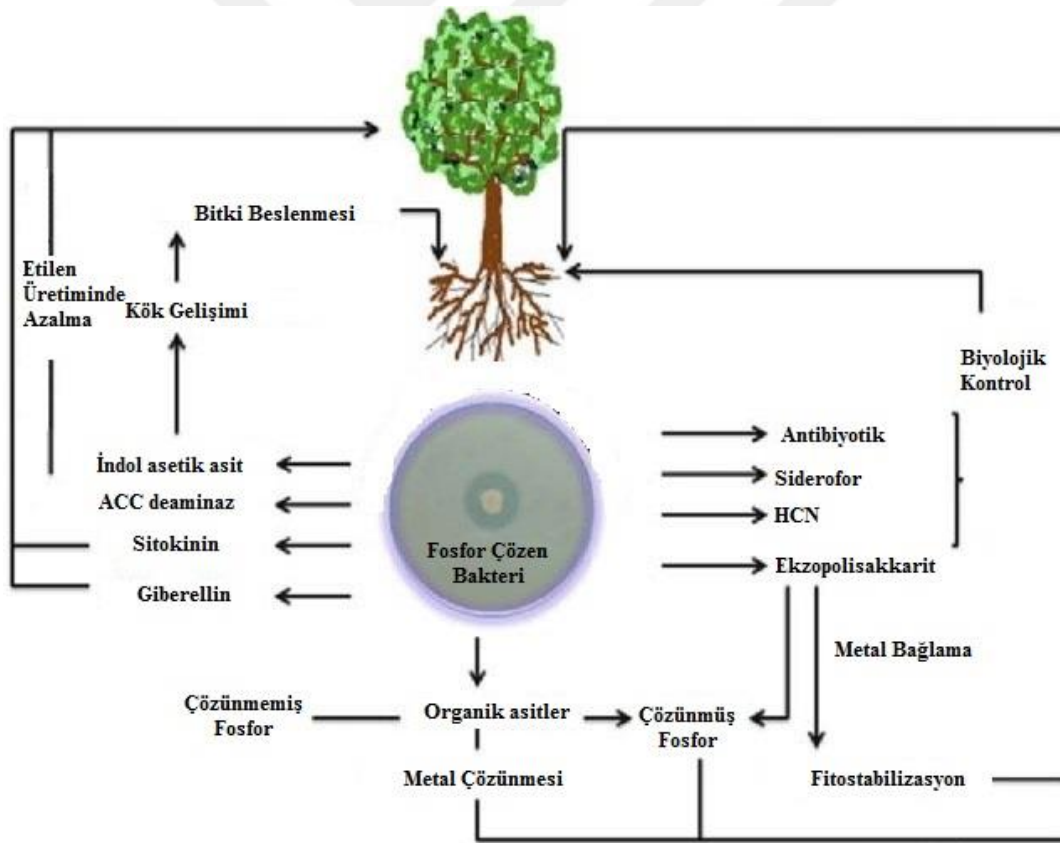
Toprak içerisinde bulunan Fosfor'un en önemli özelliği doğal olarak fosfat kayaları şeklinde ve mineral apatit halinde bulunması ve bu formların en temel özelliği de toprak içerisinde çözünemez durumda olmasıdır. Bitkiler ise topraktan aldıkları Fosfor'u HPO_4^{2-} veya H_2PO_4^- formunda alabilir. Fosforun toprak pH'ına bağlı olarak asitli topraklarda Al ve Fe ile bileşik oluşturarak (Al_3PO_4) ve (Fe_3PO_4), bazik topraklarda ise Ca ile bileşik oluşturarak (Ca_3PO_4)₂ çözünemez forma dönüşmektedir (Sharma ve diğerleri, 2013). Bu sebeple Fosforun topraktan bitkiler tarafından alınabilmesi için çözünebilir iyonik fosfatlar olan düşük molekül ağırlıklı Pi , HPO_4^{2-} veya H_2PO_4^- fosfor bileşiklerine dönüşmesi gerekmektedir.(Qureshi ve diğerleri, 2012).

Yapılan çalışmalarda toprakta bulunan Fosfor bileşiklerinin bazı mikroorganizmalar tarafından çözülebildiği tespit edilmiştir. Bitki rizosfer kısmında bulunan ve simbiyotik olarak yaşayan bu mikroorganizmaların başında fosfor çözen bakteriler gelmektedir. *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Serratia* ve *Microbacterium* gibi bakteri cinslerinin önemli fosfor çözücü bakteriler oluşu yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir (Bhattacharyya ve Jha, 2012).

Bu mikroorganizmaların salgıladıkları fosfataz enzimi yanısıra salgıladıkları asetik, laktik, suksinik, fumarik, okzalik, sitrik, glutamik, maleik, tartarik ve ketobütirik gibi organik asitler toprağın pH değerini düşürerek fosforu çözünür hale getirmektedir (Toro, 2007). Fosfor çözücü bakteriler, sadece bitki fosfor mevcudiyetini iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda IAA (indol asetik asit) ve giberellin, ACC deaminaz enzimi, farklı enzim üretme gibi özelliklere sahip olması ile bitki için önemli hale gelmektedir (Wani ve diğerleri, 2008).

Fosfor çözücü bakterilerin bitki gelişimine etkisi doğrudan ve dolaylı olarak olmaktadır. Antibiyotik üretilmesi veya siderofor üretilmesi ile patojen mikroorganizmaların gelişimini baskılamaları sonucu dolaylı olarak bitki gelişimi teşvik etmektedirler. İndol asetik asit gibi çeşitli bitkisel hormonların sentezi azot fiksasyonu, kök zarları geriliminin azaltılması, ACC deaminaz gibi enzimleri üretmesi ile bitki hormon düzeylerinin ayarlanması, organik P mineralizasyonu ve inorganik P çözünürlüğünün artırılması ile P alınabilirliğinin sağlanması gibi yöntemler ile bitki gelişimi doğrudan bakteriler tarafından etkilenmektedir (Çakmakçı, 2005).

Fosfor çözücü bakterilerin bitkiler için öneminin belirtildiği bir çalışmada Singh ve arkadaşları (2011), fosfor çözücü bakterilerin, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi teşvik ettiklerini aynı zamanda patojen mikroorganizmaları baskıladıkları için toprakta biyokontrol ajanları olarak hareket ettiklerini belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada ise Chen ve arkadaşları (2006), mikroorganizmalar tarafından üretilen organik asitlerin (glukonatlar, propiyonatlar, süksinat, laktat ve sitrat) ortamın pH'ındaki düşüşün, çeşitli bakteri türlerinin fosfor çözme aktivitesi ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Daha fazla organik asit salınımı ve daha düşük pH, fosforun fosfor çözücü bakteriler tarafından daha fazla çözünmesini sağlamıştır. Aynı çalışmada fosfor çözen bakterilerin bu özellikleri sayesinde P, Mg, Al, K ve Fe gibi elementlerin de bitki tarafından alınmasını sağlayarak bitkideki gelişmeyi teşvik ettiği ortaya konulmuştur. Fosfor çözücü bakterilerin bitki üzerine etkileri ise Şekil 1 de verilmiştir.



Şekil 1.1. Fosfor çözücü bakterilerin bitki üzerindeki etkileri (Zaidi ve diğerleri, 2009)

Ülkemizde farklı bölgelerde ve farklı faaliyetler ile ilgili bir çok maden sahası bulunmaktadır. Bu sahaların ağır metal konsantrasyonun yüksek olduğu bilinmektedir (Vural, Çiçek, 2020). Ağır metaller, ekosistemde biyoçeşitliliğin azalmasına,

ekosistemin bozulmasına ve toprak verimliliğinin düşmesine sebep olan en önemli etmenlerin başında gelmektedir. Çevre kirliliğinin en temel etmeni olan bu ağır metaller(Pb, Zn, Cu, Cr, Co,Fe, Cd, vb.) belirli bir konsantrasyonun üzerine çıktığında tüm canlılar için tehlike oluşturmaktadır. (Özay ve Mammadov, 2013).

Topraktaki ağır metal konsantrasyonlarının artışından bitkiler de etkilenmektedir. Bitkilerin kök, gövde, yaprak ve üreme organlarını olumsuz şekilde etkileyen ağır metaller bitkilerin fizyolojik olaylarını(fotosentez ve solunum) etkileyerek bitki türlerinin yok olmasına sebep olmaktadır. Çevre üzerine olumsuz etkiye sahip olan ağır metallerin en önemli yayılım kaynaklarından biri de maden sahalarıdır(Asri ve Sönmez, 2006).

Bu bilgiler doğrultusunda maden sahalarında yetişen bitkilerin gelişimine toprak bakterilerinin katkı sunabileceği düşüncesi ile, Amasya (Suluova) çeltek kömür madeni atıkları üzerinde yetişen bazı bitkilerin kök bölgesinden fosfor çözen bakterilerin izole edilmesi tanılanması ve biyokimyasal özelliklerini belirlenmesini amaçlamıştır.

2. LİTERATÜR

Kloepper ve ark. (1989), yaptıkları çalışmada topraklarda doğal olarak bulunan fosfat çözücü bakterilerin bitki gelişiminin teşvik ettiğinin belirtmişlerdir. Ayrıca bakteriler tarafından salgılanan bitkisel hormon, antibiyotik, siderofor ve diğer maddeler bitkiler için P alınabilirliği ve gelişmeyi teşvik ettiğini ortaya koymuşlardır.

Bolan ve ark. (1997), yaptıkları bir çalışmada, bazı bitki türlerinin, rizosferde bulunan ham fosfat kayalarını çözerek fosforun verimli kullanılmasını sağlayan mekanizmalara sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Barazani ve Friedman'ın (1999) yaptıkları çalışmada bakteri türlerinin faydalı veya zararlı etkilerinin ürettikleri oksin hormonu miktarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarına yüksek miktarda indol asetik asit üreten *Micrococcus luteus*, *Strepto verticillium* sp., *Gluconobacter* sp. ve *P. putida* bakterilerinin inokulasyonu ile kök gelişiminin baskılandığını, *Agrobacterium* sp., *Alcaligenes piechaudii*, *Comamonas acidovorans* gibi indol asetik asiti diğerlerine göre daha düşük seviyelerde üreten bakterilerin inokulasyonu ile bitki gelişiminin tetiklendiğini kaydeden araştırmacılar, PGPR suşlarının indol asetik asit dışında gelişimi destekleyici salgılar ürettiğini öne sürmüşlerdir.

Whitelaw (2000) göre mikroorganizmalar, inorganik fosforu çözündürmek için farklı metabolik yollar kullanmaktadır. En iyi bilinen mekanizma, rizosferin pH'ını düşüren sitrik, oksalik, glukonik, suksinik ve diğer asitler gibi organik asitlerin atılmasıdır. Daha sonra bu asitler demir ve alüminyum için şelatlama maddeleri oynar. Şelasyon, bir ligand (genellikle bir karboksil veya hidroksil grubu) ile bir metal iyonu arasında yeni bir kompleks oluşturan ve fosforu serbest bırakan bağların oluşumundan oluştuğunu bildirmiştir.

Jeon ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada verimsiz bir göl kenarı toprağını kullanmışlardır. *P. flourescens* ve *B. megaterium* suşların inoklasyonunun bitki büyümesine önemli miktarda katkıda bulunduğunu bildirmişler, bu katkının suşların ürettiği fitohormonlardan kaynaklandığını özellikle indol asetik asit ve toprakta çözünemeyen formdaki fosfatın çözünmesi ile ilgili olabileceğini vurgulamışlardır.

Rodríguez ve ark. (2006) göre, fosfor (P), canlı organizmaların büyümesi ve gelişmesi için gerekli bir makro besindir. Nükleik asitlerin, fosfolipitlerin ve enzimlerin temel bir elementidir. Topraktaki P döngüsü dinamik ve mikroorganizmalar merkezi bir rol oynar, çünkü fosfitten (PO_2)³⁻ fosfata (PO_4)³⁻ elektron transfer reaksiyonlarına müdahale ederler. Bazı mikroorganizmalar ham fosfat kayasını çözme yeteneğine sahip olduğunu ve genelde fosfat çözen mikroorganizmalar olarak adlandırıldığını, *Rhizobium*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerinden *Rhizobacteria*, en güçlü fosfor çözen bakteriler olduğunu bulmuşlardır.

