



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**BAZI ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BİTKİ BÜYÜMESİNİ
ARTTIRICI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Khaoula CHARIH

Danışman
Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ

SAMSUN
2023

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**



**BAZI ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BİTKİ BÜYÜMESİNİ
ARTTIRICI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Khaoula CHARIH

Danışman
Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Khaoula CHARIH tarafından, **Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ** danışmanlığında hazırlanan **BAZI ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BİTKİ BÜYÜMESİNİ ARTTIRICI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 15.08.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Özgür BAYTUT Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Arda ACEMİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

06 /07/ 2023
Khaoula CHARIH

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : BAZI ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BİTKİ BÜYÜMESİNİ ARTTIRICI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 06/07/2023.tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 16

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

06 /07 / 2023
Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ

ÖZET

BAZI ENDOFİTİK FUNGUSLARIN BİTKİ BÜYÜMESİNİ ARTTIRICI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Khaoula CHARIH
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Temmuz/2023
Danışman: Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ

Bitki büyümesini teşvik eden funguslar (PGPF), konukçu bitkilere çeşitli faydalar sağlayan çeşitli patojenik olmayan fungus türlerini oluşturur. PGPF, sürdürülebilir tarımda etkin bir rol göstermektedir. Artan bitkisel üretim talebini çevreye zarar vermeden karşılamak günümüzde en büyük zorluktur. PGPF'nin kullanımı, mahsul üretimini arttırmanın çevre dostu bir yolu olarak kabul edilmiştir. Yapılan çalışmalar özellikle fungusların bitkilerin gelişimine çok önemli etkileri olabileceğini göstermektedir. Bu tezde daha önce Sarı Kantaron dan izole edilmiş olan fungusların bitki büyümesini arttırıcı özelliklerini belirlemeye yönelik bazı testler yapılarak belirtilen fungusların söz konusu özellikleri tesbit edilmeye çalışıldı. Bitki büyümesini arttırıcı özelliklerini belirleyecek olan testler uygulandı. Siderofor Üretimi, IAA Üretimi, Fosfat Çözünürlüğü, ACC Deaminaz Aktivitesi ile söz konusu fungusların önemli bir toprak ve bitki patojeni olan *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus fumigatus* ve patojen bakteri *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve Maya *Candida albicans*'a olan inhibisyon potansiyelleri belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre, F3 en yüksek siderofor üretimi gösterdi, IAA üretimi yönünden ise en yüksek değerler F7 ve F3 nolu izolatta görüldü. ACC Deaminaz aktivitesi testi F16 ve F7 izolatta en olumlu sonuçlar verdi. Fosfat Çözünürlüğü sonuçları F9, F21 ve F22 pozitif olarak değerlendirildi. İnhibisyon testlerinin sonucunda, *Aspergillus*'a karşı en yüksek inhibisyonu F3 nolu izolat, *Staphylococcus aureus*'a karşı F3, F7 ve F5 nolu izolat, *Rhizoctonia solani*'ye karşı F3, F7 ve F5 gösterdi, *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı ise F3, F7, D15 ve F16 inhibisyon gösterdi. Mayaya karşı en inhibisyon ise F3 ve F7 nolu izolatlarda görüldü. Söz konusu izolatlardan çimlenmeyi arttıran izolatlar ise F10, F3 ve F21 oldu. Dolayısıyla, bu çalışma PGPF izolatların ilgili özelliklerini ortaya koyan öncül çalışmalardan birini oluşturmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Sarı Kantaron, PGPF, ACC-deaminaz, IAA, Siderofor, Fosfat çözünürlüğü.

ABSTRACT

DETERMINATION OF PLANT GROWTH PROMOTION PROPERTIES OF SOME ENDOPHYTIC FUNGI

Khaoula CHARIH
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Biology
Master, July/2023
Supervisor: Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ

Plant growth promoting fungi (PGPF) generate a variety of non-pathogenic fungi species that provide various benefits to host plants. PGPF shows an active role in sustainable agriculture. Meeting the growing demand for crop production without harming the environment is the biggest challenge nowadays. The use of PGPF has been recognized as an environmentally friendly way to increase crop production. Studies show that fungi can have very important effects on the development of plants. In this thesis, some tests were carried out to determine the plant growth enhancing properties of the fungi, which were previously isolated from St. John's Wort. Tests to determine plant growth enhancing properties were applied. Siderophore Production, IAA Production, Phosphate Solubility, ACC Deaminase Activity and inhibition potentials of these fungi against *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus fumigatus*, and pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and Yeast *Candida albicans* which are important soil and plant pathogens were determined. According to the results obtained, F3 showed the highest production of siderophores, and the highest values in terms of IAA production were seen in isolate F7 and F3. The ACC Deaminase activity test gave the most positive results in F16 and F7 isolates. Phosphate Solubility results F9, F21, and F22 were evaluated as positive. As a result of the inhibition tests, isolate no. F3 showed the highest inhibition against *Aspergillus*, isolate no. F3, F7 and F5 against *Staphylococcus aureus*, F3, F7 and F5 against *Rhizoctonia solani*, and F3, F7, D15 and F16 against *Klebsiella pneumoniae*. The most inhibition against yeast was seen in F3 and F7 isolates. F10, F3, and F21 were the isolates that increased germination among the aforementioned isolates. Therefore, this study constitutes one of the preliminary studies revealing the relevant characteristics of PGPF isolates.

Keywords: St. John's wort, PGPF, ACC-deaminase, IAA, Siderophore, Phosphate solubilization.

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Saygı ruhu içinde danışmanım sayın Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ'a derin şükranlarımı, yüksek lisans eğitimim boyunca sabrını, tecrübelerini , kıymetli zamanlarını desteğini esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan saygıdeğer hocama teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında ve çalışmamın her aşamasında iş birlikleri, tavsiyeleri ve etkili destekleri için çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Son olarak, olduğum yerde olmam için bana her şeyi veren ailemin desteği olmadan asla başaramazdım annem Najat RAHILI ve 3 yıldır kan kanseriyle savaşan babama Hassan CHARIH özel teşekkürlerimi sunmak isterim

Khaoula CHARIH

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Rizosfer	4
2.1.1. Rizosfer Yapısının Organizmaları	6
2.2. Bitkilerin Endofitik Mikroorganizmalar	7
2.2.1. Endofitik Funguslar	8
2.3. Bitki Seçimi ve İzolasyonu	13
2.3.1. Endofitlerin İzolasyonu	14
2.4. Tıbbi Bitkilerin Endofitik Fungusları	15
2.4.1. Endofit Kaynağı Olarak Sarı Kantaron Bitkisi	16
2.5. PGPF 'lerin Bitki Gelişimindeki Doğrudan Etki Mekanizmaları	19
2.5.1. İndol-3-asetik asit (IAA)	20
2.5.2. ACC deaminaz ve Etilen aktivitesi	21
2.5.3. Fosfat Çözünürlüğü	21
2.5.4. Siderofor üretimi	22
2.6. PGPF 'lerin Bitki Büyümesindeki Dolaylı Etki Mekanizmaları	24
2.6.1. Uyarılmış sistemik dayanıklılık	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. Materyal	26
3.1.1. Test Edilen Endofitik Fungusların İzole Edilmesi	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Sarı Kantaron Bitkisinden İzole Edilen Fungusların Aktifleştirmesi	27
3.2.2. Fosfatı Çözünür Hale Getirme	33
3.2.3. ACC deaminaz aktivitesi	34
3.2.4. IAA üretimi	35
3.2.5. Siderofor üretimi	35
3.2.6. Sarı Kantaron Tohumlarının Çimlenmesi	36
3.2.7. Antimikrobiyal Aktivite	38
3.3. Kullanılan Besiyeriler	39
4. BULGULAR	42
4.1. İzolatlarının PGPF Özelliklerinin Tesbiti	42
4.1.1. Fosfatı Çözme	42
4.1.2. ACC Deaminaz Aktivitesi	42
4.1.3. İndol-3-Asetik Asit (IAA) üretimi	43
4.1.4. Siderofor üretimi	44
4.1.5. PGPF Funguslarının Mayaların Gelişimini İnhibisyonu	45
4.1.6. PGPF Funguslarının Patojen Fungusların Gelişimini İnhibisyonu	46
4.1.7. PGPF Funguslarının Patojen Bakterilerin Gelişimini İnhibisyonu	48
4.1.8. Sarı Kantaron Tohumlarını Büyüme Teşviki	50
5. TARTIŞMA	52
6. ÖNERİLER VE SONUÇ	55
KAYNAKLAR	57

ÖZ GEÇMİŞ	66
-----------------	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat
CaCl ₂	: Kalsiyum klorür
Ca ₃ (PO ₄) ₂	: Kalsiyum fosfat
H ₂ O	: Hidrojen dioksit
HCl	: Hidrojen klorür
HClO ₄	: Perklorik asit
FeCl ₃	: Demir 3 klorür
FeSO ₄	: Demir sülfat
KCl	: Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
K ₂ HPO ₄	: Dipotasyum hidrojen fosfat
KNO ₃	: Potasyum nitrat
l	: Litre
MgSO ₄	: Magnezyum sülfat
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
MnSO ₄	: Mangan sülfat
NaCl	: Sodyum klorür
Na ₂ HPO ₄	: Disodyumfosfat
(NH ₄) ₂ SO ₄	: Amonyum sülfat
NH ₄ Cl	: Amonyum klorür
rpm	: Dakikada devir
ACC	: Aminosiklopropan-1-karboksilik asit
AHL	: N-açıl homoserin lakton
AMF	: Arbuskular mikorizal fungus
BD	: Brown & Dilworth Minimal Besiyeri
CAS	: Chrome azurol S
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
HDTMA	: Hekzadesiltrimetil amonyum bromür
IAA	: Indol-3-asetik asit

ISR	: Uyarılmış sistemik dayanıklılık (Induced Systemic Resistance)
KB	: King B Besiyeri
MM9	: Minimal Media 9 Besiyeri
PIPES	: Piperazin-N, N'-bis 2-etansülfonik asit
PGPR	: Bitki Gelişimini Arttırıcı Rizobakteri (Plant Growth Promoting)
PDB	: Potato dextrose broth
MS	: Murashige ve Skoog



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Rizosferin yapısı gösteren bir kök kesiti.....	5
Şekil 2.2. Rizosferdeki etkileşimler	6
Şekil 2.3. Bitki organlarındaki endofitik fungusların lokalizasyon sıklığı	10
Şekil 2.4. Endofitik fungusların gruplandırılması.....	13
Şekil 2.5. Biyolojik aktivite yönünden test edilen izolatların konukılarını binaen dağılımı ...	15
Şekil 2.6. Sideroforlar yoluyla demir taşınmasının şematik gösterimi.....	23
Şekil 2.7. Fungal sideroforların sınıflandırılması	23
Şekil 3.1. PDA besiyerindeki Fusarium F3 izolatının koloni morfolojisi	27
Şekil 3.2. Mikroskop altında Fusarium F3 izolatı.....	27
Şekil 3.3. PDA besiyerindeki Fusarium F5 izolatının koloni morfolojisi	28
Şekil 3.4. Mikroskop altında Fusarium F5 izolatı.....	28
Şekil 3.5. PDA besiyerindeki Fusarium F7 izolatının koloni morfolojisi	28
Şekil 3.6. Mikroskop altında Fusarium F7 izolatı.....	29
Şekil 3.7. PDA besiyerindeki Fusarium F9 izolatının koloni morfolojisi	29
Şekil 3.8. Mikroskop altında Fusarium F9 izolatı.....	29
Şekil 3.9. PDA besiyerindeki Fusarium F10 izolatının koloni morfolojisi	30
Şekil 3.10. Mikroskop altında Fusarium F10 izolatı.....	30
Şekil 3.11. PDA besiyerindeki Diaporthe phaseolorum D15 izolatının koloni morfolojisi ..	30
Şekil 3.12. Mikrosko altında Diaporthe phaseolorum D15 izolatı.....	31
Şekil 3.13. PDA besiyerindeki Fusarium F16 izolatının koloni morfolojisi	31
Şekil 3.14. Mikroskop altında Fusarium F16 izolatı.....	31
Şekil 3.15. PDA besiyerindeki Fusarium F20 izolatının koloni morfolojisi	32
Şekil 3.16. Mikroskop altında Fusarium F20 izolatı	32
Şekil 3.17. PDA besiyerindeki Fusarium F21 izolatının koloni morfolojisi	32
Şekil 3.18. Mikroskop altında Fusarium F21 izolatı.....	33
Şekil 3.19. PDA besiyerindeki Fusarium F22 izolatının koloni morfolojisi	33
Şekil 3.20. Mikroskop altında Fusarium F22 izolatı	33
Şekil 3.21. PVK besiyerinde ekilen fungus örnekleri	34
Şekil 3.22. PDB besiyerinde üreyen fungus örnekleri	35
Şekil 3.23. Santrifüjlendikten sonra örneklerin süpernatantı.....	35
Şekil 3.24. CAS besiyerinde ekilen fungus örnekleri	36
Şekil 3.25. Tohumların canlılık testi	37
Şekil 3.26. MS besiyerinde tohumların çimlendirilmesi ve fungus örnekleri	37
Şekil 3.27. Nutrient agar besiyerine ekimi yapılmış olan <i>Aspergillus</i> fungus örnekleri	38

Şekil 3.28. Nutrient agar besiyerine ekimi yapılmış olan <i>Rhizoctonia solani</i> fungus örnekleri.....	38
Şekil 4.1. Pikovskaya besiyerinde fosfat çözme özelliği gösteren funguslar	42
Şekil 4.2. BD besiyerinde ACC deaminaz etkinliği	43
Şekil 4.3. Karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra Mikroplate görüntüsü	43
Şekil 4.4. Siderofor üreten fungus izolatları	44
Şekil 4.5. <i>Maya candida albicans</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları	45
Şekil 4.6. <i>Aspergillus fumigatus</i> gelişimini inhibe eden fungus örnekleri	46
Şekil 4.7. <i>Aspergillus fumigatus</i> gelişimini inhibe eden fungus örnekleri	46
Şekil 4.8. <i>Rhizoctonia Solani</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	47
Şekil 4.9. <i>Rhizoctonia Solani</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	47
Şekil 4.10. <i>Staphylococcus aureus</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	48
Şekil 4.11. <i>Klebsiella pneumonie</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	49
Şekil 4.12. Sarı Kantaron teşvik eden fungus izolatları	50
Şekil 4.13. Çimlenme oranının sonuçları	51

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Bitkilerden izole edilen endofitik funguslar.....	9
Tablo 2.2. Endofitik fungusların Gruplandırılması.....	11
Tablo 2.3. Sarı kantaron bitkisinin sistematığı	17
Tablo 2.4. Tıbbi bitkilerde belgelenmiş fungus türlerinden sentezlenen zehirli maddeler ...	19
Tablo 3.1. Test edilen endofitik fungusların moleküler özellikleri	26
Tablo 4.1. Test edilen fungusların fosfatı çözme yetenekleri	42
Tablo 4.2. ACC deaminaz etkinliğinin sonuçları.....	43
Tablo 4.3. Ölçülen IAA konsantrasyon değerleri	44
Tablo 4.4. PGPF aday funguslar siderofor üretimin sonuçları.....	44
Tablo 4.5. <i>Maya candida albicans</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları	45
Tablo 4.6. <i>Aspergillus fumigatus</i> gelişimini inhibe eden fungus örnekleri	47
Tablo 4.7. <i>Rhizoctonia Solani</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	48
Tablo 4.8. <i>Staphylococcus aureus</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	49
Tablo 4.9. <i>Klebsiella pneumonie</i> gelişimini inhibe eden fungus izolatları örnekleri	50
Tablo 4.10. Ölçülen sarı kantaron tohumlarının boyu değerleri	51

1. GİRİŞ

Rizosferik mikrobiyal formlar, bakteri, fungus, nematod, virüs, eklembacaklılar, oomycetes, protozoa, alg ve arkeleri içerecek şekilde çeşitlilik bakımından farklılık gösterir. Bitki büyümesinin teşviki ile ilgili olarak rizosfer funguslarının faydalı etkisi uzun zamandır bilinmektedir (Hyakumachi, 1994). Bunun yanısıra bitkinin iç dokularında onlara çoğunlukla herhangi bir zarar vermeden varlığını sürdüren endofitik funguslar mevcuttur. Bunlar bitkinin büyüme ve gelişmesine yararlı etkilerde bulunduklarından bitki büyümesini teşvik eden funguslar (PGPF) olarak adlandırılırlar.

PGPF, bitkilerin büyüme ile ilgili çeşitli özelliklerini uyarma doğal yeteneğe sahip olan *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Piriformospora*, *Phoma* ve *Rhizoctonia* cinslerinin türlerini içerir (Hossain, 2007; Shores et al., 2010). Dikotiledonlarla ve monokotiledonlarla yapılan birçok çalışmada PGPF'nin, konukçu bitki ile etkileşimlerinde iyi çalışılmış bitki büyümesini teşvik eden rizobakterileri (PGPR) taklit ettiğini göstermiştir.

Endofitler, bitkilerin iç dokularında (kök, gövde, yaprak, çiçek, ağaç kabuğu vb.) hiçbir hastalık belirtisi göstermeden simbiyotik olarak yer alan mikroorganizmalar topluluğudur. Abiyotik ve biyotik streslere karşı savaşmalarına ve bitki büyümesini artırmalarına katkı sağlamaktadır.

Bitkiler, hareketsiz organizmalar olarak, değişen ve öngörülemeyen bir ortamda karşılaştıkları zorlukları başarılı bir şekilde halledebilmek için stratejiler geliştirmişlerdir. Özellikle bitkilerin, dağılımı düzensiz ve dinamik olarak değişen su ve besin gibi kaynaklar için toprağı iyi değerlendirmesi gerekir. Bitkiler bunu, farklı toprak yapılarını keşfetmek ve su ve besin açısından zengin kısımları tespit etmek ve bunlardan yararlanmak için çevresel ipuçlarına yanıt olarak kök sistemi mimarisini ve kök anatomisini modüle ederek yaparlar (Lynch, 2019).

Bunların yanı sıra bitkiler, yiyecek arama faaliyetlerini iyileştirmek için köklerin (rizosfer) etkisi altındaki toprak fizikokimyasal özelliklerini ve mikrobiyal toplulukları değiştirmek için mekanizmalar geliştirmiştir (York et al., 2016).

Rizosfer, bitki köklerinin, toprağın ve toprak biyotasının birbiriyle etkileşime girdiği toprak ekosisteminin bir parçasıdır. Bu etkileşimler genellikle bitkilere fayda sağlar, toprak verimliliğini artırır ve toksik kimyasalların bozulmasını artırır. Kökün

neden olduğu toprak özelliklerindeki değişikliklerle birlikte bitki kökünde ve / veya içinde yaşayan toprak mikroorganizmalar, bitkide kök gelişiminin değiştirilmesi ve fizyolojisi gibi önemli fonksiyonel düzenlemeleri tetikler. Kök-toprak-mikrobiyom etkileşimlerdeki bu dinamik etkileşim, bitki beslenmesini ve sağlığını etkileyecek özellikleri ortaya çıkarır.

Bitki kökleri tarafından  vrelenen ve etkilenen dar toprak bölgesi olan rizosfer, sayısız faydalı mikroorganizma için doğal bir yaşam alanıdır ve dünya üzerinde biyolojik olarak karmaşık bir ekosistemi temsil eder (Mendes, 2013).

Pozitif bitki-mikrop etkileşimi sırasında, toprak mikroorganizmaları tarafından rizosfer kolonizasyonu hem bitki hem de mikroorganizmalar için faydalıdır. Her iki ortak da yakın ilişkiden fayda sağlar ve birbirlerinin canlılığını etkiler. Bitki kökleri tarafından salınan büyük miktardaki rizodepozitler, rizosferdeki mikrobiyal aktivitenin ve topluluk yapısının önemli bir belirleyicisidir (Gahan and Schmalenberger, 2014). Rizosfer mikroorganizmalar, büyümeleri ve gelişmeleri için ana enerji kaynağı olarak rizodepozit karbonunu kullanırlar (Denef, 2007). Sonuç olarak, bitki kökleri, bitki büyümesi ve sağlığı için faydalı özelliklere sahip mikroorganizmaları seçici olarak uyarak rizosfer mikrobiyomunu kendi yararına manipüle edebilir (Mendes et al., 2013). Rizosfer mikrobiyomu ile bitki arasındaki karşılıklı bağımlılık ve etkileşim, genel bitki üretim kalitesiyle sonuçlanır (Lakshmanan et al., 2014).

Bitki kökleriyle birlikte var olan mikroorganizmalar (bitki büyümesini teşvik eden funguslar (PGPF) ve rizobakteriler (PGPR) bitki büyümesini ve gelişimini arttırmanın yanı sıra istilacı fitopatojenlere karşı konuk da direncin indüklenmesinde etkili bir şekilde kullanılmıştır. Bu mikroorganizmaların uygulanması,  vre dostu hastalık yönetimi stratejilerinden biri olup bitkilerin doğuştan gelen bağışıklığının indüklenmesi nedeniyle uzun ömürlüdür.

Bugüne kadar karşı direnç ind ksiyonundaki etkinliğini değerlendirmek üzere PGPR ile yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, PGPF ile ilgili sadece sınırlı sayıda çalışma rapor edilmiştir.

Bitki büyümesini teşvik eden funguslar patojenik değildir, doğal olarak oluşan saprofitler, toprak verimliliğinin korunmasına yardımcı olur ve bu da bitki büyümesini artırır ve patojen enfeksiyonlarına karşı cephe savunma tepkisini indükler. Kök

kolonizasyonunda PGPF'nin yeteneği, patojen enfeksiyonunu baskılayarak ve besin alımına yardımcı olarak bitki büyümesini arttırır. PGPF'nin fosfatları çözme ve IAA, siderofor, selüloz, kitinaz üretme vb yeteneği, bir konukçunun bitki büyümesinin ve gelişiminin geliştirilmesine doğrudan veya dolaylı olarak katkıda bulunmalarının yanısıra hastalık direncini arttırmada da ciddi etkileri bulunmaktadır.