Tsavkelova ve ark. (2007), yapıları çalışmalarına cinsleri farklı olan bakteri izolatlarının indol asetik asit üretme miktarlarını araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan izolatlar olan *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Chryseobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Flavobacterium* ve *Agrobacterium* cinsi bakterilerin yüksek miktarda indol asetik asit ürettiklerini aynı zamana bu bakterilerin ürettikleri indol asetik asit yardımı ile bitki gelişimine katkı sağladıklarını ifade etmişlerdir.

Smith ve Read (2010) yatıkları araştırmada bitki rizosfer kısmından izole ettikleri bakterilerin çeşitli mekanizmalar ile bitkinin su, tuz ve besin alımını sağladıkları, abiyotik stres koşullarına karşı bitkiye tolerans sağladıklarını ifade etmişlerdir. Aynı zamanda kök bakterilerinin azot ve karbon döngüsüne katkı sağladıklarını, bitkilerin çevreye uyum sağlamalarına katkı sağladıklarını tespit etmişlerdir.

Majeed ve ark. (2015), yapmış oldukları bir çalışmada, fosfor çözen mikroorganizmaların çok çeşitli rol oynadığını ve bitkilerin besin alımını olumlu etkilediğini bulmuşlardır.

Babier ve Akköprü (2020), tarafından yapılan çalışmalarında kültür bitkilerinden izole edilen 191 bakterinin indol-3-asetik asit (IAA) üretimi ve siderofor üretimi araştırılmıştır. AA üreten 96 adet izolat belirlenirken en etkili izolatın 25.03 ppm IAA üreten V31Y4 kodlu izolat olduğunu tespit etmişlerdir. 135 adet izolatın ise siderofor ürettiğini tespit eden araştırmacılar en iyi siderofor üreten izolatın 7 mm ile V40K2 kodlu izolatı olduğunu tespit etmişlerdir.

Aktan ve Soylu (2020), badem ağaçlarından izole edilen endofit ve epifit bakterilerin bitki gelişiminin teşvik etme mekanizmalarını araştırmıştır. İzole ettikleri bakteriler arasındaki

Enterobacter cloacae izolatların oldukça yüksek miktarda indol asetik asit ve siderofor üretme yeteneklerine sahip olduğunu tespit etmiştir. *Serratia marcescens* izolatlarının ise siderofor üretme özelliğine sahip olduğunu ve fosfor çözme miktarının diğer izolatlara göre önemli ölçüde yüksek olduğunu, *Bacillus* spp. cinsi izolatın ise patojen mikroorganizmalara karşı daha çok antagonistik özellikte önemli bir rol oynayan amonyak üretme özelliğinin yüksek düzeylerde gerçekleştiği belirlenmiştir

Çoban (2020) tarafından yapılan çalışmada, sucul ortamdan izole edilen mikroorganizmaların aynı örnekten izole edilseler dahi farklı değerlikte proteaz üreme özelliğine sahip olduklarını göstermiştir.

Özdemir ve Demirkan (2020) tarafından yapılan çalışmada, mutant *Bacillus subtilis* KE20 tarafından geliştirilmiş proteaz üretimi için beslenme ve fiziksel parametreler optimize edilmiştir. Bu mutanttan proteaz üretiminin inkübasyon koşullarının optimize edilmesiyle, bazal ortama (kontrol) kıyasla %79 enzim verimi artırılmıştır. Ek olarak, mutant KE20, ebeveyn suşa kıyasla 16.5 kat artış sağlamıştır. Bu çalışmada incelenen proteaz enzimi, endüstrinin farklı dallarında kullanılan ve her geçen gün kullanım oranı artan bir enzimdir. Çalışma sonucunda elde edilen çok verimli ve yeni bir mutant olan *Bacillus subtilis* KE20 proteaz enzimi endüstriyel kullanılabilirliğe sahip olabilir.

Babier ve Akköprü(2020) yaptıkları çalışmalarında, Van ili ve civarında yetiştirilen bazı kültür bitkilerinden kök, gövde, sürgün ve yaprak dokularından 191 endofitik bakteri izole etmişlerdir. İzole ettikleri bakterilerin siderofor üretimi, fosfor çözme özelliği, indol asetik asit üretme ve azot bağlama özelliklerini incelemişlerdir. İzolatların %58.9'unun gram (-), %41.1'inin gram (+) olduğu tespit etmişlerdir. İzolatlar arasına 8 izolatın azot fiksasyonu dışında diğer tüm kategorilerde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir Bu şekilde yaptıkları çalışmada mikroorganizmaların farklı biyokimyasal özelliklere sahip oluklarını tespit etmişlerdir.

Aytar ve ark. (2021) çalışmalarında Aydın ve Denizli çevresinden izole edilmiş termofilik bakterilerden lipaz, amilaz ve proteaz enzim aktiviteleri araştırmışlardır. İzolatlar arasında enzimleri üreten suşların oranını; lipaz % 50, amilaz % 63.3, proteaz % 56.6 olarak belirlemişlerdir.

Ekinci ve akmakı (2022) tarafından yapılan çalışmada Antalya, Konya, Isparta) ve ilçelerden (Kulu, şarkikaraaa, Atabey) farklı habitatlara ait ortamlardan aldığı 28 toprak örneğinden 19 bakteri izolatu gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen 19 bakteri arasında KK2 kodlu *Myxococcus* sp. en yüksek amilaz aktiviteye sahip olduğu belirlenmişlerdir.

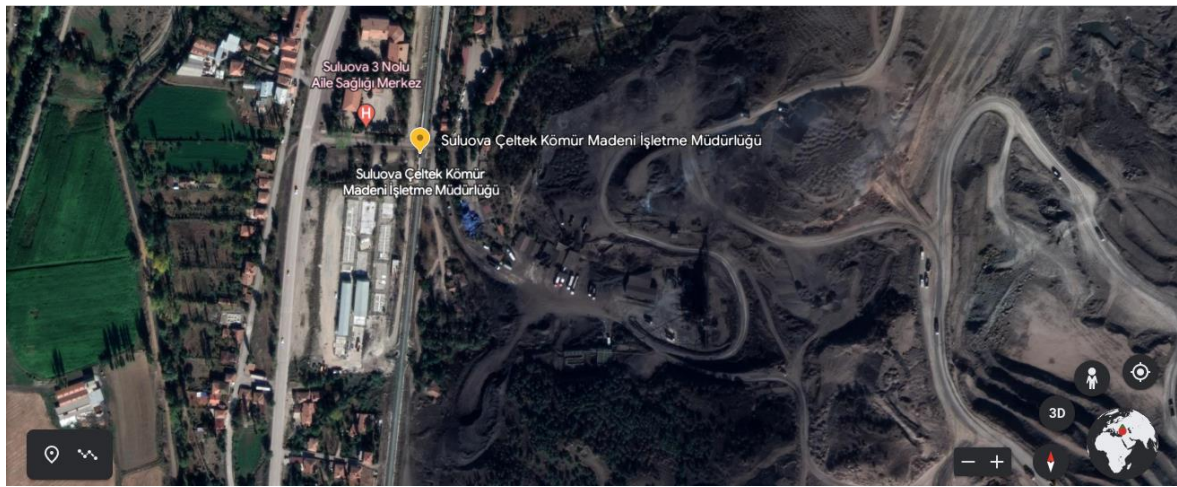
Taşkın ve alan (2022) yaptıkları çalışmada topraktan izole ettikleri bakterilerin 9 tanesinin proteaz,8 tanesinin lipaz,5 tanesinin selülaz ve 2 tanesinin pektinaz aktiviteye sahip olduğu tespit etmiştir.Ayrıca izolatlar arasınaki 7 izolat ise siderofor ürettiğini tespit etmiştir.Amilaz ve ksilinaz aktivitesi gösteren izolat ise tespit etmemişlerdir.

Karakaş ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, *Alyssum pinifolium* (Nyar, T.R. Dudley) bitki rizosfer kısmından izole ettikleri bakterilerin bitki büyüme teşvik edici potansiyelleri araştırılmıştır. İzole ettikleri 21 izolatın 16S rDNA analizi ile yapılan tanımlamalarında izolatlar *Bacillus*, *Priestia* ve *Brachybacterium* cinslerine ait olduğunu tespit etmişlerdir. İzolatların *in vitro* şartlarda indol-3-asetik asit (IAA), azot fikse etme, fosfor zme yetenekleri ve siderofor üretme kapasiteleri belirlenmiştir. İzolatların tümünün fosfor zme özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bakteri izolatların fosfor zme değerlerinin 2.047 $\mu\text{g/mL}$ - 2.600 $\mu\text{g/mL}$ arasında değiştiği tespit edilmiş olup en yüksek değer *Bacillus toyonensis* NMCC-157'ten elde edilmiştir. İzolatların arasında azot fiksasyon özelliğine sahip izolat tespit edilememiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışmada, Fosfor çözen bakterilerin izolasyonu için Amasya ili Suluova İlçesi Çeltekkömür madeni atıkları üzerinde yetişen bazı bitkilerin kök bölgesinden Dr. Öğr. Üyesi Veli ÇELİKTAŞ tarafından alınan toprak örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan bölgenin görüntüsü ise Resim 3.1’de verilmiştir.



Resim 3.1. Suluova ilçesi çeltekkömür madeni alanının görünümü

3.2. Yöntem

3.2.1. Toprak örneklerinin hazırlanması ve fosfor çözücü bakterilerin izolasyonu

Fosfat çözen bakterilerin izolasyonu, 2022 yılında Suluova İlçesi Çeltekkömür madeni atık alanında yetişen bazı bitkilerin rizosfer bölgesinden alınan toprak örneklerinden, Bektaş (2021) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Laboratuvara getirilen bitkilerin rizosfer kısmındaki yumuşak toprak bitkiden ayrılarak 12 adet toprak örneği bakteri izolasyon işlemi için havanda dövülüp ezilmiş ve 2 mm çaplı eleklerden elenmiştir. İzolasyon işlemi için her bir toprak örneğinden 5 g alınarak 95 ml fizyolojik tuzlu su (% 0.85 NaCl) içerisinde 60 dak. 125 dev dak⁻¹’da çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Resim 3.2.)



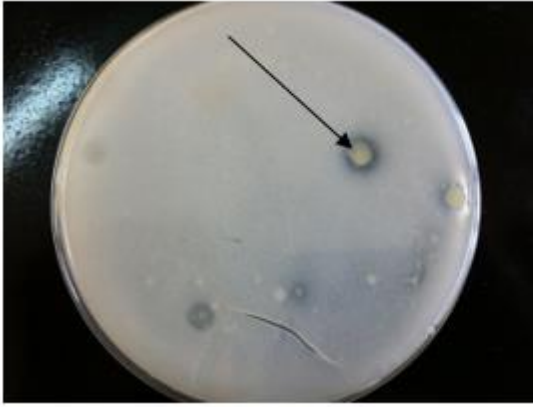
Resim 3.2. Rizosfer toprak örneklerinin bakteri izolasyonuna hazırlanması

Karışımdan 1 ml alınıp içerisinde 9 ml fizyolojik tuzlu su bulunan 12 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Tüp karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra bu şekilde 10 katlık dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Beşinci dilüsyon serilerinden 100 μ l alınarak, P çözen bakterilerin belirlenmesi için kullanılan ve seçici bir besiyeri olan trikalsiyum fosfat(TCP) içeren NBRIP besi ortamına Resim 3.3'de görüldüğü gibi ekim yapılmıştır (Nautiyal ve diğerleri, 2000).



Resim 3.3. Fosfor çözen bakterilerin belirlenmesi için dilüsyon örneklerinden ekim işleminin yapılması

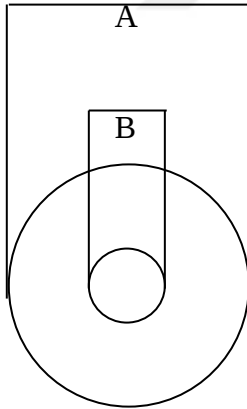
Ekim yapılan petri kaplarında bakteri gelişimini sağlamak için petriler 27°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Besi ortamında gelişen ve etrafında şeffaf zon oluşan bakteriler fosfor çözen bakteri olarak kaydedilmiştir. Bu şekilde morfolojik olarak birbirinden farklı özellik gösteren 14 bakteri kolonisi seçilerek Nutrient Agar besi ortamında çizgi, ekim yapılmıştır(Resim 3.4). Safılaştırılan izolatlar %30 gliserol -20 C saklanmıştır.



Resim 3.4. Fosfor çözen bakterilerin belirlenmesi ve saflaştırılması

3.2.2. Bakterilerin fosfor çözme indekslerinin belirlenmesi

Seçilen bakterilerin fosfor çözme indeksleri NBRIP besi ortamına üç tekrarlı nokta ekimi yapılarak hesaplanmıştır. Fosfor çözme indeksinin belirlenmesinde kullanılan yöntem Şekil 3.1'de verilmiştir. Bu yöntem aynı zamanda diğer biyokimyasal özelliklerin belirlenmesinde de kullanılmıştır.



$$\text{Fosfor Çözme İndeksi} = A/B$$

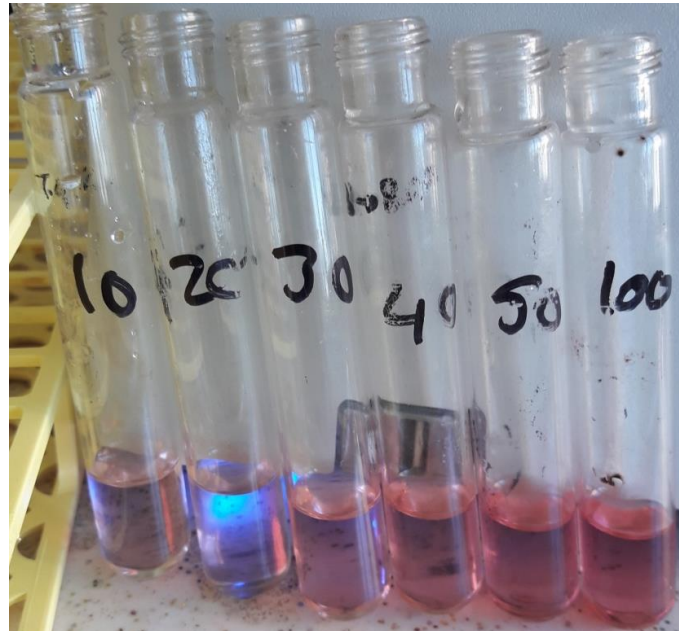
A: Şeffaf zon çapı

B: Bakteri kolonisinin çapı

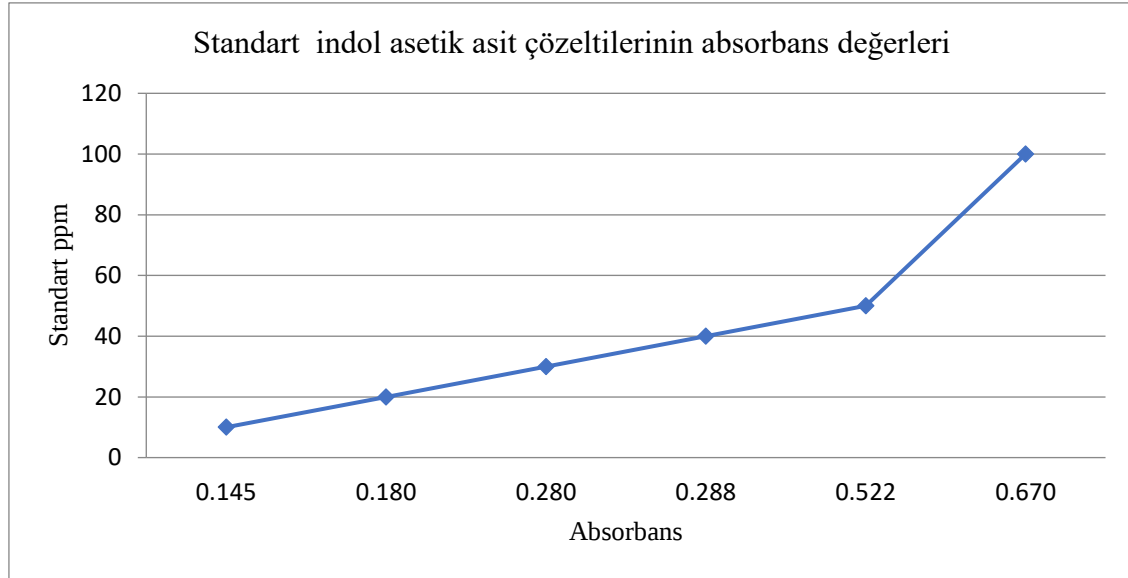
Şekil 3.1. NBRIP besi ortamında bakteri izolatlarının fosfor çözme indeksinin hesaplanmasında kullanılan yöntem (Johri ve diğerleri, 1999)

3.2.3.Bakterilerin İndol asetik asit üretme potansiyellerinin belirlenmesi

Fosfor çözdüğü belirlenen bakterilerin indol asetik asit üretme potansiyelleri L-triptofan (L-TRP) varlığında, Akbari ve ark. (2007) tarafından geliştirilen yönteme göre yapılmıştır. 100 ml'lik erlenler içerisine hazırlanan 50 ml Nutrient Broth(NB) besiyeri otoklav yapılarak, üzerine 5 mL L-TRP (% 0.05) eklenmiştir. Hazırlanan ortama bakteri izolatlarının OD 600nm: 0.1 ayarlanmış yoğunluktaki süspansiyonlarından 100 µL ekim yapılmış ve 27C⁰'de, 120 rpm'de 10 gün inkübe edilmiştir. Süre sonuna sıvı kültür 1200 rpm de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatanttan 3 mL alınarak bir tüpe aktarılmış ve üzerlerine 40 µl fosforik asit eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 2 mL Salkowski ayıracı (2 mL 0.5 M FeCl₃ + 98 mL %35'lik HClO₄) eklenmiş ve 30 dk .renk değişimi için beklenilmiştir. Süre sonunda her bir bakteri izolatının inoküle edildiği tüpte meydana gelen renk yoğunluğu spektrofotometrede 600 nm'de okunarak absorbans değerleri belirlenmiştir(Akköprü, 2012). Elde edilen absorbans değerlerini µg/mL'ye dönüştürmek için 10'dan 100'ye kadar farklı ppm düzeylerinde standart IAA süspansiyonu hazırlanarak absorbans ölçümleri yapılmıştır (Resim 3.5). Elde edilen absorbans değerleri standart absorbans değerleri ile kıyaslanarak, oluşturulan kurveye göre izolatların IAA üretimi hesaplanmıştır (Şekil 3.2).



Resim 3.5. Standart indol asetik asit çözeltilerinin oluşturulması



Şekil 3.2. Farklı ppm değerindeki standart indol asetik asit çözeltilerinin absorbans değerleri

3.2.4. Bakterilerin Siderofor üretim potansiyelinin belirlenmesi

Siderefor aktivitesi, Blue-CAS Agar metodunun uyarlanması ile belirlenmiştir (Louden ve diğerleri, 2011). Blue-CAS Agar besiyeri:

A. CAS solüsyonu:

a) 50 mL steril distile su (ddH₂O) içinde, 0.06 g CAS (Fluka Chemicals) çözülmüştür.

b) 10 mL (10 mM) HCl içinde, 0.0027 g FeCl₃-6H₂O çözülmüştür.

c) 40 mL ddH₂O içinde, 0.073 g HDTMA çözülmüştür.

-9 mL solüsyonu a solüsyonu b solüsyonu ile karıştırılarak üzerine c solüsyonu ilave edilmiştir. Karışım otoklav yapıldıktan sonra kapta saklanmıştır.

B. Minimal tuz ortamı (MM9):

500 ml ddH₂O içinde, 15 g KH₂PO₄; 25 g NaCl ve 50 g NH₄Cl çözülmüştür. % 20'lik glikoz çözeltisi hazırlamak için ise 100 mL steril distile su içinde 20 g glikoz çözündürülmüş filtre ile sterilize edilmiştir.

C. CAS agar'ın hazırlanması:

- a) 750 mL ddH₂O'ya, 100 mL MM9 tuz çözeltisi eklenmiştir.
- b) Karışıma 32.24 g piperazin-N, N'-bis (2-etansülfonik asit) (PIPES) eklenmiştir. NaOH ile pH 6'ya ayarlanıp karıştırılırken yavaşça PIPES eklenmiştir. PIPES çözündükçe düşen pH dengelenmiş ve 6.8'e ayarlanmıştır.
- c) 15 g agar eklenmiş ve otoklav edilmiştir.
- d) 50°C'ye soğutulmuş MM9/PIPES karışımına, 30 mL steril casamino asit çözeltisi (3 g casamino asit 27 mL steril ddH₂O ve filtre ile sterilize edilmiştir) ve 10 mL steril %20 glikoz çözeltisi ilave edilmiştir) cam duvar boyunca yavaşça 100 mL CAS solüsyon (A) eklenmiş ve karıştırılarak aseptik olarak petri kaplarına dökülmüştür.

Bakterilerin 24 saatlik saf kültürleri Hazırlanan mavi renkli CAS agar besiyerine birbirine eşit uzaklıkta olacak şekilde üç noktaya ekilmiş, 7 gün süreyle 27 C⁰'de inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri izolatlarının koloni çevresinde oluşan sarı zon çapının koloni çapına oranlanması ile her bir izolatın siderofor üretme indeksi hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere göre bakteriler izolatların siderofor üretme seviyesi değerlendirilmiştir.

3.2.5.Bakterilerin bazı enzimatik özelliklerinin belirlenmesi

Proteaz Enzim Aktivitesi: Fosfor çözen bakterileri izolatlarının proteaz enzim üretme potansiyelleri %2 oranında Skim Milk içeren Laura Bertani Agar (SMLBA) besi ortamı kullanılarak belirlenmiştir (Perneel ve diğerleri, 2007). Bu amaçla izolatlar steril kürdan ile SMLBA besi yeri üzerine nokta ekimi yöntemi ile inokule edilerek 26°C'de 48 saat süre inkübe edilmiştir. Her bir bakteri için proteolitik aktivite indeksi (Pro-indeks), ortaya çıkan şeffaf zon çapı (zç) ile bakteri koloni çapının (kç) ölçülmesi (mm) ve birbirine oranlanması ile belirlenmiştir (El-Sayed ve diğerleri, 2014). Her izolat 3 tekerrürlü olarak şekilde, bir petriye 3 farklı noktaya ekilmiş ve ölçümler sonucu o izolata ait proteaz enzim indeks değerleri hesaplanmıştır.

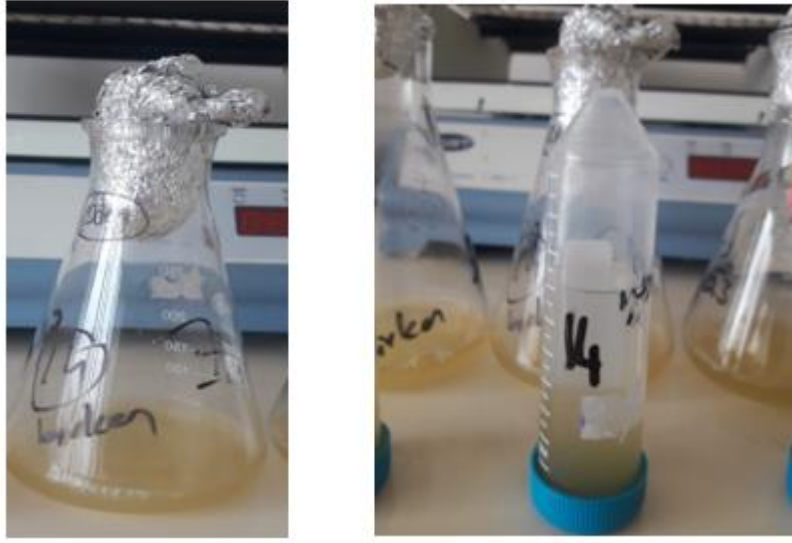
Kitinaz Enzim Aktivitesi: Mikroorganizmaların kitinaz enzim aktivitesi %1 kolloidal kitin ihtiva eden besiyeri (g/L: Na₂HPO₄, 6; KH₂PO₄, 3; NH₄Cl, 1; NaCl, 0.5; maya ekstraktı, 0.05; agar, 15) kullanılarak belirlenmiştir.