Yapılan bu çalışma, Sarı Kantaron bitkisinin rizosferden izole edilmiş olan endofitik fungusların PGPF bazı özelliklerini belirlemektir. Bitkilerin büyümesini teşvik eden ve onları patojenik bakteriler *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve maya *Candida albicans* gibi, ayrıca patojenik funguslara *Rhizoctonia solani* ve *Aspergillus fumigatus* karşı koruyucu etkilerinin ve de tohum çimlenmesi üzerine çimlenmeyi arttırıcı bir etkilerinin olup olmadığını tesbit etmeyi amaçlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Rizosfer

Rizosfer, bitki mikrobiyotasının bir parçası olan kökler ve ilişkili mikroorganizmalar tarafından doğrudan oluşturulan ve etkilenen toprak bölgesidir. Bu bölge, çimler veya çayırlar altında bir veya iki on santimetre kalınlığa iner, ancak ılıman bölgelerin ormanlarında bazen çok daha kalındır. Bu bölge, mikrobiyal biyoçeşitliliği ve özellikle bakteri ve mikroskopik funguslardaki zenginliği ile karakterize edilir; rizosfer, bu mikroorganizmalar ve bitkiler arasındaki alışverişlerin ayrıcalıklı yeridir; toprak. Tüm bu değişiklikler rizosfer etkisini belirlemektedir.

Rizosfer bölgesi, bilim insanlarının ilgi duyduğu bitki bölgesidir. Bitki büyümesi ve gelişimi, büyük ölçüde, bitkinin kendisinin yaratmaya yardımcı olduğu ve mikrobiyal aktivitenin önemli bir etkili güç oluşturduğu bir ortam olan kök bölgesindeki toprak ortamı tarafından kontrol edilir. Rizosferdeki salgılar içindeki mikrobiyal aktivitenin bitki sağlığı ve canlılığı ile ilişkisini anlamak, daha iyi bitkisel üretim sistemlerinin geliştirilmesi için esastır. Bitki fizyoloğu için rizosfer, besin alımı, O₂ ve CO₂, değişim, toprak nemi gradyanları ve bitki büyümesini etkileyen diğer faktörlerle ilgili süreçler için önemlidir.

Bitki köklerini çevreleyen bu toprak bölgesi, bakteriler, funguslar, virüsler ve nematodlar dahil olmak üzere geniş bir mikroorganizma topluluğuna ev sahipliği yapmaktadır. Bu mikroorganizmalar, bitki kökleri ile yakın etkileşim içindedir ve büyümeleri, beslenmeleri ve patojenlere karşı korunmaları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

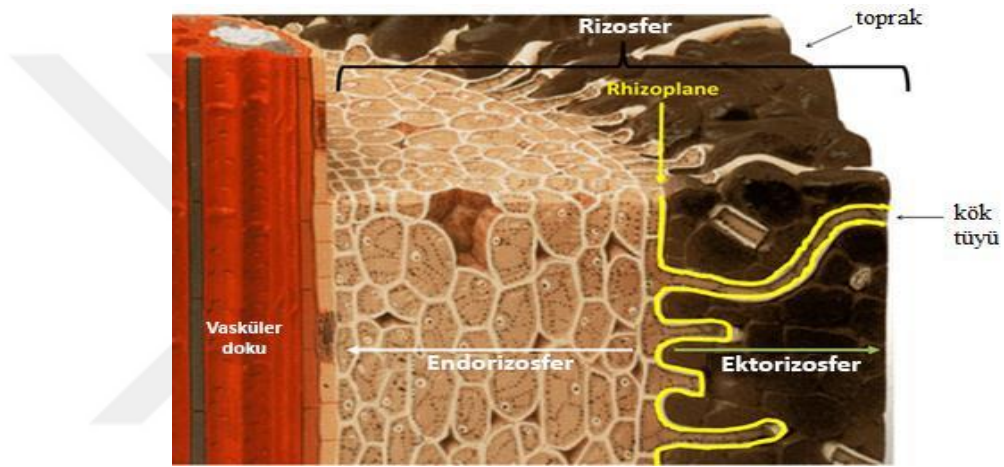
Rizosferin en önemli yönlerinden biri, besinlerin bitkiler tarafından alınmasını kolaylaştırma yeteneğidir. Rizosferdeki mikroorganizmalar, topraktaki organik madde ve mineralleri bitkiler tarafından alınabilecek formlara dönüştürebilir. Bazı mikroorganizmalar ayrıca atmosferik azotu tesbit ederek bitkilerin kullanabileceği bir forma dönüştürebilirler. Böylece rizosfer, bitki büyümesi için gerekli besinlerin mevcudiyetini iyileştirmeye yardımcı olur.

Ek olarak, rizosfer, bitkileri hastalık ve zararlılardan korumada çok önemli bir rol oynar. Rizosferde bulunan bazı yararlı mikroorganizmalar, kaynaklar için rekabet ederek, antibiyotik üreterek veya bitkilerin doğal savunmasını uyararak toprak patojenlerinin büyümesini baskılayabilir.

Rizosferdeki mikroorganizmalar ile bitkiler arasındaki bu faydalı etkileşimler, onların hastalıklara karşı direncini güçlendirmeye ve pestisit kullanımını azaltmaya katkıda bulunur.

Ayrıca, rizosfer mikrobiyal biyolojik çeşitliliğin önemli bir deposudur. Rizosferde bulunan mikroorganizmaların çeşitliliği, toprağın ekolojik dengesini korumak için gereklidir.

Rizosferdeki mikroorganizmalar ve bitkiler arasındaki karmaşık etkileşimler, organik maddenin ayrışması, besin döngülerinin düzenlenmesi ve toprak yapılarının oluşumu gibi kilit süreçleri teşvik ederek ekosistemlerin kararlılığına katkıda bulunur.



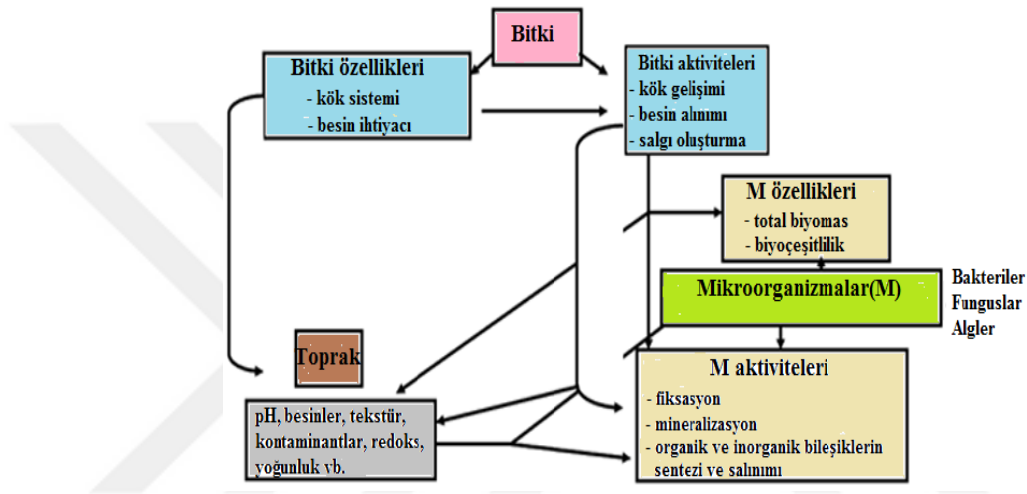
Şekil 2.1. Rizosferin yapısı gösteren bir kök kesiti. (McNear Jr, 2013).

Ziraatçılar ve toprak bilimcileri, kök bölgesindeki mineralizasyon, nitrifikasyon ve simbiyoz süreçleriyle ilgilenirler. Bitki patoloğları, kök-toprak arayüzündeki kök salgılarının ve mikrobiyal etkileşimlerin patojen popülasyonlarının üreme, çoğalmasını ve konukçu duyarlılığını etkileyebileceğini göstermiştir. Bu nedenle, mahsul üretimi üzerindeki rizosfer etkisinin tam olarak anlaşılması için multidisipliner bir yaklaşım gereklidir.

Tarımsal araştırmalardaki uzun olaylar dizisi, sonuçta rizosferin "keşfi", muhtemelen yıl boyunca Bolognalı Petrus Crescentius'un tarımla ilgili Roma edebiyatının ilk derlemesiyle başladı. E. W. Russell (1973), toprak koşulları ve bitki büyümesi açısından, tarımsal araştırmalardaki ilerlemelerin ilginç bir kısa tarihini değerlendirerek dönüm noktası olayları rapor etmiştir. Ancak bu erken olaylar doğrudan rizosferle ilgili olmamıştır.

2.1.1. Rizosfer Yapısının Organizmaları

Rizosfer, çoğunlukla mikroorganizmaların çeşitliliği ve mikrobiyal etkinlik açısından en yoğun bölgelerden biridir. Bu alanda, bakteriler, funguslar, protozoalar ve algler gibi birçok mikroorganizma ve makroskopik organizma bir arada bulunur (Barriuso et al., 2008). Rizosferdeki bitkiler, toprak mikrofaunası ve toprak mikroorganizmaları arasında önemli etkileşimler gerçekleşir (Şekil 2.2). Bu etkileşimler bitki büyümesi ve verimliliği üzerinde güçlü bir şekilde etkili olmaktadır (Antoun and Prevost, 2005; Kaur et al., 2016; Kaymak, 2010).



Şekil 2.2 Rizosferdeki etkileşimler (Ganfreda, 2015).

Rizosfer ortamında bitki büyümesini destekleyen iki organizma grubu funguslar ve bakterilerdir. Mikoriza adı verilen simbiyotik yapılar, birçok karasal bitki ve toprak fungusu arasında gerçekleşir. Bu bağlantıda fungus, hif strüktürleri sayesinde bitki tarafından topraktan su ve besin maddelerinin emilimini arttırırken bitki de fungusun gelişimi için gerekli karbonhidratları sağlamaktadır (Tarkka et al., 2008).

Arbüsküler mikoriza, bitkinin besin durumunu artırarak bitki büyümesini destekleyen etkiler gösterdiği uzun zamandır bilinmektedir. Rizosferik funguslar içinde *Fusarium*, *Penicillium simplicissimum*, *Phoma* spp, *Trichoderma* ve *Penicillium bilaii* bitki büyümesini destekleyen funguslardır.

Trichoderma ve onun gibi organizmalar hastalıklara karşı rezistans gösterirken, köklerle simbiyotik ilişkileri oluşturan arbüsküler mikorizal fungus (AMF) grubundan organizmalar, konukçu bitkideki besin düzeyini arttırır ve bitkinin sağlıklı büyümesine önemli ölçüde katkıda bulunur (Vessey, 2003; Chandanie et al., 2005. Chandane et al.,

2006; Saldajno ,2012).

Bitki büyümesini artıran fungusların kültür bitkileri üzerindeki faydaları sadece bitki büyümesini arttırmakla sınırlı kalmamakta, aynı zamanda onları fungus ve bakteri hastalıklarından korumaktadır (Özkoç vd., 2002; Erper, 2013)

2.2. Bitkilerin Endofitik Mikroorganizmalar

"Endofit" terimi, Yunanca, endon: iç ve phyte: bitkiden türetilmiştir. İlk defa De Babys (1866) tarafından, konukçu bitkinin canlı iç dokularında olumsuz bir etki yaratmadan büyüüp kolonize olan tüm mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır Carroll (1986), bu terimin kullanımını, patojenik funguslar hariç, bitki dokularında asemptomatik enfeksiyonlara neden olan organizmalarla sınırlandırır. Şu anda en çok kullanılan tanım, Pertini'nin (1991) tanımıdır ve burada Carroll'ın (1986) tanımını genişletmiş ve epifitik bir faza sahip endofitik organizmaların yanı sıra konukçularının içinde en azından bir süre yaşayabilen gizli patojenleri de dahil etmiştir. Bu endofit organizmalar hem bakterileri, arkeleri, fungusları hem de protistleri içerir; ancak funguslar en yaygın olanıdır (Patil et al., 2016; Yan, 2018). Bitki endofitik mikroorganizmaları, bitki dokularında onlara zarar vermeden bulunan özel bir mikroorganizma kategorisini ifade eder. Bu organizmalar, konukçu bitkilerle simbiyotik bir ilişki kuran bakteri, fungus ve virüsleri içerir. Bitkiler ve endofitleri arasındaki etkileşimler her iki taraf için de faydalı olabilir (Rajagopl, 1998).

Endofitler bitkilere birçok fayda sağlar. Antimikrobiyal veya böcek öldürücü özelliklere sahip spesifik metabolitler üreterek hastalığa ve zararlılara karşı bitki direncini arttırdıkları bilinmektedir. Bazı endofitler ayrıca kuraklık, tuzluluk veya besin bakımından fakir topraklar gibi stresli çevresel koşullara karşı bitki toleransını geliştirebilir. Bu etkileşimler, özellikle zorlu ortamlarda bitkilerin hayatta kalması ve büyümesinde çok önemli bir rol oynayabilir.

Buna karşılık bitkiler, endofitler için güvenli bir ortam ve gerekli besinleri sağlar. Bitki dokuları avcılara ve düşmanca çevre koşullarına karşı koruma sağlarken, şekerler ve diğer organik bileşikler endofitler tarafından büyüme ve metabolizma için kullanılır (Beram et al., 2016).

Bitki mikroorganizma endofitleri üzerine yapılan araştırmalar, sürdürülebilir tarımdaki potansiyelleri nedeniyle son yıllarda yoğunlaşmıştır. Bu yararlı mikroorganizmaların kullanımı, kimyasal pestisitlere olan bağımlılığı azaltabilir ve

ekin verimliliğini çevre dostu bir şekilde artırabilir.

Dahası, bitkiler ve endofitleri arasındaki etkileşimlerin incelenmesi, tıp ve biyoteknoloji dahil olmak üzere çeşitli alanlar için yeni moleküllerin ve yeni metabolik yolların keşfedilmesine de yol açabilir (Bayman and Porras-Alfaro, 2011).

2.2.1. Endofitik Funguslar

Son 30 yılda endofit ve endofitik fungus terimleri mikolojik literatürde canlı bitkilerin iç mikotasını tanımlamak için sıklıkla kullanılmıştır. Terimlerin kökeni on dokuzuncu yüzyıla kadar götürülebilse de çağdaş anlamları orijinalinden farklıdır (Large, 1940; Carroll, 1986). Terimler, belirli bir konak tipine, taksonomik bir konukçu grubuna veya işgal edilen doku tipine (örneğin, sistemik çim endofitleri, kabuk endofitleri) atıfta bulunmak için genellikle değiştiricilerle birleştirilir. Terimlerin çağdaş uygulamaları her zaman tutarlı değildir ve tüm araştırmacılar tarafından kabul edilmez (Petrini, 1991; Wennström, 1994; Saikkonen, 1998). Bununla birlikte, genel olarak terimler, görünüşte sağlıklı bitki dokusunu semptomsuz olarak işgal edebilen funguslar için geçerlidir. En geniş anlamda, endofitik funguslar, herhangi bir ani, açık olumsuz etkiye neden olmadan canlı bitki dokusunu kolonize eden funguslardır (Hirsch and Braun, 1992). Bu tanım, fungusların ve bitkilerin katıldığı simbiyotik etkileşimlerin neredeyse tamamını yani parasitizm, kommensalizm ve mutualizmi içerir.

Otsu bitkiler (esas olarak Poaceae) için, endofit kelimesi, belirli bir sistemik, patojenik olmayan simbiyoz tipini belirtmek için kullanılmıştır. Çim endofitleri, konukçularına, otçullara ve patojenlere karşı koruma gibi, uygunluklarını artıran bir dizi fayda sağlar (Clay, 1994; Saikkonen et al., 1998).

Taksonomik olarak bu funguslar öncelikle Balansiae'nin (*Clavicipitaceae*) Neotyphodium anamorflarıdır; serin mevsim otlarının yaprak, sap ve kök dokularında yoğun bir şekilde kolonize olurlar ve konukçularının tohumlarında bulaşırlar. Konaktaki sporlanma tamamen baskılanır ve konukçu ile fungus temelde tek bir organizma gibi birlikte işlev görür. *Lolium*, *Festuca* ve *pooid* çimenlerin diğer cinslerinin bu semptomsuz endofitleri, kısmen veya tamamen konukçu kısırlığına neden olan *Epichloë* türlerinden türetilen türler arası hibrit suşlardır (Schardl et al., 1994; Tsai et al., 1994).

Rezervuar görevi görür. Endofitik funguslar, havai bitki dokularında asemptomatik olarak gelişir ve tohumları yoluyla bir bitkiden diğerine dikey olarak bulaşır. Fungus endofitlerinin çeşitliliği ve sayısı mühim ölçüde değişir ve tespitleri abiyotik, biyotik ve deneysel etmenlere bağlıdır.

Ramawat ve Arora (2017) yaptıkları çalışmada, müteaddit araştırmacı aracılığıyla incelenen değişik bitki çeşitlerinin endofitler içerdiğini ve bu seçilmiş ortak endofitik organizmaların yanı sıra konukçu bitkilerinin tablo haline getirildiğini özetlemiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Bitkilerden izole edilen endofitik funguslar (Ramawat and Arora, 2017).

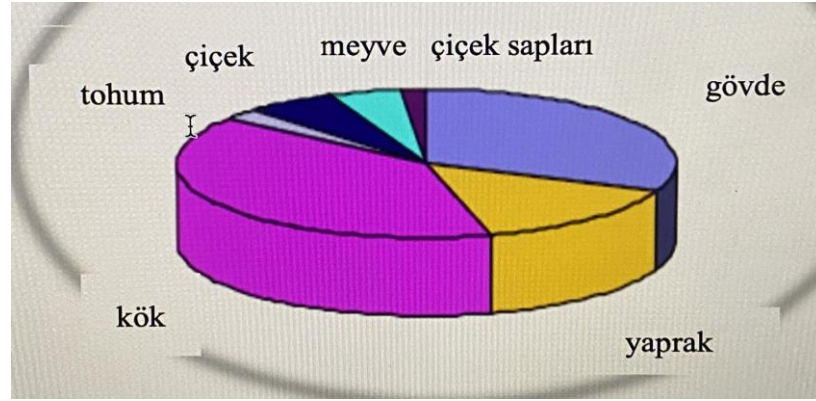
Endofitik Funguslar	Konukçu Bitki Türleri
<i>Acremonium sp</i>	<i>Taxus chinensis</i> <i>Huperzia serrata</i>
<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Datura stramonium</i> <i>Moringa olifera</i> <i>Prosopis chilensis</i>
<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Opuntia ficus indica</i> <i>Cinnamomum camphora</i> <i>Lycopersicum</i>
<i>C. herbarum</i>	<i>esculentum</i> . <i>Triticum aestivum</i>
<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Triticum aestivum</i> <i>Citrus plants</i> <i>Cinnamomum camphora</i> <i>Pasania</i>
<i>C. gloeosporiodes</i>	<i>Triticum aestivum</i> <i>Citrus plants</i> <i>Cinnamomum camphora</i> <i>Pasania</i>
<i>C. gloeosporiodes</i>	<i>edulis</i>
<i>Curvularia sp.</i>	<i>Datura stramonium</i> <i>Moringa olifera</i>
<i>Phyllosticta sp.</i>	<i>Citrus sp.</i> <i>Pasania edulis</i> <i>Coffea arabica</i> <i>Quercus variabilis</i> <i>Centella asiatica</i> <i>Panax quinquefolium</i> <i>Ginkgo biloba</i> L.
<i>Phomopsis sp</i>	<i>Tectona grandis</i> and <i>Samanea</i> , <i>Pasania edulis</i> <i>Ginkgo biloba</i> L. <i>saman</i> <i>Taxus chinensi</i>

2.2.1.1. Endofitik Fungusların Değişkenliği

Endofitik funguslar, farklı iklimlere, mevsimlere ve çevresel koşullara göre aynı konukçu türe göre değişir. Bitki dokuları ve organları arasında endofitik fungusların yaratmış olduğu bazı biyolojik farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıkların nedenlerini ve fonksiyonel önemini belirlemek maksadıyla daha çok araştırmaya gereksinim vardır. (Carroll, 1995).

Çalışmalar, bitkinin endofitik kolonizasyonunun artan sıcaklık, iklim değişikliği, uzun süreli kuraklık, azot birikimi ve artan karbondioksit benzer çevresel etmenlerden etkilenmiş olduğunu göstermiştir (Rudgers and Kannadan, 2008).

Yapılan çalışmalarda endofitik fungusların bitki organlarına göre farklı şekillerde olabileceği gösterilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Bitki organlarındaki endofitik fungusların lokalizasyon sıklığı (Bobuşova and Doolotkeldieva, 2008).

Bir konukçudaki endofitlerin dağılımı, çevresel etmenlerden ve türün veya konukçu dokunun yaşından etkilenmektedir. Benzer şekilde, bitkinin endofit topluluğunun yaprak kimyasından ve hava koşullarından etkilendiği bildirilmiştir (Rajagopal et al., 2010).

Anke ve Weber (2006), bitkilerin yapraklarında, köklerinde ve gövdelerinde değişik ikincil metabolitler üreten değişik endofitik fungusları izole etmişlerdir. Eş konukçudaki endofitik fungusların çeşitliliği, değişik çevresel koşullar altında artabilir ya da artmayabilir.

Dünyadaki pek çok ekosistem aynı zamanda genel biyolojik çeşitlilik ve çok sayıda endofit içerir. Nemli ve ılıman tropik ormanlar en çeşitli karasal ekosistemlerdir. Bu alanlarda birçok çalışma ve araştırma yapılmaktadır.

Bu çalışmalar sonucunda tropikal ormanlar yeni moleküler yapıların ve biyolojik namına faal bileşiklerin mühim bir kaynağıdır.

Yapılan çalışmalara istinaden mutedil ve tropikal bölgelerden izole edilmiş endofitlerin ürettiği biyoaktif natürel bileşiklerin sayısı istatistiksel anlamda karşılaştırıldığında, mutedil ve tropikal bölgelerden izole edilen endofitler arasında metabolik bir fark olduğu ortaya çıkmıştır.

Strobel ve Kharwar, 2011'nin yaptıkları çalışmada, tropikal endofitik fungusların daha etkili ve değişik bileşikler ürettiğini göstermişlerdir. Bu değerlendirme, ekosistemin endofitlerin genel metabolizmasında da belirleyici

olduğunu doğrulamaktadır.