Petrilere bakteriler nokta ekim yapılarak ekilmiştir ve 10 gün 30 °C'de inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonucunda her bir bakteri için kitinaz enzim aktivite indeksi, ortaya çıkan şeffaf zon çapı (zç) ile bakteri koloni çapının (kç) ölçülmesi (mm) ve değerlerin birbirine oranlanması ile hesaplanmıştır (Kuddus ve Ahmad, 2013). Deneme üç tekrarlı bir şekilde yapılmıştır.

Amilaz Enzim Aktivitesi: Czapek-Dox Agar (CDA) besi ortamı, bakterilerin amilaz aktivitenin taranması için kullanılmıştır. Besiyeri İçerdiği ortam (g/L): ham nişasta 20; NaNO₃ 1; K₂HPO₄ 1; MgSO₄ 0.5; FeSO₄ 0.01; agar 15 g olacak şekilde besi ortamının pH'ı 5.0'a ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamı 121 °C'de 15 dakika sterilize edilecektir. Nişasta 1 saat 140 °C'de bir fırında kuru ısıtma ile ayrı sterilize edilecek ve sterilize ortama aseptik olarak eklenecektir. Besi ortamına bakteriler nokta ekim şeklinde inokule edilecektir. Petriler 5 gün 30 °C'de inkübe edilecek ve süre sonunda petriler %1 lik iodeine solusyonu ile 5 dakika yıkanacaktır. Bakterilerin çevrelerinde oluşan zonlar bakteri çapları ile oranlanması ile bakterilerin amilaz aktivite değerleri belirlenmiştir(Dowarah ve diğerleri, 2021).

3.2.6. Biyoaktif bileşiklerin belirlenmesi

Yüksek oranda Fosfor çözme aktivitesi gösteren be 14 kodlu bakteri seçilerek biyoaktif bileşikleri belirlenmiştir. Bu amaç ile seçilen bakteri 100 ml Nutrient Broth besi ortamına 10 gün boyunca çalkalayıcıda geliştirilmiştir. Gelişen bakterilerin besiyerinden 25 ml alınarak aynı oranda etil asetat ile karıştırılmıştır(Resim 3.6). Karışım oda sıcaklığında 25 dak. bekletilerek biyoaktif bileşiklerin üst fazda bulunan etil asetata geçmesi sağlanmıştır. Etil asetat bölümü besi ortamının üst fazından alınarak 40 °C de evaporatörde buharlaştırılmıştır. Kalan tortu kısım kısım 2 ml Etanolde çözülerek Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında hizmet alımı yolu ile GS-MS de analiz edilmiştir (Dowarah ve diğerleri, 2021). Sonuçlar Çizelge halinde sunulmuştur.



Resim 3.6. Seçilen bakteri izolatının Nutrient Broth besi yerinde geliştirilmesi ve Etil Asetat ile karıştırılması(üst faz).

3.2.7.MALDI-TOF MS cihazı ile mikroorganizma türlerinin tanılanması

Yüksek miktarda fosfor çözen 14 adet bakteri izolatının tanısı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) mikroorganizma tanımlama cihazı kullanılarak yapılmıştır.

MALDI-TOF MS son yıllarda mikrobiyolojik tanılamada hızlı ve güvenilir olan matriks yardımlı lazer desorpsiyoniyonizasyon uçuş süreli kütle spektroskopisi cihazıdır (Ahmad ve diğerleri, 2012;Pavlovic ve diğerleri, 2012). Analiz sonucunda, yüksek olasılıklı tür teşhisi; 2.000-3.000 (yeşil renk), cins düzeyinde ve muhtemel tür düzeyinde teşhis; 1.700-1.999 (sarı renk) arasındaki skala değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir(Uysal ve diğerleri, 2018).

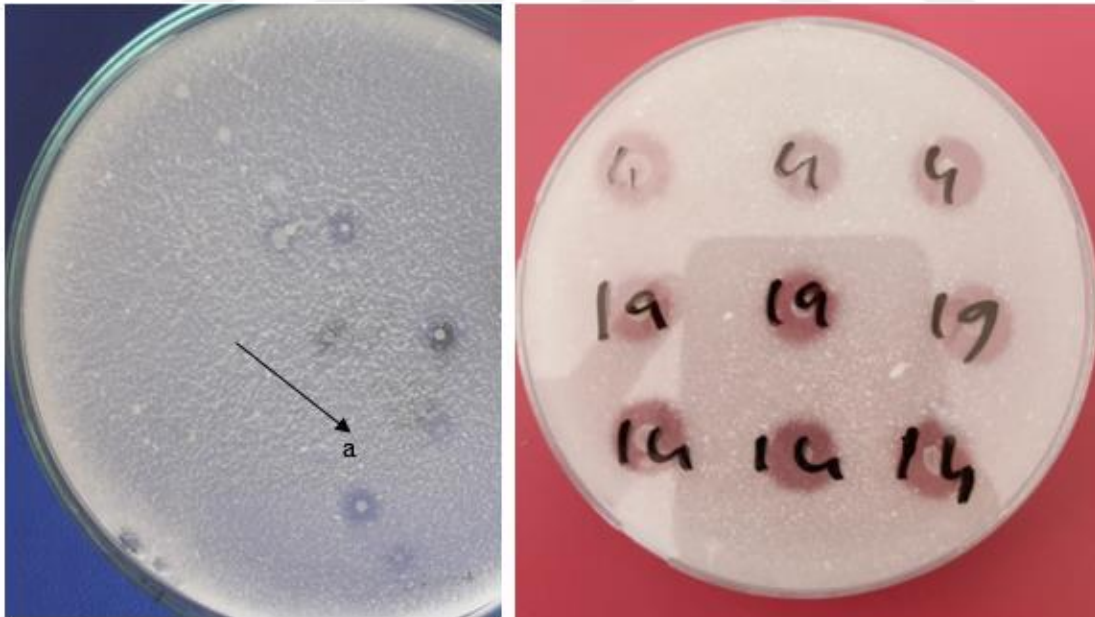
4. BULGULAR

4.1.Toprak Örnekleri

Yapılan arazi incelemesinde çalışılan bölgede yetişen 4 farklı bitkinin kök kısmından 3 tekerrürlü olacak şekilde 12 toprak örneği alınmıştır.

4.2.Fosfor Çözücü Bakterilerin İzolasyonu ve Fosfor Çözme İndekslerinin Belirlenmesi

Bitkilerin rizosfer topraklardan yapılan bakteri izolasyon çalışmasında NBRIP besi ortamında fosfor çözme belirtisi olarak zon oluşturan morfolojik olarak birbirinden farklı 14 bakteri izolasyonu yapılmıştır (Resim 4.1). İzolatların fosfor çözme indekslerinin belirlenmesi için tekrar NBRIP besiyerine yapılan nokta ekiminde en yüksek fosfor çözme indeksi 3.21 ile be14 izolatı tespit edilmiştir. İzolatlar arasında en düşük fosfor çözme indeksi 1.2 ile be2 ve be9 izolatları belirlenmiştir. Tüm izolatların fosfor çözme indeksleri ve istatistik olarak karşılaştırılmaları ise Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Resim 4.1. Fosfor çözen bakterilerin NBRIP besi ortamında oluşturduğu zonlar(a) ve fosfor çözme indekslerinin belirlenmesinde oluşan zonlar(b)

Çizelge 4.1. Bakteri izolatlarının fosfor çözme indeksleri ve istatistiki olarak karşılaştırılması

Bakteri İzolatları	Fosfor Çözme İndeksi± Standart hata	Bakteri İzolatları	Fosfor Çözme İndeksi± Standart hata
be1	1,2±0,05 ^d	be9	1,24±0,1 ^d
be2	1,23±0,03 ^d	be10	2,7±0,7 ^{abc}
be3	2,5±0,25 ^{abc}	be12	3,03±0,37 ^{ab}
be4	2,7±0,42 ^{abc}	be14	3,21±0,24 ^a
be5	2,03±0,14 ^{bcd}	be15	3,1±0,58 ^a
be6	1,46±0,06 ^d	be19	2,58±0,08 ^{abc}
be7	1,33±0,03 ^d	be24	1,9±0,05 ^{cd}

*Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki olarak bir fark yoktur($p \leq 0.5$)

Fosfor çözen bakterilerin belirlenmesinde kullanılan Katı NBRIP besiyeri bakterilerin fosfor çözme değerlerinin doğru bir şekilde belirlenmesi amacı ile kullanılan bir ortamdır. Toprak bakterilerin fosfor çözme indekslerinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada Bektaş(2021), farklı bitkilerin kök bölgesinden 117 bakteri izolasyonu yapmıştır ve fosfor çözen bakterilerin seçiminde ise katı NBRIP besi ortamı kullanılmıştır. İzolatlar içerisinde 15 tanesi NBRIP besi ortamında fosforu çözdüğünü belirten zon gözlemlemiştir. Çalışmamızda fosfor çözen bakterilerin hızlı bir şekilde belirlenmesinde doğrudan katı NBRIP besiyeri kullanılmış ve çalışmaya benzer şekilde besiyerinde zon oluşturan 14 bakteri izolatu seçilerek bu bakteriler fosfor çözen bakteri olarak değerlendirilmiştir. İzolatlar arasındaki be14 kodlu izolat 3.21 fosfor çözme indeksi ile en yüksek oranda fosfor çözdüğü belirlenmiştir. İzolatlar arasındaki be4, be10, be12, be15 ve be19 kodlu izolatlar ise be14 kodlu izolattan düşük miktarda fosfor çözme indeksi oluşturmuştur fakat aradaki fark istatistiki olarak önemli olmadığı görülmüştür($p \leq 0.5$). En düşük miktarda fosfor çözme indeksi ise b1 kolu izolatta hesaplanmıştır. Benzer bir şekilde yapılan çalışmada Varhan ve Bozkurt(2021), 12 epifitik bakterinin fosfor çözme indekslerini NBRIP besi ortamı kullanarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar bakteri izolatlarının fosfor çözme indekslerini 1.03-4.44 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda yüksek miktarda fosfor çözen be14 izolatının ürettiği organik bileşikler ise Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. be14 kolu bakteri izolatının GC-MC de belirlenen organik bileşikleri

Pik No	Alıkonma Zamanı	% Oran	Bileşen
1	2,029	0.10	Acetic acid
2	2,388	7.83	n-Hexane
3	3,124	4.66	Acetic acid
4	3,296	8.61	Acetic acid
5	3,672	0.97	Acetic acid
6	3,797	3.71	2-Butanone
7	4,047	5.80	Hexane
8	5,580	2.53	Hexane
9	5,690	1.26	p-Xylene
10	5,893	0.51	Benzene
11	6,050	1.19	Benzene
12	6,535	0.53	2-Undecene
13	7,051	0.59	Benzene
14	7,114	0.39	Benzene
15	7,223	0.45	Benzene
16	7,380	1.16	Allyl(ethoxy)dimethylsilane
17	7,646	2.24	Decane
18	7,896	0.31	2-Hydroxyethyl butyl sulfide
19	8,021	0.53	Butyric Acid-2
20	8,100	0.72	Butyric Acid-2
21	8,209	0.45	1,2,3-Propanetriol
22	8,272	0.32	1,2,3-Propanetriol
23	8,319	0.30	1,2,3-Propanetriol
24	8,522	1.19	1,2,3-Propanetriol
25	8,600	1.59	1,2,3-Propanetriol
26	8,788	0.91	1-Undecanol
27	8,960	1.62	1,2,3-Propanetriol
28	9,070	1.12	1,2,3-Propanetriol
29	9,226	1.97	Ribitol
30	9,414	0.27	1,2,3-Propanetriol
31	9,539	1.15	Benzeneethanol
32	9,743	0.28	Sulfide
33	9,993	0.20	9-Benzeneselenylnon
34	10,118	0.23	Propanoic acid
35	10,290	0.15	2,2-Bis(butoxy) propionic acid
36	10,603	0.28	2-Dodecene
37	10,728	0.57	Dodecane
38	10,869	0.26	1-Diisopropylsilyloxybutane
39	11,385	0.03	Ethyl Acetate
40	11,542	0.04	Acetic acid
41	11,589	0.04	ethyl N-methylcarbamate
42	11,651	0.06	Acetic acid
43	11,902	0.04	Octadecane
44	12,152	0.11	Tridecane
45	12,277	0.05	Acetic acid