2.2.1.2. Endofitik Funguslar Çeşitliliği

Endofitler, yaşam şekillerine göre zorunlu ya da fakültatif olarak sınıflandırılır. Zorunlu endofitler, büyüme ve hayatta kalma amacıyla konukçularına bağlıdırlar.

Tablo 2.2. Endofitik fungusların gruplandırılması (Stone et al., 2000).

Endofitik Fungusların Gruplandırılması
Likenlerin fungal endofitleri
Ağaç kabuğu endofitik fungusları
Endofitik <i>Clavicipitaceae</i> üyeleri Dikotillerin fungal endofitleri
Diğer sistemik fungal endofitler
Endofitik funguslar
Briyofitler ve eğreltilerin endofitik fungusları
Köklerin fungal endofitleri
Bitkilerin prokaryotik endofitleri (endofitik bakteriler ve aktinomisetler)
Ksilemin fungal endofitleri
Gal and kistlerin fungal endofitleri

Fakültatif endofitler konukçu bitkilerinin dışında var olan bir yaşam döngüsüne sahiptir. Stone ve arkadaşları (2000) da endofitik fungusların gruplandırılmasını (Tablo 2.2) te yapmıştır.

Grup 1: *Clavicipitaceae* endofitleri, ılık ve serin sezon otlarıyla ilgili *Clavicipitaceae* endofitleridir. Esas olarak Poaceae familyasına ve *Cyperaceae*'ye özgüdür ve çoğunlukla dikey endofitik tohumlardan enfeksiyon yoluyla kuşaktan kuşağa bulaşır. Bu grubun endofitleri genellikle bitki biyokütlesini artırır, kuraklığa tolerans sağlar ve hayvanlar için zehirli kimyasal bileşikler üretir.

Epichloë spp, *Claviceps spp*, *Cordyceps spp* ve *Balansia spp* gibi (*Ascomycoetes* ve *Hypocreales*)'e ait bazı fungusları içerir. Kolonize bitkiler her zaman bir fungus izolatu/genotipi barındırır. Patojenik ve semptomatik türlerden (tip I) karışık kombinasyonlara ve asemptomatik endofitlere (tip II ve III) uzanan üç tip sklavisiyat endofit vardır.

Grup (1) endofitler, tohum enfeksiyonları yoluyla esas olarak dikey ve yatay olarak yeni bireylere bulaşır. Grup (1) endofitler kuraklığa dayanıklılık sağlar, bitki biyokütlesini artırır ve otçullar ve hayvanlar için toksik kimyasallar üretir. Ancak bu

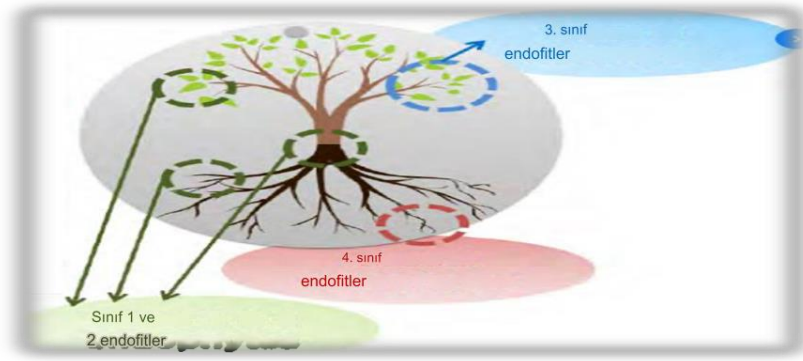
fungusların önemi konukçu genotipi ve çevre koşullarına bağlıdır (Selim, 2017).

Grup 2: Klaviküler olmayan endofitler çeşitlilik gösterir, yer altı ve hava dokularında büyüyebilir, dokuları geniş çapta kolonize edebilir. Farklı türler içeren 2. grup endofitlerin tamamı Dikarya üyeleridir (Basidiomycetes veya Ascomycetes). Aslında, bu endofit grubu, tek bir konukçu bitkiye özgüdür. Tohumlar, tohum kabukları veya rizomlarla dikey ve yatay olarak aktarılabilirler. Grup 2 endofitlerin üstün bir yönü, sıcaklık, tuzluluk ve pH gibi habitata özgü seçici baskılara karşı, habitata uyum açabasında olan konukçu bitkilere habitata özgü strese dayanma fırsatı sağlama yetenekleridir. Habitattan bağımsız olarak endofitler arasında faydalı ise habitata eklenir. (Selim, 2017).

Grup 3: Tek tek konukçu bitkilerde, dokularda ve popülasyonlarda yüksek doğrulukları nedeniyle özellikle dikkate değerdir. Tropikal ağaçların yapraklarıyla ilgili çok çeşitli endofit funguslarının yanı sıra vasküler olmayan bitkilerin, kozalaklı ağaçların, çekirdeksiz odunsu vasküler bitkilerin ve geniş biyomlarda otsu angiospermilerin çok farklı yer üstü doku paydaşını oluşturan grup (3) endofitler, arktik ve kuzey/antartik ormanlarda barınabilir ve birçok türe sahip olabilir. Ek olarak, otsu ve fotosentetik dokularda, grup (3) endofitler meyve ve çiçeklerde, ayrıca iç kabukta ve asemptomatik odunda bulunur. Grup (3) endofitlere kayıtlı aynı yaşam süresine sahip funguslar asemptomatik likenlerin içinde de bulunur ve bu duruma "endolikenik" funguslar denir. Çok lokalize enfeksiyonlar oluşturur. Bir konukçu doku veya bitki içindeki sınıf (3) endofitlerin çeşitliliği oldukça fazla olabilir (tek bir tropikal yapraktan >20 tür listelenirken (Selim, 2017).

Grup 4: Başlangıçta steril veya konidial askomiset funguslardır ve köklerde hücre içi ve hücreler arası hifler ve mikro sklerotlar gibi melanize bir yapı oluştururlar. Bu kök ilişkili ve steril funguslara 'Mycelium Radicus Atrovirens' denir. Tek tek bitkilerin içindeki endofitler yeterince değerlendirilmemiştir.

Ayrıca, konukçunun uygunluğunu, rizosfer yetkinliğini ve bulaşma modunu artırıp artırmadığı doğrulanmamıştır. Bu endofit sınıfı, mikorizal olmayan arktik, sıcaklık bölgeleri, alpin, tropikal, antarktik ve subalpin ekosistemler gibi konukçu bitkilerde bulunur (Selim, 2017).



Şekil 2.4. Endofitik fungusların gruplandırılması (Abdul Rahman and Nazir, 2018).

Fungus endofitlerinin çeşitliliği ve sayısı mühim ölçüde fark gösterir ve tespitleri abiyotik, biyotik ve tecrübi ertmenlere bağlıdır.

2.3. Bitki Seçimi ve İzolasyonu

Bitki seçimine rehberlik etmek için kullanılan yöntemlerin ve mantığın, tür, cins veya biyotip düzeyinde yeni endofitik mikroorganizmaları izole etmek için en iyi fırsatları sağladığının anlaşılması önemlidir. Dünyadaki bitki türlerinin sayısı çok fazla olduğu için, biyoaktivite sergileyen endofitlerin aranmasını hızla daraltmak için kreatif ve yenilikçi stratejiler kullanılmalıdır (Mittermeier, 1999). Endofit izolasyonu ve doğal ürün keşfi için her bitkinin toplanması için özel bir gerekçe kullanılmaktadır. Bu bitki seçim stratejisini birkaç hipotez yönetir:

- Eşsiz çevresel ortamlardan gelen bitkiler, özellikle sıra dışı bir biyolojiye sahip olanlar ve hayatta kalmak için yeni stratejilere sahip olanlar, çalışma için ciddi olarak değerlendirilir (Mittermeier, 1999).
- İlgilenilen belirli kullanımlar veya uygulamalarla ilgili etnobotanik geçmişi (yerli halklar tarafından kullanılan) olan bitkiler çalışma için seçilir. Bu bitkiler ya yerel halkla doğrudan temas yoluyla ya da yerel literatür aracılığıyla seçilir. Bu yaklaşım, katılımcı bir araştırma programı kapsamında yardımlarını belgeleyerek yerel/kabile halkına da fayda sağlayabilir.

Bilim etiği, özellikle yerel halkın bilgisinden yararlanıldığında, araştırmacının yalnızca parasal ve entelektüel çıkarlar elde etmesini kısıtlar. Bununla birlikte, belgeleme sırasında bilim adamlarının bilgi kaynağına veya yerel halka gereken önemi vermediği sıklıkla olur ve araştırma topluluğunun kutsallığını korumak için bu kontrol edilmelidir. Nihayetinde, botanik kaynağın iyileştirici güçlerinin aslında bitkinin doğal ürünleriyle değil, bitkide yaşayan bir endofitle ilgisi olabileceği öğrenilebilir.

- Endemik olan, alışılmadık bir uzun ömre sahip olan veya Gondwanaland gibi belirli bir antik kara kütlesini işgal etmiş bitkilerin de aktif doğal ürünlerle endofit barındırma olasılığı diğer bitkilerden daha fazladır.

- Büyük biyoçeşitliliğe sahip alanlarda yetişen bitkiler, aynı zamanda büyük biyolojik çeşitliliğe sahip endofitleri barındırma ihtimaline de sahiptir.

Hypericum perforatum (Sarı kantaron) yara iyileşmesi benzer birçok tıbbi faydası olan mühim bir bitkidir. Bu hedefle giderek yaygınlaşan bir bitki olan çeşitli ilaç ve tıbbi yardım ürünlerinin üretimi yapılmakta, bu bitki yetiştirilmekte ve tıp bebek çalışmaları da yapılmaktadır. Mikrobiyomun bitki yetiştiriciliğindeki ehemmiyeti her gün arttırıyor, söz konusu mikrobiyomun fungus bileşenlerinin bu çalışma ile belirlenmesi, bu bitkinin yetiştiriciliğine mühim katkılar sağlama potansiyeline maliktir. Bitkilerin üretimi ve yetiştirilmesinde tohum ekimi ve uygun koşullarda çimlenmesi önemli aşamalardır. Ancak tohumların çimlenmesi ve gelişmesi teknik hatalardan, ekolojik koşullardan ve onları olumsuz etkileyen tohumların yapısından kaynaklanmayabilir. Tohumların çimlenmesi, gelişimi ve dinlenmesi arasındaki bağlantıları araştırmak ve açıklamak maksadıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Tohumların özellikleri bitkinin cinsine ve çeşidine binaen değişmekte olup, çevre koşulları dikkate alınarak tohumların çimlenmesi için uygun koşullar altında uygulamalar yapılmaktadır. Bu sebeple uygun metotlar tohum çimlenmesini doğrudan ve dolaylı olarak olumlu yönde etkileyebilir (Mittermeier, 1999).

2.3.1. Endofitlerin İzolasyonu

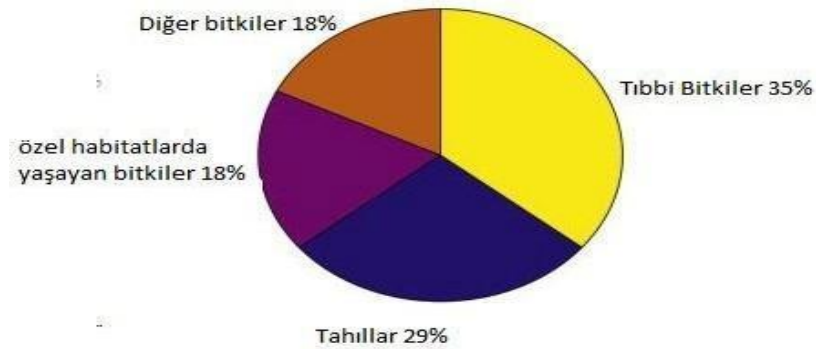
Endofit izolasyonu, bitki dokularında yaşayan mikroorganizmaların incelenmesine ve toplanmasına odaklanan büyüleyici bir araştırma alanıdır. Endofitler, konukçu bitki ile simbiyotik bir ilişki kurmuş bakteri, fungus ve virüs gibi organizmalardır (Mittermeier, 1999).

Bitki dokusunda zarar vermeden bulunurlar ve hatta hastalıktan korunma, gelişmiş büyüme ve çevresel streslere karşı direnç açısından faydalar sağlayabilirler. Endofitlerin izolasyonu tipik olarak uygun konukçu bitkilerin seçimini, ardından iç mikroorganizmaları çıkarmak için bitki dokularının toplanmasını ve kültürünü içerir. Çalışmanın amacına göre bitkinin kök, gövde, yaprak veya çiçek gibi farklı kısımlarından numuneler alınabilir (Mittermeier, 1999).

Endofitler izole edildikten sonra, çeşitliliklerini, işlevlerini ve uygulama potansiyellerini belirlemek ve incelemek için karakterizasyon teknikleri kullanılır. PCR ve DNA dizileme gibi moleküler yöntemler genellikle genetik yapılarını analiz etmek ve filogenetik ilişkilerini belirlemek için kullanılır. Endofitlerin metabolit, enzim veya biyoaktif madde üretme kapasitelerini değerlendirmek için fonksiyonel testler de yapılabilir. Endofitlerin izolasyonu, tarım, tıp ve endüstri gibi çeşitli alanlardaki potansiyelleri nedeniyle artan bir ilgi görmektedir. Ekinleri patojenlerden korumak için biyokontrol ajanları olarak, yeni ilaç kaynakları olarak veya endüstriyel öneme sahip bileşiklerin üreticileri olarak kullanılabilirler. Dahası, endofitlerin incelenmesi, bitkiler ve mikroorganizmalar arasındaki simbiyoz mekanizmalarını ve bunun bitki ekosistemlerinin sağlığı ve üretkenliği üzerindeki etkisini daha iyi anlamak için büyüleyici bakış açıları sunar. (Mittermeier, 1999).

2.4. Tıbbi Bitkilerin Endofitik Fungusları

Tıbbi bitkilerin endofitik fungusları umut verici ve büyüleyici bir araştırma alanıdır. Bu mikroorganizmalar, tıbbi bitkilerin dokularında onlara herhangi bir zarar vermeden yaşarlar ve farmasötik öneme sahip biyoaktif bileşikler üretme potansiyeline sahiptirler. Endofitik fungusların keşfinin birçok avantajı vardır, çünkü şifalı bitkiler genellikle geleneksel ve modern tıpta kullanılan aktif maddelerin değerli bir kaynağıdır. Endofitik fungusların tıbbi bitkilerden izolasyonu genellikle uygun konukçu bitkilerin seçimini ve ardından doku içindeki mikroorganizmaları belirlemek için bitki dokularının toplanmasını ve kültürünü içerir. (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Biyolojik aktivite yönünden test edilen izolatların konukçalarına binaen dağılımı

Numuneler daha sonra endofitik fungusları spesifik olarak izole etmek için seçici kültür tekniklerine tabi tutulur.

Bu funguslar izole edildikten sonra türleri tanımlamak, genetik çeşitliliklerini incelemek ve biyoaktif potansiyellerini değerlendirmek için moleküler ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak karakterize edilebilir. (Mittermeier, 1999).

Tıbbi bitkilerin endofitik fungusları, genellikle ilginç farmakolojik aktiviteler sergileyen alkaloidler, terpenler, flavonoidler ve polifenoller gibi çeşitli metabolitleri üretme yetenekleriyle tanınır. Bu biyoaktif bileşikler, antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antiinflamatuvar özelliklere ve hatta immünomodülatör etkilere sahip olabilir. Bu nedenle, endofitik fungusların incelenmesi, daha güvenli ve daha etkili ilaçların geliştirilmesine yol açabilecek yeni potansiyel terapötik molekülleri keşfetme imkanı sunar. (Mittermeier, 1999).

Sonuç olarak, tıbbi bitkilerde endofitik fungusların keşfi, önemli potansiyele sahip heyecan verici bir araştırma alanını temsil etmektedir. Bu funguslardan yeni biyoaktif bileşiklerin tanımlanması, hastalıkların tedavisi için yeni bakış açıları sunarak ve geleneksel şifalı bitkilere daha fazla değer katarak tıp alanındaki yeniliklere katkıda bulunabilir. (Nasim et al., 2010)

2.4.1. Endofit Kaynağı Olarak Sarı Kantaron Bitkisi

Hypericum perforatum L. (St. John's Wort, Hypericaceae), dünya çapında 400 türü bulunan *Hypericum* cinsinin bir üyesidir (Mabberley, 1987). Avrupa, Batı Asya, Kuzey Afrika, Madeira ve Azorlar'a özgüdür ve başta Kuzey Amerika ve Avustralya olmak üzere dünyanın birçok yerinde doğal olarak yetişmektedir.

Bitki, yolluklar aracılığıyla veya muazzam tohum üretimi yoluyla hızla yayılır ve meraları, bozuk alanları, toprak yolları, yolların ve otoyolların kenarlarını ve seyrek ormanları istila edebilir. Son yıllarda, Sarı Kantaron St. (John's Wort, Hypericaceae) türevli ürünlerin tüketimi önemli ölçüde artmıştır ve bu anlamda dünyada en çok tüketilen tıbbi bitkilerden biridir (Wills et al., 2000). Bitki, cilt yaraları, egzama, yanıklar, sindirim sistemi hastalıkları ve psikolojik rahatsızlıklar dahil olmak üzere çok çeşitli tıbbi uygulamalara sahiptir (Butterweck, 2003).

Bu inceleme, *H. perforatum*'un ham ekstrelerinin ve bu ekstraktlardan izole edilen antimikrobiyal bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi hakkındaki literatürü kapsamaktadır. Antibakteriyel aktivite için, yalnızca minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC) 1 mg mL⁻¹ (1000 g mL⁻¹) veya daha az olan ekstraktları açıklayan raporlar seçilmiştir. Literatür, 1 mg mL⁻¹'in üzerinde MIC değerleri ile

antibakteriyel aktivite gösteren ekstraktları açıklayan makalelerle doludur.

Bu, klinik açıdan çok az alakalıdır, çünkü bir dizi nispeten inert maddenin bu kadar yüksek bir konsantrasyonda antibakteriyel aktivite göstermesi muhtemeldir.

Daha önceki sınıflandırmalarda, *Hypericum* L. ve diğer ilgili cinsler, Clusiaceae (Guttiferae) familyasına Hypericoideae alt familyası altında dahil edilmiştir (Engler, 1925; Thorne, 1976 [Hypericaceae adını kullanarak]; Cronquist, 1981). Bununla birlikte, Hypericoideae'nin diğer Clusiaceae ile monofiletik bir grup oluşturmadığına dair artan kanıtlar vardır (Gustafsson et al., 2002) ve bunlar artık Stevens (2006) tarafından yapılan sınıflandırma sisteminde ayrı bir familya, yani Hypericaceae familyası içinde değerlendirilmektedir.

Bitki tüysüz çok yıllık, dik ve tabanda genellikle odunsudur. Yapraklar oval, doğrusal, sapsız, zıttır ve yarı saydam glandüler noktalar içerir. Çiçeğin beş kısa, neredeyse eşit, bütün, birbirine geçmiş, temelde bitişik çanak yaprakları ve beş ısrarla solmakta olan sarı yaprakları vardır. Yumurtalık üstün, kapsiküler ve üç biçimlidir, oysa stamenler üçlü demetler halinde düzenlenmiş çoktur. Çiçekler çoktur, Haziran'dan Eylül'e kadar çiçek açan dallı simler halinde düzenlenmiştir (Hobbs, 1998).

Tablo 2.3. *Hypericum perforatum* bitkisinin sistematigi (Altınterim and Aksu, 2015).

Bitkinin sistematigi
Divisio: Spermatophyta
Subdivisio: Angiospermae
Clasis: Dicotyledoneae
Subclasis : Magnolipsida
Ordo: Theales
Familya : Clusiaceae (Hypericaceae, Guttiferae)
Genus: <i>Hypericum</i>
Species: <i>Hypericum perforatum</i> L.

2.4.1.1. Sarı Kantaron Bitkisinin Endofitik Fungusları ile Yapılan Çalışmalar

PGPF, yeni biyoaktif natürel ürünlerin önemli bir kaynağını temsil eder ve şifalı bitkilerle ilgili olanlar son zamanlarda özel ilgi konusu olmuştur. Endofitik mikroorganizmalar üzerinde çok fazla araştırma yapılmış olmasına rağmen, tıbbi bir bitki olarak Sarı Kantaron' un endofitik fungusları üzerine yapılan çalışmaların yeterli

olmadığına dikkat edilmelidir.

Ancak bugüne kadar bu bitkiye ait çok az sayıda endofitik mikroorganizma belgelenmişti. Daha fazla biyoaktif metabolit üreten endofitleri bulmak maksadıyla Sarı Kantaron 'un endofitik funguslarının antimikrobiyal ve izolasyonu ile ilgili araştırmalar yapılmalıdır.

Khosa ve Bhatia (1982) taraflarından belirtildiği gibi, Sarı Kantaron bitkilerinin çeşitli organlarından endofitik funguslar izole edilmiştir. Bununla birlikte, Sarı Kantaron 'dan izole edilmiş endofitik fungus *Thielavia subthermophila* daki emodin ve hiperisin'in olası mikrobiyal mekanizması, 28S rDNA ve ITS-5.8S rDNA'nın analizleri ile tespit edilmiştir.

Zarroug ve arkadaşları (2015), farklı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda Sarı Kantaron'daki naphtodiantron, hiperisinin, antidepresan ve antikanser bileşenlerinin yüzyıllardır kullanılan *Hypericum* (*Clusiaceae*) türünün asıl bileşenlerinden biri olduğunu bir inceleme makalesinde değerlendirmişlerdir. Bu komponenti monoamin oksidaz (MAO) inhibitör aktivitesine ve reseptörlere karşı antidepresan tesirine katkıda bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Dey ve arkadaşları. (2019) ise, Sarı kantaron dan izole edilmiş PGPF izolatlarının, fosfat çözme özelliği, IAA üretimi, amonyak üretimi, HCN üretimi vb. gibi bitki büyümesini teşvik edici özelliklerini incelenmişlerdir. Daha sonra, söz konusu izolatlar 18s r-RNA dizilimi ile seçilmiş ve tanımlanmışlardır.