Çizelge 4.2 (Devamı)

Pik No	Alıkonma Zamanı	% Oran	Bileşen
46	12,496	0,14	4-chlorophenylthio
47	12,575	0,07	Octane
48	12,809	0,02	1-Hexene
49	12,888	0,06	Oxalic acid
50	13,013	0,05	Xylitol
51	13,122	0,06	Acetic acid
52	13,263	0,05	Propanoic acid
53	13,404	0,41	1-Tetradecene
54	13,513	1,79	Tetradecane
55	13,654	0,03	Tridecane
56	13,811	0,08	Benzoic acid
57	14,186	0,06	tert-Hexadecanethiol
58	14,265	0,02	Heneicosane
59	14,311	0,07	Nonadecane
60	14,405	0,03	Decane
61	14,499	0,07	tert-Hexadecanethiol
62	14,640	0,20	2,6-di-t-butyl
63	14,750	0,31	Eicosane
64	14,875	0,08	Triacontane
65	14,984	0,16	2,2-Dimethyl
66	15,031	0,09	Phenol
67	15,219	0,10	Hexadecane
68	15,297	0,10	Octadecane
69	15,344	0,10	Octadecane
70	15,422	0,23	Octadecane
71	15,563	0,10	Triacontane
72	15,641	0,17	2-Bromo dodecane
73	15,829	0,06	1-Decanol
74	15,907	0,76	Cetene
75	15,986	2,12	Hexadecane
76	16,173	0,13	Ethanol
77	16,424	0,11	Tridecane
78	16,565	0,34	Tridecane
79	16,705	0,35	Cyclohexane
80	16,862	0,17	Eicosane
81	16,909	0,13	Eicosane
82	17,018	0,26	Pentadecane
83	17,112	0,31	Pentadecane
84	17,206	0,18	Heptacosane
85	17,269	0,26	Eicosane
86	17,394	0,42	Eicosane
87	17,535	0,30	2,6-Diisopropylnaphthalene
88	17,613	0,35	Pentadecane
89	17,707	0,30	Tetradecane
90	17,738	0,23	Eicosane
91	17,848	0,27	Tridecane
92	17,910	0,33	Heptadecane

Çizelge 4.2 (Devamı)

Pik No	Alıkonma Zamanı	% Oran	Bileşen
93	18,004	0,18	Allyl Cyclohexyl carbonate
94	18,145	0,46	1-Octadecene
95	18,223	1,54	Octadecane
96	18,348	0,36	1-Octadecanol
97	18,489	0,18	2-Octadecyloxy
98	18,583	0,73	2-Hydroxy
99	18,896	0,51	Cyclohexadecane
100	19,021	0,22	1,2-Benzenedicarboxylic Acid
101	19,084	0,16	1-Ethyl
102	19,178	0,70	Benzoic Acid
103	19,444	0,21	Eicosane
104	19,569	0,93	Octahydro
105	19,647	0,22	Nonadecane
106	19,757	1,67	Nonadecane
107	19,960	0,76	Eicosane
108	20,195	1,25	Hexadecanoic Acid
109	20,242	0,86	Eicosane
110	20,336	0,20	Allyl Cyclohexyl Carbonate
111	20,414	0,28	1-Nonadecene
112	20,476	0,24	2-Octadecyloxy
113	20,664	0,27	Eicosane
114	20,868	0,40	1-Octadecene
115	21,055	0,19	Nonadecane
116	21,165	0,17	Nonadecane
117	21,243	0,19	Nonadecane
118	21,306	0,24	Eicosane
119	21,572	0,72	Heneicosane
120	21,650	0,33	Docosane
121	21,822	1,04	N-Propyl
122	21,932	0,18	Tricosane
123	22,041	2,09	Octadecanoic Acid
124	22,182	0,21	Octadecane
125	22,291	0,44	Eicosane
126	22,417	0,23	14-.Beta.-H-Pregna
127	22,745	0,26	14-.Beta.-H-Pregna
128	22,823	0,22	14-.Beta.-H-Pregna
129	22,902	0,25	14-.Beta.-H-Pregna
130	23,043	0,45	1-[4-(N,N-Dimethylamino)
131	23,136	0,21	Docosane
132	23,215	0,26	Docosane
133	23,418	0,28	Eicosane
134	23,481	0,22	Docosane
135	23,575	0,52	Eicosane
136	23,747	0,25	Methyl Dehydroabietate
137	23,809	0,24	Heneicosane
138	24,138	0,89	Triacontane
139	24,294	0,21	Tricosane

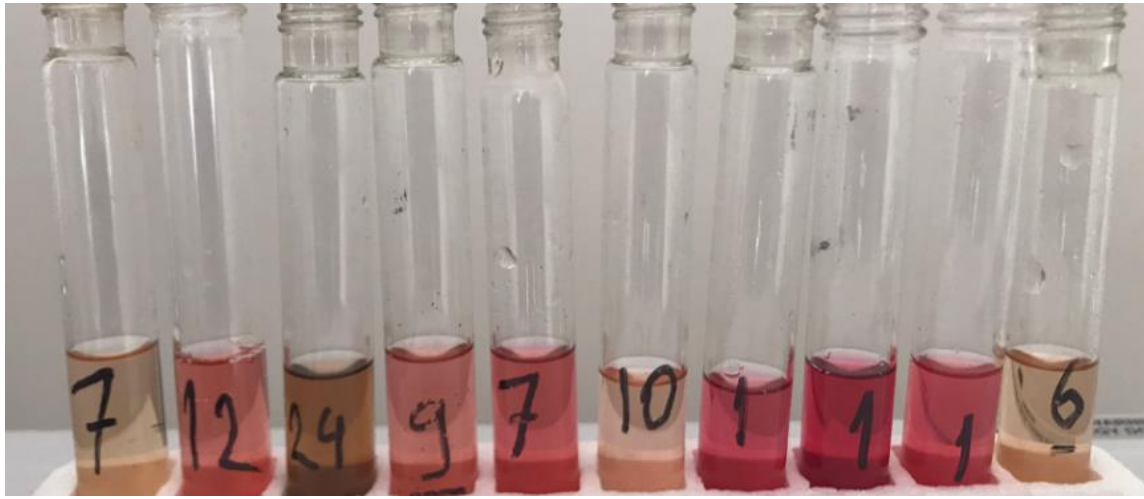
Çizelge 4.2 (Devamı)

Pik No	Alıkonma Zamanı	% Oran	Bileşen
140	24,466	0,41	Tricosane
141	25,108	0,15	Tricosane
142	25,202	0,36	Hexadecane
143	25,530	0,76	Tricosane
144	25,734	0,78	Hexadecanoic Acid
145	26,000	0,34	Eicosane
146	26,328	1,02	Bis(2-Ethylhexyl)
147	27,142	0,59	Hexacosane
148	27,784	0,38	14-.Beta.-H-Pregna
149	28,316	0,19	14-.Beta.-H-Pregna
150	28,848	0,22	14-.Beta.-H-Pregna
151	29,254	0,28	14-.Beta.-H-Pregna
152	30,068	0,83	2-Octadecyloxy
153	30,240	0,26	Methoxyacetic Acid
154	30,491	0,41	2-Octadecyloxy
155	31,930	0,26	14-.Beta.-H-Pregna
156	32,885	0,57	Squalene
157	35,404	0,13	Eicosane
158	36,671	0,07	14-.Beta.-H-Pregna

GC-MS analizinde 158 tane pik noktası tespit edilmiştir. En düşük pik noktası 48 ve 58 nolu pikler ve % değeri %0,02 oranında “1-Hexene” ve “Heneicosane” ürettiği görülmüştür. En yüksek değer ise 4 nolu pik olan %8,61 oranında “Asetik asit” ürettiği görülmüştür. GC-MS analizinde oluşan tüm pikler ise Şekil 4.1’te verilmiştir.

4.3. İzolatların İndol Asetik Asit Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatların indol asetik asit üretme potansiyellerinin belirlendiği çalışmada tüm bakterilerin farklı miktarda İAA ürettiği saptanmıştır (Resim 4.2). İzolatlar arasında be1 kodlu izolat diğer izolatlardan istatistiki olarak farklı bir şekilde 796,16 ppm ile en yüksek miktarda İAA ürettiği tespit edilmiştir ($p \leq 0.5$). En düşük miktarda ise 140,91 ppm ile be15 izolatı İAA üretmiştir. Tüm izolatların İAA üretme potansiyelleri ve istatistiki olarak kendi aralarında karşılaştırılmaları ise Çizelge 4.3’de verilmiştir.



Resim 4.2. Bakterilerin İAA üretme potansiyellerine bağlı renk değişimi

Çizelge 4.3. Bakteri izolatlarının İAA üretim miktarları ve istatistiki olarak karşılaştırılması

Bakteri İzolatları	İAA üretme miktarları(ppm) $\pm$ Standart hata	Bakteri İzolatları	İAA üretme miktarları(ppm) $\pm$ Standart hata
be1	796,16 $\pm$ 32,46 ^a	be9	277,40 $\pm$ 22,80 ^b
be2	244,03 $\pm$ 11,65 ^{bcd}	be10	294,70 $\pm$ 49,74 ^b
be3	160,26 $\pm$ 23,55 ^{cd}	be12	307,20 $\pm$ 50,48 ^b
be4	301,96 $\pm$ 12,02 ^b	be14	247,79 $\pm$ 40,64 ^{bc}
be5	336,60 $\pm$ 44,96 ^b	be15	140,91 $\pm$ 26,58 ^d
be6	151,72 $\pm$ 20,02 ^{cd}	be19	325,29 $\pm$ 27,86 ^b
be7	172,46 $\pm$ 32,90 ^{cd}	be24	274,46 $\pm$ 66,23 ^b

*Deneme 3 tekrerrülü olacak şekilde yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki olarak bir fark yoktur ($p \leq 0.5$)

İndol asetik asitler, bitki büyüme düzenleyicileri bitkide doğal olarak sentezlenen çok az miktarlarda bile etkisini gösterebilen organik moleküllerdir. Sentezlandıkları yerden bitkinin diğer kısımlarına taşınabilmekte ve taşındığı yerde fizyolojik olayları kontrol edebilmektedirler (Öktüren ve Sönmez, 2005). Doğal yollarla oluşan ve bitkideki fonksiyonları en iyi bilinen ve en fazla miktarda bulunan oksin indol asetik asittir (İAA)(Wang et al., 2007). İndol asetik asit strese karşı bitkinin daha dayanıklı olmasını sağlamakta, bitki büyüme ve gelişmesini teşvik etmektedir (Yang ve diğerleri, 2011).

Malik ve Sindhu (2011), yaptıkları çalışmada topraktan izole ettikleri 40 bakterinin IAA üretim özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmalarında bakteri izolatları 2 ve 4 gün inkübasyon edilerek IAA değerleri belirlenmiştir. Süre sonunda ile IAA üretim potansiyeli ile inkübasyon süresi arasında doğru orantı olduğu belirlenmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise Özdal ve ark. (2017) bitki köklerinden izole ettikleri 8 farklı bakteri arasında en yüksek IAA miktarının $75 \mu\text{g mL}^{-1}$ olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda IAA sonuçlarının yapılan bu çalışmaya kıyasla daha yüksek bulunmasının nedeninin 10 günlük inkübasyon süresi ve bakteri türünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Karakaş ve ark. (2022), bitki büyümesini teşvik edici rihizobakterilerin indol asetik asit üretme potansiyellerini belirlemiştir. Çalışmalarında IAA üretim yeteneği $278.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ppm en yüksek IAA üretimi *Brachy bacterium nesterenkovii* NY-3 olduğunu belirlemişlerdir. Literatürde görüldüğü gibi bakteri türleri ve inkübasyon süreleri bakterilerin İAA üretme miktarı üzerine etkili olmaktadır.

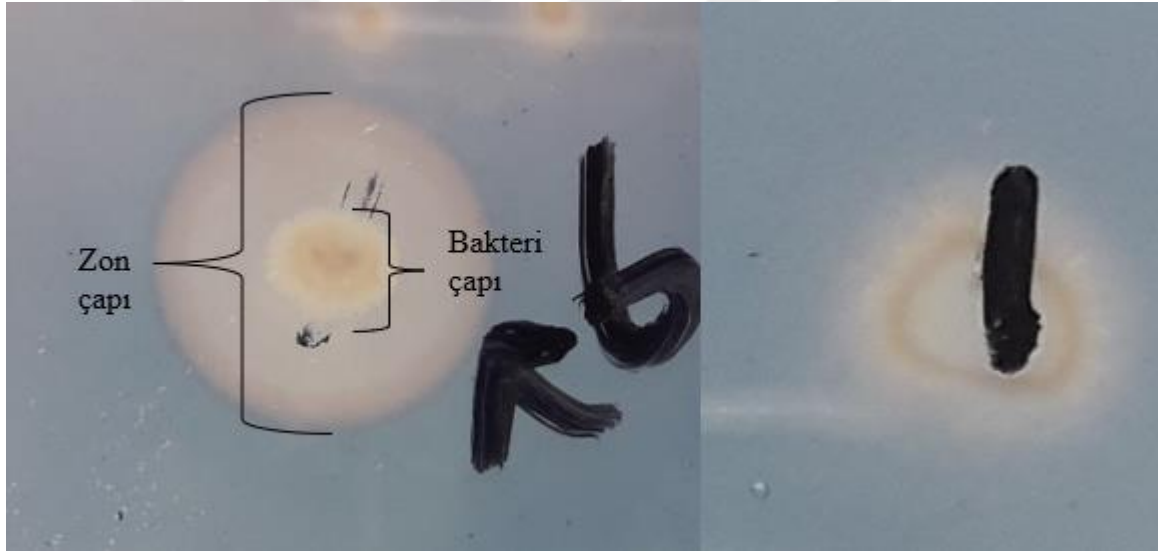
4.4.Bakterilerin Siderofor Üretme İndekslerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının siderofor üretme potansiyelinin belirlenmesi çalışmasına Blue-CAS Agar besi ortamı kullanılmıştır. Yapılan değerlendirme de tüm izolatların siderofor üretme özelliği olarak, besi ortamına zon oluşturma özelliğine sahip olukları belirlenmiştir. İzolatların siderofor üretme değerleri ise 1.1-3.3 arasına değiştiği tespit edilmiştir. En yüksek miktarda siderofor üreten bakteri izolatı ise istatistiki olarak diğer izolatlardan farklı olarak 3.3 ile be6 kolu bakteri izolatı tespit edilmiştir($p \leq 0.5$) (Resim 4.3). Tüm bakterilerin besi ortamında oluşturdukları zon çaplarının bakteri çapına oranlanması ile hesaplanan siderofor üretme indeksleri ve istatistik olarak birbirleri ile karşılaştırılmaları ise Çizelge 4.4'da verilmiştir.

Çizelge 4.4. Bakteri izolatlarının siderofor üretme indekslerinin belirlenmesi

Bakteri İzolatları	Siderofor Üretme İndeksi±Standart hata	Bakteri İzolatları	Siderofor Üretme İndeksi±Standart hata
be1	1,1±0,05 ^f	be9	1,3±0,03 ^f
be2	1,2±0,08 ^{ef}	be10	1,8±0,1 ^{bcd}
be3	2,1±0,08 ^{bcd}	be12	1,4±0,2 ^{def}
be4	2,4±0,3 ^b	be14	2,2±0,3 ^{bc}
be5	1,6±0,3 ^{cdef}	be15	1,6±0,2 ^{cdef}
be6	3,3±0,1 ^a	be19	1,7±0,3 ^{cdef}
be7	1,2±0,1 ^{ef}	be24	1,6±0,1 ^{cdef}

*Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki olarak bir fark yoktur($p \leq 0.5$)



Resim 4.3. be6 ve be1 kodlu bakteri izolatların CAS besiyerinde gelişimi ve oluşturdukları zonlar

Karakaş ve arkadaşları (2022), yaptıkları çalışmada *Alyssum pinifolium* (Nyar, T.R. Dudley) bitki köklerinden alınan toprak örneklerinden izole ettikleri 21 bakterinin siderofor üretme potansiyellerini incelemişlerdir. Bakteri cinslerini ise *Bacillus*, *Priestia* ve *Brachybacterium* olarak belirlemişlerdir. Siderofor üretim potansiyeli olan bakterilerin zon çapları 11 mm ile 21 mm arasında ölçülmüşlerdir. Siderofor üretiminin en yüksek olduğu izolat 21 mm ile 2NB13 (*B. toyonensis* NMCC-157) olarak belirlemişlerdir. Farklı olarak yapılan diğer çalışmada; Li ve ark. (2017) topraktan izole ettikleri 3 bakteri izolatların CAS besiyerinde sırası ile 3.5, 5.2 ve 0.3 mm zon çapı oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Literatür çalışmaları incelendiğinde araştırmada kullandığımız bazı bakterilerin yapılan çalışmalara göre daha

yüksek siderofor ürettiği tespit edilirken bazıları daha düşük siderofor üretmiştir. Bunun nedeni bakteri türlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5.Bakterilerin Proteaz Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi

Fosfor çözen bakterilerin proteaz aktivitesinin de belirlendiği çalışmada izole edilen bakterilerin farklı özellikte proteaz aktivite gösterdiği saptanmıştır. İzolatlar arasında be24 kolu izolat istatistiki olarak diğer izolatlardan farklı olarak 6,6 indeks ile en yüksek miktarda proteaz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Resim 4.4) ($p \leq 0.5$). En düşük miktarda ise 1,7 indekse sahip be14 izolatı proteaz aktivite göstermiştir. İzolatlar arasındaki be1, be4., be15 ve be19 kodlu izolatlar ise proteolitik aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Tüm izolatların proteaz aktivite özellikleri ve istatistiki olarak karşılaştırmaları ise Çizelge 4.5’da verilmiştir.

Çizelge 4.5. Bakteri izolatlarının proteaz aktivite sonuçları

Bakteri İzolatları	Proteaz Aktivite İndeksi±Standart hata	Bakteri İzolatları	Proteaz Aktivite İndeksi±Standart hata
be1	0	be9	1,7±0,4 ^c
be2	2,2±0,1 ^c	be10	2,6±0,3 ^{bc}
be3	4.1±0,5 ^b	be12	2,3±0,5 ^c
be4	0	be14	1,7±0,1 ^c
be5	4.1±0,3 ^b	be15	0
be6	4.1±0,5 ^b	be19	0
be7	4.1±0,5 ^b	be24	6,6±0,9 ^a

*Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki olarak bir fark yoktur ($p \leq 0.5$)



Resim 4.4. En yüksek proteaz aktivite özelliğine sahip be24 ve proteaz aktivite özelliğine sahip olmaya be15 izolatu

Bakterilerin izolatlarının proteaz enzimi üretme potansiyelleri %2 oranında Skim Milk içeren Laura Bertani Agar (SMLBA) besi ortamı üzerinde belirlenmektedir(Perneel ve diğerleri, 2007). Yaptığımız çalışmaya benzer şekilde yapılan bir çalışmada endofit bakterilerin proteolitik aktivite indeksi (Pro-indeks), ortaya çıkan şeffaf çapı (zç) ile bakteri koloni çapının (kç) ölçülmesi (mm) ve birbirine oranlanması (Pro-indeks: zç/kç) ile belirlenmiştir(El-Sayed et al., 2014). Çoban (2020), yaptığı çalışmada 81 sucul bakteri izolatının proteaz aktivite özelliklerinin *in vitro* ortamda belirlemiştir. Yaptığımız çalışmaya benzer şekilde; besi ortamına nokta inokulasyonu ile ekilen izolatların 30°C’de 24 saat inkübasyonu sonucu oluşan proteolitik zon çapı ve mikrobiyal koloni çapı ölçülerek oranlamışlardır. Taranan izolatlar arasından 17 mm proteolitik zon çapı ve 3 mm mikrobiyal koloni çapı ile en yüksek proteolitik aktivite oranı (5.67) gösteren 6.20.3 kodlu izolatu *Microbacterium*sp. türü olarak belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmaya benzer bir şekilde yapılan farklı bir çalışmada; Özyılmaz ve Benlioğlu(2019), çilek, karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp, bakla ile yabancı otlardan yabancı turp, darıcan ve çoban çantası bitkilerinin kök bölgesinden toplam 24 adet bakteri izole etmişlerdir. İzolatların kitinaz, selüloz ve pektinaz aktivitesine sahip olmadığı, 13 izolatın proteaz, 3 izolatın fosfataz aktivitesine sahip olduğu, 20 izolatın inorganik fosfatı çözebildiği saptamışlardır. Tüm bakteriler *Pseudomonas* spp. olarak tanımlandığı çalışmada proteaz aktivite zon çapını 10 mm olarak ölçmüşlerdir.

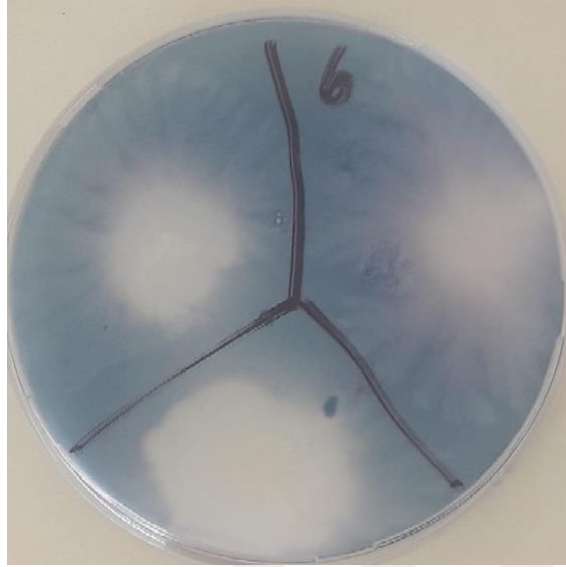
4.6.Bakterilerin Amilaz Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmamızda, rizosfer toprak örneklerinden izole edilmiş bakteri izolatlarından be2, be4, be5, be6, be10, be12 ve be4 kodlu izolatlarının %1 nişasta içeren besiyerinde amilaz aktivite gösterdiğinin belirtisi olan bir hidroliz zonu oluşumuna sebep olduğu gözlemlenmiştir. İzolatlar arasındaki be12 kodlu izolat 5,3 indeks değeri ile en yüksek miktarda amilaz ürettiği tespit edilmiştir (Resim 4.5). İzolatların gösterdiği amilaz aktivite değerleri kendi aralarında istatistiki olarak karşılaştırıldığında be12, be4 ve be5 kodlu izolatların indeks değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı, diğer izolatlara göre aradaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür. En düşük miktarda ise 1,1 indeks değeri ile be10 kodlu izolatın amilaz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer yandan be1, be3, be7, be9, be14, be15 ve be19 izolatlarının amilaz aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Tüm izolatların amilaz üretme potansiyelleri ise Çizelge 4.6'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. Bakteri izolatlarının amilaz aktivite sonuçları

Bakteri izolatları	Amilaz üretme İndeksi±Standart hata	Bakteri izolatları	Amilaz Üretme indeksi±standart hata
be1	0	be9	0
be2	3,5±0,5 ^b	be10	1,1±0,1 ^c
be3	0	be12	5,3±0,7 ^a
be4	5±0,5 ^a	be14	0
be5	4,8±0,1 ^a	be15	0
be6	3,3±10,3 ^b	be19	0
be7	0	be24	3±0,3 ^b

*Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki olarak bir fark yoktur($p \leq 0.5$)



Resim 4.5. be6 izolatının amilaz aktivitesinin besiyerindeki oluşturduğu zon

Doğan(2020), yaptığı çalışmada tahıl bitkileri rizosfer kısmından 128 endofit bakteri izole etmiştir. İzole ettiği bakterilerden 95 izolatın amilaz aktivitesi gösterdiğini % 1 nişasta içeren katı besiyerinde tespit etmiştir. İzolatlar arasında amilaz aktivitesi gösteren G68K2 kodlu izolatın 5 indeks değeriyle en yüksek değere sahip olduğunu belirlemiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde aynı besiyeri kullanılarak be12 izolatı 5,3 değeriyle en yüksek amilaz üretme indeks değerine sahip olmuştur.