Filogenetik ağacın hazırlanmasının ardından, Sarı Kantaron un PGPF fungus suşunun *Aspergillus terreus* (MCC 1819) olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca, bu PGPF'nin uygulanmasının *Aloe barbadensis*'in büyüme ve gelişmesini de arttırdığı da gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Tıbbi bitkilerde belgelenmiş fungus türlerinden sentezlenen zehirli maddeler (Wielguszi and Irzykowska, 2017).

Endofitik türleri	Mikotoksinler	Konukçu tıbbi bitkiler
Alternaria	Alternariol Monomethyl	<i>Salvia officinalis L.</i>
	Tenuazonic acid Aflatoxin	<i>Mentha piperita L.</i>
	Altenuene	<i>Hypericum perforatum L.</i>
	Altetoxins I, II, III	<i>Ginkgo biloba L.</i>
Aspergillus	Ochratoxin	<i>Matricaria chamomilla L.</i>
	Fumagilin	<i>Melissa officinalis L.</i>
	Gliotoxin	<i>Mentha piperita L.</i>
	A Asp-hemolysin	
Fusarium	Helvalic acid	
	Fumitrenogin	
	Zearalenone	<i>Hypericum perforatum L.</i>
	Trichotecenes	<i>Ocimum basilicum L.</i>
	Fumonisin	<i>Melissa officinalis L.</i>
	Moniliformin Aflatoxin	<i>Matricaria chamomilla L.</i>
		<i>Mentha piperita L.</i>
		<i>Cannabis sativa L.</i>
		<i>Angelica archangelica L.</i>
		<i>Ginkgo biloba L.</i>
Penicillium	Patulin	<i>Valeriana officinalis L.</i>
	Citrinin	<i>Salvia officinalis L.</i>
	Penicilic acid	<i>Hypericum perforatum L.</i>

2.5. PGPF 'lerin Bitki Gelişimindeki Doğrudan Etki Mekanizmaları

PGPF'lerin (Bitki Büyüme Destekleyicileri) doğrudan etki mekanizmaları, bitki gelişiminde çok önemli bir rol oynar. PGPF'ler, toprakta bitki kökleri ile simbiyoz oluşturan faydalı mikroorganizmalardır. Anahtar mekanizmalardan biri, baklagillerin köklerinde nodüller oluşturan rhizobia gibi birleştirici bakteriler tarafından atmosferik azotun tesbit edilmesidir (Nehra and Sahara, 2011).

Bu, bitkilerin büyüme ve protein oluşumu için gerekli bir element olan azotun özümlemelerini sağlar. Ek olarak, PGPF'ler, kök gelişimini, doku büyümesini ve organ

oluşumunu düzenleyen oksinler ve sitokininler gibi bitki büyüme hormonları üretir. Bu hormonlar hücre bölünmesini, köklerin ve gövdelerin uzamasını ve özelleşmiş hücrelerin farklılaşmasını destekler. PGPF'ler ayrıca organik bileşikler parçalayan ve bitki için gerekli elementleri serbest bırakan enzimler salgılayarak fosfor ve demir dahil olmak üzere besin alımını uyarır. Ayrıca, toprak patojenlerinin büyümesini engelleyen antimikrobiyal bileşikler üreterek bitkilerin bağışıklık sistemini güçlendirirler. Bu doğrudan etki mekanizmaları aracılığıyla, PGPF'ler bitki büyümesini, hastalık direncini ve stres toleransını iyileştirerek sağlıklı ve üretken bitki gelişimine katkıda bulunur. (Kandavel and Sekar, 2010)

2.5.1. İndol-3-asetik asit (IAA)

Oksinler veya giberellinler gibi fitohormonların üretimi. İndol-3-asetik asit (IAA) en yaygın bitki oksinidir ve bitki büyüme ve gelişiminin çeşitli yönlerini düzenler. Ayrıca bakteri, fungus ve maya gibi mikroorganizmalar, bitkilere benzer IAA üretme yeteneklerine sahiptir.

IAA, oksin sınıfının en yaygın bitki hormonudur ve bitki büyümesi ve gelişiminin çeşitli yönlerini düzenlediği için, sürdürülebilir tarım için bitki büyümesini ve korumayı teşvik etmek için IAA üreten fungusları geliştirme potansiyelinden yararlanmak için küresel olarak araştırmalar devam etmektedir. Filogenetik kanıtlar, IAA biyosentezinin bakteri, mikroalg, fungus ve bitkilerde bağımsız olarak geliştiğini göstermektedir.

IAA çok çalışılanlardan biri olup çok yaygın bir oksindir, IAA çoğu bilimsel yayında birbirinin yerine işlitelir (Nehra and Sahara, 2011). IAA, PGPF 'nin birçok üyesi tarafından oluşturulan değerli bir fitohormondur.

İndol-3-asetik asit, bitki hücrelerinin bölünmesinden, farklılaşmasından ve büyümesinden farklılaşmasından, ayrıca yumru köklerin gelişmesinden ve tohumların uyarılmasından sorumludur.

Artan kök gelişimi ve ksilem oranı, vejetatif gelişim sürecinin kontrolü, yanal ve ardışık kök oluşumunun başlatılması; ışığın, yerçekiminin ve çiçeklenme tepkisinin aracılık etmesi, çeşitli metabolitlerin biyosentezi, pigment oluşumu, fotosentez ve stres koşullarına direnç benzer etkileri vardır (Viveros-Martinez et al., 2011; Goswami et al., 2016; Gupta, 2015).

Funguslar triptofandan triptofana bağımlı yollarla indol-3-asetik asit sentezler. Kök salgılarında yaygın olarak bulunan bir amino asit olan triptofan, funguslarda IAA biyosentezinin ana öncü molekülü olarak tanımlanmıştır. IAA 'nın PGPF ile biyosentezi, indol ve -3-asetik aldehit indol-3-piruvik asit sayısı ile gerçekleşir. En faydalı funguslar, IAA'yı indol-3-piruvik asit yoluyla sentezler (Patten and Glick, 1996; Kaymak, 2010).

2.5.2. ACC deaminaz ve Etilen aktivitesi

ACC deaminaz enziminin aktivitesi ve etilenin düzenlenmesi, bitki gelişiminde iki temel süreçtir. ACC deaminaz, bitki köklerini kolonize eden rizobakteriler gibi bazı faydalı mikroorganizmalar tarafından üretilen bir enzimdir. Bu enzim, bir etilen öncüsü olan ACC'yi (1-aminosiklopropan-1-karboksilat) amonyak ve a-ketobutirata ayırır. Etilen ise birçok büyüme ve gelişme sürecinin düzenlenmesinde rol oynayan bir bitki büyüme düzenleyicisidir. Etilen özellikle meyve olgunlaşmasını, yaprak yaşlanmasını ve stres tepkisini destekler.

Bununla birlikte, fazla etilen bitkiler üzerinde çiçek kürtajı, yaprakların sararması ve erken meyve dökümü gibi olumsuz etkilere neden olabilir. Bitkilerdeki ACC deaminaz aktivitesi, ACC bozunmasını teşvik ederek etilen üretimini azaltır. Bu, etilenin olumsuz etkilerini hafifletmeye ve sağlıklı büyümeyi desteklemeye yardımcı olur. ACC deaminaz, etilen seviyelerini düşürerek, bitki organlarının erken yaşlanmasını önlemeye, çevresel strese karşı direnci artırmaya ve meyve raf ömrünü uzatmaya yardımcı olur.

Ek olarak, ACC deaminaz, fungus patojenleri tarafından üretilen etilenin olumsuz etkilerini azaltmak için bir biyokontrol stratejisi olarak kullanılabileceği için tarımda özel bir öneme sahiptir.

Enfekte dokularda etilen üretimini azaltarak hastalıkların yayılmasını sınırlayabilir ve bitki direncini destekleyebiliriz. Özet olarak, ACC deaminaz aktivitesi ve etilen düzenlemesi, bitki büyümesini, olgunlaşmasını ve strese tepkisini etkileyerek bitki gelişiminde çok önemli bir rol oynar. Bu mekanizmaları anlamak ve kullanmak, tarımsal üretimi, mahsul kalitesini ve bitki ürünlerinin raf ömrünü iyileştirir.

2.5.3. Fosfat Çözünürlüğü

Fosfatların çözünürlüğü, bitkiler tarafından fosforun mevcudiyeti ve alımında çok önemli bir rol oynar. Fosfor, bitki büyümesi ve gelişmesi için gerekli bir

elementtir. Bununla birlikte, toprakta bulunan fosfatların çoğu, kalsiyum ve demir fosfatlar gibi az çözünür formdadır. Fosforun kökler tarafından alınabilmesi için, genellikle fosfat iyonları ($H_2PO_4^-$ ve HPO_4^{2-}) şeklinde çözünür bir forma dönüştürülmesi gerekir. Bakteriler ve mikorizal funguslar gibi yararlı toprak mikroorganizmaları, çözünmeyen fosfatları parçalayan ve çözünürlüklerini artıran enzimler salgılayabilir.

Fosfatların bu şekilde çözünmesi, bitkiler tarafından kullanılabilirliğini artırır, böylece bitki büyümesi için fosforun daha iyi emilmesine ve kullanılmasına izin verir (Sahra and Nehra, 2011; Gupta et al., 2015).

Toprak mikroorganizmalarının %20 ila 40'ının fosfatı çözebileceği ve bunların önemli bir kısmının rizosferin toprağından izole edilen funguslar olduğu tahmin edilmektedir (Goswami et al., 2016). *Fusarium* gibi bazı organizmalar fosfatı bitkiler için çözünür hale getirir (Solano, 2014).

Toprakta bulunan PGPF' ler, kullanılamaz fosfor formunu bitkinin alabileceği bir forma dönüştürmek için farklı stratejiler kullanır. PGPF fosfat, protonlar, hidroksil iyonları, organik asit anyonları, CO_2 gibi kompleks veya mineral çözücü bileşikler salgılar. Hücre dışı enzimlerin salınmasıyla (fosfatın biyokimyasal mineralizasyonu) ve substratın bozunması sırasında fosfatın salınmasıyla (fosfatın biyolojik mineralizasyonu) çözülür (Gupta et al., 2015).

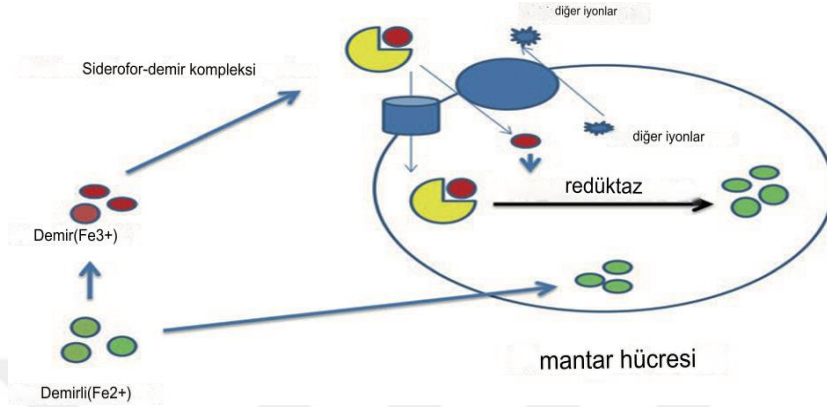
2.5.4. Siderofor üretimi

Sideroforlar yoluyla demir elde ederek, funguslar bitki büyümesini destekleyebilir, besin alımını artırabilir ve demir eksikliği semptomlarını hafifletebilir. Ayrıca bu funguslar, büyümeleri ve çoğalmaları için çok önemli olan demire erişimlerini sınırlayarak bitki patojenlerinin baskılanmasına da katkıda bulunabilir.

Sideroforlar, mikroorganizmaların çoğu, özellikle bakteri ve funguslar tarafından üretilen düşük moleküler ağırlıklı organik bileşiklerdir. Sideroforların birincil rolü, demiri enerjiye bağlı bir süreçle hücre zarı boyunca şelatlamak ve taşımaktır.

Demirin ferrik formu Fe_{3+} , 7.35-7.40 fizyolojik pH'da çözünmez. Bu tür ortam koşullarında mikroorganizmalar, Fe_{3+} iyonuna yüksek affinite gösteren ve siderofor – Fe_{3+} iyon kompleksleri oluşturan sideroforlar üretirler.

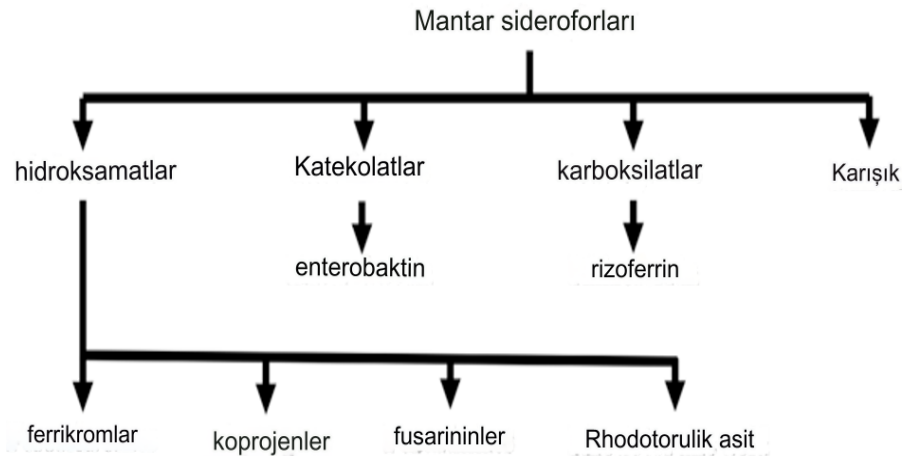
Bu kompleksler, hücre zarından sistole taşınır, burada Fe_{3+} iyonu ferroz iyon, Fe_{2+} iyonu hemen alım için indirgenir (Şekil 2.26). Demir taşınmasının yanı sıra, sideroforlar mikrobiyal ekolojide, tarımda, ağır metal kirliliğinin detoksifikasyonunda, fitopatogeneizde ve daha pek çok alanda uygulanmaktadır.



Şekil 2.6. Sideroforlar yoluyla demir taşınmasının şematik gösterimi.

Fungal sideroforlar, Fe_{3+} iyon koordinasyonu için oksijen ligandı oluşumuna dayalı olarak dört ana kategoriye (hidroksamatlar, katekolatlar veya fenolatlar), karboksilatlar ve karışık) ayrılır.

Bazı fungus türleri, dört genel türün dışında hidroksamat sideroforları salgılar. Çeşitli siderofor türlerinin üretimi, fungusların morfolojisine bağlıdır. Hidroksil ferrikrosin, konidial sporlar içinde sentezlenir ve ferrikrosin siderofor, filamentli hif büyümesi sırasında salınır. Bu sideroforlar, fungusların uygun kısımlarında demirin depolanması ve dağıtılmasından sorumludur. Katekolat sideroforlar enterobaktini içerir. Karboksilat sideroforlar arasında rizoferrin bulunur (Şekil 2.7)



Şekil 2.7. Fungal sideroforların sınıflandırılması.

2.6. PGPF 'lerin Bitki Büyümesindeki Dolaylı Etki Mekanizmaları

2.6.1. Uyarılmış sistemik dayanıklılık

İndüklenmiş sistemik direnç (SRI) adı verilen mekanizma sayesinde, bitki büyümesini destekleyen bazı funguslar, bitkideki patojenlerin neden olduğu hastalıkları azaltabilir (Van Loon et al., 1998).

SRI, farklı patojen türlerine karşı etkilidir. Bazı fungusların bitki kökleri ile ilişkisi nedeniyle bazı funguslar, virüslere ve patojenik bakterilere karşı mukavemet oluşur. (Compant et al., 2005)

Fitohormonlar PGPF (bitki büyüme destekleyicileri), özellikle sistemik direnci indükleyerek bitki büyümesi ve gelişmesi üzerinde dolaylı etkiler gösterir. PGPF'ler tarafından etkinleştirilen bu savunma mekanizması, bitkilerin patojenler ve zararlı organizmaların saldırılarına karşı dirençlerini geliştirmelerini sağlar. (Goswami et al., 2016)

Bir bitki PGPF'lere maruz kaldığında, bu maddeler bir dizi bağışıklık tepkisini tetiklemek için bir sinyal ajanı görevi görür. PGPF'ler, antimikrobiyal enzimler, lipid bağlayıcı proteinler, fitoaleksinler ve savunma hormonları gibi çeşitli savunma moleküllerinin üretimini aktive eder. (Goswami et al., 2016). Bu bileşikler bitkinin savunma bariyerlerini güçlendirerek patojenlerin kolonileşmesini ve hastalığın yayılmasını zorlaştırır. PGPF'lerin neden olduğu sistemik direnç, fitohormon uygulama alanıyla sınırlı değildir, bitki boyunca yayılır. PGPF'ler, genel bitki koruması sağlayan savunma hormonlarının üretimini ve dolaşımını uyarır. Ek olarak, PGPF'ler, antioksidan enzimlerin sentezini ve abiyotik streslere karşı direnç için yararlı olan ikincil metabolitlerin üretimini teşvik eder. (Compant, 2005).

PGPF'lerin dolaylı etkileri için bir başka anahtar mekanizma, bitkilerin hormonal dengesini modüle etme yetenekleridir. PGPF'ler, oksin, sitokinin, etilen ve absisik asit gibi bitki hormonu sinyal yolları ile etkileşime girer.

Bu etkileşimler bitki büyümesini, hücre farklılaşmasını ve gelişimini etkiler. (Goswami et al., 2016). Örneğin, PGPF'ler hücre bölünmesini ve kök büyümesini uyurabilir, böylece besin alımını teşvik edebilir. (Compant et al., 2005).

Ayrıca çiçeklenmeyi, yaşılanmayı ve meyve oluşumunu düzenleyerek mahsul verimini etkileyebilirler. Sonuç olarak, PGPF'lerin indüklenmiş sistemik direnç ve

hormonal dengenin modülasyonu gibi dolaylı etki mekanizmaları, bitki büyümesi ve gelişmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

Bu mekanizmalar, bitkilerin biyotik ve abiyotik streslerle başa çıkma yeteneklerini artırarak sağlıklarını ve üretkenliklerini geliştirir. Bu mekanizmaları anlamak, sürdürülebilir mahsul yönetimi stratejileri geliştirmek ve tarımsal performansı iyileştirmek için çok önemlidir (Goswami et al., 2016).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Test Edilen Endofitik Fungusların İzole Edilmesi

Sarı Kantaron (St. John's Wort) rizosferindeki fungus topluluklarının, özellikle de siderofor üretebilenleri araştırılması, bu fungusların bitkinin genel sağlığına ve tıbbi özelliklerine olan potansiyel katkılarına ışık tutabilir.

Sarı Kantaron rizosferinde sadece siderofor üreten fungusları değil fosfat çözebilen, IAA üreten, patojen bakterileri ve patojen fungusları gelişimine inhibe etme yeteneğine sahip fungusları ortaya çıkarmayı amaçladık. Önceki çalışmada (Gülsina, 2020) *Hypericum perforatum* bitki köklerinden 28 endofitik fungus izolatu elde edilmiştir. Söz konusu çalışmada bu izolatların moleküler olarak karakterizasyonları yapılmıştır.

Bu çalışmada ise, siderofor üretimi, ACC deaminaz aktivitesi, Fosfat çözümlülüğü ve IAA üretimi test etmek ve diğer bazı özelliklerini belirlemek için 10 tane endofitik fungus kullanıldı.

3.1.1.1 Sarı Kantaron'dan İzole Edilen Endofitik Fungusların Moleküler Özellikleri

Tablo 3.1 *Hypericum perforatum*'dan izole edilen endofitik fungusların moleküler özellikleri

İzolatlar	Endofitik fungusların türü	BLAST % benzerlik değerleri	GenBank No.
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	100%	MH862424.1
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	100%	MH855179.1
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	100%	MH855103.1
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	100%	MH864460.1
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	100%	MH864013.1
D15	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	100%	KC343174.1
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	100%	MH865933.1
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	100%	MH864782.1
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	100%	MH865147.1
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	100%	MH855270.1

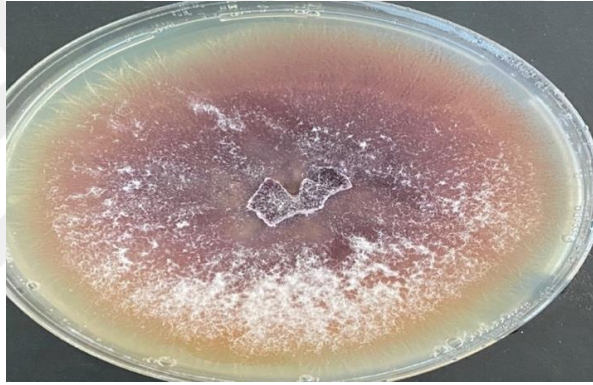
3.2. Yöntem

3.2.1. Sarı Kantaron Bitkisinden İzole Edilen Fungusların Aktifleştirilmesi

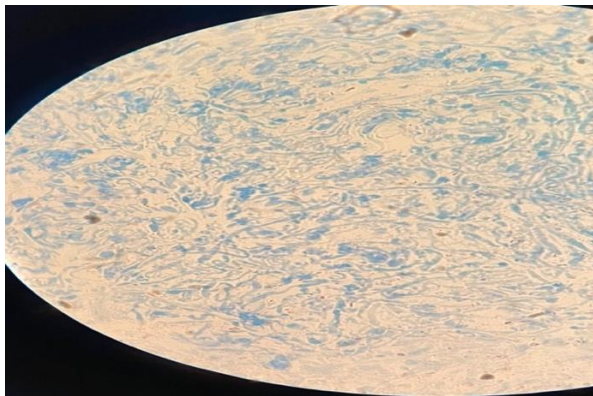
İzole edilen endofitik fungusları aktive etmek için petri kapları içindeki PDA besiyeri kullanıldı ve 5 gün inkübasyona bırakıldı ve bazı kültürlerin kültürel ve mikroskopik özellikleri belirlendi.

Fusarium sp. F 3

PDA ortamında kültürlen, F-3 izolatu. Umumi olarak kültür kolonilerinin rengi kırmızı, ortamda mor pigmentler oluşturan izolat ve miselyum beyazdan pembeye değişen yoğunlu (Şekil 3.1). Sklerozyumlar genellikle ortama, Petri kabının yüzeyine, gruplanmış bir halka şeklinde gömülü veya farklı şekillerde dağılmış olarak gözlemlendi. Sklerozyumun çapı ortalama 0,2 ila 0,3 mm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1. PDA besiyerindeki *Fusarium F 3* izolatının koloni morfolojisi.



Şekil 3.2. Mikroskop altında *Fusarium F 3* izolatı (x 100).

Fusarium lateritium F 5

Genellikle koloninin rengi toruncudur ve hava hifleri oldukça iridir. Miselyum, PDA ortamının altında ve yüzeyinde kesif bir şekilde toplanmış .

Renginin toruncu ile beyaz arasında değiştiği belirlenmiştir (şekil 3.3). Sklerozyumun apı ortalama 0,2 ila 0,3 mm olarak tespit edilmiştir.



şekil 3.3. PDA besiyerindeki Fusarium F 5 izolatının koloni morfolojisi



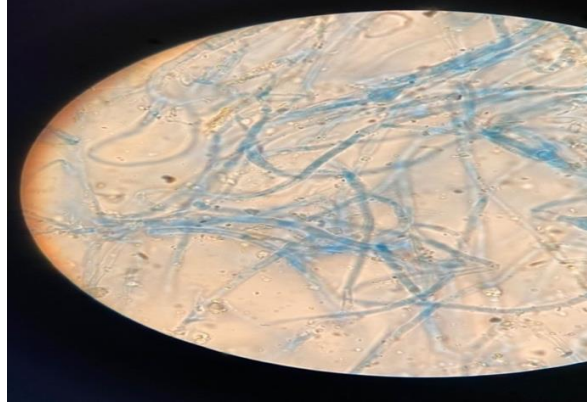
şekil 3.4. Mikroskop altında Fusarium F 5 izolatı (x 100)

Fusarium lateritium F 7

F 7 izolatında kolonilerin reni açık ve beyaz - yeşildir, havai hişleri az dereceli, miselyumlar PDA besiyeri yüzeyinde ve altında toplanmış halka benzer bir şekli saptama edilmiştir. Miselyum rengi koyu beyazdan açık yeşile olarak tespit edilmiştir (şekil 3.5). Sklerozyum apı ortalama 0,2- 0,4 mm tespit edilmiştir.



şekil 3.5. PDA besiyerindeki Fusarium F 7 izolatının koloni morfolojisi



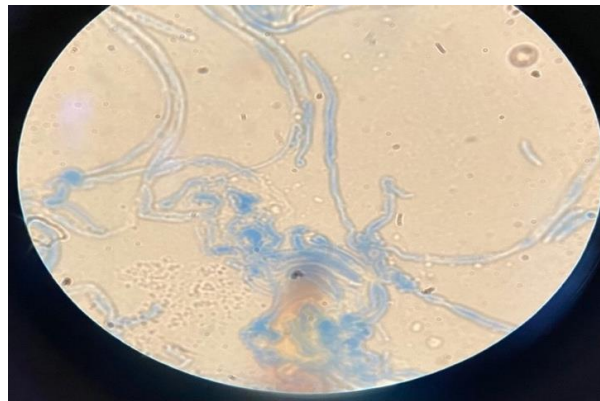
Şekil 3.6. Mikroskop altında *Fusarium* F 7 izolatu (x 100).

Fusarium verticillioides F 9

F9 izolatında koloniler pembe ve beyaz renkliydi, hava hifleri ılımlıydı, miselyum PDA ortamı altında ve yüzeyinde bir halka şeklinde toplandı. Miselyumun rengi koyu beyazdan açık pembeye belirlendi (Şekil 3.7). Sklerozyumun çapı ortalama 0,2 ila 0,43 mm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.7. PDA besiyerindeki *Fusarium* F 9 izolatının koloni morfolojisi



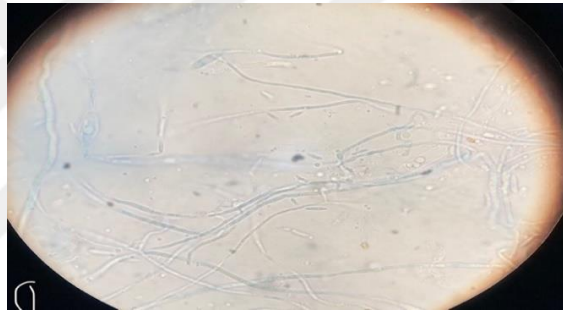
Şekil 3.8. Mikroskop altında *Fusarium* F 9 izolatu (x 100)

Fusarium equiseti F 10

F-10 grubu izolatlarda bulunan izolatların kolonilerinin genel rengi beyaz, pembe, açık ve pamuksu olarak belirlenmiştir. Hava hifleri boldur (Şekil 3.9). Sklerozyumun çapı ortalama 0,1 ila 0,3 mm olarak tespit edilmiştir.



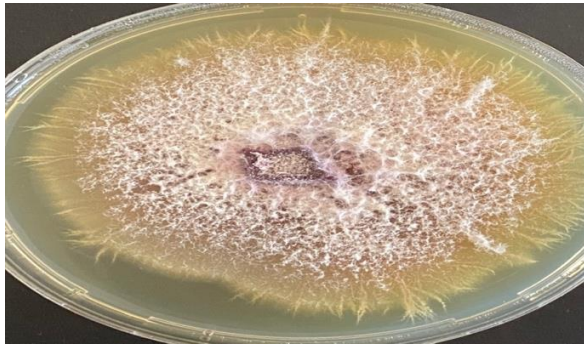
Şekil 3.9. PDA besiyerindeki *Fusarium* sp. F-10 izolatının koloni morfolojisi



Şekil 3.10. Mikroskop altında *Fusarium* sp. F-5 izolatı (x 100)

Diaporthe phaseolorum D 15

D-15 grubu izolatlarda bulunan izolatların kolonilerinin umumi renginin açık leylak pembesi olduğu belirlenmiştir. Sklerozi, ortamın alt yüzeyine sıklıkla ve dağınık bir şekilde gömülür. Sklerozyumun çapı ortalama 0,1 ila 0,3 mm olarak tespit edilmiştir. İzolatların hava hifleri zayıftır olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 PDA besiyerindeki *Diaporthe phaseolorum* D15i izolatının koloni morfolojisi.



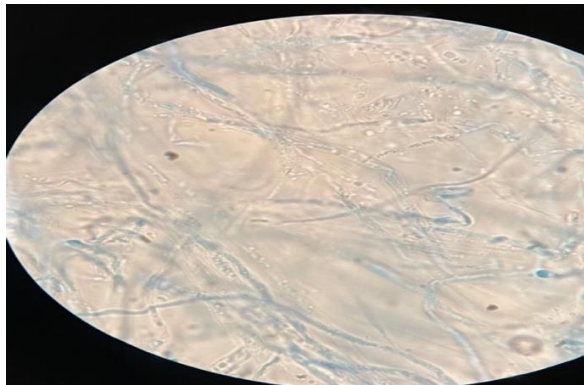
Şekil 3.12. Mikroskop altında D 15 izolatu (x 100)

Fusarium acumiatum F 16

F-16 izolatları vasat derecede güçlü hava hiflerine sahiptir. Hifler açık kahverengiden beyaza kadardır ve ortada eşmerkezli halkalar halinde düzenlenmiştir. Kültür kolonisinin genel rengi beyazdan koyu pembeye değişir (Şekil 3.13). Sklerozyumun çapı ortalama 0,1 ila 0,4 mm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.13. PDA besiyerindeki *Fusarium* F 16 izolatının koloni morfolojisi.

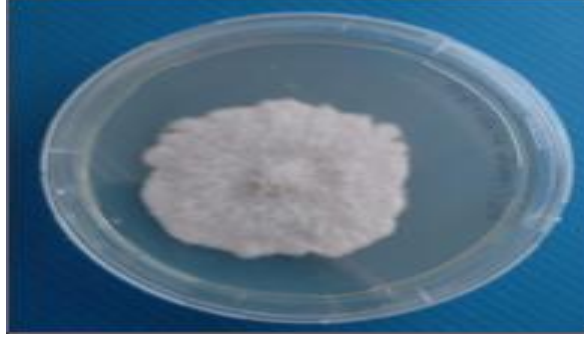


Şekil 3.14. Mikroskop altında *Fusarium* sp. F-16 izolatu (x 100).

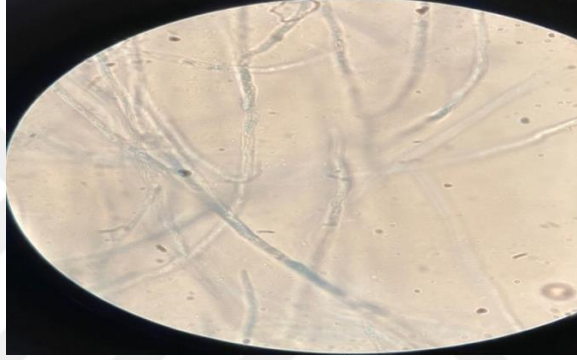
Fusarium acumiatum F 20

F-20 grubu izolatlarda bulunan izolatın kolonileri açık bejten beyaza değişir. Hava hifleri yoğun pamukludur. Sklerotia çok yoğun bir şekilde toplandı, beyaz

renkteydi ve ortamın yüzeyinin merkezinde yoğun bir şekilde organize edildi (Şekil 3.15). Sklerozyumun çapı ortalama 0,2 ila 0,4 mm olarak tespit edilmiştir.



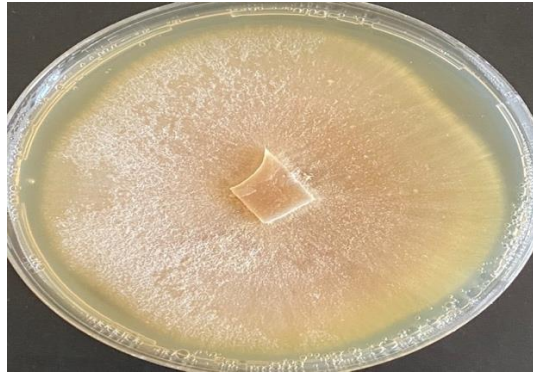
Şekil 3.15. PDA besiyerindeki *Fusarium* F 20 izolatının koloni morfolojisi.



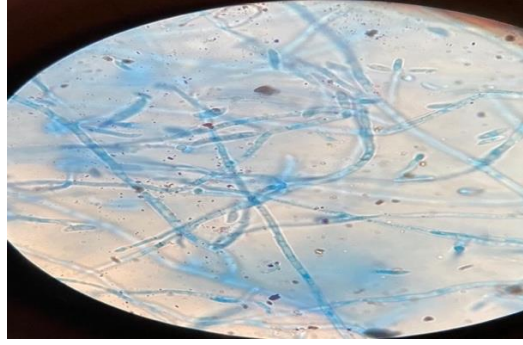
Şekil 3.16. Mikroskop altında *Fusarium* F 20 izolatı (x 100).

Fusarium oxysporum F 21

F21 grubu izolatlarda bulunan izolatın kolonisini genel olarak rengi bej olarak gösterir. Hava hiflerinin gelişimi daha az güçlüdür ve ortamın yüzeyinde hafif yoğun bir pamuklu görünüm oluşturur (Şekil 3.17). Sklerozyumun çapı ortalama 0,1 ila 0,4 mm olarak tespit edilmiştir.



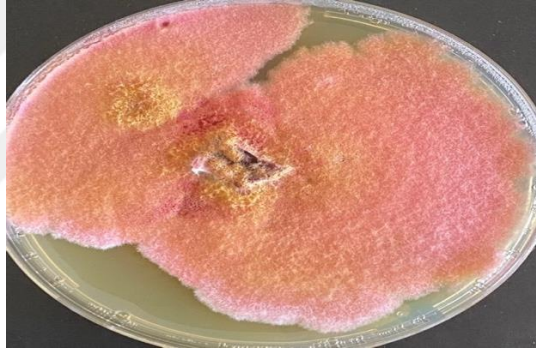
Şekil 3.17. PDA besiyerindeki *Fusarium* F 21 izolatının koloni morfolojisi



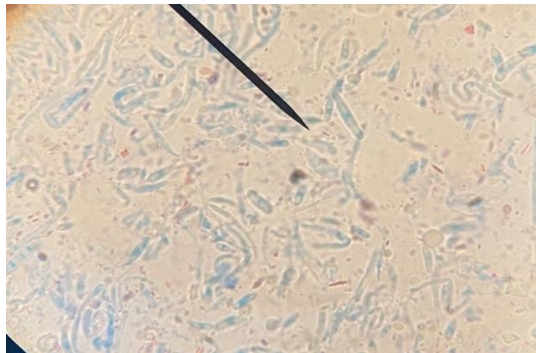
Şekil 3.18. Mikroskop altında *Fusarium* F 21 izolatu (x 100).

Fusarium oxysporum F-22

F22 grubu izolatlarda bulunan izolatın kolonisinin rengi pembe olarak gösterir. Hava hiflerinin gelişimi çok güçlüdür ve ortamın yüzeyinde yoğun bir pamuklu görünüm oluşturur (Şekil 3.19). Sklerozyumun çapı ortalama 0,2 ila 0,6 mm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.19. PDA besiyerindeki *Fusarium* F 22 izolatının koloni morfolojisi



Şekil 3.20. Mikroskop altında *Fusarium* F 22 izolatu (x 100).

3.2.2. Fosfatı Çözünür Hale Getirme

Pikovskaya (PVK) agar kültür besiyeri, selülozu parçalayabilen mikroorganizmaların saptanması ve miktarının belirlenmesi için kullanılır. Agar, kalsiyum fosfat, amonyum sülfat ve kompleks bir karbon kaynağından oluşan bu

besiyeri, selülitik fungusların büyümesine elverişli bir ortam sağlar. Mikroorganizmalar selülozu hidrolize ettiklerinde, ortamdaki kalsiyum ile reaksiyona giren fosforik asit sallarlar ve böylece selülitik kolonilerin etrafında şeffaf bir bölge oluştururlar. PVK agar, selülozun parçalanmasında yer alan mikroorganizmaların incelenmesinde önemli bir araçtır.

Fosfatı çözme yeteneklerini belirlemek için funguslar %0,5 trikalsiyum fosfat içeren bir (PVK) agar ortamına ekildi. Yedi gün 25°C dercede inkübasyondan sonra Petri kaplarında fungusların büyümesi değerlendirildi.

Fungus kolonileri çevresinde şeffaf bir bölgenin varlığı, bir fosfat çözünürlük aktivitesini gösterdi (Fürnkranz et al., 2009; Faria et al., 2012; Jarak et al., 2012; Rathaur et al., 2012).



Şekil 3.21. PVK besiyerinde ekilen fungus örnekleri.

3.2.3. ACC deaminaz aktivitesi

Brown ve Dilworth (BD) kültür ortamı fungusun yetiştirilmesi için kullanılan minimal bir ortamdır. Fosfatlar, sülfatlar ve amonyum tuzları gibi temel mineral tuzları içeren sulu bir çözeltiden oluşan bu besiyeri, funguslar için minimum besin ortamı sağlar. BD kültür ortamı, fungusların ve bakterilerin ACC deaminaz aktivitesini test etmek için değerli bir araçtır (Fürnkranz et al., 2009).

Bu aktiviteyi test etmek için minimal kültür ortamı BD kullanıldı, solüsyon hazırlandıktan sonra 121°C'de 30 dakika 1 atm'de otoklavlandı. Çözelti soğutulduktan sonra, sterilize etmek için bir filtre kullanılarak bir vitamin çözeltisi ilave edildi. Fungus örnekleri ACC içeren ve ACC içermeyen 2 kültür ortamında kültürü yapıldı ve ardından 7 gün inkübe edilerek değerlendirildi (Kuffner et al., 2008; Husen et al., 2009; Gasser et al., 2011).

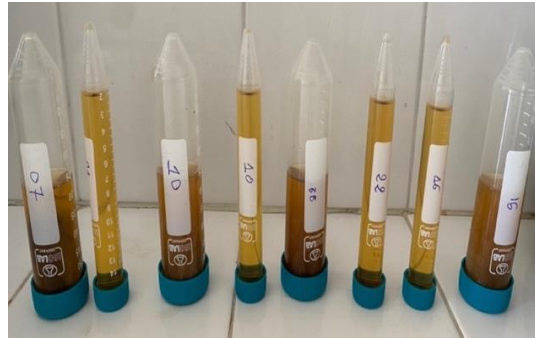
3.2.4. IAA üretimi

IAA indol asit üreten fungusları belirlemek için fungus örnekleri, 25 derecelik bir sıcaklıkta 7 gün boyunca (0,2 %) 1 g/L L triptofan içeren PDB kültür ortamını içeren Erlenmeyer içinde karanlıkta inkübe edildi. 25 ml homojenize kültür tüplerine aktarıldı ve 15 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj edildi.

Elde edilen süpernatanttan oluşan standartlar ve 10-100 µg / ml arasında saf IAA (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µg / ml) ve beyaz olarak 90 µl Salkowski reaktifi örneklendi ve mikropiplara aktarıldı. Süpernatant 2 ml Salkowski çözeltisi (50 ml %35 HClO₄ içinde 1 ml 0,5 M FeCl₃) ile karıştırıldı ve karanlıkta 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Oluşan pembe pigmentin absorbansı b530 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Örneklerin IAA konsantrasyonu saf IAA'nın standart eğrisi kullanılarak değerlendirildi (Tsavkelova et al., 2007; Silva et al., 2012).



Şekil 3.22. PDB besiyerinde üreyen fungus örnekleri .



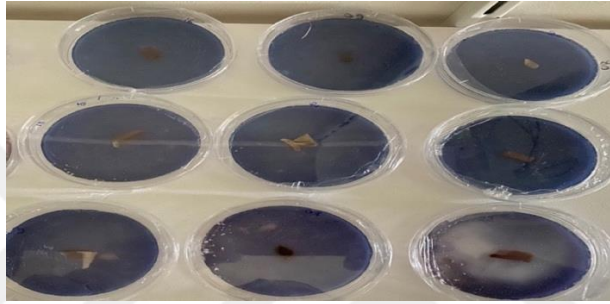
Şekil 3.23. Santrifüjlendikten sonra elde edilen fungus örneklerinin süpernatanı .

3.2.5. Siderofor üretimi

Chromium azurol sulfonate (CAS) agar, demiri şelatlayabilen mikroorganizmaların saptanması ve incelenmesi için kullanılan bir kültür besiyeridir. Bu besiyeri, demirle kompleks oluşturan renkli bir bileşik olan CAS içerir. Mikroorganizmalar, demir şelatlayıcı moleküller olan sideroforlar ürettiklerinde,

CAS'tan demire bağlanan bileşikler serbest bırakarak ortamın karakteristik renk bozulmasına neden olurlar. Bu, demiri çözebilen bakteri ve fungusları tanımlamayı ve izole etmeyi ve bunları demir beslenmesi ve biyojeokimya bağlamında incelemeyi mümkün kılar. CAS agar, mikroorganizma-demir etkileşimleri üzerine yapılan araştırmalarda değerli bir araçtır (Garcia, 2012)

Bu testi gerçekleştirmek için fungus izolatları bu kültür ortamında ekildi ve 25 derece sıcaklıkta 5 gün inkübe edildi. Besiyerinin renginin sarıya veya pembeye dönmesi izolatların siderofor üretmesinin pozitif bir sonucu olarak değerlendirildi (Garcia, 2012).



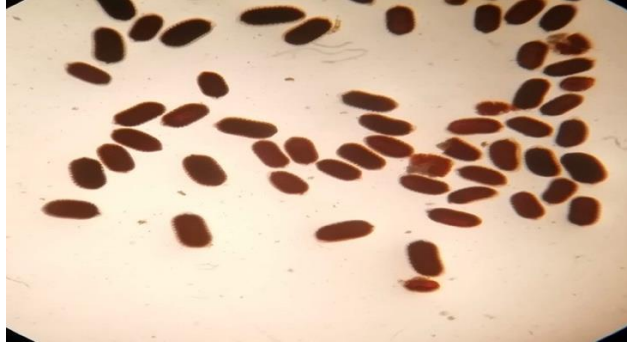
Şekil 3.24 CAS besiyerinde ekilen fungus örnekleri.

3.2.6. Sarı Kantaron Tohumlarının Çimlenmesi

Çalışmamız fungusların Sarı Kantaron tohumlarının çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladığından, spesifik bir deney protokolü izlendi. Tohumlar, olası kirleticilerin yok edilmesini sağlamak için sterilizasyon prosedürlerine tabi tutuldu.

Sodyum hipoklorür, 10 dakikalık bir sterilizasyon işlemi için kullanıldı, ardından etanol ile 5 dakikalık bir işlem yapıldı. Bu sterilizasyon adımları, mikrobiyal kontaminasyonu en aza indirmek ve tohum çimlenmesi için steril bir ortam sağlamak için bitki doku kültüründe yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sterilizasyon işleminden sonra tohumlar, bitki doku kültürü için yaygın olarak kullanılan bir besin ortamı olan MS (Murashige and Skoog) ortamına aktarıldı. MS ortamı, tohum çimlenmesi ve ardından bitki büyümesi için gerekli temel besinleri ve büyüme düzenleyicilerini sağlar.

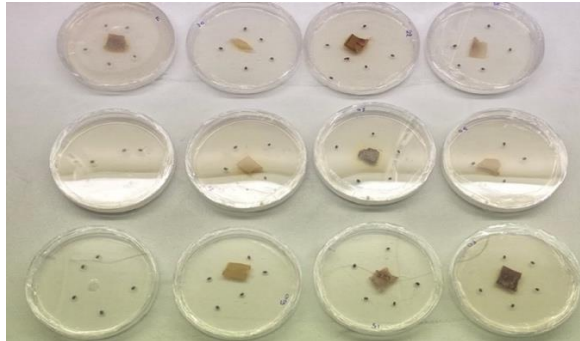


Şekil 3.25 tohumların canlılık testi.