Taşkın ve Önalın'ın (2022) yaptığı araştırmada, Türkiye'de Van ili içerisinde yer alan alabalık çiftliklerinden temin edilen alabalıklardan izole edilen bakteriler, selüloz, ksilanaz, pektinaz, amilaz, proteaz, lipaz hidrolitik enzimlerinin ve siderofor üretme açısından değerlendirilmiş ve test edilen izolatlardan dokuzunun proteaz, sekizinin lipaz, beşinin selüloz, ikisinin pektinaz aktivitesine sahip olduğu, ayrıca yedisinin siderofor üretme yeteneğine sahip olduğunu gösteren zonlar oluşmuştur.. Amilaz ve ksilanaz aktiviteleri hiçbir izolatta gözlemlenmemiştir. Çalışmamızda benzer bir şekilde bazı izolatlar Amilaz aktivite göstermemişlerdir.

4.7.Bakteri İzolatlarının ve Kitinaz Üretme İndekslerinin Belirlenmesi

Bakterilerin kitinaz enzim üretme bakımından değerlendirilmesinde bakterilerin farklı miktarda kitinaz aktivite gösterme potansiyellerine sahip olduğu saptanmıştır. İzolatlar

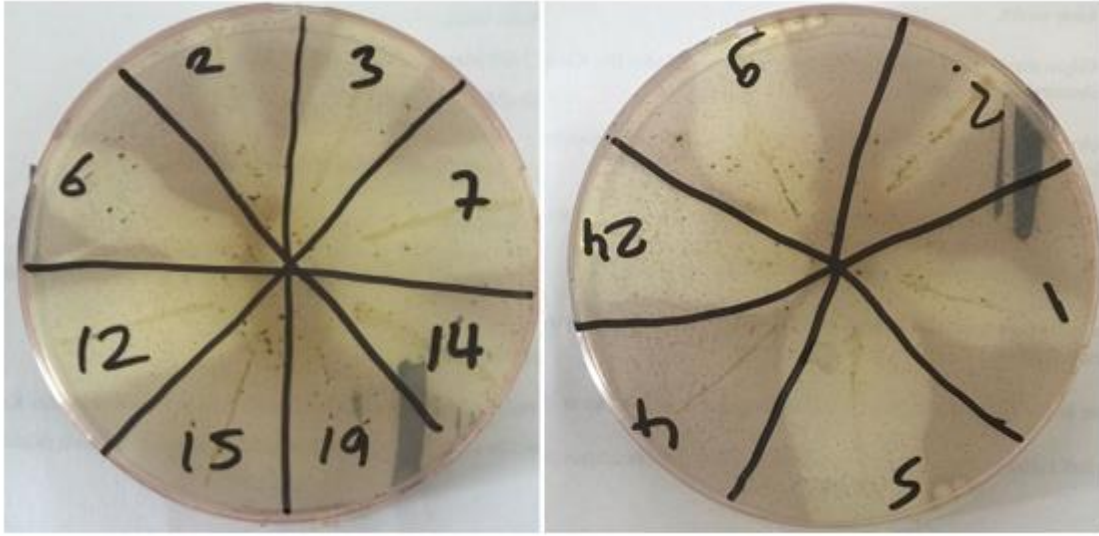
arasında be9 izolatu 2,1 indeks değeri ile en yüksek miktarda kitinaz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Resim 4.6). En düşük miktarda ise 0,6 indeks değeri ile be2 ve be10 kolu bakterilerin kitinaz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatlar arasındaki be4, be15 ve be19 kodlu izolatların ise kitinaz enzim aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir. Tüm izolatların kitinaz üretme potansiyelleri ise Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Bakteri izolatlarının kitinaz aktivite sonuçları

Bakteri İzolatları	Kitinaz Üretme İndeksi±Standart hata	Bakteri İzolatları	Kitinaz Üretme İndeksi±Standart hata
be1	1,4±0,1 ^{ab}	be9	2,1±0,05 ^a
be2	0,6±0,05 ^{cd}	be10	0,6±0,05 ^{cd}
be3	1,5±0,2 ^{ab}	be12	1,7±0,05 ^{ab}
be4	0	be14	1,1±0,05 ^{bc}
be5	2±0,5 ^a	be15	0
be6	1,5±0,2 ^{ab}	be19	0
be7	2±0,1 ^a	be24	1,8±0,08 ^a

*Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harf ile ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiki olarak bir fark yoktur($p \leq 0.5$)

Çalışmamıza benzer şekilde yapılan bir çalışmada Tekiner (2020), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Mikroorganizma Kültür Koleksiyonundan temin edilen 2012 tane bakteri izolatının kitinaz aktivite özelliklerini araştırmıştır. En yüksek kitinaz aktivite özelliğine sahip izolat 0,462 indeks değeri ile RK 1977 izolatu iken, en düşük değere sahip izolat ise 0,183 indeks değeri ile FD 648 izolatu olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda yapılan araştırmalar sonucunda benzer bir şekilde be9 izolatu 2,1 değeriyle en yüksek kitinaz üretme indeksine sahipken, 0,6 değeriyle be2 ve be10 en düşük kitinaz üretme indeksine sahiptir. Ayrıca be4, be19, be24 izolatlarının kitinaz üretimi gerçekleştirmediği tespit edilmiştir. İzolatlar arasındaki farklılıklar ise mikroorganizma tür çeşidinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Resim 4.6. Bakteri izolatlarının besi ortamında Kitinaz enzim aktivitesi

4.8.Bakterilerin MALDİ-TOF Tanı Sonucu

Yapılan bu çalışmada Maldi-Tof analizi ile bakteri izolatlarının tür düzeylerinde teşhisleri yapılmıştır. Protein kütle parmak izini kullanan Maldi-Tof bakteri izolatlarının tanılanmasında hızlı ve hassas bir yöntemdir. Tanılama sonuçlarına göre 14 izolat ; *Bacillus mojavensis*(2) ,*Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum*(2) ,*Bacillus subtilis ssp. subtilis*(2), *Bacillus atrophaeus*(2), *Bacillus vallismortis*(2), *Bacillus amyloliquefaciens ssp. amyloliquefaciens*, *Staphylococcus kloosii*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter calcoaceticus* olarak belirlenmiştir(Çizelge 4.8). Analiz sonucunda benzerlik indeksi 2.3-3 arası yüksek olası tür teşhisi,2.0-2.29 arası güvenilir cins düzeyinde teşhis ve muhtemel tür düzeyinde teşhis, 1.7-1.99 arası muhtemel cins düzeyinde teşhis, 0.0-1.69 arası güvenilirmez teşhis olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.8. Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF Tanı Sonucu

Bakteri Kodu	Maldi-Tof Tanı Sonucu	Benzerlik İndeksi	NCBI No
be1	<i>Bacillus mojavensis</i> DSM 9205T DSM	2.225	72360
be2	<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> CICC 20037 CICC	2.135	27914 5
be3	<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i> DSM 5660 DSM	2.02	13546 1
be4	<i>Bacillus atrophaeus</i> DSM 675 DSM	1.761	1452
be5	<i>Bacillus vallismortis</i> DSM 11031T DSM	1.943	72361
be6	<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp amyloliquefaciens</i> CICC 10079 CICC	2.156	1390
be7	<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i> DSM 10T DSM	1.986	13546 1
be9	<i>Staphylococcus kloosii</i> DSM 20676T DSM	1.444	29384
be10	<i>Bacillus cereus</i> DSM 31T DSM	2.321	1396
be12	<i>Bacillus vallismortis</i> DSM 11031T DSM	1.749	72361
be14	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LMG 1046T LMG	2.227	471
be15	<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> CICC 23985_b CICC	2.112	27914 5
be19	<i>Bacillus mojavensis</i> DSM 9205T DSM	1.871	72360
be24	<i>Bacillus atrophaeus</i> DSM 2277 DSM	1.830	1452

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada Suluova Çeltik kömür madeni atık alanlarına yetişen bazı bitkilerin rizosfer kısmından fosfor çözücü bakteriler izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin %85.71'i olumsuz ortamlara karşı spor oluşturma özelliğine sahip olan *Bacillus* cinsi olduğu belirlenmiştir. İzolatlar arasındaki *Acinetobacter calcoaceticus* LMG 1046T LMG olarak tanımlanan izolatın ise en yüksek değere fosfor çözdüğü tespit edilmiştir. *Acinetobacter calcoaceticus* LMG 1046T LMG izolatın fosfor çözme mekanizmasının belirlenmesi amacıyla yapılan GC-MS analizinde diğer bileşiklere oranla yüksek miktarda asetik asit ürettiği belirlenmiştir.

İzolatların İAA üretme potansiyelinin incelenmesi ile tüm izolatların bitki büyüme ve gelişmede önemli bir oksin çeşidi olan İAA ürettiği belirlenmiştir. *Bacillus mojavensis* DSM 9205T DSM olarak tanımlanan izolatın ise en yüksek değerde İAA ürettiği belirlenmiştir. Bu izolatın detaylı araştırılması ve İAA üretimi artırmak için optimize edilmesi önerilebilir. Toprakta yüksek miktarda demir bulunması bitkiler için fitotoksik etki oluşturduğu bilinmektedir. Bu bağlamda izole edilen bakteri izolatlarının demiri kullanma özelliği incelendiğinde tüm izolatların siderofor üreterek demir kullandığı görülmüştür. Bakterilerin bu yönü ile demirin var olan sitotoksik etkisinin azaltılmasına katkı yaptıkları düşünülmektedir. Bakteri izolatlarının siderofor üretim mekanizmaları hakkında daha fazla araştırma yapmak, siderofor üretim mekanizmalarının anlaşılmasına ve siderofor üreten bakterilerin farklı alanlarda kullanılabilirliğinin araştırılması önemli görülmektedir. Bakteriler tarafından siderofor üretilmesi, hem toprağın verimliliği hem de bitki-toprak ilişkisi açısından önemli bir faktördür. İzolatlar içerisindeki *Bacillus amyloliquefaciens* ssp *amyloliquefaciens* siderofor üretme bakımından diğer izolatlardan daha önemli olduğu belirlenmiştir.

Bakterilerin enzimatik özelliklerinin belirlenmesi amacı ile yapılan proteaz aktivite testine ümitvar sonuçlar elde edilmiştir. İzolatlar %71 i proteaz aktivite göstermiştir. Özellikle *Bacillus atrophaeus* DSM 2277 DSM izolatı yüksek miktarda proteaz aktivite göstermiştir. Proteaz enzim aktivitesi, toprağın verimliliği için önemlidir. Bunun nedeni, enzim aktivitesinin, toprağın organik madde içeriğini değiştirerek toprak sağlığına katkıda

bulunmasıdır. Bu nedenle, proteaz aktivite gösteren bakterilerin, bitki gelişimini nasıl etkilediğini ve bu enzimlerin kullanımını artırmaya yönelik araştırmalar yapılabilir.

Bakteriler Amilaz aktivite göstermesi bakımından değerlendirildiğinde ise fosfor çözen izolatların %50 si amilaz aktivite gösterdiği saptanmıştır. *Bacillus vallismortis* DSM 11031T DSM amilaz aktivite bakımından diğer izolatlara göre daha önemli bulunmuştur. Amilaz aktivite gösteren bakterilerin kullanılmasının, toprak verimliliğini artırdığı ve bitki büyüme gelişmesine katkı sağladığı yapılan önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Dolayısı ile bakterilerin amilaz üretiminin bitkilerin bu alanda yetişmesine katkı sunduğu düşünülmektedir.