Fungusların tohum çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki etkisini incelemek için daha önce Sarı Kantaron tohumlarından izole edilmiş funguslar kullanıldı. Bu fungus izolatları ve tohumlar arasında doğrudan etkileşime izin veren MS ortamına ilave edildi. Bu yaklaşımın amacı, fungusların tohum çimlenmesi ve ardından 20 günlük bir süre boyunca bitki gelişimi üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

Deney dönemi boyunca tohumların büyümesi izlendi ve çimlenme oranları, fide canlılığı ve gözlemlenen morfolojik değişiklikler dahil olmak üzere çeşitli parametreler kaydedildi. Bu parametreleri kontrol grubu (fungus tedavisi olmayan tohumlar) ile deney grupları (izole funguslarla tedavi edilen tohumlar) arasında karşılaştırarak, fungusların tohum çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Çalışmanın süresi, tohum çimlenmesi ve erken bitki gelişim aşamaları için yeterli olacak şekilde 20 gün olarak belirlendi. Bu dönem tipik olarak büyümedeki önemli değişiklikleri gözlemlemek ve tedavilerin bitki gelişimi üzerindeki etkilerini belirlemek için uygundur.



Şekil 3.26. MS besiyerinde tohumların çimlendirilmesi ve fungus örnekleri

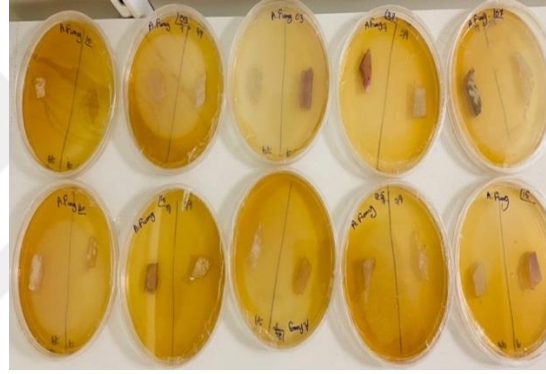
3.2.7. Antimikrobiyal Aktivite

3.2.7.1. Maya *Candida albicans* İzolatlarına Karşı Antimikrobiyal Aktivite

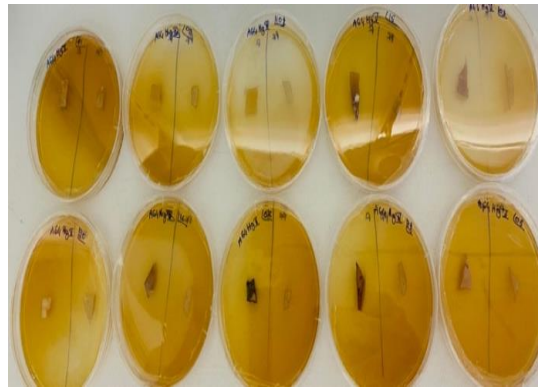
İzolatların antimikrobiyal aktivitelerini test etmek için, fungus izolatları nutreint agar içeren bir kültür ortamında ekildi ve ardından maya *Candida albicans* izolatları bir pipet kullanılarak aşılandı. Bu şekilde hazırlanan petri kapları 25°C'de inkübe edildi ve 3 gün sonra sonuçlar değerlendirildi.

3.2.7.2. Patojen Funguslara Karşı Antimikrobiyal Aktivite

Nutrient agar içeren petri kaplarında fungus izolatları bir tarafta ve patojenik funguslar *Aspergillus fumigatus* ve *Rhizoctonia solani* diğer tarafta ekildi. Petri kapları 25 °C'de 5 gün inkübe edildi ve sonra sonuçlar değerlendirildi.



Şekil 3.27. Nutrient agar besiyerine ekimi yapılmış olan *Aspergillus fumigatus* fungus örnekleri



Şekil 2.28. Nutrient agar besiyerine ekimi yapılmış olan *Rhizoctonia solani* fungus örnekler.

3.2.7.3. Patojen Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Aktivite

Patojenik bakteriler *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae*, nutrient agar içeren petri kaplarında aşılandıktan sonra bu bakterilerin üzerine fungus izolatlar aktarılarak 36 °C'de inkübe edildi ve 24 saat sonra değerlendirildi.

3.3. Kullanılan Besiyeriler

Nutrient Agar:

Glukoz	1g
Pepton	15g
NaCl	6g
Maya ekstraktı	3g
Agar	15g

800 ml distile suya belirtilen kimyasallar tartılarak eklendi. Çözeltinin pH'ı 7,5'a ayarlandı ve 200 ml distile su ilave edilerek 121 derecede 30 dakika 1 atm'de otoklavlandı ve 50 dereceye kadar soğutulduktan sonra petri kaplarına döküldü.

Salkowski Ayracı:

0,5 M FeCl₃ 1 ml %

35 HClO₄ 50 ml

10 ml distile suya 1.35g FeCl₃ ilave edilerek 0.5 M FeCl₃ elde edildi. Hazırlanan çözeltiden 1 ml alınarak 50 ml'ye tamamlanacak şekilde %35'lik HClO₄ hafif bir şekilde ilave edildi. (Weber and Gordon, 1951).

Brown&Dilworth (BD):

Nikotine acid	10mg
Thiamine-HCl	10mg
Biotin	10mg
Ca-panthotenate	10mg
ddH ₂ O	100ml

100 ml distile suya belirtilen kimyasallar eklenerek vitamin solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan solüsyondan 1 ml alınıp mikropipet kullanılarak 2 ml'lik tüplere konuldu. Mikrotüpler -20 derecelik bir sıcaklıkta buzdolabında saklandı.

KNO ₃	0,7 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25 g
CaCl ₂	0,02 g
NaCl	0,2 g

KH_2PO_4	0,36 g
K_2HPO_4	1,4 g
FeCl_3	6,6 mg
EDTA	0,15 mg
Agar	15g
Vitamin solüsyonu	1ml
ACC	0.30g

800 ml saf su içinde yukarıda belirtilen kimyasal maddeler ilave edildi. pH 7.0'a ayarlandıktan sonra çözelti bir litreye tamamlandı. Hazırlanan solüsyon 1 atm'de 30 dakika 121 derecede otoklavlandı. Solüsyon 50 dereceye kadar soğuduktan sonra hazırlanmış olan vitamin solüsyonu filtre kullanılarak sterilize edildi. Aynı şekilde hazırlanan kültür ortamına 0,3 g ACC ilave edilerek petri kaplarına döküldü.

Pikovskaya Agar Besiyeri:

Glukoz	10 g
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.5g
NaCl	0.2g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.1g
KCl	0.2g
Maya ekstrakt	0.5g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.0001g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.0001g

800 ml saf su içine yukarıda belirtilen kimyasallar tartırılarak eklendi. Çözeltinin pH'ı 7'ye ayarlandı ve ardından 200 ml distile su eklendi. Hazırlanan kültür ortamı 1 atm'de 30 dakika 121 derecede otoklavlandı ve 50 dereceye kadar soğutulduktan sonra petri kaplarına döküldü.

CAS (Chrome Azurol S) Agar Besiyeri:

CAS	0.06g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0027g
HDTMA	0.073g
KH_2PO_4	15g

NaCl	25g
NH ₄ C	50g
Glukoz	20g
NaOH	25g
Casamino acid	3g
PIPES	32,24g

Mavi Boya Solüsyonu hazırlaması:

Solüsyon 1: 50 ml ddH₂O içinde 0,06 g CAS eklendi.

Solüsyon 2: 10 mM HCl içinde 0,0027 g FeCl₃.6H₂O 10 ml eklendi.

Solüsyon 3: 40 ml ddH₂O içinde 0,073 g HDTMA eklendi.

Solüsyon 2'den 9 ml alınarak solüsyon 1'e ilave edildi, ardından da solüsyon 3 eklendi. Bu karışım 1 atm'de 15 dakika 121 derecede otoklavlandı.

Casamino Asit Solüsyonun hazırlanması: 27 ml saf suya 3 g casamino asit ilave edilip filtre kullanılarak sterilize edildi.

M.S (Murashige ve Skoog) besiyeri:

M.S	4g
Agar	8g
Saf su	1000ml

Kimyasal maddeler belirtilen miktarda, 1000 ml saf su içinde çözüldü ve 121 C'de 30 dakika otoklavlandıktan sonra petrilere döküldü.

4. BULGULAR

4.1. İzolatlarının PGPF Özelliklerinin Tesbiti

4.1.1. Fosfatı Çözme

İzolatların fosfatı çözme yeteneğini test etmek amacıyla PVK agar (%0.5 tri kalsiyum fosfatlı) 10 fungusun fosfatı çözme yeteneğini değerlendirildi (Tablo 4.1).

Fungusların örneklerinin etrafında şeffaf zon olması fosfatı çözme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Şekil 4.1’de görüldüğü şekilde Sarı Kantaron bitkisinden izole edilen F9 izolatının PKV besiyerinde en yüksek etkiye (++) sahip olduğu diğer bazı izolatların ise daha az etkiye (+) sahip olduğu görülürken, F20 izolatının bu özelliği sahip olmadığı görüldü.



Şekil 4.1. Pikovskaya besiyerinde fosfat çözme özelliği gösteren funguslar

Tablo 4.1. Test edilen fungusların fosfatı çözme yetenekleri

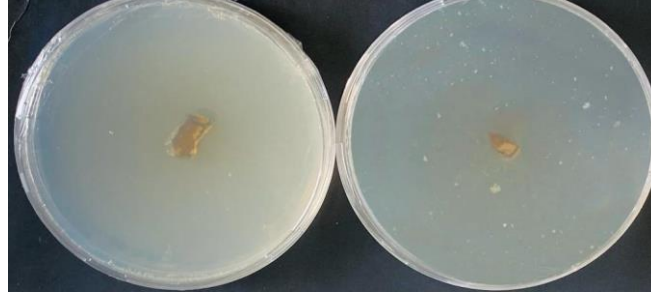
Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Fosfatı Çözme
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	kök	-
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	kök	+
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	kök	++
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	kök	-
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	kök	+
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	kök	+
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	kök	++
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	kök	++

4.1.2. ACC Deaminaz Aktivitesi

Bu özelliğe sahip PGPF örneklerini belirlemek amacıyla, fungus izolatları, ACC içeren ve ACC içermeyen olmak üzere iki besiyerine ekildi. Örnekler inkübe

edildikten sonra karşılaştırıldı (Şekil 4.2).

ACC ‘lı besiyerinde 7 fungus (F5, F7, F9, F10, F16, F21 ve F22) örneğinin ACC etkinliğine sahip olduğunu gösterildi. (Tablo 4.2).



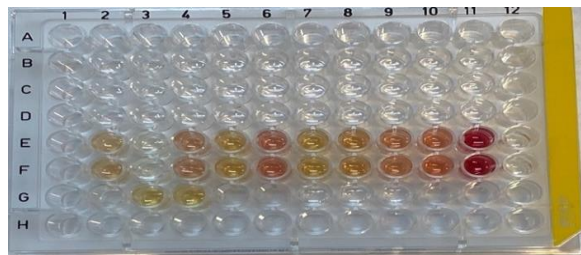
Şekil 4.2. BD besiyerinde ACC deaminaz etkinliği

Tablo 4.2. ACC-deaminaz etkinliğinin sonuçları

Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	ACC deaminaz
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	=
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	+
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	+
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	=
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	+
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	+
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	+

4.1.3. İndol-3-Asetik Asit (IAA) üretimi

IAA üretimini test etmek maksadıyla PDB besiyerinde üretilen funguslar (Şekil 4.3) Salkowski ayracı ve elde edilen süpernatantlar mikropate’e ilave edildi. 30 dakika karanlıkta inkübe edildi. İndol asit üretiminin test etmek maksadıyla 10 izolat saf IAA ile köre (blank) ve standartlara karşı okundu (Tablo 4.3).



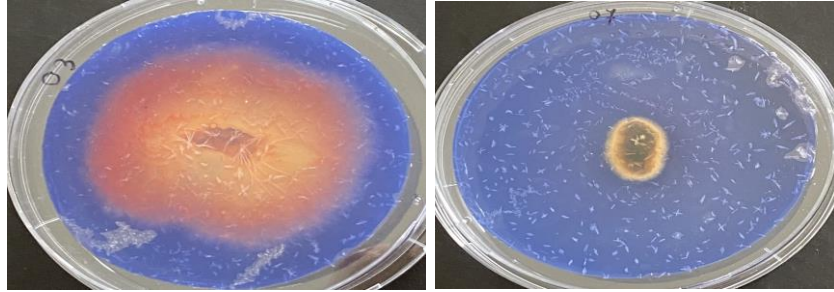
Şekil 4.3. Karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra mikropate görüntüsü

Tablo 4.3. Ölçülen IAA konsantrasyon değerleri

Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	IAA ₋₁ (µgmL)
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	29
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	17,5
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	26,5
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	25
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	22
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	18
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	24
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	17
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	17,5
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	26

4.1.4. Siderofor üretimi

Siderofor üretim potansiyeline sahip olan izolatlarının belirlemek amacıyla Chrome Azurol S agar besiyeri kullanıldı. Mavi renkli Chrome Azurol S agar besiyerinde siderofor üretme özelliğine sahip fungusların etrafında sarı veya pembe renk oluşumu gözlemlendi. Tüm izolatlar F7 hariç siderofor üretimi açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Siderofor üreten fungus izolatları .

Tablo 4.4 PGPF adayı funguslar siderofor üretimi

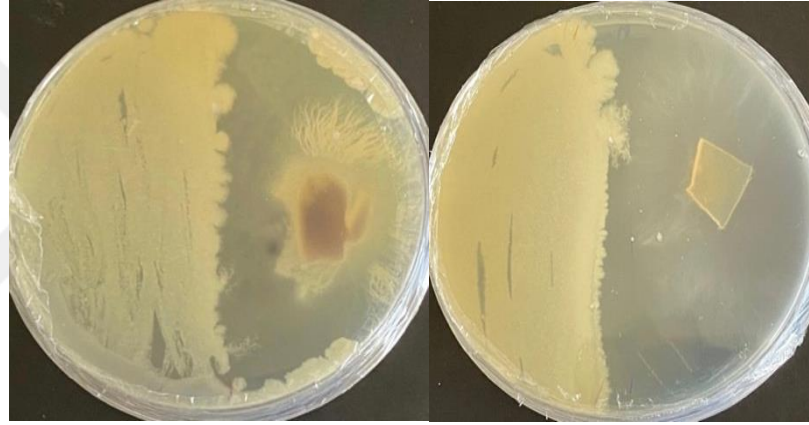
Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Siderofor Üretimi
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	+++
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	-
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	+
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	++
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	++
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	++

Tablo 4.4 PGPF adayı funguslar siderofor üretimi (devam)

Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Siderofor Üretimi
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	+
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	++
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	+

4.1.5. PGPF Funguslarının Mayaların Gelişimini İnhibisyonu

Mayaların (*Candida albicans*) gelişimini inhibe etmek için izolatların nutreint agar içeren bir kültür ortamında kültürü yapıldı ve ardından maya'lar (*Candida albicans*) ilave edildi. Petri kapları 25°C'de inkübe edildikten sonra sonuçlar 3 gün sonra değerlendirildi. 5 örneğin (F3, F5, F7, F9 ve F10) mayalara karşı antimikrobiyal potansiyeli olduğu görüldü.



Şekil 4.5. Mayaların gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

Tablo 4.5. Mayaların gelişimini inhibe eden fungus izolatları

Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Dayanıklılık potansiyeli
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	kök	+
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	kök	+
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	kök	+
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	kök	+
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	kök	-
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	kök	-
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	kök	-
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	kök	-

4.1.6. PGPF Funguslarının Patojen Fungusların Gelişimini İnhibisyonu

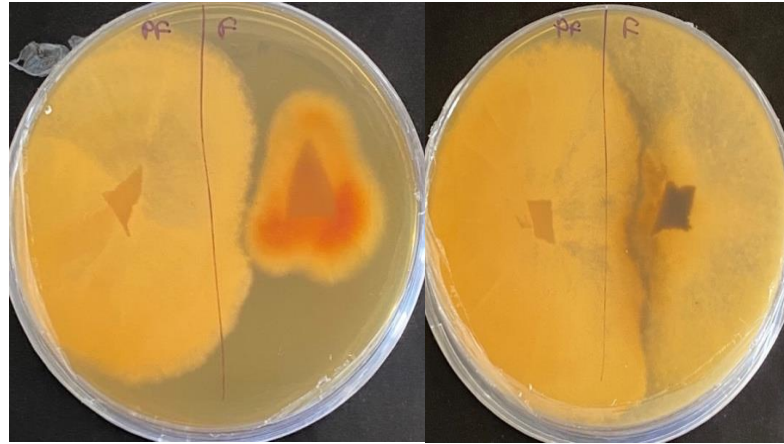
PDA içeren petri kaplarında izolatlar bir tarafa, patojenik funguslar diğer tarafa ekildi. Petri kapları 25C'de 5 gün inkübe edildi ve sonra patojen fungusun gelişimini inhibe etme potansiyelleri yönünden değerlendirildi.

4.1.6.1. *Aspergillus fumigatus* I Karşı

Endofitik funguslar ile patojenik fungus *Aspergillus fumigatus* 25 ° C'de 5 günlük inkübasyon ettikten sonra izolatların değerlendirmesi yapıldı ve sonuç olarak 10 izolattan 8' (F3, F5, F7, F10, D15, F16, F21 ve F22) bu açıdan pozitif olarak değerlendirildi.



Şekil 4.6 *Aspergillus fumigatus* 'un gelişimini inhibe eden fungus izolatları.



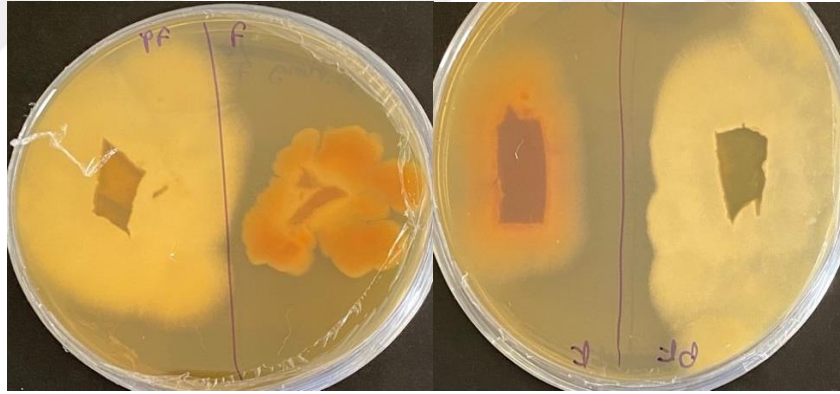
Şekil 4.7 *Aspergillus fumigatus* 'un gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

Tablo 4.6 *Aspergillus fumigatus* 'un gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

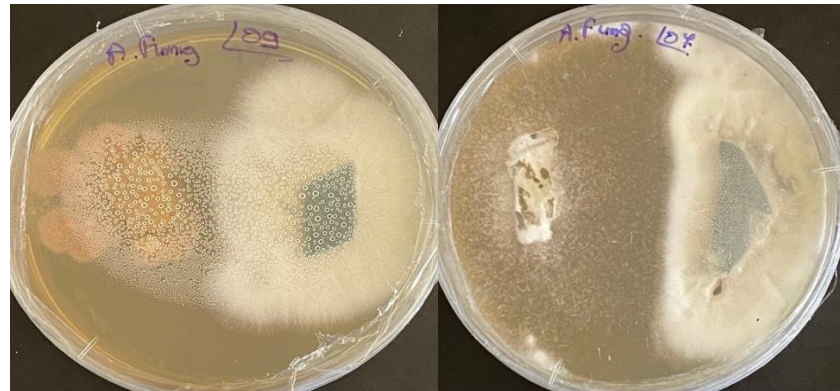
Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Dayanıklılık potansiyeli
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	+
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	-
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	-
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	+
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	+
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	+
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	+

4.1.6.2. *Rhizoctonia solani* karşı

Endofitik funguslar ile patojenik fungus *Rhizoctonia solani* 25 °C'de 5 günlük inkübasyon ettikten sonra izolatların değerlendirmesi yapıldı ve sonuç olarak 10 izolattan 3' (F3, F5 ve F7) bu açıdan pozitif olarak değerlendirildi.



Şekil 4.8 *Rhizoctonia solani* nin gelişimini inhibe eden fungus izolatları.



Şekil 4.9 *Rhizoctonia solani* nin gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

Tablo 4.7 *Rhizoctonia solani* nin gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Dayanıklılık potansiyeli
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	+
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	-
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	-
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	-
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	-
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	-
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	-

4.1.7. PGPF Funguslarının Patojen Bakterilerin Gelişimini İnhibisyonu

Patojenik bakteriler, nutrient agar içeren Petri kaplarında eklendi ve daha sonra bu bakterilerin (*Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae*) üzerinde fungus izolatları ilave edildi. Petri kapları inkübe edildi ve 24 saat sonra değerlendirildi.

4.1.7.1. *Staphylococcus aureus* karşı

İzolatları, bu bakteriyel patojenlerin büyümesini sağlayan bir sıcaklıkta 24 saat inkübe ettikten sonra, fungusların bakteriyel patojenlere karşı direncini değerlendirmek mümkün oldu., 10 izolattan 3 (F3, D15 ve F22) izolat patojenik bakterilere karşı inhibisyon etkisinin olduğu görüldü.



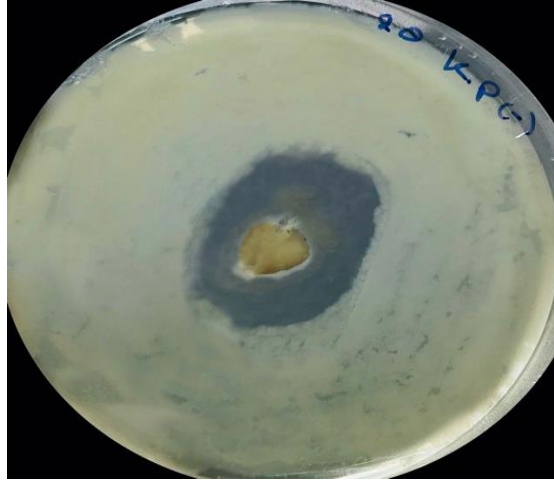
Şekil 4.10. *Staphylococcus aureus* un gelişimini inhibe eden fungus izolatları

Tablo 4.8. *Staphylococcus aureus* un gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Dayanıklılık potansiyeli
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	+
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	-
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	-
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	-
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	-
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	+
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	-
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	-
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	+

4.1.7.2. *Klebsiella pneumoniae* Karşı

İzolatları, bu bakteriyel patojenlerin büyümesini sağlayan bir sıcaklıkta 24 saat inkübe ettikten sonra, fungusların bakteriyel patojenlere karşı direncini değerlendirmek mümkün oldu., 10 izolattan 4 izolat (F3, D15, F7 ve F16) patojenik bakterilere karşı inhibisyon etkisinin olduğu görüldü.



Şekil 4.11. *Klebsiella pneumoniae* gelişimini inhibe eden fungus izolatları.

Tablo 4.9. *Klebsiella pneumoniae* ningelişimini inhibe eden fungus izolatları.

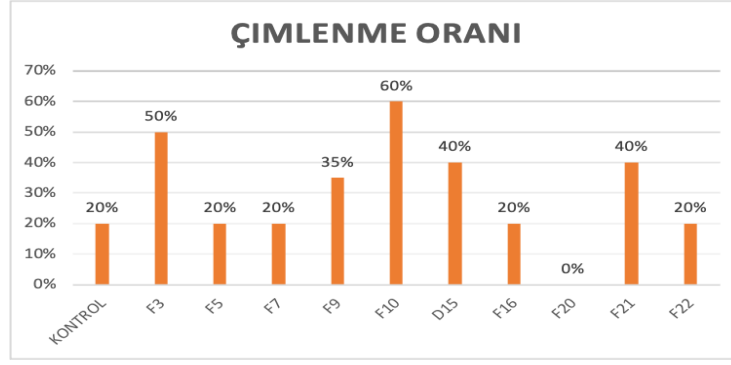
Örnek	Fungus adı	İzole Edildiği Yer	Dayanıklılık potansiyeli
F3	<i>Fusarium tricinctum</i>	Kök	+
F5	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	-
F7	<i>Fusarium lateritium</i>	Kök	+
F9	<i>Fusarium verticillioides</i>	Kök	-
F10	<i>Fusarium equiseti</i>	Kök	-
D15	<i>Diaporthe phaseolotrum</i>	Kök	+
F16	<i>Fusarium acuminatum</i>	Kök	+
F20	<i>Fusarium flocciferum</i>	Kök	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	-
F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	Kök	-

4.1.8. Sarı Kantaron Tohumlarını Büyüme Teşviki

Bahsedilen bu potansiyelleri test etmek için Sarı kantaron dan izole edilen fungusları, içeren bir MS besiyeri ortamı ekiledik ve daha sonra bu ortama Sarı kantaron tohumları sterileyip ilave ettik. Tohumları büyümesini 15 gün boyunca değerlendirdik. Kültürlenmiş izolatlar arasında 3'ünün bu tohumlar ilk 3 günden itibaren büyümesini desteklediği değerlendirildi, kontrol ortamının ise olumsuz sonuçları olduğu gösterildi (Tablo 4.10).



Şekil.4.12. Sarı kantaron teşvik eden fungus izolatları.



Şekil.4.13. Çimlenme oranının sonuçları.

Tablo 4.10 Ölçülen Sarı Kantaron tohumlarının boyu değerleri.

Gün/ izolat (cm)	F3	F5	F7	F9	F10	F15	F16	F20	F21	F22
3.	0,166± 0,003	0,46± 0,003	0,33± 0,003	0	0,266± 0,003	0,266 ±0,00 3	0	0	0	0,266 ±0,00 3
5.	0,43±0 ,003	1,26± 0,003	0,46± 0,003	0,166± 0,003	0,66±0 ,003	0,43± 0,003	0	0	0,166 ±0,00 3	0,66± 0,003
7.	0,86±0 ,003	1,73± 0,003	0,66± 0,003	0,266± 0,003	0,96±0 ,003	0,46± 0,003	0,266 ±0,00 3	0	0,46± 0,003	0,96± 0,003
9.	1,23±0 ,003	1,96± 0,003	0,86± 0,003	0,66±0 ,003	1,36±0 ,003	0,86± 0,003	0,46± 0,003	0	0,66± 0,003	1,23± 0,003
11.	1,73±0 ,003	2,36± 0,003	0,96± 0,003	0,96±0 ,003	1,83±0 ,003	1,23± 0,003	0,86± 0,003	0	0,96± 0,003	1,96± 0,003
15.	2,26±0 ,003	2,86± 0,003	1,23± 0,003	1,53±0 ,003	2,63±0, 003	1,96± 0,003	1,26± 0,003	0	1,26± 0,003	2,46± 0,003
20.	2,96±0 ,003	3,29± 0,003	±0,00 3	2,16±0, 003	3,46±0, 003	2,63±0 ,003	1,53± 0,003	0	1,96± 0,003	2,96± 0,003

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada Sarı kantaron bitki rizosferinden ve köklerinden izole edilen fungusların bitki gelişimini arttırıcı fungus olup olmadıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yalıtılan fungusları test etmek maksadıyla PGPF'lerin mühim özelliklerinden olan indol 3 asetik asit üretimi, fosfatı çözünürlüğü, siderofor üretimi, ACC deaminaz etkinliğini ile söz konusu fungusların önemli bir toprak ve bitki patojeni olan *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus* ve patojen bakteri *staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve Maya (*Candida Albicans*)'lara olan inhibisyon potansiyelleri seçildi.

Fungusların tohum büyümesi üzerindeki etkisi, tarım ve bitki üretkenliği için önemli etkileri olduğu için büyük bilimsel ilgi konusudur. Çalışmamız, 10 tane farklı endofitik fungus türünün Sarı Kantaron tohumlarının büyümesi üzerindeki etkisini, bunların fosfat ayrışması, siderofor ve indol üretimi ve ACC aktivitesi özelliklerine odaklanarak araştırıldı. Sonuçlar, izole edilmiş fungusların tohum büyümesini üzerindeki çeşitli etkilerini ortaya çıkarmış, bazı funguslar büyümeyi teşvik ederken diğerleri sınırlı veya olumsuz etkiler göstermiştir.

F5, F9, F10, F16, F21 ve F22, bu funguslarla muamele edilen Sarı Kantaron tohumlarında daha yüksek büyüme oranlarının gözlenerek, tohum büyümesi üzerinde olumlu etkiler sergilemiştir. Bu bulgular, endofitik fungusların büyümeyi teşvik edici aktivitelerini bildiren önceki çalışmalarla tutarlıdır.

Widisuputri ve arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, yerli pirinç bitkilerinden altı endofitik fungus izole edilmiş ve belirli izolatların bitki büyümesini olumlu etkilediğini bulunmuştur. Örneğin izolat F7, bitki büyümesini uyardığı bilinen indol asetik asit (IAA) ve giberellinlerin üretilmesinde belirgin bir aktivite göstermiştir. Benzer şekilde, F9 izolatı yüksek fosfat çözündürme aktivitesi sergileyerek bitki besin mevcudiyetinin iyileştirilmesine katkıda bulunmuştur.

Çalışmamızda çalışılan fungal izolatlar aynı zamanda gözlemlenen tohum büyümesi uyarımına katkıda bulunabilecek IAA üretimi ve fosfat çözünürlük yetenekleri gösterdiğinden araştırmacıların bulguları sonuçlarımızla uyumludur. Suparman ve Nugroho (2021) tarafından yapılan bir başka çalışma, bitki büyümesini destekleyen fungus *Trichoderma* odaklanmıştır.

Bulguları, bitkilere *Trichoderma* uygulamasının verimi artırdığını ve inorganik gübre ihtiyacını azalttığını ortaya koymuştur. Bu, fungus uygulamalarının bitki büyümesini artırma ve kimyasal girdilere bağımlılığı azaltma potansiyelini göstermektedir.

Çalışmamızda, F10 gibi bazı funguslar, tohum büyümesi üzerinde olumlu etkiler sergileyerek, bitki büyüme destekleyicileri olarak potansiyellerini ortaya koymaktadır. Bu fungusların tohum büyümesini uyardığı olası mekanizmaları anlamak için özelliklerini ve aktivitelerini dikkate almak önemlidir.

Bir mekanizma, temel besinlerin funguslar tarafından çözünmesini ve mineralizasyonunu içerir.

Endofitik olanlar da dahil olmak üzere funguslar, karmaşık organik bileşikleri parçalama ve bitki büyümesi için gerekli olan fosfat gibi temel mikro ve makro besinleri salma yeteneğine sahiptir (Widisuputri et al., 2021).

Çalışmamızda belirli fungusların sergilediği pozitif fosfat çözünürlüğü D 15, F 16, F5, F22 gibi, tohum büyümesi için besin mevcudiyetini arttırmadaki rollerini göstermektedir.

Ek olarak, funguslar tarafından bitki büyüme düzenleyicilerinin üretimi de tohum büyümesinin uyarılmasına katkıda bulunabilir. İyi bilinen bir bitki hormonu olan IAA, hücre uzaması ve kök başlangıcı dahil olmak üzere bitki büyümesi ve gelişiminin çeşitli yönlerinde yer alır (Widisuputri et al., 2021).

Çalışmamızda birkaç fungus tarafından IAA üretimi, bitki büyüme süreçlerini modüle etme ve fide gelişimini destekleme potansiyellerini göstermektedir.

Ayrıca, funguslar tarafından siderofor üretimi, tohum büyümesini olumlu yönde etkileyebilir. Sideroforlar, bitkiler tarafından demir alımını artıran demir şelatlayıcı bileşiklerdir.

Demir, bitki büyümesi için gerekli bir mikro besindir ve rizosferdeki mevcudiyeti fide gelişimini önemli ölçüde etkileyebilir (Elsharkawy and camp, 2002; El-Khateeb, 2019).

Çalışmamızda bazı funguslarda gözlemlenen siderofor üretimi, tohum büyümesi için demir mevcudiyetini iyileştirmedeki potansiyel rollerini göstermektedir. Besin çözünürlüğü ve hormon üretiminin yanı sıra, bazı funguslar bitkilerde etilen

seviyelerini düzenleyen ACC-deaminaz aktivitesine de sahiptir. Etilen, özellikle stres koşullarında büyüme ve gelişmeyi engelleyebilen bir bitki hormonudur. Bazı funguslar tarafından üretilen bir enzim olan ACC- deaminaz, bir etilen öncüsü olan ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit) parçalayarak etilen seviyesini düşürür ve bitki büyümesini destekler (Özimek, 2018).

Çalışmamızda izole edilen bazı funguslarda ACC-deaminaz aktivitesinin varlığı, bunların etilen seviyelerini düzenleyerek tohum büyümesinin uyarılmasına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

İnhibisyon potansiyellerine gelince çalışmamızın sonuçları yapılan çalışmalarla tutarlıdır. Nacef Houda Sara (2020) tarafından yapılan bir çalışmada tıbbi bitki Lavanta'nın endofitik fungusları üzerinde çalışmış ve sonuçlar neredeyse aynı çıkmıştır. F3 ve F5 izolatları mayalara karşı büyük inhibisyon gösterirken, F3, F16, F20 ve F22 izolatları patojen *Aspergillus* fungusuna dikkate değer bir inhibisyon göstermiştir.

Diğer izolatlar arasında F3, F7, D15 ve F16, patojen *klebisella pneumoniae* bakterisine karşı çok yüksek bir direnç gösterdi. Ve bu, 4 tıbbi bitkilerinden (*L phoenicea* , *Man atlantica Cedrus* , *baccata Taxus* , *.L pulegium Mentha* ve *Juniperus*) izole edilen endofitik funguslar üzerinde çalışan ZERROUG Amina (2021) tarafından yürütülen başka bir bilimsel araştırma ile doğrulandı.

Staphylococcus aureus patojen bakterinden bahsedecek olursak, izolatlarımızın direnç sonuçları şu şekildeydi: sadece bu bakteri patojenine karşı direnç gösterebilen endofitik örnekler F3, D15 ve F22. Dey ve ark (2019) soğanlarda *Sclerotium cepivorum* üzerinde çalışma sonuçları tarafından bulunduğumuz sonuçlara doğrulandı.

Sonuç olarak, ünlü patojenik fungus *Rhizoctonia solani* tüm izolatlarımıza saldırabilmiştir, direnebilen tek izolatlar F3, F5 ve F7'dir. Bilal ve ark. (2018), *Fusarium proliferatum* üzerinde çalıştığında bizimkilerle aynı sonuçları bulabilmiştir.

6. ÖNERİLER VE SONUÇ

Bitki tepkilerinin PGPF tarafından indüklenmesini anlamak, bitki büyümesi ve hastalık yönetimi için yeni stratejiler geliştirmek için gereklidir. Kullanımlarının muazzam faydaları, bitki büyümesinin teşviki için yenilikçi mikrobiyal kaynaklar olarak kullanımları ve çeşitli patojenlere karşı indüklenmiş direnç ile ilgilidir. Bu mantarlardan bazıları halihazırda birkaç ülkede başarıyla kullanılmaktadır ve bu uygulamanın artması beklenmektedir.

Bununla birlikte, PGPF'lerin pratik kullanımı, kimyasal alternatiflerine kıyasla tutarsızlıklar ve nispeten zayıf bitki büyümesi ve hastalık kontrolü nedeniyle genellikle engellenir ve bu nedenle etkileri, genotip, çevre ve diğer faktörlerden büyük ölçüde etkilenir.

Sonuç olarak, PGPF'nin çiftçilerin tarlalarında yaygın olarak kullanılabilmesi için birtakım konuların ele alınması gerekmektedir. Bu mantarların toplu olarak yetiştirilmesi, depolanması, nakliyesi, formülasyonu ve uygulanması için verimli ve pratik teknikler geliştirmek çok önemlidir. Daha da önemlisi, yetiştiricileri PGPF'nin mevcut mahsul yönetimi programlarına faydalı bir katkı sağlayabileceğine ikna etmek için çaba gösterilmesi gerekiyor.

Moleküler araçlardaki son gelişmeler, bitki-PGPF etkileşimlerinden kaynaklanan büyüme ve savunma ile ilgili hücresel süreçleri ve sinyal mekanizmalarını daha iyi anlamaya devam ediyor.

Yüksek performanslı PGPF'ye yönelik mevcut talep, geliştirilmiş özelliklere sahip genetiği değiştirilmiş suşlar üretmek için yenilikçi biyoteknoloji uygulanarak karşılanabilir.

Benzer şekilde, PGPF genleri faydalı özellikler vermek üzere bitkilerde işlevsel olarak ifade edilebilir. Bitkinin hedef dışı faaliyetleri veya genetiği değiştirilmiş mikroplar hakkında, saha dışı çalışmalarda dikkatli ve kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi gereken endişeler mevcuttur.

Ayrıca, geliştirilmiş ürünlerin piyasa başarısızlığı, dışsallıklar sorununun bir yönünü göstermektedir.

Özel sektörün ürün araştırma ve geliştirmeye aktif ve haklı katılımı, sorunun üstesinden gelmeye yardımcı olabilir.

Endofitik funguslar ayrıca son derece farklı kimyasal yapılara sahip ve çok geniş bir farmakolojik aktivite spektrumuna sahip çok sayıda ikincil metabolit üretme yeteneğine sahiptir.

Bu metabolitler arasında antikanser aktiviteye sahip paklitaksel (Taxol®) veya kamptotesin, antikanser aktiviteye sahip ergotamin, antimigren veya hipokolesterolemik aktiviteye sahip lovastatin bulunur.

Şu anda, esas olarak düşük üretim verimi nedeniyle endüstriyel üretimde kullanılmak amacı ile, yeni suşları izole etmek veya doğrudan suşlar üzerinde hareket ederek veya kültür koşullarını optimize ederek üretim verimini artırmak üzere çeşitli stratejiler (nanomalzeme uygulamaları, metabolizma mühendisliği gibi) üzerinde çalışılmaktadır.

Bu stratejiler, endüstriyel ölçekte ilaç üretmek için endofitik fungusları kullanmayı ve belirli bitki türlerinin aşırı kullanımına neden olabilecek ekolojik sonuçlardan kaçınmayı mümkün kılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Agrawal, P. (1986). Tetrazolium test for seed viability. Seed production technology. *Annual Review Microbiology*, 3(1). 184-189.
- Akay, Ş. (2011). Fındık Bitkisinin (*Corylus avellana*) Farklı Organlarından Endofitik Fungusların İzolasyonu ve Seconder Metabolitlerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akın, M. (2014). Samsun İlinde Yetiştirilen Bazı Kültür Bitkilerinden Elde Edilen Rhizoctonia İzolatlarının Geleneksel ve Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aksu, M., ve Altınterim, B. (2015). Kantaron Otu (*Hypericum perforatum*) ve Hiperisin. *Bilim ve Gençlik Dergisi*. 3(1). 153-155.
- Aly, D., and Proksch, J. (2013). Fungal endophytes – secret producers of bioactive plant metabolites. *Pharmazie*. 68(2). 499-505.
- Arora, J., and Ramawat, M. (2017). An Introduction to Endophytes. Endophytes: Biology and Biotechnology, Sustainable Development and Biodiversity, *Springer International Publishing*. 15(1). 12- 15.
- Arora, J., and Ramawat, M. (2017). An Introduction to Endophytes. Sustainable Development and Biodiversity. *Springer Nature publishing*, (23). 267-78.
- Baeileva, G. (2020). Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kampüs Alanı ve Çevresindeki *Hypericum perforatum* (Sarı Kantaron)’dan İzole Edilen Fungusların Moleküler Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, OMÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Blatzer, M., Schrettl M., Sarg, B., Lindner, H., Pfaller, K., and Haas, H. (2011) SidL, an *Aspergillus fumigatus* transacetylase involved in biosynthesis of the siderophores ferricrocin and hydroxyferricrocin. *Appl Environ Microbiol*. 77(14). 4959–4966.
- Bou-Abdallah, F. (2010) The iron redox and hydrolysis chemistry of the ferritins. *Biochim Biophys Acta Gen Subj. Annual Review Microbiology*, 1800(8). 719–731.
- Campbell, M. (1985). Germination, emergence, and seedling growth of *Hypericum perforatum* L. *Weed Research*. 5(9). 259–266.
- Carine, M., and Christenhusz, M. (2010). About this volume: the monograph of *Hypericum* by Norman Robson. *Phytotaxa*. 4(9). 1-4.
- Carling, D., Leiner, R., and Kebler, K. (1987). Characterization of a New Anastomosis Group (AG-9) of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 77(5). 1609-1612.
- Carroll, G. (1995). Forest endophytes: pattern and process. *Canadian Journal of Botany*. 73(1).1316-1324.
- Çebi, M. (2009). Karadeniz sahil şeridinde fasulye bitkisi ve rizosfer bölgesinden izole edilen multinükleat *Rhizoctonia* sp’nin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- Çırak, C., and Kurt, D. (2014). Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak *Hypericum* Türleri ve Kullanım Alanları. *Annual Review Microbiology*, 24(1). 38-52.
- Clark, T., Bishop, A., Calhoun, L., Johnson, L., and Gray, C. (2014). Isolation of Avenaciolide as the Antifungal and Antimycobacterial Constituent of a *Seimatosporium* sp. Endophyte from the Medicinal Plant *Hypericum perforatum*. *Natural Product Communications publishing*. 9(10). 1495-1496.

- Costa, J., and Loper, J. (1994). Characterization of siderophore production by the biological control agent *Enterobacter cloacae* Molecular Plant Microbe Interaction. *The Journal of Antibiotics*, 7(8). 440-448.
- Davis, P. (1967.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press.
- Demain, A. L., and Sanchez, S. 2009. Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of Antibiotics*. 62(5). 5-16.
- Demain, A., and Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of Antibiotics*. 62(5). 30-38.
- Diaz, P., Hennell, J., and Sucher, N. (2012). Genomic DNA Extraction and Barcoding of Endophytic Fungi Plant DNA Fingerprinting and Barcoding. *The Journal of Antibiotics*, 8(62). 171- 179.
- Doolotkeldieva, T., and Bobușova, C. (2008). Endophyte fungi–symbiont of the plants of different ecosystem of Kyrgyzstan. *Fen Bilimleri Dergisi*. 89(9). 12-22.
- Dreyfuss, M., and Chapela, I. (1994). Potential of Fungi in the Discovery of Novel, Low-Molecular Weight Pharmaceuticals. V. Discovery of Novel Natural Products with Therapeutic Potential Boston. *Edinburgh University Press*, 5(1) . 49-80.
- Duong, L., Jeewon, R., Lumyong, S., and Hyde, K. (2006) DGGE coupled with ribosomal DNA gene phylogenies reveal Fungal Diversity. *Edinburgh University Press*, 23(1).121-138.
- Dave, B., Anshuman, K., Hajela, P. (2006). Siderophores of halophilic archaea and their chemical characterization. *Indian J Exp Biol*. 44(7). 340–344.
- Davis, P. (1967). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Edinburgh University Press*. 5(1). 49-80.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Behrendt, U., Ahmad, P., and Berg, G. (2017). Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Correlates with the Proportion of Antagonistic Endophytes. *Frontiers in Microbiology*. 8(199). 1-11.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Behrendt, U., Ahmad, P., and Berg, G. (2017). Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Correlates with the Proportion of Antagonistic Endophytes. *Frontiers in Microbiology*. 8(199). 58-65.
- Ernst, M., Mendgen, K., and Wirsal, S. (2003). Endophytic Fungal Mutualists: Seed- Borne *Stagonospora* sp. Enhance Reed Biomass Production in Axenic Microcosms. Molecular Plant-Microbe Interactions the American Phytopathological Society in cooperation with the International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions. *Edinburgh University Press*, 5 (16). 580-587.
- Erper, İ. (2003.) Samsun Ğlinde Bazı Baklagil Bitkilerinde Saptanan Rhizoctonia Grubu Fungusların Anastomosis Grupları, Karakteristik Özellikleri ve Patojeniteleri. Doktora Tezi, 106. Samsun, Türkiye: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Firáková, S., Šturdíková, M., and Múčková, M. (2007) Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol*, 62(3). 251-257.
- Forester, N., Lane, G., Steringa, M., Lamont, L., Johnson, L. (2018) Contrasting roles of fungal siderophores in maintaining iron homeostasis in *Epichloë festucae* Fungal Genet Biol. *MBio*, 111(2). 60–72.
- Gerwien, F., Safyan, A., Wisgott, S., Hille, F., Kaemmer, P., Linde, J. (2016) A novel hybrid Iron regulation network combines features from pathogenic and nonpathogenic yeasts. *MBio*.7(5). 13-19.
- Haas, H. (2003) Molecular genetics of fungal siderophore biosynthesis and uptake: the role of siderophores in iron uptake and storage. *Appl Microbiol Biotechnol*. 62(4). 22-28.