Kitinaz aktivite bakımından izolatların %78.57 sinin farklı oranlarda kitinaz aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Özellikler kitinazın, fungal enfeksiyonlarla mücadele etmek üzere savunmada rolü olduğu tahmin edilmektedir. Aynı zamanda Kitinaz enzim aktivitesi, toprağın verimliliği için önemlidir. Kitin, toprağın organik madde içeriğinin önemli bir bileşenidir ve kitinaz enzimleri, organik maddenin ayrışmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. Kitinaz enzimi üretme bakımından özellikle *Staphylococcus kloosii* DSM 20676T DSM diğer izolatlardan daha önemli bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları ile, kömür madeni havzasında yetişen bitkilerin gelişmesinde bakterilerin önemi ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Çalışmanın devamında enzimatik aktivite gösteren bakterilerin, bitki gelişimini nasıl etkilediğini ve bu enzimlerin kullanımını artırmaya yönelik araştırmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Abbas, G., Khattak, J., Mir, A., Ishaque, M., Hussain, M., Wahedi, H. et al. (2012). Effect of organic manures with recommended dose of NPK on the performance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Animal and Plant Sci.*, 22(3), 683-68.
- Ahmad, F., Babalola, O. and Tak, H. I. (2012). Potential of MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid detection technique in plant pathology: identification of plant-associated microorganisms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(4), 1247- 1255.
- 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*, 523-529.
- Akköprü, A. (2012). *Hıyar Bakteriyel Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. lachrymans) Bazı Kök Bakterileriyle Biyolojik Savaşımı Üzerinde Araştırmalar. (PhD)*. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aktan, Z. ve Soylu, S. (2020). Diyarbakır İlinde Yetişen Badem Ağaçlarından Endofit ve Epifit Bakteri Türlerinin İzolasyonu ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Karakterizasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg* , 641-654.
- Altın, N., & Tayyar, B. (2005). Bitki gelişimini uyaran kök bakterilerinin genel özellikleri ve etkileri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 15(2), 87-103.
- Asri, F. O. and Sönmez, S. (2006). Ağır Metal Toksisitesinin Bitki Metabolizması Üzerine Etkileri, *Batı Akdeniz Tarımsal Enstitüsü Dergisi*, 23 (2), 36- 45.
- Aytar, M., Bozdoğan, B. ve Başbülbul, G. (2021). Aydın ve Denizli'deki Sıcak Su Kaynaklarından İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Lipaz, Amilaz ve Proteaz Aktivitelerinin Araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 570-574.
- Babier, Y. ve Akköprü, A. (2020). Çeşitli Kültür Bitkilerinden İzole Edilen Endofitik Bakterilerin Karakterizasyonu ve Bitki Patojeni Bakterilere Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi . *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences* , 521-534.
- Barazani, O. and Friedman, J. (1999). Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? *Journal of Chemical Ecology*, 25, 2397-2406.
- Bedük, F. (2022). Ağır Metallerin Topraktaki Amonyum Oksidasyon Bakterileri Üzerindeki Etkileri. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Bektaş, İ. (2021). Toprakta Bazı Bakterilerin Fosfat Çözünürlüğü ile Organik Asit Üretimi Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(1), 66–76.

- Bhattacharyya, P. and Jha, D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Micro. Biotech.*, 28(4), 1327-1350.
- Bickford, W. A., Goldberg, D. E., Zak, D. R., Snow, D. S. and Kowalski, K. P. (2022). Plant effects on and response to soil microbes in native and non-native *Phragmites australis*. *Ecological Applications*, 32(4), e2565.
- Bolan, N., Elliott, J., Gregg, P. and Weil, S. (1997). Enhanced dissolution of phosphate rocks in the rhizosphere. *Biology and fertility of soils*, 24, 169-174.
- Chen, Y., Rekha, P., Arun, A., Shen, F., Lai, W. and Young, C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Eco.*, 33-41.
- Çakmakçı, R. (2005). Bitki gelişiminde fosfat çözücü bakterilerin önemi. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 31(3), 93-108.
- Çoban, H. B. (2020). *Axinella damicornis* süngerinden izole edilen sucul bakterilerin proteaz üretkenliklerinin araştırılması ve üretilen proteaz enziminin kısmi karakterizasyonu . *Mediterranean Agricultural Sciences*, 223-229.
- Dowarah, B., Agarwal, H., Krishnatreya, D. B., Sharma, P. L., Kalita, N. and Agarwala, N. (2021). Evaluation of seed associated endophytic bacteria from tolerant chilli cv. Firingi Jolokia for their biocontrol potential against bacterial wilt disease. *Microbiological Research*, 248, 126751.
- Doğan, G. (2020). Tahıl bitkilerinden izole edilmiş olan endofit bakterilerde biyoteknolojik öneme sahip bazı enzimlerin belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ekinci, M. B., ve Çakmakçı, AGK (2022). Toprak Kökenli Mikrobakteri İzolatlarından Alfa-Amilaz Enzimi Üretimi ve Saflaştırılması. *Akademik Gıda*, 20(4), 398-403.
- El-Sayed, W., Abdellah, A., El-Naggar Moustafa, Y. and Elbadry, M. (2014). In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with wild plants grown in arid soil. *Frontiers in Microbiology*, 651-656.
- Griffith, B. (2022). *Verimli Gübre Kullanım El Kitabı*. [https:// www. cropnutrition. com/ nutrient-management/phosphorus](https://www.cropnutrition.com/nutrient-management/phosphorus) Erişim Tarihi: 01.03.2023
- Gül, A. T. and Horuz, S. (2021). Efficacy of Nitrification Inhibitors on Tomato Bacterial Canker and Wilt (*Clavibacter Michiganensis* Subsp. *Michiganensis*). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(1), 124-129.

- Jeon, J.-S., Lee, S.-S., Kim, H.-Y., Ahn, T.-S. and Song, H.-G. (2003). Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41(4), 271-276.
- Johri, J., Surange, S. and Narula, C. S. (1999). Occurrence of salt, pH, and temperature tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. *Current Microbiology*, 39(2), 89-93.
- Karakaş, İ., Ay, M., Öztürk, F., Kaya, S. ve Hacıoğlu, N. (2022). Nikelce Zengin Topraklardan (Çanakkale) İzole Edilen Bakterilerin Bitki Büyüme Teşvik Edici Potansiyellerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 424-431.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M. N. (1989). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, 885-886.
- Kuddus, M. and Ahmad, I. Z. (2013). Isolation of novel chitinolytic bacteria and production optimization of extracellular chitinase. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11(1), 39-46.
- Li, H.B., Singh, R.K., Singh, P., Song, Q., Xing, Y., Yang, L. and Li, Y. 2017. Genetic diversity of nitrogen-fixing and plant growth promoting *Pseudomonas* species isolated from sugarcane rhizosphere. *Front. Microbiol.*, 8: 1268.
- Louden, B. C., Haarmann, D. and Lynne, A. M. (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 51-53.
- Majeed, A., Abbasi, M. K., Hameed, S., Imran, A. and Rahim, N. (2015). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in microbiology*, 6, 198.
- Malik, D. K. and Sindhu, S. S. (2011). Production of indole acetic acid by *Pseudomonas* sp.: effect of coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer on nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 17, 25-32.
- Nautiyal, C. S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R. and Verma, D. (2000). Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiology Letters*, 182, 291-296.
- Nishanth, D. and Biswas, D. (2008). Kinetics of phosphorus and potassium release from rock phosphate and waste mica enriched compost and their effect on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L). *Bioresource Technol.*, 99(11), 3342-3353.
- Okumuş, A. ve Alçınkaya, T. (2019). Toprak ve bitki destekleyicileri: biopestisit ve mikrobiyal gübreler. *Soil And Plant Promoters: Biopest And Biofertilizers*. Samsun.
- Öktüren, F. ve Sönmez, S. (2005). Bitki Besin Maddeleri ile Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicileri (Hormonlar) Arasındaki İlişkiler. *Derim*, 22(2).

- Özay, C. and Mammadov, R. (2013). Ağır Metaller ve Süs Bitkilerinin Fitoremediasyonda Kullanılabilirliği. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15(1), 67-76.
- Özdal, M., Özdal, O.G., Sezen, A., Algur, O.F. and Kurbanoglu, E.B. 2017. Continuous production of indole-3-acetic acid by immobilized cells of *Arthrobacter agilis*. 3. *Biotech*, 7: 23.
- Özdemir, K. ve Demirkan, E. (2020). Ethyl Methanesulfonate (EMS) Mutation for Hyper Protease Production by *Bacillus subtilis* E6-5 and Optimization of Culture Conditions . *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 355-365.
- Özyılmaz, Ü. ve Benlioğlu, K. (2012). Fosfat çözen bakterilerin pamuk bitkisinin gelişimine ve *Verticillium Solgunluğu* na etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 3(1), 47-62.
- Özyılmaz, Ü. ve Benlioğlu, K. (2019). Çilekte Kök ve Taç Çürüklüğü Hastalığı (*Phytophthora cactorum*)'na Karşı Kök Bakterileri ile Biyolojik Mücadele. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 63-71.
- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A. N., Sing, A., Busch, U. and Huber, I. (2012). A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters*, 328(1), 46-53.
- Perneel, M., Heyrman, J., Adiobo, A., De Maeyer, K., Raaijmakers, J. M., De Vos, P. and Höfte, M. (2007). Characterization of CMR5c and CMR12a, novel fluorescent *Pseudomonas* strains from the cocoyam rhizosphere with biocontrol activity. . *Journal of Applied Microbiology*, 1007–1020.
- Qureshi, M., Ahmad, Z., Akhtar, N. and Iqbal, A. (2012). Role of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P-availability and promoting cotton growth. *J. Anim. Plant Sci.*, 22(1), 204-210.
- Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S., and Latif, F.(2004). Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. *Pak J Biol Sci*, 187-196.
- Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T. and Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and soil*, 287, 15-21.
- Sharma, S., Sayyed, R., Trivedi, M. and Gobi, T. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus.* , 587.

- Singh, S., Pandey, V. and Singh, D. (2011). Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agric. Eco. Environ.* , 339-353.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal symbiosis*: Academic press.
- Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G. and Netrusov, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*, 162(1), 69-76.
- Taşkın, B. ve Önalın, Ş. (2022). Gökkuşığı Alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) İzole Edilen Patojen Bakteri İzolatlarının Hidrolitik Enzim Aktiviteleri ve Siderofor Üretim Yetenekleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 512-520.
- Taşkın, B. ve Önalın, Ş. (2022). Gökkuşığı Alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) İzole Edilen Patojen Bakteri İzolatlarının Hidrolitik Enzim Aktiviteleri ve Siderofor Üretim Yetenekleri . *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 512-520.
- Tekiner, N.(2020). Kök kanseri hastalığı [*Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*)] ile mücadelede biyoajan bakterilerin kullanım imkânlarının araştırılması. Ankara Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Bitki Koruma Ana Bilim dalı /Fitoloji Bilim Dalı Doktora Tezi
- Toro, M. (2007). Phosphate solubilizing microorganisms in the rhizosphere of native plants from tropical savannas: An adaptive strategy to acid soils. C. Velaquez, & E. Rodriguez-Barrueco içinde, *Developments in Plant and Soil Sciences* (s. 249-252). The Netherlands: Springer.
- Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, E., Kara, M. ve Soylu, S. (2018). Evaluation of the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of some plant fungal pathogenic species. *International Agricultural Science Congress*. Van.
- Varhan, R. ve 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.
- Vural, A. ve Çiçek, B. (2020). Cevherleşme sahasında gelişmiş topraklardaki ağır metal kirliliği. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8(2), 1533-1547
- Wang, H., Shan, X., Wen, B., Owens, G., Fang, J., and Zhang, S. (2007). Effect of Indole-3-Acetic Acid on Lead Accumulation in Maize (*Zea Mays* L.) Seedlings and the Relevant Antioxidant Response. *Environmental and Experimental Botany*, 246–253.

- Wani, P., Khan, M. and Zaidi, A. (2008). Chromium-reducing and plant growth promoting *Mesorhizobium* improves chickpea growth in chromium-amended soil. *Biotech. Letters*, 30(1), 159-163.
- Whitelaw, M. A. (2000). Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron.* , 99-151.
- Yang, Y., Wang, Q., Geng, M., Guo, Z. and Zhao, Z. (2011). Effect of Indole-3-Acetic Acid on Aluminum-Induced Efflux of Malic Acid from Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Soil*, 215– 230.
- Yavuz, O. ve Sarıg l, N. (2016). Toprak ve sucul ortamlardaki ağır metal kirliliği ve ağır metal dirençli mikroorganizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 44-51



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı Birkan EMEKTAR

Eğitim derecesi	Okul-Program	Mezuniyet yılı
Lisans	Amasya Üniversitesi- Fen Bilgisi Öğretmenliği	2011
Yüksek Lisans	Amasya Üniversitesi- Biyoloji Bölümü	Devam ediyor

Bilimsel Çalışmalar

1.Emektar, B. ve Bektas, İ.(2023). Amasya(Suluova) çeltek kömür madeni havzasında yetişen bazı bitkilerin kök bölgesinden indol asetik asit üreten bakterilerin izole edilmesi ve tanımlanması. Cukurova 10th International Scientific Researches Conference April 2-4, 2023/ Adana, Turkey.365-366(**Sözlü Sunum**)