- Haas, H. (2014) Fungal siderophore metabolism with a focus on *Aspergillus fumigatus*. *Nat Prod Rep*. 31(10). 16-20.
- Höfte, M. (1992) Classes of microbial siderophores. In: Barton L, Hemming B (eds) Iron chelation in plants and soil microorganisms. *Academic, New York*, pp. 3(2). 3–26.
- Julsing, M., Quax, W., and Kayser, O. (2007). The Engineering of Medicinal Plants: Prospects and Limitations of Medicinal Plant Biotechnology. *Medicinal Plant Biotechnology: From Basic Research to Industrial Applications*. Weinheim, Germany: *Wiley-VCH*. 5(6) . 3-8.
- Jumpponen, A., and Jones, K. (2009). Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere. *New Phytologist*. 5(6). 438-448.
- Jia, M., Chen, L., Xin, H., Zheng, C., Rahman, K., Han, T., and Qin, L. (2016). A Friendly Relationship between Endophytic Fungi and Medicinal Plants: A Systematic Review. *Frontiers in Microbiology*. 7(9). 6-10.
- Kannadan, S., and Rudgers, J. (2008). Endophyte symbiosis benefits a rare grass under low water availability. *Functional Ecology*. 22(1). 706-719.
- Karakurt, H., Aslantaş, R. ve Eşitken, A. (2010). Tohum Çimlenmesi ve Bitki Büyümesi Üzerinde Etkili Olan Çevresel Faktörler ve Bazı Ön Uygulamalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 24(2). 115-128.
- Kharwar, R., and Strobel, G. (2011). Fungal Endophytes: An Alternative Source of Bioactive Compounds for Plant Protection Natural products in plant pest management CABI. 2(5). 306.
- Krings, M., Taylor, F., Hass, H., Kerp, H., Dotzler, N., and Hermsen, E. (2007). Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist*. 4(1). 648–657.
- Kronland, W., and Stanghellini, M. (1988). Clean slide technique for the observation of anastomosis and nuclear condition of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 78(2). 820-822.
- Kusari, S. (2010). Endophytic fungi harbored in *Camptotheca acuminata*, *Hypericum perforatum* and *Juniperus communis* plants as promising sources of camptothecin, hypericin and deoxypodophyllotoxin. PhD Thesis, 244. Technische Universität Dortmund.
- Khan, M., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., and Wani, P. (2010) Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi –C current perspective, *Archives of Agronomy and Soil Science*. *Planta*, 56(1). 73-98.
- Marwa, G., Guinel, F., and Glick, B. (2003). The *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* ACC deaminase protein promotes the nodulation of pea plants *Applied and Environmental Microbiology*. *Planta*, 69(8). 4396–4402.
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Ryu, J. (2006). Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1- aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase- containing *Methylobacterium fijiisawaense*. *Planta*. 224(2). 268–278.
- Maniatis, F., and Sambrook, J. (1982). Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York. *Phytopathology*, 2(1). 545.
- Mann, E. W. (1969). Inhibition of tobacco mosaic virus by a bacterial extract. *Phytopathology*. 59(5). 658–662.

- Martinez-Viveros, O., Jorquera, M., Crowley, D., Gajardo, G., Mora, M. (2010). Mechanisms and Practical Considerations Involved in Plant Growth Promotion by Rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 10(3). 293-319.
- Matzanke, B. (1991). Structures, coordination chemistry and functions of microbial iron chelates. CRC Handbook of Microbial Iron Chelates. *Editör Winkelmann G, Boca Raton, FL, USA: CRC Press*. 18(2). 15–64.
- Maurhofer, M., Hase, C., Meuwly, P., Metraux, J., and Defago, G. (1994). Induction of systemic resistance of tobacco-to-tobacco necrosis virus by root colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathology*. 84(2). 139–146.
- Mayak, S., Tivosh, T., and Glick, B. (1999). Effect of wild type and mutant plant growth promoting rhizobacteria on the rooting of mungbean cuttings. *Journal of Plant Growth Regulation*. 18(2). 49–53.
- Mayak, S., Tirosh, T., and Glick, B. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress, *Plant Physiology and Biochemistry*. 42(2). 565-572.
- Mazzola, M., Fujimoto, D., Thomashow, L., and Cook, R. (1995). Variation in Sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* to Antibiotics Produced by Fluorescent *Pseudomonas* spp. and Effect on Biological Control of Take-All of Wheat. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(7). 2554–2559.
- McNear, JrD. (2013). The rhizosphere-roots, soil and everything in between. *Nature Education Knowledge*, 4(3). 11-5.
- Mehta, S., and Nautiyal, C. (2001). An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology*. 43(4). 51-56.
- Mirik, M. (2005). Biberde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik 93 mücadele olanakları, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana. 5(2). 184.
- Mougel, C., Offre, P., Ranjard, L., Corberand, T., Gamalero, E., Robin, C., and Lemanceau, P. (2006). Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula*. gaetrn cv jemalong line J5. *New Phytologist Trust*. 170(2). 165-175.
- Munoz-Rojas, J., and Caballero-Mellado, J. (2003). Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. *Microbial Ecology*. 46(4). 454–464.
- Murphy, J., and Zehnder, G. (2000). Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against tomato mottle virus. *Plant Disease*. 84(7). 779–784.
- Muthukumarasamy, R., Revathi, G., Vadivelu, M. (2000). *Acetobacter diazotrophicus*: prospects and potentialities-An overview. In Recent Advances in Biofertilizer Technology. *Editörler Yadav A K, Motsara M R & Ray Chaudhury S, Society for Promotion & Utilization Resources & Technology, New Delhi*. 5(2). 126-153.
- Müller, H., Westendorf, C., Leitner, E., Chernin, L., Riedel, K., Schmidt, S., Eberl, L., and Berg, G. (2008). Quorum-sensing ejects in the antagonistic rhizosphere bacterium *Serratia plymuthica* HRO-C48. *FEMS. Microbiology Ecology*. 67(7). 468–478.
- Nakkeeran, S., Dilantha, W., Greg, J., and Siddiqui Z. (2005). Plant growth-promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. *Editör Siddiqui Z A, Springer, The Netherlands*. 4(2). 257–296.

- Ozimek, E., and Hanaka, A. (2010). Mortierella Species as the Plant Growth-Promoting Fungi Present in the Agricultural Soils Agriculture. *Phytopathology*, 5(2). 11-7. doi.org/10.3390/ agriculture11010007.
- Onbaşılı, D., ve Aslım, B. (2011). Pseudomonas Cinsi Bakterilerin Biyoteknolojik Açıdan Önemli Bazı Sekonder Metabolitleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*. doi.org/10.3390/ agriculture11019(2). 25- 34.
- Omar, M., Mahrous, N., and Hamouda, A. (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(8). 579–590.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., ve Sahin, F. (2006). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientia Horticulturae*. 111(2). 38-43.
- Orhan, F. (2016). Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*. 77(1). 1-7.
- Özdener, Y., ve Özkoç, İ. (1994). *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik olarak çimlendirilmesi üzerine endomikorizal fungusların etkisi. *Kükem Dergisi*. 19(2). 71-75.
- Özkoç İ. (1994). İki yeni fungal izolat kullanılarak *Orchis laxiflora* Lam. tohumlarının simbiyotik olarak çimlendirilmesi. *Kükem Dergisi*. 176(2). 13-16.
- Özkoç, İ., ve Dalcı, M. (1992). İki farklı kültür ortamında *Serapias vomeracea* (Burm fil.) Briq. subsp. *laxiflora* (Soo) Gözl et. Reinhard (Orchidaceae) tohumlarının çimlenme 94 ve gelişmesi üzerine bazı fungusların etkisi. *Doğa–Turkish Journal of Biology*. 16(3). 158-164.
- Özkoç, İ., Karaca, H., ve Erper, İ. (2002). Pathogenicity of *Rhizoctonia repens* Bernard on different plants and its effect on the suppression of root-rot on cucumber plants. *Acta Horticulture*. 579.(1) 463-467.
- Özkoç, İ., Aydın, E., Nohut, O., Gürkanlı, C., ve Altınkaynak, H. (2014). Bitki büyümesini arttıran mikroorganizmalar ve etki mekanizmaları. Türkiye 2. Orkide ve Salep Çalıştayı, İzmir 2012, Türkiye 2. Orkide ve Salep Çalıştayı Bildirileri, İzmir. 5(2). 213-246
- Palmer, C., and Keller, W. (2011). Plant regeneration from petal explants of *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 105(4). 129–134.
- Palumbo, J., and Kobayashi, D. (2000). Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture microbial endophytes. *New York: Marcel Dekker*. 4(2).199–236.
- Pascual, C., Toda, T., Raymondo, A., and Hyakumachi, M. (2000). Characterization by conventional techniques and PCR of *Rhizoctonia solani* isolates causing banded leaf sheath blight in maize. 49(1). 108-118.
- Patil, V., and Dadlani, M. (2009). Tetrazolium test for seed viability and vigour. UK: CABI Oxfordshire. (4). 129–134
- Perez-Garcia, F., Huertas, M., Mora, E., Pena, B., Varela, F., and Gonzalez-Benito, M. (2006). *Hypericum perforatum* L. seed germination: interpopulation variation and effect of light, temperature, presowing treatments and seed desiccation. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53(3). 1187–1198.
- Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. *Microbial Ecology of Leaves*. New York: Springer-Verlag. 5(2). 179- 197.
- Pirozynski, K., and Malloch, D. (1975). The origin of land plants: A matter of mycotrophism. *Biosystems*. (6). 153-164.

- Pirttilä, A., Podolich, O., Koskimäki, J., and Hohtola, E. (2008). Role of origin and endophyte infection in browning of bud-derived tissue cultures of Scots pine (*Pinus sylvestris* L). *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. 95(1). 47–55.
- Plett, J., and Martin, F. (2015). Reconsidering mutualistic plant–fungal interactions through the lens of effector biology. *Current Opinion in Plant Biology*. (26). 45- 50.
- Porras-Alfaro, A., and Bayman, P. (2011). Hidden Fungi, Emergent Properties: Endophytes and Microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*. 49(1). 291–315.
- Potacka, J. (2003). The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *J. Appl. Biomed*. 1(1). 61-73.
- Pretto, F., and Santare, E. (2000.) Callus formation and plant regeneration from *Hypericum perforatum* leaves. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 62(1).107
- Porras-Alfaro, A., and Bayman, P. (2011). Hidden Fungi, Emergent Properties: Endophytes and Microbiomes, *Annu. Rev. Phytopathol*. 49(1). 291-315.
- Qiao, J., Gao, X., and Borriss, R. (2014). Stimulation of plant growth and biocontrol by *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 engineered for improved action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 1(1).12.
- Quan, C., Wang, X., and Fan, S. (2010). Antifungal Compounds of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Its Action Mode. Plant Growth and Health Promoting Bacteria (Editor Maheshwari D K, Microbiology Monographs 18. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. 5(2). 117-156.
- Radzki, W., Gutierrez, M., Algar, E., Lucas-Garcia, J., Garcia-Villaraco, A., and Ramos-Solano, B. (2013). Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 104(3). 321–330.
- Ramadan, M., AbdelHafez, A., Hassan, E., and Saber, F. (2016). Plant Growth Promoting Rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 10(15). 12-13.
- Ramprasad, D., Debasish, S., Bhatta, S. (2014). Plant growth promoting rhizobacteria-an overview. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*. 2(2). 30-34.
- Rathaur, P., Ramteke, P., Raja, W., and John, A. (2012). Isolation and characterization of nickel and cadmium tolerant plant growth promoting rhizobacteria from rhizosphere of *Withania somnifera*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(18). 253-261.
- Rathore, P. (2014). A review on approaches to develop plant growth promoting rhizobacteria. *International Journal of Recent Scientific Research*. 5(2). 403-407.
- Rajkumar, M., Nagendran, R., Kui, L., Wang, H., and Sung, Z. (2006). Influence of plant growth promoting bacteria and Cr(VI) on the growth of Indian mustard. *Chemosphere*. 62(2). 741–748.
- Raupach, G., Liu, L., Murphy, J., Tuzun, S., and Kloepper, J. (1996). Induced systemic resistance of cucumber and tomato against cucumber mosaic virus using plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Disease*. 80(1). 891–894.
- Rawat, S., and Mushtaq, A. (2015). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria from legume rhizosphere. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 5(4). 38-42.
- Reinhold-Hurek, B., and Hurek, T. (1998). Interactions of gramineous plants with *Azotarcus* spp. and other diazotrophs: identification, localization and perspectives to study their function. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 17(1). 29–54.

- Reddy, P., Ahmed, M., and Suresh, D. (2003). Impact of Biofertilizer Application on Crop Growth and Yield of Different Crops. 6 th Int. PGPR Workshop, India. *Annual Review Microbiology*. 5(4). 49-52.
- Ribeiro, C., and Cordoso, E. (2012). Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). *Mibrobiological Research*. 167(2). 69-78.
- Rovira, A. (1965). Interactions between plant roots and soil microorganisms. *Annual Review Microbiology*. 19(1). 241-266.
- Ripa, F., Cao, W., Tong, S., and Sun, J. (2019). Assesment of Plant Growth Promoting and Abiotic Stress Tolerance Properties of Wheat Endophytic Fungi, *Hindawi Biomed Research International*. 6(1). 5-12.
- Simonet, P., Normand, P., Moiroud, A., and Bardin, R. (1990). Identification of Frankia strains in nodules by hybridization of polymerase chain reaction products with strain-specific oligonucleotide probes. *Archieves Microbiology*, 153(3). 12-17.
- Sindhu, S., Dua, S., Verma, M., abd Khandelwal, A. (2010). Growth Promotion of Legumes by Inoculation of Rhizosphere Bacteria. *Microbes for Legume Improvement. Editör Khan M S, Zaidi A & Musarrat J, Springer-Verlag/Wien*. 6(2). 195-236.
- Singh, A., and Duggal, S. (2009). Medicinal Orchids: An overview. *Ethnobotanical Leaflets. Journal of Plant Interaction* ,13(3). 351-363.
- Singh, B., Millard, P., Whiteley, A., and Murrell, J. (2004). Unravelling rhizosphere–microbial interactions: opportunities and limitations. *Trends in Microbiology*. 12(8). 386-393.
- Sokolova, M., Akimova, G., and Vaishlia, O. (2011). Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 47(2). 302–307.
- Solano, B., Barriuso, J., and Manero, Fl. (2008). Physiological and molecular mechanisms of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Plant-Bacteria Interactions Strategies and Techniques to Promote Plant Growth. (Editörler Ahmad I, Pichtel J & Hayat S, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim). *Journal of Plant Interaction*, 4(2). 41-54.
- Souza, R., Ambrosini, A., and Passaglia, L. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*. 38(4). 401-419.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*. 31(4). 7-8.
- Sreedevi, B., Preethi, S., Pramoda, J., and Kumari. (2014). Isolation, production and optimization of siderophore producing *Pseudomonas* from paddy soil. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2(1). 71-88.
- Stein, T., Hayen-Schneg, N., and Fendrik, I. (1997). Contribution of BNF by *Azoarcus* sp. BH72 in *Sorghum vulgare*. *Soil Biology and Biochemistry*. 29(2). 969-971.
- Selosse, M., and Tacon, F. (1998). The land flora: a phototroph-fungus partnership. *Trends in Ecology and Evaluation*. 13(1). 15-20.
- Sıromyatnikov, M., Mashkina, O., and Popov, V. (2016). Praktikum po molekulyarnoy genetike i bioinjenerii. *Voronej VGU*. 7(2). 14-18.
- Staniek, A., Woerdenbag, H., and Kayse,r O. (2008). Endophytes: exploiting biodiversity for the improvement of natural product-based drug discovery. *Journal of Plant Interaction*. 3(2). 75-93.

- Stierle, A., Strobel, G., and Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*. 26(5). 5-10.
- Stone, J., Bacon, C., and White, J. (2000). An overview of endophytic microbes: Endophytism defined. *Microbial endophytes*. 6(1). 3-5.
- Strobel, G. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*. 5(2). 535-544.
- Strobel, G., and Daisy, B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(1). 491-502.
- Sülü, S., Bozkurt, İ., ve Soylu, S. (2016). Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 21(1). 103-111.
- Sun, Xio., and Guo, L. (2012). Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular. *Mycology*. 3(1). 65-76.
- Suthar, S., and Ramawat. K. (2010). Growth retardants stimulate guggulsterone production in the presence of fungal elicitor in fed-batch cultures of *Commiphora wightii*. *Plant Biotechnology Reports*. 4(1). 9-13.
- Tailor, A., and Joshi, B. (2012). Characterization and optimization of siderophore production from *Pseudomonas fluorescens* strain isolated from sugarcane rhizosphere. *Journal of Environmental Research And Development*. 6(3A). 688-694.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30(12). 2725-2729.
- Tejesvi, M., Kini, K., Prakash, H., Subbiah, V., and Shetty, H. (2007). Genetic diversity and antifungal activity of species of Fungal Diversity. 24(2). 37-54.
- Thompson, J., Gibson, T., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins, D. (1997). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*. 25(12). 4876-4882.
- Tiwari, K. (2015). The Future Products: Endophytic Fungal Metabolites. Biodiversity, Bio prospecting and Development. *Research Journal of Chemical Sciences*, 4(2). 11-19.
- Upadhyay, S., Singh, J., Saxena, A., and Singh, D. (2012). Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions Plant Biology. *Research Journal of Chemical Sciences* ,14(4). 605-611.
- Vigneshwari, A., Rakk, D., Nemeth, A., Kocsube S., Kiss, N., Csupor, D., Szekeres, A. (2019). Host metabolite producing endophytic fungi isolated from *Hypericum perforatum*. *Plos one*. 14(5). doi: 10.1371/journal.pone.0217060.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M., Touraine, B., Moenne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dye, F., and Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*. *Research Journal of Chemical Sciences*, 4(3). 1-19.
- Valverde, A., Burgos, A., Fiscella, T., Rivas, R., Velazquez, E., Rodriguez-Barrueco, C., Cervantes, E., Chambe,r M., and Igual, J. (2006). Differential effects of coinoculations with *Pseudomonas jessenii* PS06 (a phosphate-solubilizing bacterium) and *Mesorhizobium ciceri* C-2/2 strains on the growth and seed yield of chickpea under greenhouse and field conditions. *Plant and Soil*. *Research Journal of Chemical Sciences*, 287(1). 43-50.

- Van-Loon, B. P., and Pieterse, R. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 36(2). 453-483. doi: 10.1146/annurev.phyto.36.1.453
- Van, L. (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*. 119(3). 243–254.
- Vazquez, P., Holquin, G., and Puente, M. (2000). Phosphate solubilizing microorganism associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. Biology and Fertility of Soils. *Research Journal of Chemical Sciences*, 30(2). 460-468.
- Verma, N., and Lavakushis, İ. (2010). Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *International Journal of Agricultural Research*. 5(11). 954-983.
- Verma, Vi., Singh, P. (2011). Bio-control and plant growth promotion potential of siderophore producing endophytic Streptomyces from Azadirachta indica A. Juss. *Journal of Basic Microbiology*. 51(5). 550–556.
- Verma V., Joshi, M. (2012). Study of siderophore formation in nodule- forming bacterial species. *Research Journal of Chemical Sciences*, 2(11). 26-29.
- Vessey, J K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. *Research Journal of Chemical Sciences*, 255(2). 571–586.
- Waller, w., Achatz, B., Fodor, B., Fischer, K. (2005). The endophytic fungus Piriformospora indica reprograms barley to salt- stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *PNAS*. 102(38). 13386- 13391.
- Wang, Y., and Dai, C. (2011). Endophytes: a potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. *Annals of Microbiology*, 61(2). 207-215.
- Weber, Rim., and Anke, H. (2006). Effects of endophytes on colonization by leaf surface microbiota. Spencer-Phillips, Microbial Ecology of Aerial Plant Surfaces. *Annals of Microbiology*, 6(2). 209–222.
- White, B., Lee, T. (1990). Amplification and direct sequencing of. *Academic Press*. 5(4). 315-322.
- Wielguszi, K., and Irzykowska, L. (2017). Occurrence of pathogenic and endophytic fungi and their influence on quality of medicinal plants applied in management of neurological diseases and mental disorders. Herba Polonica. *Annals of Microbiology*. 63(4). 57-69.
- Wilson, D. (1995). The Evolution of a Term, and Clarification of Its Use and Definition. Nordic Society Oikos. *Annals of Microbiology*, 73(3). 274-276.
- Yamaner, Ö. (2011). Hypericum adenotrichum spach'un doku kültürü teknikleri ile çoğaltılması ve in vitro koşullarda sekonder metabolit değişiminin araştırılması. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi.
- Zabalgogea, I. (2008). Fungal endophytes and their interaction. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(6). 138-146.
- Zhang, H., Ying, T. (2014). Anti-microbial screening of endophytic fungi from Hypericum perforatum Linn. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 27(5), 1153-1156.
- Zhang, H., and Chang, R. (1989). Generation and suppression of stimulated Brillouin scattering in single liquid droplets. *Spanish Journal of Agricultural Resea*, 6(2). 151-153.

ÖZ GEÇMİŞ

KACHKAT, Youssoufia, Fas Lisesi'ni bitirdikten sonra Cadi Ayyad Üniversitesi Faculté des Sciences et Techniques FSTG Fakültesi, Biologie, Geologie, Chimie BCG bölümünden 30.06.2018 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. B2 derecede İngilizce bilmektedir .C1 derecede Fransızca bilmektedir (TCF). (31.07.2023).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0009-0005-5953-1281.

Yayınlar:

1. International Trakya Scientific Research Congress 28 May 2023 (Determining Siderophore-Producing Fungi from St. John's Wort Rhizosphere).